

ウシ乳房炎原因菌 プロトテカ・ボビスの検出方法

帯広畜産大学 准教授

豊留 孝仁

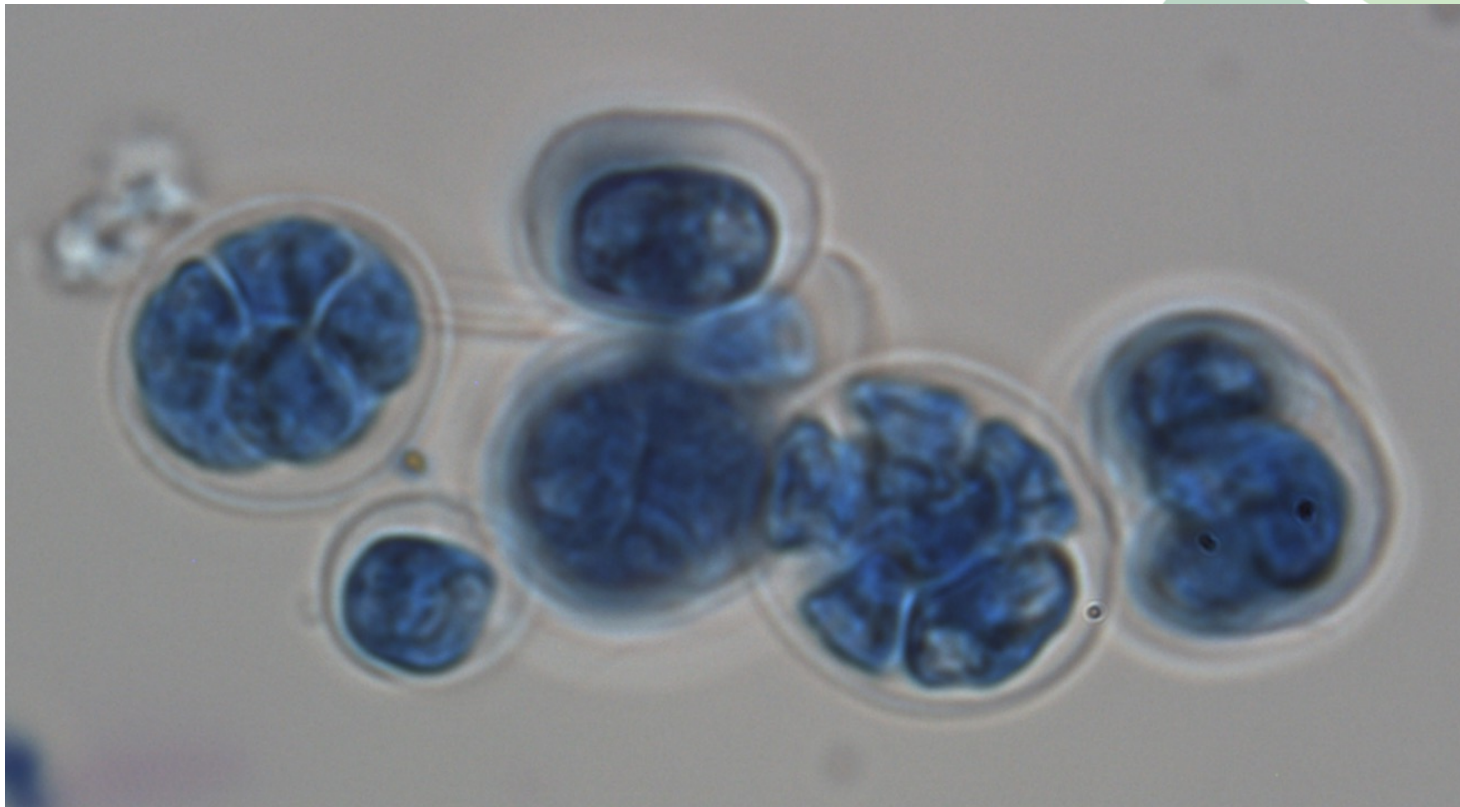
2022年9月27日

ウシ乳房炎とその影響

- 発生件数は1月あたり30,000件以上
- 細菌性の乳房炎が主であるが、一方で、難治性の酵母様真菌やプロトテカの乳房炎も問題である
- 乳量損失要因の1つ
- 農家の経営的影響も大きい

