

潜在性乳房炎と乳量・乳質および血清ビタミンA, Eの関連

浜名克己・工藤幸裕*¹・田浦保穂*²

(家畜臨床繁殖学研究室)

平成4年8月10日 受理

Effects of Subclinical Mastitis on Milk Components and Serum Vitamin A and E

Katsumi HAMANA, Yukihiro KUDO*¹ and Yasuho TAURA*²

(Laboratory of Veterinary Reproduction)

緒 言

乳牛の乳房炎は臨床型と潜在性に大別されるが、臨床型は乳量・乳質の変化が大きく、発見も容易で、治療の対象とされている。

潜在性乳房炎²⁷⁾は、乳房の状態に変化はなく、乳汁も外見上は正常であるが、検査によりCMT陽性、電気伝導度6.2ms/cm (25°C)以上、体細胞数50万/ml以上、細菌数250個/ml以上、pH6.5以上などを示し、潜在的に感染が認められるものである。本症の発生は多く、たとえ生乳として出荷可能であっても、乳量・乳質の低下を招き、経済的損失が大きい。とくに近年の生乳取引においては乳質が重視されているのでなおさらである。

乳房炎の補助療法または予防対策の1つとして、近年、ビタミンA, Eが注目されている。ビタミンAは、粘膜保護ビタミンとも呼ばれているように、粘膜上皮細胞を覆っているムチン様物質の生成を促進して感染防御機構に作用し、病原微生物の侵入と増殖を抑制する^{3, 19)}。

乳房炎との関連^{1, 5, 7, 9, 10, 19)}では、ビタミンA剤投与後、とくに血中レチノール値が低い群でCMTの陽性率が減少し、血中レチノール値と乳汁中の体細胞数は有意な負の相関関係があり、とくに高細胞数群において著明な減少がみられている。またNAGaseとも負の相関関係がある。乳成分においては、乳脂率がやや上昇し、蛋白質率と無脂固形分率はやや減少する傾向があるが、相関関係はみられなかつ

たとしている。

Tjoelkerら^{23, 24)}は、血中レチノール値はビタミンAのみを投与するよりβ-caroteneを併用する方が上昇するとしており、in vitroにおいて、レチノールとレチノイン酸は乳汁中の多形核白血球の食作用と殺菌作用を促進するが、ビタミンAの過剰投与ではかえって食作用を抑制するという結果を得ている。

ビタミンE¹⁴⁾は乳房内感染に対する牛自体の抵抗力の強化、免疫能増強作用がある。病原微生物が侵入すると、白血球が遊走し、食作用と殺菌作用が行われる。この機構は酸素依存性であり、急激な酸素消費が生じて酸素の中間代謝産物(フリーラジカル)が生成される。フリーラジカルは重要な産物であるが、生体膜を傷害する因子でもあり、生体膜中の脂肪酸化反応を誘発し、防御機構を低下させる。ビタミンEは抗酸化作用によりこれを阻止する。

Nickerson¹²⁾、西田¹³⁾、Smith²⁰⁾によると、ビタミンE投与群で、分娩時の乳房内感染伝播率が約42%減少し、分房感染期間が40%~50%減少し、体細胞数が泌乳全期間を通して減少したと報告している。また臨床型乳房炎の発生が37%減少したという。

本研究は、潜在性乳房炎を意味する各種検査の陽性群と、乳量・乳質および血清ビタミンA, Eの関連を探ることを目的とした。

材 料 と 方 法

鹿児島県日置郡東市来町の一酪農家を対象に、1989年8月から1年間、月1回全搾乳牛(各月31~40頭)から4分房合乳40ml、頸静脈血10mlを採取した。本農場はフリーストール、パーラー方式を採用しており、搾乳管理や衛生状態は良好であった。

乳量(1日量)、乳脂率、蛋白質率、無脂固形分率は、同一材料について県酪連が実施した乳検定の

*¹熊本県農業共済組合連合会, 熊本市水道町15-22
Kumamoto Agricultural Mutual Aid Association,
15-22 Suidocho, Kumamoto

*²山口大学農学部, 山口市吉田1,677-1 Faculty of Agriculture,
Yamaguchi University, 1,677-1 Yoshida, Yamaguchi

記録から用いた。

乳汁検査は、まずCMT変法²⁷⁾(PLテスター、日本全薬工業KK)を行い、凝集と色調について付属の判定基準により判定した。電気伝導度²⁸⁾(ミルクチェッカー、エーザイKK)は、被検乳10mlを付属の受け皿に入れ、デジタル表示により測定し、5.6ms/cm(15°C)以上を陽性とした。

体細胞数はNeuman-Lampert染色、Giemsa染色によるブリード法²⁹⁾で測定し、50万/ml以上を陽

性とした。細菌数はバクトスキャン法で蛍光分析により測定し、40万/ml以上を陽性とした。

血液は常用的な一般検査を実施し、血清を分離して-20°Cに凍結保存した。この血清についてビタミンA、Eを高速液体クロマトグラフ(HPLC)法²⁶⁾(日立365A)にて測定した。

結 果

乳汁検査の陽性頭数の推移をFig.1に示した。CMT変法陽性頭数は年間を通して少なく、陽性を示した月が7回で、多い月でも3頭でほとんどが同一個体であった。電気伝導度陽性頭数は、5月、8月、9月に4頭、4頭、6頭とやや多いが、年間を通してほとんど変動がなく、2頭以下の月が多かった。体細胞数陽性頭数は、5月に15頭と多いが、電気伝導度同様大きな変化はみられず、6頭以下の月が多かった。細菌数陽性頭数は、3月に12頭、6月~9月に17頭、12頭、14頭、17頭を示し、夏季に増加していた。

