

分娩前乳汁の性状を活用した乳房炎対策

森永 史昭・和田 卓也・加藤 信正

要約 乾乳後期の分娩前乳汁の乳房炎診断とその診断による乳房炎治療が、分娩直後の乳房炎発生を低減させる技術となる可能性について検討した。

試験Ⅰでは、ホルスタイン種乳牛 23 頭 91 分房を用い、分娩前乳汁の粘稠性（試験管傾斜法の一部改変により水様状、初乳状、水アメ状に分類）と分娩後乳汁の性状を比較して、分娩前乳房炎と分娩後乳汁の実態を調査した。試験Ⅱでは、乳牛 20 頭 76 分房のうち分娩前乳汁で異常乳（水様状・初乳状かつ CMT 陽性分房）と判定した 33 分房を、治療区：23 分房、非治療区：10 分房に区分して、乳房炎の治療効果を比較した。

その結果、試験Ⅰにおいて、分娩前乳汁の粘稠性と CMT 検査の関係をみると、水様状は総分房数の 62.6% を占め、うち 77.2% が CMT 陽性を示した。一方、水アメ状は総分房数の 24.2% を占め、全てが CMT 陰性であった。分娩後乳汁の体細胞数は、水様・初乳状は高く推移したが、水アメ状は低値で推移した。試験Ⅱにおいて、分娩 14 日後の体細胞数 200 千個/ml 未満の割合は、非治療区 30% に対して治療区では 69.6% となり改善がみられた。両試験において、分娩前乳汁採取から分娩日までの間に、採材が原因による漏乳の発生や乳房異常を呈した分房は見られなかった。

以上のことから、分娩前乳汁の粘稠性と CMT 検査を行うことにより、分娩直後の乳房炎発症を予測できると考えられる。また、分娩前に異常乳を呈した場合は、早期治療により、分娩直後の乳房炎を低減させる可能性が示唆された。

キーワード：分娩前乳汁、乳房炎、体細胞数、分娩前治療

緒言

本県においては、乳房炎の発生率が依然高く、その治療および休薬期間中の生乳廃棄や、重症の場合には乳牛の廃用処分につながるなど酪農家にとって大きな経済的損失となっている。また、牛乳の消費低迷を解消するためにも高品質な生乳が求められており、体細胞数の少ない生乳生産技術が重視されている。牛の乳房炎については、乾乳導入期と分娩前後に新規感染が多いと報告 (Natzke, 1981) されており、現在は予防対策として、乾乳直前の乾乳期用軟膏の注入と乳頭シールドが取り組まれている。しかしこれらの予防技術を用いても、既往歴のある乳房

は再発率が高い状況にある。近年、新しい乳房炎予防技術として、分娩前乳汁で乳房炎を早期に摘発する NOSAI 山形の報告 (板垣ら, 2006) がある。この技術は分娩前に乳房をさわる (乳汁を搾る) という行為が伴うため、乳房炎防止の観点から、現場では禁忌とされており、酪農家への普及はあまり進んでいない。そこで、乾乳後期の分娩前乳汁を用いた乳房炎診断とそれに対する治療が、分娩直後の乳房炎を低減させる技術として有効かつ安全なものとして利用できるかを検証した。

材料と方法

1 試験 I : 分娩前と分娩後の乳汁の性状調査

1) 供試牛および調査方法



県奥越高原牧場において、2010年6月から2011年10月まで飼養されていたホルスタイン種乳牛23頭(91分房)を供試牛とした。

分娩予定7日前乳汁(以下:分娩前乳汁)と分娩後乳汁を経時的(分娩後0、3、7、14、21、28日)に採取し、分娩前と分娩後の乳汁性状の関係を比較した。

2) 検体の採取と測定項目

分娩前乳汁は、乳頭を消毒後、前搾りを行わずに分房乳を採取し、乳汁の粘稠性、化学発光能、CMT検査、細菌検査を実施した。分娩後乳汁は、乳頭を消毒後、5回の前搾りを行った後に採取し、体細胞数、化学発光能、CMT検査を実施した。分娩前乳汁の採取にあたっては、乳房炎防止のため衛生的な手法により行った(表1)。

