

14 一養豚場でみられたアカバネウイルスによる異常産の再発生と疫学調査

中央家畜保健衛生所

井上 大輔・早島 彬美・川本 雄太

対馬家畜保健衛生所

元村 泰彦

アカバネウイルス (AKAV) はブニヤウイルス科オルソブニヤウイルス属に属する RNA ウィルスで、南九州では主にウシヌカカによって媒介され^{18、20、40}) 妊娠した牛や山羊、羊に感染して流産、早産、死産及び新生子の関節彎曲症や水無脳症を引き起こす^{4、16、17、19}) 一方で、生後感染牛の非化膿性脳脊髄炎の発生も報告されている^{6、10、14、26、30})。AKAV の国内分離株は、分子系統樹解析から genogroup と の2つの遺伝子型に大別されるが¹³)、生後感染による脳脊髄炎症例の多くは genogroup に属する AKAV の感染に起因することが報告されている。多くの動物が AKAV に感受性を有し、野外では、牛、羊、山羊、豚、馬など大型、中型動物や人などから抗体が検出されている^{3、9、21、25、28、41})。豚においては、実験的に、4週齢の子豚に軽度の非化膿性脳炎を惹起した報告⁹) や、垂直感染が認められた報告²⁴) があるが、豚胎子への病原性は認められていなかった。このような中、平成 23 年、広島県において、genogroup に分類される AKAV による豚の異常産が世界で初めて確認された⁷)。その後、平成 25 年 12 月、長崎県の一養豚場でも、AKAV の感染が原因と考えられる豚の異常産が確認された³⁵)。しかしながら、養豚場におけるヌカカの飛来状況や豚への吸血嗜好性に関する調査報告は非常に少なく、豚に関する AKAV の疫学には不明な部分が多かった。そこで、当該農場内における異常産発生前後の AKAV の動態と併せて、ヌカカの飛来状況を調査していたところ、平成 27 年 11 月、当該農場で再び同様の異常産が発生したので、これらの概要を報告する。

1 材料及び方法

(1) 病性鑑定

平成 27 年 11 月に娩出された 3 腹の白子計 13 頭を剖検に供した後、病理組織学的検査として、それらの脳、脊髄、骨格筋及び主要臓器、並びに 3 腹の胎盤を 10%ホルマリン液で固定後、パラフィン切片を作製しヘマトキシリン・エオジン染色を行い鏡検した。また、中枢神経系について、抗 AKAV 家兔免疫血清を用いた免疫組織化学的染色 (IHC) を実施した。

また、ウイルス学的検査として、白子 13 頭の脳幹部、脊髄、脳硬膜及び脳脊髄液、並びに 3 腹の胎盤について、High Pure Viral Nucleic Acid Kit (ロシュ・ダイアグノスティック(株)、東京)を用いて核酸を抽出後、PrimeScript One Step RT-PCR Kit Ver. 2 (タカラバイオ(株)、滋賀)を用い、Ohashi ら²⁹)の方法に従い、オルソブニヤウイルス属の S RNA 分節を標的とした RT-PCR を実施するとともに、Kobayashi ら¹³)の方法に従い、AKAV の M RNA 分節を標的とした RT-PCR を実施した。検出された遺伝子については、胎子 6 頭及び胎盤 1 検体由来の遺伝子 (S RNA 遺伝子 6 検体、M RNA 遺伝子 7 検体) を選抜し、国立研究開発法人農業・食料産業技術総合研究機構動物衛生研究部門にて、ダイレクトシーケンス法により PCR 産物の塩基配列を決定した後、MEGA6 を用いて BLAST 解析及び AKAV M 分節遺伝子の部分配列に基づく分子系統樹解析を実施した。また、同 13 頭の諸臓器について、上記の核酸精製キットで核酸を抽出後、上記 RT-PCR キットを用いて日本脳炎ウイルス (JEV)²⁷)、ゲタウイルス (GETV)³⁶) 及び豚繁殖・呼吸障害症候群

ウイルス (PRRSV)¹⁵⁾ の RT-PCR を実施するとともに、SapphireAmp Fast PCR Master Mix (タカラバイオ (株) 滋賀) を用いて、豚パルボウイルス (PPV)³²⁾ 及び豚サーコウイルス 2 型 (PCV-2) の PCR を実施した。また、白子 11 頭の胸水もしくは腹水について、AKAV (iriki 株²⁶⁾) 及び GETV (kanagawa 株³⁷⁾) の中和試験、“京都微研” 日本脳炎検査用抗原 ((株) 微生物化学研究所、京都) 及び“京都微研” 豚パルボ検査用抗原 ((株) 微生物化学研究所、京都) を用いた JEV 及び PPV の HI 試験による抗体検査を実施した。

