

(3) めん羊、山羊

その2

病名	1985		1986		1987		1988		1989	
	P/S	%	P/S	%	P/S	%	P/S	%	P/S	%
- Brucellosis	0/48		0/40		0/258		0/109		0/203	
- Melioidosis			13/251	5.18	21/713	2.94	31/266	11.65	0/437	
- CAE					10/76	13.16	23/104	22.12		
- Pasteurella hemolytica							44/220	20		
- Toxoplasmosis	0/45		55/194	28.35	56/259	21.62				
- Johne's disease					0/7					
- PVT 3 infection					0/466					

(4) けわとり

病名	1985		1986		1987		1988		1989	
	P/S	%	P/S	%	P/S	%	P/S	%	P/S	%
- Newcastle Disease ⁺	656		1,473		260		579		970	
- Infectious coryza	14/166	8.43	28/317	8.83	40/122	32.79	1/171	0.58		
- Mycoplasma gallicepticum infection	109/236	46.19	809/1,442	56.40	689/1,271	54.21	179/395	45.32	99/399	24.81
- Mycoplasma synoviae infection	134/207	64.73	827/1,327	62.32	294/804	36.57	1/82	1.22	7/25	28.00
- Salmonella pullorum infection	25/232	10.77	85/1,131	7.52	68/634	10.73	6/630	0.95	26/738	3.52
- EDS			0/26		0/10		95/205	46.34	21/41	51.22
- Leucoaytozoonosis			64/337	18.99	3/170	1.76	26/335	7.76	77/510	15.10
- IBD	1/2	50	56/136	41.18	3/8	37.5	15/58	25.86	73/311	23.47
- IB										

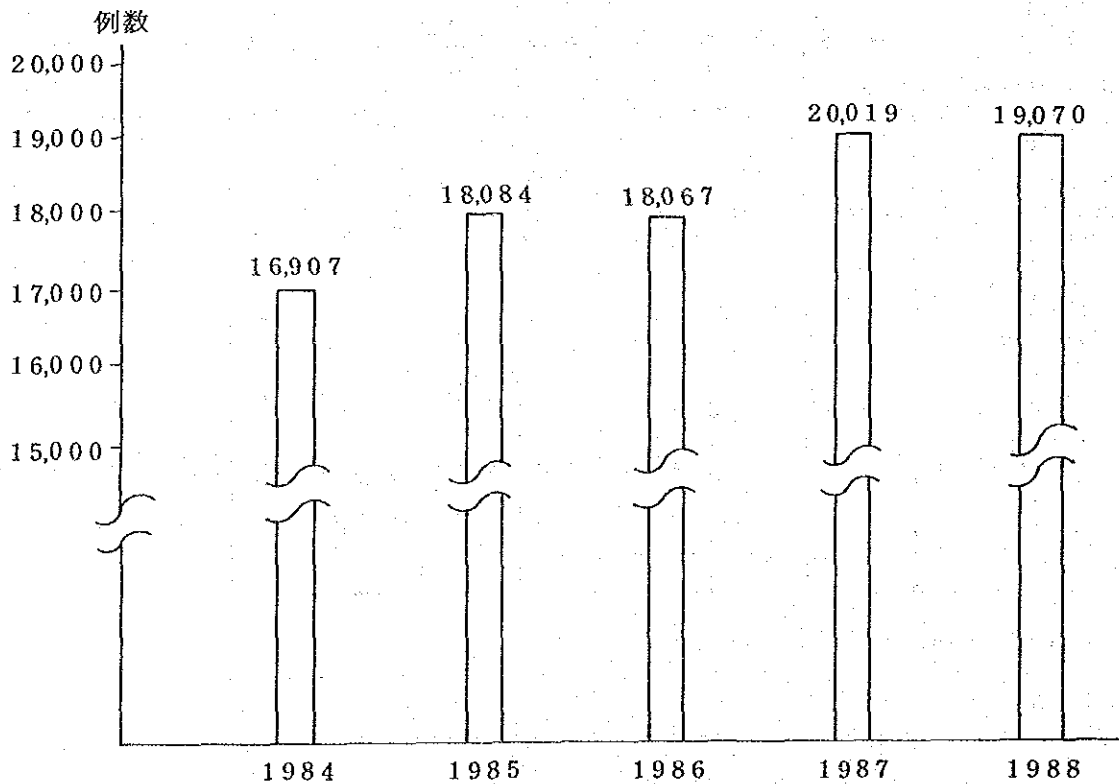
* Check titer

(5) 馬

病名	1988		1989	
	P/S	%	P/S	%
Equine Infectious Anemic	1/5	6.67	0/12	

2.4. 病理室の業務実施状況

種 別 \ 年	1984	1985	1986	1987	1988
- Autopsy carcass	1,217	1,263	1,418	1,287	1,253
- Organ's trimming	6,755	7,533	7,044	8,741	8,211
- Histological slide preparation	2,806	2,737	2,808	2,250	2,143
- Histological slide examination	2,806	2,737	2,808	2,250	2,143
- Clinical pathological examination	1,755	1,646	3,145	2,922	2,825
- Other examination	1,568	2,168	844	2,569	2,495
計	16,907	18,084	18,067	20,019	19,070



25. 中毒・生化学室の業務実施状況

区 分 \ 年	1988	1989
No. of owners (cases)	104	74
No. of animal (heads)	923	378
No. of samples (pieces)	3,132	2,675

区 分 \ 年	1988	1989
1. Mineral checking	1,034	898
2. Substrat checking	1,185	1,127
3. Enzymes checking	876	580
4. Metallic poison checking	37	-
5. Insecticides checking	-	67
6. Herbicides	-	1
7. Urinalysis	-	2
計	3,132	2,675

註) 当該室は1987年11月から発足した。

26. 実験動物の飼育頭羽数

家畜別	1985		1986		1987		1988		1989	
	MT	MA	MT	MA	MT	MA	MT	MA	MT	MA
実験用鶏	628	52.3	2,486	207.2	3,444	287	764	63.7	354	29.5
採卵鶏							667	55.6	737	61.4
卵							-	-	-	-
マウス	4,460	371.7	4,460	371.7	5,051	404.2	4,529	377.4	5,940	495
モルモット	53	4.4	440	36.7	854	71.2	481	40.1	357	29.7
兎	505	42.1	778	64.9	848	70.7	597	49.8	320	26.7
馬	12	1	12	1	12	1	12	1	12	1
羊	132	11	84	7	72	6	94	7.8	97	8.1
山羊	-	-	-	-	12	1	12	1	12	1
牛	24	2	24	2	24	2	24	2	24	2

註 1) MTは12ヶ月の合計, MAは月平均を示す。

27. 重要疾病に対するコントロール（対策）

その1

病名	区分	予 防	防 止 & 治 療	備 考
(牛及び水牛)				
1. アナプラズマ病		ダニのコントロール	10-16日間オキシテトラサイクリンの投与又は dipping	ワクチンなし
2. バベシア病		ダニのコントロール	Ganaseg [®] , Berenil [®] による治療	"
3. ブルセラ病		ワクチネーション (参考:備考)	検査と撲滅	南部における陽性率は1%以下であり、ワクチンの備用は推奨していない
4. コクシジウム症		雨期に集中的に群のサ-ベランスを行う	Sulfonamides による治療	
5. 皮膚病		同 上	ペニシリンと局所の消毒による治療	
6. 肝 蛭 病		1. 流岸地域の河川の近くで牛の飼育を避けること 2. アヒル飼育のように環境を変えること	1) 農家の指導啓蒙 2) 硫酸銅によるヒメモンアラガヒの殺滅 3) 治療	ある地域では風土病的で、経済的消耗が著しい
7. 口 蹄 疫		ワクチネーション	1) 検 査 2) 移動制限 3) 撲 滅	タイ南部はFMDフリーゾーンである。

病名	予 防	防 圧 & 治 療	備 考
8. 出血性敗血症	ワクチン接種プログラムの完全実施	1) 動物をストレスから守る 2) 移動制限 3) 有効な抗生物質又はサルファ剤による治療	南部タイには症例が極めて少ない。
9. 狂 犬 病	畜産分野では通常ワクチネーションは行わない	1) 野犬の撲滅 2) 犬猫のワクチネーション 3) 普及啓蒙	タイでは人も動物も風土病的である
10. タイレリア病	外部寄生虫(ベクター)の撲滅は実際的でない	レバミゾール0.5%液と2次感染の場合は抗生物質による治療	
(馬)			
1. 伝 貧	検疫所でチェック	検疫と撲滅	
2. トリパノゾーマ	同 上	同 上	
3. 鼻 疽	同 上	同 上	
4. 流行性リンパ管炎	同 上	同 上	これらは外来の疾病であり南部タイには存在しない
(豚)			
1. A R	ワクチネーション	撲滅プログラムを作成する	
2. オーエスキー病	ワクチネーション	場合によっては撲滅殺処分	多 の傾向にある

病名	予防	防圧 & 治療	備考
3. 豚丹毒	ワクチネーション	ペニシリンによる治療	南物では稀に発生する
4. 滲出性上皮炎		ペニシリンによる治療	
5. 類鼻疽		1) 殺処分 2) 群の血清学的検査 とサーベランス	
6. 豚コレラ	ワクチネーション	1) 殺処分 2) 移動制限	
7. トキソプラズマ病	豚舎、飼料庫から猫、 ネズミを駆除する	フリードミン又はスル ファモノメトキシニンに よる治療	
8. 破傷風	1) 正しい方法による 去勢 2) 新生仔の衛生的接 種	破傷風抗毒素の使用	熱帯地は多発する
(めん山羊) 伝染性膿包性皮膚炎		発生群からワクチンを 作成、接種	常任化の傾向にあり

28. 試験研究プロジェクト

— 1990年—

1. 南部タイにおける牛のヨーネ病の疫学的調査と分析(3年間)
2. 牛の不顕性乳房炎のマーカーとしての酵素レベル
3. 南部におけるIBRの中和試験による流行の研究
4. 蛍光抗体法とウイルス分離法を用いたオーエスキー病の比較診断
5. モノクローナル抗体調査による狂犬病街中毒の変異
6. めん山羊の伝染性膿疱性皮膚炎のカサプタによる免疫調査
7. アルベンダゾールの牛による生化学価の効果

— 1989年—

1. バベシア病の血清学的研究
2. 牛の不顕性乳房炎の酵素研究
3. 鶏伝染性気管支炎、腎型のワクチン接種
4. 蛍光抗体法による豚パルボウイルス病の診断
5. 地鳥の血清学的研究
6. HAおよびHIによる豚パルボウイルス病の診断

— 1988年—

1. 牛白血病の血清学的調査
2. パストレラ・ヘモリチスカの間接血球凝集反応
3. 蛍光抗体法、ウイルス分離及びHIによるニューカッスル病診断の比較研究

— 1987年—

1. パストレラ・ムントシダに対する各種抗菌剤の最小阻止濃度の決定
2. 南部タイにおけるアヒルと鶏のサルモネラ調査
3. めん山羊の伝染性膿疱性皮膚炎の疫学的研究
4. 牛の一般新生虫に対するアルベンダゾールの駆虫活性の研究
5. 西洋カボチャの種子による地鶏のサナダムシ駆除試験
6. 牛の肝蛭病診断のためのエライザー技術の開発
7. 山羊の緑膿菌症の血清学的研究
8. 鶏伝染性気管支炎ウイルスの沈降抗体

9. 鶏伝染性気管支炎ウイルスのウイルス中和試験による血清型別分類
10. 鶏伝染性気管支炎の免疫蛍光診断試験
11. めん山羊の伝染性膿包性皮膚炎ワクチンの作製研究
12. タイ南部における山羊の無機成分の研究

— 1986年—

1. 兎の免疫によるオーエスキー病の蛍光抗体色素の作製
2. タイ南部での山羊の内部寄生虫の研究
3. パタルン県下における牛肝蛭症とヒメモノアラガモとの研究
4. 南部タイにおける牛、山羊、豚のレプトスピラ症の血清学的調査
5. 鶏慢性呼吸器病の血清、免疫学反応

— 1985年—

1. 南部における牛と豚のレプトスピラ症の血清学的調査
2. パタルン県下の肝蛭病調査
3. 気腫疽と悪性水腫の蛍光標識抗体の作製
4. 狂犬病蛍光標識抗体の作製
5. オーエスキー病蛍光標識抗体の作製
6. ニューカッスル病ウイルス株の同定

註) 学会報告例及び誌上報告例

(総合報告書、掲載予定)

第 2 部

アフターケアプログラム

29. アフターケアプログラムの概要

- 1) M/D 等署名日 昭和63年7月4日
- 2) 協力期間 昭和63年7月4日～平成2年3月31日
- 3) 所在地 南部家畜衛生センター
Southern Veterinary Diagnostic
& Laboratory Center Thungsong
Nakhon Si Thammarat
80110 THAILAND

4) アフターケアに至る経緯

1) タイ家畜衛生改善計画

タイ家畜衛生改善計画は、昭和52年3月2日に署名されたR/Dに基づき、タイ国における家畜衛生の改善を図り、同国の畜産振興に貢献することを目的として、南部家畜衛生センター及び蹄疫ワクチン製造センターを中心に、3年間の技術協力が実施された。

その後、南部家畜衛生センターについては、4年間(2年×2回)の協力期間延長を行い、施設、機械の整備、職員の増員配置の充実にともない、個々の技術移転も進み、診断検査業務、家畜防疫事業、指導普及事業、研修業務において数々の実績を挙げ、所期の目標がほぼ達成され、昭和59年3月に協力を終了した。

2) アフターケアプログラム

(要請の背景)

プロジェクト終了後は、センターの活動も低下し技術レベルも余り向上せず、また、一方、センターにおける家畜疾病診断用の機器、機材などの整備、補充が充分になされておらず、センターの機能を発揮するに、大きな障害となっている

このことから、プロジェクト終了後4年間を経過した南部家畜衛生センターの現状と問題点を把握し、併せて、協力成果を維持、向上させるために必要な機材供与、それに伴う専門家派遣、研修員受入計画などにつき、現地調査し、タイ国政府と協議するため昭和63年6月26日から12日間に亘り、アフターケア調査団が派遣された。

その結果、昭和63年7月4日、日本、タイ両国政府においてM/Dが締結された。平成2年3月31日までの期間にわたりタイ家畜衛生改善アフターケアプログラムが実施されるはこびとなった。

30. 専門家の派遣と研修生の受入れ

1) 専門家の派遣

(1) 長期専門家

専門家名	指導科目	派遣期間
西村 豊	ウイルス学	1988.11.10～1990.3.31
長野 整一	疫学及び調整	1988.12.24～1990.3.31

(2) 短期専門家

専門家名	指導科目	派遣期間
吉原 忍	寄生虫学	1989.2.24～1989.5.18
蛭田 輝男	機材保守管理	1989.4.25～1989.7.24
加藤 昌克	病理学	1989.7.25～1989.10.24

2) 研修生の受入れ

研修生氏名	研修科目	派遣期間
Miss. Usa Chetthanon	Parasitology	1989.11.5～1990.8.30
Miss. Orasa Arunsakul	Toxicology	1990.1.5～1990.7.4

註) 平成2年度分として、追加1名研修生が内示されたのに基づいて、目下、タイ政府側で入選中である。

31. 機 材 供 与

初年度の昭和63年度供与機材は、豚パルボウイルス血球凝集阻止試験 抗原など診断液、試薬類が39品目及びELISA機器など検査用備品、消耗機材66品目合計105品目の機材が供与された。

次に、第2年度の平成元年度供与機材は、ヨーニンなど診断液、試薬類40品目及びイオン分析機など検査用備品、消耗品が56品目合計96品目約2200万円の機材が供与された。

よってアフターケア一期間2ヶ年間の機材供与の総計は161品目について、別終リストのとおり供与された。

1) 昭和63年度供与機材

物品名	仕	Unit	Q'ty
豚ハ ^ル ハ ^ウ ハ ^ウ 血球凝集阻止試験用抗原	20 test/box	Kyoto-biken	box 3
トキ ^ラ ス ^マ ラテックス 凝集反応用抗原キット	動物用, 栄研トキ ^ラ ス ^マ NT 50	50 test/box	box 2
豚ハ ^ル ハ ^ウ ラテックス 凝集反応用抗原	日生研, 100 test/bottle		bot 2
マイ ^ラ ス ^マ ハ ^ル ハ ^ウ ニ補体結合反応用抗原	NIAH ?		10ml 3
牛ハ ^ル ハ ^ウ 症補体結合反応用抗原	Babesia Bovis, 市販品無		pcs 5
牛ハ ^ル ハ ^ウ 症補体結合反応用抗原	Babesia Bigemina, 市販品無		pcs 5
牛ア ^ラ ス ^マ 症補体結合反応用抗原	家衛試 ; 10test/box		box 5
牛肝蛭症皮内反応用抗原	北里研 ; 50test/bot		bot 4
ヨ ^ニ 病補体結合反応用抗原	家衛試 ; 200test/amp		pcs 5
ヨ ^ニ	家衛試 ; 50test/bot		bot 5
ツ ^ハ クリン	家衛試 ; 5ml/amp		pcs 5
牛白血病診断用AGP抗原	家衛試 ? 250test/box		box 3
フ ^ル 病補体結合反応用抗原	家衛試 ; 5ml/amp		pcs 1
キ ^ニ ハ ^ウ 凝集反応用診断液	家衛試 ; 50ml/bot		bot 4
乾燥補体	東芝化工 ; 1ml*10/box		box 5
IBR AGP	市販 ? ; 1ml/bot		bot 2
マイ ^ラ ス ^マ カ ^リ フ ^テ ハ ^ウ 急速診断液用菌液	北里研 ; 5ml/bot		bot 5
マイ ^ラ ス ^マ シ ^ル ハ ^ウ 急速凝反応用菌液	北里研 ; 5ml/bot		bot 5
卵壁症候群 III 用抗原	市販 ? ; 1ml/amp		pcs 3
抗フ ^ル 国際標準血清	市販 ? ; 1ml/amp		pcs 3
IBR/IPV抗体検出用ELISA用キット	Flow Lab ; 10 plate/set		set 3
Centriflow Mol.Wt. Cut off 25,000 2,50,000	12pcs/pk		pack 2
カ ^ス リ ^テ ハ ^ウ 血清 A,B,C	市販無, 各2bot		bot 6
卵 ^ニ 型別抗血清, タイ ^フ 0			set 2
大腸菌タイ ^フ 血清, 21種組	テンカ		set 1
FITC標識抗ニューカッスル病ウイルス抗体	市販無 ? 1ml/bot		bot 10
FITC標識抗豚コレラウイルス抗体	市販無 ? 1ml/bot		bot 5
FITC標識抗チ ^ニ 病ウイルス抗体	市販無 ? 1ml/bot		bot 5

