

微生物培養産物の飼料添加による泌乳前期の乳牛における乳房炎の予防効果

生田健太郎*・片岡 敏*・山口悦司*・函城悦司**

要 約

経産牛10頭を供試し、微生物培養産物の飼料添加による泌乳前期における乳房炎の予防効果を検討した。投与区の5頭には分娩予定の30日前から分娩90日後まで微生物培養産物を70g/日/頭飼料添加により投与し、対照区5頭は無投与とした。

- 1 乳房炎は対照区で5頭中4頭が発症したが、投与区では発症がなかったため、発症率に有意差 ($P<0.05$) が認められた。
- 2 乳量と一般乳成分率には差がなかったが、体細胞数リニアスコアは分娩後2か月に対照区 (3.60 ± 2.19) に対し、投与区 (0.50 ± 1.00) で有意に ($P<0.05$) 低く、分娩後3か月も投与区で低い傾向 ($P<0.10$) が認められた。
- 3 血液成分は測定した項目全てにおいて両区間に差はなかった。

以上のことから、分娩前(乾乳期)から泌乳前期にかけて、微生物培養産物を飼料添加することで、発症リスクの最も高い泌乳前期における乳房炎を効果的に予防できることが示唆された。

Efficacy of a Dietary Supplementation of Microbial Product to Prevent Mastitis during the Early Lactation Period in Dairy Cows

Kentarou IKUTA, Bin KATAOKA, Etsuji YAMAGUCHI, Etsuji HAKOGI

Summary

Efficacy of dietary supplementation of the microbial product to prevent mastitis in the early lactation were evaluated using ten multiparous dairy cows. Experiments of feeding with usual feed supplemented with or without 70 g/head/day of the microbial product (treatment or control) were performed from 30 days before estimated date of delivery through 90 days after delivery.

The following results were obtained:

- (1) Mastitis occurred in 4 out of 5 cows in control group, and 0 cows in treatment group, and the incidence rate of mastitis in treatment group was significantly ($P<0.05$) lower than that in control.
- (2) Although milk yield and milk compositions were not influenced by dietary supplementation with the microbial product, liner score of somatic cell count (LS) was decreased significantly ($P<0.05$) for treatment (0.50 ± 1.00) than for control (3.61 ± 2.12) at 2 month after delivery. Additionally LS were tended ($P<0.10$) to be low for treatment than for control at 1 month after delivery.
- (3) Blood parameters were not differed by dietary supplementation of the microbial product.

From these results, we consider that supplementation of the microbial product from dry period through early lactation period could prevent mastitis during high risk period of postpartum.

2008年8月29日受理

* 兵庫県立農林水産技術総合センター淡路農業技術センター

** 元：兵庫県立農林水産技術総合センター淡路農業技術センター

現：(株)微生物化学研究所

キーワード：乳酸菌，納豆菌，プロバイオティクス，乳房炎，周産期

緒 言

乳牛の乳房炎は酪農家に甚大な経済的損失を与える疾病の1つである¹²⁾が、その多くは分娩前後と乾乳直前に多発する傾向にある⁶⁾。このうち分娩前後の乳房炎は免疫機能の低下が要因として重要視されている^{2,11)}。乳酸菌などのいわゆるプロバイオティクスと呼ばれる微生物資材には免疫賦活や抗菌作用があることが報告されているものもある^{3,4,5,8,10)}。そこで、乳酸菌を主体とした微生物培養産物を用いて泌乳前期(分娩～泌乳最盛期)における乳房炎の予防効果を検討した。

材料及び方法

1 微生物培養産物

供試した微生物培養産物(バイオフードエーT A, ハッピーグロー社製; 以下B Fと呼ぶ)は土壌由来の乳酸菌1種と酵母類2種からなる微生物群を米糠抽出液とブドウ糖を栄養源として液体通気培養した培養液を殺菌処理後、フスマに吸着乾燥させたものである。