(2) AKAV 浸潤状況調査

当該農場において、平成 24 年 12 月 13 日、平成 25 年 8 月 1 日及び 12 月 4 日、平成 26 年 3 月 6 日及び 10 月 30 日、並びに平成 27 年 11 月 16 日に、30、60 及び 90 日齢、並びに母豚から採取されたステージ別血清計 120 検体 (20 検体/回) について、AKAV (iriki 株²⁶⁾) の中和試験を実施した。なお、抗体陽性率の算出にあたっては、4 倍以上の抗体価を認めたものを陽性と判定した。

(3) ヌカカの飛来状況および吸血状況調査

当該農場及び最も近隣 (直線距離で約 520m) の和牛繁殖農場 (母牛 4 頭、子牛 2 頭飼養) において、平成 26 年 9 月 2 日～平成 27 年 3 月 16 日の期間、畜舎内に毎月 1 回ライトトラップを設置し、翌日午前中に回収することによりヌカカを採取し、種の同定、分布状況及び吸血状況の調査を、動物衛生研究部門に依頼した。なお、採取された雌ヌカカのうち吸血の認められた個体の割合を吸血率として算出した。

2 成績

(1) 発生農場概要及び平成 27 年の発生状況

母豚 120 頭を飼養する一貫経営農場の開放豚舎で、平成 27 年 11 月 11 日及び 11 月 17 日に分娩された計 3 腹の胎子で体形異常を伴う異常産が認められた (表 - 1)。当該農場は、周囲を水田や林に囲まれ、蚊やヌカカの発生しやすい環境であった。当該農場では、産歴にかかわらず、すべての分娩前の母豚に異常産 3 種混合ワクチン (JEV、PPV、GETV) が接種されていた。また、

表 - 1 異常産の発生状況

母豚 No.	産歴	分娩 月日	産子状態			
			黒子	白子	虚弱	正常
1	2	11/11	1	5 ^a	5	1
2	4	11/11	3	2 ^a	7	3
3	1	11/17	1	6 ^a	4	1

^a 体形異常を伴う

平成 25 年の AKAV による異常産発生により繁殖成績の低下が認められ³⁵⁾、繁殖成績の継続的な悪化を懸念した畜主は、平成 26 年に約 5 割の母豚を更新していた。

(2) 病性鑑定

剖検では、13 頭すべてに水無脳症 (写真 - 1)、11 頭に四肢の屈曲及び伸展 (写真 - 2)、7 頭に脊柱彎曲 (写真 - 3) が認められた。病理組織学的検査では、13 頭すべての骨格筋に、筋線維の大小不同及び脂肪性置換、2 頭に非化膿性脳炎が認められた。IHC では、2 頭の中樞神経系に AKAV 抗原が認められた (写真 - 4)。

12 頭の中樞神経系、脳硬膜及び脳脊髄液、並びに 2 腹の胎盤からオルソプニャウイルス属あるいは AKAV、もしくはこれら両方の遺伝子が検出された (表 - 2)。これら検出された遺伝子の解析では、オルソプニャウイルス属の S 分節の部分配列 (218 塩基) はすべての検体で 100% 一致し、平成 25 年に当該農場の異常産胎子から検出された AKAV と 99.5%、平成 25 年に南九州の牛の脳脊髄炎から検出された AKAV (KSB-3/P/13 株) と 99.4%、アジア及びオセアニアで分離された AKAV と 92～97% の一致率であった。AKAV の mRNA 分節の部分配列 (616 塩基) については、1～2 塩基の置換がみられる他は、すべての検体の塩基配列が一致し、AKAV 国内分離株の配列と比較した結果、前述の KSB/P/13 株と 99.2%、平成 25 年に検出された当該農場の豚異常産由来株遺伝子と、99.0～99.4% の高い一致率を示した。分子系統樹解析では、当該農場で平成 25 年及び平成 27 年に検出された AKAV はいずれも genogroup I に分類され、近年、九州、沖縄及び中国地方や韓国で確認された AKAV と、非常に近縁であった (図 - 1)。また、AKAV 以外の豚異常産関連ウイルスの遺伝子検査は、すべて陰性であった。抗

