

牛乳房炎乳汁からの酵母の分離

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者	桜井, 健一 渡辺, 文男 松岡, 俊和 栗原, 富男 飯島, 雄二 沖, 三雄 小倉, 喜八郎
巻/号	39巻7号
掲載ページ	p. 419-422
発行年月	1986年7月

牛 乳 房 炎 乳 汁 か ら の 酵 母 の 分 離

桜井健一*¹⁾ 渡辺文男*²⁾ 松岡俊和*¹⁾ 栗原富男*³⁾飯島雄二*¹⁾ 沖 三雄*¹⁾ 小倉喜八郎*⁴⁾

(昭和 61 年 3 月 28 日受理)

Isolation of Yeasts from Bovine Mastitic Milk
KENICHI SAKURAI (Omiya Livestock Hygiene Service Center, Prefecture of Saitama,
Omiya, Saitama 330) et al.

SUMMARY

Yeasts were isolated from 18 (11.3%) of 158 quarters with clinical mastitis and 14 (12.7%) of 110 quarters with subclinical mastitis. Three genera; 5 species and 18 strains (*C. krusei*, *D. hansenii*, etc.) were isolated from the former 18 quarters. Their count level was $10\sim 1.4\times 10^4$ per ml. Three genera, 5 species and 14 strains (*C. tropicalis*, *C. rugosa*, etc.) were isolated from the latter 14 quarters. Their count level was $10\sim 7.2\times 10^3$ per ml. Yeasts were isolated with *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. from clinical mastitis, but not from subclinical mastitis. The isolated Yeasts were quite sensitive to Clotrimazole *in Vitro*.

要 約

乳房炎牛の乳汁における酵母の分布とその意義を明らかにするため、臨床型乳房炎 72 頭、潜在性乳房炎 50 頭について、酵母と細菌の分離および分離した酵母の薬剤感受性試験を実施した。

- 1) 酵母が分離されたのは、臨床型 158 分房中 18 分房 (11.3%)、潜在型 110 分房中 14 分房 (12.7%) であった。
- 2) 酵母の分離菌種は、臨床型では *C. krusei* 2 株、*D. hansenii* 6 株等 4 属 5 種 18 株、潜在型では *C. tropicalis* 1 株、*C. rugosa* 2 株等 4 属 5 種 15 株であった。
- 3) 酵母の分離菌数は、臨床型で $10\sim 1.4\times 10^4$ 個/ml、潜在型で $10\sim 7.2\times 10^3$ 個/ml であった。
- 4) 酵母と細菌の分離状況は、臨床型では酵母とともに *Sta. aureus*, *Streptococcus* spp. 等が分離されたが、潜在型では分離されなかった。
- 5) 分離・同定された酵母は、Clotrimazole に最も高い感受性を示した。

近年、乳牛の酵母に起因する乳房炎の発生報告が多くなり、正常乳汁からの酵母の分離も報告され^{1,3,11,12)}、酵母の乳房感染と乳房炎発病に関心が寄せられている。著者らは、牛乳汁中の酵母の分布を明らかにするため、正常牛の乳汁からの酵母の分離について報告した¹⁴⁾。いっぽう、臨床型ならびに潜在性乳房炎乳汁における酵母に

ついての報告は少なく^{2,9)}、また、酵母と細菌の分離についての報告はほとんど見当たらない。そこで、著者らは、臨床型ならびに潜在性乳房炎を呈する乳牛の乳汁における酵母の分布とその意義を明らかにするため、これらの乳汁から酵母の分離を試み、分離した酵母の抗真菌剤に対する感受性を調べ、同時に細菌の分離も実施したので報告する。

1. 材 料 と 方 法

1) 材 料

乳汁は、1983年2月から1984年11月の間に、臨床型72頭158分房、潜在型50頭110分房をメチルドゼンルベンチルトリメチルアンモニウムクロライド4部とメ

*¹⁾ 埼玉県大宮家畜保健衛生所 (埼玉県大宮市別所町107-1)*²⁾ 埼玉県畜産試験場 (埼玉県大里郡江南町須賀広784)*³⁾ 埼玉県畜産課 (埼玉県浦和市高砂3-15-1)*⁴⁾ 埼玉県農業共済連東部家畜診療所 (埼玉県桶川市加納天神709-1)

