

牛マイコプラズマ乳房炎の防除技術



平成 30 年 3 月
家畜衛生対策推進協議会

目 次

発刊の趣旨	1
第1章 マイコプラズマの微生物学的特徴	2
1-1 マイコプラズマの分類と生物学的特性	2
1-2 牛乳房炎の原因となるマイコプラズマの生物学的特性	2
1-3 牛乳房炎の原因となるマイコプラズマの薬剤感受性特性	3
1-4 牛乳房炎診断におけるマイコプラズマ種同定の重要性	4
第2章 マイコプラズマ乳房炎の病態	8
2-1 病理学的特徴	8
2-2 免疫学的特徴	8
第3章 牛乳房炎の原因となるマイコプラズマ種の動態	10
第4章 牛マイコプラズマ乳房炎の摘発	15
4-1 臨床症状による感染牛の摘発	15
4-2 バルクタンクスクリーニングの概要とその実際	15
4-2-1 バルクタンクスクリーニングの概要	15
4-2-2 バルクタンク乳の採取と検査	15
4-2-3 検査結果の解釈とその後の衛生対策	16
① 関係機関との情報共有	17
② 全頭検査（個体検査）	18
③ 感染牛の隔離	18
④ 感染牛の搾乳	18
⑤ 治療対象牛の選定と処置	18
4-2-4 バルクタンクスクリーニングの限界	19
4-2-5 バルクタンクスクリーニング実施上の注意点	19
4-3 マイコプラズマの基本的な検査法	19
4-3-1 マイコプラズマの検査法① 培養法	19
4-3-2 マイコプラズマの検査法② 遺伝子検査法（迅速検査法）	23
第5章 牛マイコプラズマ乳房炎に対する予防対策	26
5-1 感染牛の摘発	26
5-2 拡散の防止	26

第6章 牛マイコプラズマ乳房炎の発生から終息までの基本的な農場対応 ..	28
6-1 農場でマイコプラズマ性乳房炎が発生した時にまずやること	28
6-2 感染牛の隔離	28
6-3 基本的な治療方法（薬剤感受性）	29
6-4 発生農場における衛生管理	29
6-4-1 個体検査	29
6-4-2 着地検査	30
6-4-3 初産牛の検査、乾乳期の検査	30
6-5 清浄化の目安とその後の農場管理	30
第7章 牛マイコプラズマ乳房炎の発生状況等に関する疫学解析	31
おわりに	32

巻末付図

発刊の趣旨

マイコプラズマは家畜に強い伝染力を有する高病原性の微生物であり、乳房炎の原因微生物として生乳生産を著しく阻害する。これまでの乳房炎原因菌と異なり抗生物質による治療が困難であること、また、同種の微生物が子牛の鼻腔から分離されることなども本病の制圧を困難なものにしている。本書ではマイコプラズマについて微生物学的な概要を示すとともに、生産阻害要因として、その排除が喫緊の課題とされる牛マイコプラズマ乳房炎の診断（検査）および予防について記載した。これらの情報が我が国における牛マイコプラズマ乳房炎の制圧に向けた一助となれば幸いである。

第1章 マイコプラズマの微生物学的特徴

1-1 マイコプラズマの分類と生物学的特性

マイコプラズマは分類学上、真正細菌・グラム陽性菌門・Mollicutes 綱と呼ばれるグループに属している（表 1-1）。このグループに属する微生物は、細胞壁成分であるペプチドグリカン合成できないため細胞壁がなく、可塑性を示すことから過滅菌できない。当然ながら細胞壁合成を阻害する抗生剤（βラクタム剤）はマイコプラズマに対し効果を示さない。また、一部のマイコプラズマでは細胞膜の表面に粘液層または莢膜様物質を持つものもある。莢膜様物質の主成分はガラクトサンあるいはヘキサミン重合体などであり、付着や病原性に関与している。大きさは 0.2~0.6 μm 程度であり他の細菌と比べても極めて小さく、細胞膜の強度は他の細菌と比べても強固であるため球状・滴状など様々な形状を保ち安定している。

マイコプラズマはゲノムサイズが 0.6~1.8M 塩基対と極めて小さいため遺伝子数も少なく、他の独立栄養生物では保有されている遺伝子の多くが欠損している。脂肪酸やアミノ酸、細胞膜構成成分のコレステロールなどの栄養素は合成不可能であり、これら栄養素は宿主から獲得する。マイコプラズマが示す宿主特異性の高さや感染部位の厳密性はこのようなゲノム特性の結果であると考えられる。

マイコプラズマにはエネルギー産生源として、糖を利用する解糖系とアルギニンを利用する代謝経路の二系統が存在する。どの代謝系を利用するかは種によって異なり、中には両代謝系路を利用可能な種もある。解糖系を利用可能な発酵性マイコプラズマの場合、糖から酸を産生する。一方、アルギニンを利用する非発酵性マイコプラズマではアルギニンからアンモニアが産生される。マイコプラズマ用の培地にフェノールレッドなどの pH 指示薬を添加すれば、培養に伴い発酵性マイコプラズマでは酸の産生による黄変、アルギニン分解性マイコプラズマではアンモニアの産生による赤変が確認される（図 1-1、表 1-2）。

1-2 牛乳房炎の原因となるマイコプラズマの生物学的特性

乳房炎は我が国における乳牛の全傷病疾病の約 1/3 を占め、乳牛や酪農家にとっては最も身近な職業病とも言える病気である。本病は致死的な疾病ではないが、泌乳停止や乳量・乳質の低下をはじめとした様々な経済的損失を伴うた

め、酪農業において古くから最重要疾病として認識されている。乳房炎の原因微生物のほとんどはウシの体表や周辺環境に生息するブドウ球菌、レンサ球菌、大腸菌などの一般細菌であるが、近年、北海道を中心にマイコプラズマによる乳房炎の発生数が増加している。北海道農業共済組合連合会の報告によると、本疾病の道内診療件数は2000年までは年0～2件程度であったが、2006～2010年では年6～17件と著増しており、臨床症状を示さない不顕性感染を含めた感染事例数は数十事例に達する可能性がある。我が国における牛マイコプラズマ乳房炎は1977年に熊本県で発生した *Mycoplasma bovis* による事例が最初であり、本事例以降2005年頃までは *M. bovis* あるいは *M. bovigenitalium* による牛乳房炎が全国で散発的に確認されていた。2006年以降は *M. bovis*、*M. bovigenitalium* に加え *M. canadense* や *M. californicum* による牛乳房炎が北海道を中心に発生している。マイコプラズマによる乳房炎は他の多くの一般細菌による乳房炎と比べ、極めて強い伝染性と、抗菌剤による治療が奏功し難い難治性疾病であることが大きな特徴として挙げられる。そのため、本病罹患牛や不顕性感染牛は感染拡大を防ぐために淘汰されることも珍しくなく、酪農家に対して更なる経済的損失を強いる結果となる。

1-3 牛マイコプラズマの薬剤感受性特性

マイコプラズマ感染症（ウシ以外の動物種も含む）の治療には、マクロライド系薬剤、リンコマイシン系薬剤、ニューキノロン系薬剤、テトラサイクリン系薬剤、クロラムフェニコール系薬剤が一般的に用いられているが、多くの牛マイコプラズマ種は14員環マクロライドであるエリスロマイシンに対し自然耐性であり、アルギニン分解性の牛マイコプラズマ種 (*M. alkalescens*、*M. arginini*、*M. canadense*) は16員環マクロライドであるチルミコシンに対しても自然耐性である。また、我が国でも様々な薬剤に対する牛マイコプラズマの獲得耐性が報告されている。*M. bovis* や *M. bovirhinis* では16員環マクロライドであるタイロシンやチルミコシン、さらにテトラサイクリン系薬剤に対する感受性が近年低下している。さらに、ニューキノロン系薬剤やリンコマイシン系薬剤に対する低感受性株の散発的な発生も確認されている。一方、*M. bovigenitalium* や *M. californicum* ではこれら薬剤に対する感受性は概ね維持されている。マイコプラズマの獲得耐性は、ほとんどが構造遺伝子の点変異に基づくため、個々のマイコプラズマ間で伝達される可能性は低いですが、一旦、耐性化すると容易に感

受性は回復しない。これら薬剤感受性の現況を反映し、本疾病の治療は実施されているが、その詳細については6-3に記載されているので参考にされたい。

1-4 牛乳房炎の診断におけるマイコプラズマ種同定の重要性

M. bovis は牛マイコプラズマ乳房炎において最も頻繁に分離される原因種であり、病原性が最も強い。また乳房炎だけでなく肺炎、中耳炎、関節炎、生殖器炎といった様々な牛疾病の原因ともなる（巻末付図1~3参照）。*M. bovis* による乳房炎は薬剤耐性の有無にかかわらず難治性的の場合が多く、重篤な症状及び強い伝染力から治療の適応外と判断され、予防的に淘汰されることが多い。一方、*M. bovigenitalium*、*M. californicum*、及び *M. canadense* による牛乳房炎は抗菌薬の投与により治癒する事例も認められる。このような状況からも、*M. bovis* とそれ以外のマイコプラズマ種による乳房炎を区別して考えることは極めて重要である。それぞれの牛マイコプラズマ種による乳房炎の対策については4-2-3で詳述しているので参考にされたい。

また、乳房炎原因種の多くは健康牛の呼吸器や泌尿生殖器からも分離されることがあり、これら不顕性感染牛が重要な感染源となっている可能性が高い。一方、*Acholeplasma* 属や *M. arginini* は正常な乳汁から稀に検出されるが、これら以外のマイコプラズマ種は正常な乳腺組織には存在しない。マイコプラズマの分離・同定の際、*Acholeplasma* 属や *M. arginini* と、乳房炎原因種とは明確に鑑別する必要がある。

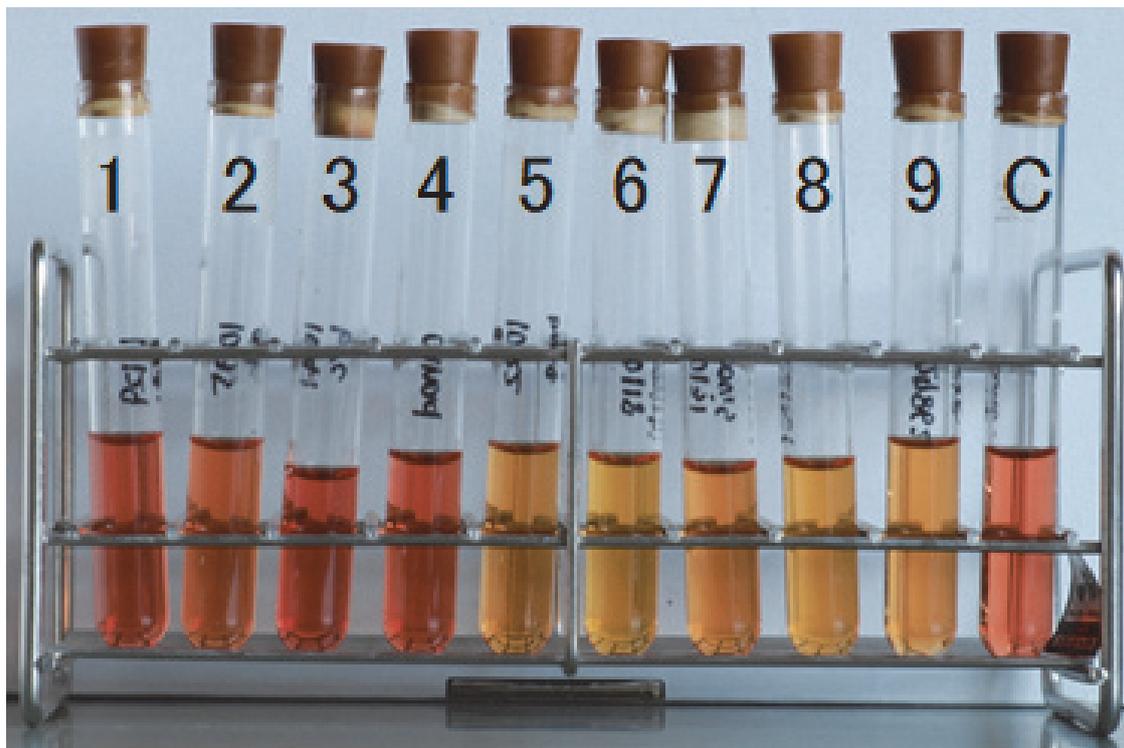


図 1-1 DNA 添加 Hayflick' s 変法培地による牛マイコプラズマ培養写真 (37℃、72 時間培養後) (秦 原図)

1. *M. arginini*、2. *M. alkalescens*、3. *M. bovoculi*、4. *M. canadense*、
5. *M. bovis genitalium*、6. *M. bovirhinis*、7. *M. bovis*、8. *M. californicum*、
9. *M. dispar*、C. 陰性コントロール、1～4 : アルギニン分解性マイコプラズマは赤変し、5～9 : 非アルギニン分解性マイコプラズマは黄変する

表 1-1 マイコプラズマの分類と特性

division (門)	class (綱)	order (目)	family (科)	genus (属)	コレステロール 要求性	通常生息域	他の特性
Tenericutes	Mollicutes	Mycoplasmatales	Mycoplasmataceae	<i>Mycoplasma</i>	+	脊椎動物	
				<i>Ureaplasma</i>	+	脊椎動物	尿素代謝
Acholeplasmatales	Acholeplasmataceae	Acholeplasmataceae	Acholeplasmataceae	<i>Acholeplasma</i>	-	脊椎動物、 植物、昆虫	
				<i>(Phytoplasma)</i>	-	植物	
				<i>Anaeroplasmataceae</i>	+	反芻獣の腸	偏性嫌気性
Entomoplasmatales	Entomoplasmataceae	Entomoplasmataceae	Entomoplasmataceae	<i>Asteroplasma</i>	-	反芻獣の胃	偏性嫌気性
				<i>Mesoplasma</i>	-	植物、昆虫	低温発育
Spiroplasmatales	Spiroplasmataceae	Spiroplasmataceae	Spiroplasmataceae	<i>Spiroplasma</i>	+	植物、昆虫	螺旋形 運動性あり
				<i>Haloplasma</i>	-	高塩分環境	偏性嫌気性 好塩性

