

#### 4. 技術職員の研究報告

この報告は平成 16 年 10 月 27 日北海道・東北地域大学付属農場協議会及び農場教育研究会において農場教育研究発表として口頭発表したものである。

○帯広畜産大学における生乳中の細菌数動態および細菌検査の展開について

技術職員 村上文朗

##### 【序論】

近年、酪農生産現場における生乳の品質改善には目覚ましいものがあり、消費者の食に対する安心を求める声も従前にも増して高まっている。帯広畜産大学畜産フィールド科学センターでは、朝・夕の搾乳終了後、バルククーラー内に貯乳した生乳の細菌検査を実施している。この検査は平成 13 年 7 月から行っており、今回は平成 16 年 3 月までの毎日のデータを月別に集計し、各月の生菌数・ブドウ球菌数・腸内細菌数の変動について検討した。

また、平成 16 年 6 月 22 日より畜産フィールド科学センター内の乳製品工場では低温殺菌牛乳 (LTLT) の製造を開始した。これに伴って、殺菌温度 63℃・30 分保持に対して耐性を示す耐熱性菌の検査を開始すると共に、平成 16 年 8 月より乳房炎原因菌であり食中毒原因菌でもある黄色ブドウ球菌 (以下 SA) のスクリーニングについて検査を開始したのでその結果を報告する。

##### 【検査方法】

- ① 生菌数・ブドウ球菌数・腸内細菌数検査：搾乳終了後のバルククーラーより、滅菌ピペットを用いてスピッツ管に 2~3ml の生乳を採取した。朝・夕の試料を、5%ヒツジ血液寒天培地、マンニット食塩寒天培地、および DHL 寒天培地に 50 $\mu$ l 塗抹し 38℃24 時間培養後、コロニー数をカウントし、それぞれから生菌数、ブドウ球菌数および腸内細菌数の判定を行った。
- ② 耐熱性菌検査：朝搾乳終了後、細菌検査に供したサンプル週間分を -30℃で凍結保存し、検査直前に約 30℃の温湯で 2 分間解凍後、63℃30 分加熱処理を行い急冷した。その後、標準寒天培地に 50 $\mu$ l 塗抹し 30℃72 時間培養後、コロニー数をカウントした。
- ③ 黄色ブドウ球菌スクリーニング：平成 16 年 8 月より SA の選択性を高めるためにマンニット食塩寒天培地に無菌卵黄を添加した卵黄加マンニット食塩寒天培地上で、マンニット分解能・レシトピテリン反応のどちらか又は両者が確認されたコロニーに対してコアグラゼ試験を行い SA を同定した。それ以外は基本的に表皮ブドウ球菌 (以下 CNS) とした。

生菌数・ブドウ球菌数・腸内細菌数検査の結果は、月別に各平均値としてまとめ、帯広畜産大学の平均気温および絶対湿度とどのような関連性があるのかを調査した。絶対湿度は平均気温・相対湿度から次式により求めた。

$$a = 217 \times e / (t + 273.15) \quad h = \frac{e}{E(t)} \times 100\%$$

$$E(t) = 6.11 \times 10^7 \left\{ 7.5 t / (t + 273.3) \right\}$$

ここで、t：気温 (℃) a：絶対湿度 (g/m<sup>3</sup>) e：水蒸気圧 (hPa) h：相対湿度 (%) E(t)：飽和水蒸気圧 (hPa) である。

### 【結果及び考察】

① 生菌数・腸内細菌数、ブドウ球菌数の平成13年からの月別推移を図1、2に示した。生菌数と腸内細菌数の変動は類似しており両者間には高い相関が認められた ( $r = 0.80^{**}$ )。生菌数・腸内細菌数について見ると各年とも5~8月にかけて気温の上昇とともに増加する傾向が見られた。特に腸内細菌数は8月に年間の最高値を示している。図3に示される通り平均気温は、例年5月から10℃を超え7~8月にピークになり、絶対湿度も7~8月に約13 g/m<sup>3</sup> (冬季は約2 g/m<sup>3</sup>) とピークを示したことから、生菌数・腸内細菌数の増加と高い関連性が示された。

一方、ブドウ球菌数は平成13年12月~翌年3月まで、および平成15年5~9月に増加しており年間を通しての季節的な変動は認められなかった。これは、SAが伝染性・潜在型乳房炎の一要因であり泌乳期の全期間で感染の危険性があること、CNSも乳房炎原因菌となることから考えて、SAやCNSが季節に関らず増加する危険性が示唆された。また平成13年12月~翌年3月では生菌数が腸内細菌数に対しやや高めに推移した。生菌数の値にはブドウ球菌数も含まれることから、上記で述べた乳房炎によるブドウ球菌数の増加が関与しているものと推察した。またCNSと同じ環境性乳房炎菌である環境性連鎖球菌も存在したと思われる。

