

2025年11月11日
北海道酪農技術セミナー

プロトセカによる牛乳房炎の制御に向けて

酪農学園大学獣医学群
秋庭 正人

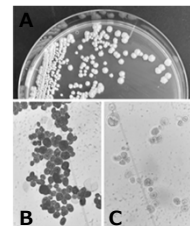
内容

- プロトセカの概説
- 砂敷料使用農場におけるプロトセカの生態
- 新規遺伝子型別法の開発

プロトセカの概説

プロトセカとは

クロレラに近縁な単細胞の藻類
葉緑体にクロロフィルを欠く→従属栄養生物
有機物が豊富で湿潤な環境を好む
現時点で18種が報告
(*cytB*遺伝子の塩基配列に基づく分類)
P. zopfii genotype 1
→*P. ciferrii* (乳房炎報告なし)
P. zopfii genotype 2
→*P. bovis* (乳房炎と関連)
牛関連種
P. bovis, *P. ciferrii*, *P. blaschkeae*



PIM培地で37℃、72時間培養後の
Prototheca bovis のコロニー (A),
グラム染色像 (B), ラクトフェノール
コットンブルー染色像 (C)

プロトセカによる動物と人の感染症

種名	宿主	臨床症状
<i>P. bovis</i>	牛	乳房炎
	犬	大腸炎、眼や神経系における播種性結節
	猫	皮膚結節
	馬	肉芽腫性鼻炎
<i>P. blaschkeae</i>	人	皮膚炎
	牛	乳房炎
	人	皮膚炎
<i>P. ciferrii</i>	犬	皮膚結節
<i>P. wickerhamii</i>	牛	乳房炎
	犬	大腸炎、眼や神経系における播種性結節
	猫	皮膚結節
	山羊	鼻や皮膚に潰瘍性、化膿性、肉芽腫性炎
<i>P. cutis</i>	魚 (鯉)	体表面のびらん、潰瘍、結節
	人	皮膚炎
	猫	鼻粘膜の結節
<i>P. miyajii</i>	人	皮膚炎
	人	皮膚炎

プロトセカによる牛乳房炎

症状

- 体細胞数は多いが臨床兆候を認めない慢性の経過
- 乳房腫脹、硬結、間質結合組織の増殖、乳腺胞の萎縮
- 体細胞数増加、泌乳量減少、ブツの混入、水様性乳汁
- 発熱、食欲不振などの全身症状はほとんど示さない

診断

- *Prototheca* Isolation Medium (PIM) による培養
- 質量分析計や*cytB*遺伝子の塩基配列解析による同定



プロトセカによる牛乳房炎

試験管内での有効性が確認されている化学物質

- 抗（真）菌薬：アンホテリシンB、アゾール系抗真菌薬、ゲンタマイシン、コリスチン
- 消毒薬：クロルヘキシジン、ポビドンヨード、次亜塩素酸ナトリウムなど
- ファイトケミカル：カルバクロール、シトラール、チモールなど

抗菌薬の使用が乳房内の細菌叢に影響し、乳房炎発症のリスク要因になる可能性

対策

- 確立されたプロトコルはない
- 治療的処置は推奨されていない
- 感染乳房の盲乳処置や感染牛の隔離・早期出荷
- ワクチンなし

プロトセカ性乳房炎

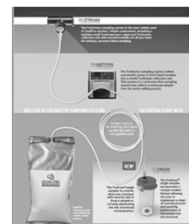
発生時の対応：1事例から学ぶ

伝染性乳房炎に分類される！

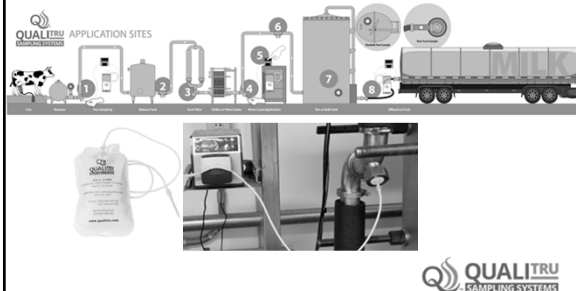
- ・強い伝染力
- ・バルク乳の品質を落とす：体細胞数、生菌数
- ・治療方法がない
- ・淘汰または隔離
- ・臨床型と潜在型
- ・分娩牛、フレッシュ牛での発生が多い
- ・排菌パターン

感染牛の摘発

- ・感染拡大を防ぐため：感染牛の積極的な摘発
- ・検査対象
 - ・分娩後の合乳検査
 - ・群の集合乳：バルクタンク乳またはペンサンプリング
 - ・集合乳が陽性になれば、個体の合乳検査



