

乳房炎における分離菌の状況と

薬剤耐性動向

○ 平野皓己・後藤義明・林健
(長野県伊那家畜保健衛生所)

はじめに

管内の乳房炎依頼検査に関して、小林らは平成19年4月～平成24年10月までに計122農場、3,563検体、年間平均で630検体の依頼があったと報告している[1]。今回、我々は平成27年4月～令和3年4月の期間で調査を実施したところ、計93農場、3,051検体、年間平均で508検体の依頼があった。また、管内の全酪農家に対する乳房炎検査依頼のあった農家割合は小林らの調査期間では74.8%であったが、本調査期間では94.8%であった。

今回は小林らの結果と比較しながら、乳房炎における分離菌の状況と薬剤耐性動向を調査した。

材料と方法

材料は平成27年4月～令和3年4月の期間に依頼のあった3,501検体の乳汁とした。調査内容は全体動向における①菌種別分離状況、②月別分離割合、③薬剤耐性について検討した。同様に、依頼件数の多い10農場に関して、④菌種別分離状況、⑤聞き取り調査、⑥薬剤耐性を検討した。

細菌検査は血液寒天培地、マンニット食塩寒天培地、X-SA寒天培地、DHL寒天培地、改良型エドワード培地、サブロー寒天培地にそれぞれ乳汁25 μ Lを塗布し、18～48時間37 $^{\circ}$ C5%炭酸ガス培養した。分離された細菌は選択培地における発育状況を参考に家畜共済における臨床

病理検査要綱に従って同定した[2]。

薬剤感受性試験はディスク拡散法にて黄色ブドウ球菌(SA)、コアグララーゼ陰性ブドウ球菌(CNS)、レンサ球菌(Str)、大腸菌(*E. coli*)に対し、表1に示した通り実施した。

表1 薬剤感受性試験 使用ディスク

	黄色ブドウ球菌 (SA)	コアグララーゼ陰性ブドウ球菌 (CNS)	レンサ球菌 (Str)	大腸菌 (<i>E. coli</i>)
ペニシリン(P)	○	○	○	
アンピシリン(AM)	○	○	○	○
セファゾリン(CZ)	○	○		○
セフトキシム(CXM)				○
ストレプトマイシン(S)				○
ネオマイシン(N)	○	○	○	○
カナマイシン(K)	○	○		○
エリスロマイシン(E)	○	○	○	
オキシテトラサイクリン(T)	○	○	○	○
エンロフロキサシン(ERFX)				○

全体動向

① 菌種別分離状況

検査を実施した3,051検体のうち2,811検体(92.1%)から合計3,897株が分離された。分離された菌はStrが最も多く1,144株(29.4%)、次いでCNS908株(23.3%)、SA816株(20.9%)、*E. coli*458株(11.8%)、*Trueperella pyogenes*136株(3.5%)、*Klebsiella*(Kleb)属119株(3.1%)、*Corynebacterium*属77株(2.0%)、酵母様真菌77株(2.0%)、その他162株(4.2%)であった(表2)。分離株の割合は年次により大きな変動は認められなかったが、*Trueperella pyogenes*や*Corynebacterium*属が小林らの調査

期間と比較して、多く分離されるようになった。また、最も多く分離される菌種が CNS から Str になり、大腸菌群 (CO) は減少、SA は増加していた (図 1)。

年度別分離割合の推移では、Str はどの年度でも最も多く分離された。また、CNS は平成 29 年にかけて減少していたが、その後に増加に転じた。SA は平成 29 年にかけて増加していたが、その後減少に転じた、*E. coli* に関しては平成 30 年から急激な増加傾向が認められた (図 2)。

表 2 全検体の細菌分離結果

年度	H27	H28	H29	H30	H31	R2	合計
検体数	412	482	530	550	525	552	3051
Str	170	187	183	223	177	204	1144
CNS	152	125	116	188	152	175	908
SA	97	137	155	166	136	125	816
E.Coli	77	56	76	70	71	108	458
<i>Trueperella</i>	24	31	29	28	17	7	136
Kleb	5	24	17	15	29	29	119
<i>Corynebacterium</i>	6	4	33	23	9	2	77
酵母様真菌	13	8	11	15	10	20	77
その他	16	35	29	36	27	19	162
合計	560	607	649	764	628	689	3897

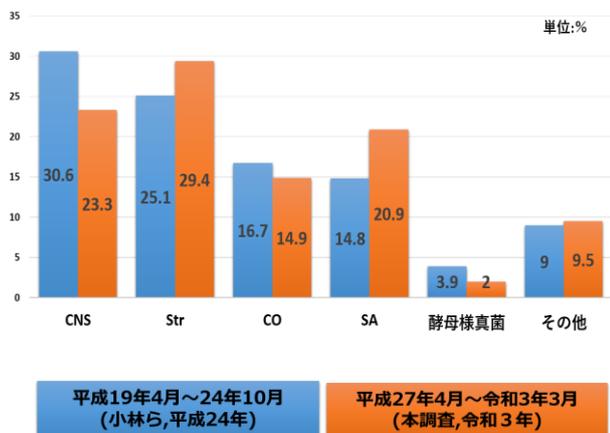


図 1 菌種別分離割合

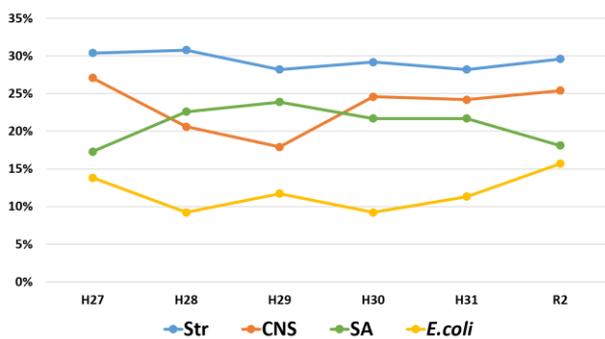


図 2 年度別分離割合

② 月別分離割合

月別分離割合に関して、Str では夏期に減少傾向であり、最高で 34.3% (12 月)、最低で 21.6% (7 月) だった。CNS では夏期に増加傾向であり、最高で 28.0% (8 月)、最低で 16.6% (4 月) だった。SA では夏期に減少傾向であり、最高で 30.3% (3 月)、最低で 16.3% (8 月) だった。*E. coli* では夏期に増加傾向であり、最高で 18.6% (7 月)、最低で 7.3% (2 月) だった (図 3, 4, 5, 6)。