表 1-2 牛から分離される Mollicutes 綱微生物とその主性状

菌種	ウシ以外の宿主	主要な鑑別性状									
		グルコース 発酵能	アルギニン 加水分解能	ホスファターゼ 活性	フィルムスポット 産生	好氣的 嫌氣的	テトラゾリウム還元 嫌氣的	血球 吸着能			
<i>M.alkalescens</i>		-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>M.alvi</i>	ハタネズミ	+	+	nt	-	-	+	+	+	+	nt
<i>M.arginini</i>	ヒツジ、ヤギ、ブタ、イヌ、その他	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-
<i>M.bovigenitalium</i>	イヌ、ブタ、ウマ	-	-	+	+	-	+	+	+	+	d
<i>M.bovirhinis</i>		+	-	d	-	+	+	+	+	+	d
<i>M.bovis</i>	ヤギ	-	-	+	+	+	+	+	+	+	x
<i>M.bovoculi</i>		+	d	d	+	+	+	+	+	+	-
<i>M.californicum</i>		-	-	+	-	-	-	-	nt	nt	nt
<i>M.canadense</i>		-	+	w	-	-	-	-	+	+	-
<i>M.dispar</i>		+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
<i>Mycoplasma leachii</i>		+	-	+	-	-	-	-	+	+	-
<i>M.mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i>	スイギュウ、ヤギ	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
<i>M.verecundum</i>		-	-	+	+	-	-	-	nt	nt	nt
<i>U.diversum</i>		-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
<i>A.axanthum</i>	ウマ、ブタ、ガチヨウ	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-
<i>A.laidlawii</i>	ヒツジ、ヤギ、ブタ、ヒト、その他	+	-	-	-	-	-	w	+	+	-
<i>A.modicum</i>	ブタ	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-
<i>An.abactoclasticum</i>	ヒツジ	+	-	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt
<i>An.bactoclasticum</i>	ヒツジ	+	-	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt

+: 90%以上陽性 -: 90%以上陰性 d: 11-89%陽性 nt: 未調査 w: 反応が弱い x: 確定的でない

第2章 マイコプラズマ乳房炎の病態

2-1 病理学的特徴

臨床型に移行した牛マイコプラズマ乳房炎で認められる顕著な泌乳量減少および泌乳停止について、その詳細なメカニズムは十分に解明されていない。ウシの乳房に *M. bovis* を注入した実験感染では、乳腺組織に炎症像は確認されるものの、乳腺構造は比較的良好に維持されている。一方、乳腺腔や乳管には白血球や *M. bovis* などによる凝集塊が多く確認されており、合成された乳の流路を阻害し、この状態が持続することによって最終的な泌乳停止に至る可能性が推察されている。ウシの *M. bovis* 感染では、肺、関節および耳などで「乾酪壊死」と言われる、無数の白い凝集物（凝固壊死）から成る病変が形成される。これは、マイコプラズマと白血球の壊死退廃物が集まったマイコプラズマ感染症に特徴的な病変であり、それらが乳腺組織からの乳分泌を物理的に阻害しているものと考えられる。こうした状態が持続することにより、最終的には強制乾乳と同様の機序において乳腺組織の退縮が引き起こされる。牛マイコプラズマ乳房炎において、急激な泌乳量の低下や泌乳停止に至った場合、乳の合成が完全に再開する可能性は低いとされる。

2-2 免疫学的特徴

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房感染と異なり 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。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。

M. bovis は免疫担当細胞の機能を低下させることが知られており、そのため免疫応答の開始時期が遅くなると考えられる。免疫系を逃れた *M. bovis* は急激な増殖を続け、免疫担当細胞の機能低下やアポトーシス（細胞死）を誘導する。*M. bovis* による乳房炎では、殺菌処理を担う好中球でほぼ構成される乳中体細胞数が 100~1,000 万/ml まで上昇するにもかかわらず、乳汁中の *M. bovis* を殺滅することは困難とされている（巻末付図 4-11 参照）。また、*M. bovis* は免疫担

当細胞のみならず、乳腺細胞への持続的感染が可能であるため、免疫系から効果的に逃れることができる。さらに、呼吸器や生殖器などの一次感染部位からリンパ管や血管を介して、二次感染部位である全身の諸臓器への感染も可能である（下向感染）。

第3章 牛乳房炎の原因となるマイコプラズマ種の動態

牛マイコプラズマ乳房炎の疫学解析には分子疫学解析法（パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）法等）が用いられる（図3-1、3-2、3-3）。乳房炎は感染様式により搾乳作業や接触などを介し伝染性にまん延する伝染性乳房炎と、敷料や水回りなどの牛舎内環境に生息する微生物により散発的に発生する環境性乳房炎に大別される。マイコプラズマは典型的な伝染性乳房炎原因菌であり、しばしば集団感染を引き起こす。

乳房炎原因菌は生体外から乳頭口を経て乳房内へ侵入し感染するのが一般的である（上向感染）。マイコプラズマも同様であり、成牛間の乳房感染は主に搾乳作業を介した感染乳への接触による。マイコプラズマ乳房炎乳では1mLあたり $10^5 \sim 10^9$ 個のマイコプラズマが存在しており、わずかな感染乳であっても乳房内に侵入すれば乳房感染が成立する。マイコプラズマは生体外であっても2～4週間生存が可能であり、感染乳で汚染された搾乳器具や牛舎内環境からも上向感染が成立可能である。乳房感染牛が早期に摘発可能であれば、これら上向感染は予防できるが、明らかな乳房炎症状を示す乳房感染牛が存在する一方で、臨床症状を伴わない不顕性感染牛も認められる。これら不顕性乳房感染牛は後述するバルクタンクスクリーニング検査により摘発が可能である。乳房炎の原因となるマイコプラズマは哺乳を介し親牛の感染乳から子牛に伝播し、子牛の鼻腔に定着するが、多くの感染子牛は無症状である。また、哺乳ロボットの利用は子牛間の伝播を助長することが危惧される。感染子牛は発咳や感染鼻汁の排出により牛舎内環境を汚染するため、牛群内での潜在的な感染源となりうる。子牛鼻腔の定期的なマイコプラズマ検査は感染牛の把握に有用であるが、子牛鼻腔には非病原性マイコプラズマもしばしば常在しており、これらとの鑑別が必要不可欠である。またパステライザーによる乳汁の適切な加熱処理は子牛感染の予防に有用である。

マイコプラズマ肺炎に継発する乳房炎や、関節炎に併発する乳房炎が時折認められるが、これらの事例はマイコプラズマに特有の下向感染によるものである。また、初産分娩時に突如としてマイコプラズマ乳房炎を発症するが、牛の移動やマイコプラズマ感染症の発生など、マイコプラズマの侵入経路が不明な事例がある。これらは、子牛期に呼吸器などへのマイコプラズマ感染歴がある個体が下向感染と長期間の持続感染により、潜在的な乳房感染牛となった後、

分娩を契機に発病したものと推測されるが、子牛期の鼻腔感染と乳房炎との関連については不明な部分も多い。子牛群の清浄化とマイコプラズマ乳房炎低減化の相関関係は今後解明すべき研究課題である。

ウシの移動が、マイコプラズマ陽性農場から他の農場へのマイコプラズマ感染拡大の主要因となることが PFGE 解析により明確にされている。酪農場の規模拡大と多頭飼育に伴う牛個体管理の省力化は世界的な酪農経営の趨勢となっており、これら経営形態に伴うウシの導入や預託哺育の利用は我が国の酪農経営にとっても不可欠となっている。そのため、これらの適正な衛生管理技術の構築が必要である。中国では、特定の *M. bovis* が広域にまん延していることが遺伝子型解析 (MLST) (図 3-3) により明らかとなったが、これは地域内ならびに地域間で十分な検査体制が構築されていない中で、ウシの移動が行われた結果と推察される。ウシの移動に伴う着地検査および乳汁検査による実態把握は農場間のマイコプラズマ感染拡大を抑制する予防策として推奨されるが、農場ごとに実施するよりも地域ぐるみで実施するのがより効果的であると考えられる。また、輸出入による国家間のウシの移動は、国際的なマイコプラズマ感染拡大の主要因となっている。

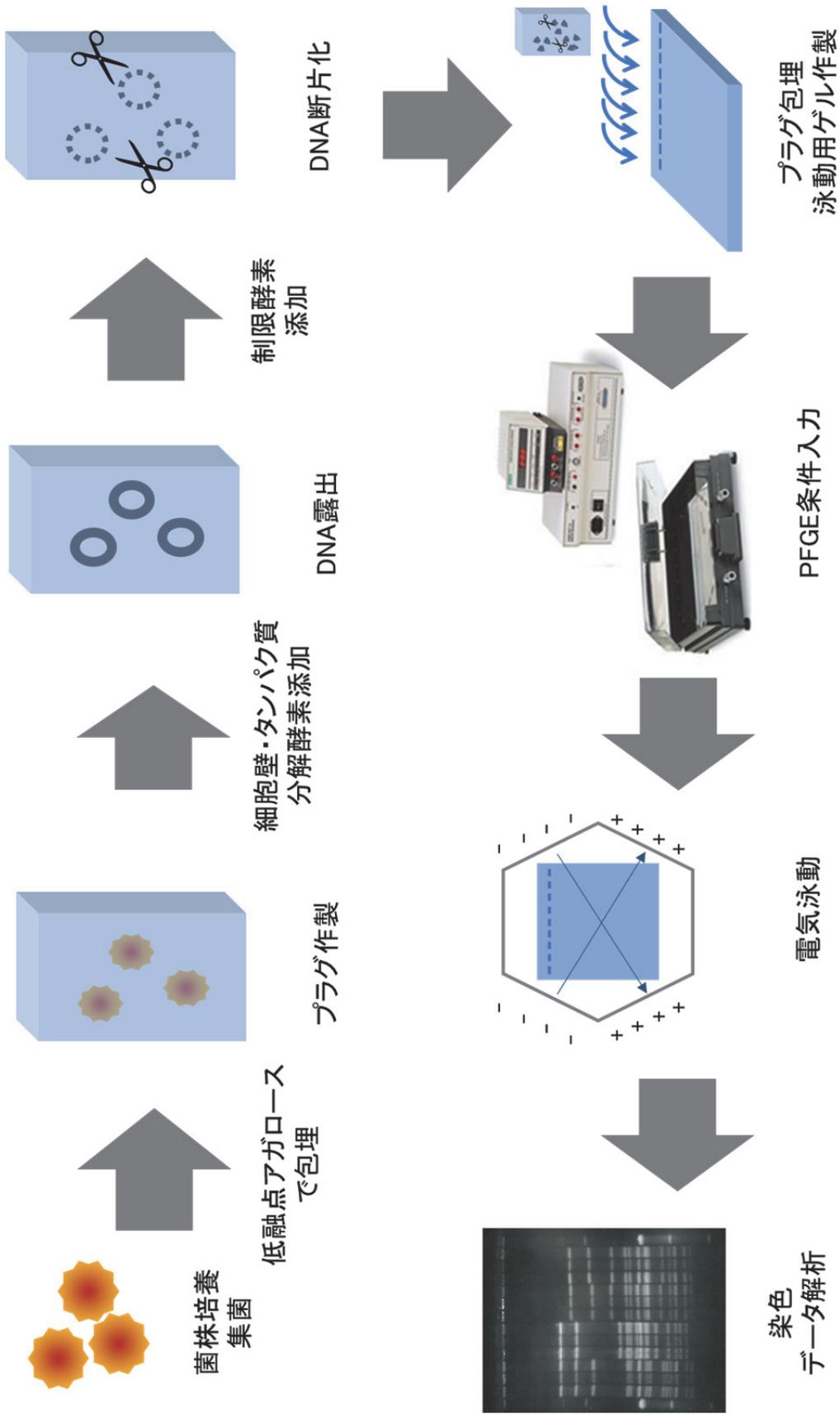
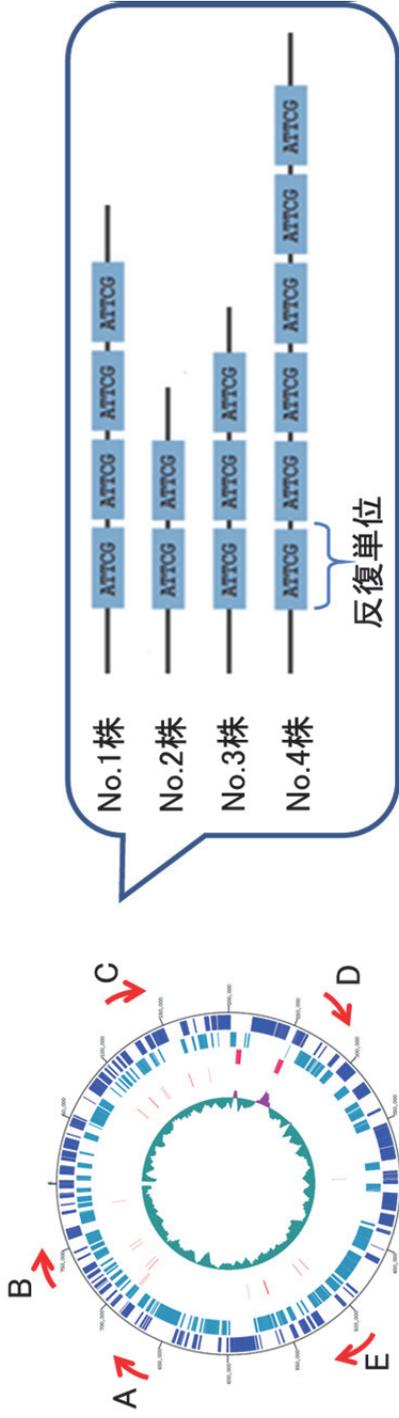


図 3-1 パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法 (秦 原因)



それぞれの反復配列領域における
反復単位数は株間で異なる

ゲノムDNA上に複数存在する
反復配列領域(A~E)

