

県内で分離された *Mycoplasma bovis* の分子疫学解析 及び薬剤感受性判別 SNP 解析

香川県東部家畜保健衛生所
○増川慶大、山川雅史、上村圭一

はじめに

Mycoplasma bovis (以下、*M. bovis*) は、牛では、乳房炎、牛呼吸器病症候群 (BRDC) 等の原因として知られている。乳房炎では、一般的に、伝染性及び病原性は高いと報告されている。しかし、中には、不顕性感染牛も存在し、新規感染牛の発見が遅れ、農場の清浄化を妨げ、問題となっている。国内ではワクチンがなく、感染牛の淘汰、隔離、治療が基本とされる。

近年、国内で、第一次選択薬である 16 員環マクロライド及びテトラサイクリン系抗生剤、第二次選択薬であるフルオロキノロン系抗菌剤に対する耐性化が報告されている。

本県では、2017～2019 年、2022 年以降、年 2 回、県内全酪農家を対象にバルク乳でマイコプラズマ検査を実施している。2023 年 8 月に A、B の 2 農場において *M. bovis* 特異的 PCR で陽性を確認した。また、B 農場においては同年 9 月に子牛の鼻腔スワブにおいても陽性を確認した。これら 2 農場から分離された *M. bovis* の分子疫学解析及び薬剤感受性判別 SNP 解析を実施したので報告する。

材料及び方法

M. bovis 特異的 PCR で陽性となった A 農場の 8 月のバルク乳分離株 4 検体、B 農場の 8 月のバルク乳分離株 2 検体及び 9 月の子牛鼻腔スワブ分離株 5 検体を材料として、分子疫学解析として Multi-Locus Sequence Typing (MLST) 解析、Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) 解析を実施。また、薬剤感受性判別 SNP 解析として、薬剤感受性低下に関与する一塩基多型 (SNP) の検出を実施した。テトラサイクリン系薬剤 (TC)、スペクチノマイシン (SPM)、16 員環マクロライド (16MML)、マクロライド系薬剤 (ML)、リンコマイシン系薬剤 (LM)、フルオロキノロン系薬剤 (FQ) の 6 種類の薬剤を用いた。

結果

MLST 解析では、A 農場分離株は Sequence Type100 (ST100)、B 農場分離株は新規の ST219 に型別された (図 1)。

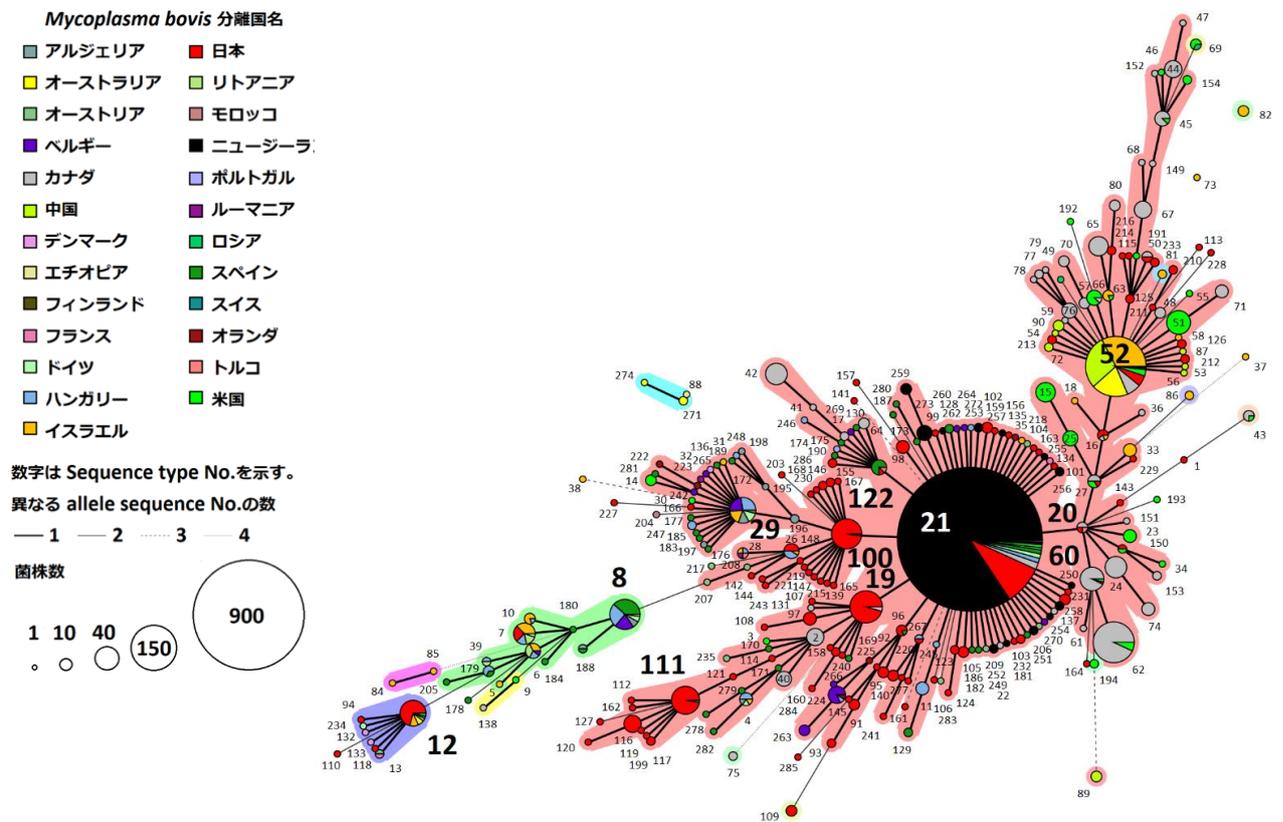


図1 MLST 解析結果 (ST100 : 青枠, ST219 : 黄枠)

