

研 究

未経産乳牛における分娩前の乳腺分泌物検査結果の推移

平間拓栄¹⁾、漆山芳郎²⁾、阿部省吾³⁾、板垣昌志⁴⁾

1) 宮城県農業共済組合 県北家畜診療センター

2) 山形県農業共済組合連合会 置賜家畜診療所

3) 山形県農業共済組合連合会 家畜診療研修所

4) 日本IMI研究所

緒 言

未経産牛乳房炎の臨床現場での調査や治験についての報告は少なく、いまだ不明な点も多いのが現状である。海外では、未経産乳牛における分娩前後の乳房内感染についての調査が実施されており、分娩前に抗生剤を乳頭内に注入することで分娩後の乳汁の保菌率を減少させたとの報告がある^{1,2,3)}。国内では、乾乳牛において小松らや北崎らにより分娩前の乳汁性状の目視評価やCMT変法による評価の有効性が報告されているが^{4,5)}、未経産乳牛の分娩前の乳腺分泌物性状については不明な点が多い。著者は過去に未経産乳牛の分娩前の乳腺分泌物の粘稠性の違いによって、乳腺分泌物のCMT変法陽性率および細菌検出分房率が異なることを報告している⁶⁾。しかし、分娩前の乳腺分泌物性状の推移については明らかにされていない。そこで、今回我々は、未経産乳牛における分娩前の乳腺分泌物性状の推移を明らかにするために、未経産乳牛に対して、分娩前に乳腺分泌物検査を実施しその推移を調査したので、その概要を報告する。

材料と方法

調査期間および調査対象牛：調査期間は平成24年7月31日～平成24年9月20日とし、山形県内5酪農場（大規模フリーストール農場1戸、繫留式農場4戸）に飼養されていた、臨床的に健康な21～24ヶ月

齢のホルスタイン種未経産乳牛6頭を調査対象牛とした。また、乳腺分泌物の検査には調査対象牛6頭の24分房を用いた。

調査方法：分娩前31～3日に乳腺分泌物検査として、性状分類、CMT変法（以下PL検査）および細菌分離培養検査を同一分房で間隔を空けて2回実施した。初回検査は分娩前31～15日に、2回目検査は分娩前19～3日にそれぞれ実施した。乳腺分泌物の性状は乾乳牛での報告^{4,5)}に倣い、常温下での粘稠性により水アメ様、初乳様、水様（図1）の3つに分類した。PL検査の判定は、常乳の乳房炎判定に準じて、乳房炎簡易診断液（PLテスター、日本全薬工業株式会社、福島）を用いて、凝集－～±・色調－～±を陰性、凝集±・色調＋以上および凝集＋以上・色調－～＋＋を陽性とした。細菌分離培養検査は乳腺分泌物サンプル50μlを5%羊血液寒天培地（Trypticase[®]、日本ベクトン・ディッキンソン株式会社、東京）に塗布し、好気37℃ 最大48時間まで培養し、定法に基

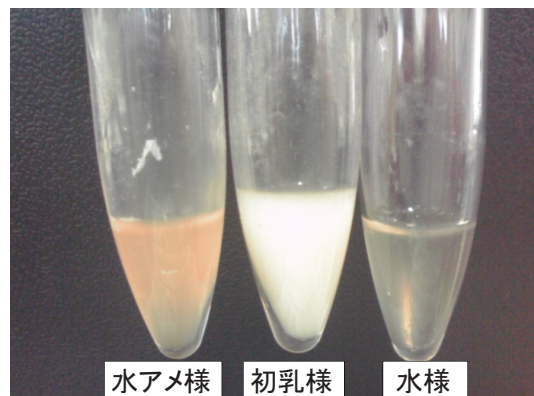


図1 乳腺分泌物の性状分類

づいて、検査細菌の分離同定を実施した。検出細菌は、主として乳汁を感染源とし伝染力が強く、臨床的に伝染性乳房炎起因菌とされている *Staphylococcus aureus* (SA)、*Streptococcus agalactiae* (SAG)、*Streptococcus canis*、*Corynebacterium bovis* (CB)、および *Mycoplasma subsp* を伝染性細菌と分類し、牛床や牛体各所に広く存在し、*Cogulase Negative Staphylococci* (CNS)、*Other Streptococci* (OS)、および大腸菌群 (Coli) などの先述した伝染性細菌以外の細菌を環境性細菌として分類した。得られた検査結果は、初回検査および2回目検査の各検査時期別に群分けし、乳腺分泌物の性状別分房占有率、性状別PL検査陽性分房率、性状別細菌検出分房率および検出細菌別分房数の推移を調査した。