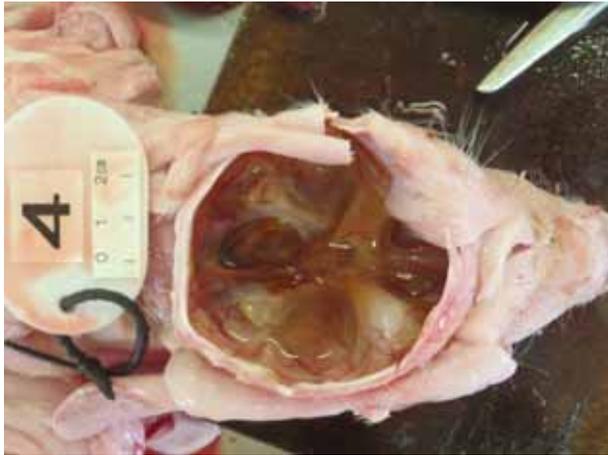


写真 - 1 白子に認められた水無脳症

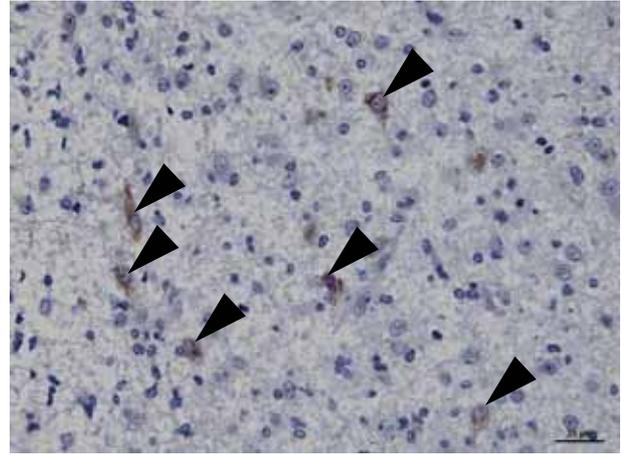


写真 - 4 間脳における AKAV 免疫組織化学的検査
神経細胞の細胞質に AKAV 抗原が認められた(矢頭)



写真 - 2 白子に認められた四肢の屈曲及び伸展

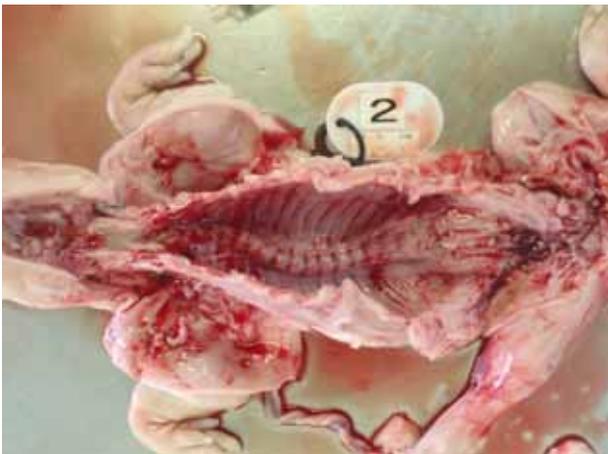


写真 - 3 白子に認められた脊柱彎曲

表 - 2 異常産胎子からのオルソプニャウイルス属の S RNA 分節
及び AKAV の M RNA 分節遺伝子の検出状況

胎子 No.	材料	標的遺伝子	
		S RNA 分節	M RNA 分節
1	脳脊髄液	-	-
2	脳幹部	+	+
	脊髄	+	+
3	脳脊髄液	-	-
	脳幹部	+	+
	脊髄	+	+
4	脳脊髄液	-	+
	脳幹部	-	+
	脊髄	-	-
5	脳脊髄液	-	-
	脳幹部	+	+
6	脊髄	+	+
	脳脊髄液	-	-
	脳硬膜	+	+
7	脊髄	-	+
	脳脊髄液	-	-
	脳幹部	+	+
	脳硬膜	+	+
8	脊髄	+	+
	延髄	+	+
	延髄	-	+
9	脊髄	+	+
	延髄	+	+
10	脊髄	+	-
	延髄	+	+
11	脊髄	+	+
	延髄	-	+
12	脊髄	-	+
	延髄	-	+
	延髄	-	+
13	脊髄	+	+
	延髄	+	+
	小脳	+	+
	大脳	+	-
1~5	胎盤	-	-
6,7	胎盤	+	+
8~13	胎盤	+	+

