

狂犬病対策で  
関係者ら会議

富山

伏木富山港(富山港、  
富山新港、伏木港)に入  
港したロシア船から検疫  
を受けていない犬が上陸  
しているため、狂犬病の  
対策を考える「不法上陸  
犬対策会議」が24日、富  
山市新総曲輪の県民会館  
で開かれた。会議には

県、税関、動物検疫所職  
員や同港の関係者ら33人  
が出席した。

県食品生活衛生課など  
による、97年以降、14  
頭の不法上陸犬が県内で

確認され、5頭は今年見  
つかった。中古車販売業  
者がロシア船の船員から  
売つてもらつたり、譲り  
受けたりしたケースがほ  
とんどだという。

日本では1950年に  
狂犬病予防法が制定さ  
れ、57年以降人や動物に  
発症例はない。しかし、  
ロシアでは99年に12人、  
00年に8人が発症してい  
る。

同課などでは、今後、  
パンフレットの配布など  
で犬の不法上陸の防止  
を、中古車販売業者らに  
働きかける予定だとい  
う。

新聞名 朝日  
15年10月25日 版2面 段

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

イヌブルセラ病の疫学的調査・研究

分担研究者	神山 恒夫	国立感染症研究所	獣医学部 第一室長
協力研究者	今岡 浩一	国立感染症研究所	獣医学部 主任研究官
協力研究者	木村 昌伸	国立感染症研究所	獣医学部 第一室研究員
協力研究者	辻本 元	東京大学大学院	獣医内科学教室 教授
協力研究者	佐々木 郁	東京大学大学院	獣医内科学教室 研究生

研究要旨：ブルセラ属菌のうち *Brucella canis* はイヌを自然宿主とし、イヌにおける流産や不妊等の原因となることが知られている。また、ヒトにも感染することがある。そこで現在のイヌの感染状況を知るために *B. canis* に対する抗体検査をおこなった。イヌ血液は K 市動物愛護センター（以下、K 市）および東京大学動物医療センター（以下、東大）より入手した。K 市では 102 頭中 3 頭（2.9%）が陽性であった。東大では陽性例は見あたらなかった。今回の調査では約 3% が陽性であり、現在も *B. canis* 感染が、国内のイヌに常在していることが示された。今回の陽性例はすべてペットとして飼育されており、ヒトでの症状が比較的軽症であることから、感染に気づかない飼育者の存在も疑われる。イヌでのサーベイランスとともに、ヒトにおける抗体調査も必要だと考えられる。

A. 研究目的

感染症法で 4 類に指定されているブルセラ症（Brucellosis）はブルセラ属菌（genus *Brucella*）による動物由来感染症で、食料や社会・経済面で動物への依存度が高い国においては、未だに多くの感染者・感染動物の発生を見る世界的に重要な感染症のひとつである。ヒトで感染報告があるのは *B. melitensis*（自然宿主：ヤギ、ヒツジ）、*B. abortus*（ウシ）、*B. suis*（ブタ）、*B. canis*（イヌ）、*B. maris*（海洋動物）の 5 菌種で、ほかに *B. ovis*

（ヒツジ）、*B. neotomae*（齧歯類）があり、一般に動物では流産の原因となる。

日本では、ヒトブルセラ症は *B. melitensis* と *B. abortus* 感染の散発例が過去に報告されたが、現在は両疾患については清浄化していると考えられる。

一方、*B. canis* はイヌを自然宿主とし、イヌにおける流産や不妊等の原因となることが知られているが、ヒトに感染することもある。近年、日本でも数例の報告があるが、比較的軽症であり感染に気づかない場合もあると考えられ、実際の感染者数は定

かでない。また、イヌでは 1971 年に輸入ビーグル犬によると思われる繁殖コロニーでの集団発生があり、全国に波及し、現在でも国内の犬の数%が感染していると考えられている。しかしながら、イヌおよびヒトでの近年の感染状況は把握されていない。

そこで、現在のイヌにおける *B. canis* 感染状況を把握するため、イヌ血液を K 市動物愛護センターおよび東京大学動物医療センターより入手し、*B. canis* に対する抗体検査をおこなった。

## B. 研究方法

1) イヌサンプル：2002 年度末から K 市動物愛護センター（以下、K 市）に収容されたイヌより、血液サンプルの提供を受け、血清分離および FlexiGene DNA Kit (Qiagen) を用いて血液より DNA を分離し、実験に用いた。2002 年度に東京大学動物医療センター（以下、東大）に来院・受診したイヌの血清を用いた。

