

5. リアルタイム PCR を活用した豚熱 PCR 陽性肥育豚のウイルス伝播リスクの検証

三重県中央家畜保健衛生所

○平岡 真実 川島 豪

【目的】令和7年に公表された豚熱の選択的殺処分案において、殺処分対象外とされた PCR 陽性の無症状肥育豚の伝播リスクを検証した。【方法】(試験1) 既知のウイルス力価をもつ CSFV ワクチン株を10倍階段希釈し、qPCRでCSFVコピー数を測定。コピー数と力価の相関式を作成した。(試験2) 豚熱PCR陽性の無症状肥育豚の血清18検体のコピー数を測定し、試験1の相関式を用いてウイルス力価を推定した。(試験3) 試験2に用いた血清をCPK細胞に接種しウイルス分離を行った。【結果】(試験1) コピー数とウイルス力価に高い相関を確認した。(試験2) 10/18検体の血清1mL中に、最小感染量($10^{3.5}$ TCID₅₀)以上のCSFVを確認。ワクチン接種歴に有意差はなかった。(試験3) 7/18検体がウイルス分離陽性。うち2検体はワクチン接種済みであった。陽性検体は推定ウイルス力価が有意に高かった。【考察】ワクチン接種済み個体を含むPCR陽性の無症状肥育豚は伝播リスクを有すると推察された。選択的殺処分導入時は農場内の二次感染防止策も重要と考えられる。

背景と目的

豚熱 (Classical Swine Fever : CSF) は、ワクチン接種開始後も国内で発生が継続しており [1]、全頭殺処分に伴う多大な経済的損失が問題となっている。令和7年度には、新たな対策として「豚熱清浄化ロードマップ」が公表され、殺処分範囲見直しに向けた検討が開始された [2]。第108回牛豚等疾病小委員会で検討された方針案では①ワクチン未接種豚、②ワクチン接種後20日以内の豚、③発育不良に陥った豚、④臨床症状を呈してPCR陽性となった豚のみを殺処分すれば他の肥育豚等を殺処分の対象から除外したとしても、全頭殺処分と比較してウイルス伝播リスクは変わらないとされた [3]。しかし、国内の発生事例における殺処分前検査 (疫学調査) では、無症状であるにもかかわらずPCR陽性の肥育豚が確認されている [4]。前述の選択的殺処分案では、これらの個体は殺処分対象から除外されることとなるが、PCR陽性の無症状肥育豚に関する詳細なデータは乏しく、当該個体がどの程度の感染性やウイルス伝播リスクを有するかについては明らかに

なっていない。この点については、牛豚等疾病小委員会も、選択的殺処分の実施に当たって必要となる具体的なリスク管理措置について、詳細な内容および運用をさらに検討する必要があるとしており [3]、科学的根拠に基づくリスク評価が求められている。しかしながら、リスク評価に必要なウイルス力価測定やウイルス分離は交差汚染のおそれや、結果判定までに1週間以上の時間を要するなどの課題がある [5]。特に野外株のウイルス力価測定については、家畜保健衛生所で簡便に実施できる手法が確立されていない。

そこで本試験では、汚染リスクが低く短時間で結果が得られるリアルタイムPCR (以下、qPCR) を用いて、PCR陽性の無症状肥育豚における「ウイルス量」および「感染性」を評価し、これらの個体が有する伝播リスクを明らかにすることを目的とした (図1)。

