

## 和歌山県で発生した高病原性鳥インフルエンザに係る検査対応

紀北家畜保健衛生所

○ 畑野希枝 安田裕子

山田陽子 山本敦司

### 【はじめに】

令和2年12月に管内採卵鶏農場(約6.7万羽飼養)で、本県では平成23年2月以来約10年ぶりとなる高病原性鳥インフルエンザ(HPAI)が発生したので、その検査概要について報告する。

### 【発生状況】

発生農場は開放鶏舎の飼養形態で、丘陵地の中腹に位置しており、農場付近は雑木林に囲まれている。周辺には複数のため池がある。

12月9日、農場から1羽死亡、2羽衰弱との通報があった。立ち入り検査で5羽の死亡を確認し、その内4羽は固まって死亡していた。また、12月3日に当該農場半径20km以内で回収され、簡易検査陽性となった死亡野鳥について12月9日にH5N8亜型が検出されていた。

### 【方法】

死亡鶏が11羽に満たなかったため、7羽(死亡鶏No.1~5、生鶏No.6、7)について気管およびクロアカスワブ(各7検体)を採材し簡易検査、リアルタイムPCR(qPCR)及びコンベンショナルPCR(cPCR)によるA型インフルエンザウイルス遺伝子検査、ウイルス分離検査を実施した。生鶏10羽(No.6~15)について血清を採材し寒天ゲル内沈降反応による抗体検査を行った。また発生状況確認検査、清浄性確認検査は移動制限区域内の1戸6鶏舎について気管、クロアカスワブ及び血清それぞれ1鶏舎5羽ずつ採材し、ウイルス分離及びELISA法による抗体検査を行った。

移動制限区域解除後発生農場における堆肥出荷のための検査を行った。完熟堆肥1バンカーにつき4箇所を2回(2週間隔)採材し、発育鶏卵接種によるウイルス分離を行った。

### 【結果】

簡易検査及び遺伝子検査結果を表1に示す。簡易検査はNo.1および3のクロアカスワブ以外全て陽性であった。cPCRはNP遺伝子について全ての検体で陽性であったが(図1)、H5亜型遺伝子では簡易検査の結果と同じとなった(図2)。qPCRはH5亜型及びM特異遺伝子について共に全ての検体で陽性だった(図3、図4)。ウイルス分離の結果は表2のとおりでNo.1のクロアカスワブ以外全て陽性であった。抗体検査は全て陰性であった。発生状況確認検査、清浄性確認検査ではウイルス分離及び抗体検査は全て陰性であった。

発生農場における堆肥出荷のための検査は、すべて陰性であった。

#### 【考察】

遺伝子検査では cPCR より qPCR で感度が高い結果となった。Cq 値が低く遺伝子量の多い検体では cPCR でもバンドが濃い結果となった。ウイルス分離 1 代目では簡易検査陰性 2 検体のみが陰性であり、ウイルス分離 2 代目ではそのうち 1 検体が陽性であった。気管スワブで Cq 値が低い傾向であったが、Cq 値が 30 以下の検体では気管スワブよりもクロアカスワブにおける分離ウイルスの HA 価が高い傾向であった。また、HA 価の幾何平均 (GM) 値は、平成 23 年和歌山県検出株で気管スワブ 776.05、クロアカスワブ 548.75 (各 10 検体分) であったのに対し、今回の株では気管スワブ 172.28、クロアカスワブ 70.66 となり、平成 23 年株より低い HA 価となった (表 2)。さらに発生 6 日前、県内の死亡野鳥で、H5N8 亜型が検出されたことから、野鳥からのウイルス侵入が 1 つの可能性として考えられた。

表1. 簡易検査及び遺伝子検査結果

検体名	簡易検査	realtime PCR (H5亜型)	realtime PCR (H7-sub)	realtime PCR (H7-am)	realtime PCR (M)	RT-PCR (NP)	RT-PCR (H5亜型)	RT-PCR (H7-1)	RT-PCR (H7-2)	H5亜型 Cq値
死亡鶏	気管1	+	+	-	+	+	+	-	-	29.36
	気管2	+	+	-	+	+	+	-	-	28.32
	気管3	+	+	-	+	+	+	-	-	28.17
	気管4	+	+	-	+	+	+	-	-	27.28
	気管5	+	+	-	+	+	+	-	-	28.14
生鶏	気管6	+	+	-	+	+	+	-	-	27.49
	気管7	+	+	-	+	+	+	-	-	27.48
死亡鶏	クローカ1	-	+	-	+	+	-	-	-	33.89
	クローカ2	+	+	-	+	+	+	-	-	28.80
	クローカ3	-	+	-	+	+	-	-	-	34.48
	クローカ4	+	+	-	+	+	+	-	-	30.74
	クローカ5	+	+	-	+	+	+	-	-	25.74
生鶏	クローカ6	+	+	-	+	+	+	-	-	28.06
	クローカ7	+	+	-	+	+	+	-	-	21.48