牛 乳 房 炎 乳 汁 か ら の 酵 母 の 分 離

チルドデシルキシリレンピストリメチルアンモニウムクロライド1部の混合物(市販名パコマ)で消毒し、乳頭をアルコール綿で清拭し、滅菌ビニール袋で乳房をおおい、乳頭のみを露出し乳汁を無菌的に採取した。乳房の腫脹、硬結あるいは乳汁中に凝塊物のみられたものを臨床型とし、これらの所見は認められないが California Mastitis Test 変法で廿以上の成績を示したものを潜在型とした。

2) 分 離 方 法

酵母の分離にはサプロー寒天培地を、細菌には5%ヒツジ血液寒天培地 20 ml を径 9 cm のシャーレに入れ、平板培地を作製して使用した。乳汁 0.1 ml を滅菌生理食塩液で希釈し、その 0.1 ml を一枚のシャーレに接種し、前者を 25℃ 1週間、後者を 37℃ 2日間培養した。

3) 同 定

酵母の形態、培養性状、生化学的性状、血清学的性状および同定、細菌の生化学的性状と同定は前報¹⁴⁾のとおりである。

4) 薬 剤 感 受 性

分離した酵母4属9種23株について、8種類の抗真菌剤 Nystatin (NYS), Trichomycin (TRM), Variotin (VR), Clotrimazole (CLT), Pyrolnitrin (PRLN), Griseofulvin (GRF), Siccamin (SIC), Haloprogin (HAL) を用い、前報¹⁴⁾と同様の方法で実施した。

2. 成 績

1) 酵 母 の 分 離 率

分離率を表1に示した。臨床型では158分房中18分房(11.3%)、潜在型では110分房中14分房(12.7%)であった。

表 1 酵 母 の 分 離 率

	臨床型乳房炎	潜在性乳房炎
検査頭数	72	50
検査分房数	158	110
分離分房数	18	14
分離率	11.3%	12.7%

表 2 酵 母 の 分 離 菌 種

臨床型乳房炎		潜在性乳房炎	
菌 種	株数	菌 種	株数
<i>Candida krusei</i>	2	<i>Candida tropicalis</i>	1
<i>Candida parapsilosis</i>	1	<i>Candida rugosa</i>	2
<i>Debaryomyces hansenii</i>	6	<i>Debaryomyces hansenii</i>	2
<i>Torulopsis glabrata</i>	3	<i>Torulopsis</i> spp.	2
<i>Rhodotorula rubra</i>	4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1
同定不能	2	同定不能	7
計	18	計	15

2) 酵 母 の 分 離 菌 種

分離菌種は表2に示したとおり、臨床型からは *Candida krusei* 2株, *Candida parapsilosis* 1株, *Debaryomyces hansenii* 6株, *Torulopsis glabrata* 3株, *Rhodotorula rubra* 4株, 同定不能2株で計4属5種15株であった。潜在型からは *Candida tropicalis* 1株, *Candida rugosa* 2株, *Debaryomyces hansenii* 2株, *Saccharomyces cerevisiae* 1株, 同定不能7株等4属5種15株であった。*C. tropicalis*, *C. krusei*, *T. glabrata* は、因子血清による凝集反応のそれと生化学的性状による同定と一致したが、*C. rugosa*, *C. parapsilosis* は一致しなかった。

3) 酵 母 の 分 離 菌 数

分離菌数は表3に示したとおり、臨床型では $10 \sim 1.4 \times 10^4$ 個/ml, 10^2 個台が6株, 10^3 台が3株, 10^4 台が1株。潜在型では $10 \sim 7.2 \times 10^3$ 個/ml, 10^2 台が1株, 10^3 台が2株であった。

