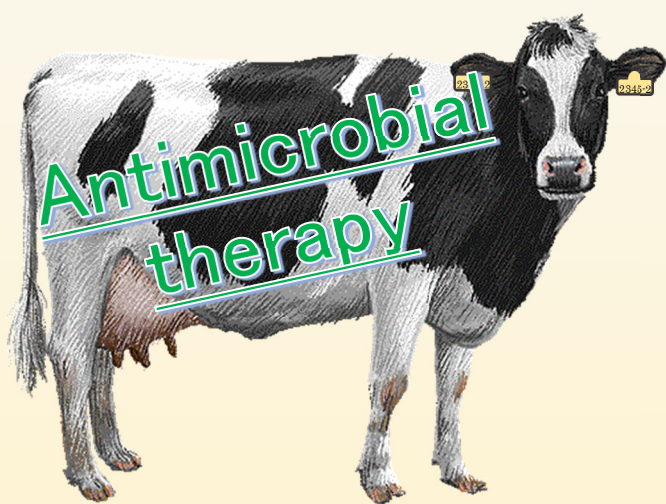


牛乳房炎抗菌剤治療 ガイドブック



農林水産省平成 29 年度生産資材
安全確保対策委託事業
抗菌性物質薬剤耐性評価情報
整備委託事業

第 1.1 版

目次

はじめに -----	2
牛乳房炎における抗菌剤使用の考え方と治療の有効性の評価 -----	2
抗菌剤の適正使用と慎重使用 -----	3
薬剤耐性とバイオフィルム -----	4
突然変異阻止濃度 (Mutant Prevention Concentration : MPC) -----	6
臨床現場における乳房炎原因菌の微生物学的簡易同定法と薬剤感受性 試験(ディスク拡散法) -----	7
1. グラム陽性・陰性細菌の同定法と薬剤感受性試験(ディスク拡散法)	
2. マイコプラズマの同定法	
牛乳房炎由来株に対する各薬剤の感受性成績と薬剤耐性菌の発生を低減する ための抗菌剤使用の考え方 -----	19
1. 乳房炎治療の実態と抗菌剤使用に関する課題	
2. 好気培養細菌陰性の場合の対応について	
3. グラム陽性・陰性細菌における薬剤感受性成績 (MIC, MBC, MBEC)	
4. マイコプラズマにおける薬剤感受性成績 (MIC, MBC)	
本事業で検討したディスク法による薬剤感受性判定基準とその評価 ---	26
牛乳房炎の病態・診断・治療・予防(グラム陽性・陰性細菌) -----	27
牛乳房炎の病態・診断・治療・予防(マイコプラズマ) -----	35
牛乳房炎の予防(環境衛生、ワクチン等) -----	40
参考文献 -----	44
おわりに -----	50

はじめに

牛の乳房炎は、乳牛の疾病の中で、酪農家に対し最も甚大な損失を与えている疾病であり、生乳生産上の最も大きな損耗要因として、また公衆衛生上、安全な原料乳生産を行う上でも酪農業界の喫緊の課題となっている。乳房炎を効果的に制圧するためには、治療と予防が共に相乗的に機能しなければならない。乳房炎の治療は主に抗菌剤の投与によって行われているが、抗菌剤の不適切な使用による治療後の残留事故や薬剤耐性の問題などもあり、食の安全・安心や薬剤耐性の観点から抗菌剤の適正使用が強く求められている。特に薬剤耐性菌の増加に関しては、世界的にも大きな問題となっており、臨床現場での動物用抗菌剤の適切な使用を促すことは、薬剤耐性菌の出現を抑え、社会に大きく貢献することとなる。

この牛乳房炎抗菌剤治療ガイドブックは、乳房炎治療に対する適切な抗菌剤の選択と適正な治療を行うために必要な基礎データ及び適切な診断・治療・予防に関する考え方について情報提供し、それを臨床現場に普及することを目的として作成されたものである。

牛乳房炎における抗菌剤使用の考え方と治療の有効性の評価

牛の乳房炎は、原因となる微生物が乳頭から侵入し乳腺に定着することによって感染が成立する。また、原因菌の種類によって症状が相違し、治療効果もそれらの特性に左右されることから、原因菌に基づいた対応を行うことが乳房炎の早期治癒、発生予防に重要である。病原体の持つ特性は、その病原性と関連があり、宿主の免疫応答は多くの環境要因によって影響を受ける。乳房炎を引き起こす病原体は、感受性宿主に感染を引き起こす。行った治療が奏功するかどうかは、宿主側の免疫要因、病原体の感染性、病原性、薬剤耐性、そして使用薬剤の作用機序と特徴、投与経路、体内動態などの相互作用により左右される。したがって、薬剤による治療は、宿主の持つ自然防御能を補助するものであることを治療の基本的な概念として持つことが重要である。

乳房炎の治療は、抗菌剤、消炎剤などを使用して病原体の除去、宿主免疫を

補助し、または感染による病態生理学的反応を低減させることである。臨床現場では、よく抗菌剤投与による病原体の除去に焦点がおかれるが、乳腺内感染に対する治療の有効性は、臨床徴候の低減により評価することが適切と考えられる。その理由は、治療の目的が市場取引に耐えうる乳質を保持し、その牛が長期間生存し経済的に貢献するところにあるからである。一方で、微生物学的培養検査の結果により原因菌の特徴に基づいた適切な処置を施すことで効果的な治療を実施することができ、結果として抗菌剤の使用を必要最小限に減らすことができる。したがって、その牛の病態と原因菌の特徴をよく理解した上で、総合的に治療効果を評価することが重要である。

抗菌剤の適正使用と慎重使用

牛用の抗菌剤は、「要指示医薬品」となっている。そのため、飼養者が抗菌剤を入手するには、獣医師の処方箋や指示書が必要である（要指示医薬品制度）。また、獣医師は、処方箋や指示書を発行するには、対象動物を自ら診察する必要がある（要診察医薬品制度）。さらに、畜産物中に使用した薬剤が残留することを防止するため、動物用抗菌剤が使用できる動物、用法・用量、使用禁止期間などが法令で規制されている（使用規制制度）。以上のような法令及び用法・用量を遵守し、使用上の注意に従って使用することを「適正使用」という。

乳房炎に対して抗菌剤の「適正使用」が行われなかった場合、例えば、畜産物中への薬剤の残留、耐性菌の出現、疾患の慢性化等につながる可能性があるので注意が必要である。

要指示医薬品制度または使用規制制度の違反には3年以下の懲役か300万円以下の罰金またはその両方、また、要診察医薬品制度の違反には20万円以下の罰金という罰則が法律で定められていることに注意が必要である。

2015年5月にWHOが薬剤耐性に関するグローバルアクションプランを採択し、薬剤耐性に関して関連分野が連携して世界的に取り組むべきとされたことを踏まえ、2016年4月に我が国においてアクションプランが策定・公表された。このアクションプランにおいて、動物用抗菌剤の慎重使用の徹

底を行うことが記載されている。

「慎重使用」とは、抗菌剤を使用すべきかどうかを十分検討した上で(薬剤感受性試験の実施、感染症の予防、抗菌剤関連情報の共有等)、抗菌剤の「適正使用」により最大限の効果を上げ、薬剤耐性菌の選択を最小限に抑えるように使用することをいう(図1参照)。

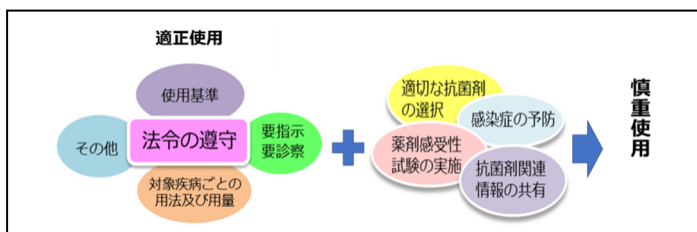


図1. 適正使用と慎重使用の違いについて

慎重使用の目標は主に以下の3点である。

- ① 家畜での薬剤耐性菌の選択及び伝播を極力抑えること
- ② 家畜から人への薬剤耐性菌又は薬剤耐性決定因子の伝播を抑え、人の医療に使用する抗菌性物質製剤の有効性を維持すること
- ③ 家畜での抗菌剤の有効性を維持すること

薬剤耐性とバイオフィルム

薬剤耐性菌とは、抗菌剤存在下でも発育できる細菌のことをいう。細菌は、独自の耐性機構を作り出したり(染色体の突然変異等)、抗生物質産生菌や他の薬剤耐性菌が持つ耐性遺伝子を取り込んだり(耐性の伝達)する(図2)。耐性遺伝子の獲得はほぼ一定の確率で起こっている現象であり、抗菌剤の存在の有無には依存しないが、薬剤耐性菌はその抗菌剤が存在するときに感受性菌と比べて有利に増殖するため、抗菌剤の使用は薬剤耐性菌の出現と強く関わる。以上のような背景より、薬剤耐性菌の出現・拡散を防ぐために、獣医師は科学的根拠に基づいて抗菌剤の慎重使用を行うべきである。

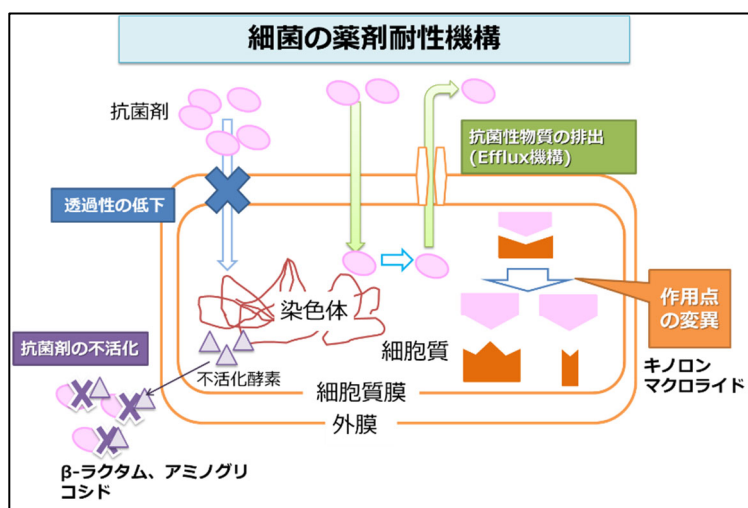


図2. 細菌の主な薬剤耐性機構（「畜産物生産における動物用抗菌性物質の慎重使用に関する基本的な考え方について」より；

http://www.maff.go.jp/j/syouan/tikusui/yakuzi/pdf/vet_panf_prudent_use.pdf）

また、多くの細菌感染症において、薬剤感受性と臨床効果は必ずしも一致するものではないが、薬剤感受性試験は臨床的有用性が高く、抗菌剤治療の科学的根拠となることから積極的に実施すべきである。実際、牛の呼吸器感染症に対して、薬剤感受性試験に基づく治療を行った方が治療成績はよいことが報告されている[1]。一方で、薬剤感受性試験において細菌が感受性を示すにも関わらず、抗菌剤が有効に作用しないことや、一度症状が改善した後に細菌感染症を再発することがある。こうした現象の一部は、バイオフィームが関連していることが示唆されている[2]。バイオフィームとは、細菌が菌体外に分泌する多糖類などのマトリックスと菌の集合体から成る構造物である。細菌が付着・増殖するとマトリックスに覆われた状態、すなわちバイオフィームを形成して薬剤に抵抗性を示し、また生体の防御機構からも逃れやすくなるために治療が困難になることが知られている。バイオフィームは生体内でも産生されることから、呼吸器感

染症や尿路感染症などの様々な細菌感染症においても、慢性感染症、再発や再感染の原因となっていることが示されている[3]。こうした背景より、獣医療現場における乳房炎においても、慢性乳房炎や再発は細菌の形成するバイオフィルムの関連が疑われる。また、バイオフィルムは細菌の薬剤耐性遺伝子の伝達に寄与するという報告もある[4]。従って、細菌がバイオフィルムを形成し、治療困難となる前に適切な抗菌剤で治療することが最も重要であると考えられる。

突然変異阻止濃度 (Mutant Prevention Concentration: MPC)

細菌は分裂のたびに、一定の比率で変異株が出現する。変異株の中には、抗菌剤に対する感受性が変化し MIC(最小発育阻止濃度, minimum inhibitory concentration)が高い値を示すことがあり、この現象が薬剤耐性菌出現のメカニズムの一つとして知られている。抗菌剤の濃度が MIC 値以上では、細菌の発育は抑制される。この濃度のときに出現した変異株は MIC より高いある値(MPC, mutant prevention concentration)以上では発育が抑制される。つまり、耐性菌も発育が抑制される濃度が MPC である。一般的に、MIC と MPC の間の濃度域を MSW(mutant selection window)と呼び、耐性菌が選択されやすい濃度であることが知られている。MSW の濃度域を決定する要因は明らかではないが、MSW の濃度域が広い菌では、耐性菌が出現し易いと考えられる。乳房炎起因菌に対しても、MSW を意識した PK-PD 理論に基づいた抗菌剤の使用が重要である。抗菌剤の血中濃度と MIC, MPC, MSW の関係を図 3 に示す。