表1 分娩前乳汁の採取方法

手順	方法
1	採取者は手に搾乳用グローブを装着 
2	アルコール綿で乳頭を清拭、消毒
3	乳頭口に汚れが付着していないか再度確認
4	15mlのサンプル容器に採取(5ml)
5	搾乳用のディッピング剤を塗布 
6	乾燥するまで暫く牛を立たせておく

3) 測定方法

分娩前乳汁の粘稠性の分類と測定は、試験管傾斜法(浅田と鈴木,1996)(丸山ら,2006)を一部改変して行った(表2)。試料は20°Cの部屋に1hr静置した後、試料が試験管内80mmを流動する時間を測定し、その流動時間から、水様状、初乳状、水アメ状の3区分に分類した(写真1)。

表2 分娩前乳汁の粘稠性の分類と測定方法

分類	流動時間
水様状	1秒未満
初乳状	1秒以上 ~ 10秒未満
水アメ状	10秒以上 ~

※ 試験管傾斜法

内径φ16.5mm×長さ120mmの容器に分娩前乳汁2mlを入れ、これを160°(水平面から-20°)に素早く傾け、試料が試験管の口に達するまでの時間(秒)を測定し、流動時間とした。(測定温度は20°Cとした)

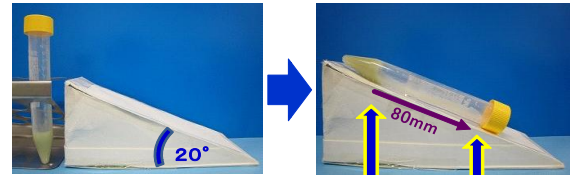
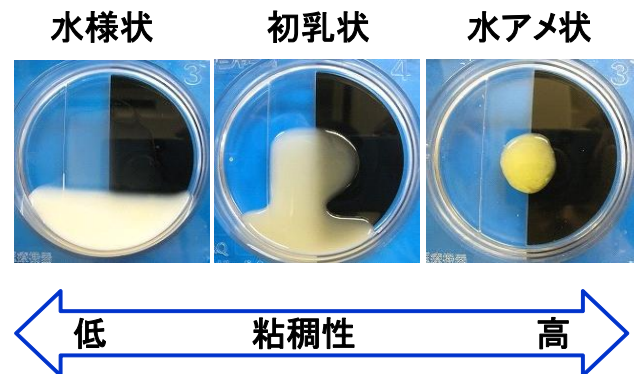


写真1 分娩前乳汁の粘稠性



乳汁中体細胞数の測定は、蛍光光学式体細胞測定機(Soma Scope MK II ; Delta Instruments 社、神奈川)を用い、フローサイトメトリー法にて自動計測した。

化学発光能の測定は、高橋ら(Takahashi et al,2001)の方法により行った。乳汁サンプル50μlに5mM-HepesEagle's-MEM 450μlおよびルミノール液10μlを添加した後、オプソニン化ゼイモザン10μlを加えて攪拌後、化学発光能測定装置(Tetralight ; Tokken 社、千葉)を用いて37°Cで20分間測定、発光量の総和値(Relative Light Unit :RLU)を算出した。

CMT検査は、乳房炎簡易診断液(PLテストター ; 日本全薬工業社、福島)を用いて、乳房炎判定標準表により、6区分にスコア化(- : 0、± : 0.5、+ : 1、++ : 2、+++ : 3、++++ : 4)し、凝集判定-を陰性、±以上を陽性とした。

細菌検査は、検体の分娩前乳汁100μlを培地

(5%羊血液加寒天培地、クロモアガーオリエンタシオン培地、DHL寒天培地)に接種し、37℃で24時間培養した。発育したコロニーから釣菌してグラム染色性と形態を確認し、検体1ml中の菌数を計測した。

4) 統計処理

測定値の有意差検定は、分娩前乳汁の粘稠性と各分析項目についてTukeyの方法に従い平均値の差の検定を行った。

2 試験Ⅱ：分娩前乳汁の性状に基づいた治療効果の検討

1) 供試牛および調査方法

県内のA酪農家(フリーストール形式)で飼養されているホルスタイン種乳牛20頭(76分房)を供試牛とし、2011年5月から10月までを試験期間とした。

分娩前乳汁の性状により、異常乳(水様状・初乳状かつCMT陽性分房)を呈する牛を選別し、治療指導を行った。治療はNOSAI福井が実施し、乳房炎と診断した乳房に泌乳期用抗生物質を投与した。

