

乳牛の乳汁中体細胞数の
変動に関する研究

1990年

東京農工大学大学院

連合農学研究科

生物生産学専攻

青木康浩

①

乳牛の乳汁中体細胞数の
変動に関する研究

1990年

東京農工大学大学院
連合農学研究科
生物生産学専攻

青木 康浩

乳牛の乳汁中体細胞数の変動に関する研究

目次

緒 論	1
第 1 章 出荷合乳中および個体乳中体細胞数の変動要因について.....	7
第 1 節 出荷合乳中の体細胞数と個体乳中の体細胞数との関係	7
第 2 節 産次, 泌乳時期および季節が個体乳中体細胞数の変動に 及ぼす影響	16
第 3 節 搾乳時の後しぼりの中止が個体乳中体細胞数に及ぼす影響.....	27
第 2 章 搾乳時および搾乳後の分房乳中体細胞数などの経時変化について.....	44
第 1 節 搾乳経過中における体細胞数, 電気伝導度およびNAGase	44
活性の変動	
第 2 節 搾乳後の試料採取時期による乳汁中体細胞数, 電気伝導度.....	58
およびNAGase活性の変動	
第 3 節 搾乳後の乳汁の生成・貯溜過程における体細胞数, 電気	76
伝導度およびNAGase活性の変動	
第 4 節 搾乳前後における乳汁の細菌発育抑制効果の変化	94
総 括	102
謝 辞	107
参考文献	108

結 語

乳房炎は、おもに細菌などの病原微生物の感染によって起こる乳腺の炎症⁵⁷⁾であり、乳腺の炎症部においては正常な乳汁の生成が阻害されるため、乳牛が乳房炎に罹患すると、泌乳量の減少、乳成分濃度の低下などが引き起こされることが知られている^{41, 43, 94, 112)}。そのため、乳房炎が酪農業に及ぼす影響は甚大で、従来からそれによる経済的損害は世界的に大きな問題となっており^{5, 16, 21, 22, 110)}、現在も、酪農家の収益性の向上を図る上で、効果的な乳房炎防除対策の確立が急務となっている^{6, 8, 9, 33)}。

乳房炎は、臨床症状を呈する臨床型乳房炎と、臨床的にはなんの変化も認められない亜臨床型乳房炎とがあり⁵⁷⁾、後者による乳生産機能の低下にともなう損害が、乳房炎による全損害額の約70%を占めると推測されている^{5, 16, 21, 67, 75)}。したがって、乳房炎を防除し、経済的損害を回避するために、亜臨床型乳房炎牛を早期に発見し、的確な処置を施すことや、また罹患牛が多数存在する牛群については、管理方法の改善を図ることなどが必要となる。

乳房炎罹患時には、乳腺の炎症部位において、食作用を示す好中球などの白血球が乳汁中へ多量に移行するため、乳汁中の体細胞数が顕著に増加することが知られている^{41, 43, 57, 59, 94, 96)}。そのため、乳汁中の体細胞数は、亜臨床型乳房炎牛を発見するための指標として従来から広く用いられてきた。また、毛細血管の透過性が変化するため、 Na^+ 、 Cl^- などの乳汁中への移行量が増加し、それにより乳汁の電気伝導度が上昇すること、あるいは乳腺細胞の損傷にともない N-acetyl- β -D-glucosaminidase (以下NAGase) などの酵素が乳汁中に多く出現するようになる^{41, 43, 57, 86, 94)}などが知られ

ており、乳汁の電気伝導度やNAGase活性も、体細胞数とともに亜臨床型乳房炎を発見するための指標として用いられることがある。

このように乳汁中の体細胞数を始めとする乳汁諸性状の変化は亜臨床型乳房炎の診断指標として用いられているが、体細胞数などは種々の条件によって変動することが多いとされている。そのため、体細胞数などの検査結果に基づいて乳房炎の防除対策を講じる際に適切な指針が得られない場合があり問題となっている。とくに、各牛群または各個体を対象とする体細胞数検査、および各分房乳を対象とする体細胞数ならびに電気伝導度、NAGase活性などの検査に際して、以下の点が大きな問題となっており、これらの諸点について説明が急がれている。

(1) 乳汁中の体細胞数は、近年、迅速に、かつ高い再現性で測定することが可能な蛍光光学式体細胞数測定機が世界的に普及したことにとともない、各酪農家で飼養している全搾乳牛から搾った出荷前の合乳（以下、出荷合乳）あるいは各搾乳牛個体の乳（以下、個体乳）を対象とする定期的な検査が行われている。わが国においても、都道府県の指定生産者団体などが主体となり出荷合乳または個体乳中の体細胞数を検査し、その結果に基づいて、各酪農家の乳房炎の発生状況を推定し、必要に応じて適切な処置を施すような指導体制が整備されつつある。しかしながら、出荷合乳および個体乳中の体細胞数は、検査時における種々の条件によって変動するといわれており、それらの変動要因については不明な点が多い。そのため、出荷合乳中および個体乳中の体細胞数の検査結果を、乳房炎防除対策に役立てる上で、その変動要因に関連する以下の諸点について検討す

る必要があると考える。

①出荷合乳中の体細胞数は、その牛群中に個体乳中体細胞数が異常に多い個体の存在する割合によって変動することは容易に推察できるが、その関係は十分に検討されていない。この点を明らかにすることによって、出荷合乳を対象として行われている体細胞数の定期的な測定結果を利用して、当該牛群中の個体の乳房炎発生状況を把握することができ、その水準に応じて必要な検査や処置を実施するための指針が得られる。

②個体乳中体細胞数は、産次数や泌乳時期(4, 7, 18, 24, 25, 61, 62, 89, 95), あるいは季節(7, 24, 25, 53, 61)などによって変動すると報告されている。しかしながら、これらは相互に関連して体細胞数に影響を及ぼすことが多く、それぞれ単独では、体細胞数の変動に対してどのように関与するかは明らかにされていない。これらの要因によって体細胞数が変動する場合には、異なる条件下の体細胞数を同様に比較することは妥当でないと考えられるため、産次、泌乳時期および季節などの各要因が、体細胞数の変動に及ぼす影響の程度を明らかにして、影響が認められる要因については、条件が異なる場合であっても比較できる換算方法を明確にする必要がある。

③乳房炎の発生は、管理方法、なかでも搾乳手法によって大きく影響を受ける^{42, 58)}ため、搾乳方法に失宜のある場合に体細胞数は増加すると考えられている。そのため、体細胞数によって適切な搾乳が行われているかどうか判断される場合がある。適切な搾乳手法については、多くの研究がなされているものの、機械搾乳時の手および機械による後しぼりの実施の是非については明らかにされていない。適正な搾乳方法の確立に資する知見を得るため、後しぼりが

行われている個体について、それを中止した場合の体細胞数の変動状況を検討する必要がある。

(2) 上述した個体乳中の体細胞数の定期的な検査において、異常に多い値を頻繁に示す個体については、乳房炎に罹患している疑いがもたれるため、その個体の全分房乳を対象としてより詳細な検査が行われる。1985年に国際酪農連盟が示した乳房炎の診断指針⁵⁷⁾は、炎症の程度をより正確に把握するためには、単独の指標の検査結果だけでなく、複数の指標に基づくべきであるとしている。そのため、分房乳を対象とする詳細な診断に際しては、体細胞数だけでなく、電気伝導度やNAGase活性を同時に検査することが推奨されている。さらに、前述のように炎症時に体細胞数が増加するのは、好中球などの白血球の増加によるので、体細胞を構成する各種細胞の構成比の変化によっても、炎症の程度が把握できる。この検査は顕微鏡による計測であり、操作や判定に熟練を要するなどの問題があるが、近年、体細胞の種類を迅速に判別して測定できる機械が実用化される方向にあり^{44, 83)}、将来、体細胞の構成比の検査も広く実施されるようになるかと推測される。しかしながら、これら体細胞数などの乳汁諸性状は、搾乳中および搾乳後の時間の経過にともない変化するといわれており、各検査に供用する試料を採取する時期が問題となっている。とくに、細菌感染状況は乳房炎の程度に大きく関与する^{41, 43, 57, 64, 86)}が、それが体細胞数などの経時変化にどのように影響するかという点に関してはほとんど知られていないため、乳房炎の罹患状況を把握する上で大きな障害となっている。したがって、以下の諸点について検討する必要がある。

①体細胞数などの乳汁諸性状は、同一の搾乳時であっても前しぼり乳と後しぼり乳とでは異なることが知られている。これは、搾乳の経過中に体細胞数などが変動するためであるが、その変動状況に関しては、不明な点が多く、とくに細菌感染状況による差異についてはほとんど知られてない。これらの点を明らかにすることは、乳房炎の罹患状況をより正確に把握する方法を確立するために、重要と考えられる。

②体細胞数などが、搾乳後の試料採取時期によって変動する場合には、異なる時刻に採取した試料間の検査結果を同一視することはできない。試料の採取時期による体細胞数などの乳汁諸性状の変動については、いくつかの研究^{12, 50, 101, 109})がなされているものの、その変動状況が細菌感染状況によってどのように異なるかなど、不明な点が多い。試料採取時期による体細胞数などの変動状況を明らかにすることによって、搾乳後の異なる時間に採取した試料の検査結果に基づく乳房炎の罹患状況の把握が容易になると考えられる。

③上記の搾乳後の試料採取時期による体細胞数などの変動は、搾乳後の時間経過にともなって乳房内に乳汁が次第に生成され貯溜する過程において、体細胞などが乳汁中へ出現する状況に差異があるため生じると推測される。この点を明らかにすることは、試料採取時期によって体細胞数などが変動する機構に関する知見を得ることができるとため、重要と考える。

④上述の①から③について検討することにより、体細胞数などの性状が搾乳に関連して経時的に変動する状況は解明されるが、これらは、同一の乳房で比較的短期間に認められる変動であるため、炎症の程度が悪化することともなう諸性状の変動とは異質のもの

考えられる。そこで、このような変動の生体における意義について検討する必要がある。とくに、搾乳の終了時から終了後の短時間内は、周囲環境に常在する細菌が乳房内に侵入しやすい時期と考えられ、その時期に認められる諸性状の変化が乳房における生体の防衛機構と関連する可能性を検討することが重要となる。

本研究においては、これらの諸点を解明するために、まず第1章において、出荷合乳中および個体乳中体細胞数の変動に関与する要因とその影響の程度を明確にし、つぎに第2章において、分房乳中の体細胞数などの乳汁諸性状が搾乳中または搾乳後に経時的に変動する状況を明らかにし、あわせて体細胞数の変動が有する意義について考究した。以上の諸点の解明は、体細胞数を始めとする乳汁諸性状の検査結果に基づく効果的な乳房炎防除対策の進展に大きく貢献することができるものと思われる。

第 1 章

出荷合乳中および個体乳中 体細胞数の変動要因について

第 1 節

出荷合乳中の体細胞数と個体乳中の体細胞数との関係

緒言

個々の酪農家が飼育する全搾乳牛から搾った出荷前の出荷合乳中に含まれる体細胞数は、その牛群中に亜臨床型乳房炎牛がどの程度存在するかを推測する手段として用いられている。出荷合乳中の体細胞数は、その牛群に体細胞数の異常に多い個体が多く存在するほど増加すると推察できる。この関係について、GILLとHOLMES³⁸⁾は、出荷合乳中体細胞数が1 ml当り20万、40万および60万の牛群には、個体乳中体細胞数50万以上の個体が、それぞれ15、23および30%存在することを報告している。また、HOLMESとMOORE⁴⁶⁾は、出荷合乳中体細胞数が1 ml当り10万、50万および90万の牛群には、個体乳中体細胞数50万以上の個体がそれぞれ6%、30%および51%存在することを示している。

しかしながら、これらの報告では、出荷合乳中体細胞数の連続的な増加に対応して、体細胞数が異常に多い個体の存在する割合がどのように変化するかは明らかにされてなく、現在までに、出荷合乳中体細胞数の増減が、牛群内の全個体の体細胞数とどのような関係にあるのかは十分に検討されているとは言えない。とくに、合理的な乳房炎防除対策を推進する上で、出荷合乳中体細胞数の水準によ

り、当該牛群の個体の体細胞数がどのような状況にあるかを推定する方法を確立することは重要となる。

そこで本節においては、出荷合乳中の体細胞数がその牛群に体細胞数の異常に多い個体が存在する割合とどのような関係にあるかを明らかにし、出荷合乳中体細胞数によって、当該牛群中の全個体の中に体細胞数が異常に多い個体が存在する割合を推定する式を作成するために、一般酪農家から得られたデータを統計的に解析した。

材料および方法

1986年9月から12月に、静岡県富士宮市の富士開拓農業協同組合管内ののべ52戸の酪農家から、朝搾乳時に分流式乳量計のサンプリング装置から採取した各個体乳および出荷前のお荷合乳を採取して検討した。対象農家の1戸当り平均飼養頭数は、29.3頭であった。各試料に対して、採取後ただちに防腐剤の2-Bromo-2-nitro-1,3-propanediol (Aldrich Chemical Company Inc.製)を試料の約0.05%になるよう添加し、その後72時間を経過してから蛍光光学式体細胞数測定機 (Foss Electric Co.Ltd製, Fossomatic 215)を用いて計測した^{56,99)}。

体細胞数の測定結果は、以下のように解析した。まず、全対象農家を、出荷合乳中体細胞数によって次の各グループに分類した。第1グループ：1ml当り20万未満。第2グループ：1ml当り20万以上50万未満。第3グループ：1ml当り50万以上100万未満。第4グループ：1ml当り100万以上。次に、各グループに属する農家において飼養されている個体を、その個体乳中体細胞数により、1ml中10万未満、10万以上20万未満、・・・というように10万ごとの階級、および

1 ml中20万未満, 20万以上50万未満, 50万以上100万未満, 100万以上の4階級に分類し, 10万ごとの分類と4段階の分類のそれぞれについて相対度数分布を調べ, 各グループ内の分布の特徴を検討した。次に4階級に分類したそれぞれの階級に属する個体の割合が, グループ間で異なるかについて, χ^2 検定による出現率の比較を行って検討した。さらに, 各々のグループにおける, 出荷合乳および個体乳中の体細胞数の幾何平均値を求めた。

これらの検討結果に基づき, 出荷合乳中の体細胞数から, その牛群中の体細胞数が異常に多い個体が占める割合を推定する式を求め, 出荷合乳中の体細胞数を常用対数に変換した値を独立変数, 体細胞数が50万以上の個体が占める割合を角変換した値をそれぞれ従属変数とする回帰分析を行った。

結果および考察

出荷合乳中の体細胞数によって分類された各グループに該当する農家戸数, 飼養頭数および出荷合乳および個体乳中の体細胞数の平均値を表1に示した。

Table 1. Numbers of herds and cows and geometric mean of somatic cell counts (SCC) in milk in different herd groups¹⁾.

Herd groups	Number of herds	Number of cows	Geometric mean of SCC(1000/ml)	
			Bulk tank milk	Individual cows' milk
1	13 (25.0) ²⁾	402 (26.6) ²⁾	131.4	97.2
2	19 (36.5)	501 (33.1)	350.8	205.7
3	16 (30.8)	491 (32.5)	647.5	360.6
4	4 (7.7)	119 (7.8)	1301.5	619.0
Total	52(100.0)	1513(100.0)	366.5	198.5

¹⁾ Herds are grouped based on SCC(/ml) in bulk tank milk. Group 1; Less than 200,000. Group 2; Equal to and more than 200,000 and less than 500,000. Group 3; Equal to and more than 500,000 and less than 1,000,000. Group 4; Equal to and more than 1,000,000.

²⁾ In parentheses; The proportion (%) of numbers to total number.

表1にみられるように、第1および第2グループに分類された農家が全戸数の約62%を占めていたが、出荷合乳中の体細胞数が1ml当たり100万を超える第4グループの農家も7.7%（4戸）存在した。これらの数値は、北海道における出荷合乳中の体細胞数は1ml当たり100万を超える農家が年間を通じて2%であった（1983年）という成績⁴⁶⁾、あるいは、福岡県³⁷⁾、および茨城・群馬・埼玉・栃木県¹¹³⁾における成績などと比較すると、いずれよりも高い値であった。

次に、各グループに属する農家において飼養されている個体を、10万ごとの階級によって分類した場合の体細胞数別相対度数分布を図1に示した。体細胞数の分布は、正規分布に近似するものではなく、第1グループでは1ml中10万未満の個体が全飼養頭数の58%を占め、この階級をピークとする分布を示し、出荷合乳中の体細胞数が多いグループになるにつれ体細胞数の少ない個体の相対度数が低下し、逆に体細胞数が多い個体の相対度数が上昇する傾向が明らかであった。そして第4グループでは、10万未満の個体が7%にまで低下し、500万以上の個体が4%存在することが示された。これらのことから、出荷合乳中の体細胞数とその牛群の状態を推察するための有効な指標となることが再確認された。

出荷合乳中および個体乳中の体細胞数は、上述のような分布に従うため、幾何平均値によって示すことが適当と考えられた。なお、本論文における以降の節においても、同様の理由で体細胞数の平均値は幾何平均値で示すこととした。全体の出荷合乳中および個体乳中の体細胞数の幾何平均値は、1ml当たりそれぞれ37万および20万であった。わが国における個体乳中体細胞数の水準については、報告されていないが、出荷合乳中体細胞数について市川⁵¹⁾は、1984年にお

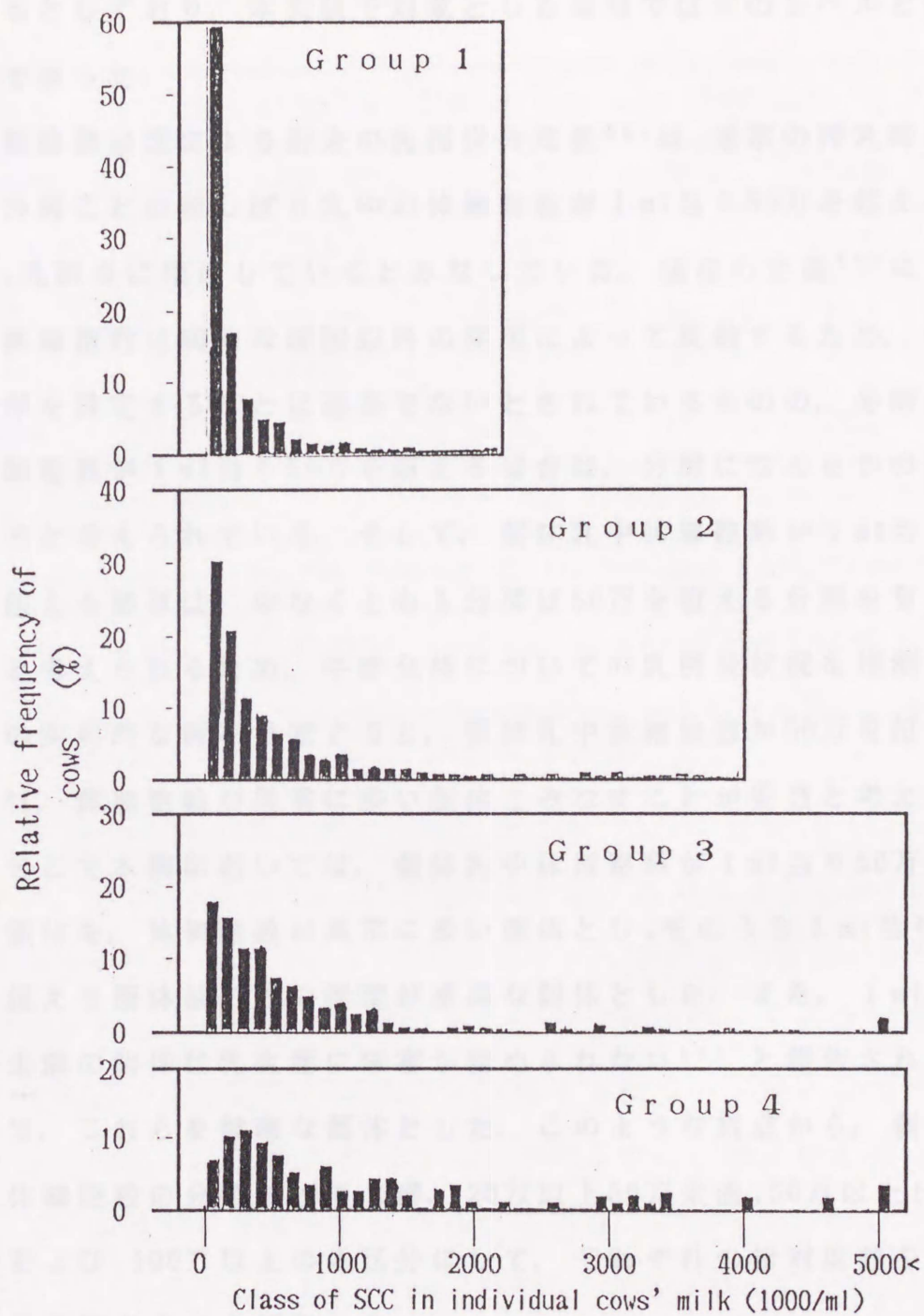


Fig. 1. Distribution patterns of cows relating to somatic cell counts (SCC) in individual cows' milk in different herd groups. Herds are grouped based on SCC(/ml) in bulk tank milk. Group 1; Less than 200,000. Group 2; Equal to and more than 200,000 and less than 500,000. Group 3; Equal to and more than 500,000 and less than 1,000,000. Group 4; Equal to and more than 1,000,000.

けるわが国の出荷合乳中の体細胞数の幾何平均値を、1 ml当り33万であるとしており、本実験で対象とした地域ではそのレベルとほぼ同様であった。

国際酪農連盟による旧来の乳房炎の定義⁵⁵⁾は、通常の搾乳時における分房ごとの前しぼり乳中の体細胞数が1 ml当り50万を超えるものを、乳房炎に罹患しているとみなしていた。現在の定義⁵⁷⁾によれば、体細胞数は病的な原因以外の要因によって変動するため、一律の基準を設定することは適当でないとされているものの、分房乳中の体細胞数が1 ml当り50万を超える場合は、分房になんらかの異常があると考えられている。そして、個体乳中体細胞数が1 ml当り50万を超える個体は、少なくとも1分房は50万を超える分房を有していると考えられるため、牛群全体についての乳房炎状況を推測する場合の実用的な面を考慮すると、個体乳中体細胞数が50万を超える個体は、体細胞数が異常に多い個体とみなすことが妥当と考えられた。そこで本報においては、個体乳中体細胞数が1 ml当り50万を超える個体を、体細胞数が異常に多い個体とし、そのうち1 ml当り100万を超える個体は、その程度が重篤な個体とした。また、1 ml当り20万未満の個体は乳生産に障害が認められない¹⁷⁾と報告されているので、これらを健康な個体とした。このような観点から、個体乳中の体細胞数の分類を20万未満、20万以上50万未満、50万以上100万未満および100万以上の4区分にして、それぞれの相対度数を求めたところ表2のようになった。

すなわち体細胞数が1 ml中50万以上の個体の割合は、第1、2、3および4グループにおいてそれぞれ7.0、24.8、37.7および54.6%、100万以上の個体の割合はそれぞれ2.2、10.0、16.7および35.3

Table 2. Distribution percentage (%) of cows relating to SCC in individual cows' milk in different herd groups¹⁾.

Herd group	Class of SCC in individual cows' milk (1000/ml) ²⁾				
	<200	200-500	500-1000	1000≤	500≤
1	74.4 ^{A 3)}	18.6 ^A	4.8 ^A	2.2 ^A	7.0 ^A
2	49.7 ^B	25.5 ^{Ba}	14.8 ^{Ba}	10.0 ^B	24.8 ^B
3	31.2 ^C	31.1 ^{Bb}	21.0 ^{Bb}	16.7 ^C	37.7 ^C
4	17.6 ^D	27.8 ^{Bab}	19.3 ^{Bab}	35.3 ^D	54.6 ^D
Total	47.7	25.7	14.5	12.1	26.6

¹⁾ Herds are grouped by SCC(/ml) in bulk tank milk. Group 1; Less than 200,000. Group 2; Equal to and more than 200,000 and less than 500,000. Group 3; Equal to and more than 500,000 and less than 1,000,000. Group 4; Equal to and more than 1,000,000.

²⁾ <A; Less than A, A-B; Equal to and more than A and less than B, A≤; Equal to and more than A.

³⁾ Different superscripts within column indicate significant difference. Capital letters; $p < 0.01$. Small letters; $p < 0.05$.

%であった。また20万未満の個体の割合はそれぞれ74.4, 49.7, 31.2 および 17.6%であった。1 ml中20万未満, 50万以上および100万以上の個体の割合については, いずれもグループ間に有意差 ($p < 0.01$) が認められた。このように出荷合乳中の体細胞数が1 ml中20万未満の牛群では, 体細胞数の異常に多い個体の割合が1割にも満たないが, 出荷合乳中体細胞数が50万以上の牛群中には約4割を占めるようになることが示された。これらの結果は, ニュージーランドの酪農家について調査したGILLとHOLMES³⁸⁾, およびHOLMESとMOORE⁴⁶⁾の報告とよく一致した。

出荷合乳中の体細胞数が増加するにしたがって, 個体乳中の体細胞数が1 ml中50万および100万以上の個体が当該牛群中に占める割合の変化する状況を検討したところ, 次の関係式が求められた。

$$P_1 = \sin^2(-2.515 + 0.544 \text{Log}_{10} X) \quad R^2 = 0.626$$

$$P_2 = \sin^2(-2.090 + 0.431 \text{Log}_{10} X) \quad R^2 = 0.545$$

P_1 : 体細胞数が 1 ml 中 50 万以上の個体が牛群中に占める割合 (%)

P_2 : 体細胞数が 1 ml 中 100 万以上の個体が牛群中に占める割合 (%)

X : 出荷合乳中の体細胞数 (/ml)

この式による推定値を図 2 および表 3 に示した。推定式は繁雑なものではあるが、出荷合乳の体細胞数の水準により、当該牛群中に異常に体細胞数が多い個体がどの程度含まれるかを知るための指針として、これら推定値および信頼限界は実用的であり、利用価値の高いものと思われる。

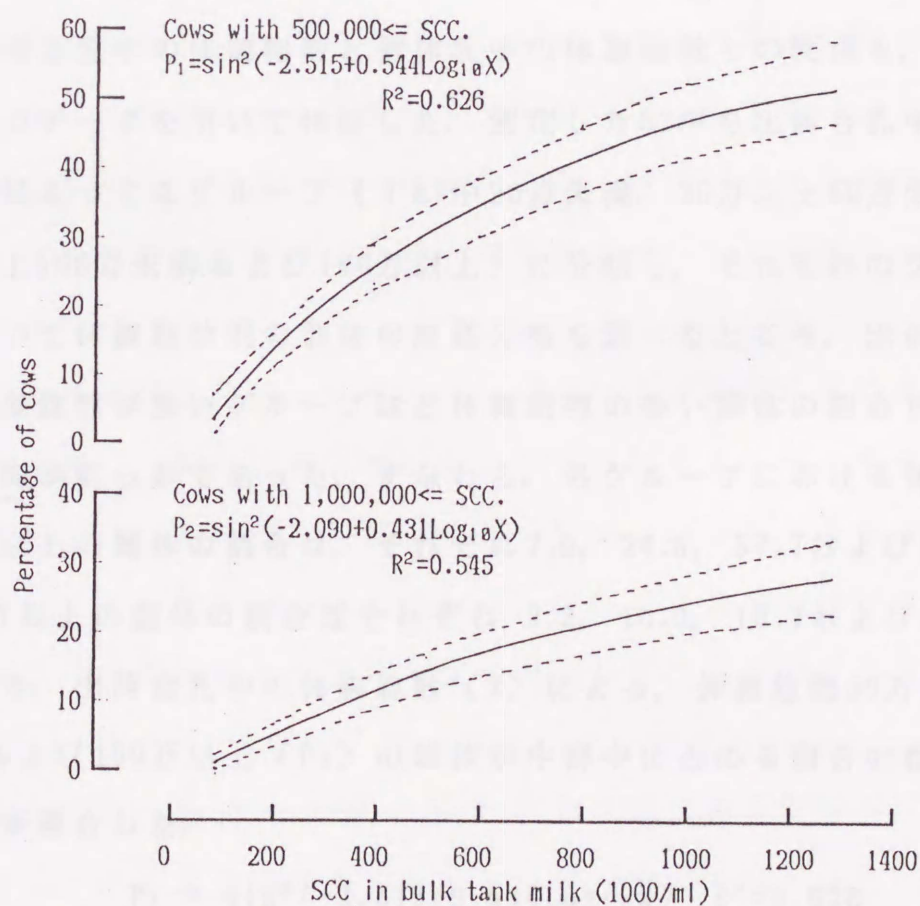


Fig.2. Relationships between SCC in bulk tank milk and the proportion of cows of which SCC are equal to and more than 500,000 (P_1) or 1,000,000 (P_2) per ml to total number of cows in a herd. Dotted line; Confidence limits at 95%.

