

乳汁体細胞数による乳房炎診断の有効性の検討

誌名	北海道立新得畜産試験場研究報告
ISSN	03880044
著者	平井, 綱雄 尾上, 貞雄 工藤, 卓二 米道, 裕彌 森, 清一 恒光, 裕 桜井, 辰壽
巻/号	19号
掲載ページ	p. 11-17
発行年月	1992年3月

乳汁体細胞数による乳房炎診断の有効性の検討

平井 綱雄・尾上 貞雄・工藤 卓二*・米道 裕彌
森 清一**・恒光 裕・桜井 辰壽

乳汁細菌検査との比較における乳汁体細胞数による乳房炎診断の有効性を検討するために、北海道立新得畜産試験場および十勝管内のバルク乳の体細胞数が50万（個/ml）を超える10牛群の搾乳牛の分房乳を採取し、体細胞数の測定および細菌検査を行った。主要な乳房炎起因細菌が検出されない分房乳の平均体細胞数は分娩当日90.5万（個/ml）を示し、その後急速に減少して分娩1週間後には10万（個/ml）未満となった。10万（個/ml）未満の状態は分娩40~42週間後まで続いたが、分娩6~8週間後以降ゆるやかな上昇傾向が認められた。主要な乳房炎起因細菌である *Staphylococcus aureus*、*Streptococcus dysgalactiae* および *Streptococcus uberis* が検出された分房乳の平均体細胞数は新得畜産試験場および十勝管内10牛群ともに20万（個/ml）以上であった。これに対して *Corynebacterium bovis* が検出された分房乳および細菌が検出されなかった分房乳の体細胞数はいずれも10万（個/ml）未満であり、90%以上が20万（個/ml）未満であった。以上の結果から、分娩後1週間以内および乾乳前を除いて体細胞数が20万（個/ml）を超える分房乳は主要な乳房炎起因細菌に感染している可能性が高いと考えられた。しかし、体細胞数が20万（個/ml）未満であっても主要な乳房炎起因細菌が検出される分房乳がかなり存在したことから、体細胞数による乳房炎の診断には限界があると考えられるが、従来の50万（個/ml）から20万（個/ml）に基準値を下げることによって診断の精度を上昇させることが可能となり、乳房炎防除のより一層の進展が期待できると思われる。

酪農経営に多大の損害を与える乳房炎を防除するためには、まず、乳房炎罹患牛を正確に発見する必要がある。

病原微生物による乳房炎の診断法には大きく分けて、乳汁中の病原微生物を検出する方法と炎症に伴う乳汁成分の変化を測定する方法がある。前者の代表的なものは乳汁培養法で、乳汁中に病原微生物を排出している個体を感染初期から発見することが可能である。しかし、乳汁を無菌的に採取する必要があり、乳汁培養および微生物の同定のための設備と人手が必要である。後者には生乳の体細胞数^{1,6,13,14,15)}、電気伝導度^{5,7)}、NAGASE^{10,12)}を測定する方法等があるが、その中で最も一般的なものは乳汁の体細胞数を測定する方法である。乳検に加入している農家は毎月、個体乳の体細胞数のデータを得ることができる。

体細胞数による乳房炎診断の基準値については、IDF（国際酪農連盟）が1966年に公表し、1971年に一部改定した乳房炎の定義の中で50万（個/ml）という値を定め⁸⁾、我国でもこの値が用いられてきたが¹⁶⁾、

感染分房乳の体細胞数の変動の問題等から、これについては見直しの必要性があると言われてきた。その後1985年にIDFより新しい乳房炎の定義と診断のためのガイドラインが示され、その中で炎症の診断には固定した基準値を用いるのではなく同一牛の分房間の測定値を比較する方がより正確であると述べられている⁹⁾。一方、DHIA（アメリカ乳牛群改良協会）では現在28.3万（個/ml）を基準値として用いている¹³⁾。

本試験では従来の50万（個/ml）に替わる基準値をどのあたりに設定するのが適当かを検討するために、北海道立新得畜産試験場（以下、新得畜試）で飼養されている搾乳牛全頭の全房乳の細菌検査および体細胞数の測定を10か月間にわたって行うとともに、十勝管内10戸の酪農家の搾乳牛の分房乳の細菌検査および体細胞数の測定を行った。

