GAN, G. N., et al.: *Fd. Cosm. Toxicol.*, 10, 61~69(1972). 19) SCHANK, R. C., GORDON, J. E., et al.: *Fd. Cosm. Toxicol.*, 10, 71~84 (1972). 20) SCHANK, R. C., BHAMARAPRAVATI, N., et al.: *Fd. Cosm. Toxicol.*, 10, 171~179 (1972).

21) SCHANK, R. C., SIDDHICHAJ, P., et al.: *Fd. Cosm. Toxicol.*, 10, 181~191 (1972). 22) SHOTWELL, O. L., HESSELTINE, C. W., BURMEISTER, H. R.: *Modern Cereal Chemistry*, 46, 446~454 (1969). 23) SHOTWELL,

O. L., HESSELTINE, C. W., BURMEISTER, H. R., KWOLEK, W. F., SHONNON, G. M. and HALL, H. H.: *ibid.*, 46, 454~463 (1969). 24) 鶴田 理, 真鍋 勝, 杉本真三, 南沢正敏: 食糧研報告, 27, 47~52 (1972) 25) 鶴田 理, 杉本真三, 南沢正敏, 真鍋 勝: 日菌報, 15, 258~265 (1974). 26) VAN WARMELO, K. T.: *Onderstepoort, J. Vet. Res.*, 34, 439~450 (1967). 27) WOGAN, G. N. and NEWBERNE, P. M.: *Cancer Research*, 27, 2370~2376 (1967).

家畜衛生

クエン酸ナトリウム加血漿による馬インフルエンザ HI テストの検討

(第1報)

成井淑昭* 田所章臣* 木原良之* 木村 進* 草川恭次* 矢後啓司**

(昭和51年3月26日受付)

Studies on Equine Influenza Hemagglutination Inhibition Test with Citrated Blood Plasma

YOSHIKAKI NARUI, A. TADOKORO, Y. KIHARA, S. KIMURA, K. KUSAGAWA and K. YAGO

(Yokohama Livestock Hygiene Service Center, Prefecture of Kanagawa)

SUMMARY

Blood plasma with an addition of 10% sodium citrate, which had been used for the blood test of equine infectious anemia, was applied to the hemag-

glutination inhibition test of equine influenza with satisfactory results.

はじめに

今回われわれは、馬インフルエンザのHIテストに従来から用いられている血清にかわって、馬伝染性貧血の血液検査後、使用済みとなったクエン酸ナトリウム加血漿が利用できないかどうか検討するため、59頭の同一馬の血清および血漿について、2, 3の条件下においてHIテストを実施し、得られた抗体価について比較した。

材 料 と 方 法

1) 使用抗原: 馬インフルエンザウイルス, マイアミ株感染発育鶏卵漿尿液をエーテルで処理し, HA価1,024倍のものを8単位に生理食塩液で希釈して用いた。

2) 採血馬: 昭和50年5月, 川崎市小向厩舎に繋留されていた3~4才の競走馬677頭中, ランダムに抽出した59頭で, 馬インフルエンザワクチンを年1回接種されたものである。

3) 供試血清および血漿: 血清は採血後3,000rpm 10分遠心して分離したものをを用い, 血漿は家畜伝染病予防法施行規則¹⁾に従い, 10%クエン酸ナトリウムと血液を

1:10の割合になるように採血し, 血漿をチヨッケ試験管より小試験管に移し, 2,000rpm 10分遠心した上清で, フリーザーに保存した。

いずれも62℃, 30分加熱して用い, また一部の試験にはさらに等量の25%カオリン溶液による処理を実施した。

4) HI反応: 農林省で指示された方法²⁾に準じたが, 主としてマイクロタイター法により行なった。

抗原と血清あるいは血漿との感作は, 37℃ 60分(以下37℃感作と略す)および4℃ 60分(以下4℃感作と略す)とした。また, 抗原とカオリン処理した血清あるいは血漿との感作は, 4℃ 60分(以下カオリン処理4℃感作と略す)とした。

なお, ニワトリ赤血球を0.7%になるように生理食塩液で浮遊させたものを, HI反応用の血球液として用いた。

試 験 成 績

1. 各試験条件でのHI価の比較

図1に示したように, 37℃感作でえられたHI価のGM値とその信頼幅(99%)は, 血清で9.25(4.73~18.08), 血漿で8.13(4.26~15.5)となり, 4℃感作では

* 神奈川県横浜家畜保健衛生所(横浜市緑区三保町)

** 神奈川県家畜病性鑑定所(神奈川県大和市中央5-1-7)

図1 各条件による HI 価の GM 値 (99% 信頼幅)

血清で 6.53 (3.20~13.56), 血漿で 5.52 (3.0~10.1) さらに, カオリン処理 4°C 感作では血清で 5.26 (3.0~9.13), 血漿で 4.20 (2.53~6.98) となった。

このような結果から, 37°C 感作のほうが 4°C 感作より高い GM 値がえられたこと, 37°C 感作および 4°C 感作とも血清の GM 値が血漿の GM 値より約 1.0 高いこと, さらにカオリン処理を行なった場合, GM 値が未処理にくらべ約 1.3 低下したことがわかった。

しかしこれら各試験条件間に有意差 (1% 危険率) は認められなかった。

2. 各試験条件での HI 価の相関関係

図 2 に示すように, 各試験条件別の血清間の比較にお

図2 各試験条件での HI 価の相関関係

いてはすべて相関が認められ, 4°C 感作とカオリン処理 4°C 感作が相関係数 (以後: r と略す) 0.9430 と高い値を示した。血漿間においてもすべて相関が認められ, 血清と同様 4°C 感作とカオリン処理 4°C 感作の間に $r = 0.9501$ と高い値がみられた。

