

生乳検査マニュアル

ー ガイドライン ー

平成22年4月
(最終改訂令和5年3月)

生乳検査精度管理委員会
生乳検査マニュアル作成検討会議

序

生乳取引および乳代配分等に係る全ての生乳検査は、正確かつ効率的に行なわなければならない。消費者の安全・安心意識の一層の高まりや生乳流通の合理化、生乳の品質改善等の面から検査体制整備と検査精度の向上による生乳検査の公正かつ信頼の確保が不可欠である。

わが国における生乳検査の精度管理の取り組みは、(社)全国乳質改善協会により昭和55年に指定生乳生産者団体、乳牛検定組合等が管理する乳成分測定機器を対象として関係者の協力のもとに開始された。その後、この取り組みは(社)中央酪農会議に継承され、そして平成18年度からは酪農乳業が一体となって取り組むべき課題として、(社)日本酪農乳業協会が主体となり、(財)日本乳業技術協会等の関連団体が相互に連携して取り進めることとなった。

(社)日本酪農乳業協会に酪農および乳業関係者の代表者からなる生乳検査精度管理委員会が設置され、生乳検査における専門技術者および学識経験者による各種委員会を置いて、わが国に適した新たな生乳検査精度管理システムを構築しその普及を推進することを目的として、全国統一的な生乳検査の実施と検査精度管理向上体制の構築が検討されている。

近年、ほとんどの生乳検査施設では、検査の効率化やより広範囲な検査項目の検査需要に対応して、迅速で簡便な検査機器が導入されている。これら生乳検査迅速測定機器において正しい検査測定値を得るためには、化学分析法による乳成分を測定された校正用試料の値に基づいたキャリブレーション（校正）や保守管理など、日常における適正な機器の操作、管理を行わなければならない。

また、生乳検査を行なう上で、検査試料は常に検査をする生乳を代表するものであり、検査を行なうまで変質することなく保管されなければならない。これらが適正に行なわれていないと、その後の検査がいかに精密に行なわれようと正しい測定結果を得ることはできない。

しかしながら、基準となる化学分析に基づく測定値も技術者の習熟度などに依存する度合いが高く、生乳検査の手順や迅速測定機器の管理などにおいて個々の検査施設における個別対応では、全国的な検査成績の整合性を確保することは困難である。

今般、従来の生乳検査の基準となる検査法などについて整理し、試料採取から検査機器による測定までの検査マニュアル(ガイドライン)を検討、作成したので、参考にしていただきたい。

なお、今後とも、わが国における全国統一的な生乳検査の精度管理の向上に向けて引き続き、関係者の協力のもとに、検討を継続していくこととしたい。

平成22年4月

生乳検査精度管理委員会
生乳検査マニュアル作成検討会議

編集委員（順不同・敬称略）

「検査マニュアル作成検討会議」委員

座長

新潟青陵大学短期大学部 教授	荒井 威吉
東海酪農業協同組合連合会 生乳管理部部長	酒井 忠
(財)日本乳業技術協会 技術部課長	太田 智章
(財)日本乳業技術協会 技術部課長補佐	大嶋 秀克
(社)北海道酪農検定検査協会 技術課長	小 板 英 次 郎
明治乳業株式会社 品質・安全評価センター課長	辻 本 義 憲
森永乳業株式会社 分析センター製品検査室長	長 尾 英 二
雪印乳業株式会社 分析センター課長	佐 藤 孝 義
日本ミルクコミュニティ株式会社 品質保証部	下 田 幸 三
フォス・ジャパン株式会社 営業技術部第3課係長	長谷川敦子
富士平工業株式会社 食品分析機器部部長	青 木 啓 治
マイルストーン ゼネラル株式会社技術営業担当課長代理	鈴 木 弘 久

目 次

	ページ
1. 検査試料の採取および輸送、保管	5
2. 乳脂肪分（ゲルベル法）	13
3. 乳固形分（常圧乾燥法）	20
4. 乳固形分（赤外分光多成分測定装置）	23
5. 抗生物質検査（ペーパーディスク法）	27
6. 体細胞数（直接鏡検法 ブリード氏法）	30

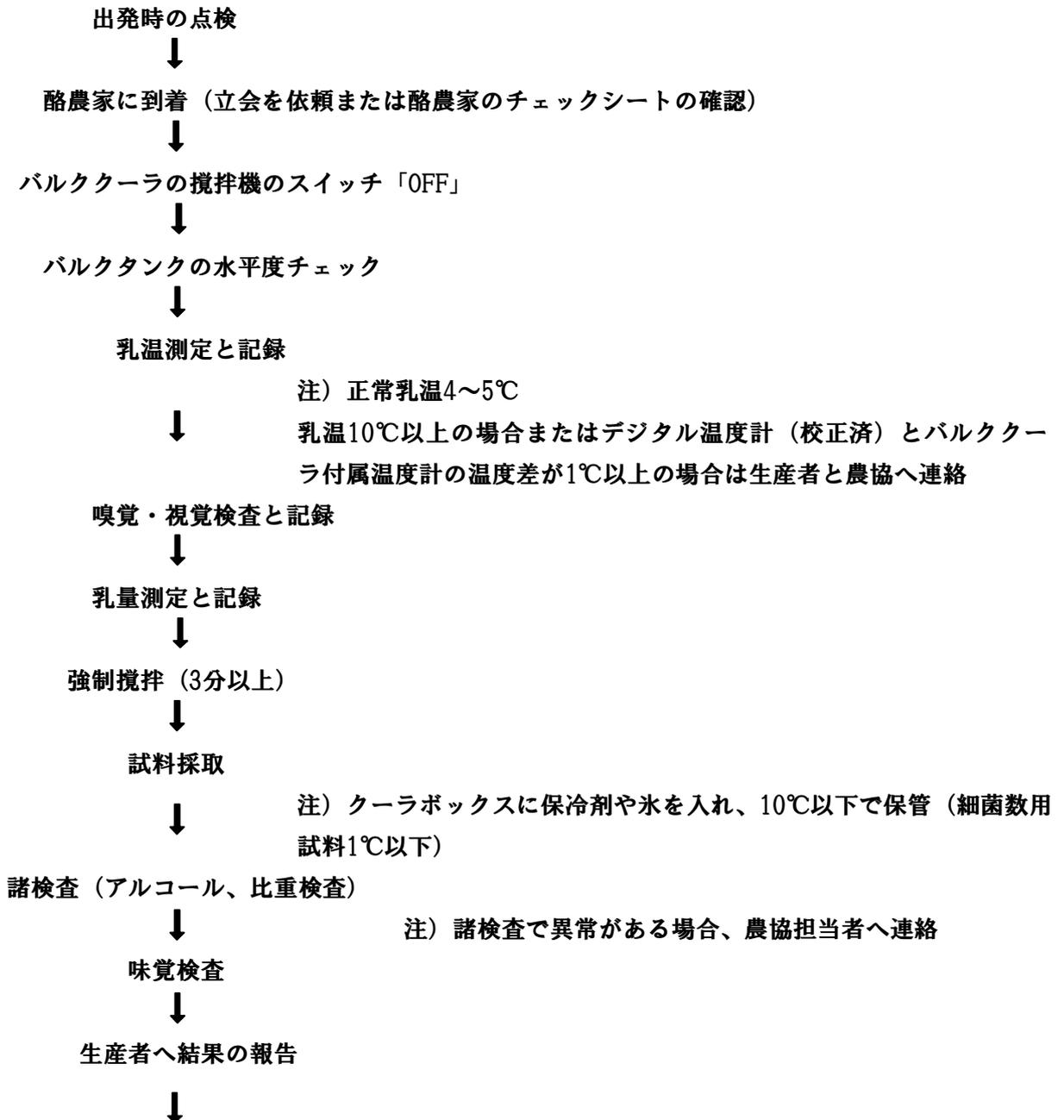
(付録) 内部精度管理の評価例

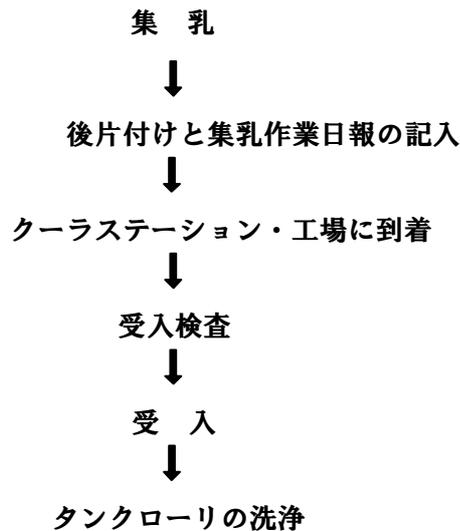
1. 検査試料の採取および輸送、保管

生乳の検査は、常に公正でかつ厳正に行なわなければならない。そのために試料は常に検査する生乳を代表するものでなければならない。また、検査を行うまで変質させないように保管する必要がある。試料の採取および保管が適正に行われていないと、その後の検査がいかにかに精密に行われようと正しい結果を得ることは出来ない。

I. 格付け作業の条件と手順

1. 検査の作業手順の概要





2. 集乳にあたっての点検

(1) タンクローリの点検

車両を点検し、必要な付属機器の衛生保持とそれらが正常に作動することを点検する。

(2) 検査用器材の点検

- 試料採取用容器（サンプル瓶）
- 試料採取管（サンプラー）
- アルコール検査用器具
- 比重検査用器具
- 成分検査用（抗生物質検査を含む。）と細菌数検査用試料の採取用器具
- クーラボックス保冷剤、温度の確認（車載冷蔵庫が望ましい。）
- 塩素系殺菌剤
- 器材洗浄用具
- チェック用具（懐中電灯、デジタル温度計など。）
- 記録紙、連絡用の筆記用具

3. 酪農家での集乳および検査

(1) 集乳前の準備

- ①タンクローリを所定の位置に停車
- ②足元を消毒して、生乳処理室に入室
- ③バルククーラの攪拌スイッチ「OFF」

(2) バルクタンクの水平度チェック（備え付けの水準器で確認）

(3) 乳温チェック

バルクタンク付属温度計と検査用デジタル温度計（校正済み）の両方で確認する。

正常乳温は4～5℃、0℃以下や10℃以上は異常

(4) 嗅覚・視覚検査

攪拌機を停止してバルクの蓋を開け、

- ①すばやく臭いを嗅いで、異常臭の有無をチェック記録
- ②色沢や組織、異物混入などをチェック記録

(5) 乳量測定と記録

流量計がタンクローリに設置されていない場合は、バルクタンク備え付けの計量尺で読みとる。(計量尺が取り外し可能なものは、バルクの所定の位置まで垂直に差入れた後、引き出し、目の高さで読み取る。バルクに固定されているものは、生乳の盛り上がりの頂点を斜め上から読みとる。)

