

原著論文

## 1 酪農場における臨床型牛乳房炎に対するペニシリンと ストレプトマイシン乳房注入剤の臨床効果と原因菌の薬剤感受性

秋吉珠早<sup>†1)</sup> 笠原三春<sup>1)</sup> 小千田圭吾<sup>1)</sup> 阿部紀次<sup>1)</sup> 佐藤綾乃<sup>1)</sup> 加藤敏英<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 酪農学園大学附属動物医療センター 生産動物医療部門  
北海道江別市文京台緑町 582

<sup>†</sup> 責任著者：秋吉珠早、酪農学園大学附属動物医療センター、  
069-8501 江別市文京台緑町 582、Tel.011-388-4120、e-mail：m-akiyoshi@rakuno.ac.jp

### [要 約]

乳房炎治療にセファゾリン（CEZ）が多用された結果、上部気道の常在菌である *Mannheimia haemolytica* が CEZ 低感受性を示した 1 酪農場において、乳房炎治療の第一次選択剤をペニシリンとストレプトマイシン配合剤（PC+SM 製剤）へ変更し、変更後 2 年間（A 期間）の原因菌の薬剤感受性および臨床効果を変更前の CEZ 多用期間（B 期間）と比較した。その結果、分離菌種は A、B 期間ともグラム陽性菌が主で差がなく、中でも SA が最も多く分離された。期間ごとの第一次選択剤に対する感受性試験の結果、A 期間の分離菌で PC と KM（SM の代替薬）の少なくとも 1 剤に感受性を示した割合は 77.8% であり、B 期間における CEZ 感受性株の割合（76.0%）と同等であった。また、PC+SM 製剤の治療率は 76.2% であり、B 期間の CEZ（86.5%）より低かったものの有意差はなかった。今回の調査農場のように、乳房炎の主な原因がグラム陽性菌で、それらが PC に感受性を示す農場では、PC を主剤とする注入剤が第一次選択剤として有用性が高いと評価された。

**キーワード：**乳房炎、薬剤感受性、ペニシリンとストレプトマイシン合剤、グラム陽性菌

### 緒 論

牛乳房炎は、乳用牛の細菌感染症の中で最も発生率が高い疾患である。この疾患はブドウ球菌やレンサ球菌、大腸菌群などが原因で発生し、ほとんどの症例では治療に抗菌性物質製剤（抗菌剤）の乳房注入剤が用いられている。汎用される薬剤の種類は、国や地域によって一様ではなく、国内でも様々な薬剤が使用されている。薬剤効果の指標となる各種原因菌の薬剤感受性については、国内外を問わず多くの報告 [1, 5, 6, 10, 16] があるほか、近年は抗菌剤使用量との関連性を調査した報告も多い [3, 4, 11, 13, 14,

17, 18, 20]。これらの多くは、使用量増加が感受性低下と関連するというものであり、特定の抗菌剤の使用頻度の過度な上昇は、薬剤耐性菌出現を招く要因であるとして警鐘が鳴らされている。一方で、ある種の抗菌剤の使用を休止することにより、高まっていた標的菌の耐性率が低下したという報告 [7] もあるように、抗菌剤の使用頻度低減が、菌の感受性をある程度制御できる可能性が示されている。このような観点から、乳房炎治療にセファゾリン（CEZ）注入剤だけを長期間使用し、CEZ 低感受性の *Mannheimia haemolytica* による肺炎が多発した酪農場において、CEZ の使用量を低減させることを目的に、第一次選択剤を農場の主な分離菌が高い感受性を示し、かつこれまで使用していなかったペニシリン（PC）とストレプト

投稿：2022年3月18日

受理：2022年6月6日

マイシン (SM) 配合剤 (PC+SM 製剤) に変更した。本研究では、変更前後の乳房炎原因菌の薬剤感受性を調査するとともに、PC+SM 製剤の臨床効果について、変更前の CEZ 注入剤と比較した。