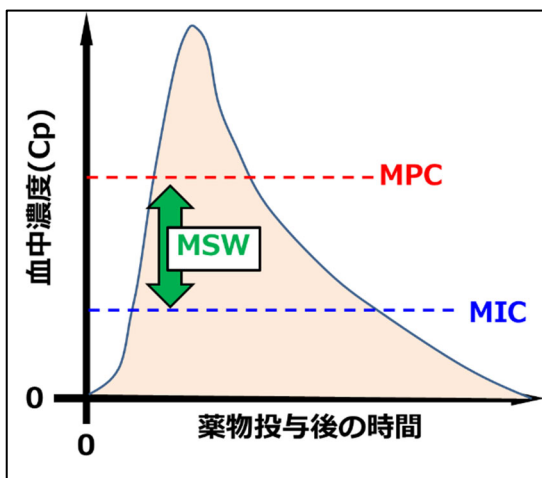


図 3. 抗菌剤の血中濃度と MIC, MPC, MSW の関係

臨床現場における乳房炎原因菌の微生物学的簡易同定法と薬剤感受性試験（ディスク拡散法）

1. グラム陽性・陰性細菌の同定法と薬剤感受性試験（ディスク拡散法）

一般的に乳房炎原因菌の微生物学的同定手法には、培養法、生化学的同定手法、分子生物学的同定手法などが存在する。ここでは臨床現場での活用を主眼に置いていることから、以下の主要な乳房炎原因菌について、平板培地を用いた乳汁の培養と簡単な生化学的性状検査を行うことにより、コロニーの形、大きさ、色、光沢、臭気などを参考に目視で同定する手法を紹介する[5]。

目視同定可能な菌種は以下のとおりである。

・グラム陽性菌

Staphylococcus aureus, coagulase negative staphylococci (CNS), *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Trueperella pyogenes* (旧 *A. pyogenes*), *Corynebacterium bovis*, *Bacillus cereus*

・グラム陰性菌

Escherichia coli, *Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*,

Pseudomonas aeruginosa, *Pasteurella multocida*

・その他の微生物

Yeast, *Prototheca bovis* (旧 *P. zopfii*), *Mycoplasma* spp.

乳汁の採材手法

乳房炎原因菌を特定するための乳汁採材は極めて注意深く行う必要がある。できるだけ他からの雑菌混入を避けるためには、搾乳後の後搾り乳を採材することが望ましい。推奨される採材方法は以下のとおりである。

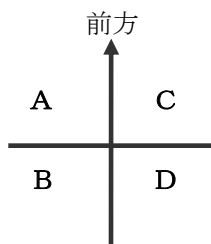
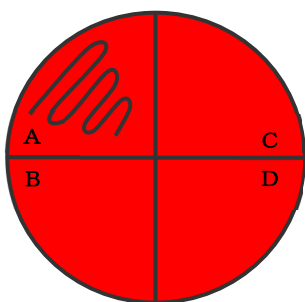
- ① 滅菌スピッツ管を用意する(スピッツ管に牛番号、分房等の情報を記入)
- ② 搾乳直後に採材分房の乳頭表面の湿り気をペーパータオルにて取る
- ③ アルコール綿花で乳頭口を良く清拭する
- ④ スピッツ管の蓋を汚染しないように外して保持し、スピッツ管を斜めにして
2mL 程度乳汁を採取する
- ⑤ 採取したスピッツ管の蓋を閉める
- ⑥ 採材した乳頭をポストディッピングする
- ⑦ 保冷容器にスピッツ管を入れ、検査するまで保管し、速やかに培地に塗布する

細菌培養の手法

1. 一般細菌の好気培養

(1) 血液寒天培地を利用した方法

- 1) 5%羊血液加寒天培地を4分割し、被検乳汁をよく攪拌してからマイクロピペットまたはデスポ白金耳(10 μ L ループ)で 10 μ L を取り、培地に塗布する。ただし、デスポ白金耳で計量した場合、塗布量が少なくなる傾向にあるので注意を要する[6]。



2) 恒温器内で 37℃24～48 時間培養する。

3) 恒温器から培地を取り出し目視同定する。

・グラム陽性球菌、グラム陰性桿菌は、培養 24 時間後の判定が最も同定しやすい。グラム陽性桿菌、*Prototheca bovis*、Yeast については、48 時間の方が判定しやすい場合がある。

・目視同定をするに当たっての原因菌の特徴は、図5～20 に示す通りである。まずコロニーの大きさを大、中、小、微小の4グループに分類して記憶しておくとう理解しやすい。熟練すれば正確に同定することが可能である(P11 フローチャート参照)。

(2) 乳汁または乳汁中凝固物の直接塗抹標本に対する染色

被検乳汁をスライドグラスに直接塗抹し、自然乾燥して火炎固定後、冷却してグラム染色を実施することにより、グラム陽性球菌、グラム陽性桿菌、グラム陰性桿菌、酵母様真菌、藻類の鑑別を行うことができる。この方法は、薬剤の選択や甚急性乳房炎の治療に初診から迅速に対応する必要がある場合に有効である。主に *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., Yeast, *Prototheca bovis* などが対象菌種となる。

(3) 英膜二重染色による *E. coli* と *K. pneumoniae* の簡易鑑別法

被検乳汁をスライドグラスに直接塗抹し、自然乾燥した後、簡易迅速染色液にて先にギムザ染色を行い、水洗乾燥させる。次に、市販の書道用墨汁を1滴スライドグラス上にのせ、血液塗沫を引く要領で墨汁染色を行い、水洗せずそのまま自然乾燥させ、顕微鏡で英膜および菌体を観察する。判定は、青色に染まった菌体の周囲に透明帯として観察される英膜が厚いものが *K. pneumoniae* で、

透明帯がほとんど見えない、あるいは薄いものは *E. coli* と判断する。これは、*E. coli* より重症化する *K. pneumoniae* の初診時の鑑別に有効である。

(4) その他の詳細な同定方法

グラム陽性球菌・桿菌、グラム陰性桿菌についての目視同定以上の詳細な同定は、比較的簡易な生化学的キットが市販されており、それを用いて同定することができる。

2. 一般細菌の嫌気培養

- 1) 5%羊血液加寒天培地を4分割し、被検乳汁をよく攪拌してからマイクロピペットまたはデスポ白金耳(10 μ L ループ)で10 μ L を取り、培地に塗布する。
- 2) 嫌気ジャーに嫌気パックを入れ、酸素0%、炭酸ガス5%以上の環境下で、恒温器内にて 37 $^{\circ}$ C24~48 時間培養する(図4)。
- 3) 嫌気ジャーから培地を取り出し、発育したコロニーを一つ釣菌し、2枚の血液寒天培地に塗布し、1枚は好気培養、1枚は嫌気培養する。
- 4) 24~48 時間培養後、好気培養で発育したものは通性嫌気性菌(好気性菌)である。好気培養で発育陰性、嫌気培養で発育陽性のもの(偏性嫌気性菌:嫌気性菌)を生化学的検査または分子生物学的検査で同定する。

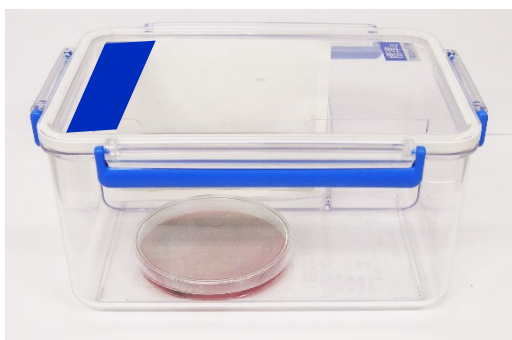
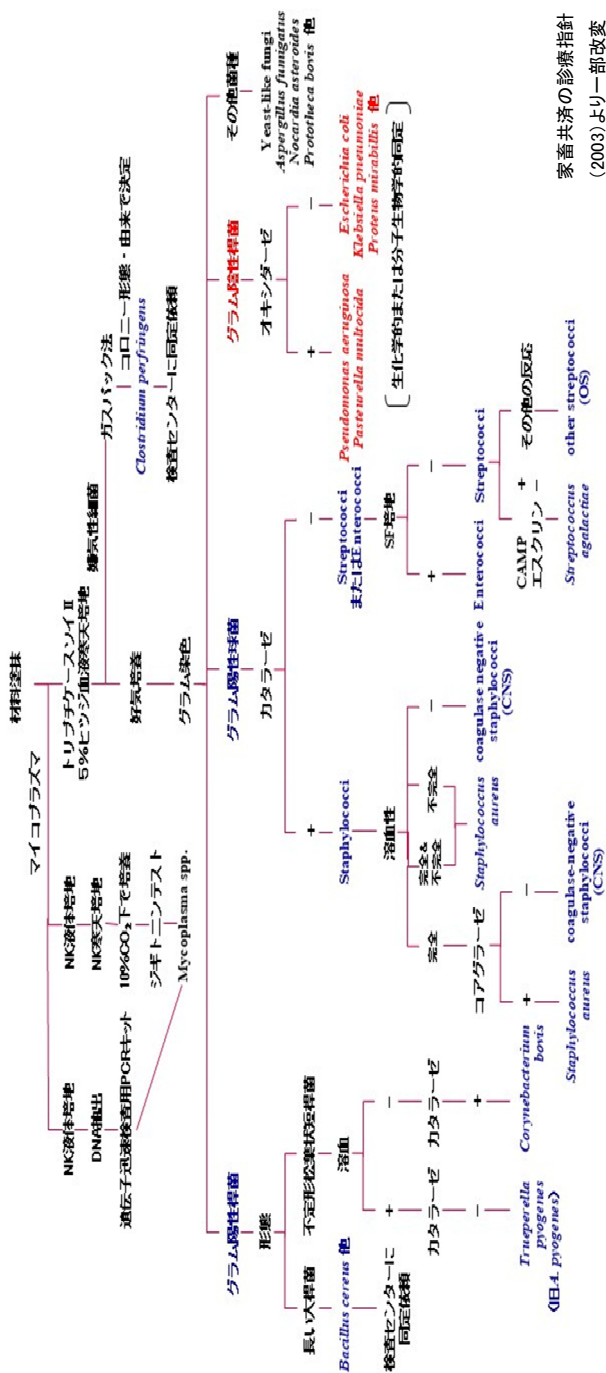


図 4. 嫌気ジャーと平板培地

臨床的・實際的な牛乳房炎原因菌同定手帳



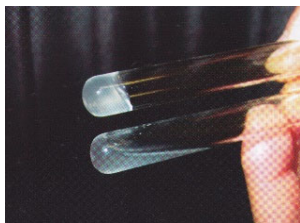
簡易な生化学的検査



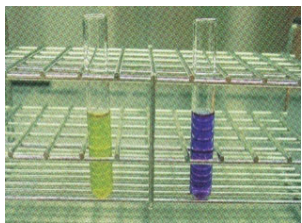
カタラーゼ試験（オキシドール）
泡あり：陽性、泡なし：陰性



オキシダーゼ試験（1分以内）
青色：陽性、無色：陰性



コアグラーゼ試験
凝固あり：陽性、凝固なし：陰性



SF 試験
黄色：陽性、青色：陰性

・カタラーゼ試験

スライドグラスにオキシドールを滴下し、菌株を浸す。泡が出るとカタラーゼ陽性である。（主に *Staphylococcus* と *Streptococcus* の鑑別）

・オキシダーゼ試験

オキシダーゼ試験紙にわずかの水を垂らし、菌株を接触させる。1分以内に青色に変化したらオキシダーゼ陽性

・コアグラーゼ試験

ウサキプラズマを規定量の滅菌生理食塩水に溶かし小試験管に分注、菌株を接種し、3時間と24時間に判定する。凝固するとコアグラーゼ陽性。

・SF 試験

SF 培地を作成し小試験管に分注、24 時間後に黄色く変化すれば SF 陽性。

乳房炎原因菌の目視同定



図 5. *Staphylococcus aureus*
：乳白色スムーズ中コロニー
（完全溶血帯と不完全溶血帯）



図 6. coagulase negative staphylococci
：乳白色スムーズ中コロニー



図 7. *Streptococcus uberis*
：灰色スムーズ小コロニー



図 8. *Trueperella pyogenes*
：灰色スムーズ微小コロニー（完全溶血）



図 9. *Corynebacterium bovis*
：乳白色ラフ小コロニー、乾燥様、
溶血なし

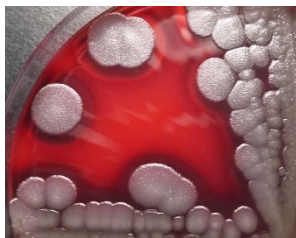


図 10. *Bacillus cereus*
：灰色大ラフ光沢なし大コロニー
（完全溶血）



図 11. *Escherichia coli*
：灰色不整形大コロニー



図 12. *Klebsiella pneumoniae*
：乳白色スムーズ大コロニー、
光沢あり

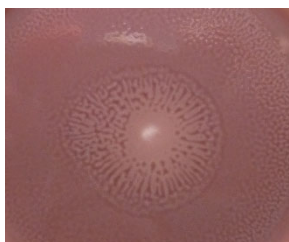


図 13. *Proteus mirabilis*

：灰色不整形でスウォーミングを認める



図 14. *Serratia marcescens*

：赤色大スムーズコロニー



図 15. *Pseudomonas aeruginosa*

：完全溶血帯、線香臭、不整形大コロニー



図 16. *Pasteurella multocida*

：鼻汁様ムコイド大コロニー、光沢あり、



図 17. Yeast-like fungi

：乳白色光沢のない小コロニー

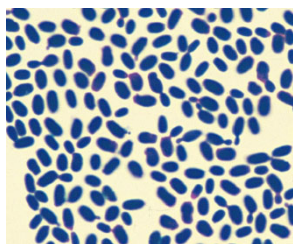


図 18. Yeast-like fungi 鏡検像：

グラム陽性、米粒様の大きな菌体を認める



図 19. *Prototheca bovis*

：灰色不整形微小～小コロニー、光沢なく粉っぽい

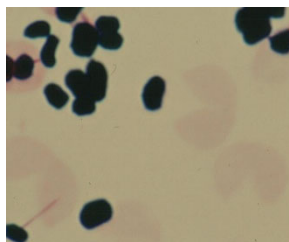


図 20. *Prototheca bovis* 鏡検像

：酵母様真菌の5～10倍の岩石状の菌体と外殻が観察される

薬剤感受性試験(ディスク拡散法)