異常乳と判定された33分房を、治療区の23分房と非治療区の10分房に区分した。

その後、分娩前乳汁および分娩後乳汁を経時的(分娩後0、7、14日)に採取し、治療効果を確認した。治療効果は分娩14日後の体細胞数で判定した。

2) 検体の採取と測定項目

検体の採取と測定項目は試験Ⅰと同様とした。また、細菌検査は分娩前乳汁と分娩日乳汁で実施した。

3) 測定方法

測定の方法は、試験Ⅰと同様に行った。

4) 統計処理

測定値の有意差検定は、試験Ⅰと同様に行った。治療効果や細菌分離率は χ^2 検定で行った。

結果

1 試験Ⅰ：分娩前と分娩後の乳汁の性状調査

1) 分娩前乳汁の粘稠性とCMT検査の結果

粘稠性とCMT検査の関係をみると、水様状の乳汁は総分房数の62.6%を占め、うち77.2%がCMT陽性を示した。初乳状の乳汁は総分房数の13.2%を占め、うち50%がCMT陽性を示した。水アメ状の乳汁は総分房数の24.2%を占め、全てがCMT陰性であった(図1)。

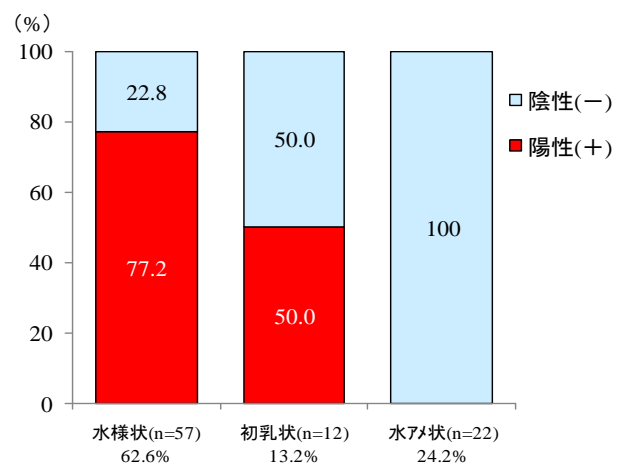


図1 分娩前乳汁の粘稠性とCMT検査の関係

2) 分娩前乳汁の粘稠性と化学発光能

分娩前乳汁の化学発光能は、水様状の乳汁で 3.65×10^7 RLUと高値を示し、初乳状の乳汁は 2.88×10^6 RLUであった。水アメ状の乳汁は 9.73×10^5 RLUと低値であった。水様状の乳汁は水アメ状の乳汁に比べて有意に高くなった(図2)。

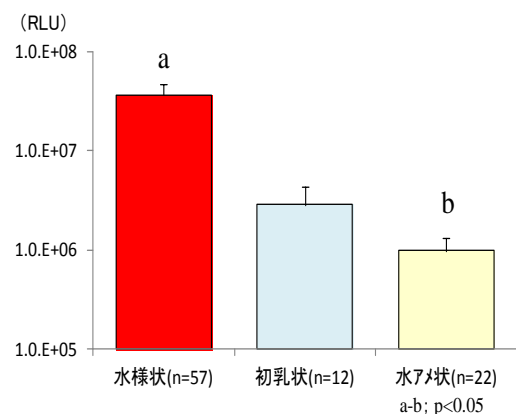


図2 分娩前乳汁の粘稠性と化学発光能の関係

3) 分娩前乳汁の粘稠性と体細胞数の推移

粘稠性別の分娩後体細胞数の推移は、分娩日ではどの粘稠性区分においても体細胞数は1,200 千個/ml 以上と高い値を示したが、その後は7日後まで全ての区分で低下した。水アメ状の乳汁は他に比べ低く推移し、14日以降は100 千個/ml 以下であった。また、分娩日と21日後において、水様状の乳汁と水アメ状の乳汁に有意差が認められた (図3)。