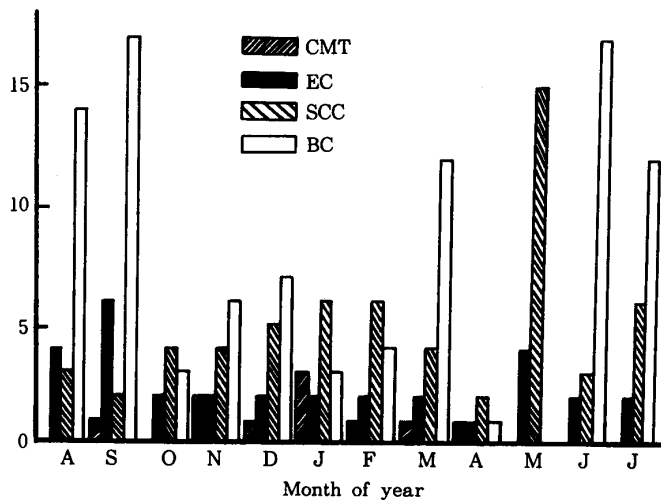


Fig. 1 Number of positive cows in modified CMT, electrical conductivity (EC), somatic cell counts (SCC) and bacteria counts (BC) for subclinical mastitis

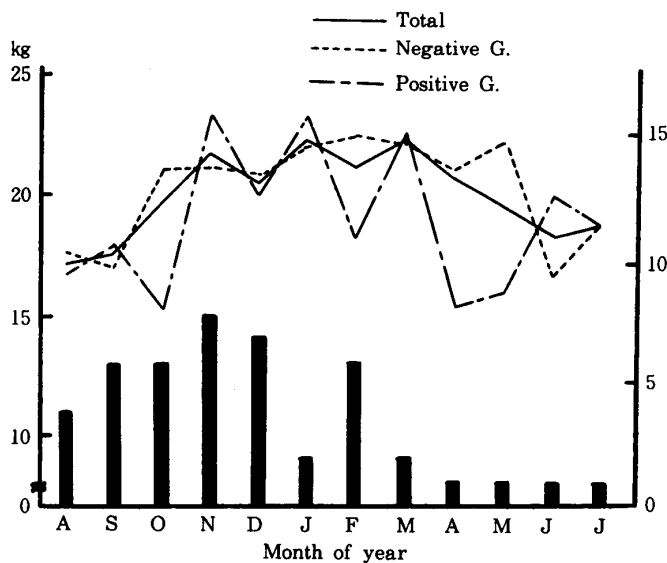


Fig. 2 Average milk yield (line) and number of calvings (bar)

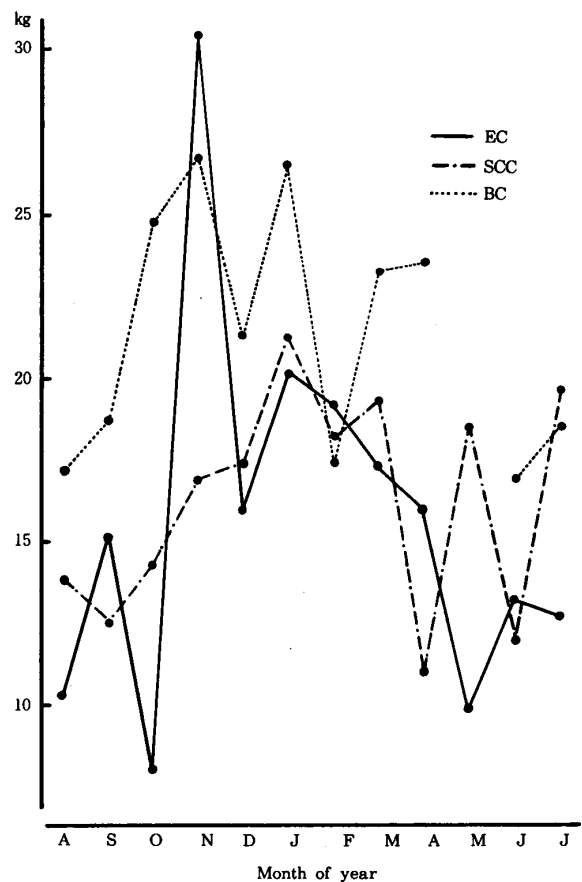


Fig. 3. Average milk yield in EC, SCC and BC positive groups

搾乳牛を月毎に全体, 陰性群, 陽性群に大別し, 陽性群はさらに電気伝導度陽性群, 体細胞数陽性群, 細菌数陽性群に分けた. ここでの陽性群とはCMT変法を含む4種の乳汁検査において, 1つでも陽性を示した個体をまとめたもので, それ以外を陰性群とした. なおCMT変法陽性群は, 例数が少なかつたため, 設けなかった.

乳量と分娩頭数の推移をFig. 2に示した. 乳量は11月から4月にかけて, 搾乳牛全体の平均乳量が20kg以上と高く, 5月~10月には20kg以下に低下していた. 群別にみると, 陽性群が陰性群より平均乳量が多い月もみられたが, 全体としては陽性群で低下する傾向が示された. 分娩頭数は9月~12月と2月に, 6頭, 6頭, 8頭, 7頭, 6頭と多いが, 死産の発生した月もあった. 乳量と分娩頭数の関係では, 分娩頭数の増加に約2ヵ月遅れて乳量の増加が出現した.

