

# モニタリング調査における アイガモからの H5, H7 以外の 鳥インフルエンザウイルス 検出事例

中央家畜保健衛生所

○三浦 良彰 西川 潤 後藤 花菜  
大坪 岳彦

## 要 約

家畜伝染病予防法において鳥インフルエンザウイルス（AIV）は高病原性、低病原性、それ以外の鳥インフルエンザ（AI）に大別される。令和 5 年 10 月の AI 強化モニタリングにおいて、飼養アイガモ 2/10 羽で AIV に対する抗体検査陽性となり、さらに 13 羽の詳細な検査を実施した。抗体検査では ELISA 7/13 羽陽性、寒天ゲル内沈降反応 5/13 羽陽性、遺伝子検査では A 型インフルエンザ共通遺伝子のみ全羽陽性、H5・H7 遺伝子は陰性であった。遺伝子検査陽性検体についてウイルス分離を実施し、1 代目は 3/13 羽で HA 試験陽性、HA 試験陽性検体は全例が AIV 遺伝子検査で共通遺伝子陽性、H5・H7 遺伝子陰性であった。2 代目は、9/13 羽で HA 試験陽性、AIV 遺伝子検査は 4/9 羽で共通遺伝子陽性、H5・H7 遺伝子は全例陰性であった。AIV 共通遺伝子陰性検体について、ニューカッスル病ウイルス（NDV）及び鳥パラミクソウイルス遺伝子検査を実施し全例陰性、NDVHI 試験で凝集抑制を確認した。本事例は、AI モニタリングにおいて初めて AIV が検出された貴重な事例であるに加え、複数のウイルスが関与した事例と考えられた。

## はじめに

鳥インフルエンザ（AI）はオルトミクソウイルス属 A 型インフルエンザウイルスに分類される AI ウイルス（AIV）による疾病である。AIV はウイルス粒子表面にあるヘマグルチニン（HA）及びノイラミニダーゼ（NA）の抗原性により H1～18 及び N1～11 の亜型に区別され<sup>1)</sup>、さらに国際獣疫事務局（WOAH）の定める基準により高病原性鳥インフルエンザ（HPAI）、低病原性鳥インフルエンザ（LPAI）及び AI に分類される（図 1）。HPAI は近年発生が多く 2022 シーズンに過去最多の発生数となり<sup>2)</sup>、同シーズンではエミュー、アヒル、ほろほろ鳥など様々な家きんで発生が報告された。

AI については浸潤状況調査として定点及び強化モニタリングが「高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザに関する特定家畜伝染病防疫指針」（指針）により定められている。千葉県においては、定点モニタリングで毎月 12 農場のウイルス分離と抗体検査を、強化モニタリングでは AI のシーズンである 10 月～5 月に毎月 4 農場の抗体検査を行っている。定点モニタリングは全て採卵農場であるが、強化モニタリングについては、種鶏・肉用鶏・うずら・アイガモ等様々な家禽について行っている。

これまで AI 浸潤調査において AIV が検出された事例は報告されていない。今回、強化モニタリングにおいて初めてアイガモから HPAI、LPAI 以外の AIV が検出されたので報告する。

## 材料及び方法

### 農場概要

農場は稲のアイガモ農法のためにアイガモ約 70 羽を飼養。通年で飼育はしておらず、稲作終了後に肥育を行い全羽を出荷している。家きん舎はなく水田の 1 面を柵で囲って飼育している。

### 材料

- ① 強化モニタリング：アイガモ血清 10 例
- ② 病性鑑定（病鑑）：アイガモ気管・クロアカスワブ・血清各 13 例

		ウイルスの亜型	
		H5, H7	H5, H7以外
病原性	低い	<b>低病原性 鳥インフルエンザ(LPAI)</b> 対象種：鶏、あひる、うずら、きじ、 だちよう、ほろほろ鳥、七面鳥	<b>鳥インフルエンザ</b> 対象種：鶏、あひる、うずら、 七面鳥
	高い (※)	<b>高病原性鳥インフルエンザ(HPAI)</b> 対象種：鶏、あひる、うずら、きじ、だちよう、ほろほろ鳥、七面鳥 OIEの診断基準(※)に準じて判定	