(齋藤, 畜産の情報, 2017)

プロトテカ・ボビス



色は染色液の色です。
通常は無色透明です。

プロトテカ *Prototheca* (1)

- 葉緑体を失った藻類の一種、クロレラに近い
- プロトテカ・ボビスが主要なウシ乳房炎原因菌とされている
- 細菌と違い、抗生物質が無効
- 難治性
- 慢性経過になることが多い

(加納, 家畜感染症学会誌, 2016)

プロトテカ *Prototheca* (2)

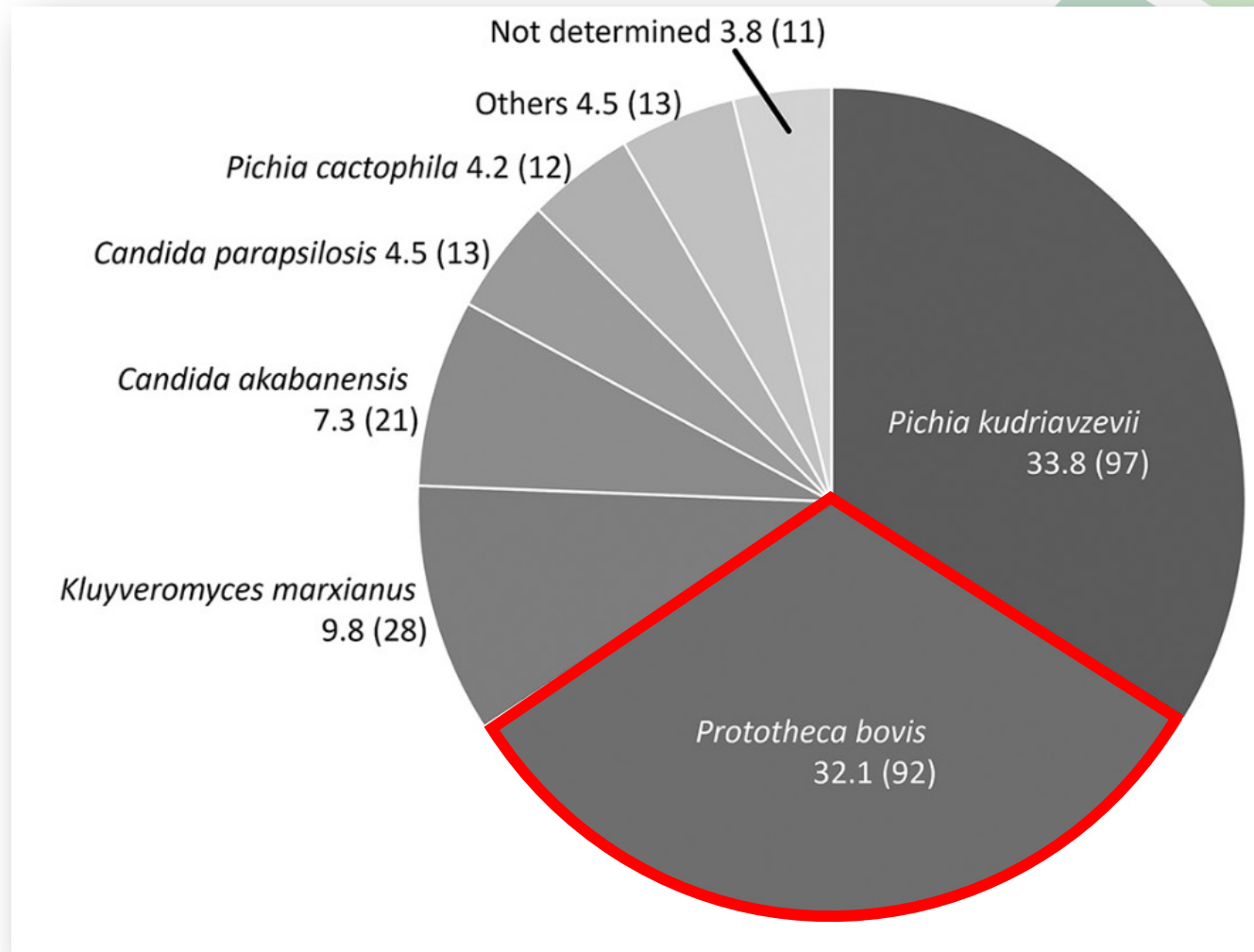
- 私達の研究では、生乳サンプル全体の0.5%からプロトテカ・ボビスが検出されている
- 一度発生すると、治療が難しい
- 一度発生すると、繰り返し発生して、根絶することが難しい