### 材料・方法

調査農場は道内のタイストール形式の 1 酪農場であり、搾乳牛は常時 50 頭前後飼養されていた。当農場では 2017 年 11 月に成牛 17 頭を含む計 23 頭が重篤な呼吸器症状を示し、4 頭が死亡または予後不良として安楽殺処分された。その際に発症牛の鼻汁および死亡牛の気管支から分離された *Mannheimia haemolytica* の薬剤感受性を調査したところ最小発育阻止濃度が  $2.8\mu\text{g}/\text{ml}$  と低感受性を示し [2]、乳房炎多発による CEZ 過剰使用が一つの要因になったと推察された [3]。今回の調査期間は 2017 年 12 月～2021 年 11 月までの 4 年間とし、乳房炎治療の第一次選択薬剤を PC+SM 製剤に変更した後の 2 年間 (2019 年 12 月～2021 年 11 月; A 期間) と、変更前すなわち CEZ 注入剤を使用していた 2 年間 (2017 年 12 月～2019 年 11 月; B 期間) に分けた。なお、A 期間は乳房炎対策としてディッピング剤の変更、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*, SA) 保菌牛の淘汰、乳房炎ワクチンの接種などが実施された期間でもあった。調査項目は、1) 乳房炎原因菌の分離状況、2) 分離原因菌の第一次選択薬剤に対する感受性、および 3) 第一次選択薬剤の治療効果とし、A、B 期間を比較した。このうち、2) については、A 期間では供試薬剤を SM に代えて同系統のカナマイシン (KM) とした。また、3) については、A 期間では分房ごとの原因菌の PC と KM に対する感受性に加え PC+SM 製剤の治療効果との関係も調べた。

乳汁の細菌学的検査は、5% 羊血液加寒天培地 (トリプチケースソイ 5% ヒツジ血液寒天培地, 日本ベクトン・ディッキンソン (株), 福島) を用い、 $37^{\circ}\text{C}$  恒温条件で 24～48 時間培養し菌株を分離した。菌種の同定は、コロニー性状 (大きさ、色調、臭い、溶血性など)、スライドガラス塗抹後グラム染色による顕微鏡検査、カタラーゼ試験により総合的に判定した。なお、ブドウ球菌についてはラテックス凝集反応 (スタ

フィロ LA 「生研」, デンカ株式会社, 新潟) またはコアグララーゼ試験 (ウサギプラズマ 「栄研」, 栄研化学 (株), 東京) を用いて、SA またはコアグララーゼ陰性ブドウ球菌 (coagulase negative staphylococci, CNS) を判別した。さらに、分離菌の薬剤感受性試験は、寒天培地 (ミューラーヒントン II 寒天培地, 日本ベクトン・ディッキンソン (株), 福島) または 5% 羊血液加寒天培地を用いて、Kirby-Bauer 法による 1 濃度ディスク拡散法を実施した。薬剤ディスクは、CEZ (BD センシ・ディスク セファゾリン 30, 日本ベクトン・ディッキンソン (株), 福島)、PC (BD センシ・ディスク ペニシリン 10, 同) および KM (BD センシ・ディスク カナマイシン 30, 同) を供試した。判定は、菌株ごとにディスクの阻止円径をノギスまたは定規を用いて計測し、製品の添付文書に示された基準に従い、S (感受性)、I (中間)、R (耐性) と判定した。また、PC+SM 製剤は 1 容器 (3g) にベンジルペニシリンプロカインを 30 万単位と硫酸ジヒドロストレプトマイシン 300mg (力価) を含有する製剤 (ニューサルマイ S<sup>®</sup>, 日本全薬工業株式会社, 福島)、CEZ 乳房注入剤は 1 容器 (3g) にセファゾリン 150mg (力価) を含有する製剤 (セファメジン Z<sup>®</sup>, 日本全薬工業株式会社, 福島) を使用した。全ての調査は、酪農学園大学附属動物医療センターに保管されているカルテデータに基づいて行われた。臨床型乳房炎は、全身症状の有無に関わらず、泌乳期に乳汁および乳房に肉眼的異常が認められたものとした。同一個体であっても複数回乳房炎を発症した場合は、それぞれを 1 検体として計数した。なお、第一次選択乳房注入剤の臨床効果については、家畜共済の基準 [8] に従い、薬剤注入終了から 2 週間を経て、臨床所見に異常が認められず、CMT 変法にて陰性が確認された場合を“治癒”とした。統計処理は、原因菌分離状況および治癒率についてカイ二乗検定またはフィッシャーの正確確立検定を用い、有意水準 5% 未満を有意差ありとした。

