

精密検査における *Actinobacillus pleuropneumoniae* 検査法の検討

○秦 温子

長崎県諫早食肉衛検国見支所

【はじめに】と畜検査で豚の敗血症から *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App) が分離される事例があり、当所でも2例確認された。App発育にはNADが必要なため、通常、当所精密検査で用いる羊血液寒天培地(羊血寒)では発育困難である。今回、現在の精密検査を補完する形で実施可能なApp検査法(培養および同定)を検討した。

【材料および方法】(1)培養法:羊血寒、羊血液チョコレート寒天培地(羊チョコ寒)、馬血寒を用い、NADを2~40 mg/mLに希釈し、各培地に100 μ L添加後、菌液(血清型1、2、5、7、8、15保存株)および病変部(疣贅性新生物(血清型8)と肺(血清型2))を37°C、48時間炭酸ガス培養し、コロニーの大きさおよび性状を比較した。羊チョコ寒は、羊血寒を恒温器で65°C、1.5時間加熱して作製した。(2)同定法(PCR):血清型1、2、5、7、15保存株をボイル法でDNA抽出し、当所検査マニュアル記載の試薬でPCRを実施した。(3)検討結果をもとに保留豚の疣贅性新生物13検体からApp検出を試みた。【結果】(1)菌液および病変部とも羊血寒、羊チョコ寒ではNAD添加が必要で、シャーレ1枚にNADを100 μ L (40 mg/mL)添加すると馬血寒と同等にAppが発育し羊血寒では溶血も認められた。血清型による顕著な発育の差はなかった。(2)当所試薬を用いたPCRでは、全検体でApp特異的遺伝子が増幅された。(3) NAD40 mg/mL加羊血寒で培養しPCRで同定したところ疣贅性新生物1検体でAppを検出した。同検体の臓器からの検出菌数は少なかった。12検体はApp以外の菌の検出もしくは菌分離陰性であった。

【考察】本調査から高濃度NAD加羊血寒でApp培養ができ、同定PCRも当所PCR試薬で判定できたことからNADとプライマーを準備することで、作業や費用の大幅な増大なく現行の精密検査でApp検査が可能であると考えられた。ただし、疣贅性新生物のApp検出は良好であったが臓器からの検出菌数が少数であったことから、敗血症の判定には肉眼所見等総合的な判断が必要と考える。今後、精密検査に反映可能な症例数を増やして検討したい。