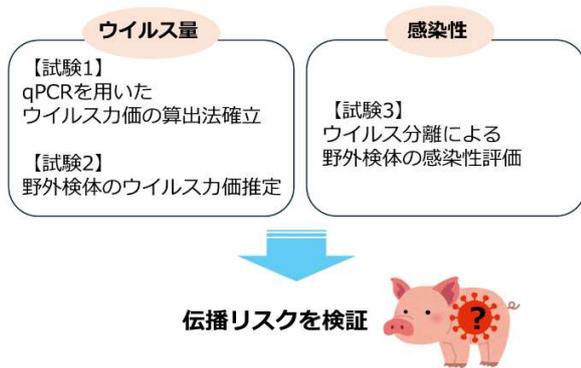


図1 本試験の概要

材料と方法

【試験1】 qPCRコピー数とウイルス力価の相関式作成：小笠原らの報告に基づき既知のウイルス力価(TCI D₅₀/mL)を有する豚熱ウイルス(以下、CSFV)の GPE株(ワクチン株)を10倍階段希釈し、各希釈液についてqPCRでウイルス遺伝子コピー数を測定した[6]。RNAの抽出はIndiSpin Pathogen Kit(INDICAL BIOSCIENCE)を、qPCRはCSFV/ASFV Direct RT-qPCR Mix & Primer/Probe with ROX Reference Dye Ver.2 (TAKARA)を用いて実施した。測定した各希釈液のコピー数とTCID₅₀の相関式を作成し、試験2に用いた。

【試験2】 野外PCR陽性肥育豚のウイルス力価推定：県内の豚熱発生事例でPCR陽性と判定された無症状の肥育豚18検体の血清を用いた。内訳はワクチン接種済みが7検体、未接種が11検体である。qPCRにより血清中コピー数を測定し、試験1で得た相関式を用いてコピー数からウイルス力価を推定した。さらに、推定されたウイルス力価について、実験感染で明らかになっている最小感染量(10^{3.5} TCID₅₀) [7]およびワクチン接種歴と比較した。検定はStudent t-testを用い、P値が0.05未満の場合を有意差ありとした。

【試験3】 ウイルス分離による感染性評価：試験2に用いた血清をCPK細胞に接種し、3代盲継代後に蛍光抗体法で判定した。蛍光抗体は“京都微研, 豚熱-F A(株式会社微生物科学研究所)を用いて指針のとおり

実施し特異蛍光が確認された場合をウイルス分離陽性とし、感染性ありとした[8]。さらに、分離結果について、試験2で算出した推定ウイルス力価およびワクチン接種歴と比較した。検定はStudent t-testを用い、P値が0.05未満の場合を有意差ありとした。

結果

【試験1】 qPCRコピー数とウイルス力価の相関式作成：qPCRで測定したコピー数とウイルス力価には強い相関(R² = 0.9989)が認められ、相関式(相関式：y = 0.9955x + 0.1056)の妥当性が確認された(図2)。

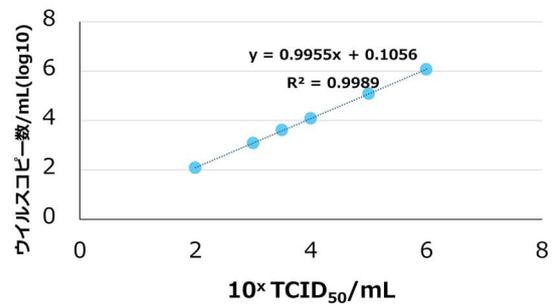


図2 CSFV GPE株(ワクチン株)のウイルス力価およびウイルスコピー数

【試験2】 野外PCR陽性肥育豚のウイルス力価推定：推定ウイルス力価は10^{1.5}~10^{7.7} TCID₅₀/mLであった。うち10検体は、血清1mLあたりのウイルス力価が最小感染量(10^{3.5} TCID₅₀)を上回っていた。ワクチン接種歴を比較すると、ワクチン接種群は7検体中4検体が、ワクチン未接種群は11検体中6検体が血清1mLあたりに最小感染量以上のウイルス力価を保有しており、2群間に有意差は認められなかった(p=0.489)(図3)。

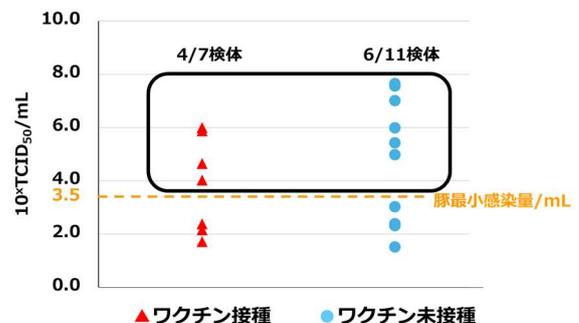


図3 血清中の推定ウイルス力価

(試験3) ウイルス分離：18検体中7検体がウイルス分離陽性であった(図4)。また、試験2で推定したウイルス力価と比較すると、分離陽性検体は陰性検体より有意に推定ウイルス力価が高かった($p=0.029$)。ワクチン接種歴を比較すると、ワクチン接種群は7検体中4検体が、ワクチン未接種群は11検体中6検体が分離陽性であった(図5)。

