

搾乳前後の乳汁中の体細胞数の変動

松井 司・栗原 優佳子・明間 基生・坂井 郁雄

Observation of Variation on Somatic Cell Count during Milking

Tsukasa MATSUI, Yukako KURIHARA, Motoo AKEMA and Ikuo SAKAI

要 約

搾乳前後の乳汁中の体細胞数の推移を確認するために、分房ごとに搾乳の前・中・後に乳汁を採取し、体細胞数を測定するとともに、体細胞の種類別構成比を観察した。

健康な分房においても乳房炎の罹患分房においても、後搾り乳の体細胞数は前搾り乳や中間乳に比べて有意に増加し、搾乳前後で変動することが確認された。健康な分房では、前搾り乳や中間乳の体細胞数は概ね 10 万個/ml 未満であり、後搾り乳でその約 3～10 倍に増加することが確認された。乳房炎の牛でも、中間乳で 10 万個/ml 未満の分房が 5 割以上あり、罹患した分房以外は健康な牛の分房と同程度であることが確認された。

乳房炎に罹患していない健康な分房では、後搾り乳で好中球比率がやや増加する傾向が見られたが、乳房炎に罹患している分房では、搾乳前後で細胞構成比に変化は見られなかった。一般的には、体細胞数の高い乳汁では、好中球の比率が高くなる傾向が見られた。

I 緒 言

牛乳の消費停滞を解消するために、よりおいしい牛乳の生産技術が求められている。このような状況の下、風味に大きく影響すると言われていた生乳中の体細胞数が重要視されている。福井県においては、酪農家の生乳中の平均体細胞数が全国平均値より高いことに加え、平成 18 年 10 月から生乳中の体細胞数が取引価格に反映されることになり、経営に直接影響を及ぼしていることから、その低減対策が再検討されている。

生乳中の体細胞数低減対策を行うには、その増加要因を究明するために、牛個体ごとや分房ごとの乳汁中の体細胞数を測定することになる。この場合に、搾乳の前後でその測定値が変わるといことが知られているので、測定用試料と

して乳汁を採取するタイミングが重要である。

また、乳房炎の簡易な化学的検査法である CMT 検査や体細胞数測定を実施する場合に、搾乳前の試料採取が良いのか、搾乳後の試料採取が良いのかと言う指導現場での混乱もある。そこで、搾乳中や搾乳前後で、同一分房での体細胞数は、どのように推移するのかを確認するために調査を実施した。

II 材料と方法

1 供試牛と供試分房

当场繋養のホルスタイン種の搾乳牛で、それぞれ個体の体細胞数が 10 万個/ml 未満で臨床的にも健康と思われる乳房を持つ牛 (以下：健康牛)4 頭の 16 分房と、個体の体細胞数が 40 万

個/ml以上で臨床型あるいは潜在性乳房炎が疑われる牛(以下:乳房炎牛)10頭の40分房を供試牛および供試分房とした。

表1 供試した頭数、分房数、試料数等

群	頭数	分房数	体細胞数 測定試料数	細胞種類別構成比 観察標本作製数
健康牛	4頭	16分房	48*	12
乳房炎牛	10頭	40分房	120	60
小計	14頭	56分房	168	72
その他				
バケツ乳、バルク乳等			24	16
合計			192	88

*:1分房あたり3回測定(搾乳前・中・後)

これらの供試牛14頭については、1頭につき4分房で、それぞれ前搾り乳・中間乳・後搾り乳の3点の試料を採取し、合計168点について体細胞数を測定した。また、その14頭のうちの6頭(健康牛:1頭、乳房炎牛:5頭)の72点については、体細胞の種類別構成比率(以下:細胞構成比)を観察した。

これらの他に、試料採取のためにバケツミルカーで搾乳した後にバケツ内に貯留した牛個体の乳汁(以下:バケツ乳)やバルククーラー内の生乳(以下:バルク乳)についても24点を試料として採取した。さらにそのうちの16点については、細胞構成比を観察した(表1)。

2 試料の採取方法

試料は朝あるいは夕方の搾乳作業時に採取し、供試牛からは、バケツミルカーで搾乳することとした。試料採取方法の詳細は表2のとおりで、それぞれ分房ごとに約10~20mlの試料を採取した。