材料および方法

試験1

試験期間は1986年6月から1987年4月までで、供試牛は新得畜試で飼養されている搾乳牛65頭である。これらの牛は1986年12月までは2か所の牛舎で飼養されていた。分娩前後の牛、飼養試験の供試牛、病牛等は

* 現在 北海道立滝川畜産試験場

** 現在 北海道立中央農業試験場

対尻式スタンション牛舎で飼養され、搾乳はバケツミルカーで行われた。それら以外の搾乳牛はフリーストール牛舎で飼養され、搾乳はヘリングボン式ミルクパーラーで行われた。1987年1月からは、搾乳牛はすべて対尻式チェーンタイストール牛舎で飼養され、搾乳はタンデム式ミルクパーラーで行われた。

分房乳の採取は原則として2週間毎に一斉に行った。試験期間中に分娩した牛については、分娩当日、1日後、3日後、1週間後、2週間後に分房乳を採取し、その後は2週間毎の一斉搾乳時に採取した。また、泌乳末期の牛については間欠搾乳に入る約1週間前（乾乳準備期）および搾乳停止直前（乾乳直前期）に分房乳を採取した。サンプルはすべて前搾り乳である。

細菌検査は無菌的に採取した分房乳を5%子牛血液加トリプトソイ寒天培地およびマンニット食塩寒天培地に0.05 mlずつ塗布し、37°Cで24~48時間培養後に行った。ブドウ球菌のうち、コアグラーゼ産生能、マンニトールおよびマルトース分解能がいずれも陽性のもの *Sta. aureus*（黄色ブドウ球菌）とし、それ以外のブドウ球菌を *Sta. spp.* とした。連鎖球菌の同定はキット（API BIO MERIEUX S. A. 社製, API ST REP 20）を用いた。*Corynebacterium bovis* は血液寒天上の発育性および細菌の形態によって同定した。

体細胞数の測定は十勝農業協同組合連合会（以下、十勝農協連）生乳検査センターの蛍光光学式体細胞数測定機（FOSS ELECTRIC社製, FOSSOMATIC）を用いて行った。

試験2

1988年4月に、十勝農協連により採取された十勝管内のバルク乳の体細胞数が50万（個/ml）を超える10戸の酪農家の搾乳牛の分房乳の体細胞数の測定および細菌検査を行った。方法は試験1と同様であるが、黄色ブドウ球菌以外のブドウ球菌の同定はキット（API BIO MERIEUX S. A. 社製, API STAPH）を用いた。

結 果

試験1

試験1の期間中に一度も主要な乳房炎起因細菌（*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Actinomyces pyogenes* 等）が検出されなかった分房乳の体細胞数の分娩後から乾乳直前までの変動を図1に示した。平均体細胞数は分娩当日90.5万（個/ml）を示し、その後急速に減少して分娩1週間後には10万（個/ml）未満とな

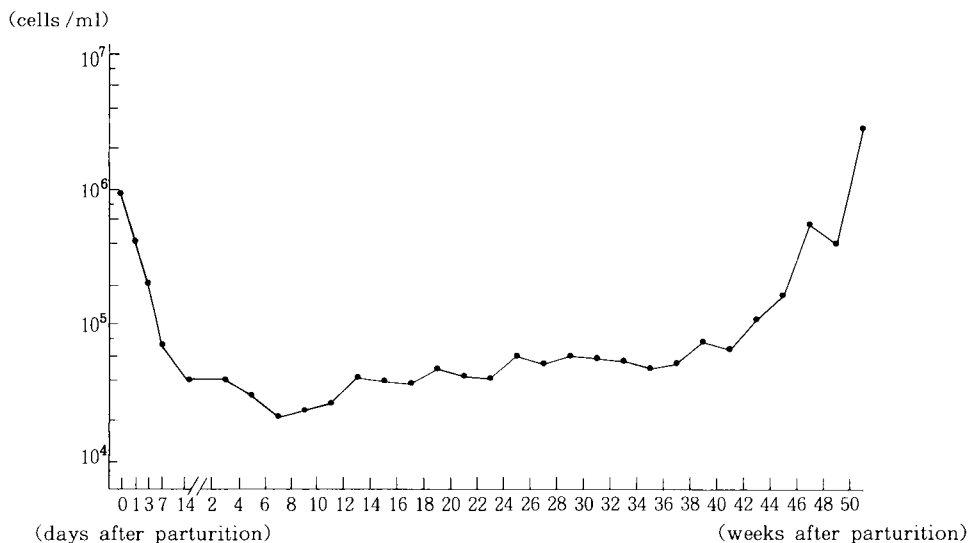


Fig 1. Changes in somatic cell counts in milk from quarters shedding no major pathogens.