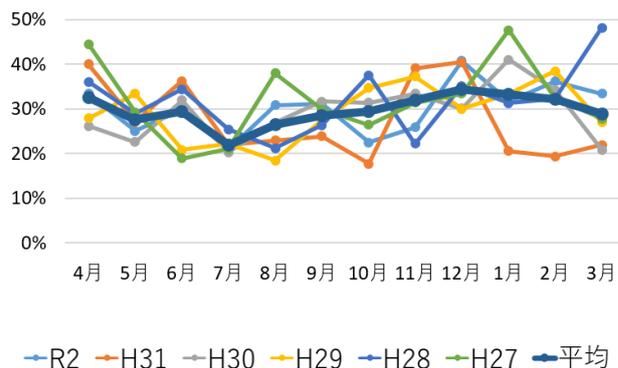


図 3 Str における月別分離割合

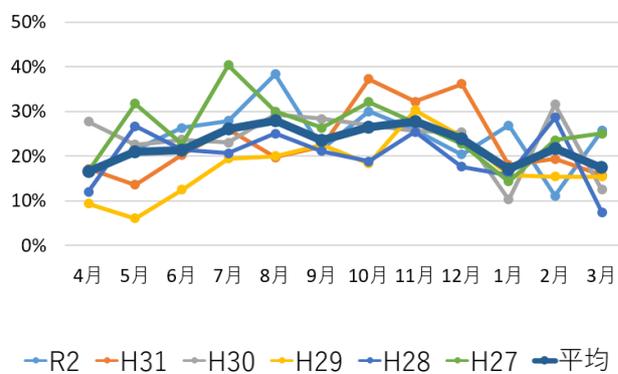


図 4 CNS における月別分離割合

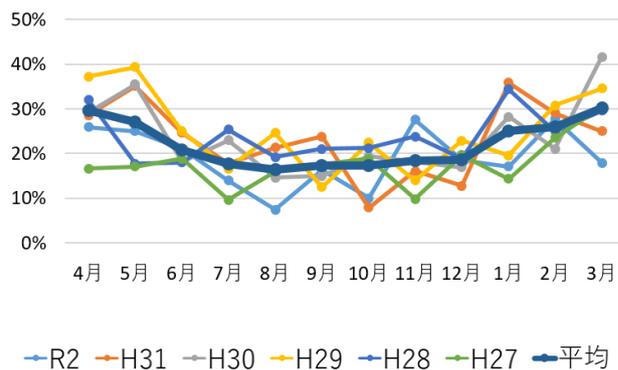


図 5 SA における月別分離割合

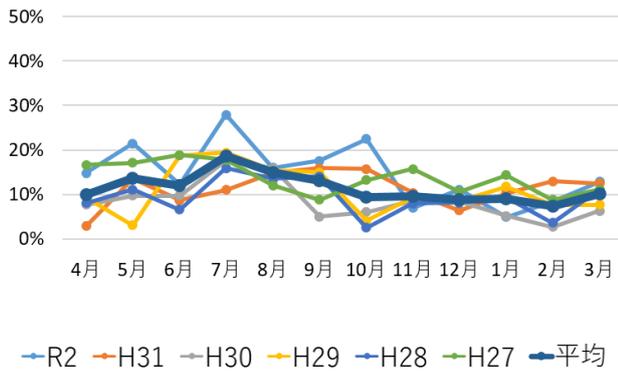


図6 *E. coli* における月別分離割合

③ 薬剤耐性

薬剤耐性に関して、Str、CNS、SA、*E. coli* の4菌種に対して、耐性率 (R=Resist) = (耐性株の数) / (検査株数) × 100 で求めた。また、同様に中間耐性率 (I=Intermediate) 及び感受性率 (S=Susceptible) も算出した。

Str に関して、ペニシリン、アンピシリン、エリスロマイシン及びオキシテトラサイクリンについてはどの年度も一定の耐性率が認められた。また、ネオマイシンでは非常に高い耐性率が認められた (図7, 8, 9, 10, 11)。

