【産業動物】　原　著

CMT 変法（P. L テスター）試薬量と乳汁中体細胞数の検出感度

草場　信之[1)2)]　樋口　豪紀[1)3)]　竹本　秀一[1)4)]

1）北海道乳質改善協議会事業対策委員会（〒060-8651 札幌市中央区北４条１丁目３）
2）北海道 NOSAI 研修所（〒069-0806 江別市新栄台92）
3）酪農学園大学獣医学部獣医衛生学教室（〒069-8501 江別市文教台緑町582）
4）北海道酪農検定検査協会（〒060-0004 札幌市中央区北４条西１丁目１）

（受付2014年３月27日）

要　　約

近年、衛生的乳質向上に伴い高品質乳生産農家の期待に応えるためには、分房乳で10万～30万/m*l* レベルの体細胞数の検出がカウサイドで望まれる。今回、乳房炎の早期発見を目的に、CMT（California Mastitis Test）変法（P. L テスター）の試薬量を変えて、通常は陰性となる同レベルの体細胞数を検出できるかどうかの検討を行った。試薬量は用法量（乳汁：試薬＝２m*l* ： ２m*l*）の1.5倍（３m*l*）の場合に検出感度が最も高くなったが、それ以上の試薬量は反応を鈍らせた。しかし、10万～30万/m*l* レベルの体細胞数をすべて検出させるには至らなかったため、カウサイドで使用できるより検出感度の高い乳房炎診断試薬の開発が望まれる。

キーワード：CMT 変法、P. L テスター、試薬量、体細胞数、検出感度、

北獣会誌　58，203～206（2014）

近年、北海道乳質改善協議会主催の乳房炎防除対策研究会（毎年11月開催）では、良質乳生産農家の取り組みをテーマとし、優良農家に共通した取り組みに「乳房炎の早期発見」があることを啓蒙してきた。その酪農家の中には、健康牛の目安として体細胞数を10万/m*l* 未満とし、健康牛と分けて搾乳している酪農家もあった[1]。長年わが国では、体細胞数20万/m*l* を正常の目安として取り組みを行ってきたが[2]、体細胞数が７万/m*l* を超えると損失乳量が生じることや[3]、乳房炎原因菌に感染している牛の割合が５割を超える調査結果（草場、未発表）（**図１**）から考えて、体細胞数10万/m*l* を個体の限界と捉えているこの酪農家の認識は非常に的を射ている。体細胞数の簡易測定により乳房炎を診断する

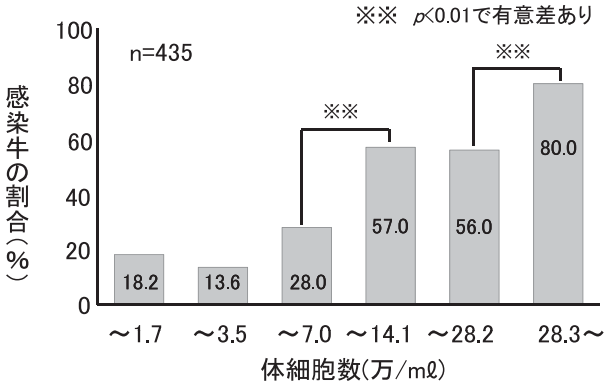


図１　体細胞数階層別乳房炎原因菌感染牛の割合

表１　CMT および PLT の判定結果と体細胞数

CMT		PLT	
判定	平均体細胞数（万/m*l*）	判定	平均体細胞数（万/m*l*）
－	7.3	－	8.8
T (trace)	27.5	±	35.0
1	88.1	＋	92.1
2	177.9	＋＋	207.3
3	619.2	＋＋＋	376.1
		＋＋＋＋	（記載なし）

CMT：O. W. Schalm の成績
PLT：桐沢ら（家畜衛生試験場北陸支場）の成績

連絡責任者：草場　信之　北海道 NOSAI 研修所
TEL：011－382－5233　　FAX：011－382－2782　　Email : nobuyuki_kusaba@hknosai.or.jp

