

総説

マイコプラズマ性乳房炎の特徴

樋口豪紀¹⁾ 岩野英知²⁾ 権平 智¹⁾ 河合一洋³⁾ 小岩政照⁴⁾ 永幡 肇⁵⁾

- 1) 酪農学園大学・獣医学群・獣医衛生学
- 2) 酪農学園大学・獣医学群・獣医生化学
(〒069-8501 北海道江別市文京台緑町 582 番地)
- 3) 麻布大学・獣医学部・獣医学科・衛生学第一研究室
(〒252-5201 神奈川県相模原市中央区淵野辺 1-17-71)
- 4) 酪農学園大学・獣医学群・生産動物内科学
(〒069-8501 北海道江別市文京台緑町 582 番地)

連絡担当者：樋口豪紀（酪農学園大学）

【要約】

近年、世界各国でマイコプラズマ感染症（乳房炎、肺炎、関節炎、子宮炎および中耳炎等）の顕在化が報告されており、その効果的な制圧技術の構築が獣医畜産領域における大きな課題となっている。マイコプラズマ性乳房炎の浸潤状況を把握するために実施された広域調査（バルクタンクスクリーニング）では日本での浸潤率が1.29%、米国では10.48%、デンマークでは10.2%を示すことが明らかになっている。マイコプラズマの検出には特殊な培養技術が必要とされてきたが、近年、分子生物学的手法を用いた簡便な検査技術も開発され、大型農場での応用も可能となっている。本病制圧に向けた基本的な対応として、検査による積極的な摘発と治療、さらに疫学的に関連性が示唆される子牛の呼吸器感染症の制圧も重要であると考えられる。

キーワード：マイコプラズマ性乳房炎、バルクタンクスクリーニング、病原性、検出技術

【はじめに】

マイコプラズマ性乳房炎は泌乳停止など重篤な臨床症状をともなう高度感染性の疾病であり、適切な対応が実施されない場合、短期間での感染拡大により農場に甚大な経済損失をもたらす。特に、マイコプラズマに起因する臨床型乳房炎に対しては十分な治療技術が確立されおらず難治性乳房炎として淘汰される症例も多い。本総説ではマイコプラズマ性乳房炎の主な特徴について述べる。

【マイコプラズマ性乳房炎の歴史】

マイコプラズマ感染症は古くから多くの動物種において報告されているが、すべての研究は牛肺疫に始まる。16世紀にヨーロッパ大陸で猛威を振るった後、アジア、アフリカ、オーストラリアと、大陸をまたいだ大規模な感染拡大が記録されている [4, 14]。極めて重篤な症状を呈するため [4, 14]、その制圧を目的とした基礎研究には緊急性が求められた。本菌に対する培養技術や同定技術が次々と確立されていく中で、マイコプラズマには牛肺疫の原因菌種 (*Mycoplasma mycoides* spp *mycoides*) 以外にも多くの菌種が存在し、ウシ以外の動物種も感

受性を持つことが明らかになった。ウシにおけるマイコプラズマ性乳房炎の初発事例はイギリスで報告されており [5]、その後、1980年には日本での発生事例が宮崎大学の清水らによって報告されている。

【原因菌の特性】

マイコプラズマがその基本構造において、他の細菌と最も異なる点は細胞壁をもたず、最外層が細胞膜で構成されている点である [17]。ゲノムサイズも他の細菌の3分の1程度と小さい [17]。本菌は通性細胞内寄生菌であるため無細胞培地での培養も可能であるが、栄養要求性は極めて高く、ウマ血清や新鮮酵母抽出液等の特殊な成分を含有するヘイフェリック培地が用いられる [17]。人工培地上での発育が可能な最小の微生物である。本菌は生体への適応性を高めるために、本来の細胞機能を長い時間の中で退化させる、いわゆる退行性進化を効率的に成し遂げてきたことは特筆すべき点である。マイコプラズマ乳房炎を引き起こす主要な菌種として *M. bovis*, *M. californicum*, *M. bovis genitalium*, *M. canadense*, *M. arginini*, *M. alkalescens*, *M. disper*, *M. bovirhinis* 等が報告されている [10]。

