

演題番号：A1

豚熱(CSF)の遺伝子検査法の検討

○服部孝二

大阪府家保

1. はじめに：平成30年9月に岐阜県で26年ぶりに発生した豚熱は現在も国内の一部の地域で発生があり、野生いのししの感染も確認されている。現在、CSFの診断は遺伝子検査(RT-PCR)で確定診断されているが、大阪府での発生時に検査の実施上で問題となることがあったので遺伝子検査法を検討した。

2. 材料と方法：検査材料は、CSF発生時の血清、CSF感染死亡野生いのししの血清等、供試ウイルス(GPE(-)株、BVD1型(Nose株)、BVD2型(KZ-91-CP株)、分与BVD3型(Hobi株)、BDVのRNAを使用した。RT-PCR(1st)はVilcekら、Nesteed PCR(2nd)はStadejekらの方法に準じて実施した。制限酵素断片長多型(RFLP)は市販の制限酵素(Takara)を用いて定法により実施した。定量リアルタイムPCR(qPCR)は(1)IDEXX社のReal PCR CSFV RNA TEST (2)Hoffmannらの方法(プローブ法)(3)Gaedeらの方法(プローブ法)を実施して比較した。

3. 結果：Nesteed PCR(2nd)ではRT-PCR(1st)の野外血清で見られた不明瞭・非特異バンドは検出されなかった。今回、確立したRFLP法では他のPestivirusとの識別さらに野外株と

ワクチン株(GPE(-)株)も識別ができた。一方、qPCR法は、市販キット、他の2法と比較したところNesteed PCRとほぼ同等の感度・特異性があった。さらにCSFV以外のPestivirusの増幅は見られなかった。

4. 考察と結語：Nesteed PCR(2nd)を実施したところ陽性コントロール(GPE(-))で感度が高くなり、増幅効率も上昇し、1stPCRで不明瞭・非特異バンドは見られなかった。さらにRFLP法の実施によりワクチン株や他のPestivirusとの識別が可能になった。このRFLP法は今回、最初の報告になる。今後は検証したPCR法・RFLP法・qPCR法で検体数を増やし、CSFの確実な診断に応用したいと考える。またqPCR法は他のPestivirusが検出されず、電気泳動も必要なく、検査時間の短縮・多検体処理も可能で今後、有用な検査方法になることが期待できる。