

原著論文

東欧強毒株を用いたアフリカ豚コレラウイルス感染実験について

山田 学、舩甚賢太郎、亀山健一郎、山添麗子、西 達也、森岡一樹、深井克彦、山川 睦

((国研)農研機構 動物衛生研究部門 越境性感染症研究領域 海外病ユニット)

Yamada, M., Masujin, K., Kameyama, K., Yamazoe, R., Nishi, T., Morioka, K., Fukai, K. and Yamakawa, M.

(2018). Experimental infection with African swine fever virus Armenia 07 strain in pigs.

Proc. Jpn. Pig Vet. Soc. 72, 8-15.

要約

アフリカ豚コレラウイルス (ASFV) Armenia07株 (東欧流行強毒株) を用いた豚への感染実験を実施し、本病の病態を確認した。ASFV 遺伝子は筋肉内接種後 2 日目から血液材料中から検出されるようになり、接種後 3～4 日目から鼻汁や唾液へと排出が始まることが確認された。接種後 3 日目に計画解剖された豚では、40℃以上の発熱以外の特筆すべき所見は認められなかった。接種後 5 日目以降に解剖された豚では、5 頭中 4 頭で 40℃以上の発熱、元気消失・食欲不振を示し、脾臓の黒色化と顕著な腫大及び腹腔内リンパ節の暗赤色化が解剖時に確認された。このウイルスの同居豚 4 頭への水平伝播率は 100% を示した。同居豚においても全例で脾臓の黒色化と腫大が確認された。ASF と豚コレラを含めた他の疾病との鑑別点として、特徴的な脾臓の腫大と腹腔内リンパ節の暗赤色化の解剖所見が有用であると思われた。

キーワード：アフリカ豚コレラ、アフリカ豚コレラウイルス、豚

背景と目的

アフリカ豚コレラ (ASF) は、アフリカ豚コレラウイルス (ASFV) による豚やイノシシの発熱や全身の出血性病変を特徴とする致死率の高い伝染病である^{1),8),11)}。本病は発症動物の家畜としての経済的価値を失わせ、長期にわたり畜産業の生産性を低下させる。また、発生地域における社会的活動や国内流通はもとより輸出入にも影響を与え、多大な社会的・経済的損失を生む。このため、ASF は家畜衛生上最も問題とされる家畜伝染病の一つとなっている¹¹⁾。我が国ではこれまで本病の発生は確認されていないが、2007 年以降、常在地であるアフリカから南コーカサスへ飛び火し、

ロシア及び東欧諸国へと徐々に発生地域が拡大している^{8),11)}。特にロシアでの発生においては、昨年モンゴル国境付近の複数地域に発生が飛び火し、世界有数の養豚地域である中国への本病の侵入及び感染拡大が懸念されている⁸⁾。ASF の防圧が困難な理由として、本病の強い感染力に加えて、効果的なワクチンがない点、精肉や食肉加工品の流通による感染拡大が容易に起こる点が挙げられる¹¹⁾。人や物の移動が活発化している現状にあって、ASF 清浄国である我が国においても本病の侵入リスクは年々高まっている⁸⁾。

本病の病態と症状は、ウイルス株の病原性、感染ウイルス量、宿主の免疫状態などにより、甚急性、急性、亜急性、慢性そして不顕性と多様な様相を呈することが知られている^{10),11)}。その中で、急性・亜急性の ASF の症状は豚コレラと酷似するため、OIE マニュアルにおいても、本症の診断に際しては豚コレラとの鑑別が重要である点が強調されている^{1),9),10)}。本病と豚コレラの症状の類似点として、発熱と元気消失、そして出血病変の発現が指摘されている¹⁰⁾。また解剖所見においてもリンパ球や脾臓をはじめとした内臓諸臓器の出血性病変が酷似するといわれている¹⁰⁾。一方で鑑別点や診断の指標となる症状や解剖所見について明確にされておらず、鑑別診断上の問題点となっている。そこで今回、本病の病態を確認すると共に、豚コレラとの鑑別点、本病を疑うべき診断の指標について検討することを目的として、東欧の流行強毒株を用いた豚への感染実験を実施した。

