

豚コレラに関する特定家畜伝染病防疫指針

平成 1 8 年 3 月 3 1 日
農 林 水 産 大 臣 公 表

【目次】

(前文)

第1 基本方針

1 発生予防

(1) 衛生管理の徹底（侵入防止）、(2) 早期発見・早期通報

2 殺処分等

3 移動の制限及び家畜集合施設における催物の開催等の制限

4 ワクチン

第2 防疫措置

1 異常豚の発見の通報から病性決定までの措置

(1) 異常豚の通報、(2) 家畜防疫員及び家畜保健衛生所の措置、
(3) 都道府県畜産主務課の措置、(4) 動物衛生課の措置、(5) 病性の決定

2 病性決定時の措置

(1) 発表、(2) 防疫対策本部の設置、(3) 家畜防疫員の動員、
(4) 農林水産省等からの防疫専門家の派遣、(5) 公示、通報及び報告

3 発生農場における措置

(1) 一般緊急措置、(2) 殺処分、(3) 死体の処理、(4) 消毒等、
(5) 汚染物品の処理、(6) 人員の確保、
(7) 防疫従事者の入退場時及び退場後の留意点、(8) その他

4 と畜場等の農場以外の場所で発見された場合の措置

(1) と畜場、(2) 家畜市場等、(3) 野生いのしし

5 移動の制限及び家畜集合施設における催物の開催等の制限

(1) 移動の制限等、(2) 移動制限区域内における指導事項、(3) その他

6 疫学調査に基づく関連農場における措置

7 ワクチン

8 感染源及び感染経路の究明

第3 防疫対応の強化

1 危機管理体制の構築

2 試験研究機関等との連携

3 清浄性の維持確認のための調査

(1) 臨床検査による異常豚の摘発及び病性鑑定、(2) 種豚等の抗体保有状況調査、
(3) 野生いのししの調査、(4) 病性鑑定材料を用いた調査

豚コレラは、豚コレラウイルスの感染によって起こる豚（いのししを含む。以下同じ。）の家畜伝染病である。一般的に、死亡率が高く、伝播力が強いことから、万一発生した場合には莫大な経済的被害が生じるほか、国あるいは地域ごとに豚、畜産物等に厳しい移動制限が課され、国際流通にも大きな影響を及ぼすこととなる。このため、国際的にも最も警戒すべき家畜の伝染性疾病の一つとして、その制圧と感染拡大防止が図られている。

かつて、本病は全国的にまん延していたが、飼養衛生管理技術の向上及び1969年（昭和44年）に農林省家畜衛生試験場で開発された生ワクチンの実用化により、その発生は激減し、1992年（平成4年）を最後に本病の発生は確認されていない。

このため、1996年度（平成8年度）から、近年の発生状況、予防意識の向上等を勘案して、ワクチンを使用しない防疫体制を確立し、本病の完全な清浄化を達成することを目標に掲げ、段階的な撲滅対策を開始した。第1段階として、野外ウイルスの撲滅を目的としたワクチン接種の徹底と併せ、抗体調査等による本病発生の有無の確認を推進した。その結果、本病の発生が確認されなかったことから、1998年度（平成10年度）からは、第2段階に移行することとし、都道府県ごとにワクチンの接種等の対策の進捗状況を勘案し、順次、ワクチン接種中止地域として指定し、ワクチン接種を中止した。さらに、ワクチン接種中止地域の指定、野外ウイルスの動態、防疫体制の確立等の状況を踏まえ、2000年（平成12年）10月から、原則として全国的にワクチン接種を中止した。以降、約5年が経過しており、我が国に野外ウイルスは存在しないと考えられる。

本病の病原体が国内へ侵入する要因としては、感染豚、汚染畜産物、船舶又は航空機の汚染厨芥、飼料、敷料、人等が考えられる。貿易の自由化が進展し、海外からの家畜、畜産物、飼料原料及び資材の輸入が増大している中では、すべての侵入リスクを完全に排除することは困難であるが、病原体の侵入の可能性を排除するために、国際獣疫事務局（OIE）が定める国際動物衛生規約に基づき、動物検疫を始めとする侵入防止措置がとられている。

本指針は、このような認識に立ち、農林水産省、都道府県、市町村等の連携の下、総合的に実施すべき発生予防及びまん延防止措置の方向を示すことを目的とする。

なお、本指針については、少なくとも5年ごとに再検討を加えるとともに、必要があると認めるときは随時見直しを行うこととする。

また、農林水産省消費・安全局長は、本指針に基づく発生予防及びまん延防止措置の迅速かつ円滑な実施に当たっての留意事項を別に定めるものとする。

第1 基本方針

本病の防疫対策は、第一に病原体の侵入を防止すること、第二に本病が発生した場合にはその被害を最小限に抑えることが基本となる。このため、国内で発生した際には、国際的な本病清浄国の防疫原則に則り、殺処分により本病の撲滅を図り、常在化を防止する対策を実施することが重要である。

関係者にあつては、本病の防疫措置の重要性を十分認識し、すべての関係者が一体となって侵入防止による清浄性の維持及び早期発見のための監視体制の強化を図るとともに、発生時における迅速かつ的確なまん延防止対策が講じられるよう、危機管理体制を構築しておくことが必要である。

1 発生予防

(1) 衛生管理の徹底（侵入防止）

本病は、一般に、感染した豚又は本病の病原体に汚染された排せつ物、飼料、ねずみ等の野生動物、人、飼養管理に必要な器具若しくは車両等との接触により感染する。このため、都道府県は、獣医師及び関係団体と連携し、豚の所有者（管理者を含む。以下同じ。）に対し、本病の発生の予防に関する知識の普及・啓発に努めるとともに、的確な発生予防措置が講じられるよう、家畜伝染病予防法（昭和26年法律第166号。以下「法」という。）第12条の3の規定に基づく飼養衛生管理基準の遵守による豚の適切な衛生管理の方法について助言又は指導を行う。

また、豚の出荷及び導入、農場への人及び車両の入退出等を記録した衛生管理簿を整備し、保存するよう指導するほか、畜産物を含む食品残さを給与している豚の所有者に対し、当該食品残さについて適切な処理を行うこと及び未処理の食品残さについては、豚の飼養場所と完全に隔離することについて指導し、これらの衛生管理の状況につき、法第51条の規定に基づく立入検査、巡回指導、獣医師からの報告等により定期的に確認する。

さらに、飼料供給関係者に対し、飼料製造施設、飼料中継基地等飼料関係施設での入退出時の車両等の消毒に努めるとともに、車両運行記録を整備し、保存すること、と畜場関係者及び家畜市場関係者に対し、関係施設での入退出時の車両等の消毒並びに出荷豚積降し場所及び係留場所の消毒に努めるとともに、出荷豚又は上場豚に係る記録を整備し、保存することについて指導する。

(2) 早期発見・早期通報

本病は、急性型のほか、経過が長い慢性型等多様な病型を示すほか、第2の1の(1)のアからクまでに掲げる臨床症状を示さない場合もある。家畜防疫員は、豚の所有者に対し、日常の健康観察を徹底するよう指導するとともに、豚の所有者及び獣医師に対し、通常と異なる何らかの異常を確認した場合には、直ちにその旨を家畜保健衛生所に通報するよう指導し、又は依頼する。

2 殺処分等

(1) 本病が発生した場合は、法第17条の規定に基づく患畜及び疑似患畜（以下「患畜等」という。）の殺処分、法第21条の規定に基づく患畜等の死体の焼却等、法第23条の規定に基づく汚染物品の焼却等、法第25条の規定に基づく畜舎等の消毒等の必要なまん延防止措置を早急に実施する必要がある。このようなまん延防止措置は、原則として豚又はその死体等の所有者が行うこととなるが、都道府県は、農林水産省、市町村、関係機関及び関係団体と連携し、当該所有者に積極的に協力する。また、本病のまん延を防止するため緊急の必要がある場合は、法の規定に基づき、家畜防疫員自らがこれらのまん延防止措置を実施する。

(2) 患畜等の死体及び汚染物品は発生地（患畜等の所在する場所を含む。以下同じ。）において焼却、埋却又は消毒をすることを原則とするが、その数量、現地の地形等によって発生地で実施困難な場合は、適切な消毒の実施等病原体の拡散防止に万全を期しつつ、他の場所（化製場を含む。）に運搬し、焼却、埋却又は化製をする。

このため、都道府県は、その所有者が患畜等の死体及び汚染物品の処理を速やか

に実施できるよう、あらかじめ市町村等と協議を行い、その処理方法を検討するとともに、焼却、埋却等の場所の確保に努めるよう指導及び助言を行う。また、都道府県及び市町村は、関係機関及び関係団体と連携して、本病の集団発生等により多数の患畜等の死体及び汚染物品が生じる場合を想定し、焼却、埋却又は化製が可能な施設のリストアップ、発生時の相談窓口の確認及び事前説明並びに関係団体等が行う患畜等の死体等の運搬及び処理体制の整備についての指導・推進に努める。

3 移動の制限及び家畜集合施設における催物の開催等の制限

豚及びその死体等の移動の制限並びに家畜集合施設における催物の開催等の制限は、本病のまん延防止を図る上で極めて重要な防疫措置であり、関係者の理解と協力を得て効果的に実施する。

移動の制限等の規制は、法第32条第1項、第33条及び第34条の規定に基づき、都道府県知事が規則を定めて行うことを原則とするが、制限が広範囲の地域に及ぶ場合等必要があるときは、農林水産大臣が都道府県知事に対し、これらの規制措置を実施すべき旨を指示し、又は法第32条第2項の規定に基づき、自ら区域を指定し、豚及びその死体等の移動を制限する。

4 ワクチン

(1) 本病の現行のワクチンは、感染を防御する能力を有するほか、その効果が接種後短期間で現れること、その性状から野外ウイルスと識別可能であること等の優れたワクチンとされている。しかしながら、ワクチンを接種した豚については、本病の抗体検査において、その抗体が野外ウイルスの感染によるものか、ワクチン接種によるものかを識別できず、野外ウイルスの感染を隠匿する可能性がある。このため、我が国における本病の防疫措置としては、早期の発見と患畜等の迅速な殺処分により、短時間のうちに制圧することが最も効果的な方法である。

しかしながら、万が一、大規模農場で本病が発生し、又は同一の防疫区域内の複数の農場で本病が続発し、発生農場の患畜等の迅速なとう汰が困難となり、又は困難になるおそれがあると判断される場合には、法第31条の規定に基づくワクチンの使用を検討することとなるが、都道府県は、ワクチンの使用に当たっては、事前に農林水産省と協議し、計画的な接種を行うことが必要である。

(2) 農林水産大臣は、ワクチン及び注射関連資材の備蓄に努めるとともに、ワクチン接種の実施に当たっては、法第49条の規定に基づき、これらを都道府県に譲与し、又は貸し付ける措置を講ずる。また、都道府県は、緊急時の防疫資材の入手方法等を検討するとともに、初動防疫に必要な資材の備蓄に努める。

第2 防疫措置

1 異常豚の発見の通報から病性決定までの措置

(1) 異常豚の通報

本病の臨床症状を示す異常豚の発見から防疫対応に至るまでの初動防疫を迅速に実施することが、本病のまん延を防止する観点から極めて重要である。したがって

、都道府県は、豚の所有者に対し、常日頃から飼養豚の状態を観察し、次に掲げる臨床症状が通常以上の頻度で見られた場合には、直ちに獣医師の診察を求めるとともに、家畜保健衛生所に通報するなど、早期発見・早期通報に努めるよう指導する。

ア 発熱、元気消失、食欲減退

イ 便秘、下痢

ウ 結膜炎（目やに）

エ 歩行困難、後躯麻痺、けいれん

オ 耳翼、下腹部又は四肢等の紫斑

カ 削瘦、被毛粗剛（いわゆる“ひね豚”）

キ 異常産の発生

ク アからキまでに掲げる臨床症状のいずれかを伴う死亡

（２）家畜防疫員及び家畜保健衛生所の措置

豚の所有者又は獣医師から通報を受けた家畜防疫員及び管轄の家畜保健衛生所（以下「管轄家畜保健衛生所」という。）は、次に掲げる対応を行う。また、法第５条、第３１条又は第５１条の規定に基づく検査時に家畜防疫員が異常豚を発見した場合であっても、これに準じて措置する。

