

## 牛乳房炎起炎性 *Candida* 属の乳中発育に及ぼす細菌の影響

雨宮淳三・吉見玲子・岡本嘉六

(獣医公衆衛生学研究室)

昭和59年8月10日 受理

### Effects of Bacteria on the Growth of *Candida* in milk

Junzo AMEMIYA, Reiko YOSHIMI and Karoku OKAMOTO

(Laboratory of Veterinary Public Health)

#### 緒 言

乳房炎は乳牛の重要疾病であるが、*Candida* などの真菌による症例が近年わが国でも増加しつつある<sup>3, 7, 11, 14, 20, 22, 23</sup>。*Candida* 性乳房炎は、抗生物質による細菌性乳房炎の治療に継発する場合が多いもの<sup>7, 11, 14, 16, 20, 22, 23</sup>、原発症として発症することもある<sup>3, 16</sup>。いずれの場合も、発症に至るには *Candida* の乳房内への侵入・定着・増殖と生体の抵抗性の低下が複雑に関連しており、未だ不明の点が多い<sup>12, 15, 21</sup>。

*Candida* は飼育環境はもとより、乳房の皮膚や乳頭に常在しており<sup>1, 5</sup>、外傷、搾乳の失宜、乳房内注入薬の挿入などにより容易に乳房内に侵入しうる。健康牛の正常乳からも種々の *Candida* 属が分離されており<sup>1, 2, 5, 16</sup>、自発性感染症とも考えられる。他方乳房内は本来無菌であると思われるが細菌は存在し、年令および産次数に伴って乳汁中の細菌数が増加することが知られている<sup>9, 10, 13, 17</sup>。細菌の増加は乳汁中への浸潤細胞の増加を伴い、局所の障害により *Candida* の定着を容易にしていることも考えられる。他方、これらの細菌叢により乳槽内での *Candida* の増殖が影響をうけている可能性もある。

抗生物質の使用により乳汁中細菌数が減少し菌交代現象がおきるとする考えに対し、*Candida* の乳房内接種試験において抗生物質の影響はなかったとの報告もある<sup>4, 6</sup>。このような乳汁中における *Candida* と細菌叢のかかわりについては詳細な検討がなされていない。*Pseudomonas fluorescens* が *Candida albicans* のブイヨン中での発育を抑制したとの報告<sup>24</sup>からすれば、乳汁中の細菌叢が *Candida* の発育を抑制しているのではないかと推定される。

本実験は、試験管内乳中における *Candida* と細菌の動向を調べることにより、*Candida* 性乳房炎の発症機序を検討することを目的とした。

#### 材料と方法

使用菌株: *Candida* 菌種として *C. albicans* IAM 4862, *C. krusei* IAM 4801, *C. tropicalis* IAM 4888 の3株を用いた。これらと混合培養する細菌として、乳房炎由来の *Staphylococcus aureus* および *Pseudomonas aeruginosa*, ならびに *Lactobacillus acidophilus* IAM 1043 を用いた。

生乳での実験: 新鮮生乳を滅菌中試験管に 10ml とって 37°C で振盪培養し、*Candida* 属菌数、生菌数、ブドウ球菌数、緑膿菌数ならびに乳酸菌数を経時的に調べた。生乳に Streptomycin (最終濃度 3.6 mg 力価/ml) を培養開始時に添加した場合および *Candida* を接種した場合についても各菌数を調べた。

滅菌牛乳(LL乳)での実験: 市販のLL乳に *Candida* と細菌を単独あるいは混合接種した場合の各菌数を経時的に調べた。また、*C. tropicalis* と *S. aureus* を接種・培養後6時間目に Oxytetracyclin (最終濃度 1 mg 力価/ml) を添加した場合についても調べた。

菌数の計測: *Candida* 属菌数は、希釈試料を塗布したサブロー寒天培地(栄研)に48時間培養後生じた特徴的集落を数えた。細菌との混合培養の場合は、培地に Streptomycin (18 mg 力価/枚) を添加することで *Candida* 集落のみを生じさせた。生菌数、ブドウ球菌数は、それぞれ、標準寒天培地(栄研)、スタヒロコッカス No. 110 培地(栄研)に48時間培養後生じた集落数とした。緑膿菌数は、NAG 寒天培地(栄研)に24時間培養後生じた色素産生集落数とした。乳酸菌数は、BCP 加プレートカウント寒天培地(ニッスイ)に72時間培養後周囲が黄変した集落数とした。これらの培養はすべて 37°C で行ない、菌数は常用対数値で表わした。

## 成 績

生乳における *Candida* 属および細菌の発育: 生乳の抗生物質無添加群 および 添加群における *Candida* 属と細菌の発育を Fig. 1 に示した. *Candida* 属は, 培養開始時には認められなかったが長期間培養によりいずれの検体からも検出された. 無添加群の *Candida* 属の増加は緩慢であり, 2 日目に最高値  $4.96 \pm 0.24$  となった. 添加群の *Candida* 属は急速に増加して 12 時間目以降無添加群より有意に多くなり, 2 日目に  $7.11 \pm 0.66$  となって平衡状態を保った.