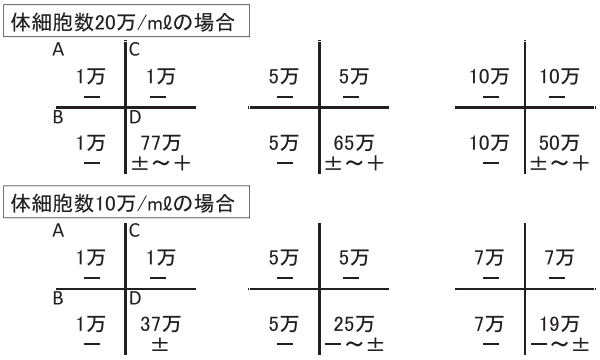


図2　個体の体細胞数が20万と10万であるときの分房の体細胞数のシュミレーション値とPLTの予想結果

Aは左前、Bは左後、Cは右前、Dは右後の分房を表し、ー、±、＋はPLTの凝固の程度を表す。

CMT（California Mastitis Test）[4]は世界中で普及しているが、わが国では、その変法[5]であるP. Lテスター（日本全薬工業、PLT）が普及している。CMTとPLTはその性能に差はなく、いずれも凝固度合いが高くなるにしたがって体細胞数が上昇する（**表1**）。しかし、個体の体細胞数が20万/m*l*以上であれば、計算上、異常分房は見つかる可能性が高いが、10万/m*l*を目安にする場合、異常分房の検出は難しくなり、PLTでは良質乳生産農家の期待には答えられない（**図2**）。期待に応えるためには、分房乳で10万～30万/m*l*程度の体細胞数を検知できなければならない。酪農家や生産動物の獣医師はPLTの試薬を増量させた場合、検出感度が上がった経験がある向きも多いことから、今回、乳房炎の早期発見を目的に、PLTの試薬量を変えた場合の検出感度の変化について調査を行った。

材料と方法

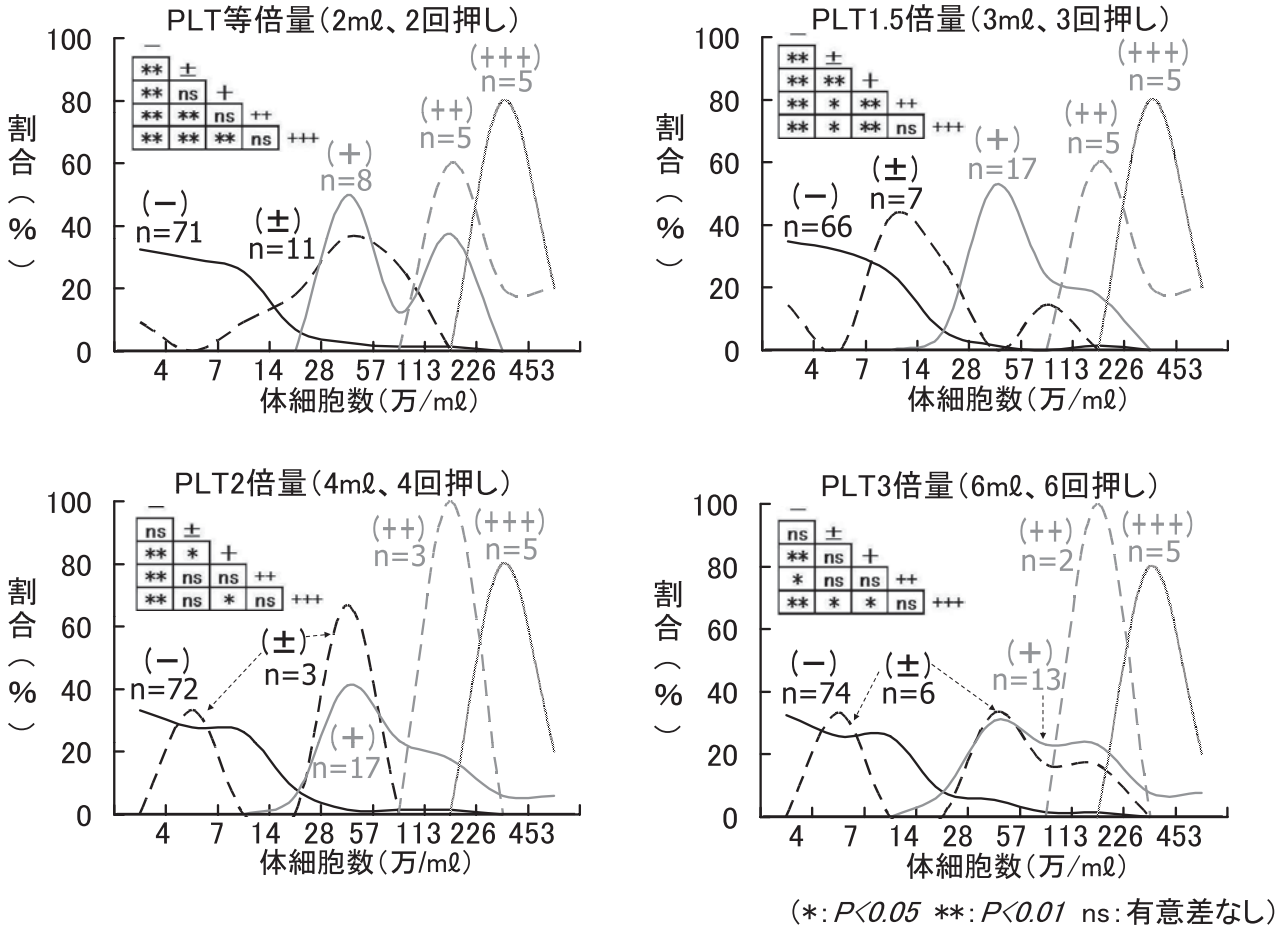
体細胞数測定が終わった防腐剤が入っていない牛群検定サンプル乳100検体を材料とした。PLT専用シャーレを用いて牛乳を正しく計量（2m*l*）し、加えるPLTの試薬量を等倍（2m*l*、専用ポンプで2回押し）、1.5倍（3m*l*、3回押し）、2倍（4m*l*、4回押し）、3倍（6m*l*、6回押し）と変化させた。凝固反応はPLTの付属判定表により判定し、試薬量と凝固反応の変化、および体細胞数の分布を調査した。各凝固反応における体細胞数の分布の差をSteel-Dwass法で検定し、$P<0.05$を有意とした。また、体細胞数区分を7万/m*l*以下、7.1万～28.2万/m*l*、28.3万/m*l*以上（体細胞数リニアスコアで2以下、3～4、5以上に該当）に区分し、体細胞数階層別のPLTの試薬量と凝固反応の変化を検討した。