った。分娩6～8週間後に最低になった後、ゆるやかに上昇しながら10万(個/ml)未満の状態は分娩40～42週間後まで続き、その後10万(個/ml)以上となった。しかし、乾乳に入る時期は個体毎に異なるので、泌乳末期における体細胞数の変動をより正確に把握するため、間欠搾乳に入る約1週間前(乾乳準備期)と

搾乳停止前(乾乳直前期)における値を比較し表1に示した。乾乳準備期は13.8万(個/ml)、乾乳直前期は544.9万(個/ml)であった。

次に、細菌感染が体細胞数に及ぼす影響を検討するために細菌種別の比較を行い表2に示した。なお、この際、前述した泌乳時期による影響を除くため、分娩2

Table 1. Somatic cell counts in quarter milk at late lactational period

Sampling period	Somatic cell counts	
	Mean (SD)	
	($\times 10^3$ cells/ml)	
Before intermittent milking	138 (4)	
Just before dry period	5,449 (2)	

Table 2. Somatic cell counts in quarter milk with various types of bacteria (Experiment 1)

Bacteria	Number of Samples	Somatic cell counts	
		Mean (SD)	
		($\times 10^3$ cells/ml)	
Staphylococcus aureus	161	245	
Streptococcus dysgalactiae	4	863	
Streptococcus uberis	116	247	
Staphylococcus spp.	376	85	
Corynebacterium bovis	241	64	
None	763	28	

週間後から40週間後までの試料を用いた。また、Sta. aureus 以外の細菌についてはコロニー数が25個/0.1 ml以上の試料に限定した。主要な乳房炎起因細菌であるSta. aureus, Str. dysgalactias および Str. uberis が検出された分房乳の平均体細胞数はいずれも20万(個/ml)以上であった。これに対して、主要な乳房炎起因細菌ではないSta. spp.あるいはCorynebacterium bovisのみが検出された分房乳および細菌が全く検出されなかった分房乳の平均体細胞数はいずれも10万(個/ml)未満であった。

次に、Sta. aureus, Str. uberis, Sta. spp. およびC. bovis が検出された分房乳および細菌が全く

検出されなかった分房乳の体細胞数分布を図2～6に示した。Sta. aureusが検出された分房乳では55.3%が20万(個/ml)以上であったが、10万(個/ml)未満の分房乳が36.0%存在した。Str. uberis が検出された分房乳では61.2%が20万(個/ml)以上であったが、10万(個/ml)未満の分房乳が14.6%存在した。Sta. spp. が検出された分房乳では72.9%が20万(個/ml)未満であった。C. bovis が検出された分房乳では90.0%が20万(個/ml)未満であった。細菌が全く検出されなかった分房乳では95.9%が20万(個/ml)未満であった。

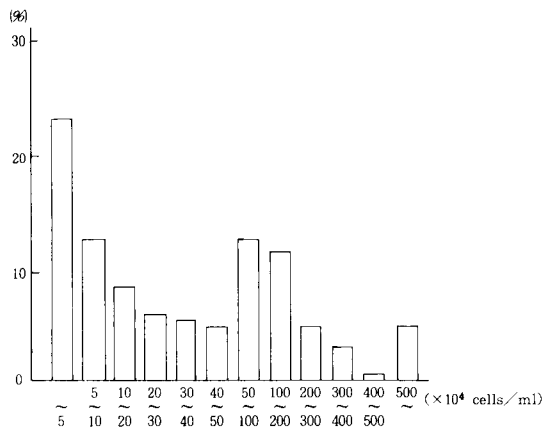


Fig 2. Histogram of somatic cell counts in milk from quarters shedding *Staphylococcus aureus* (n=161)