(Toyotome, Journal of Dairy Science, 2022)

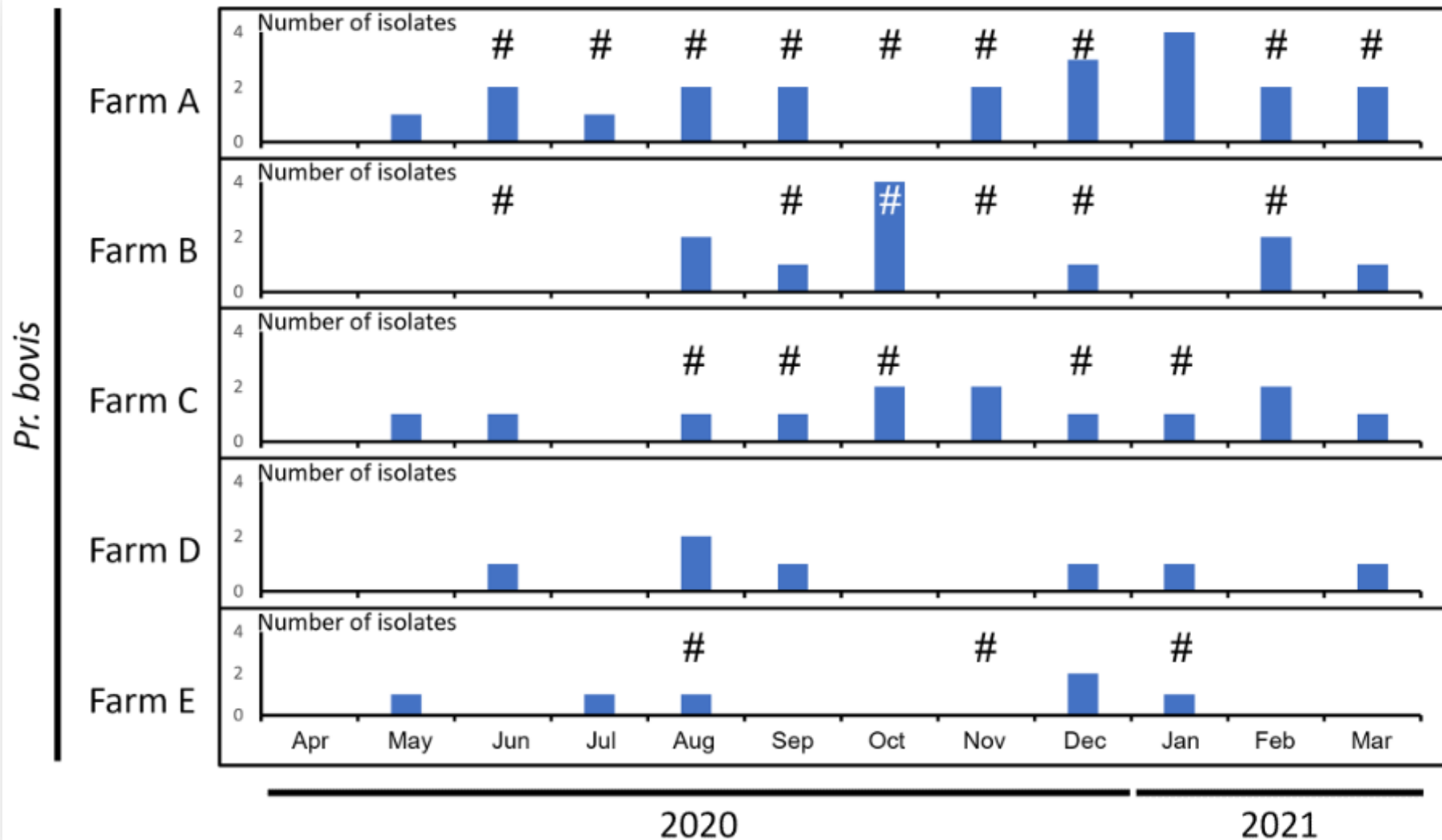
背景となる研究紹介

- 対象地域：十勝
 - 乳牛飼育戸数1,205戸（R3年12月）：日本全国で14,400戸（R2年2月1日現在）
 - 経産牛飼育頭数137,194頭（R3年12月）：日本全国で1,352,000頭（R2年2月1日現在）
- 対象サンプル：バルク乳
 - 2020年4月から2021年3月のバルク乳（生乳）
 - 18,915サンプルが対象となったと考えられる
 - 287株が酵母様真菌もしくはプロトテカ陽性として提出
 - その後、分離・同定に至った276株の結果をまとめた

全体の約1/3は *Prototheca*、それも *Pr. bovis*のみだった



*Pr. bovis*は同一農場バルク乳で繰り返し検出され、 個体乳からも検出されていた



プロトテカ *Prototheca* (2)

- 私達の研究では、生乳サンプル全体の0.5%からプロトテカ・ボビスが検出されている
- 一度発生すると、治療が難しい
- 一度発生すると、繰り返し発生して、根絶することが難しい

(Toyotome, Journal of Dairy Science, 2022)

プロトテカ・ボビスの検出： 従来技術とその問題点

- 感染個体の早期検出は農家経営にもプラスになると考える
- これらを検出する方法としては、培養法が一般的。ただし、時間も手間もかかる
- PCR、リアルタイムPCRやDNAチップ等の技術も開発されている。ただし、特殊な大型機器が必要であったり、手間がかかるなどの問題もある



