セルローズアセテート膜による、と畜の血清蛋白電気泳動法の応用

山岡弘二* 佐々木良和* 池田義文* 山崎一男* 瀬尾和範* 藤井彰人*

(昭和 50 年 8 月 26 日受付)

Electrophoretic Analysis of Serum Proteins of Slaughtered Domestic Animals on Cellulose Acetate Membrane

KOJI YAMAOKA et al. (Meat Inspection Station, City of Hiroshima, Hiroshima)

SUMMARY

Electrophoretic determination of the serum protein distribution on cellulose acetate membrane was performed with blood samples obtained from cattle and pigs in the municipal slaughterhouse in Hiroshima.

(1) In normal swine serum, total protein was 7.4 ± 0.95 g/dl, A/G ratio 0.80 ± 0.077 , albumin $45 \pm 2.8\%$, α_2 -globulin $19 \pm 1.0\%$, β -globulin $18 \pm 3.3\%$, and γ -globulin $18 \pm 1.7\%$. (2) In normal serum from Holstein and Japanese Black cattle, total protein was 7.23 ± 1.04 g/dl, A/G ratio 0.86 ± 0.33 , albumin

$46 \pm 2.3\%$, α_2 -globulin $13.8 \pm 2.3\%$, β -globulin $16.6 \pm 5.2\%$, and γ -globulin $23.4 \pm 6.54\%$.

(3) In cattle and pigs with pericarditis, the γ -globulin level was markedly high. Animals with jaundice showed a low A/G ratio and a high γ -globulin level. (4) A substantial increase in the albumin fraction was seen in cows with hepatic abscess and a decrease in protein quotients and albumin fraction in cows with malnutrition.

はじめに

血清蛋白成分の動態を把握することは、疾病の診断上重要な一手段であることが認められてきた。臨床応用面で、手軽でしかもすぐれた検査方法の一つとして、セルローズアセテート膜を使った電気泳動法が確立されて以来、人医領域での発展はめざましく、その数値に対する意義付けは多い^{3,13,16)}。いっぽう、家畜においては基礎的な研究は多くなされているが、と畜、食肉方面への実用化については、あまり研究が多くない^{2,11,12,15,17,18,19,20)}。

と畜の血清蛋白分画値については永井らの報告がみられる⁴⁻¹⁰⁾。と畜における本法の応用は、直ちに剖検所見との関連性が把握できる利点のため、さらに多くの疾病に対する検討が望まれている。今回著者らは広島市と畜場へ搬入された牛ならびに、豚の血清を電気泳動学的にしらべ、疾病との関連性について、統計的な処理を行ない検討を加えたので、その概要について報告する。

材料および方法

1. 供試血清

1) 健康と畜の血清

牛および豚の正常血清は、広島市と畜場へ搬入された、肉眼的病変のみられない健康牛 20 頭 (ホルスタイン種 10 頭および黒毛和種 10 頭) (3~7 才)、および豚 10 頭 (F₁, 6 カ月齢) から、と殺放血時に採血し供試

した。

2) 疾病と畜の血清

牛および豚の各疾病と畜 34 頭について、血液を採取し供試した (表 1)。

すなわち、細菌性心内膜炎例 (牛 3 頭, 豚 3 頭), 心臓炎例 (牛 3 頭, 豚 1 頭), 黄疸例 (牛 4 頭, 豚 1 頭), 肝膿瘍例 (牛 4 頭), 肝てつ症例 (牛 3 頭), 間質性肝炎例 (豚 4 頭), 栄養失調症例 (牛 4 頭), 子宮蓄膿症例 (牛 1 頭), 腸間膜リンパ節炎例 (豚 2 頭), および肺炎例 (豚

表 1 供試疾病と畜状況

畜種	疾 病	頭 数
牛 (22頭)	細菌性心内膜炎	3 (乳牛 3)
	創傷性心臓炎	3 (乳牛 2, 和牛 1)
	黄 疸	4 (乳牛 2, 和牛 2)
	肝 膿 瘍	4 (乳牛 4)
	肝 て つ 症	3 (乳牛 2, 和牛 1)
	栄養失調症	4 (乳牛 3, 和牛 1)
	子宮蓄膿症	1 (乳牛 1)
豚 (12頭)	細菌性心内膜炎	3
	化膿性心臓炎	1
	黄 疸	1
	間質性肝炎	4
	腸間膜リンパ節炎	2
	肺 炎	1
計		34

