

アフリカ豚熱ユニット

國保 健浩、舩甚 賢太郎、亀山 健一郎、北村 知也
 (動物衛生研究部門 越境性家畜感染症研究領域)

研究の目的・背景等

現在、地球的規模で流行するアフリカ豚熱は、中国、韓国など近隣国でも発生しており、致死性が極めて高く未だ予防法がないため、その侵入に厳重な警戒が必要である。一方、2018年に26年振りに国内で発生した豚熱は、イノシシでの感染が拡大しており、養豚場での発生も継続している。両疾病はともに法定伝染病に指定される重要疾病であるが、臨床症状が酷似するため所見のみで診断することは困難である。そのため両疾病を的確に摘発して防疫措置を迅速に実行する上で、高精度で実用性に優れた遺伝子検査法の開発とその普及が求められる。

研究の概要

アフリカ豚熱に感染した豚を簡易かつ確実に摘発するため、実用性に富むコンベンショナルPCR法を確立するとともに、同法に適した陽性対照試薬を開発した(図2)。また、豚熱の検査法についても検査手順の見直しを行うとともに、検査結果の判定を容易にする新たな陽性対照試薬を作成して、検査精度を高めた(図3)。これまでのPCR検査では、誤って混入した陽性対照試薬に由来する増幅を、検体に由来する正しい増幅と区別することができなかったが、新たに開発した陽性対照試薬では、その区別ができるよう遺伝子配列を改変した。

社会実装の状況または計画

両検査法は国が定める特定家畜伝染病防疫指針に収載された。これに基づいて国・都道府県の病性鑑定施設に既に計56万検体分以上の試薬を配布し、現在両疾病の検査に活用されている。



図1 アフリカ豚熱および豚熱の臨床所見

アフリカ豚熱(左)と豚熱(右)は異なるウイルスによる、まったく別の伝染病であるが、臨床的には発熱、元気喪失、食欲不振など酷似するため診断や鑑別には遺伝子検査が必須となる。

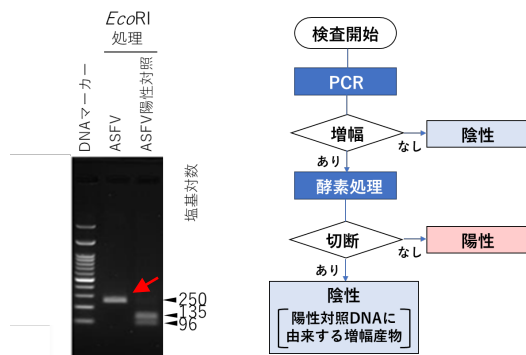


図2 アフリカ豚熱の新しい遺伝子検査法

検体から核酸を抽出後、アフリカ豚熱ウイルス特異的プライマーでPCR増幅する。増幅後に酵素で処理した産物を電気泳動すると左図(実施例)が得られる。判定のフロー(右図)に従って酵素処理した後に、依然として250塩基対の位置に増幅産物が認められる場合(左図の矢印)、アフリカ豚熱陽性と判定する。(陰性の場合は酵素処理により小さな断片に切断される。)

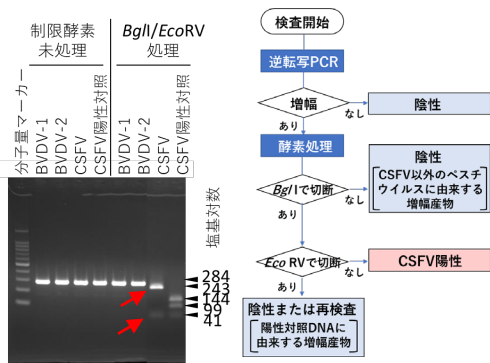


図3 豚熱の新しい遺伝子検査法

検体から核酸を抽出後、豚熱ウイルス特異的プライマーで逆転写PCRを行う。増幅後にBglIおよびEcoRV酵素で処理した産物を電気泳動すると左図(実施例)が得られる。判定のフロー(右図)に従い、243塩基対ならびに41塩基対の位置にBglI酵素でのみ切断を受けた産物を認めた場合(左図では右から2レーン目の矢印)、豚熱(CSFV)陽性と判定する。豚熱ウイルス以外の同属ウイルス(左図では牛ウイルス性下痢ウイルスI型およびII型(BVDV-1およびBVDV-2))に由来する増幅産物は上記いずれの酵素でも切断されない。