

図1. LAMP法のプライマー

1  
AGCGAAAGCA GGTAGATGTT GAAAGATGAG TCTTCTAACC GAGGTCGAAA CGTACGTTCT  
\*\*\*\*\*  
\*\*\*\*\*

61  
CTCTATCGTC CCGTCAGGCC CCCTCAAAGC CGAGATCGCG CAGAGACTTG AAGATGTCTT  
\*\*\*\*\*  
\*\*\*\*\*

121  
TGCAGGGAAG AACACAGATC TTGAGGCTCT CATGGAATGG CTAAGACAA GACCAATCCT  
\*\*\*\*\*  
\*\*\*\*\*

GTCACCTCTG ACTAAGGGA TTTAGGGTT TGTGTTACG CTCACCGTGC CCAGTGAGCG  
\*\*\*\*\*  
\*\*\*\*\*

181  
AGGACTGCAG CGTAGAGGAT TTGTCCAAA TGCCCTAAT GGAATGGAG ACCCAAACAA  
\*\*\*\*\*  
\*\*\*\*\*

241  
CATGGACAGG GCAGTCAAAC TATACAAGAA GCTGAAGAGG GAAATGACAT TCCATGGAGC  
\*\*\*\*\*  
\*\*\*\*\*

301  
AAAGGAAGTT GCACTCAGTT ACTCAACTGG TGCCTTGCC AGTTGCATGG GTCTCATATA  
\*\*\*\*\*  
\*\*\*\*\*

361  
CAACAGGATG GGAACGGTGA CCACAGAAGT GGCTTTTGGC CTAGTATGTG CCACTTGTGA  
\*\*\*\*\*  
\*\*\*\*\*

図 2-1 鳥インフルエンザウイルス M 遺伝子のコンセンサス配列 (1)  
\* は全ての株に共通した塩基を示す。

421

GCAGATTGCG GATTACACC ATCGGTCTCA CAGACAGATG GCGACTACCA CCAACCCACT  
\*\*\*\*\*- \*\*\*\*\*-\*\*-\* \*\*-\*\*\*\*\* \*\*-\*\*\*\*\* \*—\*\*\*\*\*-\*

481

AATCAGGCAT GAGAACAGAA TGGTGCTAGC CAGCACTACA GCTAAGGCTA TGGAGCAGAT  
\*\*\*-\*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*\*-\*\*-\*\* \*\*\*\*\*-\*

541

GGCTGGATCG AGTGAGCAGG CAGCGGAAGC CATGGAGGTT GCTAGTCAGG CTAGGCAGAT  
\*\*-\*\*\*\*\* \*\*\*\*\*-\*\* \*\*\*\*\*- \*\*\*\*\*-\*

601

GGTGCAGGCG ATGAGGACAA TTGGGACTCA TCCTAGCTCC AGTACAGGTC TGAAAGATGA  
\*\*\*\*\*-\*\*\*\* \*-\*\*\*\*\* \*\*-\*\*\*\*\*- \*\*\*\*\* \*\*-\*\*\*\*\*- \*\*\*\*\*

661

TCTTCTGAA AATTTGCAGG CCTACCAGAA ACGGATGGGA GTGCAGATGC AGCGATTCAA  
\*\*\*\*-\*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*-\*\*\*\*\* -\*\*\*\*\*-\*

721

GTGATCCTCT CGTTGTTGCA GCAAGTATCA TTGGGATCTT GCACTTGATA TTGTGGATTC  
\*\*\*\*\* \*\*\*\*\*- \*\*\*\*\* \*\*\*\*\*-\*

781

TTGATCGTCT TTTCTTCAA TGCATTTATC GTCGCTTTAA ATACGGTTTG AAAAGAGGGC  
\*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\*—\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\*

841

CTTCTACGGA AGGAGTGCCT GAGTCTATGA GGAAGAGTA TCGGCAGGAA CAGCAGAGTG  
\*\*\*\*\*-\*\*\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*\*-\*\*\*\*\*

図 2-2 鳥インフルエンザウイルス M 遺伝子のコンセンサス配列 (2)  
\* は全ての株に共通した塩基を示す。

901

CTGTGGATGT TGACGATGGT CATTTTGTCA ACATAGAGCT -GAGTAAAAA ACTACCTTGT

\*\*\*\*\*

961

TTCTACT

\*\*\*\*\*

図2-3 鳥インフルエンザウイルスM遺伝子のコンセンサス配列(3)