* 広島市食肉衛生検査所 (広島市福島町2-24-1)

1 頭) の計 10 種目の病例 34 頭について検討した。

2. 泳動法

泳動法は日本電気泳動学会の標準操作法に準じて行なった^{1,14)}。すなわち、緩衝液は pH 8.6, 0.06 M のベロナール緩衝液を用い、オキシド膜に、規定通りに血清を塗布したのちに、アタゴ社製、定圧定電流装置で膜幅 1 cm につき 0.6 mA で 40~60 分泳動を行なった。膜の染色はボンソー 3R で 1 分間染色し、1% 酢酸水溶液で 5 回脱色、乾燥後、デカリンで透明にした後に、アタゴデシントマスター「クイック」で蛋白分画値を測定した。

結 果

1. 健康と畜の血清蛋白分画値 (表 2)

表 2 健康牛および豚の血清蛋白分画正常平均値

畜 種	頭数	T P (g/dl)	A/G 比	% <div>$\overbrace{\hspace{1.5cm}}$</div>				
				Al	α_2	β	γ	
牛	ホルスタイン種	10	7.27 ± 0.44	0.85 ± 0.07	46.1 ± 2.4	13.2 ± 1.1	16.2 ± 2.7	24 ± 4.6
	黒毛和種	10	7.18 ± 0.82	0.87 ± 0.07	45.9 ± 2.4	14.5 ± 2.3	17.1 ± 6.1	22.3 ± 4.8
	平 値 値		7.23 ± 1.04	0.86 ± 0.33	46.0 ± 2.3	13.8 ± 2.3	16.6 ± 5.2	23.4 ± 6.54
豚	10	7.4 ± 0.95	0.80 ± 0.07	45 ± 2.8	19 ± 1.0	18 ± 2.3	18 ± 1.7	

±は S. D.

1) 豚

健康豚 10 頭における血清の蛋白分画平均値は総蛋白分画値 (TP) 7.4 ± 0.95 g/dl, A/G 比 0.80 ± 0.077 , アルブミン (Al) 分画 $45 \pm 2.8\%$, α_2 -グロブリン (α_2) 分画 $19 \pm 1.0\%$, β -グロブリン (β) 分画 $18 \pm 3.3\%$, および γ -グロブリン (γ) 分画 $18 \pm 1.7\%$ の値を示した。

2) 牛

健康黒毛和種 10 頭の血清蛋白分画平均値は TP 値 7.18

± 0.82 g/dl, A/G 比 0.87 ± 0.07 , Al 分画 $45.9 \pm 2.42\%$, α_2 分画 $14.5 \pm 2.32\%$, β 分画 $17.1 \pm 6.13\%$, および γ 分画 $22.3 \pm 4.82\%$ であった。同じく健康ホルスタイン種 10 頭の血清蛋白分画平均値は TP 値 7.27 ± 0.44 g/dl, A/G 比 0.85 ± 0.07 , Al 分画 $46.1 \pm 2.44\%$, α_2 分画 $13.2 \pm 1.15\%$, β 分画 $16.2 \pm 2.77\%$, および γ 分画 $24.5 \pm 4.63\%$ であった。この兩種間の有意差の検定を行なったところ、各総蛋白値、A/G 比および蛋白分画値間に差はみられなかったため、両者の平均値を算出した。(TP 値 7.23 ± 1.04 g/dl, A/G 比 0.86 ± 0.336 , Al 分画 $46.0 \pm 2.37\%$, α_2 分画 $13.8 \pm 2.31\%$, β 分画 $16.6 \pm 5.29\%$, γ 分画 $23.4 \pm 6.54\%$)

2. 疾病と畜の血清蛋白分画値

1) 豚 (表 3)

(1) 細菌性心内膜炎 (写真 1)

写真 1 豚の細菌性心内膜炎例

細菌性心内膜炎を認めた豚 3 例の血清蛋白分画平均値は TP 値 7.9 ± 0.42 g/dl, A/G 比は 0.29 ± 0.095 , Al 分画値 $22 \pm 5.1\%$, α_1 分画 $8 \pm 14.4\%$, α_2 分画 $21 \pm 12.3\%$, β 分画 $14 \pm 1.2\%$ および γ 分画は $35 \pm 6.0\%$ であった。

