

# アフリカ豚コレラの感染実験の 実施状況について

安全な農林水産物安定供給のためのレギュラトリーサイエンス研究

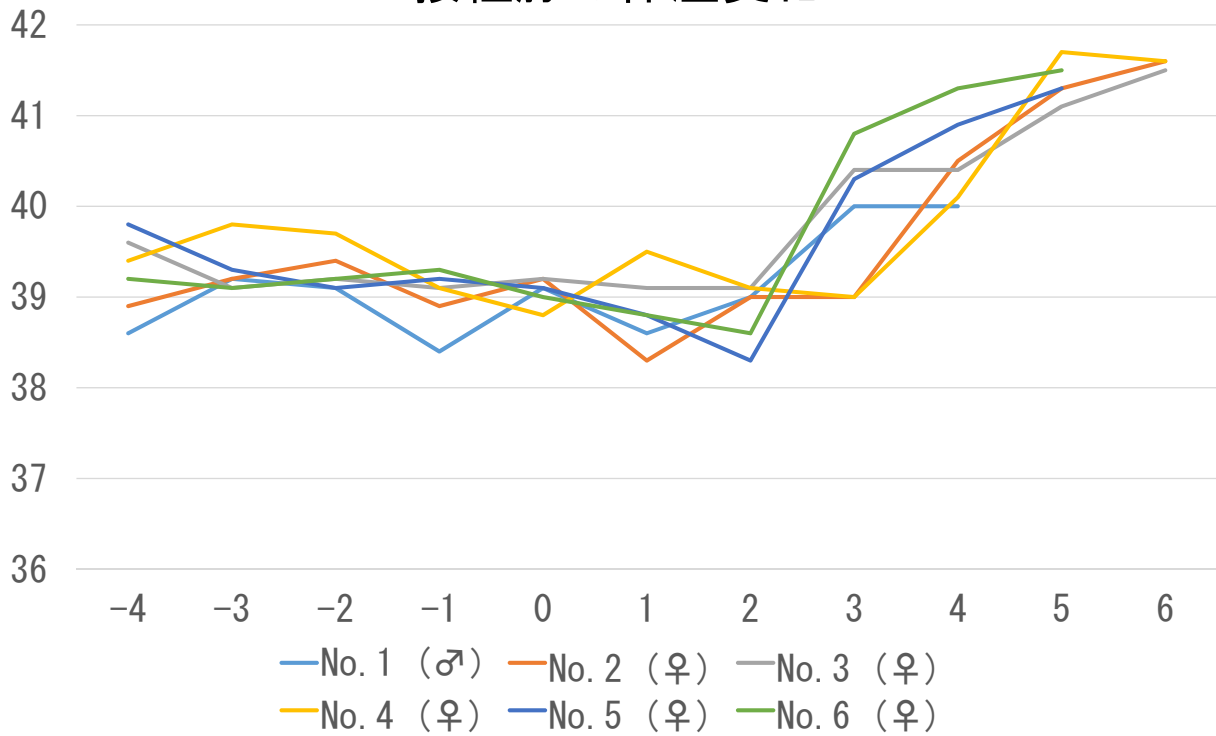
- 目 的**
- 分与されたASFV3株の病原性確認.
  - ASFV感染豚の脾臓乳剤の作製と保存.  
(今後の感染試験で接種材料として使用するため)
  - 現行の診断体制の有効性確認

## 材料および方法

群	株	投与量	接種部位	頭数	豚 No.
1	Arm07, Gen II (近年流行株：強毒)	4.6 x 10 <sup>9</sup> HAU	大腿部筋肉内接種	2	1 & 2
2	Ken05/TK1, Gen X (弱毒)	1.55 x 10 <sup>9</sup> HAU	大腿部筋肉内接種	2	3 & 4
3	E75, Gen I (国際標準株：強毒)	3.15 x 10 <sup>5</sup> HAU	大腿部筋肉内接種	2	5 & 6