\*は全ての株に共通した塩基を示す。

ID:13										
label	5' pos	3' pos	len	Tm	5' dg	3' dg	GCrate	Sequence		
F3	782	799	18	56.10	-4.76	-5.57	0.50	TGATCCTCTCGTTGTTGC		
B3	994	1016	23	56.53	-4.41	-4.67	0.35	AGGTAGTTTTTTACTCAGCTCTA		
F1P	46	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTTAA-TTGCACTTGATATTGTGGATT								
B1P	42	AGGAGTGCCTGAGTCTATGAGG-GTTGACAAAATGACCATCGT								
F2	819	839	21	55.45	-5.57	-4.41	0.33	TTGCACTTGATATTGTGGATT		
F1c	877	901	25	61.78	-7.03	-2.40	0.40	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTTAA		
B2	973	992	20	55.96	-4.67	-5.23	0.40	GTTGACAAAATGACCATCGT		
B1c	911	932	22	62.61	-5.08	-4.74	0.55	AGGAGTGCCTGAGTCTATGAG		

ID:29										
label	5' pos	3' pos	len	Tm	5' dg	3' dg	GCrate	Sequence		
F3	782	799	18	56.10	-4.76	-5.57	0.50	TGATCCTCTCGTTGTTGC		
B3	994	1016	23	56.53	-4.41	-4.67	0.35	AGGTAGTTTTTTACTCAGCTCTA		
F1P	45	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTTA-TTGCACTTGATATTGTGGATT								
B1P	42	AGGAGTGCCTGAGTCTATGAGG-GTTGACAAAATGACCATCGT								
F2	819	839	21	55.45	-5.57	-4.41	0.33	TTGCACTTGATATTGTGGATT		
F1c	878	901	24	61.27	-7.03	-1.98	0.42	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTTA		
B2	973	992	20	55.96	-4.67	-5.23	0.40	GTTGACAAAATGACCATCGT		
B1c	911	932	22	62.61	-5.08	-4.74	0.55	AGGAGTGCCTGAGTCTATGAGG		

図3-1 鳥インフルエンザウイルスM遺伝子LAMP法のプライマー候補(1)  
(説明) label: プライマーの名称、5' pos: 5'末端の位置、3' pos: 3'末端の位置、len: プライマーの長さ、  
Tm: Tm値(融解温度)、5' dg: 5'末端の安定性、3' dg: 3'末端の安定性、Gcrate: GC含量

## ID:45

label	5' pos	3' pos	len	Tm	5' dG	3' dG	GCrate	Sequence
F3	782	799	18	56.10	-4.76	-5.57	0.50	TGATCCCTCTCGTTGTTGC
B3	994	1016	23	56.53	-4.41	-4.67	0.35	AGGTAGTTTTTTTACTCAGCTCTA
FIP	44	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTT						-TTGCACCTTGATATTGGGATT
BIP	42	AGGAGTGCCTGAGTCTATGAGG						-GTTGACAAAAATGACCATCGT
F2	819	839	21	55.45	-5.57	-4.41	0.33	TTGCACCTTGATATTGGGATT
F1c	879	901	23	61.48	-7.03	-2.89	0.43	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTT
B2	973	992	20	55.96	-4.67	-5.23	0.40	GTTGACAAAAATGACCATCGT
B1c	911	932	22	62.61	-5.08	-4.74	0.55	AGGAGTGCCTGAGTCTATGAGG

## ID:61

label	5' pos	3' pos	len	Tm	5' dG	3' dG	GCrate	Sequence
F3	782	799	18	56.10	-4.76	-5.57	0.50	TGATCCCTCTCGTTGTTGC
B3	994	1017	24	57.27	-4.08	-4.67	0.33	AAGGTAGTTTTTTTACTCAGCTCTA
FIP	46	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTTAA						-TTGCACCTTGATATTGGGATT
BIP	42	AGGAGTGCCTGAGTCTATGAGG						-GTTGACAAAAATGACCATCGT
F2	819	839	21	55.45	-5.57	-4.41	0.33	TTGCACCTTGATATTGGGATT
F1c	877	901	25	61.78	-7.03	-2.40	0.40	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTTAA
B2	973	992	20	55.96	-4.67	-5.23	0.40	GTTGACAAAAATGACCATCGT
B1c	911	932	22	62.61	-5.08	-4.74	0.55	AGGAGTGCCTGAGTCTATGAGG

図3-2 鳥インフルエンザウイルス M 遺伝子 LAMP 法のプライマー候補 (2)