生菌数は, 無添加群で急激に増加して 12 時間目に  $9.01 \pm 0.08$  となり平衡に達した. 他方, 添加群では一過性の減少がみられ, 12 時間目に  $4.58 \pm 0.17$ , 2 日目に  $8.41 \pm 0.19$  となり平衡に達した.

ブドウ球菌は, 培養開始時にわずかながら検出され, 6 時間目に  $5.54 \pm 0.26$  と増加して 2 日目まで平衡状態を保ち, 4 日目には検出されなくなった. 添加群では 6 時間目以降検出されなかった.

緑膿菌は, 急激に増加して 12 時間目に最高値  $6.67 \pm 0.04$  となり, その後漸減して 2 日目以降検出されなくなった. 添加群では実験期間中全く検出されな

った.

乳酸菌は, 無添加群において培養開始時に  $4.47 \pm 0.13$  であり, 12 時間目に  $8.58 \pm 0.04$  となり平衡に達した. 添加群では一過性の減少後 1 日目に  $6.11 \pm 0.46$  となり, 再び減少した.

生乳に *Candida* 供試菌を接種した場合の *Candida* 属菌数は, 無接種の場合より最高値で約 1.5 多かった (Table 1). 培養所見と塗抹標本の顕顕所見からは, 接種菌がほとんどを占めていた. 抗生物質の添加により, いずれの供試菌を接種した群でも発育が良好となり, 平衡値において無添加群と約 1 の差があった (Fig. 2).

LL 乳における *Candida* および細菌の発育: 実験期間を通して, LL 乳からは標準寒天平板に集落形成がみられなかった. *Candida* 供試菌を接種すると 12 時間目まではすみやかに発育し, 1 日目以降は平衡状態を保った (Table 2, Fig. 2). これと抗生物質を添加した生乳の場合と比較すると, *C. albicans* では実験期間中有意差が認められず, *C. krusei*, *C. tropicalis* においてもその差はわずかであった.