体検査成績は表 - 3 のとおりで、11 頭すべての体液中に AKAV の抗体が認められ、GETV、JEV 及び PPV の抗体は認められなかった。

(3) AKAV 浸潤状況調査

当該農場における経時的な抗体保有状況の推

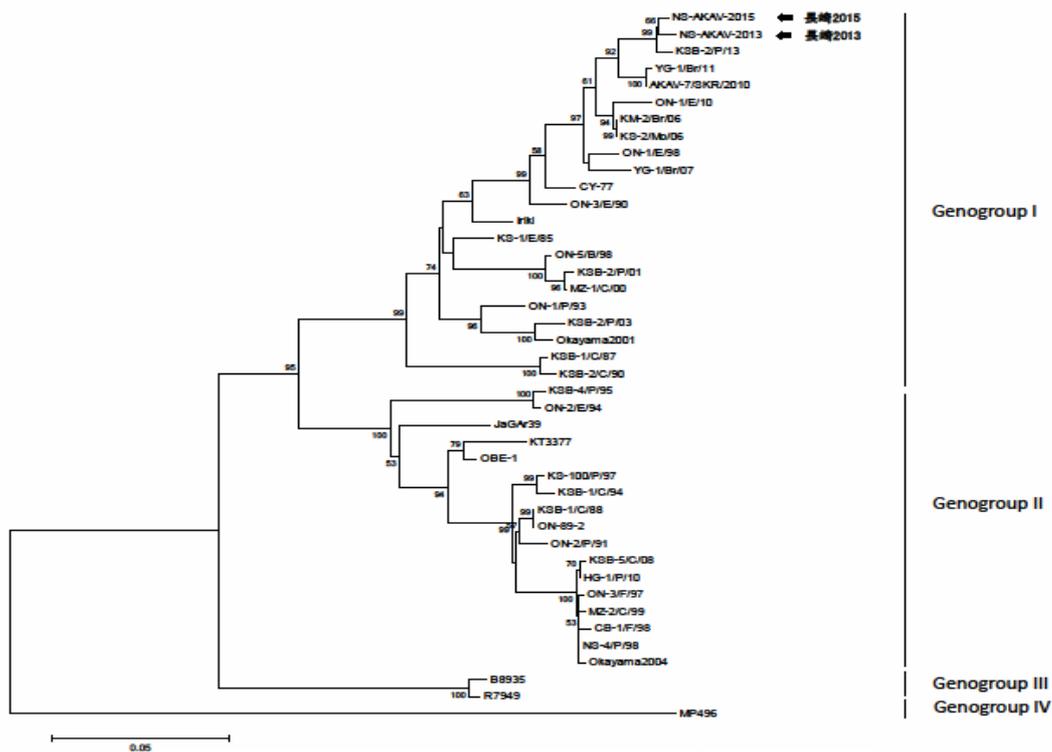


図 - 1 AKAV M RNA 分節遺伝子の部分配列 (616 塩基) に基づく分子系統樹

表 - 3 抗体検査成績

胎子 No.	中和抗体価 (倍)		HI 抗体価 (倍)	
	AKAV	GETV	JEV	PPV
1	64	<2	<10	<10
2	128	<2	<10	<10
3	64	<2	<10	<10
4	64	<2	<10	<10
5	64	<2	<10	<10
6	64	<2	<10	<10
7	64	<2	<10	<10
8	64	<2	<10	<10
10	32	<2	<10	<10
11	32	<2	<10	<10
12	256	<2	<10	<10

移は表 - 4 のとおりであった。平成 24 年 12 月には 5 産目の母豚 1 頭で 4 倍の抗体価が認められたのみであったが、時間の経過とともに抗体保有豚が増加し、平成 26 年 3 月には 90% の豚に抗体の保有が確認された。その後、平成 26 年 10 月には抗体陽性率は 30% に低下したが、平成 27 年 11 月には再び上昇していた。

(4) ヌカカの飛来状況および吸血状況調査

ヌカカの捕獲状況は表 - 5 のとおりで、豚舎

では 13 種 4,638 匹、牛舎では 11 種 3,397 匹のヌカカが採取された。このうち、ヌカカ体内で AKAV の増殖が確認されているウシヌカカ、ホシヌカカ、キタオカヌカカ及びシガヌカカ (梁瀬徹ら、未発表データ) については、4 種すべてが、牛舎と豚舎で 9 月及び 10 月に捕獲された。11 月以降、ウシヌカカは捕獲されなかったが、他の 3 種は少数ながら確認された。捕獲されたヌカカの吸血状況は表 - 6 のとおりで、牛舎、豚舎ともに、前述の 4 種のヌカカの吸血が認められた。なお、ホシヌカカ、キタオカヌカカ及びシガヌカカについては、11 月以降に捕獲された中でも吸血個体が確認された。

