

## 9. 卵黄反応を示さない黄色ブドウ球菌が

### 検出された乳房炎の一例

宇佐家畜保健衛生所・1) 大分家畜保健衛生所  
○池堂智信・荒牧麻里子・安藤紀子・病鑑 梅田麻美<sup>1)</sup>

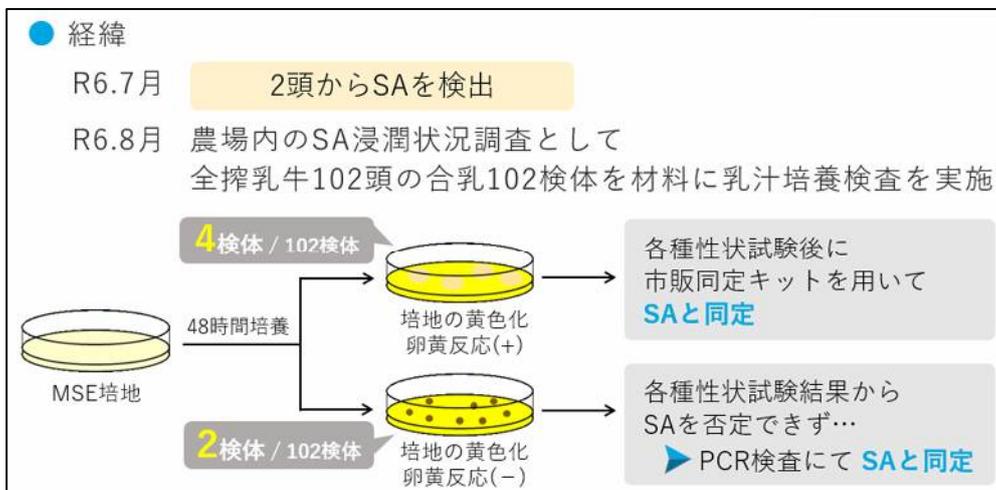
#### 【はじめに】

乳房炎は乳牛が最も頻繁に遭遇する細菌感染症であり、乳量低下、乳中体細胞数（SCC）の増加、抗菌剤使用に伴う出荷停止などにより経済的損失をもたらす。乳房炎原因菌のうち黄色ブドウ球菌（Staphylococcus aureus、以下 SA）は高い伝染性を有し、治療後も潜在的に経過して間欠排菌を繰り返すことがあるため、早期発見と対策が重要である。

今回、SA が分離された管内酪農場において全頭乳汁培養検査を実施したところ、卵黄反応を示さない SA（以下、非定型 SA）が分離された事例に遭遇したため、その概要と検査上の留意点を報告する。

#### 【発生概要】

発生農場（A 農場）は乳用牛約 150 頭を飼養する酪農場で、2024 年夏に SCC リニアスコアが高い牛が散見された。2024 年 7 月、乳房の腫脹等の臨床症状を示す高 SCC リニアスコア牛 10 頭について乳汁培養検査を実施した結果、2 頭から SA が分離された。SA の浸潤状況を把握するため、同年 8 月に全搾乳牛 102 頭の合乳 102 検体を材料に卵黄加マンニット食塩培地（以下、MSE 培地）を用いて乳汁培養検査を実施したところ、4 頭から卵黄反応陽性の SA（以下、定型 SA）が分離された。また、2 頭からは卵黄反応陰性であるものの、 $\beta$  溶血性を示すグラム陽性球菌が分離されたため、PCR 検査を行ったところ SA と同定された。これらの結果を受け、非定型 SA と間欠排菌牛の検出を目的として、令和 6 年 10 月に再度全頭検査を実施した。



図表 1：非定型 SA 検出までの経緯

### 【材料および方法】

2024年10月に実施した全頭検査では、搾乳牛102頭の合乳102検体を材料とし、各検体100 $\mu$ lをMSE培地に接種し、48時間培養。また、非定型SAの検出のため、24時間培養後に青色集落形成の有無をもってSAを検出するSA検出用酵素基質培地（Easy Medium X-SA 寒天培地（顆粒）、島津ダイアグノスティクス株式会社、以下X-SA培地）を併用した。