ここでは臨床現場で簡易でより正確なディスク拡散法の間接法について解説する。また常法ではマックファーランド 0.5 の菌液を用いるが、それに相当するコロニー数に換算して釣菌する方法を紹介する。

具体的な手法

1. 目視同定された細菌を純培養し、菌種ごとに表 1 のコロニー数を釣菌し、
Staphylococcus, グラム陰性菌はミューラーヒントン培地に、*Streptococcus* とグラム陽性桿菌は5%羊血液加ミューラーヒントン培地(5%羊血液加寒天培地で代用可)に綿棒で培地を回転させながら全域に均一に塗布する
2. 感受性ディスクを塗布した培地に置き、37℃24 時間培養する
3. 阻止円の直径を計測し、表2の「本事業で検討した牛乳房炎原因菌に対する薬剤感受性判定表」に基づき判定する

表 1. 感受性培地塗布時の各菌種における釣菌コロニー数

菌 種	釣菌コロニー数	使用培地
<i>Staphylococcus</i> spp. <i>Micrococcus</i> spp.	2～3	ミューラーヒントン
<i>Streptococcus</i> spp. <i>Enterococcus</i> spp.	20～30	5%羊血液加寒天培地
<i>Corynebacterium</i> spp. <i>Trueperella pyogenes</i>	50～100	5%羊血液加寒天培地
Gram negative bacteria <i>Bacillus cereus</i>	1/4～1/8	ミューラーヒントン

家畜共済の診療指針(2003)より一部改変

表2. 本事業で検討した牛乳房炎原因菌に対する薬剤感受性判定表

抗菌薬	対象菌種	阻止円の直径(mm)	
		感性(S)	耐性(R)
PC	<i>Staphylococcus aureus</i>	≧ 24	≦ 23
	CNS	≧ 12	≦ 11
	<i>Streptococcus</i> spp.	≧ 14	≦ 13
	Strep. (<i>S. uberis</i> を除く)	≧ 14	≦ 13
	<i>Streptococcus uberis</i>	≧ 18	≦ 17
	<i>Enterococcus</i> spp.	≧ 21	≦ 20
	<i>Trueperella pyogenes</i>	≧ 20	≦ 19
OTC	<i>Staphylococcus aureus</i>	≧ 12	≦ 11
	CNS	≧ 17	≦ 16
	<i>Streptococcus</i> spp.	≧ 13	≦ 12
	Strep. (<i>S. uberis</i> を除く)	≧ 13	≦ 12
	<i>Streptococcus uberis</i>	≧ 16	≦ 15
	<i>Enterococcus</i> spp.	≧ 19	≦ 18
	<i>Trueperella pyogenes</i>	≧ 20	≦ 19
	<i>Escherichia coli</i>	≧ 16	≦ 15
KM	<i>Klebsiella</i> spp.	≧ 15	≦ 14
	<i>Staphylococcus aureus</i>	≧ 13	≦ 12
	CNS	≧ 16	≦ 15
	<i>Streptococcus</i> spp.	≧ 26	≦ 25
	Strep. (<i>S. uberis</i> を除く)	≧ 26	≦ 25
	<i>Streptococcus uberis</i>	≧ 22	≦ 21
	<i>Enterococcus</i> spp.	≧ 14	≦ 13
	<i>Trueperella pyogenes</i>	≧ 15	≦ 14
CEZ	<i>Escherichia coli</i>	≧ 15	≦ 14
	<i>Klebsiella</i> spp.	≧ 15	≦ 14
	<i>Staphylococcus aureus</i>	≧ 25	≦ 24
	CNS	≧ 17	≦ 16
	<i>Streptococcus</i> spp.	≧ 19	≦ 18
	Strep. (<i>S. uberis</i> を除く)	≧ 19	≦ 18
	<i>Streptococcus uberis</i>	≧ 19	≦ 18
	<i>Enterococcus</i> spp.	≧ 33	≦ 32
CXM	<i>Trueperella pyogenes</i>	≧ 15	≦ 14
	<i>Escherichia coli</i>	≧ 15	≦ 14
	<i>Klebsiella</i> spp.	≧ 15	≦ 14
	<i>Staphylococcus aureus</i>	≧ 16	≦ 15
	CNS	≧ 17	≦ 16
	<i>Streptococcus</i> spp.	≧ 15	≦ 14
	Strep. (<i>S. uberis</i> を除く)	≧ 17	≦ 16
	<i>Streptococcus uberis</i>	≧ 15	≦ 14
EM	<i>Enterococcus</i> spp.	≧ 11	≦ 10
	<i>Trueperella pyogenes</i>	≧ 12	≦ 11
	<i>Escherichia coli</i>	≧ 14	≦ 13
	<i>Klebsiella</i> spp.	≧ 15	≦ 14
	<i>Staphylococcus aureus</i>	≧ 15	≦ 14
	CNS	≧ 15	≦ 14
	<i>Streptococcus</i> spp.	≧ 14	≦ 13
	Strep. (<i>S. uberis</i> を除く)	≧ 12	≦ 11
GM	<i>Streptococcus uberis</i>	≧ 14	≦ 13
	<i>Enterococcus</i> spp.	≧ 17	≦ 16
	<i>Trueperella pyogenes</i>	≧ 18	≦ 17
	<i>Escherichia coli</i>	—	—
	<i>Klebsiella</i> spp.	≧ 16	≦ 15
	<i>Staphylococcus aureus</i>	≧ 12	≦ 11
	CNS	≧ 13	≦ 12
	<i>Streptococcus</i> spp.	≧ 16	≦ 15
GM	Strep. (<i>S. uberis</i> を除く)	≧ 16	≦ 15
	<i>Streptococcus uberis</i>	≧ 18	≦ 17
	<i>Enterococcus</i> spp.	≧ 11	≦ 10
	<i>Trueperella pyogenes</i>	≧ 15	≦ 14

表 2 つづき

抗菌薬	対象菌種	阻止円の直径	
		感性(S)	耐性(R)
ABPC	<i>Staphylococcus aureus</i>	≧ 25	≦ 24
	CNS	≧ 19	≦ 18
	<i>Streptococcus</i> spp.	≧ 17	≦ 16
	Strep. (<i>S. uberis</i> を除く)	≧ 17	≦ 16
	<i>Streptococcus uberis</i>	≧ 17	≦ 16
	<i>Enterococcus</i> spp.	≧ 17	≦ 16
	<i>Trueperella pyogenes</i>	≧ 17	≦ 16
	<i>Escherichia coli</i>	≧ 11	≦ 10
	<i>Klebsiella</i> spp.	≧ 11	≦ 10
ERFX	<i>Staphylococcus aureus</i>	≧ 15	≦ 14
	CNS	≧ 19	≦ 18
	<i>Streptococcus</i> spp.	≧ 13	≦ 12
	Strep. (<i>S. uberis</i> を除く)	≧ 13	≦ 12
	<i>Streptococcus uberis</i>	≧ 14	≦ 13
	<i>Enterococcus</i> spp.	≧ 17	≦ 16
	<i>Trueperella pyogenes</i>	≧ 15	≦ 14
	<i>Escherichia coli</i>	≧ 16	≦ 15
	<i>Klebsiella</i> spp.	≧ 19	≦ 18
MBFX	<i>Staphylococcus aureus</i>	≧ 15	≦ 14
	CNS	≧ 17	≦ 16
	<i>Streptococcus</i> spp.	≧ 15	≦ 14
	Strep. (<i>S. uberis</i> を除く)	≧ 16	≦ 15
	<i>Streptococcus uberis</i>	≧ 14	≦ 13
	<i>Enterococcus</i> spp.	≧ 15	≦ 14
	<i>Trueperella pyogenes</i>	≧ 15	≦ 14
	<i>Escherichia coli</i>	≧ 16	≦ 15
	<i>Klebsiella</i> spp.	≧ 16	≦ 15

注) *S. uberis* を同定していない場合は Strep. (*S. uberis* を除く)の基準を利用する。

PC: ペニシリン、OTC: オキシテトラサイクリン、KM: カナマイシン、

CEZ: セファゾリン、CXM: セフロキシム、EM: エリスロマイシン、

GM: ゲンタマイシン。ABPC: ペニシリン ERFX: エンロフロキサシン、

MBFX: マルボフロキサシン

2. マイコプラズマの同定法

本病の微生物学的検査には培養法[7]および遺伝子検査を基礎とした遺伝子迅速検査法[8, 9]がある。特に遺伝子迅速検査法は従来の培養法に比べ感度および特異度が高く、さらに多検体処理や迅速性(採材から 72 時間程度で判定)においても非常に優れている。また、検査コストの低減も見込めることから、大規模牛群における感染個体の摘発を行う上においては特に有用である。培養法については、病性鑑定マニュアル(農林水産省)に記載の方法も参考にされた(http://www.naro.affrc.go.jp/org/niah/disease_byosei-kantei2016/cow-diseases/046.pdf)。

【遺伝子迅速検査法】 現在、国内では培養検査と遺伝子検査の利点を組み

合わせたハイブリッド型の新しい遺伝子迅速検査技術が用いられている[7]。実施例として 0.1mL の乳汁を3mL のマイコプラズマ液体培地に接種し 72 時間程度培養する。培養液より DNA を簡易粗精製したのち、Universal プライマーを用いた PCR を実施し、陽性だった検体については引き続き、菌種特異的プライマーを用いた PCR を実施する(図 21)。PCR 法は培養法に比較して多くの利点を有し、比較的操作も簡便であるが、分子生物学的な基礎知識や基本技術は必要となる。検査者の技術や検査システムが不適切である場合は、検査結果の信頼性を損ない、逆に農場に大きな混乱を招くため、検査の精度管理にあっては十分に留意しなければならない。

推奨検査資材

【培養法および遺伝子迅速検査に用いる培地】

マイコプラズマ用液体培地

マイコプラズマ用平板培地

【遺伝子迅速検査用 PCR キット】

遺伝子迅速検査用 PCR キットは、ウシに感染するマイコプラズマ種の検出を目的に開発された商品を使用する。培養液や培養細胞のコンタミネーションをチェックするための検出キットは、アコレプラズマ等、ウシで病原性を持たないマイコプラズマ種を「陽性」として検出するため、誤診が生じる危険性がある。必ず、「ウシ用」のキットを用いなければならない。日本国内では、ウシに感染性をもつマイコプラズマ種を網羅的に検出する PCR キットと、*M. bovis*, *M. bovisgenitalium*, *M. californicum* の菌種同定用キットが販売されている。

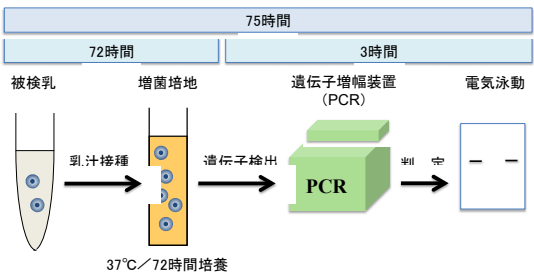


図 21. マイコプラズマの遺伝子検査法の概要

【培養法】

被検乳汁をマイコプラズマ液体培地に接種し 37℃で 48～72 時間培養する。この増菌液をマイコプラズマ液体培地に塗布し3～14 日程度、37℃、微好気下で培養する。目玉焼き状コロニーを顕微鏡下で分離し、単離培養を行ったのち、ジギトニンディスクアッセイによりアコレプラズマとの識別を行う。サンプリングから最終的な同定まで概ね 10 日～1ヶ月程度必要となる。

牛乳房炎由来株に対する各薬剤の感受性成績と薬剤耐性菌の発生

を低減するための抗菌剤使用の考え方

1. 乳房炎治療の実態と抗菌剤使用に関する課題

(1) 乳房炎治療の実態

乳房炎の治療の大部分は抗菌剤による治療である(表3)。

表 3. 乳房炎治療における抗菌剤使用の現状

・細菌陰性	抗菌剤注入	28.8%	} 97.7%
・グラム陽性菌	抗菌剤の注入、注射		
・グラム陰性菌			
・マイコプラズマ			
・真菌	頻回搾乳、抗真菌薬	2.2%	
・藻類	淘汰	0.1%	