### 成績

1) 臨床型乳房炎の原因菌分離状況 (表 1): A、B 期間における臨床型乳房炎陽性分房数は、それぞれ 88 および 238 であった。このうち、A

表1 AおよびB期間における乳房炎原因菌分離状況

期間	菌種 <sup>1)</sup>								
	SA	OS	CO	CNS	TP	Coryne	真菌	計	N.G.
A 期間 (n = 88)	19 (21.6)	7 <sup>a</sup> (8.0)	3 (3.4)	8 (9.1)	1 (2.7)	6 (6.8)	7 <sup>c</sup> (8.0)	51 (58.0)	37 (42.0)
B 期間 (n = 238)	67 (28.2)	44 <sup>b</sup> (18.5)	11 (4.6)	28 (11.8)	1 (1.3)	7 (2.9)	3 <sup>d</sup> (1.3)	161 (67.6)	77 (32.4)

1) SA (*Staphylococcus aureus*), OS (other streptococci), CO (coliforms), CNS (coagulase negative staphylococci), TP (*Trueperella pyogenes*), Coryne (*Corynebacterium bovis*), 真菌 (酵母様真菌), N.G. (有意菌発育せず). 数字は分離株数 (%).

※ a-b, c-d 間に有意差あり (a-b:  $p < 0.05$ , カイ二乗検定, c-d:  $p < 0.02$ , フィッシャーの正確確立検定)

表2 AおよびB期間に分離された菌の第一次選択薬剤に対する感受性株数

期間	薬剤と感受性パターン	菌種							
		SA	OS	CO	CNS	TP	Coryne	計 (%)	
		株数	n = 18	n = 6	n = 1	n = 6	n = 1	n = 4	
A 期間 (n = 36)	PC <sup>1)</sup> / KM <sup>2)</sup> ともに感受性	2	0	0	1	1	1	5 (13.9)	
	PC のみ感受性	10	4	0	0	0	1	15 (41.7)	
	KM のみ感受性	1	0	1	5	0	1	8 (22.2)	
	PC/KM ともに中間または耐性	5	2	0	0	0	1	8 (22.2)	
B 期間 (n = 146)	CEZ <sup>3)</sup>	感受性	61	30	0	17	1	3	111 (76.0)
		中間または耐性	5	13	10	4	0	2	35 (24.0)
		株数	n = 66	n = 43	n = 10	n = 21	n = 1	n = 5	

数字は株数、菌種名は表1参照, 1) PC: ペニシリン, 2) KM: カナマイシン, 3) CEZ: セフェゾリン

期間は51検体、B期間は161検体から有意菌が分離された。分離菌種および株数は、A期間ではSAが19株、CNSが8株、環境性レンサ球菌 (Other streptococci; OS) が7株など、B期間では、SAが67株、OSが44株、CNSが28株などであった。両期間を比較すると、分離菌種には差がなく、どちらもSAが最も多く分離された。各菌分離割合をみると、OSがB期間の18.5%に比べA期間は8.0%と有意に低かった ( $p < 0.05$ , フィッシャーの正確確立検定)。菌の発育が認められなかった検体数は、AおよびB期間でそれぞれ37 (42.0%)、77 (32.4%)であった。なお、本調査での乳房炎は、牛乳房炎抗菌剤治療ガイドブック [12] 内に示されている臨床スコアリングにおいて、局所症状のみのスコア1, 2であった。

2) 分離原因菌の第一次選択薬剤に対する感受

性 (表2): A期間では51株のうち36株、B期間では菌分離161株のうち146株を用いて薬剤感受性試験を行った。A期間では、PCに対しては、SAで18株中12株、OSで6株中4株、CNSで6株中1株など、合計で55.6% (20/36株) が感受性と判定された。同様に、KMに対しては、SAで18株中3株、CNSで6株中6株など、合計で13株 (36.1%) が感受性と判定された。B期間では、SAで66株中61株、OSで43株中30株、CNSで21株中17株など、合計111株 (76.0%) がCEZ感受性と判定された。また、大腸菌群 (coliforms; CO) は10株とも中間または耐性であった。本研究では、SMの代替薬として同系統のKMを用いて感受性を調査したが、A期間の菌種ごとのPCとKMに対する感受性パターンをみると、2剤に感受性を示したものはSAで2株、CNSで1株など、合

計で 5 株 (13.9%)、PC のみに感受性を示したものは SA で 10 株、OS で 4 株など合計 15 株 (41.7%)、KM のみに感受性を示したものは CNS で 5 株、SA および CO でそれぞれ 1 株など合計 8 株 (22.2%) であり、全体では 77.8% (28/36 株) が少なくともどちらか一方の薬剤に感受性であった。どちらにも耐性を示したものは、SA の 5 株など、合計 8 株 (22.2%) であった。

