

公-3

各種動物の血漿中エンドトキシン活性値測定のための前処理条件の検討

○大塚まりな¹⁾ 鈴木一由¹⁾ 能田 淳²⁾ 柳澤牧央³⁾ 飯間裕子⁴⁾ 外平友佳理⁵⁾ 椿下早絵⁶⁾ 土谷正和⁷⁾

1) 酪農大生産動物医療学 2) 酪農大衛生・環境学 3) 沖縄美ら島財団 4) 釧路市動物園

5) 到津の森公園 6) 酪農大獣医保健看護学 7) Microbial Solutions, Charles River

【はじめに】生体試料中のエンドトキシン活性値の測定は、試料中のプロテアーゼなどに干渉を受けるために希釈およびまたは加熱処理が必要となるが、動物種によって前処理方法が異なるものと思われる。本研究では、各種動物種の血漿中エンドトキシン活性値測定のための前処理条件として、特に加熱処理方法について検討した。

【材料および方法】トラフザメ、アオウミガメ、タンチョウ、ハイイロオオカンガルー、サラブレッド種馬、およびホルスタイン種乳牛の各3個体から採血した。血液はヘパリン添加真空採血管に保存して常法で血漿を分離した後、測定まで-30℃以下で保存した。血漿はエンドトキシンフリーウォーターで20倍希釈後、それぞれ60、70および80℃で、0、5、10および15分間加温した。加温処理血漿とこれに0.03 EU/mlのエンドトキシンを添加した血漿のエンドトキシン活性値はLimulus Amebocyte Lysate (LAL) -カイネティック比濁時間法 (KTA) により測定し、添加回収率 (%) を算出した。FDAのエンドトキシン検査における回収率の推奨範囲は50%から200%であり、この推奨範囲に基づいて適切な前処理条件を求めた。

【成績】回収率のパターンは、板鰓類、爬虫類と鳥類、および哺乳類の3パターンが得られた。他の動物種では加温処理をしなければ19%以下の回収率を示したのに対して、トラフザメでは加熱処理をしなくても96.3±22.7%の回収率を示し、加温による変化はみられなかった。トラフザメを除く他の動物種では、60℃で加温しても満足のいく回収率は得られなかった。アオウミガメおよびタンチョウでは、70℃および80℃の加温時間による変化は同じで、5～15分の回収率はほぼ変化はなかった。カンガルー、ウマおよびウシでは70℃、5分の加温処理をしても満足のいく回収率は得られなかったが、80℃では5、10および15分の加温時間でそれぞれ基準範囲内の回収率が得られた。

【考察】本研究では、板鰓類であるトラフザメでは加温処理の必要性を認めなかったが、爬虫類および鳥類では70℃、哺乳類では80℃で安定した回収率が得られたことから、それぞれ20倍希釈した血漿サンプルを前者は70℃、後者は80℃、10分の加温処理がエンドトキシン活性値測定の前処理条件として適切であることが示唆された。