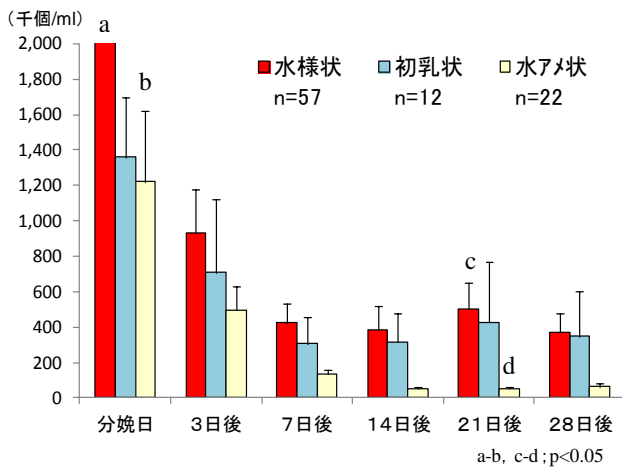


図3 分娩前乳汁の粘稠性と体細胞数の推移

4) 分娩前乳汁の細菌検査

分娩前乳汁の粘稠性と検出菌の関係をみると、水様状の乳汁であった分房の66.8%から細菌が検出され、そのうち、コアグラゼ陰性ブドウ球菌 (CNS)、レンサ球菌 (Str)、黄色ブドウ球菌 (SA) などのグラム陽性球菌が約92%を占めていた。初乳状の乳汁であった分房の33.3%から細菌が検出され、全てがグラム陽性球菌であった。水アメ状の乳汁であった分房からは細菌が検出されなかった (表3)。

表3 分娩前乳汁の粘稠性と検出菌の関係

区分	分房数	検出菌 (%)				検出されず
		CNS	Str	SA	other	
水様状	57	40.4	12.3	8.8	5.3	33.2
初乳状	12	8.3	8.3	16.7	0	66.7
水アメ状	22					100

CNS : コアグラゼ陰性ブドウ球菌
 Str : レンサ球菌
 SA : 黄色ブドウ球菌
 other: その他

5) 分娩前乳汁の乳房炎判定

試験Iの結果より、分娩前の乳房炎判定は以下のとおりとした。サンプルの乳房乳汁を採取した後、粘稠性判定で水アメ状のものは正常とした。水様状・初乳状の場合はCMT検査を行い、CMT陰性の場合には正常とし、CMT陽性の場合には異常乳であり乳房炎と判定した (図4)。

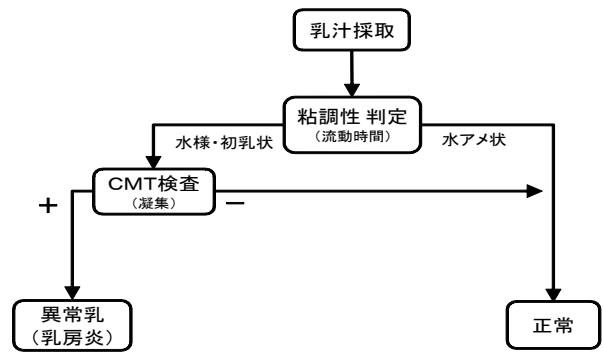


図4 分娩前乳汁の乳房炎判定フロー

2 試験II: 分娩前乳汁の性状に基づいた治療効果の検討

1) 分娩前乳汁の粘稠性とCMT検査の関係

粘稠性とCMT検査の関係をみると、水様状の乳汁は総分房数の57.9%を占め、うち72.7%がCMT陽性を示した。初乳状の乳汁は総分房数の22.4%を占め、うち17.6%がCMT陽性を示した。水アメ状の乳汁は総分房数の19.7%を占め、全てがCMT陰性であった (図5)。