成 績

性状別分房占有率：初回検査では水アメ様、初乳様、水様の性状を呈した分房数はそれぞれ10/24 (42%)、9/24 (37%)、5/24 (21%) で、2回目検査では4/24 (16%)、16/24 (67%)、4/24 (17%) であった。初回検査で水アメ様を呈した10分房中4分房および初回検査で水様を呈した5分房中1分房が、2回目検査では初乳様を呈した (図2)。

PL検査陽性分房率：水アメ様、初乳様、水様の順に、初回検査では0/10 (0%)、3/9 (33%)、5/5 (100%) であり、2回目検査では0/4 (0%)、5/16 (38%)、4/4 (100%) であった。全分房では初回検査で8/24 (33%)、2回目検査で9/24 (38%) であった (図3)。また、図4にはPL検査結果別の分房占有率を示した。初回検査で陽性を示した分房のうち2回目検査でも陽性を示したのは6/8 (75%)、初回検査で陰性を示した分房のうち2回目検査でも陰性を示したのは13/16 (81%) であった。

細菌検出分房率：水アメ様、初乳様、水様の順に、初回検査で2/10 (20%)、6/9 (67%)、2/5 (40%)、2回目検査で2/4 (50%)、10/16 (63%)、2/4 (50%) であった。全分房では、初回検査で10/24 (42%)、2回目検査で14/24 (58%) であった。(図5) また、図6には細菌検出結果別の分房

占有率を示した。初回検査で細菌が検出された分房で2回目検査でも検出されたのは5/10 (50%)、初回検査で細菌が検出されなかった分房で、2回目検査でも検出されなかったのは5/14 (36%) であった。

検出細菌別分房数：今回検出された細菌はCNSが最も多く、初回検査で6/11 (55%)、2回目検査で10/14 (71%) の分房から検出された。検出された細菌には環境性細菌が多くを占め、初回検査で10

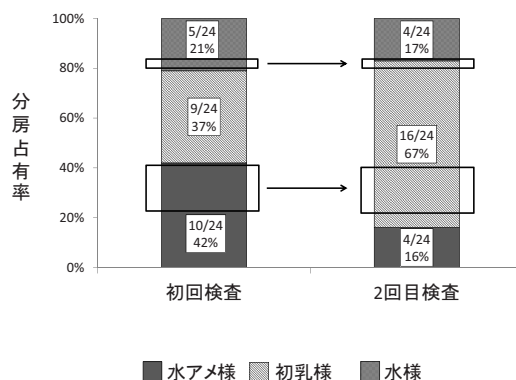


図2 検査時期別・性状別 分房占有率

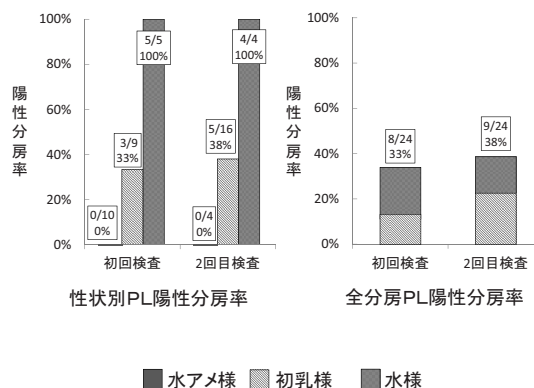


図3 検査時期別・性状別 PL陽性分房率

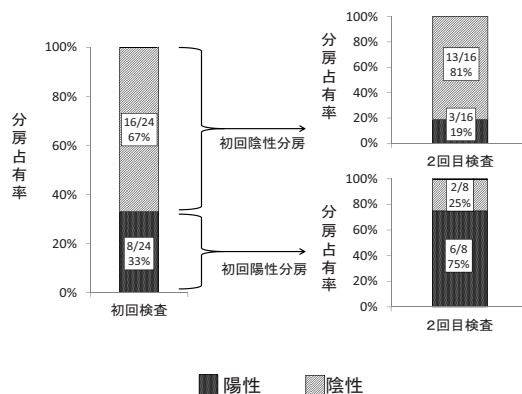


図4 検査時期別・PL検査結果別 分房占有率

／11 (91%)、2回目検査では12/14 (86%) の分房から検出された。また、伝染性細菌であるSAも検出され、初回検査で1/11 (9%)、2回目検査で2/14 (14%) の分房から検出された。初回検査と2回目検査共に細菌が検出された5分房のうち、それぞれで同種の細菌が検出されたのは3/5 (60%) であり、CNSが検出された2分房および環境性連鎖球菌であるOSが検出された1分房であった。(図7)

