

酪農家における ATP 迅速検査法の応用による
搾乳衛生管理の向上に関する研究

平成 25 年
(2013 年)

帯広畜産大学大学院畜産学研究科
博士後期課程 畜産衛生学専攻

榎谷 雅文

Improvement of Management System for Milking
Preparation using ATP- Bioluminescence Assay in Dairy
Farms

2013

ENOKIDANI Masafumi

Doctoral Program in Animal and Food Hygiene

Graduate School of Obihiro University
of Agriculture and Veterinary Medicine

目次

緒言	1
第1章 酪農家におけるバルク乳質に影響を与える搾乳作業重要管理点 の検討	
1. 序	7
2. 材料と方法	9
3. 結果	13
4. 考察	17
5. 小括	22
第2章 ATP拭き取り検査による搾乳前乳頭壁清浄度の評価	
1. 序	23
2. 材料と方法	25
3. 結果	28
4. 考察	31
5. 小括	35
第3章 異なる乳頭清拭法と乳頭清浄度の関係	
1. 序	36
2. 材料と方法	38
3. 結果	40
4. 考察	43
5. 小括	46
第4章 一般酪農家におけるATP迅速検査を応用した搾乳衛生指導の成 果	
1. 序	47
2. 材料と方法	48
3. 結果	50

4. 考察	・ ・ ・ ・ ・ 56
5. 小括	・ ・ ・ ・ ・ 60
総括	・ ・ ・ ・ ・ 61
引用文献	・ ・ ・ ・ ・ 64
謝辞	・ ・ ・ ・ ・ 71
英文要旨	・ ・ ・ ・ ・ 72

略語表

ATP : Adenosine Tri-Phosphate (アデノシン三リン酸)

CFU : Colony forming units (発育細菌数)

RLU : Relative Light Unit (ATP 検査測定単位)

SCC : Somatic Cell Counts (体細胞数)

SPC : Standard Plate Counts (生菌数)

TBC : Total Bacterial Counts (総菌数)

緒言

北海道の酪農家におけるバルク乳中の体細胞数（SCC：Somatic Cell Counts）、生菌数（SPC：Standard Plate Counts）などの衛生的乳質（バルク乳質）は、ここ 20 年の間に急速に改善されてきている（図 1）。SPC が改善した理由として、生乳の道外移出に伴う品質保持のための生産者団体における自主規制と関係機関の乳質改善努力によるところが大きい。即ち、1993 年から始まったホクレン丸による北海道外への生乳移出に伴い、長時間の移送に耐えられるように SPC 削減の必要性が生じ、1997-1998 年の 2 年間にわたり生産者団体による SPC 削減運動が行われた。SPC 削減運動終了以降には、自主規制値（SPC：1.4 万 cfu/ml 以下）の合格割合は 90%を超えるように改善されている。一方、SCC 削減運動は遅れて開始され、2003-2004 年間の削減運動以降は、自主規制値（SCC：30.4 万個/ml 以下）の合格割合は 90%を超えるようになっている。

しかし、その実態は乳質不良乳を出荷しない、即ち搾乳時にクォーターミルカーを使用して乳質不良分房乳を出荷しないことで達成されている事が多い。例えばある酪農家において 1 年間の廃棄乳量を調査したところ、多い月では出荷乳量の 10%以上を廃棄していることもあり、廃棄に伴う経済的損失は酪農経営上も大きな問題になると考えられる（図 2）。

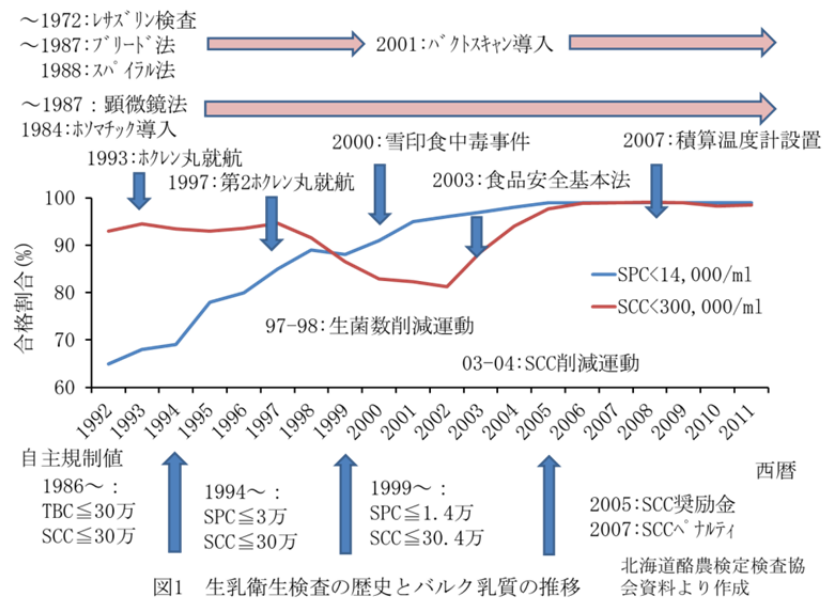


図1 生乳衛生検査の歴史とバルク乳質の推移



クォーターミルカー(分房乳を廃棄)



横取りパケットミルカー

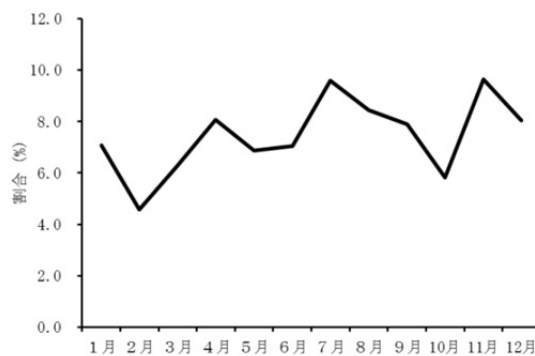


図2 一酪農家の出荷乳量に対する
廃棄乳量の割合 (2012)

北海道 NOSAI 家畜共済事業統計資料によれば、泌乳器病の大部分を占める乳房炎の診療割合は、過去 8 年間は 45%程度で一定に推移している。平成 23 年度の成乳牛病傷事故 59.6 万件中、泌乳器病は 43.6%を占め、乳房炎は病名のトップである。さらに近年はマイコプラズマ性乳房炎の増加も顕著である(図 3)。

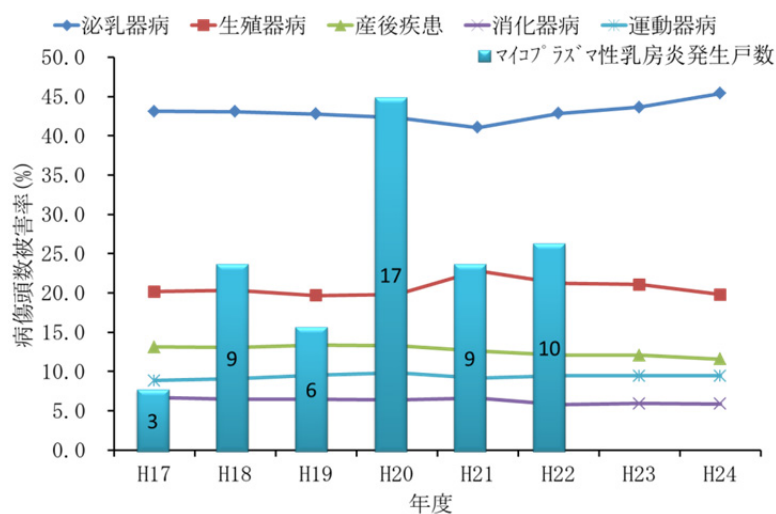


図3 北海道における5大疾病の病傷頭数被害率の推移(成乳牛)

北海道NOSAI家畜共済事業統計より作成
H23、24年マイコプラズマ発生戸数資料なし

乳房炎の発症要因について、Galton ら [1-4] , Magnusson ら [5] , Rasmussen ら [6] , Pankey ら [7] , 北海道根釧農業試験場[8] は、搾乳直前の清拭後の乳頭清浄度がバルク乳質に影響していると報告している。即ち、搾乳作業工程では乳頭乾燥の有無や殺菌剤使用の有無による違い、乳頭清拭資材ではペーパータオルと布タオルの違い、乳頭消毒の有無などにより清拭後の乳頭壁清浄度は異なり、その違いはバルク乳中総菌数 (TBC : Total Bacterial Counts) や乳房炎発生率に影響する。また河合ら [9] は大規模な搾乳立会調査を実施し、推奨される搾乳作業をより多く実施している酪農家ほどバルク乳質が優れていると報告している。その他、増田ら [10] の搾乳機器の取り扱いに関する調査、新井ら [11] の牛床の衛生状態や牛体の汚れ、削蹄回数などの乳房炎に係する要因の検討、中川ら [12] の前搾りに関する調査など多くの報告がある。

さらに、搾乳作業に関連する多くの報告 [13-27] では、搾乳作業の違いやディッピング液の違い、オキシトシン分泌に影響する要因など、搾乳資材や搾乳作業行動が乳量や乳質に与える影響が報告されている。しかし、いずれの報告においても搾乳作業の精度については検討されておらず、アメリカ乳房炎協議会 [28] においても推奨される搾乳作業工程は明示しているが、その作業精度に関しては述べていない。

乳房炎は、その症状から臨床型乳房炎と潜在性乳房炎とに区分される。乳房炎による経済的損失は、臨床型乳房炎による直接的損失よりも、潜在性乳房炎による乳量損失で生ずる経済的損失が大きいといわれている [29]。潜在性乳房炎はやがては臨床型乳房炎に転化することが多く [30]、臨床型乳房炎の抗生剤治療による廃棄乳量を減少させ、さらに潜在性乳房炎による乳量損失を減少させて酪農経営を改善するためには、潜在性乳房炎を対象にして考えることが大変重要である。

乳房炎の発生起源は、乳頭口からの病原体の侵入であり、これを防いで潜在性乳房炎を減らすには、従来の治療による対応は困難であり、搾乳作業の精度を上げ、搾乳前の乳頭清浄度を高めることがきわめて重要であると考えられる。

現在、酪農現場で用いられている搾乳衛生に関する評価方法としては、搾乳後に牛乳を濾過したソックスフィルターの汚れ具合で乳頭清拭の良否を判定するソックスフィルタースコア、乳頭口と乳頭皮膚の状況から

乳房炎の危険性を判定する乳頭口および乳頭皮膚スコア[31, 32]，牛体の汚れを判定する衛生スコア[33]が応用されているが，いずれも目視によるスコア判定であり，客観性を欠くという問題がある。

食品加工施設では，従来食品に接するものの衛生状態の評価は細菌培養検査法により評価されてきた。しかし，この方法は時間と費用がかさむために，現在は ATP 迅速検査法（ATP 検査法）も応用されてきている[34-38]。その原理は，全ての生物細胞が持つエネルギーである ATP（Adenosine Tri-Phosphate：アデノシン三リン酸）により，蛍光物質が基底状態から励起状態に変化し，更に基底状態に戻る際に発光エネルギーを放出する。この反応がルシフェリン-ルシフェラーゼ発光で，その強さは ATP 量に比例する。そこでこの発光反応量を測定する事により ATP 量を推定する方法が ATP 迅速検査法である(図 4)。ATP は細菌，カビ類や植物細胞，牛乳中の体細胞と細菌，皮膚の上皮細胞などに存在する。ATP 検査法は細菌培養検査と異なり時間と費用，専門知識を必要としないこと，さらに現在は携帯型 ATP 測定機器と試薬入り検査キット(図 5)が普及し，簡便に測定できることにより，その結果を直ちに還元ができる方法として，多くの食品加工施設での衛生状況の改善に応用されている [34]。

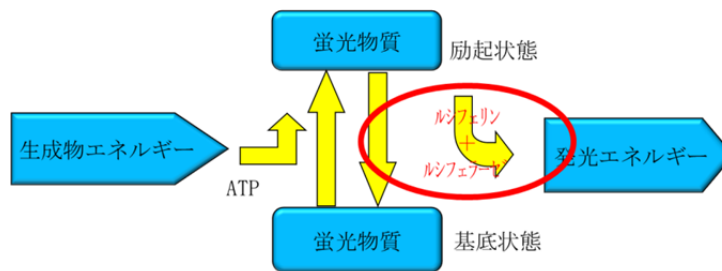


図4 ATP迅速検査法の原理

バイオ・ケミカルミネセンスハンドブック 今井一洋 近江谷克裕編著

全ての生物細胞が持つエネルギー（ATP：Adenosine Tri-Phosphate）をルシフェリン-ルシフェラーゼ発光反応を利用して測定する検査法。

本研究は、酪農家の搾乳作業工程において搾乳前の乳頭清浄度評価に ATP 検査法を応用して、搾乳作業精度を改善することによりバルク乳質を向上させることを目的とした。



3M社製 ルミノメーターUNG3
測定試薬 クリーントレースUXL100

図5 ATP測定機器

第 1 章では、搾乳作業の重要管理点を明

らかにすることを目的として、各搾乳作業およびその精度とバルク乳質の関係を検討した。

第 2 章では、搾乳作業における清拭直後の乳頭壁の清浄度を ATP 検査で測定し、清浄度評価のための基準値作成を試みた。

第 3 章では、異なる方法で乳頭清拭を行い、清拭直後の乳頭に対して細菌検査と ATP 検査を行い、最も優れた乳頭清拭法を検討した。

第 4 章では、第 1 章から 3 章までの研究成果を実際の酪農家 2 戸に応用し、そのバルク乳質向上に対する有効性を検討した。

第1章 酪農家の搾乳作業重要管理点の検討とバルク乳質の関係

1. 序

酪農経営において搾乳作業は最も重要な作業のひとつであるが、搾乳作業の重要管理点がどこかは明らかにされてはいない。搾乳作業に関する多くの研究は、搾乳作業工程が乳量や乳質に及ぼす影響[1, 2, 13-15]、オキシトシン放出に及ぼす影響[14, 17-20]、また異なるディッピング液の消毒効果の比較[21-25]、異なる清拭資材による乳頭清浄度の比較[3, 4, 7, 26]など、いずれも作業工程の内容と使用資材に関するものであり、各作業の精度については言及されてはいない。また、搾乳作業とバルク乳質の関係について河合ら[9]は、北海道十勝地域で大規模な聞き取り調査と搾乳立会調査を行い、推奨されている作業工程をより多く実施している酪農家のバルク乳中 SCC は、工程数が少ない酪農家より低いことを報告している。さらに、2000年に発表されたアメリカ乳房炎協議会で推奨する搾乳作業工程は[28]、前搾り、プレディッピング、乳頭の清拭とその乾燥、ミルカー装着の順で、これらを2分以内で行うこととしている。しかし、これらの現在までに報告された数多くの研究のいずれにおいても、搾乳作業の具体的方法やその精度、搾乳作業工程における重要管理点については言及していない。

