

分娩後乳房炎リスク因子の検索及び乾乳軟膏注入による同リスク因子低減効果

瀬戸隆弘[†] 赤松裕久 森谷美咲 永井三紀子 佐野文彦

静岡県畜産技術研究所 (〒418-0108 富士宮市猪之頭 1945)

(2015年9月24日受付・2016年5月24日受理)

要 約

乾乳時における分娩後乳房炎のリスク因子を検索した。乾乳時に乳房炎原因菌が検出された分房の分娩14日前における乳汁粘稠性は、異常な乳汁である水様乳汁となるが多かった ($P<0.05$)。分娩後の乳房炎発症率も、検出されなかった分房より高い傾向を示した。また、分娩14日前に乳汁粘稠性が水様の分房は、正常な乳汁であるアメ状乳汁の分房と比較して乾乳時の乳汁ラクトフェリン (Lf) 濃度が低く ($P<0.05$)、分娩後に乳房炎を発症した分房も、しなかった分房と比較して同様の結果となった ($P<0.05$)。以上のことから、乾乳時の乳房炎原因菌の有無と乳汁Lf濃度が分娩後乳房炎のリスク因子となることが示唆された。乾乳時に乳房炎原因菌が検出された分房に乾乳軟膏を注入すると、分娩14日前の乳汁がアメ状になりやすくなり ($P<0.05$)、分娩後の乳房炎の発症リスクが低減された。

—キーワード：ラクトフェリン，乾乳期，分娩後乳房炎。

-----日獣会誌 69, 455~458 (2016)

乳房炎は、乳牛において最も頻発する疾病であり、平成24年度の家畜共済統計によると、全国で429,635件(全疾病の31.1%)が報告されており、これを低減することは酪農家の収益を向上させるために不可欠である。本病は特に分娩後に発症しやすく [1]、分娩後10日以内に発症する乳房炎(以下「分娩後乳房炎」と呼ぶ)の高リスク牛を早期に摘発することは、本病の予防において重要である。

板垣ら [2] は分娩14日前の乳汁を粘稠性によって区分し、乳房内の炎症の程度を推測できることを報告した。さらに、板垣ら [2] は異常乳汁を呈した分房に乳房炎軟膏を注入することにより、分娩後乳房炎を低減できることを報告している。しかし、Maunsellら [3] は、一度乳房炎を発症すると、治癒したように見えても乳腺組織は完全に修復しないことを報告しており、このことから分娩14日前に治療しても、乳腺組織の修復が不十分のまま分娩を迎える可能性がある。分娩14日前に異常な乳汁を呈する原因として、乾乳開始時(以下「乾乳時」と呼ぶ)における細菌感染が考えられる。Eberhart [4] 及びPetzerら [5] は乾乳時に約10%の分房

が乳房炎菌に感染しており、最も分離される菌はコアグララーゼ陰性ブドウ球菌 (Coagulase Negative Staphylococcus: CNS) であることを報告している。そこで、今回われわれは分娩後乳房炎を予防するため、分娩14日前よりさらに早期である乾乳時の乳汁に着目し、乾乳時における分娩後乳房炎のリスク因子の推定を試みた。さらに、推定したリスク因子に応じた処置を乾乳時に実施することにより、分娩後乳房炎の発症リスクを低減できるかについて検証したので報告する。

材料及び方法

供試牛：静岡県畜産技術研究所で飼養されているホルスタイン種経産牛(飼養形態：タイストール，平均産次：3.0産，平均年間乳量：12,109kg) 30頭を対象に試験を実施した。なお、本試験は静岡県畜産技術研究所動物実験取扱規定に基づき、動物福祉に配慮して行った。

試験1 (分娩後乳房炎のリスク因子の推定)：乾乳時における分娩後乳房炎のリスク因子の推定のため、乾乳した15頭のうちの50分房を対象に試験を行った。乾

[†] 連絡責任者：瀬戸隆弘 (静岡県畜産技術研究所酪農科)