表2 試料採取の方法

手順	作業	内容
①	手搾り	最初の数搾りをストリップカップに廃棄
②	手搾り	分房ごとの試料採取(前搾り乳)
③	ミルカー搾乳	ティートカップ装着 前日同時期の搾乳量のおよそ半量を搾乳 ティートカップ離脱
④	手搾り	分房ごとの試料採取(中間乳)
⑤	ミルカー搾乳	ティートカップ装着 残量を搾乳しティートカップ離脱
⑥	手搾り	分房ごとの試料採取(後搾り乳)
⑦	ディッピング	
⑧	搾乳終了後	バケツ内の貯留乳から試料採取(個体乳=バケツ乳)

3 測定項目および測定方法

測定項目は試料中の体細胞数、細胞構成比とした。

体細胞数は、蛍光光学式体細胞測定機(Fossomatic 90、Foss Electric社製)を用い常法により測定した。

細胞構成比は、体細胞数を測定した試料の残り10mlを1,500回転/分で30分間遠心分離し、沈渣をスライドグラスに塗抹し、メイギムザ染色した標本を作製して観察した。ひとつの標本につき300個以上の細胞を観察し、単核細胞、好中球、リンパ球、その他の細胞に分類し、それぞれの構成比率を算出した。

4 統計処理

分房ごとに測定した体細胞数は、前搾り乳、中間乳および後搾り乳の群ごとに平均値を計算し、スチューデントのt検定にて、1%水準で2つの群間の平均値の有意差を確認した。

III 結果

1 健康牛の体細胞数の推移

健康牛4頭の16分房(以下:健康分房)について、前搾り乳、中間乳、後搾り乳の体細胞数の平均値の推移を図1に示した。前搾り乳は3.9万個/ml、中間乳は4.1万個/ml、後搾り乳は33.9万個/mlであった。後搾り乳の平均値は、それぞれ前搾り乳の平均値、中間乳の平均値と比較して、有意に増加していた。また、図には

示さなかったが、各分房ごとにそれぞれの推移を見ると、後搾り乳で前搾り乳や中間乳の約 3 倍から 10 倍に増加していた。

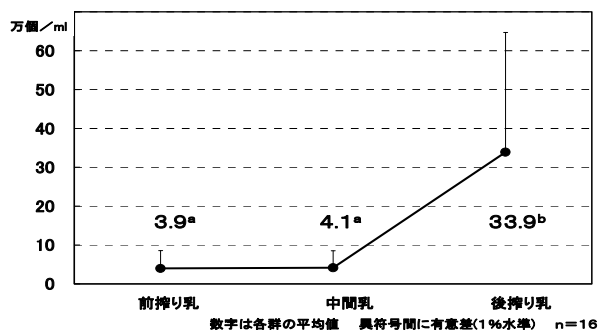


図1 健康分房の体細胞数の推移

2 乳房炎牛の各分房

乳房炎牛 10 頭の 40 分房について、その中間乳の体細胞数を表 3 に示した。中間乳の体細胞数が 10 万個/ml 未満のものが全体の 52.5% にあたる 21 分房(表 3 中 A ランク)あり、これらは潜在性も含めて乳房炎に罹患していない分房(以下：非罹患分房)と考えられた。また中間乳で体細胞数が 10 万個/ml 以上 40 万個/ml 未満のものが 4 分房(同 B：10.0%)、40 万個/ml 以上 100 万個/ml 未満のものが 4 分房(同 C：10.0%)、100 万個/ml 以上のものが 11 分房(同 D：27.5%)あった。

表3 乳房炎牛における分房の分類
(各分房の中間乳の体細胞数によるランク分け)

ランク	体細胞数 万個/ml	分房数	比率
A	<10	21分房	52.5%
B	10 ≤ <40	4 "	10.0%
C	40 ≤ <100	4 "	10.0%
D	100 ≤	11 "	27.5%
合計		40分房(10頭)	

B ランクの分房については、断言することは困難であるが、少なくとも体細胞数が 40 万個/ml 以上の C および D ランクの分房は、臨床型あるいは潜在性乳房炎の罹患分房(以下：罹患分房)と考えられた。

