

高病原性鳥インフルエンザの検査対応とその後の対策

紀北家畜保健衛生所
○安田裕子 畑野希枝
鳩谷珠希

【背景】

高病原性鳥インフルエンザ（HPAI）は、令和4年度シーズン、国内では26道県84事例の発生があり、過去最大となる1,771万羽が殺処分された¹⁾。

本県でもA施設及びB農場の2例で発生した。2例目の遺伝子検査結果判明から約5時間後、C農場で死亡羽数増加の通報があった。簡易検査は陰性であったが、陽性の場合、C農場の検査に加え、発生状況確認検査が3戸あり、検査対応が困難であったため対策を検討した。

今回、県内2例の検査対応及びその後の対策について報告する。

【発生状況】

1例目は、令和4年11月10日に白浜町のA施設（家きん63羽飼養）において、2例目は、令和4年11月29日に和歌山市のB農場（採卵鶏約4万3千羽飼養）において、死亡家きん増加の通報があり、それぞれ簡易検査は陽性であった。A施設及びB農場の3km以内に家きん飼養農場はなかった。

【材料と方法】

A施設及びB農場で採材した気管スワブ、クローカスワブを用いて、遺伝子検査及びウイルス分離検査を実施した。遺伝子検査は、リアルタイムPCR（rPCR）及びコンベンショナルPCR（cPCR）を実施した。ウイルス分離検査はスワブ懸濁液を発育鶏卵に接種し、24～48時間後に尿膜腔液のHA価を測定した。また、スワブ懸濁液及びHA価8以上の尿膜腔液を国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門（動物衛生研究部門）に送付し、遺伝子解析を実施した。また、A施設及びB農場で採材した血清を用いて血清抗体検査（寒天ゲル内沈降反応、ELISA）を実施した。

【結果】

A施設及びB農場の遺伝子検査（rPCR及びcPCR）において、いずれもH5亜型の遺伝子が確認され、「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」に基づき「疑似患畜」と判定された。また、遺伝子解析により高い病原性を有するとされる配列が確認され、同指針に基づき「患畜」と判定された。また、当該HPAIウイルスについて、NA亜型が判明し、H5N1亜型であることが確認された。

血清抗体検査において、A施設の寒天ゲル内沈降反応では1検

体陽性、B農場のELISAでは全て陰性であった。

【問題点と対策】

C農場からの通報により、(1)検査人員の不足、(2)発育鶏卵の不足、(3)交差汚染の可能性、(4)試薬等の不足といった問題点が明らかとなった。そこで、今後の発生に備え、所内で対策を検討した。

(1) 検査人員の不足

令和4年度の病性鑑定課におけるHPAI検査体制を図に示す。主な分担業務は、職員Aが試薬の調整及びrPCR、職員BがRNA抽出及びcPCR、職員C(臨時職員)が職員Bの補助及び血清抗体検査、職員D(課長)が連絡調整及び報告、検査関係書類作成、動物衛生研究部門への検体送付であった。

遺伝子検査はrPCR1名、cPCR1名の2名で行っており、連続発生の場合、再び職員Aと職員Bで遺伝子検査を行う予定であった。

2例目は、11月29日午前10時に通報があり、その後すぐに検査準備にとりかかった。午後1時50分に検体が搬入され検査を開始し、11月30日午前4時に遺伝子結果が判明した。その後一旦帰宅したものの興奮状態で睡眠不足のまま午前9時に出勤し、午前9時10分、C農場より死亡羽数増加の通報があった。

C農場で簡易検査陽性の場合、2例目の通報からC農場の遺伝子検査終了まで、約40時間、休息が十分にとれない状態で対応する必要があり、集中力に欠け誤診に繋がる可能性があった。

<対策> 遺伝子検査を実施できる職員を増員することとし、当所職員1名と他所属の職員1名に遺伝子検査方法を伝達した。まず病性鑑定課で作成しているHPAI検査マニュアルに基づき、検査の流れやrPCR及びcPCRプロトコールについて説明した。次に、外部精度管理調査の余剰試料を用いてRNAを抽出し、rPCR及びcPCRを実施してもらった。その後交代職員1名は自主トレーニングに励むことにより、検査技術を向上させた。その結果、2名×2班で交代できる体制を確保し、連続発生に対応できるようにした。

(2) 発育鶏卵の不足

当所では、種卵を購入して孵卵器に入卵し(2回/週)、ウイルス分離に必要な10日齢前後の発育鶏卵を常時確保している。入卵個数は、令和4年度当初、80個であり、未受精卵、卵の割れ等を考慮すると、このうち65個使用可能である。水曜日のみ2ロットあるため130個使用可能である。