また血清と血漿の比較においても相関が認められ, なかでも 4°C 感作血漿と 4°C 感作血清で $r = 0.9653$, カオリン処理 4°C 感作血清との間に $r = 0.9637$ と高い相関係数を示し, この結果, 試験した各条件下で得られたすべての成績の間に有意の相関 (99%) が認められた。

3. 各試験条件による血清と血漿の HI 価の関係

図 3-1 は各試験条件による血清と血漿の関係を示し, 破線は $y = x$ を示している。血清を x 軸にとり回帰線を引くと, 37°C 感作においては血清が 2^{10} の時, 血漿は $2^{8.23}$ で血清より低い値を示した。

この傾向は 4°C 感作およびカオリン処理 4°C 感作で

図 3-1 各試験条件による血清と血漿の関係

も同様で, 4°C 感作血漿は $2^{8.32}$, カオリン処理 4°C 感作は $2^{8.68}$ と, 各試験条件における血清と血漿の値には約 1.5 ランクの差が認められた。

図 3-2 は従来から馬インフルエンザの HI テストで実施されている 37°C 感作と, 今回の 4°C およびカオリン処理 4°C 感作を血清について比較したものである。

図 3-2 上図: 37°C 感作血清と各試験条件による血清との関係

下図: 37°C 感作血漿と各試験条件による血漿との関係

37°C と 4°C 感作では前者が 2^{10} の時, 後者は $2^{8.34}$ と低い値を示した。

37°C とカオリン処理 4°C 感作では, 後者は $2^{8.86}$ を示して低く, 4°C 感作よりさらに低い値を示した。

図 4-2 は血漿の 37°C 感作と各試験条件による比較である。

血清の場合とはほぼ同様の数値を示し, 37°C 感作が 2^{10} のとき, 4°C 感作は $2^{8.58}$ と低く, カオリン処理 4°C 感作では $2^{6.91}$ であった。

また各試験条件による血球凝集像は血清, 血漿とも,

図4 4°C 感作血漿と各試験条件の血清および血漿との関係

37°C感作に比べ、4°C 感作の方が明瞭で、判定が容易であった。

4. 4°C感作血漿のHI価とその他のHI価の関係

前試験で 4°C 感作血漿の値は血清の 4°C 感作およびカオリン処理 4°C感作の値と高い相関を示し、4°C 感作の凝集像が明瞭なことから、4°C 感作血漿を x 軸にとり、37°C 感作血漿および血清、4°C感作血清、カオリン処理 4°C感作血清の回帰線を求めて比較した(図4)。

4°C 感作血漿が 2^0 の時、37°C 感作血清が $2^{1.19}$ と一番高い値を示し、約1ランク違い、また 2^{10} の時は4°C 感作血清が高い値を示し、 $2^{11.37}$ で約1ランク位の差で推移した。

ま と め

59 頭の同一馬の血清と血漿について、2, 3の条件下で馬インフルエンザのHI試験を行ない、つぎの成績が得られた。

1. 各試験条件によるHI抗体価のGM値を比較すると、血清が血漿より約1.0高い値を示したが、各条件間に有意差は認められなかった。

2. 各試験条件によるHI価の相関関係は4°C感作での血漿と血清、またはカオリン処理4°C感作での血清との間に高い相関を示し、それぞれの間に有意の相関(99%)が認められた。

3. 血清について、各試験条件と従来実施されている37°C感作の関係を回帰線を用い信頼度99%で推定すると、各試験条件のうち37°C感作が最も高い値を示した。この傾向は血漿についても同様であった。

4. 4°C 感作での血漿と血清との間には高い相関がみられ、凝集像が明瞭であったことから4°C感作血漿をベースに37°C 感作血漿および血清、4°C 感作血清、カオリン処理4°C感作血清の回帰線を用いて各試験条件を推定した結果、約1管程度の差で推移した。

以上の成績から、10%クエン酸ナトリウム加血漿を馬インフルエンザのHIテストに使用可能と思われた。

今後、ウイルス株、クエン酸ナトリウムの量、反応時間等につき、さらに検討を加えていきたい。

[本論文は昭和50年度日本獣医畜産学会(東京)褒賞論文である]

参 考 文 献

- 1) 農林省：家畜伝染病予防施行規則(省令第35号)(1951)。
- 2) 農林省：馬インフルエンザの防疫措置について(1972)。

日 獣 の 図 書

増補改訂 技術の手引き 12
 家畜衛生に必要な——

臨 床 生 化 学 的 検 査 法

農林省家畜衛生試験場 飯塚・伊出・新林・元井・山本共著

定 価 1,800 円(送料160円) A5版 232 頁 図表写真多数挿入

臨床、家畜衛生はじめ、獣医業務各分野の必携としておなじみの

技術の手引き 12「家畜衛生に必要な——臨床生化学的検査法」

の内容の一部を増補改訂した斯界の斬新図書。

(主なる増補改訂内容)

第3章 一般血液検査法。電子血球計算装置に 1) 自動血球計算器による測定方法を加える。

第4章 血液定量的検査の VII. 血清カルシウムの定量に [2. 比色法] XII. 血清クロールに [3. Dichlorofluorescein 法]を加え、XX. 臨床化学分析の精度管理 [1. 外部精度管理法——

1) プール血清による精度管理図 2) 管理血清による精度管理図——2. 内部精度管理法 3. 管理図のみかた 4. 正確度の管理]を新たに加える。

その他、一部字句、誤植等の訂正をなす等、最新の獣医学術の実用化に努め、さらに斬新性を加え、内容の充実を期した。

発 行 日 本 獣 医 師 会

東京都港区南青山 7-2-10 (〒107) 電話 東京 (03) 406-5271 郵便振替 東京 6-68304 番