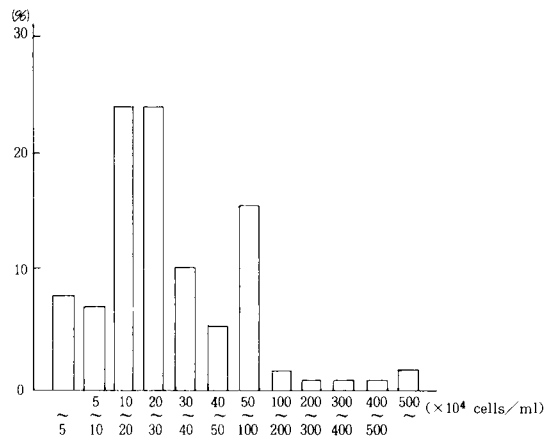


Fig 3. Histogram of somatic cell counts in milk from quarters shedding *Streptococcus uberis* (n=116)

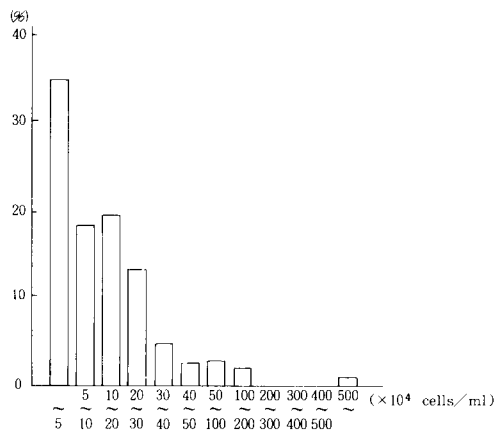


Fig 4. Histogram of somatic cell counts in milk from quarters shedding *Staphylococcus* spp. (n=376)

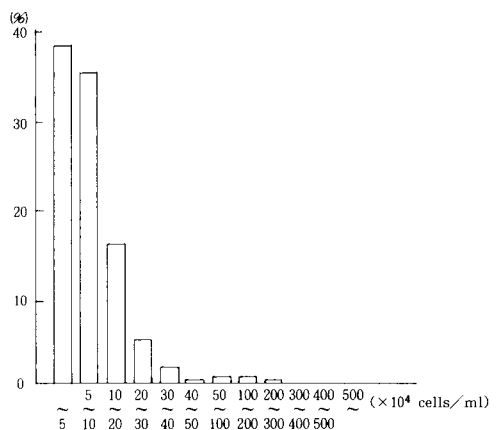


Fig 5. Histogram of somatic cell counts in milk from quarters shedding *Corynebacterium bovis* (n=241)

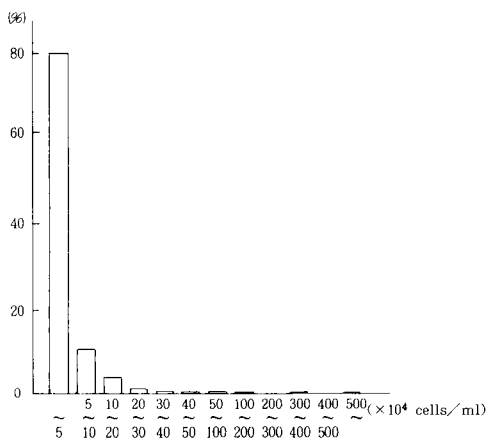


Fig 6. Histogram of somatic cell counts in milk from quarters shedding no bacteria (n=763)

試験 2

試験 2 において、主要な乳房炎起因菌である *Sta. aureus*, *Str. dysgalactiae* および *Str. uberis* が検出された分房乳の平均体細胞数はいずれも 40 万 (個/ml) 以上であった。これに対して *C. bovis* が検出された分房乳および細菌が検出されなかった分房乳の平均体細胞数はいずれも 10 万 (個/ml) 未満であった。

また、黄色ブドウ球菌以外のブドウ球菌では、*Sta. hyicus* が検出された分房乳は 22.2 万 (個/ml)、*Sta. xylosus* では検出された分房乳が 11.5 万 (個/ml) であった。

Table 3. Somatic cell counts in quarter milk with various types of bacteria (Experiment 2)

Bacteria	Number of Samples	Somatic cell counts
		Mean (SD)
		($\times 10^3$ cells/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i>	64	1,013 (4)
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	12	1,033 (3)
<i>Streptococcus uberis</i>	9	481 (6)
<i>Staphylococcus hyicus</i>	11	222 (2)
<i>Staphylococcus xylosus</i>	27	115 (2)
<i>Corynebacterium bovis</i>	82	61 (3)
None	263	24 (3)