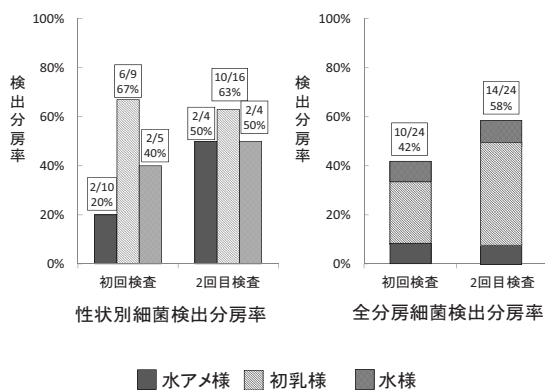


図5 検査時期別・性状別 細菌検出分房率

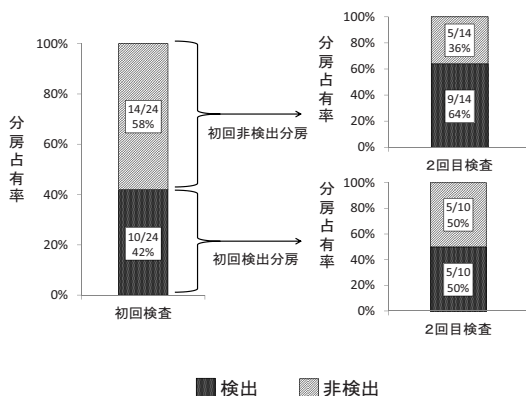


図6 検査時期別・細菌検出結果別 分房占有率

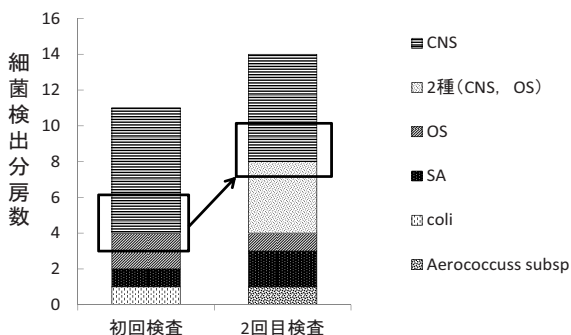


図7 検査時期別・検出細菌別 分房数

考 察

今回の調査では、各検査時期別に乳腺分泌物の性状別分房占有率は異なり、初回検査では水アメ様分房が最も多く確認されたが、2回目検査では初乳様分房が最も多く確認され、初乳様分房の占有率は増加していた。また、初回検査で水アメ様や水様を呈していた分房が、2回目検査では初乳様を呈するように変化していたことから、分娩が近づくにつれ各乳房内における初乳の生産量が増加し、乳腺分泌物の性状を変化させるものと推察された。

PL検査陽性分房率は、初回検査および2回目検査共に水アメ様分房で最も低く、水様分房で最も高い傾向にあった。北崎らは、経産乳牛において分娩前の乳汁の粘稠性が低いとPL検査陽性率や細菌数が高くなると報告しており⁵⁾、本調査結果においても、PL検査陽性率については同様の傾向にあった。細菌検出分房率については、初回検査で水アメ様を呈した分房で最も低い細菌検出率を認めたが、初回検査および2回目検査共に、初乳様分房で最も高い細菌検出率を認めた。また、全分房では初回検査よりも2回目検査で高い細菌検出率を認めたが、乳牛では分娩が近づき初乳の生産量が増加することで、乳頭内の好中球防御能の希釈が起こり乳房炎に対する感受性が高まると報告されており⁷⁾、より初乳の生産が多い初乳様分房で細菌検出率が増加するものと考えられる。そのため、初回検査よりも分娩に近く初乳様分房の占有率が高い2回目検査の方が、より高い細菌検出率を認めたものと推察された。

PL検査陽性分房率で、初回検査から2回目検査にかけて、検査結果が2/8 (25%) 分房で陰転し、反対に3/16 (19%) 分房で陽転した事、加えて、細菌検出分房率においても、初回検査から2回目検査にかけて、検査結果が5/10 (50%) 分房で陰転し、反対に9/14 (64%) 分房で陽転したことから、未経産乳牛における分娩前の妊娠末期に、乳房内細菌感染の自然治癒や、反対に新規感染による炎症が起きていることが示唆された。未経産乳牛の分娩前の乳頭内感染の自然治癒については、Bormらが報告²⁾ しており、分娩10～21日前の未経産乳牛から乳腺分泌物を採材した結果、CNS等の環境性細菌が多