Dairy Farm Traditional
Farm Loading Application Sites



感染牛に対する対応

- ・牛の条件の確認：産次、繁殖状況、乳量・体細胞数
- ・感染分房の特定
- ・盲乳処置
- ・淘汰

“プロトセカ”FREEを維持する

- 集合乳を使った検査の継続
- 搾乳作業は最終の防衛線
- 環境（ストールの敷料）の培養

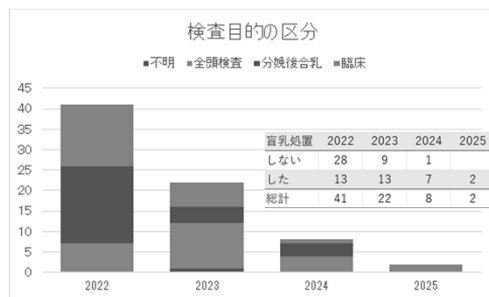
事例から学ぶ



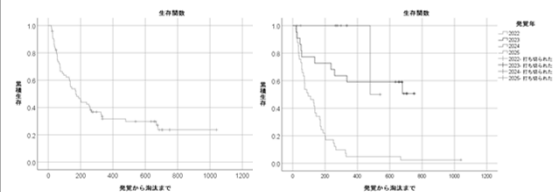
- 散発的な発生があった
- ストールの敷料は砂
- 2022年から積極的な介入
 - ラインサンプラーを用いたペン単位の感染評価
 - 細菌同定検査からプロトセカ分離検査を適用（高い感度）
 - 感染牛の対応：①淘汰、②盲乳、③繁殖中止、④搾乳順序
 - 搾乳作業での感染防御法として”バックフラッシュ“

図：Dr. Andy Johnsonのスライドより、2025

感染牛の発生状況



プロトセカ感染牛の転帰



まとめ

- プロトセカ感染牛の摘発はコントロールの中心
- ラインサンプラーの有用性
- 盲乳と淘汰によって感染源を縮
- 盲乳処置によって生産寿命を延長可能
- 基本的な搾乳衛生は常に重要！！

盲乳処置	2022	2023	2024	2025
しない	28	9	1	
生存	1	2		
淘汰	27	7	1	
した	13	13	7	2
生存		10	7	2
淘汰	13	3		
総計	41	22	8	2

砂敷料使用農場におけるプロトセカの生態

砂敷料

牛の快適性と衛生性に直結する重要な要素
フリーストール牛舎における砂敷料の使用

メリット

- ・有機物が少ないので細菌が増殖しにくい
- ・関節や蹄への負担が軽減され、横臥時間増加
- ・滑りにくいので転倒事故が減少

デメリット

- ・糞尿処理が難しく、特殊な装置がないと堆肥化が困難
- ・糞便などの有機物の蓄積で病原微生物が増殖



調査対象農場

砂敷料を使用し、プロトセカによる乳房炎が数年にわたって
散発的に発生している北海道内の2農場

A農場

総飼養頭数 840頭
乳房炎発生 2023年 39頭
2024年 18頭
牛床砂管理 継足し

B農場

総飼養頭数 1,260頭
乳房炎発生 2022年 42頭
2023年 22頭
2024年 8頭
牛床砂管理 耕起、洗浄、継足し

A農場 予備調査 2408（生体）

生体からのプロトセカ分離頻度

検体	分離頻度	種名
乳房炎牛乳汁	5/5	<i>P. bovis</i>
乳房炎牛直腸便	5/5	<i>P. bovis</i> , <i>P. ciferrii</i>
正常牛乳汁	0/5	
正常牛直腸便	0/5	

A農場 予備調査 2408（環境）

環境検体からのプロトセカ分離頻度

検体	分離頻度	種名
受水槽水	0/1	
受水槽バイオフィーム	0/1	
水槽水	3/5	<i>P. bovis</i>
水槽バイオフィーム	2/5	<i>P. bovis</i>
飼料（給与直後）	0/1	
飼料残差	1/1	<i>P. bovis</i> , <i>P. blaschkeae</i>
牛舎通路床スワブ	3/3	<i>P. bovis</i>
導入前の砂	1/3	<i>P. bovis</i>
牛床砂	8/8	<i>P. bovis</i>
ティートカップ	0/6	
レシーバージャー	0/3	
前絞りジャー	2/3	<i>P. bovis</i>