そこで本研究では，搾乳作業の重要管理点を明らかにし，搾乳衛生管理上の実用性について検討することを目的とした。

2. 材料と方法

1) 調査酪農家の概要

2008年5月から2011年5月の間に日本国内の酪農家33戸（本州14戸、北海道19戸）において搾乳立会を行い、搾乳作業をビデオ撮影した。調査酪農家における乳牛の飼養法は、つなぎ牛舎16戸、フリーストールまたはフリーバーン牛舎17戸で、搾乳牛頭数は約30頭から500頭であった。

2) 搾乳作業の解析

搾乳立会時に撮影したビデオ映像を解析して、前搾りに要した時間、乳頭清拭に要した時間、搾乳ユニット装着時間を計測した。搾乳作業工程に関しては、乳頭清拭資材、1頭当たりの清拭資材枚数、乳頭壁清拭法、乳頭口清拭法、ディッピングカバー率の5項目を調査し、数値項目は2から4階層に区分した(表1)。

表1 搾乳作業の調査項目及び区分

調査項目	区 分
乳頭清拭資材	布タオル, ペーパータオル, 不織布 布タオルとペーパータオル
1頭分の清拭資材数(枚)	1, 2, ≥ 3
前搾り時間(秒)	≤ 5 , 6-10, 11-15, ≥ 16
乳頭壁清拭法	つまみ法, ひねり法, 包み法
乳頭口清拭法	なし, つまみ法, はさみ法, 両手法
乳頭清拭時間(秒)	≤ 10 , 11-20, 21-30, ≥ 31
ユニット装着時間(秒)	≤ 10 , ≥ 11
ディッピングカバー率	低い, 中程度, 高い

また、搾乳作業精度，乳頭衛生に関する項目として次のように分類した。

乳頭壁清拭法については，以下の 3 法に分類した。つまみ法：乳頭壁をつまみ（または握り）ながら乳頭の基部から下に拭き降ろす方法，ひねり法：乳頭壁を掌で握り，捻りながら拭く方法，包み法：下から乳頭を掌で包むようにして拭く方法(図 6)。

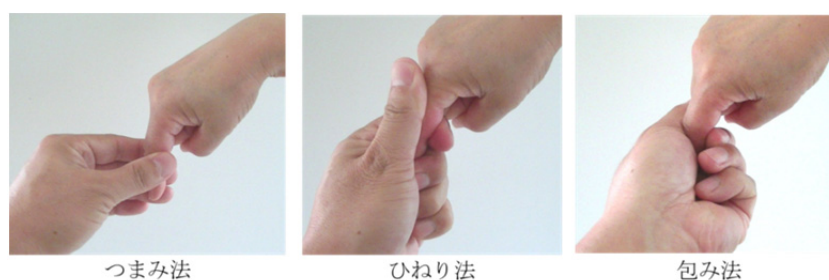


図6 乳頭壁の清拭法区分

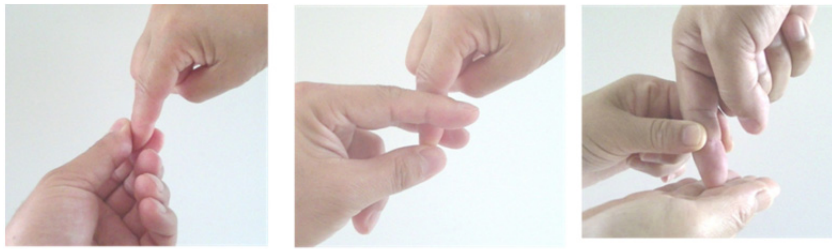
つまみ法：乳頭壁をつまみまたは握り、上から下に拭き降ろす方法

ひねり法：乳頭壁を掌で握り、ねじりながら拭き降ろす方法

包み法：掌で乳頭を下から包むようにして拭く方法

*写真は模範的清拭を示し、右手人差し指が乳頭、左手で乳頭清拭する様子

乳頭口清拭法については，以下の 4 法に分類した。清拭なし：乳頭口清拭をしていない場合，つまみ法：乳頭口を指先でつまむようにして拭く方法，はさみ法：乳頭先端を 2 本の指で挟み，乳頭口を親指の腹で擦る方法，両手法：両手を使って乳頭口を清拭する方法(図 7)。



つまみ法

はさみ法

両手法

図7 乳頭口の清拭法区分

つまみ法：乳頭先端を指の先でつまみ拭く方法

はさみ法：中指と人差し指で乳頭を挟み、親指の腹で乳頭口を拭く方法

両手法：両手を使い、乳頭口を拭く方法

*写真は模擬的清拭を示し、人差し指が乳頭、下側の手で乳頭清拭する様子

またディッピングカバー率については、以下の3法に分類した。低い：乳頭先端にディッピング液が付く程度のカバー率が低い場合、中程度：カバー率が高い時も低い時もある場合、高い：おおむね乳頭全体にディッピング液がいつも付いている場合の3法に分類した(図8)。



カバー率が低い

—中程度—

カバー率が高い

図8 ポストディッピングカバー率の高低による区分

低い：乳頭先端のみがディップされている状況

中程度：ディッピングのカバー率が高い時もあれば低い時もある状況

高い：ディッピング液がいつも乳頭壁全面に付着している状況

3) バルク乳の乳質

搾乳立会の前 1 年間の生乳出荷伝票の旬報(年 36 旬)からバルク乳中 SCC と TBC を調査し、それぞれの 1 年間の平均値を各酪農家の代表値とした。

4) 統計処理

搾乳作業工程の各項目区分について、構成割合及び記述統計量を求めた。さらに、搾乳作業工程の数値項目間や搾乳作業区分項目間の違いによるバルク乳質の差については、Kruskal Wallis 法で検定を行い、有意差の認められた項目については多重比較を行った。

3. 結果

1) バルク乳の乳質

調査酪農家の搾乳立会前 1 年間のバルク乳中平均 SCC と TBC の階層別酪農家戸数分布を図 9, 10 に示した。SCC は 16～25 万個/ml の戸数が多く、30 万個/ml 以上は 4 戸であった。TBC は半数以上の酪農家が 5,000cfu/ml 以下であり、100,000cfu/ml 以上は 2 戸であった。

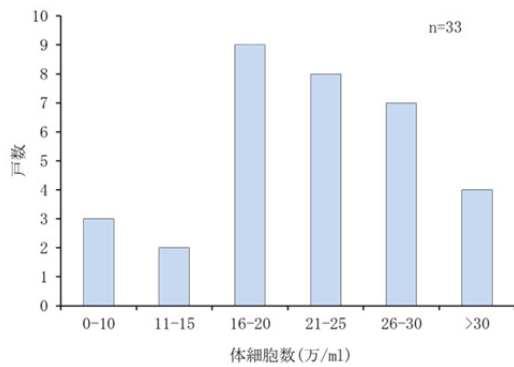


図9 調査前1年間のバルク乳中平均体細胞数別酪農家戸数

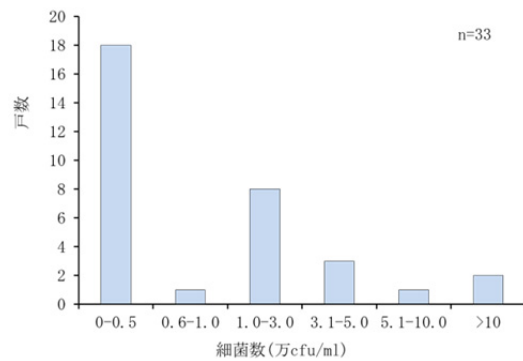


図10 調査前1年間のバルク乳中平均細菌数別酪農家戸数

2) 搾乳作業重要管理点の解析

各調査項目について、戸数割合を図 11, 12 に示した。乳頭清拭資材では「布タオル使用」酪農家が多く (54.5%), 「ペーパータオル使用」(18.2%), 「布タオルとペーパータオル併用」(18.2%), 「不織布使用」(9.1%)酪農家は少なかった。清拭資材枚数は1頭あたり1枚(48.5%)が多く、前搾り時間は6～10秒間(45.5%)の酪農家が多かった。乳頭壁清拭法では、つま

み法 (51.5%), ひねり法 (30.3%), 包み法 (18.2%) の順に多かった。乳頭口清拭法は乳頭口を「清拭していない」酪農家が多く (45.5%), 「はさみ法」 (24.2%), 「つまみ法」 (24.2%), 「両手法」 (6.1%) であった。4 乳頭合計の乳頭清拭時間は, 10 秒以内 (12.1%), 11 秒~20 秒 (33.4%), 21~30 秒 (30.3%), 31 秒以上 (24.2%) であった。ユニット装着時間は 10 秒以内 (42.4%), 11 秒以上 (57.6%) であった。ディッピングカバー率は, 低い (15.2%), 中程度 (54.5%), 高い (30.3%) であった。

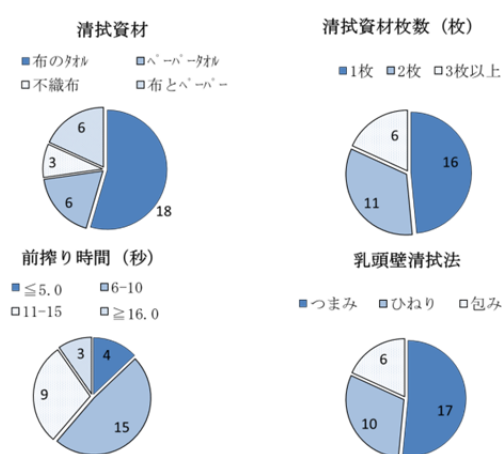


図11 酪農家33戸の搾乳作業区分の内訳
グラフ内の数値は戸数を示す

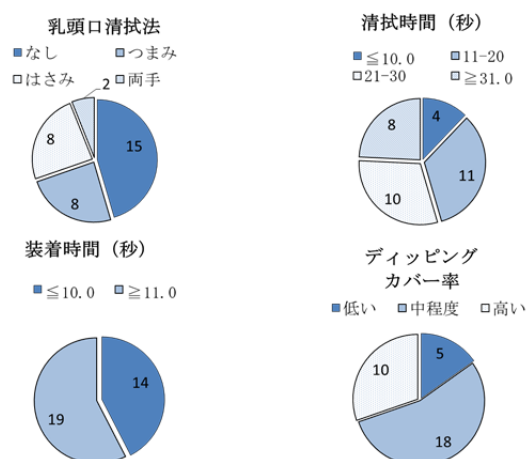


図12 酪農家33戸の搾乳作業区分の内訳
グラフ内の数値は戸数を示す

3) 搾乳作業重要管理点と乳質

バルク乳中 TBC は, いずれの調査項目においても区分間に有意な差は認められなかった。

バルク乳中 SCC は, 乳頭壁清拭法の違いにより, ひねり法 (15.6 万個/ml, 10 戸), 包み法 (21.9 万個/ml, 6 戸), つまみ法 (25.5 万個/ml,

17 戸) の順に高くなり (図 13) , つまみ法はひねり法よりも有意 ($P<0.01$) に高かった。さらにディッピングカバー率では高い (16.1 万個/ml, 10 戸), 中程度 (21.7 万個/ml, 18 戸), 低い (34.4 万個/ml, 5 戸) の順に高くなり (図 14), カバー率が低い農家および中程度農家は, 高い農家よりも有意 ($P<0.05$) に体細胞数が高かった。

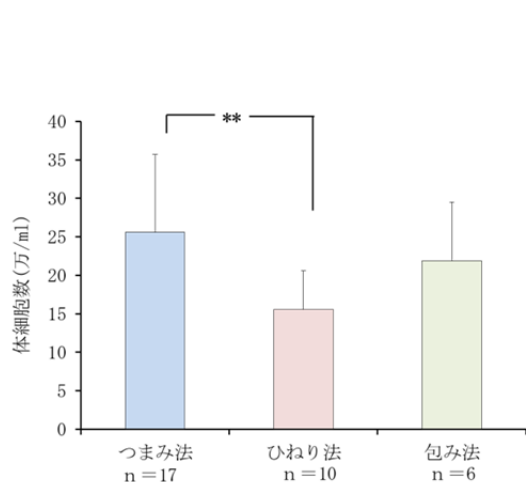


図13 乳頭壁清拭法別のバルク乳中体細胞数
平均値+SD **: $P<0.01$

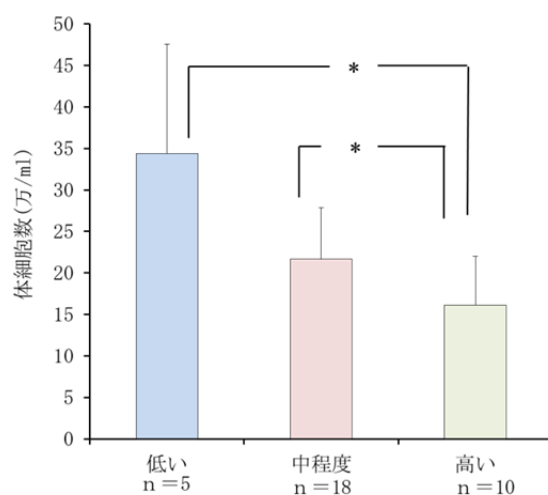


図14 ディッピングカバー率別のバルク乳中体細胞数
平均値+SD *: $P<0.05$

一方, 乳頭口清拭法の違いでは, 両手法 (11.5 万個/ml, 2 戸), つまみ法 (20.8 万個/ml, 8 戸), はさみ法 (22.8 万個/ml, 8 戸), 清拭なし (23.4 万個/ml, 15 戸) の間に有意な差はみられなかったが, 「両手法」は「清拭なし」よりも低い傾向がみられた ($P=0.096$)。

乳頭清拭時間では, 11~20 秒 (19.6 万個/ml, 11 戸), 21~30 秒 (21.4 万個/ml, 10 戸), 31 秒以上 (21.7 万個/ml, 8 戸), 10 秒以内 (29.4 万個/ml, 4 戸) の間に有意な差はみられなかったが, 10 秒以内の区分は

11～20 秒以内区分よりも高い傾向がみられた(P=0.075)。

乳頭清拭資材別では、布タオルとペーパータオル併用(17.5 万個/ml, 6 戸), ペーパータオル使用(19.3 万個/ml, 6 戸), 布タオル使用(23.7 万個/ml, 18 戸), 不織布使用(25.0 万個/ml, 3 戸)と清拭資材の違いによる有意な差や一定の傾向はみられなかった。

