

高病原性鳥インフルエンザの  
発生に関する疫学的研究

2009年

岐阜大学大学院連合獣医学研究科

西口 明子

高病原性鳥インフルエンザの  
発生に関する疫学的研究

学位論文：博士(獣医学) 乙97

西口 明子

## 目次

|   |    |
|---|----|
| 序論.....   | 1  |
| 第1章.....  | 6  |
| 2004年に日本で発生したH5N1亜型の高病原性鳥インフルエンザ.....                           | 6  |
| 第1節  緒言.....  | 6  |
| 第2節  材料及び方法.....  | 7  |
| 第3節  結果.....  | 7  |
| 3-1  HPAIの発生状況.....   | 7  |
| 3-2  臨床症状と病理学的所見.....   | 10 |
| 3-3  発生対応と疾病コントロール戦略.....                                       | 11 |
| 第4節  考察.....  | 20 |
| 4-1  ウイルス伝播拡大の特徴.....   | 20 |
| 4-2  侵入経路.....  | 21 |
| 4-3  早期撲滅のカギ.....   | 24 |
| 4-4  今後の発生に対する備え.....   | 25 |
| 第5節  結語.....  | 27 |
| 第2章.....  | 39 |
| 2005年日本で発生した弱毒型H5N2亜型AIにおける商用採卵養鶏場への鳥インフルエンザウイルスの侵入リスク要因解析..... | 39 |
| 第1節  緒言.....  | 39 |
| 第2節  材料および方法.....   | 40 |
| 2-1  調査対象農場.....  | 40 |
| 2-2  データの収集.....  | 41 |
| 2-3  統計学的解析.....  | 41 |
| 第3節  結果.....  | 43 |
| 第4節  考察.....  | 45 |
| 第5節  結語.....  | 50 |
| 第3章.....  | 55 |
| 2005年に日本で発生したH5N2亜型鳥インフルエンザの空間解析.....                           | 55 |
| 第1節  緒言.....  | 55 |
| 第2節  材料および方法.....   | 56 |
| 2-1  対象農場.....  | 56 |
| 2-2  データ収集.....   | 57 |

|                   |    |
|-------------------|----|
| 2-3 統計学的解析 .....  | 57 |
| 第3節 結果 .....      | 58 |
| 第4節 考察 .....      | 59 |
| 第5節 結語 .....      | 61 |
| 結論 .....          | 69 |
| 謝辞 .....          | 72 |
| 文献 .....          | 73 |
| 学位論文要旨 (和文) ..... | 83 |
| 学位論文要旨 (英文) ..... | 86 |

## 序 論

鳥インフルエンザウイルス (AIV) はオルソミクソウイルス科 A 型インフルエンザウイルスに属し(13), HA 蛋白 16 種, NA 蛋白 9 種の組合せにより多くの血清亜型に分類されている(60)。国際獣疫事務局の診断マニュアルの規定では, 鶏に対する病原性が高いウイルスを高病原性鳥インフルエンザウイルス (HPAIV) と定めており, これまで HPAIV は H5 及び H7 亜型の一部の株に確認されている(48)。H5, H7 亜型のウイルスの場合, 流行当初は弱毒であっても家きんの中で感染を繰り返すうちに数ヶ月後に強毒に変異する可能性があることが知られている(9, 14, 38, 40)。弱毒の AIV が強毒化する可能性を考慮し, わが国では家畜伝染病予防法に基づき, 鶏に対する病原性によらず家きんにおけるすべての H5 または H7 亜型の A 型インフルエンザウイルスの感染を高病原性鳥インフルエンザとして家畜伝染病 (法定伝染病) と定め, これらの亜型が検出された場合にはその鶏に対する病原性の程度に関わらず摘発淘汰することとしている。したがって, 本研究では後者の分類に従い, H5 または H7 亜型の AIV を HPAIV と扱うこととした。

AIV はこれまでカモ類などの水きん類の腸管等に感染し, 宿主へ症状を呈することなく自然界で受け継がれてきたものと考えられている(60)。1996 年中国広東省のガチョウから分離された H5N1 亜型ウイルスを起源とする HPAIV は, 1997 年香港において, 農場の家きんを死亡させ, また人にも感染して死亡例をもたらした(56)。その後同亜型の HPAIV は, 2003-04 年に韓国, 日本, ベトナム, タイなどにおいても確認されるようになり, 2005 年にはアフリカ, 欧州へと発生地域は拡大し, 2009 年現在

も終息していない。発生国の中では、わが国をはじめ撲滅に成功した国もある一方、発生を繰り返している国もある(47)。

日本の家きん産業の基幹は養鶏産業であり、平成 19 年現在約 1.4 億羽の採卵鶏（成鶏めす）と約 1.0 億羽の肉用鶏が飼養され、鶏卵で 96%、鶏肉で 69%の国内自給率を支えている。その一方、年間約 35.8 万トンの家きん肉とその加工品、約 53 万羽の家きんの初生ひなが輸入されている(45, 46)。これらの輸入生鳥や畜産物を介して海外から国内の生産資源に動物の病原体が侵入することがないように、厳重な検疫体制が敷かれている。しかし、野生の水きん類等、国境を越えて日本へ渡ってくる野鳥を介した病原体の持込みはわれわれの制御の域を超えている。また、近年の各国における HPAI の発生状況からも、ウイルスは容易に国境を越えて侵入しており、家きん農場へ侵入した際には甚大な被害をもたらすことが示されている。わが国は森林と多くの水場が全国随所にあり、毎年訪れる渡り性の水きん類が共有の水飲み場を介して間接的に留鳥と接触することが可能である。そして、鶏舎に近い環境に生息している小型の留鳥やネズミ等の小動物が、鶏舎内へウイルスを持ち込むことが考えられている。このように、本病のウイルスの侵入防止に関しては制御しきれない部分が残されていることから、依然としてわが国へのウイルス侵入の脅威は続いている。

HPAI は口蹄疫等と並んでわが国では海外悪性伝染病の一つと捉えられており、発生時の経済的被害が懸念される疾病に類する。普段発生がないこれらの疾病の危機管理は大変重要である反面、自国における発生例がほとんどないことから、他国における発生時例を参考に自国への侵入時を想定して平素の防疫体制や発生時の危機管理体制を構築して行かざるを得ない側面がある。しかし、農場の立地状況や家畜の生産管理システム、さら

に食文化が異なる他国の発生例を日本に外挿するには困難が伴う。このような中で、これらの疾病が国内で発生した貴重な事例を疫学的に解析しておくことは非常に重要なことである。2001年の口蹄疫発生を機にわが国の疫学的研究が活気づき、続く牛海綿状脳症の発生状況分析や発生予測などが行われ、これまでわが国に発生例が少なかった疾病に疫学的研究が生かされ、発生予防や防疫措置の効果の検討に還元されるようになってきたところである(59, 62, 68)。

疫学とは、疾病が集団の中でどのように発生しているかを明らかにし、疾病の予防対策に寄与することを目的とする学問である。疫学の研究方法は、記述疫学、分析疫学、介入研究の3つに大きく分けられる。

記述疫学とは、疾病の発生頻度と発生パターンを発見するための疫学研究の基礎である。疫学研究における前提は、疾病は何らかのパターンをもって起こるものであり、原因もなく、かつ無作為(ランダム)には起こらないということである。記述疫学的研究は、宿主の生物学的あるいは社会的特性、発生時間、発生場所の3つの要素から疾病の発生パターンを観察することにより、疾病発生に関わる個体や群での問題点を明らかにしていく方法である。このうち、宿主の生物学的特性では、宿主の日齢、産歴、性別、品種、栄養状態などが、また、宿主の社会的特性には、群の構成数、畜舎構造、換気システム、給餌方法、衛生措置等の飼養管理状況などが観察の着眼点となる。発生時間は、流行のピークや消長を知り、拡大の様相や防疫措置の実施効果の確認などを行う上での基礎的な情報を提供する。発生場所は、病原体そのもの、あるいはそれを媒介するベクター動物/昆虫等の特性と関連していることがある。ベクター動物/昆虫の生息域と関連して、海、川、湖、山などの自然環境や気温、標高などが発生場所と関

連している場合もある。疾病発生の地理的な集積性の検出や、環境要因と疾病発生の関連性を探索などに、空間解析が近年この分野に用いられ始めている。記述疫学は、疾病の発生要因に関する仮説の探索を目的とし、統計解析などを通じて発生に関係する要因の洗い出しを行っていくのに有用な手段である。

分析疫学は、疾病の発生や増加のメカニズムを把握したり原因と結果の因果関係を推測するために用いられる方法である。抗体調査などに代表される、一時点での動物群の観察により行う横断研究や、時間的な幅を持って観察研究を行う症例対照研究、コホート研究等がある。一時点のみでの観察による横断研究に比べ、縦断研究は要因と発生の因果関係をより強く推測することができる。

介入研究は、前二者が観察だけで介入（処置）をしない研究であるのに対して、何かしらの介入を行った後に観察を行う縦断研究であり、調べたい要因を人工的に用いて処置群・未処置群に分けて行う臨床試験や野外試験等がこれにあたる(69)。

2004年以降、弱毒型ウイルスによる発生も含めて、わが国では家きん農場で3回発生があり、2008年には渡り鳥でもHPAIVが確認されている。ウイルス伝播に渡り性の水きん類が関わっていること、地球規模で発生が終息していないことから、可能な限りの防疫措置が講じられている中においても、本病の再侵入への備えは引き続き必要な状況が続いている。万が一の侵入・拡大時に甚大な経済被害を招く重要伝染病の一つであるHPAIの侵入に備え、わが国におけるHPAI発生例における伝播・拡大状況を疫学的に解析し、伝播拡大に関わった要因を明らかにすることは、今後の発生時の適確な防疫対策の実施のみならず、侵入監視等の危機管理体制の構



築に有用であると考えられる。そこで本研究は、記述疫学と分析疫学の手法を用いて、わが国における本病の発生・拡大の様相を疫学的に分析し、本病の伝播・拡大のリスク要因を明らかにすることを目的とした。

第一章では、2004年1～3月に発生したHPAIの発生状況を記述疫学の手法を用いて分析した。この発生は強毒型のH5N1亜型ウイルスによるものであり、山口県、大分県、京都府の3府県4養鶏施設で発生が確認された。ウイルス侵入初期から発生が確認されるまでの間の鶏舎内および鶏舎間伝播の様相、感染鶏の症状、発生農場間の鶏・人・物の移動等の疫学情報を分析し、発生の全様とその特徴を明らかにした。

第二章では、HPAIの発生のリスク要因を定量的に評価することを目的とし、2005年茨城県におけるH5N2亜型の弱毒型ウイルスによるHPAI発生地域において、分析疫学の手法の一つである症例対照研究を実施した。発生地から半径5km以内に設定された茨城県内の移動制限区域にあったすべての商用採卵養鶏農場を対象に、鶏・人・物の移動状況、農場で行っていた衛生措置、野鳥や野生動物の侵入状況等、発生との関連が疑われる28項目について、質問票を用いて対面方式の聞き取り調査を行い、得られた発生農場37戸と非発生農場36戸のデータを用いて統計学的解析を行った。

第三章ではHPAIの発生が多かった地域の特徴を明らかにすることを目的として、発生地域の地理的解析を実施した。近年新たに開発された地理的解析手法である空間スキャン統計を用いて、茨城県内の鶏飼養農家の位置情報を元に2005年H5N2亜型の弱毒性ウイルスによるHPAIの発生が集中している地域を探索し、確認された発生集中地域とその周辺地域において、飼養状況に関する項目を統計学的に比較することによりHPAI発生集中地域の特徴を分析した。

## 第 1 章

# 2004 年に日本で発生した H5N1 亜型の高病原性鳥インフルエンザ

### 第 1 節 緒言

高病原性鳥インフルエンザ (HPAI) は近年、南米、東南アジア、ヨーロッパ等の国々で発生が報告されている(47)が、この中でも 1996 年中国広東省のガチョウから分離された H5N1 亜型ウイルスを起源とする高病原性鳥インフルエンザウイルス (HPAIV) は、1997 年香港において、家きんだけでなく人にも感染し死亡例をもたらした(57)。その後同亜型のウイルスによる HPAI は相次いで確認されるようになり、2003 年 12 月に韓国の家きん農場で、さらに翌月の 2004 年 1 月にはベトナム、日本、タイ、カンボジア、香港、ラオスで、2 月にはインドネシア、中国、8 月にはマレーシアと、短期間に各地で相次いで報告され (Fig.1) , 2004 年 12 月までにアジアの 8 カ国と 1 地域において報告されるに至った。発生した各地では防疫措置が実施され、いったん発生は終息に向かったと見られたが、その後も発生が散発している国や、継続的に発生している国があり、アジアから本ウイルスは一掃されていない状況が続いている。その後 2005 年にはアフリカ、欧州へと発生地域は拡大していき、野鳥や家きん農場での発生が確認されている(18)。このような広範囲かつ同時期の HPAI の発生はこれまで例を見ないものである。

この一連の世界的な発生の中で、日本での HPAI の発生は、韓国とベトナムでの発生報告に次ぐ 2004 年 1 月に確認された。国内での発生としては 1925 年の H7N7 亜型による発生以来、79 年ぶりであった(58)。農家戸

数や規模，鶏舎設備等の鶏飼養環境も 79 年前とは異なってきており，2004 年の発生当時，本病がどのように伝播・拡大するかを予測することは困難であった。

本章では，本発生の記述疫学として，発生の疫学，病原体の侵入経路等について記したほか，撲滅キャンペーンに用られた防疫戦略等をまとめ，さらに今後の危機管理のための留意点等について考察した。

## 第 2 節 材料及び方法

発生状況および疫学情報は発生府県および感染経路究明チームの調査により収集されたものを用いた。これらの情報をもとに発生の疫学，病原体の侵入経路，防疫措置を記述疫学的にまとめた。

## 第 3 節 結果

### 3-1 HPAI の発生状況

日本における H5N1 亜型の HPAI 発生は，2004 年 1～3 月の間に 3 地域の 4 戸で確認された。1 例目は 2004 年 1 月に山口県の採卵養鶏場で確認され，その後 2 月に大分県の個人愛玩飼育場所と京都府の採卵養鶏場で，さらに 3 月には京都府で 2 月に発生した農場に近い肉用養鶏場で確認された。これらの発生地はいずれも山里にあったが，3 カ所の発生地は互いに遠隔地に位置していた(図 1-2)。各発生農場の飼養規模や経営タイプには特段の共通点はみられず(表 1-1)，4 戸の発生農場の間には生鳥・人・物の移動等を通じた疫学的な関連は認められなかった。

### 3-1-1 1 例目

2003年12月28日に約3.5万羽の採卵鶏を6鶏舎で飼養する山口県内の養鶏場の1鶏舎（約6,000羽/舎）で、普段の死亡数より多い8羽が死亡しているのを農場主が確認、翌日に農場の管理獣医師から家畜保健衛生所（家保）へ異常を知らせる通報があった。感染鶏はチアノーゼ、顔面の浮腫、神経症状等のHPAIの典型的な症状を呈することなく、嗜眠状態を呈して死亡するか、あるいは突然死のみが観察された。診断を待つ間、直ちに当該農場の消毒と移動自粛が行われたが、その間にも死亡羽数は急増していき、初発鶏舎では異常の発生から8日後には1日100羽以上が死亡し、2週間後には鶏群の約50%が死亡した。他の鶏舎の死亡数も相次いで増加していき、発生が確認された1月12日までに6鶏舎中5鶏舎で死亡の増加が確認された（図1-3）。

気管およびクロアカスワブから2004年1月12日にH5亜型のAIVが確認され、同日にHPAIの撲滅に向けた防疫措置が開始された。引き続きウイルスのN亜型がN1型と決定し、H5N1亜型ウイルスによる発生が確認された。

### 3-1-2 2 例目

2004年2月14日に愛玩用の鶏13羽とアヒル1羽を庭先で個人飼育している大分県内の飼い主から、鶏が3羽突然死した旨の通報が管轄家保に届いた。4つの小屋に分けられて飼養されていたうちの一つの小屋で3羽が死亡し、続いて2日後に同じ小屋の4羽が死亡した。別の小屋の鶏6羽と庭に放飼いされていたアヒル1羽には異常は認められなかった。確定診断に先立ち2月16日に敷地内の鳥はすべて自衛的に処分された。検査の結果、2月17日にH5亜型が、続いてN1亜型であることが確認された。

### 3-1-3 3, 4 例目

2004年2月29日に約22.5万羽の採卵鶏を10鶏舎で飼養している京都府内の養鶏場で3例目の発生が確認された。2月中旬に、鶏舎（約3万羽／舎）の一つにおいて1日に100羽以上が死亡していたがその時点で通報はなく、2月26日に匿名者から管轄家保へ死亡鶏の増加を伝える第一報が通報された。家畜防疫員による立入り検査が行われた時点で、10鶏舎のすべてにおいて多数の死亡が確認された(図1-4)。2月29日にH5亜型のAIVが、続いてN1亜型であることが確認された。異常が通報される前の2月25、26日の2日間にわたり、2つの鶏舎の計1.5万羽の鶏が近県の食鳥処理場へ出荷されていたことが判明した。食鳥処理場に残っていた処理前の鶏群から同一亜型のウイルスが分離されるとともに、同施設内で感染鶏群の近くに一晚留め置かれていた他県から導入された別の鶏群からも、同一亜型のウイルスが確認され、食鳥処理場施設内での群間伝播の成立が確認された。

3月3日に3例目農場から約4km離れた場所で肉用鶏を5鶏舎に約1.5万羽飼養していた農場主から、1群（約3,000羽／舎）の11羽が突然死亡した旨の通報があった。飼い主は他県や地元での相次ぐAIの発生を受けて、農場の敷地内の消毒や、出入りする人や車両の制限と入念な消毒を徹底しており、通報も死亡数が増加し始めた当日になされた。初発群の死亡数が21羽となった翌日の3月4日に、簡易迅速診断法によりA型インフルエンザの陽性結果が得られたこと、および3例目の発生農場の近隣に位置していることを受けて、確定診断に先立ち全羽が自衛的に処分された(図1-5)。3月5日にH5亜型が確認され、後にN1亜型が確認された。

3例目の周辺5kmにあった養鶏場のうち、最近隣の約3km地点の肉用鶏農場では発生は確認されなかった。3例目と4例目は2つの山の谷間に位置しており、2つの農場を結ぶ谷間には川と町道が走り、上流側の3例目農場から約4km下った先に4例目が位置していた。しかし、この二農場間では水源は異なるほか、飼料やひなの供給元等の疫学的な関連も認められなかった。4例目農場は周囲に金網や防鳥ネットを施した開放鶏舎であったが、所々にスズメが出入りできる穴が確認された。また、水場のある運動公園と溜め池が近接しており、さらに農場の一側面は雑木林で囲まれ、周辺に野生動物が出入りする可能性のある環境であった。

### 3-2 臨床症状と病理学的所見

どの発生農場においても感染鶏は嗜眠状態を呈したまま、眠るように死亡するもの、あるいは、中には何ら症状を呈する前に突然死亡するものが多かった。剖検所見から、筋胃に多量の未消化飼料が残存していた個体では食欲低下を呈する間もなく死亡に至ったことが示唆され、また有殻卵が体内に残存して死亡した個体からは、産卵機能低下に至る前に突然死亡したことが示唆された。