2) *B. canis* 特異的抗体の検出：血清中の特異的抗体を *B. canis* 凝集反応用菌液（北里研究所）を用いプロトコールに従い試験管内凝集反応を実施した。すなわち血清を 20 倍から 2 倍段階希釈し、凝集反応用菌液を加え、50°C で 24 時間感作後、凝集反応を判定した。血清の最終希釈倍数 160 倍以上で 50% 以上の凝集を示すものを陽性と判定した。

3) *B. canis* 特異的遺伝子の検出：*Brucella* 属菌特異的細胞表面タンパク (BCSP31) および外膜タンパク (OMP) のうち、OMP2 ならびに OMP31 を標的として、特異的プライマーを作成し PCR による *B. canis* 特異的遺伝子の検出を実施した。

## C. 研究結果

1) サンプルプロファイル：K 市および東大より血液ならびに血清入手したイヌのプロファイルを Table 1~4 に示した。性別は、K 市はオス 76、メス 28、東大はオス 43、メス 47 であった。年令は、どちらも 5 ~10 才が最も多かったが、K 市では、10 才以上も多くなっていた。イヌの大きさは、K 市では中型犬が多く、東大では小型犬が多くなっていた。K 市は、イヌを何らかの事情で手放すための持ち込みおよび路上などでの収容・保護をしているが、今回の検体では、持ち込みが 67 頭と最も多くなっていた。

2) *B. canis* 特異的抗体の保有状況：*B. canis* 特異的抗体を試験管内凝集反応により検討したところ、そのほとんどが室内犬で日頃の衛生管理が行き届いていると考えられる東大では、抗体保有イヌは見あたらなかった。一方、一般的な飼育状況等を反映すると考えられる K 市では、3 頭から抗体が検出され、その陽性率は、2.9% であった (Table 5)。抗体陽性イヌにおける抗体価は、1:160 が 2 頭、1:320 が 1 頭であった。また、そのプロファイルは、すべて家庭でペットとして飼育されていたもの、すなわち持ち込みであり、オス 2 頭、メス 1 頭となっていた (Table 6)。

3) *B. canis* 特異的遺伝子の検出：K 市より入手した検体 DNA より *B. canis* 特異的遺伝子検出を PCR 法で実施したが、いずれの検体からも検出されなかった。

4) ワクチン等接種歴：東大においては、そのカルテよりワクチン等接種歴が明らかとなっているので、これにも検討を加えた。その結果、接種歴不明のものを除いて、狂犬病ワクチンは 54/79 (接種率 68%)、混合ワクチンは 70/79 (接種率 89%)、フィラリア予防薬は 66/79 (投与率 84%) となっていた (Table 7)。K 市では、ワクチン接種に関する情報量が少なく、はっきりとした傾

向は得られなかつた。

#### D. 考察

2002 年に東京で、イヌからによると思われるヒトの *B. canis* 感染が報告されたが、ブルセラ属菌は非常に感染しやすく、10~100 個の菌数で感染しうるため、今後、輸入・在来両方のイヌもしくは野生動物からヒトへの *B. canis* 感染が増加するのではないか、また、潜在的感染者が多数いるのではないかと考えられている。事実、今回の検討では、1970 年代にイヌにおいて *B. canis* 感染が問題になった当時の抗体保有率（平均 8 %）より若干低い値を示したもののが依然、感染が認められることが明らかとなつた。また、陽性を示したイヌすべてが一般家庭で飼育されており、ヒトでの症状も比較的軽症であることから感染に気づかない飼育者の存在も疑われる。そこで、一般人についても検討し、潜在的感染者を把握する必要があるのではないかと思われた。

また、東大は動物における高度医療を目指しており、そこを来院するイヌの飼い主の感染症等、イヌの疾病に対する意識レベルも高いと想像される。ワクチン接種率を比較したところ、そのような集団においても義務づけられているはずの狂犬病ワクチンの接種率が最も低いことが明らかとなつた。海外からの狂犬病侵入・国内での拡大を阻止するためにも、啓蒙等の手段を講じ、接種率を上げる必要があると考えられた。

また、今回、試験管内凝集反応で特異的抗体検索を実施したが、凝集反応はその感度、検出までの時間、煩雑さなどに問題があると考えられるので、より簡便で高感度な ELISA 法を開発する必要があると考えられた。

#### E. 結論

イヌにおけるブルセラ感染が継続していることが示された。ヒトでの病原性は低いものの、感染例も報告されていることから、今後もイヌにおけるサーベイランスは必要であると思われる。また、狂犬病ワクチンの接種率が低いことから、国内侵入時の拡大を阻止するためにも接種率を上げる必要があると考えられた。