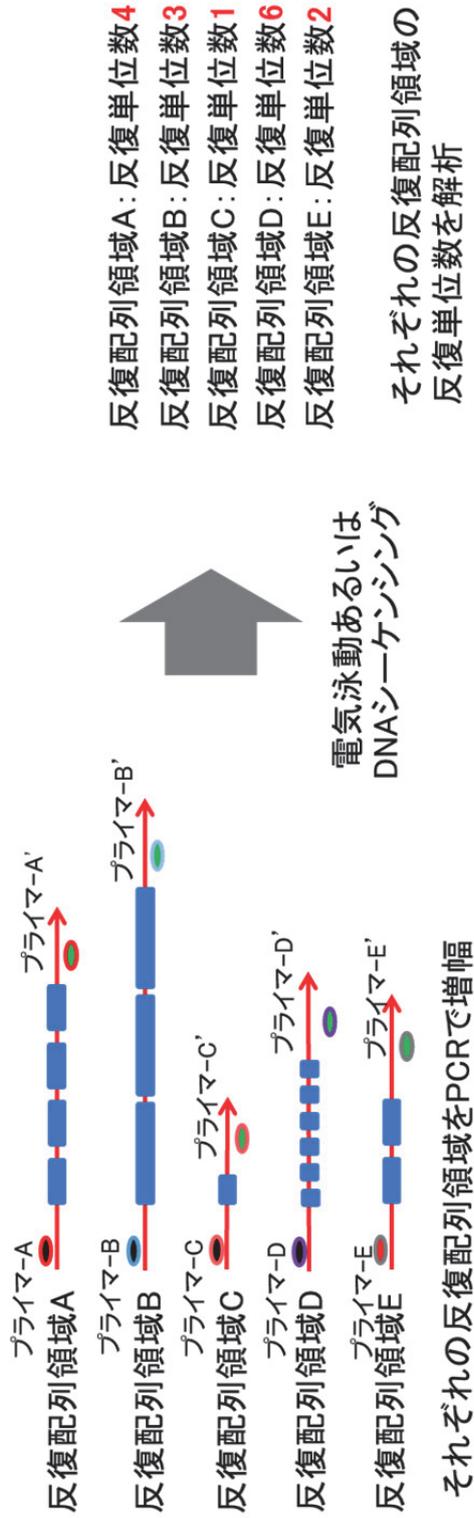


図 3-2. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) 法 (秦 原因)

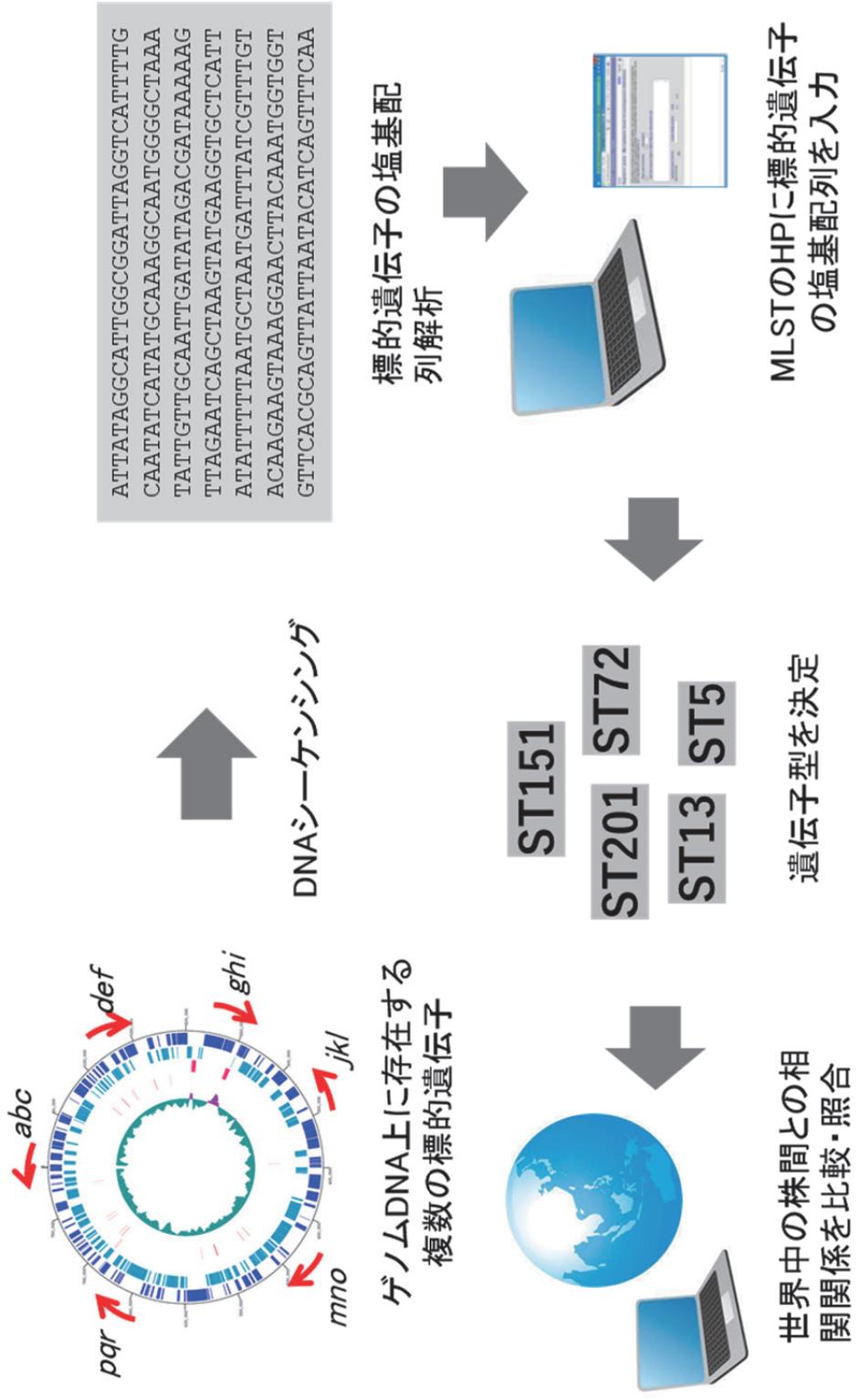


図 3-3 Multilocus sequence typing analysis (MLST) 法 (秦 原 図)

第4章 牛マイコプラズマ乳房炎の摘発

4-1 臨床症状による感染牛の摘発

牛マイコプラズマ乳房炎の主な臨床症状は、乳性状の異常や急激な泌乳量の低下がある。詳細は5-1を参照されたい。

4-2 バルクタンクスクリーニングの概要とその実際

4-2-1 概要

バルクタンクスクリーニングは、牛群に牛マイコプラズマ乳房炎に罹患した個体が潜在していないか群単位で定期的にモニターする方法の一つである。我が国で最も広く普及しており、本疾病に対する衛生対策技術の一つである。本検査法は100頭～300頭（1バルク）に1頭の陽性個体を検出できるという高い感度を有し、1サンプルで群全体をモニターできるため、費用対効果の観点からも有効である。

4-2-2 バルクタンク乳の採取と検査

サンプリングおよび送付：バルクタンク（概ね300頭以下が推奨）の乳サンプルを無菌的に2～3ml採取し、直ちに冷蔵もしくは冷凍下で検査機関に送付する。現在のバルクタンクスクリーニングは、2段階の遺伝子検査法（PCR法）を実施するのが一般的であり、第一段階でMycoplasma属を広く網羅し、第二段階で個々の菌種を同定する。菌種に関する情報は、感染牛の治療法や農場における具体的な衛生対策を検討する上での重要な根拠となるため必ず実施しなければならない。

乳汁検査は公的あるいは民間の検査機関で実施されている。特にバルクタンクスクリーニング検査陽性の場合に実施される全頭検査では、多検体の迅速検査技術が必要となるため、十分な検査実績を持つ民間の検査機関を活用することも重要である。特に同一地域で複数の発生農場に対応する場合は、地域としてこれらを円滑に推進するため、検査機関とサンプルの送付や検査スケジュールについて事前に情報を共有することも必要である。

検査結果が判明するまでの期間は検査機関によっても異なるが、遺伝子検査を用いた場合、概ね結果の確定まで4～7日程度とされている。バルクタンクスクリーニングは、年4～6回程度実施されるのが一般的であるが、大型農場

や外部導入頭数の多い農場、また育成の段階で呼吸器感染症の多い農場では、さらに頻度を上げて実施することが望ましい（図 4-1）。

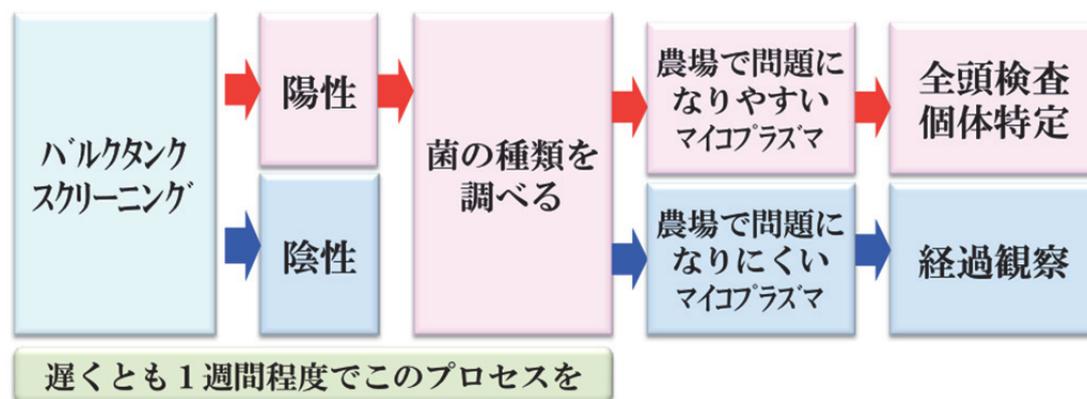


図 4-1 バルクタンクスクリーニングの実施概要（樋口原図）

感染拡大の防止において迅速な検査の実施が重要である。また、本病への対応において菌種同定は必須である。

4-2-3 検査結果の解釈とその後の衛生対策

第一段階の検査では *Mycoplasma* 属の微生物をまとめて検出する。検査結果は「陰性」もしくは「陽性」となる。第一段階で陽性が確認された場合、第二段階でその菌種を同定する。第一段階の検査で陽性となった場合、約 80～90%は農場で問題となりやすいマイコプラズマ種である。残りの約 10～20%は問題となりにくい菌種である（図 4-2）。農場で問題となりやすい菌種の場合、後述のとおり、迅速かつ的確な衛生対策が必要となる。農場で問題となりにくい菌種の場合は、牛群の体細胞数や菌の特定されない乳房炎罹患牛の数などを参考にしなければならないが、一般的には全頭検査は実施せず、経過観察とする。

農場で問題になりやすい菌種

■ <i>M. bovis</i>	} バルクタンクからの 分離率 <u>80~90%</u>
■ <i>M. californicum</i>	
■ <i>M. bovis genitalium</i>	
■ <i>M. canadense</i>	

農場で問題になりにくい菌種

■ <i>M. alkalescense</i>	} バルクタンクからの 分離率 <u>10~20%</u>
■ <i>M. arginini</i>	
■ <i>M. disper</i>	
■ <i>M. bovirhinis</i>	

図 4-2 農場で問題となる牛マイコプラズマ乳房炎の原因菌種とバルクタンクミルクからの分離率（樋口原図）

感染拡大の速さおよび個体の臨床症状を基準に分類。問題となりやすいマイコプラズマ種は浸潤率も高い。

農場で問題になりやすいマイコプラズマ種がバルクタンクから検出された場合の農場対応：一般的に以下の手順に則って実施することが望ましい。

①関係機関との情報共有

バルクタンクスクリーニングの結果、病原性の高いマイコプラズマ種が検出された場合、これらすべての情報を、獣医師や農業協同組合（JA）等の関係機関と速やかに共有する。牛マイコプラズマ乳房炎では1）隔離エリアの確保と管理、2）個体検査の作業者の確保、3）獣医師による治療対象牛の選定、4）淘汰牛に対する経済支援等、通常の乳房炎では想定されない様々な課題に対応しなければならない。また、こうしたステップを迅速かつ正確に実施することは牛マイコプラズマ乳房炎の制圧期間に大きく反映される。農場単独での対応は困難であり、関係機関との十分な連絡および調整を実施することが必要である。検査結果に関する情報共有は、一連の初動対応において最も重要なプロセスであることが認識されなければならない。

②全頭検査（個体検査）

全頭検査はバルクタンクスクリーニングで陽性となり、必要と認められた場合に速やかに実施する。これは潜在的な陽性個体が感染源となり感染拡大が起きることを防止するためであり、可及的速やかな感染牛の特定が重要である。個体検査は全頭を1回で実施することが望ましい。全頭検査の結果が出るまでの期間は、さらなる感染拡大を阻止するため、搾乳後は一頭毎のユニット消毒が推奨される。マイコプラズマの専用培地には一般細菌の発育阻止を目的として抗菌性物質（抗生剤等）が含有されているが、真菌や一部の細菌に対してはその増殖を許すことも知られている。一般的に個体検査の採乳は4分房の合乳を1サンプルとして扱うため、特にコンタミネーションには注意が必要である。

③ 感染牛の隔離

特定された感染牛は、水平伝播の阻止を目的として速やかに隔離する。これは、マイコプラズマ感染牛専用のエリアを設けることを意味しており、一般治療群とも別にしなければならない。十分な施設又はエリアが確保されない場合は、ロープでエリアを区切って個体の移動を制限するだけでも一定の効果を期待できる。また、スタンションの場合は、緊急的な対応として2～3ベッド程度、感染牛と非感染牛の間隔を空けるだけでも効果が期待される。この際、鼻鏡の接触や、水槽の共有は避けるべきである。マイコプラズマ感染症は鼻の接触を介した感染（Nose to Nose）も報告されている。作業者の動線は、消毒槽の設置、作業靴および作業着の交換等によって非連続的なものとする。また、スコップ等の管理器具も専用のものとする。隔離エリアは石灰等を散布し、環境中マイコプラズマの増殖を阻害することが重要である。

④ 感染牛の搾乳

感染牛の搾乳は専用のバケツ等を用いた対応が望ましいが、正常牛群と同一のユニットを使用する場合は、最後に搾乳し、その後、塩素剤等の有効な消毒薬で十分な消毒を実施する。

⑤ 治療対象牛の選定と処置

泌乳量の著しい低下もしくは泌乳停止が認められる *M. bovis* の乳房感染は、完全な治癒が困難であり、一時的に菌が消失しても再発したり、乳量が回復しない場合も多い。こうした症例では、あくまで獣医師の総合的な判断に基づくものであるが、一般的には淘汰が推奨される。発症牛では乳汁に $10^8 \sim 10^9$

／ml の排菌を認めるため、その管理には細心の注意を要する。具体的な治療方法については 6-3 を参照されたい。

4-2-4 バルクタンクスクリーニングの限界

バルクタンクスクリーニングの目的は基本的に農場に潜在する重篤な感染牛を見逃さないことにある。つまり、感染初期や軽度感染等、排菌量が非常に少ない場合は、感染牛が複数頭数存在しても、バルクタンクスクリーニングの結果は陰性となる場合がある。これは個体乳がバルクタンク内で牛群規模相当の希釈を受け、検出限界以下の菌数になるためである。このようにバルクタンクスクリーニングには限界があることにも留意しなければならない。

