

演題番号：5

演題名：リアルタイムPCRによる関節炎型豚丹毒の迅速診断法（第3報）

発表者名：○宮本雄二郎¹⁾、新垣尚美¹⁾、仲本佑子²⁾、徳嶺光男¹⁾

発表者所属：1) 中央食肉衛生検査所、2) 北部保健所

1. はじめに

当所において、関節炎型豚丹毒の保留検査は、分離培養法（以下、従来法）により実施しているが、陰性判定に4日を要し、豚枝肉の品質低下の問題から迅速な判定が求められていた。そこで、演者らは、過去の調査研究においてリアルタイムPCR（以下、rPCR）を用いて、検査日数を短縮し、培養液をプール検体とすることで、検査コストと手間を削減する方法を報告した。今回、実際の保留検体を用いて、従来法と、演者らが過去の調査研究で示した方法（以下、rPCR法）の結果を比較し、rPCR法を保留検査に導入できるか検討したので報告する。

2. 材料及び方法

- (1) 材料：平成29年4月から平成29年12月までに関節炎型豚丹毒で保留となった103頭分の内側腸骨リンパ節、関節絨毛及び関節液。
- (2) 方法（従来法）：1頭につき各3検体を、アザイド液体培地及びゲンタカナ液体培地に接種し、増菌培養後、アザイド平板培地に塗抹、培養後、鏡検して判定。
- (3) 方法（rPCR法）：(2)の液体培地（1頭につき各6本）を培養前後でそれぞれプール検体とし、演者らが過去の調査研究で示した方法で、rPCRで培養前後の定量値を求める。培養後に培養前よりも増加している場合、生菌の増加に伴うDNA量の増加と判断し、陽性とする。培養前後で差がみられなかった場合、陰性とする。

3. 結果

従来法では103頭中、陽性41頭・陰性62頭であった（陽性率：39.8%）。rPCR法でも全て結果が一致した。従来法で陽性であった41頭は、rPCR法では 10^2 ~ 10^7 倍、定量値が増加していた。演者らの過去の調査研究の報告では、rPCR法で陽性の場合、培養後に 10^3 倍以上の定量値の増加がみられていたが、今回の調査では培養後に 10^2 倍しか増加しなかったものが4検体あった。従来法で陰性であった62頭は、rPCR法では定量値の差がみられなかった。

4. 考察及びまとめ

今回の調査結果から、rPCR法は、従来法と同様な結果が得られ、陽性判定においては迅速で有用な方法と考えられる。しかし、培養後に検出限界値（ 10^3 cfu/ml）以下のものがある可能性も否定できず、陰性判定に用いるには、培養時間等の再検討が必要であると考えられる。また、rPCR法は従来法と比べて作業工程が煩雑なので、内側腸骨リンパ節、関節絨毛及び関節液の各検体をまとめてアザイド液体培地及びゲンタカナ液体培地に接種するなど、更に手間の削減を検討する必要があると考えられる。