図 1：AI の分類

## 方法

### ① 強化モニタリング

**抗体検査:**血清 10 例に対して ELISA (IDEXX インフルエンザ A エリーザキット) 及び指針に則りゲル内沈降反応 (ゲル沈) を行った。

### ② 病性鑑定

**抗体検査:**血清 13 例について ELISA

(IDEXX インフルエンザ A エリーザキット) 及びゲル沈を行った。陽性検体については H5・H7 亜型判定赤血球凝集抑制 (HI) 試験を農研機構動物衛生研究部門 (動衛研) で行った。

**抗原検査:**気管・クロアカスワブ各 13 例について、指針に従い簡易検査 (富士レビオ株式会社 エスプライン A インフルエンザ)、遺伝子検査は指針に基づきリアルタイム PCR (rPCR) 及びコンベンショナル PCR (cPCR) を行った。

**ウイルス分離:**気管・クロアカスワブ各 13 例について指針に則り鶏卵接種法で行った。ウイルス 2 代目まで 48 時間間隔で行い、赤血球凝集 (HA) 試験で確認、HA 試験陽性検体について rPCR 及び cPCR で AIV の分離を確認した。AIV 遺伝子検査陽性検体は動衛研で亜型の判定を行った。HA 試験陽性 AIV 遺伝子検査陰性検体については抗ニューカッスル病ウイルス (NDV) HI 試験、NDV<sup>3)</sup> 及び鳥パラミクソウイルス (AMPV)<sup>4)</sup> に対する遺伝子検査を RT-PCR で行った。

## 結 果

### ① 強化モニタリング

**抗体検査:**血清 10 例中 3 例で ELISA 陽性、ゲル沈 2 例で弱陽性となった (図 2)。ゲル沈弱陽性 2 検体は ELISA においても陽性であった (表 1)

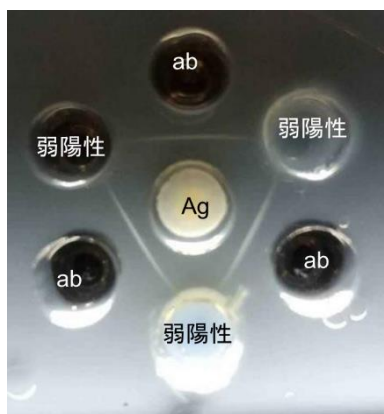


図 2: ゲル沈写真

### ② 病性鑑定

**抗体検査:**血清 13 例中 7 例で ELISA 陽性、ゲル沈 5 例で弱陽性となった。ゲル沈弱陽性 2 検体は ELISA においても陽性であったが他の検体は ELISA とゲル沈で結果が一致しなかった (表 2)。また動衛研で実施した H5・H7 亜型判定 HI 試験で抗 H5・H7 抗体でないことが確認された。

表 1: 強化モニタリング抗体検査

血清番号	ゲル沈	ELISA	
		判定	S/N比
1		-	0.591
2	+(弱陽性)	+	0.228
3		-	0.619
4		-	0.661
5		-	0.644
6		-	0.606
7	+(弱陽性)	+	0.311
8		-	0.749
9		+	0.448
10		-	0.852

表 2: 病性鑑定抗体検査

血清番号	ゲル沈	ELISA	
		判定	S/N比
1	+(弱陽性)	-	0.671
2	+(弱陽性)	-	0.621
3	+(弱陽性)	-	0.622
4		+	0.383
5		+	0.342
6	+(弱陽性)	+	0.185
7	+(弱陽性)	+	0.400
8		-	0.697
9		+	0.353
10		+	0.452
11		-	0.575
12		+	0.454
13		-	0.589

**抗原検査:**気管・クロアカスワブ 13 例について簡易検査及び遺伝子検査を行った。簡易検査は全例陰性であったが、rPCR は気管スワブ全例、クロアカスワブ 9 例が AIV 共通遺伝子である M 遺伝子のみ陽性、cPCR は気管スワブ 12 例、クロアカスワブ 11 例が AIV 共通遺伝子である NP 遺伝子のみ陽性、H5・H7 遺伝子は検出されなかった (表 3)。rPCR の CT 値は判定基準 (9-40) の上限に近い値であった。

**ウイルス分離:**ウイルス分離 1 代目からは気管スワブ 3 例が HA 試験陽性となり、そのうち 2 検体が rPCR において M 遺伝子のみ陽性、全例が

cPCRにおいてNP遺伝子陽性となった(表4)。H5・H7遺伝子は全例で陰性であった。このうちNo.11気管から分離されたウイルスはH4N6亜型と判定され、H5・H7亜型でないことが確認された。また、接種48時間後の鶏胚は生存しており、コントロールと比べ異常は見られなかった(図3)