ア 通報を受けた家畜防疫員は、異常豚の臨床症状、臨床症状の初発時期、臨床症状を示す豚の月齢及び頭数、当該農場の飼養頭数、飼養豚の移動状況等を聴き取り、記録し、緊急的な措置について次に掲げる指導等を行う。

（ア）異常豚の所有者に対する指導事項

a 豚コレラという極めて悪性の伝染病に似ていることを十分に説明すること。

b 農場内のすべての豚を隔離すること。

c 農場の出入口を必要最小限に限定し、人及び車両の入退出を制限すること。

d 農場の出入口及び豚舎の出入口に消毒槽を設置すること。ただし、既に設置されている場合には、消毒液を取り替えること。

e 第１の１の（１）の衛生管理簿を整理すること。

（イ）異常豚を診断し、又は検案した獣医師に対する依頼事項

a 家畜防疫員の現地到着まで当該農場にとどまり、（ア）のbからdの事項が遵守されるよう助言し、及び指導すること。

b 豚房ごとに臨床症状を観察し、記録し、症状の重篤な豚について体温測定を実施すること。

c 当該農場を退出する場合には、退出前に、身体、衣服、眼鏡その他の携行用具の消毒並びに車両の洗浄及び消毒を行い、直ちに帰宅するとともに、帰宅後は、更に車両、携行用具、衣服等の消毒を行い、入浴して身体を十分に洗うこと。

d 異常豚が本病でないと判明するまでは、他農場への出入りを自粛すること。やむを得ず他農場へ入場する場合には、入場日時、経路等について確実に記録すること。

イ 通報を受けた家畜防疫員は、管轄家畜保健衛生所長に当該通報について報告し、都道府県畜産主務課にアの聴取りの内容、農場立入予定時刻等について連絡する。

ウ 管轄家畜保健衛生所長は、イの報告を受けた後、直ちに家畜防疫員に必要な用具を携行させ現地に急行させるとともに、当該農場に立ち入る家畜防疫員、管轄家畜保健衛生所及び都道府県畜産主務課の間の連絡担当者の設置並びに現地周辺の豚の飼養状況等の関連資料の準備を行う。

エ 家畜防疫員は、現地到着後、原則として車両を農場の外に置いて、防疫衣を着用し、現地に携行した用具をもって農場内に入る。

オ 家畜防疫員は、臨床検査及び直近の他農場からの豚の導入状況等の疫学調査を行い、症状の重篤な豚及びこれと同居している複数頭（30頭以上）の豚について体温測定を行う。

カ オの検査により、本病が否定できない場合には、家畜防疫員は次に掲げる対応を行う。なお、本病が否定される場合にも（ア）の連絡を行い、必要に応じて、（ウ）に準じた対応を行う。

（ア）オの検査及び調査の結果並びに判断の根拠をウの連絡担当者に連絡する。連絡担当者は、管轄家畜保健衛生所長に報告し、確認の上、都道府県畜産主務課に連絡する。

（イ）異常豚の所有者に対し、（5）の病性鑑定の結果が出るまでの期間、アの（ア）のbからdまでの事項を遵守するよう再度指導する。

（ウ）必要な病性鑑定用材料を採取し、材料採取後は病性鑑定を行う家畜保健衛生所へ運搬する旨連絡し、病原体の拡散防止に留意しつつ、当該材料を病性鑑定を行う家畜保健衛生所へ運搬する。

（エ）病性鑑定用材料搬出後、速やかに6の関連農場を特定するための疫学調査を実施する。

キ カの（ア）の本病を否定できない旨の報告を受けた管轄家畜保健衛生所長は、ウの関連資料の整理、2の（2）のアの現地対策本部の設置の準備等初動防疫の実施に向けた準備を行う。

（3）都道府県畜産主務課の措置

ア （2）のイの連絡を受けた場合には、患畜等の発生の場合を想定し、各家畜保健衛生所等との緊急連絡体制、初動防疫に必要な家畜防疫員等の人数及び防疫資材の調達計画等を確認し、病性鑑定を行う家畜保健衛生所に必要な器具及び器材の準備を行うよう連絡する。

イ （2）のカの（ア）の本病を否定できない旨の連絡を受けた場合には、各家畜保健衛生所等に、必要な家畜防疫員の待機を指示するとともに、2の（2）のアの都道府県対策本部の設置の準備を行う。また、農林水産省消費・安全局動物衛生課（以下「動物衛生課」という。）に、異常豚及びその飼養農場の状況、現地周辺の豚の飼養状況等について連絡する。なお、本病が否定される旨の連絡を受けた場合には、否定されると判断する根拠について、十分に確認する。

（4）動物衛生課の措置

ア （3）のイの本病を否定できない旨の連絡を受けた場合には、独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構動物衛生研究所（以下「動物衛生研究所」という。）に連絡するとともに、臨床症状、疫学調査等の診断の参考となる情報の収集、防疫措置の実施又は準備等の状況を確認し、都道府県畜産主務課に必要な指

示を行う。

イ 2の(2)のアの中央対策本部の設置の準備を行うとともに、動物医薬品検査所、動物検疫所等に連絡し、協力体制の準備を依頼する。

ウ 都道府県畜産主務課に周辺の豚の飼養状況を確認し、7のワクチンの接種が想定される場合には、ワクチン及び注射関連資材の必要数量、受渡し方法等について検討し、関係機関に連絡する。

(5) 病性の決定

ア 病性鑑定を行う家畜保健衛生所は、(2)のカの(ウ)の材料の到着後直ちに病性鑑定を実施し、病性鑑定終了後直ちに、管轄家畜保健衛生所及び都道府県畜産主務課にその結果を連絡する。

イ アの連絡を受けた管轄家畜保健衛生所及び都道府県畜産主務課は、臨床検査、疫学調査等の結果も踏まえ、当該病性鑑定の結果について検討する。なお、都道府県畜産主務課は、必要に応じて、動物衛生課に協議し、また、協議を受けた動物衛生課は、必要に応じて、動物衛生研究所及び専門家の意見を聴く。

ウ アの病性鑑定により本病が否定できない場合であって、動物衛生研究所で病性鑑定を実施する必要がある場合には、動物衛生課は、その旨動物衛生研究所に連絡し、搬入すべき材料、必要な疫学情報等について確認し、その結果を都道府県畜産主務課に連絡する。

エ イの検討結果を踏まえ、原則として、家畜防疫員が次の(ア)から(ウ)までに掲げるところにより、患畜等又は患畜となるおそれがある家畜(法第14条第3項の規定に基づく患畜となるおそれがある家畜をいう。以下同じ。)の決定を行う。

(ア) 患畜

抗原検査において陽性とされた豚

(イ) 疑似患畜

a 患畜と同一農場(飼養管理形態等により、家畜防疫員が患畜が飼養されている豚舎と防疫上区別することが可能と判断した豚舎を除く。以下同じ。)で飼養されている豚

b 過去一定期間(患畜又はその他の家畜が異常を示した日を起算日とする14日以上)の期間で、疫学調査に基づき、農場内に本病の病原体が存在していたと推定される期間。以下同じ。)内に発生農場で飼養されていた豚

c 過去一定期間内に患畜から採取された精液を用いて人工授精を行った豚

d その他家畜防疫員が臨床検査、疫学調査又は病性鑑定により患畜である疑いがあると判断した豚(野外ウイルスに対する抗体であることが否定できない抗体が検出された豚を含む。)

(ウ) 患畜となるおそれがある家畜

a 家畜防疫員が、患畜が飼養されている豚舎と防疫上区別することが可能と判断した豚舎で飼養されている豚

b 疑似患畜と同一農場で飼養されている豚及び過去一定期間内に疑似患畜と同一農場で飼養されていた豚

c 過去一定期間内に疑似患畜と同一農場で飼養されていた豚と同居している

- 豚
- d 過去一定期間内に疑似患畜から採取された精液を用いて人工授精を行った豚
- e 過去一定期間内に発生農場に豚を出荷した農場の豚及び過去一定期間内に患畜に人工授精を行った精液を採取した豚
- f その他家畜防疫員が臨床検査、疫学調査又は病性鑑定により患畜となるおそれがある家畜と判断した豚

2 病性決定時の措置

(1) 発表

- ア 発表内容は、あらかじめ定めた様式を参考に、動物衛生課と都道府県畜産主務課とで調整する。
- イ 発表に先立ち、発表の概要、今後の防疫の対応方向等について、動物衛生課は地方農政局及び関係府省庁の担当部局等関係機関に、都道府県畜産主務課は動物衛生課と調整した上で、都道府県食品衛生担当部局等関係機関、関係市町村及び関係団体に連絡し、防疫活動についての協力を依頼する。
- ウ 発表は、農林水産省と都道府県とがそれぞれ行う。この場合、農林水産省と都道府県は、あらかじめ整備している情報提供ルートに沿って発表内容を関係者に周知する。
- エ 動物衛生課及び都道府県畜産主務課に広報担当者を置く。
- オ 新たな発生、移動の制限等の事実関係は、必要に応じ、その都度新聞社、テレビ局等の報道機関に資料を配布するほか、定期的に広報用資料を作成し、関係者に配布する。

(2) 防疫対策本部の設置

- ア 管轄家畜保健衛生所等に豚コレラ現地防疫対策本部（以下「現地対策本部」という。））、本病の発生都道府県に豚コレラ都道府県防疫対策本部（以下「都道府県対策本部」という。）及び農林水産省に豚コレラ中央防疫対策本部（以下「中央対策本部」という。）をそれぞれ設置する。
- イ 各対策本部の設置を公表し、現地対策本部においては、必要に応じ、あらかじめ定めた様式を参考に、本病の概要、留意点等を記載した文書を作成し、関係者に配布する。関係機関及び関係団体には、対策本部を設置した旨を連絡し、防疫活動についての協力を要請する。

(3) 家畜防疫員の動員

都道府県畜産主務課及び管轄家畜保健衛生所は、必要な人数の家畜防疫員に対して集合を命じ、その他の家畜防疫員についても当分の間（約2週間）、その所在を把握する。その後の発生状況等に応じて、本病が発生した都道府県の家畜防疫員では対応が困難と判断される場合には、動物衛生課に対して、不足人数、派遣要請期間及び予定活動内容を連絡し、他都道府県の家畜防疫員及び関係機関の人員の派遣について調整を依頼する。

(4) 農林水産省等からの防疫専門家の派遣

動物衛生課は、必要に応じ、動物衛生研究所、動物医薬品検査所、動物検疫所等

関係機関の協力を得て防疫の専門家を発生都道府県に派遣し、防疫に関する技術的助言を行う。

(5) 公示、通報及び報告

都道府県は、法第13条第4項の規定に基づき本病の発生を公示するとともに、関係機関に通報及び報告を行う。

3 発生農場における措置

(1) 一般緊急措置

- ア 現地対策本部は、現地対策本部長等を総括責任者として定め、業務分担及び指揮命令系統を明らかにしておく。
- イ 家畜防疫員は、豚の所有者に対し、本病の概要、法の趣旨、所有者の義務、都道府県等の協力方針、法第52条の2の規定により行政不服審査法（昭和37年法律第160号）による不服申立てに制限がある旨等について説明を行う。
- ウ 患畜等の殺処分、死体の処理、消毒、汚染物品の処理等に必要な人員、資材、薬品等の準備並びに関係機関及び関係団体への連絡は、現地対策本部で実施する。このため、現地の家畜防疫員は、殺処分予定頭数、殺処分の方法、死体の処理方法、家畜共済及び家畜防疫互助事業への加入の有無、消毒面積等の防疫措置に必要な事項について現地対策本部に確認し、指示を受ける。
- エ 農場の外部の見やすい場所に発生の標示と立入禁止の掲示を行い、門を閉じるか綱を張るなどし、出入口を必要最小限に限定する。当該出入口には、消毒槽及び噴霧消毒施設を設ける。
- オ 病原体に汚染するおそれのあるすべてのもの（庭及び道路を含む。）に十分な消毒液を散布する。この場合において、豚の飼養管理等に使用した衣類、飼育管理用器具等についても同様とする。
- カ からす、ねずみ等野生動物を駆除するとともにその侵入防止対策を講じる。