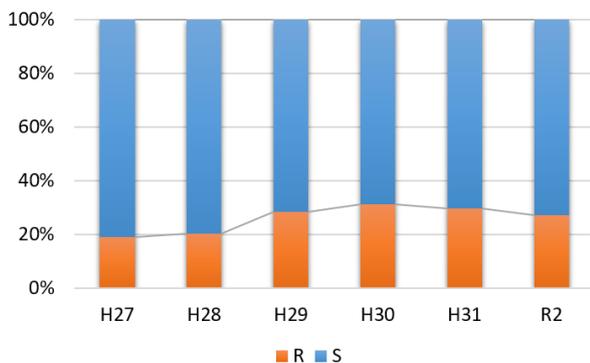


図7 Str におけるペニシリン耐性

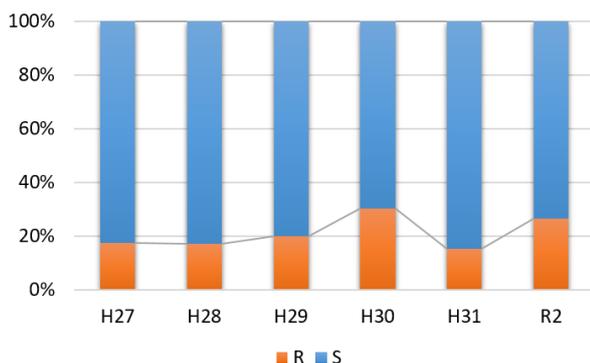


図8 Str におけるアンピシリン耐性

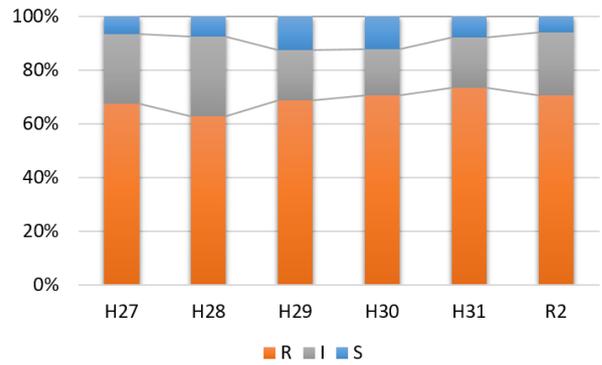


図9 Str におけるエリスロマイシン耐性

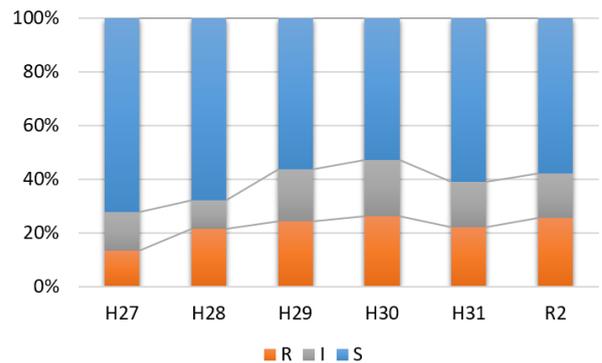


図10 Str におけるオキシテトラサイクリン耐性

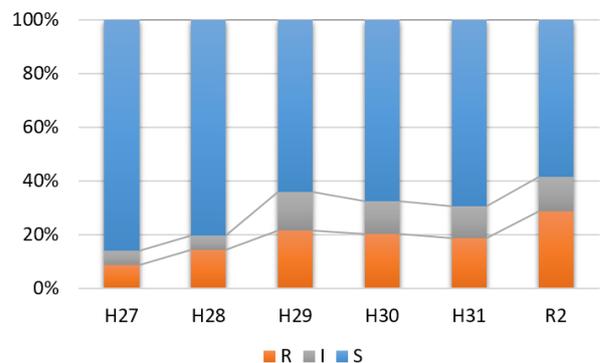


図11 Str におけるネオマイシン耐性

CNS に関して、ペニシリン及びアンピシリンでは約40~60%という高い耐性率だったが、セファゾリンでは低い耐性率であった。また、ネオマイシン、カナマイシンの耐性率及び中間耐性率は減少傾向であり、エリスロマイシンも減少傾向だが耐性率及び中間耐性率が依然高く認められた。オキシテトラサイクリンに関してはどの年度も10%程度の耐性率であった (図12, 13, 14, 15, 16, 17, 18)。

