

—日本で使用されている動物用診断薬 (XII)— 豚感染症とその診断薬の概説

1 豚 コ レ ラ

齋藤明人[†] (農林水産省動物医薬品検査所)

1 豚コレラの概要

豚コレラは、豚コレラウイルスによる強い伝染力と高い致死率を特徴とする熱性の疾病であり、家畜伝染病予防法の家畜伝染病 (豚、いのしし) に指定されている。1888年にわが国において初めて発生した記録があり、1932年には41,018頭の発生、戦後も数千から1万頭を超える発生があった [1, 2]。その後、1969年に弱毒生ワクチンが実用化されたことにより発生頭数は激減し、1992年、5頭に発生したのを最後に、その後発生は確認されていない。こうした状況を受け、1996年から清浄化対策が開始された。第1段階として、野外ウイルスの撲滅を目的としたワクチン接種の徹底と併せ、抗体調査等による本病発生の有無の確認を推進した結果、本病の発生が確認されなかったことから、1998年から第2段階に移行することとし、都道府県ごとに、順次、ワクチン接種中止地域として指定し、野外ウイルスの動態、防疫体制の確立等の状況を踏まえ、第3段階として、2000年から、原則として全国的にワクチン接種を中止し、その後も発生が見られなかったことから、2007年に、わが国は国際獣疫事務局 (OIE) の規約に定める豚コレラ清浄国となった。

豚コレラウイルスは、フラビウイルス科ペスチウイルス属に分類される一本鎖RNAウイルスであり、豚といのししが自然宿主である。感染豚は、唾液、涙、糞尿中にウイルスを排泄し、感染豚との直接接触や排泄物等で汚染された人・器具などによる間接触により感染する。

典型的な臨床症状はなく、発熱、食欲不振、うずくまりといった一般的な症状で始まり、さらに結膜炎、リンパ節腫脹、呼吸障害、便秘に次ぐ下痢がみられ、後軀麻痺や運動失調、四肢の激しい痙縮等神経症状が現れる。発症後数日経つと耳翼、腹部、内股部に紫斑を生じる場合もある。最終的には起立困難となり、急性経過の場合は1～2週以内に死亡し、死亡率はほぼ100%である。慢性経過

では、発育の遅延、食欲不振、間欠発熱や間欠性の下痢がみられ、死亡まで数週から数カ月の経過をとる [3-5]。

治療方法はない。予防として、生ワクチンがあるが、わが国は豚コレラ清浄国となったことから、平常時の予防的なワクチン接種は行わないこととしている。

2 診断方法

多様な臨床症状と病変を呈するため、臨床所見から診断することは難しく、実験室における検査での診断が重要となる。病原学的検査としては、扁桃などから凍結切片標本を作製し、蛍光抗体法によって抗原を検出する方法や、臓器乳剤を培養細胞に接種し、ウイルスを分離する方法がある。また、RT-PCR法により、ウイルス遺伝子を検出する方法もある。抗体検査としては、ELISA法と中和試験があるが、豚コレラウイルスは、反すう動物のペスチウイルスに対する抗体と交差反応を示すことがあるため注意を要する [5]。

3 診断薬の概要

豚コレラの診断薬として、抗原を検出するための豚コレラ診断用蛍光抗体 (商品名: “京都微研, 豚コレラ-FA) 及び抗体を検出するための豚コレラ診断用酵素抗体反応キット (商品名: 豚コレラエライザキット II) の2種類が承認されている (表)。以下にそれぞれの測定原理、製法及び使用方法を記すが、さらに詳細な使用方法及び判定については、商品に添付されている使用説明書をご覧いただきたい。

(1) 豚コレラ診断用蛍光抗体

A 測定原理

蛍光抗体法を測定原理とし、試料中の豚コレラウイルス抗原と豚コレラウイルス蛍光標識抗体を反応させ、蛍光観察により抗原を検出する。

[†] 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豚コレラ診断薬の概要

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
“京都微研、豚コレラ-FA	(株)微生物化学研究所	豚コレラの迅速な補助診断法として蛍光抗体法（直接法）によって豚コレラウイルスの検出に用いる	抗原	豚コレラウイルスALD株免疫抗体に蛍光色素を結合させた蛍光標識抗体	昭和44年6月12日
豚コレラエライザキットⅡ	JNC(株)	豚血清中の豚コレラウイルスに対する抗体の検出	抗体	豚コレラウイルスALD-A76株精製E2タンパク	平成19年8月29日