ID:77

label	5' pos	3' pos	len	Tm	5' dg	3' dg	GCrate	Sequence
F3	782	799	18	56.10	-4.76	-5.57	0.50	TGATCCTCTCGTTGTTGC
B3	994	1017	24	57.27	-4.08	-4.67	0.33	AAGGTAGTTTTTACTCAGCTCTA
FIP	45	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTTA						-TTGCAC TTGATATTGTGGATT
BIP	42	AGGAGTGCCTGAGTCTATGAGG						-GTTGACAAAAATGACCATCGT
F2	819	839	21	55.45	-5.57	-4.41	0.33	TTGCAC TTGATATTGTGGATT
F1c	878	901	24	61.27	-7.03	-1.98	0.42	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTTA
B2	973	992	20	55.96	-4.67	-5.23	0.40	GTTGACAAAAATGACCATCGT
B1c	911	932	22	62.61	-5.08	-4.74	0.55	AGGAGTGCCTGAGTCTATGAGG

ID:94

label	5' pos	3' pos	len	Tm	5' dg	3' dg	GCrate	Sequence
F3	782	799	18	56.10	-4.76	-5.57	0.50	TGATCCTCTCGTTGTTGC
B3	994	1017	24	57.27	-4.08	-4.67	0.33	AAGGTAGTTTTTACTCAGCTCTA
FIP	44	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTT						-TTGCAC TTGATATTGTGGATT
BIP	40	AGTGCCTGAGTCTATGAGGG						-GTTGACAAAAATGACCATCGT
F2	819	839	21	55.45	-5.57	-4.41	0.33	TTGCAC TTGATATTGTGGATT
F1c	879	901	23	61.48	-7.03	-2.89	0.43	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTT
B2	973	992	20	55.96	-4.67	-5.23	0.40	GTTGACAAAAATGACCATCGT
B1c	914	933	20	60.08	-6.24	-5.70	0.55	AGTGCCTGAGTCTATGAGGG

図3-3 鳥インフルエンザウイルスM遺伝子LAMP法のプライマー候補(3)

## ID:95

label	5' pos	3' pos	len	Tm	5' dg	3' dg	GCrate	Sequence
F3	782	799	18	56.10	-4.76	-5.57	0.50	TGATCCCTCCTGGTTGGC
B3	994	1017	24	57.27	-4.08	-4.67	0.33	AAGGTAGTTTTTTTACTCAGCTCTA
FIP	44	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTT						-TTGCACCTTGATATTGTGGATT
BIP	41	AGTGCCTGAGTCTATGAGGGA						-GTTGACAAAAATGACCATCGT
F2	819	839	21	55.45	-5.57	-4.41	0.33	TTGCACCTTGATATTGTGGATT
F1c	879	901	23	61.48	-7.03	-2.89	0.43	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTT
B2	973	992	20	55.96	-4.67	-5.23	0.40	GTTGACAAAAATGACCATCGT
B1c	914	934	21	61.75	-6.24	-5.55	0.52	AGTGCCTGAGTCTATGAGGGA

## ID:109

label	5' pos	3' pos	len	Tm	5' dg	3' dg	GCrate	Sequence
F3	782	799	18	56.10	-4.76	-5.57	0.50	TGATCCCTCCTGGTTGGC
B3	997	1018	22	55.91	-5.00	-5.49	0.36	CAAGGTAGTTTTTTTACTCAGCT
FIP	46	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTTAA						-TTGCACCTTGATATTGTGGATT
BIP	42	AGGAGTGCCTGAGTCTATGAGG						-GTTGACAAAAATGACCATCGT
F2	819	839	21	55.45	-5.57	-4.41	0.33	TTGCACCTTGATATTGTGGATT
F1c	877	901	25	61.78	-7.03	-2.40	0.40	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTTAA
B2	973	992	20	55.96	-4.67	-5.23	0.40	GTTGACAAAAATGACCATCGT
B1c	911	932	22	62.61	-5.08	-4.74	0.55	AGGAGTGCCTGAGTCTATGAGG

図3-4 鳥インフルエンザウイルスM遺伝子LAMP法のプライマー候補(4)



## ID:125

label	5' pos	3' pos	len	Tm	5' dG	3' dG	GCrate	Sequence
F3	782	799	18	56.10	-4.76	-5.57	0.50	TGATCCTCTCGTTGTTGC
B3	997	1018	22	55.91	-5.00	-5.49	0.36	CAAGGTAGTTTTTTACTCAGCT
FIP	45	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTTA						-TTGCACCTTGATATTGGGATT
BIP	42	AGGAGTGCCTGAGTCTATGAGG						-GTTGACAAAAATGACCATCGT
F2	819	839	21	55.45	-5.57	-4.41	0.33	TTGCACCTTGATATTGGGATT
F1c	878	901	24	61.27	-7.03	-1.98	0.42	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTTA
B2	973	992	20	55.96	-4.67	-5.23	0.40	GTTGACAAAAATGACCATCGT
B1c	911	932	22	62.61	-5.08	-4.74	0.55	AGGAGTGCCTGAGTCTATGAGG