2 供試牛，試験区分及び実施期間

2007年9月から2008年1月に淡路農業技術センターで分娩したホルスタイン種経産牛(2～11産)10頭を分娩予定日の順に投与区と対照区に区分し、投与区の5頭には分娩予定日の30日前から分娩90日後までの間、70g/日/頭のB Fを飼料に添加投与し、対照区の5頭は無投与とした。

3 飼養管理状況

供試牛はコンフォート型タイストール又は広さ3.3m×4.4mの単房にて飼養し、搾乳は8時と17時から、給餌は9時と16時からそれぞれ行った。

乾乳期間中は乾草を主体とした分離給与で、分娩後は1週間かけて完全混合飼料に切り替え、その後は各供試牛の乳量に基づいて日本飼養標準養分要求量¹⁵⁾を充足するように給与量を決定し、1日2回(朝:夕=4:6)に分けて給与した。

4 調査項目，採材間隔及び測定方法

(1) 乳房炎発症状況

毎回の搾乳時に乳房や乳汁の異常を確認し、併せてCMT変法(PLテスト, ゼノアック, 東京)により

臨床型乳房炎を診断し、治療経過を記録した。

乳房炎に対する治療と出荷停止期間に伴う乳廃棄量とその時点での支払乳価を基に乳代損失額を算出した。ただし、分娩直後に発症した場合は、生理的異常乳として廃棄すべき5日間は乳代損失額から除外した。

(2) 乳生産性

乳量は朝夕の搾乳毎にミルクカーに接続したミルクメーター(Fシリーズ, ツルテスト・ディストリビューター社製, ニュージーランド)で計測した。

乳成分は分娩後1～3か月目の牛群検定実施日にミルクメーターのサンプラーを介して乳汁検体を採取し、近畿生乳販連生乳検査所の多成分赤外線分析装置(コンピフォスTMFC, フォス社製, デンマーク)にて一般乳成分率と体細胞数の分析を行った。各乳成分率と体細胞数は朝夕の乳量比によって加重平均した。なお、体細胞数はリニアスコア¹⁾に換算した後、統計処理に供した。

(3) 血液成分

分娩予定日の30日前、分娩後30日目、60日目および90日目の計4回、朝の飼料給与から4時間後にフッ化ナトリウム入り真空採血管及びプレイン真空採血管を用いて頸静脈から採血した。採血後直ちに、フッ化ナトリウム入り真空採血管の全血でヘマトクリット値を測定するとともに、冷却遠心で血漿と血清を分離し、血糖(Glu)は血漿を用い、総蛋白質(TP), 総コレステロール(TCho), 尿素窒素(BUN), アスパラギン酸トランスフェラーゼ(AST), グルタミルトランスアミナーゼ(GGT)は血清を用いて測定した。TPは屈折法、それ以外の項目は乾式血液自動分析装置(富士ドライケム3030: 富士写真フィルム, 東京)にて測定した。

5 統計処理

乳房炎発症率については2×2分割表のFisherの直接確率計算法にて検定した。

乳量、乳成分および血液成分については投与区と対照区の等分散性を確認後、Student-t検定により平均値の差を検定した。

なお、投与区では1頭が分娩翌日に乳頭踏傷となったため除外し、4頭で統計処理した。

結 果

1 乳房炎発症率

分娩後90日間において乳房炎は対照区で5頭中4頭が発症した。一方、投与区の4頭では乳房炎の発症はなかった。その結果、両区の発症率に有意差 (P<0.05) が認められた。

2 乳生産性

乳量は投与区39.8±6.2kg/日、対照区40.0±2.0kg/日で両区間に有意差は認められなかった (Table 1)。

一般乳成分率は調査した3回ともすべての項目において両区間に有意差は認められなかった (Table 1)。

体細胞数リニアスコア (以下LSと呼ぶ) は分娩後2か月目には投与区0.50±1.00、対照区3.60±2.19と投与区で有意に (p<0.05) 低かった。分娩後3か月目には投