2015 年の家畜感染症学会での全国の獣医師に向けたアンケート調査[10]および追加調査の結果から、まず 99%の獣医師が乳房炎は重要な疾病であると認識し、97%の獣医師が乳房炎低減のために力を注ごうと思っているという結果が得られた。そして、99%の獣医師が原因菌同定のための細菌検査は必要であると認識し、62%の獣医師が診療所において自ら細菌検査を実施しており、実施することがある獣医師も含めると、実施率は 81%にも上がることが明らかとなった。しかし一方で、細菌検査は時間がかかることや、菌名までの同定が困難であること、一定の熟練を要することなどから、敬遠している獣医師が少なくないこ

とも実態として明らかとなった。また、薬剤感受性試験は 80%以上の獣医師が行っており、そのほとんどが結果を治療に活用していた。

臨床型乳房炎の治療においては、抗菌剤の全身投与を行う場合は獣医師の判断によって投与中止を決定しているが、局所治療の場合は、97%の獣医師が乳房炎軟膏を薬治し、獣医師の指示のもと、農家が治癒を確認している場合があった。また最も経済的損失の大きい Coliform 乳房炎に使用する全身投与の抗菌剤の選択においては、地域により差が見られたが、カナマイシン、オキシテラサイクリン、フルオロキノロンの使用が多かった。しかしながら、フルオロキノロンの使用については、本来は二次選択薬として使用するべき抗菌薬であることから、現場の治療を鑑みてやむなく一次選択薬として使用する場合には限定した症例とし、用法用量は遵守したうえで長期投与は避けるなどの必要がある。またある地域では、乳房炎スコア2以下(局所症状のみ)の乳房炎であっても恒常的に併用して抗菌剤の全身投与を行っている事例も見られ、このような治療も耐性菌を作出する要因につながっていると思われる。

(2) 使用抗菌剤の種類と使用量

2014 年における全ての動物用抗菌剤(駆虫薬を除く)の販売量(原末換算)は、753t である。そのうち乳房炎軟膏は、2.5t (0.3%)を占める。また同期における乳房炎軟膏の販売量から推定した使用本数の概算では、セファゾリン(泌乳期・乾乳期)が最も多く、次いでペニシリン系乳房炎軟膏(泌乳期・乾乳期)、セファロニウム(乾乳期)、セフロキシム(泌乳期)となっており、圧倒的にセフェム系抗菌剤の偏重使用が明らかとなった(図 22)。

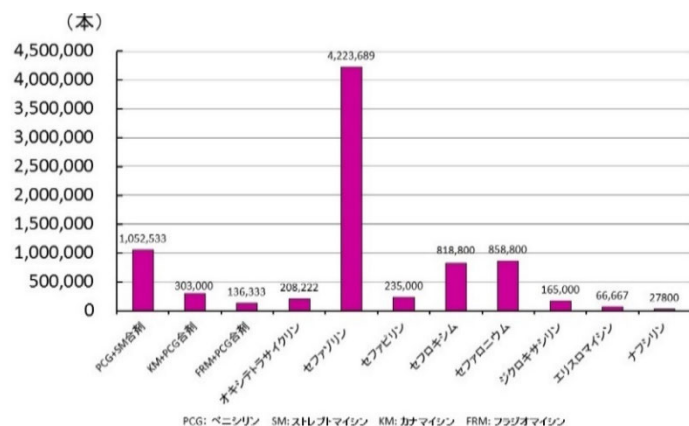


図 22. 乳房注入剤使用本数概算 (2014)
(富士経済のデータを基に河合が算出)

乳房炎牛の治療において、1日当たりの乳房炎軟膏使用本数の調査を行ったところ、府県のある地域においては用法の1日1回注入ではなく、1日2回注入が励行されていることが明らかとなった。そこでセフェム系抗菌剤を使用して治療した症例において1日1回注入と2回注入の3日以内治癒率を比較してみたところ、1回注入 50.0%であったのに対し、2回注入では 78.6%と有意に高かった。また、使用抗菌剤をセフェム系に統一し、初診にセファゾリン感性のもので注射薬無使用の症例について平均使用本数を比較したところ、治療日数6日以内では、1日注入回数1回の場合、平均治療日数が3.8日、平均使用本数が3.8本で、2回の時は平均治療日数3.45日、平均使用本数が6.9本であった(表4)。1日1回注入は2回注入よりも治癒まで0.35日延長するが抗菌剤を3.1本少なくできることから、抗菌剤の使用削減の観点から、グラム陽性菌については現在の用法用量の規定通り、治療は1日1回注入を行うべきであることが示唆された。

表 4. グラム陽性菌乳房炎の治療日数と抗菌剤使用本数

グラム陽性菌		治療累積日数と症例数(平均使用本数)				
1日注入回数	使用薬剤	0～3日	0～6日	0～9日	0～21日	0～45日
1回	セフェム系	51(2.9)	73(3.8)	85(4.4)	99(5.7)	102(6.5)
2回	セフェム系	11(5.8)	14(6.9)			

※注射薬は併用していない

6日までの平均治療日数: 1回注入(3.8日)、2回注入(3.45日)

(2016年調査442症例のうちセフェム系抗菌剤使用116例)

2. 好気培養細菌発育陰性の場合の対応について

臨床型乳房炎乳を培地に塗布し好気培養を実施した場合、25～30%の検体について細菌の発育が陰性(NG)である。これらのおよそ半数は自然治癒する場合が多く、このような場合の治療の対応については考慮すべき点がある。

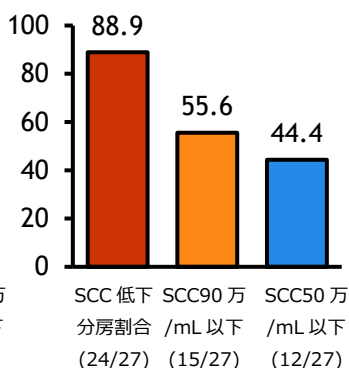
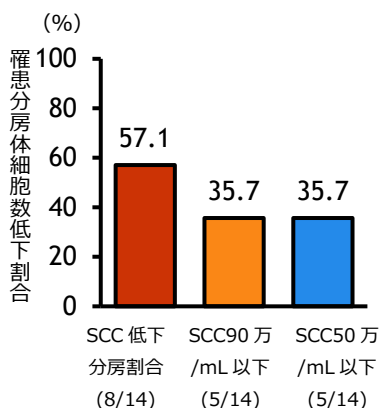


図 23. NG 乳房炎無治療 6 日後、罹患分房乳体細胞数低下割合
図 24. A 農場 NG 乳房炎発生無治療 21 日後、分房乳体細胞数低下割合

(logSCC/mL)

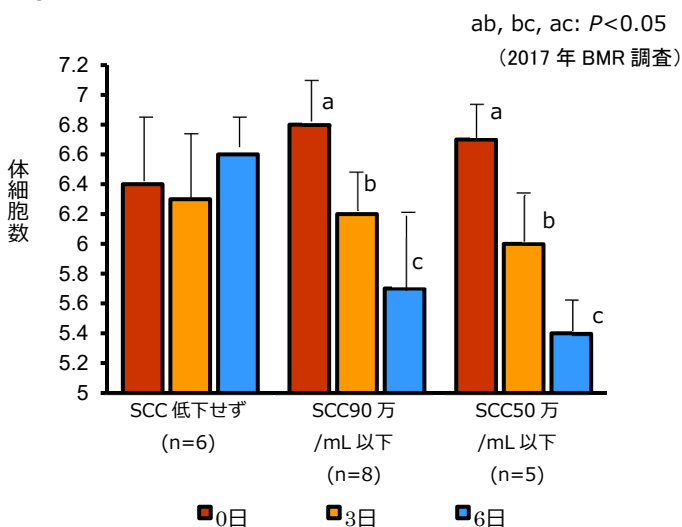


図 25. NG 乳房炎無治療における分房乳体細胞数の推移

乳房炎スコア 1 (異常乳のみ) の NG 乳房炎に抗菌剤を使用しない場合でも 6 日後で約半数 (図 23)、21 日後で約 8 割の分房で SCC の低下がみられた (図 24)。また 0、3、6 日の体細胞数は漸次減少した (図 25)。乳汁中のラクトフェリンおよび Lingual Antimicrobial Peptide (LAP) も同様の動態を示したことから、体細胞数が低下した分房では乳房内の免疫機構が良好に機能していると推察された。しかしながら、6 日では十分に体細胞数が低下していない分房も多く、乳

乳房スコア1の NG 乳房炎でも体細胞数が出荷許容なレベルまで低下するのには6日以上要すると思われた。また、中には体細胞数が低下しない分房も存在するため、3日後あるいは6日以後の体細胞数検査や細菌培養検査により乳房炎の状態をモニターし、体細胞数が低下しない症例に対しては、必要に応じて抗菌剤による治療を行う必要があると考えられた。しかし、NG 乳房炎の約半数は自然治癒することが多く、少なくともその場合は抗菌剤による治療は不要といえることから、抗菌剤使用の削減の試みが求められる。

3. グラム陽性・陰性細菌における薬剤感受性成績(MIC, MBC, MBEC)

2013～2016 年にかけて全国1道5県より収集した牛臨床型乳房炎乳汁 1349 分房から得られた 530 株を分子生物学的に同定した。各菌種に対する各種抗菌剤の MIC(最小発育阻止濃度)とディスク拡散法の阻止円直径のデータを利用し、一峰性の MIC 分布を示した場合はその最低分布ラインを、また二峰性の MIC 分布を示した場合には ROC 解析を行い、感度と特異度の和が最も高い阻止円直径のラインを求めた。加えて他の国内家畜疾病の原因菌に対するブレイクポイントを参考に牛乳房炎原因菌に対する各抗菌剤の臨床的ブレイクポイントを決定した(表2)。MIC の結果からは原因菌種により薬剤耐性傾向が相違することが明らかとなった。具体的には、グラム陽性菌(*S. aureus*)は PC や PLM の感受性が高く、CEZ に耐性傾向が見られた(表5)。またグラム陰性菌(*E. coli*)は薬剤耐性が顕著であり、フルオロキノロンのみ高い感受性を示していた(表6)。

MBC(最小殺菌濃度)と MBEC(最小バイオフィルム破壊濃度)については、MIC より高値を示した。バイオフィルム形成能は原因菌種により相違し、グラム陰性菌はグラム陽性菌よりバイオフィルム形成能が高い傾向にあり、多くの原因菌株では、 $MIC < MBC \leq MBEC$ の関係にあった。難治性乳房炎を引き起こす *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* は $MIC < MBC < MBEC$ の関係にあった。

これらの結果から、特にグラム陰性菌の治療についてはバイオフィルムを掲載する前の早期治療を念頭におき治療方法を検討する必要があると考えられた。

表 5. 乳房炎由来 *S. aureus* に対する抗菌薬の MIC, MBC, MBEC (μg/mL)

薬剤名	株数	MIC90	MBC90	MBEC90
PC	10	≤0.125	0.25	0.25
OTC	10	0.5	32	128
KM	10	1	8	8
CEZ	10	2	32	256
PLM	10	2	4	>256
ERFX	10	≤0.125	0.5	0.25
MBFX	10	0.25	4	1

表 6. 乳房炎由来 *E. coli* に対する抗菌薬の MIC, MBC, MBEC (μg/mL)

薬剤名	株数	MIC90	MBC90	MBEC90
OTC	10	128	256	>256
KM	10	4	4	4
CEZ	10	32	256	256
ERFX	10	≤0.125	4	16
MBFX	10	0.25	2	8

4. マイコプラズマにおける薬剤感受性成績(MIC, MBC)

乳汁より分離された *M. bovis* について各主要薬剤に対する MIC および MBC を評価した。

MIC: *M. bovis* の各薬剤に対する MIC を表7に示した。マクロライド系抗菌剤 (TMS および TS) や KM および OTC はいずれも多くの株で耐性化していることが示された。またフルオロキノロン系抗菌剤(CPFX, ERFX, MBFX)には、多くの株で感受性が確認されたものの、数株が 32-128μg/mL を示すなど、耐性株の存在も確認された。一方、PLM に対しても 0.125-2μg/mL で推移しており、高い感受性を有することが明らかとなった。

表 7. 乳房炎由来 *M. bovis* に対する抗菌薬の MIC ($\mu\text{g/mL}$)

	range	MIC50	MIC90
TMS	4 $\sim$ >128	>128	>128
TS	4 $\sim$ >128	32	64
PLM	0.125 $\sim$ 2	0.125	1
OTC	4 $\sim$ 32	16	16
KM	4 $\sim$ 128	16	32
CPFX	0.5 $\sim$ 32	1	4
ERFX	<0.125 $\sim$ 64	0.5	2
MBFX	<0.5 $\sim$ 128	0.5	4