〒418-0108 富士宮市猪之頭 1945

☎ 0544-52-0146 FAX 0544-52-0140

E-mail: takahiro1_seto@pref.shizuoka.lg.jp

乳時に乳汁を採取し、細菌検査及び乳汁中 IgG1, IgG2 及び総ラクトフェリン (Lf) 濃度の測定を行った。そして、分娩 14 日前に同一分房から乳汁を採取後、板垣ら [2] の方法で乳汁の粘稠性を判定した。その後細菌検査を行い、乾乳時の各乳汁検査との関連性を、累積カイ二乗検定, Dunnet 多重比較検定及び Williams 多重比較検定を用いて比較検討した。さらに、分娩 10 日後までの臨床型乳房炎の発症を追跡調査し、乾乳時の各乳汁検査の成績との関連性について、*t* 検定及び Welch 検定を用いて検定した。

試験 2 (乾乳軟膏注入による分娩後乳房炎リスク低減効果の検証) : 乾乳時に乳汁細菌検査を行い、乳房炎原因菌 [6] が有意に検出された 15 頭のうちの 19 分房を対象に、乾乳軟膏注入による分娩後乳房炎リスク低減効果の検証を行った。11 頭の 14 分房を急速乾乳 2~4 日後に乾乳軟膏としてセファゾリン 5g (セファメジン DC, 日本全薬工業(株), 福島) を乳房内注入する投与区とし、残り 4 頭の 5 分房を乾乳軟膏を注入しない無投与区とした。乾乳軟膏の注入は本製品同封の添付書に従って実施した。その後、分娩 14 日前に乳汁を採取して、板垣ら [2] の方法に基づいて乳汁粘稠性を判定し、両区間の粘稠性の分布を比較した (累積カイ二乗検定)。

細菌検査 : 採取した乳汁を 5% 羊血液加寒天培地 (栄研化学(株), 東京) に 37°C, 16~48 時間平板培養した。分離された菌について、グラム染色, カタラーゼ試験, コアグララーゼ試験を行い、菌属の判定を行った。

乳汁中 IgG1, IgG2 及び総 Lf 濃度の測定 : 乳汁中に含まれる IgG1, IgG2 及び総 Lf 濃度は一元放射免疫拡散法により市販キット (株)メタボリックエコシステム研究所, 宮城) を用いて計測した。乳汁を 5µl ずつウシ IgG1 プレート, ウシ IgG2 プレート及びウシ Lf プレートに滴下し、37°C で 48 時間反応させた。反応後、確認された沈降リングの直径を標準液のそれと比較し、それぞれの乳汁タンパク質の濃度を測定した。

成 績

試験 1 における乾乳時の乳房炎原因菌の有無による分娩 14 日前の乳汁性状及び分娩後乳房炎発症率の比較 : 本試験に供した 15 頭 50 分房のうち 7 分房から乾乳時に乳房炎原因菌 7 株が分離された。分離された菌は 6 株が CNS, 残り 1 株が *Corynebacterium* 属であった。分娩 14 日前に乳汁が採取できた 41 分房 (残り 9 分房は乳汁採取できず) について、分娩 14 日前の乳汁粘稠性を比較した。その結果、乾乳時に乳房炎原因菌が検出された 5 分房における (2 分房は採取できず) 分娩 14 日前の乳汁粘稠性は、アメ状が 20% (1/5), 初乳様 0% (0/5), 水様が 80% (4/5) であった。一方、乳房炎原因菌が検出されなかった 36 分房 (7 分房乳汁採取

表 1 乾乳時の菌分離と分娩 14 日前の乳汁粘稠性

菌分離	分房数	乳汁粘稠性		
		正 常	異 常	
		アメ状	初乳様	水 様
+ ^a	5	1	0	4
- ^b	36	23	7	6
合 計	41	24	7	10

a-b : P<0.05, 累積カイ二乗検定

表 2 乾乳時乳汁タンパク質濃度と分娩 14 日前乳汁粘稠性の比較

乳汁タンパク質濃度	乳汁粘稠性 (n=41)		
	アメ状 (n=24)	初乳様 (n=7)	水様 (n=10)
IgG1 (µg/ml)	1873±223	2959±881	1845±524
IgG2 (µg/ml)	156±24	161±36	91±24
総 Lf (µg/ml)	899±132 ^a	877±197	530±64 ^b

