９　鳥インフルエンザウイルス遺伝子検査法の検討

中丹家畜保健衛生所
○天野恵里子　種子田功

【はじめに】特定家畜伝染病防疫指針記載の鳥インフルエンザウイルス(AIV)のリアルタイム RT-PCR(rPCR)検査について、国産 rPCR 検査(指針法)の手技等を再確認した後、模擬検体を作製し、簡易検査と指針法の結果を比較、検討した。また、指針法のプライマー、プローブを用いて、当所の従来法の反応条件等を変更した 1step-rPCR 検査(改変法)についても検討した。【材料及び方法】不活化 AIV(H5 亜型)を試料とし、rPCR は A 型、H5 亜型の遺伝子について実施した。①簡易検査と rPCR の比較:階段希釈した各試料 50μl を綿棒に吸収させたものを模擬検体とし、簡易検査と rPCR を実施。簡易検査と指針法及び改変法の結果を比較した。②検出感度の比較:10^0～10^4倍に希釈した試料を用い、指針法と改変法を行った。【結果】①指針法では、簡易検査陽性の検体でも、A 型、H5 亜型の遺伝子を検出しなかったが、改変法では、両遺伝子ともに検出した。②両遺伝子ともに指針法で 10^2倍、改変法で 10^4倍まで検出した。【考察】指針法では、簡易検査陽性の検体でも、ウイルス量の条件によっては遺伝子を検出できない場合があることが示唆された。一方、改変法は、簡易検査陽性の検体では遺伝子検出可能であり、指針法に比べて検出感度が高かったことから、AIV 遺伝子検出に有用であると考えられた。