MBC: *M. bovis* の各薬剤に対する MBC を表8に示した。TMS、TS、OTC および KM に対しては、多くの株で耐性化が認められた。また、フルオロキノロン系抗菌剤(CPFX, ERFX, MBFX)には多くの株で感受性が確認されたものの、数株が 128 および>128 $\mu\text{g/mL}$ を示すなど、乳房炎由来株においても耐性株の存在が確認された。PLM については、試験に供した薬剤の中で、最も高い感受性が確認された。

表 8. 乳房炎由来 *M. bovis* に対する抗菌薬の MBC ($\mu\text{g/mL}$)

	range	MBC50	MBC90
TMS	16 $\sim$ >128	>128	>128
TS	8 $\sim$ >128	64	>128
PLM	0.125 $\sim$ 4	0.5	2
OTC	16 $\sim$ 128	64	64
KM	16 $\sim$ >128	128	128
CPFX	1 $\sim$ >128	4	8
ERFX	0.5 $\sim$ 128	2	4
MBFX	1 $\sim$ >128	2	4

PC: ペニシリン、OTC: オキシテトラサイクリン、KM: カナマイシン、

GEZ: セファゾリン、PLM: ピルリマイシン、ERFX: エンロフロキサシン、

MBFX: マルボフロキサシン、TMS: チルミコシン、TS: タイロシン、

CPFX: シプロフロキサシン

本事業で検討したディスク法による薬剤感受性判定基準とその評価

野外データに基づく本事業で検討したディスク法の判定基準は表2に示した通りである。従来のディスク判定基準（CLSI 等）に基づいて治療した結果と今回検討したディスク法の判定基準に基づいて治療した結果を比較検証した。これらの結果から、グラム陽性菌による乳房炎については、今回検討した基準を利用して薬剤の選択を行った場合、従来と比較しペニシリン系の選択が適当と考えられるケースが増え、従来のセフェム系の抗菌薬を第一次選択薬として選択した場合に比較し、3, 6, 9日までの治癒率はいずれも今回検討した基準でペニシ

表 9. グラム陽性菌乳房炎における従来のディスク判定基準での治療と今回検討したディスク判定基準の治療成績の比較

第一次選択薬剤		0～3日	0～6日	0～9日	0～21日	0～45日
従来基準で治療 114分房 (2015)	ペニシリン系で治癒	0(0)	4(33.3)	7(58.3)	9(75.0)	12(100)
	セフェム系で治癒 (セフェム全体最終治癒率 89.5%)	51(50.0)	73(71.6)	85(83.3)	99(97.0)	102(100)
今回検討した 基準で治療 142分房 (2017)	ペニシリン系で治癒	49(74.2)	58(87.9)	61(92.4)	66(100)	
	セフェム系で治癒 (セフェム全体最終治癒率 89.9%)	26(34.2)	54(71.1)	59(77.6)	76(100)	

()内は4群の治癒した症例の各群母数に対する割合(%)、注射使用例は除く

表 10. グラム陰性菌乳房炎における従来のディスク判定基準での治療と今回検討したディスク判定基準の治療成績の比較

第一次選択薬剤		0～3日	0～6日	0～9日	0～21日	0～45日
従来基準で治療 46分房(2015)	セフェム系で治癒 (セフェム全体最終治癒率 71.7%)	16(48.5)	23(69.7)	24(72.7)	33(100)	
今回検討した 基準で治療 96分房(2017)	セフェム系で治癒 (セフェム全体最終治癒率 86.5%)	31(37.3)	56(67.5)	65(78.3)	77(92.8)	83(100)

()内は2群の治癒した症例の各群母数に対する割合(%)、注射使用例を含む

リン系を選択した場合の方が優れていることが明らかとなった。したがって、これまでのセフェム系への偏重使用は耐性菌を助長する観点から見直すべきであり、ペニシリン系の抗菌薬とバランスよく使用することが望まれる。また、グラム陰性菌による乳房炎については、よく使用されるセフェム系抗菌剤の従来基準と今回検討した基準の感受性に差がなかったため同様の治療成績となった。

牛乳房炎の病態・診断・治療・予防（グラム陽性・陰性細菌）

1. *Staphylococcus aureus* (SA)による乳房炎

SAは、乳房炎の原因菌の中で難治性の乳房炎を引き起こすことがよく知られている。また、感染乳汁から搾乳者の手、ミルカーを介して他の牛に伝播することから伝染性の原因菌に分類される。感染牛が牛群内に増えると治療しても乳房炎を繰り返す牛が増え、バルク乳の体細胞数も徐々に上昇する。SAは乳頭の荒れや乳頭口の損傷などで増殖し、乳房の中へ侵入する。SAによる急性乳房炎の発生率は臨床型乳房炎全体の10%前後である。またSA感染牛の多くは潜在性または慢性乳房炎として牛群内に存在している。感染が進行すると乳腺に微細膿瘍を形成し、治療に反応しにくい状態となる。またSAは、スライムを産生して乳腺細胞への付着性が増すことで乳房深部に浸潤し[11]マクロファージ等の貪食細胞に取り込まれても長期間生き続けることが知られている[12]。稀に急性壊疽性乳房炎を引き起こし、乳房は冷感を呈し、ポートワイン様の乳汁を排出する。このような場合、乳房は壊死し脱落する。

(1) 微生物学的診断

血液寒天培地上にて37℃、24時間好気培養すると中型の乳白色から乳黄色のコロニーとして発育するカタラーゼ陽性のグラム陽性球菌である(図5)。完全溶血、不完全溶血、または完全と不完全の二重溶血を示して不完全溶血帯を持つものは、SAと診断される。完全溶血のみのものはコアグラゼ試験を行い、陽性(ウサギプラズマが凝固)を確認した場合にSAと同定する。

(2) 治療および予防

SAに感染した牛は、まず隔離をし、最後に別搾乳することで他の牛への感染を防ぐことが重要である。泌乳期における臨床型乳房炎は、治療を行っても再

発を繰り返すため効果的な治療は望めない。しかし、感染牛を早期に摘発し潜在性乳房炎のうちに治療するか、症状がある場合でも乾乳時に治療することで治癒率を高めることが報告されている。泌乳期における潜在性乳房炎の治療は、3日間の有効抗菌剤の乳房内注入と全身投与の併用が有効であることが報告されている[13]。ただし泌乳期の治療は、乳房にしこりが無い、乳汁に凝塊が無い、前産からの SA 感染歴が無い、乳頭に傷が無いという感染初期の潜在性乳房炎に限定される。乾乳時の治療も同様に3日間の有効抗菌剤の乳房内注入と全身投与を行い4日目に乾乳期用乳房注入剤(乾乳軟膏)を注入して急速乾乳し、全身投与薬は組織浸透性の高いタイロシン(10mg/kg/日)などが推奨されることが報告されている[14]。その理由は、タイロシンの持つ pH トラップの原理による。タイロシンは弱塩基性で分子量が大きく脂溶性に富み、酸解離定数が 7.7 といわれている。pH7.4 の血液中では分子型が多く乳腺組織への拡散が容易であるが、それより pH が低い乳腺ではイオン型が多くなるため、分子量の大きなタイロシンは血中への再移行が非常に遅くなり、結果として乳腺への滞留が起こるといわれている。SA 感染牛は間欠的な排菌により感染が把握しにくいいため、治癒判定は、泌乳期潜在性乳房炎の治療は治療後 1 週間おきに、乾乳時治療は分娩後1週間おきに3~4回の培養検査を行い、すべて SA 陰性の場合にのみ治癒と判定する。

SA 感染を低レベルにコントロールするには、月1回のバルク乳の培養検査を行い、日頃から感染牛の把握に努めることが重要である。感染牛の対処には、感染分房の数や、初産牛か経産牛か、臨床型か潜在性か、初期感染か慢性感染かなど、個体の価値をよく見極め、泌乳期治療、乾乳期治療、盲乳、淘汰のどれを選択するかを判断することが必要である。SA に対するワクチンは、大腸菌と SA に対する2価のワクチンが販売されている(ワクチンの項参照)。

2. 環境性ブドウ球菌(CNS)による乳房炎

環境性ブドウ球菌による乳房炎は、SA 以外のコアグラウゼ陰性ブドウ球菌(CNS)によって引き起こされる。環境性ブドウ球菌には *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus hycus*, *Staphylococcus haemolyticus*,などが含まれる。主に体表や乳頭の皮膚に生息する。急性乳房炎を引き起こすが、激的な症状を呈することは少ない。夏季に多く

発生し、日和見である。未経産乳房炎の主要な原因菌でもあり、未経産牛の分娩後の乳生産量低下の原因ともなっている。

(1) 微生物学的診断

乳汁を血液寒天培地に塗布し、37℃、24 時間好気培養すると中型の乳白色から黄色のコロニーとして発育するカタラーゼ陽性のグラム陽性球菌である(図6)。完全溶血を示すものは SA との鑑別にコアグララーゼ試験が必要である。

(2) 治療および予防

乳頭の皮膚に生息するため、搾乳衛生の良くない牛群では保菌割合も高く、バルク乳の細菌培養検査で高い数値を示す。CNS による急性乳房炎の発生率は臨床型乳房炎全体の 10%前後である。抗菌薬には比較的感受性があり、治療にもよく反応するため慢性化への移行は少ない。

3. 環境性連鎖球菌(OS)による乳房炎

環境性連鎖球菌による急性乳房炎の発生率は、臨床型乳房炎全体の 25%以上を占め、最も多い原因菌である[15]。

環境性連鎖球菌とは、*Streptococcus agalactiae* (伝染性細菌)以外の連鎖球菌属のことをいい、*Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* (図7), *Streptococcus equinus*, *Streptococcus bovis*, 広義には、*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* なども含まれる。多くは乳房の腫脹・硬結、乳汁性状は凝塊を含む乳白色を呈し局所症状に限局するが、時には、水様乳を呈し発熱等の全身症状を伴う急性乳房炎を引き起こす。水様乳を呈した時は、大腸菌性乳房炎との鑑別が必要となるが、臨床的に食欲不振、皮温低下や下痢などの症状がないことで容易に鑑別できる。

(1) 微生物学的診断

カタラーゼ陰性のグラム陽性球菌であり、血液寒天培地上で灰色～透明の小コロニーを形成する(図7)。*Streptococcus dysgalactiae* は環境性の原因菌でありながら伝染性の要素も持ち、特に乳頭皮膚の荒れとの関係が深い。*Streptococcus uberis* は特に麦わらを敷料として利用している環境で多発するといわれている。発生率に季節変動はなく、分娩後の発生割合は、乾乳期における新規感染率に影響されるところが大きい。*Streptococcus* と *Enterococcus* との鑑別は、SF 試験により鑑別する。

(2) 治療および予防

薬剤感受性試験に基づく有効抗菌剤にて局所治療を行う。通常1クール3日間の乳房内注入により治療を行うが、難治性といわれる *Streptococcus uberis* に対する治癒率を上げるためには長期にわたる十分な治療が必要となる[16]。

Enterococcus は薬剤耐性傾向が強く、有効剤が PC や PLM のみとなる場合が多い。

日頃より環境衛生、搾乳衛生に留意することが重要である。特に乾乳期における新規感染が多いとされているので、乾乳軟膏の使用および乾乳期の衛生管理に重点をおくことが重要である。感染頻度の高い乾乳後2週間と分娩予定前2週間の乳頭シールド剤の応用は有効であることが報告されている[17]。

4. 大腸菌群(CO)による乳房炎

大腸菌群による乳房炎の発生は、牛を取り巻く環境衛生、気候、温度、牛床の敷料の種類・交換頻度などの環境要因と関係が深く、気温が上昇し環境が粗悪になりがちな夏から秋にかけて発生率が上昇する。分娩や高泌乳生産、夏の暑熱のストレスなどにより、牛の抗病性が低下すると易感染性となることが報告されており、またこれらのグラム陰性菌は、グラム陽性菌と比較して増殖スピードが速いため、時には重篤な症状を引き起こす。通常の急性症状で経過して回復するものと、内毒素であるエンドトキシンによりショック症状を引き起こして甚急性に症状が進行し、治療が遅れると死に至るものがある。大腸菌による臨床型乳房炎のおよそ1割が甚急性乳房炎となることが知られている[18]。

(1) 微生物学的診断

ブドウ糖発酵のグラム陰性桿菌である *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens* などの腸内細菌科の細菌が含まれる。*Escherichia coli* は灰色不整形の大きなコロニーを作り、特有の臭気を放つ(図 11)。*Klebsiella pneumoniae* は乳白色スムーズの光沢のある大きなコロニーを作る(図 12)。*Proteus mirabilis* は灰色不整形でスウォーミング(培地上でリング状に広がる状態)を認め、特有の臭気を放つ(図 13)。*Serratia marcescens* は一般的に赤色のコロニーを示すことが多い(図 14)。どれもコロニー形態に特徴があるので目視鑑別が可能である。

1) 急性乳房炎

通常、感染が起きると発熱などの全身症状を伴い、乳房の熱感、腫脹、硬結などの局所症状を示す。乳汁は多くの凝塊を含む水様、希薄な乳白色や黄白色を呈し、乳量は著しく減少する。早期に治療すると2～3日のうちに症状が回復し乳生産も回復するが、治療が遅れ乳腺組織の損傷が著しい場合は泌乳停止に陥る。しかし、乾乳期を経て次乳期に泌乳を回復する場合も見られる。