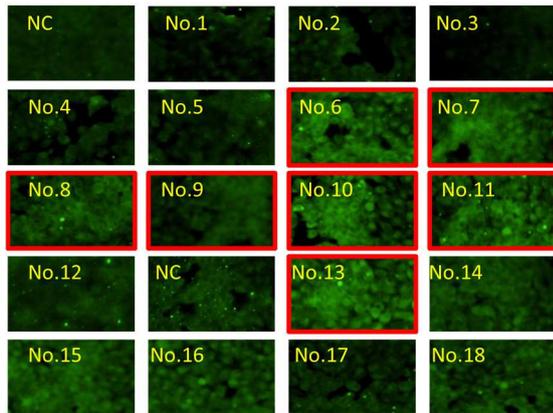


図4 ウイルス分離結果(陽性:No. 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13)

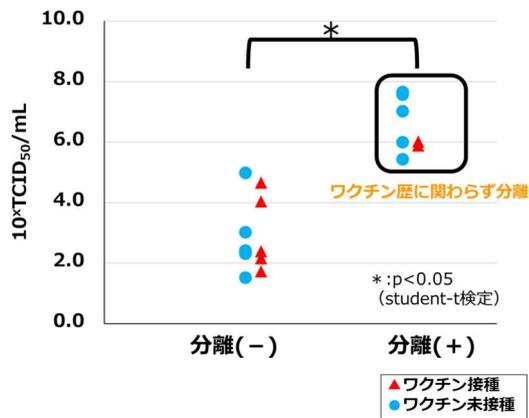


図5 ウイルス分離結果と推定ウイルス力価の比較

考察

試験1の結果より、qPCRを用いてウイルス力価が推定できる可能性が示唆された。本来、ウイルス力価を測定するには、細胞を用いてCPEの有無や蛍光抗体法により判定する手法が一般的であるが[9]、CSFV野外株に関しては都道府県の家畜保健衛生所で実施する手法が

確立されていない。また、感染性のあるウイルスを扱うため、交差汚染の危険性や、結果判定までに1週間以上の時間を要するなどのデメリットがあることから[5]、細胞を用いた手法は現実的でない。しかし、小笠原らの手法であれば感染性のない遺伝子を扱うため交差汚染の危険性が低く、3~5時間と短時間でウイルス力価推定が可能であるため、安全かつ早急に結果判定を行うことができ家畜保健衛生所での活用も期待できると考えられた。また、先行研究ではクロバエが保有するCSFVのウイルス力価が明らかとされているが[6]、野外感染豚の血清中ウイルス力価に関する報告はこれまでになく、本データは豚熱の病態解明にも活用できると考えられる。

試験2の結果より、無症状の肥育豚の血清1mL中にも最小感染量[7]以上のウイルス力価が含まれると推察された。感染実験において血清と唾液に含まれるウイルス力価はおおむね同じであると明らかとなっていることから[7]、本試験でウイルス力価が高かった個体は、同等のウイルス力価を含んだ唾液を体外に排出しウイルスを伝播していた可能性が考えられる。また、ワクチン接種歴とウイルス力価に有意差がなかったことから、ワクチンは発症抑制には有効であるものの感染防御には不十分と考えられた。この結果は既報[10]と一致したものであり、豚熱対策にはワクチン接種だけでなく飼養衛生管理等の対策も重要であることが改めて示された。

試験3の結果より、無症状の肥育豚からも感染性のあるCSFVが分離されることが明らかとなった。さらに、ワクチン接種後の2検体からも分離されていることから、前述と同様にワクチンだけでは豚熱感染は防ぐことができないと考えられる。また、分離陽性検体はqPCRで推定したウイルス力価が有意に高値であった。過去に、SARS-CoV-2においてqPCRで算出したCt値が感染性の指標となり得るとの報告[11]もあることから、CSFVにおいてもqPCRによって感染性の推定ができる可能性が示唆された。一方、血清のqPCRが陽性にもかかわらず分離陰性の検体が存在した理由としては、qPCRで