平均値±標準誤差

a-b : P<0.05, Williams 多重比較検定

表 3 乾乳時乳汁タンパク質濃度と分娩後乳房炎の関連性

乳汁タンパク質濃度	分娩後乳房炎	
	発症無し (n=38)	発症あり (n=12)
IgG1 (µg/ml)	1936±253	1978±466
IgG2 (µg/ml)	151±21	103±20
総 Lf (µg/ml)	822±98 ^a	529±73 ^b

平均値±標準誤差

a-b : P<0.05, Welch 検定

できず) ではアメ状 63.9% (23/36), 初乳様 19.4% (7/36), 水様 16.7% (6/36) であり、乾乳時に乳房炎原因菌が検出された分房と検出されなかった分房で乳汁粘稠性の分布に有意差があり (表 1, P<0.05), 検出された分房は検出されなかった分房に比べ、分娩後乳房炎のリスクが高い可能性が示唆された。また、供試 50 分房について、分娩後乳房炎発症率を乾乳時の乳房炎原因菌検出の有無で比較したところ、乾乳時に菌が検出された分房が 42.9% (3/7) で、乾乳時に菌が検出されなかった分房が 20.9% (9/43) であった。

試験 1 における乳汁中タンパク質と分娩 14 日前の乳汁性状及び分娩後乳房炎発症率の比較 : 分娩 14 日前の乳汁粘稠性ごとに乾乳時乳汁中の IgG1, IgG2 及び総 Lf 濃度を比較したところ、IgG1 及び IgG2 濃度は各群間で有意差はなかったものの (表 2), Lf 濃度は分娩 14 日前に水様の群はアメ状の群と比較して有意に低かった (表 2, P<0.05)。

一方、分娩後乳房炎の発症の有無で乾乳時乳汁中 IgG1, IgG2 及び総 LF 濃度を比較したところ、IgG1

表4 乾乳軟膏投与試験結果

分房数	菌分離		分娩14日前 乳汁粘稠性		
	乾乳時	分娩 14日前	アメ状	初乳様	水様
投与区	14	4	11	1	2
(分離菌)	CNS 7 Str. 7	CNS 2 Str. 1 Coryne. 1			
無投与区	5	4	1	0	4
(分離菌)	CNS 5	CNS 4			

CNS：コアグラールゼ陰性ブドウ球菌

Str.：レンサ球菌属

Coryne.：コリネバクテリウム属

及びIgG2は各群間で有意差はなかった。Lf濃度は、分娩後乳房炎を発症した群は発症しなかった群と比較して有意に低かった(表3, $P<0.05$)。

試験2(乾乳軟膏注入による分娩後乳房炎リスク低減効果の検証)：乾乳時に乳房炎原因菌が分離された分房に対する乾乳軟膏注入効果を検証した。その結果、分娩14日前における乳汁粘稠性の分布を比較すると、投与区はアメ状78.6%(11/14)、初乳様7.1%(1/14)、水様14.3%(2/14)とアメ状の比率が高かったが、無投与区はアメ状20.0%(1/5)、初乳様0.0%(0/5)、水様80.0%(4/5)で水様の比率が高く、両者の間で分娩14日前の乳汁粘稠性の分布に差があった(表4, $P<0.05$)。また、分娩14日前における乳房炎原因菌分離率は、投与区28.6%(4/14)、無投与区80%(4/5)であった。なお、投与区14分房のうち2分房では乾乳時と分娩14日前にCNSが検出され、残り2分房はそれぞれ乾乳時にCNSとレンサ球菌、分娩14日前にレンサ球菌とCorynebacterium属が検出された(表4)。

考 察

板垣らは乳汁粘稠性に基づいて分娩14日前に治療を施すことで分娩後乳房炎を低減できることを報告した[2]。しかし、分娩14日前に治療しても分娩までに乳腺組織が十分に回復しない可能性がある[3]。そこで、乾乳時における分娩後乳房炎のリスク因子を検索し、それに基づいた治療を施すことで分娩後乳房炎の発症リスクを低減できるか検証した。

乾乳時乳汁中に乳房炎原因菌が分離された分房は、分娩14日前の分娩後乳房炎リスクの高い水様を呈し、分娩後10日以内の乳房炎発症率も高い傾向にあった。この結果から、乾乳時の乳汁中に乳房炎原因菌が分離された分房は、分娩後乳房炎の発症率が高いことが判明したことから、乾乳時の菌分離は分娩後乳房炎の発生を予測するうえで重要であると考えられた。乾乳の目的は搾乳