一方、一部の症状を示した個体では、眼瞼浮腫、頸部の皮下水腫、軽度のチアノーゼ、血便や緑便、クロアカの赤色化と拡張、盲腸の暗赤色化、脚麻痺、翼麻痺などが認められた。4戸の発生農場のうち採卵養鶏場は2戸含まれていたが、いずれも感染鶏群の産卵率の低下は顕著でなかったが、個体によっては、軽度の軟卵や卵巣の出血、融解を呈していたものが認められた。

組織学的検索においては、肝臓の微小壊死、脾臓の鞘組織の壊死、膀胱の腺細胞の変性と壊死脳のグリア細胞増殖を伴う壊死などが観察される個

体があった。免疫組織学的染色により、これらの病変部位および心臓、腎臓、筋胃、腺胃に AIV 抗原が検出された(32)。

### 3-3 発生対応と疾病コントロール戦略

#### 3-3-1 診断システムと防疫対象とするウイルスの亜型

全国 47 都道府県に 172 ヶ所の家保があり、各県の家畜衛生行政の実施機関として生産現場に直結した家畜衛生行政を担っている。家保では農場主等から家畜の伝染性疾病の発生を疑う情報を受けると、家畜防疫員を直ちに現地に派遣し、当該動物の臨床観察と採材を実施して病性鑑定を行うとともに、当該群や農場の疫学情報の収集を行う。死亡数や臨床症状等から HPAI が疑われる状況下では、クロアカおよび気管スワブ、血清、主要臓器等を採材し検査を実施する。ウイルス分離用の材料は 9～11 日齢の発育鶏卵に接種して培養されるが、A 型インフルエンザウイルスの存在が疑われる場合には、卵の感染性尿膜腔液を動物衛生研究所へ持込み、赤血球凝集抑制試験（HI 試験）とノイラミニダーゼ抑制試験（NI 試験）による亜型の決定や、鶏に対する病原性を確認する鶏静脈内接種試験、遺伝子解析等が実施される。

AIV の病原性の分類方法として、国際獣疫事務局（OIE）の診断マニュアルに規定されている分類に合致する高病原性株のみならず、わが国では、すべての H5 および H7 亜型の A 型インフルエンザウイルスを HPAI 緊急撲滅対応の対象としている。これは低病原性のウイルスが動物の体内で増殖を繰り返す間に高病原性へ変異する可能性を考慮した対策であり、これらの亜型が検出された場合にはその病原性の程度に関わらず、撲滅のための防疫措置を開始することとしている。

### 3-3-2 コントロール戦略とサーベイランス

わが国における家畜伝染病の防疫措置は家畜伝染病予防法(2)に基づいて実施されており，本病発生への具体的な対応については高病原性鳥インフルエンザ対応マニュアル(4)（現，高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（防疫指針）(3)に規定されている。HPAIの発生が確認された際には，国，発生県及び家保にそれぞれ対策本部が設置される。家保に設置された対策本部は現地対策本部として，関連団体との協力のもとに，以下の措置を含めた封じ込め戦略を実施する。

- 発生農場のすべての家きんの処分
- 疫学関連施設の特定
- 発生農場周辺の移動制限
- サーベイランス

防疫対応中にとられた措置とそれらの実施期間を表 1-1 にまとめた。

### 3-3-3 発生農家における家きんの処分と封じ込め

発生農場で飼養されていた家きんは全群，二酸化炭素ガス等を用いて安楽的に処分された。処分後の死体，卵，糞や敷料等の汚染物，残存飼料などのウイルス汚染の可能性のある物品は外装消毒の後に敷地内あるいは近隣の土地に埋却あるいは焼却された。

中でも 3 例目の農場は 20 万羽以上の鶏を有しており，大量の汚染物の埋却処理ができる敷地が農場内で得られなかったため，死体は近接地に埋却されたが，鶏糞等その他の汚染物品は鶏舎内で発酵処理された。発酵処理では，堆積された汚染物品の上部に約 15cm の厚さで消石灰を積み重ね，全体を二重のナイロンシートで覆った上で外装が消毒された。発酵処理開始後 4 週目と 8 週目にシート内の堆積物からウイルス分離が試みられたが，



ともにウイルスは検出されず、ウイルスは発酵熱等で不活化されていることが確認された。

3例目の鶏の大量殺処分を含めた封じ込め措置を遂行するにあたり、京都府職員のみでの実施では困難が予想されたため、防疫作業に自衛隊が動員された。このような自衛隊の家畜防疫措置実施への協力は初めてのことであり、ケージ飼いの22.5万羽の鶏の安楽殺および汚染物の処分は23日間で完了した。

#### 3-3-4 疫学関連調査と関連農場・施設の特定

ウイルスの農場内への侵入経路を解明するため、並びに、発生農場から感染拡大した恐れのある施設を迅速に特定するために、発生農場を起点とした上流、下流への疫学調査が発生確認の4週間前にさかのぼって実施された。生鳥の導入歴、出荷歴、飼料車や集卵車の出入り状況、訪問者の出入り状況と訪問目的および訪問前後の訪問先、従業員およびその家族の訪問先やペットの飼養状況、機具や物品の持込み・持出し状況、海外からの訪問者や輸入畜産物の有無等が調査された。その結果、4戸の発生農場で、従業員および農場を訪問した人77名、農場を出入りした生鳥、車両、物の移動計221例が確認され、これらの移動と関連した施設に汚染がないか調べられた。広範な調査の結果、発生農場の上流に汚染源を確認することはできなかった。また発生農場の下流側への汚染では、3例目から出荷されていた感染鶏が食鳥処理場で別の農場由来の群へ伝播していたことが確認され、防疫措置が実施された。

### 3-3-5 移動制限とサーベイランス

HPAI の発生が確認されると直ちに、発生農場を中心とした移動制限措置が適用された。初動措置として、発生農場を中心とする半径 30km の移動制限区域が設定され、この中では家きんの生鳥、畜産物、排泄物、その他病原体を拡散する恐れのあるものを対象に移動が制限された。移動制限区域の境界にあたる主要道路上には家きん産業に関連する車両を対象とした消毒ポイントが設置され、車両の足回りと外装の噴霧消毒が実施された。1 例目で周辺への拡大が認められなかったことを考慮し、2 例目以降の大分、京都では、サーベイランスにより周辺への発生拡大がないことが確認された後に、制限区域は当初の半径 30km から 5km に縮小され、その外周にあたる半径 5～30km の部分は搬出制限区域に変更された。搬出制限区域では、前述の対象物について区域外への搬出は制限されたが、当該区域の外側からの搬入と当該区域内における移動は許可され、当該区域外への持出し(搬出)のみが制限された。

移動制限区域の適用期間は AIV の最長の潜伏期間を考慮して定められており、発生農場における封じ込め作業が完了した日から少なくとも 21 日間継続され、2 回の農場サーベイランスで新たな発生がないことが確認された後に解除された(表 1-1)。移動制限が摘要された区域およびこの制限下におかれた農場数と家きん飼養羽数は図 1-2 と表 1-2 に示した。

農場サーベイランスでは、家畜防疫員による臨床観察、血清学的検査、ウイルス分離試験が実施された。これらは、移動制限区域内にあるすべての家きん農場(1,000 羽以上飼養)および一部の少羽数飼養施設において実施された。少羽数飼養施設における検査対象の選択には、以下の条件があてはまる施設が優先された。

- 家きんの屋外飼育
- 多品種の家きんの混合飼育
- 野鳥の集まる水場の存在

表 1-3 に示されたサンプリング方法に従って、気管スワブ、クロアカスワブ、血清が採材され検査された。各移動制限区域におけるサンプリング数（施設数、羽数）を表 1-4 に示した。

全ての移動制限区域が撤廃された後も、半径 30km の範囲では 3 ヶ月間の監視が続けられ、全ての商用家きん農場において臨床検査と少なくとも 1 回の血清学的検査およびウイルス分離試験が実施された。

京都の移動制限区域内では死亡数の増加の通報により近隣農場 1 戸（4 例目）での感染が確認されたが、農場サーベイランスにより新たな発生の拡大は認められなかった。

### 3-3-6 野鳥サーベイランス

2004 年 2 月から 3 月にかけて発生農場から半径 10km の範囲において、渡り性の水きん類を含む野鳥の調査が環境省を中心に実施された。312 羽の水きん類、264 羽のカラスのクロアカ/気管スワブ、糞便が採材され、ウイルス分離が試みられた。また 292 羽の陸鳥からは前述のウイルス分離材料に加えて血液が採取され、ウイルス分離と抗体検査が実施された。供試された野鳥は以下の 3 目 11 科に属する 33 品種であった。

- カモ目カモ科
- スズメ目カラス科
- スズメ目ヒヨドリ科
- スズメ目モズ科

- スズメ目ツグミ科
- スズメ目ウグイス科
- スズメ目エナガ科
- スズメ目カエデチョウ科
- スズメ目アトリ科
- スズメ目シジュウカラ科
- チドリ目シギ科

3月初旬～4月初旬にかけて3例目農場の半径30km周辺で見つかった衰弱あるいは死亡したハシブトカラス (*Corvus macrorhynchos*) 9羽からH5N1亜型のウイルスが分離され、これらは4戸の発生農場の鶏から分離された株と遺伝学的にはほぼ同一であることが確認された(37)。3例目農場では、発生が確認されるまでの間、死亡した鶏の死体を堆肥場に放置しており、そこへカラスが群がっていたのがたびたび目撃されていたことから、カラスは死亡した感染鶏への接触あるいは捕食により感染した可能性が考えられた。

カラスでの感染確認を受けて、環境省を中心にカラスを含む野鳥を対象とする全国レベルの捕獲調査が実施された。合計392羽の捕獲/死亡カラスと5,503羽の野鳥からウイルス分離と抗体検査が行われたが、前述の9羽のカラスのほかに感染鳥は確認されなかった。

### 3-3-7 補償

本発生により死亡又は処分された鶏は、4戸の発生場所において計274,654羽にのぼった(表1-1)。政府は家畜伝染病予防法に基づき、処分された鶏の評価額の80%を、また汚染物の焼却、埋却等の処分に要した費

用の 50%を所有者に対して補償した。また、発生当時には法制化されていなかったが、移動制限区域内にある農場において生産された卵に関して、売上減少価格分と移動制限期間中の卵の貯蔵にかかる費用および貯蔵施設までの輸送費と卵の焼却費の実費（国 50%、府県 50%）を所有者に対して補償した。移動制限区域内の卵に関する上記の補償については 2004 年 6 月に法制化された。

### 3-3-8 ワクチン

日本では原則としてワクチンを使用せずに撲滅戦略をとることを第一選択としているが、伝播・拡大の状況に応じて、農林水産省との協議を経た上で都道府県知事が許可した場合に、ワクチンを用いた撲滅を実施できることとなっている。今回の発生に伴い、発生拡大時に備えて 320 万ドーズの不活化ワクチンが緊急輸入され備蓄されたが、結果的にワクチンを使用することなく撲滅が完了した。

### 3-3-9 経営の再開

発生農場ではすべての封じ込め措置の終了後に、少なくとも 1 週間隔で 3 回以上の消毒を実施した後に鶏舎環境の AIV 陰性を確認するとともに、鶏舎内にモニター鶏を配置してこれらの臨床検査、血清抗体検査およびウイルス分離試験により清浄性が確認された後に経営を再開できている。発生農場のうち、4 例目の肉用鶏農場の経営再開が最も早く、清浄性確認検査を経て 2004 年 8 月に経営が再開された。

### 3-3-10 防疫対応上の問題点と家伝法および防疫マニュアルの改正

AI撲滅に向けた防疫措置は、国際獣疫事務局（OIE）と国際連合食糧農業機関（FAO）の勧告に基づいて作成された国家防疫戦略である、防疫対応マニュアルとしてすでに整備され、これに沿って防疫措置が進められたが、発生対応中にいくつかの問題点が明らかになった。

異常を知らせる通報の遅れ、特に大規模農場からの通報の遅れは、ウイルス排出量の多さと疫学関連施設や移動歴の多さという観点から、関連施設への爆発的な発生拡大を招きかねない。3例目の採卵養鶏場では異常が認知された後、約10日間通報されずに放置されており、その間に感染鶏が食鳥処理場へ出荷され、また、農場内のほぼすべての鶏舎に感染が拡大した。このような通報の遅れによる無用な拡大を未然に防ぐために、通報義務に違反した所有者に対する罰則の強化策として、本病が疑われる事実を故意に隠蔽した農場主には罰則が科せられることになった。

発生当初の防疫対応マニュアルでは、移動制限区域は発生地から一律半径30kmに適用することになっていた。このため、移動制限下に置かれる農場数が多く（表1-2）、これらの区域内で毎日生産され続ける卵を保管する場所の確保や保管にかかる費用が、多くの農家に負担が生じることになった。1例目の周辺に発生の拡大がなかった事実を考慮し、このような農家への負担を軽減する措置として、サーベイランスにより清浄性が確認された場合には、移動制限区域を当初の半径30kmから5kmまで縮小して防疫措置を継続できるよう、対応途中で変更された。この変更に従い、それまで移動制限区域に該当していた半径5～30kmの部分は、搬出のみが制限される搬出制限区域に設定し直され、この区域では同一区域内での移動や搬出区域より外側の地域からの生鳥、畜産物等の受け入れが可能になっ

た。そして、この臨機応変な変更は後にマニュアルの改正事項として追加された(3)。

また、移動制限下におかれた周辺農家に対する補償制度として、当時組み込まれていなかった出荷制限におかれた卵の保管、輸送、処分にかかる費用の補償が防疫対応中に新規導入され、後に法制化された。この制度は移動制限に置かれた農家そのものの経済的な支援だけでなく、異常を認知した農場主が、周辺農家への経済損害を懸念することによる通報の遅れを未然に防ぐための環境整備としても効を奏するものと期待される。

さらに、発生後に農場を再開しようとする農場主に対して、これまで農家負担であった防疫にかかった費用が政府から支援されることとなった(2)。

これらの問題点を踏まえて、2004年3月に防疫マニュアルの改正(4)が、6月には家畜伝染病予防法の一部が改正され、さらに、同年11月にそれまでの防疫マニュアルに代わるものとして防疫指針(3)が作成された。

### 3-3-11 公衆衛生上の問題

感染農場の従業員とその家族、あるいは農場での封じ込め作業に従事した者等、感染鶏やその汚染物に接触した恐れのある者は、厚生労働省の指導に従って臨床検査とその後の監視を受けた。封じ込め作業に従事した者は、作業前後の健康チェックを受け、抗インフルエンザウイルス薬を予防的に服用した。防疫作業中にインフルエンザ様症状を訴えた者はいなかった。

京都での防疫対応に携わった人の血清について、京都分離株を抗原とした血清中和試験による抗体検査を実施したところ、5名の抗体陽性例が確認された旨、厚生労働省より報告がなされた。抗体陽性例のうち、3例目

農場で働いていた従業員 1 名は、農場内の汚染物処理作業を終えた後に数日間喉の痛みを感じたが、発熱等の他のインフルエンザ様の症状は認められなかったという。また農場の従業員 3 名と発生の初期調査に同行した京都府職員 1 名の抗体陽性者は発熱を含め、症状は全く呈していなかった(33)。

## 第 4 節 考察

### 4-1 ウイルス伝播拡大の特徴

4 戸の発生農場から分離されたウイルスはすべて H5N1 亜型であり、鶏静脈内接種による病原性試験(48)では全ての供試鶏を 24 時間以内に死亡させる強毒型であった(37)。鶏への病原性が非常に高かったため、感染鶏は短時間で死亡し、感染農場における摘発は容易であったが、一方で短期間に群内の鶏に高率に伝播したこと、また、農場内の衛生措置が十分実施されていない場合には鶏舎間の伝播も容易であったことなどが特徴としてあげられた。また、食鳥施設において群間の伝播が短期間に容易に起こった事例があり、至近距離における群間伝播が確認された。

発生が 3 県の 4 飼養施設に限局され、すべての防疫措置を含めて 3 ヶ月半で撲滅することに成功したことは、発生農場における家きんの処分や発生地周辺の移動制限などの封じ込め措置が迅速に行われたこと、感染摘発のためのサーベイランスが効果的に行われたためと考察された。



#### 4-2 侵入経路

3カ所の発生地での鶏からの分離株（3株）および3例目農場周辺のカラスからの分離株（2株）の計5株の8つの遺伝子分節のすべてにおいて、99%以上の遺伝子配列の相同性が確認され(37)、また、これらの国内分離株は2003年～2004年に中国、香港、韓国、タイで分離されたH5N1株の中で、韓国分離株との間に最も相同性が高く、すべての分節において遺伝子配列が99%以上一致していた。さらに、近年アジアで分離されたH5N1亜型ウイルスの系統樹解析の結果から、国内分離株と韓国分離株は同一グループを形成し、一方、タイ、ベトナム株分離株とは遺伝学的に異なっていることが確認されている(36)。これらのことから、韓国で発生をもたらしたウイルス株と同一起源のウイルスが野鳥を介して、あるいは、国際的な物流を介した鳥類の生体やその畜産物等による持込まれたか、あるいは人の移動等を介して海外から持ち込まれたとするのが自然と考えられた。

各発生農場へのウイルスの侵入経路に関しては多数の生体・人・物の出入りが調査されたが、どれも感染源と特定できるものは確認されなかった。しかしながら、サーベイランスの結果や疫学関連調査から、ウイルス侵入経路として考えられる可能性について以下のように考察された。

これまでAIVの持込み経路の一つとして、家きんの肉や畜産物を介した持込みが報告されている(63)。日本では2003年5月に中国・山東省から輸入されたアヒルのムネ肉からHPAIウイルスが分離された事例の報告がある(35)。2003年12月に韓国でAIが発生する直前までの約5ヶ月間に、3万トンの家きん肉、内臓、加工品が韓国から日本へ輸入されていた。隣国でH5N1亜型のウイルスによるAIの発生が報告された同日に、農林水産省は韓国からの生きた家きんとその畜産物の輸入を停止したが、それまでの間に韓国から輸入されていた非加熱あるいは加熱不十分の家きん肉や

その畜産物に由来する食物残渣を介して鶏群にウイルスが侵入した可能性も考えられた。しかし、発生場所とこれらの輸入畜産物の消費地を考えた場合、発生農場はいずれも西日本の山あいの土地に位置していたのに対して、これらの畜産物は全国に流通しており、さらに、食物残渣が多く発生する大消費地周辺においてカラスなどの肉食鳥類の感染や大量死等は確認されていない状況であった。これらのことから、輸入家きん肉や加工肉の残渣を介したウイルスの持込みの可能性は低いと考えられた。

一方、10月の終わりから11月の終わりにかけてカモ類などの水きん類を含む多くの渡り鳥が中国大陸や朝鮮半島から日本へ飛来し、越冬することが知られている。例年この渡りは12月初旬頃までに完了するが、日本の発生地と韓国の発生地を結ぶ400km程度の距離はカモ類には短距離移動にあたり、渡りが完了した後も移動可能な範囲とされる。