Table 1. Production parameters for cows supplemented with or without a direct-fed microbial product

Item	Test ¹⁾ (n=4)	Control(n=5)	P-value ²⁾
Milk yield(kg/day)	39.8±6.2	40.0±2.0	NS
Milk composition			
Fa(%)			
1 M ³⁾	3.91±0.66	3.49±0.45	NS
2 M	4.06±0.79	3.52±0.25	NS
3 M	4.19±0.50	3.73±0.75	NS
Protein(%)			
1 M	3.03±0.10	3.02±0.10	NS
2 M	3.04±0.08	3.08±0.13	NS
3 M	3.10±0.10	3.38±0.67	NS
Solids Not-Fat(SNF) content(%)			
1 M	8.69±0.30	8.50±0.17	NS
2 M	8.68±0.17	8.60±0.28	NS
3 M	8.75±0.22	8.69±0.26	NS
Lactose(%)			
1 M	4.66±0.19	4.48±0.11	NS
2 M	4.65±0.11	4.52±0.17	NS
3 M	4.65±0.15	4.31±0.51	NS
Linear score(LS) ⁴⁾			
1 M	0.25±0.50	2.60±2.41	NS
2 M	0.50±1.00	3.60±2.19	P<0.05
3 M	0.75±0.50	4.60±3.85	P<0.10

Mean ± SD

1) The microbial product was added 70g/day/head.

2) NS:not significant.

3) At month after parturition.

4) LS = Log₂(somatic cell count/10⁵) + 3.

Table 2. Blood parameters for cows supplemented with or without a direct-fed microbial product

Item	Test ¹⁾ (n=4)	Control(n=5)	P-value ²⁾
Glucose(Glu,mg/dl)			
Preparturient	59.5±5.2	62.8±2.6	NS
1 M ⁴⁾	66.5±2.9	67.0±3.4	NS
2 M	68.3±4.3	67.5±5.1	NS
3 M	67.5±5.3	70.2±9.3	NS
Total cholesterol(TCho, mg/dl)			
Preparturient	90.5±9.3	92.8±52.1	NS
1 M	188.0±41.3	190.8±51.9	NS
2 M	226.0±43.6	248.2±59.4	NS
3 M	262.5±41.9	253.4±42.9	NS
Hematocrit(Ht, %)			
Preparturient	27.3±1.3	28.3±2.1	NS
1 M	26.5±2.1	25.3±2.5	NS
2 M	28.0±2.4	26.2±1.9	NS
3 M	28.3±2.1	7.4±1.5	NS
Total protein(TP, g/dl)			
Preparturient	7.08±0.24	6.83±0.53	NS
1 M	7.83±0.67	7.68±0.48	NS
2 M	7.88±0.63	7.93±0.27	NS
3 M	8.03±0.50	7.94±0.41	NS
Albumin(Alb, g/dl)			
Preparturient	3.53±0.17	3.50±0.08	NS
1 M	3.65±0.31	3.65±0.10	NS
2 M	3.70±0.18	3.62±0.19	NS
3 M	3.68±0.33	3.64±0.17	NS
Blood urea nitrogen(BUN, mg/dl)			
Preparturient	4.10±0.89	7.53±3.92	NS
1 M	13.25±1.94	11.85±2.87	NS
2 M	12.70±3.38	13.42±1.27	NS
3 M	13.68±2.51	11.90±1.83	NS
Calcium(Ca, mg/dl)			
Preparturient	10.63±0.22	10.35±0.39	NS
1 M	10.30±1.07	10.15±0.29	NS
2 M	10.50±0.94	8.97±1.81	NS
3 M	10.43±0.82	9.60±0.63	NS
Inorganic phosphorus(iP, mg/dl)			
Preparturient	4.45±1.11	5.05±0.87	NS
1 M	4.25±1.25	4.27±1.13	NS
2 M	3.40±0.91	5.37±2.55	NS
3 M	3.38±1.11	4.40±1.37	NS
Aspartate aminotransferase(AST, IU/l)			
Preparturient	48.3±5.9	46.3±2.1	NS
1 M	75.0±12.2	71.5±12.7	NS
2 M	71.5±9.3	71.5±8.8	NS
3 M	90.0±16.8	74.0±7.9	NS
-Glutamyl transpeptidase(GGT, IU/l)			
Preparturient	25.5±11.3	35.3±3.0	NS
1 M	28.3±11.4	33.5±11.3	NS
2 M	33.3±9.1	38.8±6.5	NS
3 M	38.0±8.8	42.0±7.3	NS