(2) 殺処分

- ア 1の(5)のエの(ア)の患畜及び(イ)の疑似患畜については、法第17条の規定に基づき都道府県知事による殺処分命令を行う。
- イ 法第58条第4項に定める評価人の現地到着を待って、殺処分予定畜の評価を行う。評価人は、評価を行う場合には、防疫衣を着用し、病原体の拡散防止に細心の注意を払う。
- ウ 家畜防疫員は、殺処分に先立って、評価人の評価に基づき、へい殺畜等手当金交付規程（昭和32年2月11日農林省告示第119号）別記様式第2号による「動物評価意見具申書」に準じた評価書を作成し、殺処分を進める。手当金交付の適正を期すため、個体（肥育豚にあっては、群ごとの代表的な個体）ごとに写真を撮影しておく。
- エ 殺処分を行う場所は、豚舎内又はその後の死体処理に便利な場所のいずれでも良いが、公衆の目に触れない適当な場所を選定する。
- オ 豚舎外で殺処分を行う場合には、柵等を用意し、又は十分な保定を行い、豚の逃亡を防止する。
- カ 殺処分は、発症豚に対して優先的に行い、薬殺、電殺等の方法により迅速に行

う。なお、迅速な殺処分又は死体の処理が困難と判断される場合には、発生農場において、7によりワクチン接種を実施し、本病のまん延を防止することができる。

(3) 死体の処理

ア 法第21条の規定に基づき、家畜防疫員の指示の下、原則として、発生農場又はその付近において焼却又は埋却を行う。

イ アの用地の確保が困難な場合には、原則として、殺処分後、適当な焼却場所若しくは埋却場所までコンテナ車両を用いるか、不浸透性のシートで包み運搬して処理するか、又は十分な処理能力を有し、家畜伝染病予防法施行規則（昭和26年農林省令第35号。以下「規則」という。）第17条の基準に適合する化製場において化製する。

ウ 運搬に当たっては、次の点に留意する。

(ア) 積込み前後に車両表面全体の消毒を行う。

(イ) コンテナ車両がない場合は、床及び側面を1枚のシートで覆い、更に死体積載後、上部もシートで覆う。

(ウ) 車両には、消毒液を搭載するとともに、死体を処理する場所まで家畜防疫員が同行する。

(エ) 運搬後は、車両及び資材につき、(5)に準じて直ちに焼却、埋却又は消毒を行う。

エ 焼却又は埋却をする場合は、規則別表第2の基準により行うが、場所の選定に当たっては、所有者及び関係者と事前に十分協議する。埋却の場合は、地質、地下水の高低、水源との関係、臭気対策等を関係機関と協議する。焼却の場合は、火災予防に留意し、消防署等と協議する。

オ 化製する場合は、運搬車両から原料搬入口までシートを敷き詰める、原料置場と製品置場とを隔てて設置する等により汚染防止に留意し、消毒実施状況を確認するため、設備及び資材の消毒が終了するまでの間、家畜防疫員が立会いを行う。

(4) 消毒等

ア 消毒は、その対象物に応じ、規則別表第2の基準により行う。

イ 患畜等の所在した豚舎については、当該患畜等の処分後直ちに不要な器具及び器材の撤去、除糞並びに敷料搬出を行った後、清掃し、洗浄及び消毒を実施する。散布した消毒液は少なくとも24時間放置後洗浄し、再度消毒液を散布し、さらに1週間後に消毒液を散布する。

ウ 豚舎周囲の土地については、乾燥している場合には石灰乳（1平方メートル当たり3リットル）を散布し、湿潤している場合には消石灰（1平方メートル当たり400グラム）又はさらし粉（1平方メートル当たり200グラム）を粉剤のまま一面に散布する。

エ 貯留している尿又は汚水溜については、さらし粉を0.5%濃度にして散布し、攪拌する。

(5) 汚染物品の処理

ア 原則として、発生農場の次に掲げる物品を汚染物品とする。

(ア) 過去一定期間内に患畜等から採取された精液

- (イ) 過去一定期間内に患畜等から排せつされた糞尿（敷料を含む。）
- (ウ) 過去一定期間内に飼養管理に用いた車両及び器具
- (エ) 防疫作業に用いた車両及び器具
- (オ) その他家畜防疫員が本病の病原体により汚染し、又は汚染したおそれがある
と認めた物品

イ 家畜防疫員は、法第23条の規定に基づき汚染物品の所有者に対し、焼却、埋却又は消毒を行うよう指示する。

(6) 人員の確保

ア 現地における防疫措置に必要な人員は、現地対策本部が、関係機関及び関係団体の協力を得て確保する。

イ 防疫措置の遅延によりまん延の拡大が見込まれる場合には、発生都道府県は、動物衛生課の調整の下、他都道府県の家畜防疫員等の派遣要請を行う。

ウ 想定を超える大規模な発生があり、ア及びイによる対応では十分な防疫措置が講じられず、まん延の拡大による当該地域の社会的・経済的混乱が見込まれる場合は、事前に自衛隊災害担当窓口に対し、発生状況、派遣を希望する期間、区域、活動内容等について連絡する等の手続を行い、動物衛生課に連絡の上、都道府県知事から自衛隊への派遣要請を行う。

(7) 防疫従事者の入退場時及び退場後の留意点

ア 入場時は消毒済みの作業着、長靴等を着用する。

イ 退場時には、身体、衣服及び眼鏡を消毒後、入場時着用した作業着等を脱ぎ、手洗い、洗顔及びうがいをを行う。場内で着用した作業着等は、消毒液に浸漬した後ビニール袋に入れ、外装を噴霧消毒した後持ち帰る。

ウ 農場の出入口に仮設テントを設置する等、ア及びイの措置が円滑に実施できるよう配慮する。

エ 帰庁（宅）後、移動に利用した車両の消毒、着用していたすべての衣服の洗濯、入浴及び洗髪を行う。

オ 防疫従事者は、原則として、作業後7日間は発生農場以外の豚に接触しないこととし、やむを得ず接触する場合には、事前に家畜防疫員の指導を受け、エの措置を再度実施する。なお、防疫従事者の確保に当たっては、あらかじめ、豚の飼養の有無を調べ、豚を飼養している場合は、本病のまん延防止の観点から、直接防疫業務に当たらせないなど慎重を期する。

(8) その他

ア 都道府県畜産主務課は、管轄家畜保健衛生所、動物衛生課、関係機関及び関係団体と協力し、発生農場が早期に経営再開できるよう、法第58条の規定に基づく手当金、家畜防疫互助金等の早期交付その他必要な支援に努める。

イ 発生農場へ豚を再導入する場合には、5の(1)のイの制限期間の終了後、豚舎の構造を考慮して、豚房に偏りのないよう、抗体陰性の豚を導入し、40日間飼養し、その期間は当該豚の移動を自粛するよう指導する。更に、当該期間において、臨床的に異常を示した豚については、必要な病性鑑定を行う。当該期間終了後、飼養豚のうち無作為に抽出した一定頭数が抗体陰性であることを確認し、移動の自粛を解除する。

4 と畜場等の農場以外の場所で発見された場合の措置

(1) と畜場

- ア と畜場において、と畜場法（昭和28年法律第114号）第14条の規定に基づく獣畜のとさつ又は解体の検査において本病発生の疑いがあると判断された場合には、直ちに家畜保健衛生所に連絡するよう、都道府県は事前に関係機関に周知する。
- イ アの連絡を受けた家畜保健衛生所は、当該豚及び当該豚と同一農場から出荷された豚を、法第14条第3項の規定に基づく患畜となるおそれがある家畜として、一定の区域外へ移動させてはならない旨を指示し、当該豚を出荷した農場については、1の(2)に準じた防疫措置を行う。
- ウ 病性鑑定の結果、当該豚が本病の患畜等と診断された場合には、当該豚、必要に応じて当該豚と同一農場から出荷された豚について、原則として場所を移動せずに殺処分を行い、3の(3)に準じた防疫措置を行う。
- エ 当該と畜場及び関連施設については、必要に応じて、法第25条の規定に基づく消毒を実施する。
- オ 当該豚が本病の患畜等と診断される前に、と畜場で当該豚と同居した後に農場に返送された豚については患畜となるおそれがある家畜としての防疫措置を実施する。

(2) 家畜市場等

上場豚又は出品豚（以下単に「上場豚」という。）が本病の患畜等と診断された場合には、当該家畜市場等の他の上場豚は患畜となるおそれがある家畜としての防疫措置を実施するとともに、患畜等と診断された上場豚を飼養していた農場を発生農場として取り扱い、当該農場を中心としたまん延防止措置を講じる。

なお、家畜市場等の発見場所については、法第25条の規定に基づく消毒を実施する。

(3) 野生いのしし

野生いのししで本病の感染が認められ、当該いのししの生息地域周辺の農場へのまん延のおそれがある場合には、都道府県畜産主務課は、飼養豚への緊急ワクチン接種を含めた防疫対応について、動物衛生課と協議する。

5 移動の制限及び家畜集合施設における催物の開催等の制限

都道府県は、患畜等の発生を確認し、本病のまん延を防止するため必要があるときは、防疫区域と監視区域（以下「移動制限区域」という。）に区分し、法第32条第1項、第33条及び第34条の規定に基づき、移動の制限及び家畜集合施設における催物の開催等の制限を行う。

(1) 移動の制限等

ア 区域の範囲

(ア) 原則として、発生農場を中心とした半径3km以内の区域を防疫区域、防疫区域に外接する発生農場を中心とした半径10km以内の区域を監視区域として定める。

(イ) 範囲の設定については、市町村等の行政単位又は道路、河川、鉄道等その他

境界を明示するのに適当なものに基づき定める。

イ 制限期間

発生の確認後速やかに規制し、その制限期間は、原則として、最終発生に係る防疫措置の完了後、防疫区域にあっては30日以上、監視区域にあっては14日以上、それぞれ発生状況、30日目以降又は14日目以降に実施する清浄性の確認状況等を勘案して、動物衛生課と協議の上、最終的な期間を決定する。

ウ 制限内容

- (ア) 豚及びその死体並びに移動制限区域内で採取された精液及び受精卵、使用された飼養管理器具、敷料、飼料、排せつ物等の本病の病原体をひろげるおそれのある物品の移動を禁止する。
- (イ) 家畜市場その他豚を集合させる催物の開催を中止する。
- (ウ) 人工授精を中止する。

エ 制限の例外

本病の発生状況、搬出・搬送・搬入時及び移動先における病原体の拡散防止措置の状況等を勘案して、動物衛生課と協議の上、次により制限の例外を設けることができる。

- (ア) 防疫区域については制限後14日目以降、監視区域については制限後7日目以降、疫学調査、臨床検査及び必要に応じて実施する病性鑑定により、家畜防疫員が本病のまん延のおそれがないと判断した農場の豚のと畜場への出荷
 - (イ) 次に掲げるすべての条件を満たす場合における死体、敷料又は排せつ物の処理施設、畑地等への移動
 - a 家畜防疫員が環境保全上やむを得ないと認める場合
 - b 家畜防疫員が、臨床検査及び必要に応じて実施する病性鑑定により、当該農場の家畜に異常がないことを確認した場合
 - c 移動に当たって、家畜防疫員の指示に従い、適切な病原体拡散防止措置を講じるとともに、その経過を確実に記録する場合
 - (ウ) 豚の所有者が、自農場の臨床的な異常がない豚から採取した精液を用いて、自ら行う人工授精の再開
 - (エ) 豚の所有者が、移動制限区域以外で飼養されている豚から採取された精液を用いて、自ら行う人工授精の再開
 - (オ) その他家畜防疫員が本病の病原体をまん延させるおそれがないと認めた場合
- (2) 移動制限区域内における指導事項

家畜防疫員は、移動制限区域内において、次に掲げる事項について関係者への指導を行う。

ア 豚の飼養場所への畜産関係者の出入りの自粛及び入退場時の消毒

イ 飼料運搬時の運搬車の消毒、運搬経路の検討、飼料受渡し場所の制限等の病原体の拡散防止措置及び運搬経路の記録

ウ 獣医師が豚の診療を行う場合の最小限の器具及び薬品の携行、農場入退場時の身体、器具、車両等の消毒、消毒又は廃棄が容易な診療衣、診療器具等の着用又は使用、診療車両の農場敷地内への乗入れ自粛等の病原体の拡散防止措置並びに

診療経路の記録

エ 死亡獣畜取扱場、化製場及びと畜場における入退場車両の消毒

オ アからエまでの事項を履行するための移動制限区域境界付近及び移動制限区域内における共同車両消毒施設の設置

カ 野生いのししと豚の接触が想定される地域にあつては、接触防止のための豚舎出入口の囲障の設置等

(3) その他

ア 移動制限区域については、その設定に関し、その都度関係機関及び関係団体に連絡するとともに、報道機関等を通じて広報し、その境界の主要道路にその旨を標示する。

イ 制限の履行の監視及び共同車両消毒施設の円滑な運用を図るため、運送業者等への連絡を行うほか、関係機関及び関係団体の協力を得る。

ウ 豚の所有者に対して、(1)のイの制限期間中、法第52条の規定に基づき、定期的に死亡頭数等の状況を報告するよう求めるとともに、必要に応じて、立入検査等を実施する。