FITC標識抗豚ハ ¹ ル ¹ ウイルス病ウイルス抗体	市販無? 1ml/bot	bot	3
FITC標識抗豚伝染性胃腸炎抗体	Kiyoto-biken; 1ml/bot	bot	1
FITC標識抗マックス病ウイルス抗体	市販? 1ml/bot	bot	1
滑走式ミクローム	大型, 替刃式 付: TU-213 [銘]	set	1
酵素抗体法用機器一式	分光光度計, ウィン ¹ 付 Bio-rad:	set	1
酵素抗体法用マイクロプレート	96穴, 平底, 100pcs/box 11/16-6553	box	4
試験官洗浄機	替刷子式	set	1
0-9-10 ¹ ホ ¹ レータ ¹ 一式 + 予備フラスコ 3	Yamato: RE47A, SJ20, JK20, BM42	set	1
組織切片伸展器	温度調節付, ハ ¹ イ ¹ 列 ¹ 式 物 ¹ : PS-M	set	1
警報装置	電子式	set	1
自動組織包埋機真空槽用交換部品	物 ¹ 精機 VRX-22	set	1
滑走式ミクローム用厚度調節器	付光機 LS-113 [銘]	set	1
ハ ¹ ライ ¹ 溶解器用温度計	三光 [銘]	pcs	1
スライド投影器 + フォ ¹ 5個	音響同調型, 長焦点レンズ付	set	1
顕微鏡部品	Olympus 交換レンズ他50点 (別添)		1
ハ ¹ -ホ ¹ スター ¹ -ホ ¹ (POD) 標識抗牛 IgG	Sigma; 2ml/amp	pcs	1
POD標識抗豚 IgG	Sigma; 2ml/amp	pcs	1
セ ¹ ラ ¹ テ ¹ ックス G200	Pharmacia	100g	1
ハ ¹ ル ¹ ビ ¹ ター ¹ ル ¹ トリ ¹ ウム	Sigma, S.G. 500g/bot	bot	1
FITC標識抗豚 IgG 抗体	Sigma; 2ml/bot	bot	1
FITC標識抗牛 IgG 抗体	Sigma; 2ml/bot	bot	1
FITC標識抗鶏 IgG 抗体	Sigma; 2ml/bot	bot	1
FITC標識抗家兎 IgG 抗体	Sigma; 2ml/bot	bot	1
四輪駆動ビ ¹ ックアップ ¹ 型自動車	>2400cc, 2-キ ¹ ビ ¹ ツ, 17コ ¹ 付	car	1
ド ¹ ラ ¹ フト	Fume hood + Fluorescent lamp	set	1
蛍光顕微鏡	落射照明方式, 超高压水銀灯付,	set	1
蛍光顕微鏡用水銀灯	Olympus: USH-1020 Olympus DA-2-REH 1	pcs	4
研究用生物顕微鏡	三眼組合せ, S Plan 対物レンズ付	set	1
カメラ用フラッシュ Nikon F-3	Nikon: SB-12 Olympus DA-2-REH 1	set	1

物品名	仕様	Unit	Q'ty :
クリーンベンチ + HEPAフィルター, 殺菌灯	118*57*67cm	set	1
マスクケース	給水瓶, 給餌箱付	set	100
試験官洗浄機用刷子	luchl:3-040-02,03,04,05,各10個	pcs	40
試験官洗浄機用刷子	平山: GW-35 用, 大, 中, 小各10個	pcs	30
試験官洗浄機用刷子	三田: 7830 用, 大, 中, 小各10個「銘	pcs	30
デュープリーザ	-34C°, 15Cu.ft	set	1
講習用手術用具一式	収納箱付	set	135
講習用剖検用具一式	収納箱付	set	14
マイクロピペット, 8ch	50-200 μ l, フリップ2箱付	set	1
マルチマイクロ分注器 + 1300 μ l syringe	Nichiryo 8800	set	1
分注器 + Bottle	Autocleavable, 0.1-2.0 μ l	set	5
分注器 + Bottle	容量可変式, 1.0-5.0 μ l	set	5
分注器 + Bottle	容量可変式, 2.0-10.0 μ l	set	5
マイクロピペット + フリップ	容量可変式, 5-50 μ l	pcs	2
マイクロピペット + フリップ	容量可変式, 50-200 μ l	pcs	2
微量連続分注器	8ch, マニピュレーター付, 10-50 μ l	set	1
超音波ナイフ + シェア	25,000r.p.m., 0.3-500ml	set	1
マイクロバス	12人乗り, 17コ付	set	1
焼却装置 (バーナー, フォー)	10-30 l/H, Out let 6"	set	1
上四式電子天秤	Max 200g, Min 0.1mg	set	1
電動式ヒーター	充電式	set	2
ドラフトファン [ステンレス]	120W * 500 * 120H, 強力排気型	set	1
移動式大家畜保定器		set	1
マイクロコンピュータ	IBM互換型	set	1
大動物解剖用電気刀	水平動型, 1.0HP	set	1
凍結乾燥用アンプル [透明]	2ml	pcs	2000
凍結乾燥用アンプル [褐色]	2ml	pcs	2000

無菌台用ハコフィルター	ワウ CCV-1300EC用	set	1
乾式複写機	拡大, 縮小式	set	1
レイトン管+Screw Cap	16×100mm, 36pcs/box	box	2
レイトン管用カバーガラス	9×22mm, 400pcs/box	box	2
超低温槽用標本整理箱	7/8ミ, 5×4×13 inch	pcs	5
超低温槽用標本整理箱	7/8ミ, 5×5×26 inch	pcs	15
実験用テーブル		pcs	5
椅子〔実験用テーブル〕		pcs	15
血液成分分析機	Reflotron	set	1
デフアンプリファイター + スピーカー		set	1
血清蛋白屈折計	手持型, 79J N型	set	1
ミカトム替え刃	フェイス ; S-35, 50pcs/box	box	25
マイクロフィルターカートリッジ〔ステンレス〕	径25mm用	pcs	5
電気マッガ炉	max1000C°, 10×20×10cm	set	1
小動物用解剖刀	Stryker, AC 220V	set	2
ゴム製長手袋	60cm	box	10
ホリフィル製溶液瓶	20l, 活栓付	pcs	10
ホリフィル製溶液瓶	5l, 活栓付	pcs	20
空調機	35,000RTV/H	set	3
ミカトムカートリッジ	ワウ精機CH41用	pcs	2
ミカトム替え刃	ワウ精機CH41用	box	2
電動タイプライター	olympia Super type	set	1

2) 平成元年度供与機材

豚パルボウイルス血球凝集阻止試験用抗原	20回/箱		box	5
トキソプラズマラテイクス凝集反応用抗原キット	動物用 栄研 50回/箱		box	4
豚ヘモフィルスラテイクス凝集反応用抗原	100回用 日生研		box	4
マイコプラズマハイポニューモニア補体結合反応用抗原	100ml/瓶		bot	5
牛バベシア症補体結合反応用抗原	バベシア、ボビス		pcs	5
牛アナプラズマ症補体結合反応用抗原	1ml/アンプル		bot	5
牛・肝蛭症皮肉反応用抗原	5ml/瓶 50回/瓶北里研		bot	5
ヨーニン	50回/瓶 家衛試		bot	5
ヨーネ病補体結合反応用抗原	200回/アンプル 家衛試		pcs	5
ツベルクリン	5ml/箱 家衛試		pcs	5
牛白血病診断用AGP抗原	250回/箱 家衛試		pcs	5
牛ブルセラ病補体結合反応用抗原	5ml/アンプル 家衛試		pcs	3
キャンピロバクター凝集反応用診断液	50ml/瓶 家衛試		bot	6
乾燥補体	1ml/箱 東芝化工		box	10
IBR ゲル池田抗原	1ml/瓶		bot	3
マイコプラズマガリセブティカム急速診断液	5ml/瓶 北里研		bot	5
マイコプラズマシノビエ急速凝集反応菌液	5ml/瓶 北里研		bot	5
卵嚙症候群HI用抗原	1ml/瓶		bot	5
IBR/IPr抗体検出用ELISAキット			set	2
パーキオンダーゼ(POD)標識抗牛1gG	2ml/アンプル シグマ		ml	5
パーキングダーゼ(POD)標識抗豚1gG			ml	5
DEAE セルローズ DE52 Whatman	DE52W 2kg/箱		box	1
バルビタール酸	500g/瓶		bot	2
バルビタールナトリウム	500g/瓶		bot	1
セントリフロー Mol. Wt. Cut off 25,000 and 50,000	12PCS/Pack		pack	2
FITC標準抗ニューカッスル病ウイルス抗体	1ml/瓶		bot	10

FITC 標識抗豚コレラウイルス抗体	1 ml/瓶	bot	5
FITC 標識抗 オースキー病ウイルス抗体	1 ml/瓶	box	5
FITC 標準抗 パルボウイルス病ウイルス抗体	1 ml/瓶	bot	3
FITC 標準抗豚伝染性胃腸炎抗体	1 ml/瓶	bot	1
FITC 標準抗マレックス病ウイルス抗体		bot	1
FITC 標準抗豚 1 g G 抗体	2 ml/瓶 シグマ	bot	1
FITC 標識抗牛 1 g G 抗体	2 ml/瓶 シグマ	bot	1
FITC 標識抗鶏 1 g G 抗体	2 ml/瓶 シグマ	bot	2
イオン分析機	オリオンリサーチ モデル 940	set	1
フリーザ	-18℃又は-20℃ 15立方フィート	unit	1
マイクロエイブオープン	リオン モデル 2485	pc	1
加熱器	エナメルスチール箱 110℃	set	1
研修用外科器具セット	30種入器具セット FHK(株) D57	set	16
研修用 管針	ステンレススチールシャフト FHK(株)	pc	150
車	バンタイプ	car	1
ドットプロット微量分注器		set	1
高速遠心機用ローター	17N R5-20-2型 トミー、ポリプロピレン遠心管付	set	1
動物飼育用棚	ステンレススチール ナルゲン 長150×巾52×高187	pcs	2
鶏用ケージ	ステンレススチール	cage	10
超低温フリーザ	-80℃ 12立方フィート	unit	1
試験管攪拌機	自動式、220v	unit	2
再蒸溜器	4 l/hr. JENCONS H83/55	set	1
遠心機	振動式バランス付 シグマ モデル 202	set	1
トラック	ダブルカービン(ディーゼル)	car	1

水中ポンプ	エバラ備	pcs	1
牛胎児血清	500 ml/瓶	bot	10
ヘマトクリット遠心機	24 キャピラリー最大スピード 12,000 min	set	1
大型解剖セット	B、27 GISS	set	2
トランス	10A 220v to 110v	set	1
免用ケージ	長90×巾60×高40cm ステンレススチール	pcs	10
ホットプレートスターラー	10×10インチ ステンレス製 最高温度400℃	set	2
発電機	50 kv A (ジーゼルエンジン)	umit	1
自動乾燥機	サンコープラスチック モデル1,007-01 C3 サンコー	set	2
ツベルクリン注射器	0.5 ml 注射針付 FHK	pcs	100
豚胎児摘出用鉗子	GFSS C-15	set	10
整流器	6 kv A	set	4
スウィングタイプ遠心機用天秤	トミー精工 モデルCD-50 SR	pcs	4
EOガス 滅菌器	ステンレス製 円筒型 10 kg/cm ² 40℃	set	1
シリコン栓(スポンジ)(差込式)	径13mm試験管用(100個) 径16mm " " 300ml フラスコ用径27mm 100ml " " 36mm	個 " " "	5 5 50 50
組織培養器	250 ml	bot	100
馬血清(マイコプラズマ陰性)	1×100 ml	bot	10
豚血清(マイコプラズマ陰性)	1×100 ml	bot	10
恒温器	6ℓ-10ℓ	set	1
冷蔵庫	20立方フィート	umit	1
薄槽クロマトグラフィー用展開槽	サイズ 20×20cm	pcs	2
薄槽クロマトグラフィー用ガラス板	0.4×20×20cm	box	3
薄槽クロマトグラフィー	20×20cm板用	set	2
電気安全カッター	multiple type 220v	set	4

揚水ポンプ	エバラ特	pcs	1
水槽	400ガロン	pcs	10
実験台	毒物用	set	1
カラムクロマトグラフィ	タイプ	pcs	1
クロマトチャンバー	(Thai Modification)	unit	1
口投与針	Straight 24g × 1 inch	pcs	12
	" 22g × "	"	12
	Curved 20g × 1 1/2 "	"	12
	" 18g × 3 1/2 "	"	12
電動掃除機(実験室用)	220v	unit	1
牛用採血針	18G × 1 1/2 100ヶ/箱	box	50
真空ろ過フィルターセット	ポリカーボネイト φ47mm (1 × 300 ml)	pcs	10
卓上タイマー	セイコークオーツ	pcs	6
ポケットタイマー	"	"	12
磷酸緩衝食塩液	100g/瓶 日本	bot	15
乳針、乳棒付	径60mm 池本理化	set	25
浄水器		pcs	2
浄水カラム		pcs	2
冷蔵庫	5.5立方フィート	unit	1
タイプライター	携帯用	pcs	1
研究用参考書			
電子天秤用テーブル	耐震木製	set	1
伝染性コリネバH I用抗原	5 ml/瓶	bot	10
ニューカッスル病H I用抗原		bot	10
ロイコチトゾン AGP用抗原		bot	10
プラスチック掛け		set	1

3) 機器補修状況

補修者：蛭田 輝男 短期専門家

品 目	補 修 内 容
1. サクラドライオーブン(2台)	温度計交換及びブザー新設、温度の調整
2. PHメーター Horida M-7II	複合電極の交換、4、7、調整により修理済
3. PHメーター 電気化学計器 CCH-10	4、7調整実施したが調整不能、複合電極、Tyde 6155の交換を要す。
4. CO ₂ インキロベーター	CO ₂ ガスシリンダーを設置、試運転可能となった。 エアーコンプレッサーオイル交換及びドレインを実施、エアタンク内に多量の水があり、週一回のドレイン実施を指示
5. バランス(2台) C ₃ -200	0点及びSensitivity調整により実施可能
6. 発電機	総点検
7. 給水設備の点検	現在、深井戸から揚水しているが、ラボラトリー及び職員宿舍の給水しているが、深井戸の水中ポンプが故障中のため、臨時に小型ポンプで揚水している。 然し乾期には揚水量の減少及び不足を生じるおそれがあるので、これは高揚型のポンプを設置する必要がある。(平成1年度供与機材として申請中)
8. その他	チェックを行ったもの 1) オートクレーブ 2) ふ 卵 型 3) クリーンベンチ 4) 凍結乾燥機 5) 急速凝集反応測定機 6) ホモジナイザー 7) パラフィン熔融器 8) 管理センター

3.2. A/C初年度供与機材及び技術 過程における向上業務内容（調査結果）

1) 総合

1. 多数の機材供与により、各室に多大の利便をもたらした。
2. 専門家による新技術の移転は、機材の導入と同時に診断と研究の発展と向上に今後、大いに役立つであろう。
3. 初年度供与器材のうちサンプルコレクション器材等数点は、管内14県の畜産事務所及びクリニックに配布されたため、今後DLCと地方機関との業務連携が一層強化することが期待される。
4. 器材の入手、据付け及び操作法の修得に日時を要するものがあるが、効果は除々に始めている。

センター共用のもの

A/C初年度、向上業務の内容

1. フィールドカー、研修用カー
2. 焼却炉機能の改善（部品更新）

A/C第2年度向上業務の内容

1. センター水道施設機能の改善（ポンプほか更新）
2. 自家発電機能の改善（発電機更新）

2) 疫学

1990年A/C第2年度向上業務の内容

消毒・滅菌技術（EO滅菌装置）

機動力の強化（フィールド用車1台）

1989年A/C初年度向上業務の内容

1. フィールドワークの円滑化（車2台）
2. 動物の保定及び採材の迅速化（移動式枠）
3. 研修事業の強化（スライドプロジェクター&外科器材）
4. 疫学分野の統計処理（コンピューター）

A/C以前の主な業務内容

1. 外来家畜・家保の臨床診断処置及びコンサルテーション
2. フィールドサーベイ、イソスチイゲイション及びコントロール
3. 管内地区獣医官（補）、学生及び農家の研修事業
4. 同上関係者への家畜衛生指導普及事業

3) 細菌

1990年A/C第2年度向上業務の内容

1. マイコプラズマ用培地の作製と分離同定
2. 豚及び鶏からのマイコプラズマの分離
 - 豚肺炎マイコプラズマの
 - 鶏マイコプラズマ

1989年A/C初年度向上業務の内容

1. 培地と培養における汚染の減少
2. 大腸菌とサルモネラ感染における急速診断
3. レプトスピラ病のマイクロ凝集反応用抗原の作製

A/C以前の主な業務内容

1. 顕微鏡検査、生化学的検査、血清学的試験および動物特種試験により死亡または病気の動物から採材一細菌の培養、分離、同定
2. カビの培養分離、同定
3. 細菌に基く顕性および不顕性乳房炎の分離、同定
4. 薬剤感受性試験
5. 細菌学的性状の水質検査

4) ウイルス

1990年A/C第2年度向上業務の内容

1. BHKに増殖したオーエスキーウイルスからのDNAの抽出(ミニゲル電気泳動装置)
2. 鶏の伝染性気管支炎ウイルスのモノクローナル抗体の作製(RPMI・1640粉末)

1989年A/C初年度向上業務の内容

1. 落射式蛍光顕微鏡によるネグリー小体観察の簡易化(落射式蛍光顕微鏡)
2. IBのFA標識抗体の作製
3. ADのFA標識抗体の作製
4. モノクローナル抗体(b製)を用いての狂犬病ウイルス株の同定