3 考察

当該農場では、平成 25 年に AKAV の関与を疑う豚の異常産が発生したが³⁵⁾、平成 27 年 11 月にも同様の異常産が発生し、病性鑑定成績から、AKAV による異常産と診断された。剖検では水無脳症や四肢の屈曲及び伸展が高率に認められ、さらに半数以上で脊柱彎曲が認められた。病理

表 - 4 当該農場における AKAV 抗体保有状況の推移

ステージ	日齢・産歴	AKAV 中和抗体価(倍)					
		平成 24 年 12 月	平成 25 年 8 月	平成 25 年 12 月	平成 26 年 3 月	平成 26 年 10 月	平成 27 年 11 月
離乳豚	30 日齢	<2	4	32	128	<2	64
		<2	4	2	32	<2	128
		<2	<2	64	32	<2	<2
		<2	4	8	16	64	128
		<2	4	128	2	<2	64
子豚	60 日齢	<2	4	8	8	<2	<2
		<2	2	8	8	16	2
		<2	2	8	16	32	2
		<2	2	8	16	<2	4
		<2	<2	8	8	<2	<2
肥育豚	90 日齢	<2	8	8	16	<2	<2
		<2	2	4	4	<2	<2
		2	2	4	8	<2	2
		<2	4	<2	2	<2	<2
		<2	4	4	8	<2	4
母豚	1 産	<2	8	256	4	<2	<2
	2 産	<2	4	<2	256	256	256
	3 産	<2	2	2	256	2	256
	4 産	<2	<2	256	256	256	256
	5 産	4	<2	8	64	256	256
陽性率(%)		5	50	80	90	30	50

* 抗体価 4 倍以上を陽性と判定

表 - 5 スカカの捕獲数の推移

種名	9 月		10 月		11 月		12 月		1 月		2 月		3 月	
	豚舎	牛舎	豚舎	牛舎	豚舎	牛舎	豚舎	牛舎	豚舎	牛舎	豚舎	牛舎	豚舎	牛舎
ウシヌカカ	93	189	181	803
ホシヌカカ	223	172	134	189	9	11	.	.	2	.	.	.	44	77
シガヌカカ	1	10	14	46	1	2	.	.	9	1	.	.	11	22
キタオカヌカカ	9	12	67	25	1
ニワトリヌカカ	202	249	3,633	534
ルンチヌカカ	1	185	1	363
アマミノカカ	1	123	5	345
マツザワヌカカ	.	9
イソヌカカ	.	2	1	6
ムナジロヌカカ	.	.	1	7
オオモリヌカカ	.	1	.	4
アーノヌカカ	.	.	1
ツツヒゲヌカカ	.	.	1
ヤマトヌカカ	1	.
ウスシロフヌカカ	.	.	1
総数	530	952	4,039	2316	11	13	.	.	11	1	.	.	57	105

.: 捕獲されず.

表 - 6 スカカの吸血状況

種名	豚舎				牛舎			
	総数	吸血雌	雄	吸血率(%)	総数	吸血雌	雄	吸血率(%)
ウシヌカカ	274	27	7	10.1	992	479	4	48.4
ホシヌカカ	410	126	0	30.7	451	277	1	61.6
シガヌカカ	28	10	1	37.0	89	40	1	45.5
キタオカヌカカ	77	47	0	61.0	37	29	1	80.6
ニワトリヌカカ	3,835	10	252	0.3	783	0	17	0.0
ルンチヌカカ	2	0	1	0.0	548	187	10	34.7
アマミノカカ	6	4	0	66.7	468	284	0	60.6
マツザワヌカカ	0	0	0	ND	9	2	0	22.2
イソヌカカ	1	0	1	ND	8	0	2	0.0
ムナジロヌカカ	1	0	0	0.0	7	0	0	0.0
オオモリヌカカ	0	0	0	ND	5	1	0	20.0
アーノヌカカ	1	0	0	0.0	0	0	0	ND
ツツヒゲヌカカ	1	0	0	0.0	0	0	0	ND
ヤマトヌカカ	1	0	1	ND	0	0	0	ND
ウスシロフヌカカ	1	0	0	0.0	0	0	0	ND

ND: 雌ヌカカ捕獲されず.