考 察

非感染牛の生乳中の体細胞数は分娩時に高く、泌乳最盛期から中期にかけて最低となり、乾乳直前に最高となると言われている^{4,14}。また、SHELDRAKEらは、主要な乳房炎起因細菌に感染していない分房乳（前搾り乳）の体細胞数は、泌乳開始後35日目から265日目までの間に8.3万（個/ml）から16万（個/ml）に増加したと報告している¹⁵。今回の試験における主要な乳房炎起因細菌が検出されなかった分房乳の平均体細胞数の推移もこれらの報告とほぼ同様の結果であった。

分娩後1週間以内の時期の高体細胞数は、通常この時期に乳検で体細胞数を測定することはないので、乳房炎に罹患していない牛を誤って乳房炎と診断するという問題は起こらず、よって、考慮する必要はないと考えられる。また、体細胞数が一旦最低になった後のゆるやかな上昇も主要な乳房炎起因細菌に感染した分房と感染していない分房を選別する上で障害となるものではないとされている¹³。

その他、年齢^{6,14,15}、季節^{3,6,17}、ストレス^{2,17}等も体細胞数に影響を及ぼすと言う報告があるが、体細胞数に影響を及ぼす最大の要因は微生物による感染であり^{14,15}、それ以外の要因の影響は少ないとされている¹³。

乳房の細菌感染と体細胞数の関係については、*Sta. aureus*, *Str. agalactiae*, *Str. dysgalactiae*, *Str. uberis*, *E. coli*等の主要な乳房炎起因細菌による感染は他の細菌感染に比較して高い体細胞数を示すと報

告されている^{14,15}。今回の試験では、主要な乳房炎起因細菌である *Sta. aureus*, *Str. dysgalactiae* および *Str. uberis* が検出された分房乳の平均体細胞数は、新得畜試および十勝管内の酪農家ともに20万（個/ml）以上を示した。これに対して主要な乳房炎起因細菌ではない *C. bovis* が検出された分房乳およびいずれの細菌も検出されなかった分房乳の平均体細胞数はいずれも10万未満であった。そのうち、新得畜試で採取した分房乳では90%以上が20万（個/ml）未満であった。したがって、分娩後1週間以内、乾乳前の時期を除いて体細胞数が20万（個/ml）を超える分房は主要な乳房炎起因細菌に感染している可能性が高いと考えられる。こうしたなかで、新得畜試において *Sta. aureus* が検出された分房乳の平均体細胞数が24.5万（個/ml）、*Str. uberis* が検出された分房乳が24.7万（個/ml）であったが、これは、主要な乳房炎起因細菌に感染している乳汁の平均体細胞数が50万（個/ml）以上であるとする報告が多い中では低い値である^{1,11,14,15}。この理由としては、新得畜試では乳房炎牛の早期発見、早期治療に努めるとともに、治療に反応しない牛の淘汰を行っているために重度感染牛が少なく、主要な乳房炎起因細菌が検出されても体細胞数の低い分房乳が一般の牛群に比べて多いことが考えられる。また、新得畜試で採取した分房乳で *Sta. aureus* が検出されたものの44.8%が体細胞数が20万（個/ml）未満、36%が10万（個/ml）未満、*Str. uberis* が検出されたものの38.8%が20万（個/ml）未満、14.6%が10万（個/ml）であったことから、体細胞数のみによって主要な乳房炎起因細菌に

感染している分房をすべて診断することは不可能であると思われる。

以上のことから、限界はあるものの、体細胞数の基準値を従来の50万(個/ml)から20万(個/ml)に下げることによって、より多くの乳房炎牛の発見が可能となり、乳房炎の防除がより進展すると考えられる。