【諸外国における

マイコプラズマ性乳房炎の浸潤状況】

マイコプラズマ性乳房炎の浸潤状況の把握にはバルクタンクスクリーニングが用いられている。本スクリーニングでは概ね200～300頭に1頭の感染を検出するとされているが、これは病勢ステージによる排菌数に大きく依存するため、感染初期等、菌数が低い場合には検出感度も低くなる。2001年から2011年にかけて米国カリフォルニア州の21地域で実施されたバルクタンクスクリーニングでは、*M. bovis*の浸潤率が平均10.48% (0.0～100%)であり、その他のマイコプラズマ種の浸潤率は1.74% (0.0～40.0%)であった。これらの結果から、調査対象とした21地域の内、8地域 (42.9%)が浸潤率20%以上を、さらに6地域 (28.6%)が浸潤率40%を示すことが明らかになった [1]。一方、デンマークで行われた調査では、*M. bovis*の浸潤率が1.8%であったのに対し、

その他のマイコプラズマ種の浸潤率は10.2%と高値を示している [11]。また、ベルギーでは *M. bovis*の浸潤率が1.5%であった [16]。フランス南部で実施された同様の調査では *M. bovis*は検出されず、浸潤率は1%以下であるものと推定されている [2]。また、ニュージーランドではバルクタンクからの *M. bovis*の検出は確認されていない [13]。

【日本における

マイコプラズマ性乳房炎の浸潤状況】

筆者らは2010年に日本における広域調査を実施し、浸潤状況の概要を明らかにした (Table 1) [7]。本調査では飼育頭数45頭～1125頭の1241酪農場を対象にバルクタンクスクリーニングを実施したところ、調査農場の1.29%に相当する16農場においてバルクタンクよりマイコプラズマ種が確認された。主要な菌種は *M. bovis* (0.56%), *M. californicum* (0.24%), *M. canadense* (0.24%), *M. arginini* (0.16%), *M. bovis genitalium* (0.08%), *M. alkalescens* (0.08%) and *M. bovirhinis* (0.08%)であった。陽性農場における個体の平均罹患率は6.0% (0.4～34.78%)であった。このうち、感染によって体細胞数に有意な上昇を認めた菌種は *M. bovis*, *M. californicum*, *M. canadense*, *M. bovis genitalium*であった [8]。

【感染経路】

マイコプラズマ性乳房炎における排菌量は *M. bovis*において概ね $10^5 \sim 10^9$ CFU/mlとされるっており、主として搾乳器具を介して牛群内に伝搬する [9]。環境に排菌された後も一定期間、生存することが確認されている。これは、自身が産生するバイオフィームによるものであり、敷料での長期生存等も報告されている [12]。また、バイオフィームの産生量が菌株によって大きく異なることも、病原性や環境への定着性を考える上で重要であると考えられる [12]。

水平伝搬の起点となる初発牛の感染メカニズムについては十分に解明されていないが、他の臓器 (組織) から全身循環を介して乳腺に到達する可能性が指摘されている [3]。マイコプラズマは好中球やマクロファージ等の貪食細胞はもちろん、非貪食細胞 (リンパ系細胞および赤

Table 1 Prevalence of *Mycoplasma* species in bulk tank milk of 16 commercial dairy farms in Japan