3 乳房炎牛の非罹患分房の体細胞数の推移

表 3 中 A で示した中間乳の体細胞数が 10 万個/ml 未満の非罹患分房(21 分房)について、前

搾り乳、中間乳、後搾り乳前・中・後の体細胞数の平均値の推移を図 2 に示した。これらの分房は図 1 で示した健康牛の健康分房とほぼ同様な推移が見られ、後搾り乳で有意に増加していた。

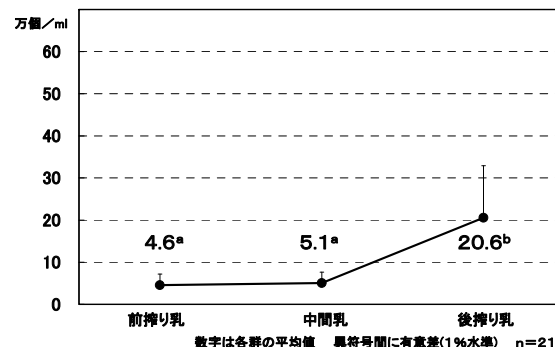


図2 潜在性乳房炎牛の非罹患分房の体細胞数の推移

4 乳房炎牛の罹患分房の体細胞数の推移

表 3 中 D で示した中間乳の体細胞数が 100 万個/ml 以上の罹患分房(11 分房)について、前搾り乳・中間乳・後搾り乳の体細胞数の平均値の推移を図 3 に示した。体細胞数の推移は、健康分房や非罹患分房のグラフと類似しているが、縦軸のレンジが大きいことと、中間乳でも前搾り乳よりもやや上昇する傾向があること、各平均値に有意差がないことが異なる点であった。

また、図には示さなかったが、表 3 中 B および C の体細胞数が 10 万個/ml 以上 100 万個/ml 未満の中程度の 8 分房でも、同様な傾向が見られた。

これらのことから、乳房炎牛においても、罹患分房でも、非罹患分房でも、体細胞数は後搾り乳で増加する傾向が確認された。また、非罹患分房は、健康牛の健康な分房と体細胞数やその推移の傾向が変わらないことも確認された。

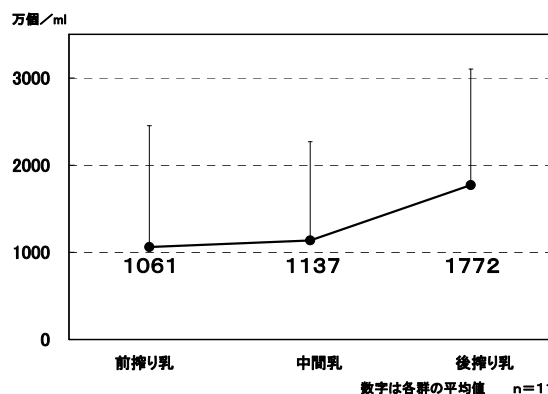


図3 潜在性乳房炎牛の罹患分房の体細胞数の推移

5 乳汁中に見られた体細胞の形態

塗抹標本の顕微鏡写真を図4に示した。分葉した核を持ち細胞質が中性に染まる好中球(図4中a)、大きな円形核を持ち細胞質が少ないリンパ球(図4中b)、細胞質内に特徴的な顆粒を持つ好酸球(図4中c)と好塩基球については、光学顕微鏡による観察で、その特徴的形態から細胞の種類が判別可能であった。

細胞の直径が白血球より大きく、細胞質に大小の脂肪顆粒を含む大型細胞(図4中d)、その細胞の核が変性しつつある過程にあるものや、細胞全体が変性・崩壊しているもの等(図4中e)も見られた。

これらの他に、円形あるいは類円形の核を持ち細胞質が比較的豊富な細胞も多数見られたが、核のくびれの有無や、細胞質内の脂肪顆粒の有無等により多様な形態を示し、上皮細胞かマクロファージかの判別が困難であった(図4中f)。

そこで今回は、考察の頁でも詳しく述べるが、判別可能な白血球以外で円形核を持つ細胞を、乳腺上皮由来の細胞も白血球由来の細胞もまとめて単核細胞として計測することにした。