ウイルス分離2代目では10例がHA試験陽性となり、このうち3例がrPCR M遺伝子陽性、4例がcPCR NP遺伝子陽性となった(表5)。AIV遺伝子検査陰性であった7例について、抗ND血清を用いたHI試験を行い全例で凝集抑制が認められた。このことからNDVを疑いNDV及びAMPV遺伝子検査を実施したが全例陰性であった。

表3: スワブ抗原検査結果

	簡易検査	rPCR		cPCR
		M	CT値	NP
1-気管	-	+	37.752	+
2-気管	-	+	38.039	+
3-気管	-	+	34.702	+
4-気管	-	+	36.376	+
5-気管	-	+	35.797	+
6-気管	-	+	38.797	+
7-気管	-	+	36.728	+
8-気管	-	+	38.382	-
9-気管	-	+	36.017	+
10-気管	-	+	35.765	+
11-気管	-	+	33.102	+
12-気管	-	+	36.930	+
13-気管	-	+	35.217	+
1-クロアカ	-	+	35.373	+
2-クロアカ	-	+	37.674	+
3-クロアカ	-	+	33.608	+
4-クロアカ	-	+	36.096	-
5-クロアカ	-	-	under	+
6-クロアカ	-	+	37.338	+
7-クロアカ	-	+	35.333	+
8-クロアカ	-	-	under	-
9-クロアカ	-	-	under	+
10-クロアカ	-	-	under	+
11-クロアカ	-	+	35.900	+
12-クロアカ	-	+	33.322	+
13-クロアカ	-	+	36.756	+

表4: ウイルス分離1代目結果

スワブ番号	1代目	rPCR		cPCR
	HA価(倍)	M	CT値	NP
1-気管	<2	NT	NT	NT
2-気管	<2	NT	NT	NT
3-気管	<2	NT	NT	NT
4-気管	4	-	under	+
5-気管	<2	NT	NT	NT
6-気管	<2	NT	NT	NT
7-気管	<2	NT	NT	NT
8-気管	8	+	37.4	+
9-気管	<2	NT	NT	NT
10-気管	<2	NT	NT	NT
11-気管	2048	+	13.3	+
12-気管	<2	NT	NT	NT
13-気管	<2	NT	NT	NT
1-クロアカ	<2	NT	NT	NT
2-クロアカ	<2	NT	NT	NT
3-クロアカ	<2	NT	NT	NT
4-クロアカ	<2	NT	NT	NT
5-クロアカ	<2	NT	NT	NT
6-クロアカ	<2	NT	NT	NT
7-クロアカ	<2	NT	NT	NT
8-クロアカ	<2	NT	NT	NT
9-クロアカ	<2	NT	NT	NT
10-クロアカ	<2	NT	NT	NT
11-クロアカ	<2	NT	NT	NT
12-クロアカ	<2	NT	NT	NT
13-クロアカ	<2	NT	NT	NT

表5: ウイルス分離2代目結果

	AIV				NDV		APMV
	HA価(倍)	rPCR(M)	rPCR CT値	cPCR(NP)	HI	PCR	PCR
1-キ	32	-	under	-	+	-	-
2-キ	128	-	under	-	+	-	-
4-キ	64	-	under	-	+	-	-
5-キ	32	-	under	-	+	-	-
8-キ	32	-	under	-	+	-	-
9-キ	16	-	under	+	nt	nt	nt
10-キ	64	-	under	-	+	-	-
11-キ	128	+	15.6	+	nt	nt	nt
13-キ	8	+	36.9	+	nt	nt	nt
2-ク	16	+	36.3	+	nt	nt	nt

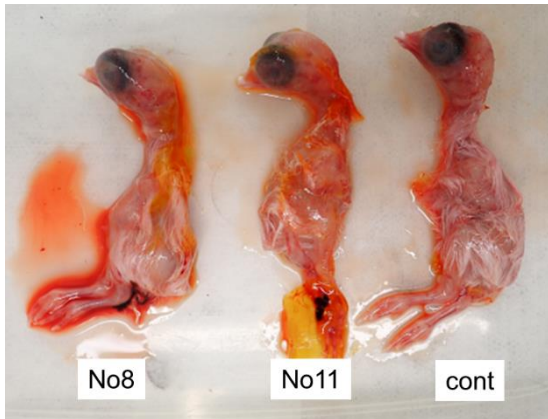


図 3：分離 1 代目鶏胚

### 考 察

本事例はアイガモ群に異常が見られないこと、抗体が抗 H5・H7 抗体でなかったこと、ウイルス分離 1 代目で分離された AIV の遺伝子検査で H5・H7 特異遺伝子が検出されなかったことから、ウイルス亜型の決定、2 代目ウイルス分離の結果を待たず HPAI・LPAI 以外の AI と判断された。