A/C以前の主な業務内容

1. 脳、扁桃腺、SK、PK、BHK細胞の蛍光抗体法
2. マイクロタイターによる中和試験法
3. マウスの脳内注射
4. 発育鶏卵への注射

5. 血球凝集反応及び血球凝集抑制反応

5) 血清

1990年A/C第2年度向上業務の内容

ELISA法による診断技術の応用

1989年A/C初年度向上業務の内容

1. ELISA技術(ELISA機器)
2. 豚へモフィルス、キャンピロバクターフェータス牛白血病(抗原入手)の診断

A/C以前の主な業務内容

1. 急速平板・凝集反応試験
2. ローゼベンガル試験
3. 標準試験管凝集反応試験
4. Z-メルカプタノール凝集反応試験
5. ラテックス凝集反応試験
6. 補体結合反応試験
7. 間接血球凝集反応試験
8. 赤血球凝集反応及び赤血球凝集抑制反応試験
9. 寒天ゲル内沈降反応試験

6) 中毒・生化学

1990年A/C第2年度向上業務の内容

1. 毒性物質の定量
2. ビタミンの分析
3. 薬物の分析
4. 抗生物質の残留定量

1989年A/C初年度向上業務の内容

1. 毒性物質の定量分析
 - 1) 昆虫毒
 - 2) 農薬(除草剤)
 - 3) 金属毒
 - 4) マイコトキシン

A/C以前の主な業務内容

1. 血液化学の分析
 - 1) カルシウム
 - 2) 磷酸塩
 - 3) マグネシウム
 - 4) 血中尿素窒素
 - 5) クレアチニン
 - 6) 尿酸
 - 7) アルブミン
 - 8) 総蛋白質
 - 9) 血糖
 - 10) コレステロール
 - 11) トランスアミナーゼ

7) 病 理

1990年A/C第2年度向上業務の内容

免疫組織化学的検査技術(ABC法)を用いた病理組織学的研究

1989年A/C初年度向上業務の内容

1. 剖検業務、特に骨組織の切断に伴う検索技術(電動ノコギリ)
2. 安全、容易になった病理組織学的染色技術(ドラフトチャンバー)
3. より薄く良好な病理組織標本の作製(ミクトローム)
4. 上記ほか、機材の供与により病理組織学的検査及び一般病理学的検査業務における診断技術

A/C以前の主な業務内容

1. 家畜死体・剖検診断
2. 病理組織標本作製とH・E染色
3. 病理組織標本における特殊染色
4. 病理組織学的検索
5. 血液の臨床病理検査

8) 寄生虫

1990年A/C第2年度向上業務の内容

バベシア感染診断のためのDNAプローブの準備

1989年A/C初年度向上業務の内容

1. 糞便検査の応用技術
2. 糞便1g中、虫卵計数のビード技術
3. 牛の胃腸線虫類分類のための培養技術
4. 免疫診断のための肝蛭抗原の作製
5. 肝蛭の寒天ゲル内沈降反応
6. 肝蛭診断のための免疫電気泳動
7. 豚回虫の培養技術

A/C以前の主な業務内容

1. 一般糞便検査
2. 血液塗抹標本検査
3. 永久標本作成による同定
4. 動物接種

33. アフターケアー後も引続き供与を必要とする消耗品
(特にタイ予算及びタイ調達困難なもの)

その1(細菌室)

品 目	数 量	備 考
1. Mycobactin	1 bot/year	For Para IB media.
2. Rabbit anti porcine IgG FITC conjugate	2 bot/year	
3. Rabbit anti bovine IgG FITC conjugate	2 bot/year	
4. Goat anti rabbit IgG FITC conjugate	1 bot/year	
5. β -NAD ⁺ (β -Nicotinamide adenine-dinucleotide)	1 bot/year	
6. Peroxidase conjugated Immunoglobulin to cow IgG	1 bot/year	
7. Peroxidase conjugated Immunoglobulin to pig IgG	1 bot/year	
8. Horse serum (1 wml)	20 bot/year	For Mycoplasma media
9. Porcine serum (1 wml)	10 bot/year	For Mycoplasma media
10. Staphylococcus aureus coagulase typing serum.	1 bot/year	

その2(ウイルス室)

品 目	仕 様	数 量	備 考
1. FITC conjugate (anti - ND virus)	Biken Lab.	5 bot	
2. FITC conjugate (anti - SF virus)	Biken Lab	5 bot	
3. FITC conjugate (anti - mice IgG)	Biken Lab	5 bot	
4. FITC conjugate (anti - IBR virus)	Biken Lab	3 bot	
5. RPMI Medium 1,640	Cat No. 430-1,800 (Gibco [®] Lab.) 103.9 gm / bag	10 bag	

その3 (免疫血清室)

品 目	仕 様	数 量	備 考
1. Infectious bronchitis HI Ag.		5 bots	
2. Porcine parvo virus HI Ag.		5 bots	
3. Toxoplasma Latex agg. Ag.		4 bots	
4. ELISA kit for antibody detection of IBR/IPV virus		5 sets	
5. ELISA kit for antibody detection of AD		5 sets	
6. Mycoplasma gallisepticum agg. Ag.		3 bots	
7. Bovine babesiosis CF Ag.		5 pcs	
8. Bovine anaplasmosis CF Ag.		5 pcs	
9. Johne's disease CF Ag.		5 pcs	
10. Brucellosis CF Ag.		2 pcs	
11. IBD AGP Ag.		2 bots	
12. Mycoplasma hyopneumoniae CF Ag.		2 bots	
13. Mycoplasma synoviae agg. Ag.		3 bots	
14. Egg drop syndrome III Ag.		3 bots	
15. Newcastle HI Ag.		5 pcs	
16. Complement, dry		5 pcs	
17. Haemolysin, dry		5 pcs	
18. Atrophic rhinitis Ag. (5 x 50 ml)		1 pcs	

その4 (中毒・生化学室)

品 目	仕 様	数 量	備 考
1. α -Antitrypsin test kit	for microplate colorimeter " Ellab product "	20 kit (100 test/ kit)	should be expire after year 1995
2. Pure bovine α -antitrypsin	1 pcs content 25 inhibitor units " Boehringer mannheim "	5 pcs	do
3. Organophosphate group of insecticide	standard grade for TLC and GC	10 bott.	1 mg per bottle
4. Organochlorine group of insecticide	do	10 bott.	do
5. Carbamate group of insecticide	do	10 bott.	do
6. Standard of Herbicide	do	10 bott.	do
7. Standard of Rodenticide	do	10 bott.	do
8. Aflatoxin B ₁	Purify grade 250 mg 1 bottle	2 bott.	
9. Sialic acid test kit (N-Acetylneuraminic acid)	Enzyme method " Wako product "	2 kit (100test/ kit)	for Hitachi Model 100-21 spectro- photometer
10. Fibrinogen test	wako product	2 kit (100 test/ kit)	do
11. Aflatoxin B ₂	standard grade for TLC	2 bott.	(0.1 mg/bott.)

品 目	仕 様	数 量	備 考
12. Aflatoxin G 1	— do —	2 bott.	— do —
13. Aflatoxin G 2	— do —	2 bott.	— do —
14. Aflatoxin M 1	— do —	2 bott.	— do —
15. YGTP test kit	"Wako product " 200 test/kit	5 kit	should be expire after year 1995
16. Standard milk	for NAGase determination	3 Ampule	— do —
17. Standard milk	for Antitrypsin determination with relative antitrypsin content of 1.0 and α_1 - proteaseinhibitor 0.009 mg/ml	3 Ampule	— do —

34. 議 事 録

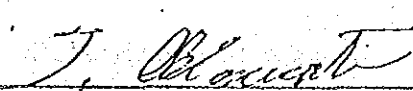
MINUTES OF DISCUSSIONS
ON
THE AFTER-CARE PROGRAM
OF
THE ANIMAL HEALTH IMPROVEMENT PROGRAM
IN
THE KINGDOM OF THAILAND

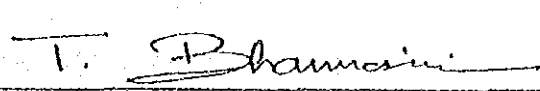
The Japanese After-care Survey Team (hereinafter referred to as "the Team") organized by the Japan International Cooperation Agency, headed by Dr. Tetsuo Okamoto, has visited the Kingdom of Thailand from June 26, to July 7, 1988, to conduct a study on the After-care Program of the Animal Health Improvement Program (hereinafter referred to as "the After-care Program").

The Team has carried out a field survey and held a series of discussions with the authorities concerned of the Government of the Kingdom of Thailand.

As a result of the survey and discussions, the Team and Thai authorities concerned agreed to recommend to their respective Governments the matters referred to in the document attached hereto.

Bangkok, July 4, 1988


Dr. Tetsuo Okamoto
Leader,
Japanese After-care Survey Team,
Japan International Cooperation Agency


Dr. Tim Bhannasiri
Director-General,
Department of Livestock Development,
Ministry of Agriculture and Cooperatives

ATTACHED DOCUMENT

I. Objectives of the After-care Program

The After-care Program will be carried out at the South Regional Veterinary Diagnostic Laboratory Center (hereinafter referred to as "the DLC") in Tung Song District, Nakornsrihammarat Province, for the purpose of supporting and improving the achievement acquired by the Animal Health Improvement Program which terminated on March 1st, 1984.

II. Organization of the After-care Program

(1) Executing Organization / Agency

Department of Livestock Development,
Ministry of Agriculture and Cooperatives

(2) Site of the After-care Program

The DLC, Tung Song District, Nakornsrihammarat Province

III. Term of Cooperation

From July 4th, 1988 to March 31st, 1990

IV. Activities of Cooperation

Investigation and diagnosis of important animal diseases in the livestock regions No.8 and No.9

V. Measures to be taken by the Japanese side

1. Dispatch of experts

(1) The field of Japanese long-term experts are as follows:

1) Epidemiology

2) Veterinary Virology

(2) Short-term experts will be dispatched when necessity arises for the smooth implementation of the After-care Program.

2. Acceptance of counterpart personnel

Acceptance of 1 to 3 Thai counterparts for training in Japan during the cooperation period

3. Provision of equipment

Necessary equipment and materials for implementation of the After-care Program as listed in Annex would be provided within budgetary limitation.

VI. Measures to be taken by Thai side

1. Provision of land, building and facilities needed for the implementation of the After-care Program

2. Assignment of counterparts and other administrative personnels

3. The DLC budgetary allocation necessary for the implementation of the After-care Program

VII. Others

1. The Thai side should make necessary arrangement for requesting the dispatch of Japanese experts, the acceptance of Thai counterparts and the provision of equipment by submitting the application forms (A1 Form, A2-3 Form, A4 Form) as soon as possible.
2. The Japanese side should make necessary preparation for implementation according to the request of the Thai side within the scope of the After-care Program.

ANNEX

Items of reagents and equipment for the first year of the After-care Program are as follows:

Item	Quantity
1. Spare parts of Microscopes (for 14 microscopes)	20 pcs
2. Porcine parvo virus HI antigen	3 pcs
3. Toxoplasma Latex agg. antigen	2 pcs
4. Swine haemophilus Latex antigen	2 pcs
5. Mycoplasma hyopneumoniae CF antigen	3 bots
6. Bovine babesiosis CF antigen	5 pcs
7. Bovine anaplasmosis CF antigen	5 pcs
8. Liver fluke antigen for skin test	4 bots
9. Johnin	5 pcs
10. Johne's disease CF antigen	5 pcs
11. Tuberculin	5 pcs
12. Bovine leucosis AGP antigen	3 pcs
13. Brucellosis CF antigen	1 pcs
14. Campylobacter fetus agg. antigen	4 bots
15. Complement, dry (1x 10ml)	5 pcs
16. IBD AGP antigen	2 bots
17. Mycoplasma gallisepticum agg. antigen	5 bots
18. Mycoplasma synoviae agg. antigen	5 bots
19. Eggdrop syndrome HI antigen	3 bots
20. International antibrucella standard serum	3 bots
21. ELISA kit for antibody detection of IBR/IPV virus (Flow lab.)	5 sets
22. Peroxidase conjugate Anti-bovine IgG	2 ml
23. Peroxidase conjugate Anti-swine IgG	2 ml
24. Sephadex G200	100 g

26.	Sodium barbiturate (500g/bot.)	1 bot
26.	Centriflow Mol. wt. cut off 25,000 and 50,000 (12 piece/pack)	2 packs
27.	Clostridium perfringens antiserum (Type A, B and C)	each 2 bots
28.	Salmonella typing antiserum (Type 0)	2 sets
29.	E. coli typing antiserum, 21 serotype (Denka)	1 set
30.	FITC conjugate (Anti-Newcastle disease virus) 1ml/bot	10 bots
31.	FITC conjugate (Anti-Swine fever disease virus) 1ml/bot	5 bots
32.	FITC conjugate (Anti-Aujeszkys disease virus) 1ml/bot	5 bots
33.	FITC conjugate (Anti-Porcine Parvovirus disease virus) 1ml/bot	3 bots
34.	FITC conjugate (Anti-Transmissible Gastroenteritis virus) 1ml/bot	1 bot
35.	FITC conjugate (Anti-Marek s disease virus)	1 bot
36.	FITC conjugate anti-swine IgG (Rabbit)	1 bot
37.	FITC conjugate anti-bovine IgG (")	1 bot
38.	FITC conjugate anti-chicken IgG (")	2 bots
39.	FITC conjugate anti-rabbit IgG (Goat)	2 bots
40.	Car, 4-wheel drive, pick-up van	1 unit
41.	Fume Hood (1.5 x80 x150 cm) with accessories	1 set
42.	Fluorescence microscope (incident illumination system)	1 set
43.	Sledge microtome	1 set
44.	Microscope, high resolution, for hemoprotozoa examination	1 set
45.	Electronic flash for camera	1 set
46.	ELISA system with 4 boxes of flat bottom microplate	1 set
47.	Lamina flow (vertical air flow system)	1 set

48.	Mice cage with water bottle	100 sets
49.	Glass-ware washer with brush	1 set
50.	Brush of washer for above	10 sets
51.	Brush for MITA Universal washer type no. 7830 (Mita Rika Kogyo Co., Ltd.)	10 sets
52.	Rotary vacuum evaporator	2 units
53.	Deep freezer (-34°C) 15 cu.ft.	1 unit
54.	Tissue float bath	1 unit
55.	Minor surgical set for training	135 sets
56.	Minor autopsy set for training	14 sets
57.	Multichannel pipette 50 µl, 8-channel	1 set
58.	Multistepper, 25-50 µl	1 set
59.	Dispenser, 1,2,5 and 10 ml	each 5 pcs
60.	Micropipette 5-50 µl (adjustable)	2 pcs
	Micropipette 50-200 µl (adjustable)	2 pcs
61.	Dispenser micropipette 10-50 µl (adjustable) with manifolds	1 set
62.	Homogenizer (Ultra turrax)	1 set
63.	Microbus, 15 seats, for field work and training	1 unit
64.	Assembly of incinerator	1 set
65.	Alarm system for central equipment units	2 sets
66.	Electric balance with 4 decimals (Digital) (Top loader)	1 set
67.	Pipette aid with charger stand	2 units
68.	Draft chamber	1 unit
69.	Cattle restraint stanchion, transportable	1 unit
70.	Micro data processor	1 set
71.	Horizontal electric saw for autopsy of large animal	1 set
72.	Ampules for lyophilization (transparent)	2,000 units
73.	Ampules for lyophilization (brown)	1,000 units
74.	HEPA filter for clean bench	1 set
75.	Copy machine	1 set

76.	Leighton tube	100 units
77.	Vacuum Head, for tissue processor, with rubber packing Mod. VRX-22, Sakura Finetech. Co.	1 set
78.	Rack for deep freezer	20 pcs
79.	5 experimental tables with 15 chairs	
80.	Main screw for large sliding microtome type LS-113, Yamato Kohki	1 set
81.	Analyser for blood component	1 set
82.	Thermometer for parafin incubator	1 set
83.	Tape amplifier and speaker component	1 set
84.	Serum refractometer	1 set
85.	Centrifuge tube with stopper (glass, 50ml, round bottom)	50 pcs
86.	Microtome blade, disposable, S-35 type (50 blades/pack)	25 packs
87.	Filter holder, swiny type, stainless, 25 mm	5 pcs
88.	Slide Projector	1 set
89.	Muffle oven (10x10x10 cm)	1 set
90.	Autopsy saw for small animal	2 units
91.	Long rubber gloves	10 pairs
92.	Polyethylene bottles with tap	
	- Capacity: 20 litres	10 pcs
	- Capacity: 5 litres	20 pcs
93.	Air conditioner for equipment room	3 units
94.	Blades for cryostat, Sakura Model CM-41 (17 cm)	2 pcs
95.	Type-writer, electric	1 unit

Item of reagents and equipments for the second year of the After-care Program are as follows:

Item	Quantity
1. Porcine parvo virus HI antigen (20 test/pc)	5 pcs
2. Toxoplasma Latex agg. antigen (50 test/pc)	4 pcs
3. Swine haemophilus Latex antigen (100 test/pc)	4 pcs
4. Mycoplasma hyopneumoniae CF antigen (10ml/bot)	5 bots
5. Bovine babesiosis CF antigen	5 pcs
6. Bovine anaplasmosis antigen (1ml/amp)	5 pcs
7. Liver fluke antigen for skin test (5ml/bot)	5 bots
8. Johnin (5ml/pc)	5 pcs
9. Johne's disease CF antigen	5 pcs
10. Tuberculin (5ml/pc)	5 pcs
11. Bovine leucosis AGP antigen (250test/pc)	5 pcs
12. Brucellosis CF antigen (5ml/pc)	3 pcs
13. Campylobacter fetus agg. antigen (50 ml/bot)	6 bot
14. Complement, dry	10 pcs
15. IBD AGP antigen (1ml/bot)	3 bots
16. Mycoplasma gallisepticum agg. antigen (5ml/bot)	5 bots
17. Mycoplasma synoviae agg. antigen (5ml/bot)	5 bots
18. Eggdrop syndrome HI antigen (1ml/bot)	5 bots
19. ELISA kit for antibody detection of IBR/IPV virus, (Flow Lab.)	2 sets
20. Peroxidase conjugate anti-bovine IgG	5 ml
21. Peroxidase conjugate anti-swine IgG	5 ml