6 細胞構成比

細胞構成比を観察した6頭(健康牛:1頭、乳房炎牛:5頭)の24分房を、表3で分類したのと同様に、それぞれの中間乳の体細胞数でAからDに分類し、10万個/ml未満のAランク分房群(16分房)、10~100万個/mlのB・Cランク分房群(3分房)、100万個/ml以上のDランク分房群(5分房)の体細胞数の平均値の推移を表4に、また細胞構成比の推移を図5に示した。

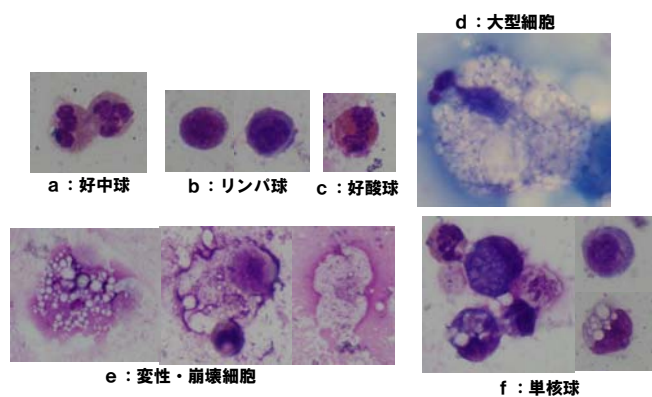


図4 乳汁中の体細胞

表4 体細胞の種類別構成比を観察した分房の体細胞数の推移(ランク別)

分房群 (n=)	前搾り乳	中間乳	後搾り乳
Aランク(16) [<10]	5.0	4.9	16.9
B・Cランク(3) [10~100]	34.8	49.7	143.0
Dランク(5) [100≤]	1780.5	1579.2	2146.8

単位:万個/ml

Aランク分房群、つまり健康な16分房については、体細胞数の平均値は、図1で示した健康牛の体細胞数の推移と同様に、前搾り乳の5.0万個/mlから後搾り乳の16.9万個/mlへと上昇している(表4)。また細胞構成比では、単核細胞は前搾り乳・中間乳・後搾り乳とも一貫して約40%の比率で観察され、好中球は約35~40%の比率で推移していた(図5)。

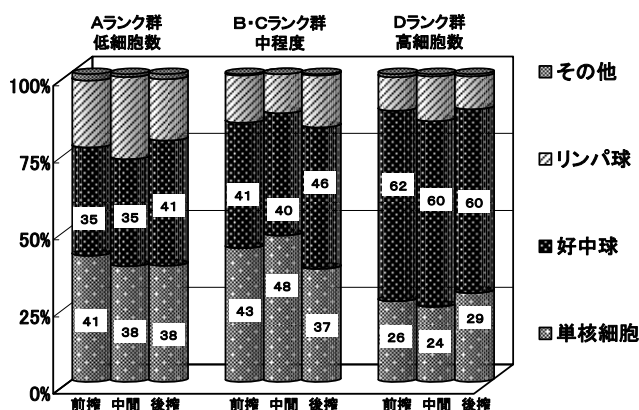


図5 体細胞の種類別構成比の推移

一方、Dランク分房群、つまり乳房炎の罹患分房については、非常に高いレベルで推移していて、その中でも後搾り乳が最も高かった。(表4)。また細胞構成比では、前搾り乳・中間乳・後搾り乳で一貫して好中球比率が高く、いずれも60%を超えていて、それに伴いリンパ球や単核細胞等の比率は低くなっていた(図5)。

表1で示したとおり、今回体細胞の形態を観察した72点の他に、バケット乳やバルク乳についても体細胞数の測定と細胞の形態を観察した標本が16点あり、総数で88点の細胞構成比を観察した。その中で体細胞数が100万個/ml未満の66点について、体細胞数と好中球比率の