(2) 化膿性心のう炎

表 3 豚の疾病と畜における血清蛋白分画値

疾 病	頭数	TP (g/dl)	A/G 比	%				
				Al	α_1	α_2	β	γ
細菌性心内膜炎	3	7.9 ± 0.42	0.29 ± 0.09	22 ± 5.1	8 ± 14.4	21 ± 12.3	14 ± 1.2	35 ± 6.0
化膿性心のう炎	1	7.5	0.54	35		12	17	36
黄 疸	1	9.0	0.33	30	17	22	8	23
間 質 性 肝 炎	4	8.4 ± 1.30	0.57 ± 0.16	36 ± 4.2		18 ± 3.1	23 ± 3.5	23 ± 6.6
腸間膜リンパ節炎	2	6.5 ± 0.71	0.60 ± 0.09	38 ± 3.5		23 ± 2.1	23 ± 0.7	18 ± 0.7
肺 炎	1	7.8	0.80	43		22	20	15

±は S. D.

写真2 豚の黄疸例

肋膜炎由来の化膿性心臓炎を認めた豚の血清蛋白分画値は TP 値 7.9 g/dl, A/G 比 0.54, AI 分画 35%, α_2 分画 12%, β 分画 17% および γ 分画は 36% であった。

(3) 黄疸 (写真2)

重度な黄疸を認めた豚の血清蛋白分画値は TP 値 9.0 g/dl, A/G 比 0.33, AI 分画 30%, α_1 分画 17%, α_2 分画は 22%, β 分画は 8%, および γ 分画は 23% であった。

(4) 間質性肝炎

間質性肝炎を認めた豚4例の血清蛋白分画平均値は TP 値 8.4 ± 1.30 , A/G 比 0.57 ± 0.159 , AI 分画 $36 \pm 4.2\%$, α_2 分画 $18 \pm 3.1\%$, β 分画 $23 \pm 3.5\%$, および γ 分画は $23 \pm 6.6\%$ であった。

(5) 腸間膜リンパ節炎

非定型抗酸菌による結核様病変がみられた豚2例の血清蛋白分画平均値は TP 値 6.5 ± 0.71 g/dl, A/G 比 0.60 ± 0.092 , AI 分画 $38 \pm 3.5\%$, α_2 分画 $23 \pm 2.1\%$, β 分画 $23 \pm 0.7\%$ および γ 分画は $18 \pm 0.7\%$ であった。

(6) 肺炎

肺炎を認めた豚の血清蛋白分画値は TP 値 7.8 g/dl, A/G 比 0.80, AI 分画 43%, α_2 分画 22%, β 分画 20% および γ 分画は 15% であった。

2) 牛 (表4)

(1) 細菌性心内膜炎

細菌性心内膜炎牛3例の血清蛋白分画平均値は TP 値 6.9 ± 1.37 g/dl, A/G 比は 0.27 ± 0.112 , AI 分画 $21 \pm 7.1\%$, α_2 分画 $17 \pm 2.6\%$, β 分画 $15 \pm 2.0\%$ および γ 分画は $48 \pm 7.6\%$ で、 β - γ ブリッジが2例に認められた。

(2) 創傷性心臓炎

創傷性心臓炎を認めた牛3例の血清蛋白分画平均値は TP 値 7.1 ± 1.35 g/dl, A/G 比は 0.51 ± 0.249 , AI 分画 $33 \pm 1.04\%$, α_1 分画 $4 \pm 6.4\%$, α_2 分画 $15 \pm 8.3\%$, β 分画 $13 \pm 3.2\%$ および γ 分画は $35 \pm 2.9\%$ であった。

(3) 黄疸

黄疸を認めた牛4例の血清蛋白分画平均値は TP 値 7.7 ± 2.09 g/dl, A/G 比 0.53 ± 0.162 , AI 分画 $33 \pm 6.2\%$, α_1 分画 $9 \pm 10.1\%$, α_2 分画 $12 \pm 4.0\%$, β 分画 $13 \pm 2.1\%$ および γ 分画は $34 \pm 7.0\%$ であった。

(4) 肝膿瘍

肝膿瘍を認めた牛4例の血清蛋白分画平均値は TP 値 8.0 ± 1.39 g/dl, A/G 比 0.50 ± 0.135 , AI 分画 $31 \pm 6.6\%$, α_2 分画 $18 \pm 8.3\%$, β 分画 $22 \pm 4.8\%$ および γ 分画は $30 \pm 6.3\%$ で、 β - γ のブリッジが1例認められた。