乳頭清拭資材枚数では、3 枚以上使用(18.1 万個/ml, 6 戸), 2 枚使用(21.1 万個/ml, 11 戸), 1 枚使用(23.8 万個/ml, 16 戸)と、清拭資材枚数による有意な差や一定の傾向はみられなかった。

乳頭の前搾り時間では、11～15 秒(19.8 万個/ml, 9 戸), 6～10 秒(21.1 万個/ml, 15 戸), 5 秒以内(22.5 万個/ml, 4 戸), 16 秒以上(23.1 万個/ml, 3 戸)と、前搾り時間の違いによる有意な差や一定の傾向はみられなかった。

4. 考察

本研究において、バルク乳中 TBC は搾乳作業工程のいずれの項目でも各区分間で有意な差は認められなかった。この理由として、今回調査した酪農家のバルク乳中 TBC の平均値は 20,000cfu/ml 以下であり、半数以上の酪農家が 5,000cfu/ml 以下であった。また、バルク乳質旬報（36 旬報）の TBC が 100,000cfu/ml 以上を超えた割合は全体でわずか 4.09%(48/1174)であり、調査酪農家のバルク乳中 TBC は概して低いため、有意な差が認められなかったものと考えられた。バルク乳中 TBC が 100,000cfu/ml 以上になる原因としては、搾乳作業以外の搾乳機器などの洗浄不良によって増加することが知られているので[39]、搾乳作業以外の要因が関与している可能性も考えられた。

バルク乳中 SCC は、乳頭壁清拭法とディッピングカバー率の違いにより有意に異なった。乳頭清拭後の乳頭壁や乳頭口に多くの細菌が存在すれば、搾乳時のライナーゴムの拍動に伴う牛乳の逆流現象により[40]、乳頭壁や乳頭口の細菌が牛乳で洗い流されて乳頭管へ侵入し、乳房への細菌感染が成立して SCC の増加につながるものと考えられる。

乳頭壁清拭法では「ひねり法」が最も SCC が低くなり、「つまみ法」が高くなった。この違いは、乳頭皮膚全面を清拭資材（布タオルなど）で汚れを物理的に擦り取れるか否かによるものと考えられ、「包み法」や「つ

まみ法」では乳頭壁全面に手指(布タオル)の接触が行き渡らず、清拭できない部分が生じるために SCC が高くなると考えられる。「ひねり法」の SCC が低いのは、清拭時にひねりを入れることにより、布タオルが乳頭壁全面に十分に接触し、汚れを物理的に擦り取ることができるためと思われる。

ディッピングの乳頭壁カバー率については、一般に乳頭全体に薬液を付着させるべきとされている。本研究においても、乳頭壁カバー率が常に高い酪農家のバルク乳中 SCC は低いことから、乳頭壁全面に十分に薬液を付着させることが乳房炎を予防する上で大切であることが確認され、ディッピングの乳房炎予防効果を示す他の多くの報告[7, 21-25]と一致した。これら搾乳作業の重要管理点は、搾乳前後の乳頭壁清浄度が乳房の健康を左右し、バルク乳中 SCC に影響していることを示している。

一方、乳頭口清拭方法のバルク乳中 SCC への影響は確認できなかった。板垣ら[41-43]は乳頭口の形状と乳頭口細菌数、乳房炎の再発率を比較して、乳頭口の糜爛や凹凸など、その形状により清拭後の細菌数が異なることを報告している。このことから乳頭口の清浄度は清拭方法だけでなく、牛側の要因も影響するため、乳頭口清拭法とバルク乳質との関係は認められなかったものと思われる。しかし、乳頭口の「清拭なし」は「両手法」に比較して SCC が高い傾向が見られたことから、乳頭口清拭は当然行わなければならない重要管理作業であると思われる。


乳頭清拭時間とバルク乳質の間には関連性が認められなかった。しかし、乳頭清拭時間が10秒以内の酪農家（4戸）では、バルク乳中 SCC は 29.8 万個/ml で、他の酪農家よりも高い傾向が認められた。Magnusson ら [5] , Rasmussen ら [6] は、乳頭の清拭時間は 20 秒程度必要であるとしており、4 本の乳頭壁と乳頭口を清浄化する上で、乳頭清拭時間も搾乳作業重要管理点になると考えられた。

乳頭清拭資材の違いや使用枚数とバルク乳質との間には関連性が認められなかった。しかし、Galton ら [3, 4] , Magnusson ら [5] , Rasmussen ら [6] は、ペーパータオルよりは湿った布タオルの方が乳質向上に貢献し、更に1頭2枚用いて、20秒間清拭するのがよいと報告した。特にプレディッピングの実施とミルクカー装着前の乳頭清拭及び乳頭乾燥が重要であると指摘している。北海道根釧農業試験場の研究 [8] では、ペーパータオルより布タオル、乾いたタオルより湿ったタオルは乳頭壁をより清浄化でき、乳頭の拭き回数は3回とすることが提唱されている。本研究でも有意な差はみられなかったものの、布タオルで乳頭清拭を行い、さらにペーパータオルで水分を拭き取りしている酪農家では、体細胞数が 17.5 万個/ml と最も低かった。調査酪農場の多くでは布タオルが清拭資材として使用され (24/33 戸) , 搾乳使用後は洗濯機で洗剤を用いて洗濯後脱水保管された湿った布タオルの使用が多いために、清拭資材の違いによる差が認められなかったものと思われる。

前搾りの時間(回数)とバルク乳質の関係について、中川ら[12]は、前搾り回数1回よりも5回の方がバルク乳中TBCは低下し、更にバルク乳中の乳房炎起因菌も減少したと報告している。本研究においては前搾り時間とバルク乳質について有意な差や一定の傾向はみられなかった。この理由は、調査酪農家の半数以上(18/33戸)がTBC5,000cfu/ml以下であり、中川らが前搾り実施後のバルク乳中TBCが低下したとする細菌数とすでに同程度であったためと思われる。

以上のことから、搾乳作業精度はバルク乳質に影響していることが確認された。搾乳作業工程における重要管理点を本研究と既報から以下のとおり提案する。①前搾りを5回程度行い、②プレディッピングは乳頭壁全面に薬液が付着するように確実に実施する。③乳頭清拭は湿った布タオルを1頭あたり2枚以上使用し、④1乳頭当たり3回⑤”ひねり法”で乳頭壁を清拭し、⑥乳頭口清拭を確実に行う。⑦乳頭清拭時間は1頭当たり最低20秒以上かける。⑧以上の搾乳作業工程を2分以内で行う。⑨搾乳終了後はポストディッピング時の薬液が乳頭壁全面に付着するように確実に行う。以上の工程を正確に実施することが、バルク乳質を向上させる上で重要であると考えられた(表2)。

表2 搾乳作業工程と作業管理基準

作業工程	作業管理基準
前搾り プレディッピング 乳頭清拭 	①1乳頭5回程度行う ②乳頭全面に液が付着するように行う ③湿った布タオルを1頭当たり2枚使用 ④1乳頭当たり3回は清拭する ⑤乳頭壁はひねり法で清拭する ⑥乳頭口を確実に清拭する ⑦20秒以上をかけて乳頭清拭をする
⑧以上の行程を2分程度で行う	
搾乳作業 ポストディッピング	⑨乳頭全面に液が付着するように行う

5. 小括

酪農家のバルク乳質に影響する搾乳作業の重要管理点を明らかにする目的で、酪農家 33 戸の搾乳作業をビデオ撮影して作業工程とその精度を解析するとともに、調査前 1 年間のバルク乳質との関係を検討した。乳頭壁清拭法別に比較したところ、年間平均 SCC は、ひねり法（15.6 万個/ml）、包み法（21.9 万個/ml）、つまみ法（25.5 万個/ml）の順に高く、つまみ法はひねり法よりも有意（ $P < 0.01$ ）に高かった。また、ディッピングにおける乳頭壁カバー率と SCC は、カバー率が高い（16.1 万個/ml）、中程度（21.7 万個/ml）、低い（34.4 万個/ml）の順に高く、カバー率が高い酪農家の SCC は他に比べて有意（ $P < 0.05$ ）に低かった。バルク乳質向上のための搾乳作業の重要管理点は、ひねり法で乳頭壁を清拭し、ディッピング液を乳頭壁全面に付着するように行うことであると示唆された。

第 2 章 ATP 拭き取り査による搾乳前乳頭壁清浄度の評価

1. 序

バルク乳質を向上させるためには搾乳作業を精度高く行い、維持することが重要である。搾乳直前の清拭後の乳頭壁清浄度を評価する上で、従来の細菌検査法は費用と専門的知識、専門設備を必要とし、結果判定までに時間を要する。それに対して ATP 検査法は、その場で迅速に結果を得ることができる衛生状況の診断手法であり、食品加工施設の製造ラインの清浄度判定や洗浄方法の改善に用いられている検査法である [34]。その基本原理は、全ての生物細胞が持つエネルギーである ATP をルシフェリン-ルシフェラーゼ発光反応を利用して測定するものである (図 4)。ATP 化学発光量 (ATP 検査値, 測定単位 RLU) は、純粋培養した細菌数とは強い正の相関を持つが、生菌に含まれる ATP (生体内 ATP) と生物由来の汚れ (有機物) や残渣 (遊離 ATP) の合計 ATP 量を測定するため、細菌検査の結果と完全には一致しないものの、”汚れ” の評価法として、食品汚染微生物や微生物栄養源としての有機物存在のよい指標として活用されている [34-38]。

Finger ら [44] は、ATP 検査法により搾乳前の乳頭壁清浄度を評価しようとして、細菌数判定には感度と特異性に難点はあるものの、搾乳従事

者に対して搾乳作業工程が乳頭壁清浄度に影響を及ぼすことを示す教育用ツールとして用いるには有効な方法であると報告している。

清拭後の乳頭壁清浄度の高低は、バルク乳質や乳房炎発生に大きな影響を与えるという認識は一般化しているものの[3, 5, 6], 乳頭壁清浄度を高める具体的な方法や乳頭の衛生管理に言及した報告はみられない。

そこで, ATP 検査法による搾乳直前の乳頭壁清浄度の評価基準を設定し, その実用性を検討することを目的として研究を行った。

2. 材料と方法

1) 予備試験

搾乳作業の各工程における乳頭壁清浄度の変化を ATP 検査で評価可能か否かを確認するために、一般酪農場の搾乳牛 15 頭を用いて予備試験を行った。搾乳作業工程の乳頭清拭前、湿った布タオル 1 枚による清拭後、再清拭後、および搾乳終了直後の合計 4 回、後分房の 1 乳頭に対して ATP 検査を行い、各 ATP 検査値を比較した。

ATP 検査は、拭き取り綿棒として抽出試薬（界面活性剤、ルシフェリン、ルシフェラーゼなど含有）付きキットのクリーントレース UXL100（3M 社、東京）を使用し、ATP 測定機器は携帯型ルミノメーター UNG3（3M 社、東京）を用いた（図 15）。

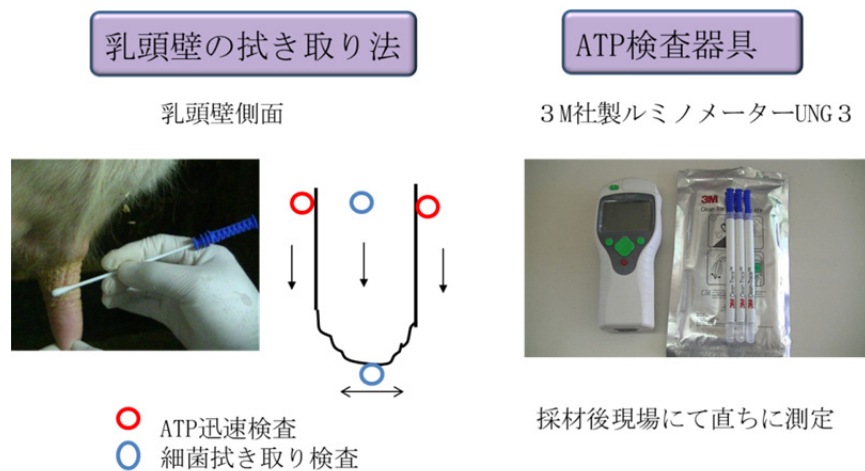


図15 乳頭壁の拭き取り方法

2) ATP 検査基準値設定試験

帯広畜産大学畜産フィールド科学センターの搾乳牛延べ 180 頭(実施期間 2012 年 1 月から 3 月, 60 頭を 3 回実施) を供試した。搾乳作業工程は, ヨード剤によるプレディッピング後, 前搾り(1 乳頭約 10 回) を行い, さらに殺菌剤(次亜塩素酸 Na, 200ppm) に浸し, 手で絞った布タオル 1 枚を用いて乳頭を清拭した。乳頭清拭後の各牛の同じ乳頭 1 本に対して, ATP 検査と細菌検査を同時に実施した。

細菌検査は, 拭き取り綿棒として Culture Swab(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社, 東京) を用い, 拭き取り後 10ml の滅菌水に綿棒を懸濁して菌液を作成した。懸濁菌液 1ml を採取し, 5%羊血液加寒天培地, クロムアガー寒天培地(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社, 東京) に塗布し, 35℃で 18~20 時間(最大 48 時間) 好気培養後, 拭き取り当たりの細菌数(cfu: Colony Forming Units) を測定した。

ATP 検査, 細菌検査共に乳頭壁の拭き取り法は, 乳頭壁に対する拭き取り圧を等しくするために, 綿棒はペンを持つように保持し, 片手で乳頭先端を固定して, 乳頭壁側面を綿棒の面を変えて上から下へ 2 回擦り取った(図 15)。

ATP 検査値と細菌検査結果について, 両者間の相関を調べ, 細菌検査において細菌発育を認めなかったサンプルの ATP 検査値を対数変換して, 平均値と平均値+標準偏差を求め, それぞれを ATP 検査基準値とした。

乳頭壁細菌数について、ATP 検査基準値の平均以下(ATP-L 群)、平均から平均+標準偏差(ATP-M 群)、それ以上(ATP-H 群) の 3 階層に区分して比較した。

3) バルク乳質試験

2011 年 2 月～2012 年 8 月に酪農家 35 戸（府県 11 戸，北海道 24 戸）において、搾乳立会時に各酪農家 8 頭の 1 乳頭に対して、搾乳時の乳頭清拭直後に ATP 検査を実施した。検査酪農家の乳牛飼養法は、つなぎ牛舎 18 戸，放し飼い牛舎 17 戸で，約 20 頭から 600 頭が搾乳されていた。

搾乳立会の前 1 年間の生乳出荷伝票(年 36 旬報)から，バルク乳中 SCC と TBC を調査した。ATP 検査値を基に，酪農家 35 戸を ATP-L 群，ATP-M 群，ATP-H 群に区分けし，それぞれのバルク乳質（SCC, TBC）を 3 階層間で比較した。