#### F. 健康危害情報

なし。

#### G. 研究発表等

1. 今岡浩一. ブルセラ症. in : 動物由来感染症—その診断と対策— (神山恒夫, 山田章雄 編), 真興交易医書出版部, pp. 199-203, 2003
2. 今岡浩一, 井上智, 棚林清, 山田章雄. 動物由来感染症. Infection and Technology, 11:2-13, 2003
3. 今岡浩一. 動物由来感染症の最近の話題. Modern Media, 49(12):337-346, 2003
4. 今岡浩一. ブルセラ症. 平成 15 年度希少感染症診断技術研修会, 東京, 2004 年 2 月
5. 今岡浩一. 愛玩動物由来感染症とは. 平成 15 年度第 3 回国立感染症研究所学友会公開シンポジウム「愛玩動物由来感染症」, 東京, 2004 年 3 月
6. 今岡浩一, 木村昌伸, 神山恒夫, 山田章雄. ブルセラ属菌の菌種同定のための特異的 PCR 法の開発. 第 137 回日本獣医学会学術集会, 藤沢, 2004 年 4 月 (予定)
7. 木村昌伸, 今岡浩一, 山田章雄, 神山恒夫. イヌの *Brucella canis* に対する抗体保有状況の調査. 第 137 回日本獣医学会学術集会, 藤沢, 2004 年 4 月 (予定)

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

Table 1) イヌ検体の性別

性 別	K市動物愛護センター	東大動物医療センター
雄（去勢雄）	76	43 (7)
雌（避妊雌）	28	47 (17)
不 明	1	0
合 計	105	90

Table 2) イヌの年令

年 令	K市動物愛護センター*	東大動物医療センター
0 - 2	8	6
2 - 5	22	17
5 - 10	40	44
10 以上	35	23
合 計	105	90

\* K市は推定年齢を含む。

Table 3) イヌの大きさ

大きさ	K市動物愛護センター*	東大動物医療センター
小(10kg未満)	25	56
中(10-20kg)	60	16
大(20kg以上)	19	17
不明	1	1
合計	105	90

\* K市は推定体重を含む。

Table 4) K市におけるイヌの来所履歴

方法	頭数
持ち込み	67
収容	21
保護	15
不明	2
合計	105

Table 5) *B. canis* 特異的抗体の保有状況

凝聚抗体	K市動物愛護センター	東大動物医療センター
陽性 (1:160≤)	3 (2.9%)	0
陰 性	9 9	9 0
合 計	1 0 2	9 0

Table 6) 陽性検体のプロファイル

犬種	抗体価	履歴	年齢	健康状態	性別
秋田	1 : 1 6 0	持ち込み	5-10	良	雌
パピヨン	1 : 1 6 0	持ち込み	5-10	不良	雄
柴	1 : 3 2 0	持ち込み	2-5	良	雄

Table 7) ワクチン接種・予防薬投与歴（東大動物医療センター）

	接種	未接種	小計	接種歴不明
狂犬病	5 4 (68%)*	2 5	7 9	1 1
混合ワクチン	7 0 (89%)	9	7 9	1 1
フィラリア	6 6 (84%)	1 3	7 9	1 1

\* 小計に対する割合。

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

野兎病の血清学的診断法の確立と抗原解析の試み

分担研究者 棚林 清 国立感染症研究所 獣医学部 室長  
協力研究者 堀田明豊 国立感染症研究所 獣医学部 研究員  
藤田 修 国立感染症研究所 獣医学部 研究員

研究要旨 日本国内における野兎病の検査・診断の充実を目的として国内外由来 *Francisella* 属菌 26 株の人工培地での性状比較、抗体検出用抗原に用いる菌株の選択、およびウサギ免疫血清の作製を行い、微量凝集反応法による抗体検出方法を確立した。さらに、本菌の詳細な抗原解析を目的にモノクローナル抗体の作出を試み、得られた抗体が株間で反応性に差があることがわかった。

A. 研究目的

野兎病は野兎病菌 (*Francisella tularensis*) 感染による急性熱性疾患で、野兎、野鼠などの齧歯類との接触やダニなどの刺咬により感染する動物由来感染症である。過去には国内でも関東や東北地方で多く発生が見られたが、近年の症例報告は稀であることから、診断検査を実施するための試薬類の供給や機関が限られている。一方、国外では米国やヨーロッパで散発的または集団的な発生があり、海外で感染して帰国したり感染動物が輸入されたりする可能性や、本菌がバイオテロリズムに利用される可能性のある病原体とされることなどから、本感染症の検査法の充実整備が必要である。また、ヒトや感染源の疫学調査やサーベイランスには適した検査法が必須となる。

