

2 管内酪農家におけるセレウス菌乳房炎の発生と対策

中央家畜保健衛生所

○平田 圭子・窪田 美佳・中井 悠華

I はじめに

牛乳房炎は、病原微生物が乳房内に侵入することによって引き起こされ、乳質や泌乳量が低下する病気であり、酪農経営において経済的影響が最も大きい疾病である。

Bacillus cereus (以下セレウス菌) はグラム陽性芽胞形成桿菌で、土壌、大気などの自然環境や農産物、畜産物などの食料や飼料等に広く分布している。分離株は嘔吐毒及び下痢毒を産生するものもあり、1982 年に食中毒の原因菌として指定されている。¹⁾ なお、バチルス類は牛の乳房炎原因微生物としては稀なものであるとされている。²⁾ 今回、管内一酪農家でセレウス菌による乳房炎が続発したことから、感染源の特定を行い、感染防除対策の検討を行ったのでその概要を報告する。

II 発生概要

発生農場の飼養頭数は約 30 頭 (うち成牛 18 頭)、飼養形態は対尻式つなぎ牛舎である。農場概要は図 1 のとおりである。

自家育成主体で外部から牛の導入はほとんどない。乳房炎対策として大腸菌ワクチンを母牛に接種している。なお、この農場の年間平均体細胞数は 118 千/ml (平成 27 年度) で、良質乳の生産に努めている農場である。

この農場で平成 28 年 5 月、9 月及び 10 月に 1 頭ずつ、計 3 頭が乳房炎を発症し、畜主からの検査依頼により当所にて乳汁検査を実施した。その結果、3 頭の乳汁中から $1.4 \times 10^2 \sim 6.0 \times 10^4$ CFU/ml のセレウス菌が純培養状に分離された。このため、この 3 頭をセレウス菌による乳房炎と判定した。3 頭の産次数、分娩後日数などは特に目立った傾向は認められなかった。なお、3 頭のうち 1 頭は起立不能により廃用となり、1 頭は一度治癒したものの、環境性連鎖球菌による乳房炎を再発した。(表 1)

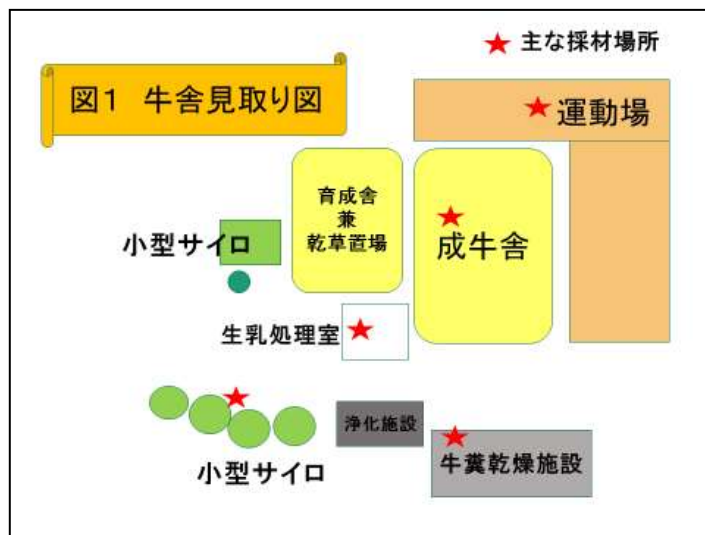


表1 発生概要

	症例1	症例2	症例3
発症日	2016/5/28	2016/9/21	2016/10/14
産次数	3	2	4
分娩後日数(日)	625	93	271
発症乳房	右前	右前	右前
体細胞数 (万個/ml)	6	83	11
細菌数(CFU/ml)	3.0×10^4	1.4×10^2	6.0×10^4
感受性薬剤	FRM、PRM	FRM、CEZ、 PRM	FRM、PRM
転帰	起立不能により 廃用	治癒した後、 OSにより再発	治癒