Mean ± SD

1) The microbial product was added 70 g/day/head.

2) NS:not significant.

3) 30 days before estimated date of delivery. Just anterior to start supplement of the microbial product.

4) At month after parturition.

Table 3. Economic loss by incidence of clinical mastitis in control group cows

Cow No.	Incidence No.	Day in milk	Treatment (days)	Milk disposal		Economic loss of milk ³⁾ (yen)
				days ¹⁾	volume(kg) ²⁾	
# 99	1	1	3	7	234.6	22,881
	2	17	3	6	193.6	18,961
	3	73	7	11	396.3	38,643
	4	88	14	35	813.0	78,621
# 115	1	1	8	11	371.4	35,480
	2	87	6	9	340.0	33,293
# 89	1	6	3	6	190.6	18,589
# 81	1	60	3	6	295.6	28,567

1) Including days of treatment.

2) The range of unit value was 95.06-98.52 yen/kg

3) Except for 5 days after delivery in milk.

与区で低い傾向 ($p < 0.10$) が認められた。(Table 1).

3 血液成分

血液成分はいずれの項目においても調査した4回とも両区間に有意差は認められなかった (Table 2).

4 乳房炎による経済的損失

各供試牛別の乳房炎発症状況と乳代損失額を示した (Table 3). 調査期間中99号牛は4回, 115号牛は2回, 他の2頭は1回発症した. 発症の時期は分娩直後から20日までと, 分娩後60日以降に分かれた.

治療と休業期間と合わせると生乳の出荷停止期間は多くの場合6~11日であったが, 99号牛の4回目の発症はグラム陰性菌による甚急性乳房炎であったため, 出荷可能となるまで35日かかった.

乳房炎発症1回当たりの乳代損失額は18,589~78,621円であった. このうち, 99号牛の4回目の発症を除く症例から求めた平均損失額は発症1回当たり28,059円であった.

考 察

今回, 対照区では5頭中4頭で乳房炎が発症し, その時期は分娩直後から20日までと, 分娩後60日以降に分かれた. 分娩直後は牛の免疫機能が最も低下する時期とされており¹⁾, 前者はそれが十分に回復するまでの発症リスクが高い時期に相当すると考えられた. また, 乳牛は分娩後4~5週で泌乳ピークを迎えるが乾物摂取量のピークは8~10週である²⁾ため, 分娩後60日以降は栄養学的に最も負のエネルギーバランスに傾く時期と言える. また, 栄養が不足するにつれ免疫機能は低下するとされ

ている⁹⁾ことから, 分娩後60日以降の時期の発症リスクの高さは, 栄養不足による免疫機能の低下による可能性が考えられた.

一方, 投与区では乳房炎の発症はなく, 統計学的にも発症率に有意差が認められたことから, 微生物培養産物の一種であるBFの乾乳期から泌乳前期にかけての継続的な投与は, この時期に発症率が高いとされている乳房炎を予防できることが示唆された.

本試験と同様の時期での生菌製剤の投与は乾物摂取量, 乳量および乳蛋白質を増加し, 遊離脂肪酸やケトン体などの血液成分からみたエネルギー代謝の改善が認められた⁷⁾. 一方, 本試験では乳量, 乳成分および血液成分はBF投与の影響を受けなかったことから, 乳房炎の予防効果に関して少なくとも栄養代謝面の改善による間接的効果ではないと考えられた.