韓国では2003年12月から2004年3月までの間に散発的にAIが家きん農場で発生していた。

山口株  $10^{8.0} \text{EID}_{50}$  をアヒル（チェリバレーダック種）へ経鼻接種した感染試験において、何ら症状を呈することがないまま、主要臓器からウイルスが回収されている(27)ことから、ウイルスに感染したマガモ類がウイルスを排泄しながら二国間を移動することは可能と考えられた。また、遺伝学的解析により、近年アジアで分離された株の中で、日本の分離株に最も近縁な株は韓国分離株であること(37)、日本の発生地は静寂な山あいで、多く品種の渡り鳥が観察されていることを考慮すると、日本の発生地周辺の野鳥サーベイランスや韓国での野鳥調査においてH5N1亜型のウイルスを渡り性の水きん類が保有していた事実は得られていないが、感染したカモ類が朝鮮半島から日本の発生地周辺へウイルスを運んできた可能性は十分考えられた。

以上から、発生以前から日本に存在していた低病原性 AIV が高病原性化したのではなく、中国大陸方面から渡ってきた HPAI に感染した渡り鳥により農場周辺がウイルス汚染されたとするのが最も可能性の高い侵入経路と考えられた。

農場周辺のウイルスがどのように鶏舎内の家きん群に持込まれたかについては、鶏舎を出入りできる小型の野鳥や野生の小動物の関与が考えられた。感染試験においては、鶏（白色レグホン）、ウズラ、セキセイインコには致死性であった一方(25)、カラスは感受性を示したものの  $10^{6.0} \text{EID}_{50}$  の経口投与では生存する(64)など、鳥の品種により感受性や病原性の程度が異なることから、ウイルスを排泄しながら活動できる品種の関与が考えられた。また、ほ乳類では BALB/c マウスに致死的な感受性が確認される(37)一方、ミニ豚への感染は成立していない(25)ことから、種による感受性、病原性の程度については未知の部分が多いものの、死亡鳥を補食した感受性動物の関与や小型哺乳類による機械的なウイルス媒介の可能性は否定できない。

また、国内での 3 地域における発生の関連性については、3 つの発生地の間には疫学的関連がないことから、国内で伝播したものではなく、3 ヶ所に独立したウイルス侵入の機会があったことが考えられた。

また、近隣で発生した 3 例目と 4 例目の間には、人や物の動きに関連がなかったものの、発生時期、農場間の距離、周辺環境を考慮すると、具体的な侵入経路は特定されていないが、町道を行き来する車両を介した不特定のウイルスの拡散や、野鳥を含む野生動物による農場周辺の汚染などが関連した近隣伝播と考えられた。

### 4-3 早期撲滅のカギ

初発確認から約3ヶ月半で封じ込めに成功した要因には以下のことが挙げられた。

- ・発生農場のすべての家きんの迅速な処分
- ・発生地周辺の移動制限の実施
- ・周辺農場，疫学関連農場の感染の有無の迅速な確認
- ・疾病や防疫に関する正しい知識の普及

3例目の発生農場は飼養羽数20万羽を越える大規模農場であったが、自衛隊からの人的支援を防疫開始の早期から活用することができたため、発生確認の日から23日間ですべての汚染物の封じ込め作業が完了した。また、対象物品の移動制限と消毒ポイントにおける車両消毒を併わせた移動制限措置も効果的に実施でき、異常が確認された農場からウイルスが区域外へ持ち出されるのを未然に防ぐことに貢献した。各発生地の移動制限区域内で行われた2回の農場サーベイランスでは、数多くの採材と検査が迅速に行われ、1回あたり4～10日間で清浄性を確認することができた。

また、発生農場を起点とした疫学調査が迅速に行われ、発生農場との間に入出りがあった農場や出荷先の食鳥処理場が特定できたため、リスクの高い鶏群を特定でき、早い段階で必要な検査と防疫措置を講じることにつながった。

また、撲滅活動が進められる中、生産者や養鶏産業関連に従事する者に対して本病の啓発が行われたことにより、本病に対する正しい知識の普及が計られ、農場周辺の消毒等の農場レベルでのウイルス侵入防止措置の徹底に結びついたと考えられた。特に2例目の愛玩鶏飼育者と4例目の肉用鶏農場からの異常を知らせる通報は、発生初期の死亡数が少ない時点でな

されおり，迅速な防疫対応に結びついたと考えられた(図 1-6)。

#### 4-4 今後の発生に対する備え

周辺農場への発生拡大と考えられる例は，京都の 3 例目から 4 例目への 1 例だけに認められた。この 2 つの農場の間には生鳥や人，物の移動はなく，用途も採卵用と肉用というそれぞれ異なる流通形態の中で飼養されていたため，疫学的な関連では説明できない，周辺環境の汚染による不特定なウイルスの持込みが考えられた。このほかの発生地ではいずれも単発の発生で封じ込められ，爆発的な拡大に至ることなく撲滅に成功した。

これまでの世界の AI の発生状況とその飼養背景を日本のそれらと比較すると，日本の家禽産業構造や飼養実態には，ウイルスの拡大要因は比較的少ないと考えられた。その一つに，日本には生きた鳥を集めて売り買いする生鳥マーケットがないことが挙げられる。1997 年香港での発生例や 1985 年および 1996-98 年の USA での発生例，2003-04 年の東南アフリカでの発生例等では生鳥マーケットの関与が指摘されており，また，東南アジア諸国での発生が終息していない背景にも，生鳥マーケットの関与が問題となっている(23, 55)。生鳥マーケットではアヒル等の水きん類を含めた多様な品種の生鳥が数日間同一敷地に留め置かれて，売買された生鳥の一部は生きたまま各地へ持ち帰られるため，病原体の伝播・拡大の観点から非常にリスクの高い場所である。今回の発生では，食鳥処理場の敷地内で一晩のうちに容易に群間伝播していたことから，生鳥が集合する場所での本病の伝播が容易であることが推察される。しかも，生鳥マーケットには種々の品種が集合するため，感染しても症状を示さない水きん類を通して，気づかれないうちに疾病が拡大する可能性もある。

一方，わが国は冷蔵輸送システムが完備しており生きた状態で鳥を売り

買いする必要がないことや、生鳥を買って調理するという文化は一般的でないため、生鳥マーケットの存在は一般的でない。従って、各農場を巡回して出荷用家きんを市場へ搬送する生鳥回収人（2004のベトナム）や生鳥取引業者（1985および1996-98のUSA）等、海外で農場間伝播の要因となった流通業者を介した伝播(23)も、日本では一般的でない。

また、廃鳥や堆肥等の汚染物品の処理過程に起因する伝播要因として、1997年のオーストラリアでの発生では死鳥を農場ごとに回収して回る死鳥回収車(52)が報告されている。しかし、わが国では死亡鶏の処分や鶏糞の堆肥化は農場単位で敷地内あるいは比較的近隣で行うか、地域のストックポイントやレンダリング施設を利用するのが主である。後者の場合でもストックポイントまでは自家輸送されるのが主流であり、回収車両が農家を巡回するのは日本では一般的でない。

以上の日本の家きん生産をとりまくシステムは、他国の事例から指摘されているインフルエンザの拡大要因が比較的少なく、拡大防止に関して有利であると考えられた。

近年の世界の発生状況から、AIVは健康な渡り性の水きん類に保有されて容易に国境を越えている可能性が指摘されている。さらに、小型の野鳥やネズミ等の小動物は、鶏舎周辺のウイルスを鶏舎内へ持ち込むことが考えられている。このように、AIVの侵入防止にはわれわれが制御しきれない野生動物との関わりがあることから、AIVの再侵入に対する備えは依然として必要である。このためには、常に国内の野鳥を含めた鳥類と農場内の家きんのサーベイランスを行い、本病の野鳥相への侵入および農場への侵入を素早く検知できる体制が重要である。また、病原体が侵入した場合には、その分離と同定、さらに血清型別や遺伝子解析等が滞りなく実施で

きる能力が重要となってくる。わが国の獣医システムは、今回の発生対応の中で、疾病を正しく診断し、発生拡大の有無を迅速に調べ、さらに病原体の亜型の特異性、鶏に対する病原性、遺伝子解析等が迅速に行われ、少ない発生で撲滅に成功した。

また、将来の侵入時における発生拡大の様相についても、飼養密度の高い地域における爆発的な発生拡大や、多くの農場へ生鳥を配布するふ化場や採卵鶏育成場に発生があった場合等の困難な状況も想定して、平素から幅広い戦略を検討し、訓練しておくことが必要であろう。また、世界の発生状況においても、東南アジアでは本病が常在化している国々もあることから、国内での早期発見に向けた監視体制に加えて、国際間での協力のもとで本病の防疫に努めることも必須である。OIE、FAO等の国際機関はこのような国際協力において、より一層のリーダーシップが望まれる。

## 第 5 節 結語

1935年以來 79年ぶりに日本で発生した HPAI の発生を記述疫学により分析し、以下のようにまとめられた。

1. 2004年 1～3月の間に 3県の 4戸において発生が確認され、約 30万羽の家きんが処分された。

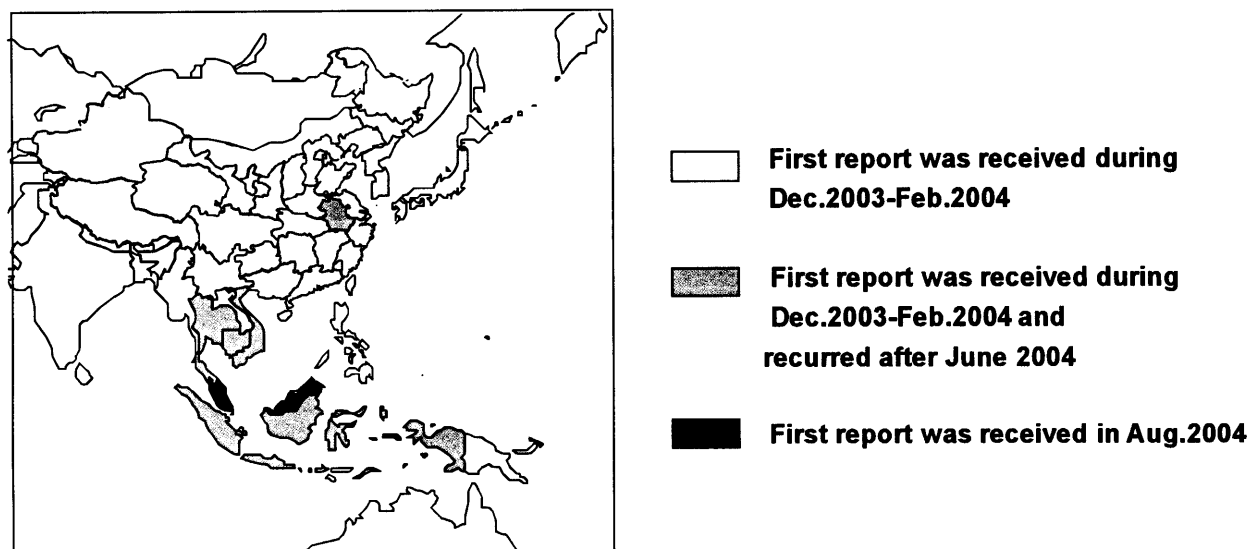
2. 原因ウイルスは H5N1 亜型の強毒性株であり、多くの感染鶏は症状を呈する間もなく短時間で急死していった。死亡数の急増により、農場における異常の認知は容易であった。

3. 群内および群間の伝播は短期間に高率に行われた。

4. 発生は限局的であり3ヶ月半で撲滅に成功した要因として、発生農場における家きんの全羽処分や発生地周辺の移動制限などの封じ込め措置が迅速に行われたこと、感染摘発のためのサーベイランスが効果的に行われたためと考えられた。

5. 所有者からの第一報の遅れなど、撲滅キャンペーン中に見られた問題点については、関連する法律や発生時対応マニュアルの改正が行われた。





Data source:

Office International des Epizooties (OIE) Disease information

Food and agriculture organization Avian Influenza Disease Emergency (FAO AIDE) news

**图1-1 The countries / regions with official outbreak reports of HPAI ( H5N1 )**

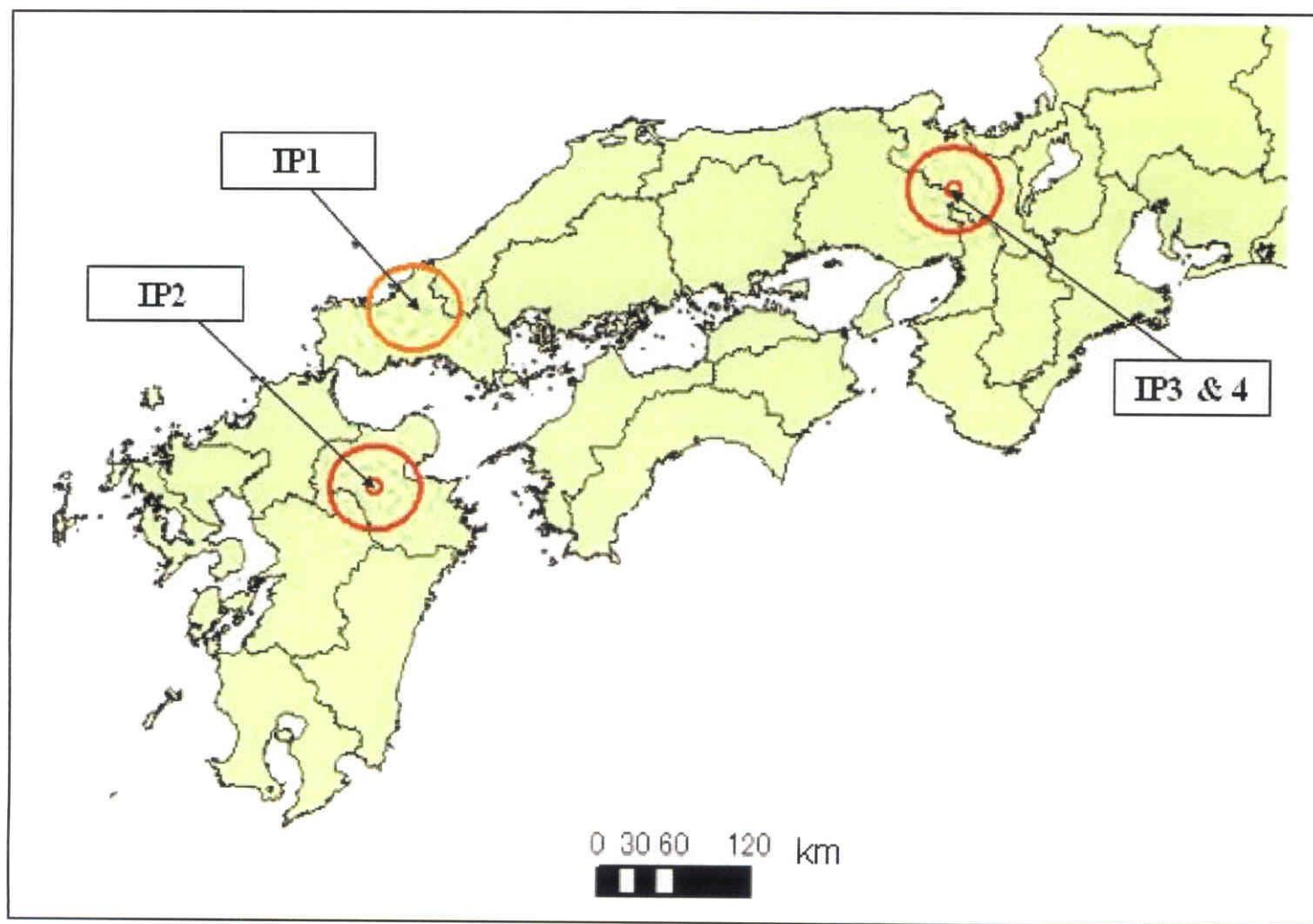


图 1-2 The location of the outbreaks and movement control areas

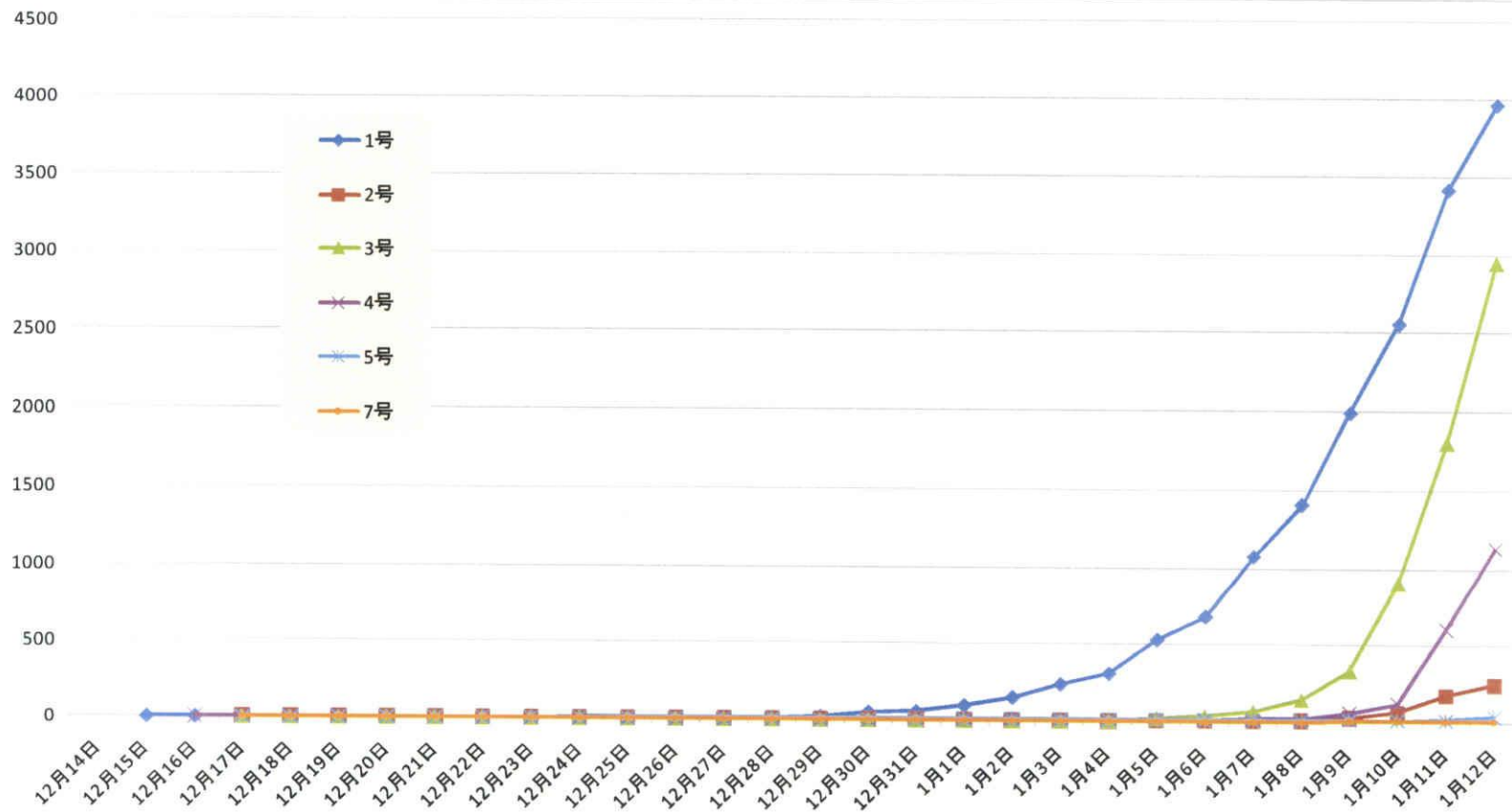


图 1-3 Changes of the number of dead chickens at infected premise 1

Layer farm in Yamaguchi prefecture : 6 sheds (5,000~6,700 chickens/shed)