材料及び方法

実験 1

実験 1 では、ASFV 東欧流行強毒株の豚への病原性を確認することを目的とした。ASFV Armenia07 株感染豚の脾臓乳剤をイーグル最小必須培地 (MEM)

で10,000倍希釈した接種材料 1 mL (ASFV 遺伝子数: 118copies/ μ L) を 8 週齢の豚10頭の大腿部筋肉内に接種した。接種後毎朝、直腸体温検温後にヘパリン血(以下全血)及び血清、唾液、鼻汁及び糞便を採材し、ウイルスの排泄時期をリアルタイム PCR を用いて検索した^{1),7)}。接種後 3 日目に 4 頭、5 日目に 2 頭、7 日目に 4 頭ずつ解剖する計画で、斃死例は随時解剖し、解剖の際に特徴的な肉眼病変を記録した。試験終了後に解剖した 9 週齢の豚 1 頭を非感染対照とした。

実験 2

実験 2 では、ASFV 東欧流行強毒株の水平伝播病態を確認することを目的とした。ASFV Armenia07 株感染豚の脾臓乳剤をイーグル最小必須培地 (MEM) で10,000倍希釈した接種材料 1 mL (ASFV 遺伝子数: 118copies/ μ L) を 8 週齢の豚 2 頭の大腿部筋肉内に接種し、それぞれの豚 1 頭に 2 頭の非接種豚を同居させた。同居後毎朝、直腸体温検温後に全血及び血清、唾液、鼻汁及び糞便を採材し、ウイルスの排泄時期をリアルタイム PCR を用いて検索した^{1),7)}。接種豚は接種後 6 日目に、同居豚は同居11日目に解剖する計画で、斃死例は随時解剖し、解剖の際に特徴的な肉眼病変を記録した。試験終了後に解剖した10週齢の豚 1 頭を非感染対照とした。

結果

実験 1

1-1. 臨床症状

接種後 3 日目に 5 頭で発熱がみられ、実験終了までに10頭中 8 頭で41℃以上の高い発熱が確認された。未発熱は接種後 3 日目に計画解剖した豚 No.3と接種後 3 日目に突然死した豚 No.10の 2 頭のみであった(表 1)。接種後 5 日目以降に解剖した 5 頭中 4 頭では、接種後 4 日目から元気消失・食欲不振を示した(表 1)。全例チアノーゼの症状は認められなかった。鼻出血がみられた症例は接種後 3 日目に突然死した豚 No.10と、接種後 5 日目に突然死した豚 No.9のみであった。直腸体温検温後に肛門から出血がみられた症例は接種後



図 1 : ASFV Armenia07 株筋肉内接種後 7 日目 (豚 No. 7)

接種後 7 日目に直腸体温測定後に肛門から出血。鮮血で暗赤色調ではない。

表 1 : ASFV Arm07 株感染豚の臨床症状および解剖時肉眼所見

豚 No	接種後日数	斃死 (D) or 計画解剖 (E)	臨床症状			解剖時肉眼所見							
			発熱	元気消失	外 貌 の 出 血 病 変	脾臓の腫大と黒色化	腹腔内リンパ節暗赤色化	腹水増量	肺水腫	消化管粘膜出血	腎臓の暗赤色化	扁桃の出血	肝臓・心臓の出血
1	3	E	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	3	E	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	3	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	3	E	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	3	D	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
6	5	E	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	5	D	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
9	5	D	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
8	6	D	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-
7	7	E	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

赤字 : 接種後 5 日目以降で高率に確認された所見。

7日目まで生存していた豚 No.7のみであった(図1)。外貌から出血病変を確認できた症例はこの3頭のみであった(表1)。その他の症例では発熱、元気消失・食欲不振以外の特筆すべき臨床症状は確認されなかった。

1-2. リアルタイム PCR 結果

リアルタイム PCR の結果、早いものでは接種後2日目の血液材料から ASFV 遺伝子は検出された(表

2)。接種後3日目では検索した9頭中8頭の血液材料から ASFV 遺伝子は検出された。鼻汁へのウイルス排泄は接種後3日目から始まり、唾液と糞便へのウイルス排泄は早いものでは接種後4日から確認された(表2)。