## ID:141

label	5' pos	3' pos	len	Tm	5' dG	3' dG	GCrate	Sequence
F3	782	799	18	56.10	-4.76	-5.57	0.50	TGATCCTCTCGTTGTTGC
B3	997	1018	22	55.91	-5.00	-5.49	0.36	CAAGGTAGTTTTTTACTCAGCT
FIP	44	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTT						-TTGCACCTTGATATTGGGATT
BIP	42	AGGAGTGCCTGAGTCTATGAGG						-GTTGACAAAAATGACCATCGT
F2	819	839	21	55.45	-5.57	-4.41	0.33	TTGCACCTTGATATTGGGATT
F1c	879	901	23	61.48	-7.03	-2.89	0.43	GGCCCTCTTTTCAAACCGTATTT
B2	973	992	20	55.96	-4.67	-5.23	0.40	GTTGACAAAAATGACCATCGT
B1c	911	932	22	62.61	-5.08	-4.74	0.55	AGGAGTGCCTGAGTCTATGAGG

図3-5 鳥インフルエンザウイルス M 遺伝子 LAMP 法のプライマー候補 (5)

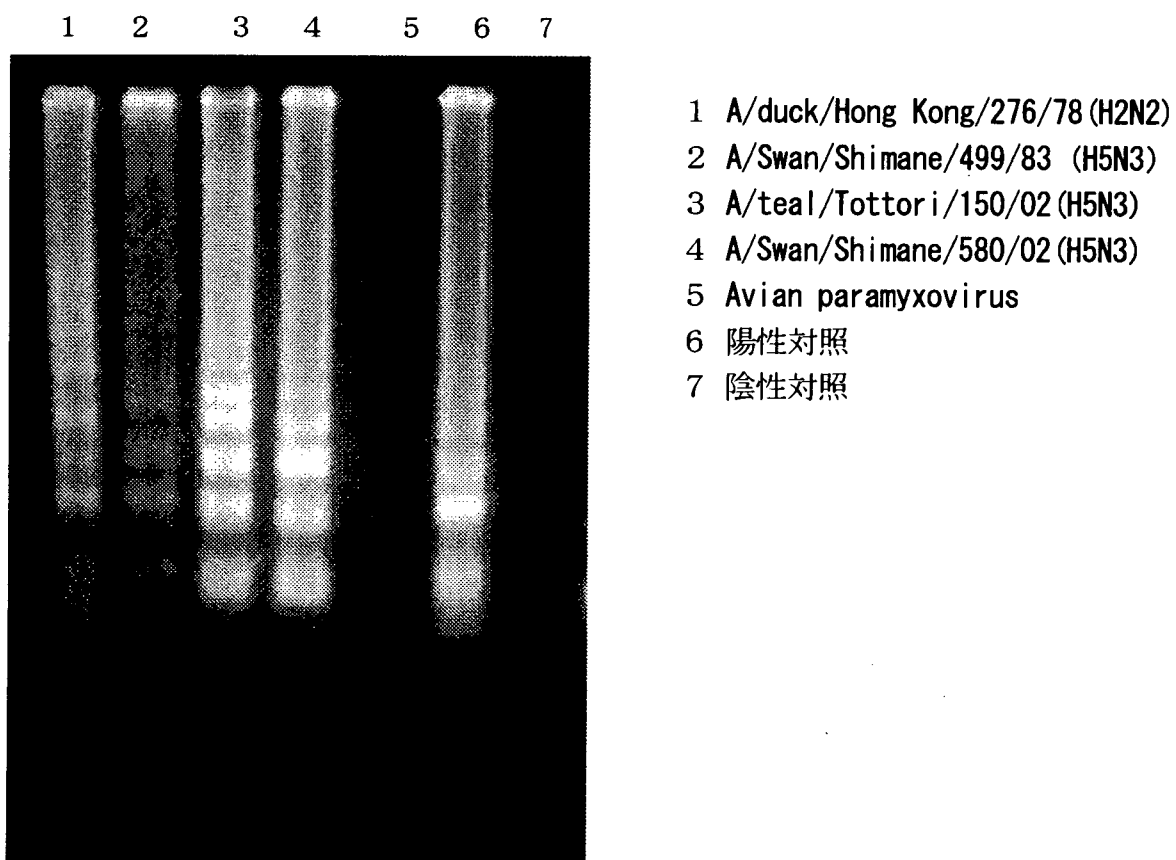
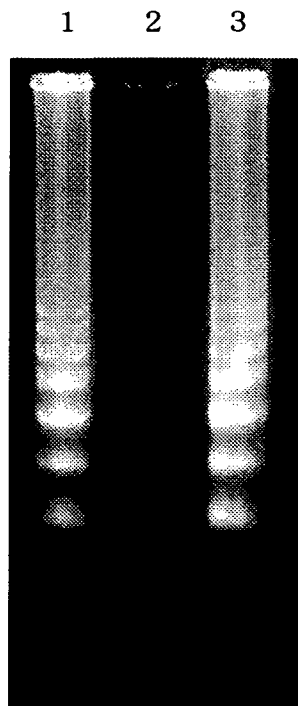
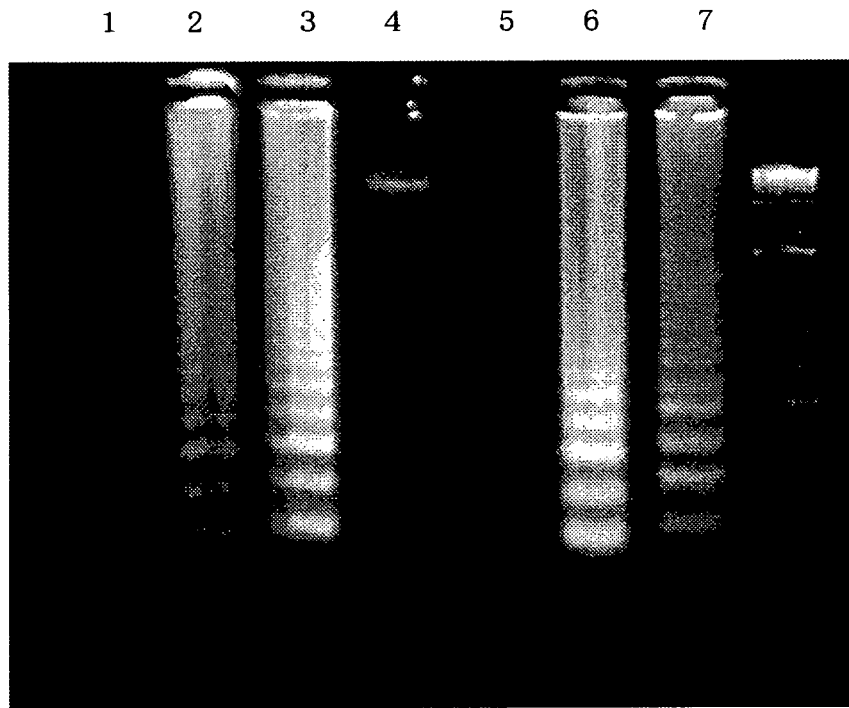