結果と考察

PLT試薬を通常の使用方法、すなわち、乳汁と等倍で加えたとき、－反応71検体の平均体細胞数は9.7万/m*l*、±（11検体）は41.1万/m*l*、＋（8検体）は86.7万/m*l*、＋＋（5検体）は274.9万/m*l*、＋＋＋（5検体）は424.5万/m*l*であった。今回は出荷されていると考えられる乳検サンプルを供試したため＋＋＋の反応はなかったが、その他の結果はPLTの反応と体細胞数の関係を示した桐沢ら[5]の結果と同様であった。

PLTの試薬量の違いによる反応結果と体細胞数の分布を**図3**に示した。等倍で加えたとき、－反応の10～90パーセンタイルは1.8万～15.7万/m*l*、以下同様に±では9.6万～73.6万/m*l*、＋では34.2万～173.3万/m*l*、＋＋では133.4万～464.5万/m*l*、＋＋＋では286.3万～641.5万/m*l*であった。しかし、乳房炎早期発見の目安としたい7万～10万/m*l*程度の個体の多くが－の反応に含まれてしまうことや、±と＋の体細胞数の分布に極端な重なりが認められた。次に、1.5倍量を加えたとき、－反応（66検体）の10～90パーセンタイルは1.8万～12.7万/m*l*、±（7検体）では6.4万～43.0万/m*l*、＋（17検体）では29.5万～145.5万/m*l*、＋＋（5検体）では133.4万～464.5万/m*l*、＋＋＋（5検体）では286.3万～641.5万/m*l*となった。このとき、7万～10万/m*l*の個体の一部は±の反応として検出されるようになり、また、＋＋と＋＋＋の反応を除いた各反応の体細胞数分布において、すべてに有意差が認められた。2倍量を加えたとき、1.5倍量で±を示した7検体すべてが－となったのをはじめとして、各反応の体細胞数分布において有意差が認められなくなるものが多く、これ以上の試薬量の増加は、反応を希釈する恐れがあると考えられた。したがって、牛乳2m*l*に対して1.5倍量（3m*l*、専用ボトルで3回押し）のPLT試薬により反応が最適化されることが分かった。