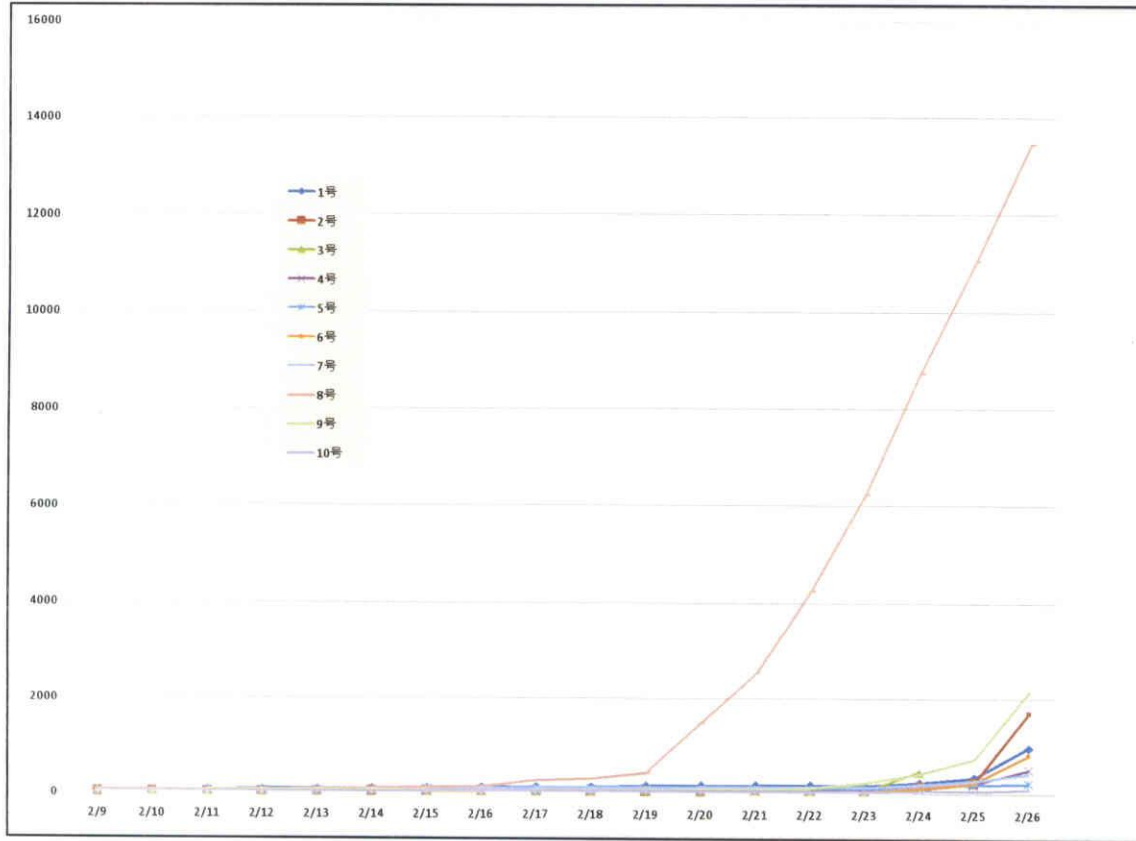


図 1-4-a

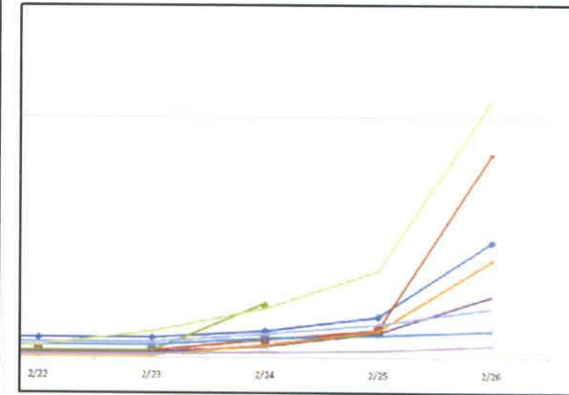


図 1-4-b

図 1-4 Changes of the number of dead chickens at infected premise 3

Layer farm in Kyoto prefecture : 10 sheds (17,000~30,000 chickens/shed) (図 1-4-a)

Enlarged graph of the number of dead chickens from Feb 22 to 26 (図 1-4-b)

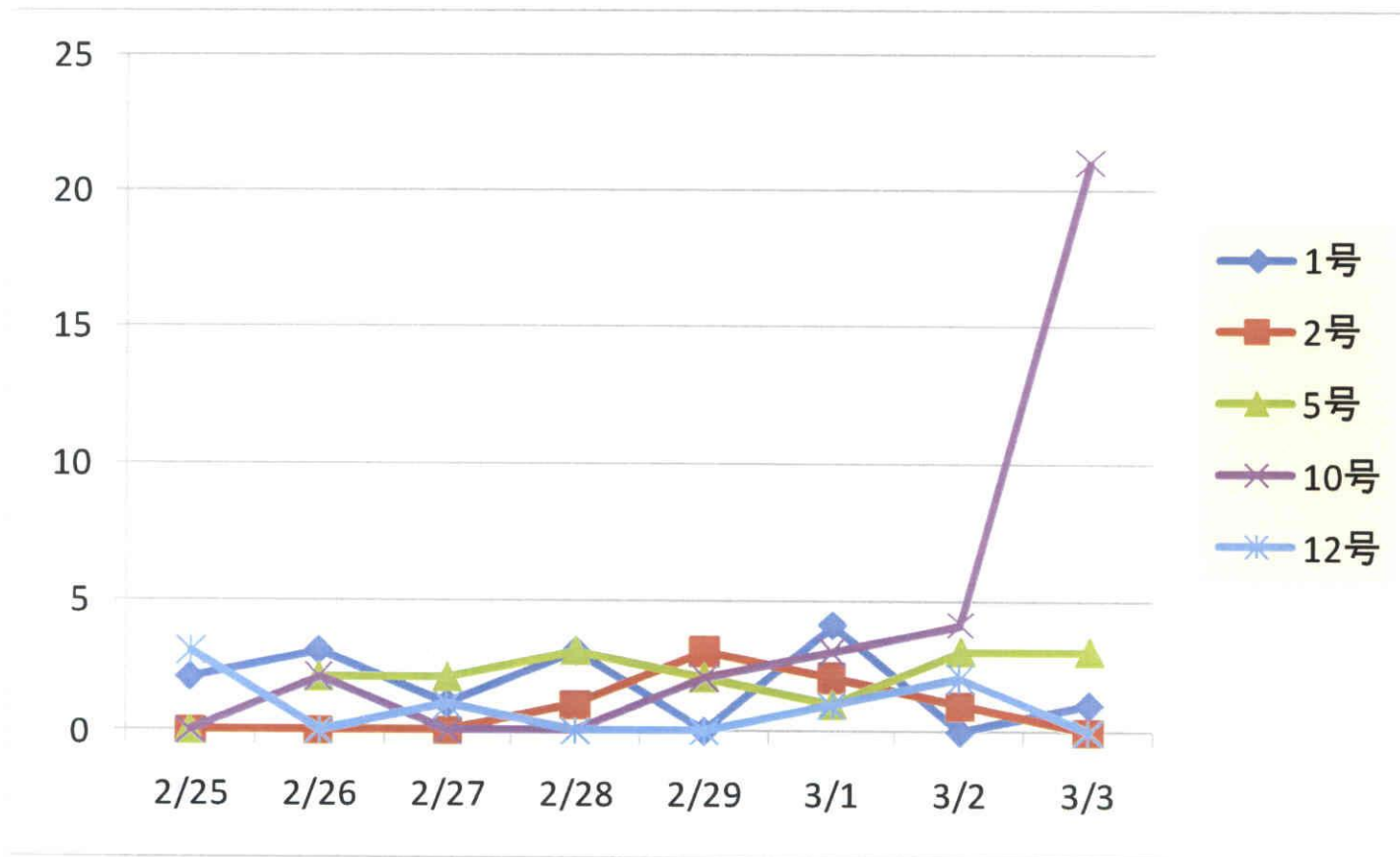


图 1-5 Changes of the number of dead chickens at infected premise 4  
Broiler farm in Kyoto prefecture : 5 sheds (3,000 chickens/shed)

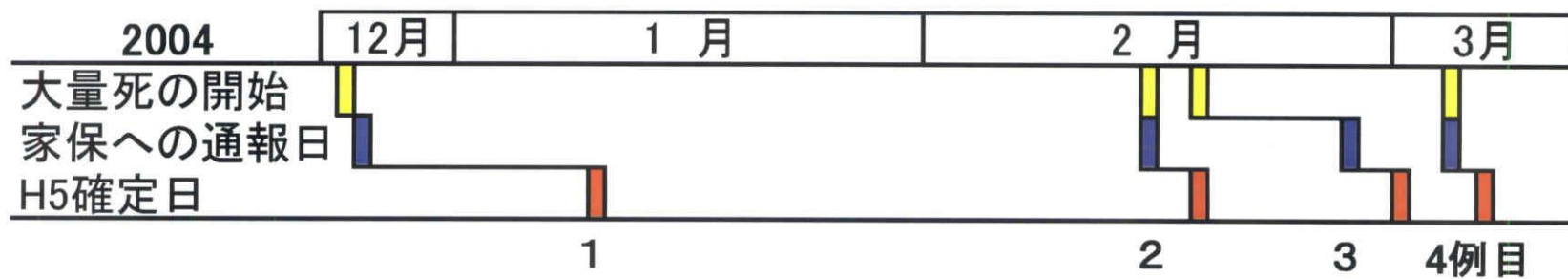


図1-6 Timelines between clinical onset and official confirmation

表 1-1 Description of affected premises and the measures taken

| IP <sup>(a)</sup> | Location (Prefecture) | Susceptible birds | Production type | Type of housing       | Number of birds culled | Date of clinical onset | Date of report to LHSCs <sup>(b)</sup> | Date of confirmation | Completion of containment | Movement control applied |   | completion of surveillance |
|-------------------|-----------------------|-------------------|-----------------|-----------------------|------------------------|------------------------|--|----------------------|---------------------------|--------------------------|---|----------------------------|
|                   |                       |                   |                 |                       |                        |                        |  |                      |                           | Movement control (30km)  | Movement control (5km) and surveillance zone (5-30km) |                            |
| 1                 | Yamaguchi             | Chickens          | Layers          | caged in a shed       | 34,640                 | Dec. 28                | Dec. 29                                | Jan. 12              | Jan. 21                   | Jan.12-Feb. 19           | Not applied   | Feb. 14                    |
| 2                 | Oka                   | Chickens & a duck | Hobby flock     | caged on the backyard | 14                     | Feb. 14                | Feb. 14                                | Feb. 17              | Feb. 18                   | Feb.17-28                | Feb.28-Mar. 11  | Mar.3                      |
| 3                 | Kyoto                 | Chickens          | Layers          | caged in a shed       | 225,000                | Feb. 17                | Feb. 26                                | Feb. 29              | Mar. 22                   | Feb.29-Apr.1             | Apr. 1-13   | Apr.10                     |
| 4                 | Kyoto                 | Chickens          | Broilers        | free ranged in a shed | 15,000                 | Mar. 3                 | Mar. 3                                 | Mar. 5               | Mar. 11                   |                          |   |                            |

(a) Infected premise

(b) Livestock Hygiene Service Centre

表 1-2 Description of poultry farms<sup>(a)</sup> located within 30-km radius around infected premises

| Areas<br>around | No. of premises<br>existed |        | No. of poultry raised |        |
|-----------------|----------------------------|--------|-----------------------|--------|
|                 | Chickens                   | Others | Chickens              | Others |
| IP1             | 20                         | 0      | 1,294,000             | 0      |
| IP2             | 65                         | 3      | 1,294,000             | 53,200 |
| IP3 & 4         | 79                         | 2      | 1,390,330             | 21,000 |

(a) Farms holding more than 1000 poultry

IP: Infected premise



表 1-3 Sampling regime for surveillances of poultry within 30-km radius around infected premises

| Premise categories                                    | Premises to be sampled | No. of sheds to be sampled per premise |                            | No. of poultry to be sampled per shed |
|---|------------------------|--|----------------------------|---------------------------------------|
|   |                        | Number of sheds present                | No. of sheds to be sampled |                                       |
|   |                        | 1                                      | 1                          | 10                                    |
| Commercial poultry farms with more than 1,000 poultry | all                    | 2-9                                    | more than half             | 5                                     |
|   |                        | 10 and over                            | more than two thirds       | 5                                     |
| Small holdings or hobby flocks                        | more than 100          | -                                      | -                          | 5                                     |

表 1-4 Number of poultry tested and results of surveillances conducted within 30-km radius around infected premises

| Surveillance areas around | No. of rounds | No. of premises tested                |                |       | No. of poultry tested |                      | Results  |
|---------------------------|---------------|---------------------------------------|----------------|-------|-----------------------|----------------------|----------|
|                           |               | Farms holding more than 1,000 poultry | Small holdings | Total | Serological test      | Virus isolation test |          |
| IP1                       | 1st only      | 20                                    | 52             | 72    | 1,416                 | 1,450                | negative |
| IP2                       | 1st           | 68                                    | 187            | 255   | 1,915                 | 1,464                | negative |
|                           | 2nd           | 68                                    | 104            | 172   | 1,515                 | 1,235                | negative |
| IP3                       | 1st           | 81                                    | 254            | 335   | 2,056                 | 2,055                | negative |
|                           | 2nd           | 81                                    | 260            | 341   | 2,077                 | 2,062                | negative |

IP: Infected premise

## 第 2 章

# 2005 年日本で発生した弱毒型 H5N2 亜型 AI における商用採卵養鶏場への鳥インフルエンザウイルスの侵入リスク要因解析

### 第 1 節 緒言

2005 年 6～12 月に日本の 41 戸の採卵養鶏農場において弱毒型の H5N2 亜型のウイルスによる鳥インフルエンザ (AI) の発生が確認された。2005 年 5 月に産卵率の低下と死亡羽数のわずかな増加を呈していた茨城県の採卵鶏群から H5N2 亜型の AIV が分離されたことに始まり、その周辺にあった農場および発生農場と物流等につながりのあった農場 (疫学関連農場) を中心に検査が実施され、同一県内に 40 戸の発生農場が確認された。感染農場はいずれも商用の採卵鶏を飼養する農場であり、このうち 39 戸は成鶏を数羽ずつケージに入れて飼養し、卵を出荷する養鶏場であり、残り 1 戸は採卵鶏の若ひなを育成していた。

ウイルス株や飼養状況 (飼養密度、吸排気方式、給餌方法等) によりウイルス伝播の様相には違いは見込まれるものの、ウイルス侵入要因の中には亜型や病原性によらない AIV に共通のものもあると考えられることから、本発生例におけるウイルス侵入のリスク要因を解析することは将来的な HPAI 発生の予防対策に向けて有意義と考えられる。

症例対照研究は、疾病の発生という時間軸を出発点にして疑われる要因への暴露状況を過去へさかのぼって調査する縦断的な研究方法の一つである。ある疾病に罹患した集団 (症例群) とその集団が属する母集団から抽出された疾病に罹患していない集団 (対照群) を設定し、疾病発生との関

連性を検討しようとする要因に対する暴露状況の有無を調査して、暴露要因と疾病発生の関連性を明らかにする疫学的手法である。同じ縦断的な研究手法に分類される手法としてコホート研究があるが、この手法はある要因をもつ集団と持たない集団を設定し、それぞれの集団における疾病の発生を追跡調査していく方法である。症例対照研究はコホート研究に比べて調査期間が短く費用も少なくすむという利便性がある一方、発生に遡る過去の時点における要因への暴露歴が情報源となることから、対象者の記憶の確かさや申告バイアスなどが収集した情報の正確性に影響を与えることもある(69)。利便性が高い症例対照研究は医学領域では汎用されているものの、わが国の獣医学領域ではこの手法を用いた報告はまだ少なく、今後の普及と活用が期待される手法である。

われわれは AI のウイルス持ち込みに関わったリスク要因を知ることが目的として、茨城県の発生農場の周辺 5km 以内にある全商用採卵養鶏場を対象に症例対照研究を行った。

## 第 2 節 材料および方法

### 2-1 調査対象農場

41 戸の発生農場のうち 1 農場は感染鶏の移動による隣県の系列農場での発生であったが、残り 40 農場は茨城県内に位置していた。そこで、調査対象農場は茨城県内の発生農場周辺半径 5km に位置していたすべての商用採卵養鶏場とし、解析の単位は農場とした。農場によっては複数の鶏舎が敷地を分かれて存在している場合もあるが、近接した敷地に位置し、かつ同じ所有者に属し、同様の飼養形態下におかれている場合は同一農場として扱った。県の公式発表に基づく感染農場を発生群とし、発生農場の

周辺 5km 以内に位置する非発生農場を対照群とした。調査対象地域には発生農場 37 戸，非発生農場数 36 戸が含まれた。

## 2-2 データの収集

調査項目は，農場の経営管理や衛生対策，野鳥や野生動物，不法侵入者対策等に関する 29 項目を調べた（表 2-1，表 2-2）。調査対象期間はウイルスが存在していた可能性が高い時期として 2005 年 4～8 月に設定した。

調査情報の収集は直接面接による聞き取り方式で行い，対象農場を訪問して農場経営者あるいは管理者に質問票を用いて回答を得た。聞き取り調査は 2006 年 2～5 月に実施した。

農場の位置に関するデータである主要道路からの距離や最近隣の発生農場との距離は，茨城県が所有する農場データベースの農場位置情報を得た上で，距離の算出には地理情報システムソフトウェア ArcGIS（ESRI, Redlands, CA, U.S.A.）を用いた。

## 2-3 統計学的解析

疾病発生と暴露要因の関連性及び関連の度合いの評価はオッズ比（OR）の算出によって行われる。オッズとはある事象が起こる確率と起こらない確率の比を意味し，OR は当該要因がある場合とない場合でのそれぞれのオッズの比をとったものである。症例対照研究では OR とその 95%信頼区間が計算される(44)。

解析の順序として，以下に示すように，単変量解析を行い，多変量回帰モデルへの入力候補とする変数を検討した上で，多変量ロジスティック回帰を行って，疾病発生と関連性の高い要因を検出した。

### 2-3-1 単変量解析

多変量回帰モデルへの入力候補とする変数を検討する目的で、各変数の疾病発生への関与を単変量解析により予備的に確認した。29個の変数は、回答が数値で得られる連続変数と、はい/いいえ等の数値でない回答が得られるカテゴリカル変数に分かれるが、連続変数については Wilcoxon rank-sum test を、カテゴリカル変数についてはカイ 2 乗検定またはフィッシャーの直接法を用い、p 値<0.1 であった変数は疾病発生へ関与している可能性があると考えて、多変量回帰モデルへの入力候補とした。