(6) 強制攪拌

バルク乳が均一になるように、3分間以上強制攪拌する。

<参考：バルク乳の攪拌度合いによる成分率の差> (社)北海道酪農検定検査協会				
		脂肪率%	SNF率%	体細胞数万/ml
無攪拌	バルク上部	4.48	8.76	16.0
	バルク中下部	4.18	8.81	11.8
3分以上の攪拌		4.20	8.79	13.1

(7) 諸検査

- ①試料の採取は、(9)に準ずる。
- ②アルコール検査、比重検査

(8) 味覚検査

口全体に行き渡らせて、臭いと味を確認する。

(9) 検査用試料の採取

①保管用細菌数検査用試料

良く攪拌されたバルク乳の一定量を滅菌ストローで滅菌済または殺菌済サンプル瓶に直接採取する。

②成分・体細胞数検査用と抗生物質検査用の試料採取

良く攪拌されたバルク乳を試料採取管(サンプラー)で、ポリエチレン製またはステンレス製サンプルピッカーに採取する。サンプルピッカーから乳成分検査用試料と抗生物質検査用試料として専用サンプル瓶に注入する。

オートサンプラー(自動検体採取装置)は、均一な試料採取を自動的に行なう便利な装置である。利用する場合は、日常の点検と衛生面に注意が必要であり、集乳時には抽出チューブや乳量チェックをして、正しい操作をする。

(10) 集乳

全ての検査に合格し試料採取したら、集乳を開始する。

- ①サクションホースをバルクコックに取り付け。
- ②バルクコックを開く。

- ③集乳ポンプのスイッチ「ON」
- ④漏れをチェック
- ⑤集乳を完了したら、集乳ポンプのスイッチ「OFF」

(11) 後片付けと集乳業務報告書（作業日報の記帳）

- ①次の集乳のための前準備をかねて、ホースや器具を洗浄し収納する。
- ②酪農家に集乳終了を報告し乳量記録の控えを渡す。同時に集乳作業日報に作業結果を記録する。

(12) 受入検査

クーラステーション・工場に到着後、ローリからも庭先と同じように細菌数検査用と成分検査用の試料採取を行なう。

<その他の事項>

- ①集乳中の待ち時間に検査機器の洗浄、乾燥をする。（温湯または水で生乳を洗い流し、ブラシで完全に洗浄し、温湯ゆすぎをして乾燥させる。）
- ②洗浄後の残り水やサンプルビーカーの残り乳などは、所定の場所に廃棄する。
- ③乳の計量は、一般にタンクローリ備え付けの流量計（ミルクメータ）で体積を測定してkg単位に換算する。また、バルクタンク備え付けの乳量計を用いても良い。

<ミルクメータの使用にあたっての注意事項>

- ①空気や塵埃等の混入防止のために空気分離機、ストレーナー（磨耗状態等を確認）の設置を確認する。
- ②冬期間は凍結による破損防止、夏期間は細菌汚染防止のために必ず水抜きをする。
- ③回転子に傷を与えないよう取扱いを丁寧にする。

4. 受入先の受乳場の整備

(1) 受乳場は食品を衛生的に取り扱う場所として、その構造について食品衛生法の規定がある。

- ①清掃、清潔の維持および排水を完全にする。
- ②油煙、土ほこり、ネズミおよび昆虫類等の侵入防止に努める。
- ③取扱室にほこりの立ち易いもの、異臭を発生するもの、その他異物を置かない。
- ④持ち込まれた生乳は、直射日光を避ける。
- ⑤その他

(2) 器具、資材の管理

作業に必要な器具類、薬品、試料等は、検査の正確性および作業効率向上のために適正な管理をする。

- ①記帳台、検査器材、秤、試料棚等を適正に配置する。
- ②検査場所は湿気の少ない場所を定め、整理、整頓を徹底し清潔な状態を維持する。
- ③硫酸は吸湿性が強く有機物に対して激しく作用し、アルコールは揮発性が高く酸やアルカリの影響を受けやすいので施設など安全管理を徹底する。

(3) 器具の洗浄と乾燥

検査に用いた全ての器具類は、使用直後に十分な水または温湯で生乳を洗い流し、洗剤でブラシを用いて完全に洗浄した後に、温湯ゆすぎをして乾燥、保管する。

II. 生乳検査用試料の採取および保管

1. 試料の採取方法

(1) 検査用試料の採取方法

試料は、検査対象生乳全体が均一になるまで攪拌し、直ちに試料採取管（サンプラー）を用いて一定量をサンプル瓶に採取する。

※但し、タンクローリーにおける検査用試料採取においてはオートサンプラー（自動検体採取装置）による試料採取が推奨されるが、オートサンプラーが設置されていないクーラーステーション、乳業工場においてはタンクローリー上部マンホールより生乳が均一になるまで攪拌し試料採取管（サンプラー）を用いて試料を採取する。

尚、その攪拌方法（攪拌回数等）は、生乳が均一に攪拌されていることが検証確認されたものであること。

参照 【タンクローリーにおける生乳攪拌条件の検証例】

(2) 準備機器

●オートサンプラー（自動検体採取装置）

- ・ 指定のサンプル瓶
- ・ 清潔な抽出チューブの装着

●攪拌機

（手動攪拌機）

- ・ 生乳容器の深さよりも少し長めのもの。（長過ぎる又は、短か過ぎるものは攪拌がしにくくなる。）タンクローリー用のものは、タンクの容量に応じた大きさのものを使用、衛生的に管理されていること。（材質はステンレス製のものが衛生上良い。）
- ・ 細菌数検査用試料を採取する場合は、特に試料毎に攪拌機を洗浄殺菌する必要があるため数本用意しておくことと便利である。

（電動攪拌機）

- ・ 電気により攪拌翼を回転させて生乳を攪拌する。バルククーラは、タンク内の攪拌機を作動させて攪拌する。

（エア攪拌機）

- ・ コンプレッサーからの圧縮空気をパイプの小孔から噴き出させて攪拌する。

●試料採取管（サンプラー）

- ・ バルククーラー及びタンクローリー用は、衛生的なステンレス製パイプが良い。
- ・ 細菌数検査用は殺菌済のステンレスパイプ又は殺菌済ストローサンプラー等を用

いる。

●サンプル瓶

- ・細菌数検査以外の検査用サンプル瓶は、ガラス製あるいはポリエチレン製で、必ず密栓のできるもの。ガラス製は、破損の危険性があるので使用しないことが望ましい。
- ・細菌数検査用サンプル瓶は殺菌したもの。

●サンプルピーカー

- ・アルコール検査、酸度検査用の容器は、500ml容のポリエチレン製またはステンレス製のもの。

(3) 生乳の攪拌

生乳は、静置状態では脂肪球が上層に浮上集合してくる。従って、容器内の生乳を代表する正しい試料を採取するために、攪拌混和を十分に行い均一化する必要がある、生乳の容器（バルククーラ、タンクローリ）によって、適切な攪拌を行う。

① 農家での攪拌

(ア) 手動攪拌機による攪拌

- ・生乳を泡立たないように上下攪拌する。
- ・攪拌機を水平に回した場合や、攪拌回数が少ない場合は十分な混和が行われない。また、乱暴な攪拌によって攪拌機や容器内壁の損傷、微細な金属粉の落下をさせてはならない。

(イ) 電動攪拌による攪拌

- ・生乳が泡立たないように注意する。
- ・バルククーラの場合3分以上攪拌する。

(ウ) オートサンプラー（自動検体採取装置）による検体採取前の攪拌

- ・採取前に一定程度の攪拌をしておく。

② クーラーステーション・乳業工場でのローリー乳の攪拌

(ア) 当該ローリー乳全量を貯乳タンクに受乳し、貯乳タンクで攪拌し検体を採取する。

(イ) オートサンプラー（自動検体採取装置）による検体採取前の攪拌

- ・採取前に一定程度の攪拌をしておく。（手動、電動、エアーにより攪拌）

(ウ) 手動による攪拌

- ・生乳を泡立たないように上下攪拌する。
- ・攪拌機を水平に回した場合や、攪拌回数が少ない場合は十分な混和が行われない。また、乱暴な攪拌によって攪拌機やタンクローリー内壁の損傷、微細な金属粉の落下をさせてはならない。

(エ) 電動攪拌機・エアー攪拌機による攪拌

- ・いずれも生乳が泡立たないように注意する。

注）上記の手動、電動、エアーによる攪拌方法においては、生乳が均一に攪拌され

ることが検証確認されたものであること。

参照 【タンクローリーにおける生乳攪拌条件の検証例】

(4) 試料採取時における注意点

特に、次のことに注意する。

①試料採取管（サンプラー）は、管の内外に付着している水分や乳汁をよく振って取り除く。

②試料No.等を間違わないよう十分注意して取り扱う。

③試料採取管（サンプラー）による採取方法

・試料採取管（サンプラー）は「抜き差し操作」を2～3回繰り返す、生乳でサンプラーの内外を洗う。（生乳容器に垂直かつ底に達するまでさし入れ、管の上口を塞がないでそのまま管の下端が生乳の表面上にあらわれるまで持ち上げる抜き差し操作を2～3回繰り返す、採取する生乳でサンプラーの内外を洗う。）

・改めて上口を親指で塞いだままサンプラーを引き抜き、サンプラー内の検査用試料を500ml容ポリビーカーに約300ml採取し、移し替え攪拌後に30mlを衛生的な成分検査サンプル瓶に移し替える。

・保管用細菌数検査用試料は、殺菌済ステンレスパイプまたは殺菌済ストローサンプラー等から直接、殺菌済み30ml細菌検査サンプル瓶に採取する。細菌数検査用の試料採取は、検体ごとに殺菌したサンプラーを用いる。

