

*Mycoplasma synoviae*血清平板凝集反応における馬血清混合による非特異反応除去

県央家畜保健衛生所

池田 知美 近田 邦利
松本 英子 和泉屋 公一
安藤 正樹

はじめに

Mycoplasma synoviae (MS) は、鶏マイコプラズマ病の原因菌のひとつで、慢性呼吸器病や関節炎を引き起こす。*Mycoplasma gallisepticum* と比較して病原性は弱いものの、2007年の世界家禽獣医学会でオランダのランドマンらが多大な経済的損失を与える卵殻尖端部異常との関係を報告するなど、近年、卵殻異常との関係が指摘されている。管内で7戸延300羽を対象に実施した抗体保有状況調査の結果(図1)では、羽数ベースで7割以上が陽性であり、広く野外に浸潤していると考えられる。

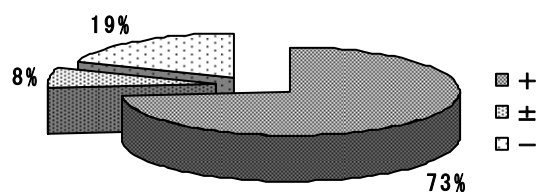


図1 MS抗体保有状況

MSの抗体検査を行う場合、主に血清平板凝集反応(SPA)が用いられているが、この検査法は様々な原因で非特異反応が出現する^{1) 2) 3) 4)}。

SPA実施の際、被検血清に異種動物の血清を混合すると非特異反応が除去できるとの報告^{4) 5)}があり、今回、馬血清混合による非特異反応除去を実施し、SPAの非特異反応について検討した。

材料と方法

1 馬血清混合量による比較

MSのSPAを実施する際、被検血清に馬血清を等量混合すると非特異反応が除去できるとされている^{4) 5)}。一方で、等量混合による希釈で反応が弱まるのを懸念して、被検血清に対して馬血清1/5

量を混合して実施している機関もある。

そこでまず最初に、非特異反応を除去するために馬血清を混合した場合の、希釈の影響等を確認するための試験を行った。

(1) 材料

被検血清は、管内7戸延141羽（41～566日齢）の採卵鶏のものを使用した。非特異反応除去処理には市販の馬血清を非働化して使用し、マイコプラズマ・シノビエ急速診断用菌液を用いてSPAを実施した。

(2) 方法

被検血清に対して、①PBSを等量混合、②馬血清を1/5量混合、③馬血清を等量混合したも
のについて、SPAを実施し、陽性または疑陽性と判定した割合（凝集率）を算出し、結果をカ
ップの係数を用いてそれぞれの結果の一致度について分析した。

2 日齢による比較

管内の1農場で、卵殻尖端部の異常が多発しているとの稟告を受け、同一個体について127日齢～
204日齢まで、MSの追跡調査を実施したところ、SPAの結果から若齢時に非特異反応が多い傾向
が見られた。そこで、非特異反応と日齢との関係を調べるため、日齢を100日ごとに3グループにわけ、
各グループについて、被検血清のみおよび馬血清等量混合の2パターンでSPAを実施した。

(1) 材料

被検血清は、管内7戸延201羽（9～566日齢）の採卵鶏のものを使用した。非特異反応除去処理
には市販の馬血清を非働化して使用し、マイコプラズマ・シノビエ急速診断用菌液を用いてSP
Aを実施した。

(2) 方法

A：100日齢未満、B：100日齢以上200日齢未満、C：200日齢以上の3グループにわけ、それ
ぞれ被検血清のみおよび馬血清等量混合の2パターンでSPAを実施し、凝集率を比較した。ま
た、それぞれについて、被検血清のみで陽性だった血清のうち馬血清等量混合で陰性に転じたも
の、つまり、非特異反応であったものの割合（非特異反応率）を比較した。

成 績

1 馬血清混合量による比較

馬血清混合量別の凝集率を図2に示した。血清のみでは、91.5%の凝集率であったが、①P B S等量混合では88.7%、②馬血清1/5量混合では75.2%、③馬血清等量混合では64.5%となった。

病性鑑定マニュアルでは、馬血清等量混合で非特異反応が除去できるとされていることから、馬血清等量混合の結果を正しいものとして、その他の結果との一致度をカップの係数を用いて数値化したところ、表1のような結果となった。馬血清等量混合と血清のみとの一致度は0.29、P B S等量混合との一致度は0.38と低く、馬血清1/5量混合では0.75とやや高いものの、完全には一致しなかった。

血清のみでの結果とP B S等量混合での結果の一致度は、0.84と非常に高かった。

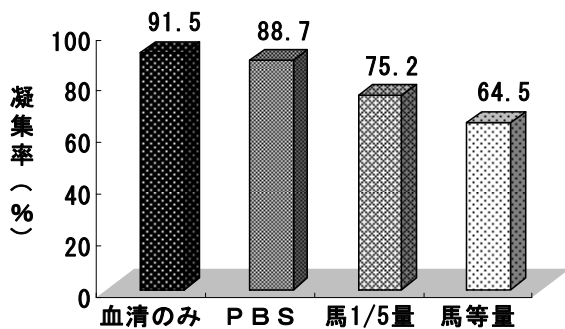


図2 混合量別凝集率

表1 結果の一致度

	血清のみ	PBS等量	馬1/5量
馬等量	0.29	0.38	0.75
血清のみ		0.84	

2 日齢による比較

日齢別の血清のみでの凝集率と馬血清等量混合での凝集率を図3に示した。血清のみでの凝集率は、A : 53.7%、B : 86.7%、C : 100%であったのに対し、馬血清等量混合での凝集率はA : 19.5%、B : 52.5%、C : 100%であり、日齢の低いA・B両群で結果に差があった。