1-3. 解剖検査結果

接種後5日目以降に解剖した5頭中、豚 No.6以外の

表2: ASFV Arm07 株感染豚の臨床採材材料からのリアルタイム PCR 解析結果

豚No.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
接種後 2日目	全血	±	+	±	+	±	-	±	-	±	±
	血清	-	+	-	+	±	-	-	-	-	-
	鼻スワブ	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	唾液	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-
	糞便	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-
接種後 3日目	全血	+	Er	+	+	+	-	+	+	+	
	血清	+	+	±	+	+	-	-	+	+	
	鼻スワブ	-	±	-	+	±	-	-	-	-	
	唾液	-	-	-	-	-	-	-	-	±	
	糞便	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
接種後 4日目	全血					+	+	+	+	+	
	血清					+	+	+	+	+	
	鼻スワブ					+	-	-	+	+	
	唾液					±	-	-	-	+	
	糞便					±	-	-	-	-	
接種後 5日目	全血						+	+	+	+	
	血清						+	+	+	+	
	鼻スワブ						±	+	+		
	唾液						-	-	±		
	糞便						-	-	+		
接種後 6日目	全血							+			
	血清							+			
	鼻スワブ							+			
	唾液							+			
	糞便							-			
接種後 7日目	全血							+			
	血清							+			
	鼻スワブ							+			
	唾液							+			
	糞便							+			

+: 陽性 (Ct<35)、±: Doubtful (35<Ct<39)、-: 陰性 (39<Ct)。網掛け: 解剖後で検査なし。Er: Error。

接種後0日目と接種後1日目では全サンプル陰性。

4頭において、解剖時に血液が凝固しにくい様子が確認された。少なくとも死後2時間以上経過した豚No.9においても、解剖時に血液が凝固していなかった。一方、接種後3日目に計画解剖された4頭では深麻酔下放血時に血餅が出来にくいといった現象は確認出来なかった。

接種後3日目に計画解剖された4頭では、脾臓の色が非感染対照と比較してやや黒色調を呈していたこと以外に、特筆すべき解剖所見は確認されなかった。接種後5日目以降に解剖した5頭中4頭では、脾臓の黒色化と顕著な腫大(図2)及び腹腔内リンパ節の暗赤色化(図3, 4)が確認された(表1)。特に脾臓の幅は正常のものと比較して顕著に厚くなり、色も通常でみられる小豆色と比較して著しく黒色を呈していた(図2)。腹腔内リンパ節の中では特に胃と肝臓の周囲のリンパ節(図3)と腸間膜リンパ節(図4)及び腎門

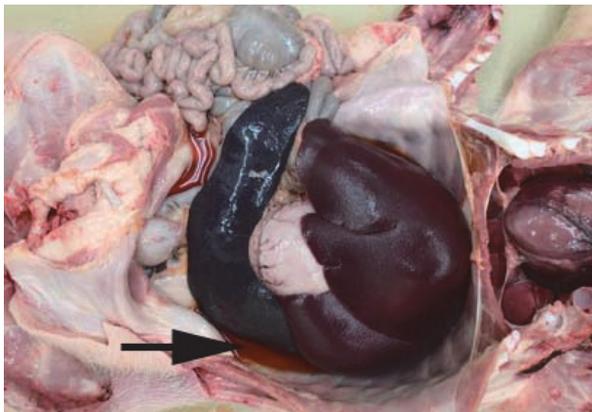


図2：ASFV Armenia07株筋肉内接種後5日目斃死豚(豚No.5)
開腹時、著しく腫大し、黒色調を呈した脾臓を確認。赤色腹水増量(矢印)。消化管を含め内臓臓器の漿膜面に出血性病変は認めず。



図3：ASFV Armenia07株筋肉内接種後5日目斃死豚(豚No.5)
胃の周囲のリンパ節の暗赤色化(矢印)。リンパ節周囲は水腫。



図4：ASFV Armenia07株筋肉内接種後5日目斃死豚(豚No.5)
腸間膜リンパ節の暗赤色化。リンパ節周囲は水腫。

リンパ節の色が顕著に暗赤色化を示していた。赤色腹水の増量(図2)と胃から大腸にかけての消化管粘膜の出血も5頭中4頭で確認された(表1)。扁桃の出血は5頭中3頭で確認された(表1)。肺水腫は斃死例では全例で確認されており、接種後7日目まで生存した1頭では軽度で確認された(表1)。今回腎臓の色の暗赤色化は1頭でみられたのみで、腎臓、肝臓や心臓の漿膜面の出血病変はいずれも認められなかった(表1)。