野兎病の検査は、原因菌の分離同定、抗原や遺伝子検出、および血清抗体検出によって行われる。これまでに PCR 法を応用し

た野兎病菌遺伝子 DNA の検出法については整備してきた。本研究では血清学的診断における検査方法の確立を目的に、試験に用いるための菌株の選定、標準となる抗血清の作製、および微量凝集反応(MA)法による抗体検出法の条件を検討した。さらに、詳細な分離菌株間の抗原性を解析するためにモノクローナル抗体の作出を試みた。

B. 研究方法

(1) 野兎病菌の培養および MA 試験用菌株の選定: 国外由来 *Francisella* 属菌株 10 株、および 1950 年から 1983 年の間に国内でヒト、野兎、ダニから分離された 16 株を用いた(表 1)。このうち Schu と 38 株は *F. tularensis* sub sp. *tularensis*、U112 株は sub sp. *novicida*、029 株は *F. philomiragia* に分類され、他は sub sp. *holarctica* とされている。LVS 株はワクチン株である。すべての菌株は(財)大原総合病院付属大原研究所 藤田博己博士より

分与された。保存菌株を 8% ウサギ血液加ユゴン寒天培地に接種し、單一コロニーを釣菌した。これらをさらにユゴンチョコレート寒天培地で 37℃、2 から 3 日間培養し、コロニー形成を確認した。また増殖した菌は 0.5% ホルマリン加生理食塩水に懸濁し、37℃ 一夜静置し不活化した。各株の不活化菌について、凝集反応への使用の可否の確認のため、生理食塩水中における自家凝集性および Acriflavine 反応を調べた。

(2) ウサギ抗 *F. tularensis* 免疫血清の作製：ウサギ免疫血清は、38 および Yama 株の不活化菌をアジュバント (Titer Max Gold) とともにウサギ 2 羽 (Kb1:J、メス) づつに皮内接種した。部分採血した血清について MA 法および間接蛍光抗体法 (IFA) により抗体価の上昇を確認し、追加免疫後全採血して血清を回収した。

(3) 抗体検出法の検討：作製した抗 *F. tularensis* 免疫血清を用い、MA 法を試みた。使用する抗原の濃度は、550nm における吸光度 ( $OD_{550}$ ) を基準に、ウサギ免疫血清および正常血清での凝集像の鮮明性を比較して設定した。また酵素抗体法 (ELISA) および IFA は一般的な方法で行った。これらの抗体検出法を用いて作製した免疫血清の抗体価を測定した。

(4) モノクローナル抗体 (MAbs) の作出：5 菌株 (LVS, Schu, U112, Miura, Yama) のホルマリン不活化菌体を抗原としてマウス (BALB/c) を免疫した。回収した脾細胞をボリエチレングリコールによってマウスマローマ細胞 (P3X63Ag8.653) と融合した。IFA によって特異抗体の產生が確認されたウェルから限界希釀法によりハイブリドー

マをクローニングした。これらの菌株との反応性は、不活化菌液を PVDF 膜に固相化したドットプロット法により行った。

(倫理面への配慮) 動物実験は、国立感染症研究所動物実験指針を遵守し、同研究所動物実験委員会の承認を受け動物倫理に配慮して行った。

### C. 研究結果

(1) 凝集試験用菌株の選定：供試 *Francisella* 属菌 26 株は形成コロニーの肉眼的観察で 4 グループに分けられた (表 1)。それぞれのコロニーの色調とサイズは、小型白色、小型灰白色、小型灰褐色および大型の灰褐色コロニーであった。不活化菌液の Acriflavine 反応および生理食塩水中の自家凝集性を調べたところ 3 グループに分けられた (表 1、図 1)。N503, Tungliao, RV および Ootake 株は Acriflavine 反応陽性かつ、自家凝集性が強く生理食塩水中にて沈殿した。LVS, Schu, U112 および 029 株は Acriflavine 反応陽性で弱い自家凝集性を示した。他の 18 株は Acriflavine 反応、自家凝集性共に陰性であった。この結果から、MA 法に用いる菌株は 38 株および Yama 株とした。

(2) 抗体検出法の検討：作製した免疫血清および正常血清を用い、抗 *F. tularensis* 血清抗体価の測定のための MA 法における反応条件を検討した。MA 法は、血清の 2 倍階段希釀液 0.025ml を入れた 96 穴 U 底プレートに濁度  $OD_{550}$  0.5 に調整した自家凝集および Acriflavine 反応陰性の 38 株または Yama 株のホルマリン不活化菌液 (0.005% サフラニン加 0.5% ホルマリン生理食塩水) を等量添加し、混和後 37℃ にて 18 時間保温