※FRM:フラジオマイシン、PRM:ピルリマイシン、CEZ:セファゾリン

一農場においてセレウス菌乳房炎が連続したことから、感染源の特定と発症の要因の検討を行った。

III 材料及び方法

感染源特定のため、牛糞、土壌、粗飼料、搾乳機器等から直接又は拭き取りにより環境材料を採取した。検体は生理食塩水で段階希釈した後、他の菌を死滅させるために 80℃10 分で加熱処理し、セレウス菌の選択培地である NGKG 培地で分離培養を行った。^{3)、4)} 併せて分離株については、菌同定の補助的検査として PCR 検査を実施した。⁵⁾

また、健康状態の確認のため、発症牛と非発症牛 3 頭ずつ、計 6 頭の血液生化学検査を実施したほか、搾乳手順や機器洗浄等に関する聞き取り調査を行った。

IV 成績

【環境調査】ミルカーやバケット等の搾乳機器、牛床、ウォーターカップ、バルク乳等からセレウス菌は検出されなかったが、牛糞をはじめ、堆肥、飼料畑、運動場の土壌からセレウス菌が分離された。特に症例 3 の牛糞、一部の非発症牛の牛糞、堆肥、飼料畑土壌、運動場土壌から 1 g 当たり $10^5 \sim 10^6$ CFU のセレウス菌が分離された。なお、比較のために採取した家畜保健衛生所内の土壌からも、ほぼ同量のセレウス菌が分離された。(表 2)

【血液生化学的検査】グルコース、総蛋白、肝機能等の各項目とも正常値内で、かつ発症牛と非発症牛で有意差は認められなかった。

【聞き取り調査】搾乳手順及びミルカー等の機器洗浄は適正に行われていた。

表2 環境調査結果

採材箇所	セレウス菌 分離	菌数 (CFU/g)	採材箇所	セレウス菌 分離	菌数 (CFU/g)
症例2 牛糞	+	8.0×10 ⁴	飼料畑土壌①	+	1.0×10 ⁵
新規発生牛糞	+	2.0×10 ⁴	サイロ周辺土壌	+	6.0×10 ⁴
症例3 牛糞	+	2.3×10 ⁶	運動場土壌	+	2.0×10 ⁵
非発症 牛糞①	+	6.0×10 ⁴	家畜保健衛生所 敷地内土壌	+	2.4×10 ⁵
非発症 牛糞②	+	2.8×10 ⁵	飼料① (青刈りトウモロコシ)	-	-
非発症 牛糞③	+	8.0×10 ⁴	飼料② (青刈りトウモロコシ)	-	-
固液分離機処理 後牛糞	+	6.0×10 ⁴	飼料畑土壌②	+	6.0×10 ⁴
堆肥	+	2.6×10 ⁵			

V 発生機序の検討

環境調査の結果では、一部の環境材料からセレウス菌が分離された。しかし、土壌中には1 g 当たり 10³～10⁵CFU のセレウス菌が分布していると言われており¹⁾、当農場での菌数が特に多量であるとは確認できなかった。以上の結果から、セレウス菌によって乳房炎が発症した要因が特定できなかったため、さらに検討を行った。

発症要因のひとつとして、牛の原因菌に対する生体防御機能が十分でなかった可能性が考えられたことから、当農場における平成 28 年 4 月から 12 月までの各乳成分の推移を確認したところ、乳脂肪分及び無脂固形分は出荷目標値（乳脂肪 3.5%、無脂固形分 8.3%）を上回る良好な値で推移していた。しかし、乳蛋白質は適正範囲（3.2～3.4%）よりやや低く、MUN（乳中窒素）は適正範囲（10～14mg/dl）より高い値であった。（図 2）このことからデンプンや糖などのエネルギーが不足しており、その結果乳蛋白質を合成できず、無駄な窒素がMUNとして表れている可能性が考えられた。

また、気象条件によっては牛にストレスがかかり、生体防御機能が低下することから²⁾発症前後の温湿度指数（THI）を確認したところ、各症例とも発症前1週間間に強いストレス又は軽度のストレスを経験していることが確認された。（図 3）

さらに、各症例におけるセレウス菌乳房炎に罹患する前の既往症を確認したところ、全ての症例で緑膿菌や環境性連鎖球菌、大腸菌などの乳房炎を複数回発症していた（表 3）。これらは当家畜保健衛生所で実施した細菌検査及び薬剤感受性試験の結果に基づき治療を行っていたが、度重なる抗菌剤の使用により、菌交代症を起こしやすい状態であったと推測できた。