4) 統計処理

ATP 検査基準値設定試験における乳頭壁細菌数と ATP 検査値との関係を，ピアソンの相関分析で検討するとともに，ATP 検査基準値による 3 階層間の乳頭壁細菌数および 35 戸の酪農家のバルク乳中 SCC，TBC を Kruskal Wallis 検定で比較し，有意な ($P < 0.05$) 場合にはさらに多重比較を行った。

3. 結果

予備試験において、乳頭壁の ATP 検査値は搾乳作業工程が進むに従って低下し、搾乳直後には上昇する有意な ($P < 0.01$) 変化がみられた(図 16)。

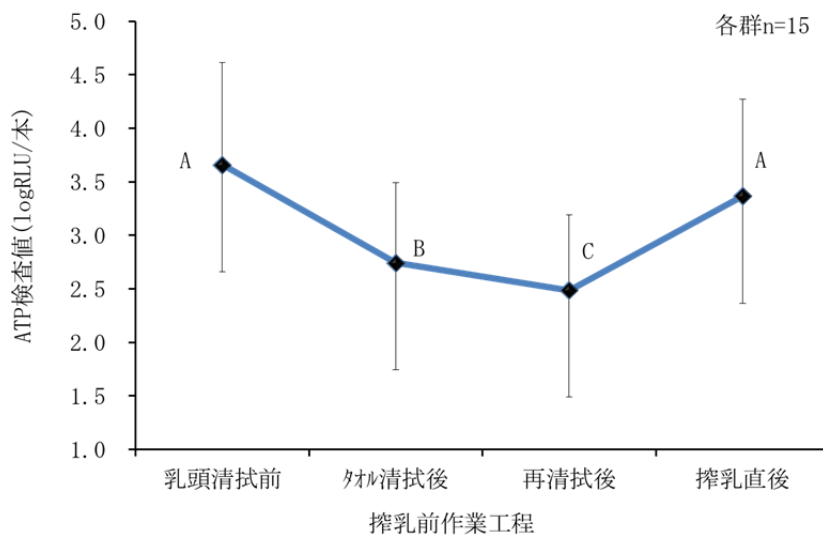
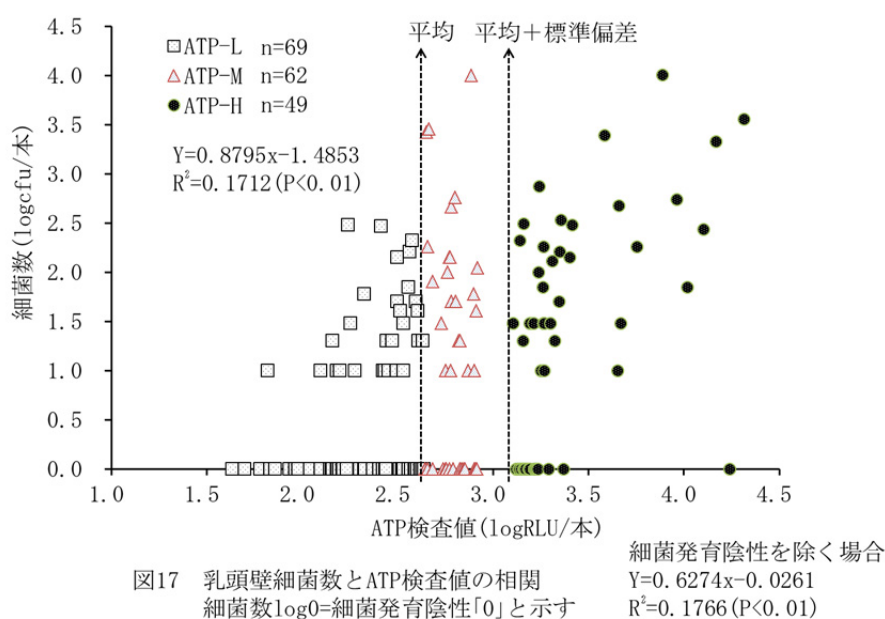


図16 搾乳前準備作業工程による乳頭壁ATP検査値の推移
平均値±SD BC:P<0.05 AB, AC:P<0.01

ATP 検査基準値設定試験において、清拭直後の乳頭壁 ATP 検査値は 2.8 ± 0.5 (平均±SD, logRLU/本, $n=180$), 乳頭壁細菌数は 1.0 ± 1.0 (平均±SD, logcfu/本) となり、両者の相関係数は 0.41 ($P < 0.01$) で、緩やかな正の相関がみられた。細菌発育陰性 83 件を除いた場合の相関は、相関係数 0.42 ($P < 0.01$) であった。細菌発育陰性 83 件の ATP 検査値(logRLU) は $1.6 \sim 4.2$ の範囲に分布し、平均値±標準偏差は 2.6 ± 0.5 で、平均値 (2.6 ; 438RLU) と平均+標準偏差 (3.1 ; 1261RLU) をそれぞれ ATP 検査基

準値として設定した(図 17)。



ATP 検査値階層別の乳頭壁細菌数 (平均 \pm SEM ; logcfu/本) は, ATP-L 群 (0.6 \pm 0.1, n=69), ATP-M 群 (1.1 \pm 0.1, n=62), ATP-H 群 (1.4 \pm 0.2, n=49) の順に高くなり, ATP-L 群は他の 2 群よりも有意 ($P<0.01$) に低かった。

また ATP 検査値で階層区分した酪農家 35 戸のバルク乳中体 SCC(平均 \pm SEM ; logSCC/ml) は, ATP-L 群 (5.0 \pm 0.02, n=144) , ATP-M 群 (5.2 \pm 0.01, n=393) , ATP-H 群 (5.3 \pm 0.01, n=720) の順に高くなり, 3 階層間に有意 ($P<0.01$) な差がみられた(図 18)。

またバルク乳中 TBC(平均 \pm SEM ; logcfu/ml) は, ATP-L 群 (3.2 \pm 0.02) , ATP-M 群 (3.4 \pm 0.02) , ATP-H 群 (3.9 \pm 0.02) の順に高くなり, 3 階層間に有意 ($P<0.01$) な差がみられた(図 19)。

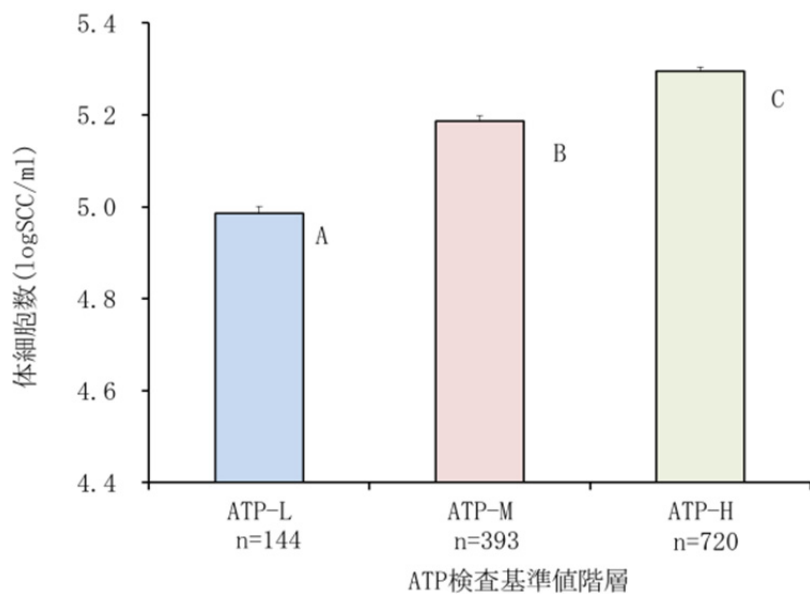


図18 ATP検査階層別のバルク乳質(体細胞数)
平均+SEM ABC:P<0.01

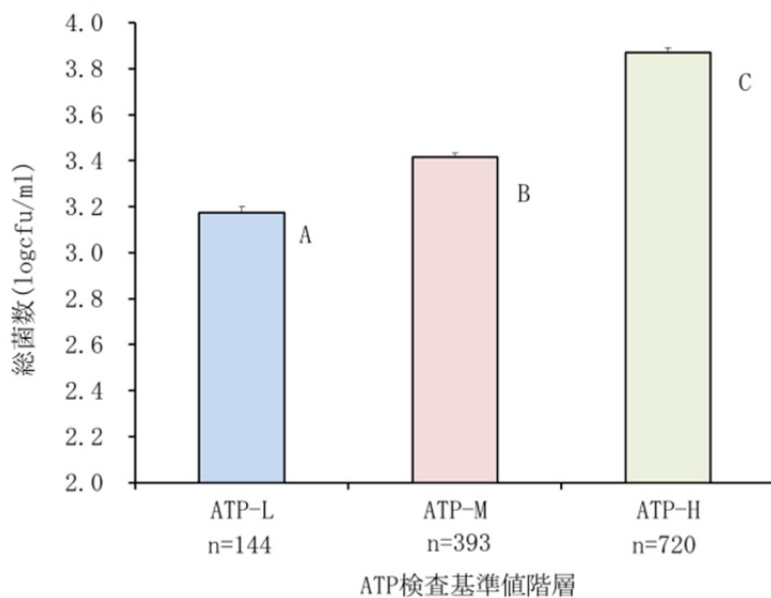


図19 ATP検査階層別のバルク乳質(総菌数)
平均+SEM ABC:P<0.01

4. 考察

予備試験の各搾乳作業工程における ATP 検査値の変化は、清拭前に比較して清拭後は大きく低下し、2 回目の清拭後はさらに低下することが確認され、ATP 検査が乳頭壁の清浄度評価に応用できることが示された。一方、搾乳直後の ATP 検査値は再上昇しており、これは搾乳後の乳頭壁に付着している牛乳中の ATP に反応したものと考えられた。牛乳の付着は ATP 検査の異常値を導くことが示唆されたため、以降の試験では牛乳を付着させないように配慮した。

ATP 検査基準値設定試験において、ATP 検査値と細菌数の関係では強い正の相関はみられなかった。その理由として ATP 検査は細菌以外の乳頭皮膚上皮細胞の持つ ATP や汚れ(有機物；糞など)などに反応したためと考えられた。

細菌検査は清拭後の乳頭壁に残存する細菌を検出することで、細菌汚染の指標となる。一方、ATP 検査は細菌検出のみならず乳頭壁に残る汚れ(有機物；糞など)も検出でき、洗浄が適切に行われているかなどの衛生状況の指標といわれている[34]。本研究で設定した ATP-L 群の乳頭壁細菌数の平均は 0.6(4 個/本)と低く、衛生状況を向上させることで細菌汚染を除去できる可能性が示された。

本研究において ATP 検査基準値を設定する際に、乳頭壁の汚染指標で

ある細菌は、清拭後の乳頭壁では陰性であるべきと考え、細菌発育陰性データを乳頭壁清浄度が正常な範囲とみなし、平均(2.6;438RLU)と平均+標準偏差(3.1;1261RLU)の低い範囲の値をATP検査基準値とした。

ATP検査基準値設定におけるATP検査値と細菌数の関係は、過去の報告[34]にあるように完全に一致してはいないが、緩やかな正の相関関係を示していた。さらにATP検査値3階層別の乳頭壁細菌数は、有意に階層が上がる毎に増加していた。ATP-L群でも乳頭壁細菌は検出されているが、その最大値は2.47(logcfu:実数300個)であり、搾乳後大量の牛乳で希釈されることを考えると、十分に高い乳頭壁清浄度と考えられる。

35戸の酪農家のバルク乳質試験においても、ATP-L群の乳質は他の2群に比較して有意に優れていた。特にATP-L群の酪農家4戸(n=144、4戸×36旬報)のバルク乳質は、年間を通じてSCC10万個/ml以下、TBC1,000cfu/ml程度の最良質乳であった。このようにATP検査基準値(438RLU)は、清拭後の少ない乳頭壁細菌数と優れたバルク乳質を反映していた。

ATP検査基準値2.6(logRLU)は、実数換算では438(RLU)であり、平均値+標準偏差3.1(logRLU)は1261(RLU)となる。食品加工業界では、手洗い後の手指の一般的な衛生管理基準値は1000(RLU)以下(本研究使用機器の基準)とされている[34]。諸橋ら[45]は、学校給食などより

衛生基準が厳しい場所の手指の衛生管理基準は 500 (RLU) 以下にすべきと報告している。今回設定した ATP 検査基準値は、これらの目安とほぼ一致する値であり、手指と乳頭の違いはあるものの、共に食品に関わる皮膚という材質の清浄度判定基準値として妥当であると思われた。

また本研究において、ATP 検査基準値による乳頭壁清浄度とバルク乳質の関係評価に際し、酪農家の ATP 検査は 1 回のみであり、検査実施頭数は 1 戸あたり 8 頭と少なかった。しかし、酪農家は毎日の搾乳において、習慣的に同じ手順で乳頭清拭をしていると推測される。ATP 検査回数や ATP 検査頭数が少ないながらも、ATP 検査値とバルク乳質との間に有意な関係が確認されたことから、ATP 検査基準値は酪農家の乳頭壁清浄度を正しく評価しているものと考えられた。

乳頭壁清浄度とバルク乳質の関係において、清拭後の乳頭壁残存細菌が多くなれば搾乳中に牛乳に混入する可能性が大きくなり、その結果バルク乳中 TBC は上昇する。同じくバルク乳中 SCC が高いことは、搾乳牛が潜在性乳房炎に罹患していることを意味する。本田ら[40], 板垣ら[41]は、ライナーリップが生じなくとも搾乳中のライナーゴムの拍動毎に牛乳の逆流現象(牛乳で乳頭が洗われる現象)は起きると報告している。清拭後の乳頭壁 ATP 検査値が高いことは、乳頭壁に細菌や汚れ(有機物)が多いことを示し、それは牛乳の逆流現象による細菌の乳頭槽内への侵入の危険性を高め、その結果バルク乳質悪化の原因になると考えられる。

これはバルク乳質が年間を通じて優れている酪農家は、乳頭壁 ATP 検査値が低いという結果からも示されている。

以上の結果より,ATP 検査による乳頭壁清浄度判定基準として,500(RLU)以下(本研究使用機器の基準)を清浄とすることが妥当であると思われた。また,携帯型 ATP 測定機器と検査抽出試薬キット使用による ATP 検査法は,その迅速性,簡便性,現場適応性を生かして乳頭壁の衛生管理に用いることが可能であり,乳頭壁衛生管理の改善を繰り返すことにより,バルク乳質改善に貢献できると考えられる。