表 3 酵 母 の 分 離 菌 数

臨床型乳房炎		潜在性乳房炎	
菌 種	菌 数	菌 種	菌 数
<i>C. krusei</i>	$4 \times 10^4 \sim 8 \times 10^3$	<i>C. tropicalis</i>	1.6×10^2
<i>C. parapsilosis</i>	1×10^4	<i>C. rugosa</i>	$1 \times 10^2 \sim 9 \times 10^1$
<i>D. hansenii</i>	$1 \times 10^4 \sim 1.7 \times 10^2$	<i>D. hansenii</i>	2×10^1
<i>T. glabrata</i>	$2.8 \times 10^2 \sim 1.1 \times 10^3$	T. spp.	1×10^1
<i>Rh. rubra</i>	$2 \times 10^2 \sim 1.4 \times 10^4$	<i>S. cerevisiae</i>	1×10^1
同定不能	$1 \times 10^4 \sim 1.4 \times 10^3$	同定不能	$1.2 \times 10^2 \sim 7.2 \times 10^3$

表 4 酵 母 と 細 菌 の 分 離 状 況

菌 種	酵 母	細 菌 と の 混 合										
		分 単 独 株 数	<i>Sta. aureus</i>	<i>Sta. epidermidis</i>	<i>A. viridans</i>	<i>M. lutes</i>	M. spp.	グ ラム 陽 性 球 菌	<i>Str. dysgalactiae</i>	<i>Str. uberis</i>	グ ラム 陰 性 桿 菌	グ ラム 陽 性 桿 菌
臨床型乳房炎	<i>C. krusei</i>	2	1									1
	<i>C. parapsilosis</i>	1		1								
	<i>D. hansenii</i>	6	2			2	1					1
	<i>T. glabrata</i>	3			3							
	<i>Rh. rubra</i>	4	1						1	1	1	
	同定不能	2	1							1		
潜在性乳房炎	<i>C. tropicalis</i>	1	1									
	<i>C. rugosa</i>	2			1		1					
	<i>S. cerevisiae</i>	1					1					
	<i>D. hansenii</i>	2					1					1
	T. spp.	2		1	1							
	同定不能	7	2	2			1	1				1

表5 酵母の薬剤感受性試験成績

薬剤名	MIC ($\mu\text{g/ml}$, U/ml)											
	0.1	0.2	0.4	0.8	1.6	3.2	6.4	12.5	25	50	100	200
Nystatin							6		5	3		9
Trichomycin			1	8		7	4	1				2
Variotin	2			1	2			5	4	9		
Clotrimazole	11	1	1		4		3		3			
Pyrolnitrin	1		1	6	1	2	1		1	1	3	6
Griseofulvin								2				21
Siccanin	2				2		1	5	1		12	
Haloprogin						1		2		6	6	8

4) 細菌の分離成績

臨床型からは *Sta. aureus* 36 株, グラム陽性球菌 29 株, *Sta. epidermidis* 23 株, グラム陰性桿菌 13 株, グラム陽性桿菌 11 株, *Str. agalactiae* 1 株, *Str. dysgalactiae* 2 株, *Str. uberis* 5 株, *A. pyogenes* 2 株, *E. coli* 4 株, *K. pneumoniae* 4 株等計 144 株が分離された。潜在型からはグラム陽性球菌 28 株, *Sta. epidermidis* 17 株, *Sta. aureus* 15 株, グラム陽性桿菌 13 株, グラム陰性桿菌 9 株, *A. viridans* 2 株等計 90 株が分離された。

5) 酵母と細菌の分離状況

分離状況は表4に示したとおり, 臨床型では *C. krusei* と *Rh. rubra* がそれぞれ1株ずつ単独で分離されたが, 他の酵母は *Sta. aureus*, *A. viridans*, *Streptococcus* spp. 等とともに分離された例が多かった。潜在型では *C. tropicalis* が1株単独で分離されたほかは, グラム陽性球菌, *Sta. epidermidis* 等と同時に分離された。

6) 酵母の薬剤感受性

薬剤感受性は表5に示したとおりで, CLT では 0.1 ~ 0.6 $\mu\text{g/ml}$ の範囲で被検菌の 73% が, また, TRM, PRLN では同範囲内で 39% が感受性を示した。