④ガラス瓶は使用しない。

2. 試料の保管

生乳検査用試料は、直ちに検査に供する場合以外は冷蔵庫に保管し、検査が行われるまで変質、変敗、或いは事故による損失のないように保管する。特に、一定コースの集送乳が終了するまでタンクローリーに設置されている冷蔵庫あるいはアイスボックス内に保管するが、次のことについて特に注意する。

(1) 採取した試料は、細菌数検査用は4℃以下、成分検査用は10℃以下の保冷库に直ちに収納し保冷库は集送乳中直射日光が当たらないようにして振動の少ない場所に置く。

(2) サンプル瓶は、集送乳中タンクローリーの振動による転倒、破損、あるいはサンプル瓶の出し入れ等による事故の防止を図り、生乳集乳後は速やかに検査施設に届ける。

以上

タンクローリーにおける生乳攪拌条件の検証例

＜手攪拌の場合＞

検証項目 Fat率

攪拌回数	タンクローリー5トン車 Fat率	タンクローリー10トン車 Fat率	タンクローリー15トン車 Fat率
15回	3.6	4.0	4.0
30回	3.5	3.7	3.9
40回	3.5	3.5	3.6
50回	3.5	3.5	3.5

※ 生乳が均一になる条件は

5トン車	30回以上の攪拌
10トン車	40回以上の攪拌
15トン車	50回以上の攪拌

＜エア攪拌の場合＞

検証項目

①空気圧〇〇kg/cmの場合

攪拌時間	タンクローリー5トン車 Fat率	タンクローリー10トン車 Fat率	タンクローリー15トン車 Fat率
15秒	3.6	4.0	3.8
20秒	3.6	3.7	3.7
30秒	3.5	3.6	3.7
40秒	3.5	3.6	3.6
50秒	3.5	3.5	3.6
60秒	3.5	3.5	3.5
70秒	3.5	3.5	3.5

※ 生乳が均一になる条件は

空気圧〇〇kg/cmの場合

5トン車	30秒以上の攪拌
10トン車	50秒以上の攪拌
15トン車	60秒以上の攪拌

②空気圧××kg/cmの場合

攪拌時間	タンクローリー5トン車 Fat率	タンクローリー10トン車 Fat率	タンクローリー15トン車 Fat率
15秒	3.8	3.7	4.0
20秒	3.7	3.7	4.0
30秒	3.7	3.6	3.8
40秒	3.6	3.6	3.7
50秒	3.5	3.6	3.7
60秒	3.5	3.5	3.6
70秒	3.5	3.5	3.5

※ 生乳が均一になる条件は

空気圧××kg/cmの場合

5トン車	50秒以上の攪拌
10トン車	60秒以上の攪拌
15トン車	70秒以上の攪拌

2. 乳脂肪分

(ゲルベル法 Milk Fat Content (Gerber Method))

1. 適用範囲

生乳に適用する。

2. 出典

乳および乳製品の成分規格等に関する省令

(社)全国乳質改善協会による乳成分標準分析法【平成 6 年 3 月】

ISO 19662 | IDF 238 (2018)

3. 試験法の概要

生乳に濃硫酸を加えて脂肪以外の成分を溶解し、エマルジョンを破壊した後、硫酸液中に浮遊する脂肪の小滴を遠心分離し脂肪量を求める。

4. 試薬

- 硫酸：15℃において比重 1.820～1.825（硫酸濃度 90%～91%）のもの。
- 3-メチル-1-ブタノール：試薬特級のもの。

5. 機器器具

- ゲルベル乳脂計およびゴム栓：全乳用のもの。
- ピペット：牛乳用 11mL、硫酸用 10mL、3-メチル-1-ブタノール用 1mL 全量ピペット、自動分注器等
- ウォーターバス：60℃～65℃に調節できるもので、乳脂計のゴム栓を下にして垂直に入れた時に、脂肪柱が完全に浸るだけの深さがあるもの。
- ゲルベル用遠心分離器：350 g ± 50 g の重力加速度で運転可能であり、回転計と覆いの付いたもの。

6. 試料の取り扱い

- 検査に使用する試料を 40℃ ± 2℃ に加温し、全体が均一な状態になるよう丁寧にそっと攪拌する。
- 全体が均一になったら、直ちに試料の温度を 15℃～20℃(*)に調整する。
* ISO (IDF) では約 20℃ と規定している。
- 試料表面に液状脂肪の分離が見られたり、容器内壁に白色粒が生じる場合には正確な結果は期待できない。

7. 試験法

- (1) ゲルベル乳脂計に硫酸を 10mL 注入する。
- (2) 15 °C~20 °Cの試料 11mL を牛乳用ピペットで採取し、器壁に沿って静かに注加する。
- (3) 3-メチル-1-ブタノール 1mL を加え、ゴム栓をする。
- (4) 安全な方法で乳脂計を充分振とうし、カードを完全に溶解させる。
- (5) ゴム栓を下にして、60 °C~65 °Cのウォーターバスに 15 分間浸漬する。
- (6) ゲルベル用遠心分離器で 350 g ± 50 g、5 分間遠心分離する。【注】
- (7) 再び 60 °C~65°Cのウォーターバスに入れて 5 分間保持する (*)。
* ISO (IDF) では 65 °C±2 °Cで 10 分間と規定している。
- (8) 脂肪柱 (最下底からメニスカスの下縁まで) を素早く読みとる。

【注】遠心分離器の条件と重力加速度の確認方法

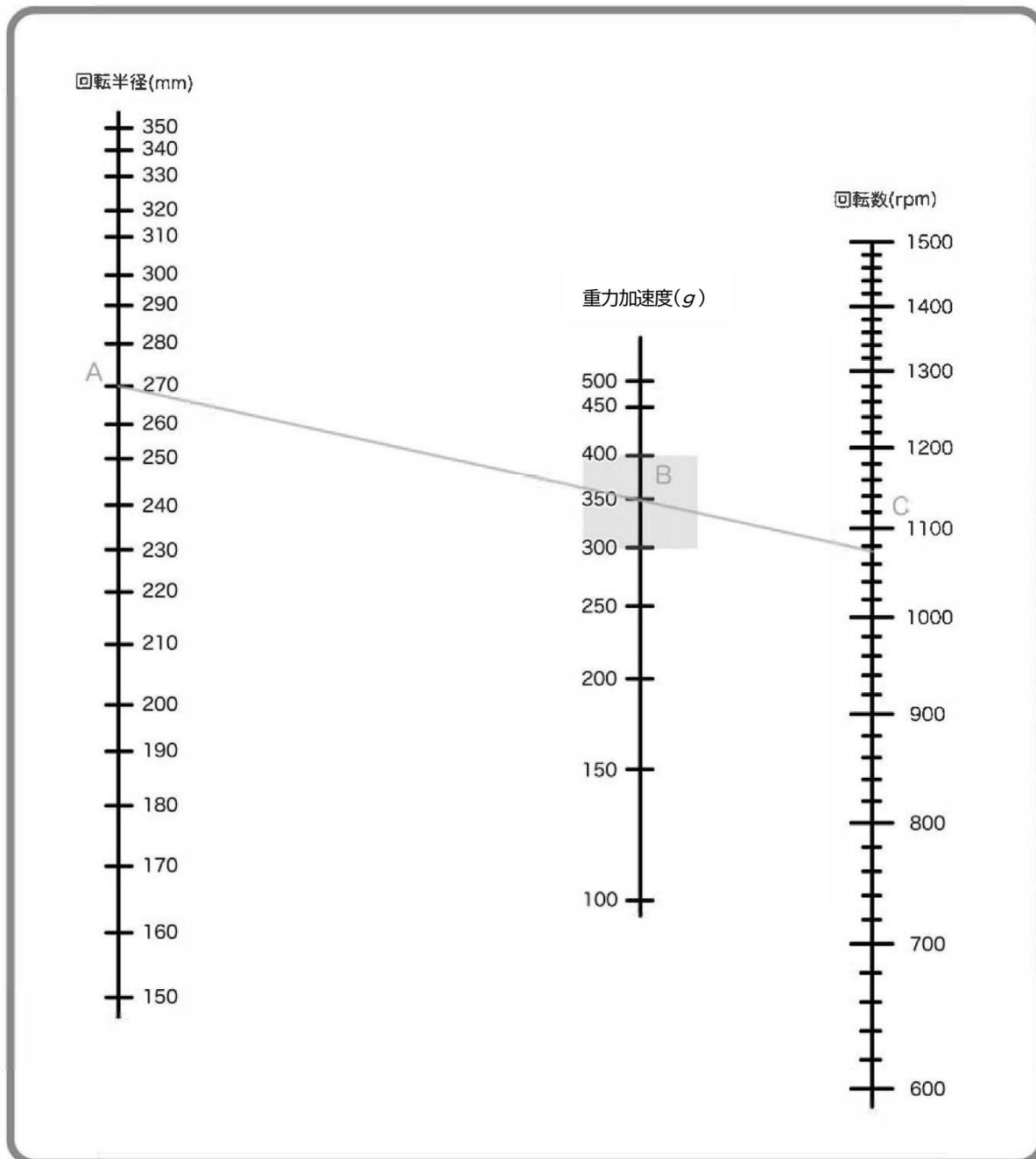
① 重力加速度の算出式

$$1.12 \times 10^{-6} RN^2 \quad R: \text{回転半径(mm)} \quad N: \text{回転数(rpm)}$$

R: 回転半径(mm) は回転軸中心から乳脂計が水平となった時の乳脂計の栓までの水平距離

② 重力加速度の換算表 回転半径と回転数からの換算

【重力加速度の換算表】



〈 回転半径 (mm) と回転数 (rpm) から重力加速度を求める場合 〉

遠心分離器の回転半径 (mm) A と回転数 (rpm) C を直線で結んだときの交点 B が求める重力加速度 (g) となる。

〈 重力加速度を $350\text{ g} \pm 50\text{ g}$ とするための回転数を求める場合 〉

遠心分離器の回転半径(mm)と重力加速度 $350\text{ g} \pm 50\text{ g}$:  範囲内を直線で結んで延長し、
回転数(rpm)の軸と交差する所の数値を読み取る。その数値が必要な回転数となる。
または、下表を参考に回転数を求める。

回転半径(mm)	回転数(rpm)
240	1,140
245	1,130
250	1,120
255	1,110
260	1,100
265	1,090
270	1,080
275	1,070
300	1,020
325	980
350	950
400	890
450	840
500	790
550	760
600	730
650	700