図4-1 LAMP法で増幅された鳥インフルエンザウイルスM遺伝子の電気泳動像(1)



- 1 A/Swan/Shimane/42/80 (H7N7)
- 2 陰性対照
- 3 A/pintail duck/Shimane/78/88 (H7NN8)

図4-2 LAMP法で増幅された鳥インフルエンザウイルスM遺伝子の電気泳動像(2)



- 1 A/turkey/Ontario/6118/68 (H8N4)
- 2 A/duck/Hokkaido/26/99 (H9N2)
- 3 分子量マーカー
- 4 陰性対照
- 5 A/turkey/Wiscon/1/66 (H9N2)
- 6 A/Swan/Shimane/499/83 (H5N3)
- 7 分子量マーカー

図4-3 LAMP法で増幅された鳥インフルエンザウイルスM遺伝子の電気泳動像(3)

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）  
分担研究報告書

市販の人用インフルエンザ検査キットの  
鳥インフルエンザウイルスでの評価

分担研究者 棚林 清 国立感染症研究所獣医科学部 室長  
協力研究者 山本美江 国立感染症研究所獣医科学部 研究員  
堀田明豊 国立感染症研究所獣医科学部 研究員

研究要旨：各種市販の人用インフルエンザ検査キットを用いて鳥類由来 H5N1 亜型インフルエンザウイルスの検出を試みたところキットにより感度に差があることや人由来ウイルス株での検出感度に比較して低いことが分かった。また、検体処理液を添加するだけで反応できるキットの方が操作が容易であった。クロアカスワブを検査材料とした場合を想定して検体に糞を混入させ反応性を調べたところ、多くのキットで非特異的反応は無く、検出感度も保たれていた。今後、他の高病原性のウイルス株を含め複数の鳥類由来ウイルスでの検討やより高感度で簡易な検査法の開発が必要であると考えられた。

