

## Screening for avian influenza do it now!

### トリインフルエンザのスクリーニングを今すぐやろう！

トリインフルエンザの症例数が増加し、ウイルスに対する抗原を検出する日常的なスクリーニングが必要になってきた。ELISA 検査キットなら、迅速で信頼性のある検査が可能である。

A. Jover, R. Manvell, R. Jackson, A. Medrano, A. Pages, C. Artigas, Laboratories HIPRA, S.A., Spain

東アジアと南アジアにおけるトリインフルエンザの大規模流行を受けて、OIE (国際獣疫局)は、発病している鳥の監視調査の診断の強化を勧告した。家禽産業界の多くの企業が、疾患の抑止と、これ以上の拡散の防止に協力することを要請されている。スペインの Laboratorios Hipra s.a.はその技術力でもって、H5 型と N1 型の株を検出できる ELISA キットである Civtest Avi Influenza を通じて検査診断に助力している。

トリインフルエンザ(AI)の原因は、オルソミクソウイルス科に属する A 型インフルエンザウイルスである。AI ウイルスの表面抗原には赤血球凝集活性を持つヘマグルチニン(HA)と、ノイラミダーゼ(NA)の 2 種類がある。インフルエンザウイルスの分類は一般的にその病原性に基づいて低病原性(LPAI)と高病原性(HPAI)の 2 つに分けられる。LPAI ウイルスの主な特徴の一つとして、環境によっては病原性が変化して HPAI になることがあり、その結果、深刻な健康上の問題と経済的損失をもたらすことがある。疫学的な観点から、どちらの種類ウイルスも迅速に検出できる血清学的検査法の開発には大きな関心が寄せられている。これは特に、LPAI を届出疾患のリストに加えることを OIE が提唱していることから意義が大きい。確認されている 15 種類の HA 抗原と 9 種類の NA 抗原だけでもその様々な組み合わせで幅広い亜型が作られる。スクリーニング手法にとってはそのすべてが重要であると考えべきである。

#### 分離と性質特定

AI の診断は、ウイルスの分離と性質特定を基本にしているが、血清学が依然として、疾患の正しい診断と有効な抑止計画開発のための迅速なスクリーニング手法になっている。ELISA の扱いやすさに異論が出ることはないが、低価格、自動化の能力、大量サンプル処理の能力も、この技術の持つ利点としてある程度広く認識されている。ELISA は初期スクリーニング手法として優れており、診断学のこの分野に大きく寄与している。このキットの開発において、Hypra は高感度のキットの開発に成功し、ルーチ的なモニタリングに対して迅速かつ信頼性のある手段を提供している。開発には英国の Veterinary Laboratory Agency の Ruth Manvell 氏の協力が欠かせなかった。

トリインフルエンザウイルス抗体の検出と力価測定のためのキットは、精製した全粒子インフルエンザウイルス抗原を用いた間接 ELISA であり、血清および卵黄に含まれるウイルスに特異的な抗体の存在を

検出する。このキットは鶏サンプルで使用するよう設計されているが、その他の多くの鳥類血清でも使用することが可能である。

このシステムは最適化されており、厳密な品質管理を受けた標準試薬で作業する。このためこのキットは信頼性が高く、結果の再現性が高い。

このキットの開発において最重要だったのは、多数の保存陽性血清に対する検証であった。検証は、20種の異なる AI ウイルスによる 25 種の陽性血清に対して行った。その中には、15 種の HA 抗原のすべてと、9 種の NA 抗原のうち 8 種が含まれていた。H5N2 などの重要な亜型もこの検証作業に含まれた。このキットで広範囲の株が検出できたことから、扱っている抗原の同定に関する知識が事前になくともサンプルの検査が実行できることが示された。それに対して、HI で検査する場合には、H および N の型に関する知識が事前が必要である。これが、このキットがきわめて有用な多価手法である所以である。

#### 特異性データ

このキットの特異性を判定するために、陰性であることが判っている飼育群からの個体に対して検査を行った。このキットをできるだけ多様な状況のもとで使用するためには、できるだけ多様な疫学的環境や生産形態に由来する鳥をできるだけ数多く検査することが必要である。そのことに留意して、検査対象の鳥は 1 週齢から 30 週齢にわたるばらばらな週齢の群から選んだ。34 の異なる飼育群からそれぞれ 9 から 12 の血清を採取して、総数 350 の血清を検査して特異性の判定を行った。S/P 値は、これらすべてのサンプルから平均値を 0.010 の桁で算出して求めた(下記の表)。

#### AI 各亜型の吸光度とサンプル / 陽性比

サンプル	吸光度	S/P 比
陽性対照	1.324	
陽性対照	1.387	
陰性対照	0.113	
陰性対照	0.094	
H1N1	1.568	1.17
H2N3	1.263	0.926
H2N2	1.255	0.92
H3N2	1.251	0.917
H3N8	1.46	1.083
H3N8	1.49	1.107
H3N2	1.17	0.852
H3N6	1.397	1.033

H4N8	0.814	0.567
H4N8	1.303	0.958
H4N3	1.186	0.865
H5N2	1.749	1.314
H6N8	1.476	1.096
H7N1	1.608	1.202
H7N1	1.431	1.06
H8N4	0.993	0.71
H9N2	1.464	1.087
H9N2	1.539	1.147
H9N2	1.599	1.195
H10N7	1.436	1.064
H11N6	1.303	0.958
H12N5	1.239	0.907
H13N6	1.017	0.73
H14N6	1.509	1.123
H15N6	1.43	1.06