実験2

2-1. 臨床症状

接種豚2頭では実験1と同様に接種後3日目から40℃以上の発熱がみられ(図5)、接種後4日目から元気消失・食欲不振を示し、1頭は接種後5日目に下痢を発症した後突然死した(豚No.2)。もう1頭の接種豚(豚No.1)も接種後6日目に計画解剖するまで、餌を食べずにうずくまったままであった(図6)。接種豚2頭共に外貌からは出血病変を含めた著変は認められなかった(表3)。

接種豚No.2と同居させた豚No.5とNo.6では同居9日目から40℃以上の発熱がみられ(図5)、同居11日目では餌を食べずにうずくまっていた。接種豚No.1と同居させた豚No.3では同居11日目から40℃以上の発熱がみられ(図5)その日に計画解剖された。また豚No.4では同居10日目から40℃以上の発熱がみられ(図5)、翌日に計画解剖された。接種豚No.1と同居していた2頭では40℃以上の発熱はみられてはいたものの、元気はあり餌も食べていた(表3)(図6)。

表 3 : ASFV Arm07 株感染豚および同居豚の臨床症状および解剖時肉眼所見

豚 No	接種 or 同居	臨床症状				解剖時肉眼所見							
		斃死 (D) or 計画解剖 (E)	発熱	元気が消失食欲不振	外貌の出血病変	脾臓の腫大と黒色化	腹腔内リンパ節暗赤色化	腹水増量	肺水腫	消化管粘膜出血	腎臓の暗赤色化	扁桃の出血	肝臓・心臓の出血
1	接種	E	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-
3	同居	E	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
4	同居	E	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-
2	接種	D	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
5	同居	E	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-
6	同居	E	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-

赤字：半数以上で確認された所見.

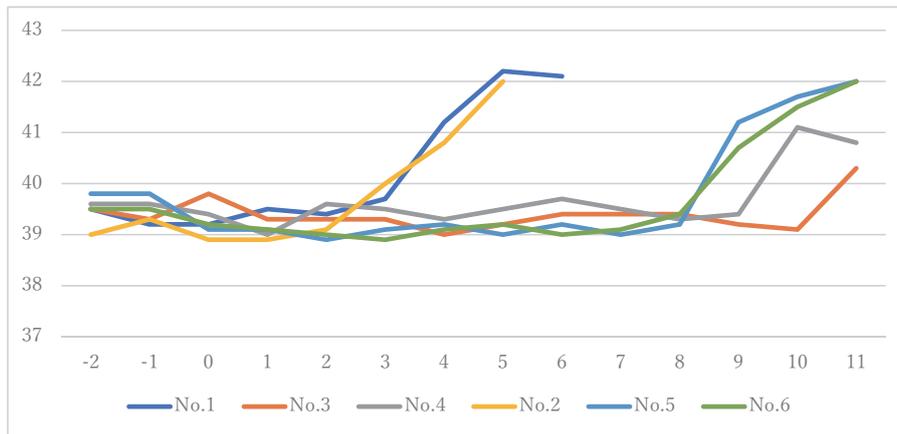


図 5 : ASFV Armenia07 株筋肉内接種豚と同居豚の直腸体温
 0 : 接種日および同居日。No. 1 : 接種豚 (No. 3 及び No. 4 同居)。No. 2 : 接種豚 (No. 5 及び No. 6 同居)。接種後 3 日目に接種豚 2 頭発熱。同居豚は同居 9 日目に 2 頭。同居 10 日目もう 1 頭発熱。同居 11 日目さらに 1 頭発熱。発熱は同居豚 4 頭すべてで確認。



図 6 : ASFV Armenia07株筋肉内豚(豚 No. 1)と同居豚(豚 No. 2 と No. 3)。接種後同居 5 日目。同居豚は元気があり食欲も旺盛。接種豚は餌を食べずに壁際にうづくまって動こうとしない。