く分離され、これらの細菌を検出した分房において自然治癒する牛が存在することを確認している。これは、乳腺分泌物から検出された細菌は環境性細菌が多くを占め、特にCNSが多数検出された本調査の結果と同様であった。他の報告でも、分娩前の乳頭内感染への環境性細菌の関与が報告されており、Oliverらは未経産乳牛で分娩予定の7日前に乳腺分泌物を採材した結果、環境性のブドウ球菌の検出を多く認め、分娩後も同種の菌が持続感染していた分房の存在を報告している¹⁾。本調査の結果でも、初回検査と2回目検査共に環境性細菌が検出された5分房中3分房から、それぞれ同種の細菌が検出されたことから、前述した自然治癒や新規感染の存在が示唆される一方、同種の菌による持続感染の存在も示唆された。また、環境由来細菌が多く検出されたことから、分娩前の未経産乳牛における乳頭内感染には、飼養環境が関与していることが示唆された。飼養環境のモニタリングに使用されている乳牛の後肢の汚れや乳房の汚れには関連性があり⁸⁾、乳房の汚れと細菌検出分房率や乳汁中体細胞数には関連があるとの報告がある⁹⁾。そのため乳頭内感染の防除には乳頭周囲の環境衛生が重要であると考えられた。また、本結果で検出されたSAについて、感染経路の特定は実施していないが、Andersonらは、農場内のSAを分子疫学的に分類すると、乳腺内から検出したSAと同型のSAをサシバエや牛体各所から検出したと報告しており¹⁰⁾、Gillespieらは、牛群内でのSAの感染拡大にサシバエが関与していると報告している¹¹⁾。これらのことから、未経産乳牛においてもサシバエ等により、牛群内でのSAの感染拡大のリスクに成りうるという点に留意し、対策を実施していくべきと考えられた。

以上のことから、未経産乳牛における分娩前の乳腺分泌物性状は、分娩が近づくにつれ、乳頭内感染

や自然治癒を伴いながら初乳様へと推移していくことが示唆され、乳頭内感染の防除には分娩前の乳頭周囲の環境衛生が特に重要であると考えられた。

引用文献

- 1) Oliver SP, Lewis MJ, Gillespie Be, et al. (1992) Influence of prepartum antibiotic therapy on intramammary infections in primigravid heifers during early lactation, J Dairy Sci, 75, 406~414
- 2) Borm AA, Fox LK, Leslie KE, et al. (2006) Effects of prepartum intramammary antibiotic therapy on udder health, milk production, and reproductive performance in dairy heifers, J Dairy Sci, 89, 2090~2098
- 3) Oliver SP, Lewis MJ, Gillespie Be, et al. (1997) Antibiotic residues and prevalence of mastitis pathogen isolation in heifers during early lactation following prepartum antibiotic therapy, Zentralbl Veterinarmed B, 44, 213~220
- 4) 小松智, 板垣昌志, 阿部省吾 他 (2007) 牛の慢性乳房炎に対する乾乳期分娩前治療の応用, 家畜診療, 54, 201~208
- 5) 北崎宏平, 村上弘子, 田口博子 他 (2012) 分娩前乳汁の目視検査による乳房炎診断法とその精度, 日本獣医師会雑誌, 65, 938~939
- 6) 平間拓栄 (2014) 日本における未経産牛乳房炎の臨床現場での現状と対策, 臨床獣医, 7, 7~8
- 7) Philip M Sears, David J.Wilson, ウシの乳房炎, 田口清, 佐藤薫, 鈴木一由, 獣医輸液研究会・大動物臨床研究会, 18~27, 北海道 (2004)
- 8) Morita S, Amari F, Hoshiba S (2012) Dairy cow cleanliness and lying posture of cows kept in tie-stall barn, J Rakuno Gakuen Univ, 36, 229~232
- 9) Schreiner DA, Ruegg PL (2003) Relationship between udder and leg hygiene scores and subclinical mastitis, J Dairy Sci, 86, 3460~3465
- 10) Anderson KL, Lyman R, Moury K, et al. (2012) Molecular epidemiology of Staphylococcus aureus mastitis in dairy heifers, J Dairy Sci, 95, 4921~4930
- 11) Gillespie BE, Owens WE, Nickerson SC, et al. (1999) Deoxyribonucleic acid fingerprinting of Staphylococcus aureus from heifer mammary secretions and from horn flies, J Dairy Sci, 82, 1581~1585