### 2-3-2 多変量解析

疾病の発生／非発生を従属変数とする多変量ロジスティック回帰を用いて、複数の変数の疾病発生への関与を解析した。

疾病が発生する確率を  $\theta$ 、発生しない確率を  $1 - \theta$  とした場合、 $\theta$  は 0 から 1 までの間の値しかとらないが、この比をロジット変換した  $\ln\{\theta/(1-\theta)\}$  は  $-\infty \sim +\infty$  の値をとる。このロジット変換した値を従属変数とした回帰モデルがロジスティック回帰モデルである。ロジスティック回帰モデルでは、独立変数に対する係数  $\beta$  が得られるが、これを  $e$  を底とする指数に変換した

$$e^{\beta} = \exp(\beta)$$

が独立変数のオッズ比となり、要因がない場合に比べ、要因がある場合に上昇するリスクを表すものである。さらに、

$$e^{(\beta \pm 1.96 * \text{標準誤差})} = \exp(\beta \pm 1.96 * \text{標準誤差})$$

は得られたオッズ比の 95%信頼区間となる。

多変量ロジスティック回帰モデルへ入力する変数の選定にあたっては、欠損値の多い変数や生物学的妥当性に欠ける変数は p 値が 0.1 未満であつ

ても除外した(15)。また、相関関係の強い変数を回帰モデルに同時に含めることはできないので、Spearman の順位相関係数 Spearman correlation coefficients を調べ、重度に相関がある連続変数は除外した。

上記の選定条件に適合した入力候補変数をすべて回帰モデルに組み込んだ後、変数減少法による多変量ロジスティック回帰を行った。すなわち、回帰モデルにおいて Wald 法による P 値が高い順に変数を一つずつ除去し、当該変数を除去する一つ前のモデルと除去した後のモデルについて尤度比検定 likelihood-ratio test を行った。このときの P 値が 0.1 を越える場合には当該変数はモデルへの関与が有意でないとして除去した。

すべての変数の組合せについて二変数間の交互作用の有無を調べ、P 値が 0.05 未満の場合には有意な変数間の交互作用が認められるものとしてモデルに含めることとした。

交絡因子を調べるため、回帰モデルから変数を一つ除去するたびに、残っている各変数のオッズ比の変動をチェックし、除去前のオッズ比から 30%以上変動した場合には除去した変数との間に交絡関係があるとして、当該変数はモデルに戻すこととした。

上記の過程により変数を順次除去していき、各変数のオッズ比とその 95%信頼区間を求めた。回帰モデルの適合性は Hosmer-Lemeshow test を用いた。統計解析には SPSS 11.0 (SPSS for Windows)を用いた。

### 第 3 節 結果

予備解析として行った単変量解析の結果、 $p < 0.1$  であり、多変量回帰モデルへの入力候補となった変数は 16 個であった(表 2-1, 表 2-2)。これらのうち、「卵出荷用の車両台数」は欠損値が多いため、また「庭先販売」、

「車両の消毒」および「従業員の入舎時の防疫措置」は発生に対する効果が逆方向に現れ、生物学的妥当性をもって説明できないため解析から除外した。

「鶏糞の処理場の共有」に該当していた農場の多くは鶏糞処理作業において機具の共有もしていたため、「農場間での機具の共有」に該当する農場の一部を構成しており、この二変数の間には強い関連が認められた。よって、「鶏糞の処理場の共有」は解析からはずした。

「飼養羽数」、「従業員数」、および鶏舎タイプ、給餌設備、給水設備の機械化程度を指標化した「設備の機械化の程度」の三変数はお互いに強く相関 ( $p < 0.0001$ ) していた。それゆえ、三者の中で最も客観的な変数である「飼養羽数」を多変量回帰モデルへの入力候補とし、後二者はモデルに含めなかった。「飼養羽数」は全戸の飼養羽数の中央値 (32,000 羽) を境とする二値のカテゴリ変数に再分類して入力候補とした。

以上の変数選択の過程を経て、多変量ロジスティック回帰モデルへの入力候補となった変数は「飼養羽数」、「成鶏の補充」、「農場間での機具の共有」、「場内入場者への不完全な衛生対策」、「最近隣発生農場からの距離」、「卵の出荷時の巡回」、「廃鶏出荷時の業者利用」、「卵トレーの不完全な衛生管理」の 8 つであった。

これら 8 つの変数を用いて多変量ロジスティック回帰モデルを実施したところ、最終モデルには 4 つの有意な変数として、「成鶏の補充」(OR=36.6, 95% confidence interval (CI)=2.4-558.6), 「農場間での機具の共有」(OR=29.4, 95% CI=4.2-207.5), 「場内入場者への不完全な衛生対策」(OR=7.0, 95% CI=1.2-42.6), 「発生農場からの距離」(1500 m 以上を比較基準として 0m~500 m 未満; OR=8.6 (1.2-61.8), 500m~1000 m 未満;



OR=0.8 (0.08-9.3), 1000m~1500 m 未満; OR=20.1 (3.0-142.9), )が得られた (表 2-3)。

発生農場からの距離については, 1500m 以内であることがリスク要因となったが, 1500m 以内について 500m ごとの 3 つの同心円に区切った場合, 発生農場からの距離の近さに従った明らかなリスクの増加は認められなかった。

最終モデルに至る過程で, 二変数間の交互作用および交絡因子は存在しなかった。モデルの適合度を示す Hosmer-Lemeshow statistics は 3.0 (p 値 =0.88; 自由度=7)であり, 適合度のよいモデルが得られたことから, 上記 4 つが, 2005 年日本で発生した H5N2 亜型による AI の発生において, 商用採卵養鶏場へのウイルス侵入のリスク因子と示唆された。

#### 第 4 節 考察

本研究の目的は 2005 年日本で発生した H5N2 亜型による AI の発生において, 商用採卵養鶏場へのウイルス侵入のリスク因子を特定することであった。AIV 感染鳥の糞中に多量のウイルスが排泄されることから, 感染個体の導入のほか, ウイルスが含まれる糞に汚染された飼料, 水, 機具, ケージなどを介して, あるいは糞で汚染された靴や洋服を介してウイルスが伝播することが知られている(17, 24)。これまでの発生例における疫学関連施設や農場関係者の移動に関する追跡調査等から関連があるとされてきたウイルス伝播要因には, 感染鳥の流通・移動, 複数品種の同時飼養, 野鳥と接触する機会のあるような屋外飼養(11), 生鳥マーケットの日々の消毒の未実施(7), 死体回収車(39), 鶏糞の処理工程における機具の共有や使い捨て用卵出荷トレーの再利用(66), などがある。また, 2003 年オラン

ダで発生した H7N7 亜型による AI の発生では、採卵養鶏場がリスク factor として報告されているが、採卵養鶏場の生産・流通過程の中のどのような要因が関与していたかは調べられていない(61)。そこで、われわれはこのような他国における AI の発生リスク要因とわが国の家きん産業の生産・流通過程を踏まえた上で、採卵鶏農場におけるウイルス侵入との関連性を調べるために、29 要因について調査した。

対象農場は発生農場 37 戸、非発生農場 36 戸でその比は約 1:1 であった。症例対照研究における対照群（非発生農場）の選択に起因して生じるバイアスを回避するためには、農場の規模や鶏舎タイプ等でペアマッチングを行った上で調査対象農場とする方法や、ペアマッチングができない場合には対照群（非発生農場）を無作為抽出で選定するなどの方法がとられるのが本来理想的である。また、一発生例に対する対照例の数が多いと仮説検証の検出力が高まり、その比は 1:1~4 程度がよいことが知られている(19)。これらのことから、より多くの非発生農場を調査することが期待された。しかしながら、発生農場 37 戸と同じ母集団に属する非発生農場は全数で 36 戸であり、ペアマッチングや無作為抽出による調査対象農場の選定をする状況にはなかったため、対象エリア内の全非発生農場を対照農場とした。対照群の例数が少ないことにより生じる可能性のある各種バイアスを低減させるために、以下の点に留意して調査が行われた。

電話やアンケート用紙の郵送による調査方法では関心のある人からのみの偏ったデータが収集されるという積極協力バイアスが含まれる可能性があるが、これを回避するため、訪問による直接面接による聞き取り方式を行い、全対象農場から回答を得た。また、質問者によるバイアス（発生農場と非発生農場で質問する側の熱意が異なったり、質問者により誘導的な質問口調になる等の個人差に起因するバイアス）を減らすために、共通

の質問票を用いた質問方法をとった。これらのことから、全二者のバイアスの影響は少ないと考えられた。一方、発生農場群では発生に先立つ過去の暴露状況に関する質問に対して、より真剣に思い出そうとする思い出しバイアスや、発生前に防疫措置をよく実施していた等意識的あるいは無意識に優等生的な回答をするために起こる申告バイアス等の情報バイアスが含まれている可能性は残されている(67, 69)ことを考慮して、以下の結果を解釈する必要がある。

一般的に感染鶏の導入が最もリスクの高いウイルス持込み要因と考えられているが、疫学調査の結果、感染していた大すうを育成場から導入したことによる発生は1農場だけであった。その一方、鶏卵生産性の低下した老鶏が、通常であれば廃鶏処理場へ出荷されるところを別の農場へ移動されて、鶏卵生産を続けている例があることが、疫学調査から確認された。これらの老鶏は生産性の追求のために、安価で取引されて既存ロットの空きスペースに補充されたり、老鶏のみを飼養して加工用鶏卵を生産する農場で飼養されている例があることが確認された。そこで生産の終了期にある成鶏を導入しているかどうか調査したところ、成鶏の導入はウイルス侵入のリスク因子の一つとして示唆された。当時導入された成鶏がその時点で感染していたかどうかは不明であるが、導入した成鶏が感染していたためか、成鶏の移動に伴う人、車両、ケージ等の物の動きに伴い、周辺に存在していたウイルスが農場へ導入されたことによる発生と関連のいずれかが考えられた。

韓国で2003～04年に発生したH5N1亜型のAIの発生において、鶏糞の処理過程における機具の共有がウイルス持込みの原因になっていたことが報告されているが(66)、今回の調査においても農場間の機具の共有が有意なリスク要因として示唆された。共有されていた機具の主なものは、ロ

ーダー、フォークリフト、ローリー等の糞処理に使用する大型の動力機器や動力噴霧器等の消毒用機材であり、貸し借りは知り合いの小規模農場間や、同じ経営に属する農場間で行われていた。特に糞処理に用いられる重機類は作業後に糞を除去するために洗浄はされるものの、消毒液による腐食を懸念して消毒が実施されていないことが多かった。

農場内に入場する人への不完全な防疫措置がリスク要因の一つとして示唆された。入場者の主なものは、デブークやワクチン投与等を行うために契約農場を訪問する作業員や、廃鶏の出荷時に鶏をコンテナに詰め込む作業員、公的あるいは民間の獣医師や農場コンサルタント、複数の農場を経営する農場所有者など、複数の契約農場を出入りする可能性のある者が含まれていた。農場従業員に対する防疫措置が日常的に徹底して行われている農場でも、農場内へ入る訪問者に対しては同等に実施できていない例があった。また、作業に入る契約業者に消毒等の衛生措置の実施も併せて依頼し、日常の農場出入り時の防疫措置の実施の実態を把握していない農場もあった。一方、鶏舎ごとに専用の長靴を用意したり、踏込み消毒槽を設けたり、鶏舎入場前に手指を洗って消毒する、入場前に着替えを行う等の基本的な病原体侵入防止措置が不完全であることは、サルモネラ症やカンピロバクター感染症等の他の家禽感染症の病原体の侵入に関してもリスク因子であることが報告されていることから(12, 21)、農場における病原体侵入防止措置の実施レベルが上がると、AIだけでなく、他の家禽感染症の発生も低減することが期待される。

発生農場からの距離については、1999-2000年イタリア北部の農場におけるH7N1発生例の解析において、農場が発生地から1500m以内に位置することがリスク因子の一つであったと報告されている(34)が、本研究の結果も同様な結果が得られた。しかし1500m以内を500mごとの同心円に

区切った区域ごとに得られたオッズ比は距離に応じた増減を呈さなかった。1983～84年にアメリカにおけるH5N2亜型によるAIの発生事例では、発生地点から46m風下でウイルス分離がされなかったことが報告されていることから(6)、ウイルスの拡散が距離に応じた発生リスクとして示されるのは、発生地からごく近い範囲内のことなのかもしれない。

また、汚染した車両のタイヤを介した伝播に関するリスク因子の候補として、「主要道（県道または国道）から鶏舎までの距離」と「車両入場時の消毒位置と鶏舎までの距離」についても調査したが、これらはいずれもウイルスの持込みとの間に有意な関係はみられなかった。ウイルスが鶏舎内へ持込まれて発生に至る過程には、自然環境要因や農場で行われる病原体侵入防止措置等、ウイルス拡散や生存性に関わる多くの要因が関与しているため、単純に汚染場所からの距離だけで発生との関連性を論じることは困難であることが考えられた。

解析の過程で「車両消毒」と「従業員の衛生措置」の二変数は、本来のリスク低減効果とは逆の発生促進効果が認められ、生物学的に妥当な説明が困難なために解析からはずされた。発生農場の多くは会社経営の系列農場に属し、同一系列農場の間で農機具を共有したり成鶏を移動することにより鶏卵の生産量調整を行っていた集約型の農場であった。これらの農場は自動の車両消毒装置による車両消毒や、従業員に対する衛生措置など基本的な衛生概念が行き届いた農場が多かったことから、本来期待されるリスク低減効果とは逆方向のみかけの効果として認められたものと考えられた。さらに、発生農場における衛生措置の実施を正当化する報告バイアスもあったかもしれないし、消毒や衛生措置の実施が有効性や実効性を伴う内容であったかどうかという問題も考えられた。

日本の家きん産業の主幹は養鶏であり，その中でも採卵鶏部門と肉用鶏部門は生産および流通過程が完全に分離している。また，商用養鶏場では一部の小規模農家や自然農法農場を除くと，屋根と壁による隔壁がある屋内飼育が主流であり，農場敷地内で他の品種の家きんや家畜と混合飼育されることはまれである。さらに今回の調査対象地域には，生きた鳥を売買する生鳥市場は存在していなかったことや，死体は各農場で処分され回収業者が収集することはなかったことが調べられていた。このように，他国の発生例でウイルス侵入源と報告されているようなシステムが存在しない状況下においても，生体，人，物の動きや発生地周辺の汚染等を介したウイルス侵入，拡大のリスク因子が示唆されたことから，AIVの侵入門戸は日常の飼養管理の中に依然として存在しており，それらの門戸に対する日々の侵入防止管理措置が重要であることが考えられた。

## 第5節 結語

2005年H5N2亜型によるAIの主な発生地であった茨城県の移動制限区域内の全商用採卵鶏農場（発生農場37戸，非発生農場36戸）を対象に症例対照研究を行い，ウイルス侵入のリスク因子を解析した。その結果，成鶏の補充（odds ratio(OR)=36.6），農場間での機具の共有（OR=29.4），場内入場者への不完全な衛生対策（OR=7.0），最近隣発生農場からの距離（OR=2.2～3.0）が農場間伝播のリスク因子であったことが示唆された。AIVの侵入門戸は日常の飼養管理の中に依然として存在しており，それらの門戸に対する日々の侵入防止管理措置が重要であることが考えられた。

表 2-1 The results of univariate analyses of categorical variables for the introduction of AIV into commercial layer finishing chicken farms during the H5N2 outbreaks in Japan in 2005

| Variables  | Response option | Number of farms |         |
|--|-----------------|-----------------|---------|
|  |                 | case            | control |
| <b>Farm management &amp; biosecurity practices</b>                     |                 |                 |         |
| Introduction of end-of-lay chickens <sup>abc</sup>                     | Yes             | 8               | 1       |
|  | No              | 28              | 36      |
| Sharing of manure plant <sup>a</sup>                                   | Yes             | 14              | 2       |
|  | No              | 22              | 35      |
| Reuse of egg crates in an unhygiene manner <sup>ab</sup>               | Yes             | 14              | 26      |
|  | No              | 22              | 11      |
| Egg collection service circulating other farms <sup>ab</sup>           | Yes             | 20              | 11      |
|  | No              | 16              | 26      |
| Eggs sold on farm property <sup>a</sup>                                | Yes             | 10              | 23      |
|  | No              | 26              | 14      |
| Farm visitors enter the farm property <sup>a</sup>                     | Yes             | 36              | 27      |
|  | No              | 0               | 10      |
| Contractors for spent hen pick-up <sup>ab</sup>                        | Yes             | 35              | 26      |
|  | No              | 1               | 12      |
| Hygiene manners of farm workers (shoes, clothes, hands) <sup>a</sup>   | Complete        | 8               | 3       |
|  | Incomplete      | 28              | 34      |
| Hygiene manners of farm visitors (shoes, clothes, hands) <sup>ab</sup> | Complete        | 6               | 20      |
|  | Incomplete      | 30              | 17      |
| Sharing of farm equipment <sup>ab</sup>                                | Yes             | 19              | 2       |
|  | No              | 17              | 35      |
| Frequency of disinfection of farm area per month                       | >4 times        | 3               | 7       |
|  | 1-3 times       | 11              | 7       |
|  | <1              | 22              | 23      |
| Disinfection of vehicles <sup>a</sup>                                  | Always          | 16              | 9       |
|  | No/not always   | 20              | 28      |
| Stock point for drugs/feed or delivery route shared by other farms     | Yes             | 4               | 4       |
|  | No              | 32              | 33      |

(continued)

|  |                 |    |    |
|--|-----------------|----|----|
| <b>Wild birds and animals</b>  |                 |    |    |
| Bird-proof   | Yes             | 26 | 27 |
|  | Incomplete/none | 10 | 10 |
| Wild birds enter into sheds  | Often/sometimes | 27 | 27 |
|  | Seldom/never    | 9  | 10 |
| Dogs enter into sheds  | Often/sometimes | 10 | 12 |
|  | Seldom/never    | 26 | 25 |
| Cats enter into sheds  | Often/sometimes | 19 | 17 |
|  | Seldom/never    | 17 | 20 |
| Weasels enter into sheds   | Often/sometimes | 9  | 4  |
|  | Seldom/never    | 27 | 33 |
| <b>Local spread</b>  |                 |    |    |
| Direct distance to nearest case farm (m) <sup>ab</sup>                               | 0-500           | 11 | 3  |
|  | 500-1000        | 5  | 7  |
|  | 1000-1500       | 11 | 3  |
|  | > 1500          | 9  | 24 |
| Direct distance between shed and vehicle disinfection point (m)                      | < 50            | 31 | 33 |
|  | 50 <            | 5  | 4  |
| <b>Farm security</b>   |                 |    |    |
| Farm gate locked   | Yes             | 7  | 3  |
|  | No              | 29 | 34 |
| Wall/fence around property   | All             | 6  | 4  |
|  | >=50%           | 2  | 9  |
|  | <50%            | 9  | 10 |
|  | None            | 19 | 14 |
| Farm owner/workers live in farm  | Yes             | 23 | 24 |
|  | No              | 13 | 13 |
| Companion animals kept in farm   | Yes             | 14 | 19 |
|  | No              | 22 | 18 |
| a P-value<0.1  |                 |    |    |
| b Variables included in initial multivariate logistic regression model               |                 |    |    |
| c Introducing of laying hens from other farm and mixing them into the existing flock |                 |    |    |