5. 小括

乳牛の搾乳前乳頭壁清浄度を ATP 検査法で評価し，バルク乳質との関係を明らかにする事を目的として，清拭後の乳頭壁（180 頭）の細菌検査と ATP 検査を同時に実施し，さらに酪農家 35 戸において ATP 検査を実施した。ATP 検査基準値として，細菌発育陰性 83 件の ATP 検査値の平均値と平均値＋標準偏差を設定した。ATP 検査基準値に基づき 3 階層に分類し，階層別に 180 頭の乳頭壁細菌検査結果と酪農家 35 戸の年間バルク乳質を比較検討した。ATP 検査基準値の上昇に伴い乳頭壁細菌数は増加（ $P<0.01$ ）し，バルク乳中体細胞数（ $P<0.01$ ），総菌数（ $P<0.01$ ）も共に増加した。ATP 検査法は細菌検査結果とバルク乳質を反映し，その基準値として 500（RLU）以下を清浄とすることが妥当と思われた。

第3章 異なる乳頭清拭法と乳頭壁清浄度の関係

1. 序

乳牛の乳房炎予防やバルク乳質向上のためには、搾乳作業を精度高く行うこと、特に搾乳直前の乳頭清浄度を高めることが大変重要である。Galtonら[1-4]、Magnussonら[5]、Rasmussenら[6]、Pankeyら[7]は、搾乳作業工程や清拭材料の違いが清拭後の乳頭壁の細菌数やバルク乳中TBCおよび乳房炎発生率に影響を与えていると報告している。その中で乳頭表面の清浄度を高めるためには、物理的な乳頭皮膚の汚れ除去や搾乳前乳頭の殺菌や水分除去(乾燥)が重要であり、使用清拭資材の違いではペーパータオルよりは布タオルを使用し、乳頭清拭時間では6秒よりは20秒間清拭することが重要であると述べている。

ところで搾乳前の乳頭清浄度を高める上で、柔らかい円筒形状の乳頭をどのように清拭することが有効なのかについては、報告の中では述べられていない。2000年に発表されたアメリカ乳房炎協議会[28]で推奨する搾乳作業工程においても、搾乳前の乳頭清拭と乾燥が重要であると述べているのみで、具体的な乳頭清拭方法は記載されていない。

著者は第1章において、酪農家の搾乳立会時に搾乳作業をビデオ撮影して乳頭壁と乳頭口の清拭法を解析分類し、乳頭清拭法の違いがバルク

乳質に関連していることを報告した。特に乳頭壁清拭法では「ひねり法」がどの場合でもバルク乳質が最も優れていた。第 2 章では、搾乳前の乳頭清浄度を ATP 検査法[34, 35]で判定し、その判定基準値を 500RLU 以下にすることでバルク乳質向上に貢献できることを示した。

そこで本研究では、搾乳前の乳頭清浄度を高める上で最も優れた乳頭清拭方法を明らかにすることを目的とした。

2. 材料と方法

1) 清拭法の分類

乳頭壁清拭法は3法（包み法, ひねり法, つまみ法）に, 乳頭口清拭法は4法（清拭なし, つまみ法, はさみ法, 両手法）に分類した（第1章）。

2) 乳頭壁拭き取り法

乳頭壁拭き取り法に準じて ATP 検査と細菌検査を実施した（第2章）。

3) ATP 検査と細菌検査手順

乳牛の乳頭清拭後の乳頭1本に対して, 細菌検査と ATP 検査を実施した。乳頭口の拭き取り検査では, ATP 検査は牛乳に反応するので細菌検査のみ実施した（第2章）。

4) 乳頭清拭法別試験

帯広畜産大学畜産フィールド科学センターの搾乳牛延べ180頭（実施期間2012年1月～3月, 60頭を3回実施）を供試し, 乳頭清拭後の乳頭壁と乳頭口に対して細菌検査を実施し, 更に乳頭壁に対して ATP 検査を細菌検査と同じ乳頭で実施した。同時に4乳頭の合計乳頭清拭時間を計測した。

搾乳作業工程は, プレディッピング後, 前搾り（1乳頭約10回程度）を行い, さらに殺菌剤（次亜塩素酸 Na、200ppm）に浸し, 手で絞った布タオル1枚を用いて乳頭を清拭した。

乳頭清拭作業は3名の搾乳専従者が行い、乳頭壁清拭法3法と同時に乳頭口清拭法3法（乳頭口清拭なしは除く）にて、それぞれ各20回（頭）の乳頭清拭試験を3回実施して、各清拭法の合計が60回（頭）となるように実施した。総検査頭数は1回に60頭、3回合計180頭（各清拭法60乳頭延べ180乳頭）とした。

乳頭壁と乳頭口の各清拭3法別に、ATP検査値と細菌検査結果を比較検討した。

5) 野外試験

2011年2月～2012年8月の期間中、酪農家35戸（府県11戸、北海道24戸）を調査対象とした。調査酪農家の乳牛飼養法は、つなぎ牛舎18戸、放し飼い牛舎17戸で、20頭から600頭が搾乳されていた。搾乳立会時に、搾乳作業をビデオ撮影して乳頭壁と乳頭口清拭法を判別した。各酪農家8頭の各1乳頭に対して乳頭清拭直後にATP検査を実施した。乳頭壁の各清拭法別にATP検査値を比較検討した。

6) 統計処理

乳頭清拭法別試験のATP検査結果と細菌検査結果、野外試験のATP検査結果を対数変換後、基本統計量（平均、標準誤差）を求め、乳頭壁と乳頭口の各清拭法別にKruskal Wallis法で比較検討した。更に有意（ $P < 0.05$ ）なものについては多重比較を行った。

3. 結果

1) 乳頭清拭法別試験

乳頭清拭時間調査では、乳牛 1 頭の 4 乳頭平均清拭時間（平均±SEM, 秒）は 40.6 ± 1.6 (n=61) であり、31~40 秒間が最も多くみられ、20 秒以下の清拭時間はみられなかった(図 20)。

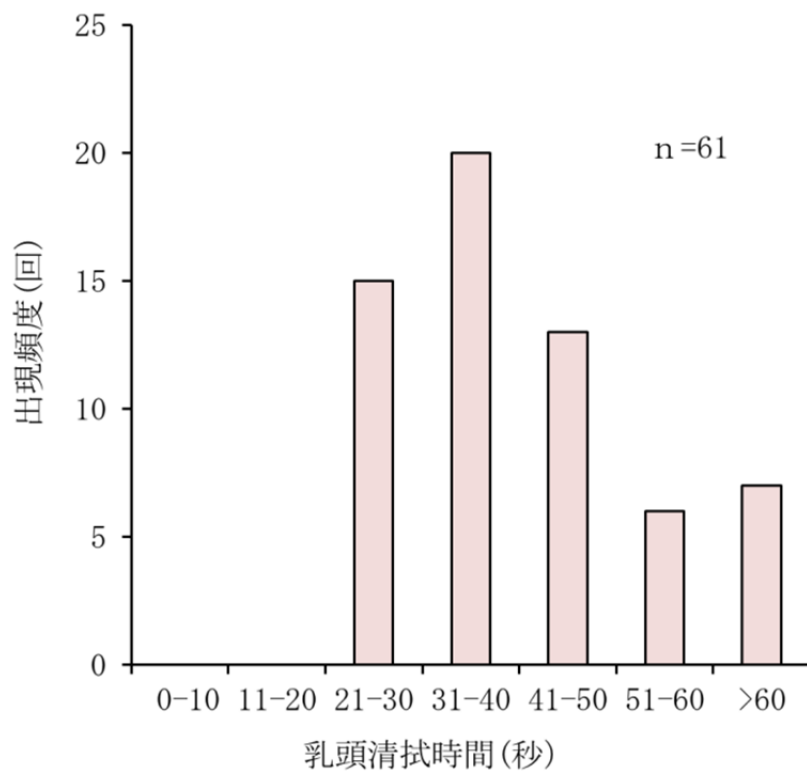


図20 乳頭清拭時間の比較

乳頭壁および乳頭口清拭法別の ATP 検査結果と細菌検査結果を表 3 に示した。乳頭壁 ATP 検査値 ($\log\text{RLU} \pm \text{SEM}$) では、「ひねり法」(2.74 ± 0.06) は「包み法」(2.92 ± 0.06) よりも有意 ($P < 0.05$) に ATP 検査値が低かつ

た。乳頭壁細菌数 (logcfu/本±SEM) では、「つまみ法」(0.75±0.14) は「包み法」(1.20±0.14) に比較して有意 (P<0.05) に低かった。乳頭口の細菌数では、3 法間に有意な差はみられなかった。

表3 乳頭清拭法別試験結果

乳頭壁清拭法	ATP検査値 (logRLU/本)	細菌数 (logcfu/本)
包み法 (n=60)	2.92±0.06 a	1.20±0.14 a
つまみ法 (n=60)	2.75±0.07	0.75±0.14 b
ひねり法 (n=60)	2.74±0.06 b	0.99±0.12

各清拭法間でab:P<0.05

乳頭口清拭法	細菌数 (logcfu/本)
つまみ法 (n=60)	1.03±0.15
はさみ法 (n=60)	1.14±0.16
両手法 (n=60)	1.30±0.17

NS 平均, SEMを示す

2) 野外試験

調査酪農家 35 戸の乳頭壁と乳頭口清拭法の組み合わせを表 4 に示した。乳頭口を「はさみ法」で清拭する酪農家の乳頭壁清拭法は、ひねり法 (13 戸)、つまみ法 (2 戸)、包み法 (1 戸) となり、殆どの酪農家がひねり法を採用していた。一方乳頭口「清拭なし」の酪農家 (5 戸) 全ては、乳頭壁「つまみ法」を採用していた。

乳頭壁清拭法別の ATP 検査結果を表 5 に示した。乳頭壁 ATP 検査値 (logRLU±SEM) は、「ひねり法」(2.97±0.08) が「つまみ法」(3.39±0.09) よりも有意 (P<0.01) に低かった。

表4 乳頭清拭法の組み合わせ

単位：戸数

乳頭壁清拭法	乳頭口清拭法				合計
	つまみ法	はさみ法	両手法	清拭なし	
包み法		1			1
つまみ法	4	2	4	5	15
ひねり法	3	13	3	0	19
合計	7	16	7	5	35

表5 乳頭清拭法別ATP検査野外試験結果

乳頭壁清拭法	ATP検査値 (logRLU/本)
包み法 (n= 1)	2.93
つまみ法 (n=15)	3.39±0.09 B
ひねり法 (n=19)	2.97±0.08 A
平均, SEMを示す	各清拭法間でAB:P<0.01

4. 考察

本試験において、乳頭壁清浄度は「ひねり法」が最も優れていた。乳頭壁清拭各3法の違いは、Pankeyら[8]の報告にあるように乳頭皮膚全面を清拭資材の布タオルなどで物理的に汚れを擦り取れるかどうかに関わっていると考えられる。「包み法」や「つまみ法」は乳頭壁全面に手指（布タオル）の接触が行き渡らず、乳頭壁から汚れを擦り取れない部分が生じたことで、乳頭清浄度が低くなったと考えられる。

また「ひねり法」は、清拭時に“ひねり”を入れることにより布タオルが乳頭壁全面に接触し、汚れを物理的に擦り取ることが可能であり、一方「包み法」は乳頭壁全面に掌の接触が行き渡らず指先のみ接触となり、物理的に汚れを擦り取れない部分が生ずる可能性が高く、最も乳頭清浄度が低くなったものと考えられる。

「つまみ法」と「ひねり法」の比較において、乳頭清拭法別試験では「つまみ法」の細菌数が少なく、野外試験のATP検査では「ひねり法」が「つまみ法」より清浄度が高い結果となり、乳頭清拭法別試験と野外試験では異なる結果となった。この原因は4乳頭の清拭時間の差にあると思われる。即ち乳頭清拭法別試験での平均乳頭清拭時間(平均±SEM, n=61)は 40.6 ± 1.6 秒であり、榎谷ら[46]の報告での一般酪農家の平均乳頭清拭時間(平均±SEM, n=33)は、 21.9 ± 1.6 秒である。乳頭清拭法別試験では

一般酪農家より約2倍の乳頭清拭時間を使っており、1回の清拭が不十分であっても時間をかけて何度も清拭する間に乳頭清浄度は向上するので、このような結果が生じたものと思われる。北海道根釧農業試験場の報告[8]によれば、乳頭壁清拭回数1回と3回で乳頭壁細菌数を比較したところ、清拭回数3回の細菌数が少なかったと報告している。またRasmussenら[6]は、清拭後の乳頭壁細菌数を乳頭清拭時間6秒と20秒を比較して、清拭時間20秒の細菌数が少ないと報告している。このように十分な乳頭清拭時間を確保することも乳頭清浄度を高める上で重要である。

乳頭口は乳頭先端に位置し、牛乳の逆流現象[40, 41]と共に細菌の入り口となる場所であり、従って乳頭口清拭法の比較において、乳頭口“清拭なし”は搾乳衛生上考えられないために試験項目から除外した。

乳頭口清拭法別試験では、3法間に有意な差はみられず、第1章の調査と同じ結果であった。「はさみ法」は、柔らかい円筒形状の乳頭を2本の指で挟み固定して親指の腹で擦るという方法で、乳頭先端位置を目視しなくとも確実に強く擦り、清拭できる方法である。一方「両手法」は乳頭の位置は片手で保持できるものの、搾乳者から遠い側の乳頭に両手を伸ばすことは困難であり、特に繋ぎ牛舎では乳房の位置が搾乳者より低いため両手を遠い側の乳頭に伸ばすことは著しく困難となる。「つまみ法」は、乳頭先端を指先でつまみながら拭く方法であるが、乳頭先端には厚みがあり、形状の異なる乳頭先端の汚れを清拭する方法としては不確実

であると思われる。板垣 [42] は乳頭口の形状と乳頭口細菌数，乳房炎の再発率を比較して，乳頭口の糜爛や凹凸など，その形状により清拭後の細菌数が異なることを報告している。以上のことから乳頭口は，短時間でより確実に清拭可能な「はさみ法」が適していると考えられた。

本研究において，搾乳時の乳頭清浄度を向上させるためには，乳頭壁は「ひねり法」を乳頭口は「はさみ法」を用いて，4 乳頭清拭時間は 20 秒以上をかけて丁寧に清拭することが重要であることが明らかになった。