2-2. リアルタイム PCR 結果

接種豚では接種後 3 日目の血液材料から ASFV 遺伝子が検出され、鼻汁と唾液からは接種後 4 日目から ASFV 遺伝子は確認された (表 4)。接種豚 No.2 と同居していた豚 No.5 と No.6 では同居 8 日目の血液材料から、接種豚 No.1 と同居していた豚 No.3 と No.4 では同居 11 日目の血液材料から ASFV 遺伝子が検出された (表 4)。同居豚 4 頭すべてにおいて接種豚からの水平感染が確認された (感染率 100%)。

2-3. 解剖検査結果

接種豚 2 頭では特徴的な脾臓の黒色化と腫大及び内臓リンパ節の暗赤色化の解剖所見が確認された (表 3)。

表 4 : ASFV Arm07 株感染豚および同居豚の臨床採材材料からのリアルタイム PCR 解析結果

豚 No.		動物室 1			動物室 2		
		1	3	4	2	5	6
接種後 3 日目 同居 3 日目	全血	+	-	-	+	-	-
	血清	+	-	-	+	-	-
	鼻スワブ	±	-	-	-	-	-
	唾液	-	-	-	-	-	-
	糞便	-	-	-	-	-	-
接種後 4 日目 同居 4 日目	全血	+	-	-	+	-	-
	血清	+	-	-	+	-	-
	鼻スワブ	+	-	-	+	-	-
	唾液	±	±	-	±	-	-
	糞便	-	-	-	-	-	-
接種後 5 日目 同居 5 日目	全血	+	-	-	+	-	-
	血清	+	-	-	+	-	-
	鼻スワブ	+	-	-	+	-	-
	唾液	+	-	-	+	-	-
	糞便	-	-	-	-	-	-
接種後 6 日目 同居 6 日目	全血	+	-	-		-	-
	血清	+	-	-		-	-
	鼻スワブ	+	±	±		-	-
	唾液	+	-	-		±	-
	糞便	±	-	-		-	-
同居 7 日目	全血		-	-		-	-
	血清		-	-		-	-
	鼻スワブ		±	-		-	-
	唾液		-	-		-	-
	糞便		-	-		-	-
同居 8 日目	全血		-	-		+	±
	血清		-	-		-	-
	鼻スワブ		-	-		-	-
	唾液		±	-		-	-
	糞便		-	-		-	-
同居 9 日目	全血		-	-		+	+
	血清		-	-		+	+
	鼻スワブ		±	-		-	-
	唾液		±	-		±	-
	糞便		-	-		-	-
同居 10 日目	全血		-	±		+	+
	血清		-	-		+	+
	鼻スワブ		-	-		+	±
	唾液		+	+		±	-
	糞便		-	-		-	-
同居 11 日目	全血		+	+		+	+
	血清		±	+		+	+
	鼻スワブ		±	±		+	+
	唾液		±	±		+	±
	糞便		-	-		-	-

+: 陽性 (Ct<35)、±: Doubtful (35<Ct<39)、-: 陰性 (39<Ct)。網掛け: 解剖後で検査なし。

接種後 0 日目から接種後 2 日目では全サンプル陰性。

また、赤色腹水増量、肺水腫、消化管粘膜の出血、腎臓の暗赤色化が確認された(表 3)。今回、同居豚においても全例で脾臓の黒色化と腫大が確認された(表 3)。腹腔内リンパ節の暗赤色化は豚 No.4 と No.5 では容易に確認できたが、豚 No.6 では腎門リンパ節と胃の周囲のリンパ節で部分的にみられるのみで、豚 No.3 では確

認できなかった。その他の所見として、消化管粘膜の出血が同居豚 4 症例すべてで確認された(表 3)。腎臓の色の暗赤色化が豚 No.3 を除いた同居豚 3 症例において確認された(表 3)。肺水腫や赤色腹水の増量の所見は同居豚全例で確認されなかった(表 3)。同居 11 日目に発熱し、その日に解剖された豚 No.3 では深麻酔下

