

2 搾乳衛生における ATP 拭き取り検査機器活用法の検討

熊谷家畜保健衛生所

○石田 扇子・益岡 奈津樹

I はじめに

酪農経営において乳房炎は乳牛の泌乳量や乳質を低下させ、経済的損失を招く重要な疾患である。乳房炎の予防には乳頭口からの病原体の侵入を防ぐための衛生的な搾乳作業が有効であり、特に清拭後乳頭壁の清浄度を高くすることが重要となる。清浄度の指標として乳頭壁表面の生菌数測定があるが、採材後に細菌培養等を行う必要があり、結果が判明するまでに1～2日を要する。速やかに農家への搾乳衛生指導を行うためには、短時間で乳頭壁の清浄度を判定でき、その場で指導に活用できる新たな指標が求められる。

そこで、検査箇所表面の ATP 化学発光量（以下「ATP 検査値」）を測定することで、清浄度をその場で迅速に判定できる「携帯型 ATP 拭き取り検査機器」を用いた清拭後の乳頭壁の清浄度測定が、搾乳衛生指導に活用可能か検討した。

II ATP 拭き取り検査の概要

ATP（アデノシン三リン酸）は生物が生体内のエネルギー伝達に利用する化学物質であり、すべての生きている細胞で産生される。生きている動物や植物、菌の他に、その体液や分泌物、死骸、食品残渣にも含まれており、ATP が存在するという事は生物または生物の痕跡が存在することを示している。

ATP 拭き取り検査は ATP を指標とした清浄度検査で、検査箇所表面の ATP 量を測定し数値化することで清浄度を判断するものである。その測定原理はホタルの発光器の中で起きている「ルシフェリンと ATP を酸素の存在下でルシフェラーゼと反応させることで光エネルギーが放出される」という酵素反応を応用したものである（図 1）。この時の発光量は ATP 量に比例するため、発光量を数値化したものを ATP 検査値（測定単位：RLU）として清浄度の指標としている¹⁾。ATP 検査値が小さいほど清浄度

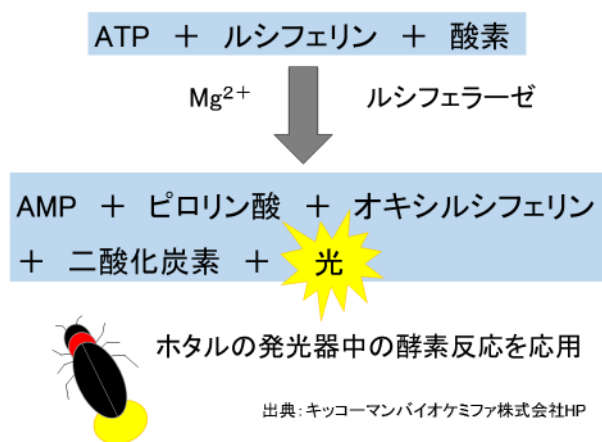


図 1 測定原理

が高いことを示し、測定時間が約 10 秒と短時間で結果が判明するため、主に食品加工施設等で、器具や設備の洗浄方法の評価に用いられている。

酪農現場においても ATP 拭き取り検査を乳質指導に活用する取り組みが始まっている²⁾。具体的な活用例としてはバルククーラー・ライナーゴム等の搾乳関係器具、清拭用タオル、作業者の手指の清浄度を判定することで、器具の洗浄方法の指導や搾乳衛生に対する意識改善を図る取り組みが挙げられる。今回は、搾乳衛生上重要である搾乳時の清拭後乳頭壁に着目し、清拭後乳頭壁の ATP 検査値の測定が搾乳衛生指導に活用可能であるか検討した。

III 調査方法

1 材料・方法

管内のフリーストール牛舎 3 戸及びつなぎ牛舎 3 戸の酪農家 6 戸において乳牛 14 頭の乳頭 39 検体を対象とした。また、搾乳時の乳頭清拭手順の確認及び清拭後乳頭壁の ATP 拭き取り検査・生菌数測定を行い、ATP 検査値との関連を調査した。

ATP 拭き取り検査は専用キットで採材後、ただちに携帯型検査機器による測定を実施した。使用機器はキッコーマンバイオケミファから発売されている「ルミテスター®PD-30」で、検査箇所表面を専用キット付属の綿棒で拭き取り、試薬と反応させ本体に挿入し、ATP 検査値を測定した(図 2)。生菌数測定は、滅菌綿棒による採材後、滅菌生理食塩水に浸した菌液を段階希釈し、血液寒天培地に塗布し、37℃24 時間好気培養して菌の定量を実施した。

携帯型ATP拭き取り検査機器 (製品名:ルミテスター®PD-30)



