

H5 型鳥インフルエンザ感染が疑われる症例に対する PCR 診断法の確立

浅岡 直子, 田中 康子, 藤井 豊, 大内 正信

H5 型鳥インフルエンザウイルスの感染が疑われる患者が川崎医科大学附属病院に来院した場合には緊急に鑑別診断する必要があるが、現行の迅速診断キットでは A 型インフルエンザとは判定できても H5 亜型かどうかは鑑別できない。本研究では、本院でも通常の PCR (polymerase chain reaction) 法で簡便に H5 亜型を鑑別できる体制を整えるために、H5 亜型 HA (hemagglutinin) 遺伝子すべてに共通し、なおかつ現在のヒトの A 型インフルエンザ (H1, H3 亜型) ウイルスには存在しない塩基配列部分をターゲットにしたプライマー 8 種を作成して PCR を行なった。その結果、2 ペアのプライマーが H5 HA 遺伝子を特異的に検出できること、その検出感度は検査材料中に 3 PFU (plaque forming units) 相当のウイルスがあれば同定できることが分かった。検体採取から同定までに要する時間は約 5 時間で、通常の PCR サーマルサイクラーがあれば誰でもどこでもできる方法であるため、当院での緊急診断用として充分実用的であると考えられる。

(平成18年1月31日受理)

Rapid PCR Diagnosis for Cases Suspected of H5 Avian Influenza Virus Infection

Naoko ASAOKA, Yasuko TANAKA, Yutaka FUJII, Masanobu OHUCHI

It would be urgently necessary to diagnose H5 avian influenza infection if a patient would come to the Kawasaki Medical School Hospital and be suspected of having the virus. Although the currently used rapid diagnosis kits are useful in detecting influenza viruses A and B respectively, they can not identify the subtypes of the A virus. This research is aimed at establishing the conditions to identify H5 avian influenza virus using a conventional PCR (polymerase chain reaction) method. Eight specific primers to recognize the sequences common to H5 HA (hemagglutinin) genes were made and examined for their sensitivity and specificity. Two pairs of primers were proven to detect H5 HA gene specifically even with a small amount of virus corresponding to 3 plaque forming units. The identification of the H5 HA gene was accomplished within 5 hours. Since this method is available to every laboratory equipped with a conventional PCR thermal cycler, it is useful for the rapid diagnosis of H5 influenza in our hospital. (Accepted on January 31, 2006) *Kawasaki Igakkaishi* 31(4): 235-241, 2005

Key Words ① H5 ② Influenza ③ Diagnosis ④ Bird ⑤ HA

- 8) http://idsc.nih.go.jp/disease/avian_influenza/index.html
- 9) Hindiyeh M, Levy V, Azar R, et al. Evaluation of a multiplex real-time reverse transcriptase PCR assay for detection and differentiation of influenza viruses A and B during the 2001–2002 influenza season in Israel. *J Clin Microbiol* 43 : 589–595, 2005