#### A. 研究目的

2004年本邦においても高病原性鳥インフルエンザが発生し、京都の事例では感染鶏が食鳥処理場に搬入された事例があった。また、その後も海外では本病が家禽でも発生が続いており国民の関心も高い。食鳥検査において通常の検査では感知できないようなウイルス疾病ではウイルス学的検査が必要となる。一般にウイルス学的検査は煩雑で時間を要することから、迅速高感度かつ簡便な診断法の開発が必要である。本研究では食鳥検査所で鳥インフルエンザを簡易に検査する方法として既に人用に開発市販されている各種インフルエンザ検査キットの鳥インフルエンザウイルスでの検出感度や操作性について検討することを目的とした。

#### B. 研究方法

1. 供試ウイルス：野生カモ由来の低病原性鳥インフルエンザウイルス株 A/duck/Hyogo/35/01 (H5N1) (神戸市環境保健研究所より分与) を 10 日令発育鶏卵に接種して増殖させ調製し、使用まで  $-80^{\circ}\text{C}$  に分注保存した。50%感染価は MDCK 細胞を用いて Reed & Munch の方法で求めた。

2. インフルエンザ検査キットでの反応：購入供試した 12 キットを表 1 に示した。リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で希釈したウイルス液 100 $\mu\text{l}$  を各キットに同梱されている各規定量の検体処理液に加え攪

拌後、テストプレートにろ過フィルターを通し各キットの指示に従い滴下した。また、ストリップタイプのは攪拌後ろ過フィルターを通さずに抽出液に投入した。各ウイルス希釈液あたり3キットを用いた。標準の判定時間まで静置し、目視判定した。明らかな発色ができたものを++、やや薄いものを+、また、シグナルはあるが判定しにくい場合を±、シグナルが見えないものを-とした。確認のため複数人で判定した。

4. 阻害物の混合試験：検査材料の1つとして使用されるニワトリのクロアカスワブを想定して、混入するニワトリ糞の各キットの反応に及ぼす影響を調べるために、希釈したウイルス液にニワトリの糞を混合して各キットによる反応性を調べた。

### C. 研究結果

#### 1. 各種インフルエンザウイルス抗原検出キットでの検出

ウイルス液をPBSにて10倍段階希釈し、その0.1mlを各キットの規定量の検体処理液に添加後各キットに滴下もしくはストリップを浸漬させ判定した。結果の一覧を表2に示した。

$10^{6.5}$  TCID<sub>50</sub>のウイルスを各キット同梱の検体処理液に添加後反応させた場合は供試した12種すべてのキットで検出可能であった。しかし $10^{5.5}$ ではシグナルが観察されないものや弱くなる場合があった。また $10^{4.5}$ では弱く反応するものもあったがほとんどのキットで検出できなかった。

キットにより添加する抽出液中の元のウイルス液の割合は10%から31%であったが、その割合が多いもので反応が良

好ということではなかった。

操作性については判定までに試料を1回滴下するものが簡易であった。また、スティックタイプのはより簡便であった。

2. 阻害物の混合試験：阻害物として正常ニワトリの糞を1%または5%の割合で混和し、7種類のキットでの反応性を調べた結果を表3に示す。いずれのキットでも非特異的反応が現れることはなかった。また、6種のキットでは糞が混入しても反応は阻害されなかったが、1キット(ディレクテジェンFluA+B)では反応が阻害され、混入無しでは陽性を示したウイルス量( $10^{6.5}$  TCID<sub>50</sub>)においても陽性を示さなかった。

### D. 考察

人用のインフルエンザ診断のために開発された簡易インフルエンザウイルス抗原検出キットを鳥インフルエンザウイルス株で検出感度や食鳥検査所での一時スクリーニング検査として用いる場合の操作性について検討した。今回は1株のH5N1亜型ウイルス株についてのみ検討したが $10^{4.5}$ から $10^{6.5}$  TCID<sub>50</sub>のウイルス量が必要であった。これは報告されている人由来ウイルスでの必要量より多く、他の高病原性ウイルス株や異なる亜型ウイルスでの比較検討が必要であると考えられた。また、操作性においては検体処理後の反応操作が1回で済むキットの方が適していると考えられた。

インフルエンザウイルス感染疑いで検査する場合の採取材料としては咽頭ぬぐい液やクロアカスワブが用いられる。本研究ではクロアカスワブを用いた場合に予想されるニワトリ糞の混入を想定して