Table 3. Estimation for the proportion (%) of cows of which somatic cell counts (SCC) in 1 ml of individual cows' milk are equal to or more than 500,000 (P_1) or 1,000,000 (P_2) to total cows in a herd relating to SCC in bulk tank milk.

SCC in bulk tank milk (1000/ml)	P_1	P_2
100	4.2 (1.9- 7.1)	0.4 (0.1- 1.5)
200	12.9 (10.3-15.6)	3.7 (2.4- 5.3)
300	20.0 (17.4-22.8)	7.1 (6.1- 8.7)
400	25.7 (23.0-28.6)	10.1 (8.3-12.0)
500	30.4 (27.3-33.7)	12.8 (10.6-15.0)
600	34.4 (30.8-38.2)	15.1 (12.6-17.8)
800	41.1 (36.5-45.7)	19.2 (15.8-22.7)
1000	46.3 (41.0-51.7)	22.5 (18.4-26.8)
1300	50.5 (46.2-58.8)	26.7 (21.6-32.3)

In parentheses : Confidence limits at 95%.

小括

出荷合乳中の体細胞数と個体乳中の体細胞数との関係を、一般酪農家のデータを用いて検討した。測定した52戸を出荷合乳中の体細胞数によって4グループ（1ml中20万未満，20万以上50万未満，50万以上100万未満および100万以上）に分類し，それぞれのグループについて体細胞数別の個体の度数分布を調べたところ，出荷合乳中の体細胞数が多いグループほど体細胞数の多い個体の割合が増加する傾向が明らかであった。すなわち，各グループにおける体細胞数50万以上の個体の割合は，それぞれ7.0，24.8，37.7および54.6%で，100万以上の個体の割合はそれぞれ2.2，10.0，16.7および35.3%であった。出荷合乳中の体細胞数（ X ）による，体細胞数50万以上（ P_1 ）および100万以上（ P_2 ）の個体が牛群中に占める割合の推定には，次式が適合した。

$$P_1 = \sin^2(-2.515 + 0.544 \log_{10} X) \quad R^2 = 0.626$$

$$P_2 = \sin^2(-2.090 + 0.431 \log_{10} X) \quad R^2 = 0.545$$

第2節 産次，泌乳時期および季節が個体乳中体細胞数の変動に 及ぼす影響

緒言

個体乳中の体細胞数は，その個体が乳房炎に罹患しているかどうかを示す一つの指標であり，現在までに，乳用牛群改良検定事業などによって個体乳の定期的な検査が行われるようになってきた。この検査において，頻繁に異常値を示す個体は，乳房炎に罹患している疑いがもたれるため，それらの個体は，より詳細な検査を行い，その結果によって，治療を行うなり，あるいは淘汰の対象とするなどの対応が求められている。しかしながら，個体乳中の体細胞数は，いくつかの要因によって影響を受けるため，これに基づく判定が困難な場合がある。すなわち，体細胞数は，産次，泌乳時期などのような個体の状態によって，あるいは季節などの飼育環境によって変動するためである。

産次による変動についてBLACKBURN⁴⁾は，1泌乳期を通じた体細胞数の平均値は，産次が進むにしたがって増加することを報告しており，またいくつかの報告^{7, 61, 62, 89, 95)}においても，このことが確認されている。また，DUIRSとMACMILLAN¹⁸⁾は，産次の進行にともなう個体乳中体細胞数の増加が，感染機会の増加と関連することを示している。また，泌乳時期による変動については，WAITEとBLACKBURN¹⁰⁷⁾およびCULLEN¹²⁾の報告があり，体細胞数は泌乳開始後1週間以内は多く，泌乳最盛期に最少となった後，泌乳末期に向かって漸増すると報じている。季節による変動については，夏季^{7, 74, 96, 108)}

または舎飼い期^{77,98)}に増加するという報告がある反面、季節にともなう変動は明瞭に認められないとする報告³⁸⁾もある。一方、産次、泌乳時期および季節などの要因は、体細胞数の変動に対して総合的に影響を及ぼすはずであるにもかかわらず、これらの要因を分離して検討した報告は少ない。この点に関して、KENNEDYら⁶¹⁾およびEMANUELSONとPERSSON^{24,25)}は、各要因の影響の程度を分散分析によって評価しており、体細胞数の変動に対しては、個体差がもっとも大きく関与するが、産次、泌乳時期および季節のいずれの要因も有意に影響を及ぼすことを示している。しかしながら、体細胞数の変動に対してどの要因がもっとも大きく関与しているかを示す各要因の相対的重要度にまで言及した報告はほとんどない。

このように、産次、泌乳時期および季節が個体乳中の体細胞数の変動になんらかの影響を及ぼすことが報告されてはいるが、各要因が体細胞数の変動に関与する程度については、充分明らかにされていない。また、個体乳中体細胞数の測定結果により乳房炎の状況を把握する上で、産次、泌乳時期および季節などの要因によって体細胞数が変動する場合には、異なる条件下の体細胞数を同様に比較することは妥当でないため、条件ごとの平均値を算定し、それに基づき体細胞数の多寡を判定する必要があるが、このような点から検討した報告はみられない。さらに、季節の影響は、わが国の北海道などの寒冷地と九州などの温暖地のように、夏季および冬季の気候が大きく異なる地域間であっても、同様の影響を及ぼすかどうかという問題も解明されていない。

そこで、本章においては、産次、泌乳時期および季節といった要因がそれぞれ単独で体細胞数の変動に及ぼす影響について、各要因

の相対的重要度, および各要因のある条件下における体細胞数の平均値を明らかにするために, 北海道地区および九州地区における乳用牛群改良事業の検定成績を用いて解析を行った。

材料および方法

解析に用いたデータは, 北海道地区は1986年1月～12月の北海道常呂郡訓子府町, および九州地区は1988年4月～89年1月の福岡県糸島郡において得られた乳用牛群改良事業の検定成績として, 解析は, 数量化理論1類によって行った。本解析方法を用いた理由は, 体細胞数に影響を及ぼす要因として取り上げた産次, 泌乳時期および季節は, 質的な要因として取り上げるべき性質のものであり, 質的な要因に基づいて量的な変数の変動を説明あるいは予測するための統計的手法である本手法による分析が適切と考えられたためである。

データは, 各月に実施された検定項目の中から, 個体乳中体細胞数と, 当該個体の産次数, 検定日における分娩後日数および検定月を1組としてとり出し, 北海道地区および九州地区についてそれぞれ1,389組および5,000組のデータを使用した。北海道地区におけるデータについては, 産次, 泌乳時期および季節の各要因のカテゴリーを以下のように設定した。産次: 1産, 2産, 3産および4産以上の4段階。泌乳時期: 検定日における分娩後日数が30日以下, 31日以上60日以下, 以降は270日まで30日ごとに区分, および271日以上の10段階。季節: 1～12月の暦月の12段階。九州地区におけるデータについては, カテゴリーを以下のように設定した。産次: 1産, 2産, 3産, 4産および5産以上の5段階。泌乳時期: 検定日にお

ける分娩後日数が 44日以下, 45日以上134日以下, 135日以上179日以下, 180日以上224日以下, 225日以上269日以下および 270日以上
の6段階. 季節: 4月から1月までの各月の10段階. これらのカテ
ゴリーの分類は, 各カテゴリーに該当するデータ組数になるべく均
等になること, および寄与率をもっとも高くなることを目途して決
定したため, 地区により異なった.

解析に際しては, 体細胞数は正規分布に近似させるために常用対
数変換を施した値を用いた. 解析結果に基づき, 各要因の偏相関係
数の大小から, 体細胞数の変動に対する各要因の影響の相対的重要
度を判定し, また, 影響が有意に認められた要因については, 各カ
テゴリーに付与されるカテゴリー数量により, その要因の各条件下
における体細胞数の平均値を推定した.

結果および考察

北海道および九州地区における解析結果を, それぞれ表4および
表5に示した. それぞれの寄与率から, 体細胞数の全変動のうち産
次, 泌乳時期および季節により説明される部分は, 北海道および九
州地区においてそれぞれ13.6%および13.0%であることが示された.
検討した要因以外による変動は, KENNEDYら⁶¹⁾およびEMANUELSONと
PERSSON^{24, 25)}が指摘しているように, おもに個体差によると考えら
れた. また, 北海道および九州地区における体細胞数の常用対数変
換値の平均値を示す定数項は, それぞれ5.021 および 5.112であり,
これらの値はそれぞれ1 ml当り10.5万および12.9万に相当した. こ
のように, 比較的少ない水準における体細胞数の変動を上述の要因
で説明したことも, 寄与率が充分大きくなかった理由の一つと考え

Table 4. The result of the analysis of quantification of first type for the variation in somatic cell counts in individual dairy cows' milk. (Hokkaido region.)

Independent variable	Category	Number of observations ¹⁾	Category score ²⁾	Partial correlation coefficient
Number of lactation	1st	356	-0.269	0.338 ** ³⁾
	2nd	346	-0.017	
	3rd	344	0.103	
	4th and more	343	0.193	
Days after calving	- 30	125	-0.002	0.150 **
	31- 60	131	-0.106	
	61- 90	139	-0.100	
	91-120	137	-0.036	
	121-150	135	-0.039	
	151-180	141	0.013	
	181-210	139	0.004	
	211-240	139	0.004	
	241-270	140	0.095	
271-	163	0.136		
Month of test	Jan.	119	-0.042	0.100 **
	Feb.	115	-0.056	
	Mar.	115	-0.007	
	Apr.	115	-0.011	
	May	116	-0.042	
	Jun.	103	-0.006	
	Jul.	102	0.116	
	Aug.	105	-0.030	
	Sep.	122	-0.027	
	Oct.	133	-0.013	
	Nov.	127	0.062	
	Dec.	117	0.064	
Constant term			5.021	
R ²			0.136	

1) Total number of observation: 1389

2) Analysis was conducted with log₁₀ trasformed somatic cell counts.

3) **; p<0.01.

Table 5. The result of the analysis of quantification of first type for variation in somatic cell counts in individual dairy cows' milk. (Kyushu region.)

Independent variable	Category	Number of observations ¹⁾	Category score ²⁾	Partial correlation coefficient
Number of lactation	1st	1711	-0.101	0.198 ** ³⁾
	2nd	1118	-0.045	
	3rd	861	-0.005	
	4th	533	0.139	
	5th and more	777	0.198	
Days after calving	- 44	637	0.019	0.062 ^{NS}
	45-134	1421	-0.047	
	135-179	657	-0.021	
	180-224	626	0.029	
	225-269	634	0.023	
Month of test	270-	1025	0.035	0.208 **
	Apr.	115	-0.199	
	May	116	0.060	
	Jun.	103	0.143	
	Jul.	102	0.142	
	Aug.	105	0.043	
	Sep.	122	0.020	
	Oct.	133	0.040	
	Nov.	127	-0.132	
	Dec.	117	-0.048	
Jan.		-0.070		
Constant term			5.112	
R ²			0.130	

1) Total number of observation: 5000

2) Analysis was conducted with log₁₀ trasformed somatic cell counts.

3) **: p<0.01. NS; Not significant.

られた。

北海道地区については、体細胞数の変動に対する各要因の偏相関係数は、大きな値ではなかったがいずれも有意 ($p < 0.01$) であり、各要因が体細胞数の変動に対してなんらかの関与をしていることが示された。偏相関係数の大小によって、体細胞数の変動に対する相対的重要度を推定すると、産次がもっとも大きく、泌乳時期および季節の影響は産次に比べて小さいことが示された。九州地区における季節と産次の影響は、偏相関係数の数値は大きくはなかったが有意 ($p < 0.01$) であり、両者の影響はほぼ同等の重要度を有していた。しかしながら、泌乳時期の影響は有意ではなかった。

以下に各要因が体細胞数の変動に及ぼす影響について、要因ごとに示した。

①産次の影響について。

産次については、それが進むほど体細胞数が増加する傾向が認められた。今回の検討は、産次の単独の影響をみたものであるが、この傾向は複数の要因を分離せずに検討した従来^{7, 61, 61, 89, 95)}と一致した。次に、各カテゴリーに付与されたカテゴリー数量を定数項に加えることにより、各カテゴリーの状態にある個体乳中の体細胞数を推定した。その結果は、表6のように、もっとも体細胞数が少ない1産の個体ともっとも多い4産以上または5産以上の個体の体細胞数は、北海道地区については1 ml当りそれぞれ5.7万および16.4万、また九州地区は1 ml当りそれぞれ10.3万 および20.4万と推測された。産次の進行にともなう体細胞数の増加について、DUIRSとMACMILLAN¹⁸⁾は、細菌感染の機会が増加するためであるとし

ている。今回の検討は細菌感染状況を把握していないため断定はできないが、4産または5産以上の個体の中には細菌感染のみられるものが多く含まれる可能性が高いことは、一般的傾向として認められている。この点については、今後、炎症の程度を示す体細胞数以外の指標についても検討し、明らかにする必要があると考えられた。

上述のように、産次によって体細胞数が異なるため、例えば、初産牛については炎症が発生した場合であっても、産次の進んだ個体ほど体細胞数が高い値にならないというようなことが起こる可能性がある。そのため正確な判定に際しては、ここで示されたカテゴリ一数量を加味して、各産次ごとの平均値を示す必要があると考えられた。

Table 6. Somatic cell counts (SCC) in individual dairy cows' milk by number of the calving estimated by the analysis of quantification method of first type.

Hokkaido region		Kyushu region	
Number of calving	SCC (1000/ml)	Number of calving	SCC (1000/ml)
1st	56.5	1st	102.6
2nd	100.9	2nd	116.7
3rd	133.0	3rd	127.9
4th and more	163.7	4th	178.2
		5th and more	204.2
Geometric mean in this region: 105.0 (1000/ml)		Geometric mean in this region: 129.4 (1000/ml).	

② 泌乳時期の影響について。

体細胞数の変動に対する泌乳時期の影響の相対的重要度は、北海道においては、表4のように、産次に次ぐものであったが産次の影

響の重要度と比較して小さいものであり、また九州地区においては、その影響は有意でなかった。北海道で認められた泌乳時期による変動の傾向は、泌乳最盛期に最少となり、泌乳末期に向かって増加するというものであり、従来の報告^{13, 107)}と一致するものであったが、前述のように泌乳時期の影響の重要度は大きなものでなかったこと、および従来の報告において認められている傾向は、泌乳時期の単独での影響によるのではなくいくつかの要因が複合して関与した可能性も考えられることから、泌乳時期の単独の影響は小さいとみなしてよいと思われた。

③ 季節の影響について。

季節の影響については、地区による差異が認められた。すなわち、北海道においては、表4のように、その影響の相対的重要度は、他の2要因より小さいのに対して、九州地区におけるその影響は、表5のように産次とほぼ同様の重要度であった。九州地区においては、体細胞数は夏季に多く、冬季に少なかった。九州地区におけるこの変動の傾向は、各要因の影響を分離せずに検討した従来の報告^{7, 74, 96, 108)}と一致するものであった。この原因については、九州地区の夏季における高温・多湿の気象環境の影響によって、乳牛の生理機能に失調が生じ、病原微生物の乳房内感染に対する抵抗性が低減することが考えられる。しかしながら、高温は乳汁中の体細胞数を増加させる直接的な原因ではないという報告^{10, 84, 86)}もあり、また著者ら¹⁾は、夏季の高温・多湿時においても、正常に管理されている健康な乳牛であれば、気象環境の変化が原因となって体細胞数の増加を引き起こす例はごく少ないことを示している。これらの

ことから、夏季に体細胞数が増加する原因は、乳牛に対する気象環境の直接的な影響もさることながら、乳牛の周囲に存在する病原微生物の侵入や増殖と関係する種々の原因が総合して影響を及ぼすためとすることが妥当と考えられた。

季節の影響を考慮した個体乳中体細胞数の平均値は、表7に示したように、体細胞数をもっとも少なかった1月ともっとも多かった6月において、それぞれ9.5万および18.0万という差があることが示された。

Table 7. Somatic cell counts (SCC) in individual dairy cows' milk by the test of month estimated by the analysis of quantification method of first type. (Kyushu region)

Month of test	SCC (1000/ml)
Apr.	81.8
May	148.6
Jun.	179.9
Jul.	179.5
Aug.	142.9
Sep.	135.5
Oct.	141.9
Nov.	95.5
Dec.	115.9
Jan.	110.2

Geometric mean in this region: 129.4 (1000/ml)

以上の結果から、体細胞数は一般に産次が進行するほど増加し、また九州地区のような西南暖地においては、春季から夏季に多く、冬季に少ない傾向があることが示された。また、泌乳時期による変動は、あまり考慮する必要がないと考えられた。産次および季節の

影響を加味して体細胞数の検査結果を解釈する場合には、表6および表7のような各条件による平均値の算定を行うことによって、より適切な評価が可能となることが示唆された。定期的に測定される個体乳中体細胞数を用いて、乳房炎の状況を把握する際には、各地域の条件に応じた体細胞数平均値の算定を行う必要があるが、それには、本章において検討した方法が有用と考えられた。

小括

産次、泌乳時期および季節が、個体乳中の体細胞数に及ぼす影響を知るために、北海道および九州におけるデータについて数量化理論1類による解析を行った。

体細胞数は産次が進行するほど増加する傾向が認められ、初産牛および4産以上（北海道）または初産牛および5産以上（九州）の個体乳中体細胞数の平均値は、1ml当り前者がそれぞれ5.6万および16.4万、後者が10.3万および20.4万であった。泌乳時期の影響は明瞭でなかったが、季節の影響は北海道では明らかでなく、九州においては春季から夏季に多く、冬季に少ない傾向が認められた。九州において体細胞数がもっとも少ない1月ともっとも多い6月の平均値は、それぞれ9.5万および18.0万であった。本節における成績は、寄与率の充分大きいものではなかったが、個体乳中体細胞数の検査結果によって乳房炎の罹患状況を把握する際には、各地域ごとに本節と同様の解析を行い、産次、季節などが異なる場合についても平均値を推定できるようにすることが実用上有用となることが示唆された。

第3節

搾乳時の後しぼりの中止が個体乳中体細胞数に及ぼす影響

緒言

搾乳の失宜は乳房炎の誘因となることが知られており、適正な方法で搾乳することが乳房炎防除の上で重要であるといわれている^{42, 58)}。SASTRYら⁹²⁾は、ミルカーの点検および部品の交換の頻度が適切でない場合に、乳房炎が多発することを報告しており、MOXLEYら⁷¹⁾は、搾乳時の乳房清拭、ティートカップの洗浄状態、搾乳後の乳頭の消毒などの搾乳時の衛生状態が乳汁中の体細胞数の変動に影響を及ぼすことを示している。また、ICHIKAWAら⁵²⁾は、ミルカー使用時の真空度および拍動波形が異常になると、乳汁中の体細胞数が増加することを報告している。このように、搾乳方法に関わる諸点が適切であるかどうかによって、乳房炎の発生状況あるいは乳汁中の体細胞数は影響を受けるとされている。

搾乳の終了間際にみられるティートカップのせりあがり現象は、乳腺槽内には残乳がありながら乳頭は過搾乳の状態となるため、乳房炎を誘発する可能性があり、これを回避するように搾乳しなければならぬと考えられている。そのための方法として、機械による後しぼりが行われており、また、ミルカーを外した後の手による後しぼりが行われる場合もある。しかしながら、後しぼり実施の是非については、従来からいくつかの問題点が指摘されている。すなわち、後しぼりを行うときは、搾乳作業能率の低下をはじめ、後しぼり時の機械的な刺激による乳房への悪影響、乳の逆流による細菌感染の機会の増加、あるいは後しぼり時の手による乳頭の汚染が懸念

されている。一方、後しぼりを省略した場合には、牛によって程度は異なるが乳房内に乳が残るため、泌乳の持続性の低下にともなう乳量の減少、乳成分率、とくに乳脂肪率の低下および乳房炎の増加が懸念されている。

GOFFとSCHMIDT³⁹⁾は、18頭の乳牛を用いた反転試験法による実験の結果、後しぼりを行わない場合でも乳量、乳脂肪率の低下はみられず、乳汁中の白血球数およびカリフォルニア乳房炎検査の反応にも差はなかったと報告している。また、O'SHEA⁸⁰⁾も、機械による後しぼりを行う場合と行わない場合の乳量および乳脂肪率等の乳成分には差はみられず、乳房炎の検査成績にも差はなかったとしている。しかしながら、後しぼりを行わない牛群は行った牛群よりも乳量が減少し、またウィスコンシン乳房炎検査（以下WMT）の陽性率が高くなったというSMITHら¹⁰⁰⁾の報告もある。また、EBENDORFFら^{19, 20)}は、機械による後しぼりを省略した場合の分房に対する影響を検討し、乳房炎の罹患率、乳量、および乳脂肪量に対する影響は産次によって異なることを示している。

このように後しぼりの省略の影響については異なる知見が報告されており、その是非については一致した見解が得られているとは言えない。そこで、後しぼりの中止が乳房炎の発生・悪化に及ぼす影響を明らかにするために、機械による後しぼりと手による後しぼりを行っている牛群について、両者を同時に中止し、その際の乳汁中の体細胞数の変化を検討した。

材料および方法

供試牛および処理：

農林水産省畜産試験場繋養の、乳房炎の臨床症状を呈していないホルスタイン種搾乳牛39頭を供試した。その概要は表8の通りである。搾乳はロータリーミルクングパーラーにおいて行った。1986年10月23日までは、搾乳の終了間際に機械による後しぼりを行い、ティートカップを外した後には手による後しぼりを実施していたが、その翌日の朝搾乳以降は、この両後しぼりを中止した。搾乳終了は、乳の流出速度が毎分200~300ml程度になる時点とした。

Table 8. Description of number and stage of lactation and milk yield of cows at beginning of the experiment.

		No. of lactation	Days after Calving		Milk Yield per Day(Kg)	
mean±S.D		2.0±1.2	185.9±91.1		18.42±4.96	
Distribution of cows *	1st	17	- 89	9	-14.9	9
	2nd	13	90-179	9	15.0-19.9	19
	3rd	2	180-269	13	20.0-24.9	6
	4th	6	270-	8	25.0-29.9	2
	5th	1			30.0-	3

* Total number of cows: 39

測定項目および測定方法:

個体乳中の体細胞数、乳量および乳成分率について測定した。

体細胞数の測定は、本章の第1節と同じ方法で行った。乳量はロータリーミルクングパーラーに付設の自動計量装置で測定した。乳成分率のうち、乳脂肪率、乳蛋白質率および乳糖率は赤外線ミルク分析計（Foss Electric Co.Ltd.製、ミルコスキャン203B）によって、全乳固形分率（以下TMS率）は全乳固形分率測定機（アンリ

ツ(備製, TMSチェッカー)を用いて測定し, 無脂乳固形分率(以下SNF率)はTMS率から乳脂肪率を差し引いて求めた。

サンプルの採取は いずれも 朝搾乳時とし, 後しぼりの 中止日(1986年10月24日)を基準として, 中止前4, 3, 2および1日と中止後0(中止日), 1, 2, 3, 7, 14, 35, 42, 49および56日に行った。ただし体細胞数は中止前2, 1日については測定できなかった。

データの解析方法:

1)体細胞数について後しぼり中止前と中止後で差があるかどうかを検討するために, 常用対数に変換した値を用いて, 中止前における平均値(以下対照値)と各測定日における測定値について, 個体を対応させる平均値の差の検定を行った。

2)中止後の体細胞数の増加量に影響をおよぼす要因を検討するために数量化理論1類による解析を試みた。すなわち, 外的基準を体細胞数の対照値と測定値(ただし中止後0, 1および3日はこの3日間の平均値)との差とし, 内的基準を産次数, 泌乳時期, 乳量および体細胞数の対照値水準として, 各要因が中止後の体細胞数増加に及ぼす影響を検討した。各内的基準のカテゴリーは次のように分類した。産次数: 初産, 2産および3産以上の3段階。泌乳時期: 後しぼり中止時の分娩後日数で分類し, 90日未満, 90日以上180日未満, 180日以上270日未満 および270日以上の4段階。乳量: 各産次ごとの泌乳期最高朝乳量の推定値で分類し, 低(初産13kg未満, 2産次15kg未満, 3産次以上18kg未満), 中(初産13kg以上15kg未満, 2産次15kg以上20kg未満, 3産次以上18kg以上22kg未満)およ

び高（初産15Kg以上，2産次20Kg以上，3産次以上22Kg以上）の3段階．体細胞数の対照値水準：1ml中10万未満，10万以上20万未満，20万以上30万未満および30万以上の4段階．

3)後しぼりの中止が乳量におよぼす影響を検討するために，後しぼり中止時に分娩後5ヶ月を過ぎており，かつ試験終了まで通常の泌乳を続けた個体（15頭）について，中止前約2ヶ月の乳量記録からその後も無処置であったときの泌乳時期の推移にともなう生理的な乳量減衰を推定し，その推定値と中止後の朝搾乳時乳量の実測値との差について対応のある平均値の差の検定を行った．

4)乳成分の変化を検討するために，まず中止後3日までは，全頭のデータから対照値と各測定値との対応のある平均値の差の検定を行った．また中止後7日以降の影響を調べるため，季節および泌乳時期の影響が概ね同一の1年前の農林水産省畜産試験場のデータを用いて検討した．すなわち，まず本実験のデータについて泌乳時期による乳成分の変化が比較的安定しているとみられる分娩後3～7ヶ月の個体（17頭）を選び出し，中止後7日以降のデータを用いて中止後の日数（週）と各乳成分との関係に関して回帰分析を行った．

次に，1985年の同一時期（10月31日～12月19日）における分娩後3～7ヶ月の個体（18頭）のデータを用いて同様に回帰分析を行い，両者の回帰係数の差の検定を行った．

結果および考察

後しぼり中止にともなう乳汁中体細胞数の変化：

後しぼりの中止にともなう体細胞数の幾何平均値の変化を図3に示した．図中には，中止前の値として中止前4および3日の平均値

を、また中止直後の値として中止後0、1および3日の平均値を示した。中止後2日については測定機の不調により異常な測定値がみられたので除外した。以下の検討においても中止後2日の体細胞数は用いていない。

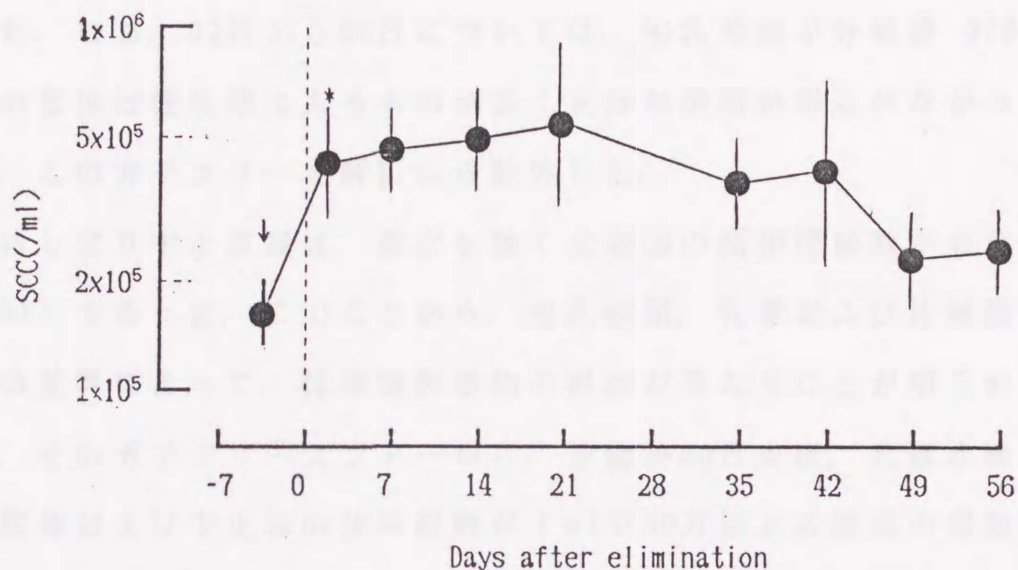


Fig.3. Variation in geometric mean of somatic cell counts(SCC) in milk following stripping elimination.

Vertical bars indicate standard deviation.

↓; Mean at 4 and 3 days prior to elimination.