した時に明瞭な凝集像が観察され、再現性良く判定することができる事がわかった。この方法で、4羽のウサギ免疫血清では160-640倍の抗体価を示し、非免疫血清では10倍でも凝集像は認められなかった。また、ブルセラ菌免疫血清との交差反応も認められなかった(図2)。MA法と同一量の抗原を固相化してELISAを実施したところウサギ免疫血清は10<sup>4</sup>倍まで陽性として判定できた。IFAは、抗原液を10倍に希釀しマルチウェルスライドガラスに固定して行ったところ、特異蛍光は3,200-12,800倍まで観察された。

(3)モノクローナル抗体の反応性：抗*F. tularensis* 抗体産生ハイブリドーマを12クローン得た。これらのMabsはドットプロット法における*Francisella*属菌10株との反応から5グループに分けられた。グループ1のMabsはすべての菌株に反応した。グループ2のMabsは*sub sp. novicida*, *F. philomiragia*株に反応しなかった。グループ3のMabsはさらに、Tungliao, RVとの反応性を欠いていた。グループ4は*sub sp. novicida*とのみ反応せず、グループ5は*sub sp. novicida*とのみ反応した(表2)。

#### D. 考察

*Francisella*属菌26株の形成コロニーおよび不活化菌液の自家凝集性、Acriflavine反応を確認した。Acriflavine反応陽性の菌液は自家凝集性が強いとされていることと一致した。人工培地での継代で変化することが知られており凝集反応用菌液の調整には注意が必要である。なおその詳細な機構は明らかではない。

抗*F. tularensis* 血清抗体価測定法とし

て微量凝集反応(MA)法、IFAおよびELISAを試みた。用いる抗原量の調整については総タンパク量や湿重量を基準にして試行したが、OD 550nmでの濁度を基準にして調整した時が最も再現性が良かった。MA法は動物種特異的標識二次抗体を用いること無く血清抗体を検出することが可能で各種動物の抗体検査にも有効と考えられる。今後、臨床検体についての精度の確認を行う必要がある。検出感度についてはELISAのほうが高いことが推定され詳細な検討が必要と考えられる。

本研究で得られたMabの中には特定の菌株と反応しないクローンがあり、分離菌株の鑑別に利用できる可能性が示唆された。しかしながら、病原性が強いとされる亜種(*sub sp. tularensis*)菌株と他の亜種菌株を区別できるMabクローンの作出には成功しなかった。また、各抗体が認識する抗原の解析をする必要がある。

作製したウサギ免疫血清は血清抗体検出における標準血清として利用できることがわかった。また、野兎病菌との抗原交差性が指摘されているブルセラ凝集抗原とほとんど反応しなかった。このことは、作製した免疫血清が菌スライド凝集試験や直接蛍光抗体法による分離菌の同定や検体内の抗原検出のための抗体として利用できると考えられる。

#### E. 結論

野兎病の血清学的診断法の確立のため、用いる抗原菌株の選定し微量凝集反応法による抗体検出法を確立した。標準となるウサギ免疫血清を作製するとともに、*Francisella*属菌株間で異なる反応性を示

すモノクローナル抗体の作出に成功した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 今岡浩一、井上智、棚林 清、山田  
章雄 動物由来感染症 : Infection &  
Technology 11 : 2 - 13、国際医学出版  
(2003)

2) 棚林 清 動物由来感染症の微生物  
検査 : Infection & Technology 11 : 14 -  
15、国際医学出版 (2003)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 供試 *Francisella* 属菌株の性状