4-2-5 バルクタンクスクリーニング実施上の注意点

バルクタンクスクリーニングを実施する上で留意しなければならない点は、実施時に搾乳を行った個体番号の正確な記録である。バルクタンクスクリーニングの時には搾乳をしていたものの、その結果を受けた全頭検査を実施するタイミングで乾乳となり検査対象から除外される場合がある。仮にこの個体が感染牛であった場合、バルクタンクスクリーニングで陽性が出たにも関わらず、感染牛が検査から漏れてしまうため、検査個体は全て陰性となる。このことは、検査の信頼性を損うと同時に、検査にかけた費用に対し、相応の効果を得ることが困難になる。

4-3 マイコプラズマの基本的な検査法

4-3-1 マイコプラズマの検査法①（培養法）（図 4-3）

マイコプラズマ乳房炎の原因種はいずれも DNA 添加 Hayflick' s 変法培地で増殖可能である。採取した乳汁材料を DNA 添加 Hayflick' s 変法液体培地 2mL に 100 μ L 程度添加し、DNA 添加 Hayflick' s 変法平板培地に 10 μ L 程度塗抹する。塗抹後の平板培地は 37 $^{\circ}$ C、5-10%CO₂ 条件下で 2~7 日程度培養し分離培養を試みる。一方、液体培地は密栓後 37 $^{\circ}$ C で培養し、色調変化や混濁（図 4-4）が認められ次第、平板培地に塗抹し、同条件で分離培養を試みる。サンプルを塗抹した平板培地は実体顕微鏡下で毎日観察し、十分な大きさの目玉焼き状コロニー（図 4-5）が確認出来たらクローニング（巻末付図 4-8 参照）し、DNA 添加

Hayflick's 変法液体培地 6mL 程度に接種後、色調変化があるまで 37°C で密栓培養する。培地の色調変化や *M. bovis* ならびに *M. bovis genitalium* が産生するフィルム・スポット (図 4-5) は種同定の手掛かりとなるので記録しておく。クローニング後の培養液は保存株として 1mL 程度を -80°C で凍結保存し、残りの 5mL の培養液を用い DNA サンプルならびに SDS-PAGE 用サンプルを作製し -20°C で保管する。これらサンプルの作製には市販の試薬 (Instagene (BioRad)、EzApply (ATTO)) を用いると簡便である。

DNA 添加 Hayflick's 変法液体培地

PPL0 broth (DIFCO) 15.8g

1% フェノールレッド 2.0mL

pH7.8 に補正 (1N NaOH)

DW で 706mL にメスアップ後 121°C、15 分オートクレーブ滅菌

(寒天培地作製の場合 1% フェノールレッドは非添加、8g の Noble agar を加える。)

室温に冷却 (寒天培地の場合は 50°C に冷却) 後下記の添加物を無菌的に添加する。

馬血清 150mL

20%新鮮イーストエキス 125mL

10%酢酸タリウム 2mL

0.2%DNA 溶液 (牛胸腺由来など) 12mL

20 万単位/mL ペニシリン 5mL

(寒天培地作製の場合 8cm 径円形シャーレに 17~20mL 分注し、室温で固化させる。)

参考図書

病性鑑定マニュアル等

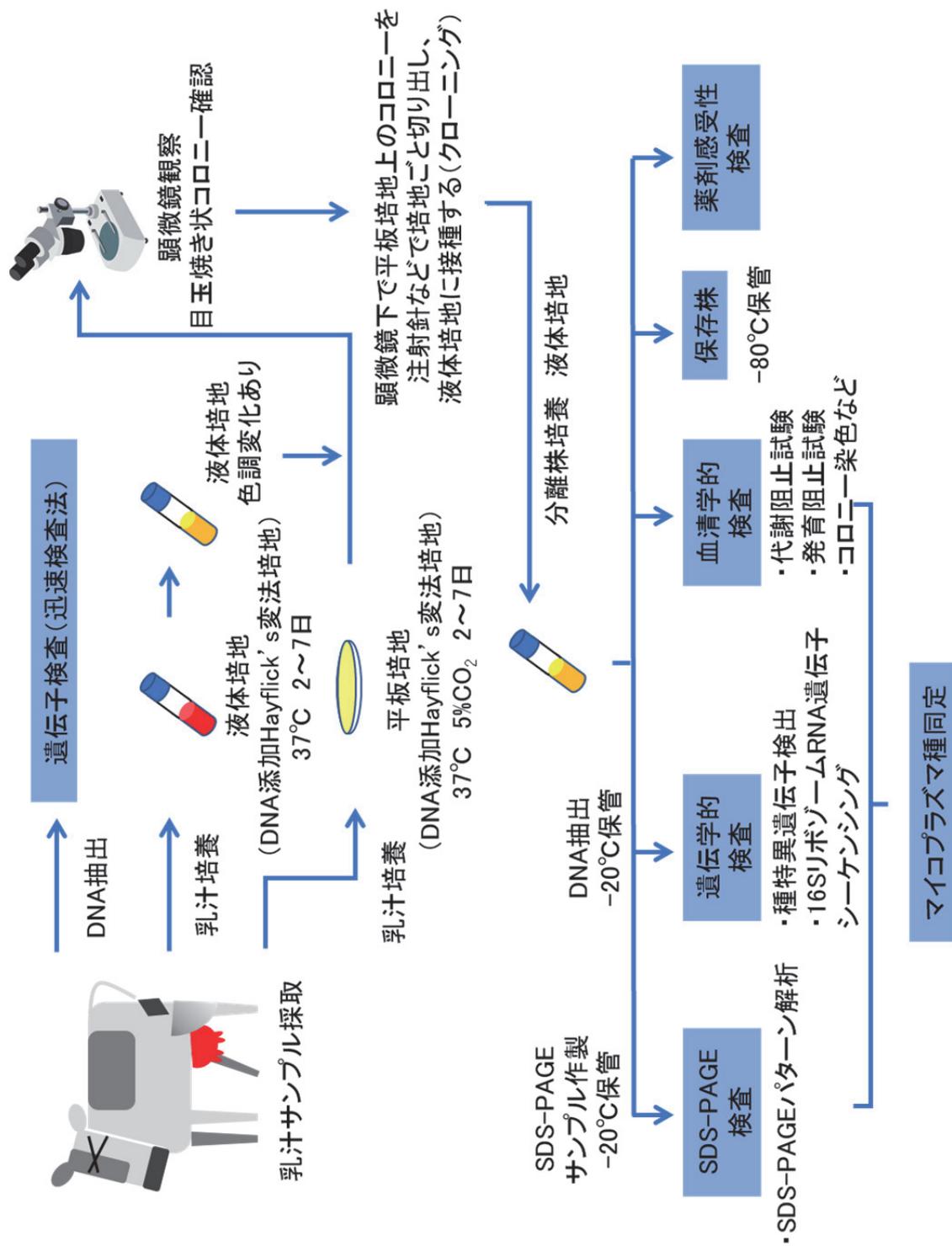


図 4-3 乳汁サンプルからのマイコプラズマ検査法 (巻末付図 4-8 参照) (秦 原図)

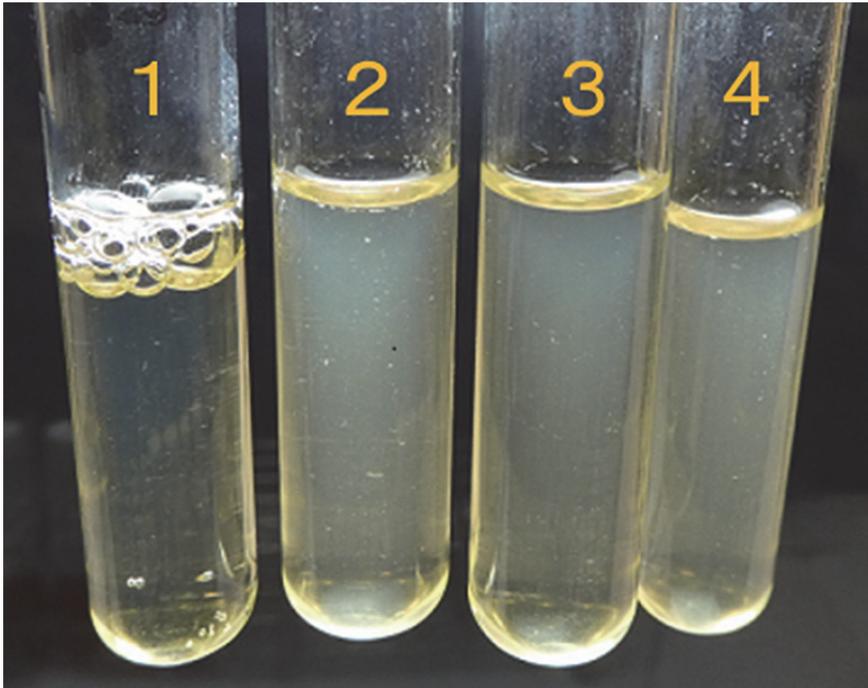


図 4-4 フェノールレッド無添加培地による *M. bovis* の発育 37°C 3 日間培養
蛍光灯下観察 : 試験管 1 : 陰性コントロール 2~4 *M. bovis* の混濁発育
(福岡県中央家畜保健衛生所提供)



図 4-5 *M. bovis* のコロニー写真 (DNA 添加 Hayflick's 変法寒天培地)
目玉焼き状のコロニーの周辺に皺状構造物であるフィルム・スポットが産生される (秦 原図)

4-3-2 マイコプラズマの検査法② 遺伝子検査法（迅速検査法）（図 4-6）

マイコプラズマは牛群内において極めて短時間で感染拡大することから、迅速検査技術の利用が本病制圧に必須とされている。現在、国内で用いられているマイコプラズマ迅速検査技術は樋口と岩野ら（酪農学園大学）によって確立されたものであり、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検査技術である。従来法に比べて検査期間の大幅な短縮、感度および特異度の向上、低コスト化を実現したこと点が本法の特徴である。

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 を市販キット等により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。

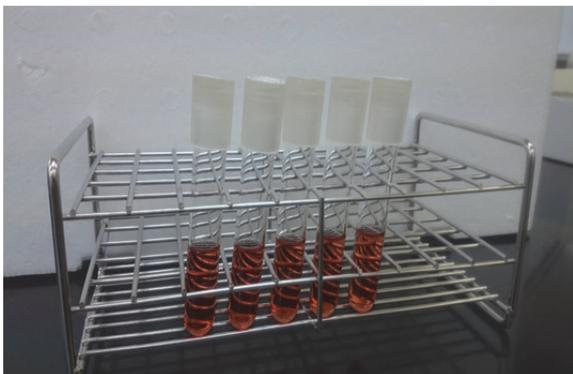
本検査技術の利用に必要な市販の検査資材を以下に示す。

検査資材（参考）

【培養法】ミヤリサン製薬株式会社

マイコプラズマ用液体培地（写真左）

マイコプラズマ用平板培地（写真右）



【マイコプラズマ迅速検査用 PCR】 関東化学株式会社

シカジーニアス DNA 抽出試薬



シカジーニアス 牛マイコプラズマ ハイスクリーニングプラスキット (写真左)

シカジーニアス マイコプラズマ ホビース検出プラスキット (写真右)

シカジーニアス マイコプラズマ カリフォルニカム検出プラスキット (写真右)

シカジーニアス マイコプラズマ ホビゲニタリウム検出プラスキット (写真右)



民間検査機関

公共機関でマイコプラズマ検査対応が無い場合、民間検査機関も遺伝子検査、菌種同定、薬剤感受性検査等を行う機関があり利用することが可能である。詳細については執筆者樋口にお問い合わせください。

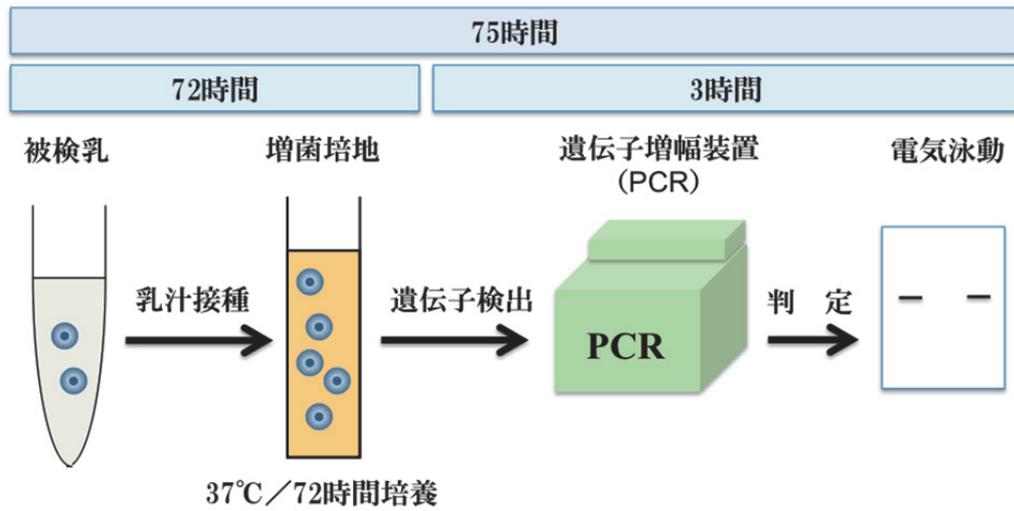


図 4-6 牛マイコプラズマ乳房炎の迅速検査法の概要（樋口原図）

被検乳汁の増菌培養後に PCR による遺伝子検査を実施する。検査資材は全て販売されている。また同法を用いた民間の検査サービスも行われている。

第5章 牛マイコプラズマ乳房炎に対する予防対策

5-1 感染牛の摘発

臨床症状を示す牛マイコプラズマ乳房炎の乳房は熱感を示す場合もあり、腫脹、硬結を呈して、凝固物が混入する乳汁を排出している場合も多い。乳量は減少し、乳房近傍リンパ節等の腫大を認める場合もある。このようなウシから採取した乳汁を容器に入れて放置すると短時間で多量の沈殿と半透明の乳漿部に自然分離することもある（巻末付図 4-2）。臨床症状や乳房炎乳の状態のみで判断することが困難であるため、分離培養や PCR による牛群の汚染状況や感染牛の特定が重要である。

バルクタンクスクリーニングは搾乳牛群中に感染牛が存在するか否かを的確にモニタリングする方法であるが（巻末付図 5）、搾乳牛のみが検査対象である点に留意し、検査した搾乳牛の個体番号を記録することは必須である。また、乳房炎治療牛や乾乳牛、妊娠末期の未経産牛には個体の乳汁検査を実施すべきである。詳細な検査手法は 4-2 を参考にされたい。

5-2 拡散の防止（搾乳衛生の徹底）

牛マイコプラズマ乳房炎は伝染性乳房炎の一つであり、毎日の作業において衛生的な搾乳手順の励行や搾乳機器の定期点検、消耗部品の交換などのメンテナンスが防除の基本となる（巻末付図 6）。マイコプラズマは呼吸器や関節、生殖器にも定着し下向感染することにも留意が必要である。