*; Mean during 3 days subsequent to elimination, except for 2 day.

後しぼり中止前の個体乳中の体細胞数は、1 ml中16万であったが、中止後は40万にまで増加した。そして、21日までは1 ml中約40万から50万で推移したが、21日以降は減少する傾向にあった。各測定日の平均値と対照値との差の検定の結果、42日までは中止前より有意(いずれも $p < 0.01$)に高いが、49日以降は有意差は認められなくなった。このことから、平均値でみる限りにおいては後しぼりの中止によって乳房は影響を受け体細胞数が増加するが、約3週間で回復し始め、約7週間で後しぼり中止の影響はなくなるとみてよいと思われた。

つぎに、個体乳中の体細胞数の変化を産次、泌乳時期、乳量水準および対照値体細胞数水準別に調べたところ図4のようになった。また、これらの変化に対して各要因がどのように関与しているかを検討するために行った数量化理論1類による解析の結果を表9に示した。なお、42日から56日については、泌乳時期が分娩後270日以上個体は乾乳期に入るものが多く、十分な例数が得られなかったため、このカテゴリーを解析から除外した。

後しぼり中止直後は、産次を除く全要因の偏相関係数が有意 ($p < 0.01$) であった。このことから、泌乳時期、乳量および体細胞数水準の差異によって、体細胞数増加の程度が異なることが明らかであり、そのカテゴリースコアから、分娩後90日未満、乳量水準の高い個体および中止前の体細胞数が1 ml中30万以上の個体の増加が著しいと判断された。中止後7日以降はおおむね3産以上の個体および1 ml中30万以上の個体の増加量が多い傾向があり、42日以降はとくに3産以上の個体および中止前の体細胞数が1 ml中10万未満の個体の増加量が多いことが示された。

後しぼり中止後に起こる変化としてまず残乳の増加が予想され、それが体細胞数増加の原因になるのではないかと考えられる。本実験では、前述のように乳汁の流出速度が毎分200~300 ml程度に低下した時点でティートカップを除去し、残乳量の測定は行っていないので、その点は明らかでないが、SMITHら¹⁰⁰⁾は後しぼりをせず約0.7 kgの乳を残すとWMT反応の陽性率が高まったとしている。またSCHALMとMEAD⁹³⁾は実験的に残乳を多くした際の乳汁中の体細胞数の変化を調べ、細菌に感染している分房では体細胞数の顕著な増加がみられたが、非感染分房では変化がなかったとしている。さ

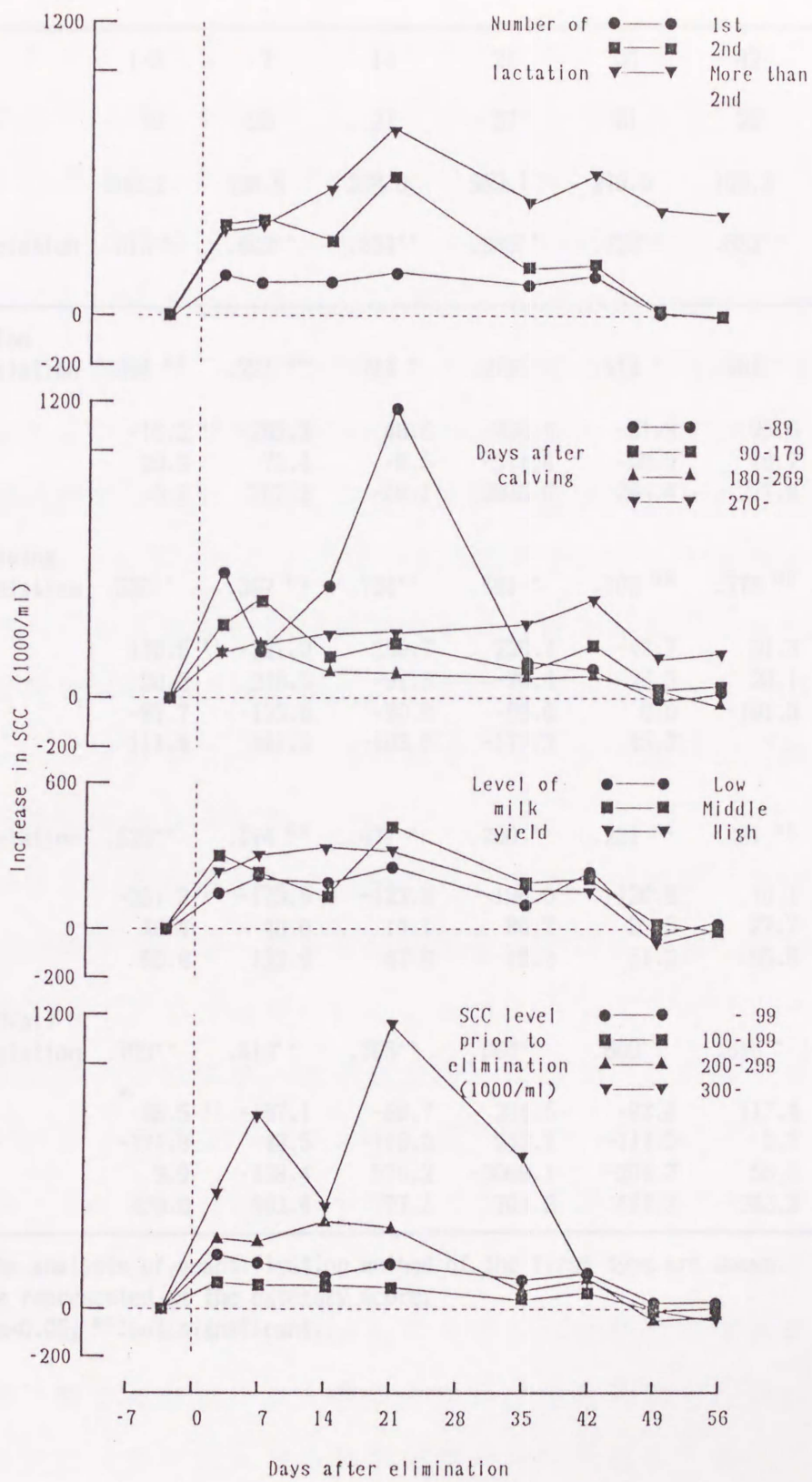


Fig.4. Increase in somatic cell counts (SCC) in individual cows' milk following stripping elimination relating to the number of calving, days after calving lactation, milk yield and level of SCC prior to the elimination of stripping.

Table 9. Quantification of increase in SCC following stripping elimination.

Days after elimination	1-3	7	14	21	35	42	49	56
No. of cows	39	28	27	27	31	22	23	23
Constant term(1000/ml)	309.3	438.5	288.8	559.1	249.0	169.3	17.9	42.7
Multiple correlation coefficient	.813**	.603**	.854**	.980**	.728**	.652**	.788**	.821**
No. of Lactation								
Partial correlation coefficient	.094 ^{NS}	.291 ^{NS}	.714**	.970**	.412 *	.481 *	.771**	.765**
1st	-16.2 ¹⁾	-263.2	48.6	-494.4	-81.9	-93.6	-98.4	-65.5
2nd	20.6	72.4	-6.5	-511.4	-50.9	10.7	-34.5	-38.8
3rd and more	0.8	262.3	-59.1	2976.6	284.4	277.8	464.5	356.5
Days after calving								
Partial correlation coefficient	.535**	.362 ^{NS}	.754**	.501 *	.108 ^{NS}	.278 ^{NS}	.071 ^{NS}	.464 ^{NS}
- 89	135.5 ¹⁾	-321.9	259.7	236.7	-43.7	31.3	11.3	71.0
90-179	90.2	248.9	-91.8	-76.4	26.3	28.1	-3.3	-28.4
180-269	-87.7	-123.9	-80.8	-66.0	0.0	-101.9	-17.3	-96.5
270-	-111.4	341.6	-103.5	-177.3	45.3	-	-	-
Milk Yield								
Partial correlation coefficient	.520**	.174 ^{NS}	.477 *	.200 ^{NS}	.231 ^{NS}	.321 ^{NS}	.250 ^{NS}	.373 ^{NS}
Low	-201.3 ¹⁾	-179.5	-122.8	-196.0	-120.8	70.1	36.9	-2.7
Middle	49.4	-40.6	14.1	86.7	33.5	-27.7	-7.7	39.0
High	55.4	123.6	47.8	15.1	51.3	-95.6	-63.9	-81.4
SCC Level(1000/ml)								
Partial correlation coefficient	.709**	.419**	.795**	.960**	.600**	.618**	.532 *	.568**
- 99	-48.5 ¹⁾	-157.1	-88.7	294.5	-83.1	117.4	93.5	85.0
100-199	-171.9	-48.5	-115.2	243.7	-111.0	2.7	1.3	-31.9
200-299	9.9	-438.4	376.2	-3069.1	-203.7	50.5	-193.5	-106.1
300-	339.6	492.4	27.1	701.8	474.7	-363.3	-136.6	-143.7

Results of the analysis of quantification method of the first type are shown.

¹⁾ Values are represented as the category score.

** : p < 0.01, * : p < 0.05, ^{NS} : not significant.

らに市川ら⁴⁸⁾は、不完全搾乳時には通常通り搾乳した場合に比べ臨床型乳房炎の治療効果が上がらなかったと報告しており、これらはいずれも、残乳が増加したことによって乳房内に存在する細菌の増殖が容易になったためと考えられている。

本実験では感染菌種や細菌数についての測定は行っていないが、すべての分房に細菌感染が起こっているとは考えにくいため、後しぼり中止の影響は、残乳の増加とそのために起こる細菌増殖の加速だけであるとすることはできないと推測された。このことはミルクカーの諸仕様変更時に一時的に体細胞数が増加したというICHIKAWAら⁴⁹⁾の報告にもみられるように、後しぼり中止という通常と異なる搾乳操作が行われたための刺激が大きく影響したためとも考えられた。また本研究では乳の流出速度が一定になった時点でミルクカーを外したものの、分房によっては短時間ではあっても過搾乳状態になっていた可能性も考えられた。

約49日で中止前の水準に回復したことは、牛が新しい操作に馴れたためと推測された。なお季節の影響は本研究の期間(10月下旬から12月下旬)では大きなものではないとみてよいと考えられた。

中止直後の増加量が、泌乳初期のものあるいは乳量水準の高いもので大きかったのは、このような個体では、乳腺の活動がとくに活発になっているため後しぼり中止により乳房が受けるダメージが大きくなることによると考えられた。しかしながら、中止後21または35日以降は、泌乳時期または乳量水準が体細胞数の増加量におよぼす影響は認められなくなったことから、泌乳時期が初期の個体または乳量水準の高い個体でも比較的速やかに回復の方向に向かうものと考えられた。

また、体細胞数水準が高い個体の増加量が大きい傾向がみられたことは、体細胞数が多い個体ほど乳房内の炎症の程度が悪化している可能性があり、後しぼり中止が刺激となって、さらにその程度が悪化したためと推測された。産次の進んだ個体ほど回復が遅いことも示されたが、これはPAAPEら⁸⁶⁾が指摘しているように、産次の進行にともない乳房の抵抗力が減退することによるものと思われた。EBENDORFFら^{19,20)}は後しぼりを中止した分房における乳房炎の発生率は、初産牛については対照分房と有意な差はみられなかったが2産次の個体では対照分房に比して有意に高かったと報告しており、産次によって後しぼり省略の影響が異なる点で、本実験は類似する知見を示したといえる。また42日以降は体細胞数が1 ml中10万未満の個体の増加量が多かったが、これは体細胞数の水準そのものが低い範囲の変動であったので、あまり問題はないと考えられた。

以上のように、後しぼり中止にともなう体細胞数の増加量には個体により差異が認められ、全期間を通して体細胞数水準の低い個体の増加量は小さく、また初産の個体の増加量も小さい傾向にあった。泌乳時期および乳量水準の影響は中止直後には認められ、泌乳時期が初期の個体および乳量水準が高い個体の増加量が大きかったが、2～3週間以降はこれらの影響は認められなくなった。これらのことから、後しぼり中止によって体細胞数が大きく増加し回復が遅い個体は、体細胞数水準の高い個体および産次の進んだ個体で、逆に体細胞数水準が低い個体および初産牛は大きな影響を受けないものと考えられた。

後しぼり中止にともなう乳量，乳成分の変化：

後しぼりの中止にともなう乳量の変化を図5に示した。乳量は，後しぼり中止後には，中止前のデータから算出した推定値より若干

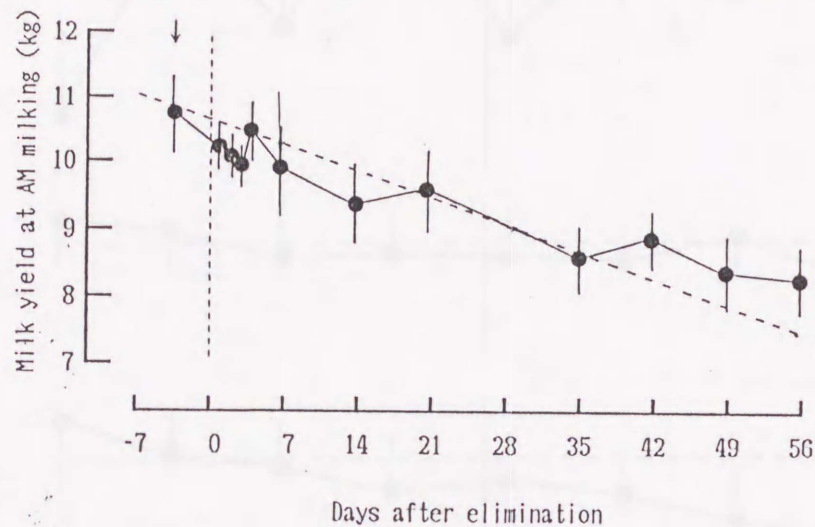


Fig.5. Variation in milk yield in AM milking following stripping elimination. Vertical bars indicate standard deviation. ↓; Mean at 4 and 3 days prior to elimination. Dotted line; Milk yield estimated from data during 2 months prior to the elimination of stripping.

少なくなったが，21日以降は推定値と同じかそれを上回るようになった。全期間を通じてみると推定値との間には有意差は認められなかった。この結果はGOFFとSCHMIDT³⁹⁾およびO'SHEA⁸⁰⁾の報告とほぼ一致している。中止後に若干の乳量の減少がみられたのは残乳が増加することによると推測されるが，乳量の減少が持続せず次第に回復する傾向を示したのは，新しい搾乳操作に乳牛が順応したためと考えられた。すなわち後しぼり時には新たな搾乳刺激が加わると考えられるが，後しぼり中止後それに順応した場合は，通常通りに排出されるようになると推測された。

後しぼり中止前後4日間ずつの乳成分率の変化を図6，乳成分量の変化を図7に示した。後しぼり中止直後における乳成分率および乳成分量の変化は，乳糖率を除いては全般に，中止前に比べて大き

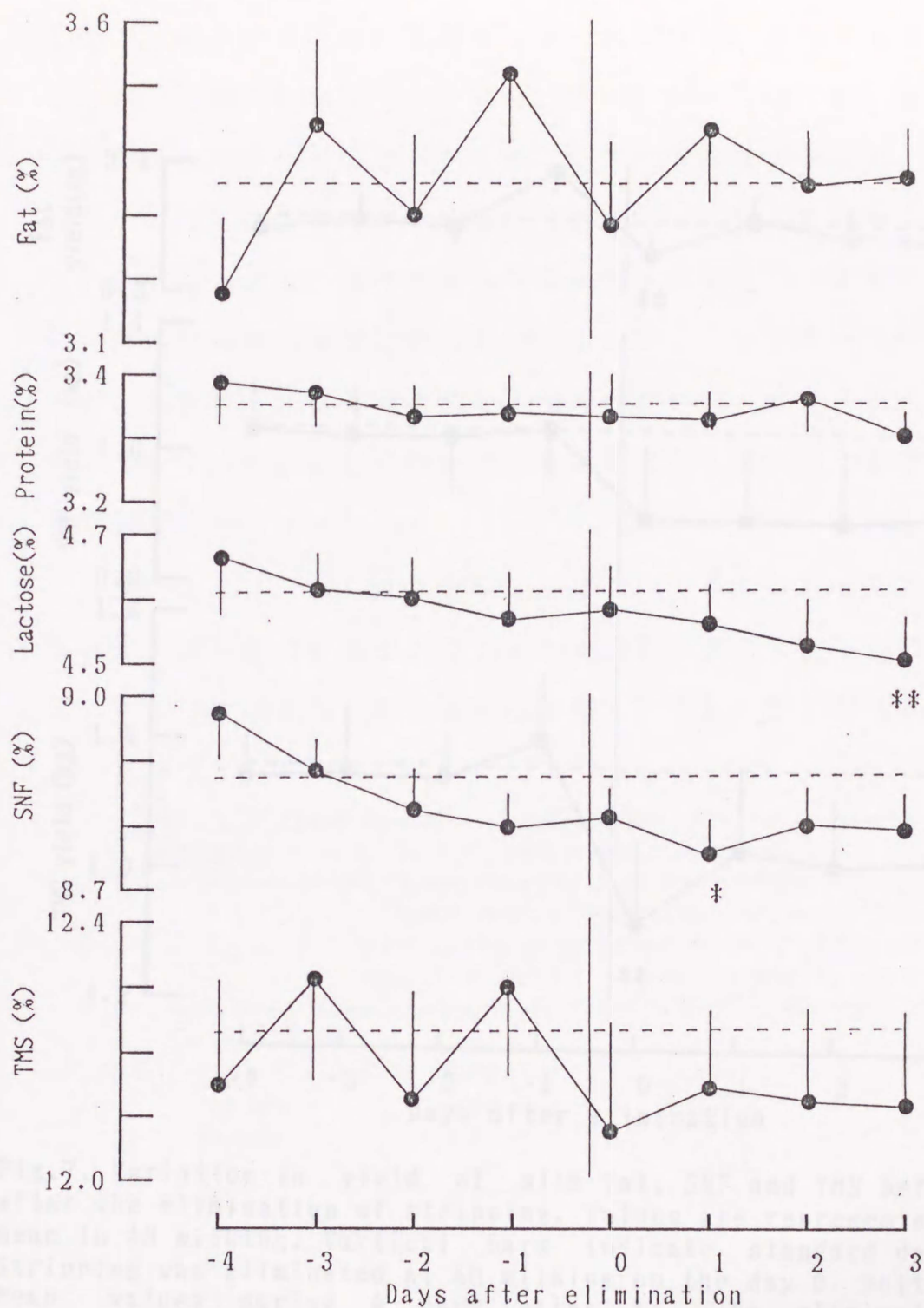


Fig.6. Variation in milk composition before and after the elimination of stripping. Values are represented as the mean in AM milking. Vertical bars indicate standard deviation. Stripping was eliminated at AM milking on the day 0. Dotted lines; Mean values during 4 days prior to the elimination. *,**; Differences from the mean value during 4 days prior to the elimination are significant at 5% and 1% level, respectively.

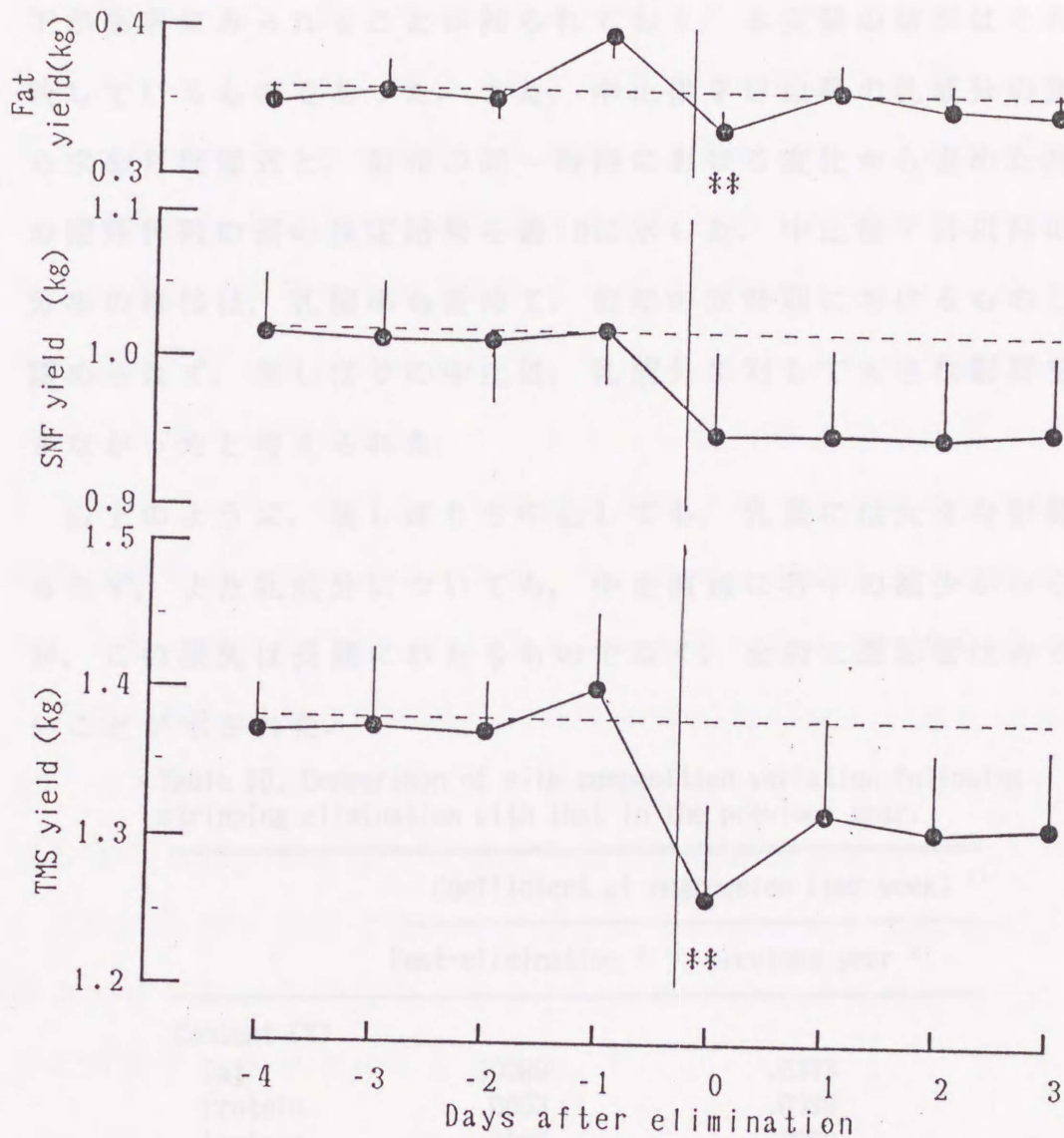


Fig.7. Variation in yield of milk fat, SNF and TMS before and after the elimination of stripping. Values are represented as the mean in AM milking. Vertical bars indicate standard deviation. Stripping was eliminated at AM milking on the day 0. Dotted lines; Mean values during 4 days prior to the elimination. **; Differences from the mean value during 4 days prior to the elimination are significant at 1% level.

く低下，減少するとはいえなかった。乳糖率は，漸減する傾向にあったが，乳腺が刺激を受けた場合，乳成分のうちとくに乳糖率の低下が顕著にみられることが知られており，本実験の結果はそれを反映しているものであった。また，中止後7日以降の乳成分の変化から求めた回帰式と，前年の同一時期における変化から求めた回帰式の回帰係数の差の検定結果を表10に示した。中止後7日以降の乳成分率の推移は，乳糖率も含めて，前年の同時期におけるものと差は認められず，後しぼりの中止は，乳成分に対して大きな影響を及ぼさなかったと考えられた。

以上のように，後しぼりを中止しても，乳量には大きな影響はみられず，また乳成分についても，中止直後に若干の減少がみられるが，この損失は長期にわたるものでなく，全般に悪影響はみられないことが示された。

Table 10. Comparison of milk composition variation following stripping elimination with that in the previous year.

	Coefficient of regression (per week) ¹⁾	
	Post-elimination ²⁾	previous year ³⁾
Content (%)		
Fat	.0089	.0343
Protein	.0053	.0036
Lactose	-.0027	-.0006
SNF	.0023	.0046
TMS	.0112	.0340
Yield (kg)		
Fat	-.0043	-.0023
SNF	-.0157	-.0173
TMS	-.0220	-.0175

An analysis (t-test) shows that the difference of coefficient of regression at post-elimination from that in the previous year are not significant about all items.

1) Since 7 days after elimination (from Oct.31 to Dec.19).

2) From Oct.31 to Dec.19 in 1985, in the same herd.