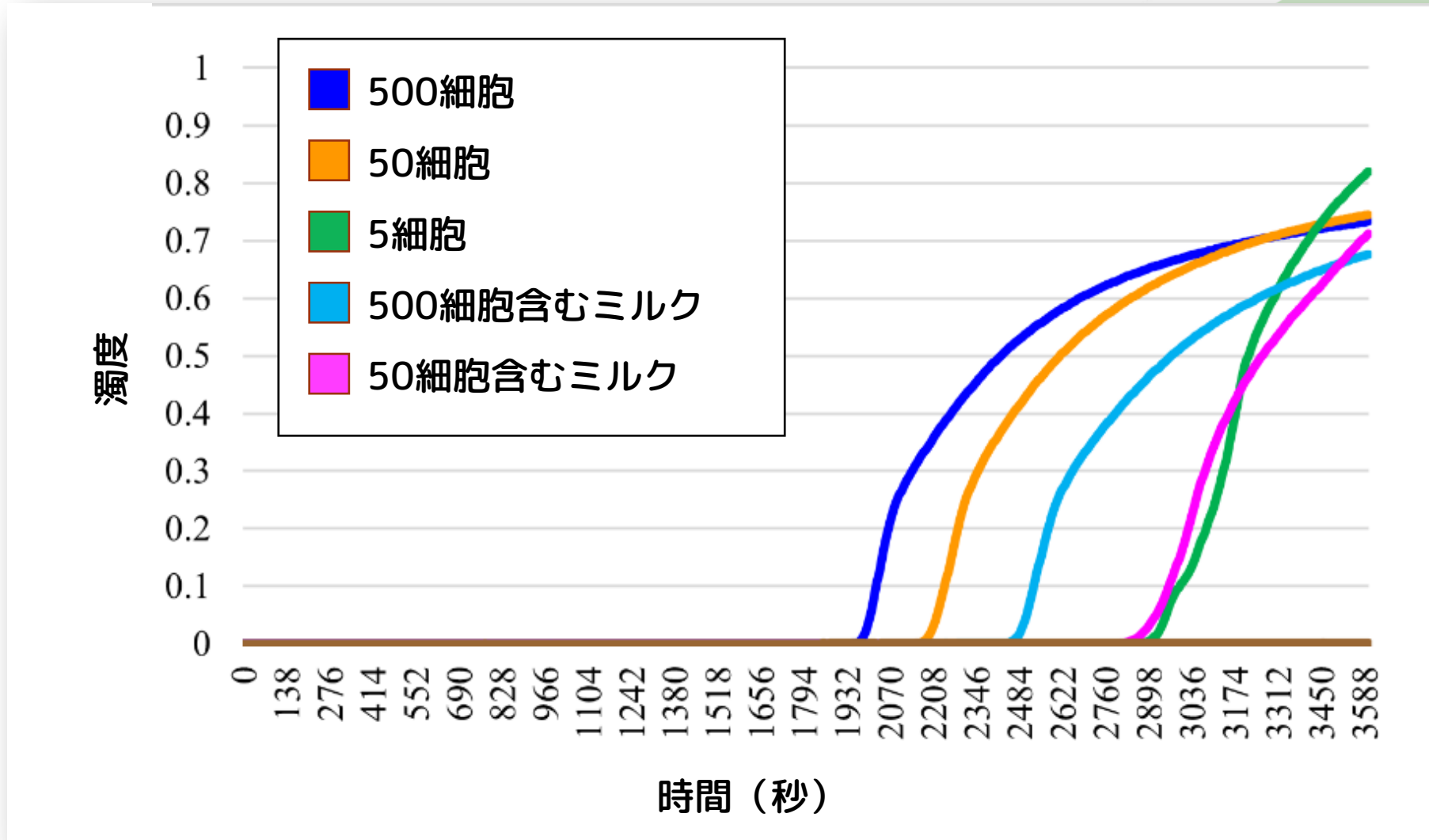
提案する方法

- 広く用いられているLAMP法を利用→
実績と信頼性のあるテクノロジー
- プライマーは独自に設計→私達の微生物資源を用いた検証で高い**特異性**を確認（未発表データ）

提案する方法

- 生乳からのDNA抽出、そのままLAMP法による検出が可能→いずれの手順もキットを用いることで**簡便**に実施可能
- 抽出から検出まで2～3時間程度で完了→**迅速**に実施可能
- 検出は目視でも可能

高い検出感度



新技術の特徴・従来技術との比較

- 実績や信頼性のあるテクノロジーを採用。
- 我々が保有する微生物資源を用いて、検証した。
- 迅速性や簡便性について改善ができた。
- 感度も確認した。
- 現場やそれに近い場所での応用が可能。

想定される用途

- 農場の関係者や獣医師による研究用検査試薬として利用。
- 生乳検査等の搾乳現場からダウンストリームでも利用。
- 農場環境でのスクリーニングに利用。

実用化に向けた課題

- 生乳から結果に至る過程をより現場で利用しやすい形にしていく。
 - 抽出における熱処理過程のさらなる簡易化
 - LAMPと引き続く検出法のさらなる簡易化・小型検出器の利用可能性

企業への期待

- LAMPもしくは類似の技術を持つ企業との共同開発を希望
- 動物用診断試薬の開発・展開を考えている企業と共に進めたい

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : プロトテカ・ボビス検出方法
- 出願番号 : 特願2021-195972
- 出願人 : 北海道国立大学機構
- 発明者 : 豊留 孝仁

産学連携の経歴

- 2017年 「アゾール耐性アスペルギルス・フミガーツス検出法」（特願2017-135386）を出願。
- 免疫力が低下している宿主（人）で発症するアスペルギルス症の主要な原因菌であるアスペルギルス・フミガーツスのアゾール耐性菌を検出可能とした発明。
- 2018年 北海道システム・サイエンス(株)とMTAを締結し、「アゾール耐性アスペルギルス・フミガーツス検出試薬」について共同開発を進め、2019年に商品化。

問い合わせ先

- 国立大学法人北海道国立大学機構帯広畜産大学
- 産学連携センター 嘉屋 元博

- T E L 0155-49-5829
- F A X 0155-49-5775
- e-mail chizai@obihiro.ac.jp