発症牛の乳汁中には大量のマイコプラズマが存在していることがあるため、感染牛を迅速かつ効率的に摘発することが特に重要である（図 5）。本病の防除は、マイコプラズマ検査に習熟した検査機関と協力して取り組むことが望ましい。また、乳汁のサンプリングや検査牛の状態観察、記帳等を的確に行うため獣医師や JA 等の関係機関との綿密な事前調整が重要である。これらの条件が満たされないと、改めて検査を実施することになり、その間に感染が拡大する。



図5 マイコプラズマの主要な感染経路（上向感染）（樋口原図）

搾乳ユニットや作業者の手指を介した伝播に加え、マイコプラズマによって汚染された環境からの感染もある。本乳房炎は伝染性乳房炎に分類されるが、環境も重要な感染源になる可能性がある。

第6章 牛マイコプラズマ乳房炎の発生から終息までの基本的な農場対応

6-1 福岡県における牛マイコプラズマ乳房炎発生事例の紹介

福岡県発生した本疾病の発生事例及び当時の対策を以下に紹介する。初産と2産目の自家産牛の計2頭において乳中体細胞数の増加が認められ、うち1頭は体細胞数が692万/mlまで著しく増加した。すべての分房乳から *M. bovis* が $10^6\sim 10^8$ /ml分離されたため、直ちにこれら乳房炎牛を隔離した。共用していたバケットミルカーと洗浄消毒後の搾乳機器からの分離培養を実施した。感染拡大の有無を確認するため、飼養牛全頭の乳汁検査と哺育牛の鼻腔スワブについて分離培養を継続的に行った。

乳房炎牛2頭については隔離飼育を行ったが、分離菌数が極めて高く、泌乳量が5~11kgまで急激に減少したこと、また本農場では初めての発生であったため、畜主、酪農組合、獣医師と相談し、牛群への感染拡大を危惧して直ちに淘汰を行った。乳房炎牛2頭を淘汰後、1ヶ月間隔で半年間乳汁等を用いた全頭検査を行い陰性の維持を確認した。この農場では発生直後に洗浄消毒後のバケットミルカーから *M. bovis* が分離された乳房炎乳汁中の *M. bovis* が極めて多数であり、通常の洗浄・消毒時間では殺菌できなかったため複数のバケットミルカーを準備し消毒時間を確保することとした。早期の摘発とモニタリングにより、再発は防止された。

はじめて牛マイコプラズマ乳房炎に遭遇する場合、体細胞数は高いが一般細菌検査が陰性であることを確認後にマイコプラズマ感染を疑い分離培養を開始することが多い。その場合、結果判明までに7日間程度を要するため、農場対応が大幅に遅れる可能性があり、その間に感染が拡大する危険性が高い。乳汁検査を行う場合、マイコプラズマ感染を想定した検査を最初から行うことが推奨される（巻末付図5）。

6-2 感染牛の隔離

感染牛からの搾乳はバケットミルカー等を用いた対応が望ましいが、正常牛群と同一の搾乳ユニットを使用する場合は、最後に搾乳し、その後、塩素系等の有効な消毒薬で搾乳機器を十分消毒する。マイコプラズマは感染牛の乳汁だけでなく、鼻汁等にも含まれているためミルカーを分けて使用しても他のウシと飼育場所が同じ場合や接触をする機会がある場合は、感染を防止できないこ

とが多い。よって、感染牛を他のウシと同じ場所で飼育することや短時間であっても接触可能な飼育形態は絶対に避けるべきである。

感染乳は子牛の呼吸器病、関節炎等マイコプラズマ感染症の原因となるため決して子牛へ給与すべきではない。また、呼吸器病を発症した哺育牛の鼻腔スワブ中のマイコプラズマ保菌率は高いため、搾乳作業と哺育作業が交錯しないことも重要である。

6-3 基本的な治療方法（薬剤感受性）

日本国内の *M. bovis* 分離株はニューキノロン系、フロルフェニコール系およびリンコマイシン系に高い感受性を有することが報告されている。日本国内では、ニューキノロン系薬剤の全身投与とオキシテトラサイクリンまたはリンコマイシン系薬剤の乳房注入を連続5日間実施しこれを1クールとする方法が多用されている。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クールまで実施する。初診時に体細胞数が30~50万/ml以上を示し、乳房の腫脹や硬結、乳量の減少等が認められる場合は、抗菌剤によって治療を行っても治癒に至らない場合がある。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。ニューキノロン系薬剤は、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ため、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、その有効性を評価しておくことが望ましい。欧州の研究ではマクロライド系薬剤（チルミコシン）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。

6-4 発生農場における衛生管理

6-4-1 個体検査

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度に行うことが望ましく、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望ましくない。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汚染があった場合、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注意する。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た抗菌

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。

6-4-2 着地検査

新規導入牛がマイコプラズマに感染していないことを確認することが重要であり、導入後は既存牛と離れた場所で隔離飼育を行い、呼吸器症や関節炎の有無等の観察を徹底し、分娩前後の乳汁検査によってマイコプラズマの感染の有無を確認することが重要である。

6-4-3 初産牛の検査、乾乳期の検査

未経産牛は乳房炎に罹患していないと考えられがちであるが、潜在的なマイコプラズマ感染牛の存在も知られており、初産牛の発生事例も多数報告されている。乾乳期の検査や未経産牛の分娩前乳汁を用いた検査結果から正常な牛群を編成することが望ましい。

6-5 清浄化の目安とその後の農場管理

バルクタンク検査で陽性が確認された場合、また、感染個体が摘発された場合は、成牛の全頭検査を実施し、農場内における全ての感染個体を特定する。特定された感染個体のうち、治療によって排菌が停止し細胞数が正常に戻った個体は一定期間隔離（監視）した後、基本的に正常群に戻す。感染個体の隔離期間については、いくつかの解釈があるものの、一般的には治療によって、①排菌が確認されない、②体細胞数が正常、③乳性状が正常、の3項目を満たした後、3～6ヶ月程度としている事例が多い。隔離期間中は月1回以上の乳汁検査を実施し、継続的に原因菌が陰性であることを確認する必要がある。臨床症状を認めた個体や、体細胞数が高かった個体では、特に十分な隔離期間と継続的な監視が必要である。また、管理上の問題がなければ、搾乳順番を最後にすることで、再発による農場内での感染拡大の機会を大幅に低減することが可能になる。

第7章 牛マイコプラズマ乳房炎の発生状況等に関する疫学解析

「生産段階における防疫体制支援強化事業自衛防疫対策事業」が平成 27～29 年の三か年実施された。本事業の一環として、牛マイコプラズマ乳房炎の現況をアンケート調査・農場視察・分子疫学解析等で明らかにした。以下にその調査結果の要旨を記載するので参考にされたい。

- 多くの家畜感染症の農場間伝播において、家畜の外部導入が重要な役割を果たしていることは広く知られているが、我が国の牛マイコプラズマ乳房炎でも、ウシの外部導入が農場への侵入リスクであることが今回の分析から再認識された。今後、本病の有病率の低下を目的に地域が一体となった対策を検討する上で、ウシの外部導入時の検査・隔離の在り方や導入後の衛生対策は優先順位が高い検討課題であると考えられた。
- 一方、今回の調査研究手法では、曝露要因と結果（バルク乳検査陽性）の時系列が不明であり、因果関係は明確には立証できなかったため、今後、さらなる情報の集積が必要であると考えられた。
- 今回、自動哺乳装置（哺乳ロボット）の使用については、多変量解析では最終的に有意な変数としては残らなかった。しかし、関係者の間では、衛生管理が徹底できていない農場での哺乳ロボットの使用はマイコプラズマの伝播経路として重要であるといわれており、更なる検証が必要だと考えられた。
- より厳密に計画された調査のもと、搾乳衛生、子牛の飼養衛生管理、ウシの移動履歴など、十分に調査できなかった要因についても解析できれば、有病率に地域差がある原因や他の農場間又は農場内伝播に関連するリスク要因を特定できる可能性がある。
- 臨床症状を示さないが乳汁からマイコプラズマが分離される牛が多く認められた。これら不顕性感染牛は潜在的な感染源となりうるため、定期的なバルクタンクスクリーニング検査が本病の早期摘発や予防に重要であることが再認識された。
- 遺伝子型の解析により、同一農場における乳房感染牛と同居牛間のマイコプラズマ伝播が明白に示された。特に 6 カ月齢未満の子牛の鼻腔からは *M. bovis* が高率に分離された。牛マイコプラズマ乳房炎の早期摘発や予防には、バルクタンクスクリーニング検査に加え、子牛鼻腔スワブの検査が有用であることが示唆された。また、*M. bovirhinis* のように鼻腔から高頻度に

分離されるが、乳房内感染とは無関係であると考えられるマイコプラズマ種を鑑別することの重要性も再認識された。

- 北海道ではバルクタンクスクリーニングにより 1.4～6.7%の農場でマイコプラズマの乳房感染が確認された。一方、本州では牛マイコプラズマ乳房炎が地域的に大規模に発生しているという状況ではなかった。しかしながら、本疾病の性質や検査感度等の問題を考えれば、本州における散発的な発生も否定できない。

おわりに

牛マイコプラズマ乳房炎は現在、世界各国にまん延しており、その制圧技術の構築は獣医畜産学上、喫緊の課題とされている。本病の根本的な排除にあつては、子牛期からの継続的な衛生管理が必須である。また、国内においてマイコプラズマが広く浸潤していることを考えると、正しい搾乳手順を含む農場での**徹底的な予防技術**こそが、唯一にして最大の効果を発現することが期待される。本書に記載した**定期的なバルクスクリーニング検査**と、それに続く一連の対応はその根幹をなすものである。

酪農産業の大きなリスクとなっている本病を確実に排除するため、関係者が共通認識のもと、一丸となって対応することが期待される。本書がそれらの一助となれば幸いである。

発刊の趣旨

第1章 マイコプラズマの微生物学的特徴【秦】

- 1-1 マイコプラズマの分類と生物学的特性
- 1-2 牛乳房炎の原因となるマイコプラズマの生物学的特性
- 1-3 牛乳房炎の原因となるマイコプラズマの薬剤感受性特性
- 1-4 牛乳房炎診断におけるマイコプラズマ種同定の重要性

第2章 マイコプラズマの病態【樋口】

- 2-1 病理学的特徴
- 2-2 免疫学的特徴

第3章 牛乳房炎の原因となるマイコプラズマ種の動態【秦】

第4章 牛マイコプラズマ乳房炎の摘発【樋口・秦】

- 4-1 臨床症状による感染牛の摘発【樋口】
- 4-2 バルクタンクスクリーニングの概要とその実際【樋口】
 - 4-2-1 バルクタンクスクリーニングの概要
 - 4-2-2 バルクタンク乳の採取と検査
 - 4-2-3 検査結果の解釈とその後の衛生対策
 - ① 関係機関との情報共有
 - ② 全頭検査（個体検査）
 - ③ 感染牛の隔離
 - ④ 感染牛の搾乳
 - ⑤ 治療対象牛の選定と処置
 - 4-2-4 バルクタンクスクリーニングの限界
 - 4-2-5 バルクタンクスクリーニングにおける実施上の注意点
- 4-3 マイコプラズマの基本的な検査法
 - 4-3-1 マイコプラズマの検査法① 培養法【秦】
 - 4-3-2 マイコプラズマの検査法② 遺伝子検査法（迅速検査法）【樋口】

第5章 牛マイコプラズマ乳房炎に対する予防対策【尾川】

- 5-1 個体の摘発
- 5-2 拡散の防止

第6章 マイコプラズマ乳房炎発生から終息までの基本的な農場対応【尾川，樋口】

- 6-1 農場で牛マイコプラズマ乳房炎が発生した時にまずやること【尾川】
- 6-2 感染牛の隔離【尾川】
- 6-3 基本的な治療方法（薬剤感受性）【樋口】
- 6-4 発生農場における衛生管理【尾川】
 - 6-4-1 個体検査
 - 6-4-2 着地検査
 - 6-4-3 初産牛の検査、乾乳期の検査
- 6-5 清浄化の目安とその後の農場管理

第7章 牛マイコプラズマ乳房炎の発生状況等に関する疫学解析【村井・秦】

おわりに

- 巻末付図1 *M. bovis* の母子感染例【福岡中央家畜保健衛生所】
- 同 図2 *M. bovis* が関与した中耳炎牛（ホルスタイン）【福岡中央家畜保健衛生所】
- 同 図3 *M. bovis* が関与した子牛の呼吸器症（黒毛和種）【福岡中央家畜保健衛生所】