組織学的検査では、全頭に骨格筋の矮小筋症が認められた。牛のアカバネ病ではこれと同様の所見が認められるが¹⁹⁾、AKAV 以外を原因とした豚の異常産でこのような所見が高率に認められることは少なく、本病の特徴的所見と考えられた。また、病性鑑定に供した胎子 13 頭すべてに水無脳症が認められ、これらすべてから AKAV 遺伝子が検出されたほか、抗体検査を行った 11 頭すべてが抗体を保有していた。牛のアカバネ病でみられる水無脳症を呈した胎子は、胎齢早期に感染した後、日数が経過してから分娩されたものであり、娩出時には胎子体内のウイルスの多くは消失しているため、ウイルス抗原が検出されることは少なく、中枢神経系に炎症は認められない^{33, 34)}。AKAV による豚異常産が牛と同様の病態を示すと仮定すると、剖検所見や抗体検査成績から、本症例で検査に供した胎子も感染後日数が経過してから娩出されたものと推察されるが、胎子から高率に AKAV 遺伝子が検出されたことや、少数ながら非化膿性脳炎が認められたこと、IHC で AKAV 抗原が検出されたことは、牛のアカバネ病とはやや異なっていた。これについては、豚の妊娠期間が 114 日と牛よりも短く、胎子の抗体産生や細胞性免疫応答などの免疫機能が備わるのが胎齢約 10 週であること³¹⁾が要因と考えられ、豚の場合、胎齢早期に感染を受けても、免疫によりウイルスが体内から完全に排除される前に娩出されることが示唆された。

今回豚から検出された AKAV 株の遺伝子は、平成 25 年に当該農場で豚異常産胎子から検出された株と非常に近縁であり、これらは同一由来株と考えられた。AKAV 等のアルボウイルス感染症については、国内に常在する株が流行を繰り返しているのではなく、海外の熱帯・亜熱帯地域からベクターであるヌカカとともに、初夏に発生する季節風（下層ジェット気流）によって頻繁に侵入していると考えられており⁴⁰⁾、このうち、国内の環境に適応したウイルス株の一部が一過性に広がっていくパターンが繰り返されていると推察されている³⁹⁾。しかしながら、近年、genogroup に属する近縁な株が頻繁に九州で検出されており^{1, 2, 5, 8, 22, 23)}、比較的近い地域あるいは国でこの系統のウイルスが維持されている可能性が疑われた。

本県での平成 25 年及び平成 27 年の発生と同時期に、AKAV の関与を疑う豚の異常産が九州各県で確認されているが^{11, 22, 38)}、本県の検出株も含めて、これらの株は広島県の養豚場で神経症状を示した豚から分離された株⁷⁾と近縁である。これまで妊娠豚への起病性が確認されていなかった AKAV が近年病原性を示すようになった原因については明らかではないが、一因としてこの系統の AKAV 株が豚への病原性が高い可能性もあり、これについて今後検討が必要である。

広島県における豚の異常産発生時、由来の同じ AKAV が牛でも流行していたことが報告されており⁷⁾、台湾における 2000 年の AKAV 流行時にも、牛と豚から近縁な株が分離されていることから⁹⁾、由来の同じ AKAV 株が同地域の豚と反芻動物に感染を起こすことが示唆されている。しかしながら、両事例とも養豚場におけるベクターの検証はなされておらず、AKAV の侵入経路や発生経緯については不明な部分が多かった。一方、北岡ら¹²⁾は、平成 13～14 年の 1 年 2 か月間、奄美大島において牛舎、鶏舎および豚舎等でヌカカの捕獲調査を行い、奄美大島の *Clicoides* 属ヌカカの多くは吸血性の観点から哺乳動物嗜好性と鳥類嗜好性に大別でき、牛舎と豚舎で採取されたヌカカの種構成やそれらの吸血の有無が似通っていたことを報告している。今回行った調査でもこれと同様の傾向がみられ、牛と豚に吸血嗜好性を持つヌカカの種にはほとんど差がないこと、養豚場にも、近隣の牛農場と同時期に AKAV を媒介するヌカカが飛来し、豚を吸血していることが確認された。これらのことから、養豚場に AKAV が侵入し、豚への感染が起こり得ること、同一のヌカカが豚と牛の両方から吸血し、それらの間でウイルスを媒介する可能性があることが示唆された。

また、北岡ら¹²⁾は、奄美大島の牛舎ではウシヌカカ (*C. oxystoma*(*schulzei*)) を含めた複数種の越冬が認められたことを報告している。ウシヌカカは、南九州における AKAV の主要な媒介種と考えられているが^{18, 20, 40)}、今回長崎県で行った調査では、牛舎、豚舎ともに、ウシヌカカの越冬は認められなかった。しかしながら、ホシヌカカやシガヌカカは少数ながら冬期でも活動していることが確認されたことから、本県において AKAV が越冬する可能性は、南方の地域と