3. 考 察

乳房炎乳汁からの酵母の分離率は, 臨床型 (11.3%) と潜在型 (12.7%) との間に差はなかったが, MEHNERT ら¹¹⁾ (26.4%), 雨宮ら³⁾ (24%) の分離率と, MONGA ら¹²⁾ (6.7%), 安里ら²⁾ (3.8%) のそれとの中間の値であった。雨宮ら³⁾ は混合乳の調査で, 高温多湿の6月が3月にくらべて多くの酵母が分離されることを報告し, 気候的条件の影響を述べている。今回の分離率が鹿児島県と北海道での成績の中間の値で, 気候的・地理的要因も推察される。また, 分離率は著者らの報告¹⁴⁾ した正常乳汁からの分離率 5.6% と比較すると, 臨床型で2倍, 潜在型で2.2倍であった。

分離菌種は, 臨床型では *C. krusei* 2 株, *C. parapsilosis* 1 株, *D. hansenii* 6 株等 4 属 5 種 18 株, 潜在型では *C. tropicalis* 1 株, *C. rugosa* 2 株, *D. hansenii* 2 株等 4 属 5

種 15 株であった。臨床型と潜在型で *Candida* 属と *Debaryomyces* 属の菌種が多かったが, CHANG ら⁴⁾ の成績と同様両者からの分離菌種に差は認められなかった。いっぽう, 分離菌種の中で *D. hansenii* が最も多かったが, RICHARD¹³⁾, MONGA ら¹²⁾ は *Candida* 属が多く分離されたとしており, これらの成績とは異なった傾向であった。これは, 採材した乳房の病勢の経過, 治療歴等の背景の違いが1要因ではないかと考えられる。

分離菌数は臨床型で $10 \sim 1.4 \times 10^4$ 個/ml, 潜在型で $10 \sim 7.2 \times 10^8$ 個/ml の範囲にあり, 臨床型の1乳房で *Rh. rubra* が 1.4×10^4 個/ml と高率に分離されたのみで, 両者にほとんど差は認められなかった。これらは, 雨宮ら³⁾ の成績と一致しており, 前回報告¹⁴⁾ した正常乳汁からの分離菌数とも変わらなかった。単独で分離・同定された酵母は3菌種で, *C. krusei* が 8×10^8 個/ml, *Rh. rubra* が 1.4×10^4 個/ml, *C. tropicalis* が 1.6×10^8 個/ml であった。これらは, RICHARD ら¹³⁾ の実験成績や福永ら⁵⁾, 石川ら⁷⁾, LOKEN ら⁹⁾ の発生報告を考慮すると, *C. krusei* や *C. tropicalis* などの感染が考えられるが, 酵母の分離を継続して行った検査成績や, 病理組織所見等の成績がないので, 乳房炎の原因が酵母の感染であるかどうかは不明である。今後, 酵母の乳房炎起因菌としての意義を明らかにするためには, さらに検討する必要がある。

細菌の分離成績では, 臨床型では *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* 等数多くの種類の菌が分離された。いっぽう, 潜在型では *Staphylococcus* spp., グラム陽性球菌, グラム陽性桿菌等限られた範囲の菌種が分離された。

酵母と細菌の関係については, 臨床型では *Sta. aureus*, *A. viridans*, *Streptococcus* spp. 等, 潜在型では *Sta. epidermidis*, グラム陽性球菌等と同時に酵母が分離されたが, 全体として分離された酵母の数が少ないので, 特定の傾向はつかめなかった。しかし, 乳房炎乳汁として前回報告¹⁴⁾ した正常乳汁からの酵母と細菌の分離状況を比較すると, 酵母は *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp.,

Milbemycin D による犬消化管内寄生虫の駆虫試験

グラム陽性球菌, グラム陰性桿菌, グラム陽性桿菌などの数種類の細菌と同時に分離されることが明らかとなった。また, GIESECKE ら⁹⁾は, 重度の乳房炎乳汁からは *Sta. aureus* や *Streptococcus spp.* が酵母と同時に分離されるが, 軽度の乳房炎ではこれらの菌種と同時に分離される例が少ないことを報告しており, 著者らの成績も同様な傾向を示していた。

