

番号・課題名	7. 茶抽出物の殺菌効果と免疫細胞に対する影響 — お茶は抗生物質耐性菌にも効果があります —
所属・氏名	環境畜産部 ○森本直樹 応用技術部 坂田雅史（現三宅分場）・熊井良子

〔目的〕

近年、カテキンの薬理効果が注目されはじめ、医療分野へ応用することが試みられ始めている。今回、畜産分野へ利用するための一例として、牛乳房炎の治療を検討した。

乳房炎原因細菌に対する茶抽出物（カテキン）の殺菌能力と、乳房における免疫担当細胞に対する影響について臨床面での効果を明確にすることを目的として、試験を実施した。

〔方法〕

1. 乳房炎原因細菌の分離

- 1) 乳房炎発症牛（のべ10頭）の罹患乳房から牛乳を採取。
- 2) 滅菌生食にて希釈後、トリプトソーヤ寒天培地で37℃・一昼夜培養。
- 3) 出現コロニーのうち数的占有度の高いもの（1～3種）を採取し、同定。

2. 殺菌効果の測定

- 1) 細菌3種（*Klebsiella peumoneae*・*Staphylococcus sp.*・*Escherichia coli*）を培養。
- 2) PBS(+)に細菌（ 10^6 個/ml 又は 10^8 個/ml）及びポリフェノン 60^{*1} （100ppm 又は 1000ppm）を調整後、37℃で振盪培養し、定期的（0・6・24時間後）に菌数を測定。

3. 免疫細胞（体細胞）に対する影響

- 1) 健康牛より体細胞を採取し、PBS(-)で洗浄。
- 2) PBS(+)に体細胞数（ 10^6 個/ml）、細菌数（ 10^6 個/ml 又は 10^8 個/ml）、ポリフェノン 60（100ppm 又は 1000ppm）を混合調整。
- 3) 組織培養用フラスコを用い、37℃で培養、定期的（0・24・48時間後）に死亡細胞数を測定。（トリパンブルーによって青染した細胞を死亡細胞と見なした。）

*1 ポリフェノン 60（カテキン類を60%以上含有）

〔結果〕

1. 乳房炎原因細菌の分離（表1・2）

- 1) 細菌組成パターンは、グラム陽性球菌が主体の場合（5ケース）、グラム陰性菌が主体の場合（3ケース）、混在する場合（2ケース）とに分かれた。この結果から、特定の数種類の細菌によって乳房炎が引き起こされている可能性が示唆された。
- 2) 細菌同定の結果、グラム陰性桿菌は *Klebsiella peumoneae* に、グラム陽性球菌は *Staphylococcus sp.* と判明、*Klebsiella peumoneae* は抗生物質耐性菌であった。

2. 殺菌効果の測定（図1・2）

- 1) 全ての細菌に対して殺菌効果があり、特にグラム陽性菌に効果が高かった。
- 2) 殺菌効果は、徐々に効果が現れる傾向があった。

3. 免疫細胞（体細胞）に対する影響（図3・4）

- 1) 茶抽出物の存在により、細菌による免疫細胞への傷害が緩和されることが判明した。

〔考察〕

1. 茶抽出物（カテキン類）は、抗生物質耐性細菌に対しても殺菌効果があることから、様々な動物の細菌性感染症にも応用が期待できる。

表1 グラム陰性菌が主体のケース

牛番号	グラム	形態	占有率(%)	同定結果
1	-	桿	90	<i>Klebsiella peumoneae</i>
2	-	桿	90	<i>Klebsiella peumoneae</i>
3	-	桿	90	<i>Klebsiella peumoneae</i>

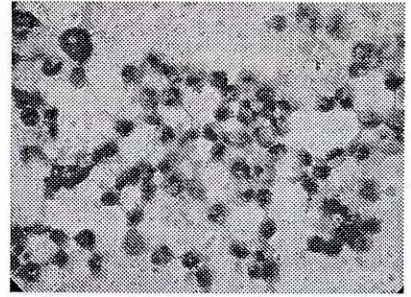


写真1 乳房炎牛乳中の体細胞

表2 グラム陽性菌が主体のケース

牛番号	グラム	形態	占有率(%)	同定結果
1	+	球	80	<i>Staphylococcus sp.</i>
	-	球	10	<i>Neisseria sp.</i>
2	+	球	50	<i>Staphylococcus sp.</i>
	+	球	30	<i>S.aureus</i>
3	+	球	50	<i>Staphylococcus sp.</i>
	+	球	20	<i>Staphylococcus sp.</i>
4	+	球	60	<i>Staphylococcus sp.</i>
	+	球	30	不明
5	+	球	50	不明
	+	球	30	<i>Staphylococcus sp.</i>