陽性群の項目別乳量をFig. 3に示したが, 11月と2月を除き, 電気伝導度と体細胞数陽性群が細菌数陽性群に比べて低値を示した.

乳成分のうち乳脂率との関連をFig. 4に示した. 全体平均は8月と10月~5月が3.62%以上の高い値

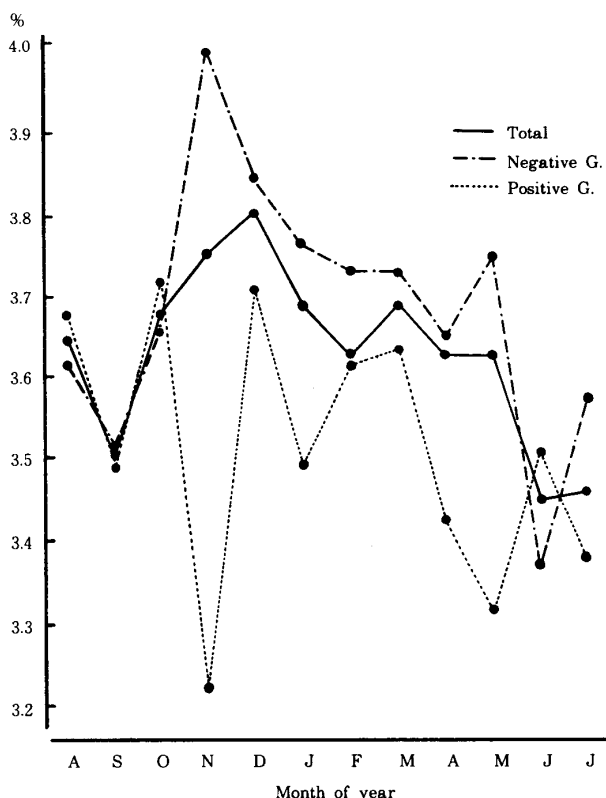


Fig. 4. Average milk fat in each group

を示し, 6月, 7月, 9月には3.45%, 3.46%, 3.50%と低値であった. 群別では8月, 10月, 6月を除き, 陽性群で低値であった.

陽性群の項目別乳脂率をFig. 5に示したが, 電気伝導度と体細胞数陽性群で, 8月~10月, および体細胞数の3月を除き, やや低値を示す傾向がみられた.

蛋白質率と群別の関連をFig. 6に, 項目別との関連をFig. 7に示した. 全体平均は4月と5月に2.91%, 2.90%とやや低値を示したが, 月間に大きな変動はなく, 他の10ヵ月の平均値は3.06±0.07%であった. 群別と項目別でも, 電気伝導度の8月~11月を除き, 大きな差はみられず一定の傾向もみられなかった.

無脂固形分率と群別の関連をFig. 8に, 項目別との関連をFig. 9に示した. 全体平均は8月~3月に8.50%~8.61%と高値を示し, 4月~7月に8.21%~8.46%と低値を示した. 群別では10月と7月を除き, 陽性群において低値であった. 項目別では電気伝導度の10月を除き, 電気伝導度と体細胞数陽性群において低値であり, とくに電気伝導度陽性群の11月~7月では8.00%以下と著明であった.

血液一般検査では, 各月の赤血球数, ヘマトクリット値, 血清総蛋白の平均値に異常値はほとんどみら

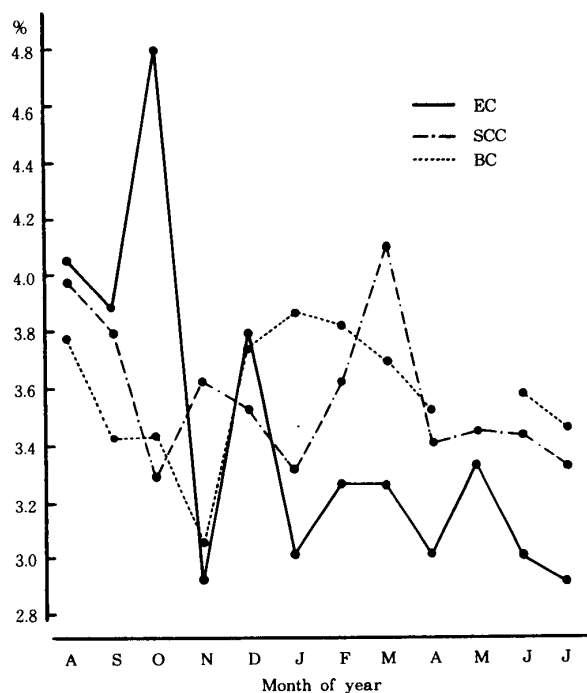


Fig. 5. Average milk fat in EC, SCC and BC positive groups

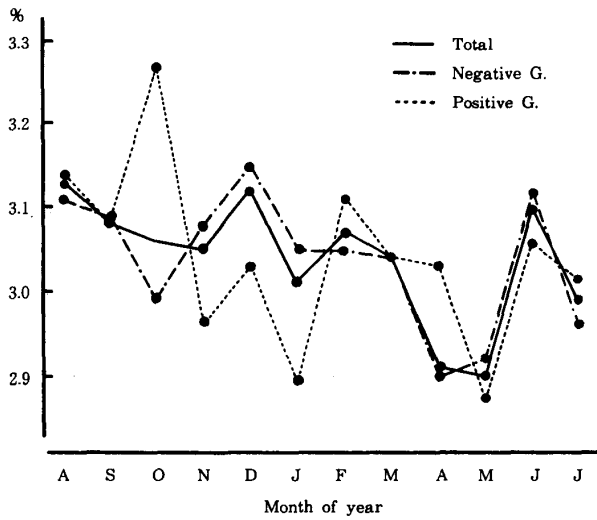


Fig. 6. Average milk protein in each group

れず、白血球数は全体的に高い傾向があり、12,000/ μ l以上を示す個体が多くみられた。白血球百分率では好中球とリンパ球に異常値が少数例認められた。しかし血液一般検査の各項目と乳量・乳質との関連は明白ではなかった。

