3 農場における黄色ブドウ球菌簡易同定キットを用いた 乳房炎対策の検討

川越家畜保健衛生所 〇増田 杏菜・塩入 陽介

I はじめに

牛の乳房炎は、酪農家に甚大な損失を与える疾病である。

その原因となる微生物の中でも黄色ブドウ球菌(以下「SA」という。)は、難治性の乳房 炎を引き起こすことがよく知られている。

SA は搾乳者の手、ミルカーを介して他の牛に伝播するため SA 感染牛は迅速に隔離し最後に別搾乳することで他の牛への感染を防ぐことが重要である。

そこで、食品の衛生検査に用いられている市販の SA 簡易同定キット(以下「キット」という。)を比較し、農場における SA 性乳房炎の早期発見について検討した。

Ⅱ キットの比較試験

市販のキットA~Dを用いて、同一の乳汁 6 検体を用いて比較試験を行った。試験材料はスピッツ管、アルコール綿、使い捨てスポイト、培養装置である。培養は37℃24 時間で実施した。平行してコロンビア血液寒天培地に乳汁を塗抹し24 時間培養したものと卵黄加マンニット食塩培地に塗抹し48 時間培養したものから菌を純培養し、カタラーゼ試験、オキシダーゼ試験、コアグラーゼ試験、VP 試験、グラム染色にて SA が含まれている乳汁かどうか確認した(以下「通常の同定法」という。)。

1 キットA(図1、2)



図1 キットAの試験方法

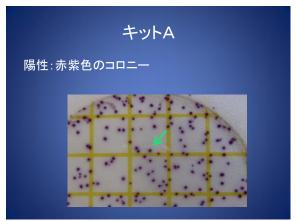


図2 キットAの陽性コロニー

2 キットB(図3、4)

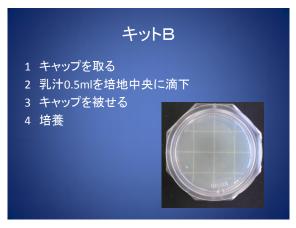


図3 キットBの試験方法

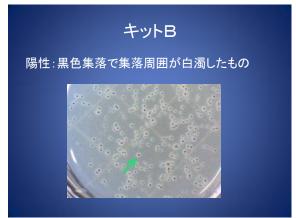


図4 キットBの陽性コロニー

3 キットC(図5、6)



図5 キットCの試験方法



図6 キットCの陽性コロニー

4 キットD(図7,8)

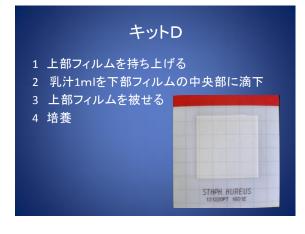


図7 キットDの試験方法

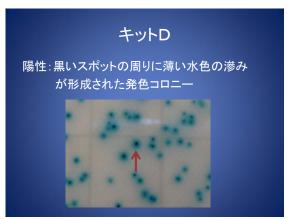


図8 キットDの陽性コロニー

Ⅲ キットの比較

培養後にそれぞれのキットを観察し再現性、経済性、保管性で比較した。(図 9)

まず再現性であるが、これは通常の同定法で黄色ブドウ球菌と判定された結果と簡易キットでの判定が異なっていないかをみたものであり、 SA と同定された乳汁は全てのキットで陽性を示した。

経済性は一枚あたり 60 円から 200 円台の幅で、キット C には紫外線照射灯の購入も必要であった。

保管はどれも冷蔵で、キットAおよびDは開封後の期限が短めである。

	キットA	キットB	キットC	キットD			
再現性 *	0	0	0	0			
経済性	222円/枚	160円/枚	60円/枚 紫外線照射灯が必要	150円/枚			
保管性	冷蔵 開封後1ヶ月	冷蔵 6ヶ月	冷蔵 遮光 1年2~3ヶ月	冷蔵 遮光 開封後1ヶ月			

図9キットの比較結果

IV 農場での試験

1 試験

実際に農場において農家自身にキットを使用してもらい、キットの比較検討を行った。 まず、管内の a、 b 2 戸の酪農家にキット使用法を説明し、SA 性乳房炎が疑われる乳汁 を採材してもらいそれぞれのキットに検体を滴下後、ポータブル培養器で 36℃24 時間培養 後判定してもらった。

同時に家保において通常の同定方法で同じ乳汁の細菌検査も実施した。

2 判定

まず、a 農家で試験を実施し、再現性、判定容易性、操作性、経済性をみた。(図 10) キット C および D の判定容易性が低い、すなわち農家が SA と判断しにくかった。 また、キット C の操作性も他のキットと比較し、低かった。

これはキットCが試験紙タイプのもので袋から紙を出すときに指で紙をもつため、袋に戻す際に指で汚染した部分の紙をちぎる必要があるが、うまくちぎれずほかの部分も指で汚染してしまうなど操作が難しいという意見であった。

	キットA	キットB	キットC	キットD
再現性 *	©	0	0	0
判定容易性	©	0	Δ	Δ
操作性	©	0	0	©
経済性	©	0	0	0

図 10 a 農家による判定

次に、b農家で試験を実施しa農家と同様の再現性、判定容易性、操作性、経済性を みた。(図 11)

b農家での結果は、ほぼ a農家の結果と同様であった。

キットAの判定容易性がa農家よりも低かった。

	キットA	キットB	キットC	キットD
再現性 *	0	0	0	0
判定容易性	0	0	Δ	Δ
操作性	0	0	0	0
経済性	0	0	0	0

図11 b農家による判定

V 農場における有用性

農場において判定容易性ではAおよびBが優れ、操作性ではA、B、Dが使用しやすくCは無菌的に操作することが難しいという意見であった。

経済性は少々価格が高くても判定が容易な方がよく、保管性はどのキットもかさばらないので差はないという意見であった。

農家の意見としては第一に判定しやすいキットがよいということだったため、総合的に 考えると A および B が農場で有用性が高いと思われる。

VI 今回の成果と今後の課題

農家でキットによる黄色ブドウ球菌性乳房炎判定が可能であった。

今後の展望としてはキットの普及により農場において搾乳時に乳房炎を疑う牛がいた 場合、速やかに黄色ブドウ球菌の有無を検査し、早期発見および対策をとるという流れを 作っていきたいと考える。

そして農家自身がキットで検査し、黄色ブドウ球菌が検出された場合家畜保健衛生所に 薬剤感受性試験を依頼し、産業動物獣医師が治療するという連携体制を構築していきたい。 課題としては使用済みキットの取り扱いであり、使用済みキットは家保が責任をもって 回収し感染性廃棄物として処理する体制が不可欠だと考える。