刺激を停止することで乳腺組織を退行させ、乳腺組織の更新を図ることにある[7]。板垣ら[2]は正常に乳腺組織が更新された場合、乳房内の乳汁が濃縮され、アメ状の乳汁となるが、炎症がある場合その性状が水様を呈することを報告している。乾乳開始時に乳房炎原因菌が感染していると、乾乳期中に菌が炎症を引き起こし、炎症による漿液成分が乳房内に貯留した結果、分娩14日前に水様乳汁を呈すると考えられた。

Lfは乳汁中に含まれる抗菌性物質で、臨床型乳房炎発症時に著しく増加することが知られている[8]。今回、乾乳時の乳汁中総Lf濃度を測定したところ、分娩14日前の乳汁粘稠性が水様の分房及び分娩10日以内に乳房炎を発症した分房の乾乳時におけるLf濃度は、正常な分房と比較して低かった。Natzke[9]は乾乳後3週間の間は乳頭口が完全に閉鎖しておらず、乳房炎原因菌に感染する危険性が高いと報告している。Lfは抗菌活性を有するので[10]、Lf濃度の低い分房は乾乳直後の乳房炎原因菌感染に対する抵抗力が弱いことが考えられる。また、小峯ら[11]はLfは乳腺上皮細胞のアポトーシスを誘導し、乳房の退行に関与すると報告していることから、乾乳時乳汁中Lf濃度が低い分房では、高い分房と比較して乳房の退行が遅く、乳頭口の閉鎖が遅れるため、乳房炎原因菌に感染しやすいことが推察された。しかし、泌乳末期における乳汁中Lf濃度の正常値は明らかになっておらず、今後、乾乳時のLf濃度から分娩後乳房炎リスクを推定する上で、さらなる検討が必要であると考えられた。

乾乳時の乳汁IgG濃度と分娩後乳房炎の間に明確な関連性はみられなかった。本試験でCNSが最も多く分離されたが、その一種である表皮ブドウ球菌は、宿主の免疫機構を回避することが報告されている[12]。本試験においても、乾乳時の乳汁採取の際に目視で明確な乳汁の異常は確認されなかった(データ示さず)。これらのことから、今回乾乳時に乳房炎原因菌が検出された分房内では、細菌が宿主の免疫を回避しており、その結果細菌に対する抗体が誘導されなかった可能性が考えられる。

乾乳時に乳房炎菌が検出された分房に対して乾乳軟膏を投与した結果、無投与区と比較して分娩14日前の乳汁粘稠性が乳房炎リスクの低いアメ状になりやすくなった。このことから、乾乳時に乳房炎原因菌が検出された場合、乾乳軟膏を投与することで乳房炎を予防できる可能性が示唆された。乾乳軟膏の注入は潜在的に感染している乳房炎菌を排除することで乳房内の炎症発生を抑え、乾乳期中の乳腺組織の正常な更新を促すことで、分娩後の良好な生乳生産を促進させることが期待できると思われる。

乾乳軟膏を投与した14分房のうち一部の分房で、分

娩14日前に乾乳時と別種の菌が検出された。別種の菌はレンサ球菌と *Corynebacterium* 属であり、乾乳軟膏の効果が消失した後に乳房内に侵入したものと考えられた。このことは、乾乳時の乾乳軟膏注入に加えて、分娩14日前に再度乳汁粘稠性の検査を実施することは、分娩後乳房炎の発症をよりいっそう防止するために必要であると思われた。

以上のことから、乾乳時乳汁中の乳房炎原因菌の感染と総Lf濃度の低下が分娩後乳房炎のリスク因子となり、感染乳房における乾乳軟膏の注入が、分娩後乳房炎の発症リスクの低減に有効であることが示唆された。乾乳軟膏は乾乳後初期の細菌感染を予防する効果もあるため、板垣ら [2] が報告した分娩14日前に乳汁粘稠性を調べて、水様、初乳様乳汁を呈した分房に乳房炎軟膏を注入する分娩後乳房炎予防法に加えて、乾乳時に全分房への乾乳軟膏注入により効果的に分娩後乳房炎を低減できることが期待される。