22.	DEAE cellulose, DE52 Whatman (2kg/box)	1 box
23.	Barbituric acid (500g/bot.)	2 bots
24.	Sodium barbiturate (500g/bot.)	1 bot
25.	Centriflow Mol. wt, cut off 25,000 and 50,000 (12 pieces/pack)	2 packs
26.	FITC conjugate (Anti-Newcastle disease virus) (1ml/bot)	10 bots
27.	FITC conjugate (Anti-Swine fever virus) (1ml/bot)	5 bots
28.	FITC conjugate (Anti-Aujeszky's disease virus) (1ml/bot)	5 bots
29.	FITC conjugate (Anti-Porcine Parvovirus disease virus) (1ml/bot)	3 bots
30.	FITC conjugate (Anti-Transmissible Gastroenteritis virus) (1ml/bot)	1 bot
31.	FITC conjugate (Anti-Marek's disease virus)	1 bot
32.	FITC conjugate Anti-swine IgG	1 bot
33.	FITC conjugate Anti-bovine IgG	1 bot
34.	FITC conjugate Anti-chicken IgG	2 bots

35.	Ion analyzer	1 set
36.	Freezer (-20 ^o C) 15 cu.ft.	1 unit
37.	Transformer (220V to 110V)	2 sets
38.	Microwave oven (for DNA probe)	1 pc
39.	Heat block	1 set
40.	Nitrocellulose paper	4 rolls
41.	Major surgical set for training	16 sets
42.	Trocar canular for training	150 pcs
43.	Chromato chamber	1 unit
44.	Rotor (No.17N) for high speed centrifuge Model RS-20-2, Tomy with polypropylene bottle, 500ml	1 set 18 pcs
45.	Rack for animal cage, stainless steel	2 pcs
46.	Chicken cage	10 cages
47.	Ultra deep freezer (-80 C) 12cu.ft.	1 unit
48.	Vortex mixer (automatic)	2 units
49.	Multidish for tissue culture 6 wells 24 wells	4 cases 4 cases
50.	Centrifuge, swing type with balance	1 set
51.	Truck, double cabin (Diesel) for sample collection	1 car
52.	Flask hanger with electric hot air blower	2 sets
53.	Fetal calf serum (500ml /bot.)	10 bots
54.	Haematocrit centrifuge	1 set
55.	Major autopsy set	1 set
56.	Densitometer for thin layer chromatography and electrophoresis, wavelength adjustable	1 set
57.	Auto-desicator (electron dry)	5 set
58.	Rabbit cage	10 pcs
59.	Hot plate with stirrer	2 sets
60.	Tuberculin, syringe 0.5 ml with needles	200 pcs
61.	Swine fetal forceps	3 sets
62.	Car, van type for field survey	1 car

63.	Chromatography column (C16/20, C16/40, C16/70)	3 pcs
64.	Double distillator	1 set
65.	Balance for swing type centrifuge Model CD-50 SR, Tomy Seiko Co.	4 pcs
66.	Balance for centrifuge, Tomy Seiko Co., TS-9 Rotor	1 pc
67.	Animal intubation needle with spherical ball at tip	
	- straight 24g x 1 inch	12 pcs
	- straight, 22g x 1 inch	12 pcs
	- curved, 20g x 1 1/2 inch	12 pcs
	- curved, 18g x 3 1/2 inch	12 pcs
68.	Generator, 50 KVA (diesel engine)	1 unit
69.	Cathodeon deuterium lamp for UVcon, Toyo. Model UV-750L	1 pc
70.	Horse serum (Mycoplasma free) 1 x 100ml	20 bots
71.	Porcine serum (Mycoplasma free) 1 x 100ml	10 bots
72.	Ventillator fan for animal experiment unit	10 sets
73.	Video tape recorder for training	1 set
74.	Twin trough developing chamber for thin-layer chromatography	10 pcs
75.	Glass plate for thin-layer chromatography, 20 x 20 cm	5 boxes
76.	Thin layer chromatography plate box holds, for 20 x 20 cm plate	5 sets
77.	Super high pressure mercury lamp, USHIO, Type VSH-200 MB No. 1171	6 pcs
78.	Boots, rubber (Yokohama Gomu Co.)	30 pairs

79.	Silicone plug	
	- for test tube ϕ 13 mm (1 x 100 pcs)	5 packs
	- for test tube ϕ 16 mm (1 x 100 pcs)	5 packs
	- for flask 300 ml ϕ 27 mm	50 pcs
	- for flask 500 ml ϕ 30 mm	50 pcs
	- for flask 1000 ml ϕ 36 mm	50 pcs
80.	Tissue culture bottle (250 ml)	100 bots
81.	Stabilizer 6 KVA	4 sets
82.	MEN 100 gm/bottle	20 bots
83.	Needle for cattle blood collection	200 pcs
84.	Vacuum filter holder (Polycarbonate) ϕ 47 mm (1 x 250 ml)	10 pcs
85.	Table timer 1 hour	6 pcs
	Pocket timer 1 hour	12 pcs
86.	Phosphate buffer saline 100g/bot	15 bots
87.	Vacuum cleaner for Laboratory	2 units
88.	Camera range finder	1 unit
89.	Mortar with pestle ϕ 60 mm	50 sets
90.	Tap water softener	5 pcs
91.	Column softener for above	10 pcs
92.	Water bath, 6 L	1 set
93.	Refrigerator 20 cu.ft.	1 unit
94.	Refrigerator 5.5 cu.ft.	1 unit
95.	Water tank (400 gal)	10 pcs
96.	Water pump	2 units
97.	Experimental table for toxic materials	1 set
98.	Typewriter (Thai), portable	2 pcs
99.	Electrical safety cut (multiple type)	4 sets
100.	Research reference book	
101.	EO gas sterilizer	1 set
102.	Fluorometer	1 set
103.	Table for electric blance	1 set
104.	Zoom lens for video camera	1 pc
105.	Film slide adapter	1 pc
106.	Printing machine for extension activity	1 set

外来農家、家畜、検体の記録様式

その1

Monthly Report on Outbreak in the Month of.....19....
Southern D.C.

Kind of animal	Disease	District province	Number				H.B.
			Occurrence	Total animal	No of sick	No of death	

Epidemiological Survey

Tuberculin test

その2

No. Tuberc. District Province Date

No.	Owner	Animal identification	Breed	Color	sex	Age	Thickness of fold	Thickness after 72 hr.	Difference	Diagnosis

Epidemiological Report

その 3

In the Month of.....19.....

Activities	Target	The month act.	From Oct.	Total	N.B.
Epidemiolog					
1. Survey					
1.1 Cattle					
1.2 Buffalo					
1.3 Swine					
1.4 Duck					
1.5 Chicken					
1.6 Others					
2. Investigation					
2.1 Investigation					
2.2 Case following					
3. Vet. Service					
3.1 Treatment					
3.1.1 Cattle					
3.1.2 Buffalo					

その 4

Activities	Target	The month act.	From Oct.	Total	N.B.
3.1.3 Swine					
3.1.4 Duck					
3.1.5 Chicken					
3.1.6 Others.....					
3.2 Deworming					
3.2.1 Cattle					
3.2.2 Buffalo					
3.2.3 Swine					
3.2.4 Duck					
3.2.5 Chicken					
3.2.6 Others.....					
3.3 Sample Submitted					
3.4 Advice					
4. Reports of outbreaks					
4.1 Reports disease Status					
4.2 Reports disease status analysis					
5. Extension & Training					
5.1 Training for official					
5.2 Training for farmer					
5.3 Mass communication					
5.4 Pamphlet distribution					
5.5 Exhibition					

Mobile Unit

その 5

Date.....Month.....19.....

Animal	Place	No. of sample					Deworming	Treatment	Castration	N.R.
		Serum	bl. smear	feces	other	Total				
Total										

.....Pesticides

その 6

Epidemiology

Date.....

Total	serum	smear	U.R.	feces	other
No. of samples					

House.....

Town.....

District.....

Province.....

Page.....

No.	Owner	Identifi- fication	Animal	Breed	Color	Sex	Age	Vaccine.	Treat- ment	Deworm	N.R.

— 1988年末集中豪雨によるセンター被災状況 —

集中豪雨期間：1988. 11. 17 — 11. 24 (集中、21—23)

被災内訳：1. 宿舎 16戸 (主に床、扉 etc.)

2. 道路の破損 402m

3. 道路々肩の破損 71m

4. 金属 さくの柱 61本

5. 金網 610m

要被災補修金額 B 159,590 (¥ 829,863) 1 \$ 130 B 25. として

実験動物 (死亡) 産卵鶏 60羽 モルモット 25匹 兎 5匹

マウス 109匹

損失概算額 B 7,040

ほとんどの車 (大、小に亘り)

構内揚水ポンプ (破損) 平成元年度要求中

* J I C A 対応 1) タイ事務所 (J I C A) B 35,000

註) 当初 Tokyo J I C A 指示 応急対策上支出申請中のところプログラム適用不可 (Project of) となった。

0. Introduction

The role of disinfection is extremely important for us animal quarantine officers to carry out the routine business at water-front inspection of imported or exported animals and livestock.

If disinfection is incomplete, disease microorganisms are ready to make invasion through that incompleteness at any time and from anywhere.

On the other hand, it is being pressingly important to improve or develop disinfection technology in accordance with the modernization of packing technology and transportation means of imported livestock.

Under these circumstances, this topic has been discussed as an important topic in various conferences including the recent branch directors' meeting. Also, training concerning this topic, especially disinfection technology training for newcomers to livestock business officers, is stressed.

Therefore, I intend to write this article as practical reference guide for livestock disease-prevention officers working on the frontline, with an easy explanation of basics and theories of disinfection and sterilization while mentioning practical applications and frequent problems one might face in routine.

1. Definitions of Disinfection and Sterilization

Disinfection is to destroy microorganisms harmful to human beings; sterilization is to pasteurize or remove all the microorganisms from certain object; pasteurization is to destroy microorganisms.

To pasteurize or remove all the microorganisms naturally includes not only disease microorganisms but also non-disease microorganisms.

Sterilization is markedly different in this point from disinfection which is to destroy disease microorganisms or make them powerless. Thus, disinfection means simply removing the effect of infection and involves less strict conditions than in the case of sterilization.

Pasteurization, on the other hand, defined as to destroy microorganisms, is simply the course of action and does not refer to the degree of results.

2. Mechanisms to Destroy Microorganisms

1) Heating:

This is to denature the protein in microorganisms. The measures involve flames (incineration), pressurized steams, flowing steams, boiling, dry heating, etc.

2) Application of Certain Electromagnetic Waves:

(1) Radiation Radiant rays are applied to the microorganisms' targetsensitive to their energy. The H- and OH-bases are extracted from water in the microorganisms resulting in their deaths. Cobalt 60 is widely used as the ray source.

(2) Ultraviolet Rays The wavelength of ultraviolet waves destroys nucleic acid, especially DNA, of microorganisms. Usually, a 15-Watt pasteurizing light bulb is layed out every 6.6 to 9.9 square centimeters.

3) Application of Gases:

(1) Ethylene Oxide ... It directly affects nucleic acids in microorganisms by causing alkylation which checks metabolism in their cells. It is usually mixed in use with such incombustible gases as carbon dioxide gas, freon, etc.

(2) Formaldehyde ... It causes coagulation through its action with -SH- and -NH₂-active bases of microproteins resulting in their deactivation. It is usually mixed in use with the same amount of water.

4) Drugs:

The drugs are generally disinfectants. The mechanism of destroying microorganisms, after the drug is soaked inside through the cell membrane, may differ according to the type of disinfectant as follows:

(1) Mercuric chloride, mercuric oxycyanite: combines with protein in protoplasm to check cell functions.

(2) Hydrogen peroxide, potassium permanganate, bleaching powder (chloride of lime), iodine: checks cell functions by way of oxidization.

(3) Strong acid, strong alkali: checks cell functions by melting cell components.

(4) Alcohol, ether: melts protoplasm.

(5) Phenol, cresol, formalin: coagulates or denatures protein to check cell functions.

(6) Positive soap, boric acid, pigment bactericide: affects indispensable enzymes.

The above have been descriptions for non-spore types. For the spores which have thicker cell membranes and less water, the killing mechanism has not yet been well clarified. Also, many virus-killing mechanisms involve coagulation and denaturation of protein.

(Note) It is necessary to be acquainted with the killing mechanism and the nature of the drug in selecting drugs.

3. Ideal Conditions of Disinfectants

- 1) Wide range of effective spectrum
- 2) Destroying microorganisms in short time of contact
- 3) Lasting power of pasteurizing capacity
- 4) Effectiveness even under the existence of protein
- 5) Little or no harm to human beings
- 6) Strong penetration
- 7) Water-solubility
- 8) No harm to the nature of the matter to be disinfected
- 9) Easy to handle
- 10) Little drop in effectiveness through preservation
- 11) Free from unpleasant smell
- 12) Low in cost

4. Factors That Affect the Effect of Disinfection

The resistivity of microorganisms against disinfectants differs markedly according to the kinds of microorganisms, their lifecycle even among the same kinds, or whether they are spores or non-spores.

On the other hand, disinfectants are many in kinds and have different mechanisms of pasteurization. Major factors necessary to achieve the aim of disinfection --- such as density, pH, temperature, and effective time of disinfectants --- are described below.

1) Density:

Disinfectants are density-dependent in their effectiveness and it is possible to shorten the pasteurization time and heighten the effectiveness.

Ethylene oxide and formaldehyde, as they are more diluted, become less powerful and require more pasteurization time. The same is true in the case of general disinfectants.

Some two disinfectants, when applied together, form chemical activation compounds to heighten the pasteurization effect and speed up the process. Some of such examples are: alcohol solution of formaldehyde, alcohol solution of inverted soap, alcohol solution of iodine (iodine tincture), mixture of chlorhexidine (hibitane) and surface-active agent.

2) Temperature:

Generally speaking, disinfection power is increased as the temperature

rises.

In the EO gas and general disinfectants, disinfectant particles (molecules) are floating and pasteurization process occurs when such particles make a collision with microorganisms. These molecular motions are activated as the temperature rises and disinfection effect is increased. Quantitatively, the ratio between reaction velocity coefficients when the reaction temperature is raised by 10 degrees Celsius is expressed as Q10 and general chemical reactions in pasteurization have the Q10 values of 2 to 3.

3) pH:

Many disinfectants are markedly influenced in their effectiveness by the pH change in them. For example, the power of an inverted soap is weak in an acid and strong in an alkali while that of ampholytic soap is strongest either in a neutral solution or in an alkali.

Furthermore, halogens such as bleaching powder and iodine are strongest in a neutral to acid solution while compound solution of cresol and orth agent are strongest in a neutral solution and they weaken in an alkali. Therefore, cresol, orth agent, and bleaching powder should be used after rinsing out thoroughly the alkaline washing liquid used in washing process before disinfection.

4) Effective Time:

Effective time (necessary) for disinfection, as indicated above, depend not only on density and temperature, but also on the quantity and quality of the disinfection object, ways of wrapping and loading, and the kinds of or the degree of pollution by the microorganisms.

The processing time should be determined under individual conditions composed by such factors.

As may be concluded from the above discussion, the processing time should be determined after a comparison diagnosis with the other conditions fixed.

5) Existence of Organic Substance:

In an existence of pollution by organic substance, chemical molecules of disinfectants are attracted, absorbed, and enervated by the organic substance and a drop in disinfection power is caused leaving only the remnants not affected by the organic substance to work on microorganisms.

Generally speaking, the stronger a disinfectant is, the less choices it makes. Therefore, stronger disinfectants react with various substances in the reaction environment, causing a drop in its pasteurization power.

At any rate, when a considerable organic pollution is found in the object of disinfection, sufficient washing should be done before applying disinfectants. It is dangerous to have too much confidence in disinfectants while neglecting the above theory.

6) Kinds of and the Number of Microorganisms

As described earlier, disinfection effects differ according to the pasteurization mechanisms of disinfectants and to the kinds of microorganisms.

Concerning the pollution by microorganisms, one may think that total

extermination can be achieved by disinfectants even when a large number of microorganisms exist. However, it is not the case.

Furthermore, in practice, it is usually the case that the object is polluted by a plural number of kinds of microorganisms. Therefore, it is important to pay enough attention beforehand to the kinds of microorganisms and the degree of this pollution.

Also, it is critically important to know that disinfectants generally do not have a very wide range of effectiveness against among non-spores, spores, fungi, and viruses. Especially, few can kill spores in a short time. As reference, Figure 1 shows comparison of pasteurization powers of typical disinfectants in the densities at which they are usually applied.

Figure 1. Comparison of pasteurization powers of disinfectants

Disinfectants	Density usually applied	Microorganisms			virus	degree of strength in action
		non-spore	tubercle bacilli	spore		
mercurial agent	1:500 -1,000	+	-	-	++	3
quaternary ammonium comp.	1:750	+++	-	-	+	3
phenolic compounds	0.5 - 3%	+++	++	+	+	2 - 3
chloric compounds	4 - 5 %	+++	++	++	++	2
iodophors	75 - 100 ppm	+++	++	+	++	2
alcohol	70 - 90%	+++	++++	-	+	1 - 2
formaldehyde	3 - 8 %	+++	++++	+++	++	1 - 2
glutaraldehyde	2 %	++++	+++	+++	++	1
formaldehyde alcohol	8 - 70 %	++++	++++	+++	++	1
iodine alcohol	0.5 - 70 %	+++	++++	-	++	2
ethylene oxide	450 - 800mg/l	++++	++++	+++	++	1

Thus, all disinfectants are effective on non-spore types of microorganisms and some differ in its power over different kinds of microorganisms. For example,

quaternary ammonium compounds work less on gram negative bacteria than on gram positive bacteria; phenolic compounds have the same tendency. Little pasteurization can be expected from alcohols, quaternary ammonium compounds, and mercuric agents against spore-type microorganisms.

On the other hand, halogens such as chlorine or iodine such as ethylene oxide have comparatively strong pasteurization power on spores.

In the case of gaseous disinfectants, other factors such as humidity (RH) and pressure (atmospheric or pressurized) should be considered as critical factors.

