

研究情報

牛ブルセラ病診断用 ELISA キットの国内での実用化に向けて

IMADA Yumiko

動物疾病対策センター 生物学的製剤製造グループ長 今田 由美子

牛ブルセラ病は *Brucella abortus* 菌を原因とする世界的に重要な人獣共通感染症で、牛に流産や時に精巣炎を起こすだけでなく、流産関連物質との接触や未殺菌乳の摂取により人にも熱病などを起こすことから、先進国では血清反応による個体や群の摘発淘汰により防疫が図られ、汚染国では生菌ワクチンも使用されています。国際獣疫事務局(OIE)は平板凝集反応やELISAによるスクリーニングと補体結合反応(CFT)やELISAによる確定診断を推奨し、試験管凝集反応(SAT)は感度と特異性に問題があるとしています。我々は間接法ELISAの評価の中で、SAT優先の現行診断法ではやはり感度が不十分であること、ELISAによりCFTと同等の高い検出感度と特異性を確保できることを明らかにし、現在民間メーカーと共同して国内での実用化を進めています。

このELISAはOIEマニュアルに従って、国際的製造用株である *B. abortus* 99株から抗原LPSを精製し、国際ELISA標準血清で力価を調製し、標識抗体用抗牛IgG1-H鎖特異的モノクローナル抗体を自作することで検出感度と特異性の高さを確保しています。この

ELISAの特長は、1)CFTは煩雑かつ熟練を要し、判定には最短でも2日が必要ですが、ELISAでは単純な操作で2時間以内に判定が可能です。2)このELISAによる自然感染牛の検出感度は99.6%と、現在最も感度と特異性に優れるCFTの99.0%と同等で、一方陰性であるべき国内牛は検出しません(図1)。またその性能は海外2社の市販キットと比べても遜色はありません(図2)。

このELISAキットの製造販売承認申請書は平成20年2月に国内企業から農林水産省に提出されたところですが、実際にELISAを牛ブルセラ病の検査に使用するには、製造販売承認後にELISAによる検査法を家畜伝染病予防法施行規則別表第一に加える必要があり、関係機関の協力が必要となります。

OIEマニュアル
http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.04.03_BOVINE_BRUCCELL.pdf
 この研究成果は、動物衛生研究所ホームページでもご覧いただけます。
<http://niah.naro.affrc.go.jp/publication/seikajoho2/2007/niah07001.html>

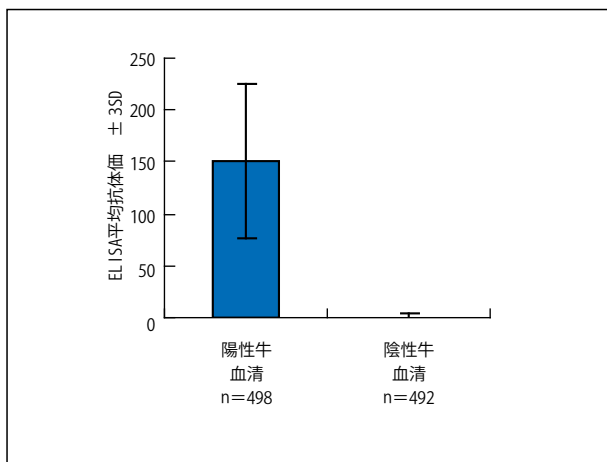


図1 本ELISAキットの検出感度と特異性
 ELISAの陽性限界値は30% P。陽性牛血清：常在国平板凝集反応陽性牛血清、陰性牛血清：国内平板凝集反応陰性牛血清。

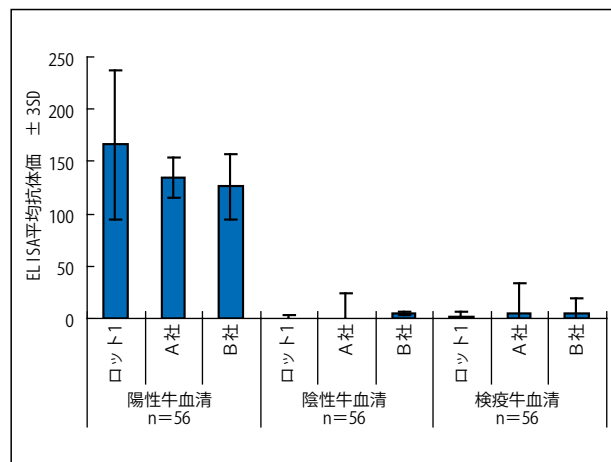


図2 本ELISAキット及び海外市販ELISAキットの性能
 陽性限界値は本キット30% P、海外キット25% P。陽性牛血清：常在発生国平板凝集反応陽性牛血清、陰性牛血清：国内平板凝集反応陰性牛血清、検査牛血清：繁殖用輸入牛検査時血清。

注) % P = (検体のOD - 参照陰性牛血清のOD) × 100 / (参照陽性牛血清のOD - 参照陰性牛血清のOD)