キットの反応性を調べたところ、ほとんどで非特異反応はなく検出感度が低下することも無かったが、一部キットでは感度の低下が見られたことからクロアカスワブを検体とする場合はキットの選択が必要であると考えられる。

インフルエンザウイルスの簡易検出キットとして人用は開発販売されているもの鳥類のインフルエンザ診断キットの市販はされておらず今後の製品化が期待される。

#### E. 結論

各種市販の人用インフルエンザ診断キットを用いて鳥類由来インフルエンザウイルスの検出を試みたところキットにより感度に差があることや人由来ウイルス株の検出感度に比較して低いことが分かった。また、検体処理液を添加するだけで反応できるキットの方が操作性に容易であった。クロアカスワブを検査材料とした場合は多くのキットで非特異的反応は無く、検出感度も保たれていた。今後、他の高病原性のウイルス株を含め複数の鳥類由来ウイルスでの検討や高感度の検査系の開発やより高感度で簡易な検査法の開発が必要であると考えられた。

#### F. 健康危険情報

特に無し

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) 澤邊京子, 星野啓太, 伊澤晴彦, 佐々木年則, 林利彦, 津田良夫, 倉橋 弘, 棚林清, 堀田昭豊, 山田章雄, 西藤岳彦, 小渕正次, 田代真人, 小林睦生: 2004年高病原性鳥インフルエンザ国内流行地で採集されたクロバエ類からの H5N1 亜型インフルエンザウイルスの検出と分離。病原微生物検出情報 26, 119-121, 2005.

2) Sawabe K., Isawa H., Hoshino K., Sasaki T., Tanabayashi K., Hotta A., Yamada A., Hayashi T., Tsuda Y., Kurahashi H., Saito T., and Kobayashi M. Detection and isolation of highly pathogenic H5N1 avian influenza A viruses from blow flies collected in the vicinity of an infected poultry farm in Kyoto, Japan, 2004. Am J Trop Med Hyg, In press.

##### 2. 学会発表 なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

表1-1 試験に供したインフルエンザウイルス簡易検出キット


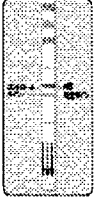
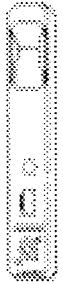


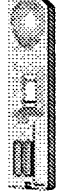
商品名 (メーカー)	形状	試料添加法 操作ステップ	判定までの 所要時間	有効期間
BD Fluエグザマン (日本ベクトン・ディッ キンソン)		滴下 1ステップ	15分	9ヶ月
QuickVeuラピッドSP influ (住友製薬バイオ メデカル)		スティック	10分	24ヶ月
エスプラインインフルエ ンザA&B-N (富士レビオ)		滴下 1ステップ	15分	15ヶ月
ディレクティージェン FluA+B (日本ベクトン・ ディキンソン)		滴下 7ステップ	15分	6ヶ月
クイックーインフルA・B 「生研」 (デンカ生研)		滴下 1ステップ	15分	16ヶ月
ポクテムインフルエンザ A/B(シスメックス=大塚)		滴下 1ステップ	15分	12ヶ月



表1-2 試験に供したインフルエンザウイルス簡易検出キット


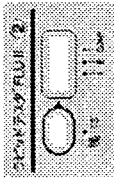


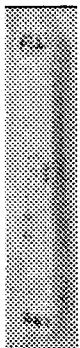

商品名 (メーカー)	形状	試料添加法 操作ステップ	判定までの 所要時間	有効期間
スタットマークインフル エンザA/B (カイノス)		滴下 1ステップ	15分	12ヶ月
ラピッドテストFLU II (第一化学薬品)		滴下 1ステップ	15分	14ヶ月
ラピッドテストFLUS ティック (第一化学薬品)		スティック	15分	10ヶ月
キャピリアFluA+B (日本ベクトン・ディキ ンソン)		滴下 1ステップ	15分	21ヶ月
チェックFluA・B (アルフレックスファーマ)		滴下 1ステップ	15分	21ヶ月
クイックチェイサー FluA, B (ミズホメメディ)		滴下 1ステップ	15分	21ヶ月

表 2 各種インフルエンザ検査キットでの検出

添加ウイルス量*	BD Flu エグザマン			QuickVeu ラピッド SPinfl			エスプラインインフルエンザ A&B-N		
6.5	++	++	++	++	++	++	++	++	++
5.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4.5	±	±	±	±	+	-	+	+	+