乳脂肪分(ゲルベル法)標準作業記録簿 (例)

年 月 日

遠心分離： r pm (重力加速度： g) 回転時間： 分間

試料No	ウォータース 温度 °C	読み値(a) %	読み値(b)%	平均値 %

検査員

8. 作業上の注意事項

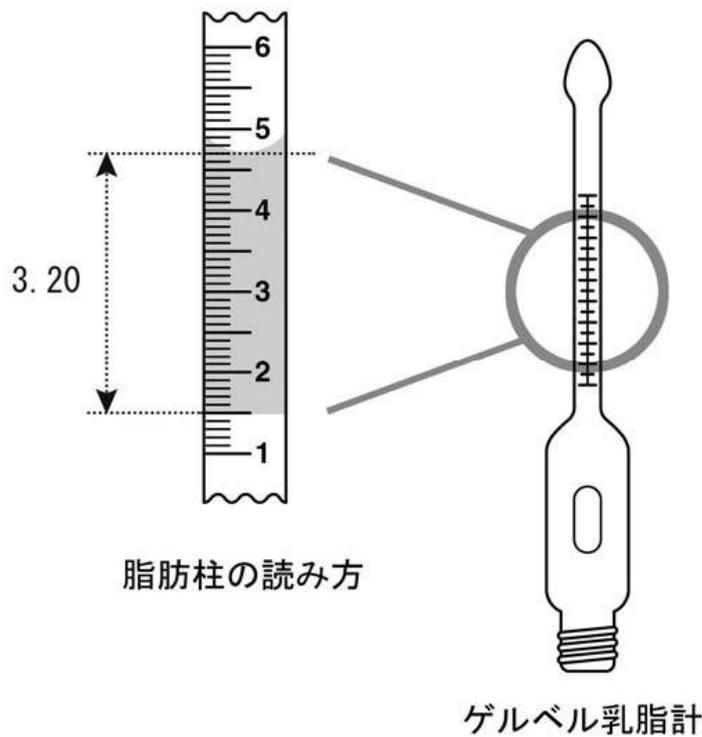
(1) 脂肪柱の読み

脂肪柱は下部境界線から上部メニスカス最下部までを目の高さで読み取る。

下部境界線が目盛りと目盛りの間にある場合、ゴム栓を調節して最も近く目盛りに合わせ、そのままの状態です部メニスカス底部を素早く読み取る。

この時

- ・ 上部メニスカスは正常な形であること
- ・ 下部境界線はほぼ水平であること
- ・ 脂肪柱に固まりや浮遊物、曇りがないこと
- ・ 脂肪柱の色は黄金色ないしは琥珀色透明であることを確認する。
- ・ 脂肪柱の読み取りをウォーターバス外で行う場合には、温度が低下する前に素早く読み取る。
- ・ 脂肪柱の読み方（読む桁数を含む）の図解



※脂肪柱の読みは小数点以下2桁まで読む（例 3.75% 3.80%）

(2) 試料採取

試料は採取前に全体を十分に混合する。試料の混合は別容器に静かに空け替えを繰り返して行う。過剰な混合や乱暴な取り扱いにはチャージングなどを起こす原因になるので避ける。また、このとき気泡が発生しないよう、静かにゆっくりと空け替える。

全量ピペットは標線にメニスカスの最下部を合わせる。この時必ず目の高さで合わせる。試料は乳脂計の内壁に沿って静かに加え、硫酸の上に重ねる。

(3) 試薬・器具

硫酸や3-メチル-1-ブタノールは安全球付全量ピペットや分注器を使用する。

ゴム栓は乾いたものをしっかりとねじ込む。この時乳脂計が割れる恐れがあるので十分注意する。乳脂計を厚手の布で巻いて持つようにすると安全である。

(4) 振とう

全体を振とうしてカードを完全に溶かす。振とう中に万一割れたりゴム栓が抜けたりしても危険がないよう、攪拌箱を使用すると安全である。

数回倒置を繰り返しながら、試料と硫酸をまんべんなく混合する[※]。

カードが完全に溶解し、色ムラがなく、全体が濃い紫褐色になれば終了。

※試料と硫酸を混合する時は次の点に注意して操作する。

- ① ゴム栓をした後、乳脂計を横にして（目盛り部分の硫酸を混合しないで）太い部分を軽く上下に振り、カードを均一にする。
- ② 目盛り部分を上にして硫酸を流下させた後、太い部分を上にして目盛り部分を褐色の混合液で満たす。
- ③ 最初と同様に乳脂計を横にして、太い部分を軽く上下に振る。
- ④ 再度同じ操作を繰り返す。

特に試薬や器具の温度が高い夏期などは、上記のような混合方法により発熱を制御することにより着色具合（焼け具合）が年間を通じて一定となるようにする。

(5) 遠心分離

遠心分離中に割れたりゴム栓が抜けたりした場合の安全確保のため、必ず扉や覆いのついたものを使用する。

以上

3. 全乳固形分

(常圧乾燥法 Milk Solids Content)

1. 適用範囲

生乳に適用する。

2. 出典

乳及び乳製品の成分規格等に関する省令

(社)全国乳質改善協会による乳成分標準分析法【平成 6 年 3 月】

3. 試験法の概要

生乳を常圧下において $99\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ で恒量となるまで一定時間乾燥した時、その乾燥物質量を全乳固形分とする。そして全乳固形分からゲルベル法により求めた乳脂肪分を差し引き、無脂乳固形分とする。

4. 機械器具

- アルミニウム製蓋つき平底秤量皿 : 底径 5 cm 以上のもの。
- ピペット : 試料採取用で、5 mL メスピペットまたは駒込ピペット等
- ウォーターバス : 秤量皿の底径に適合したリングを備え、加熱沸騰できるもの。
- 乾燥器 : $99\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ に調節できる循環式精密電気乾燥器
- デシケーター : 吸湿剤入りのもの。
- 天秤 : 感度 0.1 mg 以上のもので定期的に精度を確認されているもの。

5. 試料の取り扱い

- 検査に使用する試料を $20\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ *にし、全体が均一な状態になるよう丁寧にそっと攪拌する。
* IDF のゲルベル法の場合は $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ となっている。
- クリームを分散させることが困難な場合には、 $35\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ の水浴中でゆっくりと暖め、静かに混合する。この際、容器の内壁にクリームが残らないよう注意する。
- 試料に脂肪の分離が見られたり、容器内壁に白色粒が生じる場合には正確な結果は期待できない。

6. 試験法

- (1) 秤量皿、蓋を $99 \pm 1^\circ\text{C}$ の乾燥器内で 1 時間以上乾燥させ恒量とみなす。
- (2) デシケーター内で概ね 30 分間冷却後、重量を 0.1mg の単位で精秤する。 W1
注) 秤量皿が室温まで冷却されていること。
- (3) 蓋をずらして少し開け、秤量皿に試料約 3g を 0.1mg の単位で精秤する。 W2
注) 試料は採取前に全体を十分に混合しておく。混合は別容器に静かに空け換えを繰り返して行う。過剰な混合や乱暴な取り扱いはチャージングなどを起こすので注意する
- (4) 蓋をはずして沸騰水浴上に水平にのせ、ほとんどの水分を蒸発、乾固させる。
注) 試料表面にできた薄い膜に数本のヒビが入った後やや大きく割れて内部の水分が一気に蒸散した時点を乾燥終点とする。
- (5) 蓋をはずして $99 \pm 1^\circ\text{C}$ の乾燥器内で 3 時間乾燥させ恒量とみなす。
- (6) 蓋をしてデシケーター内で概ね 30 分間 ((2) と同じ時間) 冷却後、重量を 0.1mg の単位で精秤する。
W3

7. 計算式

$$\text{全乳固形分 \%} = \frac{W3 - W1}{W2 - W1} \times 100$$

以上

乳固形分標準作業記錄簿 (例)

年 月 日

天 秤 : 乾燥時間 : 開始 時 分 ~ 終了 時 分
 乾 燥 器 : 乾燥温度 : °C

試料No	秤量蓋No	秤量皿No	W 1	W 2	試料重量 g	W 3	乳固形分%	平均值%	SNF %

檢 查 員

4. 無脂乳固形分

(赤外分光多成分測定装置)

【赤外分光多成分測定装置の校正方法】

1. 適用機器：

赤外分光多成分測定装置

2. 校正方法：

①直接法

標準法で乳脂肪分・無脂乳固形分（全乳固形分）を測定した試料を用いて、赤外分光多成分測定装置の乳脂肪分・無脂乳固形分（全乳固形分）を直接校正する。

② a 値法

標準法で水分（全乳固形分：100－水分）・乳脂肪分・タンパク質を測定し、 a 値（1.00）及び乳糖補正值を計算した試料を用いて、赤外分光多成分測定装置の乳脂肪分・無脂乳固形分（タンパク質＋乳糖＋ a 値）を校正する。（乳脂肪分は直接法と同様）

乳糖補正值とは

標準法によって a 値を計算すると a 値 \neq 1.00である可能性が高く、また試料により異なる変動値であるため、無脂乳固形分の算出に $a = 1.00$ を使用するとその差分が測定値に影響を及ぼすことになる。この対策として、校正の際に $a = 1.00$ と標準法からの計算値の差を乳糖値に補正を行うことにより、標準法と赤外分光多成分測定装置の無脂乳固形分の測定差を少なくすることができる。注意点として、乳糖補正值を使用すると無脂乳固形分の値は検量線の範囲（校正用試料の成分範囲）においては標準法と同等性が確保されるが、乳糖の値は標準法のレイン・エイノン法から乖離することになる。また、複数の校正用試料の乳糖補正值を個別に設定した場合、検量線の傾きが大きく変化し、検量線から乖離した試料の測定値に影響を及ぼす可能生があることから、取扱いには十分な注意が必要である。

具体例)

標準法の測定値

a 値	0.96%
乳脂肪分	3.83%
タンパク質	3.23%
乳糖	4.52%
全乳固形分	12.54%

α 値 = 全乳固形分 (12.54) - 乳脂肪分 (3.83) - タンパク質 (3.23) - 乳糖 (4.52) = 0.96

α 値の誤差 = 1.00 - 0.96 = 0.04

乳糖補正值 = 4.52 - 0.04 = 4.48

[乳糖補正值 = 全乳固形分 (12.54) - 乳脂肪分 (3.83) - タンパク質 (3.23) - α 値 (1.00)]

