

豚丹毒菌の選択増菌培地について

四日市市保健所食品衛生検査所 中川涼子

はじめに

豚丹毒は豚丹毒菌によって起こり、豚の全部廃棄処分となる疾病である。豚丹毒の診断には病変部から菌を分離し同定することが必要となるが、病変部で菌が少ないケースもあると報告⁽¹⁾されており、液体培地による選択増菌後、分離培地に塗抹して培養している。

当所では、選択増菌培地に GK ブイヨン（以下、GK）を使用している。GK は、アジ化ナトリウム、クリスタルバイオレット、ゲンタマイシンおよびカナマイシンを添加した培地であり、アザイド液体培地（以下、アザイド）と抗生物質添加液体培地（以下、抗生物質）よりも選択性が高いと考えられる。選択性が高いだけならば、他の菌のコンタミネーションを防ぐこともでき、判定には適していると考えられるが、病変部の菌数によっては豚丹毒菌の増殖が抑制される可能性がある。そのため、GK、アザイドおよび抗生物質それぞれの発育可能な最小菌数と、その発育の仕方および選択性について調査及び試験を行った。

材料および方法

(1) 材料

平成 23 年 7 月～24 年 8 月に四日市市食肉センターに搬入され、と畜検査で豚丹毒および敗血症の疑いで保留検査対象となった豚 45 頭の病変部 78 ヶ所を材料とした。また、各ブイヨンにおける菌数の測定試験には、当所で豚丹毒菌と同定された菌株を使用した。

(2) 方法

・各ブイヨンにおける発育可能な最小菌数と発育の仕方

GK で 2 日培養した豚丹毒菌の菌液を、滅菌生理食塩水で段階希釈し、それぞれの 100 μ l を GK、アザイドおよび抗生物質（表 1、以下、各ブイヨン）10ml に接種し、24 時間培養後、それぞれを滅菌生理食塩水により段階希釈した菌液 50 μ l を血液寒天培地に接種し 24～48 時間培養後、菌数を確認した。

表 1 . 各ブイヨンの組成

	GK ブイヨン	アザイド液体培地	抗生物質添加液体培地
トリプトソイブイヨン	30g	30g	29.5g
Tween80	1g	1g	1g
Tris(ヒドロキシメチルアミノメタン)	3g	3g	3g
アジ化ナトリウム	0.1g	0.1g	
Crystal Violet	0.01g	0.01g	
蒸留水	1000mL	1000mL	1000mL
ゲンタマイシン	50mg		50mg
カナマイシン	400mg		500mg

・各ブイヨンによる選択性

各ブイヨンで 37 24~48 時間培養後、3000rpm15 分間遠心分離し、沈渣を血液寒天培地に塗抹した。37 24 時間培養後、菌の発育が認められた場合は鏡検、生化学性状検査などを行い、豚丹毒菌であるか、他の菌であるのかの確認を行った。

成績

(1) 各ブイヨンにおける発育可能な最小菌数と発育の仕方

初期菌数と各ブイヨンにおける 24 時間培養後の菌数 (/ml) の関係は以下のグラフ (図 1) のとおりであった。発育できる最小菌数を各ブイヨン間で比較すると、アザイド液体培地は初期菌数が少なくても良く発育し、次に抗生物質添加液体培地、GK ブイヨンの順であった。

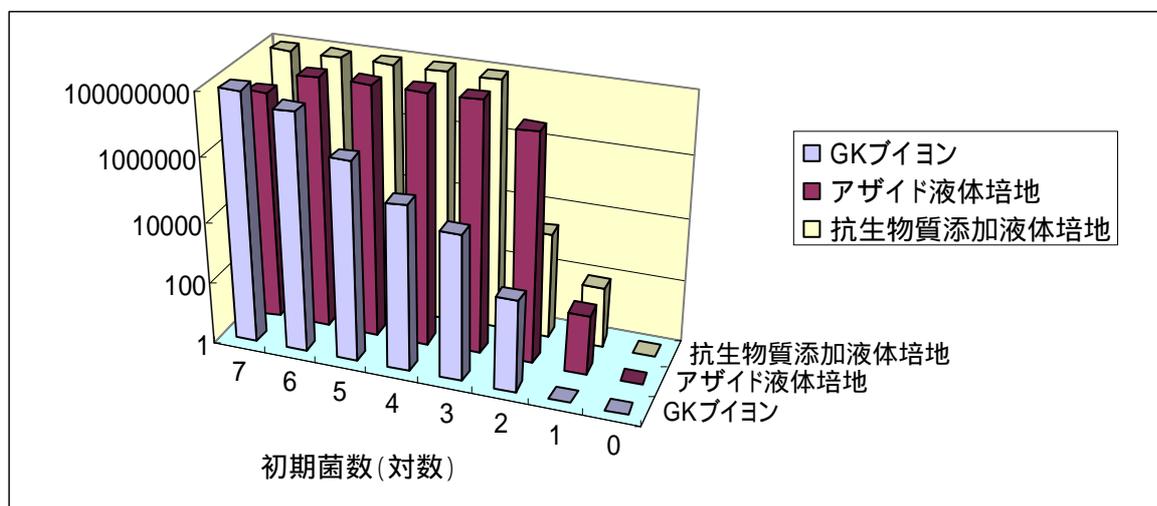


図 1 . 初期菌数と各ブイヨンにおける 24 時間培養後の菌数

(2) 各ブイヨンによる選択性

豚丹毒および敗血症の疑いで保留検査対象となった豚 45 頭 78 検体のうち、豚丹毒で廃棄されたものは 7 頭、他の菌による敗血症廃棄となったものは 14 頭、合格となったものは 24 頭であり、今回豚丹毒として廃棄となった 7 頭 18 検体のうち、全てのブイヨンで豚丹毒菌の発育がみられたのは 5 頭 5 検体であった。