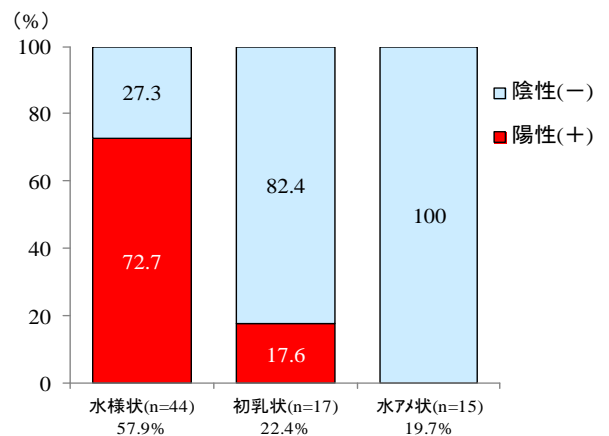


図5 分娩前乳汁の粘稠性とCMT検査の関係

2) 分娩前乳汁の粘稠性と化学発光能

分娩前乳汁の化学発光能は、水様状の乳汁で 2.98×10^7 RLU と高値を示し、初乳状の乳汁は 4.57×10^6 RLU であった。水アメ状の乳汁は 6.96×10^5 RLU と低値であった。水様状の乳汁は、初乳状および水アメ状の乳汁に比べ有意に高値であった (図 6)。

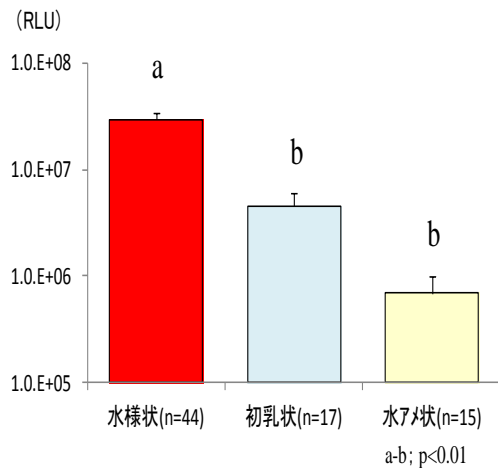
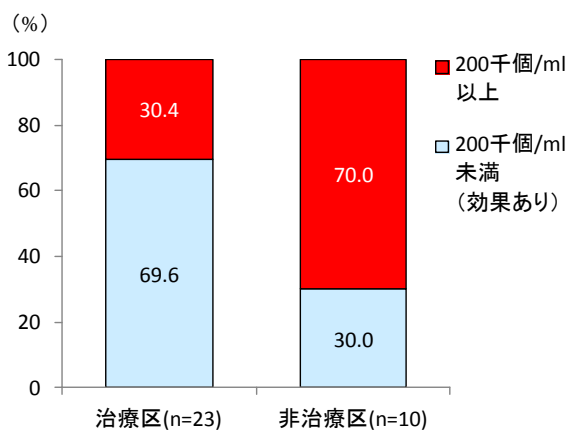


図 6 分娩前乳汁の粘稠性と化学発光能の関係

4) 分娩前治療の効果

分娩予定 7 日前に異常乳 (水様状・初乳状かつ CMT 陽性分房) の牛を選別し治療指導を行った結果、分娩 14 日後の体細胞数 200 千個/ml 未満の割合 (治療効果あり) は治療区で 69.6% と、非治療区 30% に比べ 39.6% 高かった (図 7)。



(分娩 14 日後の体細胞数で判定)