血清ビタミンA濃度と群別との関連を Fig.10に、項目別との関連を Fig.11に示した。全体平均は8月から12月にかけて、270IU/dl~501IU/dlと高値を示し、1月から7月にかけては186IU/dl~268IU/dlと低値であった。群別と項目別での大きな差は

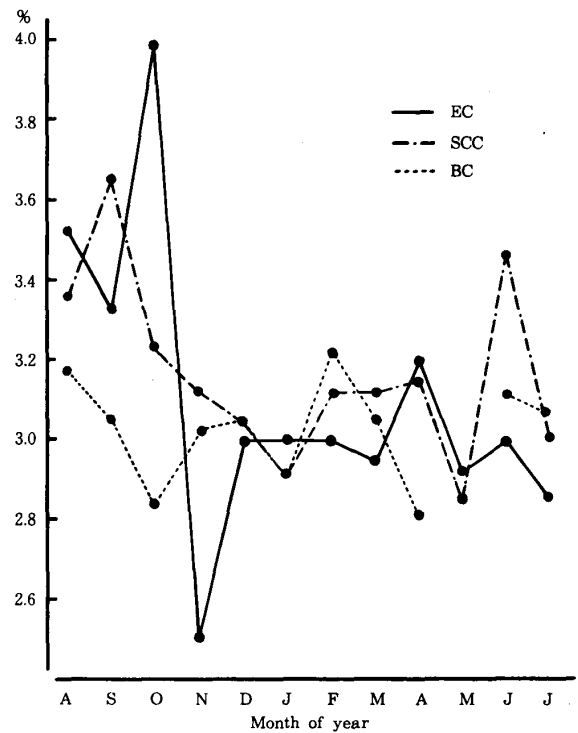


Fig. 7. Average milk protein in EC, SCC and BC positive groups

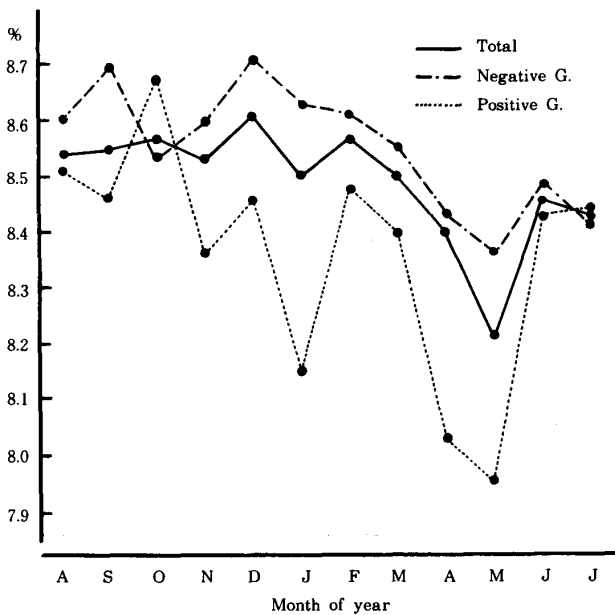


Fig. 8. Average solid not-fat (NSF) in each group

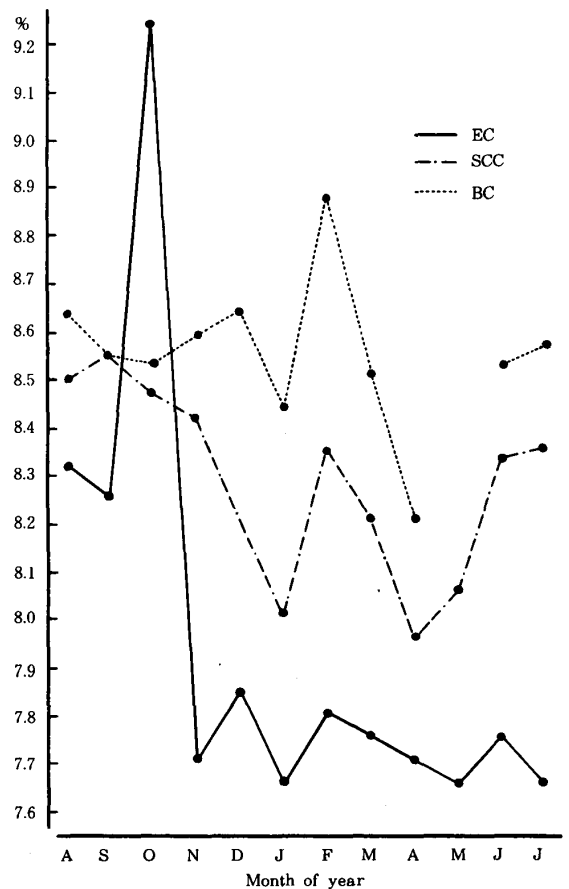


Fig. 9. Average NSF in EC, SCC and BC positive groups

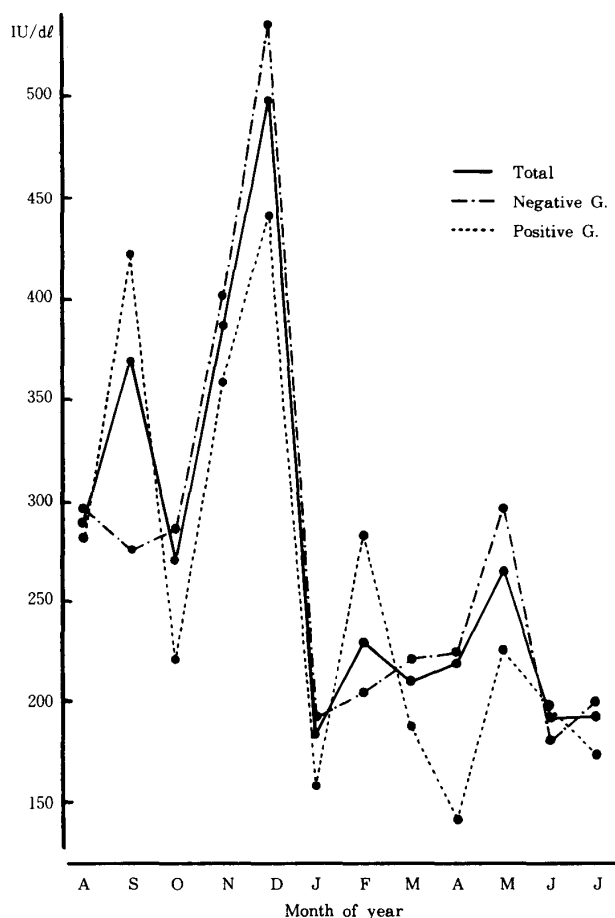


Fig. 10 Average serum vitamin A level in each group

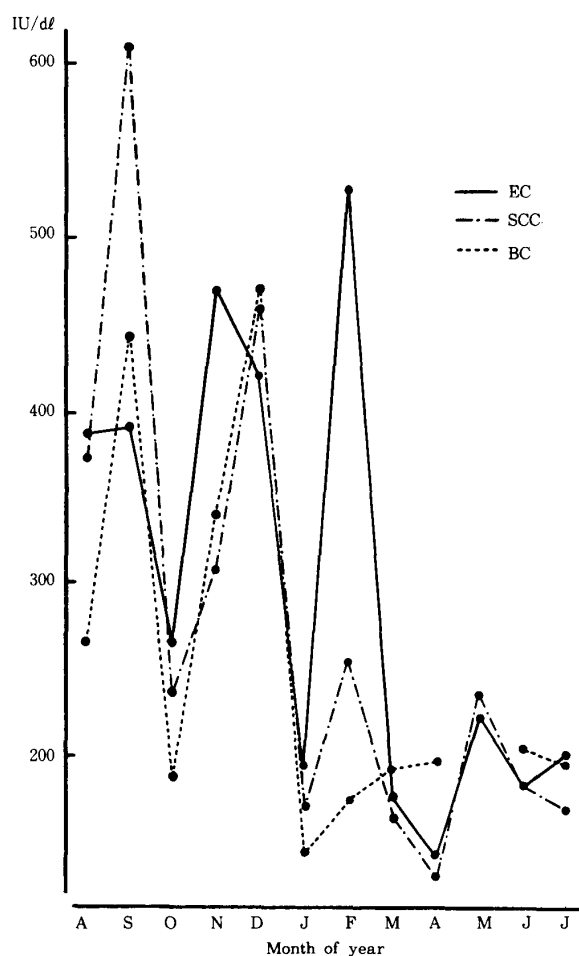


Fig. 11 Average vitamin A level in EC, SCC and BC positive groups

みられず, 年間の変動も全体の変動と類似していた。