6 疫学調査に基づく関連農場における措置

(1) 都道府県は、発生農場の疫学調査を行い、発生農場と関連のある次に掲げる農場について、飼養豚の死亡頭数の状況等異常の有無を確認する。また、必要に応じて、獣医師、関係機関、関係団体等の協力を得て、立入検査等を実施する。

ア 過去一定期間内の発生農場からの出荷先農場。ただし、発生農場が精液を販売していた場合には販売先農場、家畜市場に上場していた場合には当該上場豚購入農場

イ 過去一定期間内の発生農場の導入元農場。ただし、発生農場が精液を購入していた場合には販売元農場、家畜市場から購入していた場合には当該導入豚出荷農場

ウ 防疫区域内に所在する農場

エ 発生農場に定期的に入退場する人及び車両が関係する農場

オ 監視区域内に所在する農場

カ 過去一定期間内に発生農場から家畜市場に上場があつた場合には、当該家畜市場上場豚購入農場

(2) 家畜防疫員は、1の(5)のエの(ウ)の患畜となるおそれがある家畜について、法第14条第3項の規定に基づき、14日以上期間、当該家畜を当該農場外へ移動させてはならない旨を指示するとともに、当該期間中、飼養豚の死亡頭数の状況等異常の有無を確認し、必要に応じて、立入検査等を実施する。

14日目以降に実施する立入検査等の結果、当該家畜が患畜となるおそれがある家畜ではないと判断された場合には、移動させてはならない旨の指示を解除する。

7 ワクチン

都道府県知事は、原則として、大規模農場で本病が発生し、又は同一の防疫区域内の複数の農場で本病が続発し、発生農場の飼養豚の迅速なとう汰が困難となり、又は

困難になるおそれがあると判断される場合に、法第31条の規定に基づき、以下のとおりワクチン接種を実施する。農林水産大臣は、必要に応じ、法第47条の規定に基づきワクチン接種を実施すべき旨を指示する。

- (1) ワクチン及び注射関連資材の備蓄場所は、原則として、動物検疫所その他必要な場所とし、発生時に必要に応じて発生地域を含む関係都道府県の施設等に運搬する。
- (2) 動物衛生課は、発生状況等を踏まえ、ワクチンの使用を検討する。動物衛生課からワクチン接種指示の連絡を受けた都道府県畜産主務課は、接種地域、接種頭数等について、動物衛生課と協議する。
- (3) ワクチン及び注射関連資材は、法第49条の規定に基づき都道府県に譲与し、又は貸し付ける。当該都道府県畜産主務課は、譲与又は貸付けの申請書及び受領証を動物衛生課に提出する。
- (4) ワクチン接種は、原則として、譲与され、又は貸し付けられたワクチンの用法及び用量に従い、法第31条の規定に基づき、家畜防疫員が迅速かつ計画的に実施する。注射事故があった場合には、速やかに動物衛生課に連絡し、その指示に従う。都道府県畜産主務課は、ワクチン接種後、ワクチンの使用状況等について、動物衛生課に連絡する。
- (5) 都道府県畜産主務課は、ワクチン接種を実施した豚（以下「接種豚」という。）について、規則第13条の規定に基づき標識を付し、接種豚を飼養する農場については、法第32条第1項の規定に基づき、その移動を制限するとともに、すべての接種豚が処分等されるまでの間、家畜防疫員による定期的な検査等の監視を行う。

8 感染源及び感染経路の究明

本病の感染源及び感染経路を究明し、発生予防に資するため、都道府県畜産主務課は、動物衛生課と連携し、動物衛生研究所等の協力を得て、発生農場及び関連農場における調査を基礎とし、家畜、人、車両及び物品の移動、畜産物を含む食品残さ等の飼料の利用、野生動物との接触の可能性等を網羅的に調査する。

農林水産省は、これらの調査の結果に基づく専門家からの助言を踏まえ、感染源及び感染経路の究明に努める。

第3 防疫対応の強化

1 危機管理体制の構築

本病は、発生予防からまん延防止に至るまで、様々な関係機関が連携して対応することが必要となる。このため、日頃より本病発生時の通報・連絡体制を確認するなど、農林水産省、都道府県及び市町村の各段階で、危機管理体制の構築に努める。

また、都道府県は、万一の発生の際に、円滑な防疫措置を講じることができるよう、隣接都道府県及び都道府県内関係者の参加を幅広く求め、防疫措置についての打ち合わせ及び発生時を想定した防疫演習を実施し、まん延防止体制の調整、周知、点検及び改善に努める。

2 試験研究機関等との連携

本病の発生予防やまん延防止措置を的確に推進していくためには、本病に関する知見の収集やより効果的な防疫手法の開発が重要であり、こうした観点から、社会的、経済的側面にも配慮しつつ本病病態解明の研究を積極的に推進していくことが必要である。このため、農林水産省は、動物衛生研究所等の試験研究機関との連携を強化し、研究の充実に努めるとともに、研究成果が相互に活用できる体制整備に努める。

また、本病は、世界各国で発生が見られることから、国際的な発生状況の把握や本病に関する知見の収集に努めるため、農林水産省は、海外の政府機関・試験研究機関、国際獣疫事務局（OIE）その他の国際機関との積極的な情報交換に努める。

3 清浄性の維持確認のための調査

本病の清浄性の維持確認のため、都道府県畜産主務課は、次に掲げる調査を実施する。

(1) 臨床検査による異常豚の摘発及び病性鑑定

原則として毎年度1回、当該都道府県内のすべての農場について立入検査等を行い、臨床検査による異常豚の摘発及び当該異常豚の病性鑑定を実施する。

(2) 種豚等の抗体保有状況調査

家畜改良増殖法（昭和25年法律第209号）第4条第1項の規定に基づく種畜検査が実施される豚については、当該検査のために採材される血液を用いた抗体保有状況調査を実施する。その他の豚のうち、畜産物を含む食品残さを給与されている豚及びワクチン接種歴のある豚と同居している豚を含む繁殖候補豚、肥育豚等の一定頭数について、抗体保有状況調査を実施する。

(3) 野生いのししの調査

関係機関、関係団体等の協力も得て、野生いのししの生息状況の把握に努めるとともに、検体を収集し、本病感染の有無を調査する。

(4) 病性鑑定材料を用いた調査

原則として、家畜保健衛生所における豚のすべての病性鑑定事例において、本病の抗原検査又は抗体検査を実施する。

豚コレラに関する特定家畜伝染病防疫指針に基づく発生予防及びまん延防止措置の実施に当たっての留意事項について

(平成18年3月31日付17消安第11229号農林水産省消費・安全局長知)

(別添)

1 危機管理体制の構築について

防疫指針第1の危機管理体制の構築に関し、すべての関係者が一体となって侵入防止による清浄性の維持及び早期発見のための監視体制の強化を図るとともに、発生時における迅速かつ的確なまん延防止対策が講じられるよう、次に掲げる委員会及び検討会を設置する。

(1) 全国豚コレラ危機管理委員会及び豚コレラ防疫技術検討会

防疫指針に基づく本病の具体的な防疫対策を推進するため、専門家、関係機関、関係団体等を構成員とする全国豚コレラ危機管理委員会を、全国段階に設置する。

また、本委員会の下に、緊急ワクチンの使用方法等円滑な防疫の推進について、技術的な観点から検討を行うため、専門家、関係機関等を構成員とする豚コレラ防疫技術検討会を設置する。

(2) 都道府県豚コレラ危機管理委員会

発生時を想定した防疫演習の企画等を検討するため、(1)の委員会と同様の構成員からなる都道府県豚コレラ危機管理委員会を、都道府県段階に設置する。

2 衛生管理簿の記録及び保存について

防疫指針第1の1の(1)の衛生管理簿は、次に掲げる事項について記録し、少なくとも1年間保存するよう指導する。

- (1) 豚の導入年月日、導入元及び導入頭数
- (2) 出荷年月日、出荷先及び出荷頭数
- (3) 車両及び人の入退場の状況
- (4) 精液の購入年月日、購入先、種付け年月日及び種付け豚
- (5) 精液の出荷年月日及び出荷先
- (6) ひね豚及び死亡豚の頭数並びに子豚の生産頭数
- (7) 飼料及び敷料の搬入状況
- (8) 食品残さ等の搬入状況
- (9) からす、ねずみ等野生動物の侵入防止対策の状況

3 畜産物を含む食品残さの適切な処理について

防疫指針第1の1の(1)の畜産物を含む食品残さの処理は、次に掲げるいずれかの方法による。ただし、当該食品残さの原材料が既に同等の条件で処理され、その後、汚染のおそれのない工程を経て給与されていることが確認される場合は、この限りでない。

- (1) 70℃、30分以上の加熱処理
- (2) 80℃、3分以上の加熱処理

4 家畜防疫員が現地に携行する用具について

防疫指針第2の1の(2)のウの家畜防疫員が現地に携行する用具は、次に掲げるものとする。

長靴、防疫衣、手袋、体温計、採材用器具（解剖器具、採血器具等）、保定具、筆記用具、記録簿、カラスプレー、カメラ、携帯電話、消毒液、噴霧器、バケツ、ポリバケツ、ビニール袋（大、小）、ビニールシート、アイスボックス等

5 抗原検査に供する材料の採取について

防疫指針第2の1の(2)のカの(ウ)の病性鑑定用材料のうち抗原検査に供する材料の採取については、病原体の拡散を防止するため、可能なかぎり家畜保健衛生所で実施することが望ましいが、豚の運搬が困難であり、又は多数の検体を採取する必要がある場合には、次に掲げる事項に留意の上、当該農場内で採材する。

- (1) 万一体液等が飛散した場合も考慮して、異常豚飼養豚舎以外の豚舎から十分離れている等感染を防止できる場所を選択する。
- (2) 病性鑑定前に、採材場所の周囲に十分量の消毒液を散布する。
- (3) ビニールシートの上に消毒液を浸した布等を敷き、その上に豚を置く。
- (4) 採材時には検体の取違えを防止するために、豚ごとに検査記録を記載する。
- (5) 採材後、豚をビニールシートで包み、ポリバケツ等消毒液を散布又は浸せきできる容器に入れ、採材場所の周囲に十分量の消毒液を散布する。

6 病性鑑定について

防疫指針第2の1の(5)のアの病性鑑定の実施に当たっては、別紙「豚コレラの診断マニュアル」を参考とする。

7 病性決定時の公表について

防疫指針第2の2の(1)のアの発表内容については、別添1を参考とする。

8 防疫対策本部について

防疫指針第2の2の(2)の防疫対策本部については、「口蹄疫に関する特定家畜伝染病防疫指針に基づく発生予防及びまん延防止措置の実施に当たっての留意事項について」（平成16年12月1日付け16消安第6315号農林水産省消費・安全局長通知）別添6に定めるところに準じて設置し、運営する。

9 豚コレラ発生現地防疫対策本部の関係者あて文書について

防疫指針第2の2の(2)のイの豚コレラ現地防疫対策本部が関係者に配布する文書については、別添2を参考とする。

10 殺処分命令について

防疫指針第2の3の(2)のアの殺処分命令については、別添3を参考とする。

11 防疫従事者の確保について

防疫指針第2の3の(7)のオの防疫従事者の確保に当たっては、既往歴、最近の健

康状態等を確認するとともに、業務前後において健康調査を行い、必要に応じて、業務の中止又は業務内容の変更を行う。

1.2 移動制限期間中における清浄性の確認について

防疫指針第2の5の(1)のイの移動制限期間中における清浄性の確認は、移動制限区域内のすべての豚飼養農場を対象として、次に掲げる検査により行う。

(1) 臨床検査

すべての豚舎に立ち入り、臨床症状を確認する。

(2) 抗原検査

次に掲げる豚について、扁桃を用いた蛍光抗体法を実施する。

ア (1)の検査により、削瘦等本病を疑う異常が確認された豚

イ 体温40℃以上、かつ、白血球数1mm³当たり1万個以下の豚(一定頭数(原則として、1農場又は1豚舎当たり10頭以上であって、発生の状況等を勘案して設定した頭数。以下同じ。)の豚の体温を測定し、それらの豚のうち体温40℃以上のものについて、血液検査を実施する。)