乳汁、直腸便、牛床砂から高率にプロトセカが分離

B農場 予備調査 2410

環境検体および直腸便からのプロトセカの分離

	牛床砂	通路スワブ	水槽水	水槽バイオフィーム	直腸便
高産次高泌乳群（2群）	9/10	2/2	0/3	0/3	3/7
乾乳後期群（11群）	0/10	0/2	0/3	0/3	0/7

分離株の同定結果

牛床砂 *P. bovis*

通路スワブ *P. bovis*

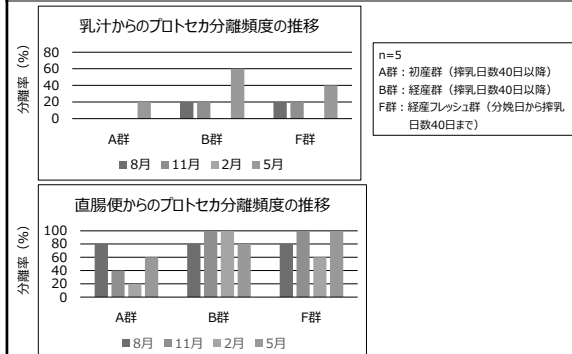
直腸便 *P. bovis*, *P. ciferrii*, *P. blaschkeae*

牛床砂や直腸便からプロトセカが分離

目的：プロトセカを制御するための重要管理点の特定

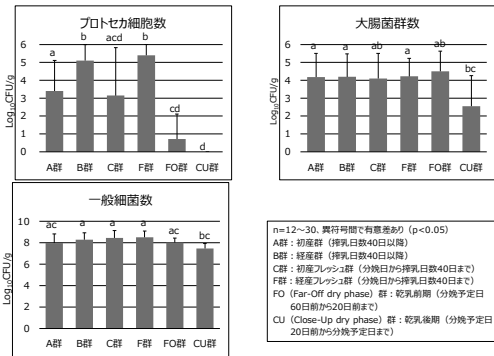
方法：乳汁、糞便、牛床砂を季節ごとに採取し、プロトセカ、大腸菌群
一般細菌数を計測