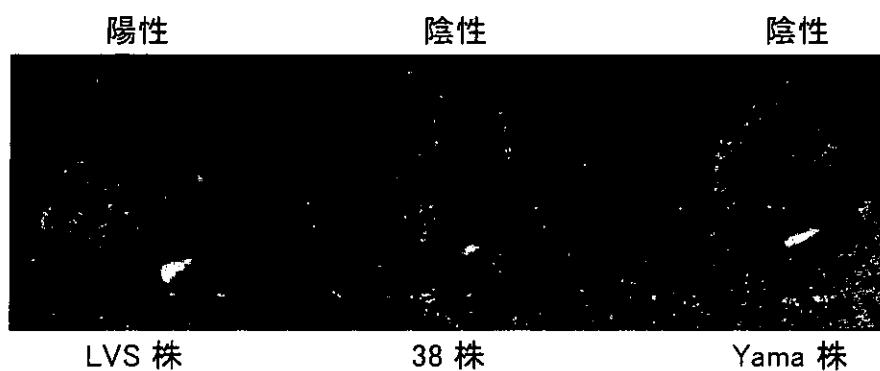
株	分類	分離年	分離地	由来	コロニーの性状 <sup>a</sup>	凝集性 <sup>b</sup>	Acriflavine 反応 <sup>c</sup>
LVS	<i>sub sp. holarctica</i>	1961	—	—	小 灰白色	+	+
38	<i>sub sp. tularensis</i>	1920	アメリカ	ヒト	小 灰白色	-	-
Schu	<i>sub sp. tularensis</i>	1941	アメリカ	ヒト	小 灰白色	+	+
N 9	—	1948	ロシア	ハタネズミ	小 白色	-	-
N 503	<i>sub sp. holarctica</i>	1949	ロシア	ダニ	小 灰褐色	++	+
N 1915	—	1962	ウクライナ	ノウサギ	小 白色	-	-
Tungliao	—	1957	中国	ジリス	小 灰褐色	++	+
RV	<i>sub sp. holarctica</i>	—	ロシア	—	小 灰褐色	++	+
Azumaya	<i>sub sp. holarctica</i>	1981	日本 秋田	ヒト	小 白色	-	-
Chiba	<i>sub sp. holarctica</i>	1980	日本 青森	ヒト	小 灰白色	-	-
Ebina	<i>sub sp. holarctica</i>	1950	日本 宮城	ヒト	小 白色	-	-
Kato	<i>sub sp. holarctica</i>	1989	日本 山形	ヒト	小 灰白色	-	-
Kikuchi	<i>sub sp. holarctica</i>	1982	日本 福島	ヒト	小 灰白色	-	-
Kokuchi	<i>sub sp. holarctica</i>	1981	日本 山形	ヒト	小 白色	-	-
Mitsuo	<i>sub sp. holarctica</i>	1983	日本 宮城	ヒト	小 灰白色	-	-
Miura	<i>sub sp. holarctica</i>	1975	日本 宮城	ヒト	小 灰白色	-	-
Naomatsu	<i>sub sp. holarctica</i>	1968	日本 秋田	ヒト	小 灰白色	-	-
Nikaido	<i>sub sp. holarctica</i>	1984	日本 福島	ヒト	小 灰白色	-	-
Ootake	<i>sub sp. holarctica</i>	1982	日本 宮城	ダニ	小 灰褐色	+	+
Sami	<i>sub sp. holarctica</i>	1980	日本 秋田	ヒト	小 白色	-	-
Suzushichi	<i>sub sp. holarctica</i>	1982	日本 山形	ヒト	小 灰白色	-	-
Yama	<i>sub sp. holarctica</i>	1957	日本 福島	ダニ	小 灰白色	-	-
Yato 96	<i>sub sp. holarctica</i>	1968	日本 秋田	ノウサギ	小 白色	-	-
Yato 107	<i>sub sp. holarctica</i>	1979	日本 福島	ノウサギ	小 灰白色	-	-
U112	<i>sub sp. novicida</i>	1950	アメリカ	水	大 灰褐色	+	+
029	<i>philomiragia</i>	1959	アメリカ	水	大 灰褐色	+	+

—：未確認

a: ユーゴンチョコレート寒天培地に3日培養後の所見。形成コロニーの大きさおよび色を示す。

b: 生理食塩水に懸濁、静置18時間後の所見。++: 菌体の大部分が沈殿、+: 一部沈殿、-: 沈殿なし

c: 0.1% (w/v) Acriflabin溶液に懸濁後の凝集反応。+: 陽性、-: 陰性



鏡検像 ( $\times 40$ )

