

—日本で使用されている動物用診断薬 (XI)—
馬感染症とその診断薬の概説

1 馬伝染性貧血

齋藤明人[†] (農林水産省動物医薬品検査所)

1 馬伝染性貧血の概要

馬伝染性貧血は、馬伝染性貧血ウイルス (EIAV) による疾病で、発熱と貧血を特徴とする伝染病であり、家畜伝染病予防法の家畜伝染病 (馬) に指定され、競走馬、繁殖馬等については、少なくとも5年ごとに検査をすることが義務づけられている。1950年代初頭は年間8,000頭以上の発生頭数があったが、その後の血清学的診断法の開発と感染馬の摘発・淘汰により発生頭数は激減し、1984年以降では、1993年と2011年の2頭ずつ発生したのみである [1]。なお、2011年の発生は、御崎馬を飼養する施設で摘発されたものであり、その後、野生の御崎馬についても検査が実施され、12頭が馬伝染性貧血陽性と診断され淘汰されている。

EIAVは、レトロウイルス科レンチウイルス属に分類されるRNAウイルスであり、馬属の動物のみに感染する。主な感染様式は、EIAVが感染馬の血液中に含まれることから、アブ、サシバエなどの吸血昆虫による機械的伝播や血液を介した人為的伝播、また、感染母馬から子馬への垂直感染などもある [2, 3]。

症状は、急性型、亜急性型、慢性型に区別されるが、感染したウイルス株の病原性や馬の健康状態等により影響を受ける [2, 3]。

急性型は、40～42℃の発熱、貧血、元気消失、粘膜や結膜の出血、黄疸などの症状を示し、衰弱して起立不能となり死亡する。

亜急性型は、急性型の症状を呈して発熱を示した後、一旦回復するが、その後、再び発熱し、数日で解熱する。発熱を1回ないし数回繰り返してやがて衰弱して死亡する。

慢性型は、繰り返しの発熱が徐々に軽度になり認められなくなった状態で、無症状で、健康馬と区別できなくなる。このような馬は摘発されないまま飼養され続ける

と、新たな感染源となり得る。

治療方法はなく、家畜伝染病予防法により馬伝染性貧血と診断された馬は淘汰される。また、予防のためのワクチンもない。

2 診断方法

診断薬による診断方法としては、エライザ法による検査及び寒天ゲル内沈降反応検査が家畜伝染病予防法施行規則別表第一に規定されている。

3 診断薬の概要

馬伝染性貧血の診断薬として、馬伝染性貧血診断用沈降反応抗原及び馬伝染性貧血診断用酵素抗体反応キットの2種類が承認されている (表)。ともにEIAVに対する抗体を検出するものである。使用方法及び判定については、使用説明書を参照のこと。

(1) 馬伝染性貧血診断用沈降反応抗原

ア 原理

寒天ゲル内沈降反応を原理とし、馬伝染性貧血ウイルス抗原と血液中の抗EIAV抗体を反応させ、沈降線形成により検出するものである。

イ 製法

EIAV P-337-EFD株を増殖させて得たウイルスを濃縮精製し、アジ化ナトリウムを加え、抗原力価を8単位に調製したものである。

ウ 使用上の注意

開封前によく振り混ぜて均質にしてから使用すること。開封したものは、速やかに使用し、小分け又は保存しての使用は、力価低下のおそれがあるので避けること。

被検血清がEIAVを含有している危険性がある場合は、56℃30分間加温処理してから使用すること。

[†] 連絡責任者：齋藤明人 (農林水産省動物医薬品検査所検査第一部)

〒185-8511 国分寺市戸倉1-15-1 ☎042-321-1841 FAX 042-321-1769
E-mail : saitoh@nval.maff.go.jp

表 日本で承認されている馬伝染性貧血診断薬の概要

商品名	製造販売業者名	使用目的	検出対象	主成分	承認年月日
日生研精製伝貧ゲル沈抗原	日生研(株)	寒天ゲル内沈降反応による馬伝染性貧血の診断	抗体	馬伝染性貧血ウイルスP-337-EFD株濃縮精製抗原	昭和53年6月9日
日生研イムノサーチEIA	日生研(株)	ELISAによる馬伝染性貧血ウイルスに対する抗体の予備的検出	抗体	EFD細胞培養馬伝染性貧血ウイルスP-337株精製可溶化抗原	平成14年10月3日

(2) 馬伝染性貧血診断用酵素抗体反応キット

ア 原理

エライザ法を原理とし、プレートに吸着させた馬伝染性貧血ウイルス抗原と血液中の抗EIAV抗体を反応させ、さらにペルオキシダーゼ標識抗体と反応・発色させて検出するものである。

イ 製法

EFD細胞培養EIAV P-337株精製可溶化抗原をプレートに吸着させたもの、ペルオキシダーゼを標識抗体としたもの等を組み合わせて製剤とする。

ウ 使用上の注意

陰性と判定されなかった検体については、馬伝染性貧血診断用沈降反応抗原を用いて確認すること。

被検血清は可能な限り新鮮なものを用い、保存が必要な場合は凍結すること。

非働化した血清又は濾紙法によって得た検体は使用しないこと。

参 考 文 献

- [1] 農林水産省：監視伝染病発生状況の累年比較（昭和12年～平成25年），家畜伝染病（農林水産省HP：http://www.maff.go.jp/j/syuan/douei/kansi_densen/pdf/katikudensenbyou.pdf）
- [2] 小沼 操他編：動物の感染症，第二版，161，近代出版，東京（2002）
- [3] 公益社団法人 中央畜産会：馬の感染症，第4版，27-29（2013）