校正に使用する数値

α 値	1.00%
乳脂肪分	3.83%
タンパク質	3.23%
乳糖(補正值)	4.48%
全乳固形分	12.54%

※標準法の無脂乳固形分 = 全乳固形分 - 乳脂肪分 = 8.71%

標準法の無脂乳固形分 (8.71) = タンパク質 (3.23) + 乳糖補正值 (4.48) + α 値 (1.00) となり、無脂乳固形分の標準法との同等性が確保される。

③全乳固形分から乳脂肪分を差し引く方法

標準法で乳脂肪分・全乳固形分を測定した試料を用いて、赤外分光多成分測定装置の乳脂肪分・全乳固形分を直接校正する。

※校正の注意点：

赤外分光多成分測定装置の校正方法は①②③ともに各検査施設の責任で、標準法との同等性を確保することとする。

【生乳によるパイロットサンプルの調製例】

1. 原料生乳

- ①個体乳や乳量の少ないバルク乳は避け、5t 程度以上の路線乳から必要量の生乳を確保する。
- ②保存性を考え、なるべく細菌数の少ない生乳を選ぶことが望ましい。
- ③調製場所まで輸送する必要がある場合には、蓋付容器に口一杯まで*入れて必ず冷蔵状態で送付すること。

※ チャーニングにより脂肪分が固まるのを防ぐため

2. 準備するもの

- ①30～100ml容程度の蓋付容器。(1 日必要数×日数分) + 基準値設定分 + 調製時モニター用*¹

+予備分^{※2}

※¹ 調製時の均一状態を確認するためのモニター用として、分注開始時、中間、終了時に採取する。試料の作製本数が多い場合には 20 本毎程度に採取する。

※² 予備分は機器のトラブル発生等の場合を考慮して、十分に確保する。

②全体量を混合することができる容器(ポリ容器、集乳缶など)…あらかじめ風袋重量を確認しておくとう便利である。

③攪拌棒または攪拌装置。

④サンプル分注用の柄杓またはそれに類するもの。

⑤保存料として 2-Bromo-2-nitro-1,3-propanediol(プロノポール)。

3. 調製方法

①原料生乳に固まりや色・臭い等の異常がないことを確認する。ゴミは取り除く。

②全体量を一カ所に混ぜ合わせ、攪拌棒等を使用して泡立てないように攪拌する^{*}。特に脂肪の固まりは完全になくすこと。この際加温することは絶対に避け、固まりが残る場合には新たな生乳で再調整するようにする。ただし、ごく少量であれば濾過して取り除いてもかまわない。過剰な攪拌はチャーニングの原因となり、また試料の保存性を著しく悪化させるため避けること。

※ 生乳の脂肪分は時間の経過に伴い上部に集まるため、必ず上下攪拌を行うこと。

③試料の重量を測定し、プロノポールを 0.02%添加後、全体を十分に混合する。プロノポールは難溶性のため、全量を直接添加することはせず、少量の試料で溶かしながら少しずつ加えるようにすると良い。

④最初にモニター用として 1 本分を取り分け、続いて 30~10ml程度の蓋付容器に必要な本数を分注する。試料の均一性を確保するため、分注は常時もしくは定期的に全体を混合しながら行い、分注の中間時(もしくは 20 本毎程度)および終了時にモニター用試料を取り分ける。試料を他の検査施設に送付する場合には容器の口一杯まで^{*}入れるようにする。

※ チャーニングにより脂肪分が固まるのを防ぐため

⑤容器の蓋をしっかりと閉め、必要があればビニールテープを巻いておく。調製日時を記したラベルを貼付し、冷蔵で保存する。

4. 均一状態の確認

①モニター用として取り分けた試料を測定し、乳脂肪・タンパク質・乳糖・全乳固形分・無脂乳固形分については 3 回以上測定の前平均値が $\pm 0.02\%$ 以内であること、体細胞については $\pm 25,000/\text{ml}$ であることを確認する。

②上記範囲から外れている場合には、作製した試料は全て破棄し、新たに調製し直すこと。この際、決して再度混合し分注をやり直してはならない。

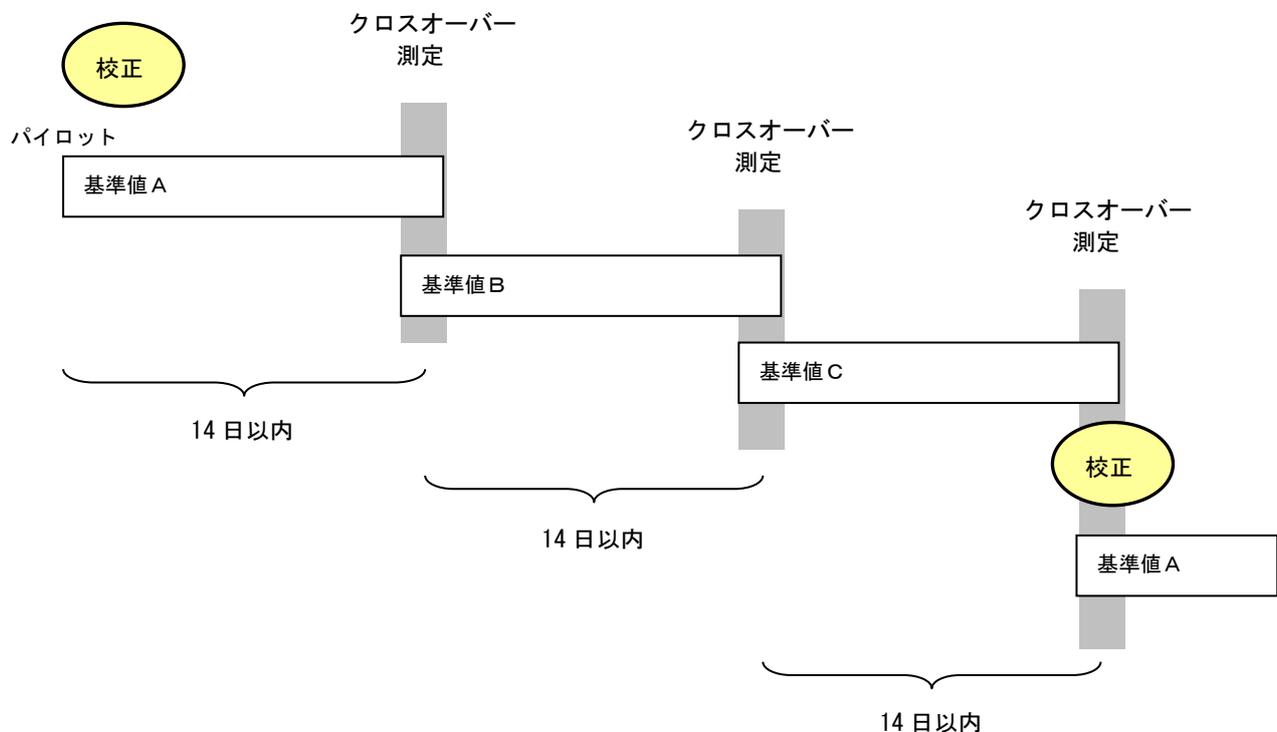
5. 基準値の設定

作製した生乳パイロットサンプルは冷蔵保存で 14 日以内(使用期限を設定する)に使用するこ

と。このため、基準値の設定は以下の方法により行う。

- ①機器の校正終了後に生乳パイロットサンプルを測定し、この時の測定値を基準値Aとする。
 - ②使用期限内に次の生乳パイロットサンプルを新たに調製する。
 - ③旧生乳パイロットサンプルが基準値Aの誤差許容範囲内(精度管理マニュアル規定)であることを確認する。
 - ④新生乳パイロットサンプルを測定し、この測定値を基準値Bとする。※
- ※ ③、④の行程は必ず連続して行うこと(クロスオーバー測定)
- ⑤使用期限内に次の生乳パイロットサンプルを新たに調製し、クロスオーバー測定により新規基準値(基準値C)を設定する。
 - ⑥クロスオーバーによるパイロットサンプルの調製は、校正直後の A~C の3回までとし、4回目以降の調製は誤差範囲が大きくなるため行わない。
 - ⑦新規基準値の設定が問題なく終了したら旧生乳パイロットサンプルはすぐに廃棄し、取り違いを生じないようにすること。
 - ⑧基準値Aの設定が以後の生乳パイロットサンプル基準値の基礎となるため、機器の校正が終了後すぐに測定することが望ましい。

【3週間後に校正を行う場合の生乳パイロットサンプル取り扱い例】



5. 抗生物質検査 (ペーパーディスク法)

Merck 株を用いたベンジルペニシリン検査におけるペーパーディスク法

【材料、試薬】

使用菌株：Merck *Geobacillus stearothermophilus* sporesuspension for the KUNDRAT

製品番号 111499

使用培地：菌株増菌用液体培地 Difco Antibiotic Medium 3 (Penassay Broth)

平板用寒天培地 Difco Antibiotic Medium 2 (Penassay Base Agar)

ベンジルペニシリン標準品：1650u/mg 以上の力価を有するもの

例)SIGMA Penicillin G sodium salt 製品番号 P3032

脱脂粉乳:Difco スキムミルク

【方法】

- (1) 芽胞懸濁液を室温に戻して良く攪拌した後、その 0.05ml を 10ml の滅菌済み菌株増菌用液体培地 (50ml 容三角フラスコ) Difco Antibiotic Medium 3 (Penassay Broth) に接種、 $55 \pm 1^\circ\text{C}$ 、16 時間 \pm 30 分培養する。
- (2) 菌株の発育した増菌用液体培地 10ml を平板用寒天培地 Difco Antibiotic Medium 2 (Penassay Base Agar) 50ml と混合し、その混合液 6ml をシャーレに分注する。(培地の厚みが 0.8~1.0mm)
- (3) 培地が凝固後 $34 \pm 1^\circ\text{C}$ のインキュベーター内で倒置し、15 分間乾燥する。
- (4) 別容器にペーパーディスク(直径 8mm、厚み 1.5mm) を置き、マイクロピペットにて試料およびペニシリンコントロール(0.004ppm) 65 μ l をディスクに含ませ、ピンセットで平板上に載せて軽く圧着し、 $55 \pm 1^\circ\text{C}$ 、3~5 時間培養する。
- (5) 培養後、コントロールおよび試料の阻止円形成を確認する。