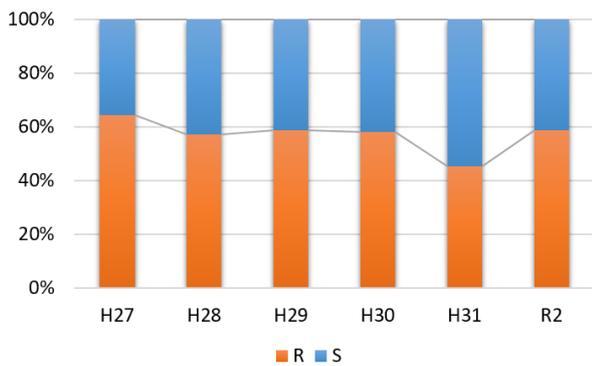


図 12 CNS におけるペニシリン耐性

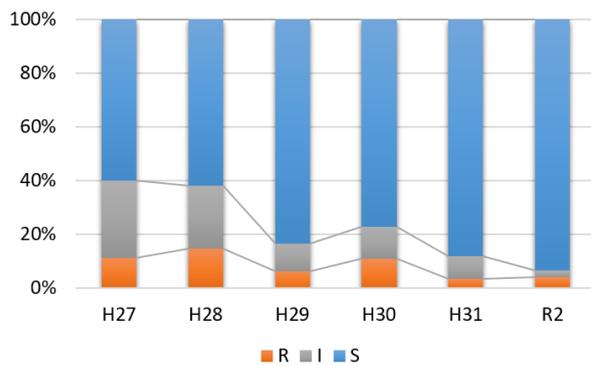


図 16 CNS におけるカナマイシン耐性

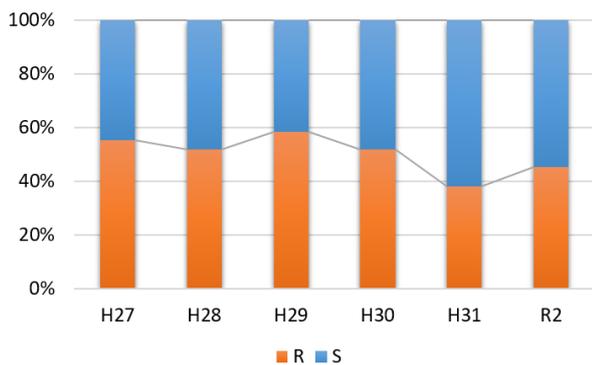


図 13 CNS におけるアンピシリン耐性

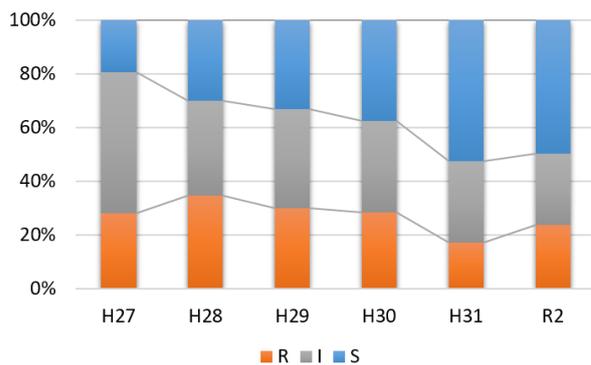


図 17 CNS におけるエリスロマイシン耐性

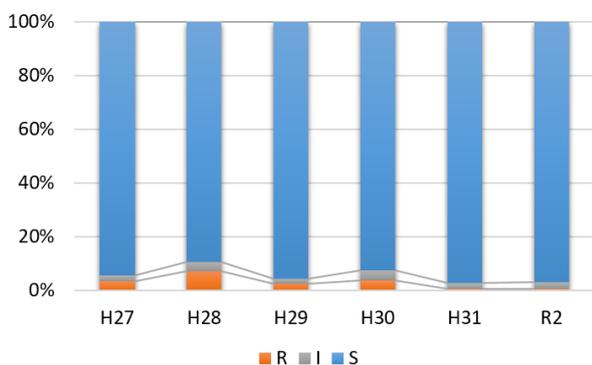


図 14 CNS におけるセフトラゾリン耐性

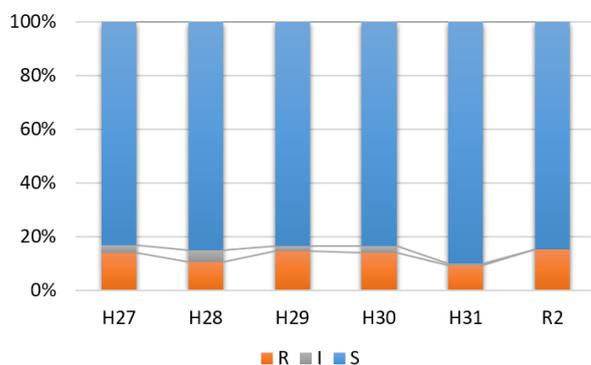


図 18 CNS におけるオキシテトラサイクリン耐性

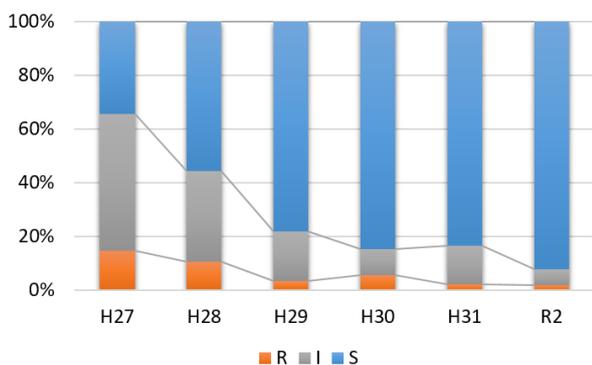


図 15 CNS におけるネオマイシン耐性

SA に関して、ペニシリン及びアンピシリンの耐性率は減少傾向にあり、セフトラゾリンでは耐性率は非常に低く認められた。ネオマイシン、エリスロマイシンも耐性率は減少傾向であったが、中間耐性率が高い状況であった。カナマイシンに関しては、耐性率及び中間耐性率の減少が認められた。オキシテトラサイクリンはどの年度も低い耐性率で推移していた（図 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25）。