(5) 肝てつ症

肝てつ症を認めた牛3例の血清蛋白分画平均値は TP 値 7.3 ± 1.21 g/dl, A/G 比 0.64 ± 0.190 , AI 分画 $38 \pm 7.5\%$, α_1 分画 $7 \pm 11.6\%$, α_2 分画 $11 \pm 3.6\%$, β 分画 $23 \pm 11.5\%$, および γ 分画 $21 \pm 6.4\%$ で、 β - γ ブリッジが1例認められた。

表4 牛の疾病と畜における血清蛋白分画値

疾 病	頭数	TP (g/dl)	A/G 比	%				
				AI	α_1	α_2	β	γ
細菌性心内膜炎	3	6.9 ± 1.37	0.27 ± 0.11	21 ± 7.1		17 ± 2.6	15 ± 2.0	48 ± 7.6
創傷性心臓炎	3	7.1 ± 1.35	0.51 ± 0.25	33 ± 1.04	4 ± 6.4	15 ± 8.3	13 ± 3.2	35 ± 2.9
黄 疸	4	7.7 ± 2.09	0.53 ± 0.16	33 ± 6.2	9 ± 10.1	12 ± 4.0	13 ± 2.1	34 ± 7.0
肝 膿 瘍	4	8.0 ± 1.39	0.50 ± 0.13	31 ± 6.6		18 ± 8.3	22 ± 4.8	30 ± 6.3
肝 て つ 症	3	7.3 ± 1.21	0.64 ± 0.19	38 ± 7.5	7 ± 11.6	11 ± 3.6	23 ± 11.5	21 ± 6.4
栄養失調症	4	7.0 ± 1.13	0.48 ± 0.12	32 ± 5.4	1 ± 2.4	12 ± 1.5	19 ± 2.4	37 ± 8.2
子宮蓄膿症	1	6.0	0.40	29		19	26	26

士は S. D.

(6) 栄養失調症

重度なさくそうがみられ、栄養失調が疑われた牛4例の血清蛋白分画平均値は TP 値 7.0 ± 1.13 g/dl, A/G 比 $0.48 \pm 0.123\%$, Al 分画 $32 \pm 5.4\%$, α_1 分画 $1 \pm 2.4\%$, α_2 分画 $12 \pm 1.5\%$, β 分画 $19 \pm 2.4\%$ および γ 分画は $37 \pm 8.2\%$ であった。また、A/G 比の低い2例に β - γ ブリッジがみられた。

(7) 子宮蓄膿症

子宮蓄膿症を認めた牛の血清蛋白分画値は TP 値 6.0 g/dl, A/G 比 0.40, Al 分画 29%, α_2 分画 19%, β 分画 26% および γ 分画 26% であった。

考 察

家畜における電気泳動法の応用は、人医領域のそれと比べ、日常飼育管理の把握が不十分なため、その正常値の決定は困難である。また、平沢は同一和牛の環境の変化による Al 分画および γ 分画の変化を報告している^{17, 19)}。

牛、ならびに豚の種別間の差異は α 分画値で、豚が若干高い傾向を示した。各疾病と畜の分画値と正常値との比較を行ない、その増減の有意差を検定し、表5に示した。まず、牛および豚の細菌性心内膜炎例では A/G 比, Al 分画, α_1 分画, α_2 分画および γ 分画において1%の危険率で有意に増減した。牛の創傷性心臓炎例では A/G 比, Al 分画, α_1 分画および γ 分画において

表5 各疾病と畜の血清蛋白分画値の増減

畜頭 種数	疾 病	TP	A/G	%				
				Al	α_1	α_2	β	γ
牛 3	細菌性心内膜炎	—	↓	↓	↑	—	—	↑
豚 3	細菌性心内膜炎	—	↓	↓	↑	—	—	↑
牛 3	創傷性心臓炎	—	↓	↓	↑	—	↓	↑
牛 4	黄 疸	—	↓	↓	↑	—	↓	↑
牛 4	肝 膿 瘍	—	↓	↓	—	—	—	↑
牛 3	肝 て つ 症	—	↓	↓	—	—	—	—
牛 4	栄養失調症	—	↓	↓	—	—	—	↑
豚 4	間質性肝炎	—	↓	↓	—	—	—	—