7) Humidity

Gaseous pasteurization is done under a condition where water is extremely restricted compared with in the case of liquid disinfectants. Therefore, the relation between atmospheric humidity and disinfection object humidity should be considered.

Ideal air humidity for disinfection using EO (ethylene oxide) is said to be between RH30 to 50 %, and there will be a considerable drop in effectiveness around RH 20% or above RH 80%. Gaseous F (formaldehyde) is heavily humidity-dependent and increases its pasteurization power as the humidity increases.

F gas disinfection does not make a marked increase in power above RH 50 % but its best RH for pasteurization is said to be around RH 80 - 90 %.

8) Pressure

Atmospheric pressure is the pressure caused by the weight of atmosphere. The unit atmosphere is taken to be 760mm mercuric column high under the standard gravity at 0 degree Celsius.

Pressurizing, which usually requires special facility or equipment,

increases the pasteurization power compared to the normal (atmospheric) pressure.

An example: *E.insidiosa*, *S.pullorum*, *B.anthraxis*, and *B.anthraxis* (spore) were worked on by EO (Epon 12) at 30 degrees Celsius under the normal as well as pressurized pressures. The results: all microorganisms were pasteurized in 0.5 hour under the pressurized pressure while under the normal pressure *B.anthraxis* (spore) died in 2 hours and others in 1 hour.

Also, under the normal pressure, unevenness of gas density and temperature leads to unevenness of pasteurization effect.

On the other hand, under the pressurized pressure, the gas density and temperature can be made even while the heat and gas may penetrate and permeate inside the disinfection object thus heightening the pasteurization effectiveness.

9) Conclusion

Disinfectants are usually applied in the form of a liquid solution. Disinfection is achieved when chemical substance in the solution acts on the microorganisms; however, the pasteurization power vary markedly in an environment where osmotic pressure is high because of the existence of salt or sugar or in an environment where water is scarce.

Other critically important factors in the course of pasteurization mechanisms involve density, temperature, humidity, kinds of and the number of microorganisms.

Generally, diluted disinfectants need to be kept above 20 degrees Celsius

and some disinfectants do not activate unless its pH is constant.

Washing is important not only in the sense that it removes pollution such as organic substance but also in the sense that it decrease the number of microorganisms, which leads to an efficiency in pasteurization in a short time period. Except in the case of special instances (such as livestock), sufficient preceding washing is necessary in order to remove pollution which hampers heat conduction and disinfectant permeation, maximizing the effect of disinfection and sterilization. But when an infection occurred or is suspected to have occurred, the action of disinfection should be taken before anything without moving any of the equipment or materials in the livestock houses.

(NOTE) What are 'spores'?

Spores (spore-type microorganisms) are strongest against heat (the same is true against drugs and radiant rays) among all living matters on earth and some spores can continue to live after a few hours of exposure to boiling water. This strong resistivity of spores against physical and chemical processes compared to non-spores is said to come from their thick cell walls and scarceness of water and salt in them.

The formation of spores, with a few exceptions, is that of bacillus and involves *Bacillus* (aerobic) and *Clostridium* (non-aerobic) of gram positive. Such spores begin to germinate in certain, appropriate conditions, become non-spore type and start reproduction by fissions.

The time period from germination to the formation of new spores is a few hours to 24 hours. Therefore, after a time lapse of more than one day a new formation of lasting-type spores should be suspected.

It is generally said that spores cannot be killed by normal disinfectants by normally using them. What disinfectants can kill in a short time are mainly non-spore type microorganisms.

Spandling lists as disinfectants capable of killing spores ① ethylene oxide, ② formaldehyde, and ③ glutaraldehyde.

Figure 2: Comparison of resistivities of spore-type microorganisms, fungi (spore) and virus.

Pasteurization means	E. coli	spores of microorganisms	fungi (spore)	virus
phenol	1	100,000,000	1 - 2	30
formaldehyde	1	250		2
dry heating	1	1,000	2 - 10	+1
humid heating	1	3,000,000	2 - 10	1 - 5
ultraviolet rays	1	2 - 5	5 - 100	5 - 10

The above figure shows resistivity of spores and others when the resistivity of a colon bacillus is taken to be 1. It can be seen that phenol effect cannot be represented as a multiple, that is, phenol does not work.

On the other hand fungi(spore) is strong compared with general microorganisms but not as strong as spores.

At any rate, the resistivity of spores is extremely strong against any type of disinfectant and death of spores means death of all other

microorganisms.

5. Ways of Disinfection

Disinfection ways can be roughly divided into two types: physical and chemical.

[Physical Disinfection]

1) Heating:

It is to burn or boil the microorganisms to death by adding heat and this method is widely and easily used and is an efficient way of disinfection.

(1) Incineration It is the safest way of heating disinfection. It is best to use this method when it is possible.

(examples: incineration furnace, flame thrower)

(2) Humid heating There are two kinds of humid heating: boiling and steam disinfections.

① Boiling disinfection Boiling of objects (vessels) dipped in the disinfection tub under the temperature of 100 degrees Celsius for 15 minutes or more is done. In this case, water should be restricted in quantity with consideration to the heat conduction and permeation to the vessels. 2-% sodium carbonate or 0.1-% sodium hydroxide may be added here to increase the disinfection effectiveness and to lessen rusting effect on metal.

② Steam disinfection Flowing steam is usually used through a steam cleaner containing steam of 100 degrees C. temperature.

Disinfection by pressurized steam and hot water is powerful and also effective in removing pollutants that exist. It can also be applied to kill parasite eggs.

(3) Dry heating Dry heating is less powerful than humid heating because the heat capacity is lower and heat conduction is poorer even under a high temperature. Disinfection (sterilization) by dry heating is almost limited to glass and ceramic equipment used in laboratories.

There are following standards for disinfection by dry heating:

- for non-spores: 100 degrees C., 1.5 hours
- for mold spores: 110 - 115 degrees C., 1.5 hours
- for spores: 140 degrees C., more than 3 hours

2) Ultraviolet rays:

200 - 300 nm ultraviolet rays have strong pasteurization powers. Gram negative bacteria is especially affected while gram positive bacteria and fungi are less affected and spores least affected.

Usually, an effect which is close to sterilization is said to be achieved by ultraviolet-ray disinfection under a good condition.

Sunlight and pasteurization light bulbs (high pressure mercury meter) are widely used for ultraviolet-ray disinfection; however, dust and water particles in the air markedly lessen the effect because the air becomes less permeable. Therefore, such methods are effective only for disinfection of object surfaces.

3) Radiation:

Radiant rays used for radiation pasteurization are chiefly from cobalt60 as the ray source.

It is a great advantage over other methods that it can be used under the normal temperature and pressure. Also, it has a high permeation capacity and the process can be done in a conveyer-system style.

Its defect is that it requires bulky facilities such as shielding equipment and radiation monitoring system in order to protect humans from radiation exposure.

Radiation has a wide range of effective spectrum and are used for not only use-and-dispose hygiene materials, medical equipment, and drugs but also bacteria-free animals and solid food for SPF animals (5 Mrad for bacteria-free animals, 3 Mrad for SPF).

[Chemical Disinfection]

1) Alcohols:

Use of alcohol as disinfectants is limited to ethanol and isopropanol both of which are used widely.

Both alcohols possess favorable characteristics as disinfectants: they have a wide range of strong, effective spectrum, are comparatively cheap in price, have washing capacity, evaporate easily, and are colorless.

(1) Ethanol It is one of the oldest disinfectants. It evaporates easily and burns easily. Its power lessens under the existence of organic

substance.

Its density is usually 70 % for disinfecting human skin or hands and fingers, 80 % for medical equipment. 70 % alcohol becomes even more effective when an acid (hydrochloric acid) is added to make the solution a weak acid.

Disinfection may be achieved within 5 minutes under the ideal density.

It is, however, useless against spores and mould.

Alcohol as a disinfectant is 70 v/v % ethanol which enables one to disinfect in a short time within the safety range because of a high vaporization pressure.

(2) Isopropanol It is the largest alcohol in molecular weight which freely mixes with water.

Its pasteurization power is stronger than ethanol, it does not harm human skin, and it can be used as a substitute for ethanol.

For disinfection of human skin and hands and fingers, 50 - 70 % is the best density.

Special attention should be paid to the density. For example, 50% isopropanol can disinfect Staph and aureus within 10 seconds while 90% isopropanol cannot even after 120 minutes. Isopropanol is effective also on viruses.

Like ethanol, isopropanol is useless for spores and mould.

2) Aldehydum:

Many disinfectants work strongly on non-spores but much less on spores.

Formaldehyde as well as EO is the only one aldehyde which works strongly on spores and has been used since long time ago.

(1) Formaldehyde Formaldehydes sold in the market (F) are 40 % formaldehyde water solution (formalin) and a para-formaldehyde (a solid, containing 91 - 99% formaldehyde).

It has a wide range of effective spectrum. But it is less effective than sodium hypochlorite.

A 3 - 5 % solution is used for spraying inside the rooms or for disinfecting equipment and is effective for microorganisms, fungi, spores of these, and viruses, but has the problem of pungence and poison.

It may not be mixed with ammonium, protein, or iodine. Also, its power decreases under the existence of organic substance.

This solution may be applied to dead bodies or part of them; however, the application range is limited because of its pungency.

Other than above, a 20%-formalin + 70%-alcohol (Germicide) is on the market, which is as strong as the previous aldehyde and good especially for cold processing of metals.

3) Phenolic compounds:

Phenol has been widely used in the field of pasteurization and preservation; however, it is less used these days because of the poisoning problem.

Main phenolic compounds are phenol disinfectants, phenol derivative, compound solution of cresol, and chloro-cresol.

(1) Phenol It is known that a phenol coefficient shows how many times a disinfectant is stronger than the power of a phenol.

Phenol at room temperature is a crystal and before its actual use it should be heated to melt and then water should be added as 1 to 10 phenol.

It has the stable disinfection effectiveness at 1 - 3 % density and it is effective even under the existence of organic substance. Therefore, it is often used for disinfecting feces. One should note that the disinfection power drops sharply under an alkaline condition (such as after an alkaline washing in livestock houses).

Other advantages involve little harm to metals. But it is not too well used these days because of the poisoning effect and the strong smell.

(2) Compound Solution of Cresol and Compound Solution of Chlorocresol

Such cresols are brownish, oil-like liquids mixed with the same amount of soap water. Chlorocresol is made by adding chlorine to cresol and leaves some sediments when mixed with regular water.

The pasteurization effect is 2.3 times that of phenol and it is effective on gram positive and gram negative bacteria, less effective on mould, while no effect can be expected on spores and viruses.

The density for use is 3 to 5 % in compound solution of cresol and 1 to 2 % for compound solution of chlorcresol.

This solution has often been used as disinfectant since long time ago.

The most advantage is its lasting effectiveness even under the existence of organic substance such as feces, blood, tissue, organs, etc. It is best to dip the polluted white robe in cresol for washing.

Other objects of application involve livestock houses, livestock bodies, disinfection tub for washing footwear, disinfection of ditches. However, it is not good to apply to water and food suppliers because of the strong smell.

4) Dichlorbenzol (Orth Agent):

It is a colorless liquid containing dichlorbenzol as the main substance. It also contains either chloroxyleneol, cresol, or chlorcresol as 20 to 30 % of it and soap water, etc. The composition differs according to the kind of product.

Density for use is 0.5 to 1 % for livestock houses and equipment and 2% for killing maggots.

It hardly loses its power even under the existence of organic substance and it is effective in disinfecting 汚染物の殺菌 at room temperature.

To kill oocyst it takes 2 to 3 hours at 20 degrees C. and 15 minutes at 70 degrees C. using a humid heating. So it is possible to kill them in a short time by applying the orth agent in a warm water of 60 to 70 degrees C.

5) Surface Active Agent

Surface active agents are general names given to chemical compounds capable of lessening the surface tensions. They may be categorized to four main categories (positive-ion, negative-ion, non-ion, and both-ion surface active agents) according to the form of ions it becomes in water.

Positive-ion surface active agents are most powerful of these and quaternary ammonium compounds are mainly put in practical use. Quaternary ammonium compounds become more powerful as the temperature rises.

But normal soap to neutralize this kind of positive ions is negative-ion type; therefore, the effect is offset. So, to simultaneously use a normal soap, one should use an amphoteric surface active agent (Tego51) as a correct way of using the disinfectant.

It is colorless, odorless, and stable as a solution. It does not rust. It keeps bacteriostatic for a long time when being glued to surface after disinfection process. It is also harmless to the skin and low in poisoning effect.

6) Inverted Soap (benzethonium chloride or benzalkonium chloride),

Ten percent solutions of the above mixed with non-ion type surface active agent in order to increase its washing power are sold in market as osvan and hyamine.

Inverted soap has a strong pasteurization power when measured in its phenol coefficient, is low in poison and pungence, does not rust metals and is

stable, while on the other hand it decreases in power under the existence of organic substance, protein, and alkalis. Therefore, it is desirable to use inverted soap to disinfect livestock houses after making a thorough washing by water to remove polluting matters. Also, as mentioned earlier, it becomes powerless in combination with normal soap.

On the other hand it is possible to increase its power by using it with alcohol.

Density for use is 1 to 2 % for disinfecting hands and fingers, etc., and 0.5 % for equipment (metals, rubbers, and plastic products). Disinfection objects should be non-spore type microorganisms. It is especially effective on gram positive bacteria and less so on gram negative bacteria.

7) Ampholytic surfactant (alkylpolyaminoethyl glycine hydrochloride)

Ampholytic surfactant complements the defect which inverted soap has and is sold in market as Tego 51 as a 2 to 10 % solution of alkylpolyaminoethyl glycine hydrochloride.

It has a strong pasteurization power when measured in a phenol coefficient, is stable in mineral water, may be used in a much diluted solution. It hardly contains poison or pungency smell but it decreases its power under the existence of organic substance or protein. However, compared with inverted soap, the influence is smaller.

It is effective not only on normal microorganisms and fungi but also on *Pseudomonas aeruginosa* and tubercle bacilli.

It is used in a 0.5 to 1 % solution for hands and fingers, livestock bodies,

machinery, etc. It is not usually used for disinfection of livestock houses.

8) Haloid

Among halogens chlorine and iodine are oldest in history and can be called the first-class disinfectants that have been recognized and used widely in medical organizations, in pasteurization of water, in public hygiene, and in the field of disinfecting foods since the middle of the 19th century.

The quick action of pasteurizing of halogens comes from its strong power of oxidization which destroys activation of all proteins in cells.

Halogens are effective on all forms of microorganisms (spores or viruses) and are used daily and widely as a general all-mighty.

9) Sodium hypochloride

Sodium hypochloride (NaOCl) kills a wide range of microorganisms; viruses, non-spore type microorganisms, anti-acid bacteria, spore-type microorganisms, fungi, and protozoa.

Generally, free from organic substance, a solution as low as 1 to 6 ppm of chlorine can kill viruses and non-spore type microorganisms.

This disinfectant contains 5 to 10 % of the effective sodium hypochloride. Density for use is determined by the quantities of the effective substance and organic substance. Usually a 5 % solution is used after diluting it 50 to 100 times. However, less polluted facilities and equipment may be well disinfected by 300 to 500 times diluted solution.

It is strong in power, as mentioned, but it should be noted that its power varies according to the various affecting factors:

- Temperature Like general disinfectants, it increases its power as the temperature rises. The power is approximately doubled with a temperature increase of 10 degrees C.
- pH Sodium hypochloride is pH-dependent. Its power is stronger as pH decreases. But the best pH is said to be around 5, less than which would lead to a leaking of substance as chlorine gas.
- Existence of organic substance Organic substance, especially compounds containing nitrogen, markedly decreases its power.

Sodium hypochloride has the above characteristics and low in poison, low in price. Therefore, it is used as pasteurizing agent in a wide range of fields.

However, the characteristic of metal rusting is spoiling its use.

It should be kept in a non-metal, non-transparent, closed vessel and possibly in a cold place (less than 20 degrees C.).

Figure 3. Sodium hypochlorite: merits and defects

merits	defects
<ol style="list-style-type: none"> 1. Quick in pasteurization effect and does not choose kinds of microorganisms. 2. Does not form films on the surface of tools. 3. Not too affected by mineral or other components. 4. Non-poison when made by dilution. 5. Easy to measure its density. 6. Easy to measure the bulk since it is a liquid. 7. Low in price. 8. Includes high-density active components. 9. Removes bad smell. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Has special odor. 2. Leaves stains when dropped. 3. Gets frozen in cold weather. 4. Should be kept in cool, dark place. 5. Its power is greatly affected by alkaline property of disinfection object. 6. Causes rust if wrongly used. 7. Loses power under the existence of organic substance. 8. Useless if sedimentation occurs when added to water containing iron.

10) Bleaching Powder

A white powder with odor close to that of a chlorine. It should be kept closed in a dark place since sunlight, humidity, heat, and air may lessen the floating chlorine thus leading to a drop in effectiveness.

It is partially soluble in water and calcium hypochlorite which is an

effective substance of the powder is solved into water to show alkaline property and emits chlorine when met with an acid.

Authorized bleaching powder contains more than 25% of floating chlorine and some other in the market contains more than 60 % of floating chlorine.

The powder or a 5% solution is used according to the purpose of use. Use objects may be livestock housing, polluted water pool, livestock bodies, drinking water, and soil.

Disinfection of bleaching powder is very powerful. But it has the defect of weakening when much organic substance exists to consume the floating chlorine, or when pH is on the alkaline side. Disinfection of pure mountain water may require only one five-hundred-thousandth, but dirty water such as urinate pool or ditches may require more than one two-hundredth of dilution. Therefore one must change the quantity of effective substance according to the kinds and quality of the disinfection objects.

When an acid is applied to a bleaching powder solution, chlorine is freed and disinfection power increases. When bleaching powder is mixed into a strongly acidified urinate pool a large amount of chlorine is produced which may knock down people present by toxication.

11) Iodophors

I2 being the main component, it contains non-ion surface active agent. It has the color of yellowish brown and loses its color as the power decreases.

It has a quick effect. It is not influenced under the existence of protein

and does not lose power in a cold temperature.

It is more powerful than chlorines, little in poison, and is a good disinfectant. Its defects involve its yellow-brown color and the high price.

A solution of 0.1 to 1 % density is used for livestock housing, equipment, hands and feet, and drinking water.

