

演題番号 : 10

演題名 : 秋田県で発生した兎出血病と検査法の検討

発表者氏名 : ○李 英輝

発表者所属 : 秋田県北部家保

1. はじめに : 令和 3 年 6 月約 2,000 羽規模の兎飼養農場で鼻出血等の症状を伴う突然死が散発し 3 週間で 15 羽死亡。病性鑑定の結果、兎出血病 (RHD) と診断。近年国内でも新たに発生が確認された兎出血病ウイルス 2 型 (RHDV2) によるものと判明。発生から約 2 ヶ月後、繁殖再開のため兎舎および繁殖候補兎の清浄性確認検査の依頼があり、環境材料およびプール糞便検体を材料として従来の検査法よりもウイルス遺伝子を高感度に検出可能な Nested-RT-PCR およびリアルタイム RT-PCR の系を検討した。

2. 材料および方法 : 死亡兎 5 羽 (成畜 3 羽、子畜 2 羽)。臓器生材料 (心臓、気管および肺、肝臓、脾臓、腎臓、脳)、糞便および尿。病理組織検査は定法に従い実施 (HE 染色、PTAH 染色)。細菌検査は定法に従い実施。ウイルス検査は① RHDV RT-PCR (Le Gall et al.1998 病性鑑定マニュアル第 4 版)、② RHDV2 RT-PCR (WOAH Terrestrial Manual Chapter.3.7.2)、③ PCR 産物シーケンス解析 (秋田県立大学に依頼)、④ Primer3plus (<https://www.primer3plus.com/>) による新規プライマーおよびプローブ設計

および新規設計した Nested-RT-PCR およびリアルタイム RT-PCR を実施した。

3. 成績 : 全羽について壊死性肝炎や各実質臓器における出血性病変を認め、さらに一部の個体では大脳や中脳における血管性細胞浸潤や延髄における微小線維素血栓を認めた。細菌検査は全羽有意菌陰性。ウイルス検査は① 4/5 陽性、②全検体陽性、③近年国内で報告された株と 99 % 以上相同、④新規設計の Nested RT-PCR の系では肝臓及び尿の階段希釈材料において 10 ~ 100 倍程度の感度上昇、リアルタイム RT-PCR の系では 100 倍から 1000 倍程度の感度の上昇を認めた。

4. 考察 : 令和 3 年 9 ~ 11 月、④で設計した系で環境材料 (計 43 検体) およびプール糞便 (延べ 213 検体をプール) の検査を実施。1 検体を除き陰性を確認し以後農場で RHD の発生は認められていない。Nested RT-PCR では陽性を否定できない位置に非特異のバンドが現れる事があり、検査感度や多検体の処理などを含め、リアルタイム RT-PCR の系がより有用であると考えられた。