分離菌については、グラム染色、カタラーゼ試験、オキシダーゼ試験、コアグララーゼ試験、BA培地での溶血性確認を行った後、市販同定キットによる生化学性状試験およびPCR検査により同定した。また、検出されたSA13株のうち定型SA1株および非定型SA2株を抽出しエンテロトキシン型別検査（SEA～SEE、SEG、SHE、SEIおよびTSSTの計9種の遺伝子検索）を実施。乳検データについては、2024年7月から10月に実施された計4回の結果を用い、SA非分離牛、定型SA分離牛、非定型SA分離牛の乳中SCCを比較した。

X-SA培地の有用性確認のため、コアグララーゼ陰性ブドウ球菌（以下、CNS）が分離された乳汁に、定型SAを懸濁した菌液を混和し、MSE培地及びX-SA培地で培養した際の発育を確認した。また、MSE培地及びX-SA培地におけるSA検出限界の差を確認するため、定型SAを約2,000CFU/mlに調整し、MSE培地、X-SA培地及びBA培地に接種し、培養した。

### 【結果】

2024年10月の全頭検査では、102検体中7検体からSAを疑う菌が分離され、PCRにてSAと同定した。分離されたSA7株のうち2株は定型SA、5株は非定型SAであった。X-SA培地では、SAが分離された7検体すべてで青色集落を形成し、それ以外の検体では青色集落を形成しなかった。判定に要した時間は、MSE培地が48時間であるのに対し、X-SA培地は24時間であった。

図

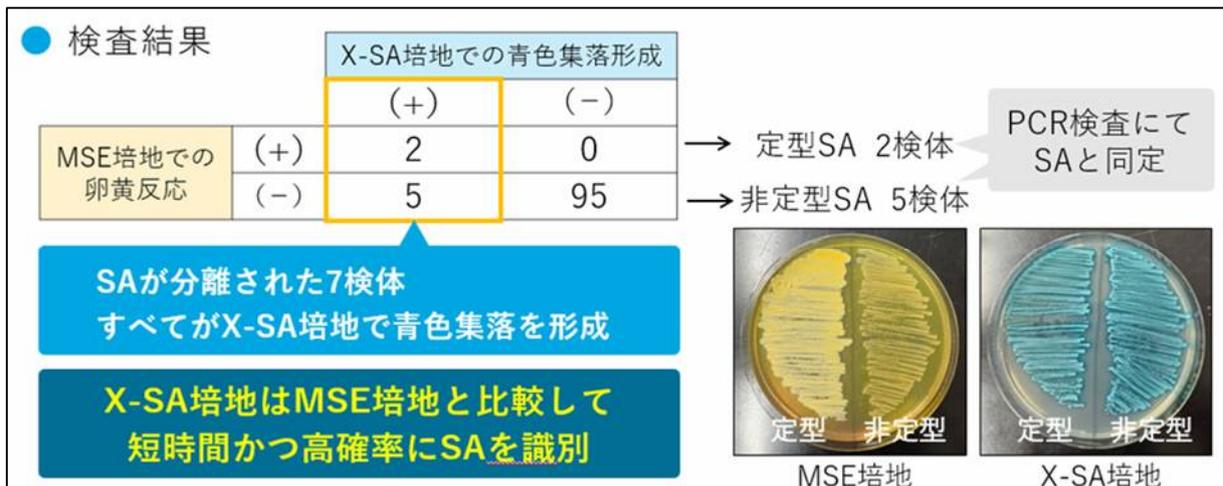
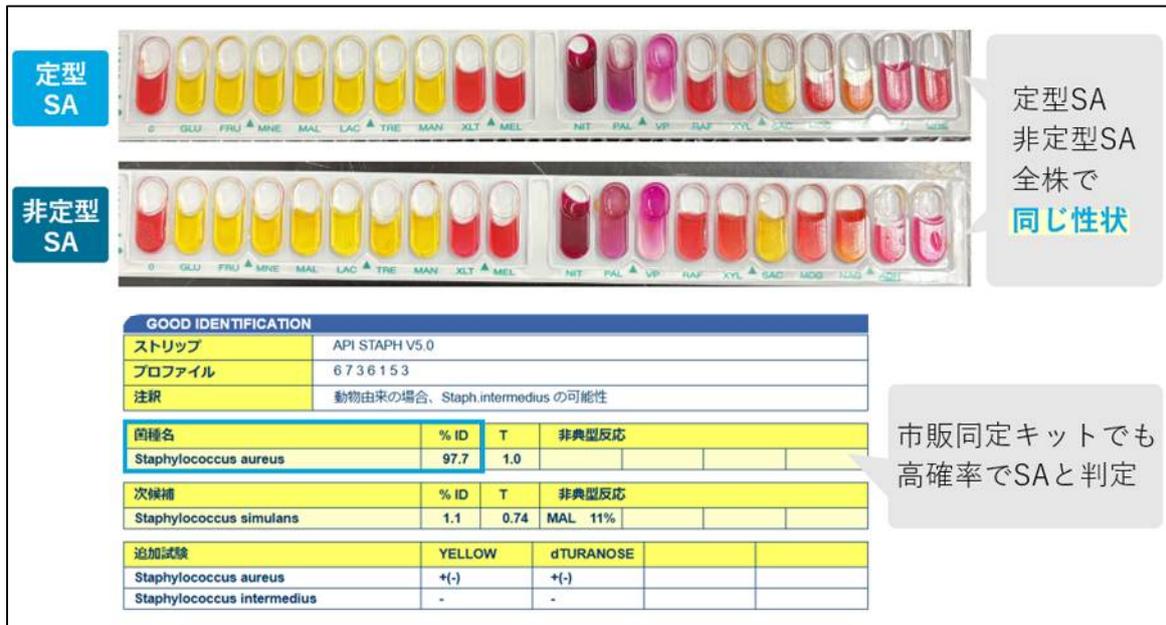