は感染性がないCSFVの遺伝子断片や、環境中のCSFVを検出していた可能性が考えられる[11]。

以上より、豚熱PCR陽性の無症状肥育豚の一部個体は、高ウイルス量および感染性のあるCSFVを保有し、豚熱伝播リスクになり得ると考えられた。当該個体は、選択的殺処分における殺処分の対象外であり、豚熱発生後の農場内で飼養を継続する可能性が高いことから、充分なリスク管理が必要と思われる。特に、近年の発生事例では離乳豚での発生が多いため[1]、生存豚から離乳豚への感染防止対策として、緊急のワクチン追加接種が重要と考えられる。加えて、ワクチン接種後の豚も感染する可能性が示唆されたことから、ワクチン接種だけでなく、飼養衛生管理の徹底も行う必要がある。特に、選択的殺処分の実施にあたっては、防疫作業に使用する器具や衣服、長靴を殺処分対象外個体がいる豚舎に持ち込ませない等の交差汚染対策や、農場内での消毒も強化する必要があると考えられる。

本試験の結果、選択的殺処分は殺処分対象外個体からの二次感染による農場内での続発や追加の殺処分につながるおそれがあると示唆された。しかしながら、選択的殺処分は農場やその従業員の経済的・精神的負担を軽減させるという大きなメリットがあり、積極的な導入が望まれる。このメリットを活かすためには、高リスク個体の殺処分だけでなく、殺処分対象外個体のリスク管理や二次感染防止策もあわせて実施することが重要と考える。

本試験の課題としては、ウイルス力価の推定とウイルス分離の有無のみでは感染ステージの区別が困難であることがあげられる。例えばウイルス力価が低かった場合、感染初期か感染耐過した時期かを区別することはできない。また、病態の評価には、豚熱だけでなく他のウイルス性疾病や細菌性疾病についても考慮する必要がある。今後は、抗体価や臨床経過、他の病原性因子の有無についても明らかにし、より詳細な評価を行っていききたい。

参考文献

- [1] 農林水産省:国内における豚熱の発生状況について, 農林水産省ホームページ, (2026年2月9日取得, <https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/csf/domestic.html>)
- [2] 農林水産省:豚熱清浄化ロードマップの策定について, 農林水第36-119号, 令和7年7月3日
- [3] 農林水産省:食料・農業・農村政策審議会家畜衛生部会第108回牛豚等疾病小委員会議事概要, 農林水産省ホームページ(2026年2月9日取得, <https://www.maff.go.jp/j/council/seisaku/eisei/251006.html>)
- [4] 農林水産省:豚熱発生農場の現地調査概要, 農林水産省ホームページ, (2026年2月9日取得, <https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/csf/domestic.html>)
- [5] Volker Moennig: The control of classical swine fever in wild boar., *Front Microbiol*, Vol6, 1211 (2015)
- [6] 小笠原悠, 堀中あさひ, 米山州二, 市川優: クロバエによる豚熱ウイルスの伝播リスク評価, *日獣会誌*, 77(12), 173-181 (2024)
- [7] Katsuhiko FUKAI, Tatsuya NISHI, Mitsutaka IKEZAWA, Rie KAWAGUCHI, Kazuki MORIOKA: Oral infectivity and 50% porcine infectious dose of classical swine fever virus JPN/1/2018 strain isolated from the first case in Japan, *J Vet Med Sci.*, 87(7): 769-773 (2025)
- [8] 農林水産省:豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針 令和2年7月1日農林水産大臣公表, 令和6年10月31日一部変更, p111-113
- [9] WOAH: chapter 3.8.3 CLASSICAL SWINE FEVER, (2026年2月9日取得, https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.08.03_CSF.pdf)
- [10] 農林水産省:豚熱ワクチン接種農場における飼養衛生管理の重要性, 農林水産省ホームページ, (2026年2月9日取得, <https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/csf/farmer.html>)
- [11] Carla Berengua, Marina Lopez, Montserrat Este

ban, Pilar Marín, Paula Ramos, Margarita del Cuervo, Ignasi Gich, Ferran Navarro, Elisenda Miro, Núria Rabella: Viral culture and immunofluorescence for the detection of SARS-CoV-2 infectivity in RT-PCR positive respiratory samples, *Journal of Clinical Virology*, 152, 105167 (2022)