It is unstable to sunlight, so when applied to a pool for disinfecting footwear, it should be placed in a shade.

Other iodine types involve an iodine tincture (0.5% of iodine with 70% of alcohol).

12) Chlorhexidine

It was developed by Davies in 1954.

It is a strong alkali and its solution is slightly surface active. When permeation and washing capacity is desired, surface active agent should be added.

Such surface active agent melts non-soluble salts, so it becomes possible to dilute the mineral waters.

It is weak in pungency and poison. The regular density is 0.10.5(?)% and no problem is expected against human skins and mucous membranes.

Therefore it is good for disinfection of body skins or of equipment and materials which has high possibility of touching the body.

It has an excellent power against gram positive and gram negative bacteria even with a very much dilute solution. However, it is not effective on spores and viruses.

The disinfection power is increased when mixed with 0.5% alcohol.

A water solution of 0.02 to 1.0 % density is used for disinfectin of hands and feet, dead bodies, livestock housing, and equipment and machines.
(Should be kept in a closed, lightless place)

ウイルス学

西村 豊

(昭和63年11月10日～平成2年3月31日)

全期間の診断結果に表にまとめた。各疾病について述べる。

1. 狂犬病

これらの数字は1986～1988年のものとほぼ同様であり、検査した約半数が陽性であった。検査数は1,000検体を越えており、1日平均3頭の脳の蛍光抗体染色を実施したことになる。これは相当な汚染度であるので、1990年もワクチン接種を4月から実施することであった。使用した抗狂犬病ウイルス蛍光標識抗体は、アメリカBBL Microbiology System社のもので、1バイアルを20mlに溶解し、小分けしたものを-20°に保存し使用していた。非特異反応が無く常にきれいに染色できた。

なお、Rapid Fluorescent Focus Inhibition Testは細胞がごく僅かの蛍光を示しただけだったので実施を断念した。

加藤専門家（病理学短期専門家）が持参したモノクローナル抗体を用いて、蛍光抗体間接法を行なった。目的は南部獣医診断所に送付された犬の脳アンモン角の抗原性の差異を検査することである。この試験にはDr. ブンラーと私はかなりの時間を費やした。すなわち蛍光抗体（以下FAと略す）陰性のアンモン角は2～3回試験を繰り返し、慎重に結果を出した。試験期間は1989年9月18日から1990年3月22日までであった。途中Dr. ブンラーがマレーシア国へ研修に出張したため長期間かかった。結果は3種類の抗原が存在していることがわかった。しかしDr. ブンラーはさらに例数を追加すると述べた。

なお、この結果は、Sureau (American Journal of Eoidermiology, Vol. 117, №5, 605～609)の報告と同様であった。

2. 豚コレラ

扁桃腺、脳および腎臓のクリオスタット切片をFAで染色した。株化細胞であるPKおよびSK Cellに診断材料を接種してFAを行なった。これらのFA標識抗体はコンケン獣医診断所が作製したものである。ウイルス室に材料と共に病歴表（別紙1）が届けられ、材料は直ちにクリオスタットで切片とされるか、あるいは-20°に保存されるかである。-20°のものは可及的速やかに切片とされた。

1989年5月31日に豚番号685を血斑病に似ているとし、アレルギーの面で検討する必要があるとしたが、その後このような材料は無く検討できなかった。

3. オーエスキー病

扁桃腺と脳をクリオスタットで切片としてFAを実施した。この標識抗体は国立家畜衛生生産研究所（NAHPI）から分与されていたが、Dr. チョンマーが仔豚を免疫して抗血清をつくり標識抗体の作製に成功した。以後この抗体を使用して診断した。

また、モノクローナル抗体の作製をオーエスキー病ウイルスで行なうことに賛同を得て、1989年7月11日から実施した。まずNAHPIからMyelma細胞P3UIを受領し、

RPMI 1640 メディウムで継代を始めた。しかし9月8日で継代不能となったので、NAHPIの熊谷チームリーダーにMyelomaの再交付をお願いしたが、まず計画を立てて継代に入るよう示唆され、準備中である。

4. ニューカッスル病

検査材料を当センターで生産された発育鶏卵の漿尿腔内に接種し、2代継代として証明している。接種後2日目に死亡し、血球凝集反応が陽性の場合強毒としている。特に判定には困難がなかったようである。

5. 鶏伝染性気管支炎 (IB)

ニューカッスル病と同様に発育鶏卵に検査材料を接種して証明している。羽毛巻縮と矮小が良く成立していたので育成舎にIBが侵入していないと思われた。

呼吸器症状のほか、腎臓の尿酸沈着が著名に発現するのが現在の流行の特徴なので、この点に重点をおいて剖検していた。

しかし、野外分離株を用いて国産IBワクチンの有効性を試験することは、これを行なう養鶏場が無いので実施できなかった。

6. 日本脳炎

抗体測定はウイルス室では実施しなかった。

7. アヒル疫

1989年10月に検査が始まり、蛍光抗体法とアヒルヒナへの接種を実施していた。標識抗体はNAHPIのウイルス室が作製したものを使用した。

8. マレック病

脚麻痺鶏が搬入され蛍光抗体法とSK細胞への接種によるCPEの確認により検査されたが、陽性鶏はなかった。

9. 山羊のウイルス性化膿発疹

1989年11月17日にKRABI、Plapraya農場で、Dr. SANONGの案内により、その惨状を目のあたりに見る事ができ、ワクチンの必要性を痛感したが、自家ワクチンで対応しているので、経験の素晴らしさを知った。この自家ワクチンは感染動物の病変部をすりつぶし、乳酸塩リンゲル液グリセリンで1%懸濁液としたものである。これを尾の腹部横側面に塗装した。免疫はワクチン接種後13日目に最高になり、完全な免疫は6~8か月間継続するとのことであった。

10. オーエスキー病ウイルスのDNA抽出と電気泳動は、良く染色できなかった。観察用の紫外線ランプが必要である。

11. モノクローナル抗体作製技術も、是非導入できるよう、まずミエローマを手もとに置いておくことが大切である。

12. 前述のウイルスDNAの電気泳動とモノクローナル抗体作製については、わが国で研修することになっているMr. Minitに期待したい。

カウンターパートの状況

チョンマー室長

1. 発育鶏卵への接種、尿液の採取、血球凝集反応またアンモン角の塗抹作成などウイルス室での業務を卒先して実施していた。
2. 室員に業務を配分し、診断成績を遅延なく提出していた。
3. 最新の文献を良く読んで診断にとり入れていた。
4. 難聴であったが立派な室長である。

Dr. ブンラー

1. 良く室長を補佐し、自らも株化細胞の継代を規則正しく実施していた。
2. 研究には大変積極的で、オーエスキー病ウイルスのDNAの抽出および電気泳動を文献をしらべながら実施した。
3. ネグリ小体の蛍光顕微鏡観察では、サイエンティストのMr. ニミッツおよび獣医補のニタヤを良く指導していた。
4. マレーシア国IPOHのアジア鶏病研究訓練センターで1か月間の研修を受け1990年3月6日に帰国した。

Mr. ニミッツ

1. 毎週金曜日にFA陰性の犬脳などのアンモン角乳剤をマウス脳内に注射する作業を共にしたが、技術は優秀であった。またこの作業には細心の注意が必要であったが、1年4か月間、事故無く過すことができた。
2. 室長の指導により、手際よくオーエスキー病ウイルスの蛍光標識抗体を作製した。

アフターケア・プログラム前後のウイルス室の状況

1. この室の一番の業務は狂犬病のFAによる診断であるが、ブラッサート作業員の採脳の技術は素晴らしいものであった。最初はチョンマー室長がアンモン角を塗抹していたが、後にはブラッサート自身で塗抹標本を作成し、ウイルス室まで持参するようになった。
2. 1989年2月28日に落射式蛍光顕微鏡を受領したので、従来より倍率を大きくできた。完全な暗室でなくても観察できるようになり、ニタヤ獣医補でも楽に判定できるようになった。
3. 発育鶏卵への接種には、センターで生産された褐色卵が使用されていた。これらの卵はニューカッスル病ウイルス感受性であり、IBウイルスで羽毛巻縮と小が見られていた。よってニューカッスル病ウイルスとIBの試験は可能であった。
しかしラウス肉腫ウイルスを接種してもポックが出来なかった。これについては、その

後検討できず、そのままになってしまった。おそらく白血病の試験は不可能であろう。

レベルアップに必要なもの

1. マウス、鶏、豚および牛の IgG 蛍光標識抗体
2. ELISAリーダーModel 2550のためのマウス、鶏、豚および牛の IgG ペルオキシダーゼ・コンジュゲート

表 全期間の診断結果

		狂犬病	豚コレラ	オーエスキ-病	ニューカッスル病	鶏伝染性気管支炎	アヒル疫	マレック病
1988年	11月	33 66	0 5	1 3	0 2	1 2		
	12月	57 96	3 12	0 3	3 3	3 4		
	計	90 162	3 17	1 6	3 5	4 6		
1989年	1月	52 91	1 10	0 5	2 2	7 10		
	2月	45 86	5 9		3 5	2 3		
	3月	41 88	1 3	0 2	2 4	2 5		
	4月	41 70	5 8	3 5	7 7	3 24		
	5月	47 83	1 1		3 11	9 17		
	6月	44 90	0 1	2 7	1 2	6 12		
	7月	51 85	0 1		2 10	2 10		
	8月	40 85	0 1	0 2	2 5	2 5		
	9月	43 77			3 6	0 3		
	10月	40 73	1 4	0 2	2 6	2 3	0 1	
	11月	40 90	1 3	0 2	5 11	3 5		
	12月	46 88	2 6	1 6	0 14	7 18	1 5	0 2
計	530 1006	17 47	6 31	32 83	45 115	1 6	0 2	
1990年	1月	62 121	4 6	0 3	3 13	7 12	0 1	
	2月	44 89	1 2	0 2	0 1	3 4	1 2	
	3月	42 64	1 3		1 2	1 1		
	計	148 274	6 11	0 5	4 16	11 17	1 3	

Ⅱ 短期専門家帰国報告

寄 生 虫 病

吉 原 忍

(平成元年 2 月 21 日～平成元年 5 月 18 日)

May 17, 1989.

Mr. Vitoon Kamnerdpetch
Director General
Department of Livestock Development
Ministry of Agriculture and Cooperative
Phayathai Road, Bangkok
Thailand

Dear Sir,

It is a great pleasure for me to submit a report on After-care Program of the Animal Health Improvement Program of Southern Veterinary Research and Diagnostic Laboratory Center, Thung Song after completion of my present duty for three months.

Taking this opportunity, I would like to express my gratitude for the kind collaboration and hospitalities of your staff of the center at Thung Song.

I am leaving to Gifu tomorrow morning and I will certainly retain close contact with Thai colleagues for future development of research and diagnosis for parasitic diseases.

Yours sincerely,

Shinobu Yoshihara

Shinobu Yoshihara

My duty is to transfer the technical Know-how for diagnosis of helminthiasis to counterpart Dr. Usa Chethanon during the period in the center. At first, therefore, I divided the theme into two experimentations and prepared explanations accompany with figures. Namely, one is faecal examination and the other serological method. We discussed individually the techniques and carried out the test by using samples from fields and from experimentally infected animals.

(A) Faecal examination

1. Sedimentation

The test is usually use in Japan. As its technique is very easy, so its convenience is very great. This is suitable for detect not only fluke eggs but also nematode and tapeworm ones. We attempted demonstration of the egg in several samples by the test and found eggs of flukes, nematodes and tapeworm and oocysts of protozoa(see Table 1). When the positive rate obtained by the test was compared with that by present method in Southern Veterinary Research and Diagnostic Laboratory Center(DLC tech.), the result was almost the same(see Table 2). However, the time required in the sedimentation was shorter than that in DLC tech. I can confidently recommend the test for diagnosis of adult phase in helminthic infections.

2. Slate incubation of nematode eggs in faeces

Cattle in fields have been infected with many kinds of gastrointestinal nematodes. Some of these parasites can only be identified morphologically by faecal examination, e.g. Nematodirus spp. (large egg in size), Gen. Strongyloides(containing 1st larva in egg) and Trichuris sp.(plug of the egg tip). However, we do not differentiate morphologically the eggs of the other worm species in faeces

because there are no distinct morphological character of these eggs. Accordingly, classification should be done by using the character of larvae hatched out in faecal sample on the slate in a petri dish with water. By this technique we classified four kinds of nematode larvae in samples. They are Mecistocirrus digitatus, Gen. Trichostrongylus, Gen. Cooperia and Gen. Oesophagostomum. For selection of anthelmintic it is important to determine the species of the nematodes in the tract of host.

(B) Serological test

1. Agar gel diffusion test (AGT)

Though the eggs were detected in faecal samples, it is only demonstrated the presence of adult phase in the parasitism (chronic infections). Where clinical disease is due to immature helminths, the examination of faeces for eggs will be of little value. On the other hand, usefulness of serological test is to prove the viscera larval migrans (acute infection) and presence of adult phase (chronic) in during the parasitism. In addition, it can be examined many numbers of samples at a time.

Antigen used was obtained from adult fluke (see Fig.1). By using the antigen with sera from Fasciola infected animals, precipitating line was formed clearly (see Fig.2). When the antigen and sera from cattle collected at Ranong and Chumpon diffused with each other in gel, few samples showed the line. From the result, it is considered that level of fluke infections may be low in this district of southern part.

2. Counter immunoelectrophoresis

Since antigen and antibody are reacted within a short time character of CEP is to diagnose rapidly the fluke infection com-

pare with AGT. Furthermore, the sensitivity is also higher than that of AGT. For this technique, we examined several conditions(see Fig. 3). The result is as follows:

- a. Noble agar was suitable for the technique.
- b. No infected goat serum showed precipitating line.
- c. When the gel was immersed in 25% saline solution after reaction, the clear line formed within one hour.

3. Common antigen between liver and rumen flukes

By using fresh living worms of rumen fluke Paramphistomum spp., an antigen was prepared for test. When both fluke antigens and infected cattle serum were reacted with each other, these reactants showed individually several lines. One of them fused with each other in gel(see Fig.4). From the result of this test, it seems likely that common antigen is present in the extracts from adult worms of the both flukes.

4. Larval precipitating test

When larva collected from lung of mouse infected with Ascaris suum was immersed in naturally infected pig serum, precipitates were formed around excretory pore and the body(Fig.5). Activity of the worm is lower than that in normal serum and the larva die within 1 or 2 days. This phenomenon had been found in vivo and is a presentation of resistant animals against nematode infections.

To test the many number of faecal samples in detail, sedimentation test and slate incubation are very useful in field survey. In addition, it is considered that serological examination may be important to understand the mechanism of helminths infections. Furthermore, I believe that the tests are also important to demonstrate the early infections with larval migrans(acute infections).

Table 1. Result of fecal examination by sedimentation test
with samples kept in the section

Sample	<u>Fasci-</u> <u>ola sp.mum</u>	<u>Paramphisto-</u> <u>spp.</u>	<u>E.pancrea-</u> <u>ticum</u>	<u>T.ovis</u>	<u>D.fila-</u> <u>ria</u>	<u>Other</u> <u>egg*</u>	<u>Monie-</u> <u>zia sp.spp.</u>	<u>Eimeria</u>	<u>Buxto-</u> <u>nella</u>
1	-	+	+	-	-	-	-	I	-
2	-	+	-	-	-	-	-	I	-
3	+	+	-	+	-	-	-	II	+
4	+	+	-	-	+	+	-	I,II	+
5	-	+	-	-	+	+	-	II	+
6	-	+	-	-	-	+	-	-	+
7	-	+	-	-	-	-	-	-	+
8	-	+	-	-	+	+	-	-	+
9	-	-	-	+	+	+	+	-	+
10	-	+	-	-	+	+	-	I	+
11	+	-	-	-	-	-	-	I,II	+

I: Eimeria zurnii, II: Eimeria bovis, *: Samples containing other eggs were used for slate incubation to demonstrate the species

Table 2. Comparison of feacal examination by DLC and sedimentation tests

Cattle Number	Fluke					Nematode				Tapeworm		Protozoa		
	Rumen		Liver			Other		Egg		Containing larva		A	B	A
1	+	+	-	-	(0)	-	-	-	+	-	-	-	-	-
2	+	+	-	-	(0)	-	-	-	+	-	-	-	-	b. c.
3	+	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	-	-	-	b.
4	+	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	+	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	-	-	-	c.
6	+	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	-	-	b.	-
7	+	+	+	+	(0)	-	-	-	+	-	-	-	-	c.
8	+	+	+	+	(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	/	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	+	-	-	-
10	+	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	-	-	b.	-
11	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	b.	b.
12	+	+	-	-	/	+	-	-	-	-	-	-	-	-
13	+	+	-	-	/	-	-	-	+	-	-	-	-	b.c.
14	+	+	-	-	/	+	-	-	-	-	+	-	-	b.c.
15	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	b.	b.
16	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	b.	-
17	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	-	b.
18	+	+	-	-	/	-	+	-	-	-	-	-	-	b.
19	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	-	b.
20	+	+	-	-	/	-	-	-	+	-	-	-	b.	b.
21	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	+	+	-	-	/	-	-	-	+	-	-	-	-	b.
23	/	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	-	c.
24	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	b.	-
25	+	+	-	-	/	-	-	-	+	-	-	-	-	b.
26	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	b.	b.c.
27	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	-	c.
29	+	-	-	-	/	-	-	-	+	-	-	-	-	-
30	+	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	-	-	-	c.
31	+	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	-	-	-	c.
32	+	+	-	-	(0)	-	-	-	+	-	-	-	-	c.
33	+	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	+	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	-	-	-	c.