謝 辞

本試験にご協力いただきました十勝農業協同組合連合会 西部 潤氏および 市野剛夫氏ならびに新得畜産試験場乳牛科(現酪農科)科員各位に深謝致します。

文 献

- 1) ANDREWS R. J., B. J. KITCHEN, W. S. KWEE, and F. DUNCALFE : Relationship between individual cow somatic cell counts and the mastitis infection status of udder. *Aust. J. Dairy Technol.*, **38** : 71-74.(1983).
- 2) APPLEMAN R. D., and R. J. GUSTAFSON : Source of stray voltage and effect on cow health and performance. *J. Dairy Sci.*, **68** : 1554 - 1567. (1985).
- 3) ARAVE C. W., and J. L. ALBRIGHT : Social rank and physiological traits of dairy cows as influenced by changing group membership. *J. Dairy Sci.*, **59** : 974 - 981. (1976).
- 4) CULLEN G. A. : Cell counts throughout lactation. *Vet. Rec.*, **83** : 125 - 127. (1968).
- 5) DAVIS J. G. : The detection of subclinical mastitis by electrical conductivity measurements. *Dairy Ind.*, **40** : 286 - 291. (1975).
- 6) DOHOO I. 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).
- 7) FERNAND R. S., R. B. RINDSIG, and S. L. SPAHR : Electrical conductivity of milk for detection of mastitis. *J. Dairy Sci.*, **65** : 659 - 664. (1982).
- 8) INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION : A monograph on bovine mastitis. IDF Doc., **76**. (1971).
- 9) INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION : Mastitis Newsletter No. **10**. (1985).
- 10) KITCHEN B. J., and G. MIDDLETON : Enzymic methods for the estimation of the somatic cell count in milk. II. N-acetyl- β -D-glucosaminidase test for routine estimation of the somatic cell count in milk. *J. Dairy Res.* **43** : 491 - 493. (1976).
- 11) NATZKE R. P., R. W. EVERETT, and D. S. POSTLE : Normal milk somatic cell counts. *J. Milk Food Technol.*, **35** : 261 - 263. (1972).
- 12) OBARA Y., T. NAKANO, T. KUME, and M. OHSHIMA : Mutual relationship between milk components and lysosome enzymatic activity in abnormal milk. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **45** : 203 - 208. (1983).
- 13) RENEAU J. K. : Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. *J. Dairy Sci.*, **69** : 1708 - 1720. (1986).
- 14) SCHULTZ L. H., : Somatic cell counting of milk in production testing programs as a mastitis control technique. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **170** : 1244 - 1246. (1977).
- 15) 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).
- 16) 全国乳質改善協会 : 体細胞数を中心とした乳房炎の防除対策, (1985).
- 17) WEGNER T. N., J. D. SCHUH, F. E. NELSON, and G. H. SCOTT : Effect of stress on blood leucocyte and milk somatic cell counts in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **59** : 949 - 956. (1976).

Effectiveness of Somatic Cell Counts in the Diagnosis of Bovine Mastitis

Tsunao HIRAI, Sadao ONOE, Takuji KUDO*, Hiromi YONEMICHI
Kiyokazu MORI**, Hiroshi TSUNEMITSU, Tatutoshi SAKURAI

Summary

To study the effectiveness of somatic cell counts (SCC) in the diagnosis of bovine mastitis compared with bacteriological examination, foremilk samples from quarters of cows raised at the Shintoku Animal Husbandry Experiment Station and 10 dairy herds in Tokachi whose bulk SCC was more than 500×10^3 cells/ml were collected aseptically. The SCC of these samples were determined by Fossomatic Counter and the bacteriological examinations were done.

The mean SCC in milk from quarters shedding no major pathogens was 905×10^3 cells/ml at freshening, then decreased rapidly to less than 100×10^3 cells/ml at 1 week after parturition. From 1 week to 42 weeks after parturition, the mean SCC was less than 100×10^3 cells/ml, and from 6 weeks after parturition the SCC increased slowly.

The mean SCC in milk from quarters shedding *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* and *Streptococcus uberis* was more than 200×10^3 cells/ml, respectively. On the other hand, the mean SCC in milk from quarters shedding *Corynebacterium bovis* and no bacteria was less than 100×10^3 cells/ml, and the SCC in more than 90% of these samples were less than 200×10^3 cells/ml, respectively. Therefore, it is suggested that in the case of quarters where SCC is more than 200×10^3 cells/ml the possibility of infection with major pathogen is high. Since in not a few cases SCC in milk from quarters shedding major pathogens was less than 200×10^3 cells/ml, it is difficult to diagnose quarters infected with major pathogens completely only by SCC.

However, it is concluded that by lowering the threshold from 50×10^3 cells/ml to 20×10^3 cells/ml, the accuracy of diagnosis is improved.

Key words : Somatic cell counts, bovine mastitis, diagnosis, dairy cattle

* Present address : Hokkaido Prefectural Takikawa Animal Husbandry Experiment Station.

** Present address : Hokkaido Prefectural Central Agricultural Experiment Station.