3) 第一次選択薬剤の治療効果 (表 3) : A 期間に分離菌が PC と KM の両方あるいはどちらかに感受性を示し、PC+SM 製剤を使用した分房数は合計 21 であり、このうち 16 分房 (76.2%) が治癒と判定された。なお、治癒しなかった 5 分房の分離菌は、PC または KM のどちらかに中間または耐性を示した。一方、B 期間に分離菌が CEZ 感受性を示し、CEZ 注入剤を使用した分房は 104 であり、このうち 90 分房 (86.5%) が治癒と判定された。治癒率は、A 期間の PC+SM 製剤に比べ B 期間の CEZ 注入剤が高かったが、群間に有意な差はみられなかった ( $p = 0.313$ , フィッシャーの正確確立検定)。

### 考 察

Wilm ら [20] は、デンマークにおける一般的な乳房炎治療には主に PC が用いられると報告したほか、Doehring と Sundrum [4] もドイツ中部と北部の第一次選択薬の 44% は PC であると報告している。一方、北米では Pol と Ruegg [13] がウィスコンシン州、Redding ら [14] がペンシルベニア州での調査成績として、臨床型乳房炎治療にはセファロスポリン系抗菌剤が最も多く使用されていたことを報告した。このように、牛乳房炎に使用される主な抗菌剤

は国や地域により異なる。国内の 2014 年の乳房注入剤販売量では CEZ が圧倒的多数を占め [9,12]、この傾向は現在も続いていると推察される。ある種の抗菌剤の集中使用は、その薬剤に対する耐性菌を招く要因として問題視されているが、今回調査した酪農場では、2017 年に肺炎罹患牛から分離された *Mannheimia haemolytica* が CEZ 低感受性を示し、その要因として臨床型乳房炎に対する CEZ の多用が挙げられた [3]。そのため、第一次選択薬である CEZ 注入剤の使用頻度を低減させる必要があった。この農場における乳房炎の主な原因菌は、以前から SA などのグラム陽性菌であり、2019 年 7 月～11 月の調査で多くの菌株が PC または KM に感受性であることが確認された (成績には示さず)。そこで、2019 年 12 月、第一次選択薬を KM と同系統で抗菌スペクトルがほぼ同一である SM と PC の配合剤に変更した。その結果、A 期間 (2019～2021 年) の治癒率は 76.2% (16 / 21) であった。この治癒率は、B 期間 (2017～2019 年) の CEZ (86.5%) より低かったが、A、B 期間の間に有意な差はなかった。最近では、PC+SM 製剤の乳房炎治癒率に関する報告はほとんどないが、1993 年に佐藤ら [19] は泌乳期乳房炎に対して、CEZ と同じ第 1 世代セファロスポリン系のセファピリン (CEPR) 注入剤の治療効果を PC+SM 製剤と比較した。それによると、有効率は CEPR 製剤 85.4% に対して PC+SM 製剤 64.3% であり、CEPR が有意に高かった。しかし、効果判定基準が本研究とは異なることから、有効率を比較することは困難である。また、最近の調査では、国内の実情に合わせたディスク法の判定基準を用いた場合、グラム陽性菌による乳房炎に対す

表 3 A および B 期間における第一次選択薬剤の感受性パターンごとの治療成績

期 間	感受性パターン	治療頭数	治癒頭数 <sup>1)</sup> (%)	非治癒 <sup>2)</sup> 頭数 (%)
A 期間 (n = 21)	PC/KM とともに感受性	2	2 (100.0)	0 (0.0) 3 (25.0) 2 (28.6)
	PC のみ感受性	12	9 (75.0)	
	KM のみ感受性	7	5 (71.4)	
B 期間 (n = 104)	CEZ に感受性	104	90 (86.5)	14 (13.5)

1) 薬剤最終投与後から 2 週間を経て臨床所見に異常が認められず、CMT 変法にて陰性が確認されたもの。

2) 最終投与後 2 週間以内に再発、または改善せず薬剤変更になったもの。

る PC 系抗菌剤の治癒率がセファロスポリン系を上回ることが示された [12]。したがって、今回のように乳房炎の主な原因がグラム陽性菌で、PC に感受性を示す農場では、PC を主剤とする注入剤が選択肢になり得ると考えられた。