注：承認されている豚コレラ診断薬のうち、過去5年以内に製造販売実績がないものは、除外した。

イ 製 法

抗豚コレラウイルス精製抗体に蛍光色素を標識させ、凍結乾燥する。

ウ 使用方法

蛍光標識抗体を溶解し、使用前に3,000rpmで10分間遠心又は非吸着性のメンブランフィルターで濾過する。

検査対象豚の扁桃組織の凍結標本等を本品を用いて染色する。

(2) 豚コレラ診断用酵素抗体反応キット

ア 測定原理

間接ELISA法を測定原理とし、マイクロストリップに吸着させた豚コレラウイルス精製E2タンパクを抗原として、検体（血清）中の抗豚コレラウイルス抗体と反応させ、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。

イ 製 法

豚腎由来細胞で培養した豚コレラウイルスを不活化・可溶化し、それから精製したE2タンパクを抗

原として平底マイクロストリップに吸着させたものにペルオキシダーゼを標識した抗豚IgGウサギ抗体等を組み合わせて製剤とする。

ウ 使用方法

検査対象豚の血清を非動化、希釈して、本品を用いてELISAを行う。

参 考 文 献

- [1] 豚コレラ防疫史編集委員会：豚コレラ防疫史（2009）
- [2] 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/syouan/douei/kansi_densen/pdf/katikudensenbyou.pdf）
- [3] 小沼 操他編：動物の感染症，第二版，175，近代出版，東京（2002）
- [4] 動物衛生研究所：家畜の監視伝染病，家畜伝染病，豚コレラ（動物衛生研究所HP：http://www.naro.affrc.go.jp/org/niah/disease_fact/k20.html）
- [5] 農林水産省：豚コレラに関する特定家畜伝染病予防指針，平成25年6月26日付け農林水産大臣公表

2 オ ー エ ス キ ー 病

相原尚之[†]（農林水産省動物医薬品検査所）

1 オーエスキー病の概要

オーエスキー病（以下「本病」という。）は、豚ヘルペスウイルス1によって起こる急性感染症で、哺乳豚の死亡や繁殖母豚の死産及び肥育豚の発育不良を引き起こす。不顕性感染あるいは感染耐過した豚の多くは潜伏感染豚になり、それが感染源となり得る。わが国では1981年に山形県、岩手県及び茨城県下での発生が確認されて以降、地域的に常在を許す結果となった [1]。

本病は1983年に家畜伝染病予防法に規定される届出伝染病に指定され、1991年に策定されたオーエスキー病

防疫対策要領（以下「対策要領」という。）を指針として清浄化対策を推進してきた。諸外国（イギリス，デンマーク，ドイツ，アメリカ，オランダ等）で清浄化が達成される中、わが国では2008年及び2010年に対策要領が改正され、清浄化に向けた防疫対策が強化された [2, 3]。

わが国における本病の浸潤状況は、継続的に把握されており [4]，地域による差異が著しいことから，地域の状況に応じた防疫対策を講ずることとしている [2]。具体的には，浸潤状況により，地域を清浄化対策準備段階，清浄化対策強化段階・前期，清浄化対策強化段階・後期，

[†] 連絡責任者：相原尚之（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 : naoyuki_aihara@nval.maff.go.jp

表 わが国で承認されているオーエスキー病診断薬の概要

商品名	製造販売業者名	使用目的	検査目的	承認年月日
AD抗原ラテックス 「科飼研」	(株)科学飼料研究所	ラテックス凝集反応による豚のオーエスキー病ウイルス抗体の検出	スクリーニング	平成1年8月11日
ADV(S) エリーザキット	アイデックス ラボラトリーズ(株)	豚オーエスキー病ウイルスに対する抗体の予備的検出	スクリーニング	平成5年12月28日
ADV(gI) エリーザキット	アイデックス ラボラトリーズ(株)	豚血清中のオーエスキー病ウイルス表面糖蛋白gIに対する抗体の検出	抗体識別	平成5年6月15日
オーエスライザII	共立製薬(株)	豚血清中のオーエスキー病ウイルス表面糖蛋白gEに対する抗体の検出	抗体識別	平成24年3月13日