**ウイルス分離およびPCR解析用採材.** 接種後、全血、血清、唾液、鼻腔スワブ、糞便を採材。解剖時に扁桃、脾臓、腎臓、骨格筋を採材。脾臓はホルマリン固定以外すべて生材料で採材。臓器材料は10%乳剤を作製。  
**病理組織学的解析用採材.** 骨髓を含めた全身諸臓器を採材。

## 接種豚の体温変化



接種3日目に4例発熱。接種4日目全例発熱。接種5日目全例41度以上の高熱。

## 臨床症状まとめ

群	Pig No.	Strain	臨床症状
1	1 & 2	Arm07, Gen II (近年流行株：強毒)	発熱。 接種2日目、3日目に保定部位のうっ血。 接種3日目以降元気・食欲消失。 結膜炎。 接種5日目に1頭斃死（豚1）。
2	3 & 4	Ken05/TK1, Gen X (弱毒)	発熱のみ。 接種6日目に直腸体温測定後直腸より出血（豚3）。
3	5 & 6	E75, Gen I (国際標準株：強毒)	発熱。 接種3日目に保定部位のうっ血。 接種3日目以降元気・食欲消失。 結膜炎。

全例で発熱確認。  
外観から確認できた出血症状は今回1例のみ。

# 解剖時肉眼病変まとめ

群	Pig No.	Strain	解剖時肉眼病変
1	1 & 2	Arm07, Gen II (近年流行株：強毒)	脾腫。 腹腔内リンパ節の暗赤色化と腫大、周囲水腫。 扁桃出血、腹水・胸水貯留顕著。 肺水腫、心冠部出血と水腫。
2	3 & 4	Ken05/TK1, Gen X (弱毒)	脾腫。 腹腔内リンパ節の暗赤色化と腫大、周囲水腫。 腹水・胸水貯留は軽度。
3	5 & 6	E75, Gen I (国際標準株：強毒)	脾腫。 腹腔内リンパ節の暗赤色化と腫大、周囲水腫。 扁桃出血、腹水・胸水貯留顕著。 肺水腫、心冠部出血と水腫。

全例でアフリカ豚コレラの特徴病変（脾腫とリンパ節病変）を確認。  
 分与されたウイルスの病原性を確認。  
臨床症状で豚コレラとの鑑別は難しいものの、解剖所見では特徴的病変を確認できる。

## アフリカ豚コレラウイルス診断：Convention PCR

### DNA purification

Viral DNA was collected from 200µL of serum, blood and tissue homogenates by using High Pure Viral Nucleic Acid Kit (Roche)

### PCR condition

(Reference: OIE manual 2016)

#### [Primers]

PPA-1: 5'-AGT-TAT-GGG-AAA-CCC-GAC-CC-3'

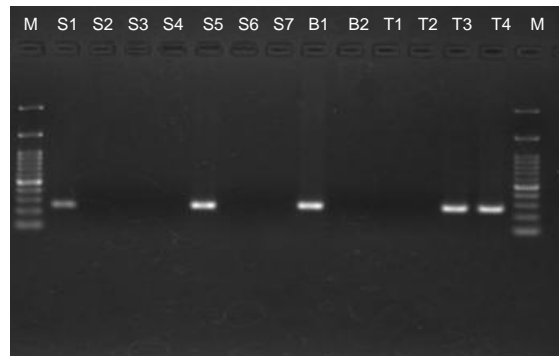
PPA-2: 5'-CCC-TGA-ATC-GGA-GCA-TCC-T-3'

#### [Program]

94°C	2 min	
94°C	30 sec	30 cycles
62°C	30 sec	
72°C	30 sec	
72°C	1 min	
4°C	∞	

[Size of PCR product] : 257bp

※血清、全血、脾臓乳剤を用いたブラインドテスト



Marker(M): 100bp DNA ladder

現行のConvention PCRの有効性、特異性を確認。

## 今後の感染実験等について

- 今回の感染実験の目的は、
  - ①病原性(発症)の確認
  - ②ウイルスの増殖と保存(臓器乳剤保存)
  - ③現行の診断体制の有効性確認であり、いずれもその目的を達成
  
- 発症や死亡に要するウイルス量や、増殖動態等の詳細な検証は、改めて9月以降に行う別の感染実験で対応する予定。