

## アフリカ豚熱の感染試験に参加して

多田成克

### 国内唯一の海外伝染病研究機関

私は2020年7月から12月までの5か月間、東京都小平市にある農研機構 動物衛生部門の海外病研究拠点で、ウイルスの精密検査に係る技術や知識を学ぶ病性鑑定特殊講習会に参加した。海外病研究拠点は国内で唯一、口蹄疫、豚熱 (CSF) 及びアフリカ豚熱 (ASF) ウイルスを扱った研究を行う。さらに海外伝染病の侵入に備えて、常時確定検査ができる体制を整えている。研修では研究者の方々に指導して頂き、貴重な経験を得ることができた。なかでも、強く印象に残った ASF の感染試験について紹介する。

### 迫るアフリカ豚熱

ASF は、高い致死率と伝染性を特徴とする豚及びイノシシの海外悪性伝染病で、臨床症状は発熱・元気消失・食欲不振など現在国内で流行する CSF と類似の症状を示すほか、出血性病変を呈して急死し、豚群内で急速にまん延する。現時点では有効なワクチンがないため決定的な予防策が確立されていない。本来、ASF はアフリカに常在する伝染病であるが、2007年頃にアフリカ大陸からコーカサス地方へ船舶の食品残渣に含まれる豚肉を介して侵入し [1]、その後ユーラシア大陸全域に感染地域を拡げ、日本に近い韓国や中国でも発生が確認されている。アジア地域から国内への国際旅客の携帯品検査では、2018年10月に農林水産省動物検疫所によりソーセージから初めて ASF ウイルスの遺伝子が検出され、その後2021年3月までに94例の携帯品で遺伝子が検出、内4例からは ASF ウイルスが分離されている [2]。このように生きたウイルスが発見されていることを鑑みれば、国際旅客が不法に持ち込む豚肉加工品はリスクの高い侵入経路の一つである。

本県の空の玄関口を担う、いわて花巻空港には上海

と台湾定期便が就航している。2019年に行われた探知犬による検疫キャンペーンでは当日入国した約60名の旅客から3点の豚肉製品が発見され、ウイルス侵入の門戸になり得ることが明らかになった。観光統計による2019年の本県への外国人観光客の入込客数は464,197人であり、入込客数の上位には ASF 発生地域である中国、香港、韓国が含まれ [3]、ASF ウイルスの侵入リスクが高まっている。

### ASF 感染試験

ASF ウイルスに感染した豚に由来する試料の病原性を確認するため、豚3頭を用いて接種試験を実施した。

ASF ウイルスを含む豚肉製品の乳剤を臀部筋肉内に接種した豚では、接種後3日目から40℃を超える発熱がみられ、元気消失、食欲不振を伴う急性症状が観察され、その後、出血傾向の症状も認められた (図1, 2)。6日目には体温は42℃前後まで上昇、7日目までに3頭中2頭が死亡し、残る1頭を安楽殺した。死亡豚の外貌には著変はみられなかった。剖検では3頭に共通して脾臓の腫大 (図3)、胃周囲のリンパ節の暗赤色化と腫大が観察された。また、胃粘膜の出血や扁桃の赤色化が特徴的に観察された。

観察された症状の中では、特に発熱と出血傾向が印象的だった。感染試験に立ち会う際には、ウイルスの拡散防止のため防護服とカップを重ね着するのであるが、その厚い生地を通して豚が熱いと感じられた。出血傾向も重篤であり、体温測定や鼻汁の採材時に不用意に粘膜を傷つけた場合や採血時には出血が止まらず、翌日には感染実験室の床や壁が血まみれになっていた (図2)。ASF ウイルスは血液中に大量に含まれるため、このように飛び散った血液を介して、豚群間に容易に感染が広がってしまうことが想像された。採



図1 接種後6日目の豚。41～42℃の発熱を呈し、元気消失、食欲廃絶。



図2 接種後7日目に死亡した豚。重篤な出血傾向を呈し死亡豚の周辺は血液で汚染されている。

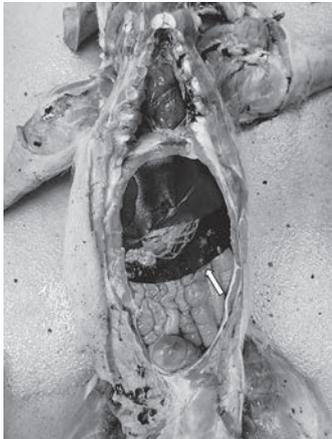


図3 接種後7日目に死亡した豚の剖検所見。脾臓が腫大している。



図4 ASF ウイルス感染豚の血液。血液凝固不全を起こし、血清が赤く濁る。

材した血液を遠心分離すると血清は赤く濁り、凝固不全が確認されることから(図4)、病性鑑定に際しては血液性状にも注意を払う必要がある。

リアルタイムPCRによる遺伝子検査では接種後2日目に全血から、また3日目に血清、4日目以降には唾液及び鼻汁から順次ASFウイルス遺伝子が検出された。ASFウイルスは豚の単球やマクロファージなど細網内皮系の細胞でよく増殖するため[4]、これらに富む全血で比較的早く遺伝子が検出されたと考えられた。特に全血からは症状が現れる1日前からASFウイルス遺伝子が検出されたため、早期発見には全血の遺伝子検査が重要であることが確認された。