A農場 定期調査（乳汁および直腸便）



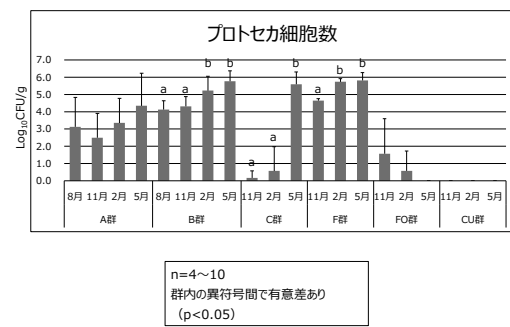
初産より経産牛群で高頻度に分離、特に直腸便からの分離頻度は高い

A農場 定期調査 牛床砂：群間の比較

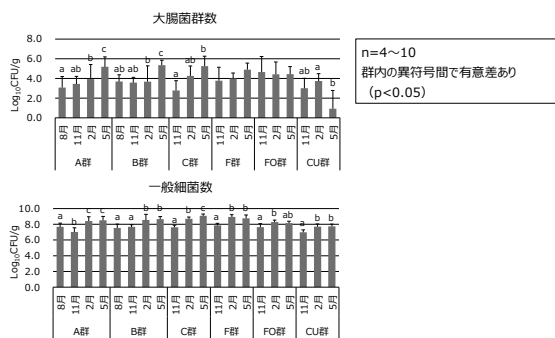


プロテセカ数は搾乳牛群で有意に高い→漏乳の重要性を示唆

A農場 定期調査 牛床砂：季節間の比較

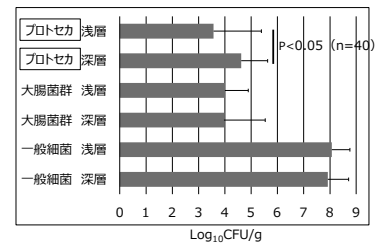


A農場 定期調査 牛床砂：季節間の比較



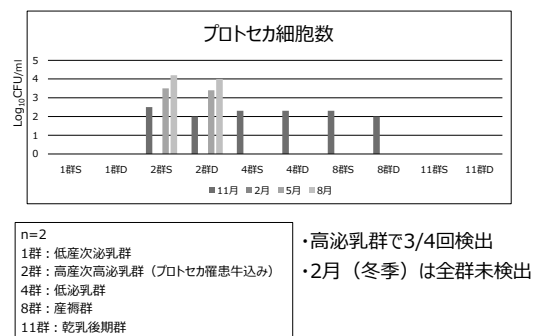
採材を重ねるにつれ数値が上昇→糞便汚染の進行を示唆

A農場 定期調査 牛床砂：浅層と深層の比較

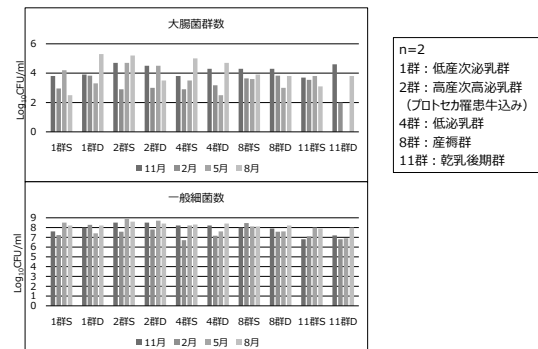


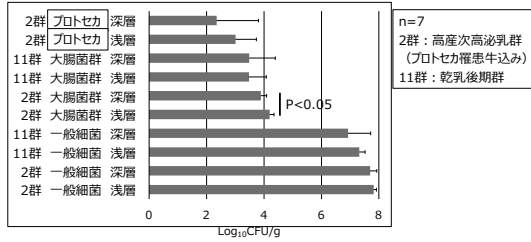
プロテセカ細胞数は浅層より深層の方が有意に高かった→湿度の高い深層で維持される可能性

B農場 定期調査 牛床砂



B農場 定期調査 牛床砂

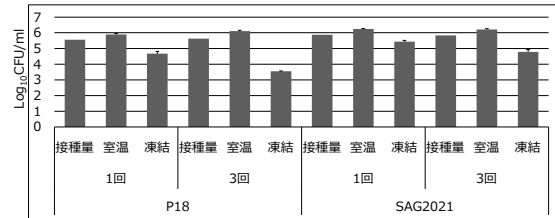




プロトセカ細胞数については浅層と深層の間に有意差なし
→耕起や砂洗浄の影響？

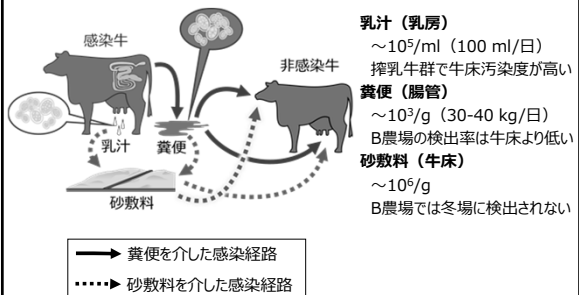
砂：乾熱滅菌（160℃、2時間）2回

プロトセカをサブローブロスで24時間振盪培養→生食に再浮遊→200 μ lを1 gの砂に接種
→凍結融解1または3回、室温放置→1 mlの生食で洗って細胞数計算



砂中では凍結融解の繰り返しにより死滅する可能性

最も重要な病原菌は？



Prototheca bovisの感染環

翁長みのり原図

どこから侵入したのか（想像）

- 感染牛の導入
乳房内または腸管内に保有
- 牛床砂
A農場の牛床への持込み前の砂（深層）
からプロトセカ分離

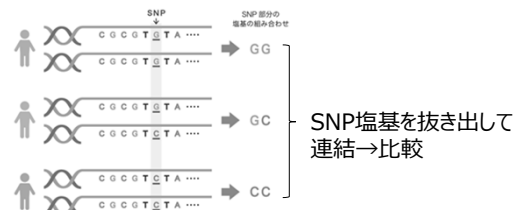
侵入経路を特定するためには野外分離株を互いに
区別する手法が必要

新規遺伝子型別法の開発

方法

国内株 (P18) の全ゲノム塩基配列決定

基準株SAG2021とP18のゲノムを比較し、一塩基多型（SNP）を抽出



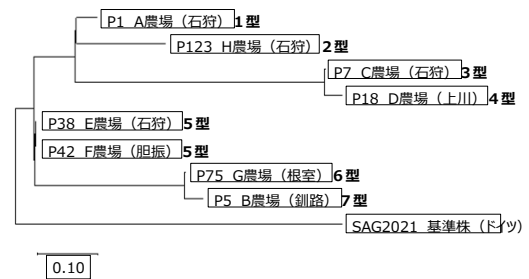
引用・改編：日本メナード化粧品総合研究所資料

SNP typingの確立

株名	由来	地域	SNP配列 (32個)
P1	A農場	石狩	TG-GTCCGTACACTTCCGGGACATCTTAGCTT
P5	B農場	釧路	CG-GTCTGGGTGTTTCCGGGACACTTAAGCTT
P7	C農場	石狩	TGAATCCGTACACTTCTGAAATACCTTTGTTT
P18	D農場	上川	TGAATCCATACACTTCTGAAATACCTTTGTTT
P38	E農場	石狩	CG-GTCCGTACACTTCCGGGACACTTTAGCTT
P42	F農場	胆振	CG-GTCCGTACACTTCCGGGACACTTTAGCTT
P75	G農場	根室	CG-GTCCGGGTGTTTCCGGGACACTTAAGCTT
P123	H農場	石狩	TG-GTCCGTACACTTCCGGGACGCCTTAAGCTT
SAG2021	ドイツ		CA-GCTCGTACACCTTCAGGCCGCTATAGCAC