*C. tropicalis* と細菌を混合培養した場合, *S. aureus* および *Ps. aeruginosa* では 12 時間目以降,

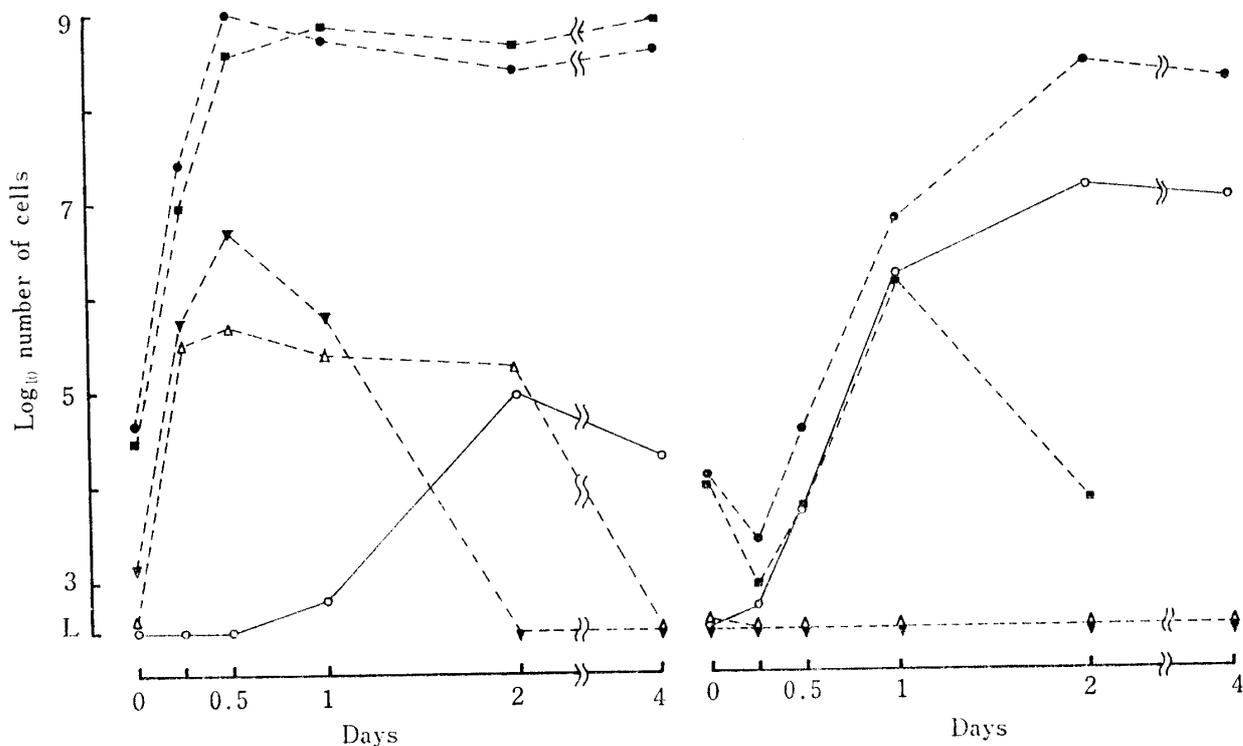


Fig. 1. Growth curves of *Candida* spp. and bacteria in the raw milk with (right) or without (left) the antibiotic.

○—○: *Candida* spp., ●—●: SPC, △—△: *Staph.*,  
▼—▼: *Pseudo.*, ■—■: *Lacto.*, L: Lower limit to count.

*L. acidophilus* では2日目以降 *C. tropicalis* の発育が抑制された (Fig. 3). 他の *Candida* 供試菌についても, いずれの細菌との混合培養でも *Candida* の

発育が抑制された. しかし, 抑制の程度および経過は, *Candida* と細菌の組み合わせにより異なった (Fig. 4). *C. krusei* の発育抑制の程度は, 他の *Candida* 菌種

Table 1. Growth pattern of *Candida* spp. after the inoculation of *Candida* in the raw milk with or without the antibiotic

	Days	Raw milk	Raw milk + antibiotic
<i>C. albicans</i>	0.00	3.24 ± 0.22 (5)	3.21 ± 0.18 (5)
	0.25	4.59 ± 0.21 (5)	5.06 ± 0.14 (5)
	0.50	4.91 ± 0.26 (5)*	6.22 ± 0.10 (5)
	1.00	5.82 ± 0.16 (5)*	6.87 ± 0.08 (5)
	2.00	6.29 ± 0.06 (5)*	7.07 ± 0.06 (5)
	4.00	5.56 ± 0.12 (4)*	6.82 ± 0.14 (5)
	6.00	5.46 (1)	6.94 (1)
<i>C. krusei</i>	0.00	3.32 ± 0.33 (5)	3.34 ± 0.24 (5)
	0.25	4.50 ± 0.08 (5)*	5.21 ± 0.26 (5)
	0.50	4.86 ± 0.23 (5)*	6.23 ± 0.15 (5)
	1.00	5.63 ± 0.17 (5)*	6.65 ± 0.04 (5)
	2.00	6.53 ± 0.04 (5)*	6.93 ± 0.04 (5)
	4.00	6.10 ± 0.04 (4)*	6.67 ± 0.08 (5)
	6.00	5.99 (1)	6.62 (1)
<i>C. tropicalis</i>	0.00	3.25 ± 0.20 (5)	3.28 ± 0.24 (5)
	0.25	4.58 ± 0.17 (5)*	5.42 ± 0.24 (5)
	0.50	5.01 ± 0.32 (5)*	6.63 ± 0.08 (5)
	1.00	6.06 ± 0.20 (5)*	6.98 ± 0.03 (5)
	2.00	6.48 ± 0.03 (5)*	7.13 ± 0.02 (5)
	4.00	5.68 ± 0.22 (4)*	6.79 ± 0.04 (5)
	6.00	5.54 (1)	6.45 (1)

Mean ± standard error, and trial number in parenthesis.  
\* : Significant difference (p < 5%) between the two cases.

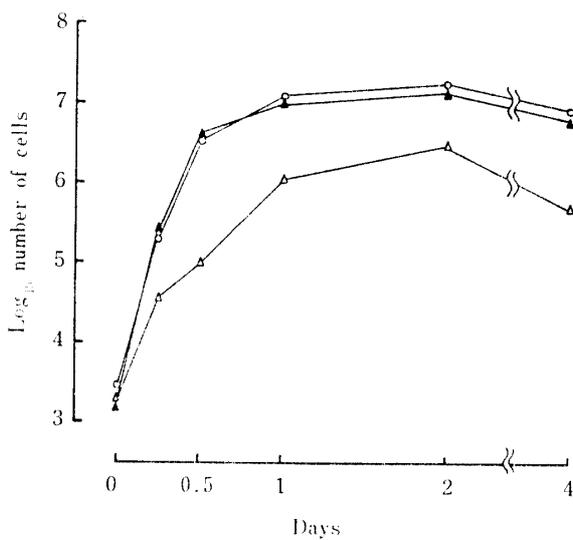


Fig. 2. Growth curve of *Candida* spp. after the inoculation of *C. tropicalis* in the raw milk (△—△), the raw milk with the antibiotic (▲—▲), and the LL-milk (○—○).