抗体検査においてゲル沈結果を弱陽性と判定したが、これは令和 4 年度に HPAI が発生したあひる農場の疫学調査を ELISA で行い、ELISA 陽性の検体をゲル沈で確認した経験から判断できたものである。

ゲル沈弱陽性の判定は難しいことから、鶏以外の家きんについても抗体検査には ELISA を用いる等の対応が必要と考える。病鑑検体において ELISA の結果とゲル沈の結果が一致しなかったが、原因の特定には至らなかった。

抗原検査においては、簡易検査では全羽陰性であったが、遺伝子検査では遺伝子量が少ないものの全羽が陽性であった。これは HPAI・LPAI 以外の AI であったためウイルス量が少なかったこと、検査個体がアイガモであったことによると考えられる。

ウイルス分離において、スワブの遺伝子検査では 24/26 例が陽性であったが、分離 2 代目までで AI が分離されたのは 6 例のみであった。HPAI においてもスワブの遺伝子量が少なければウイルス分離できないことが報告されており<sup>5)</sup>、遺伝子量が少ないために分離に至らなかったと考える。分離 1 代目において 3 例が HA 陽性となり、その全例から AIV 特異遺伝子が検出され、H4N6 亜型と判定された。分離 2 代目では 10 例が HA 陽性であり、そのうち 4 例から AIV 特異遺伝子が検出された。AIV 特異遺伝子が検出された検体は、遺伝

子検査で NDV および APMV 特異遺伝子が検出されなかったが、抗 NDV HI 試験において凝集抑制が認められたことから、NDV の関与が疑われた。

### まとめ

本事例は以下の 3 点で興味深い事例であった。

- ① 定点および強化モニタリングにおいて初めて AIV が検出された。これは放し飼いで飼育するアイガモ農法という特殊な飼育環境が影響したと考える。
- ② 簡易検査陰性でも遺伝子検査を実施する、ウイルス分離 2 代目の結果を待たず HPAI・LPAI 以外の AI と診断する、鶏以外の家きんで ELISA を実施する等、指針にない対応となった。
- ③ ウイルス分離 2 代目の結果から、AIV 以外に HA 反応を起こすウイルスの関与が示唆された。

千葉県においては、令和 2 年度から令和 4 年度にかけて毎年あひるの HPAI 発生事例がある。あひるの HPAI 発生事例は鶏に比べ病態が特殊である上、発生の際に指針にはない検体・検査が求められた。全国であひるの HPAI 事例も増えていることから、検査対応について議論・統一する段階にきていると考える。また、欧州の HPAI の蔓延にはあひる農場の関与が疑われる事例もあること、自然宿主に近いあひるの AI は症状が現れにくいことから、あひるに対する浸潤調査の強化が重要と考える。

### 謝 辞

検査にご協力・ご助言いただいた動衛研人獣共通感染症研究領域 新興ウイルスグループ 内田裕子先生、動物感染症領域 ウイルスグループ 谷川太一朗先生に深謝いたします。

### 参 考 文 献

- 1) Tong S, et al : New world bats harbor diverse influenza A viruses. PLoS Pathog 9: e1003657, 2013.
- 2) 高病原性鳥インフルエンザ 疫学調査チーム:(2023)2022 年～2023 年シーズンにおける高病原性鳥インフルエンザの発生に係る疫学調査報告書
- 3) Mase M, et al.:(2009) Genotyping of newcastle disease viruses isolated from 2001 to 2007 in Japan. J Vet Med Sci 71.1101-1104

4) Suxiang Tong, et al: (2008) JOURNAL OF  
CLINICAL MICROBIOLOGY, Aug. 2008,  
2652-2658

5) 宮沢和貴: (2022) 令和4年度家畜衛生講習会  
(病性鑑定・ウイルス部門) 事例報告抄録, 87-88