2) 甚急性乳房炎

初期は乳房の熱感、腫脹、硬結と体温の上昇、飲食廃絶、心拍数の増加、水瀉性下痢を呈す。時間が経過するにつれ、エンドトキシンにより眼結膜の充血、外陰部粘膜の充血などの DIC(播種性血管内凝固)症状を引き起こす[19, 20]。脱水、耳介の冷感、体温・皮温の低下を認め、起立不能、斃死に至ることがある。時には乳房および乳頭に冷感、乳房に紫斑を呈し、時間の経過とともに罹患乳房のみが壊死脱落するものもある。このようなタイプを壊疽性乳房炎という。

(3) 治療および予防

1) 抗菌薬の特徴と慎重使用

急性乳房炎で全身症状を伴うものについては、有効抗菌剤の局所および全身投与並びに補液による対症療法を行う。大腸菌に代表するグラム陰性桿菌は、グラム陽性球菌に比べ増殖スピードが速いため、早期発見、早期治療が治癒転帰を左右するといわれている。特に補助療法としての冷却した生理食塩液2Lでの乳房洗浄は乳房内の生菌数を減らすために有効であり、合わせて初期の副腎皮質ホルモンの投与も重要である。大腸菌群による乳房炎の治療に抗菌剤を使用するか否かについては、未だ議論があるところではあるが、これまでのいくつかの報告[21, 22, 23]を総合して考えると、基本的な抗菌剤の使用法は、耐性菌出現を防止するためにも、早期に感受性のある十分な濃度の殺菌性抗菌薬を使用することが肝要であり、このような治療法は、大腸菌群による乳房炎のような病態の変化が早い乳房炎の治療に考慮される。その中でフルオロキノロンについては、耐性菌出現抑止の観点より、農場での治療履歴等から原因菌の感受性が判断し得る場合など、やむを得ない場合を除き、第一次選択薬が無効の症例にのみ二次選択薬として限定的に使用すべきである。フルオロキノロンは、作用機序がβ-ラクタム系と違いDNA合成阻害に働くため、エンドトキシンの放出が軽微であること、また*E. coli*と*Klebsiella* spp.に対するMICが $<0.125\mu\text{g/mL}$ と

他の薬剤に比較し極めて低く、規定用量を静脈注射することにより、乳汁中の濃度が極短時間で、耐性菌の増殖を阻止する濃度MPC(耐性菌出現阻止濃度)以上に達することなどから、このような病態進行の早い大腸菌性乳房炎に限ってのみ、初期での投与が効果的である[24, 25]。フルオロキノロン剤は食品安全委員会のリスク評価に基づいて、第一次選択薬が無効な症例にのみ第二次選択薬として使用すること等のリスク管理措置が適用されている。本症におけるフルオロキノロン剤の第二次選択薬としての効果については、他の抗菌薬に比較し全身症状の回復が早く、牛群生存率もフルオロキノロン以外の第一次選択薬が有効であった場合に、より近いことが報告[26]されている(図26)。

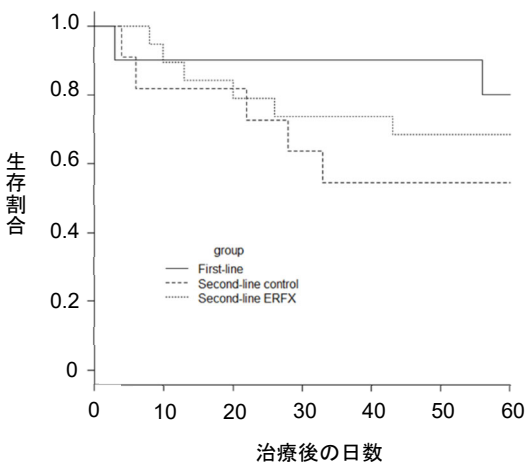


図26. 初回治療に用いた第一次選択（First-line）抗菌剤が有効であった場合と、無効であった場合に第二次選択薬（Second-line）としてエンロフロキサシン（ERFX）またはその他の抗菌剤（control）を選択した場合の生存曲線

(Shinozuka, Kawai et al., ASJ, 2018)

平成27年の家畜共済統計によると、一年間の乳房炎による死廃頭数は、10,388件で、乳牛の死廃件数の11.6%にあたる。その内の77%、7,999頭(全死廃件数の8.9%)が大腸菌群による死廃畜であり、このような症例にはフルオロキノロンの効果的な使用を検討する必要がある(図27)。

乳房炎死廃数11.6%の更に77%で年間7,999頭(8.9%)

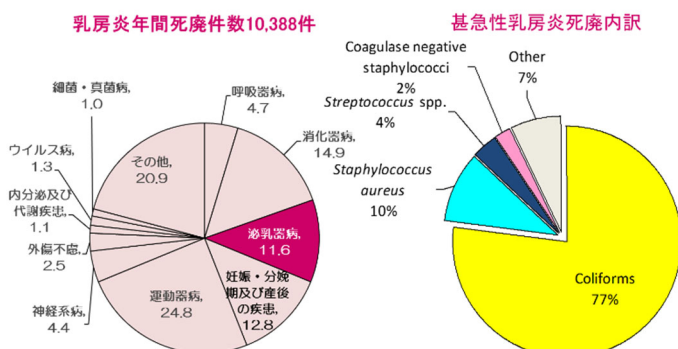


図27. 重篤なColiform乳房炎の発生割合

このようにフルオロキノロンの早期使用の効果が報告されている中で、使用するには、限定された範囲の中で注意深く使用し乱用に繋がらないようにする必要がある。やむを得ず使用する場合には①発病直後の早い時期に投与するために必ず早期の細菌検査による同定を実施し、限定した範囲で使用する、②使用については用法用量に従うこと、③投与は1回／日、2日間までにすることなどの条件を遵守することが必要である。一方、治療が遅れた症例については、対症療法を中心に治療を組み立て、βラクタム系抗菌剤の作用点が細胞壁合成阻害であるためLPS放出を促すことを考慮し、βラクタム系以外の抗菌薬を選択すべきである。

2) 予防

早期発見の観点から、牛の状態をよく観察することが重要である。急性乳房炎で、①水様乳、②耳介冷感、③皮温低下、④水様下痢、⑤後軀蹣跚、⑥起立難渋、⑦食欲廃絶などを呈したときは、すぐに治療の対象とすべきである。特に早期発見、早期連絡を担う農家への啓蒙は重要である。

大腸菌性乳房炎を防ぐには、牛を取り巻く環境を清潔に乾燥した状態に保つことと、ストレスを回避し、適正な飼養管理により牛の健康を維持することで抗病性の低下を防ぐことが重要である。つまり、①運動場、牛床の汚れを解消する、②換気を良くし暑熱ストレスを回避する、③完熟した戻し堆肥を利用する、④

乾乳期の乳頭シールドを使用する、⑤乳房炎ワクチンを投与するなどが重要である。

5. 酵母(Yeast)による乳房炎

酵母 (Yeast)は牛の免疫能の低下や、不衛生な状態での薬剤の注入などが原因で乳房内に感染することにより引き起こされる。また、抗菌剤の連用による一種の菌交代現象によって乳房内で真菌の発育しやすい環境を作り、それが誘因になることもある。わが国では *Candida tropicalis* を主としたカンジダ (Candida) 属や *Pichia kudriavzevii* の感染が多い[27]。酵母による乳房炎の発生割合は臨床型乳房炎全体の1～2%程度である。乳房の硬結、腫脹が著しく、乳汁中には凝塊が多く含まれる。稀に高熱が持続することがあるが、その割には食欲が低下しないのが特徴である。

(1)微生物学的診断

血液寒天培地上に乳白色の光沢のない小コロニーを形成する(図 17)。鏡検にてグラム陽性、米粒様の大きな菌体を認め容易に診断できる。採材直後でも乳汁中の凝塊を直接塗抹しグラム染色することで菌体が確認され診断できる場合がある。

(2)治療および予防

細菌を対象とする一般的な抗菌剤では効果がないため、早期診断と治療方針の変更が必要である。診断されたら速やかに抗菌剤の投与を中止し、頻回搾乳を指示する。頻回搾乳だけでも約半数の治癒率が得られる(検討委員の経験による)。酵母様真菌が多く存在するのは敷料やサイレージ飼料である。日頃からカビた敷料などは使用せず、衛生管理に注意することが大切である。

6. 臨床型乳房炎治療の実際的な考え方

今回の調査より、臨床型乳房炎の治療における抗菌剤の慎重使用を行うための実際的なフローチャートを図 28 に示した。抗菌剤の慎重使用を行うには、まず原因菌の正確な同定が必須であり、同定菌種の薬剤感受性を基に使用薬剤を選択することが重要である。また、過剰な抗菌剤の使用は控えることが重要であることから、科学的に証明された最も有効な治療法により治療することが

望まれる。このフローチャートは、Roberson JR, 2003[28]の文献に基づき、日本の実情に合うように改変したものである。全ての症例がこのチャートにあてはまるものではないが、この客観的な臨床スコアリングによって治療方針を考えていく試みは現在世界的にも浸透してきている。

のフローチャートでは、スコア1, 2の場合、第1病日は翌日の細菌培養検査の結果が出るまで治療をしないこととなっている。この1日様子見ることに對するリスクは、その後の短期的または長期的な乳房炎の治癒率等に影響を与えないことが報告されている[29, 30]。

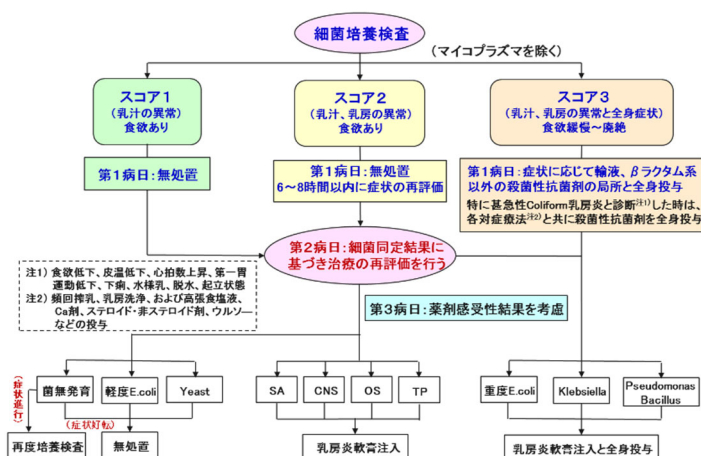


図 28. 臨床型乳房炎治療のフローチャート
(Roberson JR, 2003 を改変)

牛乳房炎の病態・診断・治療・予防（マイコプラズマ）

本病の主たる臨床症状は泌乳量の急激な低下であり、病勢の進行にともない泌乳停止にいたる個体も認められる。このような個体では乳は水様となり、凝固物(ブツ)を多く含む。全身症状として軽度の発熱が認められる他、乳房の近傍においてリンパ節の腫脹が認められる。一方、感染ステージや株の病原性、さらに個体の抵抗性などに関連して、明確な症状を全く示さない症例も多く認められている[31]。M. bovis の乳房内接種による実験感染では、M. bovis は注入後速

やかに乳房内で急激な増殖を示すが、乳中体細胞数の増加は他の乳房炎原因菌による乳腺感染と異なり 24～72 時間を要する。この間、前搾り乳の性状も含め、感染を示唆する明瞭な臨床的所見はほとんど認められない[32]。このような不顕性感染牛は摘発から逃れ治療開始適期を逸すために、潜在的な感染源となる。そのため、農場内での本疾病の集団発生を引き起こすことがあり、本病の制圧をより困難なものにさせる。本病の摘発において、個体の観察による発症牛の摘発に加え、バルクスクリーニングや分娩後検査などの定期検査が重要とされているのはそのためである[33, 34]。

(1) 微生物学的診断

前述の病態(臨床症状)が臨床的診断の指標として用いられる。ただし、臨床所見からの確定診断は困難であり、最終的に微生物学的な診断が実施される。本病を疑う場合は当該牛の乳汁を速やかに検査機関に送付し、*Mycoplasma* 属菌の有無およびその菌種を調べるのが重要である。(同定法の詳細については P17, 2. マイコプラズマの同定法を参照)

(2) 治療

国内において牛マイコプラズマ乳房炎の主要な原因菌種である *M. bovis* の薬剤感受性を調べた研究ではフルオロキノロン系、フロルフェニコール系およびリソマイシン系抗菌剤に高い感受性を有することが示されている[32]。*M. bovis* は第一次選択薬に耐性を示す株が多く出現しているが[32]、本来、二次選択薬であるフルオロキノロン系抗菌剤は、農場での治療歴等から原因菌の感受性が判断しうる場合など、やむをえない場合を除き、第一次選択薬が無効の症例のみに第二次選択薬として限定的に使用すべきである。乳房の外貌所見および体細胞数において効果が認められた場合は、2クールまで治療を実施する。初診時に体細胞数が 30～50 万/mL 以上を示し、さらに乳房の腫脹や硬結、乳量の減少等が認められる場合は、分離株が治療薬に対して感受性であっても十分な治癒に至らない場合もある。治療を適用するか否かについては臨床獣医師の総合的な判断が必要となる。これら臨床的判断に加え、乳量、産歴および他の疾患等も淘汰の対象としての判断材料とする場合が多い。