体細胞数階層別のPLTの試薬量と凝固反応の変化を**図4**に示した。体細胞数7万/m*l*以下の階層では、試薬量による変化はほとんど認められなかった。この階層は健康牛と位置付けられている階層であるため、試薬量を1.5倍にしても健康牛が誤って乳房炎牛と診断される確率は増えないことが示された。次に乳房炎注意牛の体細胞数7.1万～28.2万/m*l*の階層では、等倍で±以上の反応を示すサンプルの割合が11.5%（3/26検体）であったのに対し、PLT試薬1.5倍量では、23%（6/26検体）に上昇したが、反応を示さない検体の方が大多数であっ



(*: $P<0.05$ **: $P<0.01$ ns:有意差なし)

図 3　PLT の試薬量の違いによる反応結果と体細胞数の分布

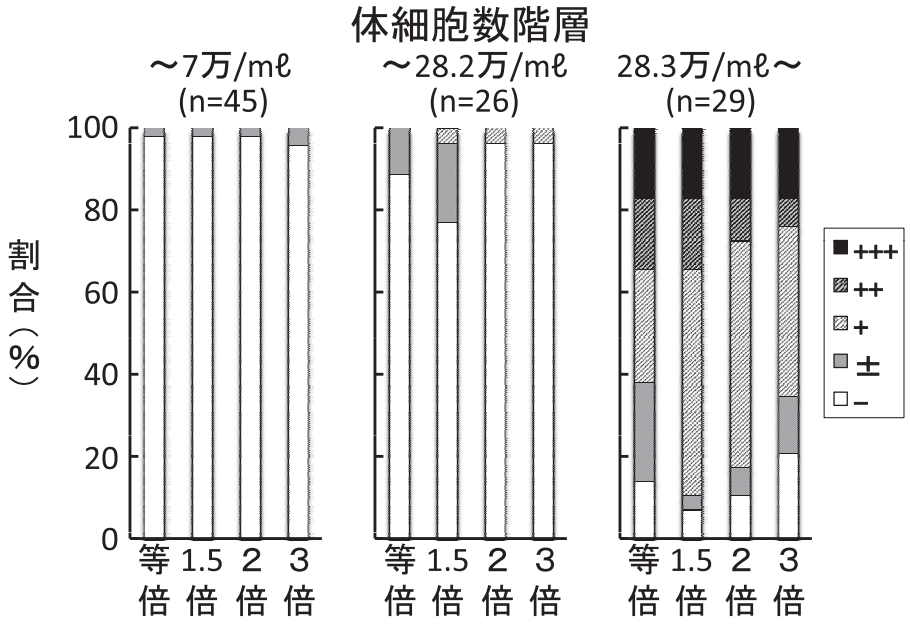


図 4　体細胞数階層別の PLT の試薬量と凝固反応の変化

た。2倍以上の試薬量を加えると希釈されるためか、凝固はほとんど認められなくなった。28.3万/m*l* 以上の階層においても、等倍で凝固しなかったサンプルが13%（4/29検体）あったが、試薬量を1.5倍にすることにより、凝固しないサンプルは6.9%（2/29）に減少した。また、同様に2倍以上の試薬量を加えると凝固しないサンプル数が増加した。

以上のことから、乳房炎の早期発見、すなわち個体で10万/m*l* 程度、分房乳で10～30万/m*l* 程度の体細胞数を検知できるよう PLT 試薬の量を変化させて調査した結果、PLT の試薬量は1.5倍のときに最も感度が上がることが分かった。しかし、10～30万/m*l* 程度の体細胞数をすべて検知するまでには至っておらず、高品質乳の生産に努力している酪農家の期待に応えるためには、カウサイドで使用できる検出感度のさらに高い乳房炎診断試薬の開発が望まれる。また、試薬量を入れすぎると検出感度が下がることは試験実施に係る重要な注意点であると考えられた。

今回の試験実施にあたり、試薬等の資材を提供にご協力いただいた日本全薬工業株式会社様に深謝いたします。

引 用 文 献

[1] 優良農場における乳質改善の取り組み、乳房炎防除対策研究会誌、17、1～8、北海道乳質改善協議会、札幌（2011）

[2] 安里　章：乳房炎コントロールのゴール、生産獣医療システム乳牛編1、196、農文協、東京（1998）

[3] A. J. Bramley, J. S. Cullor, R. J. Erskine, et al.: Current Concepts of bovine mastitis, National Mastitis Council, Inc., 4th ed, 5～7 (1998)

[4] Schalm OW：牛の乳腺炎、細谷秀夫訳、85-93、文永堂（1966）

[5] 桐沢　統、兼清知彦：乳房炎の簡易診断法について、日獣会誌、11、481-483（1958）