薬剤感受性について、A 期間の分離菌で PC と KM のうち少なくとも 1 剤に感受性を示した割合は 77.8% であった。これは、B 期間における CEZ に対する感受性株の割合 (76.0%) と同等であった。一方、原因菌の CEZ 感受性割合は、CEZ を使用しなかった A 期間でも B 期間に引き続き高かった (89.2%, 成績には示さず)。乳房炎原因菌の薬剤感受性と薬剤使用量の関係について、Saini ら [15] はカナダで  $\beta$ -ラクタム系抗菌剤が最も使用されているにもかかわらず、それらに対する SA の耐性率が低いと報告している。このように、菌の薬剤感受性の変化には使用量以外の因子が影響することも推察されるが、薬剤耐性対策としては抗菌剤使用量の削減は重要であり、原因菌の薬剤感受性に基づいた適切な使用が求められる。

#### 引用文献

- [1] Abdi, RD., Barbara, E., Gillespie, BE., Ivey, S., Pighetti, GM., Almeida, RA., and Dego, OK. 2021. Antimicrobial resistance of major bacterial pathogens from dairy cows with high somatic cell count and clinical mastitis. *Animals*. 11: 131
- [2] 秋吉珠早, 久保田高慶, 佐藤綾乃, 村田亮, 松田一哉, 加藤敏英. 2019. 繋ぎ方式の 1 酪農場における *Mannheimia haemolytica* と牛 RS ウイルスによる成牛の呼吸器病多発事例. *産業動物臨床医学雑誌*. 10 (2) : 60-67
- [3] Akiyoshi, M., Nouchi, M., Sugiura, K., Murata, R., Abe, N., Satou, A., and Katou, T. 2021. Use of antimicrobial agents on a dairy farm where cefazolin-low susceptible *Mannheimia haemolytica* serotype 1 was isolated. *Jpn J Amin Hyg*. 47 : 85-90
- [4] Doehring, C., and Sundrum, A. 2019. The informative value of an overview on antibiotic consumption, treatment efficacy and cost of clinical mastitis at farm level. *Prev.Vet.Med*. 165 : 63-70
- [5] Erskine, RJ., Walker, RD., Bolin, CA., Bartlett, PC., and White, DG. 2002. Trends in antibacterial susceptibility of mastitis pathogens during a seven-year period. *J.Dairy.Sci*. 85 : 1111-1118
- [6] Garcha, FE., Youala, M., Simjee, S., Moyaerta, H., Klee, R., Truszkowska, B., Rose, M., Hocquet, D., Valot, B., Morrissey, I., de Jong, A., on behalf of the VetPath Study Group. 2020. Antimicrobial susceptibility of nine udder pathogens recovered from bovine clinical mastitis milk in Europe 2015-2016: VetPath results. *Vet.Microb*. 245: 108644
- [7] Hiki, M., Kawanishi, M., Ado, H., Kojima, A., Koike, A., Hamamoto, S., and Asai, T. 2015. Decreased resistance to broad-spectrum cephalosporin in *Escherichia coli* from healthy broilers at farms in Japan after voluntary withdrawal of ceftiofur. *Foodborne pathogens and Disease*. 12 : 639-643
- [8] 家畜共済事務取扱要領. 農林水産省経済局長通知. 令和 3 年. 2 経営第 2491 号
- [9] 河合一洋. 2019. 牛乳房炎の治療と考え方～薬剤耐性を考慮した効果的な治療法を模索して～. *家畜感染症学会誌*. 8 巻 4 号 : 107-114
- [10] Makovec, JA., and Ruegg, PL. 2003. Antimicrobial resistance of bacteria isolated from dairy cow milk sample submitted for bacterial culture: 8905 samples (1994-2001) . *J.Am.Vet.Med.Assoc*. 222 : 1582-1589
- [11] Martins, L., Gonçalves, JL., Leite, RF., Tomazi, T., Rall VLM., and Santos, MV. 2021. Association between antimicrobial use and antimicrobial resistance of *Streptococcus uberis* causing clinical mastitis. *J.Dairy.Sci*. 104 : 12030-12041
- [12] 農林水産省. 平成 29 年度生産資材安全確保対策委託事業, 抗菌性物質薬剤耐性評価情報整備委託事業 : 牛乳房炎抗菌剤治療ガイドブック
- [13] Pol, M., and Ruegg, PL. 2007. Treatment practices and quantification of antimicrobial drug usage in conventional and organic dairy farms in Wisconsin. *J.Dairy.Sci*. 90 : 249-261
- [14] Redding, LE., Bender, J., and Baker, L. 2019. Quantification of antibiotic use on dairy farms in Pennsylvania. *J.Dairy.Sci*. 102 : 1494-1507
- [15] Saini, V., McClure, JT., Léger, D., Dufour, S., Sheldon, AG., Scholl, DT., and Barkema, HW. 2012. Antimicrobial use on Canadian dairy farms. *J.Dairy.Sci*. 95 : 1209-1221
- [16] Saini, V., McClure, JT., Léger, D., Keefe, GP., Scholl, DT., Morck, DW., and Barkema, HW. 2012. Antimicrobial resistance profiles of common mastitis pathogens on Canadian dairy farms. *J.Dairy.Sci*. 95 : 4319-4332
- [17] Saini, V., McClure, JT., Scholl, DT., DeVries, TJ., and Barkema, HW. 2012. Hard-level association between antimicrobial use and antimicrobial resistance in bovine mastitis *Staphylococcus aureus* isolates on Canadian dairy farms. *J.Dairy.Sci*. 95 :