5) 治療区と非治療区の細菌分離率

分娩前乳汁では治療区、非治療区とも 100% 近くの細菌分離率であったが、分娩日乳汁の細菌分離率は、治療区で 17.4% と非治療区

70% に比べ有意に低下した。(図 8)。

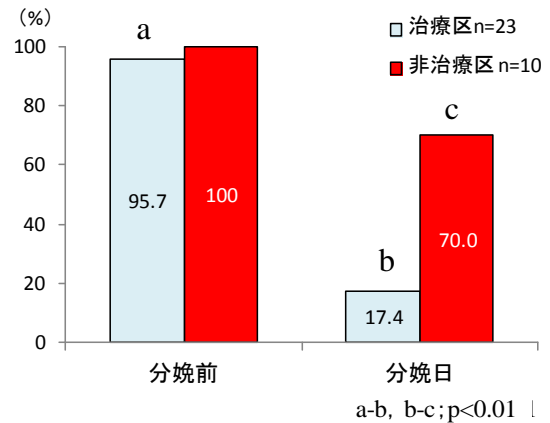


図 8 治療区と非治療区の細菌分離率

6) 分娩前乳汁の採取から分娩日までの乳房の状態

試験 I、試験 II を通じて、分娩前乳汁の採取から分娩日までの間に、採材が原因による漏乳の発生や乳房異常を呈した分房は見られなかった。

考 察

発生率が高いとされる分娩直後の乳房炎を減らすため、乾乳後期での乳房炎検出技術と効果的な低減技術を検証した。

試験 I は、分娩前乳房炎と分娩後乳汁の実態を調査するために行った。

分娩前乳汁の粘稠性で、乳房炎を早期に摘発するには、分娩予定の何日前で採取すべきかが重要だが、従来は乾乳期に搾乳することはケラチンプラグを取り除き、新規感染を増大するおそれがあるとされてきたため、これらに関する報告はほとんどない。乾乳期における乳腺分泌液 (分娩前乳汁) の粘稠性を分娩予定 1 ヶ月前から経時的に調査した報告 (水戸部ら, 2009) では、分娩前 10 日以内より分娩前 7 日以内のほうが、乳房炎発症の予測がより正確になることから、実際の乳腺分泌液の検査は、分娩予定日 7 日前を目安に行うとよいと報告している。このことから、今回我々が行った試験では分娩予定 7 日前に乳汁を採取することとした。その結果、分娩前乳汁の粘稠性は水様状、初乳状、水アメ

状の3区分に分類され、水様状の乳汁はCMT検査の陽性率と乳汁化学発光能の値が高く、分娩後乳汁の体細胞数も高いことから、異常乳であると思われた。一方、水アメ状の乳汁は、CMT検査が全て陰性で、乳汁化学発光能の値が低く、分娩後乳汁の体細胞数も低いことから正常な乳汁と考えられた。

本調査から、乳汁化学発光能は乾乳期乳房炎を計測数値として定量的に判定できる有効な指標の1つであると確認できたが、現場での計測は難しいと思われた。一方、泌乳期用乳房炎診断試薬を用いたCMT検査は、分娩前乳汁の異常乳判定に利用できると考えられた。このことから、分娩前の異常乳の判定を現場で実施できる乳汁の粘稠性とCMT検査を組み合わせることで行うこととした。つまり、分娩前乳汁の粘稠性判定で水アメ状のものを正常とし、水様状・初乳状の場合はCMT陰性を正常、CMT陽性を異常乳と判定した。

また、分娩前乳汁の粘稠性の分類方法については、シャーレ上での目視では判定者によるばらつきが見られるため、試験管傾斜法を一部改変し活用することとした。個人差の出やすいシャーレ上の判定に比べ、客観的に分娩予定7日前の乳汁分類が可能であることが確認された。

試験Ⅱでは、試験Ⅰの結果をもとに、分娩前乳汁の性状に基づいた治療効果の検討を行った。

NOSAI山形(小松ら, 2007)の報告では、主として泌乳期用乳房炎軟膏セファゾリンを用いて分娩前治療を行った水様性治療群の分娩後臨床型乳房炎の発症率は15.6%(256分房中40分房)であり、無処置群の発症率75.8%(33分房中25分房)と比較して有意に少なく、分娩前治療の効果は著しいとしている。本研究では、分娩予定7日前に異常乳の牛を選別し治療指導を行った。治療効果の判定は、分娩14日後の体細胞数200千個/ml以下の割合としているため判定基準は異なるが、効果ありの割合は、治療区が69.6%(23分房中16分房)であり、非治療区30%(10分房中3分房)に比べ高く、分娩日乳汁の細菌分離率も、治療区が非治療区に比べ有意に低下していることから、分娩前治療に一定の効果があったものと推察された。乾乳期は乳房が生乳生産を行っていない時期であるため、薬剤が貯留しやすく泌乳期に比べ治療効果が得

やすいと考えられる。また、分娩後5日間は乳等省令により生乳出荷が禁止されており、この期間に抗生物質の残留がないことを確認してから、生乳出荷を開始することができる。このため、乾乳後期の乳房炎治療は、泌乳期治療と違い抗生物質投与による生乳廃棄も発生せず酪農家のメリットも大きい技術となる可能性がある。

