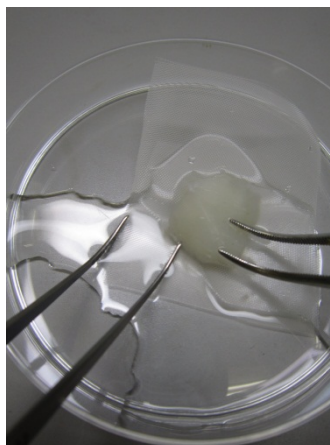
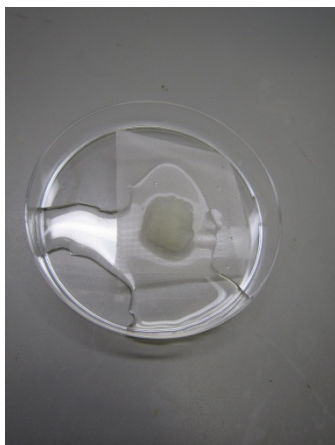


クドア胞子の顕微鏡検査法

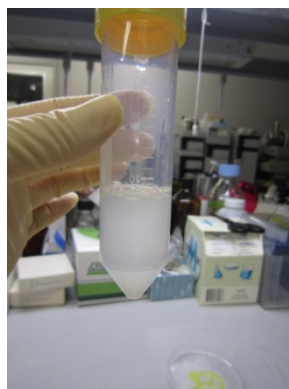
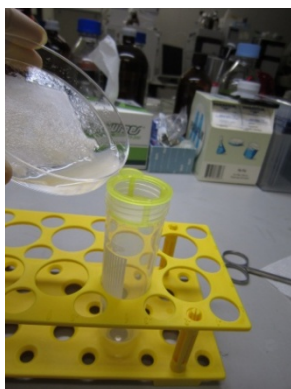
1. シャーレにヒラメ検体を 0.5 g 置く。



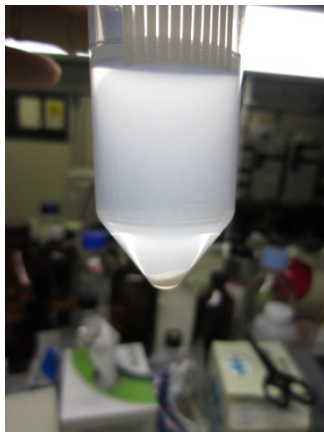
2. PBS を 3 mL 程度入れて、200 μm 程度のメッシュを(国衛生研では SEFAR Mesh+Technology 社製, 7 2 GG- 2 2 4を使用していますが、手に入りやすいもので充分です)ヒラメの上に置き、ピンセットや注射筒の底で軽くつぶす。



3. つぶしたヒラメ溶液を、なるべく肉片が入らないように PBS で洗いながら 100 μm 程度のメッシュを通す (BD Falcon 352360 (BD Falcon 社製) を国立衛生研では使用していますが、滅菌してある必要性はありません)。合計 10-20mL の PBS で回収する。



4. 濾液が入った遠心管等を遠心（1500rpm, 10分、10℃）したのち、上清をすて、**PBS 0.5 mL**を正確に加え懸濁する。そこから 10 μl をパラフィルム等にとり、トリパンプルーを 10 μl 加えて混合し、血球計算盤（白血球用：Burker-Turk 型など）で 6～7 極囊を有するクドア胞子の数を測定する。クドア胞子が一区画（1 mm × 1 mm × 0.1 mm）が 5～200 になるように適時 PBS で希釈する。



(× 400)

計算方法

血球計算盤 (Burker-Turk) の場合

図 1 に示した A および赤丸で示された 4 区画のすべてのクドアを測定し、4 で割る。この値が 5 以上の場合を有効とする。

$$(n \times 10^4) \times 2 \times \text{希釈倍数} = \text{クドア胞子数} / \text{ヒラメ 1g (検出限界 100,000 胞子)}$$

例 希釈倍数は 10 倍、n=100 の場合

$$(100 \times 10^4) \times 2 \times 10 = 2 \times 10^7 \text{ クドア胞子数} / \text{ヒラメ 1g}$$

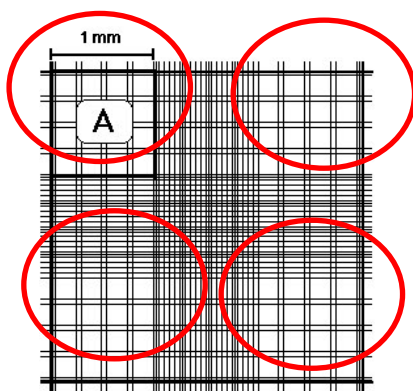


図1 血球計算盤での数え方の例