関係を図6に示した。体細胞数が多い分房ほど、好中球比率が高くなる傾向が見られ、体細胞数が50万個/mlを超える分房の全てで、好中球比率が40%を超えていた。

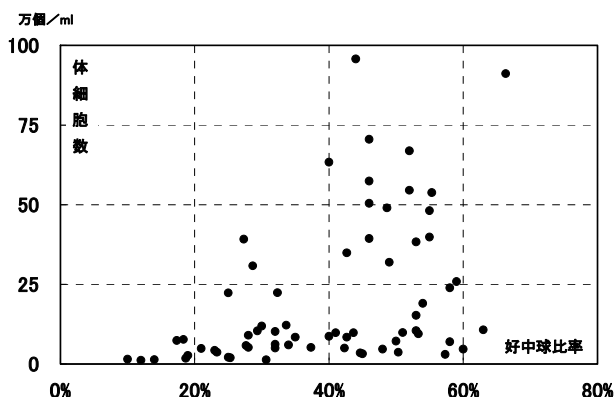


図6 体細胞数と好中球比率

IV 考察

1 体細胞数は後搾乳で上昇

加藤ら¹⁾は個体乳の体細胞数は搾乳前半で低く、後半で高くなると報告し、青木ら²⁾は搾乳中の分房ごとの体細胞数は、搾乳時間が経過するとともに徐々に増加し、後搾り乳が最も高くなると報告している。今回の結果からも同様に、健康な分房、潜在性乳房炎罹患分房のいずれにおいても、後搾り乳で増加することが確認された。

一方 Yamamoto ら³⁾は、搾乳経過中の体細胞の増加にはいくつかのパターンがあり、健康分房では搾乳経過中の増加は少なく、後搾り乳で急増すると報告している。これは今回の結果で健康分房において、前搾り乳と中間乳に差が見られなかったことと一致する。また今回、後搾り乳の体細胞数は、前搾り乳に比べて、3倍から10倍以上になることも確認されたが、このことも前述の報告と同等である。これらのことから、少なくとも健康分房における体細胞数は、搾乳経過中に変動するものの、前搾り乳と中間乳ではそれほど変わらず、後搾り乳で増加するものと思われた。

2 健康分房の体細胞数

今回供試した健康牛4頭の個体乳の体細胞数の平均値は5.3万個/ml(最小値2.4、最大値:8.8)であるが、その4頭の16分房中で、前搾り乳の体細胞数が20万個/mlを超えるものではなく、10万個/mlを超えるものが1分房のみであったことから、一般的な健康分房では、前搾り乳の体細胞数は10万個/ml未満であると考えられた。

従って、農場で分房ごとの体細胞数を測定する場合には、前搾り乳を試料とし、その測定値が10万個/ml未満であれば、健康分房であると判断することも有効であると思われた。

ただし、後搾り乳で体細胞数が増加するという特徴を活用すれば、慢性化して培養検査による細菌の検出が困難な潜在性乳房炎や、細胞数異常乳と呼ばれる非特異性乳房炎^{4),5)}等の摘発が困難なものを特定する場合には、時によっては後搾り乳による検査も有効だと思われた。

3 乳房炎牛の非罹患分房

今回供試した牛で、乳房炎牛10頭の40分房のうち、その中間乳で体細胞数が10万個/ml未満のものが21分房(52.5%)あった。それらについては、健康牛と同程度の体細胞数でありその推移も同様であったことから、乳房炎牛においても、その罹患分房以外では、健康牛と同程度の体細胞数であり、隣接する乳房炎罹患分房に影響を受けないことが確認された。従って、潜在性乳房炎牛の場合に、クォーターミルカーで1分房だけを別搾乳して廃棄する等の方法でバルク乳の体細胞数を低減させることが可能と思われた。

4 細胞構成比

正常乳汁中あるいは異常乳汁中の各種細胞の構成比については、多くの報告があるが^{2),4),6),7)}、その内容には大きな差異がある。また、乳房炎の分房乳についても、細胞数が増えることについては一般的に意見が一致しているが、各種の細胞の比率については意見が一致していない^{4),8)}。この差異は検査された試料や用いた手技によって生じたものと言われ、その主な原因は、光学顕微鏡用の塗抹標本には適当な分別染色法がないことや同型の細胞が研究者によって異種