巻末付図1 *M. bovis* の母子感染事例



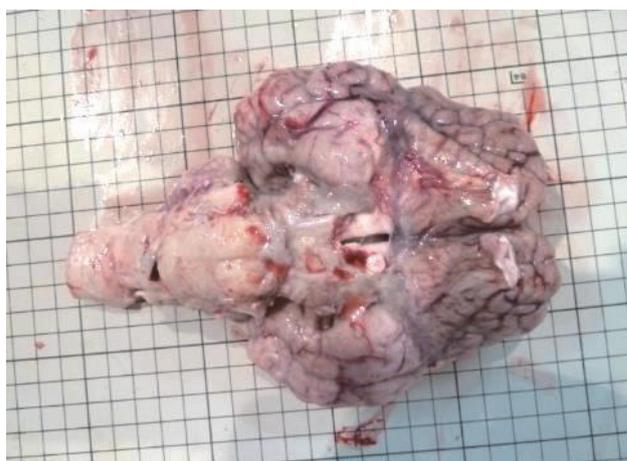
1-1 母子感染を疑った事例



1-2 母牛: 旋回・遊泳運動等の神経症状



1-3 母牛: 延髄: 白色膠様物が析出



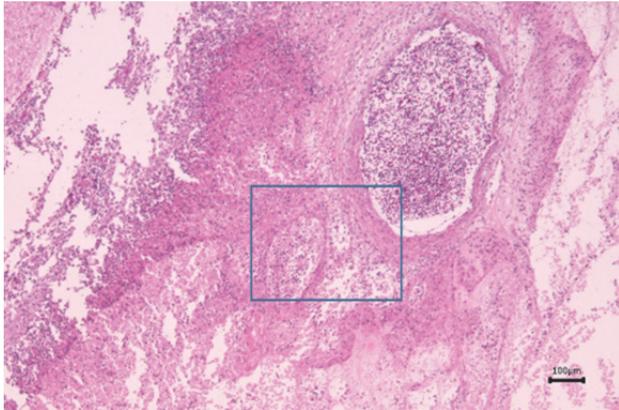
1-4 母牛: 脳底部・髄膜: フィブリン析出による混濁



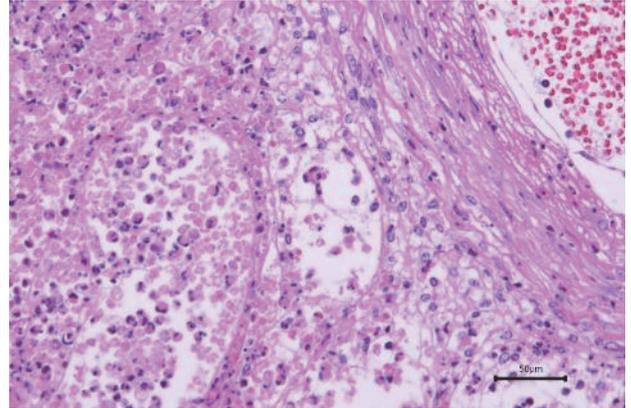
1-5 母牛: 脳底部: フィブリンが析出



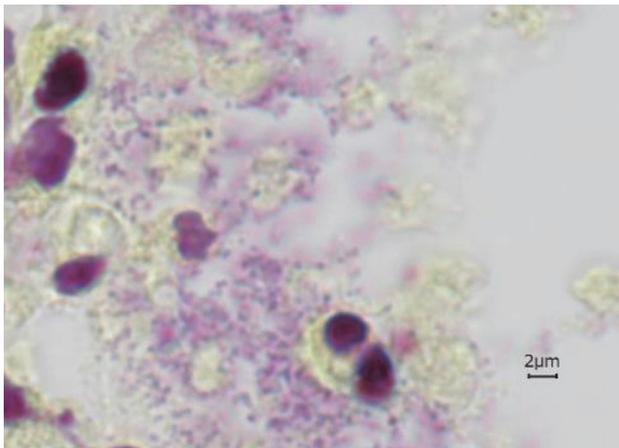
1-6 母牛: 髄膜肥厚、延髄、中脳: 膠様物析出



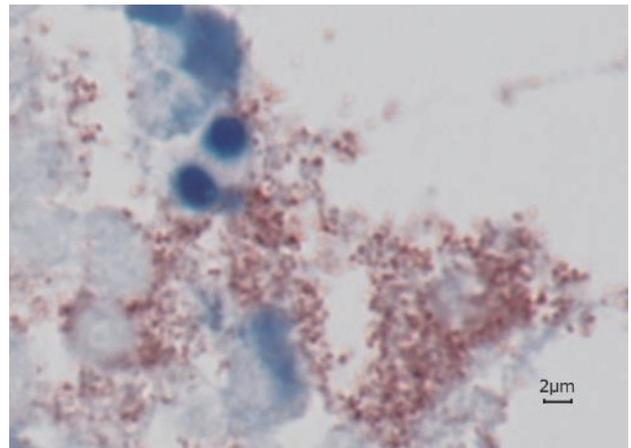
1-7 神経症状を呈した母牛の病理組織像
 髄膜: 多量の細胞退廃物とフィブリンが蓄積



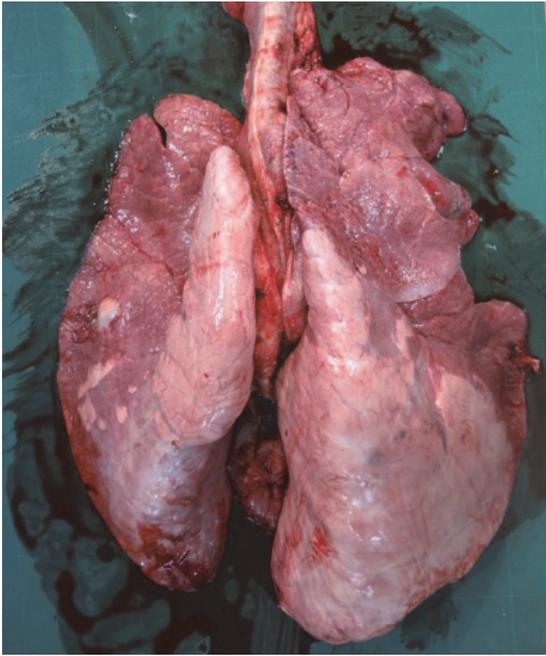
1-8 同 好中球と類円形の形態を保った細胞退廃物、
 右上には壊死した血管壁が認められる



1-9 同 グラム染色像
 0.3 μm のマイコプラズマ粒子

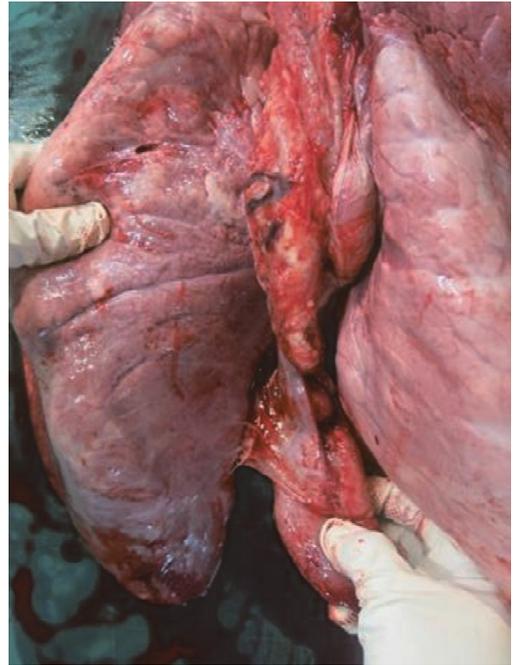


1-10 同 抗 *Mycoplasma bovis*
 マウスモノクローナル抗体による免疫染色像

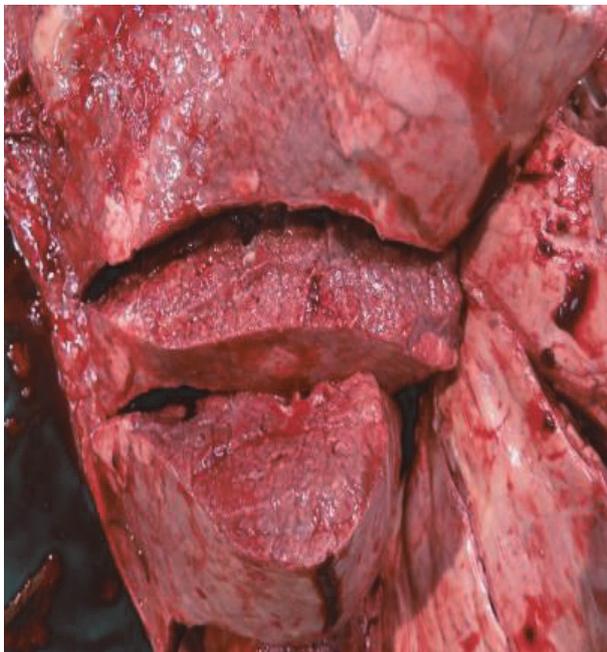


神経症状を呈した図 1-2 母牛と同居(哺育中)する産子の剖検写真

1-11 産子の肺炎像



1-12 同 肺縦隔リンパ節の腫大



1-13 同肺断面: 水腫性に肥厚、肝変化

肺、脳、脊髄液、関節液から *M. bovis* を多数分離



1-14 同関節液の増量

巻末付図2 *M. bovis*の関与した中耳炎牛(ホルスタイン)



2-1 耳翼下垂、斜頸



2-2 同 側頭室膨隆

巻末付図3 *M. bovis*が関与した子牛の呼吸器症(黒毛和種)



3-1 肺: 重度の肺炎像



3-2 肺: 多発性の壊死巣、間質性肺気腫

巻末付図 4 福岡県における牛マイコプラズマ乳房炎発生事例



4-1 乳房の腫大、凝乳塊の形成



4-2 感染乳:大量の沈殿と乳漿の分離



4-3 乳房上リンパ節腫大 触知可能



4-4 乳房上リンパ節腫大



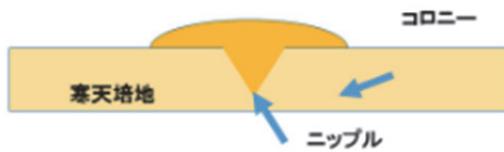
4-5 乳腺内の凝乳塊



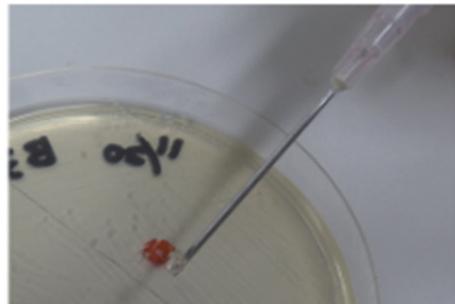
4-6 乳腺内の凝固乳



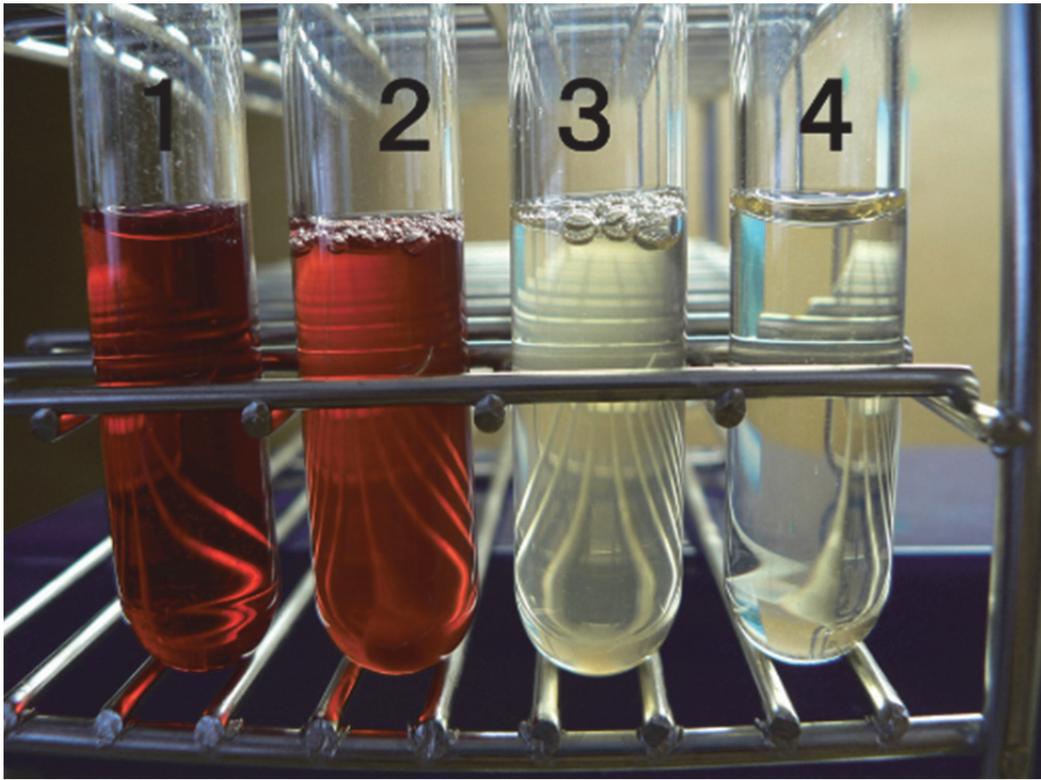
4-7 馬血液寒天培地上で溶血を示す *M.bovis* 微小コロニー
 (剖検牛乳汁接種、37°C 5%CO₂ 5日間培養)



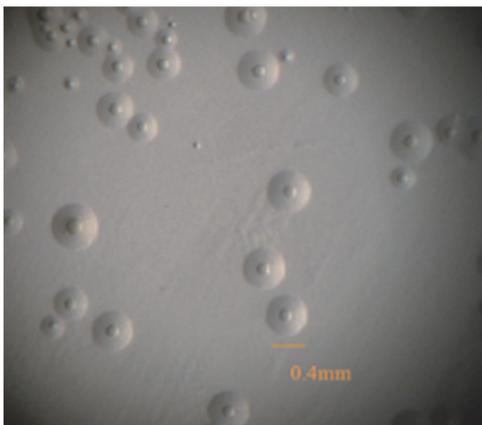
培地にニップルがくいこんでいるため実体顕微鏡下でコロニーを確認後、平板の裏にマーカーで印をつけて、注射針でコロニー四方に切り込みを入れ寒天ごと切り出す、針先に寒天を乗せて、液体培地に無菌的に落として培養



4-8 牛マイコプラズマコロニーのクローニング



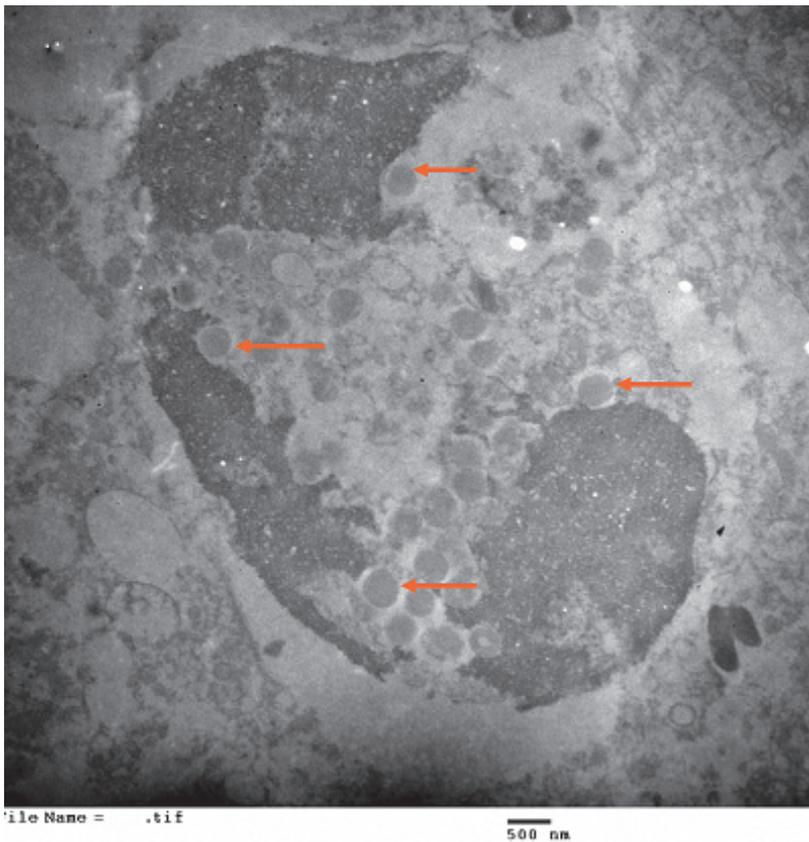
4-9 馬血液寒天培地上で溶血を示す *M. bovis* 微小コロニークロニング後の液体培地
 (1-2. ムチン添加 PPLO グルコースブロス、3-4.ムチン添加 PPLO ブロス、
 37°C 3 日間培養) 1、4:陰性コントロール 2、3:発育陽性