比較して高いとはいえないものの、否定することはできないと考えられた。なお、当該農場における平成 25 年の異常産発生後の抗体陽性率の高さから、農場内で豚 ヌカカ 豚の感染環が成立していた可能性が高いと考えられる。台湾で行われた AKAV の豚への感染試験⁹⁾では、感染豚から非感染豚への接触による感染は認められなかったものの、感染豚では低レベルながら 6 日間のウイルス血症が認められており、ベクターを介することで豚が AKAV の感染環の一部になり得ると考察されている。一般的に養豚場では、牛農場と比較して何倍もの感受性個体が年間通して連続的に生産される。そのため、個々の豚におけるウイルス血症のレベルがそれほど高くなくとも、養豚場は AKAV が維持されやすい環境である可能性が考えられる。以上のことを総合すると、地域内での AKAV の流行に養豚場が一定の役割を果たしていることが疑われ、今後、AKAV の流行に関して、地域内での養豚場の疫学的な役割を明らかにしていくことで、牛も含めた本病の被害低減につながる可能性が考えられる。

謝辞

AKAV の遺伝子解析及びヌカカの調査に関しては、国立研究開発法人農業・食料産業技術総合研究機構動物衛生研究部門越境性感染症研究領域暖地疾病防除ユニットの梁瀬徹上級研究員に、多大なご支援とご協力をいただいた。ここに深謝の意を表す。

参考文献

- 1) 青木雄也ら：2013 年に牛で確認された多種のアルボウイルス流行と多様な異常産，平成 25 年度沖縄県家畜保健衛生業績発表会集録 (2013)
- 2) 千綿秀之ら：アカバネウイルスによる脳脊髄炎・脳炎発生事例と血清学的調査，平成 24 年度佐賀県家畜保健衛生業績発表会抄録 (2012)
- 3) 古屋美人ら：千葉県下における各種動物及び人血清のアカバネウイルスに対する抗体調査，日獣会誌，30，440-444 (1977)
- 4) Haughey KG *et al.*: Akabane disease in sheep, *Aust Vet J*, 65, 136-140 (1988)
- 5) 平島宜昌ら：鹿児島県において 2013~2014 年に発生したアカバネウイルスによる若齢牛の脳脊髄炎と異常産，*JVM*, 68, 351-357 (2015)
- 6) 平田美樹ら：鹿児島県で発生した若齢牛の非化膿性脳脊髄炎，*日獣会誌*，61，771-776 (2008)
- 7) 本田俊次ら：豚におけるアカバネウイルス感染症の発生例，*広島県獣医学会雑誌*，28，47-52 (2013)
- 8) 堀内早苗ら：2013 年に県内で発生した牛のアカバネ病，平成 26 年度宮崎県家畜保健衛生業績発表会集録，77-80 (2014)
- 9) Huang CC *et al.*: Natural infections of pigs with akabane virus, *Vet Microbiol*, 24, 1-11 (2003)
- 10) Kamata H *et al.*: Encephalomyelitis of cattle caused by Akabane virus in southern Japan in 2006, *J Camp Pathol*, 140, 187-193 (2009)
- 11) 袈袋丸昇太ら：アカバネウイルスの関与が疑われる豚の異常産，平成 28 年度日本産業動物獣医学会（九州地区）抄録，63 (2016)
- 12) 北岡茂男ら：奄美大島の *Culicoides* 属ヌカカ相とその宿主嗜好性，*衛生動物*，25，171-176 (1974)
- 13) Kobayashi T *et al.*: Genetic diversity and reassortments among Akabane virus field isolates, *Virus Res*, 130, 162-171 (2007)
- 14) Kono R *et al.*: Bovine epizootic encephalomyelitis caused by Akabane virus in southern Japan, *BMC Vet Res*, 4, 20 (2008)
- 15) Kono Y *et al.*: Nested PCR for detection and typing of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in pigs, *J Vet Med Sci*, 58, 941-946 (1996)
- 16) Kurogi H *et al.*: Epizootic congenital arthrogryposis-hydranencephaly syndrome in cattle: isolation of Akabane virus from affected fetuses, *Arch Virol*, 51, 67-74 (1976)
- 17) Kurogi H *et al.*: Experimental infection of pregnant goats with Akabane virus, *Natl Inst Anim Health Q (Tokyo)*, 17, 1-9 (1977)