血清ビタミンE濃度と群別との関連を Fig.12に, 項目別との関連を Fig.13に示した. 全体平均は9月~12月と6月に453 $\mu\text{g}/\text{dl}$ ~686 $\mu\text{g}/\text{dl}$ と高値を示し, 1月~4月には273 $\mu\text{g}/\text{dl}$ ~336 $\mu\text{g}/\text{dl}$ とかなり低い値を示した. 群別では, 平均値の高い月に陽性群で低値が示された. 項目別では, 細菌数陽性群にくらべて, 電気伝導度と体細胞数陽性群に低値を示す傾向がみられた。

考 察

乳汁検査におけるCMT変法, 電気伝導度, 体細胞数, 細胞数の陽性頭数は一般に夏季に増加する傾向があるが, 本研究では細菌数のみが夏季の増加を示した. 潜在性乳房炎における細菌数の基準は250個/ml以上²⁷⁾とされているが, これは非常に厳しく現実的ではないので, 本研究では鹿児島県内の生乳取引基準である40万/ml以上を用いた. また本研究では他の多くの報告に比べてこれら検査の陽性

頭数が少なく, とくにCMT変法陽性頭数が少なかったことから, 本農場はかなり衛生的な管理がなされていることがうかがえる. 期間中の臨床型乳房炎の発生もごく少数であった。

搾乳牛全体の平均乳量は冬季に増加しており, 大森¹⁷⁾の報告と同様, 分娩頭数に比例して約2ヵ月遅れで増加した. 乳量は検査陽性群で低値を示す傾向があり, 項目別では電気伝導度と体細胞数陽性群で低値を示した. 乳量への影響は体細胞数が最も大きいとされており, 体細胞数の増加に伴って乳量が低下するという報告⁴⁾があり, 本研究の結果と一致した. 細菌数も乳量に影響すると考えられるが, 本研究ではその関連は認められなかった。

乳成分の変化は, 乳脂率, 蛋白質率, 無脂固形分率ともに夏季に低値, 冬季に高値を示した. 一般に乳量が増加する時期にこれらは低下するとされているが^{2, 17, 26)}, 本研究ではあまり一致しなかった。