また、豚丹毒菌の発育がみられたのは、関節液を培養した 27 検体中、GK で 3 例、アザイドで 5 例、抗生物質で 4 例であった。心内膜炎の症状部を培養した 16 検体中では、各ブイヨン 1 例 (同じ検体) であった。内腸骨リンパ節を培養した 24 例中では、GK で 3 例、アザイドで 0 例、抗生物質で 1 例であった。皮膚を培養した 5 検体中では、GK で 3 例、アザイドで 2 例、抗生物質で 2 例であった。

一方、豚丹毒菌以外の菌がみられたのは、関節液を培養した 27 検体中、GK では 1 例、アザイドで 2 例、抗生物質で 4 例であった。心内膜炎の症状部を培養した 16 検体中では、

GKで5例、アザイドで15例、抗生物質で8例であった。内腸骨リンパ節を培養した24例中ではGKで2例、アザイドで6例、抗生物質で6例であった。皮膚を培養した5検体では、GKで2例、アザイドで2例、抗生物質で3例であった。以下に、各ブイヨン中の豚丹毒菌と他の菌の発育の有無を示す(図2)。

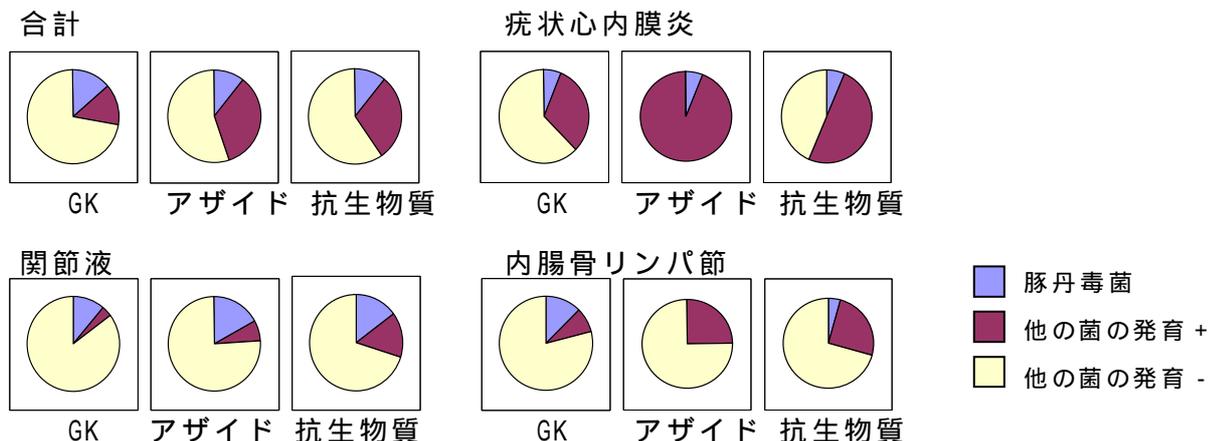


図2 . 各ブイヨン中での豚丹毒菌と他の菌の発育の有無

関節液の培養で、豚丹毒菌がアザイドのみからみられた例が2例、アザイドと抗生物質のみからみられた例が1例あった。また、内腸骨リンパ節の培養で、GKのみから豚丹毒菌がみられた例が1例、皮膚の培養で、GKのみから豚丹毒菌がみられた例が1例あった。

考察

豚丹毒菌の発育可能な最小菌数を各ブイヨン間で比較すると、GKよりもアザイドおよび抗生物質の方が、初期菌数が少なくても増菌していることがわかった。このことから、初期菌数が少ない検体の場合、GKでは他のブイヨンと比較して、豚丹毒菌が増殖しないケースがあることが示唆された。

今回の実験から、GKは他の2つの液体培地に比べて選択力が強いため、他の菌の増殖を防ぐことができ、それは検体に実質臓器などを用いた場合に特に有効であることがわかった。関節液を検体とした場合は、GKよりもアザイドおよび抗生物質が適していると考えられ、実質臓器などの培養で他の菌のコンタミネーションが問題となる場合には、GKが適していると考えられる。より確実で、より精度の高い検査のためには、選択増菌培地の選択は重要であると考えられる。

引用文献

- (1) 赤瀬悟、宮尾陽子、宗村佳子、依田昌樹、鈴木達夫、今田由美子：日獣会誌 60、221 - 225 (2007)