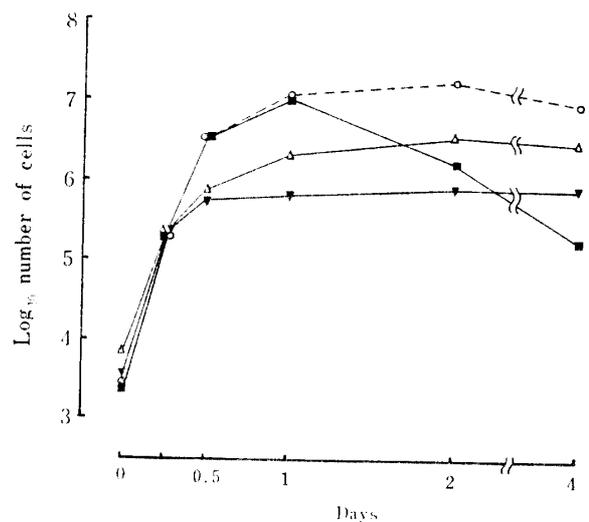


Fig. 3. Effects of mixing culture on the growth of *C. tropicalis* in the LL-milk.  
○—○: Cont., △—△: *Staph. aureus*, ▽—▽: *Pseudo. aeruginosa*, ■—■: *Lacto. acidophilus*.

と異なり, *S. aureus* で高く *L. acidophilus* で低かった. *Candida* の発育抑制の経過をみると, *P. aeruginosa* による場合は, 対照群との菌数の差が1日

目以降ほぼ同程度であった. *S. aureus* による場合は1日目に, *L. acidophilus* による場合は4日目に, それぞれ, 菌数の差が最も大きかった.

Table 2. Effects of mixing culture with the bacteria on the growth of *Candida* in the LL-milk

	Days	Cont.	<i>S. aureus</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>L. acidophilus</i>
<i>C. albicans</i>	0.00	3.48±0.16 (9)	4.05±0.06 (4)*	3.45±0.08 (7)	3.70±0.05 (4)
	0.25	4.85±0.23 (6)	5.41 (1)	4.76±0.32 (2)	4.72 (1)
	0.50	6.28±0.03 (6)	6.08 (1)	5.61±0.38 (2)*	6.18 (1)
	1.00	6.86±0.06 (9)	6.35±0.02 (4)*	5.76±0.11 (7)*	6.85±0.08 (4)
	2.00	7.00±0.05 (9)	6.50±0.01 (4)*	5.82±0.11 (7)*	6.43±0.04 (4)*
	4.00	6.96±0.04 (9)	6.54±0.06 (4)*	5.76±0.12 (7)*	5.22±0.19 (4)*
	6.00	6.82±0.09 (4)		5.42±0.04 (2)*	5.64 (1)*
	<i>C. krusei</i>	0.00	3.40±0.15 (9)	3.64±0.15 (4)	3.55±0.14 (6)
0.25		4.78±0.17 (6)	5.00 (1)	5.20±0.23 (2)	4.46 (1)
0.50		5.89±0.06 (6)	5.23 (1)	5.54±0.18 (2)*	5.59 (1)
1.00		6.80±0.03 (9)**	5.55±0.07 (4)*	5.24±0.13 (6)*	6.68±0.03 (4)*
2.00		6.91±0.02 (9)	6.21±0.09 (4)*	5.26±0.13 (6)*	6.90±0.09 (4)
4.00		6.48±0.03 (9)**	6.56±0.09 (4)	5.18±0.10 (6)*	5.86±0.08 (4)*
6.00		6.25±0.06 (4)		5.08 (1)*	5.92 (1)
<i>C. tropicalis</i>		0.00	3.47±0.14(10)	3.86±0.20(10)	3.54±0.12 (7)
	0.25	5.29±0.06 (7)	5.31±0.14 (7)	5.35±0.35 (2)	5.32 (1)
	0.50	6.53±0.02 (7)	5.87±0.10 (6)*	5.74±0.34 (2)*	6.51 (1)
	1.00	7.08±0.02(10)**	6.32±0.14(10)*	5.80±0.14 (7)*	7.03±0.04 (4)
	2.00	7.23±0.02(10)**	6.57±0.05(10)*	5.90±0.14 (7)*	6.42±0.05 (4)*
	4.00	6.96±0.02 (9)**	6.47±0.07 (9)*	5.90±0.10 (7)*	5.25±0.10 (4)*
	6.00	6.71±0.02 (5)**	5.81±0.14 (2)*	4.99±0.02 (2)*	5.65 (1)*

Significant difference ( $p < 5\%$ ) between the control and the others (\*), and between the control and the case in which the raw milk was added with antibiotic shown in Table 1 (\*\*).

