

ヨーネ病スクリーニング検査法の比較と非特異反応への一考察

紀北家畜保健衛生所

○豊吉久美 鳩谷珠希

黒田順史 松田基宏

【背景及び目的】

和歌山県では家畜伝染病予防法第5条に基づく牛ヨーネ病検査を、乳用牛全頭を対象に隔年で実施しており、平成22年度末まで乳用牛でのヨーネ病は発生していない。家畜伝染病予防法施行規則の一部改正を期に、平成21年度から当県でも新たにスクリーニング法を導入し、初めて「ヨーネスクリーニング・プルキエ」（以下プルキエ）を実施した。さらに平成23年4月には、「ヨーネライザ・スクリーニングKS」（以下KS）が新たに認可され選択できるようになった（図1）。平成21年度のプルキエ検査で全体の3.6%（25頭）が陽性と判定され、その全てが第一次確定検査であるヨーネライザⅡ陰性となった。これまでもプルキエは偽陽性率が高いのではないかとの指摘があり、平成21年度のプルキエ検査の結果に農家から「不安だ」「この検査は大丈夫なのか」という声が寄せられた。その原因としてプルキエの非特異反応の可能性が考えられ、抗酸菌や乳房炎等の報告がある。

【目的】

平成23年度ヨーネ病検査実施にあたり、スクリーニング検査をプルキエで実施し、併せて新しく認可されたKSとの比較検討を行った。また、プルキエの非特異反応の可能性を知るため、乳房炎等で増加する急性期反応蛋白を測定し検討したので報告する。

【材料及び方法 1】（表1）

平成23年5月から6月、紀北管内検査対象農家11戸の乳用牛697頭、肉用牛30頭をプルキエ（プルキエ社）によるスクリーニング検査に供した。プルキエ陽性検体は、再度採血しヨーネライザⅡ（共立製薬）による第一次確定検査を実施した。プルキエとKS（共立製薬）の比較検討のため、平成21及び23年度のヨーネ病検査でプルキエ陽性ヨーネライザⅡ陰性となった29検体、及び無作為に抽出した同年度紀北11戸93検体の血清についてKSを実施した。

【成績】

平成23年度紀北管内の検査では、2頭がプルキエ陽性となり、陽性率は0.3%であった。2頭ともにヨーネライザⅡ陰性であった。

プルキエとKSの違いを（表2）に示した。プルキエとKSはともにエライザキットで、列ごとに取り外し可能な96穴固相化プレートとなっている。プレートリーダー等、使用する機器・器具及び検査手技については、ほぼ同様であった。反応温度が21℃と25℃、反応時間計が、KSが20分長くなっていた。判定については、測定波長は同じ450nmであるが、結果を表す値がプルキエでSP値陽性60以上、KSでELISA値陽性0.3以上という違いがあった。

1検体あたりの試薬単価については、和歌山県平成23年度試薬購入で比較した場合、プルキエ470円、KS250円となった。

KSの結果を（表3）に示した。プルキエ陽性29検体のうち、平成23年度プルキエ陽性を示した検体1頭のみ陽性となった。122検体実施し、陽性率はプルキエで23.8%、KS0.8%であった。同結果をグラフに示した（図2）。プルキエKSともに陽性となった検体は、プルキエ陽性検体の中でもかなり高い値を示していた。KS陽性はELISA値0.3以上だが、比較的数字が高い0.1以上を示した25頭中プルキエ陽性は18頭であった。

【材料及び方法 2】

次に、プルキエの非特異反応の検証について（表4）に示した。急性期反応蛋白として、 α 1酸性糖蛋白（以下 α 1AG）とウシハプトグロビン（以下Hp）を選択した。これらはともに、乳房炎に対してよく反応するほか、（表4）に示した様な炎症に対して値が高くなることが知られている。検査方法は一元放射免疫拡散法（SRID法）で、スクリーニング検査比較に用いた血清を中心にして平成21及び23年度プルキエ陽性ヨーネライザⅡ陰性の29検体、無作為抽出紀北11戸65検体の血清について実施した。

【急性期反応蛋白測定結果】

α 1AGとHpの測定結果をグラフに示した（図3）。 α 1AGの正常値上限は450ug/mL、Hpは20ug/mLとされているが、プルキエ、KSともに陽性だった検体は、 α 1AGでかなりの高値を示した（715ug/mL）。プルキエ陽性検体について確認すると α 1AGが増加していた検体は4頭、Hpが増加していた検体は6頭であった。 α 1AG、Hpのどちらかが高値を示した検体は、プルキエ陽性29頭中9頭（31%）、プルキエ陰性65頭中23頭（35%）であった。これらの結果から特徴的なことはみられず、有意差は認められなかった（表5）。

【考察】（表6）

検査方法ではKSの反応時間が20分長いことや判定方法に違い（プルキエ：S/P値、KS：ELISA値）はあるが、使用機器や手技等については問題なく実施可能であった。また、KS陽性はプルキエ陽性を示しており感度に問題はなく、KSの偽陽性率も低いと思われた。今回の結果では、KSは非特異と考えられる反応が少なくプルキエに比べてスクリーニング検査実施に有効と考えられた。

急性期反応蛋白測定では有意な結果は得られず、プルキエの非特異反応が少なくとも単純な個体の炎症性反応のみに左右されているわけではないことが推察された。

【今後の課題】（表7）

ヨーネ病発生の重大性はもとより、ヨーネ病確定検査時の乳出荷停止等については農家の理解が必要である。スクリーニング検査の特徴・必要性を理解してもらうことにより、不安を解消していかなくてはならない。プルキエの非特異反応についてはまだ多くの知見は得られていないが、新しく認可されたKSが非特異反応が少ないことがわかったので、今後はKSを中心として、スムーズなスクリーニング検査体制の確立に努力したい。さらに、ヨーネ病陽性検体におけるKSの特異度及び敏感度についての検証の実施を考えている。