(すべての写真は動物衛生研究部門から提供頂いたものです。)

#### ASFの侵入に備えて

ASFは治療法や予防法がなくその病原性の高さか

ら特定家畜伝染病に指定されており、都道府県で実施するASFのウイルス学的検査は、「アフリカ豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針(令和2年7月1日公表)」に沿ってコンベンショナルPCRと制限酵素処理(RFLP)の二段階の検査によって行われる。検査に使用する陽性対照試料にはASFウイルスにはない制限酵素認識配列が挿入されているため、陽性対照試料は231bp、ASF罹患豚由来の材料では250bpと異なるサイズの増副産物が得られる。さらに制限酵素処理により陽性対照由来の増幅産物では135bp及び96bpに切断されるのに対しASF罹患豚由来の材料では同様の切断はみられないことから、実際のASFウイルスに由来する増幅と陽性対照試料の混入による増幅を区別することが可能になっている。研修ではこれら検査技術についても訓練する機会を与えられ、技能を高めることができた。この検査法は研修先の海外病研究拠点が開発したものである。その開発行程で検出効率を高めたり、所要時間の短縮を図る取り組みを目的と

たりにすることができ、県に戻って検査する際の参考になった。

感染試験を通じて ASF を体感したことで、遠い海外の伝染病ではなく、実際に国内で発生しかねない伝染病であることや侵入リスクを考えると本県が初発になりかねない危険性を痛感した。ASF がロシア及び東欧諸国で拡がった際には、ASF が人獣共通感染症でなく、鳥インフルエンザや牛海綿状脳症 (BSE) に比べて社会的に十分認知されていなかったことから、初動において効果的な対策が取られなかった点に問題点があったと報告されている [1]。これらの反省から学び、本県では養豚関係者や獣医師に本病に関する新しく正しい知識を伝達し、ASF のリスクを理解してもらうとともに、防疫対策に重要な発生予防、早期発見、初動における迅速かつ的確な対応が行えるよう、この研修で得たものを今後の岩手県の畜産振興に役立てていきたい。

## 謝辞

本稿を準備するにあたり、御指導してくださった農研機構動物衛生部門・アフリカ豚熱ユニット各位に深くお礼申し上げます。また、有意義な研修になるよう準備し、貴重な経験を積ませてくださった同部門・海外病研究拠点の研究者及び職員の皆様に感謝いたします。

## 引用文献

- [1] 舛甚賢太郎, 他: ロシア及び東欧諸国におけるアフリカ豚コレラ (ASF) の発生とその現状について, 日本豚病研究会報, 72, 1-7 (2018)
- [2] 農林水産省動物検疫所: 中国等アジア地域からの旅客携帯品の豚肉等におけるアフリカ豚熱ウイルス遺伝子検査陽性例について (2021)
- [3] 岩手県商工労働観光部観光・プロモーション室: 令和元年版岩手県観光統計概要 (2020)
- [4] 山川陸, 山田学: アフリカ豚コレラ, 日獣会誌, 69, 240-242 (2016)

## 文 献 抄 録

### *Inter-laboratory comparison of six real time polymerase chain reaction assays for detection of bovine leukemia virus proviral DNA*

Jaworski J. P., Pluta A., Rola-Luszczak M., McGowan S. L., Finnegan C., Heenemann K., Carignano H. A., Alvarez I., Murakami K., Willems L., Vahlenkamp T. W., Trono K. G., Choudhury B., Kuzmak J.

(Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), CICVyA, Instituto de Virología, Argentina)  
J Clin Microbiol Jun 25;56 (2018)

定量的リアルタイム PCR (qPCR) 法は、牛白血病ウイルス (BLV) プロウイルス DNA の検出によく使用されている。それにもかかわらず、qPCR 法の検証および標準化の品質管理は、現在まで行われていない。そのため、本研究では、OIE (国際獣疫

事務局) の 3 つのレファレンス研究室および 3 つのコラボレーティング研究室において、既に関連されて入手可能な 6 つの qPCR 法について、研究室間でのばらつきを測定した。この目的のために、qPCR 法の測定範囲をカバーするような 58 の DNA サンプルが国際的に集められ、6 つの研究室に配布された。定性的な試験結果に基づく、6 つの研究室間での全体的な一致度は中程度であった。しかし、BLV プロウイルス DNA のコピー数の測定では、有意なばらつきが研究室間で観察された。qPCR 法は、経験豊富なスタッフが実施した場合でも、国際的なハーモナイゼーションがなければ、BLV プロウイルス DNA のコピー数に大きなばらつきを生じる可能性がある。種々の因子のさらなる標準化 (すなわち統一されたプロトコルおよび校正物質の使用) は、研究室間での実験結果の一致を増加させるはずである。

(岩手大学獣医微生物学研究室)