

演題番号：7

演題名：Multiplex PCRによる増菌培養液からの *Salmonella Choleraesuis* 検出法の検討

発表者名：○新垣貴野¹⁾ 玉城正幸¹⁾ 佐々木哲²⁾ 北野崇¹⁾ 中村正治¹⁾
秋庭正人³⁾

発表者所属：1)中央食肉衛生検査所 2)宮古福祉保健所 3)(独)動物衛生研究所

1. はじめに

Salmonella Choleraesuis (SC) は豚を固有宿主とするサルモネラ症の血清型の一つである。サルモネラ症は、本県のと畜検査における全部廃棄対象疾病の中でも上位を占め、その殆どはSCが原因菌である。標準的な検査法によるSCの同定には5日以上を要するが、秋庭らの方法により分離平板上の集落から Multiplex PCR(m-PCR)を行いSCが3日で同定可能であることをH22年度に報告した。更なる検査期間の短縮を目的に、m-PCRで増菌培養液からのSCの検出を試み、標準法と比較検討したので報告する。

2. 材料及び方法

材料は、2012年7月～12月にSC陽性と判定した豚60頭の肝臓、脾臓、気管支リンパ節、肝門リンパ節および腸間膜リンパ節計300検体を用いた。増菌培養液からのSC検出は、各検体の約1cm角を増菌培養液(RVS)10mlで培養後、その500μlからNucleoSpin TissueでDNAを抽出し、*Salmonella* serovar Choleraesuis Identification Kitを用いて実施した。また併行してRVSから分離平板培地に塗抹して培養後、発育した集落について血清凝集試験による同定(標準法)を実施し、標準法に対するm-PCRによる増菌培養液からのSC検出法の感度および特異度を算出し、その精度の評価を行った。

3. 結果

標準法に対する増菌培養液からのSC検出結果は、全300検体中、偽陰性が2検体(脾臓で1検体、肝門リンパ節で1検体)、偽陽性が3検体(肝臓で2検体、腸間膜リンパ節で1検体)であった。標準法に対するm-PCRによる増菌培養液からのSC検出法の感度および特異度は、全検体では99%および98%で、部位別では肝臓が100%および87%、脾臓が97%および100%、気管支リンパ節がともに100%、肝門リンパ節が97%および100%、腸間膜リンパ節が100%および98%であった。

4. 考察及びまとめ

標準法に対するm-PCRによる増菌培養液からのSC検出法の感度は97～100%、特異度は87～100%で、若干の偽陰性、偽陽性が認められ、検査期間の短縮方法として実用的な成績には至らなかった。偽陰性の原因としては、RVS中のPCR阻害物質の影響や菌数がm-PCRの検出限界以下であったこと等が考えられた。また、偽陽性の原因としては、死菌を増幅した可能性や増菌培地中での雑菌によるSCの発育抑制等が考えられた。現行法より更に1日検査期間の短縮が期待できることから、今後はこれらの偽陰性、偽陽性をなくし、感度および特異度を上げる手法を検討する必要があると思われる。