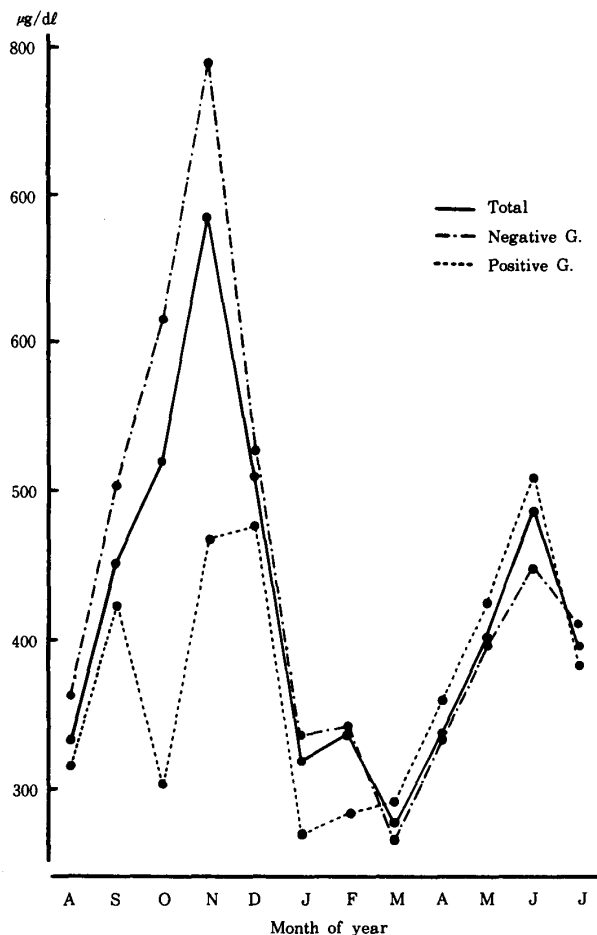


Fig. 12 Average serum vitamin E level in each group

乳成分の全国平均値は年々高くなって、1987年には乳脂率3.67%、蛋白質率3.0%、無脂固形分率8.58%となり、生乳取引基準も同年からそれぞれ3.50%、3.00%、8.40%と定められた。本研究では、この基準に達しなかった月は、乳脂率2回、蛋白質率3回、無脂固形分率1回となり、いずれも少数であった。

乳脂率と無脂固形分率はともに電気伝導度と体細胞数の影響がみられ、とくに電気伝導度の無脂固形分率に対する影響が大きかった。この結果は電気伝導度は無脂固形分率と負の相関があるという報告¹⁸⁾と一致していた。

蛋白質率に関しては、電気伝導度¹⁸⁾、体細胞数²²⁾、低温細菌^{15,16)}の影響が報告されているが、本研究ではいずれも大きな影響はみられなかった。

細菌数と乳成分との関連は、本研究ではいずれもみられなかったが、細菌の影響はその数よりも菌種による方が大きいのであろう。

血液一般検査で白血球数が高かったが、これには

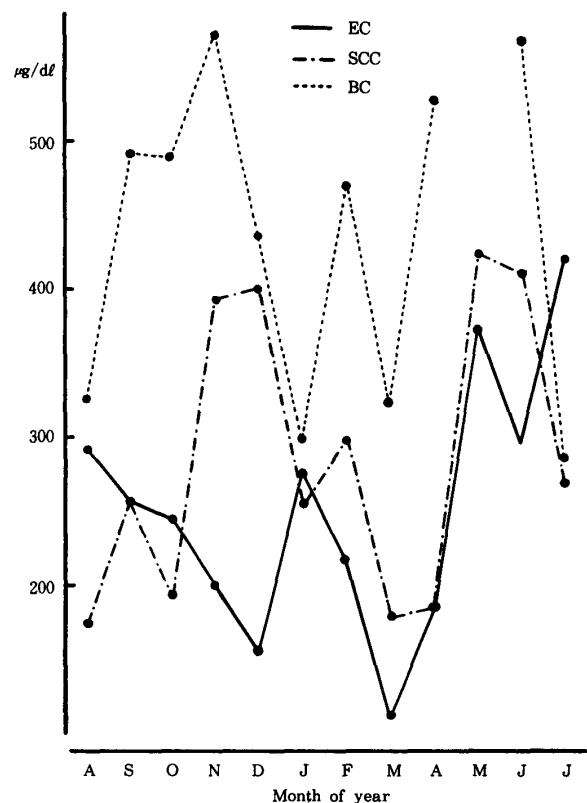


Fig. 13 Average serum vitamin E level in EC, SCC and BC positive groups

ほとんどの牛が白血球抗体陽性であったことと関連している可能性があり、今後の問題である。

乳牛の血清ビタミンA、Eの標準値はそれぞれ100–150IU/dl^{6,9,11,21)}、350–500µg/dl^{8,11)}と報告されている。近年は酪農家による飼料への添加量が増加しており、とくにビタミンAは平均値が300–400IU/dl、著るしい時は500IU/dlを越える農家もあり、過剰症が問題となっている。

本研究でも血清ビタミンAの平均値は年間を通して高く、過剰気味であった。しかし乳汁検査における群別、項目別との関連はともに認められず、血中ビタミンA値と体細胞数に負の相関があるという報告^{1,5,7,9,10)}とは一致しなかった。これは本研究の牛群の体細胞数が全体に低値であったためであろう。