B農場の発生では、火曜日にロット①を52個使用した。よって水曜日は、ロット①の残り13個と、ロット②の65個を合わせ、

計 78 個使用可能であった。

C 農場で簡易検査陽性の場合、水曜日に C 農場の検査で 52 個必要となる。ロット①の残り 13 個全てとロット②の 39 個を使用すると、木曜日に使用可能な個数はロット②の残り 26 個である。しかし、木曜日は発生状況確認検査（3 戸、計 25 鶏舎）のため、100 個必要であり、74 個不足するところであった。

その後の試算により、他農場の単独発生でも、発生状況確認検査（26 鶏舎）に必要な発育鶏卵が最大約 90 個不足することが判明した。

< 対策 I > 発育鶏卵の購入数を増加させ、1 回の入卵個数を 80 個から、家保の孵卵器で孵卵できる最大個数である 120 個とした。入卵個数を 40 個増加させたので、未受精卵、卵の割れ等を考慮すると、使用できる卵は約 30 個増加したことになる。

これにより、最大約 90 個不足から最大約 60 個不足の見込みとなった。

< 対策 II > 約 10 日齢の発育鶏卵を緊急購入可能な業者を見つけられなかったため、近隣府県に相談、協議した。その結果、まず、①近隣府県の家保（片道約 40 分）から調達することとした。①で不足する場合、②近畿圏内孵化場（片道約 2 時間半）から発育鶏卵を購入することとした。それでも不足する場合は国と協議することとした。

以上より、発育鶏卵不足時の対応手順を定めることができた。

（3）交差汚染の可能性

令和 4 年度の 2 例の発生では、発生農場から 3km 以内に農場がなく、発生農場の検査のみであった。C 農場で発生した場合、発生状況確認検査が必要であり、同検査を発生農場の検査と同じ検査室で実施する予定であったため、交差汚染する可能性があった。

< 対策 > 発生農場の検査は農場ごとに 1 階の検査室で、発生状況確認検査は、野生いのしし検査を通常行っている 2 階の検査室で実施し、区分することとした。また、連続発生の場合、1 例目の検査後にクリーンアップを行い、その後 2 例目の検査を行うことにした。

（4）試薬等の不足

令和 4 年度は、遺伝子検査試薬を 1 農場分のみ準備していたが、連続発生に対応できない可能性があった。

< 対策 > 令和 5 年度は 2 農場分準備し、連続発生に対応できるようにした。

【まとめ】

令和 4 年度に県内で発生した事例は 2 例とも、全国で流行して

いた H5N1 亜型 HPAI ウイルスによるものであった。また、C 農場からの通報により明らかとなった問題点について、対策を講じた。

HPAI 遺伝子検査には、試薬及び消耗品の準備、検体搬入、検体の分注、RNA 抽出、PCR、電気泳動といった多種の作業工程が含まれる。また、検査室の汚染や試薬へのコンタミを防止するため、検査場所の区分や動線を意識しながら作業する必要がある。使用する試薬や消耗品の種類も多く、落ち着いて作業しなければ間違える恐れがある。HPAI 遺伝子検査は、単に検査を行うというだけでなく体系的に理解する必要がある、担当職員への研修が重要である。また HPAI 遺伝子検査は頻繁に実施するものではなく手順や試薬を忘れがちなため、定期的に確認する必要がある。

今後も農林水産省による検査方法の改定や人事異動に備えて、検査マニュアルをブラッシュアップしながら、検査体制を維持する必要がある。

【参考文献】

- 1) 鳥インフルエンザに関する情報：農林水産省
<https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/tori/>

B農場(2例目)の対応

C農場の対応

通報

通報

B農場発生時の検査					C農場で発生した場合の検査				
11月29日				11月30日				12月1日	
10:00 通報	13:15 簡易検査 陽性	13:50 検体搬入	24:00	4:00 遺伝子検査 結果判明	9:10 通報	14:15 簡易検査 結果判明	16:00(推定) 検体搬入	24:00	5:00(推定) 遺伝子検査 結果判明
職員A	準備	試薬の調整	rPCR		職員A	準備	試薬の調整	rPCR	
職員B	準備	RNA抽出	cPCR		職員B	準備	RNA抽出	cPCR	
職員C (臨任)	Bの補助、血清抗体検査口				職員C (臨任)	Bの補助、血清抗体検査口			
職員D (課長)	<ul style="list-style-type: none"> 連絡調整 検査データ入力、病性鑑定依頼書作成 検査データ送付、結果報告 動衛研への検体送付 				職員D (課長)	<ul style="list-style-type: none"> 連絡調整 検査データ入力、病性鑑定依頼書作成 検査データ送付、結果報告 動衛研への検体送付 発生状況確認検査の採材準備 			

興奮状態のため睡眠不足

約40時間

図：令和4年度のHPAI検査体制