結論：

これらの結果から、後しぼりを行っている牛群についてこれを中止した場合には、乳汁中の体細胞数は、中止前に比べて増加したが、約3週間後から減少し始め、約7週間でその影響は消失することが明らかにされた。体細胞数の増加量には個体によって差異が認められ、試験期間を通じて体細胞数水準の高い個体の増加量が大きく、産次の進んだ個体の増加量も大きい傾向が認められた。一方、初産の個体および体細胞数水準が低い個体は、増加の程度は逆に小さかった。乳量および乳成分についても大きな影響は認められなかった。以上の成績から、少なくとも影響が軽微であった初産牛または体細胞数水準の低い個体については、後しぼりは不要であると結論された。また、産次数の高い個体あるいは体細胞数水準の多い個体に関しては、後しぼりの中止直後における乳房炎の発生・悪化に充分注意する必要があるものの、その影響は長期にわたるものでないため、後しぼりを行わなくても大きな問題はないと考えられた。

また、個体の状態によって、後しぼりの中止という搾乳手法の変更の影響の現れ方が異なったことは、他の搾乳手法の変更時においても考慮するべきであると考えた。

小括

機械搾乳時における後しぼりの中止が、乳汁中体細胞数におよぼす影響を明らかにするために、手および機械による後しぼりを実施中の39頭の搾乳牛を供試して、両後しぼり中止後の体細胞数の変化を調べ、あわせて乳量および乳成分についても検討した。

後しぼり中止前の個体乳中体細胞数の平均値は、1 ml当り16万で

あったが、中止により40万にまで増加した。その後3週間までは1 ml中40万～50万の水準を持続したが、それ以降は減少傾向がみられ、7週間後には中止前との差が認められなくなった。体細胞数の変化の程度は、個体によって異なり、体細胞数水準が高い個体および産次の進んだ個体ほど、中止直後の体細胞数の増加量が大きい傾向が認められた。体細胞数の増加は、後しぼりの中止という通常と異なる搾乳操作が刺激となって牛に大きく影響したためと思われた。乳量、乳成分については、大きな影響はみられなかった。

これらのことから、少なくとも、影響が軽微であった初産牛または体細胞数の水準が低い個体については、後しぼりは不要であると考えられた。

第2章

搾乳時および搾乳後の乳房乳中 体細胞数などの経時変化について

第1節

搾乳経過中における体細胞数、電気伝導度および NAGase活性の変動

緒言

定期的な乳汁中体細胞数検査の結果、頻繁に異常値を示す個体については、当該個体の各乳房を対象として、乳房乳中の体細胞数を測定し、乳房炎に罹患している疑いのもたれる乳房を特定する必要がある。また、より正確に乳房炎の程度を把握するためには、電気伝導度、NAGase活性などの、乳房炎に関連して変化する他の乳汁性状についても同時に検査することが推奨されている。しかしながら、体細胞数を始めとするこれらの乳汁性状が、同一の乳房から採取した乳汁であっても、採取時期が異なることによって測定結果が一致しない場合には、乳房炎の状況を把握することが困難になると考えられる。

また、同一の搾乳時であっても、搾乳直前および直後に採取した乳汁について乳汁中の体細胞数および電気伝導度を調べると、それらは大きく異なることが知られている。すなわち、SMITHとSCHULTZE¹⁰¹⁾は乳汁中の体細胞数は、搾乳時の前しぼり乳に比べ後しぼり乳の方が多いいことを報告している。また、FERNANDOら^{30,32)}は、電気伝導度を中心とするいくつかの乳汁性状が、前しぼり乳と後しぼり

乳の間でどのように異なるかを調べ、*Staphylococcus aureus*などの細菌に感染している分房においては、後しぼり乳の電気伝導度は前しぼり乳のそれに比べ大きく上昇するが、細菌感染状況が認められない分房については両者間に差が認められないことを示している。

搾乳の前後においてこのような差異がみられるのは、搾乳の経過にともないこれらの性状が変化するためと考えられる。搾乳経過中における乳汁諸性状の変化について、NOTSUKIら⁷⁹⁾およびYAMAMOTOら¹¹¹⁾は、乳汁の電気伝導度および乳汁中体細胞数は、搾乳の経過にともない漸増する傾向があるが、その変化の程度は分房によってさまざまであることを示している。また、MARSCHKEら⁶⁹⁾は、手による搾乳を行い、搾乳の経過中にNAGase活性がどのように変化するかを、細菌感染分房と非感染分房とで比較し、いずれの分房においても搾乳の経過にともなって徐々に上昇し、その上昇の程度は細菌感染分房の方が大きいことを報告している。

これらの報告によって、搾乳前後にみられる乳汁諸性状の変化は、搾乳の経過にともなって生じると考えられるが、搾乳経過中における体細胞数などの変化については不明な点が多い。とくに、分房の細菌感染状況による変化の程度の差異については、上述のMARSCHKEらの報告⁶⁹⁾以外には、ほとんど検討されてない。また、今後、乳房炎の程度を把握する指標として、体細胞の種類別構成比、とくに好中球の占める割合が用いられる^{44, 83)}と推測されるが、これに関して検討した報告はみられない。

そこで、搾乳経過中における乳汁中への体細胞の出現の状況、および乳汁の電気伝導度およびNAGase活性の変動する状況が、分房の細菌感染状況によってどのように異なるかを明らかにするために、

細菌感染状況の異なる分房を用いて、搾乳時の前および後しぼり乳および搾乳中の試料について測定を行い、その変化の状況を検討した。

材料および方法

供試牛・供試分房：

東京農工大学附属農場において飼養されているホルスタイン種搾乳牛のうち、カリフォルニア乳房炎検査変法（以下、CMT変法）による検査を行い、その結果が±以上となった分房を有する6頭を選定し、その全24分房を供試した。試験開始時における供試牛の産次数、分娩後日数および1日当り乳量はそれぞれ 3.2 ± 2.0 産、 189.0 ± 43.2 日および 19.3 ± 4.4 kgであった。

細菌検査：

試験開始直前3日以内の6回の搾乳のうち、連続する3回の搾乳時に、全供試分房から無菌的に試料を採取し、国際酪農連盟の標準法⁵⁶⁾に準じて乳房炎起因菌の分離および同定を行った。すなわち試料を血液寒天培地に塗抹し37℃で24時間好氣的に培養後、分離し、被検菌について同定または生物学的特性による分類を行った。その結果、乳房炎起因菌が検出されない分房を非感染群に分類し、起因菌が検出された分房に関しては久米⁶⁴⁾の分類に従い、2次性病原菌感染群および1次性病原菌感染群に分類した。なお、以下の節においても、細菌感染状況は本節と同様に分類した。

試料採取方法：

通常の朝搾乳時に、乳房を清拭し、各分房から約25mlの前しぼり乳試料を採取後、分房ごとに貯乳できるように改造したミルカー（以下、分房別ミルカー）によって搾乳を行った。ミルカーのティートカップを装着してから離脱するまでの間に、5～14回にわたって約25mlずつの試料を採取した。この試料の採取は、ミルクチューブから貯乳シリンダーへ流入する分房ごとの乳汁の一部を、30ml容の試料採取びんに導き、この容器を頻繁に交換して行った。また、各試料を採取したティートカップ装着後の時間を記録した。搾乳の終了時には、機械によって、またはティートカップ離脱後に手しぼりによって、後しぼり乳試料を採取した。

測定項目および方法：

1) 体細胞数

第1章第1節と同じ方法によって、蛍光光学式体細胞数測定機を用いて測定した。

2) 体細胞の種類別構成比

試料の約10mlを3000rpmで20分間遠心分離した沈渣の塗抹標本を、ライト・ギムザ染色法により染色して鏡検した⁷³⁾。1標本につき300個以上の体細胞を計測することとし、体細胞を乳腺上皮細胞、好中球、単球、リンパ球およびその他に分類した。そして計測総数に対するそれぞれの割合を算出した。

3)電気伝導度

試料採取後直ちに温度自動補正式(25℃)の電気伝導度計(東亜電波工業(株)製, CM-50AT)によって測定した。

4)NAGase活性

基質を4-Metyl-umbelliferyl-N-acetyl- β -D-glucosaminideとしてマイクロプレートリーダー(日産合成工業(株)製, ニッサン蛍光-90)により乳汁1ml・1分間当りに遊離する4-metyl-umbelliferome量を測定する蛍光法⁶⁵⁾によった。

解析方法:

ティートカップ装着時に採取した試料は, 機械による後しぼりによって採取した後しぼり乳を除き, ティートカップ装着後の経過時間に基づいて第1期から第4期の搾乳時期に区分した。そして細菌感染状況と, 前しぼり乳, 搾乳の第1~4期および機械または手によって採取した後しぼり乳の6段階の試料採取時期を要因とする最小2乗法による分散分析により解析した。体細胞数および体細胞の種類別構成比の解析に際しては, 正規分布に近似させるためにそれぞれ常用対数変換および角変換を施した値を用いた。

結果および考察

分房の細菌感染状況.

供試した24分房のうち, Staphylococcus aureus, β 溶血性StreptococcusおよびEscherichia coliが検出された4分房を1次性病原菌感染分房群に, Staphylococcus epidermidis および α 溶血性Streptococcusが検出された8分房を2次性病原菌感染分房群に分類

した。非感染分房群は12分房であった。

1次性病原菌感染分房は、いずれも試験開始前7日間以内に乳汁に凝塊が混入するなどの臨床症状を示した経歴のある分房であったが、試験時には臨床症状はみられなかった。また2次性病原菌感染分房は、いずれも一時的に高体細胞数を示したことのある分房であったが、すべてが臨床症状を呈したことのある分房ではなかった。このような細菌感染状況による分房の特徴は、久米⁶⁴⁾の指摘した乳房炎の病型と感染菌種との関係とほぼ一致した。

搾乳経過中における乳汁中への体細胞の出現状況。

体細胞数の変動を図8に示した。体細胞数は、分房の細菌感染状況に関係なく、搾乳の経過にともない増加する傾向を示した。この変動状況は、NOTSUKIら⁷⁹⁾およびYAMAMOTOら¹¹¹⁾の報告と一致するものであった。体細胞数の水準は、非感染分房群がもっとも低く、次に2次性病原菌感染分房群がそれに続き、1次性病原菌感染分房群ではもっとも高い水準にあった。非感染分房群については、搾乳末期において1ml当り50万を超えるものもみられ、もっとも水準が高かった1次性病原菌感染分房群は末期には平均値が100万を超えた。しかしながら、搾乳初期の値に対する末期の値の比率は、分房の細菌感染状況による差がみられなかった。このように搾乳の経過にともない体細胞数が増加する現象は、乳房内の乳脂肪球が搾乳末期に多く出る現象と同様の理由で、比較的大型の体細胞は搾乳の初期よりも末期に出やすくなるため、および後述するように乳房内圧が低下する搾乳後期には血液中の白血球が乳中に移行しやすいことなどが原因として考えられた。

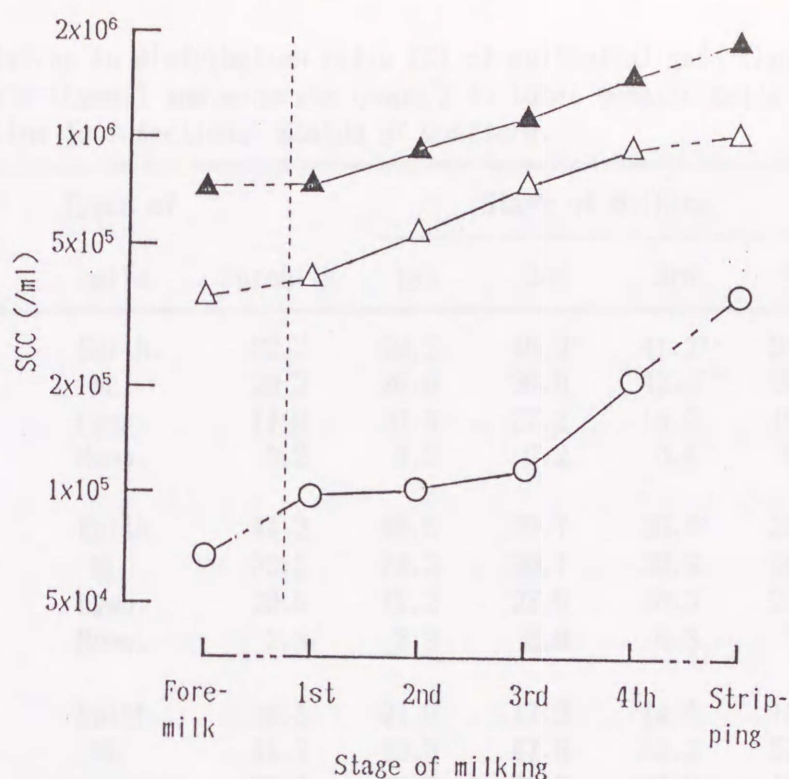


Fig.8. Variation in somatic cell counts (SCC) in milk during milking by infectious status of quarters. ○—○; Quarters from which no pathogen was determined. △—△; Quarters infected by secondary pathogens, i.e., *Staphylococcus epidermidis* or α hemolytic *Streptococcus*. ▲—▲; Quarters infected by primary pathogens, i.e., *S.aureus*, *Escherichia coli* or β hemolytic *Streptococcus*.

搾乳経過中における体細胞の種類別構成比の変化の状況は、表11のように、明らかに分房の細菌感染状況によって異なった。すなわち、1次性病原菌感染分房群では、全試料採取時期を通じて、異物を捕食する機能を有する好中球の占める割合が50~66%と高い値を示し、また単球も10%前後を占めていた。しかしながら非感染分房群については、搾乳初期には上皮細胞の占める割合が大きく、好中球は20%未満と少ない値であったが、搾乳の経過にともない好中球の割合が増加し、搾乳末期には約50%になり感染分房との差が認められなくなる傾向が示された。なお、2次性病原菌感染分房群については、分房間の差が大きく、統計的に有意な変動は認められなかった。

Table 11. Variation in distribution ratio (%) of epithelial cell (Epith.), neutrophil (NL), lymphocyte (Lymp.) and monocyte (Mono.) to total somatic cells in milk during milking relating to infectious status of quarters.

Groups ¹⁾ (No. of quarters)	Types of cells	Foremilk	Stage of milking				
			1st	2nd	3rd	4th	Stripping ³⁾
Uninfected (12)	Epith.	62.3	59.5	46.0*	41.2**	34.5**	23.9**
	NL	20.2	20.0	26.0	42.6**	49.6**	50.2**
	Lymp.	17.0	20.0	27.2	15.0	15.0	25.0
	Mono.	0.2	0.3	0.2	0.4	0.7	0.7
Secondary (8)	Epith.	44.2	49.5	39.7	26.9*	23.1*	23.9
	NL	33.3	34.2	30.1	36.9	46.9*	53.3*
	Lymp.	20.0	12.2	23.0	28.3	21.8	16.0
	Mono.	2.3	3.9	5.9	6.3	7.8	6.9
Primary (4)	Epith.	24.3	21.9	17.9	14.4	18.1	15.3
	NL	41.2	40.8	47.6	52.2	52.6	52.2
	Lymp.	23.4	23.2	22.2	16.9	16.1	15.4
	Mono.	8.9	12.9	10.3	13.6*	12.3*	15.3*

¹⁾ Uninfected: Quarters from which no pathogen was isolated. Secondary: Quarters infected by *S. epidermidis* or α hemolytic *Streptococcus*. Primary: Quarters infected by *S. aureus*, *E. coli* or β hemolytic *Streptococcus*.

²⁾ Marks indicate that the differences from value of foremilk are significant in the same line. **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$

³⁾ Obtained by machine or with hand.

1 次性病原菌感染分房は、炎症部位が乳房内に広範にわたって存在していると推測され、それらの部位においては、好中球などの乳汁中への移行が活発にみられるため、搾乳の経過中を通じて、体細胞のうち好中球の占める割合がつねに高かったものと考えられる。一方、非感染分房においては、炎症部位はほとんど存在しないと考えられる。そのため全般に乳汁中に出現する好中球の割合は1 次性病原菌に感染している分房ほど高くなく、乳腺胞の上皮細胞が脱落

したものの占める割合が高くなると考えられた。しかしながら、搾乳の経過にともない乳房内の乳汁が次第に排出され、乳房内に存在する乳汁の量が減少して乳房内圧が低下する時期に、好中球などの割合が高くなることから、この時期には血液に由来する白血球が乳汁中に多量に移行する現象がみられるものと推察された。ただしその機構についてはさらに多くの検討が必要であろう。なお、2次性病原菌に感染している分房については、分房間の差異が大きく一定の傾向は認められなかったが、これは2次性病原菌の感染が成立した場合であっても、その病原性は生体側の種々の要因によって変動しやすい⁶⁴⁾ため一様の成績が得られなかったものと推察した。

一般に、好中球は、炎症が生じると乳汁中に多量に遊走する⁸⁶⁾ので、その割合を知ることによって乳房炎の程度を推測できるとされている。しかしながら、上述のように、細菌感染がみられない分房であっても、搾乳の末期、あるいは搾乳直後に、体細胞中に占める好中球の割合が高くなることから、それらの時期に採取した試料の体細胞の種類別構成比を測定した結果によって、乳房炎の程度を判定すると、誤った結論を導く可能性が高いことが示された。また、体細胞数は搾乳の経過にともなって増加し、搾乳の末期、あるいは搾乳直後には、細菌感染の認められない分房であっても異常に高い数値を示すものがみられたことを考慮すると、体細胞数およびその種類別構成比を検査する試料は、搾乳の直前、すなわち前しぼり乳が適していることが確認された。

電気伝導度の変動.

搾乳経過にともなう乳汁の電気伝導度の変化を図9に示した. 電気伝導度の変動に対する試料採取時期の影響は, 非感染および2次性病原菌感染分房群については認められなかったが, 1次性病原菌感染分房群については, 搾乳の経過にともなって上昇し, とくに搾乳の終了に近づくにしたがってその上昇の程度が大きくなる傾向がみられた.

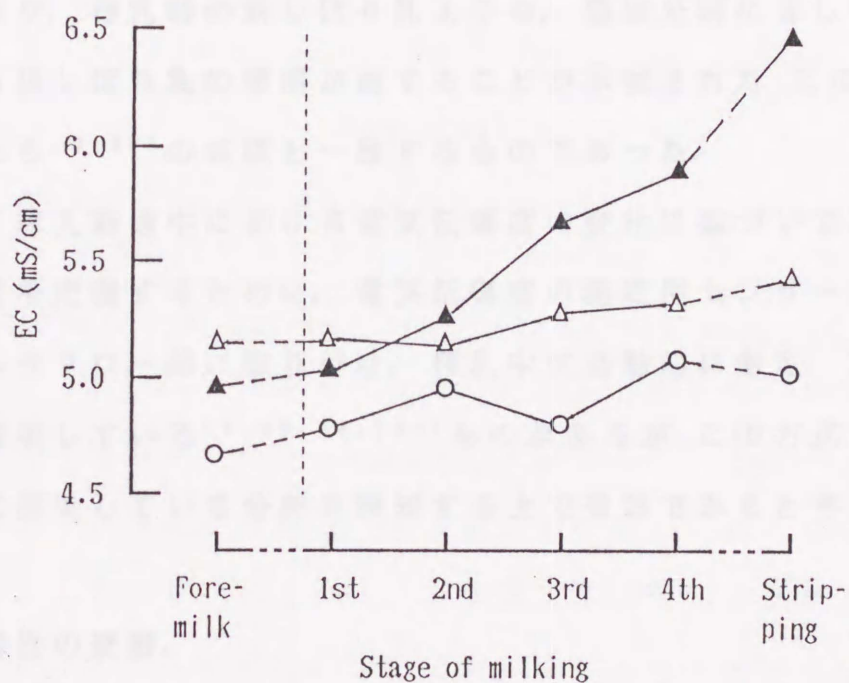


Fig.9. Variation in electrical conductivity (EC) of milk during milking by infectious status of quarters. ○—○; Quarters from which no pathogen was determined. △—△; Quarters infected by secondary pathogens, ▲—▲; Quarters infected by primary pathogens.

乳汁の電気伝導度は, 乳汁中の Na^+ や Cl^- などのイオンが増加すると上昇し^{29, 30)}, また, 乳汁中に乳脂肪が多く含まれているほど低下する²⁹⁾ことが知られている. OSHIMA⁸²⁾は, 後しぼり乳に含まれる電解質イオンは前しぼり乳のそれに比べ多いことを報告しているが, 搾乳の経過にともない乳脂肪率は漸増するため, 非感染および

2次性病原菌感染分房群においては、電気伝導度の有意な変化がみられなかったものと考えられた。しかしながら、1次性病原菌感染分房のように、乳房内に炎症部位が広範に存在すると推測される分房においては、イオンの乳汁中への移行量が、乳脂肪の影響を打ち消して電気伝導度を上昇させるほど増加したことが推測された。

本実験の成績から、電気伝導度によって乳房炎の罹患状況を把握しようとする際には、体細胞数およびその種類別構成比の検査の場合と異なり、搾乳時の前しぼり乳よりも、感染分房に著しい上昇がみられる後しぼり乳の使用が適することが示唆された。このことは、FERNANDOら^{29,30)}の成績と一致するものであった。

また、搾乳経過中における電気伝導度の変化に基づいて乳房炎の罹患状況を把握するために、電気伝導度の測定用センサーをミルクアーのミルククロー部に取り付け、搾乳中に自動的に測定、記録する方式を採用している^{15,60,68,104)}ものがあるが、この方式も1次性病原菌に感染している分房を検知する上で有効であると考えられた。

NAGase活性の変動.

搾乳経過中におけるNAGase活性の変化を図10に示した。搾乳の第2期以降において、1次性病原菌感染分房群のNAGase活性は大きく上昇するのに対して、2次性病原菌感染分房群および非感染分房群の変化の程度はわずかであった。そのため、搾乳の末期には、1次性病原菌感染分房群のNAGase活性が他の2群より有意に高い水準となることが示された。

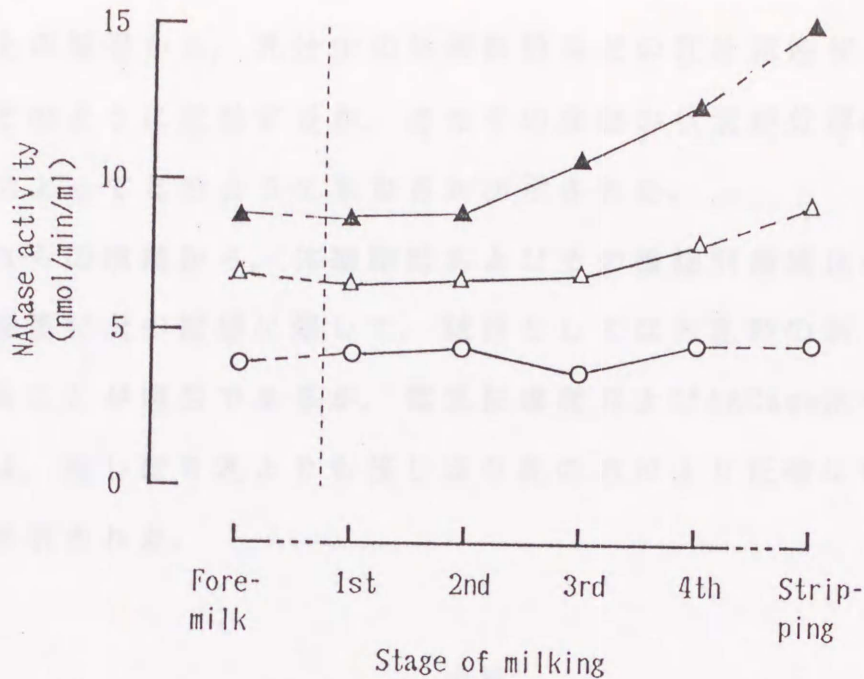


Fig.10. Variation in NAGase activity of milk during milking by infectious status of quarters. ○—○; Quarters from which no pathogen was determined. △—△; Quarters infected by secondary pathogens, ▲—▲; Quarters infected by primary pathogens.

MARSCHKEら⁶⁹⁾は,手による搾乳を行い搾乳の経過中にNAGase活性がどのように変動するかを, *S.aureus*に感染している分房と細菌が検出されない分房とで比較し, 本実験において得られたのと同様の成績を報告している. NAGaseは, 炎症現象に関わる酵素であり^{63, 70, 81)}, そのため乳房内に炎症部位が広範にみられると推測される1次性病原菌感染分房ほど高い値となると考えられている. また乳汁中のNAGaseのほとんどは, 乳腺の上皮から移行したものであることが知られている³⁵⁾. したがって, 1次性病原菌感染分房において搾乳の経過にともなってNAGase活性の上昇がみられたことは, 乳房内に貯溜する乳汁が少なくなるほど, NAGaseが乳腺の炎症部位の上皮から乳汁中へと容易に移行することを示すと推察された.

以上の結果から、乳汁中の体細胞数などの乳汁諸性状が搾乳経過中にどのように変動するか、またその変動の状況が乳房の細菌感染状況によってどのように異なるかが示された。

これらの成績から、体細胞数およびその種類別構成比による乳房炎の罹患状況の把握に際して、試料としては搾乳時の前しぼり乳を用いることが適当であるが、電気伝導度およびNAGase活性による場合には、前しぼり乳よりも後しぼり乳の方がより正確に判定できることが示された。

小括

搾乳経過中における乳汁中への体細胞の出現状況、および乳汁の電気伝導度およびNAGase活性の変動が、乳房の細菌感染状況によってどのように異なるかを明らかにするために、細菌感染状況の異なる乳房について、搾乳時の前および後しぼり乳と搾乳中における試料を採取し、乳汁中の体細胞数とその種類別構成比、電気伝導度およびNAGase活性の測定を行った。

搾乳の経過にともない、体細胞数は乳房の細菌感染状況に関係なく同様に増加した。また、非感染乳房については体細胞に占める好中球を始めとする白血球の割合が、搾乳の進行にともない増加する傾向が認められたが、1次性病原菌感染乳房のように乳房内に炎症部位が広範に存在すると考えられる乳房においては、つねに好中球などの白血球の割合が高かった。電気伝導度およびNAGase活性は、1次性病原菌感染乳房では、搾乳の経過にともない上昇したが、2次性病原菌感染乳房および非感染乳房については変化量が小さいか、ほとんど変化しなかった。

これらの成績から、乳汁中の体細胞数およびその種類別構成比によって乳房炎の罹患状況を把握する場合には、搾乳時の前しぼり乳を用いることが適当と考えられるが、電気伝導度およびNAGase活性の検査の場合には、後しぼり乳の方がより正確に乳房炎の状況を判定できるものと思われた。

乳汁中の体細胞数およびその種類別構成比、乳汁の電気伝導度およびNAGase活性の検査によって、乳房炎の罹患状況を把握する場合は、これらの検査に用いる乳汁試料は、搾乳時の前しぼり乳でなく、搾乳時には搾乳機以外の検査用容器に採取することが好ましい。しかしながら、これらの検査が試料採取時間により変動する場合には、異なる時期に採取した試料の測定結果を統一に評価することはできなかと考えられる。

体細胞数の日内変動を、搾乳後の試料採取と関連づけて検討した報告がいくつかある。VetterとForsberg²⁴⁾およびHoffとSveinsson²⁵⁾は、体細胞数は搾乳後4時間までは高いレベルを維持し、その後徐々に減少して次の搾乳直前に急激に上昇するという日内変動を示すが、その変動の程度は搾乳回数および分娩回数によって異なることを報告している。この変動の程度について、Coffey²⁶⁾は、体細胞数の水準の高い部分から採る乳を試料として、変動幅が大きいと報告している。これに対しForsberg²⁴⁾は、体細胞数の試料採取時間による変動を全試料採取時間を覆うての平均値に対する比で示すと、体細胞数の水準による変動は少ないことを報告している。

体細胞数の試料採取時間による変動に関しては以上のように報告されているが、さまざまな時期に採られた試料中の体細胞数は、同一に抽出するものの抽出方法にまで及んだ報告はない。さらに、

第2節

搾乳後の試料採取時期による乳汁中体細胞数，電気伝導度 およびNAGase活性の変動

緒言

分房乳を対象とする乳汁中の体細胞数とその種類別構成比，乳汁の電気伝導度およびNAGase活性の検査によって，各分房の乳房炎の程度を把握する場合，これらの検査に用いる乳汁試料は，通常の搾乳時だけでなく，実際には搾乳時以外の任意の時刻に採取されることが多い。しかしながら，これらの性状が試料採取時期により変動する場合には，異なる時期に採取した試料の測定結果を同一に評価することはできないと考えられる。

体細胞数の日内変動を，搾乳後の経過時間と関連づけて検討した報告がいくつかある。WHITEとPATRAY¹⁰⁹⁾およびSMITHとSCHULUTZE¹⁰¹⁾は，体細胞数は搾乳後4時間までは高いレベルを維持し，その後次第に減少して次の搾乳直前に最低になるという日内変動を示すが，その変動の程度は個体間および分房間で大きく異なることを報告している。この変動の程度についてCULLEN¹²⁾は，体細胞数の水準の高い分房から得られた試料ほど，変動幅が大きいと報告している。これに対しICHIKAWAら⁵⁰⁾は，体細胞数の試料採取時期による変動を全試料採取時期を通じての平均値に対する比率で示すと，体細胞数の水準による差異はないことを報告している。

体細胞数の試料採取時期による変動に関しては以上のように報告されているが，さまざまな時期に得られた試料中の体細胞数を，同一に比較するための換算方法にまで言及した報告はない。さらに，

体細胞数の変動の程度を分房の細菌感染状況と関連づけて検討した報告はほとんどないため、細菌感染状況が異なることによって、体細胞数の試料採取時期による変動の程度が影響を受けるかどうかは確認されてない。また、体細胞数以外の項目に関しては、電気伝導度に関する報告⁵⁰⁾がみられる程度で、試料採取時期による変動についてはほとんど知られてない。

そこで本節では、任意の時刻に採取した乳汁試料についての体細胞数とその種類別構成比、電気伝導度およびNAGase活性の検査結果に基づき乳房炎を診断するための指針を得るために、これらの乳汁性状が搾乳後の経過時間によりどのように変動するかを、細菌感染状況の異なる分房を用いて検討した。

材料および方法

1. 実験 1.

供試牛・供試分房：

東京農工大学附属農場において飼養されているホルスタイン種搾乳牛10頭について、試験開始直前の連続する夕および朝搾乳時にCMT変法による検査を行い、その結果が±以上となった分房を有する個体4頭を供試牛とした。試験時における供試牛の産次数、分娩後日数および1日当り乳量はそれぞれ 3.8 ± 3.1 産、 262.8 ± 77.1 日および 20.6 ± 4.8 kg (いずれも 平均値±標準偏差) であった。これら供試牛のうち2頭は、1分房が搾乳できない個体であったので、実験に用いた分房数は14であった。これら供試牛は、気温約21℃一定の人工気象室内で飼養し、搾乳は朝8時、夕20時開始の1日2回行った。

細菌検査：

人工気象室への導入前から試料採取日の朝搾乳時までには、各分房から細菌検査に用いる試料を3回以上採取し、前節と同じ方法によって検査、判定した。

試料採取方法：

供試牛を環境制御室に収容してから7日間の馴致後、体細胞数、体細胞の種類別構成比および電気伝導度の測定に用いる試料の採取を8日目に行った。試料は、朝搾乳時（8時開始）、朝搾乳後2、4、6、8、10時間、および12時間の夕搾乳時の計7回採取した。各採取時刻には、各分房とも初めの2～3しぼりをストリップカップに捨てた後、約25mlの乳汁を採取した。

測定項目および測定方法：

測定項目は、乳汁中体細胞数、体細胞の種類別構成比および電気伝導度とし、いずれも前節と同じ方法で測定した。

解析方法：

体細胞数、体細胞の種類別構成比および電気伝導度の各項目について、分房の細菌感染状況と7段階の試料採取時期を要因とする最少自乗法による2元配置分散分析を行った。その際、体細胞数および体細胞の種類別構成比に関しては、正規分布に近似させるためにそれぞれ常用対数変換および角変換を施した値を用いた。また、体細胞数については、各時期における測定値を朝搾乳時における測定

値に対する比率に換算し、搾乳後2時間以降における比率について、細菌感染状況および搾乳後の試料採取時期を要因とする最少自乗法による2元配置分散分析を行った。

2. 実験2

供試牛・供試分房：

鯉淵学園において飼養されているホルスタイン種搾乳牛について、実験1と同じ方法による選定を行い、10頭を供試牛とした。試験開始時における供試牛の産次数、分娩後日数および1日当り乳量はそれぞれ 3.2 ± 3.0 産、 185.0 ± 39.2 日および 27.3 ± 6.4 kgであった。これらのうち2頭は1分房が搾乳できない個体であったため、供試分房数は38であった。供試牛はタイストール式乳牛舎に全日繋留され、搾乳は朝5時、夕15時開始の1日2回行った。

細菌検査：

1989年7月25日の夕搾乳時および翌26日の朝搾乳時に、各分房から細菌検査に用いる試料を採取し、前節と同じ方法によって検査、判定した。

試料採取方法：

体細胞数などの測定に供する試料は、7月25日の夕搾乳から26日の夕搾乳まで、24時間にわたり2時間ごとに採取した。採取方法は実験1と同様とした。

検査・測定方法:

測定項目は、乳汁中体細胞数、体細胞の種類別構成比およびNAGase活性とし、いずれも前節と同じ方法によって測定した。ただし、NAGase活性は、朝搾乳後6時間については測定できなかった。

解析方法:

夕搾乳から朝搾乳まで、および朝搾乳から夕搾乳までに分けて、実験1と同様に最小自乗法による2元配置分散分析を行った。さらに、体細胞数およびNAGase活性については、各時期における値を搾乳時における値に対する比率に換算し、搾乳後2時間以降におけるその比率について、細菌感染状況および試料採取時期を要因とする最少自乗法による2元配置分散分析を行った。

結果

1. 実験1

供試した14分房のうち Staphylococcus aureus および Streptococcus agalactiaeと推定された β 溶血性Streptococcusが検出された3分房を1次性病原菌感染群に分類した。またStaphylococcus epidermidisが検出された2分房を、2次性病原菌感染群とした。試料から細菌が検出されず非感染群と判定されたものは9分房であった。

これらのうち1次性および2次性病原菌感染分房分房群については、前節と同様に、感染菌種による乳房炎の病型の特徴⁶⁴⁾が認められた。

以下に、各測定項目別に結果をまとめた。

(1)体細胞数.