図2 牛群の乳成分の推移(H28.4~12)

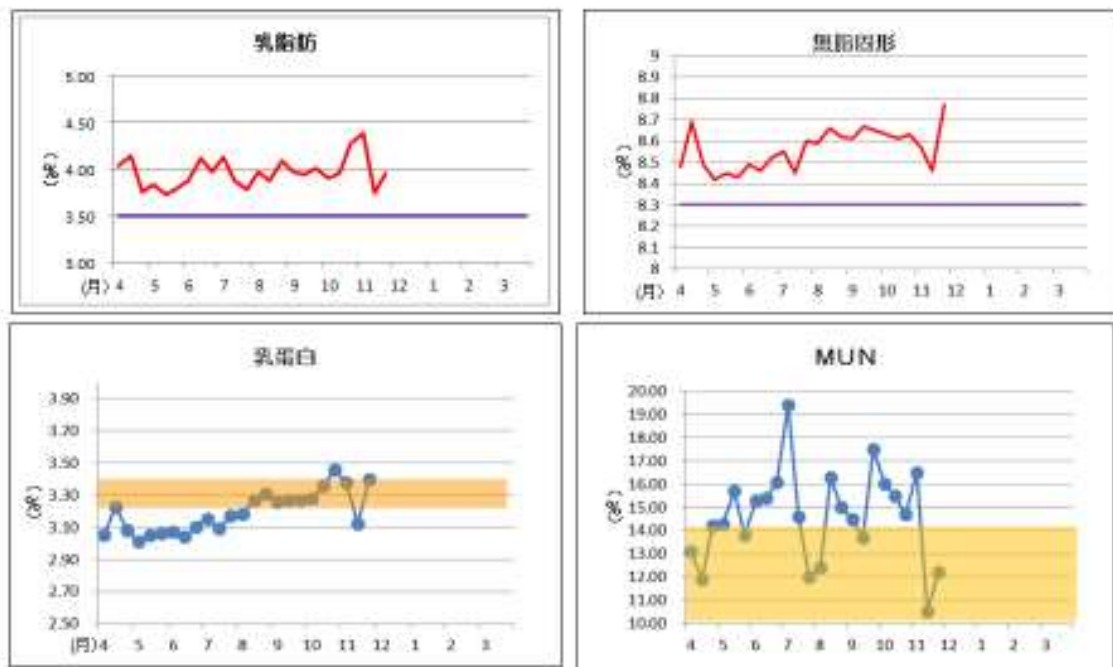


図3 発症前1週間の温湿度指数(THI)

