

1.4. 黄色ブドウ球菌による乳房炎の効率的な検査方法の検討

豊後大野家畜保健衛生所

○ (病鑑) 山田倫史、(病鑑) 人見徹、森迫望、
梅木英伸、久々宮仁三、阿部正八郎

【はじめに】

黄色ブドウ球菌 (S A) は、牛乳房炎の代表的な原因菌のひとつであり、その産生毒素等より急性の症状を呈することがあるが、本菌による乳房炎の多くは潜在性または慢性の経過をとるため、経済的損失を招く大きな要因となる。しかし、S A の感染による乳房炎 (S A 感染牛) の検査方法としては、平板寒天を用いた細菌分離が一般的であるが、多検体処理または間欠的かつ少量を排菌する潜在性乳房炎の摘発には適していない。このため、S A 感染牛の効率的な摘発のための検査方法を検討したのでその概要を報告する。

【材料及び方法】

(1) ELISA 法による検出：材料は、管内 6 農家 20 頭の血清 (20 検体) と乳汁 (18 検体) を用いた。血清の抗体検査については、庭野らの方法を参考に、抗原に *Staphylococcus aureus* ATCC29213 株を用いてホルマリン死菌・凍結・100 度 2 時間・オートクレーブにより作成した各抗原を用いて、炭酸緩衝液 (pH9.6) にて ELISA 用マイクロプレート (IWAKI 製) に固相し条件の検討を行った。なお、標識抗体にはペルキターセ[®] 標識マウス抗牛 IgG を用い、TMB にて発色し測定 (650nm) を行った。また、ELISA 検査を実施した個体の乳汁については、DHL 寒天培地、5 % 卵黄加マンニト食塩培地 (MSE)、5% 羊血液寒天培地により定量培養を実施した。

(2) 増菌法による検出：材料は、管内酪農家 2 戸 14 頭について、分娩後約 2 週間間隔で 3 回採材した乳房乳、合計 226 検体を用いた。培養方法は、MSE による培養と、7.5 % NaCl 加トリプチンブロス 10ml に検体 1ml を接種し、37 度 24 時間増菌後、MSE にて培養を行う増菌法との比較を行った。

【結 果】

(1) ELISA 法による検出：乳汁の培養検査との相関は、 10^4 CFU/ml 以上 S A が分離された検体について有意に陽性を示し ($P < 0.05$)、S A 以外の乳房炎牛の血清とは交差が認められなかった。また、抗原は凍結破碎を用いて OD 値 1.0 (620nm) に調整後 250 倍希釈したもの、検体は 160 倍希釈の条件が最も良好であった。

(2) 増菌法による検出：MSE による定量培養で陰性を示した 222 検体中 3 検体が増菌法により分離されたが、経時的に連続して分離陽性の個体はなかった。

【まとめ及び考察】

ELISA 法による検出は多検体処理可能であることに加え、他の個体への高い感染源となる高排菌牛のスクリーニングとして活用できると考えられた。また、増菌法による検査は、1 個体あたり複数回実施することで潜在的な S A 感染牛を摘発する方法として有意義な検査方法であると思われる。今後は、毒素性ショック症候群毒素やブドウ球菌産生エンテロキシンに対する抗体についても検討を行いたい。