表2：A農場における2024年10月全頭検査結果

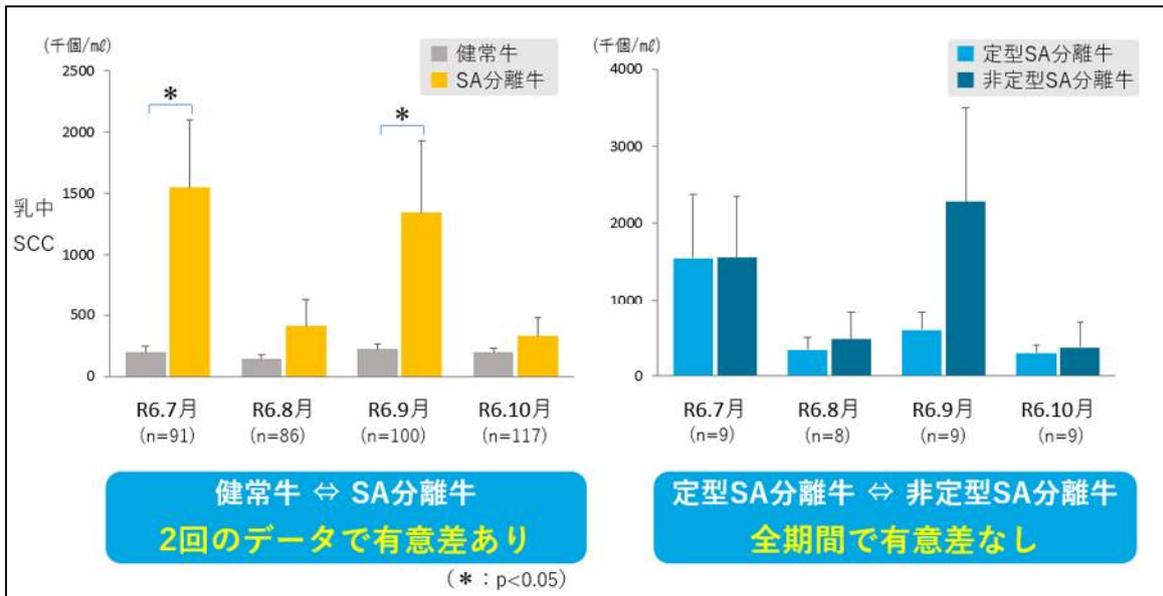
8月、10月の全頭検査にて定型SA6株、非定型SA7株の計13株のSAを分離。一般性状試験では、SA13株のすべてがグラム陽性球菌で、カタラーゼ陽性、オキシダーゼ陰性、コアグララーゼ試験陽性であった。定型SA、非定型SAともにBA培地では $\beta$ 溶血性を示し、市販同定キットによる生化学性状試験でも同様の結果であった。