分離酵母の薬剤感受性では, Clotrimazole に対し被検菌の 73% が感受性を示し (MIC: 0.1~1.6 $\mu\text{g/ml}$), 次いで, Pyroclitricin, Trichomycin であり, Clotrimazole に高い感受性が認められた。これらの成績は, 久米⁸⁾, McDONALD ら¹⁰⁾の成績と一致していた。また, 正常乳汁から分離された酵母の成績とも一致するものであった。

稿を終るにあたり, 材料の採取に協力していただいた埼玉県農業共済連東部家畜診療所, 埼玉県食肉衛生検査センターおよび大宮, 川越, 熊谷, 杉戸各家畜保健衛生所の諸先生に感謝いたします。また, 終始ご指導していただいた北里大学故久米常夫博士に心から深謝いたします。

文 献

- 1) 安里 章, 佐藤輝夫: 家畜診療, 218, 31~34 (1981).
- 2) 安里章, 阿諏訪次郎, 長山一郎, ほか: 家畜診

- 療, 236, 27~32 (1983).
- 3) 雨宮淳三, 田代哲之: 鹿大農学術報告, 28, 113~117 (1978).
- 4) CHANG, GUK-HYUN., KIM, TAE-JONG: *J. Korean Vet. Med. Assoc.*, 20, 11, 684~691 (1984).
- 5) 福永 伸, 太田垣公利, 清水亀平次, ほか: 日獣会誌, 20, 107~109 (1967).
- 6) GIESECKE, W. H., NEL, E. E. and VAN DEN HEEVER, I. W.: *J. S. Afr. Vet. Med. Assoc.*, 39, 69~85 (1968).
- 7) 石川幸男, 広瀬公人, 小泉 弘, ほか: 畜産の研究, 34, 2, 245~251 (1980).
- 8) 久米常夫, 柏崎 守, 三谷賢治, ほか: 第 89 回日本獣医学会講演要旨, 111 (1980).
- 9) LOKEN, K. I., THOMPSON, E. S. and HOYT, H.: *J. Am. Vet. Assoc.*, 134, 401~403 (1959).
- 10) McDONALD, J. S., RICHARD, J. L. and ANDERSON, A. J.: *Am. J. Vet. Res.*, 41, 1987~1990 (1980).
- 11) MEHNERT, B., ERNST, K. and GE-DEK, W.: *Zentralbl Veterinaermed.*, 11, 97~118 (1964).
- 12) MONGA, D. P. and KALRA, D. S.: *Indian. J. Anim. Sci.*, 41, 813~816 (1971).
- 13) RICHARD, J. L., McDONALD, J. S. and FICHTNER, R. E.: *Am. J. Vet. Res.*, 41, 1991~1994 (1980).
- 14) 桜井健一, 渡辺文男, 斉藤憲彦, ほか: 日獣会誌, 37, 33~39 (1984).

Milbemycin D による犬消化管内寄生虫の駆虫試験

堀江牧夫* 野田周作*

(昭和 61 年 3 月 28 日受理)

Anthelmintic Effect of Milbemycin D on Dogs

MAKIO HORIE and SYUSAKU NODA (Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, University of Osaka Prefecture, Sakai, Osaka 591)

SUMMARY

A total of 278 dogs were given orally with 0.025 to 1.0 mg/kg of milbemycin D. Of them, 124 were infected with round worms, 79 with hook worms, and 75 with whip worms. Then 188 dogs were examined coprologically from 7 to 37 days after treatment. Of them, 90 were killed 7 days after treatment and examined for resident worms.

Of 62 dogs infected with round worms, 58 (0.1mg/kg) became free from these worms. Of 32 dogs infected with hook worms, 29 (0.025mg/kg) became free. Of the 75 dogs infected with whip worms, 60 (1.0mg/kg) became free. No side effects were observed in any dogs.

要 約

Milbemycin D を犬消化管内寄生虫に投薬した結果, 次のような結論を得た。

* 大阪府立大学農学部 (大阪府堺市百舌鳥梅町 4-804)