(3) 抗体検査

一定頭数の豚について、抗体検査を実施する。

1.3 移動制限期間中における豚のと畜場への出荷について

防疫指針第2の5の(1)のエの(ア)の移動制限期間中における豚のと畜場への出荷については、防疫区域、監視区域それぞれの区域において、次に掲げる検査等を実施し、本病のまん延のおそれがないと判断した場合には、移動の制限の例外とすることができる。

また、出荷と畜場を同一とする豚について、出荷する最小輸送単位ごとにと畜場出荷許可書(別添4)を発行するとともに、と畜場を管轄する家畜保健衛生所及び出荷と畜場に事前に連絡する。

なお、次に掲げる検査については、発生農場から豚の導入があった場合には、当該豚と同居している豚を中心に、車両等を介した関連がある場合には、車両の動線から最も近い豚舎を中心に、その他の場合には、繁殖用雌豚を中心に実施する。

(1) 防疫区域

ア 疫学調査を実施し、次に掲げる事項を確認する。

(ア) 発生農場から豚の導入があった場合には、当該豚が患畜でないことが確認されていること。

(イ) 発生農場と車両等を介した関連がある場合は、入場時の車両消毒等を実施していること。

イ 制限後14日目以降、抗体検査(1農場当たり30頭)を実施する。

ウ 出荷時(制限後14日目以降)、臨床検査を実施する。

(2) 監視区域

ア 疫学調査を実施し、次に掲げる事項を確認する。

(ア) 発生農場から豚の導入があった場合には、当該豚が患畜でないことが確認されていること。

(イ) 発生農場と車両等を介した関連がある場合は、入場時の車両消毒等を実施して

いること。

イ 出荷時（制限後 7 日目以降）、臨床検査を実施する。

1.4 関連農場調査について

防疫指針第 2 の 6 の関連農場については、別添 5 による発生農場の調査結果を踏まえ特定する。さらに、当該関連農場についても、必要に応じて、別添 5 により調査する。

1.5 ワクチン接種について

防疫指針第 2 の 7 のワクチンの使用については、原則として以下のとおりとする。

(1) 基本方針

ワクチンの使用は、大規模農場で本病が発生し、又は同一の防疫区域内の複数の農場で本病が連続発生し、発生農場の飼養豚の迅速なとう汰が困難となり、又は困難になるおそれがあると判断される場合に検討することとし、都道府県は、防疫指針第 1 の 4 の (1) の規定に基づき、その使用に当たっては、事前に農林水産省と協議を行い、法第 31 条の規定に基づき実施する。

(2) 接種地域

ア 都道府県畜産主務課は、以下により、農林水産省消費・安全局動物衛生課（以下「動物衛生課」という。）と協議の上、ワクチン接種地域（以下「接種地域」という。）を設定する。

(ア) 大規模農場で本病が発生し、又は複数の農場で本病が連続発生することにより、とう汰による防疫措置の実施が困難な事態となったと認められる防疫区域内の全部又は一部の地域

(イ) 防疫区域に隣接する地域であって、発生リスクが非常に高く、万が一発生した場合、迅速なとう汰による防疫措置が困難となるおそれがあると認められる地域

イ アの接種地域については、豚の飼養密度、連続発の間隔、発生農場の飼養頭数等の発生の状況等を勘案の上設定することとし、具体的な範囲の設定については、市町村等の行政単位の区域又は道路、河川、鉄道その他境界を明示するのに適当なものに基づき定める。

(3) 接種方法

ア 対象家畜

(2) の接種地域で飼養されている豚について、ワクチンを接種することができる。

イ 接種期間

本病の発生状況等を勘案して、動物衛生課と協議し、接種を行うことが適当と認める期間（以下「接種期間」という。）において接種を行う。

ウ 接種ワクチン

法第 31 条の規定に基づく接種は、法第 49 条の規定に基づき農林水産省から譲与され、又は貸し付けられた備蓄ワクチンを使用する。

エ 接種の実施

(ア) 同一の農場又は豚舎に飼養されているすべての豚に接種する。接種に際しては少なくとも 1 豚房ごとに注射針を取り替え、また、防疫衣の交換又は消毒等によ

り本病のまん延防止に留意する。

(イ) 短時間に迅速かつ確実に接種し、接種豚にはスプレー等でマーキングして接種漏れがないよう注意し、その後、接種豚及び当該接種豚から生まれた豚については耳標等で確実に標識を付する。

(4) 接種後の管理

ア 移動の制限

(ア) 防疫指針第2の5の患畜等の発生に係る移動の制限等が終了した場合においても、接種地域内の接種農場で飼養されている豚及びその死体並びに病原体をひろげるおそれのある物品については、(イ)の例外により当該農場のすべての接種豚が処分され又は出荷されるまでの期間、法第32条第1項の規定に基づき、その移動を制限する。

(イ) (ア)の移動の制限については、搬出・搬送時及び移動先における病原体の拡散防止措置の状況等を勘案し、以下により例外を設けることができる。

a 次に掲げる条件を満たした場合の接種農場で飼養されていた豚の死体等の処分のための移動

- ① 当該農場がイのモニタリングにより異常がないことが確認されていること。
- ② 家畜防疫員により指定された施設に直接運搬され、直ちに処理されること。
- ③ 移動に当たって、家畜防疫員の指示に従い、適切な病原体拡散防止措置を講じるとともに、その経過が確実に記録されること。
- ④ 運搬車両は、当日、接種地域内の農場以外で使用されないこと。
- ⑤ 運搬車両は、搬送前後に洗浄・消毒すること。

b aの①から⑤及び次に掲げる条件を満たした場合の接種農場で飼養されている豚のと畜場への出荷

接種後14日目以降、1農場当たり30頭を対象として、抗体検査を実施するとともに、それらの豚のうち体温40℃以上、かつ、白血球数1mm³当たり1万個以下の豚を対象として、扁桃を用いた蛍光抗体法を実施し、いずれも陰性であること。

イ 接種後のモニタリング

都道府県は、接種地域における接種農場について、すべての接種豚が処分され、又は出荷されるまでの間、本病の発生の状況等を監視するため、以下の検査等によりモニタリングを行う。

(ア) 報告

法第52条の規定に基づき、接種豚の所有者等に対し、当該農場の飼養豚について、異常の有無、死亡頭数等については毎週、本病を疑う症例を発見した場合には直ちに、報告するよう求める。また、接種豚の所有者に対し、飼養豚が死亡した場合には当該死体を冷蔵保存等するよう指導する。

(イ) 検査

家畜防疫員は、(ア)の本病を疑う症例を発見した報告があった場合には異常が確認された豚について、また、(ア)の冷蔵保存等された死亡豚について、必要な検査を行い、病性を決定する。

1.6 抗体保有状況調査について

防疫指針第3の3の(2)の種豚検査が実施される豚以外の豚について実施する抗体保有状況調査は、別添6を参考に年間の検査頭数を計画し、定期的に検査を実施する。

プレスリリース

〇〇年〇〇月〇〇日
農 林 水 産 省
〔 都 道 府 県 名 〕

豚コレラの患畜〔疑似患畜〕の発生について

1 発生場所

〇〇〔都道府県名〕 〇〇〔市町村名〕に所在する〔飼養形態〕農場（飼養頭数〇〇頭）

2 経緯

- (1) 〇〇月〇〇日、当該農場の所有者から本病を疑う豚を発見した旨、〇〇家畜保健衛生所に通報があった。
- (2) 同日、〇〇家畜保健衛生所の家畜防疫員が当該農場の立入調査を行うとともに、病性鑑定を実施した。
- (3) 立入検査では、約〇〇頭の豚に〇〇、〇〇等本病を疑う症状が見られ、また、〇〇月〇〇日、〇〇検査で陽性となったことから、本病の患畜〔疑似患畜〕と決定した。

3 今後の対応

家畜伝染病予防法及び豚コレラに関する特定家畜伝染病防疫指針に基づき、

- (1) 発生農場においては、患畜〔疑似患畜〕の殺処分、豚舎等の消毒等を実施。
- (2) 発生農場を中心とした半径〇〇km以内の区域を防疫区域、半径〇〇km以内の区域を監視区域として、豚等の移動の制限、家畜市場の閉鎖等を実施。
- (3) 周辺農場及び疫学関連農場の立入検査等を実施。
- (4) 現地家畜保健衛生所、〇〇〔都道府県名〕庁及び農林水産省消費・安全局動物衛生課に、それぞれ防疫対策本部を設置。

- ・豚コレラは、豚、いのしし特有の病気であり、人に感染することはありません。
- ・また、ウイルスを原因とする豚コレラは、コレラ菌を原因とする人のコレラとは関係ありません。

豚及びいのししの伝染病の豚コレラが〇〇〔市町村名〕で発生し、下記のとおり豚コレラ現地防疫対策本部を設けました。

豚房の隅にうずくまったり飼料を食べないなど元気がなく、また、発熱し、耳端・四肢・下腹部に紫色の斑（チアノーゼ）が現れている豚、いのししはこの病気にかかっているおそれがありますので、すぐ防疫対策本部まで通報してください。

この病気は伝染が激しいので、早く届けて処置をしないと広い範囲にひろがる可能性がありますので、発生地域での豚及びいのししのほか、豚コレラをひろげるおそれがある物品の移動は禁止されます。

不明な点があれば、防疫対策本部にお問い合わせください。

なお、万が一、感染豚の豚肉を食べたとしても人に感染することはありません。

記

豚コレラ現地防疫対策本部（〇〇家畜保健衛生所内）

電 話 〇〇〇〇－〇〇〇－〇〇〇〇

携 帯 電 話 〇〇〇〇－〇〇〇－〇〇〇〇

ファックス 〇〇〇〇－〇〇〇－〇〇〇〇

※夜間連絡も上記で受け付けます。

(別添3)

殺処分命令書

番 号
年月日

〇〇〇〇 殿

都道府県知事 〇〇〇〇 印

あなたが所有する〔管理する〕下記の家畜は、豚コレラの患畜〔疑似患畜〕と決定されたので、家畜伝染病予防法（昭和26年法律第166号）第17条第1項の規定に基づき、〇〇年〇〇月〇〇日までに下記により家畜を殺処分することを命ずる。

記

- 1 家畜の所在する場所：
- 2 家畜の種類及び頭数：

備 考

- ・この命令については行政不服審査法（昭和37年法律第160号）による不服申立てをすることはできません。
- ・この命令に違反した場合は、家畜伝染病予防法第63条第3号の規定に基づき、3年以下の懲役又は100万円以下の罰金に処せられます。
- ・この命令により殺処分された家畜については、家畜伝染病予防法第58条の規定に基づき、手当金が交付されます。

(別添4)

番 号
年月日

〇〇〇〇 殿

〇〇家畜保健衛生所
家畜防疫員〇〇〇〇

と畜場出荷許可書

あなたが所有する（管理する）下記の家畜は、検査の結果、豚コレラに感染していないことが確認されたので、家畜伝染病予防法第32条第1項の規定に基づく移動の制限の対象外とし、と畜場への出荷を許可する。

記

- 1 家畜の種類：
- 2 搬入頭数：
- 3 と畜を行う場所：
- 4 その他：

農場調査票

調査年月日	年 月 日 時 分～ 時 分		
調査者	(所属)、 (所属) (計 名)		
農場名		所有者 (管理者)	
農場住所 (連絡先)	TEL: 、 FAX :		
従業員	名		
飼養状況 (内訳)	【飼養形態】 頭 (棟) (農場内の配置図を添付) (繁殖雄豚: 頭、繁殖雌豚: 頭、肥育豚: 頭)		
導入の状況 (過去40日)	年 月 日、 から 頭導入 (関連農場:) 年 月 日、 から 頭導入 (関連農場:)		
出荷の状況 (過去40日)	年 月 日、 ～ 頭出荷 (関連農場:) 年 月 日、 ～ 頭出荷 (関連農場:)		
精液購入販売 (過去40日)	(関連農場:)		
死体処理の状況	(関連農場:)		
糞尿処理の状況	(関連農場:)		
飼料会社	(運送会社:) (関連農場:)		
薬品会社	(運送会社:) (関連農場:)		
関連獣医師	(関連農場:)		
ワクチンの 接種状況			
衛生管理の状況			
その他	(食品残さの給与状況等を記載。)		