放血時に血餅が形成されたが、それ以外の同居豚及び接種豚では血餅が出来にくいことが確認された。

考察

今回、実験1の試験期間中に4頭斃死したが、斃死豚に共通する特徴病変は外貌からは確認出来ず、外貌所見からは他の疾病との鑑別は難しいことが確認された。一方、実験1の接種後5日目以降に解剖した豚5例中4例において、脾臓と腹腔内リンパ節の暗赤色化を伴う腫大が確認された。特に脾臓は著しく大きくなっていった。豚の腹腔内リンパ節は通常白色調を呈し、周囲の脂肪組織や結合組織にまぎれて確認するのが容易ではないが、ASFV感染豚では暗赤色を呈し、容易に確認することができた。実験2の同居試験においても、接種豚では2頭共に脾臓の黒色化と腫大及び腹腔内リンパ節の暗赤色化の所見が確認された。同居豚においても全例で脾臓の黒色化と腫大が確認され、4例中3例において腹腔内リンパ節の暗赤色化が確認された。脾臓と腹腔内リンパ節の病変はこれまでの海外でのASFV感染実験においても報告されている^{2),4),6),10)}。一方、これまで特徴病変として報告されている腎臓の出血病変^{2),4),6),9),10)}は今回の実験1では高率には認められなかった。今回、ASFを摘発する際には、特徴的な脾臓の黒色化と腫大及び腹腔内リンパ節の暗赤色化の解剖所見がわかりやすく、有用である可能性が示された。

今回、実験1で接種後3日目に解剖した4頭すべてにおいて解剖時に肉眼病変は確認出来なかった。これら4頭は発熱の症状を確認した直後の解剖であったため、脾臓と腹腔内リンパ節の病変はまだ形成されていなかったと考えられた。同居豚においても発熱したその日に解剖された豚No.3では腹腔内リンパ節の肉眼病変は認められなかった。本病の摘発には早期発見が重要ではあるが、発熱を示した後、元気消失・食欲不振を呈した豚を検査解剖することが重要で、初発生の場合にはまだ元気や食欲がある豚を解剖しても所見を見逃すおそれがあると考えられた。一方、リアルタイムPCRの結果では40℃以上の発熱や元気消失、食欲不振を呈したその日において、血液材料中や唾液からASFV遺伝子が検出されている。血液材料中のASFV遺伝子は発熱の症状発現の1日もしくは2日前から検出されているため、ASFの早期摘発のためにはウイルス学的検査がやはり一番重要であることが確認された。

今回実験2において、接種豚No.2は接種後4～5日

目に鼻汁および唾液からウイルスを排泄しており、同居豚No.5とNo.6はその時期に感染し、その後同居9日目に発熱の症状を呈したと考えられた。接種豚No.1は接種後5～6日目に鼻汁および唾液からウイルスを排泄しており、同居豚No.3とNo.4はその時期に感染したと推察され、その後豚No.4は同居10日目に、豚No.3は同居11日目に発熱の症状を示した。2つの群の発症までの時間差は接種豚から排泄されたウイルス量にあると推察された。今回、2つの実験結果からASFV感染豚では感染後4～5日で発熱の症状を示して、その後鼻汁や唾液へとウイルスを排泄することが確認された。同居豚は同居4～5日で感染した後、4～5日後に発症しており、感染豚から次の豚の症状発現が確認される期間は10日前後であることが確認された。ASFVは感染伝播力が強いウイルスではあるものの、豚の口蹄疫のように同居1～2日で感染し発症するような感染病態を示すものではないことが確認された³⁾。

ASFと豚コレラは、臨床症状のみでは判断することは難しいことが知られている¹⁰⁾。今回の実験1及び実験2の結果から、ASFと豚コレラを含めた他の疾病との鑑別は、臨床症状のみでは難しいことが確認された。一方で高い罹患率、感染率を示すことが確認され、高い発熱と元気消失、食欲不振の豚が1頭2頭ではなく、豚群の中で広がっていく様子が確認されたときに、ASFもしくは豚コレラを疑う事例として注視すべきであることが改めて確認された。今回消化管粘膜の出血病変も高率に確認されているが、消化管を開けることによって汚染を広げる恐れがあるため、消化管を開ける際にはバイオセキュリティに十分留意する必要があると考える。ASFV感染豚の末梢血中では白血球数と共に血小板が著しく低下し、血液が凝固しにくくなる特徴を示すことが知られている^{5),12)}。今回の実験1及び実験2においても、豚の解剖時に血液が凝固せずに血餅が出来にくい現象が共に確認された。この所見もASFV感染を疑う重要な所見であると考えられた。しかしながらこの血小板減少症は豚コレラにおいても認められ、鑑別診断の判断基準としては難しいことも報告されている⁹⁾。著者はプラムアイランド動物疾病診断センターにおいてASFと豚コレラの感染試験を経験しているが、その時ASFで顕著にみられた血液凝固不全は豚コレラ症例では確認できなかった(未発表)。その時の感染試験において、二つの疾病の鑑別点として血液凝固不全の有無、脾臓と腹腔内リンパ節の肉眼病変が重要であると考察したが¹¹⁾、血液凝