表 2-2 The results of univariate analyses of continuous/ordinal variables for the introduction of AIV into commercial layer finishing chicken farms during the H5N2 outbreaks in Japan in 2005

| Continuous variables                                 | Definition | n  | p10      | p50      | p90       | Mean      | SE       | P-value |
|--|------------|----|----------|----------|-----------|-----------|----------|---------|
| Number of chickens on the farm <sup>a</sup>          | case       | 36 | 17,122.3 | 64,633.5 | 474,891.2 | 159,998.0 | 43,142.0 | <0.0001 |
|  | control    | 37 | 258.0    | 9,000.0  | 80,200.0  | 32,289.0  | 10,069.4 |         |
| Number of farm workers                               | case       | 36 | 3.0      | 5.5      | 185.0     | 8.4       | 1.14     | <0.0001 |
|  | control    | 37 | 1.0      | 3.0      | 9.2       | 3.9       | 0.61     |         |
| Degree of automation in farm management <sup>b</sup> | case       | 36 | 1.7      | 4.0      | 10.0      | 4.9       | 0.49     | 0.0005  |
|  | control    | 37 | 0.0      | 3.0      | 9.2       | 2.9       | 0.47     |         |
| Number of vehicles for egg shipment per week         | case       | 30 | 4.2      | 7.0      | 21.0      | 10.9      | 1.45     | 0.0011  |
|  | control    | 32 | 0.0      | 7.0      | 16.7      | 6.3       | 0.98     |         |
| Direct distance to the main road <sup>c</sup>        | case       | 36 | 35.0     | 285.0    | 730.0     | 319.4     | 42.55    | 0.17    |
|  | control    | 37 | 8.0      | 200.0    | 640.0     | 266.8     | 45.31    |         |

a Variables included in initial multivariate logistic regression model

b Sum of the points (0-10) of four categories below

Shed type: open=0, semi windowless=2, windowless=3

Feeding type: bucket=0, wheeler=1, automatic=2

Water supply: bucket or gutter=0, nipple=2

Egg collection: manual=0, belt=2, in-line=3

c Direct distance to the nearest national or prefectural road

表 2-3 Final multivariate logistic regression model for the introduction of AIV into commercial layer finishing chicken farms during the H5N2 outbreaks in Japan in 2005

| Variables  | Response option | $\beta$ | S.E.( $\beta$ ) | OR <sup>a</sup> (95% CI <sup>b</sup> ) |
|--|-----------------|---------|-----------------|--|
| Introduction of end-of-lay chickens                      | Yes             | 3.6     | 1.4             | 36.6 (2.4–558.6)                       |
|  | No              | 1.0     |                 |  |
| Sharing of farm equipment                                | Yes             | 3.4     | 1.0             | 29.4 (4.2–207.5)                       |
|  | No              | 1.0     |                 |  |
| Hygiene manners of farm visitors (shoes, clothes, hands) | Incomplete      | 2.0     | 0.9             | 7.0 (1.2–42.6)                         |
|  | Complete        | 1.0     |                 |  |
| Direct distance to nearest case farm (m)                 | (1) 0–500       | 2.2     | 1.0             | 8.6 (1.2–61.8)                         |
|  | (2) 500–1000    | -0.2    | 1.2             | 0.8 (0.08–9.3)                         |
|  | (3) 1000–1500   | 3.0     | 1.0             | 20.1 (3.0–142.9)                       |
|  | (4) >1500       | 1.0     |                 |  |

a: Odds ratio, b: Confidence interval

Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test Chi square =3.0 (degrees of freedom =7), P-value=0.88.

## 第 3 章

# 2005 年に日本で発生した H5N2 亜型鳥インフルエンザの空間解析

### 第 1 節 緒言

2005 年 6 月 26 日に茨城県内で軽度の産卵率低下を呈した採卵鶏群から H5N2 亜型の AIV が分離された。その後 26 週間にわたり 9 戸のウイルス分離陽性農場と 32 戸の抗体陽性農場が確認された。分離されたウイルスは鶏静脈内接種試験指数が 0.0 の弱毒型であり(49, 50), ほとんどの鶏群で感染しても症状を呈することがなかったため, 発生確認後の緊急調査ですでに複数の農場へ伝播していることが判明し, 各農場へのウイルス侵入時期は特定できない状態であった。発生前から定期的に行われていた AI の全国モニタリングプログラムにおいて, 同亜型の存在は確認されていないことと, 株の遺伝学的性状から, ウイルス株は国外から新たに侵入したものと考えられている(31)。

発生農場は 41 戸に上ったが, このうち 40 戸は茨城県内の採卵鶏農場であり, 残りの 1 戸は感染鶏を移動した先の隣県での発生であった。

疾病の発生様相を地図上に表現したものを疾病発生地図というが, 空間, 時間などを視点として疾病発生地図上に現れる空間的規則性などの関係を統計解析する空間的アプローチは空間疫学と呼ばれる(61, 65)。空間疫学に用いられる空間データ解析は, マッピングによるデータの視覚化, 仮説を絞り込む探索的なデータ解析, モデリングによる仮説検証からなる(51)。このうち, マッピングによるデータの視覚化は地理情報システムの普及に

より近年飛躍的に容易に行われるようになった。地理情報システムは空間における位置情報（緯度，経度，標高）と，その位置がもつ属性データ（疾病の有無，飼養羽数，用途，飼養形態等）の情報を一元的に管理することができ，地理学・環境情報学・都市土木工学・生態学，災害時の緊急対応等，広い分野で応用されてきている。わが国の家畜衛生分野へも，地理情報システムの普及により，疾病発生地図の作成をはじめとするマッピング機能の利用が進んできているところである。しかしながら，空間データ解析に関しては，疾病発生の空間解析例が少数報告されているものの(26, 43)，個々の農場の位置情報を用いた解析例はない。

探索的な空間データ解析のうち，疾病の空間的集積性を調べることは，その背景にある発生のリスク要因を探求するのに有効な手段になると考えられる。空間的集積性のある場所は空間クラスター *spatial cluster* と呼ばれ，その背景には，疾病発生のリスクを左右する社会的・環境的要因，媒介昆虫の分布などの生物的要因等が関係していることがある。疾病の集積性のみから特定のリスク要因を類推することは難しいが，集積性の確認により，問題となる要因を絞り込むことができる。

そこでわれわれは，AI 多発地域における発生のリスク因子を明らかにするために，個々の農場の位置を点データとして扱い，2005年の茨城県における AI の発生クラスターを検出し，多発地域にある養鶏場の特徴を分析した。

## 第2節 材料および方法

### 2-1 対象農場

研究対象地域は40戸の発生が確認された茨城県の全域とした。発生農

場の定義は県が発表した情報に基づき、ウイルス分離陽性農場または HI 試験により抗 H5 抗体が確認された農場を発生農場とした。また、農場の敷地が近接地の数カ所に分断されている農場については、共通の所有者に属し、かつ、同様の飼養管理下におかれている農場を一つの農場単位として扱った。よって、対象地域には発生農場 37 戸、非発生農場 222 戸の計 259 戸が含まれた。

## 2-2 データ収集

農場の位置情報及び飼養状況等の農場プロフィールは県が所有する農場データベースを用い、農場の位置を示す点データは、住所を緯度経度に変換するアドレスマッチング（住所照合）により地図上にプロットした（GIS on demand, ESRI ジャパン, 東京）。住所による位置の決定が困難な地域については、詳細地図による確認作業の後、手入力を行った。作成された個票と点データは地理情報システムに入力、管理した（ArcGIS version 9.2, ESRI, Redlands, CA, U.S.A.）。

## 2-3 統計学的解析

空間的集積性を検出する方法であるクラスター検出には、空間スキャン統計量(29, 30)が用いられる。空間スキャン統計は地理的に有意な集積性の有無の判定と同時に、集積位置の特定も行うことができる統計手法である。医学界では疾病の発生に関与しているリスク因子を探求するために、疾病発生の集積範囲を特定し、予防啓発の優先度の検討などの意志決定に利用されている(5, 20, 22)。クラスター検出の具体的な方法には、調査対象領域を移動する可変半径の円を検索範囲として対象領域全体を総当たり的にスキャンする移動窓 moving window を用い、その中から有意な空間

クラスターを検出する。空間スキャン統計量では、ある円領域  $z$  について、円領域内部の疾病発生率  $r(z)$  と円領域外部の疾病発生率  $r(z^c)$  を比較する(図 3-2)。各検索円で帰無仮説：“AI は空間に対してランダムに発生している”すなわち、“ $r(z)$  と  $r(z^c)$  が等しい”ことの尤もらしさは、尤度比統計量によって計ることができる。ここで、対象地域で可能な円領域  $z$  すべての中で、最大となる尤度比をもって検定統計量  $M$  を定義する。この統計量  $M$  が従う分布は解析的に得られないので、モンテカルロ・シミュレーションを利用し、得られた  $P$  値が 0.05 未満であるものを有意なクラスターとした(16)

有意な発生クラスターが検出された後は、次のステップとして AI が多発していたエリアにある農場の特徴を解析するため、飼養規模、用途、育成ステージ等についてクラスター内と外の 2 群に分け、連続変数には Wilcoxon 検定を、カテゴリ変数には Pearson のカイ二乗検定を行った。

発生クラスターの検出には SaTScan version 7.0.1 (28)を用い、得られた有意なクラスターは ArcGIS version 9.2(ESRI, Redlands, CA, U.S.A.)を用いて地図上に表現した。クラスター内外の農場の特徴を比較する際の記述統計解析には JMP 7 (SAS Institute Inc. Cary, NC, U.S.A.)を用いた。

### 第 3 節 結果

有意な AI 発生クラスターは県の中央部に半径 5.12km の円として検出された(図 3-1)。この中には発生農場の 65% (24 戸)が含まれており、クラスター外の AI 発生率 ( $13/230=5.65\%$ ) に対するクラスター内での発生率 ( $24/29=82.76\%$ ) の比として計算される相対リスクは 14.6 であった

( $p=0.001$ ) (表 3-1)。

クラスター内はクラスター外に比べて養鶏場の戸数密度が約 9 倍 (0.35/0.04) 高く、また鶏の飼養羽数密度は約 32 倍 (40,798/1,287) 高かった (表 3-2)。また、県内での飼養家さんのほとんどは鶏であり、戸数比で 7 割が採卵用、3 割が肉用であったのに対して、発生クラスター内には採卵用の養鶏場だけが存在し(表 3-3)、採卵鶏の育成ステージ別では、成鶏を有する農場が有意に多かった ( $p=0.0027$ ) (表 3-3)。さらに、農場一戸あたりが飼養する採卵用成鶏の羽数は、クラスター内では平均約 10 万羽であり、クラスター外のそれ (平均約 2.5 万羽) に比べて有意に多かった ( $P<0.0001$ ) (表 3-4)。

#### 第 4 節 考察

1999-2003 年のイタリアでの AI 発生例などに示されるように、AI が高密度飼養地帯で大発生に至ることがあることは経験的に知られている(8, 10, 11)。空間統計を用いた本研究の解析結果においても、農場の戸数密度、鶏の飼養羽数密度がともに高いエリアで多発していたことが明らかとなり、高密度飼養地帯が AI 多発のリスク因子である可能性が示唆された。

飼養羽数が多い農場では、ひとたび AI 感染が起こると多量のウイルスが発生し、小規模農場に比べて、よりウイルスの汚染源となることが考えられた。さらに、採卵養鶏場では日々の集卵・出荷作業のために、作業員の出入り、集卵用に鶏舎内へ持ち込まれるトレー、また、卵出荷のたびに農場とパッキングセンターを行き来する卵ラックやコンテナ等とそれらを輸送する車両の出入りを考慮すると、肉用やその他の形態の養鶏農場に比べて、卵を出荷している採卵用成鶏農場はウイルスの侵入機会が多いと考

えられ、このことが AI の多発と関連していることが考えられた。2003 年にオランダで発生した AI においても、症例対照研究の結果、採卵用成鶏の飼養は発生のリスク要因であったと報告されている(61)。

一方、検出されたクラスター内には会社経営体に属する系列農場が混在していた。AI の拡大には感染鳥の導入や、ウイルスに汚染された物（集卵トレー、移動用ケージ、機具）や人がウイルスを拡大する重要な要素と考えられているが(1, 41, 53)、系列農場間では普段から生体の移動や機具の共有などに付随して、作業員や車両等の行き来が比較的頻繁に行われており、移動の際に消毒等の衛生措置をとらない系列農場もあったことが、疫学調査から確認されている。このような系列のいずれかの農場に AIV が侵入すると、系列農場間でウイルスの拡散が容易に起こる状態であったと考えられる。AI クラスター内に存在していた会社経営体の複数社で感染農場が確認された。しかしながらその一方で、他の農場とは人・物・車両等の行き来がない、物流において自己完結型の農場でも発生した農場はあり、農場間の人・物・車両等の移動だけでは説明できない伝播も含まれていた。発生農場のうち、先に感染していた農場の至近距離にあった農場は人・物・車両の移動等による発生農場とのkontakがなくとも、近隣で発生したウイルスによる近隣伝播、すなわち、種々の特定できない要因による近距離へのウイルス伝播による発生であった可能性が否定できない。これらの不特定な要因の中には、野生の小動物や小型の野鳥を介した伝播や、養鶏関連車両以外の一般車両によるウイルスの移動等が含まれる。Sharkey らはこれまで AIV が 1km を超えて近隣へ伝播した証拠は得られていないと報告している(54)一方、2004 年の日本の HPAI 発生例では京都府の発生農場から約 4km 先の疫学関連のない農場へ伝播した例(42)もあり、近距離に



における HPAI の不特定な伝播が起こりうることを示されている。今回検出された発生クラスター内の 29 戸の養鶏場間の平均距離は約 750m であり、戸数密度の高い地帯では至近距離に農場が林立していたことから、直接他の発生農場との間に関連を持たない農場であっても、周辺に存在していたウイルスを何らかの形で農場内に持ち込んでしまった可能性も考えられた。このことから、発生地周辺で迅速に移動制限を開始し、生体、人、物等の出入りを停止させることは、直接ウイルスに汚染された物資を移動先へ持ち込むことを未然に防ぐだけでなく、発生農場から近距離にある周辺農場へのウイルス拡大防止に有効な防疫措置であり、特に戸数密度の高い地帯では移動制限の実施が一層重要であると考えられた。

さらに、鶏の高飼養密度地帯においては、万一のウイルス侵入時に拡大しやすく多発が懸念されるため、AIV 侵入を迅速に監視できる体制を優先的に強化しておく必要があると考えられた。

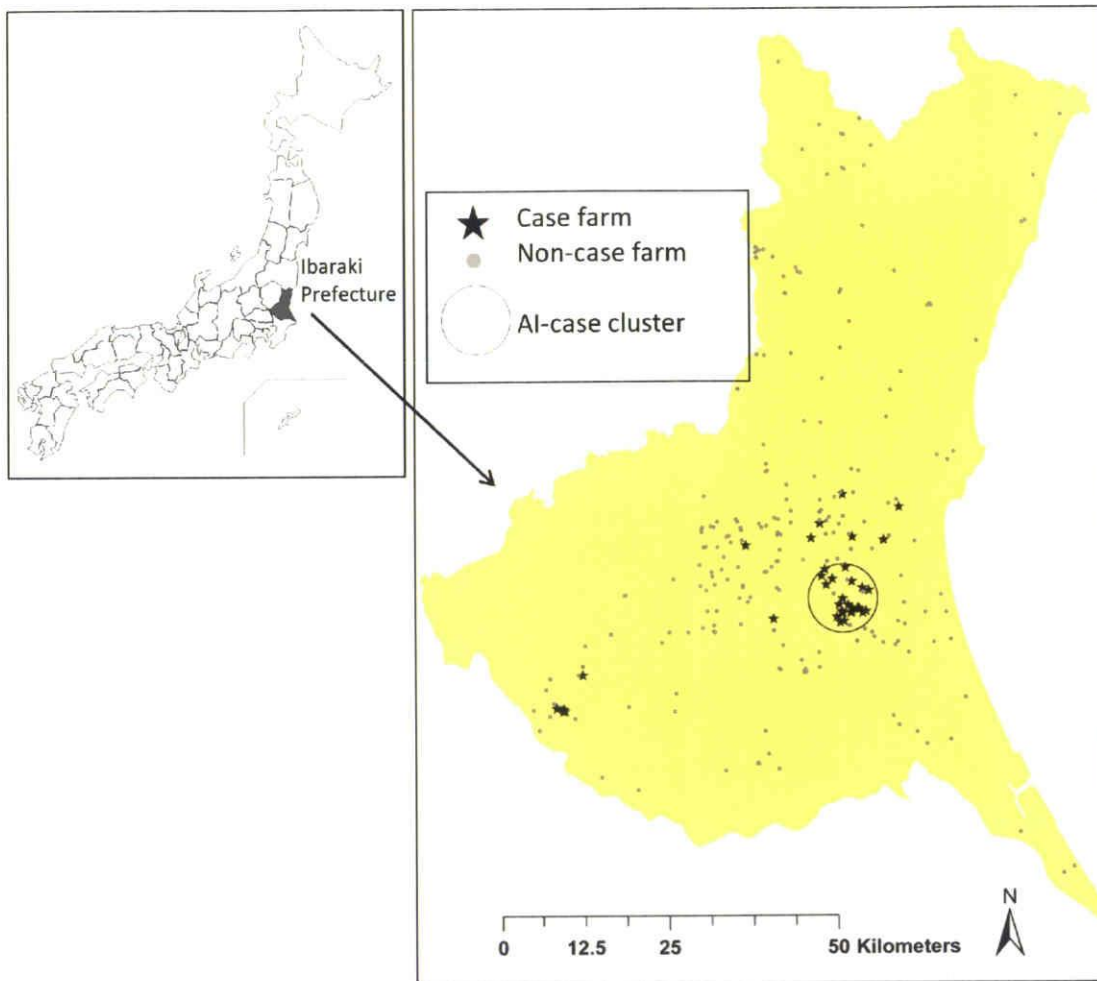
## 第 5 節 結語

AI 多発地域における発生のリスク因子を明らかにするために、2005 年の茨城県における AI の発生クラスターを検出し、多発地域にある養鶏場の特徴を分析した。

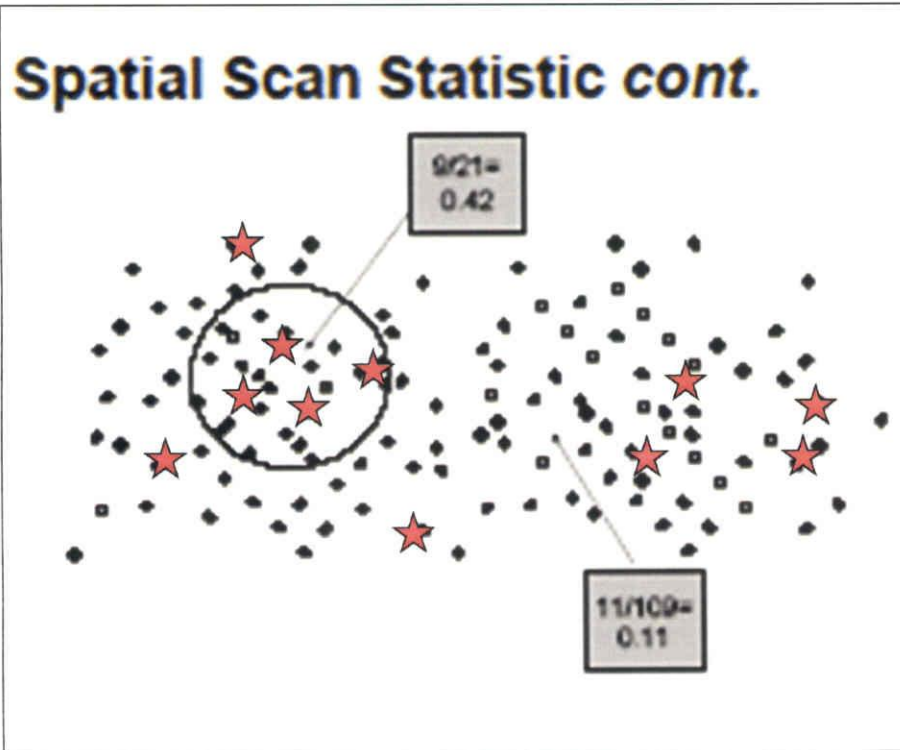
有意な AI 発生クラスターは県の中央部に半径 5.12km の円として検出された。発生クラスター内は、養鶏場の戸数密度と羽数密度がともに高かったこと、産卵中の採卵鶏（成鶏）を飼養する農場の割合が高かったこと、1 戸あたりの飼養羽数が多かったこと等、大規模な採卵養鶏場が密集していたという特徴が確認された。