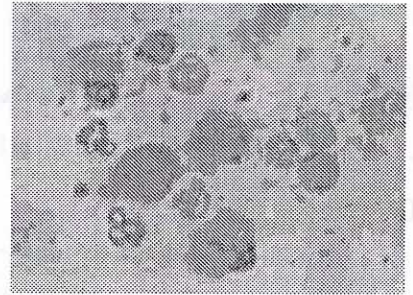


写真2 トリパンブルーによる染色 (青染したのが死細胞)

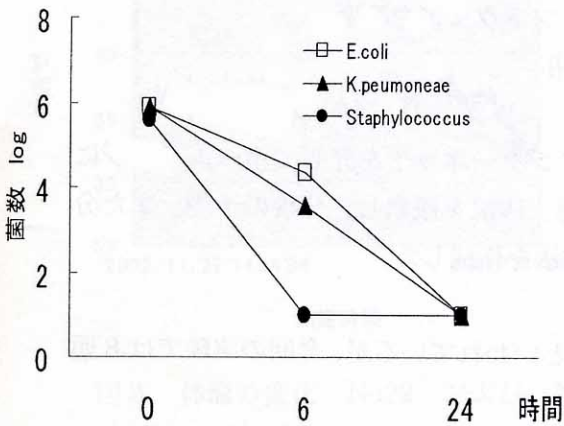


図1 細菌の種類と殺菌能力の関係

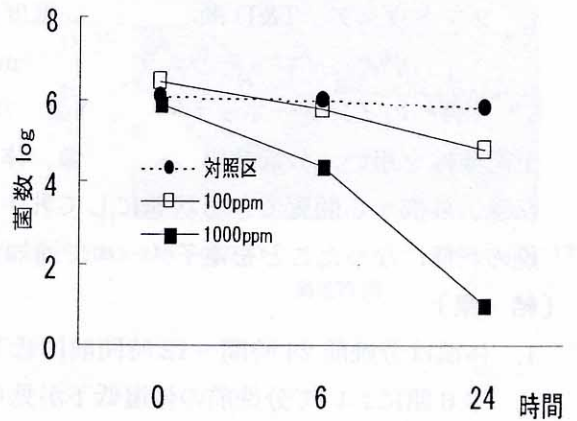


図2 カテキン濃度と大腸菌殺菌能力の関係

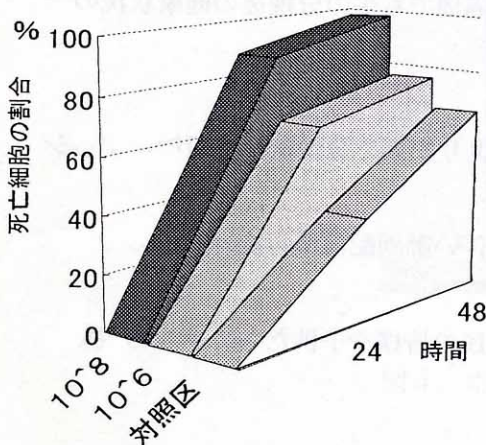


図3 大腸菌による体細胞への傷害

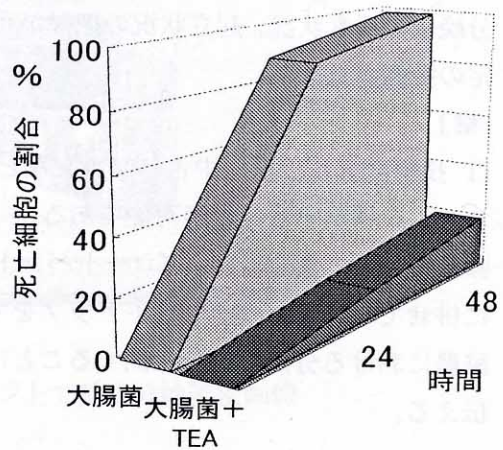


図4 茶抽出物による体細胞の保護効果