

口蹄疫と類似水疱性疾病の病性鑑定

口蹄疫に対する検査は、症状から口蹄疫と区別ができない豚水疱病および水疱性口炎を考慮し、ウイルス学的検査および血清学的検査によって実施される。口蹄疫では迅速な診断が不可欠であり、また、発症初期にはウイルスを検出することができることから、ウイルス学的検査が主となり、必要に応じて、血清学的検査が行われる。一方、発症後の時間経過が認められる場合はウイルスを検出することが困難となるため、血清学的検査が主に行われる。

ウイルス学的検査にはウイルス分離、間接サンドイッチ ELISA、RT-PCR およびリアルタイム RT-PCR 等があり、血清学的検査には液相競合 ELISA、中和試験等がある。それぞれの特徴について下記に述べる。

1. ウイルス学的検査

口蹄疫ウイルスは pH にきわめて敏感であり、検査材料は pH7.4(±0.2)に保つことが最も重要である。検査材料は水疱液、水疱上皮乳剤、病変部ぬぐい液、プロバングカップを用いた採取液(食道・咽頭液)等であるが、実施する検査法の感度、発症後の時間経過等によって、用いる検査材料も異なる。一般に発症後 1 週間以上経過した場合には抗体の産生とともに、食道・咽頭液を除いて、いずれの検査法を用いても検出することは困難となる。また、食道・咽頭液からの検出ではキャリアーとなった牛等が対象となる。

1) ウイルス分離

水疱液、水疱上皮乳剤、病変部ぬぐい液、食道・咽頭液等を培養細胞へ接種し、細胞変成効果(CPE)を観察する。口蹄疫ウイルスは株によって検出感度に差があるが、一般に検体に含まれるウイルス量が少ない場合でも細胞内で増殖することによって高い検出感度を示す。ウイルス分離は流行ウイルスの変異を含めた解析、疫学調査にきわめて重要であるほか、後述する中和試験を可能とする。検査に要する時間は2日～1週間程度で、CPEが観察された場合には培養上清を用いて、後述する間接サンドイッチ ELISAで口蹄疫ウイルスの血清型を含めた同定、あるいは、豚水疱病ウイルスを同定する。両者とも否定された場合は、水疱性口炎を疑い、水疱性口炎ウイルスを特異的に検出する RT-PCR 等を実施する。

2) 間接サンドイッチ ELISA

国際連合食糧農業機関 (FAO) および国際獣疫事務局 (OIE) の口蹄疫リファレンスラボラトリーで開発された ELISA で口蹄疫ウイルスの 7 血清型 (O、A、C、Asia 1、SAT1、SAT2 および SAT3) を含めた同定および豚水疱病ウイルスの同定が可能であり、検査に要する時間は約 6 時間である。検査材料はウイルス量が多い感染初期の水疱液または水疱上皮乳剤であるが、病変部ぬぐい液、食道・咽頭液、発症後の時間経過が認められる水疱上皮乳剤等ではウイルス量が少なく、本 ELISA では検出が困難であることから、ウイルス分離を実施し、CPE が観察された培養上清を用いて検査を行う。

3) RT-PCR およびリアルタイム RT-PCR

口蹄疫ウイルスに特異的なプライマーセットを用いて検査を行うが、初発では口蹄疫ウイルスの変異を考慮し、複数のプライマーセットを用いて実施する。感度が高いことから、水疱液、水疱上皮乳剤、病変部ぬぐい液、食道・咽頭液等全てに用いることができるが、実験室内のウイルス混入等による陽性反応に注意する必要がある。検査に要する時間は約 6 時間である。

2. 血清学的検査

水疱が形成される時期には、検出可能な抗体が十分に産生されていない場合があることから、症状等から発症後の時間経過を考慮し検査を行う。時間経過が認められる場合にはきわめて有効な検査である。また、サーベイランスでは通常血清学的検査が行われる。

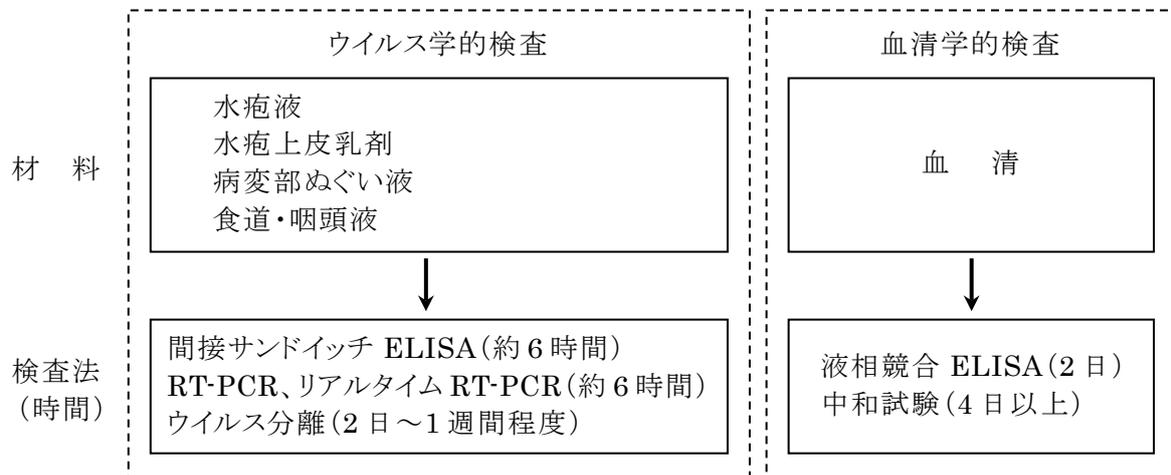
1) 液相競合 ELISA

FAO および OIE の口蹄疫リファレンスラボラトリーで開発された ELISA で口蹄疫ウイルスの 4 血清型 (O、A、C および Asia 1) に対する抗体の検出が可能であり、多種の動物に対して用いることができる。検査に要する時間は 2 日である。検査材料は血液を遠心分離し、得られた血清を用いる。

2) 中和試験

口蹄疫ウイルスに対する抗体検査は主に液相競合 ELISA を用いるが、非特異反応等が疑われた場合に中和試験は有効な手段である。しかし、抗原に用いるウイルスは発生の原因ウイルスと血清型が一致していることが最低条件であり、さらに、血清型が

同じでも、中和反応が認められない場合もあることから、ウイルスを分離し、そのウイルスを用いて中和試験を行うことが望ましい。検査に要する時間は4日以上で、検査材料は血液を遠心分離し、得られた血清を非働化して用いる。



3. 病性の判定

上記の検査結果を基に、農林水産省が病性を判定し、都道府県畜産主務課に通知する。