また、今回の両試験において、分娩前乳汁採取から分娩日までの間に、採材が原因による漏乳の発生や乳房異常を呈した分房は見られなかった。

以上のことから、分娩前乳汁の粘稠性とCMT検査を行うことにより、分娩直後の乳房炎発症を予測できると考えられる。また、分娩前に異常乳を呈した場合は、早期治療により、効果的に分娩直後の乳房炎を低減させる可能性が示唆された。

今後は、さらに例数を蓄積することにより、分娩前治療について有効性を検討していく予定である。

謝 辞

本試験の実施にあたり、ご助言、ご指導いただいた山形県農業共済組合連合会 家畜部長 板垣昌志氏、(独)農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所 寒地酪農衛生研究領域 菊佳男氏、福井県農業共済組合 家畜診療所 出口喜雄氏、竹内紀久雄氏に心より御礼申し上げます。

参考文献

- 朝田仁・鈴木寛一. 化工澱粉糊化液の流動特性評価のための簡易測定法. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* Vol 43.No8.970-974.1996
- 板垣昌志・小松智・貝健三. 乾乳期乳汁の臨床的意義と分娩前治療の効果. *日本乳房炎研究会. 第11回学術集会 Proceedings.45-49.2006*
- 小松智・澁谷亮平・今野幹雄・野崎敏浩・長谷川真一・海老名真一・板垣昌志・遠藤祥子・阿部省吾. 牛の慢性乳房炎に対する乾乳期分娩前治療の応用. *家畜診療.54(4).201-208.2007*

Hideyuki TAKAHASHI, Masaharu ODAI, Kenji
MITANI, Shozo ARAI, Nobuo KOIZUMI,
Shigeki INUMARU and Yuichi
YOKOMIZO. Development of Method for
Early Diagnosis of Mastitis in Dairy Cows by
Chemiluminescence JARQ 35(2).131-136.
2001

ROGER P. NATZKE. Journal of Dairy Science Vol.
64, No.1431-1442 . 1981

丸山彰子・高橋智子・宮本勲・大越ひろ. 粘稠液
状食品の力学的性状に対する簡便な客観的
評価法の検討. 日本家政学会
誌. Vol157.No5.263-270.2006

水戸部麻子・高野真理安・三上豊治. 乾乳期の乳
腺分泌液を指標とした乳房炎低減化対策.
山形県農業研究報告. 第1号.99-105. 2009

Measures of mastitis control using indices of prepartum milk

Fumiaki MORINAGA , Takuya WADA , Nobumasa KATOU
Fukui Prefectural Livestock Experiment Station

Abstract

The authors have studied on possibility that mastitis diagnosis of prepartum milk in the latter dry period and mastitis treatment by the diagnosis can be a technique to reduce the mastitis occurrence just after calving.

In Experiment I, viscosity of prepartum milk (classified into aqueous form, colostrum form, starch syrup form according to partial revision of the test-tube-tilting method) and properties of postpartum milk were compared among 23 Holstein cows with 91 quarters to investigate actual situations of prepartum mastitis and postpartum milk. In Experiment II, among 76 quarters of 20 dairy cows (aqueous form / colostrum form and CMT positive quarters), 33 quarters for which prepartum milk was judged as abnormal milk were classified into treatment quarter: 23 quarters and non-treatment quarter: 10 quarters and curative effects of mastitis were compared.

As a result, in Experiment I, relationship between viscosity of prepartum milk and CMT examination results showed that the aqueous form accounted for 62.6% of the quarters and 77.2% of them were CMT positive. On the other hand, the starch syrup form accounted for 24.2% of the quarters and all of them were CMT negative. The somatic cell count in postpartum milk changed with high values in aqueous and colostrum forms while it changed with low values in the starch syrup form. In Experiment II, the rate of the cases that the somatic cell count 14 days after calving was less than 200,000 was 30% in the non-treatment quarter it was 69.6% in the treatment quarter and therefore improvement was observed. In both Experiments, milk leak caused by the collection quarters that presented breast abnormality were not seen in the period from prepartum milk collection to the calving dates.

From the above, it is possible to predict occurrence of mastitis just after calving by examining viscosity of prepartum milk and performing CMT positive of it, the authors presume. Further, for the case of abnormal milk before calving, it has been suggested that mastitis just after calving could possibly be reduced by treatment based on milk examination.

Key word : prepartum milk , mastitis , somatic cell count , prepartum treatment