体細胞数の変動を、図11に示した。朝搾乳時に採取した試料中の体細胞数の幾何平均値は、非感染、2次性病原菌感染および1次性病原菌感染群で1ml当りそれぞれ3.2万、14.7万および53.7万であった。これらの値は搾乳後2時間にそれぞれ13.1万、71.8万および241.7万に増加して最高値を示し、その後次第に減少する傾向が認められた。全試料採取時期を通じて、体細胞数は非感染がもっとも低く、2次性病原菌感染群がそれに続き、1次性病原菌感染群がもっとも高かったが、各試料採取時期における体細胞数を朝搾乳時における値に対する比率で示した変動状況は、細菌感染状況による有意

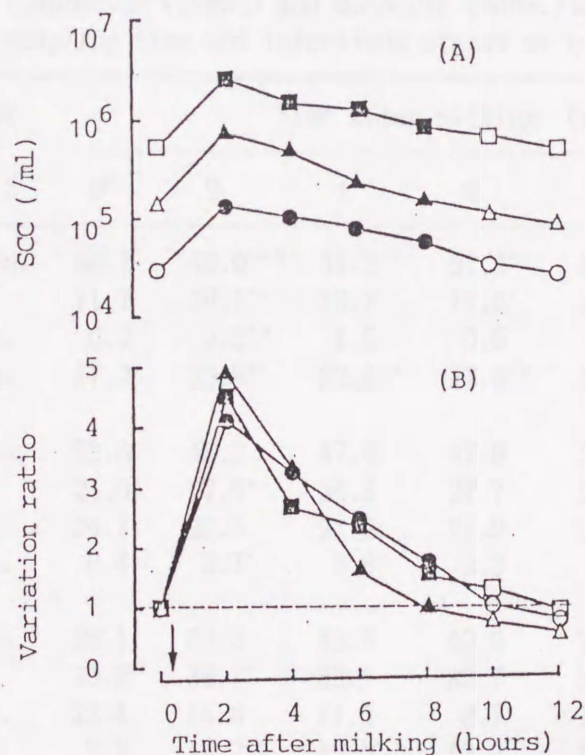


Fig.11.Variation in somatic cell count (SCC)in milk relating to sampling time and infectious status of quarters (Experiment 1). (A) Geometric mean value. (B) Variation ratio (ratio of value at each time to SCC at 0 hour). ○, ●: Quarters from which no pathogen was isolated (n=9). △, ▲: Quarters infected by minor pathogen (n=2). □, ■: Quarters infected by major pathogen (n=3). ●, ▲ and ■ indicate that the differences from values at 0 hour are significant(p<0.05). ↓: Milking time.

な差異は認められなかった。そこで、全分房をこみにして検討すると、体細胞数は搾乳後2, 4, 6および8時間に搾乳時のそれぞれ4.4, 3.0, 2.5および1.7倍となり、搾乳時との差が認められなくなるのは搾乳後10時間以降であることが示された。

(2)体細胞の種類別構成比.

体細胞の種類別構成比については、細菌感染状況による差異が明瞭に認められた。すなわち表12のように、非感染群においては、朝搾乳時における乳腺上皮細胞、リンパ球、好中球および単球の割合

Table 12. Variation in distribution ratio (%) of epithelial cell (Epith.), neutrophil (NL), lymphocyte (Lymp.) and monocyte (Mono.) to total somatic cells in milk relating to sampling time and infectious status of quarters (Experiment 1).

Groups ¹⁾ (No. of quarters)	Type of cell	Time after milking (hours)						
		0 ²⁾	2	4	6	8	10	12
Uninfected (9)	Epith.	68.3	40.9 ^{**3)}	44.3 ^{**}	51.4 ^{**}	61.3	64.0	71.8
	NL.	11.7	26.1 ^{**}	19.7 ^{**}	17.6 [*]	13.7	9.4	8.0
	Mono.	0.2	2.2 ^{**}	1.5	0.5	0.6	0.6	0.2
	Lymp.	17.2	29.8 ^{**}	32.5 ^{**}	27.6 ^{**}	22.5 [*]	22.2	17.0
Secondary (2)	Epith.	53.6	45.3	47.4	47.8	50.8	54.2	55.3
	NL.	21.0	27.9 [*]	24.5	27.7	23.8	22.9	22.3
	Lymp.	24.1	22.5	23.6	21.9	22.2	22.4	20.1
	Mono.	0.4	3.7 [*]	3.6 [*]	2.3	2.3	0.5	1.0
Primary (3)	Epith.	38.1	33.9	42.5	40.0	38.7	42.0	38.8
	NL.	30.9	36.1 [*]	33.1	35.7	31.9	30.8	34.2
	Lymp.	23.4	14.8	11.4	8.7 [*]	10.1 [*]	10.1 [*]	7.8 [*]
	Mono.	7.6	15.2 ^{**}	13.0 [*]	12.3	13.2	13.1	19.2 ^{**}

¹⁾ Uninfected: Quarters from which no pathogen was isolated. Secondary: Quarters infected by *Staphylococcus epidermidis*. Primary: Quarters infected by *S. aureus* or β hemolytic *Streptococcus*.

²⁾ Foremilk sample obtained immediately previous to AM milking.

³⁾ The marks indicate that the differences between value at 0 hour and value at each time are significant in the same line. **:p<0.01, *:p<0.05

が、それぞれ68.3, 17.2, 11.7および0.2%であった。しかしながら、搾乳後2時間には乳腺上皮細胞の割合は40.9%に有意 ($p < 0.01$) に低下し、リンパ球、好中球および単球はそれぞれ29.8, 26.1および2.2%に有意 (いずれも $p < 0.01$) に増加した。搾乳後4時間以降は次第に乳腺上皮細胞の割合は増加し、リンパ球、好中球および単球の割合が減少する傾向が認められ、搾乳後8時間以降には、どの種類の体細胞についても朝搾乳時との差が認められなくなった。これに対し1次性病原菌感染群では、朝搾乳時におけるリンパ球、好中球および単球がそれぞれ23.4, 30.9および7.6%を占めており、乳腺上皮細胞は38.1%と非感染群に比べ低い値であった。搾乳後においては、搾乳後2時間に好中球および単球の割合が増加するなどの変化がみられるものの、全般に、非感染群において認められたような試料採取時期による著しい変化はほとんど認められなかった。なお、2次性病原菌に感染している2分房では、1分房が非感染群に、また他の1分房が1次性病原菌感染群に類似した傾向を示し、統計的に有意な傾向は認められなかった。

(3)電気伝導度.

電気伝導度の変化を図12に示した。搾乳時における電気伝導度の平均値および標準偏差は、非感染、2次性病原菌感染および1次性病原菌感染群でそれぞれ 5.40 ± 0.35 , 5.15 ± 0.16 および 5.58 ± 0.13 mS/cmとなり、必ずしも細菌感染状況と電気伝導度の高低の間に関連が認められるとは言えなかった。搾乳後に、平均値は搾乳時より高い値を示し、非感染群および1次性病原菌感染群については搾乳後4時間に最高値を示し、その後ゆるやかに下降した。2次性病原菌

感染群については搾乳後2時間に最高値を示し、その後も高い値が持続し、朝搾乳時のレベルまでは低下しなかった。ただしいずれの群についても、電気伝導度の変動に対する試料採取時期の効果は有意でなかった。

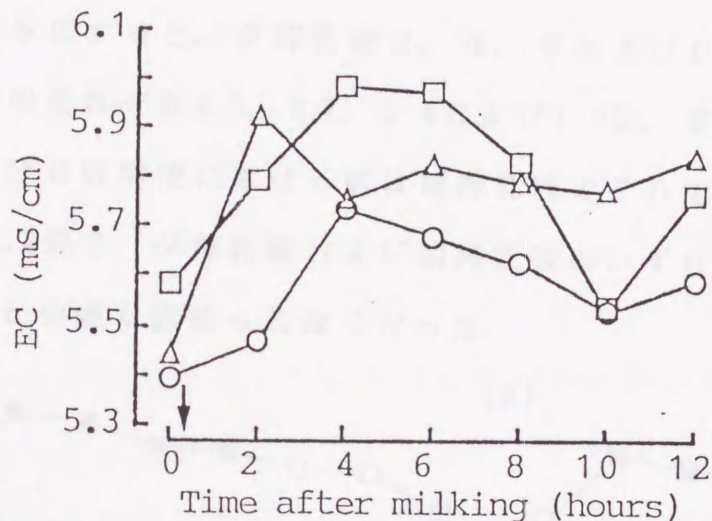


Fig.12. Variation in electrical conductivity (EC) of milk relating to sampling time and infectious status of quarters. ○: Quarters from which no pathogen was isolated (n=9). △: Quarters infected by *Staphylococcus epidermidis* or α hemolytic *Streptococcus*. Primary: Quarters infected by *S.aureus* or *Escherichia coli*. ↓: Milking time.

2. 実験 2

供試分房のうち、*S.aureus*または*Escherichia coli*が検出された7分房を1次性病原菌感染群に分類した。また、*S. epidermidis*または α 溶血性*Streptococcus*が検出された13分房を2次性病原菌感染群に分類した。非感染群は18分房であった。これらの分房群については、実験1と同様に、乳房炎の病型上の特徴が認められた。

以下に、各測定項目別に結果をまとめた。

(1) 体細胞数.

図13に示したように、体細胞数は実験1と同様、非感染群がもっ

とも少なく、2次性病原菌感染群がそれに続き、1次性病原菌感染群がもっとも高かったが、いずれの群についても搾乳後2時間に最高値を示し、その後漸減した。また、変化率で示した変動状況についても、実験1と同様に、細菌感染状況による差異は認められなく、全分房をこみにすると、夕搾乳後2、4、6および8時間における値は搾乳時のそれぞれ4.3、3.7、2.4および1.8倍、また朝搾乳後2、4、6および8時間後における値は朝搾乳時のそれぞれ4.1、3.5、2.7および2.2倍で、夕搾乳後および朝搾乳後のいずれも搾乳後10時間に搾乳時との差が認められなくなった。

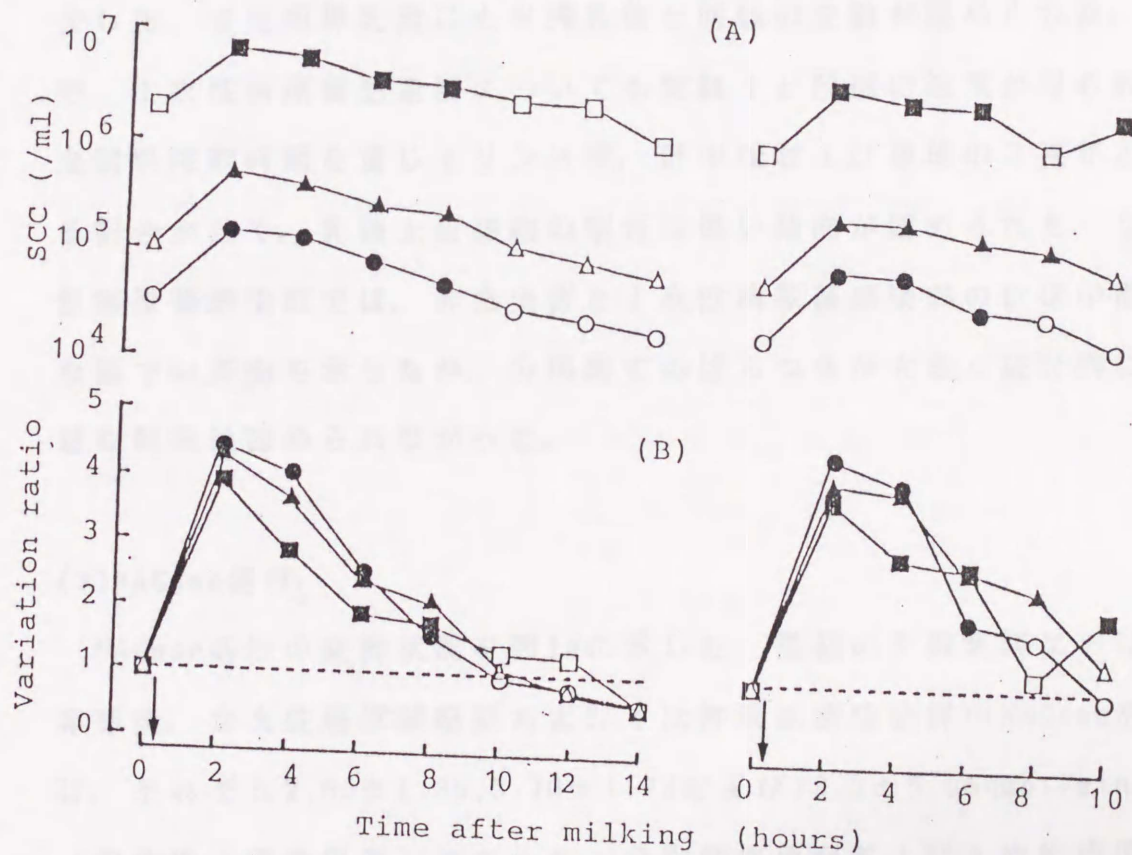


Fig.13. Variation in SCC in milk relating to sampling time and infectious status of quarters (Experiment 2). (A) Geometric mean value. (B) Variation ratio. ○, ●: Quarters from which no pathogen was isolated (n=18). △, ▲: Quarters infected by minor pathogen (n=13). □, ■: Quarters infected by major pathogen (n=7). ●, ▲ and ■ indicate that differences from values at 0 hour are significant (p<0.05). ↓: Milking time.

(2)体細胞の種類別構成比.

体細胞の種類別構成比は表13に示すように、夕搾乳時の非感染分房群についてみると、乳腺上皮細胞、リンパ球、好中球および単球が占める割合はそれぞれ62.3, 25.1, 8.3, および1.3%であったが、搾乳後2時間には、それぞれ35.2, 32.4, 29.9および2.5%に変化し、実験1と同様に乳腺上皮細胞は有意($p<0.01$)に減少し、リンパ球($p<0.05$)、好中球および単球(いずれも $p<0.01$)は有意に増加した。搾乳後4時間以降についても実験1と同様に、次第に乳腺上皮細胞の割合は増加し、リンパ球、好中球および単球の割合は減少した。また朝搾乳後にも夕搾乳後と同様の変動が認められた。一方、1次性病原菌感染群についても実験1と同様の結果が得られ、全試料採取時期を通じてリンパ球、好中球および単球の3種が占める割合が高く、乳腺上皮細胞の割合は低い傾向が認められた。2次性病原菌感染群では、非感染群と1次性病原菌感染群のほぼ中間的な値での変動を示したが、分房間でのばらつきが大きく統計的に有意な傾向は認められなかった。

(3)NAGase活性.

NAGase活性の変動状況を図14に示した。最初の夕搾乳時における非感染、2次性病原菌感染および1次性病原菌感染群のNAGase活性は、それぞれ 2.63 ± 1.39 , 3.70 ± 1.78 および 13.2 ± 5.05 nmol/min/ml (平均値 \pm 標準偏差)であった。2次性病原菌および1次性病原菌感染群については夕搾乳後4時間に夕搾乳時のそれぞれ2.4および3.6倍にまで上昇し、その後漸減した。しかしながら非感染群については、搾乳後にわずかに上昇するものの、試料採取時期による明ら

Table 13. Variation in distribution ratio (%) of epithelial cell (Epith.), neutrophil (NL), lymphocyte (Lymph.), and monocyte (Mono.) to total somatic cells in milk relating to sampling time and infectious status of quarters (Experiment 2).
PM to AM milking

Groups ¹⁾ (No. of quarters)	Type of cell	Time after PM milking (hours)							
		0 ²⁾	2	4	6	8	10	12	14 ³⁾
Uninfected (18)	Epith.	62.3	35.2** ⁴⁾	38.5**	40.2**	50.5	62.2	68.8	70.0
	NL.	8.3	29.9**	26.1**	24.9**	20.4*	15.5*	7.3	8.1
	Lymph.	25.1	32.4*	28.3	22.2	23.5	20.4	19.2	18.8*
	Mono.	1.3	2.5**	3.0**	1.5	1.5	1.0	0.2	0.2
Secondary (13)	Epith.	55.3	46.2	46.4	46.8	51.8	55.2	56.4	57.3
	NL.	15.6	34.5**	37.5	33.2	23.8	25.1	18.3	16.9
	Lymph.	20.1	14.0	10.9*	15.0	18.3	16.1	21.1	18.5
	Mono.	3.2	5.1	4.3	3.5	3.5	2.8	2.6	2.6
Primary (7)	Epith.	38.0	26.1	25.2	29.5	33.3	34.5	35.2	38.5
	NL.	33.3	36.2	40.0*	38.3	36.5	33.2	34.1	35.0
	Lymph.	16.5	18.5	12.8	16.0	13.0	17.0	17.3	16.2
	Mono.	12.1	16.7*	18.3*	15.8	16.7	13.3	12.1	10.0

AM to PM milking

Type of cell	Groups ¹⁾ (No. of quarters)	Time after AM milking (hours)					
		0 ³⁾	2	4	6	8	10 ²⁾
Uninfected (18)	Epith.	70.0	45.0**	45.0**	51.0**	56.1*	64.7
	NL.	8.1	25.1**	24.6**	20.1**	13.2	10.0
	Lymph.	18.8	27.5	29.0	27.5	25.2	25.2
	Mono.	0.2	1.8**	1.4**	0.8	0.5	0.1
Secondary (13)	Epith.	57.3	49.1	48.8	52.3	53.5	54.2
	NL.	16.9	29.9**	30.9**	27.7*	26.5	28.2*
	Lymph.	18.5	16.3	16.1	15.9	16.0	15.0
	Mono.	2.6	4.2	3.2	3.2	3.2	2.6
Primary (7)	Epith.	38.5	25.1*	30.1	32.7	33.3	35.5
	NL.	35.0	38.3	37.5	33.3	34.2	30.5
	Lymph.	16.2	29.0	18.5	20.2	19.2	21.2
	Mono.	10.0	5.2	13.8	12.6	13.3	10.8

¹⁾ Uninfected: Quarters from which no pathogen was isolated. Secondary: Quarters infected by *Staphylococcus epidermidis* or α hemolytic *Streptococcus*. Primary: Quarters infected by *S.aureus* or *Escherichia coli*.

^{2,3)} Foremilk samples obtained immediately previous to PM and AM milking, respectively.

⁴⁾ The marks indicate that the differences between value at 0 hour and value at each time are significant in the same line. **:p<0.01, *:p<0.05

かな差異は認められなかった。また朝搾乳後においては、2次性および1次性病原菌感染群のNAGase活性は搾乳後2時間に上昇し、その後低下する傾向がみられ、非感染群については夕搾乳後と同様に試料採取時期間の差は認められなかった。なお、1次性病原菌感染群については搾乳後10時間の夕搾乳時になっても朝搾乳時におけるより有意 ($p < 0.05$) に高い値を示したが、これは搾乳後10時間には異常に高い値を示す1分房がみられたためで、それを除くと朝搾乳時における値との差は認められなくなった。

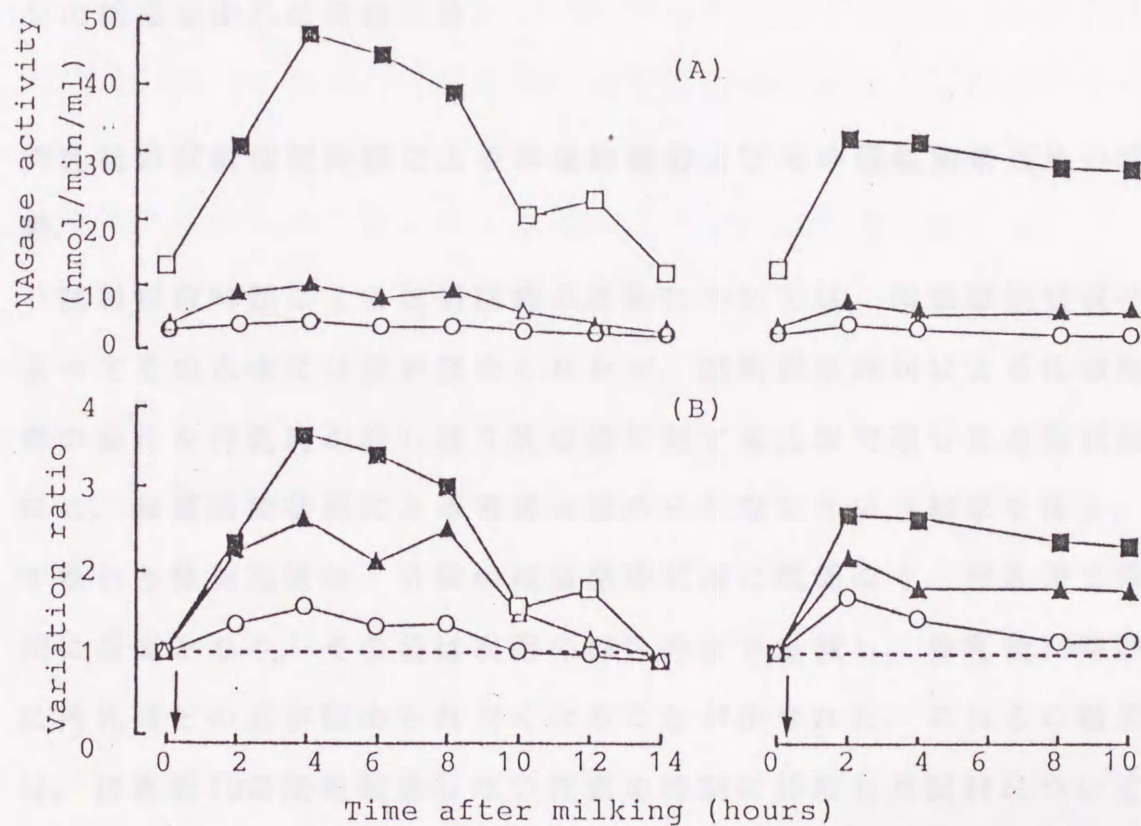


Fig.14. Variation in N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAGase) activity of milk relating to sampling time and infectious status of quarters. (A) Mean value. (B) Variation ratio. \circ , \bullet : Quarters from which no pathogen was isolated ($n=18$). \triangle , \blacktriangle : Quarters infected by minor pathogen ($n=13$). \square , \blacksquare : Quarters infected by major pathogen ($n=7$). \bullet , \blacktriangle and \blacksquare indicate that differences from values at 0 hour are significant ($p < 0.05$). \downarrow : Milking

考察

実験1と実験2では、牛群、気象環境、搾乳時刻および搾乳間隔などの諸管理条件が異なっていた。しかしながら、試料採取時期による体細胞数および体細胞の種類別構成比の変動については、両実験間で類似の傾向が認められた。そのため搾乳後の試料採取時期によるこれらの変動を検討する上では、本研究の実験1および実験2における諸条件の差異は大きく影響しないとみてよいと考え、体細胞数およびその種類別構成比については十分な例数が得られた実験2の結果を中心に考察した。

搾乳後の試料採取時期による体細胞数およびその種類別構成比の変動。

試料採取時期による体細胞数の変動については、細菌感染状況によってその水準には差が認められたが、試料採取時期による体細胞数の変化を搾乳時の前しぼり乳の値に対する比率で示した変動状況には、細菌感染状況による差異は認められないという結果を得た。すなわち体細胞数は、分房の細菌感染状況に関係なく、搾乳後2時間に最高となり、その後は次回の搾乳時まで漸減し、搾乳後10時間に搾乳時との差が認められなくなることが示された。これらの結果は、搾乳後10時間を経過しない任意の時期に採取した試料について体細胞数の測定を行う場合、その測定結果は分房の細菌感染状況に関係なく搾乳時における測定結果より有意に高い値となること、また、搾乳後2、4、6および8時間における値は搾乳時の前しぼり乳の値に対する比率で示すと、その平均値(95%信頼限界)は、それぞれ4.2(3.8~4.6)、3.5(2.6~4.4)、2.5(2.1~2.9)およ

び 1.8 (1.5~2.1) 倍になることを考慮する必要があることが示された。

これに対して、試料採取時期による体細胞の種類別構成比の変動は細菌感染状況により著しく異なることが明らかにされた。すなわち、非感染分房においては、搾乳後に乳汁中の乳腺上皮細胞の割合の低下と好中球などの血液由来細胞の割合の増加が顕著に認められたが、これに対して1次性病原菌感染分房においては、試料の採取時期に関係なくつねに血液由来の細胞の割合が多くなった。

本節におけるこれらの成績は、乳房内に貯溜する乳汁の一部を採取したものであるため、搾乳後の試料採取時期による乳房内乳汁全体の変化を示すものであるかどうかは確認されていないが、非感染分房に関する結果は、搾乳後の次第に乳汁が貯溜する過程において、各体細胞がそれぞれ一定の割合で乳汁中へ出現するものではないことを示すと推測された。これに対し、1次性病原菌に感染している分房に関しては、乳房内に炎症部位が存在すると考えられ、それらの部位から細菌に対する貪食能を有する好中球や単球などがつねに乳汁中へ多く移行していることを示唆するものと考えられた。なお、2次性病原菌感染分房は非感染分房または1次性病原菌感染分房のいずれかに類似するものに分かれたが、これは前節において考察したのと同様に、2次性病原菌の病原性が、種々の要因によって変動しやすいと推測された。

本節において、細菌感染のみられない分房であっても、搾乳後には乳汁中の体細胞のうち好中球が占める割合が増加することが示されたことから、搾乳後10時間を経ない時点で採取した試料の体細胞の種類別構成比によって分房の細菌感染状況を判定すると、誤っ

た結論を導く可能性が高いことが示された。

搾乳後の試料採取時期による乳汁の電気伝導度の変動。

電気伝導度の試料採取時期による変動については、明瞭な傾向は認められなかった。乳汁の電気伝導度は、前節で述べたように、乳汁中のイオン含量が多いほど上昇し^{29, 30)}、乳脂肪が多いほど逆に低下することが知られている²⁹⁾。乳脂肪率は、搾乳直後に最高となり、その後次の搾乳まで次第に低下し搾乳直前に最低となる傾向があるため、イオンの乳汁中への移行量の変動しない場合には、搾乳後の時間経過にともなって電気伝導度は上昇すると推測されるが、そのような傾向は明瞭に認められなかったことから、搾乳後の時間経過にともない乳汁中のイオンはある程度増加すると推察された。この点については、乳脂肪の影響を除去するために脱脂処理を施して検討する必要があると考えられた。