- 18) Kurogi H *et al.*: Isolation of Akabane virus from the biting midge *Culicoides oxystoma* in Japan, *Vet Microbiol*, 15, 243-248 (1987)
- 19) Kurogi H *et al.*: Congenital abnormalities in newborn calves after inoculation of pregnant cows with Akabane virus, *Infect Immun*, 17, 338-343 (1977)
- 20) 黒木洋ら: ウシヌカカからのアカバネウイルスの分離, *日獣会誌*, 39, 166-170 (1986)
- 21) Lim SI *et al.*: Sero-survey on Aino, Akabane, Chuzan, bovine ephemeral fever and Japanese encephalitis virus of cattle and swine in Korea, *J Vet Sci*, 8, 45-49 (2007)
- 22) 丸田哲也ら: アカバネウイルスの関与が疑われた豚異常産の一例, 平成 26 年度宮崎県家畜保健衛生業績発表会集録, 88-91 (2014)
- 23) 丸田哲也ら: 黒毛和種繁殖農場で発生した子牛のアカバネ病, 平成 24 年度宮崎県家畜保健衛生業績発表会集録, 89-91 (2012)
- 24) 丸山成和ら: アカバネウイルスの豚感染実験, *ウイルス*, 33, 131-133 (1983)
- 25) 丸山成和ら: 千葉県内における人及び豚のアカバネウイルスに対する抗体調査, *日獣会誌*, 36, 330-333 (1983)
- 26) Miyazato S *et al.*: Encephalitis of cattle caused by Iriki isolate, a new strain belonging to Akabane virus, *Jpn J Vet Sci*, 51, 128-136 (1989)
- 27) Murakami S *et al.*: Highly sensitive detection of viral RNA genomes in blood specimens by an optimized reverse transcription-polymerase chain reaction, *J Med Virol*, 43, 175-181 (1994)
- 28) 西大輔ら: 佐賀県内飼養豚における牛流行熱、アカバネ、アイノ、チュウザン及びピートンウイルスの血清学的調査, *日獣会誌*, 64, 540-544 (2011)
- 29) Ohashi S *et al.*: Simultaneous detection of bovine arboviruses using single-tube multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction, *J Virol Methods*, 120, 79-85 (2004)
- 30) 大谷研文ら: アカバネウイルス生後感染による子牛の脳脊髄炎, *山口獣医学雑誌*, 35, 1-7 (2008)
- 31) 清水実嗣ら: 免疫機構, 豚病学, 柏崎守編, 第四版, 69-79, 近代出版, 東京 (1999)
- 32) Soares RM: Detection of porcine parvovirus DNA by the polymerase chain reaction assay using primers to the highly conserved nonstructural protein gene, NS-1, *J Virol Methods*, 78, 191-198 (1999)
- 33) 高森広典ら: 宮城県で発生したアカバネ病の発生時期による病理学的特徴とウイルス遺伝子検出部位の推移, 66, 39-44 (2013)
- 34) 富田啓介ら: 兵庫県中部におけるアカバネウイルスによる子牛の非化膿性脳脊髄炎と先天性奇形を伴う異常産の発生, *日獣会誌*, 64, 781-786 (2011)
- 35) 和田彬美ら: 管内で発生したアカバネウイルスの関与を疑う豚異常産, 平成 26 年度長崎県家畜保健衛生業績発表会集録, 35-39 (2014)
- 36) Wekesa SN *et al.*: Genomic analysis of some Japanese isolates of Getah virus, *Vet Microbiol*, 83, 137-46 (2001)
- 37) Yago K *et al.*: A fatal case in newborn piglets with Getah virus infection: isolation of the virus, *Jpn J Vet Sci*, 49, 989-994 (1987)
- 38) 山口博之ら: アカバネウイルスによる豚の異常産, 平成 28 年度日本産業動物獣医学会(九州地区)抄録, 64 (2016)
- 39) Yamakawa M *et al.*: Chronological and geographical variations in the small RNA segment of the teratogenic Akabane virus, *Virus Res*, 121, 84-92 (2006)
- 40) Yanase T *et al.*: Isolation of bovine arboviruses from *Culicoides* biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) in southern Japan: 1985-2002, *J Med Entomol*, 42, 63-67 (2005)
- 41) Yang DK *et al.*: Serosurveillance of viral diseases in Korean native goats (*Capra hircus*), *J Vet Med Sci*, 70 977-979 (2008)