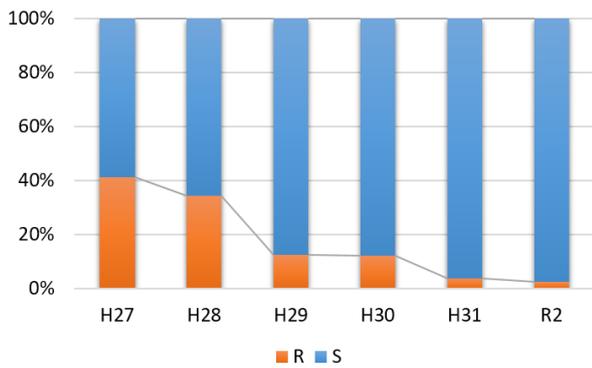


図 19 SAにおけるペニシリン耐性

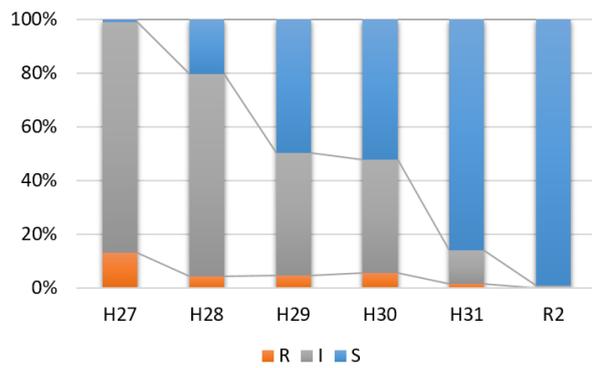


図 23 SAにおけるカナマイシン耐性

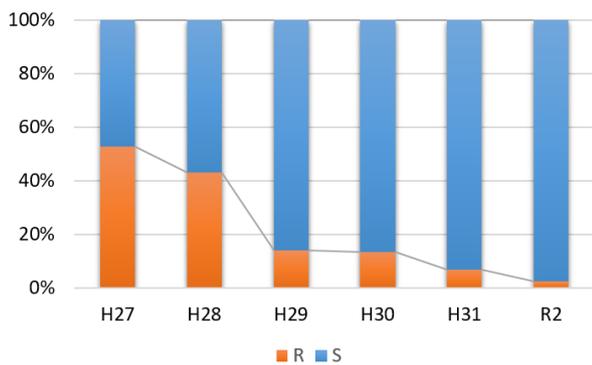


図 20 SAにおけるアンピシリン耐性

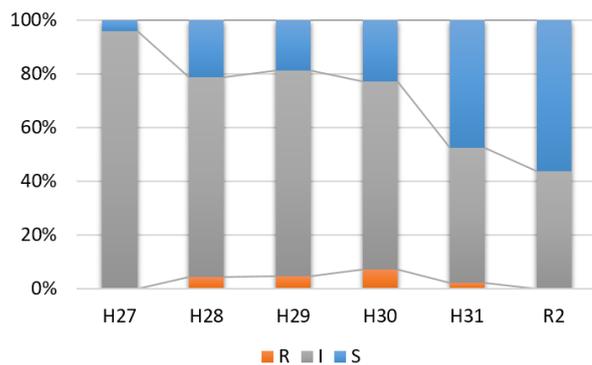


図 24 SAにおけるエリスロマイシン耐性

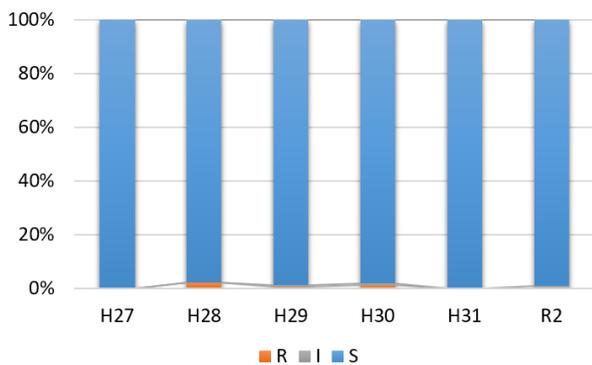


図 21 SAにおけるセファゾリン耐性

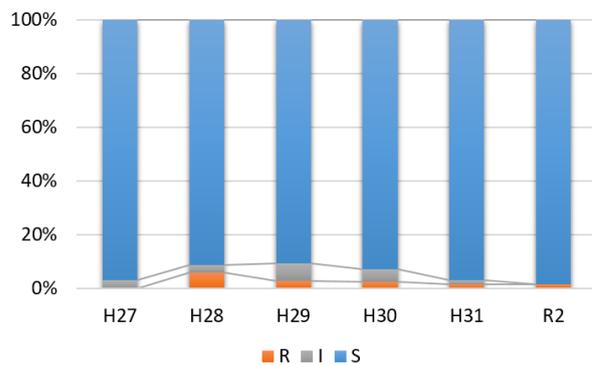


図 25 SAにおけるオキシテトラサイクリン耐性

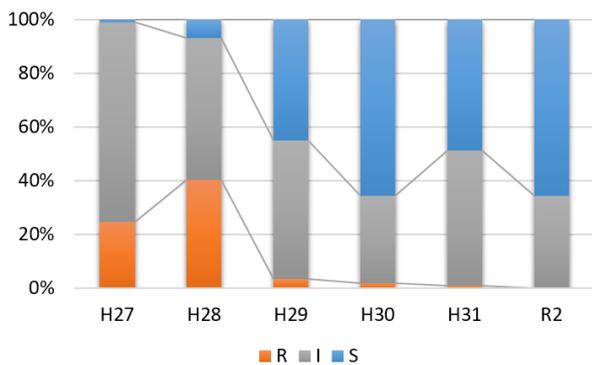


図 22 SAにおけるネオマイシン耐性

E. coli に関してはアンピシリン、セフトロキム、ストレプトマイシンでの耐性率が減少傾向であった。しかし、セファゾリンにおける耐性率は平成 29 年から減少しているにも関わらず、中間耐性率が平成 31 年より上昇しており、結果として感受性率が減少していた。同様にネオマイシンについてもセファゾリンと同様の傾向が認められた。また、カナマイシン、オキシテトラサイクリン、エンロフロキサシンでは耐性率の減少が認められた（図 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33）。