血清ビタミンE値の変動は年間を通してビタミンAと類似していたが、ビタミンAほどの高値は示されず、標準値の範囲内であった。群別では8月–2月に陽性群で低下する傾向がみられた。項目別では電気伝導度と体細胞数陽性群で低値であり、体細胞数に関する報告¹³⁾と一致していた。しかし細菌数との関連はみられなかった。

本研究の結果、電気伝導度と体細胞数が乳量、乳脂率、無脂固形分率、ビタミンE値に関連し、とくに電気伝導度と無脂固形分率の関連が大きいことが示唆された。細菌数、血液一般検査と乳成分、ビタミン値との関連はみられなかった。

要 約

潜在性乳房炎と乳量・乳質、血清ビタミンA、Eの関連を探る目的で、1酪農家について月1回(月により31~40頭)、1年間の調査を行った。検査項目は、乳量、CMT変法、電気伝導度、体細胞数、細菌数、乳成分(乳脂率、蛋白質率、無脂固形分率)、血液一般検査、血清ビタミンA、E値である。

本農家はフリーストール、パーラー方式を採用しており、搾乳管理や衛生状態は良好であった。そのためCMT変法陽性頭数は年間を通して各月3頭以下と少なかった。電気伝導度と体細胞数陽性頭数は6例以下の月が多かった。細菌数陽性(本研究では40万/ml以上)頭数は変動が大きく、夏季に増加し、冬季に減少した。

乳量は、乳汁検査陽性群で低下の傾向がみられ、項目別では電気伝導度と体細胞数陽性群で低下の傾向がみられた。乳脂率と無脂固形分率は、陽性群で低値を示す月が多く、項目別では電気伝導度と体細胞数陽性群で低下の傾向がみられた。蛋白質率は陽性群や検査項目による変動を示さなかった。本研究では細菌数と乳量・乳質の間に関連は認められなかった。

血液一般検査は各月とも少数の異常値がみられたが、これらと乳汁や乳質の検査値との間に関連は見い出せなかった。

血清ビタミンA値は8月~12月に270IU/dl以上と高値であり、1月~7月に186~268IU/dlと低値であったが、それでも乳牛の標準値よりかなり高かった。血清ビタミンA値と乳汁検査値に関連はみられなかった。

血清ビタミンE値は9月~12月に450µg/dl以上と高く、1月~4月に273~336µg/dlと低かったが、標準値350~500µg/dlの範囲内に近かった。群別では、平均値の高い10月と11月に陽性群で大きく低値であった。項目別では、電気伝導度と体細胞数陽性群で低値の傾向が示された。

以上の結果、乳汁の電気伝導度と体細胞数検査が乳量・乳質の状態を比較的良く反映すること、ビタミンE値とこれら検査値の間に関連のあることが示唆された。

謝辞 本研究の遂行にあたり多大の協力を受けた鹿児島大学獣医公衆衛生学研究室の岡本嘉六助教授、鹿児島県中央家畜保健衛生所の佐々木幸良氏、鹿児島県酪連の福留邦彦氏と町田市夫氏、材料の提供を受けた国分秀樹氏に深謝する。

文 献

- 1) 阿部英雄・野村 武・安田牧人・南 保範:慢性および潜在性乳房炎に対する高単位ビタミンAの経口投与効果について. 家畜診療, 286, 43-50 (1987)
- 2) 原 茂:乳質改善と潜在性乳房炎(2). 家畜診療, 289, 23-32 (1987)
- 3) 吐山豊秋:乳牛に用いるビタミン剤(1)脂溶性ビタミン. 家畜診療, 316, 15-22 (1989)
- 4) 市川忠雄:最近の乳房炎予防対策(1). 家畜診療, 306, 5-13 (1988)
- 5) 勝見 晟, 山口俊男, 片桐弘一, 山口知恵野, 和田恭則, 伊藤昭夫:牛の慢性乳房炎に対するビタミンA D₃E剤ならびにビタミンA剤の投与効果について. 家畜診療, 273, 11-17 (1986)
- 6) 木村容子:ビタミンA欠乏症の最近の知見について(2)分娩前後の搾乳牛におけるビタミンAの動態. 家畜診療, 305, 5-18 (1988)
- 7) 国野忠良, 近藤寧子, 酒井一二:ビタミンA D₃E剤投与後の乳汁中体細胞数について. 家畜診療, 327, 33-38 (1990)
- 8) 松本和之, 一条 茂, 小西辰雄:正常牛における血清トコフェロールの変動について. 日獣会誌, 38, 170-174 (1985)
- 9) 峰岸義則, 山本克俊, 森田文弥:牛の潜在性乳房炎に対するビタミンAの効果(1)CMT変法と血中レチノール量の変動. 家畜診療, 296, 49-53 (1988)
- 10) 峰岸義則, 山本克俊, 森田文弥:牛の潜在性乳房炎に対するビタミンAの効果(2)乳量検定および個体乳検査成績に及ぼす影響. 家畜診療, 303, 29-32 (1988)
- 11) 室賀友子, 一条 茂, 納 敏, 江口 暢, 更科孝夫:牛に対するビタミンA D₃Eプレミックス経口投与後のビタミンEとAの血液および乳汁濃度の変化. 日獣会誌, 43, 330-335 (1990)
- 12) Nickerson, S. C. : Immunity and the bovine mammary gland. Part 1 : Nonspecific defense mechanisms. *Agri-Practice*, 9(5), 28-31 (1988)
- 13) 西田諦衛:ビタミンEを中心とした乳牛の夏場対策(1). 臨床獣医, 8(7), 87-91 (1990)
- 14) 西田諦衛:ビタミンEを中心とした乳牛の夏場対策(2). 臨床獣医, 8(8), 84-88 (1990)
- 15) 小川益男:バルクタンク乳の乳質と低温細菌(1). 家畜診療, 305, 21-29 (1988)
- 16) 小川益男:バルクタンク乳の乳質と低温細菌(2). 家畜診療, 306, 15-24 (1988)