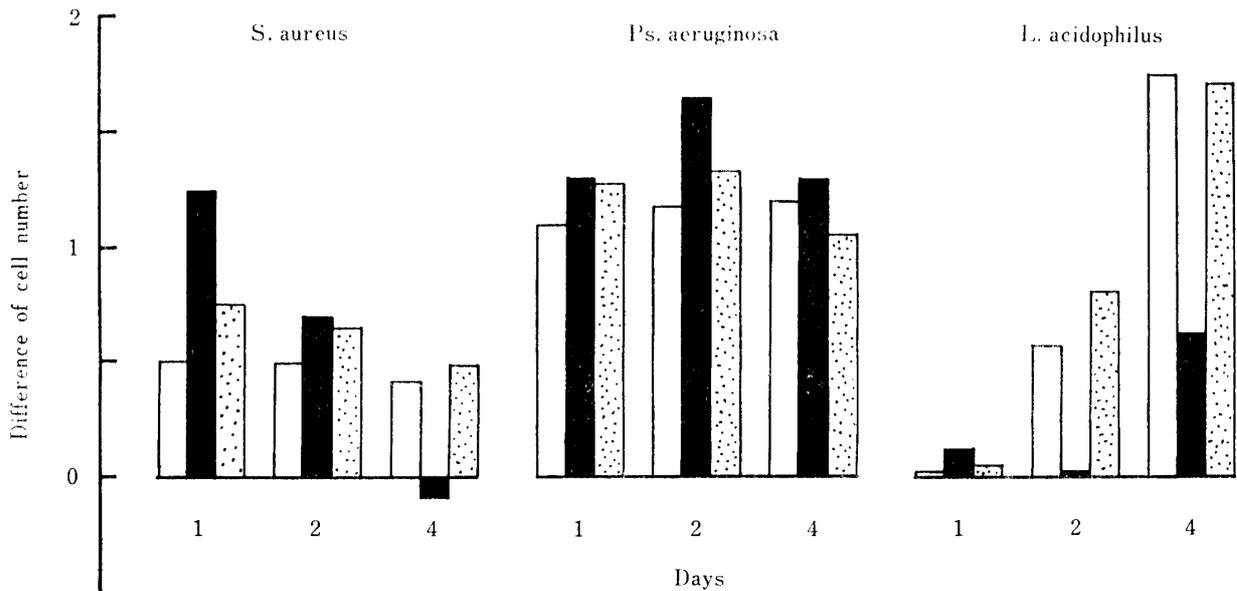


Fig. 4. Difference of the Log<sub>10</sub> number of cells between the groups cultured with or without the bacteria.

Table 3. Effects of mixing-culture with *Candida* on the growth of bacteria in the LL milk

	Days	Cont.	<i>C. albicans</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. tropicalis</i>
<i>S. aureus</i>	0.00	3.80±0.25 (5)	3.67±0.28 (4)	3.67±0.28 (4)	3.79±0.14 (9)
	0.25	7.31±0.09 (5)	7.23 (1)	7.34 (1)	7.39±0.04 (7)
	0.50	8.36±0.05 (5)	8.32 (1)	8.34 (1)	8.32±0.04 (6)
	1.00	8.67±0.10 (6)	8.56±0.07 (4)	8.77±0.04 (4)	8.52±0.06(10)
	2.00	7.72±0.22 (6)	7.99±0.20 (4)	7.15±0.11 (4)	8.28±0.11(10)*
	4.00	6.76±0.06 (6)	6.67±0.26 (4)	5.90±0.27 (4)*	6.32±0.20 (9)
	6.00	7.14±0.24 (2)			5.86±0.04 (2)*
<i>Ps. aeruginosa</i>	0.00	3.91±0.09 (4)	3.91±0.06 (7)	3.88±0.06 (6)	3.91±0.06 (7)
	0.25	6.73±0.13 (3)	6.47±0.76 (2)	6.74±0.26 (2)	7.08±0.27 (2)
	0.50	7.73±0.16 (3)	7.23 (1)	—	—
	1.00	8.50±0.12 (4)	8.48±0.05 (7)	8.41±0.08 (6)	8.40±0.06 (7)
	2.00	8.65±0.11 (4)	8.50±0.21 (7)	8.15±0.10 (6)	8.35±0.12 (7)
	4.00	7.53±0.18 (4)	8.08±0.10 (7)	7.94±0.24 (6)	7.89±0.08 (7)
	6.00	7.57±0.30 (3)	8.11±0.18 (2)	8.31±0.41 (2)	8.17±0.02 (2)
<i>L. acidophilus</i>	0.00	3.65±0.13 (4)	3.65±0.13 (4)	3.65±0.13 (4)	3.65±0.13 (4)
	0.25	5.11 (1)	4.96 (1)	4.98 (1)	5.04 (1)
	0.50	5.96 (1)	5.76 (1)	5.83 (1)	5.76 (1)
	1.00	7.74±0.03 (4)	7.37±0.05 (4)*	7.45±0.03 (4)*	7.46±0.05 (4)*
	2.00	8.69±0.16 (4)	8.72±0.09 (4)	8.75±0.09 (4)	8.89±0.12 (4)
	4.00	8.88±0.09 (4)	8.92±0.08 (4)	8.80±0.08 (4)	8.95±0.11 (4)
	6.00	8.64 (1)	8.85 (1)	8.49 (1)	8.79 (1)