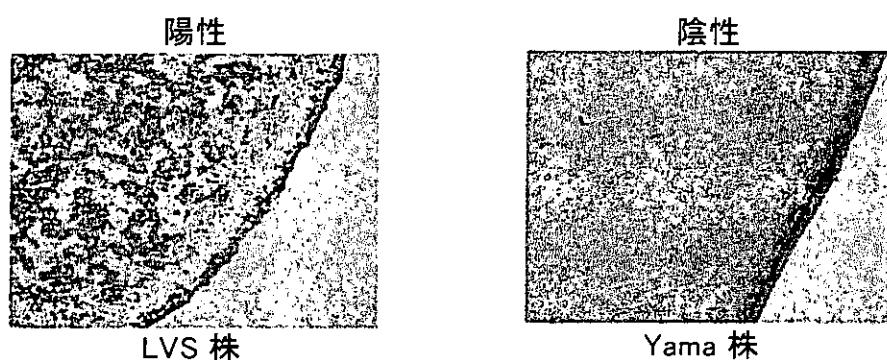


図1 Acriflavin 反応

A

血清希釈倍率

40 80 160 320 640 1280 2560 5120 倍

ウサギ免疫血清 No.1-1

No.1-2

No.2-1

No.2-2

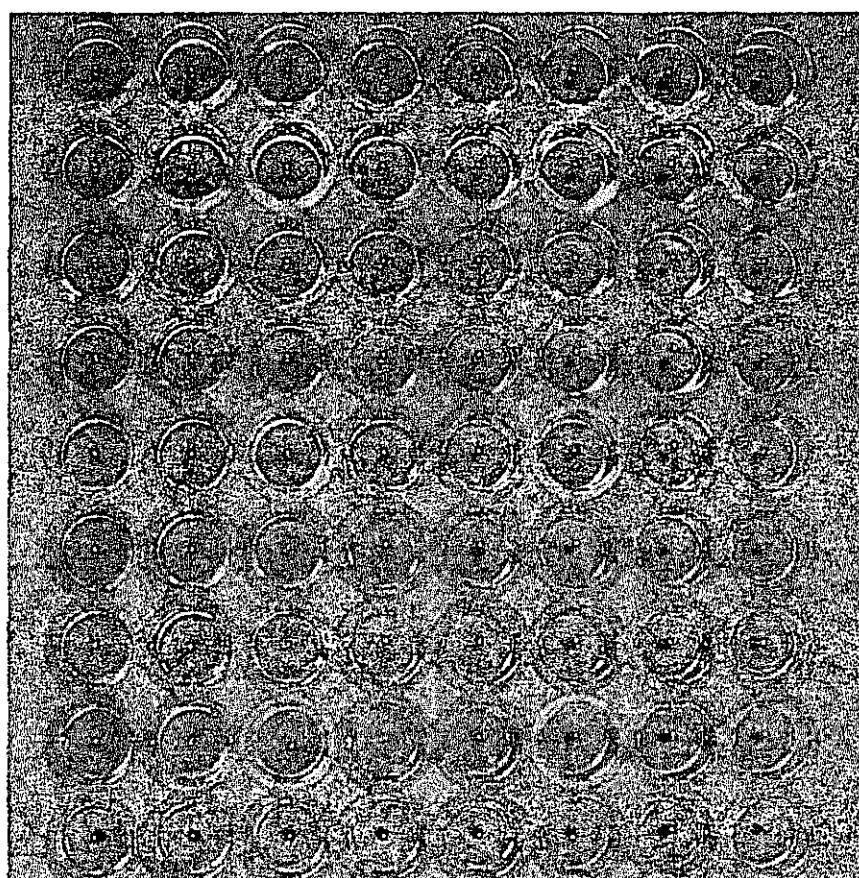
No.3-1

No.3-2

No.4-1

No.4-2

正常ウサギ血清



B

血清希釈倍率

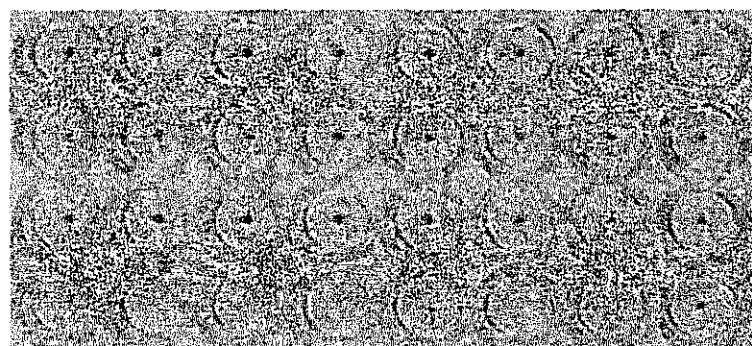
10 20 40 80 160 320 640 1280 倍

抗*B. canis* ウサギ血清

抗*B. abortus* ウサギ血清

正常ウサギ血清

ウサギ免疫血清 No. 2-2



## 図2 微量凝集反応

A: 作製したウサギ免疫血清の凝集価測定  
B: *Brucella* 属菌免疫血清との交差確認

表2 *Francisella* 属菌10株に対するモノクローナル抗体の反応

モノクローナル抗体	<i>Francisella</i> 属菌株
グレープ クローン名	LV5, Schu, N9, Miura, Tungliao, Yama, Ootake RV
1 M15E8, S11E7	+ + + +
2 M11D3	+ + - -
3 M11H7, M14B11, M15C6, S14G1	+ - - -
4 L11G3, M11G10, M13B10, M14F2	+ + - +
5 U22F2	- - + -