BFは主に乳酸菌と酵母類の培養産物であり, *in vitro*において免疫賦活作用が確認されている(未発表データ). これらの菌種を用いた微生物培養産物は以前から畜産分野でも活用され, 消化管の機能調整に加え, 免疫賦活作用があることも知られている^{4,5,10)}. また, 乳酸菌の中には抗菌作用を有するバクテリオシンを産生するものもある^{3,8)}. したがって, BF投与による乳房炎予防効果には免疫活性化と乳房炎菌に対する殺菌作用のいずれか, または両方が関与している可能性もある.

今回, 対照区の乳房炎発症に伴う乳代損失額を算出したところ発症1回当たり平均28,059円であった. 実際の損失額としては更に治療費が加算される. 一方, BF投与にかかるコストは供試期間全体で1頭当たり約7,000円であった. しかし, 乳房炎の発症がなかったことと, それによって取引基準が強化されつつある体細胞数が有意

に低下したなどから、BF 投与は十分な経済効果が得られると考えられた。

今後、更に例数を重ね、乳房炎予防効果の作用機序について免疫学的に検討する必要がある。

謝 辞

本研究を行うに際し、微生物培養産物を提供して頂いた株式会社ハッピーグローブ森 江里子・高木貞司の両氏に感謝の意を表する。

引用文献

- (1) Ali, A. K. A. and G. E. Shook (1980): An optimum transformation for somatic cell concentration in milk: J. Dairy Sci. 63, 487-490
 - (2) Goff, J. P. and R. L. Horst (1997): Physiology and management. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders: J. Dairy Sci. 80, 1260-1268
 - (3) 川井 泰・伊藤敏敏(1998) 乳酸桿菌の作る抗菌性バクテリオシンの特性 :Milk Science 47, 165-172
 - (4) 木元広美 (2005): 免疫調節機能を有するプロバイオティック乳酸菌 : 畜産の研究 59, 159-164
 - (5) 牧野聖也・池上秀二・狩野 宏・指原紀宏・斎藤忠夫・小田宗宏 (2004): *Lactobacillus bulgaricus* 産生多糖体の免疫機能調節作用 :Milk Science 53, 161-164
 - (6) Natzke, R. (1981): Elements of mastitis control: J. Dairy Sci. 64, 1431-1442
 - (7) Nocek, J. E., W. P. Kautz, J. A. Z. Leedle, and E. Block (2003): Direct-fed microbial supplementation on the performance of dairy cattle during the transition period : J. Dairy Sci. 86, 331-335
 - (8) Oh, S., Kim S. H. and R. W. Worobo (2000): Characterization and purification of a bacteriocin produced by a potential probiotic culture, *Lactobacillus acidophilus* 30SC: J. Dairy Sci. 83, 2747-2752
 - (9) Ohtsuka, H., C. Watanabe, M. Kohiruimaki, T. Ando, D. Watanabe, M. Masui, T. Hayashi, R. Abe, M. Koiwa, S. Sato and S. Kawamura (2006): Comparison of two different nutritive conditions against the changes in peripheral blood mononuclear cells of periparturient dairy cows: J. Vet. Med. Sci. 68, 1161-1166
 - (10) Perdigon, G., S. Alvarez, M. Rachid, G. Agüero, and N. Gobbato (1995): Immune system stimulating by probiotics: J. Dairy Sci. 78, 1597-1606
 - (11) 佐藤 繁 (1998): 乳牛の分娩前後における免疫能の変化および免疫賦活物質の影響 : 東北家畜臨床誌 . 21, 61-70
 - (12) 山根逸郎 (2008): 疫学的調査に基づく乳房炎の経済的損失評価 : 畜産技術 . 2008年 7月号 , 20-22
-