\* : Significant difference (p<5%) between the control and the others.

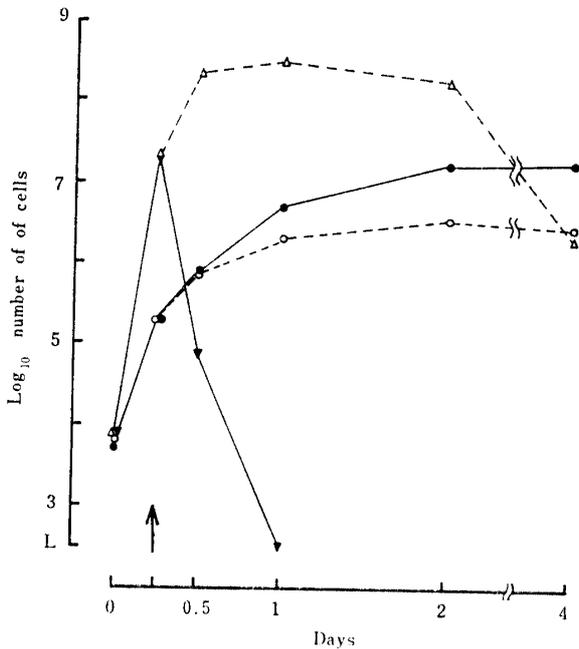


Fig. 5. Effects of the antibiotic on the growth of *C. tropicalis* (○, ●) cultured with *Staph. aureus* (△, ▼). Open symbols show controls.

LL乳に接種した細菌の発育は、*Candida* との混合培養によってもほとんど影響されなかった (Table 3). 各細菌数の最大値は大きく異なることがなかったが、最大値までの経過日数は、*S. aureus* が1日と最も早

く、*L. acidophilus* が4日と最も遅かった。

*C. tropicalis* と *S. aureus* の混合培養6時間目に抗生物質を添加した場合、*C. tropicalis* 数は無添加群より2日目を以降有意に多くなった (Fig. 5). また、添加群を *C. tropicalis* 単独培養群と比較すると、2日目には有意差がなくなり、4日目以降はかえって菌数が多くなった。

### 考 察

実験に供した生乳は通常に搾乳されたものであり、しかも低温下ではあれ搾乳後数時間経過しているため、実験開始時の菌数がそのまま乳槽内の状態を示すものではない。生菌数についても、個々の健康牛から無菌的に採取した場合の報告<sup>10,13,17)</sup> に比べてかなり多くなっている。また、*Candida* 属が検出されたことは必ずしも乳房内に常在していることを示すものではない。ただし、*Candida* 属が環境から乳房内に容易に侵入しうる状態にあると想像される。

*Candida* 属は、培養1日目においても菌数が少ないことから、生乳中では *Candida* 属が発育しにくいものと考えられる。他方、抗生物質の添加により *Candida* 属がすみやかに発育したことは、菌交代現象を考えるうえで興味ある知見と思われる。この際に各細菌数の減少が並行しており、細菌によって *Can-*

*didia* 属の発育が抑制されていたことを示すと考えられる。ブドウ球菌や緑膿菌などの病原性をもつ菌種のみならず、乳中に常在する乳酸菌の変動巾の大きいことが注目される。生菌数の培養経過は Hammer と Babel 成績<sup>8)</sup>と類似した。