5. 小括

搾乳前の乳頭清浄度を高める上で、最も優れた乳頭清拭法を明らかにする目的で、180 乳頭(180 頭) に対して乳頭壁清拭 3 法(つまみ法、ひねり法、包み法) と乳頭口清拭法 3 法(つまみ法、はさみ法、両手法) で乳頭清拭を行い、清拭直後に細菌検査と ATP 検査を行った。さらに酪農家 35 戸において搾乳立会時に乳頭清拭法を分類し、ATP 検査で清浄度を評価した。細菌検査と ATP 検査結果は、つまみ法： 0.75 ± 0.14 (logcfu/ml \pm SEM) ; 2.75 ± 0.07 (logRLU/本 \pm SEM), ひねり法： 0.99 ± 0.12 (logcfu/ml \pm SEM) ; 2.75 ± 0.07 (logRLU/本 \pm SEM), 包み法： 1.20 ± 0.14 (logcfu/ml \pm SEM) ; 2.92 ± 0.06 (logRLU/本 \pm SEM) の順に高くなり、包み法は他法に比較して有意 ($P < 0.05$) に高かった。酪農家 35 戸の ATP 検査結果は、包み法： 2.93 (logRLU/本 \pm SEM, n=1), ひねり法： 2.97 ± 0.08 (logRLU/本 \pm SEM, n=19), つまみ法： 3.39 ± 0.09 (logRLU/本 \pm SEM, n=15) となり、つまみ法はひねり法よりも有意 ($P < 0.01$) に高かった。乳頭壁清拭法は、「ひねり法」を用い、乳頭口清拭法は「はさみ法」を用いて乳頭を清拭することが、搾乳直前の乳頭清浄度を高める上で重要である。

第4章 一般酪農家におけるATP迅速検査を応用した搾乳衛生指導の成果

1. 序

第1章では搾乳作業の重要管理点と搾乳作業精度がバルク乳質に影響することを明らかにした。第2章では搾乳前の乳頭清浄度評価をATP検査法で行い、その基準値を作成した。さらに第3章では最も優れた乳頭の清拭法を明らかにした。

以上の研究結果をふまえ、本章ではATP検査を放し飼い牛舎飼養酪農家2戸に応用した成果を報告する。清拭後の乳頭壁のATP検査を1年間継続して実施し、搾乳作業の問題点を協議しながら指導を行い、バルク乳質の向上を図った。

2. 材料と方法

1) 指導酪農家の概要

フリーストール牛舎にて TMR 飼養の法人経営酪農家 2 戸(酪農家 A, B) を対象とした。酪農家 A は約 80 頭の搾乳牛, 酪農家 B は約 200 頭の搾乳牛を, ミルキングパーラーを用いて従業員 3~4 名と家族で搾乳を行っていた。

2) ATP 検査および指導内容

2012 年 6 月~2013 年 6 月までの間の 12 ヶ月間, 毎月 1 回搾乳立ち会いを行ない, 同時に 8 頭の 8 乳頭の ATP 検査を実施し, ATP 検査値の推移を比較検討した。

搾乳指導内容は以下のものであった。乳頭清拭時間を確保するために, ミルキングパーラー内での搾乳者の動き方を変更した。一工程の搾乳前準備作業頭数を現状の 4~6 頭から 2~3 頭に変更し, 搾乳作業工程の最初から最後まで 1 名の作業者の責任制とした。乳頭清拭は, 「ひねり法」と「はさみ法」を採用し, 乳頭清拭時間を測定した。乳頭清拭は事前に準備した 1 頭あたり 2 枚の湿った布タオルを用いて乳頭清拭を行った。清拭用タオルは月に 1 度はすべて更新し, 使用后 2 槽式洗濯機を用いてすすぎを充分に行い, 専用洗剤を用いて洗濯, すすぎ, 脱水後保管して, 次の搾乳時に使用した。

3) 調査項目

指導前後1年間のバルク乳質調査(SCC, TBC:36旬報)と牛群検定のSCCデータ(牛群リニアスコア, 分娩後49日以内の経産牛リニアスコア, SCC100万個/ml以上の頭数の検定牛頭数比率)を, 指導前後1年間で比較した。また酪農家Aでは廃棄乳量の毎日の調査, 酪農家Bでは乳房炎の毎日の治療頭数比率(治療頭数/(治療頭数+搾乳頭数))を記録した。

乳頭清拭時間は, 酪農家Aの指導中2回と指導1年後に測定し, 指導前後で比較検討をした。

4) 統計処理

バルク乳質(SCC, TBC), 牛群検定のSCCデータ, 乳房炎治療頭数の割合, 乳頭清拭時間の指導開始前と指導後1年間の平均を, t検定を用いて比較した。

3. 結果

1) バルク乳質

酪農家 A のバルク乳中 SCC は、指導前の 254 ± 36.2 (平均千個/ml \pm SD, n=36) から、指導後は 231 ± 51.1 (平均千個/ml \pm SD, n=36) と有意 ($P < 0.05$) に減少した。バルク乳中 TBC は、指導前は 4.7 ± 6.5 (平均千 cfu/ml \pm SD, n=36) であったものが、指導後は 9.0 ± 21.8 (n=36) と上昇した (図 21)。

酪農家 B のバルク乳中 SCC は、指導前の 138 ± 28.4 (平均千個/ml \pm SD, n=36) から、指導後は 113 ± 16.1 (平均千個/ml \pm SD, n=36) と有意 ($P < 0.01$) に減少した。バルク乳中 TBC は、指導前は 1.1 ± 0.4 (平均千 cfu/ml \pm SD, n=36) であったものが、指導後は 1.1 ± 0.4 (平均千 cfu/ml \pm SD, n=36) と変化はみられなかった (図 22)。

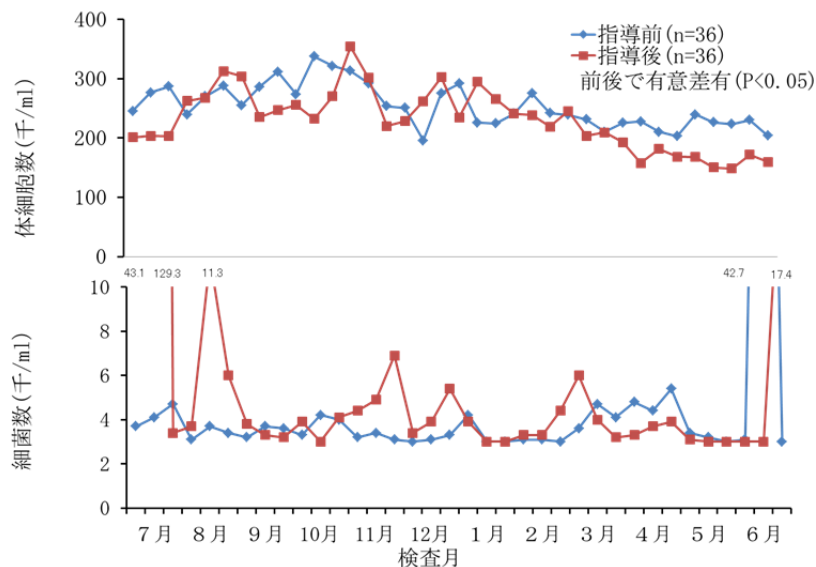


図21 乳頭清拭法改善前後のバルク乳質の変化(酪農家A)

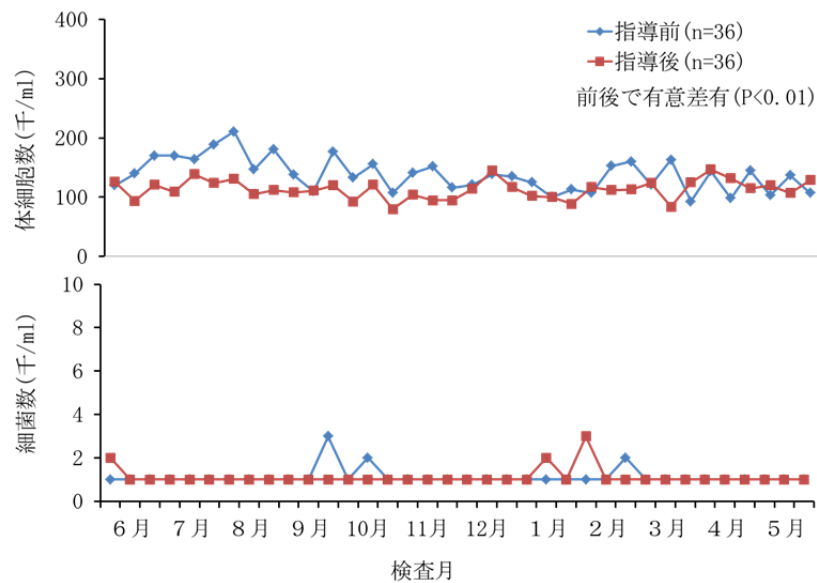


図22 乳頭清拭法改善前後のバルク乳質の変化(酪農家B)

2) 牛群検定の SCC データ

酪農家 A の牛群検定時のリニアスコアは、指導前は 3.62 ± 0.2 (平均 \pm SD, $n=12$) から指導後は 3.48 ± 0.3 (平均 \pm SD, $n=12$) と減少したが、有意な差はみられなかった。分娩後 49 日以内の経産牛のリニアスコアは、指導前 3.94 ± 0.74 (平均 \pm SD, $n=12$) であったが、指導後は 4.51 ± 1.0 (平均 \pm SD, $n=12$) に上昇した(図 23)。牛群検定時の SCC100 万個/ml 以上の検定頭数比率 (%) は、指導前 5.27 ± 1.7 (平均 \pm SD, $n=12$) であったが、指導後は 5.74 ± 2.3 (平均 \pm SD, $n=12$) と上昇した(図 24)。

酪農家 B の牛群検定時のリニアスコアは、指導前の 2.28 ± 0.3 (平均 \pm SD, $n=12$) から、指導後は 2.20 ± 0.2 (平均 \pm SD, $n=12$) と減少したが有意な差はみられなかった。分娩後 49 日以内の経産牛のリニアスコアは、指導前 2.36 ± 0.43 (平均 \pm SD, $n=12$) であったが、指導後は 2.32 ± 0.50 (平

均±SD, n=12)となったが有意な差はみられなかった(図 23)。牛群検定時の SCC100 万個/ml 以上の検定頭数比率(%)は、指導前の 2.73±1.03(平均±SD, n=12)から、指導後は 1.81±0.96(平均±SD, n=12)と有意(P<0.05)に減少した(図 24)。

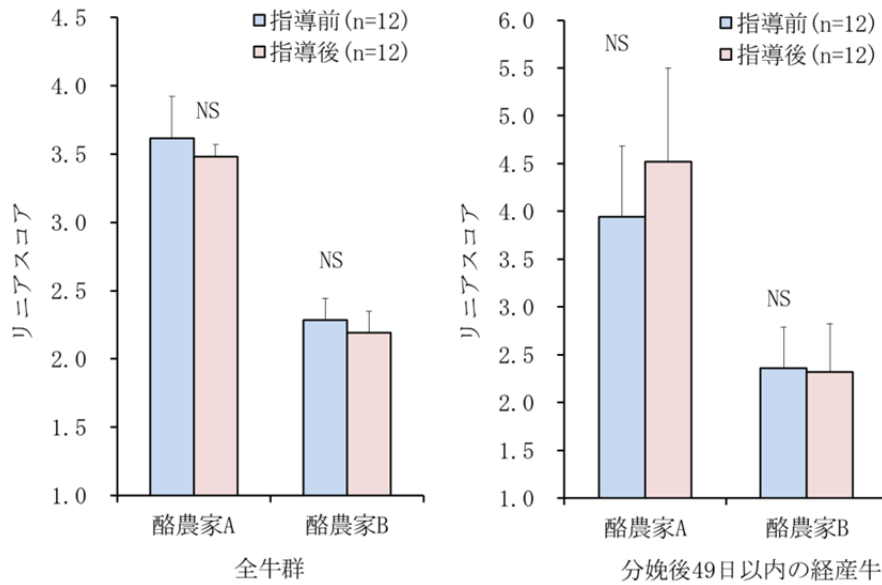


図23 牛群検定時のリニアスコアの比較

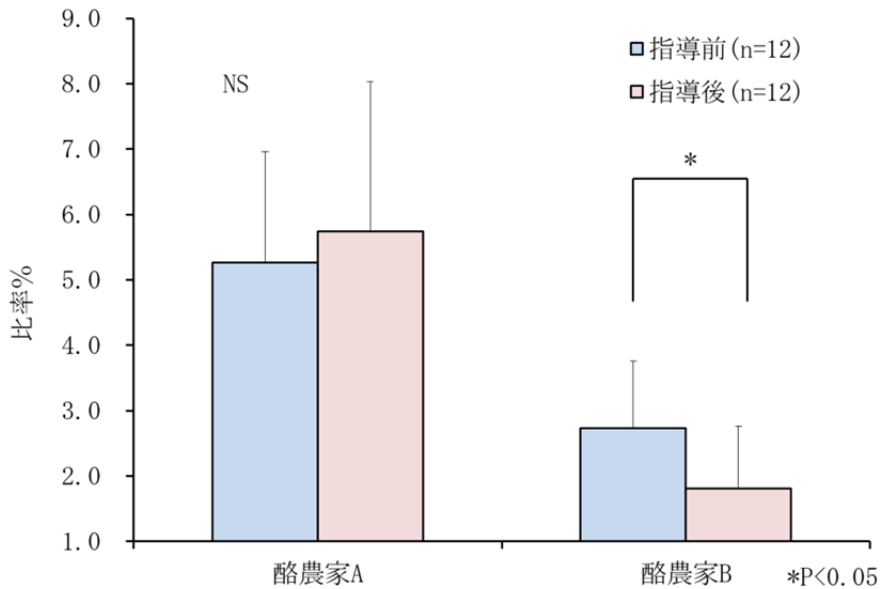


図24 牛群検定時体細胞数100万/ml以上の頭数比率

3) ATP 検査値

12ヶ月間のATP検査値平均は、酪農家Aは 3.10 ± 0.47 (logRLU \pm SD, n=96), 酪農家Bは 3.03 ± 0.38 (logRLU \pm SD, n=96)となった。1年間の推移で見ると、酪農家Aは検査月間による変動が大きく、ATP検査値が安定しなかった(図25)。