PFGE 解析では、両農場とも同一あるいは類似のパルスパターンを確認した(図2)。このことから、B農場では、バルク乳と子牛鼻腔スワブ分離株は関連性があることが判明。農場間でパルスパターンが異なることを確認した。

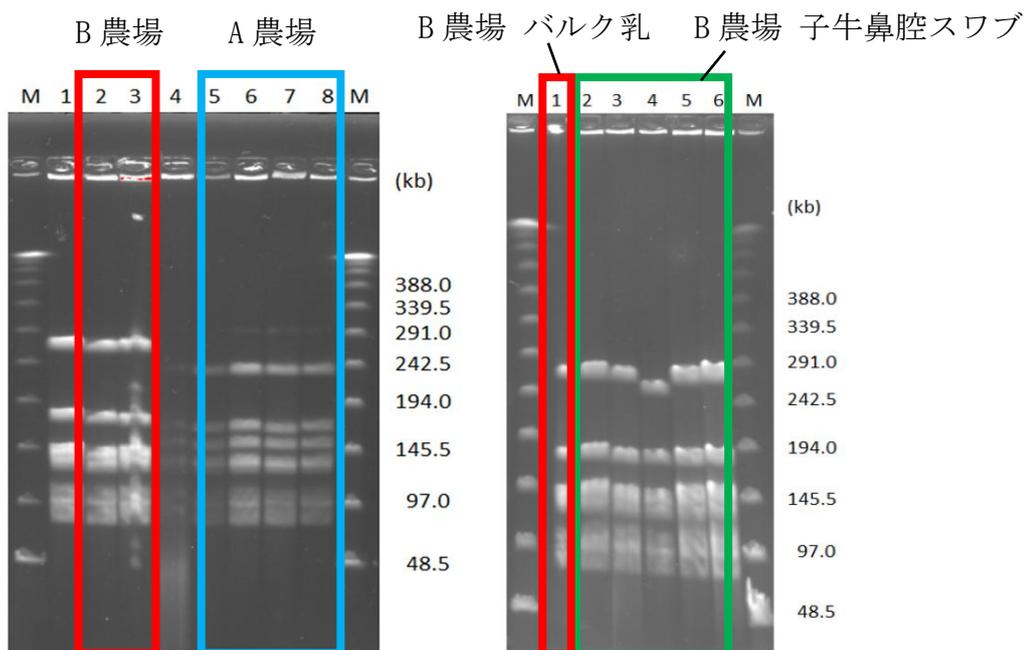


図2 PFGE 解析結果

(左図 : バルク乳分離株、右図 : B農場のバルク乳及び子牛鼻腔スワブ分離株)

薬剤感受性判別 SNP 解析では、両農場で TC 及び 16MML への感受性低下を確認した。B 農場では、さらに FQ の感受性低下も確認した(表 1)。

A農場	<ul style="list-style-type: none"> ・テトラサイクリン系薬剤(TC) ・16員環マクロライド(16MML) 	<ul style="list-style-type: none"> ・スペクチノマイシン ・リンコマイシン系薬剤 ・マクロライド系薬剤 ・フルオロキノロン系薬剤
バルク乳①	R	S
バルク乳②	R	S
バルク乳③	R	S
バルク乳④	R	S

B農場	<ul style="list-style-type: none"> ・テトラサイクリン系薬剤(TC) ・16員環マクロライド(16MML) ・フルオロキノロン系薬剤(FQ) 	<ul style="list-style-type: none"> ・スペクチノマイシン ・リンコマイシン系薬剤 ・マクロライド系薬剤
バルク乳①	R	S
バルク乳②	R	S
子牛鼻腔スワブ①	R	S
子牛鼻腔スワブ②	R	S
子牛鼻腔スワブ③	R	S
子牛鼻腔スワブ④	R	S
子牛鼻腔スワブ⑤	R	S

R : 低感受性 (耐性) S : 感受性

表 1 薬剤感受性判別 SNP 解析結果

考察及びまとめ

MLST 及び PFGE 解析結果から A 農場では、同一株が搾乳牛群内に、まん延していることが示唆された。B 農場では、バルク乳分離株と子牛鼻腔スワブ分離株の泳動結果は類似しており、関連性があることから特定の株が農場内に、まん延していることが示唆された。

薬剤感受性判別 SNP 解析の結果から A 農場では、第一次選択薬の TC と 16MML の低感受性化 (耐性化) が確認された。B 農場では、TC、16MML に加えて、第二次選択薬の FQ の低感受性化 (耐性化) も確認されたことから、抗菌剤による治療は困難であり、淘汰が最善策であると考えられた。

今回の分子疫学解析により、農場内におけるマイコプラズマの株の外部との関連や農場内の伝播が明らかとなった。薬剤感受性判別 SNP 解析により、陽性 2

農場の薬剤感受性の有無及び両農場間での薬剤感受性の違いを確認することができた。薬剤感受性を知ることで、治療や淘汰の方針に寄与することができる。

不顕性感染牛の定期的なモニタリング検査による早期発見が重要であり、その手段としては、バルク乳を用いた高感度な PCR 検査が最重要と考える。摘発後の早期対応としては、感染牛の隔離及び淘汰等を早期かつ確実に実施することが重要である。