

14. NAD非添加で発育する *Mycoplasma synoviae*(MS)株を用いた赤血球凝集阻止法 (HI法)

豊後大野家畜保健衛生所

○加藤洋平・(病鑑) 河上友・丸山信明・(病鑑) 長岡健朗

【はじめに】鶏のマイコプラズマ (マイコ) の検査法として急速平板凝集法 (RSA) による抗体検査が一般的に行われている。RSAは簡便で迅速な反面、様々な原因により非特異反応が出ることも知られている。当家保でも本年4月に行った種鶏場 (A)での衛生検査でMSの凝集を確認したため、感染の有無を確認するため気管スワブでのPCR検査を実施したところ、陰性であり凝集は非特異反応であったものとして判断した。今後、同様な例に遭遇した際、血清材料で非特異反応か否かの判断を可能とするため、NAD非添加で発育するMS株を用いたHI法を検討し一定の成果を得たので報告する。

【材料および方法】1. MSの分離：B、C、Dの3農場より気管スワブをそれぞれ20、30、10検体を採取した。スワブのPBS洗い出し液を4,000rpm10分間遠心分離し、その上清をFrey培地に接種し37°Cで培養した。コンタミネーションがなく、発育による培地pHの低下が見られたものについては0.45 μ mフィルターで濾過を行った後に新たな培地に継代、さらにpHの低下が見られたものをマイコ分離陽性とした。分離マイコについてはPCR法で同定した。2. 高いHA価を得るための培養条件の検討：C由来分離MSのうち8株についてそれぞれNAD添加およびNAD非添加Frey培地に接種、37°Cで培養、8時間ごとのHA価の推移を比較した。3. HI試験：A、B、C、及びDの4農場由来の血清それぞれ14、10、5、10検体について、分離MSの新鮮培養を用いたHI法 (OIE Terrestrial Manualによる) による抗体検査を行った。

【成績】1. Bからは *Mycoplasma gallisepticum*(MG) 1検体、MS6検体、不明3検体が分離された。またCからはそれぞれ、1検体、25検体、2検体が分離され、Dからは不明5検体が分離された。B由来株はNAD添加培地でのみ発育したが、C由来株はNAD非添加培地でも発育した。2. 比較した8株は様々なHA価の推移を示したが、もっともHA価の上昇が著しかった株ではNAD非添加培地での44~68時間培養で64倍のHA価を示した。従って、この条件での培養を用いてHI試験を行うこととした。3. B、C、Dの抗体価はそれぞれGMT価が183.8、100.8、<20であった。一方、Aの抗体価はすべて<20であり、当初の凝集は疑陽性であったと判断された。

【考察】通常、MSの培養にはNADが必要であり培養にはNADとそれを還元型に変えるためのシステインを添加する。今回Cから分離されたMSはNADやイーストエクストラクトといったNAD源を添加しなくても発育し、また、高いHA価を安定して示す株もあった。鶏マイコのHI試験は遠心分離により濃縮したマイコを冷凍保存しHA素とする方法と新鮮培養液をHA素とする方法があり、前者は非特異反応が出やすい、後者は安定したHA価が出しにくいという欠点がある。今回分離したMS株はNAD等を添加しなくても培養が可能であり、また安定して高いHA価を示すので、HI試験のためのHA素として好適である。今後もRSAの非特異反応の識別等に利用したい。