2 馬 パ ラ チ フ ス

永井英貴[†]（農林水産省動物医薬品検査所）

1 馬パラチフスの概要

馬パラチフスは馬科動物に特有の感染症であり，家畜伝染病予防法で規定する届出伝染病である。また，家畜改良増殖法に基づき，(独)家畜改良センターが定期的に行う種畜検査の対象疾病となっている。

馬パラチフスの病原体は，馬パラチフス菌（*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype Abortusequi）であり，O4群の血清群に属し，馬科動物にのみ病原性を示す。本菌に汚染された飼料や水の摂取による経口感染が主な感染経路である。

馬パラチフスは，わが国においては1915年（大正4年）に青森県で初めて確認され，以来，北海道及び東北地方といった馬産地を中心に発生している。1997年（平成9年）から1998年（平成10年）にかけて132頭に発生したのを最後に，近年では局地的で小規模な発生に止まっている [1]。

臨床症状は，妊娠馬では死・流産，成馬では精巢炎，

関節炎，局所の化膿性疾患等，個体によって様々な症状が認められる。

馬パラチフスに罹患した馬の一部は長期にわたって保菌し感染源となる可能性が高いため，本病の清浄化のためには本病に感染した疑いのある馬（馬パラチフス菌に対する抗体を保有する馬）の摘発及び淘汰が最も有効な手段である [2]。

2 診 断 方 法

馬パラチフスの検査は，主として細菌検査又は血清学的検査により行われる。

細菌検査は，流産胎子の臓器，発症馬の化膿巣，流産馬の胎盤・悪露，種牡馬の精液等をDHL寒天培地及び血液寒天培地を用いて培養する。ほとんどのサルモネラ菌株は硫化水素を産生するが，馬パラチフス菌は硫化水素非産生である [3]。

血清学的検査は市販の診断用菌液を用いた凝集反応に

[†] 連絡責任者：永井英貴（農林水産省動物医薬品検査所）

〒185-8511 国分寺市戸倉1-15-1 ☎042-321-1841 FAX 042-321-1769 E-mail: nagaihi@nval.maff.go.jp

表 馬バラチフスの診断薬

診断薬の原理	商品名(一般的名称)	製造販売業者名	主成分	使用目的	承認年月日
平板凝集反応及び試験管凝集反応	馬バラチフス急速診断用菌液(馬バラチフス診断用菌液)	(独)農業・食品産業技術総合研究機構	サルモネラ・アボルトスエクイ北大株濃厚死菌液	馬血清中のサルモネラ・アボルトスエクイに対する凝集抗体の検出	昭和51年3月30日

より行う。次項で当該診断用菌液について説明する。

3 診断薬の概要

(1) 反応原理

平板凝集反応又は試験管凝集反応による血中抗体の検出である。

(2) 承認年月日

昭和51年3月30日

(3) 製品の一覧表

表のとおり。

(4) 製法の概要

サルモネラ・アボルトス・エクイの菌液にホルマリンを1vol%となるように加え、37℃で24時間処理し、殺菌した後1vol%ホルマリン加生理食塩液に浮遊させた濃厚死菌液である。

(5) 使用方法の概要

初めに平板凝集反応を実施し、その判定が陽性又は疑陽性を示す場合は試験管凝集反応を行う。

ア 平板凝集反応法

可検血清を生理食塩液で10倍希釈し、ガラス板上に0.05ml、0.03ml、0.02ml及び0.01mlずつ置き、診断用菌液を0.05mlずつ可検血清のそばに滴下して、可検血清の少ない方から診断用菌液と混ぜる。更にガラス板を前後左右に傾けながら混合し、15分後に現れた凝集の程度により陰性、疑陽性及び陽性の判定を行う。

イ 試験管凝集反応法

可検血清を生理食塩液で10倍から2倍階段希釈し、生理食塩液で15倍希釈した診断用菌液と0.5mlずつ混合し、50℃で2時間反応させた後4℃で一晩静置し、凝集像(+++、++、+、-)により判定する。+以上の凝集を示した血清の最高希釈倍数をその血清の凝集価とし、凝集価1,280倍以上を陽

性、640倍を疑陽性、320倍以下を陰性とする。

(6) 使用上の注意等

ア 検査は、四季を通じ、15～20℃で行われるよう留意し、戸外では、直射日光及び塵埃のひどい所は避けること。

イ 他のO4群サルモネラと交差反応を示し、他のO4群サルモネラの感染によっても検査結果が陽性となることがあるため、疫学情報や血清型別検査の結果を考慮して診断を行うことが望ましい。

4 今後の課題

凝集反応法の欠点は上述したように特異性が低いことであるが、これを改善するために2-メルカプトエタノール(2ME)であらかじめ血清を処理し、非特異的凝集反応の主要な原因であるIgMを不活化して、IgGのみを検出する方法が活用されている。しかし、2MEは非特異的な凝集抗体としてのIgMだけではなく、感染初期抗体として存在するIgMをも不活化してしまう可能性があることから、更なる検討が必要であると考えられている[4]。

参考文献

- [1] 農林水産省：監視伝染病の発生状況（農林水産省HP：http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi_densen/pdf/todokededennsennbyou.pdf）
- [2] 丹羽秀和：馬バラチフス清浄化対策推進事業の概要とその進捗状況（日本中央競馬会 競走馬総合研究所HP：<http://www.equinst.go.jp/JP/topics/0908ep.html>）
- [3] 農林水産省消費・安全局監修：馬バラチフス，病性鑑定マニュアル，第3版，414-416，全国家畜衛生職員会，東京（2008）
- [4] 丹羽秀和：馬バラチフスのマイクロ凝集反応法による診断とその陽性例における保菌部位，第38回生産地における軽種馬の疾病に関するシンポジウム，講演抄録，46-49，北海道（2010）