

## 京都府新型インフルエンザ対策事業報告Ⅱ (2005-2006)

渡邊 英史 岡本 裕行 石崎 徹

Annual Report of New Type Influenza Surveillance in Kyoto Prefecture,  
2005-2006

Eiji WATANABE, Hiroyuki OKAMOTO and Tohru ISHIZAKI

キーワード：新型インフルエンザ、トリインフルエンザウイルス、ウイルス分離

key words : New type influenza virus, Avian influenza virus, Virus isolation

## はじめに

トリインフルエンザは、1997年に香港において感染者18人中6人が死亡するという衝撃的な事件が発生して以来、東南アジアを中心に家禽及びヒトにおいて発生がみられ、2004年には京都府の養鶏場における家禽の発生事例でニワトリ約25万羽が殺処分された。以後、世界各地で家禽のみならずヒトの患者及び死亡者の発生が続いている。

カモなど数種類の渡り鳥が、この世界的な感染拡大の一因であると指摘されているが、カモ自体はトリインフルエンザウイルスを体内に保有していても何ら発症することはない。しかし、このウイルスが家禽及び豚等に感染を繰り返すと高病原性に変異し<sup>1)</sup>、鳥類のみならずヒトにも致死的な病原性を獲得する。このことは、トリインフルエンザウイルスがヒトへの感染能を持つことにより新型インフルエンザに変異し大規模な流行の可能性を示唆する。

よってヒトへの感染対策の一助とするために、カモ及

びカモの飛来する水辺環境等からトリインフルエンザウイルスを分離することにより、トリインフルエンザウイルスの動態及び新型インフルエンザ流行の可能性について検討した。

## 材料及び方法

## 1. 材料

府内を3地域に分け、北部地域を与謝野町野田川河口及び舞鶴市由良川河口、中部地域を綾部工業団地内調整池及び京丹波町にある旧浅田農産調整池、南部地域を精華町下粕新池とし、各所でカモの糞便を434検体、綾部工業団地内調整池、旧浅田農産内調整池及び精華町下粕新池で池の水を54検体、合計448検体を採取し、検査に供した(表1)。

## 2. 方法

糞便はスクリーンスピッツ管に入れ、 $-80^{\circ}\text{C}$ で保存した。水は18Lのポリタンクに採取した後、ウイルス凝集

表1 採材定点におけるトリインフルエンザウイルス及びNDV分離状況

採材定点	検体名 検体数	糞便		水		合計
		分離ウイルス		分離ウイルス		
		AIV	NDV	AIV	NDV	
与謝野町野田川河口	89	0	1	0	0	89
舞鶴市由良川河口	22	0	0	0	0	22
綾部工業団地内調整池	94	0	1	12	0	106
旧浅田農産内調整池	4	0	0	33	0	37
精華町下粕新池	225	0	6	9	0	234
計	434	0	8	54	0	488

AIV: Avian Influenza Virus

NDV: Newcastle Disease Virus (non-pathogenic)

(平成19年8月31日受理)

剤を添加し転倒混和した後、濾過布を用いて濾過し、濾過布ごと-80°Cで保存した。糞便は3mLのヴィールインフュージョンプロスに懸濁した後、3,000rpmで10分間遠心し、その上清を孔径0.2μmのメンブランフィルターで濾過したものを供試検体とした。また水は、濾過布をヴィールインフュージョンプロスに浸漬後ストマッキングし、抽出液を糞便同様3,000rpmで10分間遠心し、その上清を孔径0.2μmのメンブランフィルターで濾過したものを供試検体とした。