酪農家Bでは2012年6、7月とATP検査値が低下しないので、清拭用タオルの交換方法を変更した。その後安定したATP検査値を得ることができた。

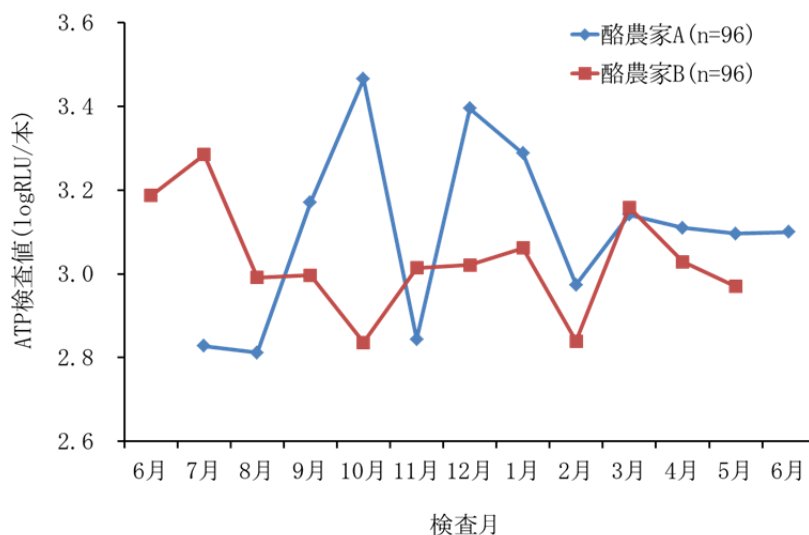


図25 ATP検査酪農家A, BのATP検査値の平均と年間推移

4. その他のデータ

酪農家Aの乳頭清拭時間は、指導前の 13.9 ± 4.9 (平均 \pm SD, 秒)から、指導後は 22.9 ± 8.5 (平均 \pm SD, 秒)と有意 ($P < 0.01$) に長くなった(表6)。

酪農家Aの廃棄乳量は、指導前後の同検査月間で比較すると指導後は

減少をしていた(図 26)。

酪農家 B の 1 年間の平均乳房炎治療頭数比率 (%) は、指導前の 2.50 ± 0.79 (平均 ± SD, n=12) から、指導後は 1.78 ± 0.41 (平均 ± SD, n=12) と有意 (P<0.01) に減少した(図 27)。

表6 酪農家Aの指導前後の乳頭清拭時間の比較

指導前				指導後		
測定回数	搾乳者C	搾乳者D	搾乳者E	測定回数	搾乳者C	搾乳者E
1	13.7	16.6	20.2	1	25	12.6
2	8.8	15.6	7.8	2	31	26
3	21.6	11.8	12.0	3	29	17
4	17.3	9.0	7.6	4	41	19
5	13.2	11.6	6.8	5	31	14
6	17.5	12.5	10.4	6	32	19
7	16.2	10.3	9.1	7	18	12
8	11.7	23.3		8	26	14
9	13.8	26.9		平均	29.1	16.7
10	14.4					
11	16.6					
12	21.7					
13	10.4					
14	16.3					
15	8.9					
平均	14.7	15.3	10.6			

指導前平均(13.9 秒 n=31) **
 指導後平均(22.9 秒 n=16) **
 有意差有り (**:P<0.01)

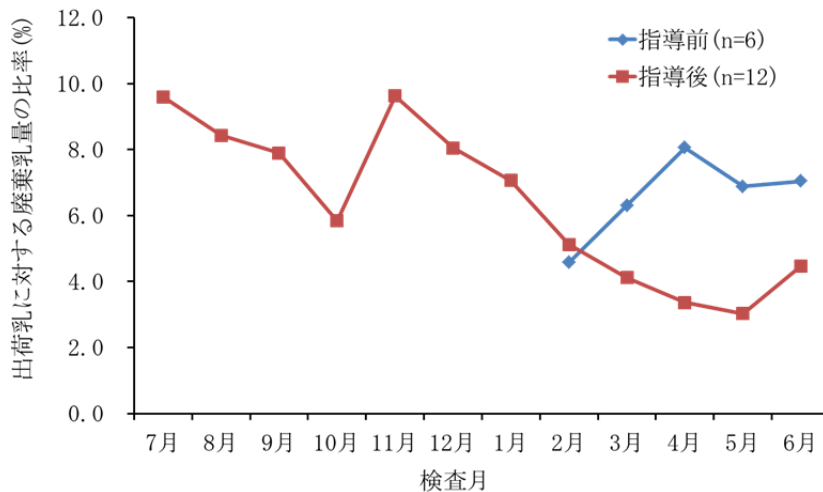


図26 月毎の出荷乳量に対する廃棄乳量の推移
酪農家A

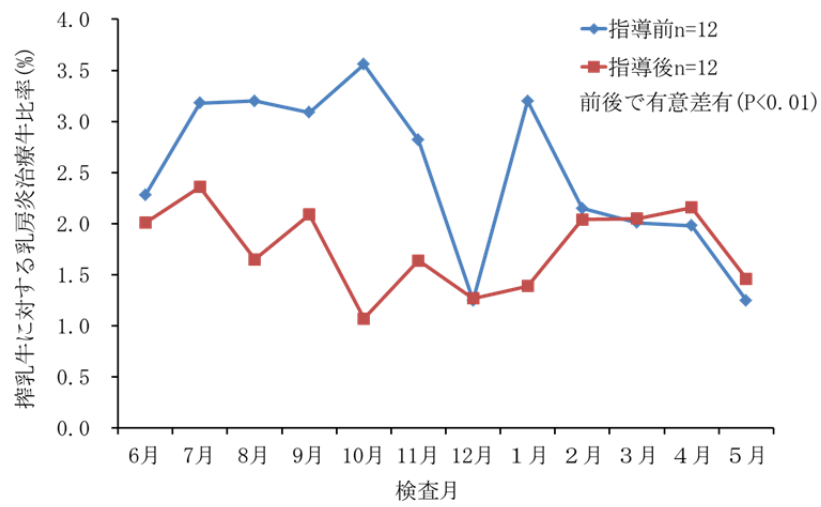


図27 月毎の搾乳牛中乳房炎治療頭数比率の推移
酪農家B

4. 考察

指導 2 酪農家のバルク乳中 SCC は、指導前に比較して指導後は有意に減少した。しかし、その効果出現までの時間には違いがあった。酪農家 A では、バルク乳質改善までにおおよそ半年以上の時間を要していた。酪農家 A の指導前のバルク乳中 SCC は 30 万/ml を超えることもあり概して高めに推移しており、搾乳牛群内に潜在性乳房炎牛が多いと推測された [47]。一方指導前よりバルク乳中 SCC が低かった酪農家 B では、直ちに指導効果が現れ、さらなる SCC 低下につながった。

バルク乳中 TBC に関して、潜在性乳房炎が多い酪農家 A では、1 年間を通じて時折 TBC が 1 万/ml を超えることもあり安定性に欠けていた。これらの原因は潜在性乳房炎牛の存在や搾乳機器などの洗浄状態にも影響される [39]。バルク乳 TBC がすでに十分に低いレベルの酪農家 B では、指導前後の変化はみられず 1 年間を通じて TBC は安定しており、バルク乳質がよい酪農家は常に安定した良質乳の生産を行っていた。

牛群検定 SCC データの解析において、酪農家 A の指導前のリニアスコアは酪農家 B と比較すると高く、さらに SCC100 万個/ml 以上の頭数比率も高くなっている。これらより酪農家 A では潜在性乳房炎牛を多く抱えており、搾乳作業改善によるバルク乳質向上には、長時間を要する結果となった推測される。これらより搾乳作業改善によるバルク乳質向上効

果は、泌乳期間中の新規乳房炎発症の防御にはなり得るが、それだけではバルク乳質向上には不十分であると考えられる。小松ら [48] は、乾乳後期牛の乳房炎検査と治療が泌乳期間中の乳房炎発生を減少させると報告しており、潜在性乳房炎牛の乾乳期間中の乳房炎治療と治癒確認、乾乳期間中での新規乳房感染対策を合わせて行うことがより早いバルク乳質向上をもたらすものと思われる。乳房炎における乾乳期間と泌乳期間との関係を報告している Cook ら [49] , Green ら [50] , Pantoja ら [51] によれば、泌乳初期間の乳房炎発症は、乾乳期間中の栄養管理、牛舎管理、環境管理、前乳期の乳房炎の影響を受けていると述べている。酪農家 A と酪農家 B の分娩後 49 日以内の泌乳初期経産牛のリニアスコを比較してみたところ、酪農家 A では指導前よりも指導後のリニアスコが高くなっており、分娩後の泌乳初期牛の潜在性乳房炎が増えている事を示している。さらに SCC100 万個/ml 以上の牛の頭数比率も増えている。分娩後の乳牛は泌乳量が多く、バルク乳質に大きく影響を与える乳牛でもある。これらの乳牛の SCC が高くては、バルク乳中 SCC は低下するよりはむしろ上昇する。バルク乳質を向上させようとするには、泌乳期間中の対策だけでなく乾乳期間中の乳房炎対策も同時に行わなければいけないことが強く示唆された。

1 年間毎月定期的に ATP 検査を実施した酪農家 A と B では、ATP 検査を継続して実施したことで、ATP 検査値が低下しない原因を検討する機会

に恵まれた。清拭用布タオルの種類，更新期間や更新方式の変更，洗濯方法の検討につながり，乳頭清浄度向上に関する要因を発見することができた。清浄度を数値化したことより，搾乳者個々の衛生意識の高まりは感じられたものの，乳頭清拭時間の制約や搾乳者個々の作業精度の違いにより，第 2 章で提唱した基準値を下回ることはできなかった。しかし，搾乳作業の意識改革にはつながり，結果としてバルク乳質向上へとつながったと思われる。

酪農家 A の ATP 検査値の変動要因は，表 6 から読み取れるように搾乳者毎の乳頭清拭時間の差にあり，搾乳者個々で大きく変動する ATP 検査値にあった。よって搾乳者全員の清拭作業精度を統一することが，重要であることが明らかになった。

搾乳作業重要理点である乳頭清拭時間に関して，ミルクパーラー搾乳の酪農家 A では，指導前の乳頭清拭時間は第 1 章で報告している 20 秒以内が多く見られ，乳頭清拭時間はきわめて短かった。搾乳者 E では 10 秒以内の清拭時間もみられ，乳頭清拭作業が単なる形だけの作業となっていた可能性があった。指導後には搾乳者 C と E 共に乳頭清拭時間は指導前と比較して有意に長くなってはいるものの，搾乳者 E では依然短い清拭時間が見られた。これが搾乳者個々の ATP 検査値に大きく影響する要因と思われる。多くの搾乳従業員を必要とする大規模酪農家では，人的要因も乳質改善に重要な要素と考えられる。多くの頭数を搾乳する

場合、1 頭の乳頭清拭時間の延長は搾乳時間の延長につながるのでは嫌われるが、Rasmussen ら[6]の報告にあるように最低でも 20 秒程度の乳頭清拭時間の確保が必要と思われる。

本研究の最終目標である廃棄乳量と乳房炎治療頭数削減に関する効果について、酪農家 A では効果発現までに長期間を要したものの、バルク乳中 SCC が低下するにつれて廃棄乳量も低下した。これはクォーターミルカー搾りの頭数減少によるものである。酪農家 B では、乳房炎治療頭数比率は指導前後の比較において有意 ($P < 0.01$) に減少しており、特に夏期間の増加が防げたことが特徴でもある。指導前のバルク乳質が異なるために乳質改善効果発現までの時間は違うものの、最終目標である廃棄乳量と乳房炎治療頭数を減少させる結果となり、本研究の最終目標を達成することができた。

5. 小括

搾乳作業重要管理点を中心とした搾乳指導と ATP 検査による乳頭清浄度評価を 2 酪農家に 1 年間継続して応用した結果、2 酪農家のバルク乳質（SCC, TBC）は向上した。しかし、バルク乳質向上までの経過時間には特徴が見られ、潜在性乳房炎が当初から多くバルク乳質が悪い酪農家 A では、バルク乳質向上までに半年以上を要した。酪農家 A では、前乳期や乾乳期間の影響を受ける泌乳初期牛の乳質が悪いことが推測され、搾乳作業以外の要因が関与していると考えられた。以上より搾乳指導と ATP 検査による乳頭清浄度の評価によるバルク乳質改善対策は、泌乳期間中の乳房炎の新規感染には効果が期待できるが、乾乳期から継続の乳房炎には効果が期待できないことが明らかになった。

ATP 検査を 12 ヶ月間継続したことで、乳頭清浄度に影響する要因を検討する機会を得る事になり、従業員の衛生意識の向上につながり、結果としてバルク乳質向上を達成することができた。

本研究の最終目標である、搾乳衛生管理の向上による廃棄乳量の減少と乳房炎治療頭数の減少は、指導前のバルク乳質の良否にかかわらず達成可能であることが明らかになった。

総括

バルク乳質を向上させるためには搾乳作業を精度高く行い、維持することが重要である。搾乳作業工程に関する報告は数多くあるものの、搾乳作業精度に関する報告は見あたらず、搾乳作業精度の評価方法や判断基準も存在しない。そこで食品加工施設などで手指消毒や調理器具の清浄度評価に利用されている ATP 検査法を応用して、搾乳作業精度を測定することによりバルク乳質の向上を図ることを目的として本研究を行った。

まず搾乳作業の重要管理点を明らかにする目的で、搾乳立会ビデオを解析した。その結果、搾乳作業重要管理点として乳頭壁清拭法の「ひねり法」とディッピングカバー率が重要であることが判った。

さらに搾乳前の乳頭清浄度を評価する事を目的として、ATP 検査と細菌検査を清拭後の乳頭壁に同時に実施し解析した結果、乳頭壁の ATP 検査基準値を 500RLU 以下にすべきであると提案した。この基準値を用いて酪農家のバルク乳質を判定したところ、基準値以下の酪農家のバルク乳質は体細胞数 10 万個/ml 以下、総菌数 1,000cfu/ml 以下の最優秀乳質であることがわかり、十分に判断基準値として利用できることが明らかになった。

次に最も優れた乳頭清拭法を明らかにするために、乳頭清拭法別試験と酪農現場での ATP 検査を実施した。その結果、乳頭壁清拭は「ひねり

法」，乳頭口清拭は「はさみ法」が最も優れており，これらの清拭方法を採用している酪農家のバルク乳質は優秀であることが明らかになった。

ATP 検査の評価基準とその有効性を確認するために 1 年間にわたり ATP 検査を実施し，搾乳作業重要管理点を中心とした搾乳指導を 2 酪農家に応用した結果，搾乳指導を行った酪農家のバルク乳質（SCC，TBC）は向上した。しかし，潜在性乳房炎が当初から多くバルク乳質が悪かった酪農家では，バルク乳質改善までに長期間を要した。搾乳指導と ATP 検査による乳頭清浄度評価によるバルク乳質改善対策は，泌乳期間中の乳房炎の新規感染には効果が期待できるが，前乳期や乾乳期間の影響を受ける泌乳初期牛に対しては別の対策が必要であることが明らかになった。

