

※論文投稿の理由により、一部の資料は委員限りとしています

アフリカ豚コレラの感染実験の 実施状況（中間報告）

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

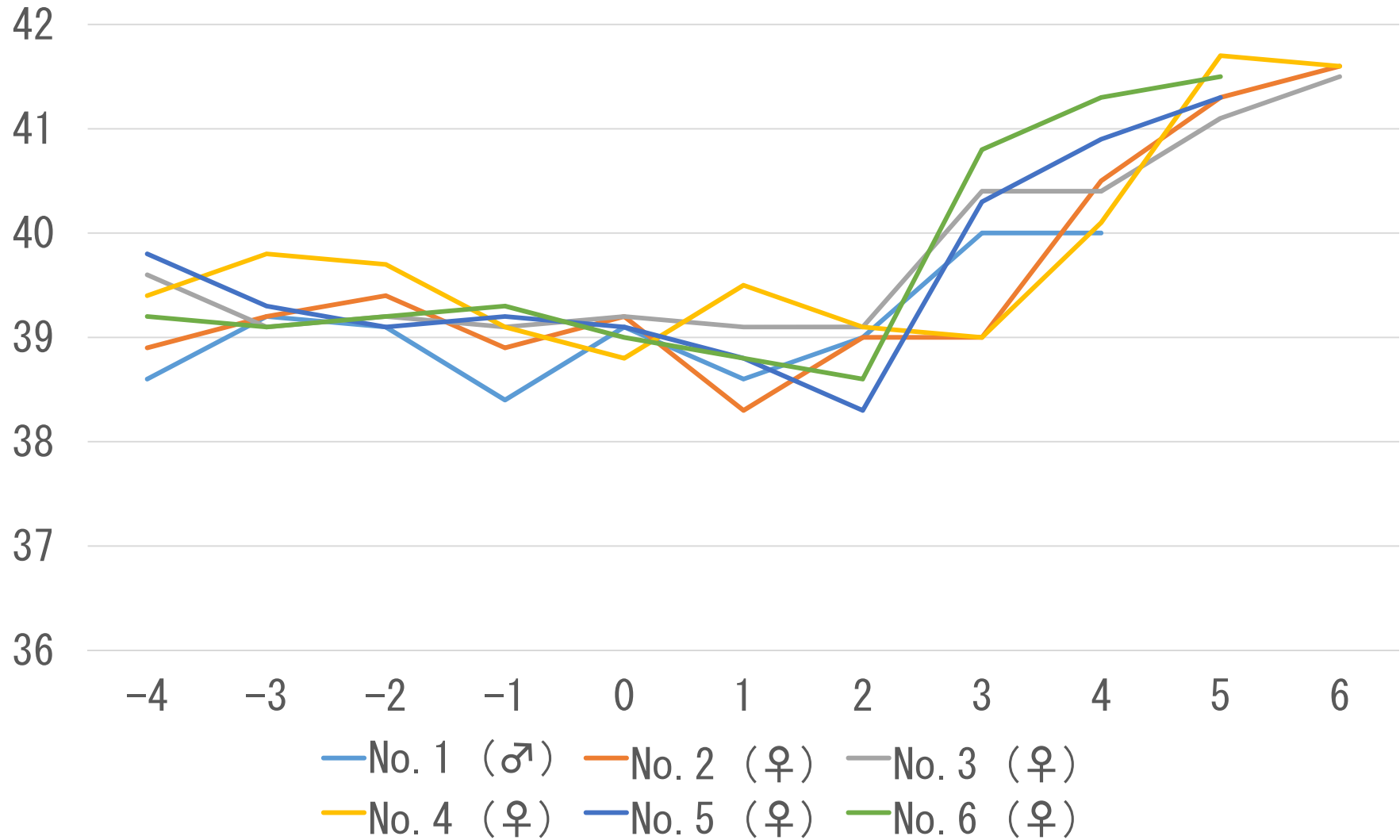
第 1 回感染実験 (H29年5月)

- 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)	4.6x 10 ⁹ HAU	大腿部筋肉内接種	2	1 & 2
2	Ken05/TK1, Gen X (弱毒)	1.55x 10 ⁹ HAU	大腿部筋肉内接種	2	3 & 4
3	E75, Gen I (国際標準株:強毒)	3.15x 10 ⁵ HAU	大腿部筋肉内接種	2	5 & 6

体温



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。

外貌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 200 μ L of serum, blood and tissue homogenates by using High Pure Viral Nucleic Acid Kid (Roche)

PCR condition

(Reference: OIE manual 2016)

[Primers]

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

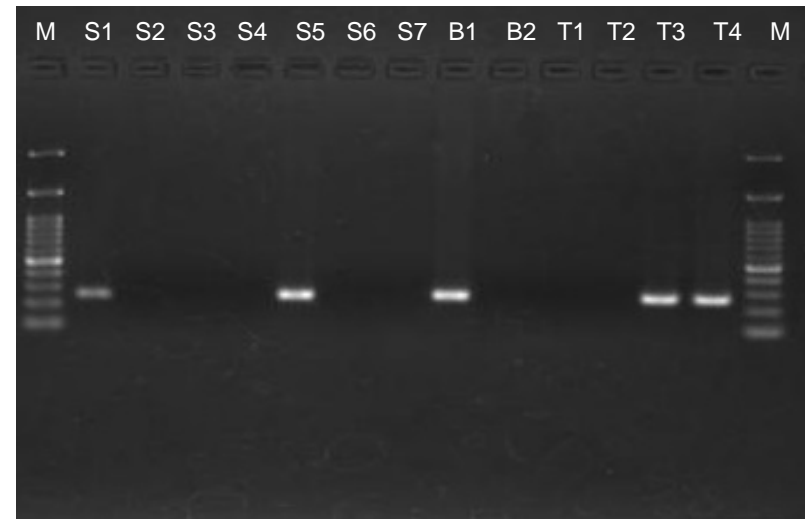
PPA-2: 5'-CCC-TGA-ATC-GGA-GCA-TCC-T-3'

[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！

第2回感染実験 (H29年9月)

目的

- ASFウイルスの病態、増殖動態等の詳細な検証
- 現行の診断手法の精度確認、高度化への応用
- 臨床症状、解剖所見の再確認と情報共有
(海外病講習会で都道府県担当者による観察、画像等の共有)

材料および方法

群	株	投与内容	接種部位	頭数
1	Arm07, Gen II (近年流行株:強毒)	第1回接種豚 の脾臓乳剤	大腿部筋肉 内接種	10

血液、鼻汁、唾液、糞便を経時的に採取するとともに、計画解剖に供し、全ての材料はウイルス分離、PCR、病理組織検査を実施。

第2回感染実験の結果概要 (H29年10月時点)

【発症の状況】

発熱 : 8頭／10頭
(未発熱は接種3日目に計画解剖及び急死した個体)

斃死 : 4頭(接種7日目まで生存は1頭のみ、他は計画解剖)

脾腫 : 4頭／5頭(接種5日目以降で)

腹腔内リンパの暗赤色化 : 4頭／5頭(接種5日目以降で)

ほぼ全ての感染豚が発熱、元気消失、食欲不振を示す。

ほぼ全ての感染豚に特徴的解剖所見を認める。

ASF病性鑑定の実施判断の重要なメルクマールとなる