*Candida* を実験的に生乳に接種した場合にも抗生物質の影響が認められ、乳房炎起炎性 *Candida* 菌種の発育にも生乳中細菌叢が抑制的に働くことが示された。

LL 乳に接種した *Candida* の発育は良好で、抗生物質添加生乳の場合と同等であった。LL 乳は滅菌処理や均質化などにより物理化学的性状が生乳と若干異なっているが、特定細菌の影響を調べるには LL 乳が適している。*S. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *L. acidophilus* のそれぞれを *Candida* と混合培養した場合、*Candida* はある程度まで発育した後抑制された。このことは、*Candida* が乳房炎起炎細菌や生乳の常在細菌とある程度共存しうること、およびこれらの細菌が *Candida* の発育に抑制的に働くことを示すものである。

細菌による抑制の程度は *Candida* 菌種によって異なり、抑制の経過は細菌種により傾向を異にした。*Candida* の乳房内接種試験において、Richard ら<sup>19)</sup>は菌種により発症率が異なると報告し、他方、Fransworth ら<sup>4,6)</sup>は抗生物質の投与が発症率に影響しないと報告している。これらの報告では乳房内細菌叢が調べられておらず、本実験成績からは生体試験の成績に供試乳房内の細菌叢の差違が影響しうることが示唆される。

*Candida* の発育の抑制経過は各細菌の発育経過と平行したが、このことは、細菌により乳中成分が変化した結果として *Candida* の発育が不良となった可能性をも示す。そこで、*S. aureus* を混合培養して細菌数が  $10^7$  個/ml 以上になった時点で抗生物質を添加したところ、*Candida* の発育は良好となり単独培養時の菌数まで達した。この成績は、細菌による抑制が単なる栄養分の争奪によるものではないことを示唆する。

今回の実験は、乳の更新がなく細菌の代謝産物が残存することなど乳房内の条件とは異なっており、また、細菌数が比較的少ない培養初期における影響が明らかにならなかった。これらの制約を考慮しても、乳中細菌叢と *Candida* のかかわりを系統的に調べた本実験は、*Candida* 性乳房炎の発症機序を考える際の基礎試料になるものと思われる。

## 要 約

*Candida* 性乳房炎の発症機序を考える一助として、*Candida* と細菌の乳中における相互の発育状況を検討した。

生乳に抗生物質を添加して培養することにより、無添加群に比べて *Candida* 属の発育が促進された。生乳に3種の *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*) を接種した場合も、抗生物質添加により接種 *Candida* の発育が促進された。

LL 乳に接種した *Candida* の発育は、抗生物質添加生乳の場合と同程度に良好であった。LL 乳に *S. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *L. acidophilus* を *Candida* と種々の組合せて混合培養した実験系では、いずれの細菌も *Candida* の発育を抑制した。抑制の程度と経過は、*Candida* 菌種と細菌の組み合わせにより異なった。なお、混合培養群に抗生物質を添加すると、*Candida* の発育抑制は解除された。これらの実験において、供試細菌の乳中における発育に *Candida* の影響は認められなかった。

本実験成績は、乳中の細菌叢によって *Candida* の発育が抑制されることを示すものであり、*Candida* 性乳房炎の発症における菌交代現象の一端を考えるうえで有意義な知見と思われる。

**謝辞** 本実験に用いた標準菌株は本学部応用微生物学 大西 博教授から分与されたものであり、深謝いたします。本研究の一部は森永奉仕会研究奨励金によって行なわれたものであり、謝意を表します。

## 文 献

- 1) 雨宮淳三・田代哲之：鹿兒島における乳牛の乳並びに糞よりの酵母の分離について。鹿大農学術報告，28，113-117 (1978)
- 2) 安里 章・佐藤輝夫：乳牛の乳汁中の真菌に関する研究 (1)。家畜診療，218，31-34 (1981)
- 3) 安里 章・阿諏訪次郎・長山一郎・吉田 浩・伊藤謙一郎・高木英守：乳牛の乳汁中の真菌に関する研究 (2)。家畜診療，236，27-32 (1983)
- 4) Fransworth, R. J.: Significance of fungal mastitis. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 170, 1173-1174 (1977)
- 5) Fransworth, R. J. and Sorensen, D. K.: Prevalence and species distribution of yeast in mammary glands of dairy cows in Minnesota. *Can. J. Comp. Med.*, 36, 329-332 (1972)
- 6) Fransworth, R. J. and Sorensen, D. K.: The effect of penicillin, dihydrostreptomycin and prednisolone treatment of experimental *Candida krusei* infections of the mammary glands