養鶏密集地帯は、これまでの AI の発生事例からも経験的にリスク要因

と認識されているものではあったが、空間スキャン法は動物疾病の好発地帯を特定するのに有効な手法であることが確認された。疾病発生地図を用いた地理的集積性の確認は獣疫学において有用である。



☒ 3-1 Locations of case / non-case chicken farms in Ibaraki Prefecture, and the identified AI-case cluster in H5N2 outbreaks in Japan in 2005



Proportion of ★ inside the circle  
 Proportion of ★ outside the circle

☒ 3-2 The principles of spatial scan

表 3-1 Identified cluster of AI-case farms in H5N2 outbreaks in Japan in 2005

| Cluster radius<br>(km) | Number of AI case farms |          | Relative risk | P value |
|------------------------|-------------------------|----------|---------------|---------|
|                        | Observed                | Expected |               |         |
| 5.12                   | 24                      | 4.14     | 14.64         | 0.001   |

表 3-2 Densities of chicken farms and chicken populations raised inside / outside of the AI-case cluster of H5N2 in Japan in 2005

| Categories          | Number of farms | Density                                |   |
|---------------------|-----------------|--|---|
|                     |                 | Chicken farms (farms/km <sup>2</sup> ) | Chicken population (heads/km <sup>2</sup> ) |
| Inside the cluster  | 29              | 0.35                                   | 40,798                                      |
| Outside the cluster | 230             | 0.04                                   | 1,287                                       |

表 3-3 Comparison of farm characteristics between farms located inside and outside the AI-case cluster of H5N2 in Japan in 2005 (categorical variables)

| Variables                  | Categories | Number of farms |         | Chi square <sup>a)</sup> | P value |
|----------------------------|------------|-----------------|---------|--------------------------|---------|
|                            |            | Inside          | Outside |                          |         |
| Chicken use                | Layers     | 29              | 149     | NT <sup>b)</sup>         | NT      |
|                            | Broilers   | 0               | 72      |                          |         |
|                            | Breeding   | 0               | 4       |                          |         |
|                            | Research   | 0               | 5       |                          |         |
| Existence of laying hens   | Yes        | 24              | 123     | 9.00                     | 0.0027  |
|                            | No         | 5               | 107     |                          |         |
| Existence of laying chicks | Yes        | 8               | 50      | 0.51                     | 0.48    |
|                            | No         | 21              | 180     |                          |         |

a) Pearson's chi square.

b) Not tested.

**表 3-4 Comparison of number of laying hens per farm between farms located inside and outside the AI-case cluster of H5N2 in Japan in 2005 (continuous variable)**

| Variables                      | Definition | n   | p10 | p50    | p90     | Mean   | SE      | P value  |
|--------------------------------|------------|-----|-----|--------|---------|--------|---------|----------|
| Number of laying hens per farm | Inside     | 29  | 0   | 35,000 | 300,000 | 99,495 | 171,719 | < 0.0001 |
|                                | Outside    | 230 | 0   | 90     | 44,990  | 24,624 | 97,945  |          |



## 結 論

第一章では、2004年1～3月に発生したHPAIの発生状況を記述疫学的手法で分析した。この発生は強毒型のH5N1亜型ウイルスによるものであり、山口県、大分県、京都府の3府県4養鶏施設で発生が確認された。ウイルス侵入初期から発生が確認されるまでの間の鶏舎内および鶏舎間伝播の様相、感染鶏の症状、発生農場間の鶏・人・物の移動等の疫学情報を分析した。その結果、本ウイルスは鶏に対する病原性が非常に高く、感染鶏は短時間で死亡したため、感染農場において容易に異常が確認されたこと、また短期間に群内の鶏に高率に伝播し、鶏舎間の伝播も容易であったことが特徴として挙げられた。発生が3県の4飼養施設に限局され、発生から3ヶ月未満で撲滅することに成功したことは、発生農場における家きんの処分や発生地周辺の移動制限が迅速に行われたこと、感染鶏の移動先を追跡し、まん延防止措置が適切にとられたこと等の封じ込め措置により、新たな拡大が未然に防がれたためと考察された。

第二章では、HPAIの発生地域において発生のリスク要因の調査・分析を行った。本研究では、HPAIの発生のリスク要因を定量的に評価することを目的とし、2005年茨城県におけるH5N2亜型の弱毒型ウイルスによるHPAI発生地域において、分析疫学的手法の一つである症例対照研究を実施した。発生地から半径5km以内に設定された茨城県内の移動制限区域にあったすべての商用採卵養鶏農場を対象に、鶏・人・物の移動状況、農場で行っていた衛生措置、野鳥や野生動物の侵入状況等、発生との関連が疑われる29項目について、質問票を用いて対面方式の聞き取り調査を行い、得られた発生農場37戸と非発生農場36戸のデータを用いて統計学的

解析を行った。その結果、成鶏の導入、農場間での機具の共有、農場内入場者への不完全な衛生対策、発生農場から近距離にあることが本病発生のリスク要因であったことが示された。

第三章では HPAI の発生が多い地域の特徴を明らかにすることを目的として、2005 年茨城県における H5N2 亜型の弱毒型ウイルスによる HPAI 発生地域の地理的解析を実施した。近年開発された地理的解析手法である空間スキャン統計を用いて、茨城県内の鶏飼養農家の位置情報から 2005 年 H5N2 亜型の弱毒性ウイルスによる HPAI の発生が集積している地域を検出し、確認された発生集中地域とその周囲において、飼養状況に関する項目を統計学的に比較することにより HPAI 発生集積地域の特徴を分析した。その結果、発生が集中していた地域は茨城県のほぼ中央部に半径 5.2km の円として検出され、この地域内では大規模な採卵養鶏場が密集しており、養鶏場の戸数密度と羽数密度がともに高く、農場 1 戸あたりの飼養羽数が多いこと、産卵中の成鶏を飼養する農場の割合が高い等の特徴が明らかとなった。

これらのことから、わが国で発生した HPAI の発生実態を明らかにすることができたとともに、わが国の養鶏産業におけるいくつかの HPAI の発生リスク要因を特定することができた。

強毒型ウイルスの発生事例からは、数少ない貴重な発生例をもとに強毒型ウイルスが侵入した場合の甚急な農場内伝播や近隣伝播の様相を確認することができ、また、弱毒型ウイルスの発生事例からは、複数戸の発生例を用いて発生要因の統計学的な解析を行うことができた。ウイルス株の病原性の違いにより宿主生体におけるウイルス増殖性、排泄の程度と期間、

免疫応答等が異なってくることが予想されるため、今回用いた発生事例がそのまま将来の発生対応に応用できない部分もあろうが、侵入防止に関わる留意点に関しては亜型や病原性によらない AIV に共通のものもあり、十分応用できるものと期待される。

わが国では HPAI は海外悪性伝染病の一つに指定されており、発生の際には莫大な経済損失を伴うことが予想される。通常時からの侵入防止対策として、本研究から HPAI の伝播・拡大防止効果が示唆されたオールインオールアウトの実施、農場間での機具の共有の禁止、農場内入場者への十分な衛生対策の実施等は農場側における必須の衛生対策であり、また、本病侵入の監視体制として、高飼養密度地域に重点を置いたモニタリング体制の構築も重要であると考えられた。また、発生地周辺で移動制限を行うことにより周辺農場の家きん、人、物等の出入りを停止することは、これらのものが直接移動する先への伝播を防ぐだけでなく、移動に際したウイルスの周辺への拡大防止に有効な防疫措置であると考えられた。

本研究で得られた成績は HPAI 発生に対する今後の危機管理や防疫措置を策定する上で貴重な知見を提供するものであると考える。

## 謝 辞

本論文を終えるにあたり、ご校閲とご指導を賜りました独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所人獣感染症研究チーム上席研究員の西藤岳彦博士，岐阜大学応用生物科学部獣医学講座食品・環境衛生学教授の石黒直隆博士並びに同獣医微生物学教授の福士秀人博士，帯広畜産大学臨床獣医学研究部門予防獣医療学分野教授の猪熊壽博士，岩手大学獣医学課程教授の重茂克彦博士，東京農工大学農学部獣医学科獣医微生物学教授の本多英一博士に深甚の謝意を表します。

また，本研究を遂行するにあたり，常に親切なご指導とご助言を賜りました独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所疫学研究チーム上席研究員の筒井俊之博士をはじめとする先輩及び同僚諸氏に謹んで感謝の意を表します。

最後に疫学調査に協力していただいた養鶏場関係者諸氏，並びに疫学情報を共有させていただいた農林水産省および茨城県に深謝いたします。

## 文 献

1. Alexander, D. J. (1988). Method of spread. *In* : Alexander, D. J. [ed], Newcastle Disease (Developments in veterinary virology)., pp. 256-272. Kluwer Academic Publishers, London, UK.
2. Anonymous. (1951). 家畜伝染病予防法. 法律第 166 号. 1951 年 5 月 31 日, 2004 年 6 月 20 日改正.
3. Anonymous. (2004). 高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. 農林水産大臣公示. 最終変更 2008 年 2 月 21 日.
4. Anonymous. (2003). 高病原性鳥インフルエンザ防疫マニュアル. 15 消安局第 1736 号衛生管理課長通知.
5. Bellec, S., Hemon, D., Rudant, J., Goubin, A. and Clavel, J. (2006). Spatial and space-time clustering of childhood acute leukaemia in France from 1990 to 2000: a nationwide study. *Br J Cancer* 94:763-70.
6. Brugh, M. C. and Johnson, D. C. (1987). Epidemiology of avian influenza in domestic poultry. *In* : Proceedings of the Second International symposium on Avian Influenza Proceedings of the Second International symposium on Avian Influenza., pp. 177-186. U.S. Animal Health Association, Richmond, USA.
7. Bulaga, L. L., Garber, L., Senne, D. A., Myers, T. J., Good, R., Wainwright, S., Trock, S. and Suarez, D. L. (2003). Epidemiologic and surveillance studies on avian influenza in live-bird markets in New York and New Jersey, 2001. *Avian Dis* 47:996-1001.
8. Busani, L., Pozza, M. D., Bonfanti, L., Toson, M., Ferre, N. and

- Marangon, S. (2007). Intervention strategies for low-pathogenic avian influenza control in Italy. *Avian Dis* 51:470-3.
9. Capua, I. and Marangon, S. (2000). The avian influenza epidemic in Italy, 1999-2000: a review. *Avian Pathol* 29:289-94.
  10. Capua, I. and Marangon, S. (2007). The challenge of controlling notifiable avian influenza by means of vaccination. *Avian Dis* 51:317-22.
  11. Capua, I., Marangon, S., Pozza, M. D., Terregino, C. and Cattoli, G. (2003). Avian influenza in Italy 1997-2001. *Avian Dis* 47:839-43.
  12. Cardinale, E., Tall, F., Gueye, E. F., Cisse, M. and Salvat, G. (2004). Risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* infection in senegalese broiler-chicken flocks. *Prev Vet Med* 63:151-61.
  13. Cox, N. J., Fuller, F., Kaverin, N., Klenk, H. D., Lamb, R. A., Mahy, B. W., McCauley, J. W., Nakamura, K., Palese, P. and Webster, R. G. (2000). Orthomixoviridae. *In* : Van Regenmortel, M. H., Fauquet, C. M., Bishop, D. H. L., Catstens, E. B., Estes, M. K., Lemon, S. M., Maniloff, J., Mayo, M. A., McJGeoch, D. J., Pringle, C. R. and Wickner R. B. [eds], *Virus taxonomy. Seventh report of the international committee on taxonomy of viruses.* , pp. 585-597. Academic Press, San Diego, USA.
  14. de Wit, J. J., Koch, G., Fabri, T. H. and Elbers, A. R. (2004). A cross-sectional serological survey of the Dutch commercial poultry population for the presence of low pathogenic avian influenza virus infections. *Avian Pathol* 33:565-70.
  15. Dohoo, I., Martin, W. and Stryhn, H. (2003). *In* : *Veterinary*

- epidemiologic research., pp. 23. AVC Inc, Prince Edward Island, Canada.
16. Dwass, M. (1957). Modified randomization tests for nonparametric hypotheses. *Ann Math Statist* 28:181-187.
  17. East, I., Kite, V., Daniels, P. and Garner, G. (2006). A cross-sectional survey of Australian chicken farms to identify risk factors associated with seropositivity to Newcastle-disease virus. *Prev Vet Med* 77:199-214.
  18. Food and agriculture organization of the united nations (FAO). Avian influenza. [Online] <http://www.fao.org/avianflu/en/index.html> (accessed on 16 Oct. 2009)
  19. 福富和夫. (2005). 疫学研究における信頼性と妥当性. *In* : 獣医疫学－基礎から応用まで－, pp. 25-33, 近代出版, 東京.
  20. Gaudart, J., Poudiougou, B., Dicko, A., Ranque, S., Toure, O., Sagara, I., Diallo, M., Diawara, S., Ouattara, A., Diakite, M. and Doumbo, O. K. (2006). Space-time clustering of childhood malaria at the household level: a dynamic cohort in a Mali village. *BMC Public Health* 6:286.
  21. Graat, E. A., van der Kooij, E., Frankena, K., Henken, A. M., Smeets, J. F. and Hekerman, M. T. (1998). Quantifying risk factors of coccidiosis in broilers using on-farm data based on a veterinary practice. *Prev Vet Med* 33:297-308.
  22. Green, C., Hoppa, R. D., Young, T. K. and Blanchard, J. F. (2003). Geographic analysis of diabetes prevalence in an urban area. *Soc Sci Med* 57:551-60.

23. Henzler, D. J., Kradel, D. C., Davison, S., Ziegler, A. F., Singletary, D., DeBok, P., Castro, A. E., Lu, H., Eckroade, R., Swayne, D., Lagoda, W., Schmucker, B. and Nesselrodt, A. (2003). Epidemiology, production losses, and control measures associated with an outbreak of avian influenza subtype H7N2 in Pennsylvania (1996-98). *Avian Dis* 47:1022-36.
24. Horimoto, T. and Kawaoka, Y. (2001). Pandemic threat posed by avian influenza A viruses. *Clin Microbiol Rev* 14:129-49.
25. Isoda, N., Sakoda, Y., Kishida, N., Bai, G. R., Matsuda, K., Umemura, T. and Kida, H. (2006). Pathogenicity of a highly pathogenic avian influenza virus, A/chicken/Yamaguchi/7/04 (H5N1) in different species of birds and mammals. *Arch Virol* 151:1267-79.
26. Kadohira, M., Stevenson, M. A., Kanayama, T. and Morris, R. S. (2008). Epidemiology of bovine spongiform encephalopathy in cattle in Hokkaido, Japan, between September 2001 and December 2006. *Vet Rec* 163:709-13.
27. Kishida, N., Sakoda, Y., Isoda, N., Matsuda, K., Eto, M., Sunaga, Y., Umemura, T. and Kida, H. (2005). Pathogenicity of H5 influenza viruses for ducks. *Arch Virol* 150:1383-92.
28. Kulldorf, M. (2006). SaTScan version 7.0: Software for the spatial, temporal, and space-time scan statistics, 2006. Information Management Service, Inc. [Online] <http://www.satscan.org/> (accessed on Oct. 24, 2009).
29. Kulldorf, M. (1997). A spatial scan statistic. *Commun in statist - Theory and methods* 26:1481-1496.



30. Kulldorff, M. and Nagarwalla, N. (1995). Spatial disease clusters: detection and inference. *Stat Med* 14:799-810.
31. 高病原性インフルエンザ感染経路究明チーム. (2006). 高病原性インフルエンザ感染経路究明チーム報告書, 2005年に発生した高病原性インフルエンザの感染経路について. [Online]  
[http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/tori/pdf/report\\_2005.pdf](http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/tori/pdf/report_2005.pdf)  
(accessed on Oct. 24, 2009).
32. 高病原性鳥インフルエンザ感染経路究明チーム. (2004). 高病原性鳥インフルエンザ感染経路究明チーム報告書 高病原性鳥インフルエンザの感染経路について. [Online]  
[http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/tori/pdf/040630\\_report.pdf](http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/tori/pdf/040630_report.pdf) [in Japanese]  
[http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/tori/pdf/040630e\\_report.pdf](http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/tori/pdf/040630e_report.pdf)  
(accessed on Oct. 24, 2009).
33. 国立感染症研究所. (2008). 京都府鳥インフルエンザ発生対応の防疫作業従事者における血清抗体検査結果について. [Online]  
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/tori/041222/1.html>  
(Accessed on 19 Oct. 2009).
34. Mannelli, A., Ferre, N. and Marangon, S. (2006). Analysis of the 1999-2000 highly pathogenic avian influenza (H7N1) epidemic in the main poultry-production area in northern Italy. *Prev Vet Med* 73:273-85.
35. Mase, M., Eto, M., Tanimura, N., Imai, K., Tsukamoto, K., Horimoto, T., Kawaoka, Y. and Yamaguchi, S. (2005). Isolation of a genotypically unique H5N1 influenza virus from duck meat

- imported into Japan from China. *Virology* 339:101-9.
36. Mase, M., Kim, J. H., Lee, Y. J., Tsukamoto, K., Imada, T., Imai, K. and Yamaguchi, S. (2005). Genetic comparison of H5N1 influenza A viruses isolated from chickens in Japan and Korea. *Microbiol Immunol* 49:871-4.
  37. Mase, M., Tsukamoto, K., Imada, T., Imai, K., Tanimura, N., Nakamura, K., Yamamoto, Y., Hitomi, T., Kira, T., Nakai, T. , Kiso, M., Horimoto, T., Kawaoka, Y. and Yamaguchi, S. (2005). Characterization of H5N1 influenza A viruses isolated during the 2003-2004 influenza outbreaks in Japan. *Virology* 332:167-76.
  38. Max, V., Herrera, J., Moreira, R. and Rojas, H. (2007). Avian influenza in Chile: a successful experience. *Avian Dis* 51:363-5.
  39. McQuiston, J. H., Garber, L. P., Porter-Spalding, B. A., Hahn, J. W., Pierson, F. W., Wainwright, S. H., Senne, D. A., Brignole, T. J., Akey, B. L. and Holt, T. J. (2005). Evaluation of risk factors for the spread of low pathogenicity H7N2 avian influenza virus among commercial poultry farms. *J Am Vet Med Assoc* 226:767-72.
  40. Naeem, K., Siddique, N., Ayaz, M. and Jalalee, M. A. (2007). Avian influenza in Pakistan: outbreaks of low- and high-pathogenicity avian influenza in Pakistan during 2003-2006. *Avian Dis* 51:189-93.
  41. Nishiguchi, A., Kobayashi, S., Yamamoto, T., Ouchi, Y. , Sugizaki, T. and Tsutsui, T. (2007). Risk factors for the introduction of avian influenza virus into commercial layer chicken farms during the outbreaks caused by a low-pathogenic H5N2 virus in Japan in 2005. *Zoonoses Public Health* 54:337-43.