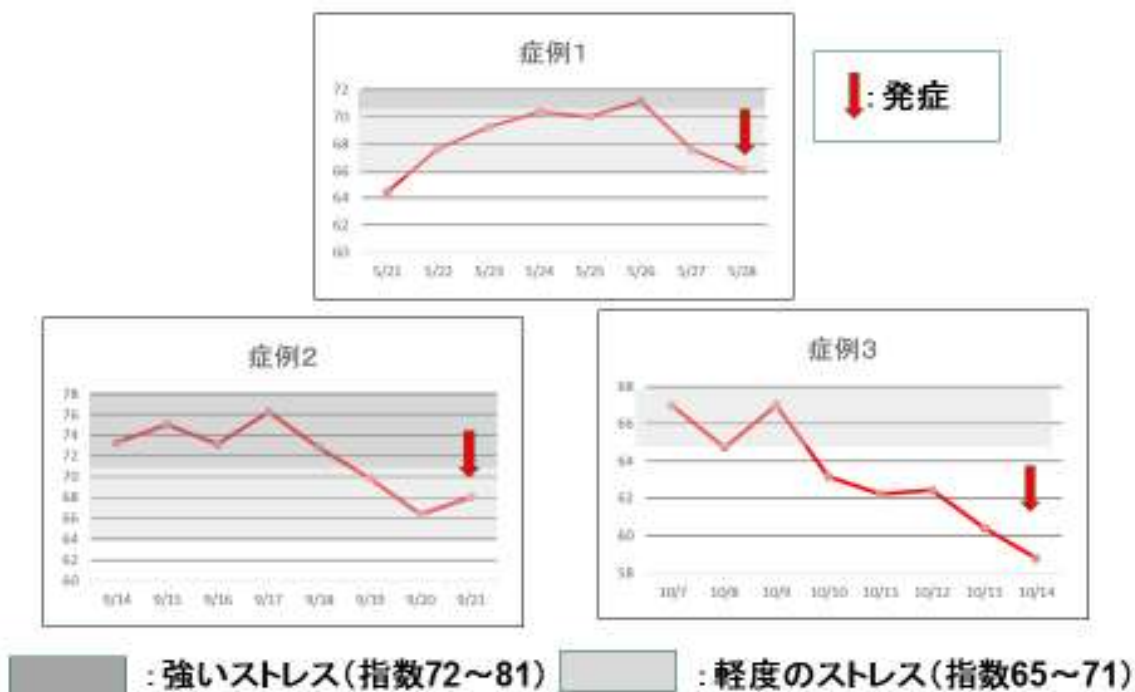


表3 各症例の既往症

	症例1	症例2	症例3
発症日	2016/5/28	2016/9/21	2016/10/14
既往症	2013.8 緑膿菌 2016.1 緑膿菌	2016.6 OS、E. coli 2016.7 OS、E. coli 2016.8 OS 2016.9 OS、セラチア	2016.1 E. coli 2016.2 セレウス菌 2016.2 パチルス属菌
転帰	起立不能により 廃用	治癒した後、 OSにより再発	治癒

VI 考察

当農場におけるセレウス菌乳房炎の発症機序について考察した。まず、緑膿菌や環境性菌などの菌により乳房炎を発症し、抗菌剤による治療を実施する。その結果乳房炎は治癒するが、抗菌剤の頻回使用、エネルギー不足や暑熱ストレスによる生体防御機能の低下が要因となり、土壌中のセレウス菌が乳頭口に侵入し、菌交代症によって乳房炎が発症したと考えられた。(図4)

また、環境調査の結果から、もともと飼料畑の土壌に分布しているセレウス菌が土壌とともに飼料に付着して牛に給与され、牛の体内を通過し、糞中に排泄され、それらが堆肥化され飼料畑に施用されることで農場内を循環していると考えられた。(図5)



VII 対策

畜主に対して、飼料の調整にはなるべく土壌が入らないようすること、乳頭口への菌の

侵入を防止するために搾乳後のポストディッピングを確実に行うこと、セレウス菌のような土壌微生物は塵埃とともに食品を汚染する恐れがあり¹⁾、生乳への汚染防止を徹底すること、抗菌剤を使用する際は原因菌に感受性のあるものを投与期間を順守して使用すること等を指導した。

また、暑熱対策によるストレスの軽減や飼料設計の見直しにより、牛群の生体防御機能を向上させる取組も必要であると考えられた。

VIII まとめ

乳房炎を発症させる病原微生物は多種に渡り、的確かつ迅速な検査により、原因の早期特定と対策を行うことが重要である。本症例ではセレウス菌の同定に選択培地を使用したことで、従来検査(簡易同定キット等)に比較し迅速に判定に至ることができた。

また、畜舎環境及び搾乳環境等の衛生状態だけでなく、牛が本来持っている生体防御機能の状況も発症の要因として考慮することが大切である。

参考文献

- 1) 社団法人畜産技術協会：食品により媒介される感染症等に関する文献調査報告書，pp.156-164、pp.325-328(2010)
- 2) 浜名克己監訳：牛の乳房炎コントロール，pp.66，pp.167，緑書房，東京(2012)
- 3) 上田成子：THE CEMICAL TIMES，228，11-18(2013)
- 4) 高村一知ら：聖徳栄養短期大学紀要，15，31-34(1984)
- 5) Marisa M et al. Optimization of DNA extraction to detect *Bacillus Cereus* from food using a PCR technique, Pol.J.Food Nutr.Sci.Vol.12/53:69-71(2003)