Cattle Number	Fluke					Nematode				Tapeworm		Protozoa			
	Rumen		Liver			Other		Egg		Containing larva		A	B	A	B
35	+	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	+	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	c.
37	+	+	+	+	(1)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	c.
38	+	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	+	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	+	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41	+	+	-	-	/	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
42	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	+	+	-	-	/	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
44	+	+	-	-	/	-	-	-	+	-	-	-	-	b.	-
45	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	-	b.	b.
46	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	+	+	-	-	/	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
48	+	+	+	-	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	+	+	-	-	/	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
50	+	+	-	-	/	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
51	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	-	b.	-
54	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
55	+	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	+	+	-	-	(0)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
57	+	+	+	+	(0)	-	-	+	-	-	-	-	-	b.	-
58	+	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	-	-	-	b.	-
59	+	+	-	-	(0)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
60	+	+	+	+	(0)	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
61	+	+	-	-	(0)	-	-	+	+	-	-	Mo.	-	-	-
62	+	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	+	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64	+	+	-	-	(0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	b.
65	+	+	-	-	/	-	-	+	-	-	-	Mo.	-	b.	b.
66	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
68	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
69	+	+	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A: DLC method, B: Sedimentation test, C: Bead technique(Eggs per gram), /: Not tasted, Mo: Genus Moniezia, b.: Genus Buxtonella, c.: Eimeria spp.

Fig.1. Preparation of Fasciola antigen

Adult flukes, dried by acetone
 Resurement of fluke powder
 Addition of little volume of
 physiological saline (saline)
 Six well in a mortar
 Addition of about 50 fold
 saline (total is 50 fold)
 Extraction with magnetic stirrer
 in a refrigerator for 24 hours
 Centrifugation at 10,000 rpm for
 30 min at 4 or 5° C.
 The resulting supernatant was
 collected carefully by a pipette
 Merzonin of 0.01% was added in
 the supernatant.
 The extract was crude antigen

Fig.2. Agar gel diffusion test

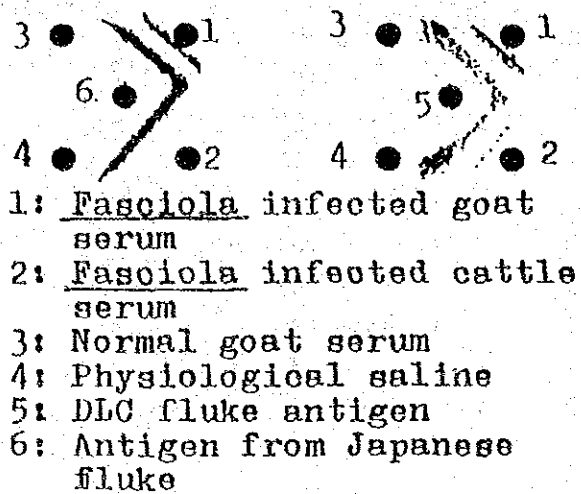
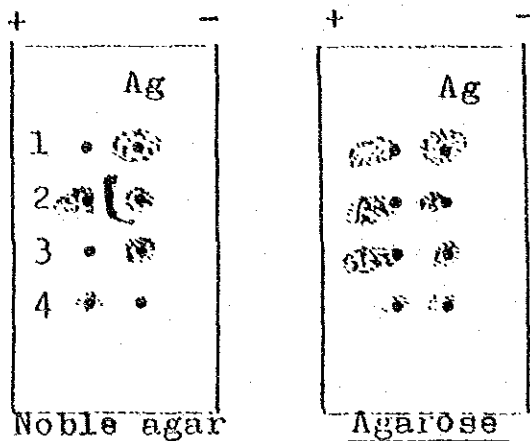


Fig.3. Counter immunoelectrophoresis



1: Fasciola infected goat serum
 2: Fasciola infected cattle serum
 3: Normal goat serum
 4: Physiological saline
 Ag: Antigen from Japanese fluke

Current: 3mA/cm of slide
 Time : One hour

Fig.4. Comparison of antigens from adult worms of rumen and liver flukes.

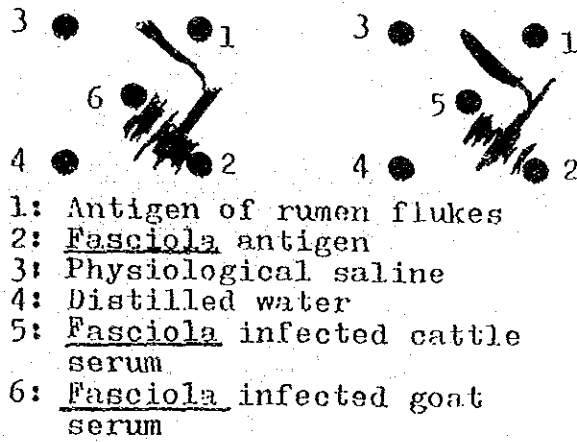
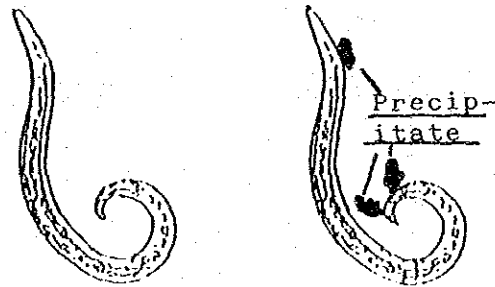


Fig.5. Larval precipitation test.



Normal pig serum

Ascaris infected pig serum

機 材 保 守

蛭 田 輝 男

(平成元年 4 月 25 日～平成元年 7 月 24 日)

I 業務報告

メンテナンスアフターケア

- 1) サクラドライオープンの点検(2台); 温度計交換及びブザー設定温度の調整。
- 2) PHメーター Horiba M-7 II; 複合電極の交換4、7調整
- 3) PHメーター 電気化学計器(OM-10); 4、7調整を実施したが不能。6155電極交換。
- 4) CO₂ インキュベーター; CO₂ ガスシリンダーを設置試運転OKとなる。又、エアーコンプレッサーのオイル交換及びドレインを実施エアータンク内に多量の水が混入していた。週1回のドレインを指示。
- 5) バランス C₃-200 2台; 0点及びSensifiuify調整を実施。OKとなる。
- 6) リコーコピーマシン FT-4030; 運転7,000枚を記録種々の問題及び故障箇所がある。これらの修理はタイ業者にて可。資金の問題で、まだ修理完了せず。
- 7) 給水設備の点検; 現在深井戸より揚水して研究所及びスタッフ宿舎への給水をしているが、水中ポンプ故障中にて、現在小型ポンプを代用して給水中である。現在雨季にて問題はないが乾季には揚水量の減少及び揚水不能の問題が生ずると思われる。これは高揚用のポンプに交換するべきと思う。
- 8) Touy オートクレーブ; 2台中1台のヒーターが破損のため交換要。他の1台は清掃後テスト運転OKとなる。
- 9) 凍結乾燥器; テストをし運転となる。ただし、バキュームオイルMR-100予備なし。
- 10) ホモビナイザー; 回転数コントロール用ポリームの固定不良。修理完了。
- 11) 急速凝集反応測定機; 3台中1台の蛍光チューブ及びヒータが不良。対処として、バンコック入手可能な200Vの物と交換する予定。
- 12) ToM Cenfrifuge RS-20 II; テスト運転。内部清掃後、OKとなる。
- 13) MeHler 電子天ピン ME-200; 移動用とめ金を取りはずす。運転OKとなる。
- 14) エライサー; テスト運転、OKとなる。

病 理 学

加 藤 昌 克

(平成元年 7月25日～平成元年10月24日)

タイ王国国家畜衛生改善計画アフターケアにおける短期専門家として、1989.7.25～1989.10.24までの3カ月間、病理学特に免疫組織化学的検査技術の応用を中心とした免疫病理について技術援助を実施した。

以下その概要について報告する。

記

1. 目的： 南部家畜衛生センターにおいて、タイ王国国家畜衛生改善計画の協力成果の維持・向上を図るため、南部行政区域内の病性鑑定業務における疾病診断及び主要疾病に関する調査に対し協力するとともに、免疫組織化学的検査技術（酵素抗体法；特に Avidin-Biotin Peroxidase Complex method 以下 ABC 法）の伝達・応用を目的とした。
2. 期間：平成元年7月25日～平成元年10月24日（3カ月間）
3. 派遣場所：南部家畜衛生センター
The South Regional Veterinary Research and Diagnostic
Laboratory Center
Thung Song District, Nakhon si Thammarat
4. 専門分野： 病理学
5. 技術援助内容：
 - (1) 場所……南部家畜衛生センター病理セクション
 - (2) 担当者…… Dr. Pipol Suksaithaichana
 - (3) 指導項目
 - ① 病性鑑定業務について
ア) 病理組織標本作製技術について、イ) 肉眼及び組織学的検索について
 - ② 酵素抗体法の技術伝達とその応用
下記の疾病について ABC 法を応用し、技術伝達を図るとともに、本法の有用性、応用の可能性、問題点について指導した。
ア) 原虫性疾病……豚トキソプラズマ症、牛バベシア・ボビス感染症
イ) 細菌性疾病……豚アクチノバチラス・ブルロニューモニエ感染症、豚ヘモフィルス・パライス感染症
ウ) ウイルス性疾病……豚コレラ、狂犬病
 - ③ 感染症における生体防御機構（病理組織学的免疫事象）について
 - ④ 疾病紹介
ア) 牛ヨーネ病について、イ) 大脳皮質壊死症について、ウ) BVD・MDウイルス

ス感染症について、エ) その他

6. 指導の進捗状況

(1) 病性鑑定業務について

私のカウンターパートは、当センター病理セクションに約9年間勤務し、病性鑑定業務における病理学的検査に精通しており、優秀な病理担当者と判断された。

病理組織標本作製技術については、資料1～3のとおり、日常検査において基礎的な技術について概要を伝達し、気付いた点についてアドバイスを行った。

病性鑑定業務では、鑑定依頼のあった場合極力立会し、必要な意見を述べたが、カウンターパートの剖検手技は手慣れており、また病理学者は往々にして自分のスタイルを持つことから、過剰のアドバイスは差し控えた。

組織学的検索においても同様、自分の把握した所見について述べ、診断に際しての示唆をするにとどめた。

また、必要に応じて病性鑑定業務及び獣医学的研究における病理部門の在り方、位置付けについて話し合った。病性鑑定における病理部門は、細菌性・ウイルス性・毒素性・代謝性疾患などを病理組織学的に意義づけることが重要であることから、他部門との協議を十分に行い、総合的な病性鑑定成績を蓄積し、南部地区衛生の問題点を解析していくことが重要であると判明した。

(2) 酵素抗体法の技術伝達とその応用

派遣に際して要請のあった酵素抗体法(ABC法)の技術伝達に重点を置き、多くの時間を費やした。

技術伝達において、カウンターパートはその手技について熟知し、今後十分応用可能なレベルに到達したものと考える。

① ABC法の原理・手技について

別添資料4～7を用いて技術伝達を行った。

② 感染症における応用

ア) 豚トキソプラズマ症	資料8
イ) 牛バベシア・ボビス感染症	資料9
ウ) 豚アクチノバチルス・ブルロニューモニエ感染症	資料10
エ) 豚ヘモフィルス・パラステス感染症	資料11
オ) 豚コレラ	資料12
カ) 狂犬病	資料13

③ 応用のまとめ

原虫性疾患、細菌性疾患、ウイルス性疾患各2種類、計6種類の感染症についてA B

C法の応用を試みた。

その結果、原虫性及び細菌性疾病については比較的容易に本法の有用性を確認することができた。

一方、ウイルス性疾病については、抗原の賦活化を目的とする蛋白分解酵素処理、抗血清の特異性確認、抗血清の適正希釈濃度、染色態度の判定などの問題点について、例数を重ね、各疾病ごとに画一的な手技の確立が必要と考えられた。

なお、試験により得た抗血清適正希釈濃度は資料4のとおりであった。

(3) 感染症における生体防御機構（病理組織学的免疫事象）について

炎症時の生体防御メカニズムについて、資料15を用いて、組織学的所見の背景について概説した。

(4) 疾病紹介について

以下の疾病について、文献を用いて概要を説明した。

ア) 牛ヨーネ病 …… 日獣会誌 42, 229～237, (1989)

イ) 大脳皮質壊死症 … The Veterinary Record, Oct 9, 1982

ウ) BVD・MDウイルス感染による異常産 … Nat. Inst. Anim. Health Quart
19, 114～120 (1979)

牛ヨーネ病については、南部地区においても発生があることから興味深く聞いていただいた。その他疾病についても今後の参考になるものと思われた。

7. 問題点

(1) 南部家畜衛生センター病理セクションにおける人員の不足

病理セクションには、獣医師、獣医補、ワーカー各1名が配置されているが、病性鑑定業務に要する時間が多い状況にある。病理部門は解剖、各セクションへの材料配分、組織学的検索、各セクションからの成績判断、診断と病性鑑定業務の中核部門である。このような状況下で、ABC法のように1日を要する技術の伝達を行うことは、時間的に困難な場合がしばしばあった。

(2) 当センターにおける施設及び物資の不足

センターにおける水道施設は、昨年の洪水以来不十分な状況で、また発電所のトラブルによる停電もしばしば見られた。

停電時の包埋装置のストップ及び解剖時の断水などは深刻な問題であり、改善が必要と考えられる。

その他、高温多湿の状況であるため、使用器具及び調整試薬の保存が重要となる場合がある。冷蔵庫内に収容しきれない場合もあることから、冷凍室及び冷蔵室の必要性を感じた。

消耗品では、薄切用替刃、スライドグラスなど可能な限りの節約を図っているが、これら消耗品は組織学的検索に際して基礎となるものであることから、十分な予算配分が必要と感じた。

(3) センター内における他部門との関連

病性鑑定業務において、総合的な診断成績の蓄積は重要であると考えられる。蓄積されたデータの解析は、当該地域における重要疾病の把握や新たな疾病調査への基礎となると思われることから、センター各セクションが病性鑑定に際して、より一層の協議・討論がなされることが必要と考える。

(4) 最新情報の不足

資料室に配置されている書籍及び購入されているジャーナルなど月刊誌は、各セクションニーズからすると不足している。

また、供与物品、診断薬の多くは日本製で、その説明書も日本語であるため、現地 Expert にとって英訳も大切な仕事となっている。この問題については購入する段階で解消する必要がある。

8. 今後の課題

今回、私に与えられた課題は免疫組織化学的検査技術の伝達であったが、この技術の応用についてはやや時期早尚の感があった。日本においても特異抗血清の市販されているものは少なく、また抗血清の作製・入手が難しい状況にある。

また、今回伝達した技術が、当センターにおいて継続的に実施されるためには、家畜衛生関係者及び関係機関（NAHP1等）の協力が重要であると思う。

<資料 1>

Fixation - generally , formalin -

Permeate ability : 50% > 20% > 10%

We use 20% buffer formalin in Hokkaido .

How to make :	Formalin	200ml
}	NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	4.0g
	or NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	4.4g
	Na ₂ HPO ₄	6.5g
	or Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	25.9g
	D W	800ml

How to use Rotary machine

(my method 24hours)		(others method 24hours)	
1 . 70 % Alcohol	3 hours	1 . 70 % Alcohol	2 hours
2 . 70 % Alcohol	3 hours	2 . 80 % Alcohol	2 hours
3 . 80 % Alcohol	2.5 hours	3 . 100 % Alcohol	2 hours
4 . 90 % Alcohol	2.5 hours	4 . 100 % Alcohol	2 hours
5 . 95 % Alcohol	1 hour	5 . 100 % Alcohol	2 hour
6 . Ab Alcohol	3.5 hours	6 . Ab Alcohol	3 hours
7 . Ab Alcohol	3.5 hours	7 . Ab Alcohol	3 hours
8 . Toluene	1 hour	8 . Benzene	1 hour
9 . Toluene	1 hour	9 . Benzene	1 hour
10 . Toluene	1 hour	10 . Benzene	1 hour
11 . Paraffin	1 hour	11 . Paraffin	1.5 hour
12 . Paraffin	1 hour	12 . Paraffin	1 hour

Total 24 hours

* Effect of heating in alcohol : Below 40°C , 3 hours

If more high and long time , invite harden of tissues .

* Paraffin : as possible as , use low melting point paraffin .

<資料 2>

◦ Carazzi's Hematoxylin Solution
(twice method)

How to make

Solution A Solution B D W Sodium Iodate (NaIO ₃) Glycerin	}	Total	800ml
		Sodium Iodate (NaIO ₃)	0.4g
		Glycerin	200ml

After filtering , as soon as can use

Solution A : { Hematoxylin 2g
10% ethylalcohol 10ml

Solution B : { D W 650ml
Aluminium Potassium Sulfate 50g

◦ Eosin Alcohol Solution

* Primary stain

How to make : { Eosin Y 1g
D W 20ml
70% Alchoh 180ml
3% Acetic acid 0.5ml

◦ Koss's Picroeosin Solution

* Secondary stain

How to make : { Potassium dichromate (K₂Cr₂O₇) - into powder 5g
Eosin Y 10g
Picric acid Saturated Solution (2g/100ml DW) 100ml
100% Alcohol 100ml
D W 800ml

<資料 3>

Mending method of worn-out H-E
Stained Sections

Immerse in Xylen , Come off coverglass from slideglass .

Over night , 37°c

↓
Washing with Xylen

↓
Ethyl Alcohol (graded)

↓
Wasing with running water

↓
Ammonium alcohol to remove eosin

a few seconds

{ 70% ethyl alcohol 100ml

{ liquid ammonia 3~10drops

↓
Washing with running water

↓
HCl alcohol to remove hematoxylin

some hours

{ 70% ethylalcohol 100ml

{ HCl (conk) 1ml

↓
Washing with running water

within 10 minutes

↓
To normal H-E Stain Process

Immunohistochemical technique
especialy Application of Avidin-Biotin peroxidase Complex method

Principle

Immunohistochemical technique prove existence of antigen by using specific connection of antigen and enzyme-labeled antibody.

In immunohistochemical technique , there are 4 kinds of methods

1. Direct method

This method is connected in antigenX with rabbit-antiX-antibody that is labeled by a marked enzyme (HRP=Horseradish peroxidase) , and stain the peroxidase by DAB reagent .

2. Indirect method

This method is 2 step reaction .

step 1: be connected in antigenX with rabbit antiX antibody (primary antibody)

step 2: be acted Goat anti rabbit

IgG antibody that is labeled (secondary antibody), and stain by DAB reagent .

3. PAP method (Peroxidase-antiPeroxidase Complex method)

This method is 3 step reaction .

step1: same as indirect method step 1 .

step2: be acted Goat anti IgG antibody that is excess quantity and isn't labeled .

step3: besides , be acted rabbit anti peroxidase antibody and peroxidase complex , and stain by DAB reagent .