- 17) 大森昭一朗：季節・気温と牛乳成分の変動。生乳の無脂固形分，乳質改善の手引き，大浦義教監修，p.131-144，北海道乳質改善協議会，札幌（1979）
- 18) 大島正尚：電気伝導度による固体乳の乳固形分含量についての定性的判定について。畜試年報，21，131-142（1978）
- 19) 瀬田俊志：ビタミンAおよびβ-カロチンと乳房炎の予防。獣畜新報，780，433-439（1986）
- 20) Smith, K.L.: Selenium, vitamin E play key roles in preventing mastitis. *Hoard's Dairyman*, 10, 581（1988）
- 21) 高橋克仁・高野貞男・熊谷敏信・大石武志・水沼敏男・菊池 薫・木村喜正・佐藤 繁：乳牛の産後疾患の予防に対するビタミンA剤投与の効果，投与量および投与時期の検討。家畜診療，305，31-36（1988）
- 22) 田中 実・野村 武・高橋英世：高泌乳牛群における潜在性乳房炎の予防対策，特に乳汁中の体細胞数について。家畜診療，311，15-18（1989）
- 23) Tjoelker, L. W., Chew, B. P., Tanaka, T. S. and Daniel, L. R.: Bovine vitamin A and β-carotene intake and lactational status. 1. Responsiveness of peripheral blood polymorphonuclear leukocytes to vitamin A and β-carotene challenge in vitro. *J. Dairy Sci.*, 71, 3112-3119（1988）
- 24) Tjoelker, L. W., Chew, B. P., Tanaka, K. S. and Daniel, L. R.: Bovine vitamin A and β-carotene intake and lactational status. 2. Responsiveness of mitogen-stimulated peripheral blood lymphocyte to vitamin A and β-carotene challenge in vitro. *J. Dairy Sci.*, 71, 3120-3127（1988）
- 25) 東京化学同人：脂溶性ビタミン。ビタミン学実験法，日本ビタミン学会編，p. 1-33, 194-229，東京（1983）
- 26) 和田 宏：牛乳の成分。乳牛の飼養と乳質改善，p. 47-70，明文書房，東京（1975）
- 27) 全国農業共済協会編：乳房炎。家畜共済における特殊病傷の診療指針，p. 51-204，（1985）

Summary

Visitings to a certain dairy farm were made every month through a whole year, in order to ascertain the effects of subclinical mastitis upon the milk quality and components, and serum vitamin A and E. Items of the investigations were as in the following: milk yield, modified CMT, electrical conductivity (EC), somatic cell counts (SCC), bacteria counts (BC), milk components, blood components, and serum vitamin A and E levels.

In the monthly examinations of the milk executed, depending upon the dairy affairs, on 31~40 individual cows, the number of the cows positive to CMT was less than 3 through the whole year, same cows being affected, usually. The number of cows positive to EC and SCC was less than 6 through one year, excepting the month of May, concerning SCC. The number of cows positive to BC was noted to be more than 10 during the period from June to September.

Basing on the results obtained about the milk examinations, the milking cows were divided into the two groups, namely, positive one and negative one, and the positive groups were further divided into EC positive, SCC positive and BC positive, respectively. Any cows fixed to be positive only in one milk examination including CMT, were assorted into positive group. But, because of smallness in number, CMT positive ones were not set up as one independent group.

In the milk examination positive groups, especially, EC positive and SCC positive groups, the milk yield tended to become lower. During the period from October to May average milk fat ratio was high, being more than 3.62%. All over the year, little change was noted in average milk protein. During the period from August to March average solid not-fat (SNF) was high, being more than 8.5%.

In the positive group, the milk fat ratio was relatively low, excepting August, October and June. SNF ratio was also relatively low, excepting October and July. Concerning milk protein, difference was quite negligible between the EC and the SCC positive groups and the BC positive group as well as between the negative and the positive groups. In the EC and the SCC positive groups, ratios of milk fat and SNF were relatively low. In all the milk components examined, no effect was noted about BC.

In the blood components, the total counts of leukocytes were constantly more than 12,000/ $\mu\ell$,

and the differential counts of them showed a slight abnormal value. However, no relationship with the milk examination was noted.

Compared with the normal value of 100 to 150 IU/dl, the serum vitamin A levels were constantly high. For example, during the period from August to December, those were more than 270 IU/dl, and during the period from January to July those were 186 to 268 IU/dl, respectively. Both to the milk components and to the results of milk examinations no effect was shown by vitamin A levels.

Through the whole year, there was a similarity in the changing of serum vitamin E levels and in that of vitamin A levels. Serum vitamin E levels were more than 450 $\mu\text{g/dl}$ during the period from September to December, and 273 to 336 $\mu\text{g/dl}$ during the period from January to April, respectively. And these values were quite close to the normal value of 350 to 500 $\mu\text{g/dl}$. In October and November the serum vitamin E levels were quite low in the positive groups, being especially apt to be lowered in the EC and the SCC positive groups.

Consequently, it was suggested that EC and SCC showed effects to milk yield, milk fat, SNF and serum vitamin E level. Especially, there existed rather a high relationship between EC and SNF. Both to the milk components and to the serum vitamin levels, no effect was shown by BC and blood components.