- of dairy cattle. *Can. J. Comp. Med.*, **39**, 340-348 (1975)
- 7) 福永 伸・太田垣公利・清水亀平次・白幡敏一・少西辰雄・一條 茂: *Candida tropicalis* による牛乳房炎例について. *日獣会誌*, **20**, 107-109 (1967)
- 8) Hammer, B. W. and Babel, F. J.: Growth of bacteria in raw milk. In *Dairy bacteriology*, p. 174-188, John Willy & Sons, New York (1975)
- 9) Hunter, A. C.: Microflora and somatic cell content of goat milk. *Vet. Rec.*, **114**, 318-320 (1984)
- 10) Hunter, A. C. and Jeffrey, D. C.: Subclinical mastitis in suckler cows. *Vet. Rec.*, **96**, 442-447 (1975)
- 11) 石川幸男・広瀬公人・小泉 弘・田中修一・久米常夫・東 量三・武居和樹・森 邦義, 橋本和典: カンジダ属真菌による牛の乳房炎. *畜産の研究*, **34**, 245-251 (1980)
- 12) 久米常夫: 乳房炎の微生物. 飯塚三喜ら共著, 牛の乳房炎, p. 89-213, 日本獣医師会, 東京 (1979)
- 13) 久米常夫・平棟孝志・村瀬信雄: 初産乳牛, 乾乳期乳牛および肉牛の乳汁中細菌叢. *家畜試験研究報告*, **64**, 16-21 (1972)
- 14) 久米常夫・東 量三・武居和樹・森 邦義: 牛の乳房炎乳汁から分離されたカンジダ属真菌について. *家畜試験研究報告*, **79**, 11-17 (1980)
- 15) Heidrich, H. J. and Renk, W.: Disease of the mammary glands of domestic animals. p. 260-261, W. B. Saunders Company, Philadelphia (1967)
- 16) Mehnert, B., Ernst, K. and Gedek, W.: Hafen als Mastitiserreger beim Rind. *Zbl. Vet. Med., Reihe A*, **11**, 97-121 (1964)
- 17) 村瀬信雄・久米常夫: 乳房炎の研究10年のあゆみ. *家畜衛生における最近の諸問題*, p. 60-65, 家畜試験北海道支場 (1970)
- 18) Prasad, L. B. M. and Prasad, S.: Bovine mastitis caused by a yeast in India. *Vet. Rec.*, **79**, 809-810 (1966)
- 19) Richard, J. L., McDonald, J. S., Fichtner, R. E. and Anderson, A. J.: Identification of yeast from infected bovine mammary glands and their experimental infectivity in cattle. *Am. J. Vet. Res.*, **41**, 1991-1994 (1980)
- 20) 齊藤光男・松尾晃和・久米常夫・井上 徹・矢口長彦・石川幸男・内村和也・笠間助宣: 牛の乳房炎乳汁から分離した酵母状菌について. *獣医畜産新報*, **708**, 404-408 (1980)
- 21) Shalm, O. W., Carroll, E. J. and Jain, N. C.: Bovine mastitis. p. 274-275, Lea & Febiger, Philadelphia (1971)
- 22) 高桑一雄・池本安夫・杉村崇明・金城俊夫: *Candida albicans* による牛乳房炎について. *日獣会誌*, **19**, 100-103 (1966)
- 23) 田辺達夫: カンジダによる乳房炎について. *家畜診療*, **212**, 31-34 (1981)
- 24) Walker, H. W. and Ayres, C. J.: Characteristics of yeasts isolated from processed poultry and the influence of tetracyclines on their growth. *Appl. Microbiol.*, **7**, 251-255 (1959)

### Summary

Growth-characteristics of *Candida* cultured with bacteria were studied in order to consider the significance of microflora in the bovine mycotic mastitis.

Growth of *Candida spp.* in the raw milk was accelerated by the addition of antibiotic suppressing the bacterial growth. The same pattern of acceleration was shown when *C. albicans*, *C. krusei* or *C. tropicalis* were inoculated into the raw milk. The counts of *Candida* in the raw milk added with antibiotic were almost equal to those in the case in which the Long-Life (LL) milk was inoculated with *Candida* throughout the experimental period.

The growth of *Candida* was suppressed in the presence of *S. aureus*, *Ps. aeruginosa* or *L. acidophilus* in the LL milk. The extent and the progress of suppression varied with the species-combination of both *Candida* and bacteria. When antibiotic was added to the LL milk 6 hours after the inoculation of *C. tropicalis* and *S. aureus*, *C. tropicalis* grew well likewise in the case free from bacteria.

These results suggest that the growth of *Candida* should be suppressed by bacteria in the bovine udder, and which is representative of the microbisme sélectionné et substitué in vitro.