これらのことから5~8月は気温・湿度の上昇による細菌の活動が活発になり生乳中の細菌数が増加する傾向が示された。また、この期間は飼養管理・搾乳衛生に特に注意が必要な時期であることが確認された。

② 耐熱性菌検査の結果、現段階では生乳中の耐熱性菌数が0~40cfu/mlと少ないことが判明した。今後、この検査を継続することは、年間を通しての耐熱性菌の変動と搾乳ラインの洗浄状態・搾乳衛生状態などの要因との関連性を調査する上で有用なデータが得られると思われる。

③ 本年8月より開始したスクリーニング検査の結果、生乳中に存在するSAは、ほぼ0 cfu/mlであった。従って、搾乳牛群の中にSAによる乳房炎牛の存在する可能性は低く、生乳加工段階へ安全性の確保された材料が供給されていることが確かめられた。また、この検査は、SAによる潜在型乳房炎の発見および食の安全性の指標としても重要であると思われる。

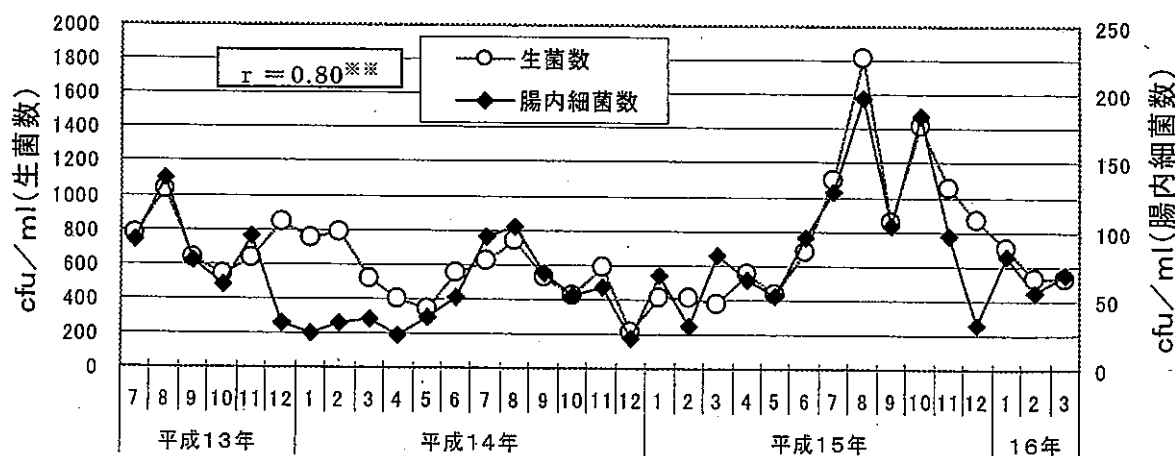


図1 生菌数および腸内細菌数の月別推移

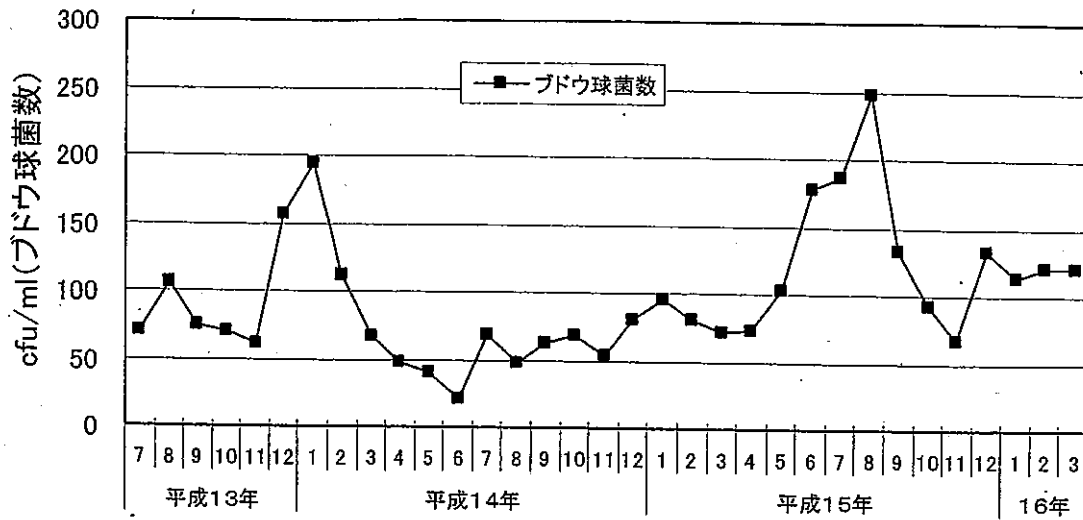


図2 ブドウ球菌数の月別推移

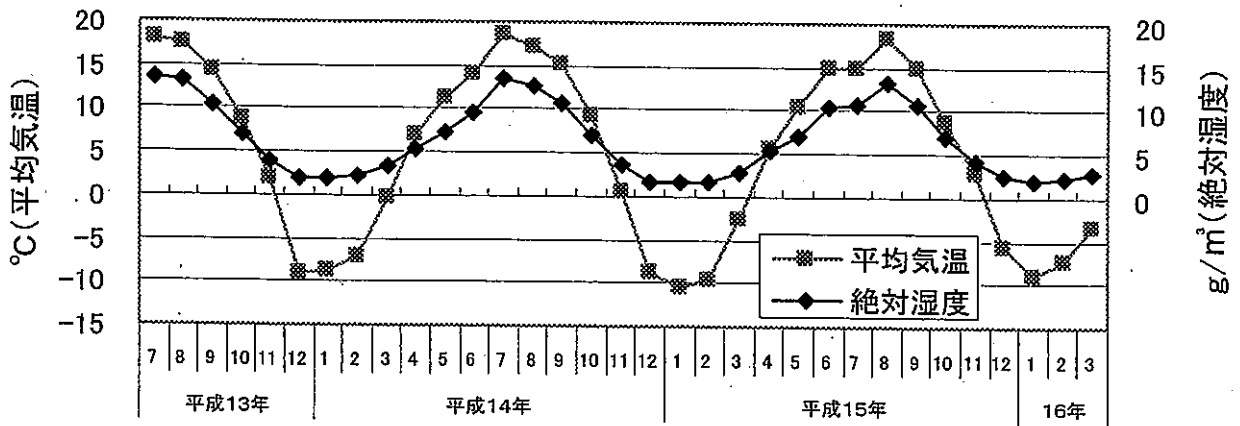


図3 帯広畜産大学における平均気温および絶対湿度の月別推移

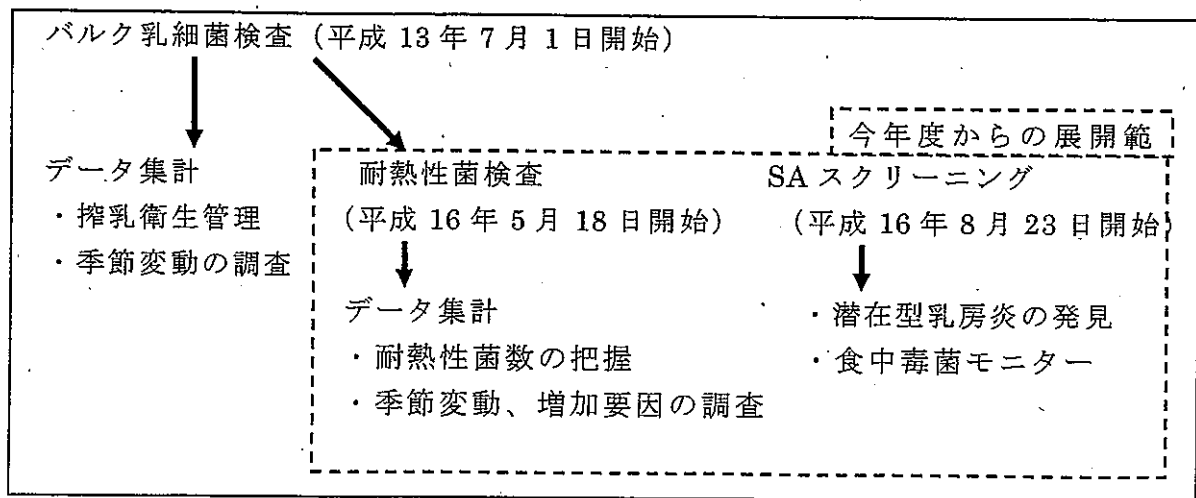


図4 現段階の生乳細菌検査体制と展開範囲