搾乳後の試料採取時期による乳汁のNAGase活性の変動。

NAGase活性は、通常の搾乳時の前しぼり乳に関しては、1次性病原菌感染分房の値は2次性病原菌感染分房および非感染分房の値より有意に高く、2次性病原菌感染分房と非感染分房との差は認められなかったが、搾乳後4時間には、1次性病原菌感染分房では著しく上昇し、2次性病原菌感染分房についても1次性病原菌感染分房ほどの変化が認められたものがあつたのに対して、非感染分房においては搾乳時との差は有意ではなかった。

感染分房において搾乳後数時間にNAGase活性の上昇がみられたことは、乳腺の炎症部位において上皮細胞から乳汁中へのNAGaseの移

行が乳房内の乳汁が充分多くない時期に盛んにみられ、乳房内に貯溜する乳汁が多くなるとその移行が阻害されることを示していると考えられた。このように、乳汁が乳房内に貯溜する量とNAGaseの乳汁中への移行との間に関連がある可能性については、血液由来の体細胞が乳汁中へ移行する状況の変動とともに、乳汁が貯溜することともなう乳房内圧の変化などに関連づけてさらに検討する必要があると考えられた。

これらのことから、搾乳後数時間に採取した試料についてNAGase活性を測定することによって、通常の搾乳時に採取した試料によるよりも正確に乳房炎の状況が判定できるものと考えられた。

本節で得られた知見を、乳房炎の診断に適用する場合には、①体細胞数には、試料の採取時期を考慮した係数を乗じることにより、通常の搾乳時の前しぼり乳における値が推定できること、②搾乳後数時間以内に採取した試料を用い、体細胞中に好中球が占める割合によって乳房炎の診断を行うと誤った結論を導きやすいこと、③電気伝導度に関しては、脱脂処理などの乳脂肪を考慮した分析が必要となること、および④搾乳後数時間以内には、NAGase活性による細菌感染状況の把握が有用であること、が指摘された。

小括

搾乳後の試料採取時期による乳汁の諸性状の変動を、細菌感染状況の異なる分房について検討した。その結果は以下のように要約された。①体細胞数は、非感染分房がもっとも低く、次に2次性病原菌感染分房がそれに続き、1次性病原菌感染分房がもっとも高い水

準で変動したが、その変動の程度には細菌感染状況による差は認められず、搾乳後2, 4, 6および8時間には搾乳時の前しぼり乳のそれぞれ4.2(3.8-4.6), 3.5(2.6-4.4), 2.5(2.1-2.9)および1.8(1.5-2.1)倍(括弧内は95%信頼限界)に増加すること、および搾乳後10時間に以降は搾乳時の前しぼり乳の水準との差が認められなくなることが示された。②体細胞のうち好中球などの血液由来の細胞が占める割合は、非感染分房については搾乳時に低いのが搾乳後数時間以内においては60%を超えるようになり、その後次の搾乳時まで次第に減少した。一方、1次性病原菌感染分房については、採取時期に関係なく常にその割合が高かった。③電気伝導度に関しては、細菌感染状況および試料採取時期による差異は認められなかった。④NAGase活性は、1次性病原菌感染分房では搾乳後大きく上昇し、2次性病原菌感染分房においても上昇が認められたのに対して、非感染分房においては試料採取時期による変動がほとんど認められなかった。そのため、搾乳時よりも搾乳後数時間を経過した時に細菌感染状況による差異が明瞭になった。

第3節

搾乳後の乳汁の生成・貯溜過程における体細胞数，電気伝導度 およびNAGase活性の変動

緒言

前節において，乳汁中体細胞数などの乳汁諸性状は，搾乳後の試料採取時期によって変動し，その変動の程度は乳房の細菌感染状況によって特徴づけられることを明らかにした。試料の採取時期によって体細胞数などの乳汁諸性状に変動が生じるのは，搾乳終了後，刻々生成される乳汁が次第に乳房内に貯溜する過程において，体細胞などが乳汁中へ出現する状況に変化がみられるためと考えられる。しかしながら，乳汁諸性状の変動が生じる機構に関しては，これまで解明されてなく，この点を解明するためには，種々の間隔で乳房内の乳汁のほぼ全量を採取して検討する必要があると考えられる。

FERNANDOとSPAHR³¹⁾は，3～15時間の間隔で搾乳を行い，乳汁中の電気伝導度および体細胞数を計測し，搾乳間隔が9時間までは，搾乳間隔が長くなるにつれて各項目の値が低下または減少すること，およびその変化の程度は乳房に細菌感染が認められるかどうかによって異なることを指摘した。しかしながらこの報告では，電気伝導度の変動する機構に関しては乳汁中の Na^+ ， Cl^- などのイオンの量と関連づけて詳細に考察しているものの，体細胞の種類別構成比に関しては言及していない。また，NAGase活性について同様の検討をした報告はみられず，さらに体細胞数および電気伝導度に関しても，乳房の細菌感染状況による変動状況の差異についての検討は充分になされていない。

そこで、本節においては、細菌感染状況の異なる分房を用いて、乳汁の乳房内貯溜状況の差異が乳汁中体細胞数などの乳汁諸性状に及ぼす影響を調べ、あわせて諸性状の変動が起こる機構を明らかにする手がかりを得るために、種々の間隔で搾乳を行って検討した。すなわち、搾乳が終了してから乳汁が刻々生成され、それが次第に貯溜して乳房内圧が高まる過程における、体細胞の乳汁中へ出現する状態の細菌感染状況による差異を調べ、また電気伝導度およびNAGase活性の変動状況についても検討した。

材料および方法

供試牛・供試分房：

実験には、東京農工大学農学部附属農場で飼養されているホルスタイン種搾乳牛10頭を用いた。供試牛の搾乳時刻は、朝8時、夕17時の1日2回とした。試験開始時の供試牛の産次数、分娩後日数および1日当り乳量はそれぞれ 3.2 ± 2.0 産、 196.0 ± 40.2 日および 21.3 ± 4.9 kgであった。これら供試牛のうち2頭は1分房が搾乳できない個体であったため、用いた分房数は38分房であった。

細菌検査：

以下に述べる試料採取の開始前3日間における搾乳時に、細菌感染状況の検査用の試料を3回にわたって採取した。試料採取および分房の細菌感染状況の判定は、第2章第1節と同じ方法によった。

試料採取方法：

試料採取は1期を5日間として、これを3期反復して計15日行っ

た。各試料採取日には8時からの朝搾乳の後、無作為に割り当てられた1.5(9時30分), 3.0(11時), 4.5(12時30分), 6.0(14時) または9.0時間(17時)のいずれかの時間に搾乳を行い、後述のように試料を採取した。朝搾乳後1.5, 3.0, 4.5および6.0時間に試料採取のための搾乳を行った日であっても、17時から夕搾乳を行った。また5日間のうち無作為に選定した1日には、朝搾乳時にも試料採取を行い、この時に得られたデータを、搾乳間隔が15時間におけるものとして扱った。

搾乳は、分房別ミルクカーによって、なるべく搾り残しのないように行った。搾乳終了後、各分房ごとの貯乳シリンダーに貯まった全乳汁(以下、分房全乳)を秤量後よく攪拌し、約25mlの試料を採取した。

測定項目および方法:

測定項目は、各搾乳間隔における乳量、乳汁中体細胞数、体細胞の種類別構成比、電気伝導度およびNAGase活性とした。

乳量は、デジタル式台秤によって測定した。体細胞数、体細胞の種類別構成比およびNAGase活性は、第2章第1節と同じ方法で測定した。電気伝導度は、試料を3000rpmで20分間遠心分離した後、乳脂肪層を除去したものについて、電気伝導度計を用いて測定した。

これらの測定値のうち異常値を除いた3期の平均値を、各搾乳間隔における値とした。また、それぞれの間隔で搾乳した場合に分房全乳中に出現する体細胞の総数(以下、総体細胞数)を、体細胞数と乳量の積によって算出し、また総体細胞数に体細胞の各種別構成比を乗じて、体細胞の種類別総数とした。

解析方法：

搾乳間隔が9時間までについては，分房の細菌感染状況および搾乳間隔を要因とする，最小自乗法による2元配置分散分析を行った。また，搾乳間隔が15時間の結果については，9時間における結果と平均値の差の検定を行った。さらに，各分房の乳量，総体細胞数および体細胞の種類別総数が，搾乳間隔に比例して増加するかどうかを以下のように検討した。乳量，総体細胞数および種類別総体細胞数が搾乳間隔に比例して増加するならば，1.5，3.0，4.5，6.0および15.0時間の間隔におけるこれらの値は，9.0時間における値に対して，それぞれ $1/6$ ($1.5/9.0$)， $1/3$ ($3.0/9.0$)， $1/2$ ($4.5/9.0$)， $2/3$ ($6.0/9.0$) および $5/3$ ($15.0/9.0$) に一致するので，実際に得られた値がこれらと一致するかどうかをも検定によって判定した。

結果および考察

分房の細菌感染状況.

供試した38分房のうち，S. aureus，E. coliまたは β 溶血性Streptococcusが検出された4分房を1次性病原菌感染分房群，S. epidermidisまたは α 溶血性Streptococcusが検出された11分房を2次性病原菌感染分房群と判定した。非感染分房群は23分房であった。

本節でとりあげた1次性病原菌感染分房については，いずれも試験開始前5日間以内に乳汁に凝塊がみられるなどの臨床症状を呈したが，前節と異なり試験時に臨床症状を呈したものはなかった。また，2次性病原菌感染分房は，いずれも一時的に高体細胞数を示した経歴のある分房であったが，臨床症状を示したことはなかった。

搾乳間隔の差異による乳量の変化.

各搾乳間隔で搾乳したときの乳量は、図15に示したように、細菌感染状況に関係なく9時間までは搾乳間隔に比例して増加したが、9時間から15時間の間は、時間に比例した増加ではなかった。これは古くから指摘されているように、乳房内圧が上昇するにつれて乳汁の生成速度が遅くなる¹⁰⁵⁾ためと考えられた。搾乳間隔が9時間までと9時間以降とでは乳量の増加の様相が異なること、また搾乳間隔が15時間の場合のみ、乳汁の貯溜が夕搾乳後の夜間におけるものであり、他の9時間までにおけるものとは性質が異なることから、以下においては、9時間までと15時間の場合を分けて検討することとした。

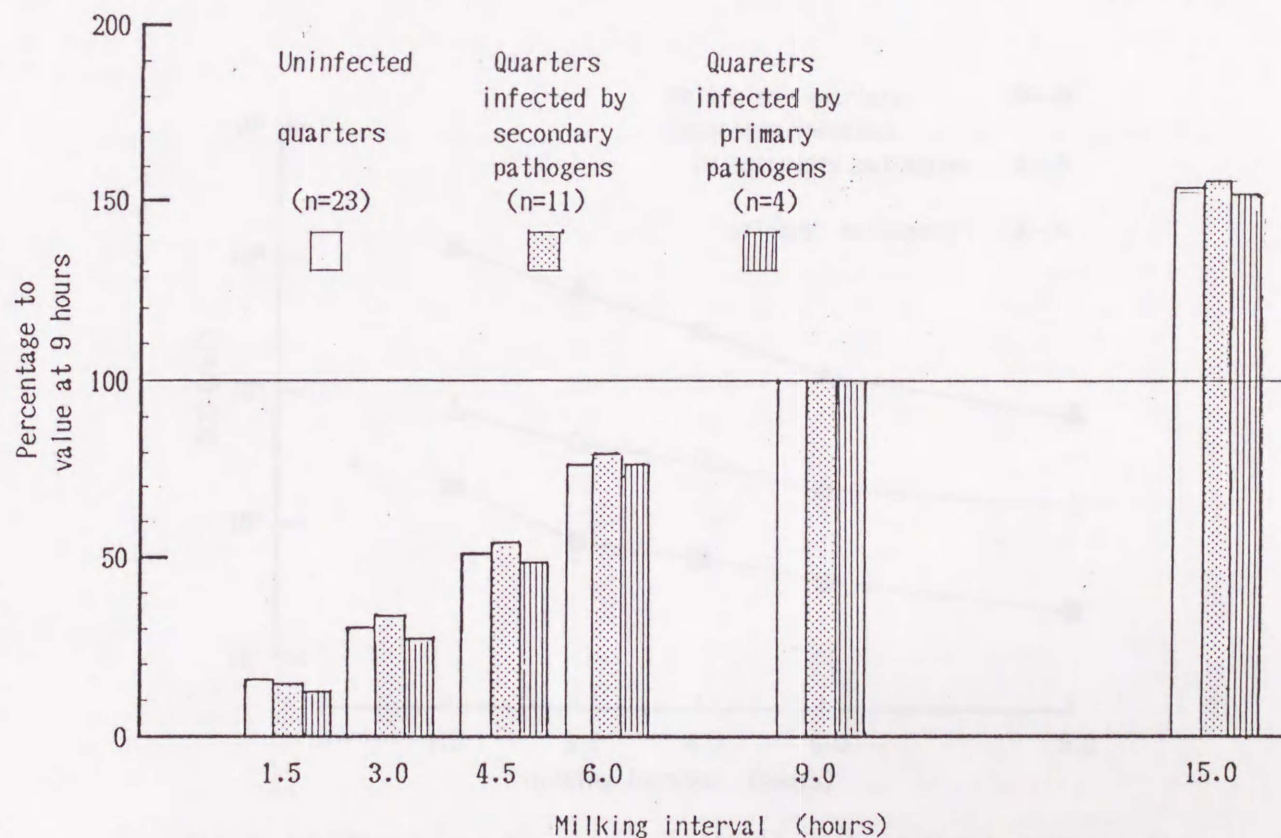


Fig.15. Variation in milk yield relating to milking interval. Values are represented as the least square means of the percentage of milk yielded at each milking interval to milk yield at 9 hours interval.

搾乳間隔の差異による体細胞数および体細胞の種類別構成比の変化。

乳汁 1 ml 中の体細胞数は、図 16 に示したように、搾乳間隔が 9 時間までは搾乳間隔が長くなるほど減少し、その減少の程度は、分房の細菌感染状況に関係なく、いずれの分房群についても同様であった。これらの結果は、前節において乳房内乳汁の一部を採取した場合に得られた成績と一致していた。表 14 に示すように、体細胞の種類別構成比についてみても、前節において得られた乳房内乳汁の一部採取試料と同様の結果であった。すなわち、非感染分房群については、前回の搾乳が終了して間もない時期には、好中球の占める割合が大きいが、搾乳終了後の時間経過にともないその割合は次第に減少し、逆に乳腺上皮細胞の割合は増加する傾向が認められ

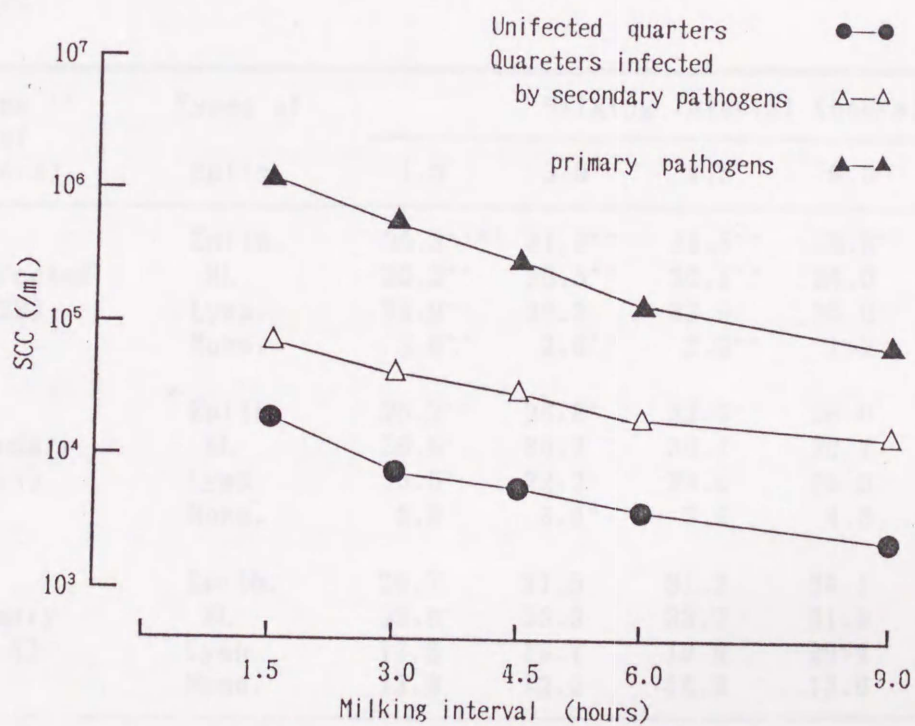


Fig.16. Variation in somatic cell counts (SCC) in milk relating to milking interval and infectious status of quarters. Values indicate least square means.

た。これに対して、1次性病原菌感染分房群においては、搾乳間隔に関係なく、つねに好中球や単球の占める割合が大きかった。また、2次性病原菌感染分房群については、明瞭な傾向は認められなかった。搾乳間隔が15時間における体細胞数および体細胞数の種類別構成比と、9時間におけるそれらと比較したところ、表15に示したように、15時間における体細胞数は、いずれの分房群においても9時間の値を上回ったが、統計的に有意な差ではなかった。また、体細胞の構成比は、非感染分房については、15時間の方が、乳腺上皮細胞の占める割合は高く、好中球の割合は低かったが、1次性および2次性病原菌感染分房については差が認められなかった。これら

Table 14. Variation in distribution ratio (%) of epithelial cell (Epith.), neutrophil (NL), lymphocyte (Lymp.) and monocyte (Mono.) to total somatic cells in milk relating to milking interval and infectious status of quarters.

Groups ¹⁾ (No. of quarters)	Types of cells	Milking interval (hours)				
		1.5	3.0	4.5	6.0	9.0
Uninfected (23)	Epith.	24.3** ²⁾	31.2**	34.5**	39.8**	56.2
	NL	36.2**	35.5**	30.1**	24.0	19.8
	Lymp.	35.9**	30.3	32.0*	35.0**	23.3
	Mono.	3.6**	2.6**	3.0**	1.2	0.7
Secondary (11)	Epith.	25.2**	26.8*	32.9*	36.8	45.6
	NL	36.6*	34.2	30.1	30.1	25.6
	Lymp.	30.5*	22.2	33.0	28.0	23.8
	Mono.	5.6	6.4*	3.9	4.3	4.2
Primary (4)	Epith.	26.7	31.5	31.2	34.1	38.4
	NL	38.8*	33.9	33.7	31.9	32.2
	Lymp.	17.6	19.7	19.8	20.4	17.1
	Mono.	13.9	12.9	14.3	13.6	12.3

¹⁾ Uninfected: Quarters from which no pathogen was isolated. Secondary: Quarters infected by *S. epidermidis* or α hemolytic *Streptococcus*. Primary: Quarters infected by *S. aureus*, *E. coli* or β hemolytic *Streptococcus*.

²⁾ The marks indicate the differences between value at 9 hours interval and value at each interval are significant in the same line. **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$

Table 15. Comparison of counts of and distribution ratio of somatic cells between milk obtained at 9 hours and 15 hours interval.

		Groups of quarters ¹⁾		
		Uninfected	Secondary	Primary
SCC (1000/ml)	9 hrs	57.8	315.4	680.6
	15 hrs	62.3	330.5	700.2
Distribution ratio(%) of; ³⁾				
Epith.	9 hrs	56.2	45.6	38.4
	15 hrs	65.2** ²⁾	50.2	41.2
NL	9 hrs	19.8	25.6	32.2
	15 hrs	10.0**	24.6	30.9
Lymp.	9 hrs	23.3	23.8	17.1
	15 hrs	24.5	22.2	17.3
Mono.	9 hours	0.7	4.2	12.3
	15 hours	0.2**	2.6	10.5

^{1), 2)}: The same as Table 14.

³⁾: Epith., NL, Lymp. and Mono. are the same as Table 14.

の結果からみて、9時間以降における体細胞の乳汁中への出現状況は、9時間までとは異なる可能性が示唆された。この点に関しては、15時間間隔の搾乳は朝搾乳時に行われたため、9時間までの場合と異なり、得られた乳汁が夜間に貯溜したものであるという相違などが関与すると思われる。今後、この点について明らかにする必要があると考えられる。

搾乳間隔の差異による乳汁中の総体細胞数の変化。

搾乳間隔が9時間まで長くなることにもなう乳汁中の総体細胞

数と、乳腺上皮細胞、好中球、リンパ球および単球の総数の変化を図17および図18に示した。総体細胞数は、いずれの分房群に關しても、搾乳間隔に比例して増加するわけではなかった。すなわち、いずれの分房群についても、前回の搾乳から9時間までに乳汁中へ出現する体細胞の半数以上が最初の3時間までに、また約80%が6時間までに出現するというように、体細胞は搾乳後の経過時間を上回る割合で乳汁中へ出現していることが示された。

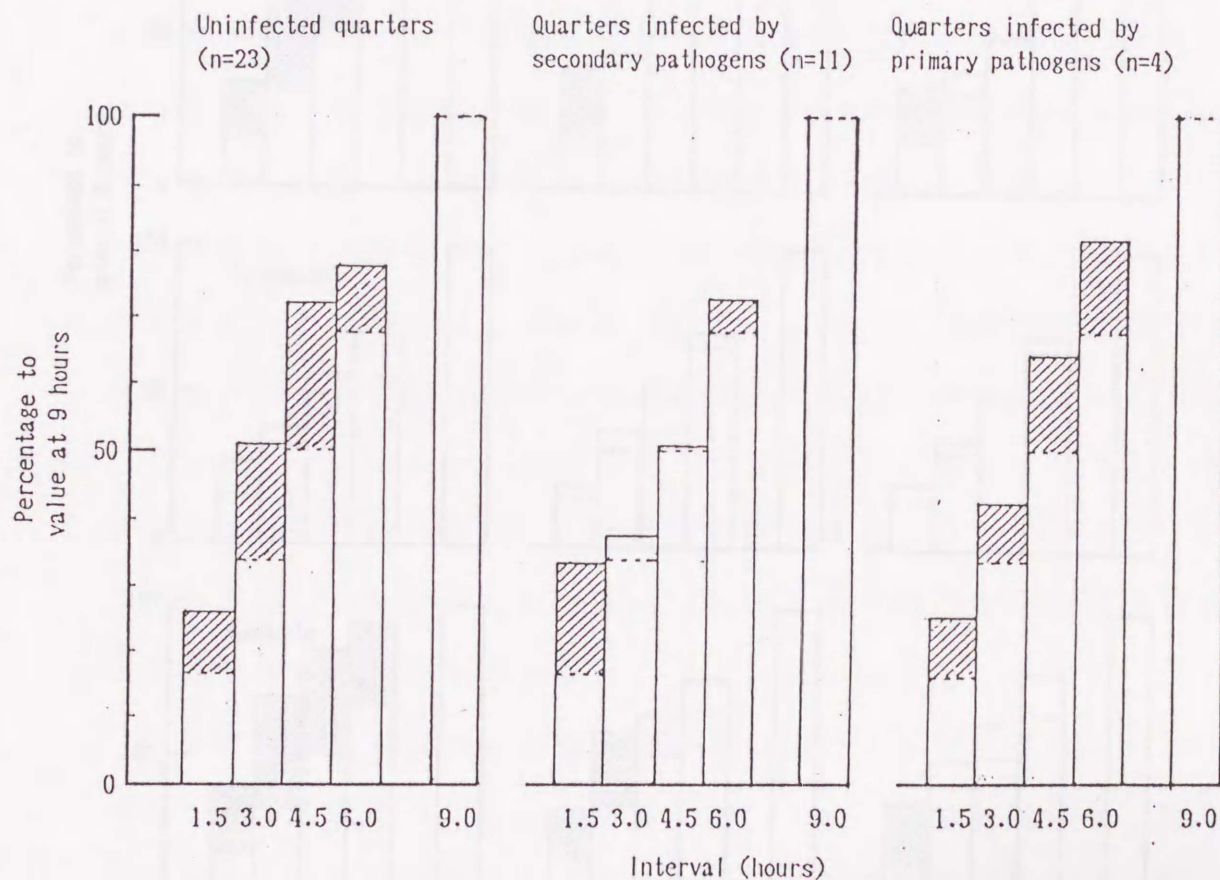


Fig.17. Variation in total count of somatic cells in milk (TSCC) relating to milking interval and infectious status of quarters. Values are represented as the percentages of TSCC at each interval to TSCC at 9.0 hours interval. Dotted lines; The ratio of the length of milking interval to 9.0 hours, i.e., for 1.5 hours, the dotted lines indicate 1.5/9.0 (16.7%). The ratio of TSCC to TSCC at 9 hours interval is significantly ($p < 0.01$) higher than the ratio of length of milking interval.

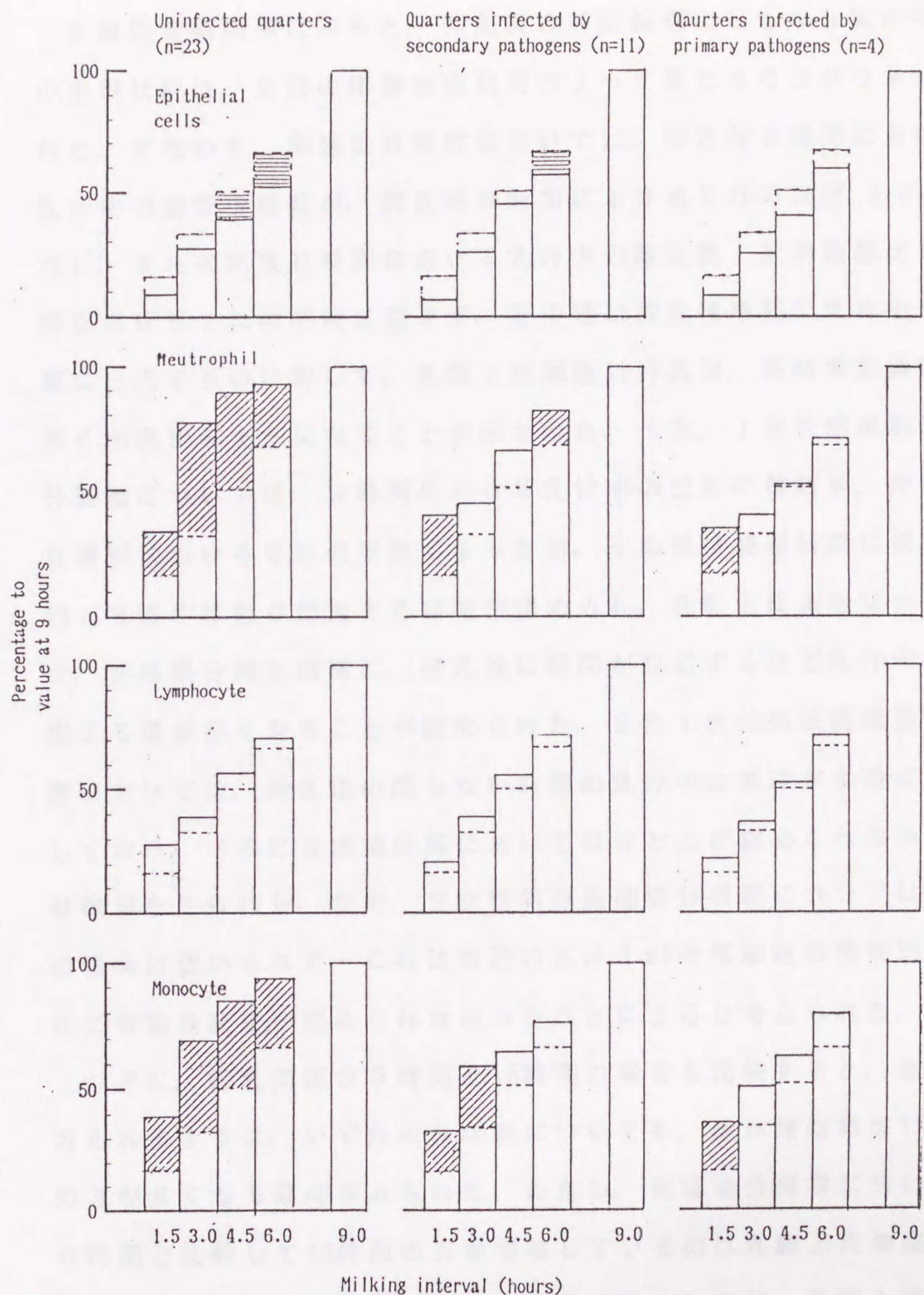


Fig.18. Variation in total count of differential somatic cells in milk relating to milking interval and infectious status. Values are represented as the percentages of total count of each type of somatic cells to total counts at 9.0 hours interval. Dotted lines: The ratio of length of milking interval to 9.0 hours, i.e., for 1.5 hours interval, dotted line indicate 1.5/9.0 (16.7%). /// , --- : The ratio of total count of each type of somatic cells to that at 9.0 hours is significantly ($p < 0.01$) higher (///) and lower (---) than the ratio of length of milking interval.