検査箇所のATP検査値
(測定単位RLU:Relative Light Unit)を数字で表示

図 2 使用機器

2 採材方法

各農家の搾乳作業を観察し清拭手順を確認したあと、直ちに乳頭壁側面を綿棒で拭い、ATP 検査値および生菌数を測定した(図 3)。拭き取り箇所は、ATP 拭き取り検査は乳頭壁の前後側面、生菌数は乳頭壁の左右側面を上下 2 往復ずつ、綿棒の先端が少し曲がる程度に圧力を加え、綿棒の先端を転がしながら採材した。

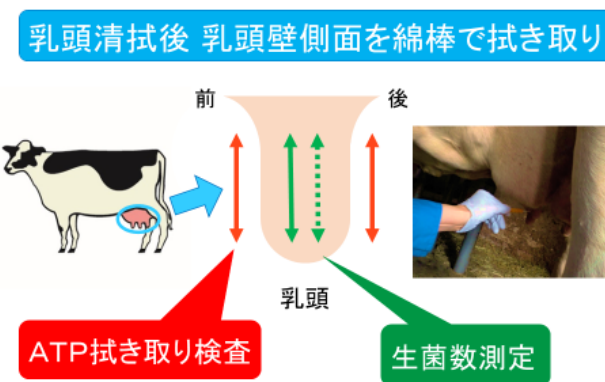


図 3 採材方法

IV 調査結果

1 乳頭清拭手順

プレディッピングの有無とミルク装着直前の清拭方法により清拭手順を3パターンに分類した(図4)。農家A・B・Cはプレディッピングを実施、農家Dはプレディッピングを実施していないが、消毒液に浸したタオルで清拭、農家E・Fはプレディッピングを実施せず、お湯に浸したタオルで水拭きのみ実施していた。

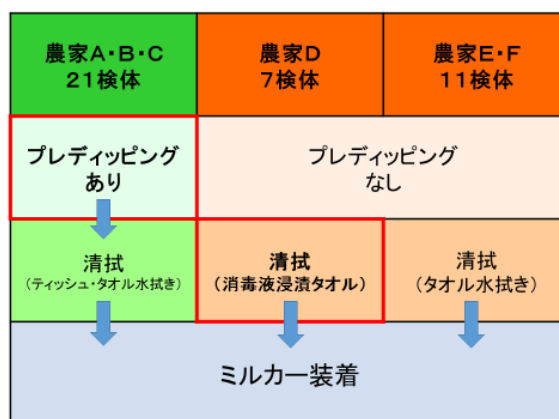


図4 清拭手順分類

2 検査成績

清拭後乳頭壁表面のATP検査値と生菌数を対数変換し、2つの値の相関を調べた結果、正の相関($r=0.58$)が認められた(図5)。

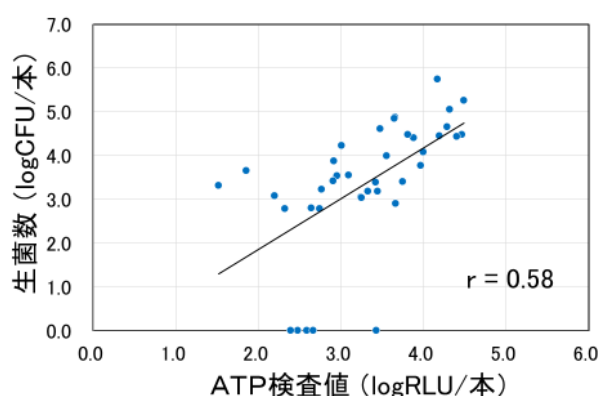


図5 清拭後乳頭壁のATP検査値と生菌数の相関

また、清拭手順との関連を調査した結果、搾乳時にプレディッピングを実施している農家3戸21検体は、プレディッピングを実施していない農家3戸18検体に比べ、ATP検査値と生菌数がいずれも有意($p<0.01$)に低いという結果が得られた(図6)。

さらに、プレディッピング未実施農家の中でも、消毒液浸漬タオルで清拭した農家は、水拭きタオルで清拭した農家より、ATP検査値と生菌数が低い傾向が認められた(図7)。