1921-1929

- [18] Saini, V., McClure, JT., Scholl, DT., DeVries, TJ., and Barkema, HW. 2013. Hard-level relationship between antimicrobial use and presence or absence of antimicrobial resistance in gram-negative bovine mastitis pathogens on Canadian dairy farms. *J.Dairy Sci.* 96 : 4965-4976
- [19] 佐藤修一, 五十嵐哲雄, 中野和光, 佐藤彪, 鈴木青磁, 武村直行, 小山秀一, 本好茂一. 1994. 泌乳期乳房炎に対する泌乳期用セファピリン注入剤 (K-10) の治療効果. *東北家畜臨床研誌.* 17 (1) : 20-24
- [20] Wilm, J., Svendsen, L., Eriksen, EØ., Halasa, T., and Krömker, V. 2021. Veterinary treatment approach and antibiotic usage for clinical mastitis in Danish dairy herds. *Antibiotics.* 10. 189

## Clinical efficacy of an intramammary infusion of combined penicillin and streptomycin for bovine mastitis and the drug susceptibility of the causative bacteria on a dairy farm

Misaki Akiyoshi<sup>1)</sup> † Miharu Kasahara<sup>1)</sup> Keigo Kosenda<sup>1)</sup> Noritsugu Abe<sup>1)</sup> Ayano Sato<sup>1)</sup> Toshihide Kato<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Large Animal Veterinary Clinics, Animal Medical Center, Rakuno Gakuen University  
582 Bunkyo-dai-midorimachi, Ebetsu, Hokkaido, Japan 069-8501

†Corresponding author : Misaki Akiyoshi, Tel.011-388-4120, e-mail : m-akiyoshi@rakuno.ac.jp

### [Abstract]

*Mannheimia haemolytica*, a commensal organism of the upper respiratory tract, showed low susceptibility to cefazolin (CEZ) on a dairy farm that frequently used CEZ for the treatment of bovine mastitis. Therefore, the first-line mastitis treatment was switched to a penicillin and streptomycin (PC+SM) intramammary infusion based on drug sensitivity testing, which was used on the farm for 2 years (Period A). In the present study, we compared the clinical efficacy of the treatments and the drug susceptibility of the causative organisms between Period A and the period before the switch, when CEZ was used (Period B). There was no difference in the isolated causative organisms between Periods A and B, with *Staphylococcus aureus* being the most commonly isolated during both periods. The drug susceptibility test results showed that the percentage of isolates that were susceptible to PC and/or kanamycin (as an alternative to SM) in Period A was 77.8%, which was comparable to the percentage of CEZ-susceptible isolates in Period B (76.0%). The cure rate with the PC+SM intramammary infusion was 76.2% in Period A, which was lower than that with CEZ in Period B (86.5%), but the difference was not statistically significant. Based on these results, the PC-based intramammary infusion appears to be highly useful as a first-line agent on farms where the main causative organisms of mastitis are Gram-positive bacteria that are susceptible to PC, as was the case on the present farm.

**Keywords:** drug susceptibility, mastitis, penicillin and streptomycin intramammary infusion, gram-positive bacteria