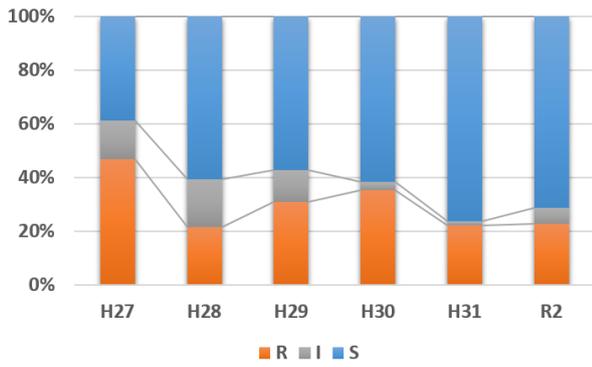


図 26 *E. coli* におけるアンピシリン耐性

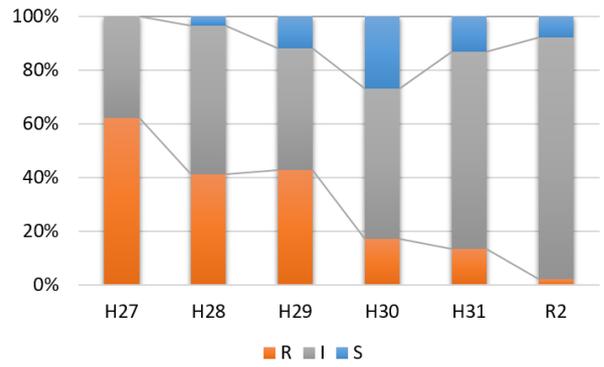


図 30 *E. coli* におけるネオマイシン耐性

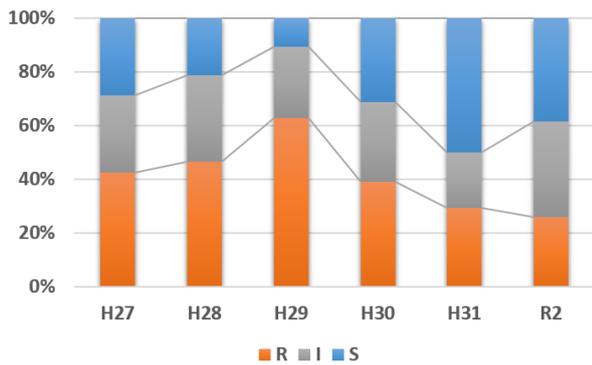


図 27 *E. coli* におけるセファゾリン耐性

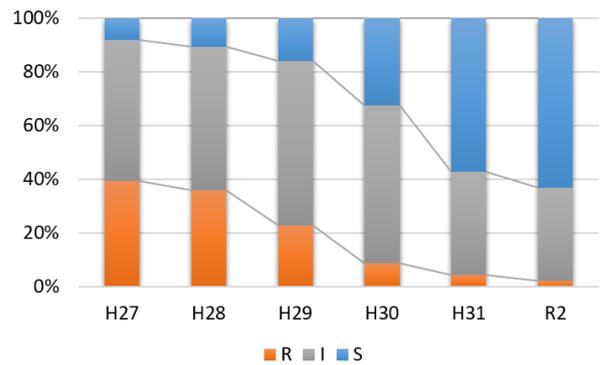


図 31 *E. coli* におけるカナマイシン耐性

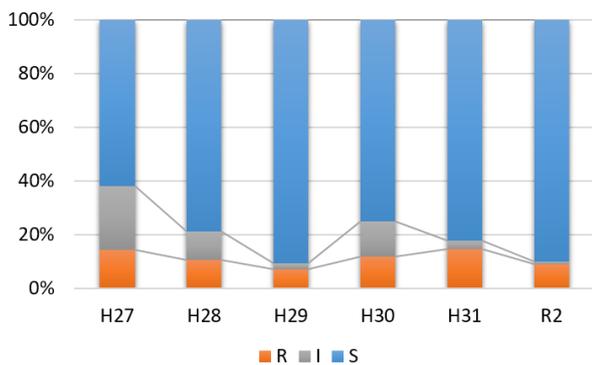


図 28 *E. coli* におけるセフロキシム耐性

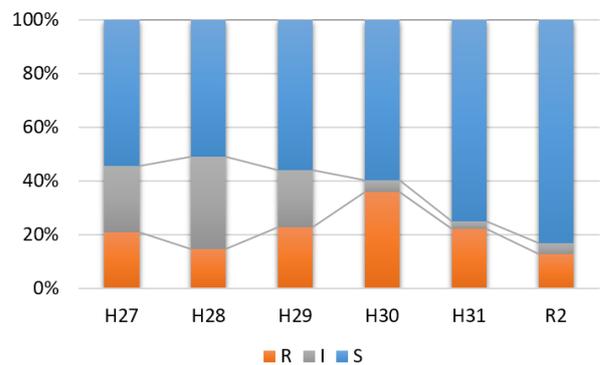


図 32 *E. coli* におけるオキシテトラサイクリン耐性

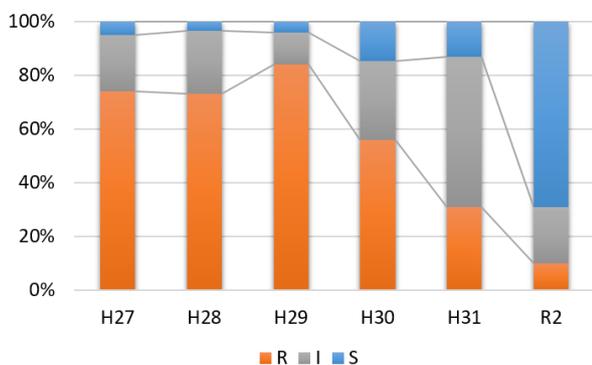


図 29 *E. coli* におけるストレプトマイシン耐性

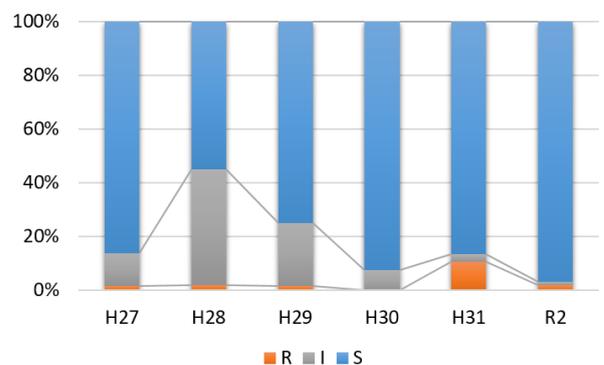


図 33 *E. coli* におけるエンロフロキサシン耐性

依頼件数の多い10農場

① 菌種別分離状況

依頼件数の多い10農場の細菌分離結果を表3に示した。10農場の検体数の合計は1,552検体であった。10農場の細菌分離状況は、Strが最も多く629株、次いでCNS454株、SA411株、*E. coli*195株、Kleb49株、酵母様真菌33株、その他168株となり合計1,939株が分離された。

また、上位3農場A～CではSAが最も多く分離され、その他の農場ではH農場を除きStrが最も多く分離された。H農場では*E. coli*及びKlebが最も多く分離された（図34）。

1検体あたりに分離される株数の割合＝（分離株数）／（検査検体数）×100で算出した。各農場の比較では最大がF農場で1.61に対し、最少はH農場で1.02、平均1.24となり混合感染に関しても大きな差が認められた。

表3 10農場の細菌分離結果

農場	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	合計	
検体数	350	205	181	159	157	124	116	88	86	86	1552	
分離株数	Str	120	64	39	83	86	88	64	12	33	40	629
	CNS	119	40	55	27	44	60	41	18	29	21	454
	SA	126	83	65	23	22	30	31	3	7	21	411
	<i>E. coli</i>	47	23	26	20	13	6	5	23	20	12	195
	Kleb	10	5	0	2	1	1	1	14	11	4	49
	酵母	7	1	2	11	7	0	2	1	2	0	33
	その他	29	17	24	16	18	15	11	19	10	9	168
合計	458	233	211	182	191	200	155	90	112	107	1939	
株数/検体数	1.30	1.13	1.16	1.14	1.21	1.61	1.33	1.02	1.30	1.24	1.24	

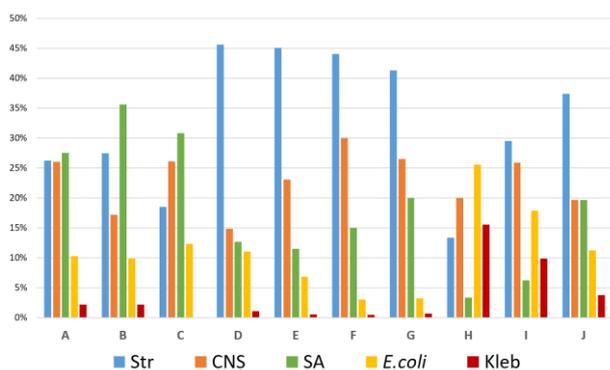


図34 10農場の菌種別分離状況

② 聞き取り調査

依頼件数の多い10農場のうち一部の農場について診療獣医師からの聞き取り調査を実施した（表4）。搾乳頭数は25～70頭でいずれも繋ぎ飼いであった。また、1年あたりの搾乳頭数に対する依頼検体数の割合＝（依頼検体数）／（搾乳頭数）×100で算出した。その結果、A及びD農場が他農場と比較し2倍ほどあり、乳房炎を繰り返している可能性が示唆された。

また、SAが多く分離されるA及びC農場では乳量確保のため、SA罹患牛を廃用できず治療を繰り返しており、Strが多く分離されるD、E及びF農場では軽症でも検査依頼をする傾向にあった。H農場では生のおが粉を使用していた。