エンテロトキシン型別検査では、定型 SA1 株および非定型 SA2 株について 9 種のエンテロトキシンの遺伝子検索を実施したが、これら 3 株からはいずれの遺伝子も検出されなかった。

乳検データ比較では、SA 分離牛は SA 非分離牛と比較して令和 6 年 7 月および 9 月に乳中 SCC が有意に高く、令和 6 年 10 月では高い傾向を示した。一方、定型 SA 分離牛と非定型 SA 分離牛の間では全期間で有意差を認めなかった。

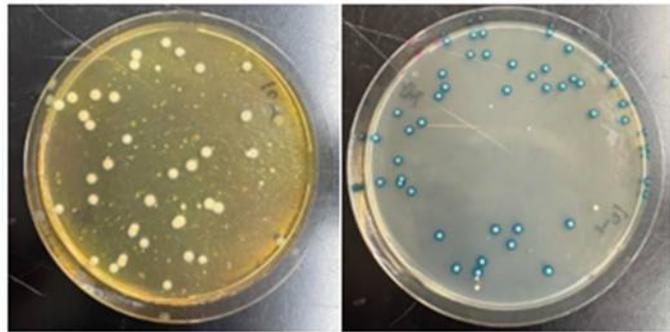


図表 3：市販同定キットを用いた生化学性状試験結果

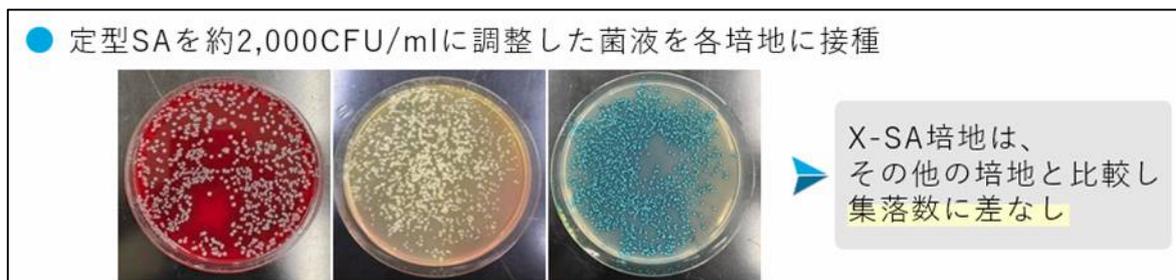


図表 4：乳検データを用いた乳中 SCC 比較

CNS 分離乳に定型 SA を混和し培養を行った結果、SA は MSE 培地と X-SA 培地ともに約 400CFU/ml の集落形成が確認されたものの、CNS は MSE 培地で 460CFU/ml であったのに対し、X-SA 培地では 40CFU/ml であった（図表 5）。また、約 2,000CFU/ml に調整した定型 SA 菌液を各種培地に接種し、培養した結果、BA 培地、MSE 培地、X-SA 培地間の集落数に違いはなかった。



図表 5 : SA 及び CNS を混濁した乳汁培養結果  
(左) MSE 培地 (右) X-SA 培地



図表 6 : 一定の菌量に調整した SA の各種培地での培養結果

#### 【まとめ及び考察】

MSE 培地のみを用いた乳汁培養検査では、卵黄反応の有無から SA を疑い精密検査に進むことが一般的である。しかしながら、本事例では、MSE 培地で卵黄反応が陰性であったにもかかわらず、PCR 検査により SA と同定される非定型 SA が分離され、MSE 培地での卵黄反応の有無のみで SA を疑う検査では、非定型 SA を見落とす可能性が示唆された。今回分離された定型 SA と非定型 SA の一般性状、生化学性状、エンテロトキシン遺伝子検索の結果は一致し、乳検データにおいても非定型 SA 分離牛は定型 SA 分離牛と同程度に SCC 高値を示したことから、非定型 SA も定型 SA と同様に病性鑑定上重要な菌であり、農場内にまん延した場合の生産性への影響は大きいと考えられる。

X-SA 培地は今回検出された SA 分離検体すべてにおいて青色集落を形成し、判定までの時間も 24 時間と短かった。また、SA 菌量を一定に調整した菌液を培養した結果、培地間の集落数に差がないことから、SA の検出限界も培地間で差はないと考えられた。以上から、X-SA 培地は非定型 SA を含む SA 検出の迅速化・精度向上に有用と考えられ、乳汁培養検査での積極的な利用が推奨される。