1%, また β 分画は5%の危険率で有意に増減した。牛の黄疸例では A/G 比, Al 分画, α_1 分画および γ 分画において1%, また β 分画では5%の危険率で有意に増減した。 α_1 分画は黄疸の程度によりその増減を認めた。牛の肝膿瘍例では A/G 比, Al 分画および γ 分画において1%の危険率で有意に増減した。牛の肝てつ症例ならびに豚の間質性肝炎例では A/G 比で1%, また Al 分画では5%の危険率で有意に減少した。牛の栄養失調例では A/G 比, Al 分画, および γ 分画では1%の危険率で有意に増減した。これらの成績は河合ら、三好ら、柴田らおよび山岡らの成績と一致した^{3, 13, 16, 20)}。

以上の所見から、限局性の疾病例では、有意差が認められるような著変を示さなかったが、細菌感染症例などの重度の全身性の疾病例では有意差を認めた。しかしながら疾病診断に際して本法のみでは判定は困難であるが、さらに臨床化学検査の併用により、診断がよりの確になされるものと確信する。とくに、と畜場で摘発される細菌性心内膜炎例は、本と畜場でも近年増加の傾向にあり²¹⁾、と殺前の血液検査の血清泳動所見から、本症の診断に成功した事例を得ており、今後その他の疾病についても、その生前診断の検討を行なう必要がある。

ま と め

広島市と畜場へ搬入された牛および豚の血清蛋白値について、セルローズアセテート膜の電気泳動法を行ない、以下のような成績を得た。

1. 豚の蛋白分画の平均正常値は TP 値 7.4 ± 0.95 g/dl, A/G 比 0.80 ± 0.077 , Al 分画値 $45 \pm 2.8\%$, α_2 分画値 $19 \pm 1.0\%$, β 分画値 $18 \pm 3.3\%$ および γ 分画値 $18 \pm 1.7\%$ であった。

2. ホルスタイン種および黒毛和種の蛋白分画平均正常値は TP 7.23 ± 1.04 g/dl, A/G 比 0.86 ± 0.33 , Al 分画値 $46.0 \pm 2.3\%$, α_2 分画値 $13.8 \pm 2.3\%$, β 分画値 $16.6 \pm 5.2\%$ および γ 分画値 $23.4 \pm 6.54\%$ であった。

3. 牛ならびに豚の心臓炎例では γ 分画の増加が著明で、また、黄疸例では A/G 比が減少し逆に α_1 分画値の増加がみられた。

4. 牛の肝膿瘍例では Al 分画が著明に増加し、栄養失調症例では A/G ならびに Al 分画値の減少がみられた。

なお、本稿の一部は 49 年度日本獣医公衆衛生学会(中国)において報告した。

稿を終るに際し、この調査研究を行なうにあたり終始ご援助を賜った当検査所長今田忠信氏に深謝します。

参 考 文 献

- 1) 電気泳動学会編：生物物理化学, 11, 267~269 (1966).
- 2) 亀谷 勉：日競研報, 6, 24~33 (1969).
- 3) 河合 忠：血漿蛋白, 医学書院, 東京(1973).
- 4) 永井 守, ほか：獣畜新報, 528, 18~20 (1970).
- 5) 永井 守, ほか：獣畜新報, 541, 17~18 (1971).
- 6) 永井 守, ほか：獣畜新報, 554, 20~21 (1971).
- 7) 永井 守, ほか：獣畜新報, 560, 22~23 (1972).
- 8) 永井 守, ほか：獣畜新報, 569, 26~28 (1972).
- 9) 永井 守, ほか：獣畜新報, 570, 18~20 (1972).
- 10) 永井 守, ほか：獣畜新報, 579, 20~21 (1972).
- 11) 野口弥市, ほか：獣畜新報, 588, 29~30 (1973).
- 12) 沼田 薫：日獣会誌, 25, 595~597 (1972).
- 13) 三好和崎：日本血液学全書, 319~398, 丸善, 東京(1963).
- 14) 小川恕人：臨床病理, 11, 46~66 (1970).
- 15) 島田保昭：獣畜新報, 500, 29~35 (1969).
- 16) 柴田

進, 和嶋 毅: 日本臨床, 311, 16~25 (1969). 17)
高橋 貢, 板垣 博: 家畜の臨床検査, 105~111, 医歯
薬出版, 東京. 18) 田中享一: 第3回家畜電気泳動法
講習会用テキスト (1974). 19) 友田 勇: 日獣学誌,

21, 337~348 (1962). 20) 山岡貞雄, ほか: 日競研
報, 8, 36~48 (1971).
21) 山岡弘二, ほか: 日獣会誌, 26, 604~607 (1973).