非特異反応率 (図4) は、A : 63.6%、B : 39.4%、C : 0%であった。

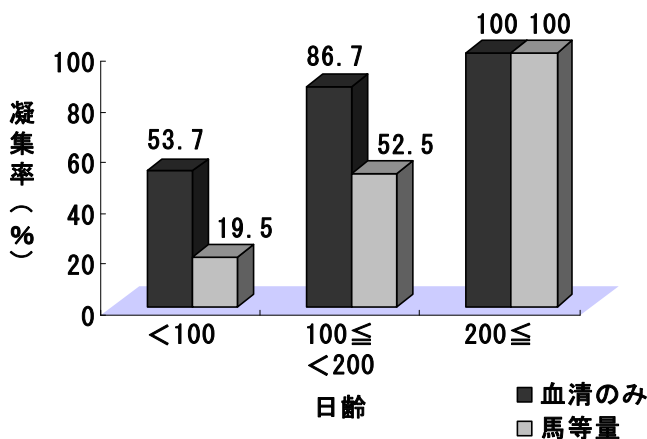


図3 混合量別凝集率

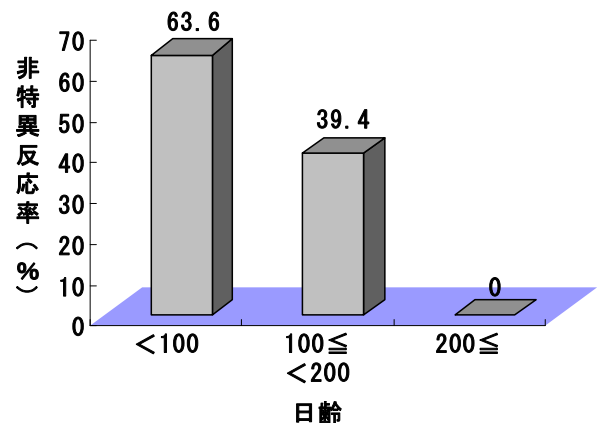


図4 非特異反応率

考 察

馬血清混合量による比較の際に用いたカッパの係数は、その数値を評価する際、表2のような目安がある⁷⁾。この目安によると、被検血清に対して馬血清を1/5量混合した場合の係数0.75は、その評価は「substantial (かなりよい)」となるものの、「almost perfect agreement (ほとんど完全)」とはならず、非特異反応が十分に除去されていない可能性がある。

一方で、血清のみでの結果とP B S等量混合での結果の係数0.84は非常に高く、その評価は「almost perfect agreement (ほとんど完全)」となり、物理的な希釈による影響は少ないと考えられる。

また、日齢別の凝集率は、日齢の低いA・Bの二つの群では血清のみと馬等量混合の結果に開きがあり、非特異反応率は日齢が低いほど高率となったことから、若齢のものほど非特異反応が多い傾向が見られた。

伝染性ファブリキウス嚢病の不活化ワクチンや、ニューカッスル病オイルアジュバントワクチンをはじめ、各種ワクチン接種により非特異反応が起こることはすでいくつかの報告^{1) 3) 4)}がある。また、ワクチン接種のほかにも、ロイコチトゾーンなど各種微生物の感染も、非特異反応を引き起こすことがある²⁾。

1988年の内田らの報告⁶⁾では、種鶏群での非特異反応は30週齢前後に多く、その原因は産卵開始に伴う飼育環境や飼料・ホルモン等の変化が考えられるとしている。今回の調査では、200日齢未満の若齢群に非特異反応が多く出ているが、これは1988年当時の生ワクチン主体のワクチネーションと、オイルアジュバントワクチンが普及し様々な多価ワクチンも使用されている現在のワクチネーションとの違い、調査対象（種鶏とコマーシャル鶏）の違いなどがあり、単純に比較するのは難しいと思われる。

また、MGオイルアジュバントワクチンによりMSのSPA陽性率が上昇すること⁵⁾も考えると、被検鶏群のワクチン接種歴はMSのSPAの結果に大きく影響を及ぼすと思われる。

これらのことから、非特異反応が出現する可能性が高い鶏群、具体的には、各種ワクチンの接種後やMS野外感染の可能性の低い若齢鶏群を検査する場合は、被検血清に馬血清を等量混合して非特異

表2 カッパの係数 評価目安

係 数	評 価
0～0.2	slight(わずか)
0.2～0.4	fair(あまりよくない)
0.4～0.6	moderate(中等度)
0.6～0.8	substantial(かなりよい)
0.8～1.0	almost perfect agreement (ほとんど完全)

反応を除去してからSPAを実施する必要がある。

MSのSPAは、簡便、高感度で、現場レベルでの浸潤状況の把握には有用だが、今回の結果をふまえて、非特異反応の出現を考慮したうえでの実施と対応を考えることが重要である。

引用文献

- 1) 荻野博明ら：鶏病研究会報、第31巻3号、167-170（1995）
- 2) 尾崎裕昭ら：平成17年度全国家畜保健衛生業績抄録、14（2006）
- 3) 平野千春：鶏病研究会報、第25巻4号、238（1989）
- 4) 飛鷹茂忠ら：鶏病研究会報、第23巻1号、31-36（1987）
- 5) 佐藤静夫：鶏病研究会報、第22巻増刊号、31-37
- 6) 内田幸治ら：鶏病研究会報、第24巻2号、68-71（1988）
- 7) 山根逸郎：獣疫学実用ハンドブック、40、チクサン出版（2005）