本稿の執筆にあたり、サンプルの採取及び助言をいただいた、元山形県農業共済組合連合会の板垣昌志氏、静岡県畜産振興課の檀原麻実氏及び静岡県東部農林事務所の小林幸恵氏に感謝する。

引用文献

- [1] 有田忠義：乳房炎の原因及び誘因，牛の乳房炎，15，チクサン出版，東京（1991）
- [2] 板垣昌志，貝 健三，小峯健一，小峯優美子：牛乾乳期乳房炎の実態とその対策，日本家畜臨床学会報，28，67（2005）
- [3] Maunsell FP, Morin DE, Constable PD, Hurley WL, McCoy GC, Kakoma I : Effect of mastitis on the volume and composition of colostrums produced by Holstein cows, J Dairy Sci, 81, 1291-1299 (1998)
- [4] Eberhart RJ : Management of dry cows to reduce mastitis, J Dairy Sci, 69, 1721-1732 (1986)
- [5] Petzer IM, Lourens DC, van der Schans TJ, Watermeyer JC, van Reenen R, Rautenbach GH, Thompson P : Intramammary infection rate during the dry period in cows that received blanket dry cow therapy: efficacy of 6 different dry-cow intra-mammary antimicrobial products, J S Afr Vet Assoc, 80, 23-30 (2009)
- [6] 石原孝介，市野剛生，及川 学，大林 哲，梅田佳宏，河合一洋，蔵本 忠，小林牧人，齋藤 哲，高垣勝仁，馬場幸宏，平井綱雄，古村圭子，森谷宏明，山岸祐介：原因菌の特徴，Mastitis Control II，十勝乳房炎協議会，22-30（2014）
- [7] 有村正利：乾乳期，畜産全書 乳牛，346，農山漁村文化協会，東京（1983）
- [8] Kawai K, Hagiwara S, Anri A, Nagahata H : Lactoferrin concentration in milk of bovine clinical mastitis, Vet Res Commun, 23, 391-398 (1999)
- [9] Natzke RP : Elements of mastitis control, J Dairy Sci, 64, 1431-1442 (1981)
- [10] Kirkpatrick CH, Green I, Rich RR, Schade AL : Inhibitors of growth of *Candida albicans* by iron-unsaturated lactoferrin, J Infect Dis, 124, 539-544 (1971)
- [11] 小峯優美子，小峯健一，貝 健三，板垣昌志，植松正巳，木船厚恭，小林 仁，山口高広，熊谷勝男：初乳形成に向けた乾乳期乳腺免疫機構の変動とラクトフェリンの関与，日畜会報，75，205-212（2004）
- [12] Michael O : *Staphylococcus epidermidis*-the "accidental" pathogen, Nat Rev Microbiol, 7, 555-567 (2009)

The Risk Factor of Post-Calving Mastitis and Mitigating This Factor with Inoculating Antibiotics

Takahiro SETO[†], Hirohisa AKAMATSU, Misaki MORIYA, Mikiko NAGAI and Fumihiko SANNO

*Shizuoka Prefecture Livestock Research Institute, 1945 Inokashira, Fujinomiya, 418-0108, Japan

SUMMARY

The risk factor of post-calving mastitis was revealed. The udder, for which the milk resembled an inflammatory effusion at 14 days before calving, tended to be infected by mastitis-causing microbes ($P < 0.05$) or exhibited a low level of lactoferrin during the non-lactating period. This udder posed a high risk of post-calving mastitis. When antibiotics were inoculated in the microbe-positive udder during the non-lactating period, the milk resembled a starch syrup (low-risk of post-calving mastitis) at 14 days before calving.

— Key words : lactoferrin, non-lactating period, post-calving mastitis.

[†] Correspondence to : Takahiro SETO (Shizuoka Prefecture Livestock Research Institute)

1945 Inokashira, Fujinomiya, 418-0108, Japan

TEL 0544-52-0146 FAX 0544-52-0140 E-mail : takahiro1_seto@pref.shizuoka.lg.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 69, 455 ~ 458 (2016)