4-10-1 ムチン添加 PPLO 寒天培地
 37°C2 日間培養



4-10-2 同 4 日間培養 フィルム形成旺盛



4-11 *M.bovis* を処理する白血球の電子顕微鏡像

(本県乳房炎事例: (国研) 農業・食品産業技術総合研究機構

動物衛生研究部門 山田学先生撮影)

乳腺導管内の炎症性細胞質内に直径約 300nm の *M.bovis* を多数確認(貪食されても殺菌されない)

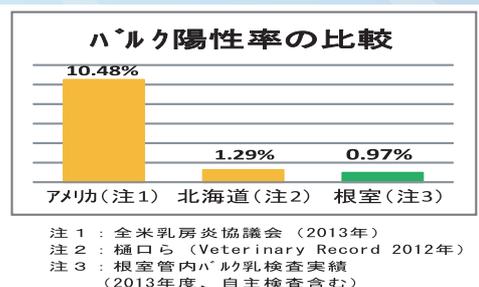
マイコプラズマから農場を守るために！

～ 今、すぐに農場でできることは？ ～

1 マイコプラズマ乳房炎の感染状況

マイコプラズマ乳房炎は、近年世界的に問題となっており、感染力が強く、発症牛の治療が難しい病気でもあります。

日本国内のバルク乳陽性率は諸外国と比較して低いと言えますが、1戸当たりの飼養頭数が増加している北海道(根室を含む)では、「農場内における蔓延防止対策」の構築が必要です。



飼養頭数の多い農場における蔓延防止対策が特に重要です
「今、すぐにできること」を情報共有して、自分の牧場を守りましょう

右の写真は、マイコプラズマを寒天培地で培養して育てたコロニー(集落)の写真です。発育には短くて2～3日を要します。

このコロニー(集落)は肉眼でようやく見える程度の大きさなので、右は実体顕微鏡で観察した写真です。一般的に「目玉焼きの様なコロニー」になります。

(提供元：酪農学園大学)



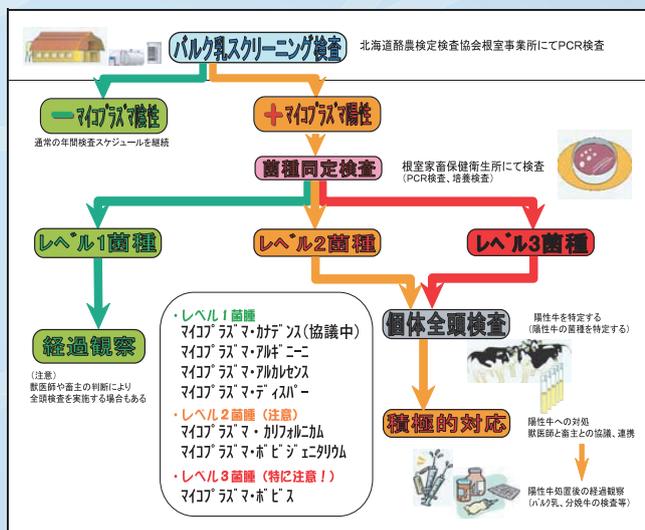
2 根室管内におけるマイコプラズマ検査体制と対処例

根室管内では、平成25年度から全農協にて定期的にバルク乳スクリーニング検査を実施しています。

1) 検査結果毎の対応 (平成25年5月～26年3月)

バルク乳陽性以降の対処例

- ① バルク乳の菌種同定検査 (牛群の菌種の特定)
- ② 菌種に基づき、全頭検査を実施 (陽性、排菌牛の特定)
- ③ 畜主と獣医師とが協議して、陽性牛へ対処する (隔離と治療、経過観察、または淘汰)
- ④ 陽性牛への対処が完了したら、バルク乳検査を一定期間継続する (搾乳牛群の監視)
- ⑤ 上記バルク乳検査が完了したら、通常の検査サイクルに復帰する



2) スクリーニング検査スケジュールの例

このスケジュールが現時点で考えられる最速の検査体制です。民間の検査機関へ依頼する場合は、サンプルの輸送時間等が必要になります。

日数	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	6日目	7日目	8日目	9日目	7日目を以降
内容	バルク乳の採材		バルク乳培養			陽性判定 PCR検査	菌種同定 PCR検査		菌種同定 培養検査	個体検査 の対応 (7日目以降開始)
						結果通知				
担当	農協		北海道酪農検定検査協会 根室事業所			北海道根室家畜保健衛生所		農協		

3 平成25年度のバルク乳スクリーニング検査結果(事業対応分のみ)

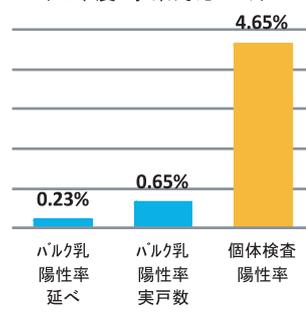
平成25年5月から26年3月までの実績は右表の通りです(この数字には「臨床での対応件数(戸数、頭数)が含まれていません」)

毎年、臨床対応が数戸発生しておりますので、獣医師と相談し早期発見と対処に努めましょう。

バルク検査 延べ戸数	搾乳戸数 (11月末)	陽性 戸数	全頭検査 頭数	陽性 頭数	廃用 頭数
3,525	1,239	8	774	36	37

バルク乳から検出された菌種	対応 レベル	戸数	個体 (参考)
ポビス	3	4	28
ポビジェニタリウム	2	2	2
カリフォルニカム	2		
カナデンス	1	1	5
アルギニーニ	1		
アルカレセンス	1	1	
ディスパー	1		
不明			1

マイコプラズマ陽性率 (25年度 事業対応のみ)



4 バルク乳検査と個体(乳房炎牛)検査の意義

- ①バルク乳検査は、搾乳牛群の排菌(陽性)牛を定期的に監視する為に必要です。
* 乳房炎症状を示していない個体でも排菌している場合があります。
- ②個体(乳房炎牛)検査は、農場内での感染拡大の防止(隔離)と早期治療のために必要です。
* 乳房炎症状のある時は、すぐに担当獣医師へご相談ください。
* 乳房炎起因菌(SA,SAG,CNS,OS,CO)検査では、マイコプラズマを検出できません。
乳房炎症状がある個体には注意してください。

マイコプラズマ乳房炎蔓延防止には 「バルク乳検査と個体検査の両方が重要」です

右の写真は、ポビスに感染して泌乳が停止した牛の乳房です。

外見上から乳房のシコリを確認でき、触るとハッキリとしたシコリを感じます。

このような症状は感染から長時間経過した牛に見られますが、バルク乳検査で摘発された個体は外見上、正常な乳房であることも多いです。

(提供元：酪農学園大学)



5

農場内における蔓延防止対策の提案

1) マイコプラズマの注意点

- マイコプラズマ“ボビス”は肺炎や乳房炎の起因菌であり、最も注意すべき菌種です。
- 子牛の時にマイコプラズマ（特にボビス）に感染した牛は、その記録を残し（繁殖台帳へのメモなど）、初産分娩後の乳汁検査（マイコプラズマ検査）をお願いします。

2) 飼養管理に関する注意点

< 搾乳時の注意点 >

- 陽性（発症）牛を、可能な限り **隔離** して下さい。（搾乳も別対応が望ましい）
- 子牛（特に肺炎の子牛）を触ったら、搾乳作業前に手を洗浄してください。
- マイコプラズマ感染（陽性）牛は最後に搾乳してください。
- マイコプラズマ乳房炎牛（陽性牛を含む）を搾乳したユニットは、しっかりと消毒してから次の搾乳牛へ使用してください。
- 全頭検査の結果が出るまでは、搾乳1頭毎のユニット消毒をお奨めします。（蔓延防止）

< 施設や子牛に関する注意点 >

- マイコプラズマ感染牛の使用した敷きワラを、他の牛へ再利用しないでください。
- 子牛、育成牛群での肺炎、かぜの蔓延防止に努めてください。

3) マイコプラズマ乳房炎に感染した牛が示す特徴（一例）

- 泌乳量が**急激に低下**
- 泌乳が**短期間で停止**
- 乳房が**急激に小さくなる**
- 異常分房や**乳房に大小のシコリ**ができる（ピンポン玉状のシコリなど）
- 複数の分房へ広がる**（血液に乗って感染拡大する、関節や臓器にも感染する）
- 同じような症状の同居牛が多発する

4) 乳房炎（治療）牛への対応

- 担当獣医師へ往診を依頼して、通常の乳房炎起因菌検査に加えマイコプラズマの検査をすべきか担当獣医師と検討して下さい。

「担当獣医師との連携が大切です」

- 「これまでの乳房炎と何かが違う」と感じる牛がいる場合は、**早急に担当獣医師へご相談ください**
- 陽性牛が特定された際には、「**隔離、治療**」「経過観察」「淘汰」について、その後に発生するお互いの業務分担と労力なども協議したうえで判断してください。（農協担当者とのご協議もお願いします）

5) 導入（購入）牛への対応

- 分娩後2日目以降の乳汁をマイコプラズマ検査して、結果が陰性であれば牛群へ入れることをお奨めします。（農場外からの侵入防止対策）

あ と が き

根室管内では、平成25年5月からマイコプラズマ乳房炎に対する搾乳農家全戸でのバルク乳スクリーニング検査を開始しました。

この理由は、他管内(国内)にてマイコプラズマ乳房炎による大規模な被害(乳牛の淘汰)が報告されてきた事実を踏まえて、この問題は必ず根室管内でも発生しうるとの想定から、平成24年度から準備を進めて現在へ至っております。

この病気(マイコプラズマ)の恐ろしい特徴は、「現時点において、明確な対応策が確立されていない」ことですが、それを理由にして対応策を講じなければ、この病気による被害を管内の農場内へ拡大させてしまうと危惧しております。

1年間(平成25年度)の事業内容から様々な課題とともに「現時点での指針」も見えてまいりました。しかし、この病気(マイコプラズマ)には、まだまだ不明な点が多く存在します。故に、発生事例の情報を積み上げて、常に対策を練り直す必要があります。事実を積み上げることでのみ、将来への対策を講じることが可能となりますので、その為の情報整理や情報収集に関しまして、皆様のご理解とご協力を賜りたくお願い申し上げます。

この事業は、根室管内全ての関係機関が連携して同じ方向性にて取り組んでおります。

今後も新たな知見や情報を収集して関係者の皆様へ発信しますとともに、管内乳牛資源を守るための取り組みとして進めてまいります。

根室管内マイコプラズマ乳房炎対策会議
～マイコプラズマ乳房炎蔓延防止マニュアル～
(消費・安全対策事業 26年3月発行)

根室管内マイコプラズマ乳房炎対策会議構成団体

北海道根室振興局、北海道根室家畜保健衛生所、根室地区農業改良普及センター、根室地区農業共済組合、ねむろ獣医師会、北海道酪農検定検査協会(根室事業所)、ホクレン農業協同組合連合会(中標津支所)、4市町家畜自衛防疫組合、標津町農業協同組合、中標津町農業協同組合、計根別農業協同組合、中春別農業協同組合、道東あさひ農業協同組合、根室生産農業協同組合連合会

(順不同)

■事業総括・問い合わせ先
根室生産農業協同組合連合会(生産振興課)
TEL(0153)72-2148 FAX(0153)72-4401

V 搾乳作業

普段の搾乳作業のなかで、これだけは気にしている！というポイントがありますか？

搾乳作業は、農場によってやり方がさまざまだと思います。この章では、搾乳作業のなかでも**とくに実践してほしいポイント**をまとめました。乳質をうまくコントロールしている農場では、以下のポイントをとくに意識して搾乳作業を行っている傾向があります。

1 搾乳作業でとくに実践してほしいポイント

ポイント① 搾乳刺激（前搾り・乳頭清拭）をしっかり与える



写真1 ストリップカップを使って前搾りをする



写真2 乳頭側面と乳頭口をきれいに拭く（乳頭口はとくに念入りに）

ポイント② 過搾乳を防ぐ（乳頭口を傷つけない搾乳）



ポイント③ 確実なポストディッピング



写真3 ノンリターンディッパーを使用

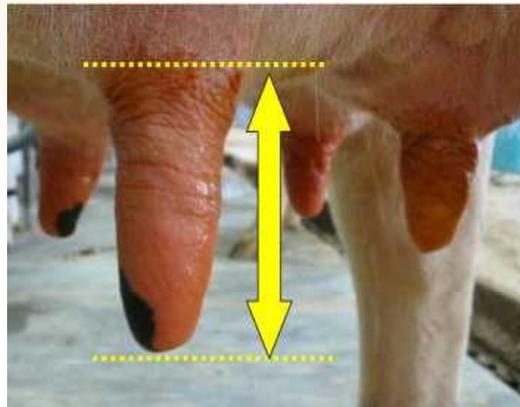


写真4 乳頭全体が浸るように

ポイント① 搾乳刺激をしっかりと与える

～ なぜ搾乳刺激が大事なのか？ ～

< ちょっと難しいけど、とっても大事ななし ～牛の泌乳生理とは？～ >

生乳はミルカーの真空圧による引っ張りで搾られるわけではなく、泌乳ホルモン（オキシトシン）を利用することで初めて十分に搾ることができます。

乳房内の生乳のうち、ミルカーの吸引力で搾り出せる生乳は約40%といわれており、残り60%は搾乳刺激により牛自らが排出を促さなければ搾乳できません（図1）。

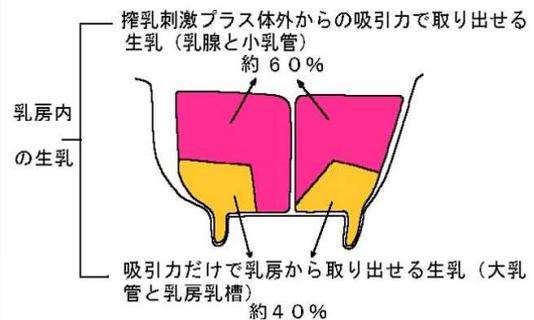


図1 生乳が搾られる仕組み

搾乳刺激を感じる部分は乳頭にしかありません。乳頭を刺

激することでオキシトシンが血液中に放出されます。図2はオキシトシンの分泌と乳の流れを示した曲線です。血液中のオキシトシン濃度は、乳頭刺激から1分程度で最高に達し、その後5分程度で減少し始めるといわれています。