検査対象農場等の抽出方法

- 1 都道府県畜産主務課は、当該都道府県内の農場戸数に応じて、次に掲げる表により、年間の抽出戸数、抽出頭数を決定する。

都道府県内農場戸数	抽出戸数	抽出頭数
250戸未満	50戸	10頭
250戸以上	100戸	10頭

- 2 検査農場及び検査豚は、無作為に抽出する。
- 3 農場で採材する場合は、都道府県内の農場を家畜保健衛生所管轄区域ごとに区分し、各家畜保健衛生所の農場戸数割合に応じて、家畜保健衛生所ごとに抽出戸数を定め、10頭の豚を無作為に抽出する。10頭以下の飼養規模の農場の場合は全頭を対象とする。

豚コレラの診断マニュアル

豚コレラウイルスはフラビウイルス科ペスチウイルス属の一種で、同属の牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV) やボーダー病ウイルス (BDV) と抗原的及び構造的に非常に類似している。豚コレラ (以下「本病」という。) に罹患した豚の臨床症状や剖検所見はウイルス株の違いや宿主である豚によって極めて多様である。BVDVやBDVといった反すう動物のペスチウイルスが豚に胎子感染した場合、豚コレラと区別しがたい臨床症状を生じることもある。

本病は豚の発育ステージに関係なく伝染し、発熱、うずくまり、食欲減退、鈍麻、虚弱、結膜炎、便秘に次いで下痢、歩様蹠踉を主徴とする。発症後数日経つと耳翼、腹部、内股部に紫斑を生じる場合もある。急性経過の場合は1週から2週以内に死亡する。臨床的に症状を示さないで突然死亡する場合は本病の症状はみられない。

ウイルス株の違いと同様に、豚の月齢や状態によっては、亜急性又は慢性経過となる場合があり、死亡までの経過は2週から4週、時として数か月となることがある。慢性経過では、発育の遅延、食欲不振、間欠発熱や間欠性の下痢がみられる。先天性持続感染 (遅発感染) では数か月間も気付かれることなく、群れの子豚の一部にみられる。臨床症状に特徴はなく、発熱を伴わずに消耗していく。ウイルス特異抗体は産生されず、ウイルスが血液中にみられる免疫寛容の状態となっている。慢性感染や遅発感染した豚は必ず死亡し、農場内の死亡率がわずかに上昇することとなる。本病は免疫系に影響を及ぼし、発熱前の白血球減少症がよくみられ、そうした免疫抑制によって複合感染を起こしやすくなる。

急性の場合、肉眼的病理変化は普通みられないが、典型的な所見としてはリンパ節が赤く腫脹し、心外膜の出血、腎臓や膀胱、皮膚や皮下組織において出血がみられる。亜急性や慢性の場合、これらの所見に加えて、胃腸、喉頭蓋、喉頭の粘膜に壊死性あるいは”ボタン状”潰瘍がみられる。

組織病理学的所見には特徴はみられない。病変はリンパ組織の実質変性、血管結合織の細胞増殖、囲管性細胞浸潤を伴った又は伴わない非化膿性髄膜脳炎などがみられる。

本病は多様な臨床症状と病変を呈するため、臨床所見から診断することは難しく、特に急性豚コレラは、アフリカ豚コレラ、離乳後多臓器性発育不良症候群 (PMWS)、豚皮膚炎腎症症候群 (PDNS) 等のウイルス性疾患や敗血症を呈しているサルモネラ症、パスツレラ症、アクチノバチルス症、ヘモフィルス・スイス感染症と区別しにくい。また、こうした細菌は同時感染することもあり、豚コレラウイルスが真の原因か明確でないこともある。

したがって、実験室における診断が最も重要となる。実験室では豚コレラウイルスやその核酸あるいはウイルス抗原といった抗原側の要素を検出する直接的な方法とウイルス特異抗体を検出する間接的な方法を用いる。後者の抗体検出では、反すう動物のペスチウイルスとの交差反応の問題があり確実性が乏しいばかりか、急性の場合には特異抗体が検出される前に臨床症状を呈して死亡してしまうため、本病の摘発に利用するよりもむしろ清浄性の監視に利用すべきである。

- I 抗原検査
- 1 検査方針

本病を疑う症例の診断においては、迅速性及び検体処理可能数量を勘案すると、凍結切片の蛍光抗体染色による豚コレラウイルスの抗原検出が最良である。したがって、本病を疑う豚1頭から採材した多臓器について検査を行うよりもむしろ、本病を疑う多数の豚から扁桃を採材して本病ウイルス抗原証明に力点を置いた検査を実施すべきである。また、蛍光抗体法によるウイルス抗原の検出と同時に、細胞培養によるウイルス分離を開始する。ウイルスが濃厚感染している場合、24時間から48時間程度で判定が可能となるが、ウイルス量が少ないこともあるので、最低1週間は観察を続ける必要がある。培養細胞の準備が整うまで、ウイルスの存否をある程度判断するためにRT-PCRを行うことは有意義であるが、交差汚染やRT-PCR産物の同定（シーケンスと遺伝子解析が必要）の問題があり、最終的にウイルス分離に検査の力点を置くことを忘れてはならない。

なお、準備不足が診断を遅らせる要因となることから、日頃からの器具及び器材の維持及び確認を行い、本病を疑う症例の通報を受けた時点で、冷却用のドライアイスが準備されていること、クリオスタットの冷却機スイッチが入っていること及び継代細胞があること等迅速診断に必要な準備が整うよう診断体制の整備に努める必要がある。また、採材や検査に供した器具や器材等は、適切に滅菌又は消毒する必要がある。

2 採材

- (1) 臨床症状を示している豚のほか、これと同居している複数頭（30頭以上）の豚の体温測定及び白血球数の測定を行い、発熱し、又は白血球数が減少（ $10,000$ 個/ mm^3 以下）している豚について病性鑑定を実施する。
- (2) 採材は、病性鑑定のため処分された豚又は死亡直後の豚から速やかに行うことが望ましい。また、剖検材料は生組織材料の採取を優先的に行い、残りの部分について病理組織検査のために組織固定用ホルマリンで保存する。生組織材料は扁桃（片側すべて）、腎臓（髄皮質を含む。）及び脾臓（一部）とし、ウイルス分離用乳剤作製に用いるだけでなく凍結切片作製にも用いるため、組織構造を考慮した採材が必要である。採取した材料は個体別に滅菌6穴プレート等に入れ、ビニールテープで蓋を固定し、密閉する。さらにビニール袋に入れ、冷蔵（氷冷）して検査室に持ち帰る。感染していた場合、生組織材料や血液には多量のウイルスが含まれ、使用した解剖・採材器具は高力価のウイルスで汚染されているものと考えられるため、その取扱いには十分注意する。

また、本病を疑う症状を示している豚が生存している場合には、血液（血清又は凝固防止血液）も採取しておき、抗体検査や白血球数計数検査はもちろん、ウイルス分離材料としても用いる。

3 凍結切片と乳剤の作製

凍結切片作製用材料は凍結融解することなく、新鮮な材料を用いる。それぞれの操作に際しては、消毒液を含ませたさらし布を敷く等、病原体の飛散を防止する措置を講ずる。

(1) 生組織材料の処理

- ア 凍結切片作製用に組織を $1\text{ cm} \times 5\text{ mm}$ （扁桃）あるいは $1\text{ cm} \times 1\text{ cm}$ （腎臓、脾臓）程度の大きさで、それぞれ3個ずつ切り出す。
- イ 残りの組織 1 g 程度を乳剤作製用にシャーレに取り、秤量しておく。乳剤作製まで、

氷冷下で保存する。

ウ 濾紙に豚番号・標本名を記入する。

エ 凍結切片作製の組織を切断面を上にしてそれぞれ濾紙の上に載せる。この際、扁桃は陰窩の横断面が、腎臓は尿細管上皮が、それぞれ切断面に出現するように注意する。

オ 組織片を載せた濾紙をピンセットで摘み、ドライアイス・アセトンで冷やしたn-ヘキサン (-80°C程度) に浸け、急速凍結する。浸け過ぎると組織片が割れるので注意する。

カ 凍結したら素早くクリオスタット庫内に移すか、耐冷チューブに入れ、-80°Cのデュープフリーザーに保存する。

(2) 凍結切片標本の作製

ア (1) のカで凍結組織を耐冷チューブに入れた場合は、クリオスタット庫内で、耐冷チューブから取り出す。

イ 組織片をコンパウンドを使って検体台につける。

ウ 面出しをする。

エ 6 μmの切片を作製する。

オ シリコンコート処理済みスライドグラスに切片を取る。

カ 直ちにドライヤー冷風で乾燥する。

キ 冷アセトンで10分間、固定する。

ク 風乾し、スライドグラス標本とする。

(3) ウイルス分離のための乳剤の作製

ア (1) のイの組織片を乳鉢に入れる。

イ 乳鉢内で組織片をハサミで細切りする。

ウ けい砂を適量加え、乳棒で細切片を軽く擦りつぶす。

エ 秤量した組織片が10%となるように培養液を入れ、よく乳化させる (例えば組織片が1gのときは9mlの培養液を加える)。

オ 乳化した組織片を遠心管に移す。

カ 3,000r. p. m.、15分間の冷却遠心を行う。

キ 上清を小試験管に移して、10%乳剤とする。

4 ウイルス分離

カバースリップ標本を作製するため、カバースリップに細胞シートを形成させてから乳剤を接種するが、細胞の培養に用いる牛胎子血清はBVDウイルス抗体陰性のものを使用する。また、ウイルスと中和抗体が共存する症例では乳剤からのウイルス分離が陰性となる場合があるので、希釈した乳剤も必ず併せて接種する。乳剤を接種後、カバースリップ上の細胞を経日的に取り出し、冷アセトンで固定し、蛍光抗体法により細胞質内の本病ウイルス抗原を検出する。なお、乳剤中のウイルス量が少ないこともあるので、少なくとも1週間は観察を続ける必要があり、その場合には培養開始後4日目に培養上清を継代する。

それぞれの操作に際しては、消毒液を含ませたさらし布を敷く等、病原体の飛散を防止する措置を講ずる。

(1) 培養細胞の継代

- ア ウイルス分離にはCPK細胞（Ⅱの4のCPK-NS細胞とは別の細胞であることに注意する。）を用いることとし、面積比で3倍に継代する。
- イ 6穴プレートの各穴にカバースリップ（6×18 mm）を3～4枚ずつ重ならないように入れる。
- ウ 細胞浮遊液3mlを各穴に入れる。この際、カバースリップが浮遊して、重なることがあるので注意する。
- エ 37℃で一晩培養する。
- オ 翌日、細胞シートが形成されていることを確認してから使用する。
- (2) 乳剤接種とカバースリップ標本の作製
- ア 少なくとも扁桃乳剤については、0.45 μmのフィルターで濾過する。この際、あらかじめガラスフィルターを通しておくと目詰まりが防げる。
- イ 乳剤や血液の希釈液（原液及び10倍又は100倍希釈を使用）を作製し、(1)のオの細胞シートに0.2～0.3 ml接種する（接種材料の原液は少なくとも検査終了時までには保存する。）。
- ウ ウイルス吸着のためにティルティング操作を15～20分ごとに計1時間行い、PBS-又は培地で細胞面を洗浄する。
- エ 5%血清添加培養液を添加し、37℃で培養する。なお、添加する血清はBVDウイルス抗体陰性の牛胎子血清を用いなければならないが、馬血清で代用することも可能である。この場合、あらかじめ馬血清でCPK細胞が培養可能かのロットチェック等が必要である。
- オ 経日的にカバースリップを取り出し、PBS-で洗浄後、冷アセトンで10分間固定する。
- カ 風乾し、カバースリップ標本とする。

5 蛍光抗体染色

3の(2)のクのスライドグラス標本及び4の(2)のカのカバースリップ標本の蛍光染色には、市販の本病診断用蛍光抗体を用いる。扁桃の凍結切片においてはウイルス抗原陽性の場合、陰窩上皮細胞に特異蛍光が観察され、蛍光は細胞質のみ（核は黒く抜ける）に認められる。一方、カバースリップ標本においては、ウイルス分離陽性の場合、標本全体又は一部分の細胞に特異蛍光が観察され、スライドグラス標本同様に細胞質内に特異蛍光が認められる。標本全体の細胞か、一部分の細胞かは接種材料中のウイルス量の違いによるものであり、ウイルスが少ない場合は、ウイルス感染細胞は培養時間の経過とともに巣状に増加し、フォーカスを形成する。検査結果の判定はこのフォーカス形成時期が一番容易であるので、経日的な観察が必要となる。いずれかの標本を染色する場合にも、抗原の陽性対照としてあらかじめ作製・保存しておいたGPE-ワクチン株感染カバースリップ標本を同時に染色すると、抗体や蛍光顕微鏡がうまく働いていることが確認でき、判定しやすくなる。なお、蛍光抗体染色法の詳細については本病蛍光抗体液に添付の説明書に記載されているので参照する。