体細胞を種類別にみると、搾乳後の時間経過にともなう乳汁中への出現状況は、分房の細菌感染状況によって異なることがうかがわれた。すなわち、非感染分房群においては、搾乳後3時間における乳汁中の総好中球数が、搾乳後9時間におけるそのほぼ3/4に相当し、また搾乳後6時間における乳汁中の総乳腺上皮細胞数は9時間におけるその半数に過ぎず、好中球は搾乳後早期に乳汁中へ多量に出現するのに対して、乳腺上皮細胞は搾乳後、長時間経過後に多く出現するようになることが示された。一方、1次性病原菌感染分房群については、3時間における乳汁中の総好中球数が、搾乳後9時間におけるその半数であったが、その後は経過時間にほぼ比例して好中球数が増加する傾向が認められ、乳腺上皮細胞については、非感染分房と同様に、搾乳後に時間が経過するほど乳汁中へ出現する量が多くなることが認められた。また1次性病原菌感染分房群においては、搾乳後の間もない時期の乳汁中に単球が多量に存在しており、さらに非感染分房においてはほとんど認められなかった好酸球もみられた。なお、2次性病原菌感染分房群については一定の傾向は認められず、これは前述の乳汁1ml中体細胞の種類別構成比に有意な変化が認められなかったことによると考えられた。

つぎに、搾乳間隔が9時間と15時間の場合を比較すると、表16にみられるように、いずれの分房群についても、総体細胞数は15時間の方が多くなる傾向がみられた。ただし、非感染分房群においては、9時間と比較して15時間の方が増加しているのは乳腺上皮細胞であるのに対して、1次性病原菌感染分房群については、乳腺上皮細胞だけでなく好中球も増加していることが示された。

Table 16. Comparison of total counts of somatic cells in milk between milk obtained at 9 hours and 15 hours interval.

		Groups of quarters ¹⁾		
		Uninfected	Secondary	Primary
The ratio of total count of somatic cells (%)	9 hrs	100.0	100.0	100.0
	15 hrs	105.7	105.3	112.9
The ratio of total count of each cell (%) ³⁾				
	Epith.			
	9 hrs	100.0	100.0	100.0
	15 hrs	106.8 ^{**2)}	108.3 ^{**}	118.9 ^{**}
	NL			
	9 hrs	100.0	100.0	100.0
	15 hrs	100.3 ^{**}	105.9	115.3 ^{**}
	Lymp.			
	9 hrs	100.0	100.0	100.0
	15 hrs	103.6	103.3	105.9
	Mono.			
	9 hours	100.0	100.0	100.0
	15 hours	100.1	104.3	105.6

^{1, 2, 3)}: The same as Table 15.

これらの結果から、以下のことが推察された。まず、細菌感染が認められず、炎症部位が存在しないか、存在してもその部位がごく限定されていると推察される非感染分房に関しては、①貯溜する乳汁が少ない搾乳終了後短時間以内の時期には、好中球を始めとする血液由来の白血球が多量に乳汁中へ移行した。②乳汁の貯溜量が増加するにしたがって好中球などの移行は次第に減退した。および③乳汁の貯溜量が多くなるにつれて、乳腺上皮細胞が乳汁中へ多く出現するが、乳汁1 ml当りの体細胞数は、乳汁の増加によって希釈されるため減少した。このような変動は、乳房内圧の変化と関連して生じていると考えられる。すなわち、乳房内圧が低い時期には、乳

腺細胞における乳汁の生成が活発に行われ^{1, 85)}、乳腺の上皮細胞を介しての乳腺腔内への物質の移行が盛んになると考えられ、この時期には好中球などの乳汁中への移行が容易にできるが、乳腺腔内に貯溜する乳汁が多くなり乳腺細胞が膨張するにしたがって、その物理的な作用によって乳腺細胞を取り巻く血管が収縮し、血流量が減少するため⁶⁶⁾白血球を含む血液由来の物質の移行が阻害されるものと推測された。また同時に、乳腺上皮細胞が乳汁に圧迫され、老齢の乳腺上皮細胞を中心に乳汁中に脱落する量が増えると考えられた。

1 次性病原菌に感染している分房に関しては、つねに血液由来の白血球が多量に乳汁中に出現した。この理由については、乳腺細胞に広範に存在していると推察される炎症部位において、好中球をはじめ単球、好酸球などの移行が多くみられること、また乳房内圧が比較的高くなっても、走化性による好中球の炎症部位への移行、遊走^{64, 86)}が活発にみられることによると推測した。

2 次性病原菌に感染している分房に関しては、分房によって炎症の程度が大きくばらついていると推察され、そのため特徴的な変動が認められなかったと考えられた。本章の第1節から本節において、2 次性病原菌に感染した分房にみられる特徴を明確にすることはできなかったが、今後、2 次性病原菌による乳房炎については、例えば病理学的な側面からさらに詳細な検討を要するものと考えられた。

なお、乳汁の少ない時期における白血球の乳汁中への移行に対して、白血球の移行を促進する化学的物質^{41, 64, 86)}が関与している可能性もある。このような物質の動態に関しては現在まで必ずしも明らかにされてなく、今後検討を要すると考えられた。

搾乳間隔の差異による電気伝導度の変化.

前節において、試料採取時期による電気伝導度の変動が明瞭に認められなかったのは、乳脂肪の影響が大きいと考え、その影響を除去するために脱脂処理を施した試料について電気伝導度を計測した。その結果は図19のようになった。細菌感染状況と電気伝導度の水準との間には、明瞭な差異は認められなかったが、いずれの分房群についても、前しぼり乳および分房乳の電気伝導度は、9時間までは

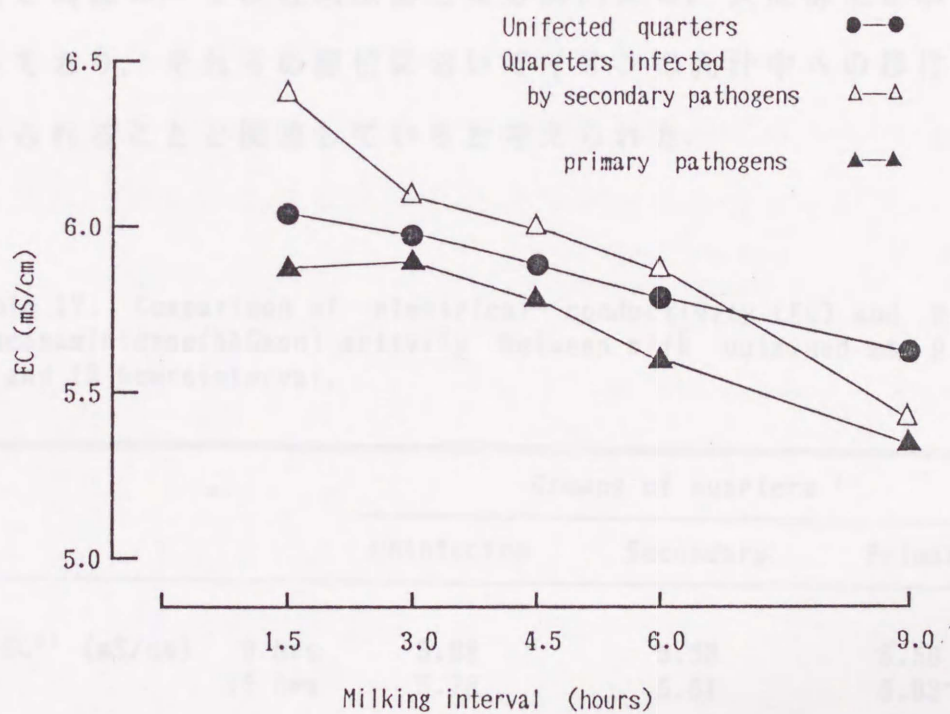


Fig.19. Variation in electrical conductivity (EC) of milk relating to milking interval and infectious status of quarters. Values indicate least square means.

搾乳間隔が長くなるにしたがって低下する傾向が認められた。このことは、FERNANDOとSPAHR³¹⁾の報告とほぼ一致する結果であり、貯溜する乳汁が少ない搾乳終了後まもない時期ほど、乳汁中へのイオンの移行量が多いことが示された。その原因については、血液に由来する白血球の移行と同様に、乳房内圧の変動と関連しており、内圧の低い時期ほどイオンの移行が容易になるためと推察された。また、前回の搾乳後15時間に搾乳した場合の電気伝導度を9時間における値と比較すると、表17のように、非感染および2次性病原菌感染分房群においてはその差は有意でなかったが、1次性病原菌感染分房群においては有意 ($p < 0.01$) に高かった。このことも、体細胞数と同様に、1次性病原菌感染分房内には、炎症部位が広範に存在しており、それらの部位においてイオンの乳汁中への移行が盛んにみられることと関連していると考えられた。

Table 17. Comparison of electrical conductivity (EC) and N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAGase) activity between milk obtained at 9 hours interval and 15 hours interval.

		Groups of quarters ¹⁾		
		Uninfected	Secondary	Primary
EC ³⁾ (mS/cm)	9 hrs	5.68	5.53	5.56
	15 hrs	5.78	5.61	5.83 ²⁾
NAGase activity (nmol/min/ml)	9 hrs	1.98	3.56	6.50
	15 hrs	2.46	3.62	6.89

^{1,2)}: The same as Table 15.

³⁾: With fat-free samples.

搾乳間隔の差異によるNAGase活性の変化.

NAGase活性は、図20および表17に示したように、全搾乳間隔を通じて非感染分房群がもっとも低く、しかも搾乳間隔による変動が小さいのに対して、1次性病原菌感染分房群はもっとも高い水準で変動し、9時間までは搾乳間隔が長くなるにしたがって低下する傾向があった。2次性病原菌感染分房群は、両者の中間的な水準および変動幅を示した。

この結果は、前節における乳汁の一部採取試料についての結果と一致するものであり、乳房内圧の変動と関連するものと推察された。なお、前節における成績と比較すると、1次性病原菌感染分房から得られた乳汁のNAGase活性の水準は全般に低かったが、本節においては1次性病原菌感染分房の例数が前節より少なく、また本節でとりあげた1次性病原菌感染分房の病歴が前節におけるものとは異なるため、前節における結果と異なったものと考えられた。

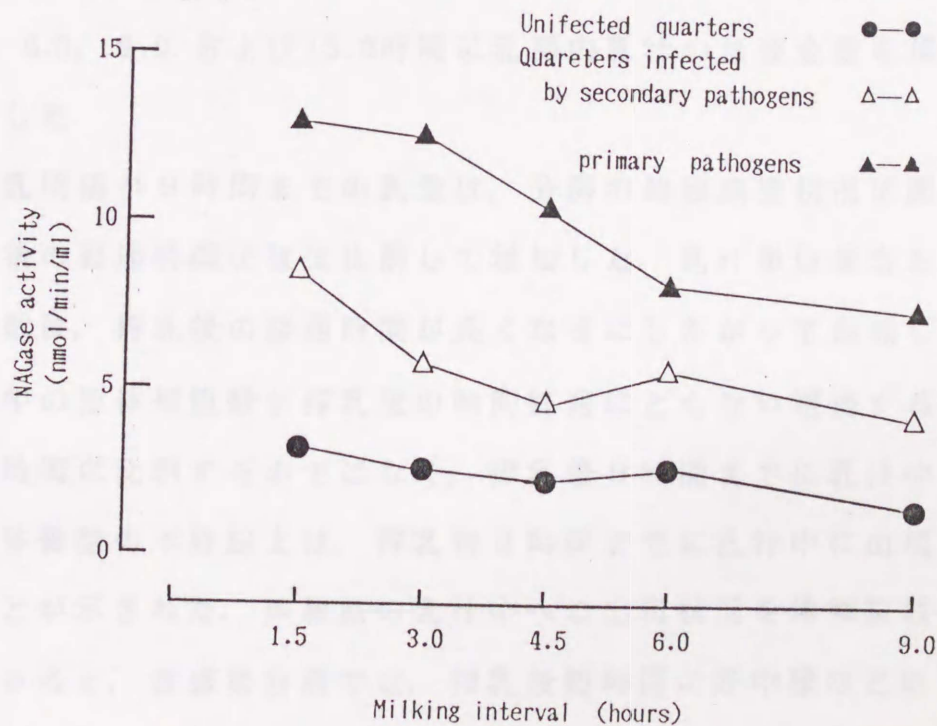


Fig.20. Variation in NAGase activity relating to milking interval and infectious status of quarters. Values indicate least square means.

以上の結果から、搾乳後の時間経過にともなう体細胞数の変動には、乳房内乳汁の増加に関連する乳房内圧の変動が関与しており、乳房内の炎症の程度によって体細胞の乳汁中への出現状況に差異があることが明らかにされた。また、脱脂処理を施した電気伝導度は、分房の細菌感染状況による水準の差異は明瞭でないが、前回の搾乳後の時間経過にともない明らかに変動するという結果が得られ、さらにNAGase活性については、前節の結果とほぼ一致して、分房の細菌感染状況により変動状況が明瞭に異なることが示された。以上の成績は、体細胞数などの乳汁性状が試料採取時期によって変動する機構を解明する上で、有用な知見となると考えられた。

小括

乳汁の生成・貯溜過程における体細胞数、電気伝導度（脱脂処理後）およびNAGase活性の変動を知るために、搾乳終了後1.5, 3.0, 4.5, 6.0, 9.0 および15.0時間に乳房内乳汁のほぼ全量を採取して検討した。

搾乳間隔が9時間までの乳量は、分房の細菌感染状況に関係なく、搾乳後の経過時間にほぼ比例して増加した。乳汁単体量当たりの体細胞数は、搾乳後の経過時間が長くなるにしたがって漸減した。分房乳中の総体細胞数が搾乳後の時間経過にともない増加する状況は、経過時間に比例するのではなく、搾乳後9時間までに乳汁中へ出現する体細胞の半数以上は、搾乳後3時間までに乳汁中に出現していることが示された。体細胞の乳汁中への出現状況を体細胞数の種類別にみると、非感染分房では、搾乳後短時間に好中球などの白血球が多量に乳汁中へ移行し、上皮細胞が多く出現するようになるのは

乳汁の貯溜する量が多くなった時期であるが、1次性病原菌感染分房に関しては、乳汁が多い時期においても好中球などの乳汁中への移行は盛んにみられることが示された。

電気伝導度およびNAGase活性は、搾乳間隔が9時間までは、時間が長くなるにしたがって低下する傾向がみられた。とくにNAGase活性の変動状況は、分房の細菌感染状況によって顕著に異なっていた。

第4節

搾乳前後における乳汁の細菌発育抑制効果の変化

緒言

本章の第1～3節において、搾乳の経過中における、または搾乳後の時間経過にともなう体細胞数などの乳汁諸性状の変動状況を示した。とくに、体細胞が乳汁中に出現する時期は、体細胞の種類によって異なっており、1次性病原菌に感染しており炎症部位が広範に存在すると推測される分房においては、時間経過に関係なく好中球などの白血球が多く存在するが、細菌感染の認められない分房においては、通常の搾乳時の前しぼり乳中には好中球の占める割合が小さいものの、搾乳の終了間際、あるいは終了直後に乳汁中に多く出現するようになるという新しい知見を得た。このように非感染分房であっても、搾乳の終了間際あるいは終了直後に乳房内に貯溜する乳汁中に、好中球が高濃度に存在したことは、炎症の程度の悪化という病的な原因による好中球増加とは異質の現象であると推察された。

この現象が、生体にとってどのような意義を有するかは非常に興味深いことであり、とくに、これらの時期において乳房内の乳汁中に好中球が多く存在することが、乳房炎の原因となる病原微生物の侵入、定着の阻止と関連があるかどうかを知ることは、感染に対する生体の防御機構を明らかにする上で重要と考えられる。

乳頭管内のケラチンは、乳頭孔から乳房内への微生物の侵入を防ぐ上で重要な役割を果たす³⁶⁾が、これは搾乳によって取り去られ、次の搾乳までの間に次第に乳頭管内を満たすようになることが知ら

れている^{86, 97)}。そのため、搾乳終了直後は、周囲環境に存在する細菌の乳房内への侵入がとくに容易になると考えられている^{36, 58, 97)}。このような時期に、乳房内の乳汁中に好中球が高濃度で存在していることは、細菌の侵入および定着に対する生体の防衛反応において有効に機能すると期待される。これまでに、乳汁が細菌発育抑制効果を有することは明らかにされている^{26, 47, 86)}が、その細菌発育抑制効果を搾乳直後の乳汁について検討した報告はない。

そこで本節においては、非感染分房の搾乳後にみられる乳汁中の好中球濃度の変化の意義について考究するために、細菌感染の認められない分房を用いて、単位乳汁量当りの好中球の少ない搾乳直前の乳房内乳汁と、好中球の多い搾乳直後の乳房内乳汁における細菌発育抑制効果の差異を比較検討した。

材料および方法

供試分房：

東京農工大学附属農場において飼養されているホルスタイン種搾乳牛について、連続する3回の搾乳時に細菌検査用試料を無菌的に採取し、前節までと同じ方法によって分房の細菌感染状況を調べた。その結果細菌に感染していないと判定された分房のうち、産次、泌乳時期および乳量がなるべく近似する5頭から10分房を選定して供試した。

試料採取方法：

供試分房から、通常の朝搾乳の開始直前および直後に、細菌発育抑制効果の検討に用いる試料を無菌的に約8 mlずつ採取し、同時に

体細胞数およびその種類別構成比を計測するための試料を約25mlずつ3日間にわたって採取した。細菌発育抑制効果の検討に用いる前および後しぼり乳試料は、採取直後から測定のために必要な処理を施すまでの間氷冷した。

測定項目および方法：

1)細菌発育抑制効果。

乳汁の細菌発育抑制効果は、ICHIKAWAら⁴⁷⁾の方法に準じて、以下に述べる方法によって判定した。

試料を無菌的に4本の試験管に1mlずつ分注した。このうち2本は、乳汁の有している細菌発育抑制効果を消失させるために、高圧蒸気滅菌器によって120℃で2分間加熱処理し、残りの2本は無処理のままとした。以下においては、これらのうち無処理のものを被検乳、加熱処理したものを対照乳と記した。

被検乳および対照乳のそれぞれ1本を1組として、2種類の細菌に対する発育抑制効果を調べた。用いた細菌は、牛乳房炎乳に由来する *S.aureus* および *E.coli* とした。これら細菌は、普通寒天培地による継代培養後、適量をハートインフュージョンブイヨン培地に移植し、37℃12時間培養した。このブイヨン菌液を滅菌生理食塩水によって適当な濃度に希釈後、被検乳および対照乳に10μlずつ添加し、攪拌後、適量をハートインフュージョン寒天培地に塗抹し、37℃24時間培養した。この際の、菌液の希釈倍率および寒天培地への接種量は、ハートインフュージョン寒天培地1枚当りに30~50程度の集落が形成されることを目途して決定した。これによって形成された集落の数を計測し、乳汁1ml当りの値に換算した。このときの集落

数を，混合後0時間における細菌数（以下， CFU_0 ）と呼称した。

つぎに，菌液を添加した乳汁を， $37^{\circ}C$ 下に12時間おき，同様に適量をハートインフュージョン寒天培地に塗抹して， $37^{\circ}C$ 24時間培養した。これによって形成された集落の数を計測し，乳汁1ml当りの値に換算した。このときの集落数を，混合後12時間における細菌数（以下， CFU_{12} ）と呼称した。

被験乳および対照乳について計測した CFU_0 および CFU_{12} によって，乳汁の有する細菌発育抑制効果指標（以下， GI ）を，次のように算出した。

$$GI = \text{Log}_{10} (\text{対照乳 } CFU_{12} - \text{対照乳 } CFU_0) - \text{Log}_{10} (\text{被験乳 } CFU_{12} - \text{被験乳 } CFU_0)$$

すなわち，試料乳に細菌を添加し， $37^{\circ}C$ 12時間の状態においた場合に発育する細菌数は，細菌の発育を抑制する機能を消失させた対照乳に比較して，細菌の発育を抑制する機能を有している被験乳の方が少なくなると考えられ，その差が大きいほど，その乳汁の有している細菌発育抑制効果が大きいと判断することになる。

2) 乳汁中体細胞数.

第1章第1節と同じ方法で，蛍光光学式体細胞数測定機によって計測した。

3) 乳汁中の体細胞の種類別構成比

第2章第1節と同じ方法で，検鏡して計測した。この値のうち，細菌発育抑制に関連すると考えられる好中球および単球の値を，2)で測定した乳汁1ml当りの体細胞数に乗じて，乳汁1ml中の好中球

数および単球数を算出した。

解析方法：

G I, 乳汁 1 ml 当り体細胞数および乳汁 1 ml 中の各種体細胞数について, 3 回の結果の平均値を各分房の値として, 分房を対応させた平均値の差の検定によって, 前および後しぼり乳間の差を検討した。

結果および考察

搾乳の前後における乳汁 1 ml 当りの体細胞数, 好中球種類別の数および G I の変化を表 18 に示した。体細胞数は, 従来の報告^{64, 67)} および前節までの結果と同様に, 前しぼり乳中に比べて後しぼり乳中に多く, また, 後しぼり乳中には前しぼり乳より好中球および単球が有意 ($p < 0.01$) に多く存在しており, とくに好中球の増加が著

Table 18. Comparison of somatic cell counts (SCC), counts of neutrophil and monocyte and bacterial growth inhibition index (GI index) between fore-milk and stripping.

	Foremilk	Stripping
SCC (1000/ml)	136.4	585.6 ** ¹⁾
Count(1000/ml) of;		
Neutrophil	18.1	213.7 **
Monocyte	0.30	0.90 **
GI index for;		
<u>S.aureus</u>	0.120	1.209 **
<u>E.coli</u>	0.129	1.215 **

¹⁾ The result of paired t-test indicate that the difference of all items between foremilk and stripping are significant ($p < 0.01$).

しいことが示された。また、GIは、S.aureusおよびE.coliを対象とした場合のいずれについても、後しぼり乳のそれが前しぼり乳を上回っていることが明らかにされた。

これらのことから、食作用を示す好中球などの食細胞を多く含んでいる搾乳の直後に乳房内に存在している乳汁の方が、食細胞の数が少ない搾乳前に乳房内に存在する乳汁に比べ、細菌の発育抑制効果がより大きいという現象が示された。

多くの報告^{28, 34, 72, 76, 85, 90})によって、乳汁中の好中球および単球は、病原菌を捕食することによってその発育を抑制する効果を有しており、乳房内に侵入した病原菌の定着、増殖を阻止する役割を果たすことが知られている。しかしながら、好中球や単球以外にも、いくつかの酵素、タンパク質などの乳汁中の物質が、細菌の発育抑制に関与していることが知られている^{26, 47, 86})。

それらの一つに、溶菌作用を有する酵素のリゾチームが挙げられている。その乳汁中の濃度は、CHANDONら¹¹)によれば、乳汁1ml当たり0.13 μ gとヒトの乳汁中リゾチームの1/3,000に過ぎず、その乳汁中の量は十分に多いものではないと報告している。しかしながら、VAKILら¹⁰⁶)は、リゾチームがE.coliの発育の抑制に対して重要な役割を果たすことを報告しており、またERHARDTら²⁷)は、乳汁中のリゾチーム濃度が高い分房は、それが低い分房に比べてS.aureusの発育を抑制する効果が大きいことを報告している。

また、鉄と結合するタンパク質であるラクトフェリンも細菌の発育を抑制する機能を有することが知られている。通常の泌乳時における乳汁中のラクトフェリン濃度は、臨床型乳房炎時には増加するが、初乳中および乾乳直後の乳汁中における濃度の1/10~1/80と低

いことが知られている。しかしながら、ラクトフェリンは鉄の要求が高い *E. coli* などの腸内細菌科の細菌と鉄を競合することによって、その発育を阻害すること^{3, 86, 102)}、また、好中球の捕食した異物の消化を補助する役割を果たすこと^{86, 102, 103)}が知られている。

さらにこの他にも、細菌の発育を抑制する物質が乳汁中に存在していることが知られている。すなわち、ある種の *Streptococcus* の発育を阻害するラクトペルオキシダーゼ、またある異物に対する好中球や単球の食作用を特異的に促進する免疫グロブリンなどの存在も知られている⁸⁶⁾。

これらのことから、乳汁が細菌の発育を抑制する程度は、乳汁中の好中球および単球の存在する水準のみに影響されるわけではなく、いくつかの乳汁中の成分が関与しており、またそれらが相互に関連しあい、発育抑制機能を向上させていると考えられる。本実験においては、リゾチームやラクトフェリンなどの変化については検討していないため、乳汁の細菌発育抑制効果の増大が好中球などの食細胞の増数だけに起因するものであるかどうかは確認されなかった。しかしながら、搾乳直後に乳汁の細菌発育抑制効果が増大することに対して、好中球などの白血球の増数はなんらかの関連があることが示唆された。すなわち、上述のように細菌の侵入が容易になると考えられる搾乳直後において、細菌が侵入した場合であっても、乳頭孔の直上の乳頭槽内に貯溜する乳汁内の好中球などの作用によって、その発育が抑制されると推察された。

今後さらに、搾乳直後における乳汁中の好中球が細菌の発育の抑制にどのように関与するかを明確にするために、リゾチーム、ラクトフェリンなどの他の乳汁成分について検討を加えとともに、実

際に好中球がどの程度細菌を捕食するかを明らかにし、また病原菌の感染が成立しないために必要となる好中球数についても考慮する必要があると考えられる。

小括

非感染乳房の搾乳後にみられる乳汁中の好中球の増加の意義について考究するために、細菌感染の認められない乳房を用いて、乳汁の細菌発育抑制効果が搾乳前後にどのように変化するかを検討した。

搾乳時の前および後しぼり乳について、1 ml当りの体細胞数、種類別の体細胞数および細菌発育抑制効果指標（以下、GI）を求めたところ、後しぼり乳中には、前しぼり乳よりも多くの体細胞が含まれており、とくに好中球の増数が著しいこと、また同時にGIも増大することが示された。

乳汁の細菌発育抑制効果の発現に対して、好中球の増数がどの程度関与するかは今後検討を要するが、搾乳後の乳汁中好中球の増数が、乳房内に病原菌が侵入しやすい時期における生体の細菌感染に対する防御機構になんらかの関係を持つものと推察された。

総括

本研究は、種々の要因によって乳汁中体細胞数などの乳汁性状が変動する状況を明らかにし、またその変動の機構および意義について検討するために、一連の調査、実験を行ったものである。すなわち、まず第1章において、出荷合乳中または個体合乳中の体細胞数がいくつかの要因によって変動する状況について、また第2章において、乳房乳の乳汁中体細胞数などの乳汁性状が、搾乳中および搾乳後に経時的に変動する状況とその変動の生体における意義について検討した。その結果、次の諸点が明らかにされた。

(1) 出荷合乳中または個体合乳中の体細胞数の変動について。

① 出荷合乳中の体細胞数と、当該牛群中に体細胞数が異常に多い個体の占める割合との関係を示した。この結果から、出荷合乳中の体細胞数の検査結果によって、当該牛群に体細胞数が異常に多い個体がどの程度存在するかを推定する算式を求めた。この算式を用いることによって、検査対象の牛群の管理状態の良否を把握することができ、それにより適切な乳房炎防除対策を講じるための有用な指針が得られた。

② 個体乳中の体細胞数が、産次、泌乳時期および季節によって変動する状況を検討した結果、これらのうち体細胞数の変動にもっとも大きく関与する要因は産次であり、産次が進むにしたがって増加する傾向があることが示された。また泌乳時期については、体細胞

数の変動に対する重要度は小さいことが示された。また、季節の影響は、九州のような暖地においては夏季に増加する傾向があるものの、北海道のように冷涼な地域においてはその影響は小さいことが示された。個体乳中体細胞数の定期的な検査結果は、亜臨床型乳房炎に罹患している疑いがもたれる個体を発見するために有効な手段であり、それをさらに有効なものとするためには、産次による体細胞数の補正とともに、地域によっては季節による補正の必要があることを指摘した。