このように搾乳頭数や飼養形態は分離菌状況に対して関連性は低かったが、診療獣医師による聞き取り内容による治療方針は分離菌状況と関連性が高かった。

表4 聞き取り調査

農場	搾乳頭数	飼養形態	株数/搾乳頭数 （1年あたり）	分離状況	聞き取り内容
A	48頭	繋ぎ	1.21	Str・CNS・SA	SA罹患牛を廃用しない 繰り返す乳房炎が多い
B	70頭	繋ぎ	0.48	Str・SA	軽症でも検査依頼 繰り返す乳房炎は少ない
C	54頭	繋ぎ	0.55	CNS・SA	SA罹患牛を廃用しない
D	25頭	繋ぎ	1.06	Strが顕著	軽症でも検査依頼
E	50頭	繋ぎ	0.52	Strが顕著	軽症でも検査依頼
F	38頭	繋ぎ	0.54	Strが顕著	軽症でも検査依頼
H	30頭	繋ぎ	0.48	<i>E. coli</i> ・Kleb	牛床は清潔 生のおが粉を使用

③ 薬剤耐性

表4の農場のうち、Strが顕著に分離されているD、E及びF農場に関してStrに対する薬剤耐性を調査した。その結果、D農場のアンピシリンに対する薬剤耐性以外、どの農場でも全ての薬剤に一定の耐性を保有していることが確認された（図35、36、37）。

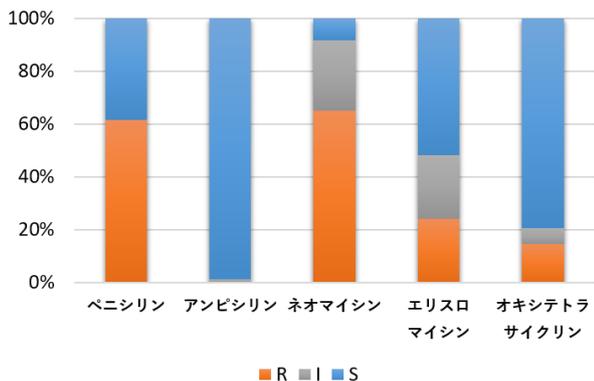


図 35 D 農場の Str における薬剤耐性

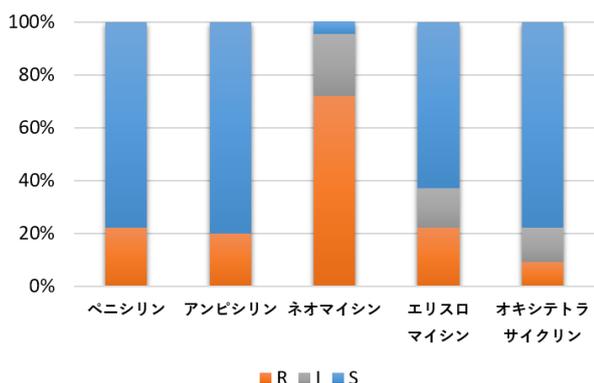


図 36 E 農場の Str における薬剤耐性

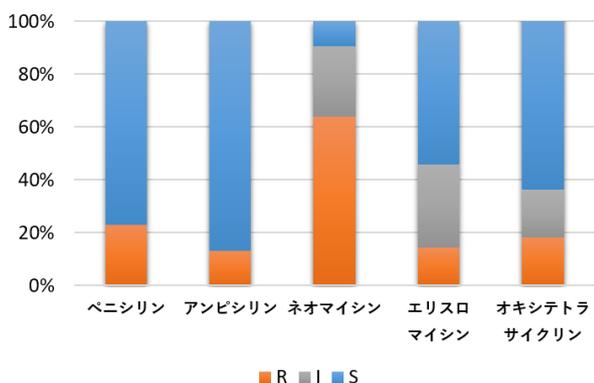


図 37 F 農場の Str における薬剤耐性

また、各農場において *E. coli* に対するそれぞれの薬剤耐性を調査した。アンピシリンに関して、耐性率は約 10~66%であった。セファゾリン、ストレプトマイシン、ネオマイシン及びカナマイシンに関しては中間耐性率が高く、多くの農場で感受性率が低かった。オキシテトラサイクリンに関しては農場ごとの差が大きく、エンロフロキサシンでは耐性率は低かったが、20%程度の中間耐性率がある農場も多く認められた (図 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45)。