に分類されたこと等とされている。これら細胞については、光学顕微鏡下の観察では限界があり、電子顕微鏡を用いてミトコンドリア、原繊維、細胞壁の絨毛等の細胞微細構造を観察しなければ正確な分類は不可能との報告もある^{8),9)}。

図4(d)で示したように、細胞の直径が白血球の数倍もあり、細胞質内に多くの脂肪顆粒を持つ大型細胞は、明らかに乳汁中に剥離した乳腺上皮細胞と思われた。しかし、細胞質内に脂肪顆粒を持つものの、細胞の直径が他の白血球とそれほど変わらない細胞や、円形核にわずかなくびれがある細胞等は、剥離した乳腺上皮細胞なのか小脂肪顆粒を取り込んだマクロファージなのかの区別は、光学顕微鏡での観察では不可能と思われた。

ただし、好中球やリンパ球については、核の形態や細胞質の染色性等から光学顕微鏡による分類でも比較的容易であり、観察者による差異は少ないと思われる。

図6で示したように、分房ごとの体細胞数は好中球比率と正比例の傾向にあることから、乳汁の塗抹標本を作製して、好中球比率を観察することは、専用の測定装置がない場合、体細胞数のおおまかな状態を把握するために有効と考えられた。

以上のことから、生乳中の体細胞数低減対策を行うにあたり、分房ごとの体細胞数の測定により問題分房を特定する場合には、前搾り乳を試料とすることが適切であること、摘発困難な細菌不検出乳房炎や非特異性乳房炎を特定する場合には、後搾り乳を試料とすることも有効でありうること、乳汁中の好中球比率を観察することで体細胞数をおおまかに把握することが可能であることが示唆された。

参考文献

- 1)加藤泰之ほか. ウシ生乳中の体細胞数の推移. 愛知県農業総合試験場研究報告, 21:295-299. 1989.
- 2)青木康浩ほか. 搾乳経過中における乳房炎諸指標の変動の細菌感染状況による差異. 日本畜産学会報, 63(7):728-735. 1992.
- 3) Yamamoto, M. et al. Automatic measurement of electrical conductivity for the detection of bovine mastitis. IDF Seminar in Kiel. Germany : 364-369. 1985.
- 4) Schalm, O.W. et al. Bovine Mastitis, 1971. Philadelphia
- 5) 齊藤美緒ほか. 異常牛乳細胞分画の推移と乳房炎診断への応用. 日本獣医師会雑誌, 46:737-740.1993.
- 6) 青木康浩ほか. 細菌感染状況が試料採取時刻による乳汁の乳房炎諸指標の変動に及ぼす影響. 日本畜産学会報, 61(12):1084-1094. 1990.
- 7) 野附巖ほか. 試料採取時期による乳房炎診断指標の変動. 家畜診療, 34(11):19-25. 1991.
- 8) 市川忠雄. 乳汁中細胞数をめぐって. 畜産の研究, 50(10):13-17, 50(11):27-31. 1996.
- 9) Lee, C. S. et al. Identification properties, and differential counts of cell populations using electron microscopy of dry cow secretion, colostrums and milk from normal cows. Journal of Dairy Research, 47:39. 1980.

Observation of Variation on Somatic Cell Count during Milking

Tsukasa MATSUI, Yukako KURIHARA, Motoo AKEMA, Ikuo SAKAI

In order to confirm the transition of somatic cell count (SCC) before and after milking, the samples of each quarter were gathered before , during and after milking, and SCC was measured. The percentage according to types of somatic cells were also observed.

It was confirmed that SCC changed before and after milking. In healthy quarters, SCC in foremilk and middle milk is less than 100,000 pieces/ml in general. But increasing by the about 3 to 10 times was confirmed in stripping milk.

In the cows of mastitis, quarters of less than 100,000 pieces/ml SCC is those with 50 percent or more. It was confirmed that the quarters other than disease quarters are comparable as healthy quarters of a healthy cows.

In healthy quarters which has not been suffered from mastitis, the tendency which a neutrophil ratio increases a little in stripping milk was seen. But in quarters suffered from mastitis, change of the cell percentage in milking order was not confirmed.

In general, on milk with much SCC, the tendency for the ratio of neutrophil to be higher was seen.