扁桃を用いた豚丹毒のモニタリング調査方法の検討

○竹田祥子　齋藤麻矢　神谷可菜　清水俊一
北海道早来食肉衛生検査所

【はじめに】
人獣共通感染症である豚丹毒は、農場にとっては経済的損失の大きな感染症である。当所管轄のと畜場においても、心内膜炎型、関節炎型の豚丹毒は毎年発生している。
平成 28 年度に当所では、豚丹毒発生農場において口蓋扁桃のモニタリング調査を行い、当該部位での豚丹毒菌保菌率が農場の感染状況の変化を反映するものであり、疾病制御対策に有効であると考えられる旨報告した。そこで、扁桃から豚丹毒菌を効率的に検出し、モニタリング調査に適した方法を検討した結果、若干の知見を得たので、その概要を報告する。
【材料および方法】①ブレインハートインフュージョンブイヨン（BHI）②BHI にゲンタマイシンを 25μg/ml、カナマイシンを 500μg/ml 添加（GK）③GK にバンコマイシンを 25μg/ml 添加（VCM)、④VCM に非働化ウマ血清５％を添加（HS）の 4 種類の液体培地 10ｍｌに、豚丹毒が 1 年間発生していない農場から採取した口蓋扁桃１ｇを加えた後、各液体培地に、豚丹毒菌野外株を概ね 1000cfu/ml に調整した菌液を、1 培地につき菌量が 10cfu 程度となるよう添加し、37℃24 時間培養した。培養後の豚丹毒菌の検出は、培養液 1mｌを遠心分離し、沈渣からの熱抽出法で DNA を抽出、得られた DNA サンプルを用いて PCR 法を用いた。また培養液を一白金耳塗抹しグラム染色後、鏡検によって菌形態を確認した。
【考察】口蓋扁桃には通常多数の細菌が存在していることから、選択性のない培地では他の細菌が豚丹毒菌よりも優位に増殖する傾向にある。そこで口蓋扁桃からの豚丹毒菌の分離培養には、②や③のような選択性のある培地が適しており、グラム陽性球菌の増殖がほぼ見られなかった③が最も有効であると考えられた。また、液体培地から直接 DNA を抽出することで多数の検体を効率的に検査することが可能となり、更に 10cfu 程度の少ない菌量でも、豚丹毒菌の検出が可能であることから、本法は豚丹毒のモニタリング調査に適していると考えられた。