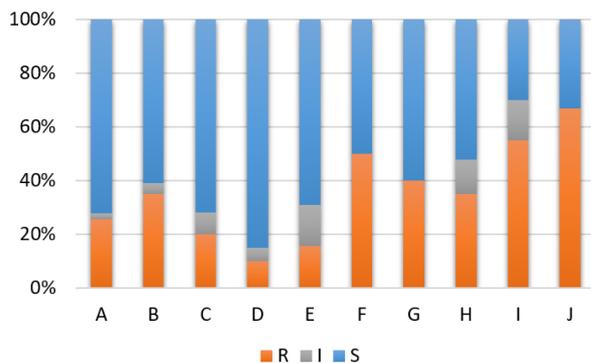


図 38 10 農場の *E. coli* におけるアンピシリン耐性

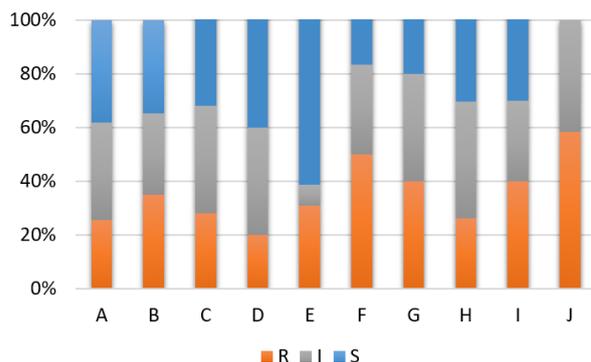


図 39 10 農場の *E. coli* におけるセファゾリン耐性

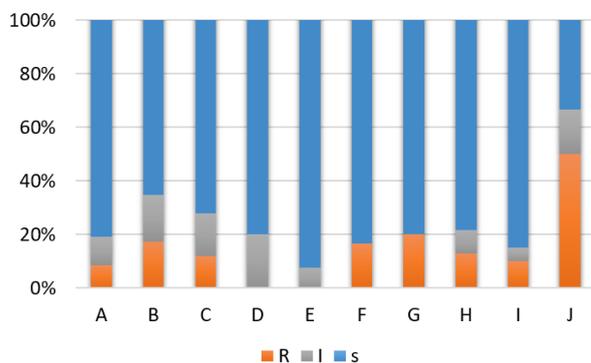


図 40 10 農場の *E. coli* におけるセフロキシム耐性

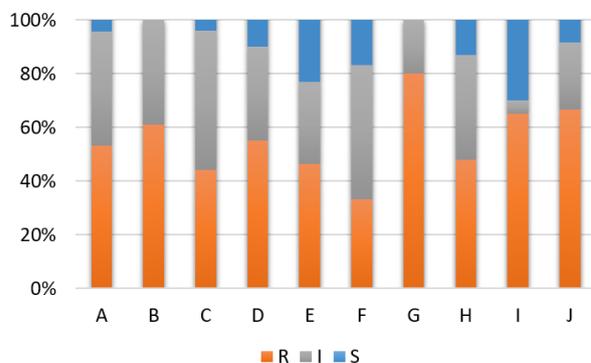


図 41 10 農場の *E. coli* におけるストレプトマイシン耐性

考 察

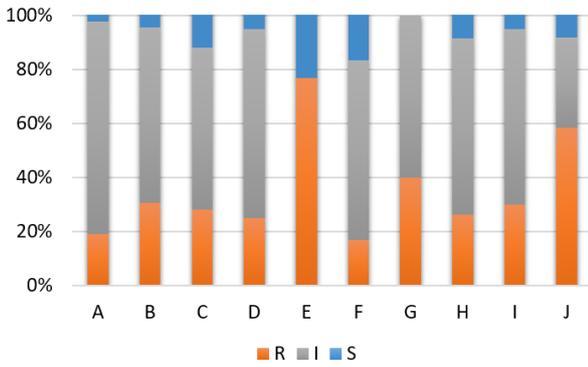


図 42 10 農場の *E. coli* におけるネオマイシン耐性

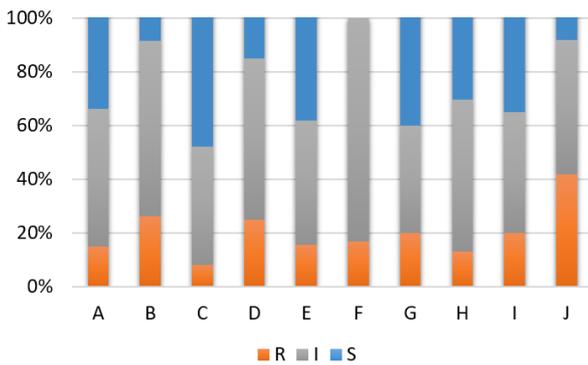


図 43 10 農場の *E. coli* におけるカナマイシン耐性

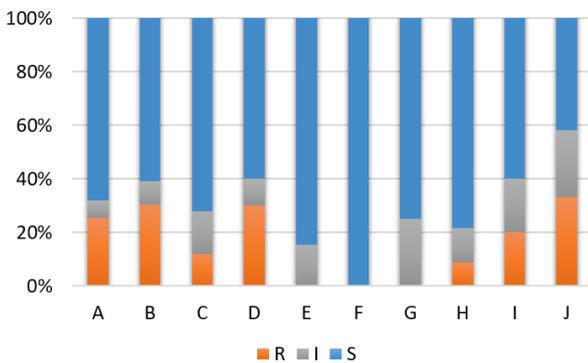


図 44 10 農場の *E. coli* におけるオキシテトラサイクリン耐性

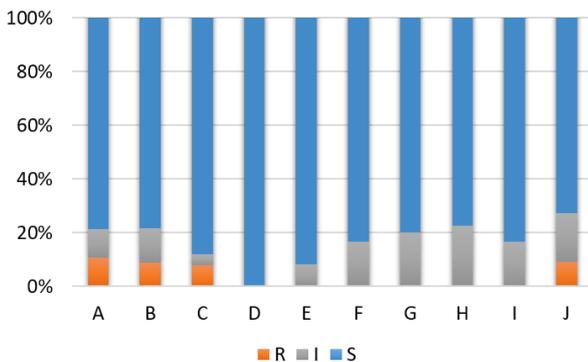


図 45 10 農場の *E. coli* におけるエンロフロキサシン耐性

小林らの調査期間と比較し、本調査では多くの違いが認められた。Str では本調査では最多の分離割合であり、耐性菌も一定数認められた。CNS の分離菌数は増加傾向だが、一部の薬剤で耐性菌は減少傾向であった。SA の分離菌数は減少傾向であり、薬剤耐性菌も減少傾向であった。*E. coli* は急激に分離菌が増加していることに加え、一部の薬剤では耐性率が減少しているにも関わらず、中間耐性率が増加していた。*E. coli* における中間耐性率の増加は過去にデータがなく、これからの動向を今後も注視していく必要があると思われた。加えて、農場ごとの菌株の耐性遺伝子解析などが課題と思われた。

通常であれば個別の検査結果だけを診療獣医師に返却するが、このように全体集計では過去の検査結果とは異なる傾向も多くみられることから、定期的な集計及び分析が重要であると思われた。また、数値化やグラフ化を行うことでその地域の実情に即したデータに基づいた乳房炎対策が可能であると考えられた。これらのデータを診療獣医師や畜産農家と共有することで、畜産農家の乳房炎に対する衛生指導にも寄与することができ、酪農の生産性にも貢献できると考えられる。

今後の検討課題として、継続したデータ集計や分析を行うために家畜保健衛生所として確立したデータ集計や分析の手法を確立する必要があると思われる。衛生指導や乳房炎対策は継続がすることが第一であり、それらの基礎となるデータ集計を複数の家畜保健衛生所職員が行えるようにならなければいけないと考える。

引用文献

- [1] 小林ら：乳房炎の依頼検査と現状の課題
長野県畜産技術研究発表会 (2012)
- [2] 全国農業共済協会：家畜共済における臨床病理検査要領, p. 191-222 (2005)