基 礎

ニューカッスル病の病理学的研究

IV. 宮寺株, 石井株ウイルス感染に基づく変化

加 藤 宏 光*

(昭和 50 年 9 月 26 日受付)

Pathological Studies on Newcastle Disease

IV. Lesions in Experimental Infection with American Type or Lentogenic Virus

HIROMITSU KATO^H (Osaka Municipal Poultry Experiment Station)

SUMMARY

Histopathological examination was carried out on 22 chickens inoculated intra-ocularly with the American type Newcastle disease (ND) virus and 30 chickens inoculated with intracerebrally or intra-aerisaccularly lentogenic ND virus. In the former birds changes of pneumoencephalitis appeared 7 days after inoculation. Other changes appeared in the bursa of Fab-

ricius (BF), thymus, spleen, bonemarrow, and ceca tonsils 1 day after inoculation. In the latter birds, changes in BF and spleen were milder than in the former. Lymphatic changes were the vanishment of lymphocytes and activation of reticular cells in both groups of chickens.

ニューカッスル病 (ND) ウィルスはその病原性により強毒 (いわゆるアジア型) 株, 中間毒 (アメリカ型または肺脳炎型) 株および弱毒株の3つに大別されている。著者はND病変の本質的性格を明らかにするために, アジア型 2440 株人工感染鶏のリンパ系, 呼吸器系の变化, 野外症例の中枢神経系病変を検索してきた^{9,10}。

今回はわが国で分離・同定された肺脳炎型宮寺株および弱毒型石井株を用いた感染実験を実施した。

中間毒株による病変については肺や脳を中心として種類の報告例を見るが, 本実験の目的は肺脳炎型ウイルス感染に基づく病変をすでに本誌において報告した強毒株¹⁰や弱毒株による変化と対比, 検討することにある。

材料および方法

ウイルス材料: [宮寺株] 農林省家畜衛生試験場より分与をうけ, 9~11 日齢発育鶏卵に 73 代継代した尿腔液を Earle 液 (pH 7.2) で $10^{6.5}$ ELD₅₀/0.1 ml に希釈して用いた。

[石井株] 農林省家畜衛生試験場より分与をうけ 9 日齢発育鶏卵に 2 代継代した尿腔液を用いた。感染価は

$10^{6.0}$ TCID₅₀/0.1 ml とした。

各ウイルス液には 200 μ g の dehydrostrept mycin と 200 IU の penicillin-G を添加した。

供試ヒナ: ND ウィルスの赤血球凝集阻止 (NDHI) 抗体価 5 倍以下の白色レグホン系オスヒナで 34 日齢のもの 21 羽, 20 日齢のもの 30 羽を供した。

ウイルス接種および検索法: 34 日齢ヒナの左眼に宮寺株ウイルス液を 1 羽宛 0.02 ml ずつ滴下し吸収を確認した。

20 日齢ヒナを脳内接種 (IC) 群 16 羽, 気嚢内接種 (IA) 群 14 羽の 2 群に分け, IC 群は右大脳前部, IA 群は右後胸気嚢内に 1 羽宛 0.02 ml ずつ石井株ウイルス液を接種した。

接種鶏について毎日症状を観察しつつ経時的に殺処分剖検し, 各臓器を 10 倍フォルマリン水で固定後パラフィン切片となし, ヘマトキシリン・エオジン重染色をほどこして病理組織学的に検索した。調べた器官はファブリウス囊 (BF), 胸腺, 脾臓, 骨髄および盲腸扁桃等のリンパ系臓器で, 他に肺, 脳も検査した。剖検に際し気管・気嚢に肉眼病変を認めた例について培養と血清反応で *Hemophilus gallinarum*, *Mycoplasma gallisepticum* の陰性を確認した。

* 大阪市立家禽試験場一現在上野製薬株式会社研究所 (伊丹市東有岡1-127)