注: 吸光度は ELISA 読取り装置の直接的な値である。この値は読取り装置によって変わる可能性がある  
ので、S/P(サンプル/陽性)比ほど重要性ではない。S/P 比は(サンプルの吸光度 陰性対照の吸光度 /  
陽性対照の吸光度 陰性対照の吸光度)で表される。この比を用いて、その後の力価測定 of 調整を行  
う。

(以下イタリックは1ページ目の中カラム 訳者注)

#### 予防と治療のための薬

ヒトでは予防と治療のために利用できる薬物として、M2 インヒビター(アマンタジンとリマンタジン)とノイ  
ラミニダーゼインヒビター(オセルタミビルとザニビル)の2つのグループがある。これらの薬物は、ヒトイン  
フルエンザの予防と治療目的で認可されており、原因ウイルスの株にかかわらず有効であると考えられ  
ている。WHO 世界インフルエンザサーベイランスネットワークで得られたデータによると、H5N1 型ウイル  
スは、認可されている 2 種のノイラミニダーゼインヒビターのうちのひとつであるオセルタミビルに対して  
感受性があることが示されている。

調べられたすべてのウイルス株(ヒトからの分離株4種と鳥類からの分離株33種)が、この薬物に対する  
感受性を持つことが *in vitro* で示されている。

オセルタミビルは、ヒトのインフルエンザの予防と治療に用いることができる薬物の2つのクラスのうち1つに属している。これまでにインフルエンザネットワークが行った試験によれば、もっとも最近のH5N1株は、もうひとつのクラスの薬物であるM2インヒビター(アマンタジンとリマンタジン)に対して抵抗力を持つことが示されている。(WS)

#### AIの診断

前回の流行では、H5型とH7型の低病原性ウイルスが変異して高病原性に変化したことが明らかになった。このことから、いったんトリインフルエンザが農場で発生したならば、農場からウイルスがいなくなつてから6か月経過しないと家禽の搬入を行ってはいけないと解釈すべきである。この疾患の潜伏期間は最大18日間であるが、一般には7から12日間である。

感染した鳥は次のような症状を示す：

1. 重度の元気消失
2. 産卵率の顕著な減少、軟卵、産卵率の突然の低下、肉髯・鶏冠の紫色化
3. 顔面浮腫と鶏冠・肉髯・膝のチアノーゼ様腫脹、頑健の腫脹、血色を帯びた鼻分泌物、歩行能力消失、起立不能、足部・下腿部の点状出血、呼吸困難
4. 腸管粘膜表面の点状出血
5. 突然死(死亡率が100%に達することもある)

確定診断にはウイルスの分離が不可欠である。

病変：

1. 突然死の症例では病変がない場合もある
2. 多くの場合は、Rd、家禽コレラ、伝染性喉頭気管炎に似ている
3. 筋肉の重度のうっ血
4. 脱水
5. 頭部頸部の皮下の浮腫
6. 鼻口腔の分泌物
7. 気管腔内の大量な滲出物または重度の出血性気管炎
8. 結膜の重度のうっ血、時に点状出血を見る
9. 胸骨内面の点状出血、腹部脂肪漿膜面の点状出血(家禽コレラに似る)、体腔漿膜面の点状出血
10. 重度の腎臓うっ血、時に尿細管内に尿の貯留を見る
11. 卵巣の出血と縮退

12. 前胃の筋肉面および砂嚢接合部の出血

13. 砂嚢内面の出血とびらん

14. 腸管リンパ組織、特に盲腸扁桃における出血、身体のいろいろな部位に出血するのは一般的。疾患が進行するにつれ脾臓、肝臓、脾臓、腎臓に出血が現れ、肺には黄色の変性部位が現れる。

AI の流行はどのように拡散するのか？

ひとつの国の中では、AI は農場から農場へ容易に拡散する。鳥からの落下物には大量のウイルスが排出されており、砂ぼこりや土壌を汚染する。空気に乗ったウイルスによって鳥から鳥へ疾患が拡散し、そのウイルスが吸入されて感染する。汚染された機材、乗物、飼料、ケージ、着衣そして靴によってウイルスが農場から農場へ運ばれる。ウイルスは、げっ歯類などの動物の足や身体に付着しても運ばれ、こうした動物がさながら「機械的ベクター」として働いて疾患を拡散させる。ある研究によれば、蠅も同じように機械的ベクターとして働くことが示されている。

感染した野生鳥類からの落下物から、商業用および自家用の家禽飼育群にウイルスが導入される。野生鳥類から家禽に感染が伝播されるリスクは、家禽が自由に動き回っていて、給水を野生鳥類と共有する場合や、給水源が感染した野生鳥類キャリアからの落下物で汚染されている場合にもっとも大きくなる。

いわゆる「生鮮市場」では生鶏が人混みの中で、時には不衛生な状況で売買されており、これも拡散の源になりうる。

ある国から別の国へ

AI は、生鶏の国際貿易を通じて国から国へ拡散する。ガンカモ類やカモメ類、シギ・チドリ類と言った渡り鳥によってウイルスが遠い距離を運ばれ、過去にはこれが高病原性トリインフルエンザの国際拡散において重要だった。渡りをするガンカモ類(とりわけ野生のアヒル類)がトリインフルエンザウイルスの本来の保有動物であり、感染に対する抵抗力ももっとも強い。これらの鳥は、ウイルスを長い距離運び、自らの落下物にウイルスを排出するが、発症は短期間の軽度のものしか起こさない。

しかし、家禽のアヒルは致死感染に対して感受性を持っており、それは七面鳥、ガチョウ、そのほかコマーシャル用または自家用の農場で飼育されているいくつかの種も同様である。