6 RT-PCR

被検材料としては、2の(2)の血液材料、3の(3)のキの10%乳剤又はウイルス分離中の培養上清を用いるが、交差汚染やPCR産物の同定等の問題から、診断の中心的な検

査ではなく、4のウイルス分離の補助的な検査として実施する。

(1) RNAの抽出

市販のRT-PCRのためのRNA抽出キットが簡便であり、操作も容易である。抽出材料は血液、乳剤や培養上清等があり、材料に適したキットを選択する。いずれの製品もグアニジン等強力な変性剤によってたん白質を変性させてRNAを溶出するもので、最終的にスピнкаラムあるいは酸フェノールによってRNAを分離する。抽出材料はウイルス分離材料の調整段階でマイクロチューブに必要量（キットにもよるが、50～400 μ lの範囲）を分注しておく、ウイルス分離材料の感染性低下を招く凍結融解を繰り返す心配がない。なお、変性剤を添加して混和するまで、材料は感染性があるものとして取り扱わなければならない。

(2) RT-PCR

市販のRT-PCRキットが簡便である。特にRT反応とPCR反応を続けて行えるワン・チューブ方式のものが便利な上、操作や交差汚染の問題を軽減できる。ウイルスの存否を知る検出を目的とした検査の場合、標的領域は5'側非翻訳(5'-NTR)領域を用いる。ただし、5'-NTR領域は遺伝子の保存性が高く種々の豚コレラウイルス株の検出が可能であるが、BVDウイルス等の他のペスチウイルスも検出するため、検出したPCR産物の詳細な解析等が必要となる。また、交差汚染の問題から、陽性対照となる検体は取り扱わず、水などの陰性対照を置く。

ア プライマーとアニーリング温度

Š. Vilčekら (Arch. Virol, 136:309-323, 1994)による上流プライマー「324」及び下流プライマー「326」が豚コレラウイルス検出の目的には適している。いずれもTm値が56.5 $^{\circ}$ Cであるので、PCR反応のアニーリング（対合）は56～57 $^{\circ}$ Cで行う。ディネーター（変性）温度、エロンゲーション（伸長）温度並びにそれらの時間やサイクル数は使用するキットに従い設定する。

[プライマーの配列]

上流プライマー「324」 5'-ATG CCC (T/A)TA GTA GGA CTA GCA-3'

下流プライマー「326」 5'-TCA ACT CCA TGT GCC ATG TAC-3'

イ アガロース電気泳動と制限酵素処理

豚コレラウイルスであれば、およそ280bp（多くは284bp）のPCR産物が産生される。産物は2%アガロースゲルで電気泳動し、紫外線照射下で観察・写真撮影する。BVDウイルスなど他のペスチウイルスでもおよそ280bpの産物が産生されるため、アガロース電気泳動上では豚コレラウイルスか、BVDウイルスかは区別できない。確実に識別するためには塩基配列の決定とその遺伝子解析が必要であるが、制限酵素BglIで消化すると、アガロース電気泳動上である程度判別できる。豚コレラウイルスの場合(284bp)、BglIによっておよそ46 bpの断片が切り出されるため、消化前に比較してサイズが小さく（およそ238 bp）なる。

7 検査結果の取扱い

凍結切片やウイルス分離等において、陽性又は疑陽性と思われる所見が得られた場合は、直ちに動物衛生課に連絡するとともに、速やかに独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構動物衛生研究所海外病研究部（以下「動物衛生研究所海外病研究部」という。）に当該検査材料を搬入する。

II 抗体検査

1 検査方針

急性経過をとる豚コレラの場合、抗体を生じる前に死亡することが多く、臨床検査による摘発が重要となる。一方、慢性経過をとる豚コレラの場合、明瞭な症状がみられず、臨床検査による摘発は困難であるが、罹患豚の多くは抗体を産生するため、抗体検査による摘発が可能である。また、抗体検査は抗原検査と異なり、生前検査として実施できることから、清浄性確認のための監視検査の一つとして有用である。したがって、ワクチン接種中止後の本病ウイルス野外感染の有無を監視することを目的として抗体検査を行う。一般に本病生ワクチンを接種された豚は、生涯、本病ウイルスに対する抗体を持ち続ける。このため、野外においては、ワクチン接種豚がすべて更新される（3～5年後）まで、国内にワクチン抗体保有豚が存在し続けることとなる。しかしながら、ワクチンによる抗体と野外感染による抗体の識別は困難であるため、抗体検査の結果はワクチン接種歴、導入履歴及び移行抗体の存在等を十分に考慮した上で評価する必要がある。また、野外ウイルス感染の場合、水平感染による病原体の拡散は容易に起こるので、抗体陽性豚と疫学的関連のある豚の抗体検査を実施することにより、豚群として抗体検査を評価する。

抗体検査は採材後直ちに実施することを基本とし、その結果から野外感染が疑われる場合には、速やかに本病の確定診断（抗原検査）を実施する。

2 被検血清の調整

採取した血液からは速やかに血清を分離し、ウイルス分離等抗原検査用の生血清を取り分けた上で、抗体検査に供する血清は、確実に非働化（56℃、30分の加熱処理）を行う。残余や直ちに使用しない血清は-20℃で凍結保存する。なお、生血清は、ウイルス汚染の可能性も考慮し、密封容器に入れ、-80℃で保存する。

3 酵素免疫測定法（ELISA）

市販のエライザキットを用い、操作及び判定は添付の使用説明書に従う。中和試験のように生ウイルスを取り扱わないので、安全で速やかに結果が得られることから、今後は本法を抗体検査の中心とする。

4 中和試験

中和試験の指示ウイルスとして、ワクチンウイルスのGPE-株を使用し、培養細胞は無血清培地に適応した細胞の豚腎臓由来株化細胞（CPK-NS細胞）を用いる。このウイルスと培養細胞の組み合わせによって、細胞変性効果（CPE）を指標に中和抗体価が判定できるが、CPK-NS細胞ではウイルスがよく増殖しないため、ウイルス分離や指示ウイルスストック作製には不向きである。また、ワクチンウイルスといえども生ウイルスを扱うことから、培養細胞や検体への汚染に注意するとともに、実験室外への漏出防止等の管理徹底を図る必要がある。

（1）無血清培養細胞の培養

中和試験には無血清培養液で増殖可能なCPK-NS細胞を用いる。この細胞の継代維持には再利用品ではない新品のプラスチック培養フラスコを使用する。密栓（フラスコの蓋を固く締めて）培養すること、及び継代時の細胞分散液（トリプシン溶液）の除

去に、遠心・洗浄操作を最低2回繰り返すこととの他は、通常の継代維持と変わらない。したがって、通常7日間隔で細胞面の面積比3倍で継代維持を行う。なお、25cm² (75cm²) の場合は、15 mL (45 mL) に浮遊させ、5 mL (15 mL) ずつ分注し、培養する。

[無血清培養液の作製方法]

イーグルMEM・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・9.4 g (製品指示量)
TPB (Tryptose Phosphate Broth) ・・・・・・・・・・・・・・・・2.95 g
BES (N, N-Bis(2-hydroxyethyl)-2-aminoethanesulfonic acid) ・・・・2.13 g
Bacto Peptone・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・5.0 g

上記試薬を秤量し、1リットルの純水又は超純水に溶解し、121℃、20分でオートクレーブする。室温まで冷却後、別途準備した3% L-グルタミン及び7.5%重曹をそれぞれ10 mL及び30 mLずつ添加し、使用液とする。

ア 培地を除去し、細胞面を除去した培地の2倍～3倍量のPBS-で1回洗浄する。

イ 細胞はトリプシン溶液を用いて消化(通常、10分～30分程度)し、少量の培地を加えてから、ピペッティングによって細胞を十分に分散させた後、使用したトリプシン溶液の10倍量の培地で浮遊させる。

ウ 細胞浮遊液を遠心管に回収し、遠心(1,000 r.p.m、5分)する。遠心後、上清を除去し、再び培地を加え細胞を浮遊させる。

エ 再度遠心(1,000 r.p.m、5分)し、上清を除去する。

オ 元の細胞面の3倍比となるように、培地に再浮遊させた後、プラスチック培養フラスコに細胞浮遊液を分注する。

カ プラスチック培養フラスコの蓋を固く締めて37℃で静置し、細胞は7日後に再び継代するか、又は中和試験に供する。細胞継代は4日目ぐらいで可能であるが、細胞数が少ないため、3倍比では継代できないので注意する。

(2) 中和試験

中和試験の指示ウイルスとしては、ワクチン株(GPE-株)を用いる。このワクチンウイルスはCPK-NS細胞ではCPEを起こすものの、ほとんど増殖はしないため、中和試験用の指示ウイルスストック作製にはウイルス分離の際同様、CPK細胞(IIの4のCPK-NS細胞とは別の細胞であることに注意する。)を用いる。培地には5%血清添加したものを使用する。ウイルスストック作製以外のウイルス力価及び中和力価の測定には無血清培地を用いたCPK-NS細胞を使用する。

ア ウイルス液の調整法

(ア) シートになったCPK細胞に多重感染度(M.O.I)約0.1で接種し、ウイルス吸着のために、ティルティング操作を15分～20分ごとに計1時間行い、PBS-又は培地で細胞面を洗浄する。

(イ) 5%血清添加培養液を加え、37℃で培養する。

(ウ) 開放培養の場合、培養後4、5日目に培養上清を遠心管に回収する。回収前に顕微鏡で観察すると、ウイルス増殖によって軽い細胞変性効果(CPE)が認められるものの、より確実にウイルス液の回収適期を調べるためには、ウイルス分離同様にウイルス接種する細胞にあらかじめカバースリップを入れておき、無菌的にカバースリップを回収して蛍光抗体法によって抗原が細胞シート全体に広がっていることを確認する。回収した培養上清は遠心(1,000 r.p.m、5分)し、浮遊している細胞を除去する。

(エ) 遠心上清をさらに3,000 r. p. m. で15分の遠心によって細胞片を除去し、0.5 ml ずつ小分注する。分注したウイルス液は-80℃に保存し、凍結融解したウイルスの力価を測定する。

イ ウイルス力価の測定方法

(ア) CPK-NS細胞をトリプシン消化し、2回の遠心洗浄操作を行って細胞浮遊液を調整しておく。細胞は通常継代する場合と同量の無血清培地に再浮遊させる。

(イ) 測定したいウイルス液を無血清培地で10倍階段希釈する。

(ウ) 96穴マイクロプレートに希釈したウイルス液を各穴100 μ l ずつ入れる。

(エ) 調整した細胞浮遊液を各穴100 μ l ずつ入れ、37℃の炭酸ガス培養器内で7日間培養する。

(オ) 細胞表層に観察されるCPEを指標に、ウイルス力価 (TCID₅₀) を求める。

ウ 中和抗体測定方法

(ア) 非働化済みの被検血清50 μ Lを96穴マイクロプレートに入れ、無血清培養液50 μ Lで2倍階段希釈し、16倍希釈までの各穴50 μ Lの4管 (2倍~16倍) 希釈列を2列作製する。この際、ウイルスを接種しない細胞対照用及びバックタイトレーション用にそれぞれ無血清培養液100 μ L及び50 μ Lずつ入れた穴も用意する。

(イ) 96穴マイクロプレートに100 μ L当たり200 TCID₅₀に調整したウイルス液を50 μ Lずつ血清希釈列に接種する。同時に調整したウイルス液の10倍階段希釈列を無血清培養液50 μ Lを入れた穴に各穴50 μ Lずつ接種し、バックタイトレーションする。

(ウ) プレートを攪拌後、37℃の炭酸ガス培養器内で1時間感作させる。

(エ) 感作中にCPK-NS細胞をトリプシン溶液で消化し、2回の遠心・洗浄操作を行って細胞浮遊液を調整しておく。細胞は通常継代する場合と同量の培養液に再浮遊させる。