固不全の有無については、感染試験におけるウイルス株、接種量、宿主の免疫状態等の条件の違いによって、ASFにおいても報告される結果にバラつきがあるので注意が必要である^{2),4)-6),9),10),12)}。ASFでは腎臓の出血病変も非常に特徴的であると報告されているが^{2),4)-6),9),10)}、接種豚では腎臓の暗赤色化はほとんど認められなかった。一方で、同居試験では高率に認められており、その差を生じる要因については今後症例数を増やして検討していく必要があると考えられた。今回の結果においては、ASFと豚コレラを含めた他の疾病とのわかりやすい鑑別点として、特徴的な脾臓の黒色化と腫大及び腹腔内リンパ節の暗赤色化の解剖所見が有用であると考えられた。

謝辞

本研究の動物実験において、ご協力頂いた古川桃子氏（滋賀県）、山口葵氏（岡山県）、渡邊勉氏（島根県）、久保顕志氏（動物検疫所）、岩田啓氏（動物検疫所）、日比浩之氏（動物検疫所）、田村愛子氏（動物検疫所）、中村達夫氏（動衛研）、石井健一氏（動衛研）、神田雅之氏（動衛研）、木村佑樹氏（動衛研）に深謝いたします。また本研究は農林水産省「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委託事業」、「家畜の伝染性疾病に関する実態を踏まえたサーベイランス手法・検査診断手法の研究－アフリカ豚コレラの検査体制・病原性検証体制の整備及び高度化に係る研究－」（課題ID：16789664）により実施されました。すべての著者は本論文に関連して開示すべき利益相反はない。

引用文献

- 1) Anonymous. (2012) Chapter 2.8.1. African swine fever. Manual of Diagnostic Tests and vaccines for Terrestrial Animals 2012. http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2_08.01_ASF.pdf.
- 2) Blome S, et al. (2013) Pathogenesis of African swine fever in domestic pigs and European wild boar. *Virus Res*, 173:122-130.
- 3) Fukai K, et al. (2011) An experimental infection in pigs using a foot-and-mouth disease virus isolated from the 2010 epidemic in Japan. *J Vet Med Sci*, 73:1207-1210.
- 4) Galindo-Cardiel I, et al. (2013) Standardization of

pathological investigations in the framework of experimental ASFV infections. *Virus Res*, 173: 180-190.

- 5) Gomez-Villamandos JC, et al. (2013) Pathology of African swine fever: The role of monocyte-macrophage. *Virus Res*, 173:140-149.
- 6) Howey EB, et al. (2013) Pathogenesis of highly virulent African swine fever virus in domestic pigs exposed via intraoropharyngeal, intranasopharyngeal, and intramuscular inoculation, and by direct contact with infected pigs. *Virus Res*, 178:328-339.
- 7) King DP, et al. (2003) Development of a TaqMan PCR assay with internal amplification control for the detection of African swine fever virus. *J Virol Methods*, 107:53-61.
- 8) 農林水産省消費安全局動物衛生課. (2018) アフリカ豚コレラについて. <http://www.maff.go.jp/j/syoutan/douei/asf.html>.
- 9) Sánchez-Vizcaíno JM and Neira MA. (2012) African swine fever virus. In: Zimmerman JZ, et al. eds, *Disease of swine*. 10th ed. p396-404, Wiley-Blackwell, West Sussex.
- 10) Sánchez-Vizcaíno JM, et al. (2015) An update on the epidemiology and pathology of African swine fever. *J Comp Pathol*, 152:9-21.
- 11) 山川睦ら (2016) アフリカ豚コレラ. *日本獣医師会雑誌*, 69:240-242.
- 12) Zakaryan H, et al. (2014) Evaluation of hemostaseological status of pigs experimentally infected with African swine fever virus. *Vet Microbiol*, 174:223-228.