添加ウイルス量*	ディレクティージェン FluA+B			クイック-インフル A・B「生研」			ポクテムインフルエンザ A/B		
6.5	++	++	++	++	++	++	++	++	++
5.5	+	+	±	+	+	+	+	+	+
4.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-

添加ウイルス量*	スタットマークインフルエンザ A/B			ラピッドテスト FLU II			ラピッドテスト FLU スティック		
6.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5.5	+	+	+	±	±	±	±	±	±
4.5	-	-	-	-	nt	nt	-	nt	nt

添加ウイルス量*	キャピリア FluA+B			チェック FluA・B			クイックチェイサー FluA, B		
6.5	+	+	+	±	±	±	±	±	±
5.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.5	-	nt	nt	-	-	-	-	-	-

\* : 添加ウイルス量(10<sup>n</sup>TCID<sub>50</sub>)

表3 ニワトリ糞混入時の反応

混入量 (%)	添加ウイルス量*	ディレクティ ジェン FluA+B	エスプラインインフル エンザ A&B-N			クイックーインフル A・B「生研」		
1	6.5	± + uc	+	+	+	+	+	+
5	6.5	uc uc uc	+	+	+	+	+	+
5	5.5	uc uc uc	+	+	+	+	+	+

混入量 (%)	添加ウイルス量*	QuickVeul ラ ピッド SPinfl	ポクテムインフルエン ザ A/B			スタットマークインフ ルエンザ A/B		
1	6.5	+ + +	++	++	++	++	++	++
5	6.5	+ + +	+	+	+	±	±	±
5	5.5	+ + +	-	-	-	-	-	-

混入量 (%)	添加ウイルス量*	BD Flu エグザ マン
1	6.5	++ ++ ++
5	6.5	+ + +
5	5.5	+ + +

\* : 添加ウイルス量(10<sup>n</sup>TCID<sub>50</sub>)

uc: unclear

食肉に供される動物における A 群ロタウイルス及び日本脳炎ウイルスの  
汚染状況調査に関する研究

分担研究者 杉山 誠 岐阜大学大学院連合獣医学研究科 教授  
協力研究者 山吉誠也、高木愛香、源 宣之、伊藤直人、浅野 玄、  
坪田敏男、石黒直隆（岐阜大学応用生物科学部）  
泉對 博（日本大学生物資源科学部）  
伊藤 雅、山下照夫、柴 賢司（愛知県衛生研究所）

研究要旨：食肉に供される家畜及び野生動物における A 群ロタウイルス及び日本脳炎ウイルスの汚染状況を把握することを目的に血清疫学調査を実施した。その結果、全国のウシ 343 例のうち、52.2%が P[17] 遺伝子型のトリロタウイルスの、46.6%が P[4] あるいは P[8] 遺伝子型のヒトロタウイルスの、そして 60.9%が P[2] あるいは P[3] 遺伝子型のロタウイルスの感染を受けたと考えられた。ウシではヒト以外の動物由来ロタウイルスが感染環の中心となっており、これにトリロタウイルスやヒトロタウイルスの感染が高頻度で加わる非常に複雑な感染環を形成していると推測された。一方、イノシシ 234 例の 25.2%が日本脳炎ウイルスに対する中和抗体を保有していた。これに対し、同様な環境に生息するニホンジカおよびニホンザルにおける中和抗体保有率は、それぞれ 1.6%および 4.2%と低率であり、タヌキには抗体保有個体は認められなかった。この結果から、食肉に供されるイノシシが日本脳炎ウイルスに高い感受性を有し、同ウイルスの感染環に増幅動物として係わっている可能性が示唆された。

A. 研究目的

A 群ロタウイルスは、人を含めた幼若動物の下痢症の主な病因の一つである。特に本ウイルスは、人の冬期乳幼児下痢症を引き起こすウイルスとして知られている。人では食品が原因と考えられる集団発生例も報告されている。これまでに、A 群ロタウイルスとして、哺乳類から鳥類まで 15 の G 血清型と 25 の P 遺伝子型のウイルスが分離されている。また、インフルエンザウイルスと同様に分節タイプのウイルスで

あるため、遺伝子交雑が起こりやすいとされている。このように、さまざまなタイプのロタウイルスが各種動物から分離されているものの、その感染の実態や異種動物間での感染・流行については、ほとんど明らかにされていない。そこで今回、食肉に供されるウシを対象に、P 遺伝子型特異的な抗体を検出することができるラテックス凝集 (LA) 試験を用いて、血清疫学的調査を行った。

一方、日本脳炎ウイルスによって引き起こされる日本脳炎は、古くから知られる節足動