E・F農場の組み合わせを除き、互いに識別可能

32個のSNPから作成した系統樹



SNP typingの実用性検証

2農場において異なる時期に分離された株のSNP typing結果

株名	農場	由来	PCR 条件	PCR1			PCR2			PCR3			SNP	コメント
				1	2	3	4	5	6	7	8	9		
13	D	乳汁	2402	T	C	A	T	T	T	T	T	A	D農場 2024年2月～2025年5月の分離株 全て4型	
25	D	乳汁	2402	T	C	A	T	T	T	T	T	A		
27	D	乳汁	2402	T	C	A	T	T	T	T	T	A		
30	D	初搾乳	2402	T	C	A	T	T	T	T	T	A	G農場 2024年8月～2025年5月の分離株 全て6型	
31	D	初搾乳	2402	T	C	A	T	T	T	T	T	A		
35	D	初搾乳	2402	T	C	A	T	T	T	T	T	A		
71	D	乳汁	2405	T	C	A	T	T	T	T	T	A	安定性、再現性に問題なし	
72	D	乳汁	2405	T	C	A	T	T	T	T	T	A		
73	D	乳汁	2405	T	C	A	T	T	T	T	T	A		
74	D	初搾乳	2407	T	C	A	T	T	T	T	T	A	安定性、再現性に問題なし	
75	G	乳汁	2408	C	C	G	C	A	T	T	G			
81	G	乳汁	2408	C	C	G	C	A	T	T	G			
87	G	乳汁	2408	C	C	G	C	A	T	T	G	安定性、再現性に問題なし		
90	G	糞便	2408	C	C	G	C	A	T	T	G			
93	G	糞便	2408	C	C	G	C	A	T	T	G			
95	G	糞便	2408	C	C	G	C	A	T	T	G	安定性、再現性に問題なし		
98	G	糞便	2408	C	C	G	C	A	T	T	G			
109	G	初搾乳	2408	C	C	G	C	A	T	T	G			
113	G	初搾乳	2408	C	C	G	C	A	T	T	G	安定性、再現性に問題なし		
115	G	初搾乳	2408	C	C	G	C	A	T	T	G			
121	D	初搾乳	2505	T	C	A	T	T	T	T	T		A	
122	D	初搾乳	2505	T	C	A	T	T	T	T	T	A	安定性、再現性に問題なし	
123	G	乳汁	2505	C	C	G	C	A	T	T	G			
124	G	乳汁	2505	C	C	G	C	A	T	T	G			
125	G	乳汁	2505	C	C	G	C	A	T	T	G	安定性、再現性に問題なし		
126	G	乳汁	2505	C	C	G	C	A	T	T	G			
127	G	初搾乳	2505	C	C	G	C	A	T	T	G			
128	G	初搾乳	2505	C	C	G	C	A	T	T	G	安定性、再現性に問題なし		
129	G	初搾乳	2505	C	C	G	C	A	T	T	G			
130	G	初搾乳	2505	C	C	G	C	A	T	T	G			

まとめ

砂敷料使用農場におけるプロトセカの生態

- ・プロトセカ汚染源としての漏乳の重要性
- ・牛床砂の管理によりプロトセカ汚染を低減できる可能性
- ・牛の腸管では長期間持続しない可能性

新規遺伝子型別法の開発

- ・ゲノム中のSNPを検出する遺伝子型別法を開発
- ・本法は国内株を農場間で区別することが概ね可能

謝辞

(敬称略)

A農場およびB農場の関係者の皆様

(株)ゆうべつ牛群管理サービス 安富一郎

シン・ベッツ、ファームエンジン 大塚優磨

関塚産業有限会社 関塚剛史

酪農学園大学獣医学群 翁長みのり

愛宕万依

内田郁夫

水谷あき



日本中央競馬会
特別振興資金助成事業

一般財団法人旗教会
研究助成

プロトセカ症を疑う牛の乳汁をお送りください！

連絡先：akiba@rakuno.ac.jp