③ 個体乳中の体細胞数が、後しぼりの中止によってどのように変化するかを検討したところ、産次の進んだ個体および中止前に乳汁中体細胞数が多い個体ほど中止にともなう体細胞数の増加量が大きい。中止後7週間には中止前の水準に回復すること、また、初産牛および中止前に乳汁中体細胞数が少ない個体については、後しぼり中止の影響は軽微であることを示した。適切な搾乳は乳房炎の防除のために不可欠であるが、本実験の結果から、少なくとも初産牛あるいは体細胞数の水準が少ない個体については、後しぼりは不要であるといえ、また、それ以外の個体についても、その影響は長期にわたるものではないため、中止直後における乳房炎の発生に充分注意すれば中止してもよいと結論した。なお、個体の状態によって、後しぼり中止の影響の程度が異なるという知見は、他の搾乳手法の変更時においても、参考になるものと思われた。

(2)搾乳時および搾乳後の体細胞数などの経時的变化について。

①搾乳経過中における乳汁中体細胞数とその種類別構成比，乳汁の電気伝導度およびNAGase活性の変化の状況を，細菌感染状況の異なる分房を用いて検討したところ，体細胞数は細菌感染状況に関係なく一様に増加するが，体細胞の種類別構成比の変化の程度は，分房の細菌感染状況によって大きく異なっていた。すなわち，乳房炎の起因菌としてとくに問題となる1次性病原菌に感染している分房については，搾乳の経過中つねに好中球の占める割合が大きいものに対して，非感染分房については，搾乳の経過にともない好中球の割合が上昇する傾向がみられた。電気伝導度については，1次性病原菌感染分房のみ変化し，搾乳終了頃に大きく上昇した。NAGase活性については，非感染分房では搾乳中にほとんど変化しないが，1次性病原菌感染分房については搾乳の終了に向かい大きく上昇した。これらから，各分房の乳房炎の状況を把握するために，体細胞数およびその構成比を調べる場合は搾乳直前に，また電気伝導度あるいはNAGase活性を調べる場合は搾乳の後期に試料を採取することによって，判定を誤ることが少なくなると考えられた。

②搾乳後の試料採取時期による体細胞数などの変化の状況を，細菌感染状況の異なる分房を用いて検討した。体細胞数は，いずれの分房においても，搾乳後2時間に急増した後，次の搾乳前まで次第に減少した。その際の変化を搾乳時の前しぼり乳の体細胞数に対する比率で示すと，分房の細菌感染状況に関係なくほぼ同様の値を示した。体細胞の種類別構成比は細菌感染状況によって異なっており，

1 次性病原菌感染分房については全試料採取時期を通じてつねに好中球の割合が大きいものに対して、非感染分房については、搾乳直後に好中球の割合が大きく、搾乳後の時間経過にともないその割合は次第に減少する傾向が認められた。電気伝導度については明瞭な変化は認められなかった。NAGase活性は、非感染分房においてはほとんど変化しないものに対して、感染分房においては搾乳後数時間に大きく上昇した。これらから、任意の時刻に採取した試料について検査を行う場合、体細胞数は細菌感染状況が不明な分房であっても搾乳後の経過時間を考慮した係数を乗ずることによって通常の搾乳時の前しぼり乳の値を推定できること、また、搾乳後数時間に試料を採取した場合には、NAGase活性による判定が有効であることが示された。

③搾乳の終了後、生成された乳汁が次第に乳房内に貯溜する過程における乳汁諸性状の変動を、体細胞の乳汁中への出現状況を中心に検討した。乳房内に貯溜した乳汁中の体細胞数は、搾乳後の経過時間に比例して増加するわけではなく、乳房内に貯溜する乳汁が少ない搾乳後短時間内に、乳汁中に出現する体細胞が多いことが示された。また、非感染分房においては、好中球の乳汁中への移行が、搾乳後の短時間内に盛んにみられるが、その後乳房内に貯溜する乳汁が増加するにしたがって、乳汁中へと移行する数が次第に少なくなった。これに対して、1 次性病原菌感染分房については、乳房内に貯溜する乳汁が多くなった時期においても、好中球の割合が高かった。これらのことから、細菌感染の認められない健康な分房においては、乳房内圧が低い時期に好中球の乳汁中への移行が起こりや

すく、乳房内圧が高まるにつれてその移行が妨げられることが推測されたが、一方、1次性病原菌の感染がみられる乳房内においては、好中球が乳汁中へつねに多量に遊出するため、乳房内圧が高い時期においても好中球の割合が高くなると思われた。

④搾乳直後に乳房内に貯溜する乳汁の細菌発育抑制効果を、細菌感染の認められない分房について、搾乳時の前しぼり乳と比較して検討したところ、単位乳汁量当りの好中球数が有意に多い搾乳直後の乳汁の方が、細菌発育抑制効果が大きいことが示された。細菌発育の抑制に対して好中球がどのように関与するかは、今後詳細に検討する必要があるが、健康な分房においても認められる搾乳後の好中球増数は、病的な原因によるものとは異質であり、乳房内への細菌侵入が起こりやすい時期である搾乳直後における生体の防御機構に関与するものと思われた。

以上のように、種々の条件による体細胞数の変動の様相、機構あるいは意義について検討し、体細胞数の検査に基づく乳房炎の防除対策の推進に資する有用な知見が得られた。すなわち、各牛群あるいは各個体の体細胞数検査の結果に基づき、飼養管理方法の良否を評価し、乳房炎牛が多く存在すると判断される場合には、適切な指導によって管理方法の改善を図る上で、本研究の第1章において得られた知見が、また亜臨床型乳房炎の疑いのもたれる分房を的確に判定する方法の確立に資する上で、第2章において得られた知見が有用となると思われる。

謝 辞

稿を終えるに当たり、主指導教官として、研究の企画、実験の実施および結果の取りまとめに際し、終始貴重な御意見、御指導を賜った東京農工大学農学部 野附 巖教授、ならびに研究の遂行に当たり終始適切な御指導、御助言を賜った茨城大学農学部 正田陽一教授、東京農工大学農学部 鎌田寿彦助教授、同 竹村勇司助手に深甚の謝意を表します。また、実験上の諸問題を解決する上で、貴重な御意見をいただき、実験の実施に御便宜を図っていただいた北里大学獣医畜産学部 市川忠雄教授、筑波大学医療技術短大部 市川意子博士、鯉淵学園 中野光志教授、農林水産省畜産試験場育種部動物第1管理室 高橋敏治前室長、同 尾台昌治主任研究官に深く感謝するとともに、快く資料を御提供下さった(社)家畜改良事業団ならびに静岡県富士開拓農業協同組合の関係各位に対して、また、体細胞数、NAGase活性などの測定を行う上で惜しみない御協力を賜った、東京都畜産試験場ならびに(株)日産合成工業の関係者各位に深く感謝する次第です。最後に、家畜の飼養管理に際して多大な御協力を賜わった、東京農工大学農学部附属農場の関係者各位、さらに終始御助力、激励下さった、東京農工大学農学部家畜学講座の卒業・修了生、学生諸兄に、心から感謝の意を表します。

参考文献

- 1)青木康浩, 野附 巖, 中野光志, 夏季における生乳中体細胞数の変化について. 第81回日本畜産学会大会要旨. 172. 1989.
- 2)BARDAN, A.E., Milk conductivity and its use for detection of mastitis. *Indian.Vet.J.*, 64: 733-737. 1987.
- 3)BISHOP, J.G., F.L.SCHANBACHER, L.C FERGUSON and K.L.SMITH, In vitro growth inhibition of mastitis-causing coliform bacteria by bovine apo-lactoferrin and reversal of inhibition by citrate and high concentrations of apo-lactoferrin. *Infect. and Immun.*, 14:911-918. 1976.
- 4)BLACKBURN, P.S., The variation in the cell counts of cow's milk throughout lactation and from one lactation to the next. *J. Dairy Res.*, 33:193. 1966.
- 5)BLOSSER, T.H. Economic losses from and the National Research Program on mastitis in the United States. *J.Dairy Sci.* 62:119-127. 1979.
- 6)BLOWEY, R.W., An assessment of the economic benefits of a mastitis control scheme. *Vet.Rec.*, 119:551-553. 1986.
- 7)BODOW, G.W., W.J.BATTISTA and L.H.SCHULTZ, Variation in somatic cell counts in dairy herd improvement milk samples. *J. Dairy Sci.*, 59:1119-1123. 1976.
- 8)BOOTH, J.M., Progress in controlling mastitis in England and Wales. *Vet. Rec.*, 122:299-302. 1988.
- 9)BRAND, A., D.C.KNOTTENBELT and F.W.G.HILL, An integrated udder health programme for dairy herds. *Vet.Ann.*, 28:49-55. 1988.
- 10)BROWN, R.W., J.L.THOMAS, H.M.COOK, J.L.RILEY and G.D.BOOTH, Effect of environmental temperature stress on intramammary infections of dairy cows and monitoring of body and intramammary temperatures by radiotelemetry. *Am.J.Vet.Res.*, 38:181-187.1977.
- 11)CHANDON, R.C., R.M.PARRY, Jr. and K.M.SHAHANI, Lysozyme, lipase and ribonuclease in milk of various species. *J.Dairy Sci.*, 51:606-607.1968.

- 12) CULLEN, G.A., Cell counts throughout lactation. *Vet. Rec.*, 83:125-128. 1968.
- 13) CULLEN, G.A., Short term variations in the cell count of cows' milk. *Vet. Rec.*, 80:649-653. 1971.
- 14) DANIEL, R.C.W. and E.D. FIELDEN, The relationship between Wisconsin mastitis test scores on cow composite samples and milk production. *N. Z. Vet. J.* 19: 157. 1971.
- 15) DATTA, A.K., H.B. PUCKETT, S.L. SPAHR and E.D. RODDA, Real time acquisition and analysis of milk conductivity data. *Trans. ASAE.* 27:1204-1210. 1984.
- 16) DIJKHUIZEN, A.A. and J. STELWAGEN. The economic significance of mastitis in the Netherlands. *Nether. Milk and Dairy J.* 36:267-269. 1982.
- 17) DOHOO, J.R., A.H. MEEK, S.W. MARTIN and D.A. BARNUM, Use of total and differential somatic cell counts from composite milk samples to detect mastitis in individual cows. *Can. J. Comp. Med.* 45:8-14. 1981.
- 18) DUIRS, G.F. and K.L. MACMILLAN, Interrelationships between somatic cell counts, production, age and mastitis organisms in individual cows. *Proceedings of the N.Z. Soc. Animal Prod.*, 39:175-179. 1979.
- 19) EBENDORFF, W., K. KARM and K.H. STORCHN, Studies on the effect of periodic suppression of stripping on the milk yield and udder health of cows. *Archiv Tierzucht*, 27: 17-31. 1984.
- 20) EBENDORFF, W., K. HARTMANN, K. KORNELIA, U. MORCHEN and I. DORGE, Eliminating machine stripping in second lactation - Effects on milk yield and udder health. *Mon. Vet. Med.*, 39:577-579. 1984.
- 21) EBERHART, E.J., H. GILMORE, S. SPENCER and L.J. HUTHINSON. Somatic cell counts related to mastitis and milk loss. *Sci. in Agri.* 27:10-11. 1980.
- 22) EBERHART, E.J., L.J. HUTHINSON and S.B. SPENCER. Relationships of bulk tank somatic cell counts to prevalence of intramammary infection and to indices of herd production. *J. Food Protect.* 45:1125-1128. 1982.
- 23) EMANUELSON, U. and E. PERSSON, Studies on somatic cells counts in milk of Swedish dairy cows. 1. Non-genetic causes of variation in monthly

- test-day results. Acta Agric.Scand., 34:33-44. 1984.
- 24)EMANUELSON,U. and E.PERSSON, Studies on somatic cells counts in milk of Swedish dairy cows. 2.Estimates of genetic parameters for monthly test-day results. Acta Agric.Scand., 34:45-53. 1984.
- 25)EMANUELSON,U. and E.PERSSON, Studies on somatic cells counts in milk of Swedish dairy cows.3. Adjustment for effect of stage of lactation. Acta Agri.Scand., 35:329-338. 1985.
- 26)遠藤一典, 皆川悦雄, 司城不二, 乳汁中に含まれる生物的機能を有する物質について. 第83回日本畜産学会大会講演要旨. 185. 1990.
- 27)ERHARDT,G.,F.MEYER and B.SENFT, Growth inhibition of Staphylococcus aureus after experimental infection of the udder by high and low concentration of lactoferrin and lysozyme in milk.Acta Microbio.Polo. 30: 239-246.
- 28)ESHelman,J.E., R.J.EBERHART and R.W.SCHOLZ, Effects of cream on bactericidal functions of bovine polymorphonuclear neutrophils. Am. J. Vet. Res. 42:738-742. 1981.
- 29)FERNANDO,R.S.,R.B.RINDSIG and L.SPAHR, Effect of length of milking interval and fat content on milk conductivity and its use for detecting mastitis. J. Dairy Sci., 64:678-682. 1981.
- 30)FERNANDO,R.S.,R.B.RINDSIG and L.SPAHR,Electrical conductivity of milk for detection of mastitis. J.Dairy sci., 65:659-664. 1982.
- 31)FERNANDO,R.S. and S.L.SPAHR, Effects of milking interval on selected milk constituents from normal and infected quarters. J.Dairy Sci.,66: 1155-1161. 1983.
- 32)FERNANDO,R.S., S.L. SPAHR and E.H.JASTER, Comparison of electrical conductivity of milk with other indirect methods for detection of subclinical mastitis. J.Dairy Sci., 68:449-456. 1985.
- 33)FETROW, J., The economics of mastitis control. Compend. Contin. Educ. Prac. Vet., 9:F103-F110. 1987.
- 34)FOX, L.K., D.D. HANCOCK, J.S.McDONALD and C.T.GASKINS, N-Acetyl- β -D-

- glucosaminidase activity in whole milk and milk fractions. *J. Dairy Sci.*, 71 :2915-2922. 1988.
- 36) FROST, A.J., Resistance mechanisms. *Proceedings of Intl. Symp. on Bovine Mastitis*. Indianapolis, Indiana, U.S.A., Sep.13-16, 1990. 1-9. 1990.
- 37) 福岡県酪農業協同組合連合会, 福岡県における乳質改善事例, 乳質改善資料, 70:1-31. 1987.
- 38) GILL, M. S. and C.W.HOLMES, Somatic cell count, mastitis and milk production in dairy herd. *N. Z. J. Dairy Sci. and Tech.*, 13, 157. 1978.
- 39) GOFF, K.R. and G.H.SCHMIDT, Effect of eliminating machine stripping of dairy cows on milk production, residual milk and mastitis. *J. Dairy Sci.*, 50:1787-1791. 1967.
- 40) GROMMERS, F.J., Host resistance mechanisms of the bovine mammary gland : An analysis and discussion. *Neth. Milk Dairy J.*
- 41) GUIDRY, A. J., Lactation. (Larson, B. L. eds.) 229-262. The Iowa State University Press. Iowa. 1985.
- 42) HAMANN, J., Milking hygiene, milking nad mastitis. *Intl. Symp. on Bovine Mastitis*. 210-220. 1990.
- 43) HEESCHEN, W.H., *World Animal Science. C. Production-system approach. 3. Dairy-cattle production.* (Gravert, H.O. eds.) 196-250. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam. 1987.
- 44) HOGELTON, M and M.A.SAAD, Flow cytofluorometric characterization of bovine blood and milk leukocytes. *Am. J. Vet. Res.*, 47:2012-2016. 1986.
- 45) 北海道生乳検査協会, 網走支庁管内の生乳検査モデル事業の実施概要, 昭和57年度事業成績書. 1983.
- 46) HOLMES, C.W. and Y. MOORE, Milking methods and herd bulk-milk somatic cell counts, resulting survey. L. I. A. Wellington-Hawke's Bay. 1980.
- 47) ICHIKAWA, M., T. ICHIKAWA, Y. AOKI, and I. NOTSUKI, Influence of inoculum size and strain of bacteria on inhibition of bacterial growth in milk. *Proceed. 5th AAAP*, Vol. 3, 200. 1990.

- 48)市川忠雄,村上達男,興津善徳,機械搾乳に関する研究 1.ミルカーによる過搾乳が乳房,乳質におよぼす影響 2.不完全搾乳が乳牛の泌乳機能におよぼす影響,静岡県畜産試験場研究調査報告,152-196.1973.
- 49)ICHIKAWA,T.,I.NOTSUKI and T.KUWANA, Influence of renewal of milking equipment on milkability and udder health. J. Agri. Structures, 23:28-36. 1982.
- 50)ICHIKAWA,T.,I.NOTSUKI and T.NAKANO, Variation in several mastitis indicators in relation to sampling time. Kieler milchwirtschaft. Forschungsber., 37:370-374. 1985.
- 51)市川忠雄,牛の乳房炎をめぐる最近の国際情勢(6),畜産の研究,40:1180-1183. 1986.
- 52)ICHIKAWA,T., I.NOTSUKI, Y.AOKI, M.ICHIKAWA and T.FUJISHIMA, Effects of milking machine deformities on udder health. J.Soc.Agri.Struct. Jpn., 18:49-57. 1988.
- 53)IGONO,M.O., H.D.JOHNSON, B.J.STEEVENS and M.D.SHANKLIN, Effect of season on milk temperature, milk growth hormone, and somatic cell counts of lactating cattle. Intl.J. Biometeology. 32:194-200. 1988.
- 54)INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, A monograph on bovine mastitis. 1971.
- 55)INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, Proceeding of the IDF seminar on mastitis control 1975, Ann.Bull., 85:77-152. 1975.
- 56)INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, Laboratory methods for use in mastitis work. IDF Doc.,132: 1981.
- 57)INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, Bovine mastitis. Definition and guidelines for diagnosis. Bull.IDF. 211: 4-9. 1987.
- 58)INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Machine milking and mastitis. Bull.IDF. 215.33-47. 1987.
- 59)INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, Mastitis Newsletter.14. 1989.
- 60)KARPOV,V.V., V.A.PARIKOV, A.V.ROMANOV and V.T.KHOVANSKIT, Device for detecting mastitis in dairy animals. USSR Patent,SU1348721 A1,2.1987.
- 61)KENNEDY,B.W., M.S.SETHAR, A.K.TONG, J.E.MOXLEY and B.R.DOWNEY,

- Environmental factors influencing test-day somatic cell counts in Holsteins. *J. Dairy Sci.*, 65:275-280. 1982.
- 62) KING, J.O.L., Mastitis as a production disease. *Vet. Rec.*, 91:325-330. 1972.
- 63) KITCHEN, B.J., Enzymic methods for estimation of somatic cell count in bovine milk. I. Development of assay techniques and a study of their usefulness in evaluating the somatic cell content of milk. *J. Dairy Res.*, 43:215-258. 1976.
- 64) 久米常夫, 牛の乳房炎, 乳房の感染と抵抗 - その一断面 -, 7-9. 近代出版. 東京. 1984.
- 65) 薫田耕平・岩渕 功・山本英雄・堀北哲也・岡田 望・柴田 浩・元井葎子, 蛍光法による牛の乳汁中 N A G ase 活性測定, *日獣会誌*, 42:99-103. 1989.
- 66) LARSON, B.L., Biosynthesis and cellular secretion of milk. in *Lactation*. (LARSON, B.L. eds.) 129-163. The Iowa State University Press. Ame. 1985.
- 67) MACMILLAN, K.L. and G.F. DUIRS, Cell counts in milk, causes and possible cares. *Proceed. Ruakura Farmers Confer.*: 189. 1980.
- 68) MAFFEO, G., F. RIBOLDI and A. ZECCONI, Continuous measurement of the conductivity of milk during milking. *Archi. Vet. Italia*. 36:102-109. 1985.
- 69) MARSCHKE, R.J., R. ROBERTS and B.J. KITCHEN, The effect of sampling time on N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAGase) levels in bovine milk and its relevance to mastitis diagnosis. *Aust. J. Dairy Technol.* 42:3-6, 10. 1987.
- 70) MATTILA, T. and M. SANDHOLM, Antitrypsin and N-acetyl- β -D-glucosaminidase as markers of mastitis in a herd of Ayrshire cows. *Am. J. Vet. Res.*, 46:2453-2456. 1985.
- 71) MOXLEY, J.E., B.W. KENNEDY, B.R. DOWNEY and S.T. BOWMAN, Survey of milking hygiene practices and their relationships to somatic cell counts and milk production. *J. Dairy Sci.*, 61:1637-1644. 1978.
- 72) MULLAN, N.A., E.A. CARTER and K.A.T. NGUYEN, Phagocytic and bactericidal

- properties of bovine macrophages from non-lactating mammary glands. Res.Vet.Sci. 38: 160-166. 1985.
- 73)中野光志, 田代安司, 松浦健二, 市川忠雄, 谷沢 茂, 牛乳中の細胞群に関する衛生学的研究. 1. 牛乳中の細胞分類について. 第87回日本獣医学会大会報告. 232. 1979.
- 74)NELSON, F.E., J.D.SCHUN and G.H.STOTT, Influence of season on leukocytes in milk. J.Dairy Sci. 50(Suppl.):978(Abstr.).1967.
- 75)NEW ZEALAND MINISTRY OF AGRICULTURE AND FISHERIES. Agricultural Research Division. Annual report 1981/82. 1982.
- 76)NEUBOULD, N.A., H.G.SAURASTI and D.A.BARNUM, Studies on phagocytosis of Staphylococcus aureus by leukocytes from the bovine udder. J.Path. 76: 127-132. 1966.
- 77)NG-KWAI-HANG, K.F., J.F.HAYES, J.E.MOXLEY and H.G.MONARDES, Variability of test-day milk production and composition and relation of somatic cell counts with yield and compositional changes of bovine milk. J.Dairy Sci., 67:361. 1984.
- 78)農林水産省技術会議事務局, 牛乳品質, 特に無脂乳固形分含量向上技術の開発に関する研究, 15-20. 1984.
- 79)NOTSUKI, I., T.ICHIKAWA, T.NAKANO, Y.OBARA and M.YAMAMOTO, Diagnostic significance of variation on conductivity during milking. in Proceed. 5th WCAP. 891-892.1983.
- 80)O'SHEA, J. Eliminating machine stripping. Irish J. Agri.Res., 9:301-309. 1970.
- 81)OBARA, Y. and M.KOMATSU, Relationship between N-acetyl- β -D-glucosaminidase activity and cell count, lactose, chloride or lactoferrin in cow milk. J.Dairy Sci., 67:1043-1046.1984.
- 82)OSHIMA, M., Physiology of mammary glands. (YOKOYAMA, A., H.MIGUNO and H. NAGASWA eds.) 363. Univ. Park Press, Baltimore, MD. 1978.
- 83)OSTEMSSON, K., M.HOGELTON and M.A.SAARD, Differential cell counting in fraction-collected milk from dairy cows. Acta.Vet.Scand. 29:493-500.

- 1988.
- 84) PAAPE, M.J., W.D.SCHULTZE, R.H.MILLER and J.W.SMITH, Thermal stress and circulating erythrocytes, leukocytes and milk somatic cells. J.Dairy Sci., 56:84-91. 1973.
- 85) PAAPE, M.J., A.J.GUIDRY, S.T.KIRK and D.J.BOLT, Measurement of phagocytosis of ³²P-labeled Staphylococcus aureus by bovine leukocytes: Lysostaphin digestion and inhibitory effect of cream. Am.J.Vet.Res. 36: 1737-1743. 1975.
- 86) PAAPE, M.J., W.D.SCHULTZE and A.J.GUIDRY, Development of natural defense mechanisms. Kiel. Milchwirtschaft. Forschungsber. 37:447-457. 1985.
- 87) PANKEY, J.W., Hygiene at milking time in the prevention of bovine mastitis. Br.Vet.J., 145:401-409. 1989.
- 88) PRENTICE, J.H., The conductivity of milk. The effect of the volume and degree of dispersion of the fat. J.Dairy Res., 29:131. 1961.
- 89) RAUBERTAS, R. F. and G. R. SHOOK, Relationship between lactation measures of somatic concentration and milk yield. J.Dairy Sci., 65: 419-425. 1982.
- 90) REINTZ, D.M. and M.J.PAAPE, Deficiency in the lowering of pH within phagosomes of milk polymorphonuclear leukocytes (PMNL) following phagocytosis. J.Dairy Sci. 61(Suppl.1):105. 1979.
- 91) RENEAU, J.K., Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. J.Dairy Sci., 69:1708-1720. 1986.
- 92) SATSRY, N.S.R., A.METZ, J.ZAHN, H.GRIMM and K.RABOLD, Influence of certain factors concerning the milker, the milking machine and defects in its operation health of cows in Algau region of Germany. Indian J.Dairy Sci., 41:292-297. 1988.
- 93) SCHALM, O.W. and S.W.MEAD, The effect of incomplete milking on chronic mastitis caused by Streptococcus agalactiae. J. Dairy Sci., 26:823-832. 1943.

- 94)SCAHLM,O.W., E.J.CARROLL, and N.C.JAIN, Bovine mastitis.13-19. Lea & Febiger. Philadelphia. 1971.
- 95)SHELDRAKE,R.F., R.J.T.HOARE and G.D.McGREGOR, Lactation stage, parity and infection affecting somatic cells, electrical conductivity and serum albumin in milk. J. Dairy Sci., 66:542-547. 1983.
- 96)SHUKLA, P.C. and P.G.SUPEKAR, Cell count in milk samples of normal and mastitic animals. Livestock Advis. 13:37-41. 1988.
- 97)SHULTZE,W.D. and S.C.BRIGHT, Changes in penetrability of bovine papillary to endotoxin after milking.Am.J.Vet.Res.,44:2373-2375.1983.
- 98)SIMENSEN,E., Milk somatic cells in dairy cows kept on pasture or confined indoors during the summer. Nord.Vet.Med.,28:603. 1976.
- 99)SINGH,B. and R.T.MARSHALL, Usefulness of an ATP assay technique in evaluating the somatic cell content of milk. Milchwissenschaft,33:11-13.1978.
- 100)SMITH,G.W., R.E. PEARSON and P.D. THOMPSON, Eliminating stripping in machine milking. J.Dairy Sci., 61:781-787. 1978.
- 101)SMITH,J.W. and W.D.SCHULTZE, Variation in cell content of milk associated with time of sample collection. 1. Diurnal variation., J. Dairy Sci., 50:1083-1087. 1967.
- 102)SMITH, K.L. and F.L.SCHANBACHER,Lactoferin as a factor of resistance to infection of the bovine mammary gland.J.Am.Vet.Med.170:1224-1227. 1977.
- 103)SMITH,K.L., D.A.TODHUNTER and P.S.SCHOENBERGER, Lactoferin and defense of the involuted mammary gland against infection by environmental pathogens. Kieler Milchwirtschaft. Forschungsber. 37:477-481. 1985.
- 104)塚本 達, 高橋雅信, 笹島克己, 玉木哲夫, 扇 勉, 上村俊一, 島田実幸, 搾乳中の電気伝導度の最大値とその分房間差値による異常分房の検出精度. 第82回日本畜産学会大会要旨. 84. 1989.
- 105)TURNER,C.W., The mammary gland. I.The anatomy of the udder of cattle

- and domestic animals. 27-35. Lucas Brothers. Columbia. 1952.
- 106) VAKIL, J.R., R.C. CHANDAN, R.M. PARRY and K.M. SHAHANI, Susceptibility of several microorganisms to milk lysozymes. *J. Dairy Sci.* 52:1192-1197. 1969.
- 107) WAITE, R. and P.S. BLACKBURN, The chemical composition and the cell count of milk. *J. Dairy Res.*, 24:328. 1957.
- 108) WEGNER, T.N., J.D. SCHUN, F.E. NELSON and G.H. STOTT, Effect of stress on blood leukocyte and milk somatic cell counts in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 59:949-956. 1976.
- 109) WHITE, F. and A.S. RATTRAY, Diurnal variation in the cell content of cows' milk. *J. Comp. Path.* 75:253-261. 1965.
- 110) WILLET, G.S. D.J. KIRPES, D.M. FLUHARTY and L.F. ROGERS. An economic analysis of mastitis control measures for selected Washington dairy herds. *Research Bull.*, Agri. Res. Center, Washington State Univ. XB 0919. 1982.
- 111) YAMAMOTO, M., T. KUME, T. NAKANO, Y. OBARA, T. KUDO, T. ICHIKAWA and I. NOTSUKI, Automatic measurement of electrical conductivity for the detection of bovine mastitis. *Kiel. Milchwirtsch. Forschungsber.*, 37 :364-369. 1985.
- 112) YOUL, B.S. and T.J. NICHOLLS, The relationship between somatic cell counts and lactation yield of dairy cows. *Aust. J. Dairy Technol.*, 42: 68-70. 1987.
- 113) 全国乳質改善協会, 乳質改善技術浸透事業実施概況, 乳質改善資料, 71:45-57. 1987.