Farm No.	Herd size (cows/herd)	Bulk tank milk			Cows		
		Culture	PCR	<i>Mycoplasma</i> species	Number of infected cows	(%)	<i>Mycoplasma</i> species
1	50	+	+	<i>M. bovis genitalium</i>	1	2.00	<i>M. bovis genitalium</i>
2	59	+	+	<i>M. arginini</i>	1	1.69	<i>M. arginini</i>
3	60	+	+	<i>M. californicum</i>	5	8.33	<i>M. californicum</i>
4	64	+	+	<i>M. californicum</i>	5	7.81	<i>M. californicum</i>
5	69	+	+	<i>M. bovis</i>	24	34.78	<i>M. bovis</i>
6	98	+	+	<i>M. alkalescens</i>	1	1.02	<i>M. alkalescens</i>
7	102	+	+	<i>M. canadense</i>	3	2.94	<i>M. canadense</i>
8	105	+	+	<i>M. bovirhinis</i>	2	1.90	<i>M. bovirhinis</i>
9	112	+	+	<i>M. canadense</i>	2	1.79	<i>M. canadense</i>
10	120	+	+	<i>M. bovis</i>	4	3.33	<i>M. bovis</i>
11	162	+	+	<i>M. bovis</i>	4	2.47	<i>M. bovis</i>
12	166	+	+	<i>M. bovis</i>	3	1.81	<i>M. bovis</i>
13	180	+	+	<i>M. bovis</i>	11	6.11	<i>M. bovis</i>
14	258	+	+	<i>M. californicum</i>	18	6.98	<i>M. californicum</i>
15	358	+	+	<i>M. bovis</i>	15	4.19	<i>M. bovis</i>
		+	+	<i>M. arginini</i>	5	1.40	<i>M. arginini</i>
					3	0.84	<i>M. bovis</i> + <i>M. arginini</i>
16	420	+	+	<i>M. bovis</i>	104	24.76	<i>M. bovis</i>
		+	+	<i>M. canadense</i>	15	3.57	<i>M. canadense</i>
					10	2.38	<i>M. bovis</i> + <i>M. canadense</i>

血球)へ定着・侵入することが報告されている [18]。これらのことから、白血球等の生体細胞に侵入したマイコプラズマが、全身循環を介して乳腺に到達している可能性についても注目されており、今後の研究展開が待たれるところである。

[マイコプラズマに特徴的な病原性]

マイコプラズマが様々な臓器に高い定着性を有し、さらに難治性の病態を引き起こす機序について研究が進められている。病原因子として最も注目されているのは (Variable Surface Lipoprotein : VSP) である [15]。VSP は構造を恒常的に変化させ液性免疫を巧みに回避している [15]。さらに、感染によって白血球にアポトーシスを誘導する等、高い免疫抑制作用を発現する [18]。

[マイコプラズマの検出技術]

マイコプラズマの検出は培養法および分子生物学的手法によって行われる。培養法では液体培地により増菌培養した後、平板培地に塗布し一定期間、37℃の微好気状態で保持する。3～4週間保持し、特徴的な目玉焼き状コロニーの形成を確認する。マイコプラズマの分離培地にはア

コレプラズマも発育するため、これらを排除するためのジギトニンディスク検査を併せて行う。

分子生物学的手法では主として PCR が用いられる。本法は培養法で数週間を要する平板培地での分離に変わるものであり、3時間程度で迅速に実施することが可能である [6]。また PCR 法は培養法よりも多検体処理に適しており、大型農場への対応も可能になった [6]。

[おわりに]

マイコプラズマ性乳房炎は 2010 年前後から日本国内で急増した感染症の一つである。「臓器特異性が低く様々な臓器に定着する」、「白血球等に感染し全身循環によって体内を移動する」、「抗原性を連続的に変化させることで生体の免疫システムを逃れる」等の特性を持つため、その迅速な排除が極めて困難であることは想像に難くない。

マイコプラズマ性乳房炎については検査による積極的な摘発と治療、さらに感染の起点となる可能性の高い子牛の呼吸器感染症制圧に向け、さらなる取り組みが必要になるであろう。

[引用文献]