本研究より推奨される重要管理点を含めた搾乳作業工程は，①前搾りを 1 乳頭 5 回以上行い，②プレディッピングは乳頭壁全面に薬液が付着するように確実に実施する。③乳頭清拭は湿った布タオルを 1 頭あたり 2 枚以上使用し，1 乳頭当たり 3 回”ひねり法”で乳頭壁を清拭し，④乳頭口清拭を「はさみ法」で確実に行う。⑤乳頭清拭時間は 1 頭当たり最低 20 秒以上かける。⑥以上の搾乳作業工程を 2 分以内で行う。⑦搾乳終了後はポストディッピングの薬液を乳頭壁全面に付着するように確実に行うことが，バルク乳質を向上させる上で重要である。

本研究の結果に基づくこれら具体的な手法は，酪農現場における搾乳衛生指導に広く用いることが可能である。今後，システムの実践的な検

証を広く国内外で進め、搾乳衛生管理法として普及させる活動が重要であると考えられる。

引用文献

- [1] Galton DM, Adkinson ARW, Thomas CV, Smith TW : Effects of premilking udder preparation on environmental bacterial contamination of Milk, J Dairy Sci, 65, 1540-1543 (1982)
- [2] Galton DM, Petersson LG, Merrill WG, Bandler DK, Shuster DE : Effects of premilking udder preparation on bacterial population, sediment and iodine residue in milk, J Dairy Sci, 67, 2580-2589 (1984)
- [3] Galton DM, Petersson LG, Merrill, WG : Effects of premilking udder preparation practices on bacterial counts in milk and on teats, J Dairy Sci, 69, 260-266 (1986)
- [4] Galton DM, Peterson LG, Merrill WG : Evaluation of udder preparations on intramammary infections, J Dairy Sci, 71, 1417-1421 (1988)
- [5] Magnusson M, Christiansson A, Svensson B, Kolstrup C : Effect of different premilking manual teat-cleaning methods on bacterial spores in milk, J Dairy Sci, 89, 3866-3875 (2006)
- [6] Rasmussen MD, Galton DM, Petersson LG : Effects of premilking teat preparation on spores of anaerobes bacteria, and iodine residues

- in milk, J Dairy Sci, 4, 2472-2478(1991)
- [7] Pankey JW : Premilking udder hygiene, J Dairy Sci, 72, 1308-1312(1989)
- [8] 北海道根釧農業試験場：プレディッピングにおける薬液浸漬後の乳頭清拭法，普及奨励並びに指導参考事項，北海道立根釧試験場年報 2002, 195-196(2002)
- [9] 河合一洋，黒沢重人：搾乳作業が体細胞数に及ぼす影響，家畜診療，45, 10, 659-668(1998)
- [10] 増田悦郎，増山昭英、田幡欣也、山本展司、工藤政晴、佐々木孔平、山口博江：管内 K 地区の乳房炎発生状況と防除対策についての考察，家畜診療，339, 9, 29-34(1991)
- [11] 新井一夫，富田久雄、井上純夫、中村陽二、飯田潔：乳中体細胞数 (SCC) に影響する環境要因の検討，家畜診療，323, 5, 29-33(1990)
- [12] 中川尚，古川寿郎，中島正夫：バルク乳生菌数に及ぼすプレディッピングおよび前搾りの影響，家畜診療，407, 27-31(1997)
- [13] Armstrong DV, Quick AJ : Time and motion to measure milk parlor performance, J Dairy Sci, 69, 1169-1177(1986)
- [14] Rasmussen MD, Frimer ES, Horvath Z, Jensen NE : Comparison of a standardized and variable milking routine, J Dairy Sci, 73, 3472-3480(1990)

- [15]Rasmussen MD, Frimer ES, Galton DM, Petersson LG :
The Influence of premilking teat preparation and attachment
delay on milk yield and milking performance,
J Dairy Sci, 75, 2131-2141 (1992)
- [16]Rodriguea ACO, Caraviello DZ, Ruegg PL : Management of Wisconsin
dairy herds enrolled in milk quality teams, J Dairy Sci,
88, 2660-2671 (2005)
- [17]Sagi R, Gorewilt RC, Merrill WG, Wilson DB : Premilking
stimulation effects on milking performance and oxytocin and
prolactin release in cows, J Dairy Sci, 63, 800-806 (1980)
- [18]Momongan VG, Schmidt GH : Oxytocin levels in the plasma of
Holstein-Friesian cows during milking with and without
a premilking stimulus, J Dairy Sci, 53, 747-751 (1970)
- [19]Gorewit RC, Gassman KB : Effects of duration of udder stimulation
and milking dynamics and oxytocin release, J Dairy Sci,
68, 1813-1818 (1985)
- [20]Mayer H, Schams D, Worstorff H, Prokopp A : Secretion of oxytocin
and milk removal as affected by milking cows with and without
stimulation, J Dairy Sci, 103, 355-361 (1984)
- [21]Nickerson SC, Boddie RL : Efficacy of barrier-type postmilking

- teat germicides against intramammary infection,
J Dairy Sci, 78, 2496-2501(1995)
- [22]Pankey JW, Watt JL : Evaluation of spray application of post
milking teat sanitizer, J Dairy Sci, 66, 355-358(1983)
- [23]Pankey JW, Wildman EE, Drechsler PA, Hogan JS : Field trial
evaluation of premilking teat disinfection, J Dairy Sci,
70, 867-872(1987)
- [24]Schultze WD, Smith JW : Effectiveness of postmilking teat dips,
J Dairy Sci, 55, 426-431(1971)
- [25]Ingawa KH, Adkinson RW, Gough RH : Evaluation of a gel teat
cleaning and sanitizing compound for premilking hygiene,
J Dairy Sci, 75, 1224-1232(1992)
- [26]Beck GH, Claydon TJ : Relative effectiveness of paper towels,
cloth towels and dry bare hands in cleaning the udder and in
stimulating milk let-down, J Dairy Sci, 34, 593(1951)
- [27]Hutton CT, Fox LK, Hancock DD : Mastitis control practices :
Differences between herds with high and low milk somatic cell
counts, J Dairy Sci, 73, 1135-1143(1990)
- [28]National Mastitis Council : Recommended Milking Procedures,
Proceedings of the 2000 National Mastitis Council Annual

Meeting, 123 (2000)

- [29] Halasa T, Nielsen M, De Roos APW, Van Hoorme R, De Jong G, Lam TJGM, Vanernven T, Hogeveen H: Production loss due to new subclinical mastitis in Dutch dairy cows estimated with a test-day model, J Dairy Sci, 92, 599-606 (2009)
- [30] Suriyaathaporn W, Schukken Y.H, Nielsen M, Brands A, Low somatic cell count: a risk factor for subsequent clinical mastitis in a dairy herd, J Dairy Sci, 83, 1248-1255 (2000)
- [31] Teat end scoring: University of Wisconsin
- [32] Here is a system for evaluating teat condition:
University of Wisconsin
- [33] Hygiene Scoring Card: University of Wisconsin
- [34] 伊藤武, ATP 迅速検査研究会監修: 新しい衛生管理法, ATP 拭き取り検査, 鶏卵肉情報センター, (2009)
- [35] 厚生労働省監修: 食品衛生検査指針微生物編 2004, (2004)
- [36] 今井一洋, 近江谷克裕編: バイオ・ケミルミネセンスハンドブック, 丸善株式会社, (2006)
- [37] 門司佳夫: 微生物迅速検出システムの適用とその精度に関する研究, Journal of GMP and Validation in Japan, 2, 40-46 (2000)
- [38] 浅川篤, 山庄司志朗, 川崎晋, 川本伸一: 化学発光法による微生物迅速

検査技術, Japan Food Science, 44, 34-39 (2005)

- [39] Monken A, Ingalls W : Milking system cleaning and sanitizing : Troubleshooting milk bacteria counts, National Mastitis Council Regional Meeting Proceedings, 55-60, (2002)
- [40] 本田善文, 長谷川三喜, 市来秀之 : ライナ内における乳の逆流, 畜産草地研究所成果情報, 5 (2005)
- [41] 板垣昌志, 阿部省吾, 阿部栄, 酒井淳一, 鈴木勝士 : 乳牛の潜在性乳房炎と乳頭口異常の関連, 日獣会誌, 52, 561-564 (1999)
- [42] 板垣昌志 : 乳牛の潜在性乳房炎における乳頭口異常と検出される細菌について, 家畜診療, 49, 685-695 (2002)
- [43] 板垣昌志, 庄司和明, 矢野啓, 渡辺栄次, 加藤敏英, 星昌孝, 阿部省吾, 遠藤祥子 : 牛乳房炎治療後の乳腺感染と搾乳衛生, 家畜診療, 389, 7-13 (1995)
- [44] Finger. R, Sisco. W. M : Bioluminescence as a technique to evaluate udder preparation, J Dairy Sci, 84, 818-823 (2001)
- [45] 諸橋京美, 竹内奈生美, 北里順, 田中律子 : 特定給食施設における調理従事者等の手洗い方法の検討, 北海道文教大学研究紀要, 34, 81-85, (2010)
- [46] 榎谷雅文, 木田克弥, 宮本明夫 : 酪農家の搾乳作業重要管理点の検討とバルク乳質の関係, 日獣会誌, 66, 310-316 (2013)

- [47] Lukas. J. M, Hawkins. D. M, Kinsel. M. L, Reneau. J. K : Bulk tank somatic cell counts analyzed by statistical process control tools to identify and monitor subclinical mastitis incidence, J Dairy Sci, 88, 3944-3952 (2005)
- [48] 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, 526, 201-208 (2007)
- [49] Cook. N. B, Bennett. T. B, Emery. K. M, Nordlund. K. V : Monitoring nonlactating cow intramammary infection dynamics using DHI somatic cell count data, J Dairy Sci, 85, 1119-1126 (2002)
- [50] Green. M. J, Bradley. A. J, Medley. G. F, Browne. W. J : Cow, farm, and herd management factors in the dry period associated with raised somatic cell counts in early lactation, J Dairy Sci, 91, 1403-1415 (2008)
- [51] Pantoja. J. C. F, Hultand. C, Ruegg. P. L, : Somatic cell count status across the dry period as a risk factor for the development of clinical mastitis in the subsequent lactation, J Dairy Sci, 92, 139-148 (2009)

謝辞

本研究は酪農コンサルタント獣医師として 18 年間酪農現場に携わり、そこで経験してきたことを学術的にまとめたものである。

酪農家の搾乳作業を見るにつけ、色々なやり方が存在し、それらに違いはないのか、何が一番良い方法なのかを自問自答していた。この方法がよいと経験則では言えるが、それにはエビデンスが存在していなかった。

2010 年 4 月社会人枠を利用して大学院博士後期課程畜産衛生学専攻に入学することができた。多くのフィールドデータから木田克弥教授，宮本明夫教授，浦島匡教授，口田圭吾教授，松井基純准教授陣の指導の元に、今までの経験則から学術的根拠を得ることができた。先生方とも年齢が近く、扱いにくい学生であったことと思われる。最後までご指導を賜り感謝申し上げます。

全国の多くの酪農家の皆様，酪農協の皆様，獣医師の皆様のご協力に感謝申し上げますと共に，快くデータの提供をしていただいたこと，重ねて感謝いたします。また，試験的搾乳に際してご協力いただいた「うし部」の学生の皆様にも感謝いたします。

最後に 3 人の子供が学生を卒業しようとする時に，突然学生になると宣言したことを寛容な気持ちで見守ってくれた妻に感謝する。

Improvement of management system for milking preparation using ATP-bioluminescence assay in dairy farms

Masafumi ENOKIDANI^{1,2)}

- 1) Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Hokkaido, 080-8555, Japan,
- 2) Hokkaido Dairy Management Services, Tsurui village, Hokkaido, 085-1211, Japan,

SUMMARY

The milking procedure is a main factor for high quality milk production in dairy farm. Many studies have described on the milking procedures but not on the managing system for improving the quality of milking procedures. Furthermore, there are no criteria to evaluate the quality of milking procedures and milking management in a quantitative manner. Thus, the aim of this study

was to improve a hygienic quality of raw milk by using ATP-bioluminescence assay, thereby contributing to evaluate the quality of food safety in food production companies.

The video records of milking procedures in dairy farm were analyzed and determined the critical points for controlling the milking procedures. Consequently, it became clear that the teat skin cleaning methods "twisting" and the dipping cover rate critically affected a hygienic quality of raw milk.

The ATP-bioluminescence assay was utilized for evaluating the degree of cleanness of teat skin, together with the bacteriological swab test. On the basis of obtained data, it was recommended that the standard value of. This criteria for ATP-bioluminescence assay standard was applied to dairy farms, confirming that the dairy farms showing under this standard value had an excellent milk quality: a somatic cell count (SCC) was fewer than 100,000/ml and Total Bacterial Counts (TBC) was fewer than 1000 CFU/ml. Thus, it is likely that the criteria of 500 RLU for ATP-bioluminescence assay on teat skin is effectively useful to evaluate the hygienic quality of teat skin in dairy farms.

Next, several ways for cleaning the teats at milking were compared to evaluate the hygienic quality of raw milk. Subsequently, the best method for cleaning the teat skin was "twisting" and for cleaning the teat end was

“scissors”, respectively, evaluated by trail tests of teat cleaning together with the ATP-bioluminescence assay in commercial dairy farm. In fact, the hygienic quality of raw milk of dairy farms with using twisting and scissors methods showed excellent grade.

After consulting milking procedure of two dairy farms with using ATP-bioluminescence assay over one year, their hygienic quality of raw milk was clearly improved to the excellent grade. However, if many cows had already infected with subclinical mastitis, it needs much longer period to improve the hygienic quality in such dairy farms. It is considered that other additional methods are also necessary for such dairy farms. Clearly, the treatment for mastitis in dry cows should improve the hygienic quality of milk at early lactation in the cow.

In conclusion, the quality of milking procedure affects the hygienic quality of raw milk. The best way of teat cleaning are twisting and scissors methods. It is possible to improve raw milk quality by teat skin ATP-bioluminescence assay with managing less than 500 RLU in dairy farm.

It is recommended from this study;

1. Fore-stripping **over 5 times** per teat
2. **Full covered** teat pre-dipping

3. Clean up teat skins at **3 times** per teat by “**twisting**” method with moist **2 or more cotton towels**.
4. Clean up **teat end** completely with “**scissors**”
5. Teat cleaning time is **20 seconds or more over** per cow
6. Attaché the cluster until **2 minutes**
7. **Full covered** teat post-dipping after milking

This proposed protocol should contribute to improve the hygienic quality of milk, which could be achieved by evaluating for teat skin cleanness by ATP-bioluminescence assay without using anti-biotic drugs. Therefore, it is essential to generalize this protocol in dairy farms in Japan as well as in abroad, which is based on large scale of field investigations.