4. ABC method(Avidin Biotin peroxidase Complex method)

This method is 3 step reaction and using of strong connection in Avidin (egg protein) with Biotin (vitamin H) .

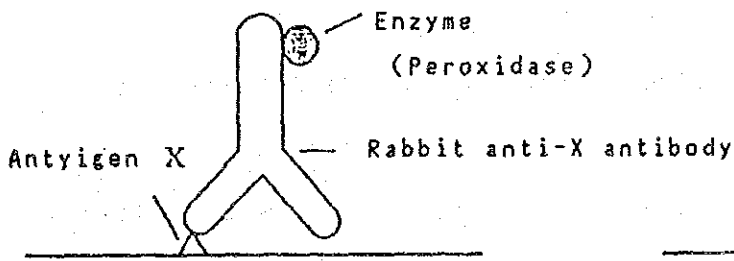
step1: same as indirect method step1 .

step2: be acted Biotinilated Goat anti rabbit IgG antibody .

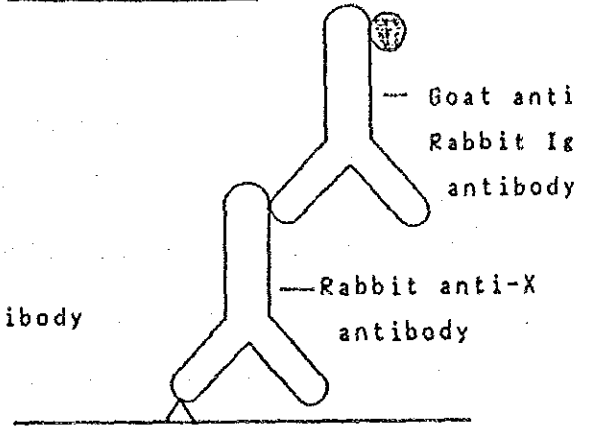
step3: be acted Avidin Biotin Complex , and stain by DAB reagent .

Immunoperoxidase Technique

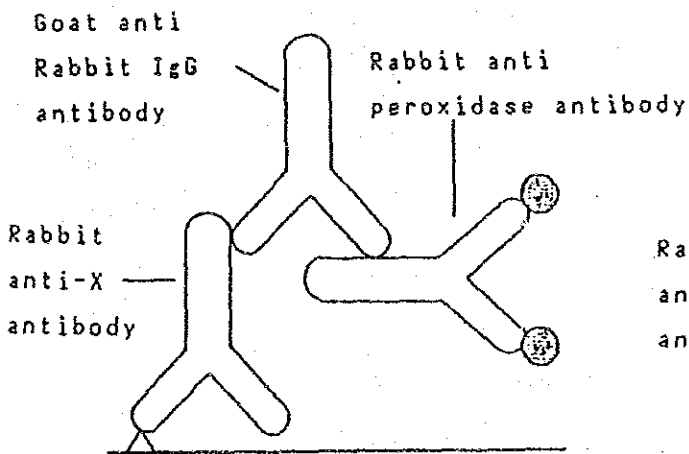
Direct method



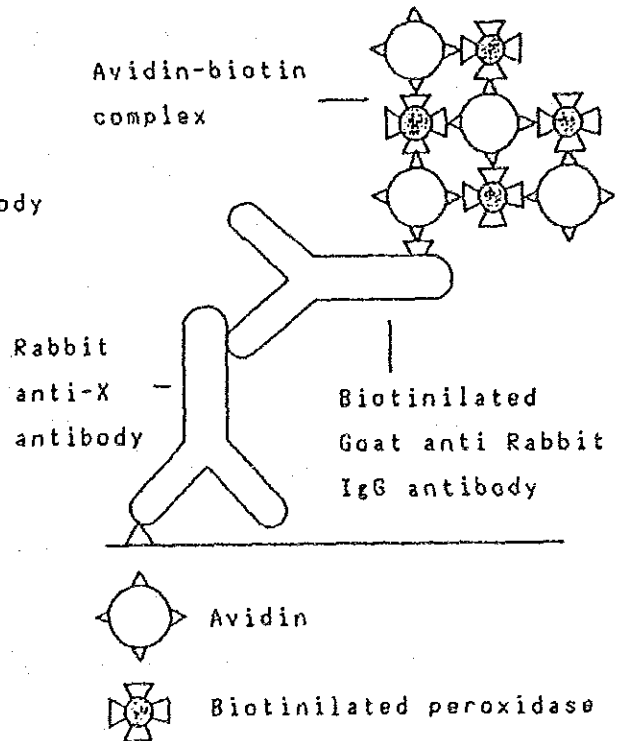
Indirect method



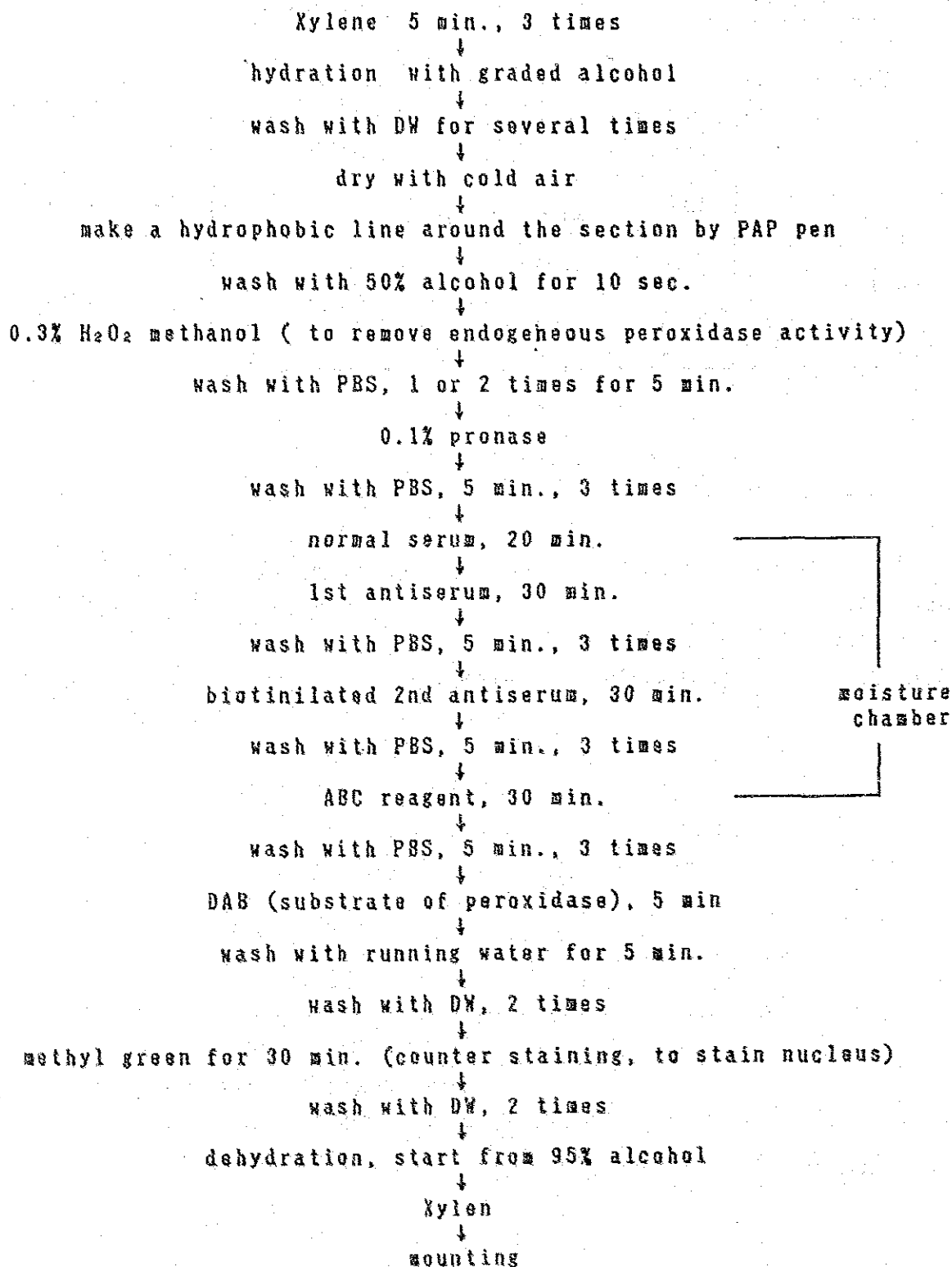
P A P method



A B C method



Abitin-Biotin-Complex Immunoperoxidase Technique



How to make some reagents for ABC method

1 PBS : 0.01mol / l PBS , pH 7.2
{ NaH₂PO₄ · 2H₂O 9.00g
{ Na₂HPO₄ · 12H₂O 64.54g
{ NaCl 160.00g
{ D W 2 l

at using time , make 10 times (+ 18 l) ,
« necessary to sterilize 2 l »

2 0.3% H₂O₂ methyl-alcohol
{ methyl-alcohol 100ml
{ 30% H₂O₂ 1ml

3 Tris buffer solution : 0.05mol / l Tris buffer , pH 7.6
{ Tris (Tris hydroxymethyl aminoethan) 6.06g
{ D W 100ml
{ Adjust pH 7.6 by 0.1N HCl .
{ + D W until total 1000ml , saterilization .

4 Methylgreen stain solution for counter stain
{ Sodium Asetate Trihydrate 1.09g
{ Barbitol Sodium 1.65g
{ D W 80ml
{ melting
{ 0.1N HCl 120ml
{ D W 200ml
{ melting
{ Melting
{ Methylgreen 4g
after melting , saterilization .

5 DAB regent
{ DAB 1g
{ D W 50ml
keep in deep freezer , each 1.5 ml

Just using time ,
{ DAB solution 1.5ml
{ Tris buffer 150ml
{ 5% H₂O₂ 0.15ml

6 0.1 % Pronase
{ Pronase 150mg
{ PBS 150ml
keep 37°c

Caution Point for Examination ABC method

Coating of slide glass by 0.1% neoprene toluene.

Before Deparaffin , Incubation in 60°c for 30 mins
: Obstructive effect for endogenous peroxidase ,
and for not come off .

After Deparaffin , not wash with PBS : draw salt .

Use PAP pen : hydrophobic line prevent from flowing out antiserum.

Wash with PBS : When using vibrate machine , Caution to bubble on
section .

After treatment of pronase : Washing with PBS is very important ,
because sometimes break normalserum and
primary antiserum .

DAB reagent : after be soluble in water (1g in 50ml), keep -20°c (
divide each 1.5ml).
when just use , be soluble in Toris buffer 150ml .
and just before add to 0.15ml 5% H_2O_2 .

Check Points of ABC method

- * Primary antiserum density
Judgement by Background (erythrocyte , macrophage , eosinophils , mastcell and connective tissue)
sometimes , can't prevent completely , especially mastcell and monocyte in tissue .
we have a necessity to cope with non-specific-reaction by setting up negative control .
- * Keep the condition of moist , while operation .
Dry section stain to positive
- * Enough washing with PBS
The long time washing is better than the short time washing .
- * Deficiency of pronase treatment
This problem is not important in parasite and bacteria disease , but in viral disease is very important .
In viral disease , sometimes antigen lose or decrease the activity by formalin , heat .
Pronase treatment is important for being revived the activity of antigen .
- * Sectioning
as possible as thin
attachment area of section
use coating slideglass by neoprene
- * Judgement in Immunohistochemical method
Positive stains have significance against disease , Negative have not any meanings .
Negative stains isn't nothing of antigen , must consider that can't detect antigen .

<資料 8>

ア) 豚トキソプラズマ症における応用(写真1~4)

現在、本病の最も信頼できる診断方法は原虫の確認で、そのためにギムサ染色、蛍光抗体法が応用されている。

病理組織学的検査においても病巣部にターミナルコロニーを検出することが可能である。

しかし、ターミナルコロニーの形成が少なく、原虫が単在するような壊死巣では、その検出が困難な場合がある。

このような場合、パラフィン切片においてABC法を用いることにより、原虫抗原の局在を明らかにすることができ、H・E染色と比較することで病巣と原虫との関係を理解することが可能となる。

豚トキソプラズマ病における応用は、原虫が可顕的であること、抗原性の失活が少ない事などから、比較的容易にその染色性について意義付けが可能であった。

しかし、非特異反応の除去を常に心掛け、良好なセクション(切片)の作製に努めなければ、陽性所見の意義がなくなることから注意を要する。

その他、リンパ節・脾臓等でヘモジデリン沈着が著しい場合、その鑑別に留意する必要がある。

<資料 9>

イ) Babesia bovis 感染症における応用(写真5~8)

Babesia bovis は、*B. bigemina* と異なり、原虫が末梢流血中で増殖する以前に急性経過で死亡することが多い。これは、脳毛細血管内皮細胞に寄生赤血球が付着・停滞することにより、ガス代謝等の障害が起こるためと言われている。

そのため診断法として、脳の押捺標本による鏡検が重要となっている。

本病については、タイ南部地区において野外発生のあることから、NAHPI Parasitology section Dr. Nishikawa から抗血清の分与を願い、脳における *B. bovis* 抗原の分布を検索した。

B. bovis における応用は、トキソプラズマ病の場合と同様、比較的容易に染色することが可能である。しかし、抗血清に牛赤血球に対する抗体も含まれていることから、今後その特異性を高めることあるいは多くの検体においてその特異性を確認する必要がある。今回本例に対して、同様の作成方法により得られた *B. bigemina* の抗血清を作成させたが陽性所見は得られなかった。

B. bovis 感染症は、脳毛細血管内に寄生赤血球が停滞するため、ガス代謝障害を起こし急死するといわれている。

今回、ABC法で得られた所見からも、脳毛細血管内における寄生赤血球の停滞が著しいことが確認され、又H・E染色所見で脳毛細血管周囲を中心とする浮腫性変化と大脳実質特に皮質の疎性化、神経細胞の萎縮・変化が認められることから、循環障害・ガス代謝障害の起こっていることが推察された。又血管外に散見されたABC陽性顆粒状物が原虫であるかどうかについては、さらに検討が必要と思われる。

<資料 10>

ウ) *Actinobacillus pleuropneumoniae* 感染症における応用 (写真9~10)

以前、本菌はヘモフィルス属として扱われていたが、現在アクチノバチラス属に分類されている。

本菌は、豚における呼吸器病の原因菌としてきわめて重要で、線維素性胸膜肺炎を起こし、致死率が高い。

肺炎を起こす病原体として、マイコプラズマ、バクテリヤ、アクチノバチラス、ウイルス等多岐に及ぶ。組織学的に各病原体を特異血清により染め分け病変との関係を探ることにより、呼吸器病発生メカニズムの一助となることを目的として検索した。

本例にみられる肉芽様病変は、アクチノバチラス、ブルロニューモニエ、ヘモフィルス属、バクテリヤ属菌感染例において、しばしば認められるが、病原菌決定において病変部と菌検出部位の一致することが重要である。

今回、ヘモフィルス属菌(アクチノバチラス、ブルロニューモニエを含むと考えられる)が分離された野外例10数例について検索を試みたが、信頼できる陽性所見を得ることができなかった。1例において病変部に陽性に染まる菌塊を認めたが、少数であり、また混合感染例(*A. pyogenes*、*Pasteurella* sp, *E. coli*)のため、関与を疑うものの診断に結びつけることはできなかった。

一般に呼吸器病は、単一の病原体により発症するものは少なく、混合感染が多いことから、病変部と病原体の関連を検索するためには、各種呼吸器病起因菌に対する抗血清を応用する必要があると考えられる。

<資料 11>

エ) *Haemophilus parasuis* 感染症における応用 (写真11、12)

本菌はグレーサー病の原因となり、病理学的には線維素性 膜関節炎を起こす。他に、*H. parainfluenzae* でも髄膜炎、胸膜肺炎を起こす。

南部地区において発生しているヘモフィルス感染症について、その病原体の同定が可能であるか検索を試みた。

本菌は脳軟膜・肺胸膜・関節等に多発性 膜炎を起こすことから、随膜炎を認める約10例の野外発生例について、*H. parasuis*の 検索を試みたが、陽性所見を認める例はなかった。

この成績は、*H. parasuis*の関与を完全に否定するものではないが、随膜炎・胸膜肺炎は*H. parainfluenzae*等においても起こることから、それら起因菌となりうる病原体の抗血清も併用して検索することが、病理組織学的変化と起炎体との関係を理解する上で重要と考えられる。

<資料 12 >

オ) 豚コレラにおける応用(写真13~17)

本病は、伝染力が強く、症状も重篤で致死率も高いことから豚においても最も重要な伝染病とされている。

本病の迅速診断法として、扁桃の捺印標本あるいは凍結切片における蛍光抗体法が知られている。

今回ABC法の応用を検討する目的は、迅速診断へのアプローチではなく、豚コレラにおける組織学的病変と抗原との関連を検索することである。

写真13~17は野外発生例で、扁桃のDirectFA法により豚コレラと診断されたものである。

豚コレラにおけるABC法の応用とその意義付けは、原虫性及び細菌性疾病に比べ困難であると判断された。その理由として、原虫・細菌が可顕的であるのに対し、ウイルス性疾病の場合、抗原が可顕的でないこと及びパラフィン切片作成までの過程でホルマリン処理、熱処理などが加わっているためウイルス抗原の不活化が起こっている事が考えられるためである。それゆえ、蛋白分解酵素処理による抗原の活性化(賦活化)が非常に重要なプロセスと考えられた。

豚コレラの野外例について、その染色態度及び抗原分布を検索したが、その判断には慎重を要する。FAとの比較を行っておらず、また検索例数が少なく、症例の由来、経過日数等の調書が不明であるためである。さらに正常豚臓器における陰性確認等、抗原の特異性を確認することができなかった。

今回の成績においては、豚コレラウイルスは扁桃及びリンパ組織に多く分布しており、扁桃粘膜上皮及びリンパ組織RES細胞に多くの陽性所見を得た。しかし、一般に豚コレラにおいて認められる出血性病変が血管変性に基づくものと理確されていることから、血管内皮及び血管壁における抗原分布を検索したが、今回の検索例においてそれら部位の陽性所見は認められなかった。浮腫性変性を示す血管周囲の細網様細胞に陽性所見が認められることか