Merck 株を用いたペーパーディスク法
フローシート

芽胞懸濁液を室温に戻し良く攪拌

↓

0.05mlを10mlの菌株増菌用液体培地 (50ml容三角フラスコ) Difco Antibiotic Medium 3 (Penassay Broth) に接種^{*1}

↓

55±1℃、16時間±30分培養

↓

増菌液10mlを平板用寒天培地 Difco Antibiotic Medium 2 (Penassay Base Agar)50mlと混合

↓

混合した培地6mlをシャーレに分注^{*2} (厚み0.8~1.0mm)

↓

培地が凝固後^{*3}、表面を乾燥させる (34±1℃、15分)

↓

別容器内に置いたペーパーディスク (直径8mm、厚み1.5mm) に試料および0.004ppmのベンジルペニシリンコントロール^{*4}をマイクロピペットで65μl含ませ、ピンセットで平板上に軽く圧着

↓

55±1℃、3~5時間培養後阻止円の形成を確認、試料とコントロールの阻止円径を観察

↓

残りの平板については冷蔵保存^{*5}して使用

本プロトコル運用時における留意点

- *1 残りの懸濁液についてはマイクロピペット等の滅菌器具を用いて蓋付きの滅菌容器に移し替え、密封して5±1℃で保存する。冷蔵で4週間は保存可能。
- *2 シャーレ内に注ぐ培地の液量によって培地の厚みが変わり、試験結果に大きく影響を及ぼすため、培地をシャーレに分注する際はできるだけ正確に、一定量分注すること (マイクロピペット等を用いて分注することが望ましい)。
使用したシャーレの寸法は 88mm×14mm(外径)。
- *3 シャーレ内の培地の厚みが不均一であるとディスクを置いた場所によって阻止円形成能が異なるため、厚みを一定にさせる必要がある。シャーレを固化させる場合は必ず水平の取れた作業台の上で行うこと。

*4 標準品 100mg を 100ml の滅菌蒸留水または滅菌精製水に溶解して 1000ppm とする。1000ppm 溶液 10ml を滅菌水で 100ml にメスアップし、100ppm 溶液とする。100ppm 溶液 1ml を滅菌水で 100ml にメスアップし、1ppm 溶液とする。1ppm 溶液 0.4ml を滅菌済み(121℃、15分)10%還元脱脂乳で 100ml にメスアップし、0.004ppm とする。以降標準液を再使用する場合は 1000ppm 溶液を必要分小分けして凍結保存する。使用時、1000ppm 溶液を解凍し同様の希釈を行ってコントロールを作成する(1000ppm 溶液の再凍結は行わない)。

*5 冷蔵により 10 日間保存可能。ただし保存 7 日以降の平板を使用する場合は阻止円形成までの時間が緩慢になるため早期の判定が不明瞭になることがあるので、必ず同一平板でコントロールの阻止円が形成されていることを確認して判定すること。

注) 上記以外の培地および脱脂粉乳を使用する場合は、各事業所にて同等性を確認した後使用すること。

注) 生乳を当該検査法で測定する場合、牛体由来の免疫物質(グロブリン、ラクトフェリン、リゾチウム等)が反応することも考えられるので、80℃5 分間加熱などの方法で再確認する。

<ペーパーディスク法において阻止円が正円とならない要因について>

ペーパーディスク法の観察時にしばしば阻止円が正円とならず、楕円形を形成することが見受けられる。阻止円が正円にならず、楕円や一部に透明帯が観察される場合は体細胞数などの影響も推測されるので、「抗菌物質による陽性」としての判定はできない。正確な判定を行う場合は再検査しなければならない。試験操作においては次の点に留意してください。

- ・ペーパーディスクに含ませる試料量の過多
- ・試験器具類が抗菌性物質で汚染されている(特にピンセットが直前の試料で汚染されている場合等)
- ・ペーパーディスクの成形不良(厚みのばらつき、繊維のケバ等)
- ・培地の厚みが不均一であることによる菌株の発育性の差(薄い部分は阻止円が形成されやすい)

6. 体細胞数

(直接鏡検法：ブリード氏法 Somstic Cell Count)

1. 検査項目：体細胞数検査

2. 適用：生乳

3. 検査法：直接個体鏡検法（ブリード氏法）

4. 検査法の原理

一定の試料をスライドガラスの上の一定面積に塗抹し、乾燥、染色、鏡検して、体細胞数を数えた結果と顕微鏡視野の面積との関係（注1：顕微鏡係数、注2：作業係数）によって、試料中に存在する体細胞数を推定する。

5. 準備（使用装置、器具、試薬）

(1) 機器・器具 ●マイクロピペッター（10 μ l=0.01ml）および滅菌ピペットチップ

●誘導板

●スライドガラス（脱脂済みのもの）

●アルコールランプ

●塗抹針

●ピンセット

●水洗用ビーカー

●カウンター

●水平水準器

●戴物測微計（対物マイクロメーター）

(2) 装置

●標本乾燥器

●光学顕微鏡、対物レンズ100倍（油浸）、接眼レンズ10倍（広角）

顕微鏡係数算出済み

(3) 試薬

●ニューマン氏染色液（※体細胞数検査の参考として Lev.-Web.法の（米国公衆衛生協会の標準法）の試薬調製法を注3に記載）

●イマージョンオイル（油浸レンズ用オイル）……オイルの光（波長589.3nm）に対する屈折率は1.516

6. 実施

(1) 塗抹

十分に均一（試料が容器に8～9分目の状態の場合、1秒間に1回程度の上下転倒を20回以上行う。）にした試料10 μ lを誘導板上のスライドガラスに滴下した後、火炎で焼いて冷やした清潔な塗抹針を用いて1cm²の面積に一様に塗抹し標本乾燥器に水平に載せて乾燥する。

尚、この標準法は生乳の細菌数検査と併用するため一般的には試料温度は4℃以下のものを用いる。体細胞数を単独に検査する場合の試料温度は15～20℃が望ましい。

(2) 染色

乾燥後、標本をニューマン氏液染色液で瞬間染色し、余液を落として再び乾燥する。

(3) 水洗い

可能であれば 40℃以上のお湯で静かにしかも十分に洗い、再び乾燥する。

(4) 鏡 検

標本にイマージョンオイルを滴下し、標本面の中心を通る水平線を作業係数 1 万になるように等間隔に鏡検する。

なお、細胞は有核のものだけを数え、視野上に 50%以上はかかっているもの、大きさは、4μm 以上のもの、好中球等多核のものは細胞膜を注意深く確認し細胞の個数を数えること。

(5) 体細胞数の算出

等間隔に鏡検した視野の体細胞数を合計し、視野数で除して 1 視野の平均体細胞数を求める。これに顕微鏡係数を乗ずれば検体 1 ml 中の体細胞数が得られる。但し、作業係数（注 2）が 1 万の場合は、（カウント合計）万/ml となる。

なお、最終報告値は上位 2 桁を有効数字として略算したものを報告する。

<注意事項>

注 1：顕微鏡係数 (M. F.)

顕微鏡係数とは生乳の塗抹面積と顕微鏡視野の面積との比で、1 視野に存在する平均体細胞数に乘ずる乗数であり、次式によって算出する。

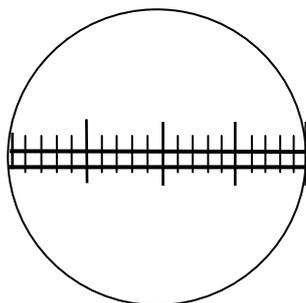
$$M. F. \dots \text{顕微鏡係数} = x y / \pi r^2$$

x \dots \text{標本の塗抹面積 (通常 } 100\text{mm}^2\text{)}

y \dots 100 (採取量が 0.01ml のため 1ml 中に換算するための乗数)

r \dots \text{視野の半径 (単位: mm) } \dots \text{戴物測微計で計測}

顕微鏡係数の算出例



戴物測微計 1 目盛 : 0.01mm

直径計測 : $20.4 \times 0.01 = 0.204$ 半径 (r) = 0.102

顕微鏡係数 (M.F.) : $10000 / 3.14 / 0.102 / 0.102 \approx 31$ 万

注 2：作業係数 (W. F.)

検査所で定めた作業標準で最低限の精度を確保するための計測視野数と上記顕微鏡係数との関係で、W. F. = 顕微鏡係数 / 計測視野数となり、一般的には小さいほど信頼性が高い。

※作業係数算出例：顕微鏡係数が 30 万の場合

1 視野の平均細菌数	0～3	4～6	7～12	13～25	26～50
鏡検する視野数	64	32	16	8	4
作業係数	4688	9375	18750	37500	75000

ブリード法の検査精度確保で一番重要なことは、鏡検する視野数である。生乳中の細菌は分散しているが、菌塊を形成し、局在していたり、脂肪層に移行しやすいなどの性質がある。また作成した標本では、中央部の細菌数が多くなる傾向が認められるので、鏡検する視野のとり方も重要になる。細菌数を個体法で検査する場合は、表中の「鏡検する視野数」に示された数値の2倍の視野数を鏡検することになっている。すなわち、1視野の平均細菌数が非常に少なく、0～3個の場合は、64の2倍の128視野(64x2=128)を鏡検する必要がある。また細菌数を菌塊法で検査する場合は、作業係数(W. F.)を用いて検査する。すなわち、細菌数が3万～10万/mlの時は、顕微鏡係数には関係なくW. F. = 1万を用いて鏡検する(顕微鏡係数が30万、40万、50万の時、それぞれ順に30視野、40視野、50視野)。

体細胞数は、細菌の菌塊よりも大きく、ローリ乳の体細胞数は10万/mlから50万/mlの範囲のものが多いので、作業係数(W. F.)を用いて鏡検し、検査精度を確保することができる。この標準法では、作業係数(W. F.)を1万とし、計測する体細胞の形状などの条件を統一すれば、鏡検法による精度が確保され、蛍光光学式体細胞数測定機の検査値と整合性のとれると考えられる。