ウイルス分離には糞便、水とも1検体当たり5個の孵化鶏卵(9~10日卵)を用いた。卵殻を70%アルコールで消毒後、気室部の卵殻をグラインダーで切り取り、卵殻膜に滅菌ミネラルオイルを数滴滴下して半透明化し、羊膜腔内に検体を0.1mL接種した。培養はプログラム恒温器で34°C、60時間培養後、4°Cに静置した。培養後、羊膜腔液のみをシリンジで吸引・採取し、同様に2代目に継代した。採取された羊膜腔液はウイルスの存在確認のため、ニワトリ赤血球凝集(Hemagglutination, HA)試験<sup>2)</sup>を行い、ウイルスの存在を確認した。

陽性となった培養液は、簡易検査キットを使用して、インフルエンザウイルスの型(AまたはB型)を推定した。簡易検査キットには、エスプライン社製インフルエンザA&B-N(富士レリオ社)を使用した。方法はキットに添付の取扱説明書<sup>3)</sup>に従った。

これらの試験で陽性となったウイルス培養液は、遺伝子増幅(RT-PCR)を行いH亜型の型別<sup>4)</sup>を実施し、さらにシーケンサによる遺伝子解析を試みた。

また、HA試験で陽性にもかかわらず簡易検査キットに反応しなかった検体については、ニューカッスル病ウイルス(Newcastle Disease Virus, NDV)のニワトリ赤血球凝集抑制(Hemagglutination Inhibition, HI)試験及びRT-PCRを行い、NDVの同定を行った。

## 結果

糞便8検体にHA活性が認められた。簡易検査キットによる検査を実施したところ、7検体は陰性を示したが、1検体でA型に陽性反応が認められたことから、RT-PCRを試みたが陰性であった。なお、HA活性が認められた8検体についてNDVのHI試験を実施したところ、すべてNDVであった。

水検体についてはすべてウイルス分離陰性であった。

## 考察

府内の5地域からカモの糞便434検体、水54検体の計488検体を採取し検査した結果、トリインフルエンザウイル

スは分離されなかった。しかし、我々は2001/2002シーズンにウマのインフルエンザの原因となるA/H3N8型インフルエンザウイルスをカモから分離し、トリインフルエンザウイルスの府内への侵入及びウイルス拡散の可能性があることを明らかにした<sup>5)</sup>。

一方、2000-2004年に続いて、NDVが8株分離された。NDVはヒトに対して結膜炎等を起こす。人獣共通感染症としてのNDVのヒトへの感染及び拡大防止に資するために、大量飼育を伴う家禽への感染防止対策をとることも公衆衛生上必要であると考えられる。

以上のことからわれわれの環境中には、絶えず渡り鳥等からインフルエンザウイルス等が供給されていることを考慮する必要があり、現在ヒトの間で流行を繰り返しているインフルエンザウイルスA/H1N1型やA/H3N2型と鳥類から供給されるトリインフルエンザウイルスとの遺伝子交雑(reassortant)を起こす可能性も含め、監視を続けていく必要があり、実験室の整備など調査研究体制の充実及び近隣の地方衛生研究所間の連携強化を更に図っていくべきと考える。

## まとめ

1. 府内北部・中部・南部の5地点のカモの休息地におけるカモの糞便434検体及び水54検体の計488検体から、トリインフルエンザウイルスは分離されなかった。
2. NDVが8株分離された。
3. 府内に飛来するカモはNDVの他、トリインフルエンザウイルスを保有し、糞便と共に環境中へ拡散させている可能性があり、感染の未然防止・拡大防止等の観点から継続的な監視が必要である。

## 謝辞

調査にあたり、情報提供に協力いただいた国立感染症研究所ウイルス第3部第1室小田切孝人室長並びに関係者の皆様に深謝します。

## 文献

- 1) 日本ウイルス学会誌「ウイルス」編集委員会：ウイルス 54-1(2004) 123-141
- 2) 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課：伝染病流行予測調査検査術式(一部改定)、平成14年6月
- 3) 富士レリオ社：エスプライン インフルエンザA&B-N取扱説明書
- 4) Ming-Shiuh Lee et.al:jviromet 97(2001)13-22
- 5) 石崎 徹ほか：本誌、51、31(2006)