注：既承認の診断薬のうち、過去5年以内に検定実績の無いものは、除外した。

清浄化監視段階、清浄段階の5段階に区分し、野外ウイルスと識別可能なワクチンを活用しつつ、モニタリング検査及び定期的な抗体検査を実施することをその基本としている。対策要領では、清浄化段階ごとに清浄度確認検査を設定している。その要件については、対策要領[2]及びその解説[3]を参照されたい。

本稿で紹介する本病診断薬は、本病ウイルス抗体をスクリーニング的に検出するものと、野外ウイルス抗体とワクチン抗体を識別する抗体識別検査用のものに大別される。

2 診断方法

本病の診断では、まず疫学調査、臨床検査、剖検、及びスクリーニング的血清学的検査（ラテックス凝集反応あるいはELISAによる抗体の検出）を行い、その後、病理組織学的及びウイルス学的検査を行う。陽性または陽性を疑う場合は、識別ELISA及び確定的検査を目的とした血清学的検査（間接蛍光抗体法、中和試験）を行い、総合的に判断する[5]。

本病ウイルスに感染耐過し潜伏感染状態になった豚は、終生にわたって検出可能なレベルの抗体を産生することから、潜伏感染豚の摘発はウイルス抗体の検出で十分可能であるとされる[1]。

3 診断薬の概要

(1) 診断薬の原理及び製法

わが国で市販されている診断薬は、ラテックス凝集反応またはELISAを原理とし、抗体検出を目的としている(表1)。

ア ラテックス凝集反応

本病ウイルスの可溶性抗原をラテックスに吸着させた凝集反應用抗原である。スクリーニング的に本病ウイルス抗体を検出するために用いられる。

イ ELISA

(ア) スクリーニング検査用

本病ウイルスを不活化した抗原をプレートに吸着させ、酵素抗体法により本病ウイルス抗体をスクリーニング的に検出するためのキットである。

(イ) 抗体識別検査用

抗体識別検査用ELISAは、本病ウイルス表面糖蛋白gI(gEと呼ばれることもある)に対する抗体を特異的に検出する。本病生ワクチンは遺伝子欠損マーカーを有しており、対策要領では、ワクチンの抗体識別タイプは全国で同一種類のものを使用することとしている。現在gI欠損マーカータイプの生ワクチンのみが市販されていることから[6]、抗体識別用診断薬としてgI抗体検査用ELISAキットのみが市販されている。

gI欠損生ワクチンを豚に接種した場合、ワクチン免疫血清は、ウイルス抗体検査では陽性になるものの、gI抗体検査では陰性になる。一方、野外ウイルス感染血清の場合、その両者に陽性になることから、ワクチン抗体と野外ウイルス感染抗体の識別が可能であり、ワクチンを使用しながらの野外ウイルス感染豚の摘発淘汰が可能である。

(2) 診断薬の使用法

これらの診断薬はいずれも対象豚の血清を用いて行うが、被検血清の処理（非働化の有無等）は、個々の診断薬により異なるため注意が必要である。使用方法の詳細は、それぞれの診断薬の添付文書を参照のこと。

参考文献

- [1] 山田俊治：オーエスキー病，豚病学—生理・疾病・飼養一，柏崎 守他編，173-181，近代出版，東京（1999）
- [2] 農林水産省：オーエスキー病防疫対策要領（1991年3月22日付け3畜A第431号農林水産省畜産局長通知（最終改正2010年3月19日）），（農林水産省HP：http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/eisei/e_ad/pdf/adyouryou_100319.pdf）
- [3] 公益社団法人 中央畜産会：オーエスキー病清浄化の達成に向けて（2014）
- [4] 農林水産省：オーエスキー病について（農林水産省HP：http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/eisei/e_ad/）
- [5] 農林水産省消費・安全局：病性鑑定指針（平成20年6月2日付け20消安第880号農林水産省消費・安全局長通知），234-235
- [6] 田村直也：豚用ワクチンの概説 2 豚オーエスキー病ワクチン，日獣会誌，63，840-842（2010）