フルオロキノロン系抗菌剤は、子牛のマイコプラズマ感染症にも広く用いられている薬剤であるが、乳房炎乳から分離された株については事前に薬剤感受性試験を実施してその有効性を評価し、第一次選択薬が無効の場合に第二次選

択薬として使用すべきである。また、フルオロキノロン系抗菌剤に十分な感受性が認められない場合は淘汰を検討する必要もある。欧州ではマクロライド系抗菌剤も一定の治療効果を発現するものとして広く用いられている。米国では、日本でマイコプラズマ乳房炎の治療薬として用いられているフルオロキノロン系抗菌剤がマイコプラズマ性乳房炎の治療薬として承認されていないことや、米国内のデータにおいてマイコプラズマ性乳房炎は再発リスクが高いとの理由で、治療は基本的に実施されず淘汰対象となる事例が多い。

治療時における罹患牛管理の最大のポイントは「完全隔離」である。マイコプラズマ乳房炎に罹患した個体では、乳汁からの排菌量は 10^9 cfu/mL にもおよぶ。一方、感染に必要な菌数は 70cfu 程度とされ、わずかな乳汁が感染源となることが示されている。そのため、治療牛は正常牛群から完全に隔離し、特に水槽および飼槽の共用は絶対に避けなければならない。さらに、排菌汚染のリスクを低減させるため、敷料に石灰を添加するなどの対応も必要である。また、他の乳房炎や蹄病罹患を治療のための群構成である「ホスピタル群」で感染牛を管理した場合、搾乳器具や搾乳者の手指、さらに漏乳によって汚染された敷料を介し、他の牛に対して容易に感染する。感染初期において明確な臨床症状を示さない個体も多いため、それらが搾乳牛群に戻ることににより感染源となる事例は多く報告されている。

治療直後は月に数回程度の検査を実施し、その後は月1回の検査を半年から1年程度、モニターする。菌の検出が認められなくなり、かつ、獣医師が明確な臨床症状の消失を確認した場合、一般牛群に戻すことも可能であるが、可能な範囲において、搾乳順番を最後にし、継続的な乳汁検査を実施するなどの防疫措置を継続することが望ましい。また、感染農場では、再発のリスクに備え継続的な牛群の監視も重要である。

(3) 予防

マイコプラズマ性乳房炎の予防では牛群内での感染拡大阻止を目的として定期検査と随時検査を同時に運用することが推奨される。定期検査はバルクタンクスクリーニングと感染歴のある個体の検査であり、随時検査は分娩後検査及びマイコプラズマに特徴的な臨床症状を呈する個体に対する個別の検査を指す。

その概要は以下の通りである。

定期検査:

①バルクタンクスクリーニング検査(図 29 参照)

定期検査の主軸をなすのはバルクタンクスクリーニング(BTS)である [31, 32]。BTS は概ね1バルクあたり 200 頭から 300 頭に1頭の罹患牛を摘発する感度を有する検査法である(感染初期で排菌量が少ない場合は検出できない場合もある)。バルク乳を採取し PCR によって *Mycoplasma* spp.の検出を行い、陽性であった場合は速やかに菌種の同定を実施する。菌種同定の結果、*M. bovis*, *M. californicum*, *M. bovis genitalium*, *M. canadense* が検出された場合は直ちに全頭検査を実施し感染個体の特定と隔離を実施する(図 30)。一般的に1農場あたり年4回～6回程度実施するが、牛群規模によって回数は適宜調整する(150 頭程度の牛群では月1回の検査が望ましい)。バルクタンクスクリーニングの結果、病原性が高いマイコプラズマが検出された場合、これらすべての情報は、畜主、獣医師や JA 等関係機関と速やかに共有しながら全頭(個体)検査を実施する。個体検査は全頭を1度に実施することが望ましく、作業性を優先して飼育牛を複数回に分けて検査することは好ましくない。検査結果が判明するまでの期間は、さらなる感染の拡大を防止するため、1頭毎のユニット消毒が推奨される。乳汁採取時に雑菌等の污染があった場合、培地中でマイコプラズマの増殖が著しく阻害されるため、留意する。マイコプラズマ培地には一般細菌の発育阻止を目的として抗菌剤を含有しているが、真菌や一部の細菌に対しては、その発育を十分抑制しない。

②感染歴のある個体の検査

マイコプラズマ乳房炎の感染歴がある個体は、治療によって排菌が止まり、乳房の一般状態が正常に戻ったのちも、再発のリスクを回避するため、一定期間(数ヶ月～1年間程度)は定期的なモニタリングが必要である。

随時検査:

①分娩後検査

分娩後検査は全外部導入牛と初産の自家産牛で実施する。過去に発生歴がなく、乳房炎の問題がない場合は、経産牛についてこれらを実施する必要性は低い。方法として、分娩翌日の乳汁を採取しマイコプラズマの遺伝子検査を実施する。さらに菌種まで同定し、その結果に基づいて詳細な対応を協議することが

望ましい。検査結果が確定するまでは、他の搾乳牛とは分けて管理することが望ましい。

②マイコプラズマに特徴的な臨床症状を呈する個体に対する個別の検査

前述の臨床症状を示す個体については、速やかに検査を実施することが重要である。

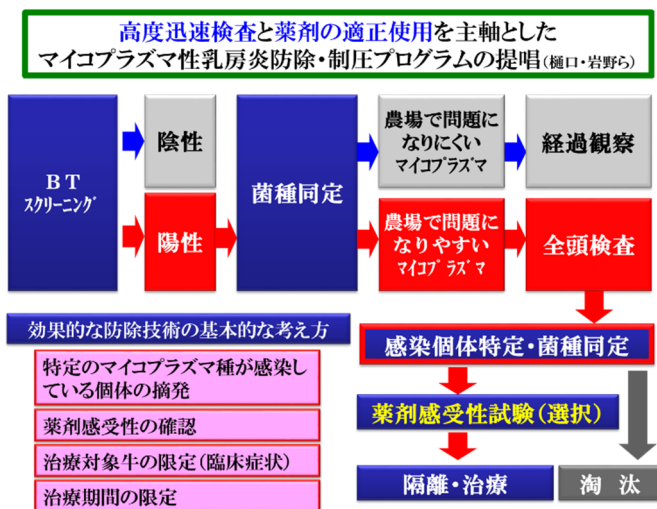


図 29. バルクタンクスクリーニングとその後の対応 (樋口原図)

農場で問題になりやすい菌種

- *M. bovis*
- *M. californicum*
- *M. bovigenitalium*
- *M. canadense*

*Mycoplasma*属陽性
バルクタンクからの分離率
80～90%

農場で問題になりにくい菌種

- *M. alkalescense*
- *M. arginini*
- *M. dispar*
- *M. bovirhinis*

*Mycoplasma*属陽性
バルクタンクからの分離率
10～20%

図 30. 農場で問題となるマイコプラズマ種 (樋口原図)

牛乳房炎の予防（環境衛生、ワクチン等）

乳房炎の予防は、乳房炎を引き起こす原因となる微生物をできるだけ環境から排除し、牛体、特に乳器を乾燥させて清潔に保つことが基本となる[35]。その他、牛へのストレスを環境から低減させる、栄養を充足させて牛の健康を保つ、正しい搾乳器の整備と搾乳作業を習慣づけるなども乳房炎を予防する上で重要な対策となる[36]。ただし、これらを単独で実施してもその予防効果は限定的になり易いことから、考えられる対策を総合的に実施することで相乗的に高い予防効果が得られることを理解することが重要である。

この章では、加えて乳房炎予防対策の一つとして有用である乳房炎ワクチンの使用を取り上げ、ワクチンによる予防あるいは重篤化の阻止の機序、現在ある乳房炎ワクチンの使用事例を紹介する。担当する牧場の乳房炎予防対策の一つとしてワクチンの使用を検討する際の参考にしてほしい。

1. ワクチンによる予防あるいは重篤化の阻止の機序

疾病予防のワクチンには、大きく分けて不活化ワクチンと生ワクチンの2種がある。不活化ワクチンは、感染微生物の構成成分やその一部あるいはそれらが産生する毒素(トキシン)の毒性をなくしたトキソイドをワクチン抗原とし、それらを持つ病原体を中和する抗体を産生する免疫(液性免疫)が誘導できるのが特徴である。不活化ワクチンを接種した場合、実際にその抗原を持った細菌が感染してきた時にその中和抗体が微生物あるいは毒素を中和して感染を阻止する機序を持つ。一方、生ワクチンはその病気の原因となる病原体の病原性を弱めた弱毒化病原体をワクチン抗原とするものであり、ワクチン接種により自然にその病気にかかった状態と同じような免疫(細胞性免疫)が誘導できるのが特徴である。生ワクチンを接種した場合、特に細胞内で増えるウイルスの感染では、細胞内にウイルスを中和する抗体が入れないことから、感染した細胞自体を除去する作用やインターフェロンなどの抗ウイルス作用のあるサイトカインを産生す

る細胞性免疫を誘導する生ワクチンが有効となる。細菌の感染であってもウイルスのように細胞内で増殖する菌種では、細胞性免疫が誘導される生ワクチンが有効となる場合もある[37]。

またワクチンには、接種や投与する経路、すなわち皮下や筋肉内へ接種する注射型ワクチンと、粘膜面に投与する粘膜型ワクチンとがある。注射型ワクチンでは主に血中に抗原特異的な IgG 抗体を産生する全身免疫系の免疫反応が誘導されやすく、粘膜型ワクチンでは血中の抗原特異的な IgG 抗体の産生に加えて粘膜面に抗原特異的な IgA 抗体を産生する粘膜免疫系の免疫反応が誘導されやすい。感染症によってどちらの免疫系を誘導するのがワクチンとして有効であるかは病原体が感染する場所や組織内で生息する部位などによって異なる。

2. 世界および日本の乳房炎ワクチンの使用状況

これまでに世界で開発された乳房炎ワクチンの多くは、乳房炎の主な原因菌となっているブドウ球菌や大腸菌などの細菌(死菌抗原)や菌体構成成分の一部をワクチン抗原とした注射型の不活化のワクチンである。世界では乳房炎の予防対策の一つとして、牛群の感染状況に応じてこれらのワクチンを選択して投与している地域もある。日本では、国内で開発された乳房炎ワクチンはないが、世界で開発された乳房炎ワクチンのうちの1剤が承認されている。平成 28 年に使用できるようになり(黄色ブドウ球菌、大腸菌群及びコアグラゼ陰性ブドウ球菌(CNS)による臨床型乳房炎が対象)、臨床現場での使用における効果が報告されている[38]。

3. 日本における乳房炎ワクチンの臨床試験の実例

国内の妊娠牛を用いて日本で行ったワクチンの臨床試験の例では、安全性と有効性の検証が行われている。安全性の評価では、ワクチン接種群とワクチン非接種群(対照群)との間に差は認められておらず、使用による異常は認められ

ていない。有効性については、①ワクチン接種による抗体価の推移、②臨床型乳房炎の発生数(率)、③乳房炎罹患時の臨床症状と乳汁異常のスコア、④治癒率と死廃率が検証されている[39]。

①ワクチン接種による抗体価の推移は、ワクチネーション後有効性を示す有効抗体価が維持されることが確認されている。②臨床型乳房炎の発生数(率)は、ワクチン接種群と対照群間に有意な差は認められないが、臨床型乳房炎発症牛における罹患分房数(率)では、ワクチン接種群において罹患分房数(率)が有意に少ないことが示されている(表 11)。

表 11. 黄色ブドウ球菌、大腸菌群及び CNS による臨床型乳房炎
発症牛における罹患分房数(率)

	ワクチン群 (13頭／52分房)	対照群 (11頭／44分房)
罹患分房数(率)	23(44.2%)*	30(68.2%)

*: 群間で有意差あり($p<0.05$)

③乳房炎罹患時の臨床症状と乳汁異常のスコアでは、ワクチン接種群において臨床症状および乳汁性状ともに低いスコアであり、乳房炎に罹患してもより健全に近い病状にあることが示された。④治癒率と死廃率ではワクチン接種群での治癒率が高い傾向が認められ、臨床型乳房炎を発症して死亡・廃用となった割合(死廃率)も、ワクチン接種群での死廃率が 0%であったが、対照群では重篤な症状で死亡・廃用となった症例もあったことが示された(表 12)。

表 12. 黄色ブドウ球菌、大腸菌群及び CNS による臨床型乳房炎
発症牛における治癒及び死廃頭数(率)

	ワクチン群(n=13)	対照群(n=11)
自然治癒頭数	3(23.1%)	0(0.0%)
最終治癒頭数 (自然治癒頭数含む)	12 ¹⁾ (92.3%)	8(72.7%)
死亡・廃用頭数	0(0.0%)	3(27.3%)