赤い曲線のようにオキシトシンの分泌カーブに合致した搾乳が、牛に優しい搾乳方法といえます。

青い曲線は、搾乳刺激の不足やユニットの装着タイミングが早すぎた場合を表しています。泌乳開始とともに生乳は出るものの、その後、一旦出なくなる現象が起きます。これはバイモダリティ（二度出し）と呼ばれ、吸引力だけで搾られる生乳は引き出されても、オキシトシンの放出が不十分なために起きます。

緑の曲線はユニット装着のタイミングが遅い場合です。オキシトシンの放出が少なくなっても乳房内に残乳があるため、少ない生乳を、時間をかけて搾乳する結果となり、過搾乳を引き起こしてしまいます。

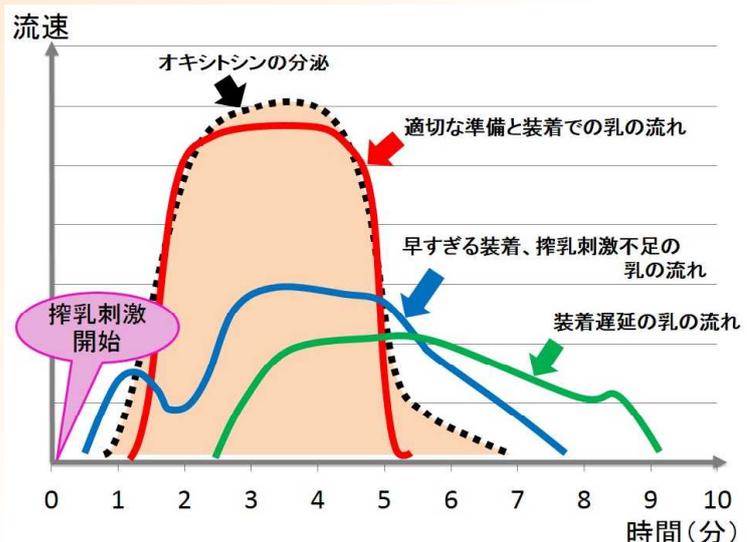


図2 オキシトシンの分泌と乳の流れを示した曲線

（出典：Cowsignals UdderHealth 改訂）

前搾りと乳頭清拭をしっかりと行うことは、牛に対して「これから搾乳するよ」という強い搾乳刺激になります。施設の構造上、現状より牛体をきれいに保つことが困難な場合は、ユニット装着前の乳頭清拭がとくに重要です。乳頭口が開く前に、乳頭、とくに乳頭口をきれいに拭いて、病原菌の侵入を防ぎましょう。乳頭口を丁寧に拭くことは、乳牛にとって強烈な搾乳刺激になります。これは、誰にでもできる乳房炎の予防法です。



写真5 理想とする清拭後の乳頭口

ポイント② 過搾乳を防ぐ(乳頭口を傷つけない搾乳)

～なぜ、乳頭口が傷つくのを防ぐ必要があるのか？～

乳房炎起因菌が乳頭口から侵入することで、乳房炎が発生します。乳頭先端が傷つき、花開いた状態は、ケラチン層などの防御システムが破壊されている状況です。傷部分で細菌が増殖するとともに、細菌が侵入しやすいことで、乳房炎のリスクが高まります。

分娩したばかりの初産牛の乳頭口は、下図の左の写真のように、きれいな状態です。



最初はきれいな乳頭口
ですが

日頃の搾乳作業の
やり方によっては

先端が傷つき
花開いてしまいます

乳頭口は、思春期の女の子の心のように、デリケートで傷つきやすいものです。乳頭口が傷つく原因には、以下のことが考えられます。

<乳頭口に負担がかかること>



ユニット装着が早すぎたり、分房に乳がない状態での過度な搾乳



装着時のシェルのねじれ



ライナーズリップ



マシンストリップング

その他、「ミルクカーの真空圧が高い」、「ライナーが乳頭に合っていない」、「パルセーター不良」、「搾乳時間が長い」等も乳頭への負担になります。

搾乳刺激の不足やユニット装着のタイミングが適切でないと、搾乳時間は長くなります。搾乳刺激をしっかりと与えることは、乳頭口を傷つけない搾乳につながる第一歩です。

搾乳刺激を与えると乳頭がふくらんでくるのが分かります。この「乳頭のふくらみこそ」がユニットを装着する目安になります（乳頭に触れてからおおむね1分～1分30秒後）。

皆さんの牛群の乳頭口はどのような状態でしょうか？ 上の赤い枠線内にある傷ついた乳頭口が牛群全体の10%を超えないことが目標となります。とくに、初産牛の乳頭口が傷ついている場合は、日頃の搾乳方法やミルクカーの真空圧などを見直すことが必要です。

ポイント③ 確実なポストディッピング

ポストディッピングの役割は、「乳頭表面についた乳汁を洗い流す」、「乳頭の殺菌」、「乳頭表面の保護」の大きく3つあります。

搾乳終了後の乳頭口は開いており、病原菌が侵入しやすい状態です。ポストディッピングで殺菌することで乳房炎予防になります。また、ポストディッピング剤には、グリセリン等の油分が含まれているものもあり、乳頭皮膚を保護するようになっています。

～ポストディッピングの注意点～

①十分にディップ（浸す）していますか？

ディッピングのディップは「浸す」という意味です。

不十分なポストディッピングは効果を発揮できません。

乳頭全体が浸るように行いましょう（写真6）。

②ディッパーが乳や糞便で汚れていませんか？

有機物で汚れたディッピング剤は、殺菌効果が大幅に低下してしまいます。

ノンリターンディッパーを使用する、汚れた場合は水ですすぐなどし、ディッピング剤の効果を発揮して乳房炎を予防しましょう。



写真6 乳頭全体が浸るように！

<意外なも～点>

乳房炎起因菌は、作業者の手や搾乳道具にも付着しています。ポイントをおさえた搾乳作業を行っていても、乳頭に触れるものが汚染されている意味がありません。



写真7 搾乳中に汚れたままのユニット



<農場の工夫事例>

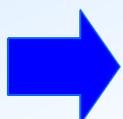
- ・汚れた場合は、殺菌したタオルできれいに拭く。
- ・自動離脱時にユニットが牛床に触れて汚れないように、ユニットの離脱間近は手動へ切り替えてから離脱する。

<番外編>

- ・搾乳者1人につきユニットを2台以内にする。
- 使用しない予備のユニットは、ユニットが汚れた場合の交換用とする。使用するユニットの使用台数を減らし、余裕をもって作業に集中するよう心がけている。



写真8 汚い場所にライナーキャップを放置



<農場の工夫事例>

- ・搾乳中、ライナーキャップは殺菌剤入りのお湯の中で保管する（写真9）。

- ・手洗い専用バケツを用意して、乳頭に触れる前に搾乳手袋を洗う。



写真9 ライナーキャップ専用のトレイ（洗面器を使用）

農場事例「搾乳方法を変えて、乳頭口先端の傷を改善」

～ラクトコーダ^{*}を用いた搾乳立会から～

初産牛から乳頭口の損傷が目立っていた農場で、ラクトコーダを用いて搾乳立会を行った事例を紹介します。A農場では、作業員1人がミルキングパーラーで3回搾乳を行っています。搾乳方法の概要は下の表のとおりです。図3は、ラクトコーダで調査した結果の一例です。

調査の結果、「①バイモダリティ(乳の二度出し)」、「②搾乳時間が長い」という特徴が確認できました。「搾乳刺激の不足」や「ユニット装着のタイミングが遅くバラツキがあること」が原因で、搾乳時間が長い傾向にありました。この農場では、前搾り回数を増やし、前搾りから装着までの時間を変更したところ、乳頭口の傷みが改善され、1回あたりの搾乳時間も短くなり、乳房炎の頭数が減りました。

項目	変更前	変更後
搾乳手順	前搾り→乳頭清拭→ユニット装着・離脱→ポストティッピング	変更なし
前搾り回数	1回	4回以上
前搾りから装着までの時間	2分半～6分(バラツキ有)	1分半～2分

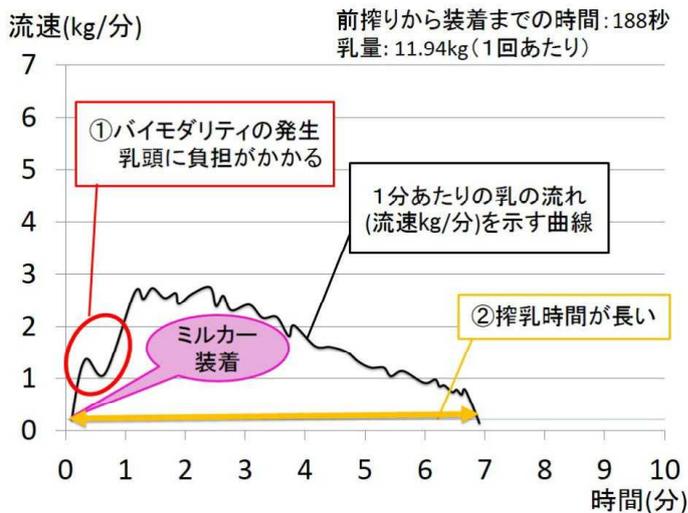


図3 ラクトコーダの調査結果(搾乳立会時)

ラクトコーダとは

ラクトコーダは、ミルククローとミルクラインの間に設置するミルクメーターです(写真10)。1分間あたりに搾られる乳量(=流速(kg/分))を経過時間(分)ごとに示すことができます。

ラクトコーダにより、ユニット装着のタイミング、ユニットの装着時間、ユニットを離脱したときの乳量、総乳量、最大流速、電気伝導度などが分かります。

これらを総合的に見ることで、搾乳作業の良し悪しなどを評価します。



写真10 ラクトコーダ
(ZENOAQ資料より)

2 ユニット離脱のタイミングを考える

ミルククローへ流れてくるミルクの量をビジュアル化し、視覚からユニット離脱のタイミングを考えてみました。

北海道乳質改善協議会では、ユニット離脱のタイミングを「ブリードホールから空気の流入音が止んだ時又はクローに出てくる生乳がひとすじの糸状になってクロー内壁を伝う時である」としています。

一方、生産現場では、自動離脱装置を装備した搾乳システムが広く普及しています。

表1は、自動離脱装置を利用している酪農家の体細胞数から、体細胞数が低い酪農家と高い酪農家における自動離脱の流量設定値を比較したものです。調査結果から体細胞数が低い酪農家は、離脱の流量設定値が高い（＝離脱のタイミングが早い）ことが分かります。

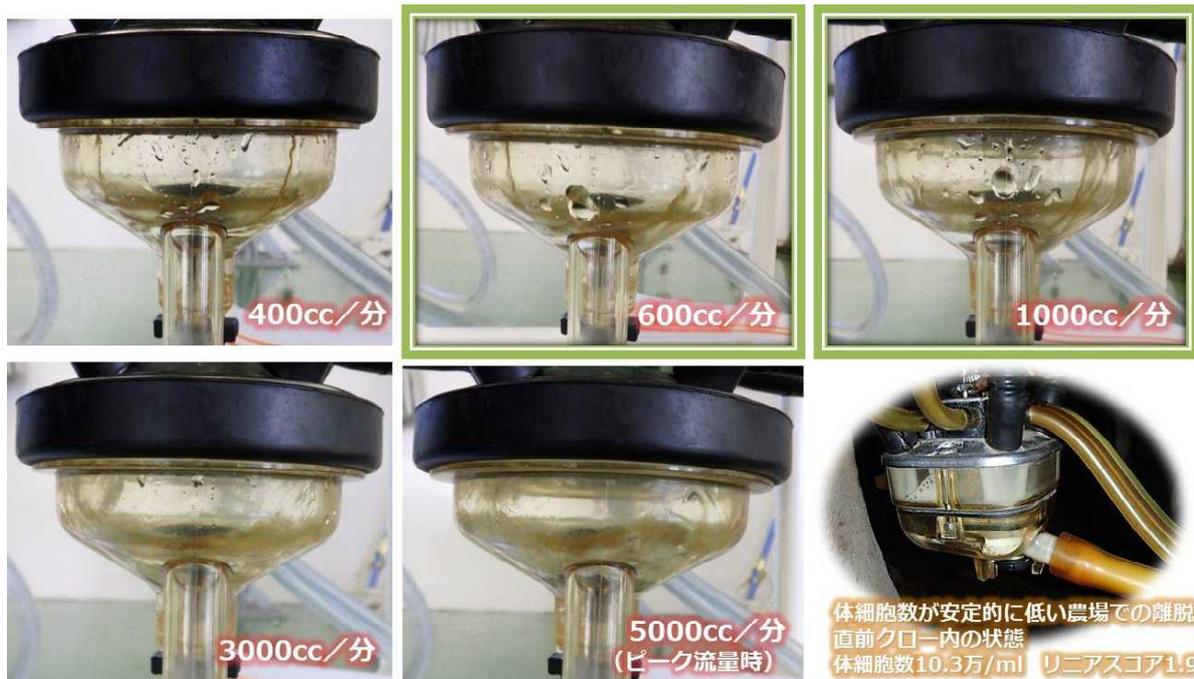
表1 良質乳生産酪農家の自動離脱装置の流量設定

区分	自動離脱装置	自動離脱の流量設定 ml/分
良質乳生産酪農家	あり	800
改善志向酪農家	あり	445

* 良質乳生産酪農家（5戸）：体細胞数20万以下
* 改善志向酪農家（5戸）：体細胞数20万以上
(網走農業改良普及センター 2013)

過搾乳による乳頭損傷を防止するために自動離脱の設定流量を上げる酪農家が増えています。「搾りきらないと乳房炎になる。」と酪農家の皆さんから聞きます。もしかしたら、その牛はすでに、乳房内に細菌が感染しているのかも知れません。とくに乳房炎の経験がない牛は、搾りきるのではなく、「少し早いかな。」というくらいのタイミング（下の写真の600～1000cc/分）で、ユニットを外すことを心がけてみて下さい。

繰り返しますが、とくに初産牛で乳頭損傷が見られる場合は、過搾乳があると判断し、離脱のタイミングも含めた搾乳方法を見直すべきです。



根室農業改良普及センター2015（調査協力：北海道立農業大学校）

生産段階における防疫強化対策事業
(自衛防疫体制強化推進事業)

家畜衛生対策推進協議会

〒101-0021

東京都千代田区外神田 2-16-2

第 2DIC ビル 9 階