
[成果情報名] 豚抗酸菌症原因菌の迅速な検出法

[要約] MGIT 法と PCR(IS901)法を組み合わせることにより養豚施設の材料から豚抗酸菌症原因菌 (*Mycobacterium avium*) を2週間程度と迅速に検出・同定できる。

[キーワード] 抗酸菌、MGIT 法、PCR(IS901)法、豚抗酸菌症

[担当部署] 畜産部；中小家畜チーム

[連絡先] 092-925-5232

[対象作目] 豚

[専門項目] 衛生

[成果分類] 行政対応

[背景・ねらい]

養豚場では人獣共通感染症である豚抗酸菌症が蔓延すると経済的被害が発生し、公衆衛生上の問題も大きい。豚抗酸菌症の原因菌である *Mycobacterium avium* (*M. avium*) は、従来法の小川法では養豚施設の環境材料に含まれる雑菌の影響で分離が困難で、培養に1ヵ月程度要するため、感染経路の特定が遅れ、効果的な対策が施せない問題がある。

近年、医学分野では検出法として迅速で高感度な MGIT 法が活用されている。また、検出後に同定する方法として PCR-RFLP (hsp65) 法、簡易な PCR(IS901)法などが提案されている。

そこで、豚抗酸菌症の感染源、感染経路の特定を目指し、MGIT法を用いた抗酸菌検出や遺伝子検出技術を用いた迅速で簡易な同定法を開発する。

(要望機関名：畜産課 (H21))

[成果の内容・特徴]

1. MGIT 法* (図1) を用いることで、敷料 1g 中に *M. avium* が 10^2 (CFU) 以上あれば検出できる。また、MGIT 培地に接種後 6~9 日で陽性か否かを判定できる (表1)。

* : MGIT 法とはヨーネ病検査マニュアルと同様の前処理、NALC-NaOH による除菌処理および抗生物質処理を組み合わせ、MGIT 培地 (ミジット分離培養剤、日本 BD (株)) を用いて抗酸菌を検出する方法

2. MGIT 法で検出した抗酸菌から *M. avium* を同定するうえで、簡易な PCR(IS901)法による精度は PCR-RFLP(hsp65)法と同等以上である (表2)。

3. MGIT 法と PCR(IS901)法を組み合わせることにより養豚施設の材料から豚抗酸菌症原因菌 (*M. avium*) を迅速に検出・同定できる (図1)。

[成果の活用面・留意点]

1. 家畜保健衛生所における豚抗酸菌症発生時の迅速な検査と診断、対策法の検討に活用できる。

2. 感染源が敷料と推定される場合は敷料の消毒や十分な発酵処理を行う。敷料から抗酸菌が検出されず、母豚が感染源と判断される場合には、ツベルクリン検査を実施して感染個体を特定する。

[具体的データ]

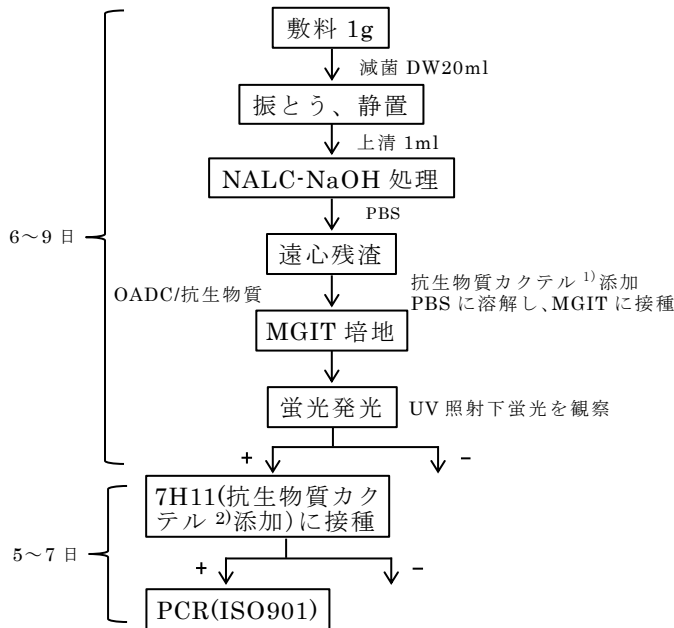


図1 MGIT法およびPCR (ISO901)法
(平成24~25年)

- 注)1. バンコマイシン (100 μg/ml)、ナリジクス酸 (100 μg/ml)、
アンホテリシンB (50 μg/ml)
2. バンコマイシン (50 μg/ml)、ナリジクス酸 (50 μg/ml)、
アンホテリシンB (50 μg/ml)

表1 MGIT法による菌量と検出可能となる培養日数の関係 (平成24~25年)

敷料中の菌量 ¹⁾ (CFU/敷料 1g)	陽性となる までの日数 ²⁾
2.4×10^3	7
2.4×10^2	6.5
2.4×10^1	— ³⁾
2.4×10^0	—
2.4×10^{-1}	—
3.5×10^3	5.5
3.5×10^2	8.5
3.5×10^1	—
3.5×10^0	—
3.5×10^{-1}	—

- 注)1. 2.4×10^3 CFU/100 μlあるいは 3.5×10^3 CFU/100 μlの菌液を10倍段階希釈し、敷料に混合した。各処理後にMGIT培地に接種し、蛍光を発する日数を計測した。
2. 陽性とは、MGITが蛍光発色しかつ*M. avium*を分離したもので、2本のMGITの平均培養日数を示す。
3. —:検出されない

表2 PCR(ISO901)法とPCR-RFLP(hsp65)法による同定精度の比較 (平成24~25年)

	PCR (ISO901) 法	PCR-RFLP (hsp65) 法
<i>M. avium</i> と同定 できた確立 (%)	100.0% (29株/29株)	82.8% (24株/29株)

- 注)1. 5株 (同定不能かつ同じ菌種の抗酸菌と推定された)のうち2株は16SrRNAをコードする遺伝子配列の確認によって*M. avium*と同定
2. 供試株は5農場の豚 (臓器、糞便) および環境材料 (敷料、給水器) 由来の菌株

[その他]

研究課題名: 非結核性抗酸菌症感染防止を目指した抗菌微生物資材の開発
 予算区分: 法人等受託 (福岡県新製品・新技術創出研究開発支援事業)
 研究期間: 平成25年度 (平成24~25年)
 研究担当者: 小高真紀子、小山 太、浅田研一
 発表論文等: 日本暖地畜産学会報Vol.60-No.2