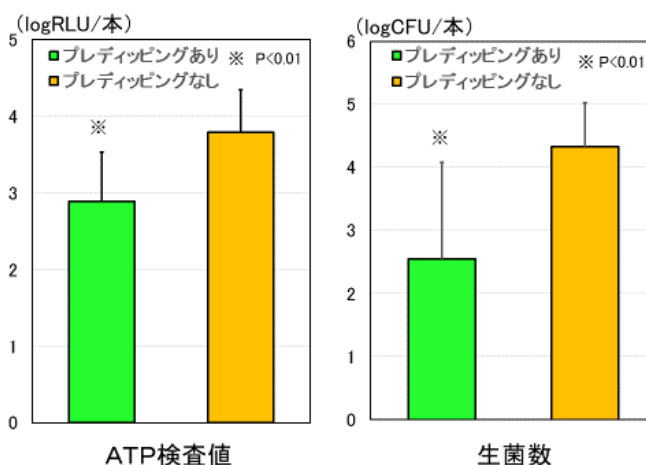


図6 プレディッピング実施農家と未実施農家の比較

3 基準値設定

さらに、搾乳衛生指導の指標とするため、ATP検査値の基準値設定を試みた。プレディッピング実施農家と消毒液浸漬タオルで清拭した農家は、ATP検査値と生菌数とともに低い傾向にあったことから乳頭壁の清拭が概ね良好とみなし、これらの農家のATP検査値の平均値と平均+標準偏差から基準値を算出した。平均値は $\log 3.01 =$

1017.3RLU、平均+標準偏差が $\log 3.62=4215.8\text{RLU}$ となった。これらの値から、清拭後乳頭壁の ATP 検査値が 1000~4000RLU であれば清拭手順の確認が必要な「要注意」、4000RLU 以上であれば清拭手順の見直しが必要な「要指導」とする判定基準を暫定的に設定した(図8)。

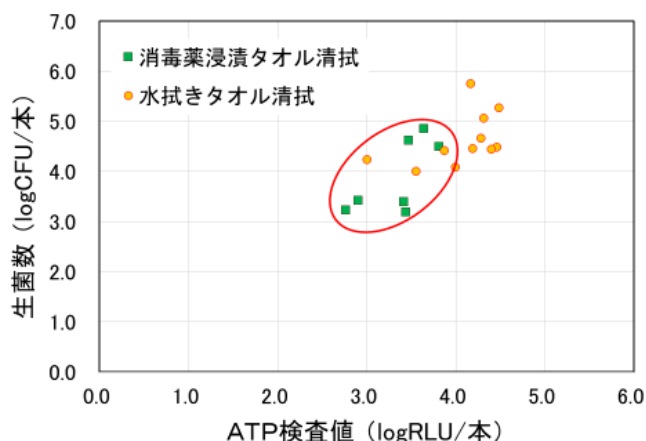


図7 プレディッピング未実施農家の ATP 検査値と生菌数

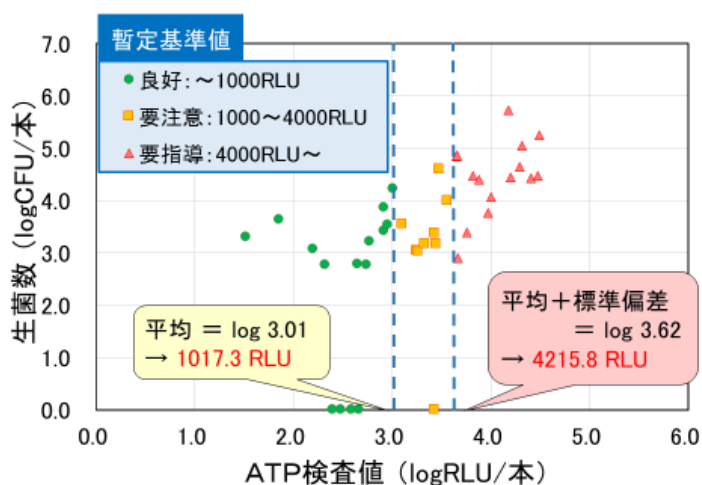


図8 基準値設定

V 考察

今回の検討で、ATP 拭き取り検査は検査箇所の清浄度をその場で迅速に判定できるというメリットが確認でき、ATP 検査値は清拭後乳頭壁の清浄度の指標として活用可能であると示唆された。

しかし、今回設定した基準値は、対象農家が6戸と少ないことから、今後さらにデータを蓄積し、精査を行う必要がある。また、今回は搾乳手順のうちプレディッピングとタオルの消毒の有無に注目したが、他の工程の違いが ATP 検査値に影響を与えるかどうか、そして ATP 検査値とバルク乳成績に関連があるかどうかについても検証の必要がある。

今後は、今回設定した基準値をもとに ATP 拭き取り検査を搾乳衛生指導に積極的に活用し、農家の搾乳衛生改善への意識向上および乳質改善に取り組んでいく。

参考文献

- 1) キッコーマンバイオケミファ株式会社ホームページ
- 2) 榎谷雅文 (2013) . 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, 帯広畜産大学大学院畜産学研究科博士論文