資料. 動物由来感染症の診断が  
可能な民間検査所一覧

検査対象動物種（25社）

アンケート発送数4,288 回答数2,114回(回収率30%) 内動物種取扱社数26社(11%)

日本衛生検査所協会会員名	細菌性疾患	国管出血性大腸菌検査	菌種	ブルセル症	レプトスピラ病	アメーバ赤潮	バッタ病	エルシニア症	カンピロバクター症	トキソプラズマ症	イヌネコ回虫移行症	皮膚糸状蠕虫	被考
岩手 (株) 中央環境研究所							イヌ・ネコ：分離(細胞)						イヌ・ネコ：分離(細胞)
茨城 (株) セントラル医学検査研究所													イヌ・ネコ：分離(細胞)
栄城 (株) 江東獣生物研究所 検研中央研究所つくば	指定なし：分離(細胞)	ベント貝全般：イヌ：分離(細胞)	サル：分離(細胞)	指定なし：分離(細胞)	指定なし：分離(細胞)	イヌ・ネコ：分離(細胞)	ベット飼全般：イヌ・ネコ・トシリ・ウサギ・ネズミ・ウマ						ベット飼全般：イヌ・ネコ・トシリ・ウサギ・ネズミ・ウマ
千葉 (株) サンリツ	一般：分離(細胞)	ベント貝全般：イヌ：分離(細胞)	サル・イヌ・ネコ：分離(細胞)	サル・イヌ・ネコ：分離(細胞)	サル・イヌ・ネコ：分離(細胞)	サル・イヌ・ネコ：分離(細胞)	サル・動物回虫物質(別紙付)	サル・動物回虫物質(別紙付)	サル・動物回虫物質(別紙付)	サル・動物回虫物質(別紙付)	サル・動物回虫物質(別紙付)	サル・動物回虫物質(別紙付)	サル・動物回虫物質(別紙付)
千葉 (株) 江東獣生物研究所 東関東支所	サル・分離(細胞)												マイビーライフテック外注
東京都 (株) ファルコバイオシステムズ 東京第一				イヌ：T A法(血清)	イヌ：T A法(血清)	イヌ：T A法(血清)	ネコ：ELISA・LA法(血清)						マイビーライフテック外注
神奈川 (株) ファルコバイオシステムズ 横浜				イヌ：T A法(血清)	イヌ：T A法(血清)	イヌ：T A法(血清)	ネコ：ELISA・LA法(血清)						マイビーライフテック外注
神奈川 (株) 保健科学研究所							イヌ・ネコ：分離(細胞)						出体：イヌとネコの鑑別、ヒト機体との鑑別はできない。
静岡 (株) 遠州防医学研究所													
愛知 (株) ファルコバイオシステムズ 名古屋				イヌ：T A法(血清)	イヌ：T A法(血清)	イヌ：T A法(血清)	ネコ：ELISA・LA法(血清)						マイビーライフテック外注
愛知 (株) 三義化粧品ーシーエル 中部ラボトラリー							イヌ・ネコ：分離(細胞)						
京都 (株) ファルコバイオシステムズ 福知山													
京都 (株) ファルコバイオシステムズ 水都													
京都 (株) ファルコバイオシステムズ 総合研究所													
大阪 (株) ファルコバイオシステムズ 大阪北													
兵庫 (株) ファルコバイオシステムズ 明石													
兵庫 (株) ファルコバイオシステムズ 茶路													
兵庫 (株) ファルコバイオシステムズ 神戸													
奈良 (株) ファルコバイオシステムズ 奈良													
岡山 (株) ファルコバイオシステムズ 岡山研究室													
福島 (株) ファルコバイオシステムズ 福島													
高知 (株) ファルコバイオシステムズ 高知													
熊本 (財) 化学及血清療法研究所・臨床検査センター	サル：分離(細胞)	ウシ・ブタ：分離(細胞)	ウシ・ブタ：分離(細胞)										
無記名(西帯広)	ウシ：分離(細胞)	ウシ・ブタ：分離(細胞)	ウシ・ブタ：分離(細胞)										
無記名(熊本県)	イヌ：分離(細胞)	イヌ：分離(細胞)	イヌ：分離(細胞)										

# 研究成果の刊行に関する一覧

## 別紙5

## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Inoue S, Motoi Y, Kashimura T, Ono K, Yamada A	Safe and easy monitoring of anti-rabies antibody in dogs using his-tagged recombinant N-protein.	Jpn J Infect Dis.	56	158-160	2003
山田章雄	今、懸念される人獣共通感染症	臨床獣医	21	10-13	2003
山田章雄	ヒトと動物共通感染症のサーベイランス	臨床医	29	1844-1847	2003