42. Nishiguchi, A., Yamamoto, T., Tsutsui, T., Sugizaki, T., Mase, M., Tsukamoto, K., Ito, T. and Terakado, N. (2005). Control of an outbreak of highly pathogenic avian influenza, caused by the virus sub-type H5N1, in Japan in 2004. *Rev Sci Tech* 24:933-44.
43. Nonaka, T., Yamamoto, T., Hashimoto, S., Nishiguchi, A., Yamane, I., Kobayashi, S., Tsutsui, T. (2005). Geographical analysis of risk factors of bovine spongiform encephalopathy. *獣医疫学雑誌* 9:15-20.
44. 中村好一. (2002). 基礎から学ぶ楽しい疫学, 第1版, pp. 60-68. 医学書院, 東京.
45. 農林水産省大臣官房統計部. (2009). ポケット畜産統計, 平成20年度版, pp. 3-4, 100, 109. 農林統計協会, 東京.
46. 農林水産省動物検疫所. (2007). 動物検疫統計, 仕出地域別輸入検疫状況. [Online] <http://www.maff.go.jp/aqs/tokei/toukei.html> (Accessed on 19 Oct. 2009).
47. Office International des Epizooties (OIE, The World Organisation for Animal Health). (2008). WAHID (world Animal Health Database) Interface. [Online] <http://www.oie.int/wahid-prod/public.php?page=home> (accessed on 20 April 2008).
48. Office International des Epizooties (OIE, The World Organisation for Animal Health). (2008). Chapter 2.3.4. Avian influenza. *In* : Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. [Online] [http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.03.04\\_AI.pdf](http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.03.04_AI.pdf) (accessed on October 15, 2009).

49. Okamatsu, M., Saito, T., Mase, M., Tsukamoto, K. and Yamaguchi, S. (2007). Characterization of H5N2 influenza A viruses isolated from chickens in Japan. *Avian Dis* 51:474-5.
50. Okamatsu, M., Saito, T., Yamamoto, Y., Mase, M., Tsuduku, S., Nakamura, K., Tsukamoto, K. and Yamaguchi, S. (2007). Low pathogenicity H5N2 avian influenza outbreak in Japan during the 2005-2006. *Vet Microbiol* 124:35-46.
51. Pfeiffer, D. U. (2004). Geographical information science and spatial analysis in animal health. *In* : Durr, P. and Gartrell, A. [eds], *GIS and spatial analysis in veterinary science.*, pp. 119-144. CABI, Oxfordshire, UK.
52. Selleck, P. W., Arzey, G., Kirkland, P. D., Reece, R. L., Gould, A. R., Daniels, P. W. and Westbury, H. A. (2003). An outbreak of highly pathogenic avian influenza in Australia in 1997 caused by an H7N4 virus. *Avian Dis* 47:806-11.
53. Serratos, J., Ribó, O., Correia, S., Pittman, M. (2007). EFSA Scientific risk assessment on animal health and welfare aspects of avian influenza *Avian Dis* 51:501-503.
54. Sharkey, K. J., Bowers, R. G., Morgan, K. L., Robinson, S. E. and Christley, R. M. (2008). Epidemiological consequences of an incursion of highly pathogenic H5N1 avian influenza into the British poultry flock. *Proc Biol Sci* 275:19-28.
55. Shortridge, K. F., Zhou, N. N., Guan, Y., Gao, P., Ito, T., Kawaoka, Y., Kodihalli, S., Krauss, S., Markwell, D., Murti, K. G., Norwood, M., Senne, D., Sims, L., Takada, A. and Webster, R. G. (1998).

- Characterization of avian H5N1 influenza viruses from poultry in Hong Kong. *Virology* 252:331-42.
56. Sims, L. D., Ellis, T. M., Liu, K. K., Dyrting, K., Wong, H., Peiris, M., Guan, Y. and Shortridge, K. F. (2003). Avian influenza in Hong Kong 1997-2002. *Avian Dis* 47:832-8.
57. Sims, L. D., Guan, Y., Ellis, T. M., Liu, K. K., Dyrting, K., Wong, H., Kung, N. Y., Shortridge, K. F. and Peiris, M. 2003. An update on avian influenza in Hong Kong 2002. *Avian Dis* 47:1083-6.
58. Sugimura T., Ogawa, T., Tanaka, Y. and Kumagai, T. (1981). Antigenic type of fowl plague virus isolated in Japan in 1925. *Natl Inst Anim Health Q.* 21:104-105
59. Sugiura, K., Murray, N., Tsutsui, T. and Kasuga, F. (2008). Simulating the BSE epidemic and multiplication factor in dairy herds in Japan. *Prev Vet Med* 84:61-71.
60. Swayne, D. E. and Halvorson, D. A. (2003). Influenza. *In* : Y. M. Saif [ed], *Diseases of poultry*, 11th edition., pp. 135-160. Iowa State Press, Iowa, USA.
61. Thomas, M. E., Bouma, A., Ekker, H. M., Fonken, A. J., Stegeman, J. A. and Nielen, M. (2005). Risk factors for the introduction of high pathogenicity Avian Influenza virus into poultry farms during the epidemic in the Netherlands in 2003. *Prev Vet Med* 69:1-11.
62. Tsutsui, T., Minami, N., Koiwai, M., Hamaoka, T., Yamane, I. and Shimura, K. (2003). A stochastic-modeling evaluation of the foot-and-mouth-disease survey conducted after the outbreak in Miyazaki, Japan in 2000. *Prev Vet Med* 61:45-58.

63. Tumpey, T. M., Suarez, D. L., Perkins, L. E., Senne, D. A., Lee, J. G., Lee, Y. J., Mo, I. P., Sung, H. W. and Swayne, D. E. (2002). Characterization of a highly pathogenic H5N1 avian influenza A virus isolated from duck meat. *J Virol* 76:6344-55.
64. 塚本健司, 谷村信彦, 岡松正敏, 佐々木家治, 山内健, 真瀬昌司, 今井邦俊, 山口成夫. (2005). H5N1 ウイルスに対するカラス, スズメの感受性. *In*: 第 139 回日本獣医学会学術集会要旨集, pp.210.
65. 谷村晋. (2003). 空間疫学アプローチは疾病対策にどのように役立つか. *日本熱帯医学会雑誌* 31:237-241.
66. Wee, S. H., Park, C. K., Nam, H. M., Kim, C. H., Yoon, H., Kim, S. J., Lee, E. S., Lee, B. Y., Kim, J. H., Lee, J. H. and Kim, C. S. (2006). Outbreaks of highly pathogenic avian influenza (H5N1) in the Republic of Korea in 2003/04. *Vet Rec* 158:341-4.
67. 鷲尾昌一. (2002). 症例対照研究. *In*: 日本疫学会 [ed], はじめて学ぶやさしい疫学 - 疫学への招待 -, pp. 48-56. 南江堂, 東京.
68. Yamamoto, T., Tsutsui, T., Nonaka, T., Kobayashi, S., Nishiguchi, A. and Yamane, I. (2006). A quantitative assessment of the risk of exposure to bovine spongiform encephalopathy via meat-and-bone meal in Japan. *Prev Vet Med* 75:221-38.
69. 山根逸郎. (2005). 獣医疫学ハンドブック, pp. 63-72. 緑書房, 東京.

## 学位論文要旨（和文）

氏 名 西口 明子

題 目 高病原性鳥インフルエンザの発生に関する疫学的研究

鳥インフルエンザウイルス（AIV）はオルソミクソウイルス科 A 型インフルエンザウイルスに属し，HA 蛋白 16 種，NA 蛋白 9 種の組合せによる多くの血清亜型に分類されている。国際獣疫事務局の規定では，鶏に対する病原性が高いウイルスを高病原性鳥インフルエンザウイルス（HPAIV）と定め，主な血清亜型として H5 及び H7 亜型が知られている。しかし，流行当初は弱毒であっても家きんの間で感染を繰り返すうちに数ヶ月後に強毒に変異する可能性があることが知られていることから，わが国では家畜伝染病予防法に基づき，鶏に対する病原性によらずすべての H5 または H7 亜型の A 型インフルエンザウイルスの感染による家きんの疾病を高病原性鳥インフルエンザとして家畜伝染病（法定伝染病）と定め，摘発淘汰することとしている。

1996 年中国広東省のガチョウから分離された H5N1 亜型ウイルスを起源とするウイルスは，1997 年香港において，家きんだけでなく人にも感染し死亡例をもたらした。その後同亜型のウイルスによる HPAI は，2003-04 年に韓国，日本，ベトナム，タイ，2005 年にはアフリカ，欧州でも確認され，2009 年現在も終息の兆しは見えていない。わが国をはじめ撲滅に成功した国がある一方，毎年発生を繰り返している国や常在化している国もあることから，依然としてウイルス侵入の脅威は続いている。

2004 年 1 月の H5N1 亜型による HPAI の発生は国内では 79 年ぶりの出来事であり，当時の鶏飼養環境下において本病の発生がどのように伝播・

拡大するかを予測することは困難であった。その後も弱毒型ウイルスによるものも含めてわが国で HPAI が発生し、国家規模の防疫措置が講じられてきた。これらの発生及び伝播・拡大状況を疫学的に解析し、伝播拡大要因を明らかにすることは、今後の防疫対策や危機管理体制の構築に有用であると考えられる。そこで本研究は、わが国における本病の発生・拡大の様相を疫学的に分析し、伝播・拡大のリスク要因を明らかにすることを目的とした。

第一章では、2004 年 1-3 月に発生した HPAI の発生状況を記述疫学的手法を用いて分析した。山口県、大分県、京都府の 3 府県 4 養鶏施設で確認された強毒型の H5N1 亜型ウイルスによる発生について、鶏舎内および鶏舎間伝播の様相、感染鶏の症状、発生農場間の鶏・人・物の移動等の疫学情報を分析した。その結果、本ウイルスは鶏に対する病原性が非常に高く、感染鶏は短時間で死亡したため感染農場において容易に異常が確認されたこと、また短期間に群内の鶏に高率に伝播し、鶏舎間の伝播も容易であったことが特徴として挙げられた。また、初発から 3 ヶ月未満で撲滅することに成功したことは、家きんの処分や発生地周辺の移動制限が迅速に行われたこと、感染鶏の移動先を追跡しまん延防止措置が適切にとられた等の封じ込め措置により、新たな拡大が未然に防がれたためと考察された。

第二章では、HPAI の発生地域において発生のリスク要因の調査・分析を行った。本研究では、HPAI の発生のリスク要因を定量的に評価することを目的とし、2005 年 H5N2 亜型の弱毒型ウイルスによる HPAI の発生地域であった茨城県において症例対照研究を実施した。移動制限区域にあったすべての商用採卵養鶏農場に対して聞き取り調査を行い、発生農場 37 戸と非発生農場 36 戸のデータについて統計学的解析を行った。その結果、成鶏の導入、農場間での機具の共有、農場内入場者への不完全な衛生対策、発生農場から近距離にあることが本病発生のリスク要因であったことが示



された。

第三章では HPAI が多く発生した地域の特徴を明らかにすることを目的として、発生地域の地理的解析を実施した。空間スキャン統計を用いて、2005 年 H5N2 亜型の弱毒型ウイルスによる HPAI の発生が集中した地域を探索し、その周辺地域との間で飼養状況に関する項目を統計学的に比較することにより HPAI 発生集中地域の特徴を分析した。その結果、発生集中地域は茨城県のほぼ中央部に半径 5.12km の円として検出され、この地域内では大規模な採卵養鶏場が密集しており、養鶏場の戸数密度と羽数密度がともに高く、農場 1 戸あたりの飼養羽数が多いこと、産卵中の採卵鶏（成鶏）を飼養する農場の割合が高い等の特徴が明らかとなった。

#### 結論

本研究により、わが国で発生した HPAI の発生実態を明らかにすることができ、またわが国の養鶏産業における HPAI の発生リスク要因を特定することができた。本研究で HPAI の伝播・拡大リスク要因として確認されたオールインオールアウトの実施、農場間での機具の共有の禁止、農場内入場者への十分な衛生対策の実施等は農場側における必須の衛生対策であり、また、侵入監視体制として、高飼養密度地域に重点を置いたモニタリング体制の構築も重要であると考えられた。また、発生地周辺の家きん、人、物等の出入りを制限することは、これらのものが直接移動する先への伝播を防ぐだけでなく、移動に際した周辺へのウイルス拡大を防止するのに有効な防疫措置であると考えられた。

本研究で得られた成績は HPAI 発生に対する今後の危機管理や防疫措置を策定する上で貴重な知見を提供するものであると考える。

## 學位論文要旨 (英文)

Name NISHIGUCHI, Akiko  
Title Epidemiological research on highly pathogenic avian influenza

Avian influenza viruses (AIVs) are classified into the family *Orthomyxoviridae*, genus Influenzavirus A. They are further subtyped based on serologic reactions of haemagglutinin (HA) and neuraminidase (NA) surface glycoproteins. Sixteen subtypes of HA and nine subtypes of NA are recognized. The office International des Epizooties (OIE) defines highly pathogenic avian influenza viruses (HPAIVs) as virus strains which are virulent to chickens. Although all virulent strains isolated to date have been either the H5 or H7 subtype, most H5 or H7 isolates are of low virulence. On the other hand, there have been examples of low virulence H5 and H7 strains becoming highly virulent via mutations in their hosts in several months. Considering the risk of mutation, cases of avian influenza caused by H5 and H7 strains are classified as HPAI, one of the notifiable diseases in Japan, regardless of their virulence in chickens at the time of isolation.

A H5N1 subtype of AIV, known to originate from a goose in Guangdong, China in 1996, caused deadly infections in both poultry and humans in Hong Kong in 1997. The presences of the same subtype of viruses were later confirmed in the Republic of Korea, Japan, Vietnam and Thailand. Further spread of H5N1 subtype of AIVs was recognized in Africa and Europe, and HPAI cases are still confirmed in some parts of

the world at the time of writing (2009). Some countries, including Japan, succeeded in eradicating HPAI, but it has recurred or become endemic in some countries; therefore, the threat of HPAIV re-introduction in Japan remains.

In Japan, HPAI outbreaks were confirmed for the first time in 79 years and they were caused by a H5N1 subtype of AIV in 2004. At the time of occurrence in 2004, it was difficult to estimate the spread of the disease because chicken farming practices had changed significantly since the last outbreak 79 years ago. Following the eradicating of the outbreaks in 2004, several HPAI infections, including low-virulence cases, have been reported in farmed poultry and wild birds in Japan, and national control measures to eradicate HPAI have been implemented. Analysis of the outbreaks and their spread from an epidemiological point of view along with clarification of the risk factors associated with the introduction of AIV is considered useful not only for planning preventive measures but also in the management of the disease outbreak response. This study was designed to analyze the conditions of outbreaks and their epidemiological spread and clarify the risk factors associated introduction and spread of the disease.

In chapter 1, we analyzed HPAI outbreaks caused by a highly virulent H5N1 subtype of AIV that had occurred from January–March 2004 in Japan in a descriptive epidemiological manner. We analyzed the spread of the disease within and between flocks, tracing information on movements of possible infectious materials such as live chickens, personnel or fomites. HPAI was easily recognized by farm owners who observed a sudden high mortality in affected chicken flocks, due to the highly virulent

nature of the causative virus and was spread easily within and between flocks in a short period. The keys to successful eradication of the disease in less than three months included prompt destruction of all poultry in affected premises and movement controls applied around the affected premises. Quick identification of the movement of chickens from affected farms also contributed to the prevention of the possible spread of disease.

In chapter 2, we analyzed the risk factors associated with the introduction of AIV. We conducted a case-control study carrying out quantitative analyses on the risk of the introduction of AIV into poultry farms. We targeted all commercial layer chicken farms within a movement control area which was applied during the HPAI outbreaks caused by a low virulent H5N2 subtype in Ibaraki in 2005. We statistically analyzed the collected data from 37 affected and 36 control farms. Four variables were identified to be risk factors associated with the introduction of AIV namely, “introduction of end-of-lay chickens“, “sharing of equipment among farms“, “incomplete hygiene measures of farm visitors on shoes, clothes and hands“, and “direct distance to the nearest case farm“.

In chapter 3, geographical analyses were conducted to clarify the characteristics of the area where geographical clustering of HPAI outbreaks were identified. We investigated the geographical cluster of AI case farms (AI-cluster) during the HPAI outbreaks caused by the low virulent H5N2 subtype in Ibaraki prefecture in 2005 using spatial scan statistics. We then analyzed the characteristics of the area and the housing styles of the chicken farms in an identified AI-cluster, comparing them to farms outside

the AI-cluster. One statistically significant AI-cluster was detected with a radius of 5.12 km in the central part of Ibaraki prefecture. Inside this AI-cluster, the density was high for both chicken farms and chicken population, the proportion of layer finisher type farms was high and the farm sizes were large. We considered it important to take precautions for AI outbreaks in areas with dense chicken populations, and in the case of AI outbreaks, to implement appropriate movement control around the affected farms thereby preventing transmission between farms located within small distances.

## Conclusion

The present study clarified the conditions of the HPAI outbreaks that occurred in Japan and identified several risk factors associated with HPAI outbreaks in the poultry industry in Japan. Once HPAIV infects the poultry population, huge economic losses will become apparent. The hygienic measures identified to be important via this study, such as all-in all-out practices, prohibition of sharing equipment amongst farms, and stricter biosecurity measures for farm visitors, are highly recommended to be implemented on farm sites. Also, a monitoring system focused on areas with dense chicken populations is highly recommended to detect AIV introduction in its early stages. Furthermore, it is considered that movement control around affected farms, consisting of movement prohibition of live poultry, personnel and fomites, is an effective procedure to prevent the spread of AIV. We believe that the findings presented here provide a sound outline in planning protective measures as well as managing any future disease outbreaks.