1): 1 頭は試験期間中には完治せず

4. 日本における乳房炎ワクチンの野外使用の実例

野外使用の1事例について紹介する。ある農場ではここ数年クレブシエラ乳房炎が問題であり、平成 28 年 10 月からワクチンの接種を開始した。細菌同定を実施した乳房炎のうち、乳房炎ワクチン対象疾病割合は平成 25 年が 73.3%、平成 26 年が 77.3%、平成 27 年が 80.0%、平成 28 年が 72.7%、平成 29 年は 45.5%であり、ワクチン接種により乳房炎発生率が減少したことが示されている(図 31)。

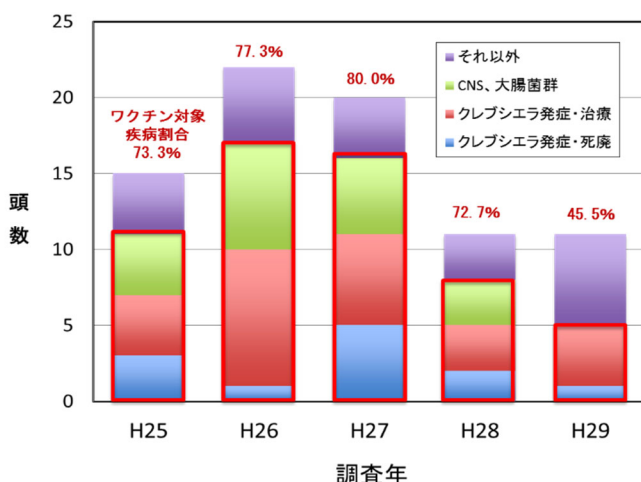


図 31. 乳房炎の細菌同定検査結果とワクチン対象疾病割合

乳房炎の予防は、さまざまな角度からおさえるべき対策が多々ある。ワクチンの使用は個々の農場の牛群の状況を鑑みて判断をするべきであるが、適正にワクチンを使用することで一定の乳房炎防除効果が得られている臨床現場での実例も示されはじめている。日本でも乳房炎ワクチンの使用が始まり、今後はワクチンの使用も乳房炎予防対策の一つになるものと考えられる。

参考文献

- 1) 加藤敏英、山本高根、小形芳美、漆山芳郎、萩野祥樹、斎藤博水、
薬剤感受性に基づいた牛呼吸器感染症治療プログラムの臨床効果.
2008. 日本獣医師会雑誌. 6: 294-298.
- 2) Brauner, A., Fridman, O., Gefen, O. and Balaban, N.Q. 2016.
Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to
antibiotic treatment. Nat. Rev. Microbiol. 14: 320-30.
- 3) Lebeaux, D., Ghigo, J. M. and Beloin, C. 2014. Biofilm-related infections:
Bridging the gap between clinical management and fundamental
aspects of recalcitrance toward antibiotics. Microbiol. Mol. Biol. Rev.
78, 510-543.
- 4) Savage, V.J., Chopra, I. and O'Neill, A.J. 2013. *Staphylococcus aureus*
biofilm promote horizontal transfer of antibiotic resistance.
Antimicrob. Agents Chemother. 57, 1968-1970.
- 5) Adkins, P.R., Fox, L.K., Godden, S., Jayarao, B.M., Keefe, G., Kelton, D.,
Lago, A., Middleton, J.R., Owens, W., Petersson-Wolfe, CS, Pighetti, G.,
Quesnell, R., Royster, E., Ruegg, P., Smith, K.L., Timmerman, J. 2017.
Laboratory Handbook on Bovine Mastitis, 3rd ed. National Mastitis
Council Inc., New Prague, MN, USA.
- 6) 岡田珠子、角 真次、河合一洋、岡田啓司、 2009. 牛乳房炎乳
汁の保存温度および転倒混和による細菌数の変動と塗布器材
の検証, 日本家畜臨床学雑誌, 35: 109-114.
- 7) Higuchi, H., Iwano, H., Kawai, K., Gondaira, T., Nagahata, H. 2011.
Prevalence of *Mycoplasma* species in bulk tank milk in Japan. *Vet.*
Rec. 169:442.
- 8) Higuchi, H., Iwano, H., Kawai, K., Ohta, T., Obayashi, T., Hirose, K, Ito, N.,
Yokota, H., Tamura, Y., Nagahata, H. 2011. A simplified PCR assay for
fast and easy screening of *Mycoplasma* mastitis of dairy cattle. *J.*
Vet. Sci. 12: 191-193.

- 9) Kirk, J. H., Glenn, K., Ruiz, L. and Smith 1997. Epidemiologic analysis of *Mycoplasma* spp isolated from bulk-tank milk samples obtained from dairy herds that were members of a milk cooperative. Kirk, J. H., Glenn, K., Ruiz, L. and Smith, E. J. *Am. Vet. Med. Assoc.* 211: 1036-1038.
- 10) 菊佳男 2015. わが国における牛乳房炎の発生状況ならびにその問題点と対策—乳牛の乳房炎に関する全国アンケート調査から— 家畜感染症学会誌, 6: 109-132.
- 11) Philpot, W. N. 1978. *In* Mastitis Management, pp.1-72, Babson Bros.Co.
- 12) Tulkens, P. M. 1991. Intracellular distribution and activity of antibiotics. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 10: 100-6.
- 13) 平井網雄, 河合一洋, 三木 渉, 蔵本 忠, 下タ村圭一, 瀬尾洋行, 堀川敏夫, 斧田稔行. 2002. 黄色ブドウ球菌による潜在性乳房炎の泌乳期治療 家畜診療, 49: 459-462.
- 14) 三木 渉, 河合一洋, 大林 哲, 安里 章. 2002. *Staphylococcus aureus* 乳房炎乳牛に対するタイロシンの乾乳直前時治療の効果 家畜診療, 49: 19-24.
- 15) 田村豊, 河合一洋, 臼井優, 片岡康, 加藤敏英, 樋口豪紀, 平山紀夫. 2015. 牛の乳房炎治療ガイドライン, 緑書房, 東京.
- 16) Hillerton, J.E. and Kliem, K.E. 2002. Effective treatment of *Streptococcus uberis* clinical mastitis to minimize the use of antibiotics. *J. Dairy Sci.*, 85: 1009-1014.
- 17) MASTITS CONTROL 2005. 十勝乳房炎協議会, 北海道.
- 18) MASTITIS CONTROL 2nd ed. 2014. 十勝乳房炎協議会, 北海道.
- 19) 函城悦司、島田保昭、岡田啓延、久米常夫、田淵清 1982. 乳牛の壊疽性乳房炎に関する研究；III. リムルステストによるエンドトキシンの検出. 日獣会誌, 35: 330-334.
- 20) 工藤克典、小岩政照、松尾直樹、南 保範、星 明、安藤達哉、川島明夫. 1994. 急性乳房炎牛における血小板凝集能の変化とその治療方法 家畜診療, 369: 7-13.
- 21) 西川晃豊. 2009. 乳牛の大腸菌群による甚急性乳房炎の病態生

- 理に基づく治療. 家畜診療, 56: 481-488.
- 22) 篠塚康典. 2008. 乳牛の大腸菌性乳房炎に対する初回治療時抗生物質無投与療法の検討. 55: 501-509.
- 23) 杉山美恵子. 2013. 乳牛の *Klebsiella pneumoniae* による甚急性乳房炎の診断と治療方法の検討. 家畜診療, 60: 265-270.
- 24) Hoeben, B.D., Monfardini, E., Burvenich, C., Hamann, J. 2000. Treatment of acute *Escherichia coli* mastitis in cows with enrofloxacin: effect on clinical signs and chemiluminescence of circulating neutrophils. *J. Dairy Res.*, 67: 485-502.
- 25) Shinozuka, Y., Kaneko, S., Kurose, T., Watanabe, A., Kuruhara, K., Kawai, K. 2016. Factors associated with marketable milk production recovery after treatment of naturally occurring acute coliform mastitis. *J. Vet. Med. Sci.*, 78: 917-920.
- 26) Shinozuka, Y., Kawai, K., Takeda, A., Yamada, M., Kayasaki, F., Kondo, N., Sasaki, Y., Kanai, N., Mukai, T., Sawaguchi, N., Higuchi, M., Kondo, H., Sugimoto, K., Yasuda, A., Watanabe, A. 2018. Randomized clinical trial to evaluate the effectiveness of enrofloxacin as a second-line antibiotic for treatment of acute *Escherichia coli* mastitis. *Anim. Sci. J.*, in press.
- 27) Hayashi, T., Sugita, T., Hata, E., Katsuda, K., Zhang, E., Kiku, Y., Sugawara K., Ozawa, T., Matsubara, T., Ando, T., Obayashi, T., Itoh, T., Yabusaki, T., Kudo, K., Yamamoto, H., Koiwa, M., Oshida, T., Tagawa, Y. and Kawai K. 2013. Molecular-Based Identification of Yeasts Isolated from Bovine Clinical Mastitis in Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 75: 387-390.
- 28) Roberson, J. R. 2004. Establishing treatment protocols for clinical mastitis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 19: 223-234.
- 29) Lago, A., Godden, S.M., Bey, R., Ruegg, P.L., Leslie, K. 2011. The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results: I. Effects on antibiotic use, milk withholding time, and short-term clinical and bacteriological outcomes. *J. Dairy Sci.*, 94: 4441-

4456.

- 30) Lago, A., Godden, S.M., Bey, R., Ruegg, P.L., Leslie, K. 2011. The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results: II. Effects on lactation performance, including clinical mastitis recurrence, somatic cell count, milk production, and cow survival. *J. Dairy Sci.*, 94: 4457-4467.
- 31) Ghanem, M. E., Higuchi, H., Tezuka, E., Ito, H., Devkota, B., Izaike, Y. and Osawa, T. 2012. *Mycoplasma* infection in the uterus of early postpartum dairy cows and its relation to dystocia and endometritis. *Theriogenology*, 79: 180-185.
- 32) Kawai, K., Higuchi, H., Iwano, H., Iwakuma, A., Onda, K., Sato, R., Hayashi, T., Nagahata, H. and Oshida, T. 2013. Antimicrobial Susceptibilities of *Mycoplasma* Isolated from Bovine Mastitis in Japan. *Anim. Sci. J.* 86: 96-99.
- 33) Higuchi, H., Gondaira, S., Iwano, H., Hirose, K., Nakajima, K., Kawai, K., Hagiwara, K., Tamura, Y., Nagahata, H. 2013. *Mycoplasma* species isolated from intramammary infection of Japanese dairy cows. *Vet. Rec.* 172: 557.
- 34) Higuchi, H., Iwano, H., Kawai, K., Gondaira, T., Nagahata, H. 2011. Prevalence of *Mycoplasma* species in bulk tank milk in Japan. *Vet. Rec.* 169: 442.
- 35) 永幡肇、乳房炎の防除-乳質向上と免疫力アップ。 2012. Dairy Japan 臨時創刊号（日本乳房炎研究会監修）、デーリィ・ジャパン社、東京。
- 36) Hogan, J.S., Berry, E.A., Hillerton, J.E., Hogeveen, H., Nickerson, S.C., Oliver, S.P., Pighetti, G.M., Rapnicki, P., Schukken, Y.H., Smith, K.L. 2017. Current Concepts of Bovine Mastitis 5th ed. National Mastitis Council, Minnesota, USA.
- 37) 林智人、大切な乳牛を守る免疫のお話、2010.デーリィ・ジャパン

ン社.

- 38) 林智人、乳房炎ワクチンの現状と今後の展望、2013. 家畜診療,
60: 201-208.
- 39) 江口佳子、乳房炎ワクチンの効果、2018. MP アグロジャーナル、
32: 32-35.

おわりに

本ガイドブックは、農林水産省「抗菌性物質薬剤耐性評価情報整備委託事業(平成 27～29 年度)」において調査した牛乳房炎に対する抗菌剤の使用実態、治療効果、分離菌に対する薬剤感受性データに基づき、牛乳房炎治療における適切な抗菌剤使用に関する考え方を提案し、臨床現場に普及することを目的として作成された。このたび、薬剤感受性試験の判定基準を改訂した第 1.1 版を作成した。手軽に利用できるガイドブックとして、診療にも携帯し利用していただきたい。

本ガイドブックが、抗菌剤の更なる慎重使用に向けて、適切な抗菌剤の選択ならびに治療計画の一助になれば幸いである。

令和6年 11 月

農林水産省

平成 29 年度生産資材安全確保対策委託事業

抗菌性物質薬剤耐性評価情報整備委託事業

(第 1.1 版)

検討委員代表:

河合一洋 (麻布大学獣医学部獣医学科)

検討委員(五十音順 敬称略):

岩野英知 (酪農学園大学獣医学群獣医学類)

臼井 優 (酪農学園大学獣医学群獣医学類)

篠塚康典 (岡山理科大学獣医学部獣医学科)

林 智人 (日本全薬工業株式会社)

樋口豪紀 (酪農学園大学獣医学群獣医学類)

改訂履歴

版数	発行年月	改定箇所	改定内容
第1版	平成 30 年3月		初版発行
第 1.1 版	令和6年 11 月	P8-9, 11, P14 図 19・20 P16-17 表2	<i>Prototheca zopfii</i> を <i>Prototheca bovis</i> に修正 薬剤感受性判定基準改定