(\*) 陰性対照の2wellうち1wellで、多少の蛍光増殖あり

図1. NP遺伝子結果

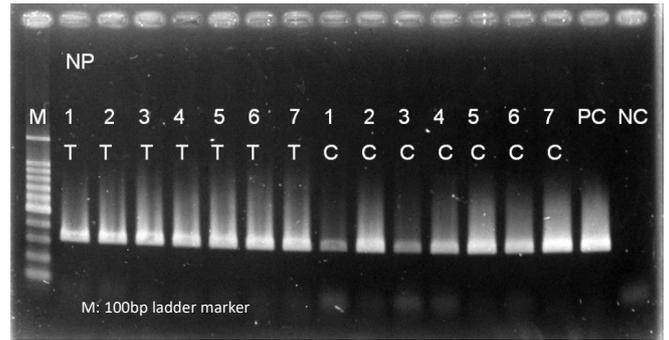


図2. H5亜型遺伝子結果

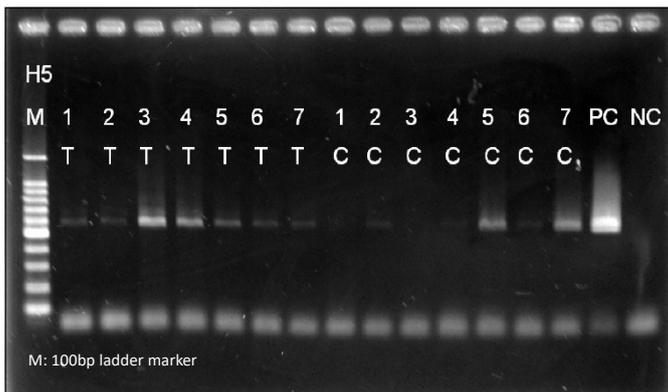


図3. H5 Primer set結果

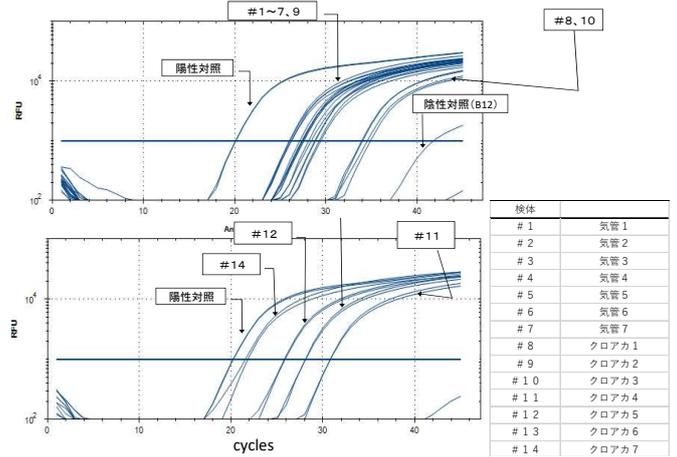


図4. M Primer set結果

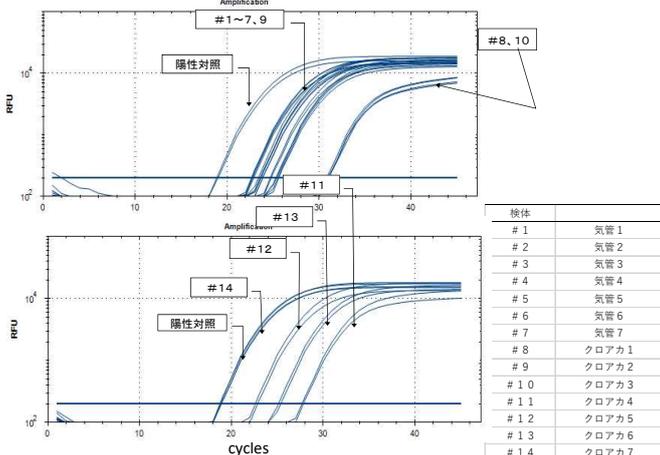


表2. ウイルス分離結果

	令和2年	1代目接種				2代目接種		
		HA	HA価	GM値	簡易検査 (*)	HA	HA価	簡易検査 (*)
死亡鶏	気管1	+	512	172.28	+			
	気管2	+	32		+			
	気管3	+	128		+			
	気管4	+	256		+			
	気管5	+	256		+			
生鶏	気管6	+	256	+				
	気管7	+	128	+				
死亡鶏	クローカ1	-	<2	70.86	-	-	<2	-
	クローカ2	+	128		+			
	クローカ3	-	<2		+	+	256	+
	クローカ4	+	512		+			
	クローカ5	+	512		+			
生鶏	クローカ6	+	512	+				
	クローカ7	+	512	+				

GM値比較	R2株	H23 (10羽分)
気管	172.28	776.05
クローカ	70.86	548.75

(\*) ウイルス分離で回収した検体を簡易キットにかけた