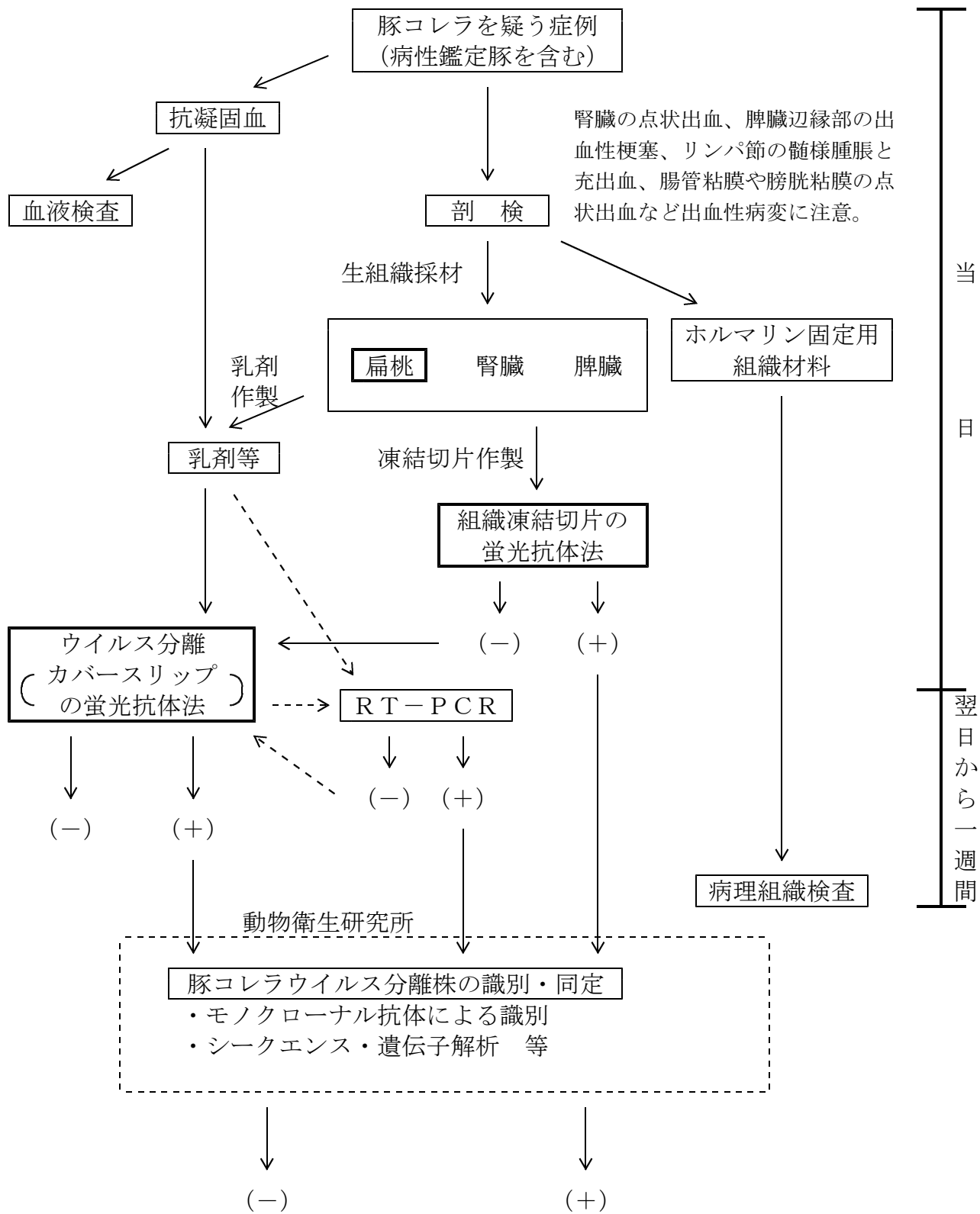
(オ) 細胞浮遊液を各穴100 μ Lずつ入れ、37℃の炭酸ガス培養器内で7日間培養する。

(カ) 細胞表層に認められるCPEを指標に中和抗体価を求める。

5 検査結果の取扱い

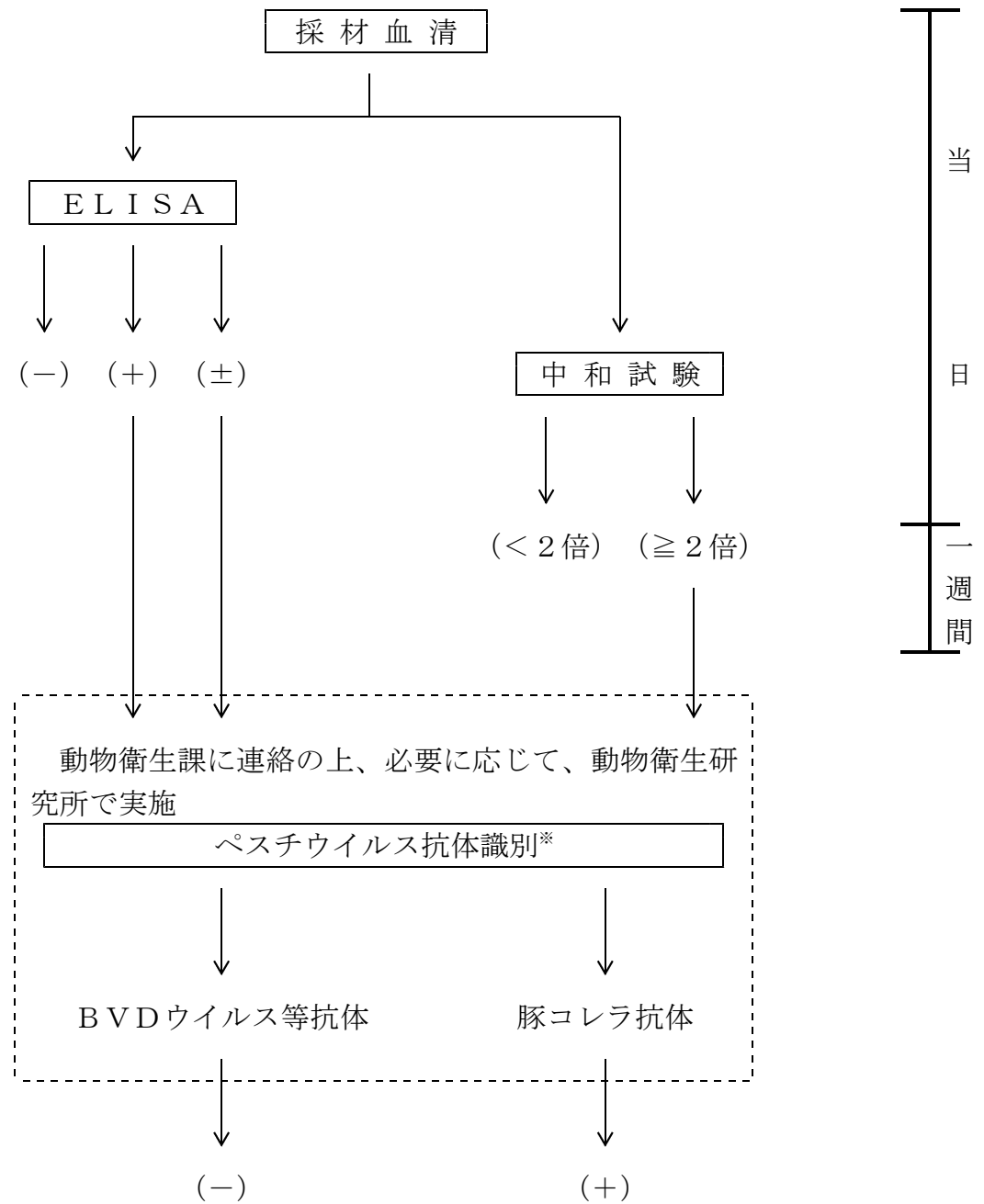
酵素免疫測定法又は中和試験によって、陽性又は疑陽性の所見がみられた場合には、直ちに動物衛生課に連絡するとともに、速やかに動物衛生研究所海外病研究部に血清材料を搬入する。また、同時に疫学調査、立入調査等を開始し、豚コレラウイルスの感染が否定できない場合には直ちに抗原検査を実施する。

1 抗原検査のフローチャート



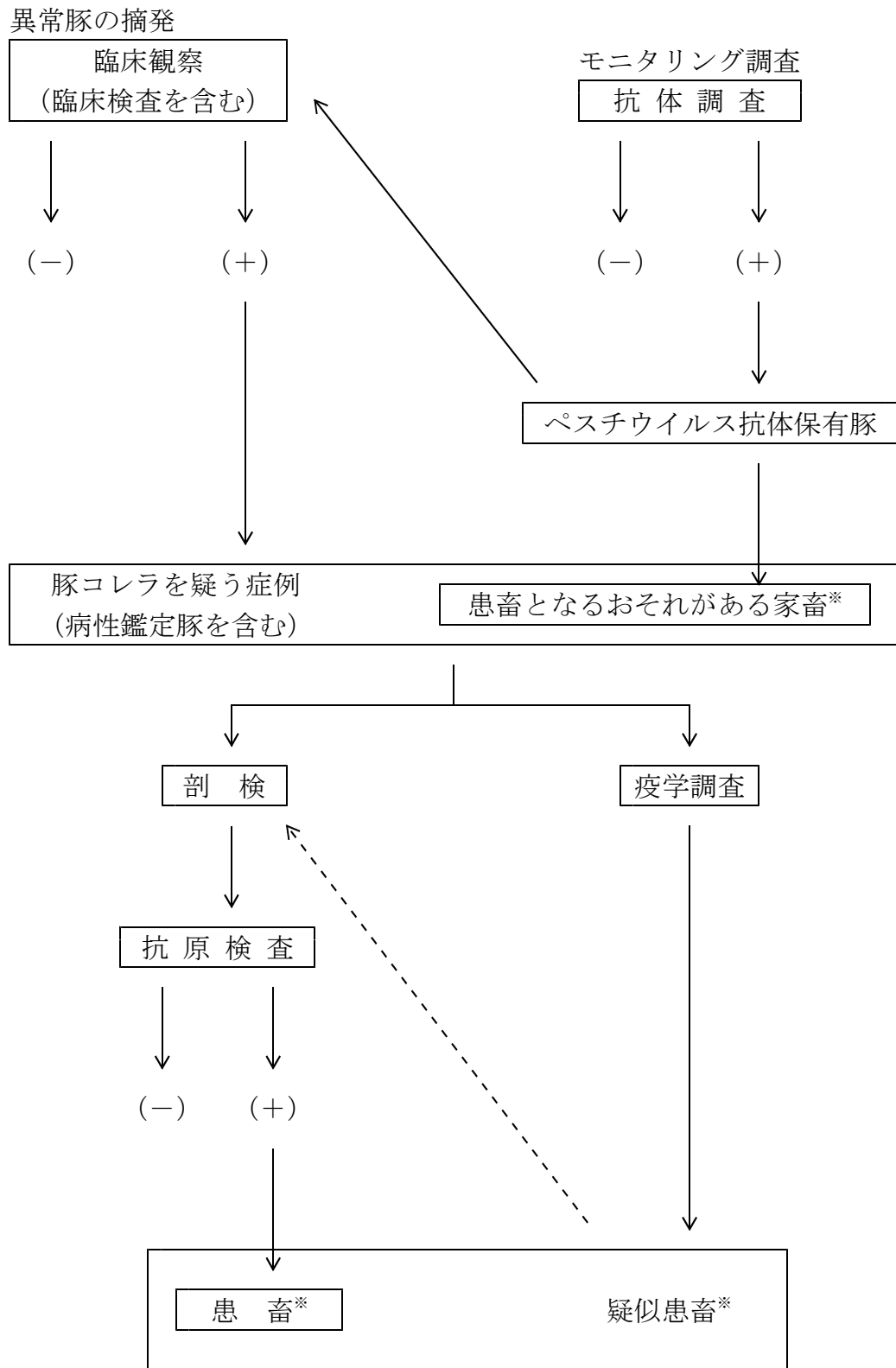
※太枠の検査や材料作製については優先的に実施すること。

2 抗体検査のフローチャート



※抗体識別については、技術的に明確な結果が得られないことがあるため、常に血清疫学的な判断ができるよう、対象農場の抗体陽性率や抗体保有豚の分布状況の把握に努めること。

3 豚コレラの診断



※患者、疑似患者等の最終判定は、動物衛生課との協議等を踏まえ、総合的に判断。