1. Aly, S. S., Williams, D. R., Lehenbauer, T. W., Chanpagne, J. D. and Glenn, K. S. 2014. Prevalence of *Mycoplasma* spp. in California bulk tank milk samples. Proceeding of National Mastitis Council 2014.
2. Arcangioli, M. A., Chazel, M., Sellal, E., Botrel, M. A., Bezille, P., Poumarat, F., Calavas, D. and Le Grand, D. 2011. Prevalence of *Mycoplasma bovis* udder infection in dairy cattle: preliminary field investigation in southeast France. *N Z Vet J* 2011 59: 75-78.
3. Biddle, M. K., Fox, L. K. and Evans, M. A. Pulsed-field gel electrophoresis patterns of *Mycoplasma* isolates from various body sites in dairy cattle with *Mycoplasma mastitis*. 2005. *J Am Vet Med Assoc* 227: 445-459.
4. Cottew, G. S. 1979. Pathogenicity of the subspecies *mycoides* of *Mycoplasma mycoides* for cattle, sheep and goats. *Zentralbl Bakteriolog Orig A* 245: 164-170.
5. Hale, H. H., Helmboldt, C. F. and Plastringe, W. N. 1962. Bovine mastitis caused by a *Mycoplasma* species. *Cornell Vet* 52: 582-591.
6. Higuchi, H., Gondaira, S., Iwano, H., Hirose, K., Nakajima, K., Kawai, K., Hagiwara, K., Tamura, Y., Nagahata, H. 2013. *Mycoplasma* species isolated from intramammary infection of Japanese dairy cows. *Vet. Rec.* 172: 557.
7. Higuchi, H., Iwano, H., Kawai, K., Gondaira, T., Nagahata, H. 2011. Prevalence of *Mycoplasma* species in bulk tank milk in Japan. *Vet. Rec.* 169: 442.
8. Higuchi, H., Gondaira, S., Iwano, H., Hirose, K., Nakajima, K., Kawai, K., Hagiwara, K., Tamura, Y. and Nagahata, H. 2013. *Mycoplasma* species isolated from intramammary infection of Japanese dairy cows. *Vet Rec* 172: 557.
9. Jasper D. E. Bovine mycoplasma mastitis. 1981. *Advance in veterinary science and comparative medicine*. Academic Press; p121-159.
10. Jasper, D. E. 1980. Prevalence of mycoplasmal mastitis in the western states. *Calif Vet* 43:24-26.
11. Kathoon, J. 2013. Surveillance of *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma* spp by real time PCR in bulk tank milk sample from all Danish dairy herds in 2011. Proceeding of World Buiatrics Congress pp39.
12. McAuliffe, L., Ellis, R. J., Miles, K., Ayling, R. D. and Nicholas, R. A. 2006. Biofilm formation by mycoplasma species and its role in environmental persistence and survival. *Microbiology* 152: 913-922.
13. McDonald, W. L., Rawdon, T. G., Fitzmaurice, J., Bolotovskii, I., Voges, H., Humphrey, S., Fernando, K., Canagasebey, Y., Thornton, R. N. and McIntyre, L. 2009. Survey of bulk tank milk in New Zealand for *Mycoplasma bovis*, using species-specific nested PCR and culture. *N Z Vet J.* 57: 44-49.
14. Nocard, E. and Roux, E. R. 1898. Le microbe de la peripneumonie. *Ann. Inst. Pasteur* 12: 240-262.
15. Nussbaum, S., Lysnyansky, I., Sachse, K., Levisohn, S. and Yogevev, D. 2002. Extended repertoire of genes encoding variable surface lipoproteins in *Mycoplasma bovis* strains. *Infect Immun.* 70: 2220-2225.
16. Passchyn, P, Piepers, S., De Meulemeester, L., Boyen, F., Haesebrouck, F. and Vliegheer, S. 2012. Between-herd prevalence of *Mycoplasma bovis* in bulk milk in Flanders, Belgium. *Res Vet Sci.* 92: 219-220.
17. Razin, S. and Hayflick, L. 2010. Highlights of *Mycoplasma* research: an historical perspective. *Biologicals* 38: 183-190.
18. van der Merwe, J., Prysliak, T. and Perez-Casal, J. 2010. Invasion of bovine peripheral blood mononuclear cells and erythrocytes by *Mycoplasma bovis*. *Infect Immun.* 78: 4570-4578.

Characteristics of *Mycoplasma* Mastitis

Hidetoshi Higuchi¹⁾, Hidetomo Iwano²⁾, Satoshi Gondaira¹⁾,
Kazuhiro Kawai³⁾, Masateru Koiwa⁴⁾, Hajime Nagahata¹⁾

1) Animal Health Laboratory, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University

2) Veterinary Biochemistry, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University

3) Department of Animal Health 1, School of Veterinary Medicine, Azabu University

4) Department of Large Animal Sciences, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University