注3：参考染色液の調製・・・Lev.-Web.法に準拠

メチレンブルー 0.6g
 ↓
 95%エタノール 52ml
 テトラクロールエタン 44ml
 ↓
 攪拌する。(スターラー使用)
 ↓
 静置する。
 ↓
 酢酸添加 4ml
 ↓
 ろ過、密栓して室温で貯蔵

※染色バット浸漬法の場合、染色液を必要最小量、バットに入れて行うこと。またバットに移した染色液の使用期限は原則として当日のみとする。

注4：体細胞の種類および注意事項

出典：(社)全国乳質改善協会「乳中体細胞数群の鏡検像」

鏡検像は、鯉淵学園中野光志先生の撮影、提供

乳中体細胞は、正常乳と異常乳中の細胞の数と種類および異種細胞が生理的および病的状態で変動する。

乳腺組織は外的および内的要因によって感染炎症反応を呈し、その炎症の表現として乳中に血液由来の細胞が浸潤し、主として好中球増加がみとめられる。また上皮細胞は、乳汁分泌の生理的消耗または組織傷害の結果として、乳中に排出される。従って、正常乳中にも少数の細胞は常に生理的に存在するが、生理的に常在しやすい上皮細胞と異なり、好中球の数は乳腺の感染または炎症の存在と程度を知る指標となる。

●鏡検での読み取り基準

- ①一視野のすべての有核体細胞を数える。但し、核のない細胞質の塊、小さい細胞（核の大きさ 4μ 以下）および細胞性破片は数えない。
- ②変性（崩壊）細胞はできるだけ形態的に鏡検下で復元し、50%以上は一個とし、50%未満は切り捨てる。
- ③剥離した上皮細胞の集塊は核を基礎として数える。
- ④視野周辺部で50%以上見える体細胞は数える。
- ⑤下記の「細胞の種類と形状」を参考にして数える。

●細胞の種類と形状

“血液学”を参考にするが、乳特有の細胞もあって経験にたよるところが大きい。

①上皮細胞（乳腺、乳管組織に由来する脱落細胞である。）

- ・扁平上皮細胞：乳中の体細胞のなかで最も大型のものが多く、一般に円板または楕円形で、原形質は繊維性の網状で、ときに空胞を生じる。
- ・円柱上皮細胞：塗抹により球状の核から尾状に原形質が流れた形で染色され、繊維性の網状が見られる。

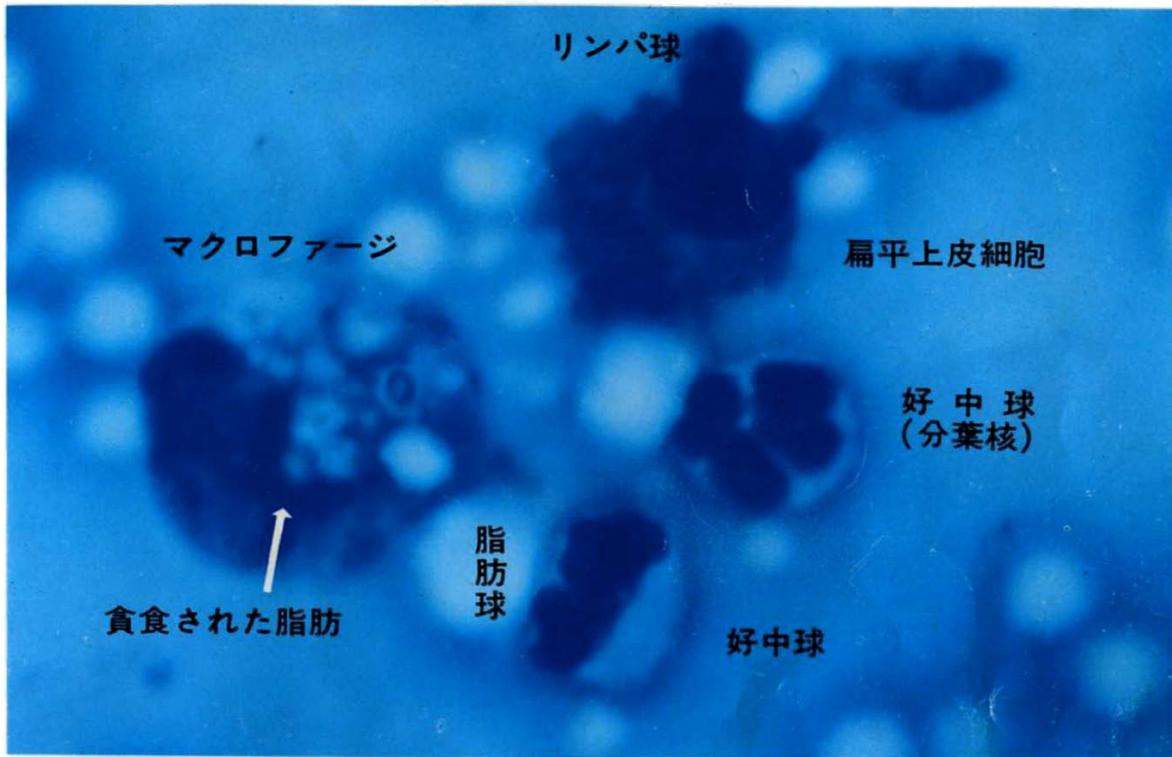
②多形核白血球

- ・好中球：円形、楕円形または偽足状で核の輪郭は凹凸を示し、多くは分節（分葉）し、原形質は多彩な形状に淡染する。細菌を貪食した像が見られる場合が多い。取扱いにより変性しやすい。
- ・好酸球：特徴ある均一の球状の小顆粒が原形質を満たし、核は1~2分葉で小顆粒に囲まれて見える。バルク乳ではほとんど観察されない。

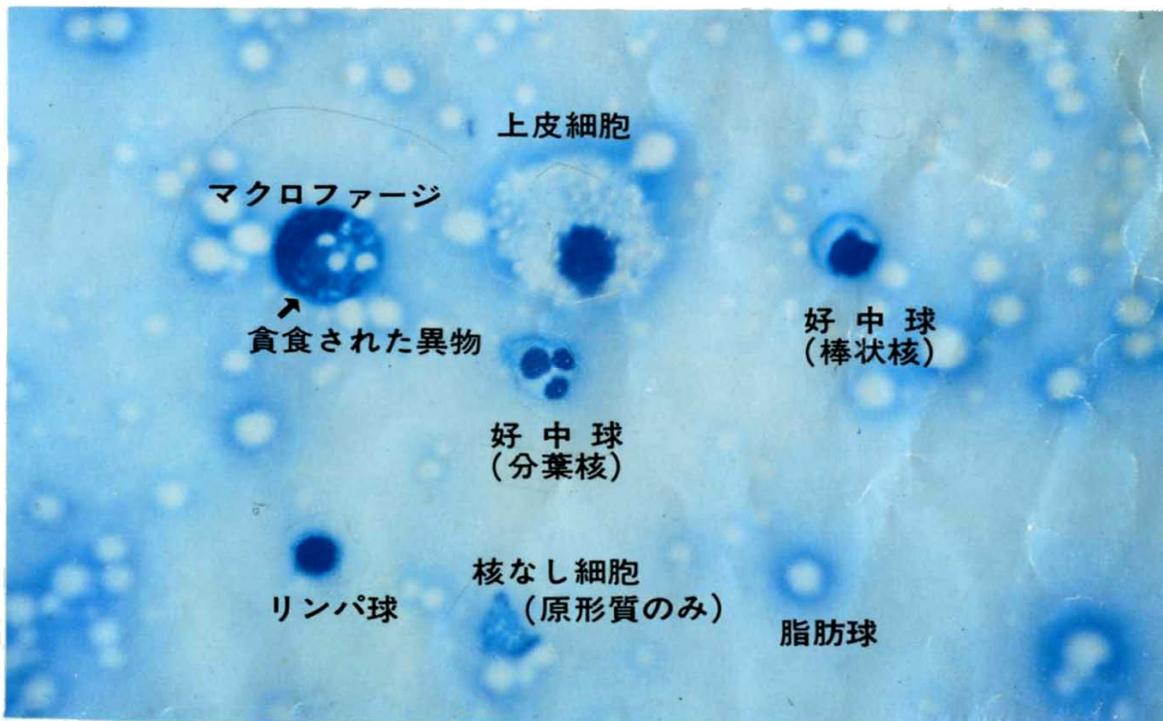
③単核白血球

- ・リンパ球：小型から大型まで存在する。クロマチンが繊細な糸くず状を示す。核は、円形または腎形で、なかには2つに分裂しそうに切れ込んだ異形が見られる。貪食能は有していない。
- ・単球（マクロファージ）：小型のものは大型リンパ球と鑑別が困難な場合が多い。核は大きく、卵円形または数個の陥没を有する。クロマチンは繊細な網状を示し、原形質に空胞も多く見られる。貪食能が旺盛で、飽食により自身の核は細胞壁に三日月状に圧扁された形の場合もある。

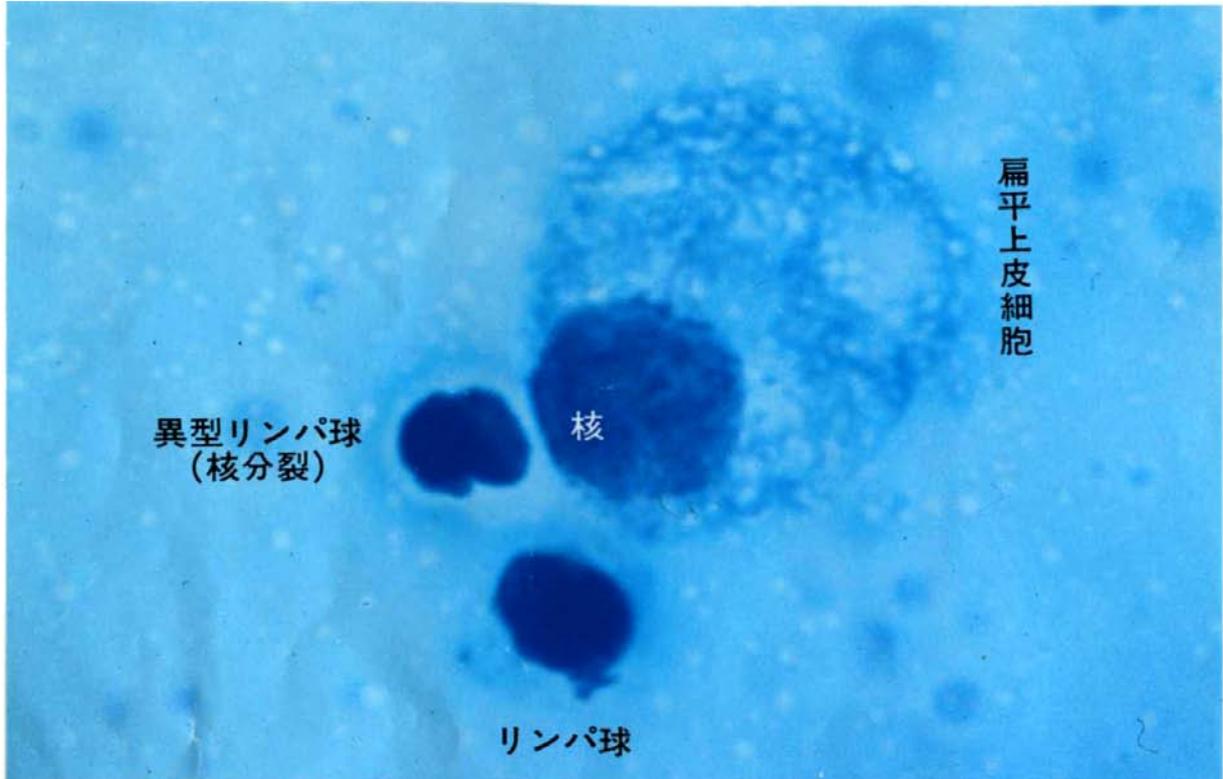
乳中の各種体細胞像



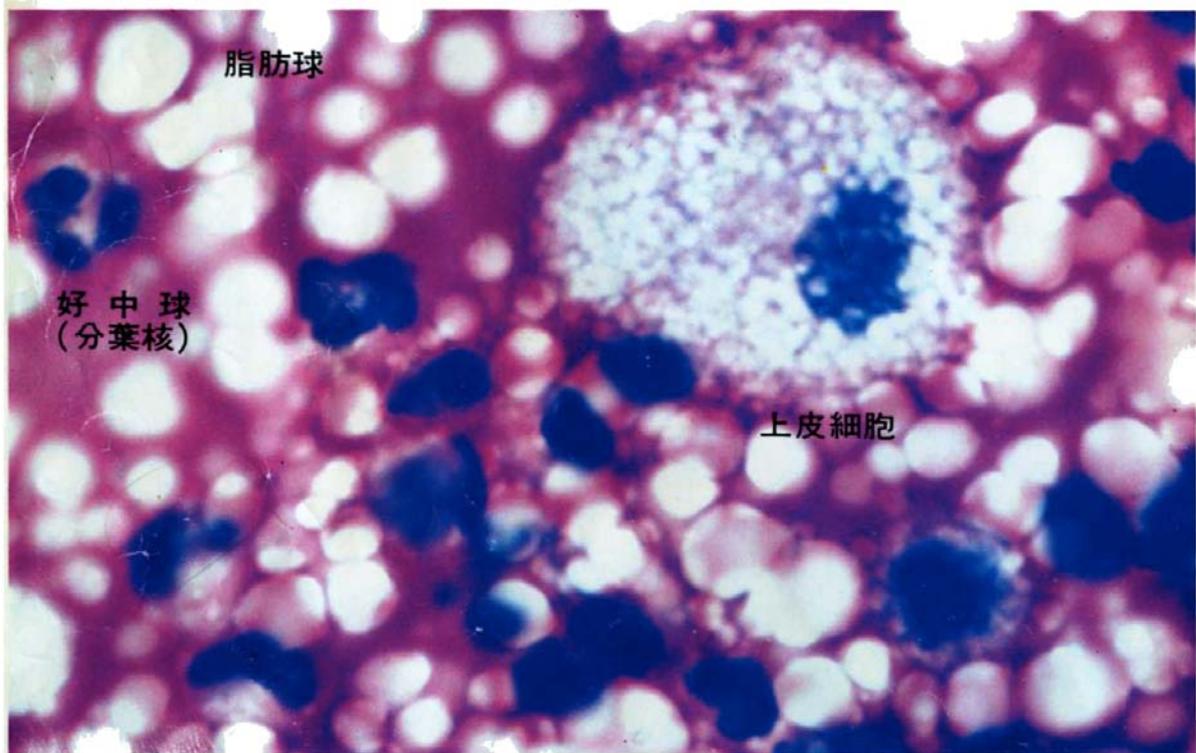
(上下ともニューマン染色)



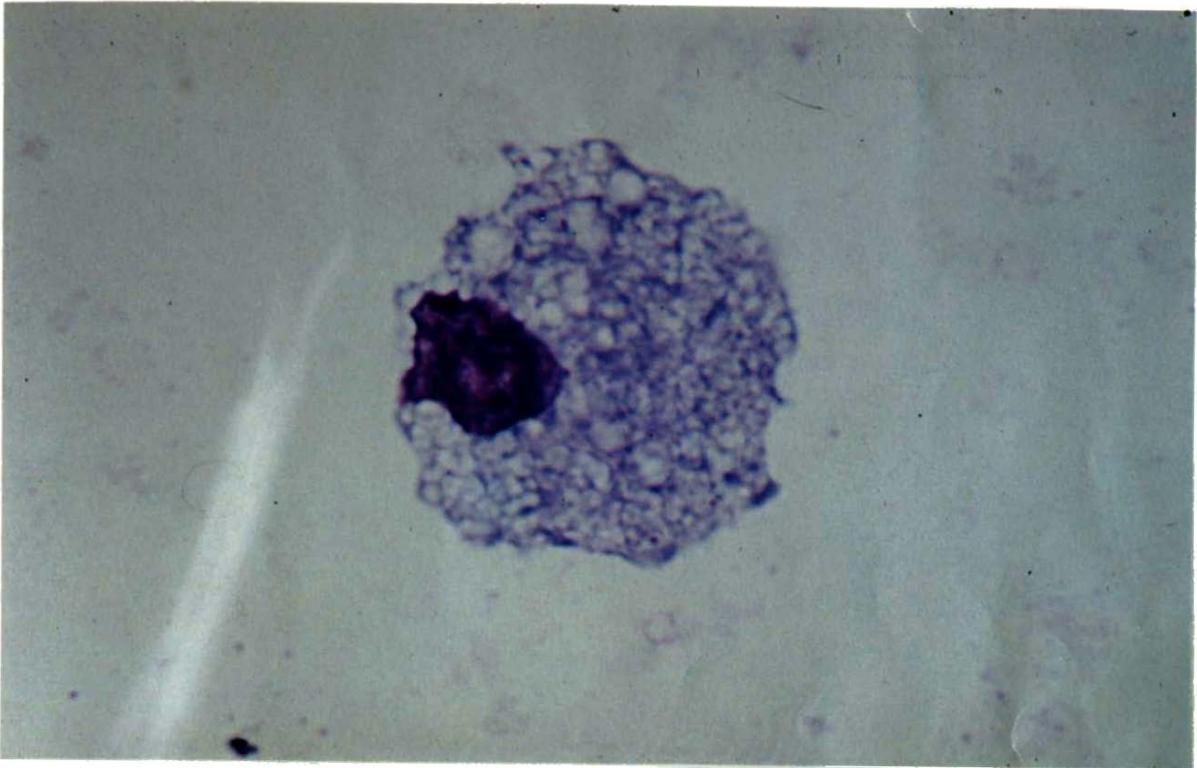
扁平上皮細胞



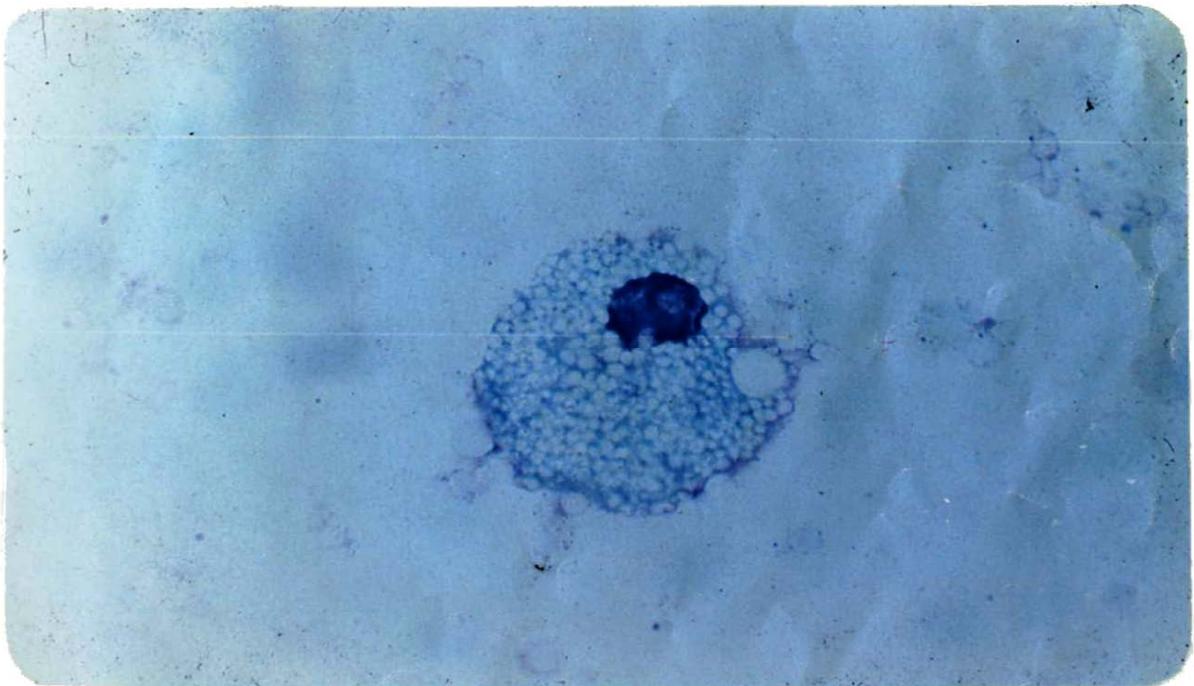
(上：ニューマン染色 下：ブロードファースパーレイ染色)



扁平上皮細胞



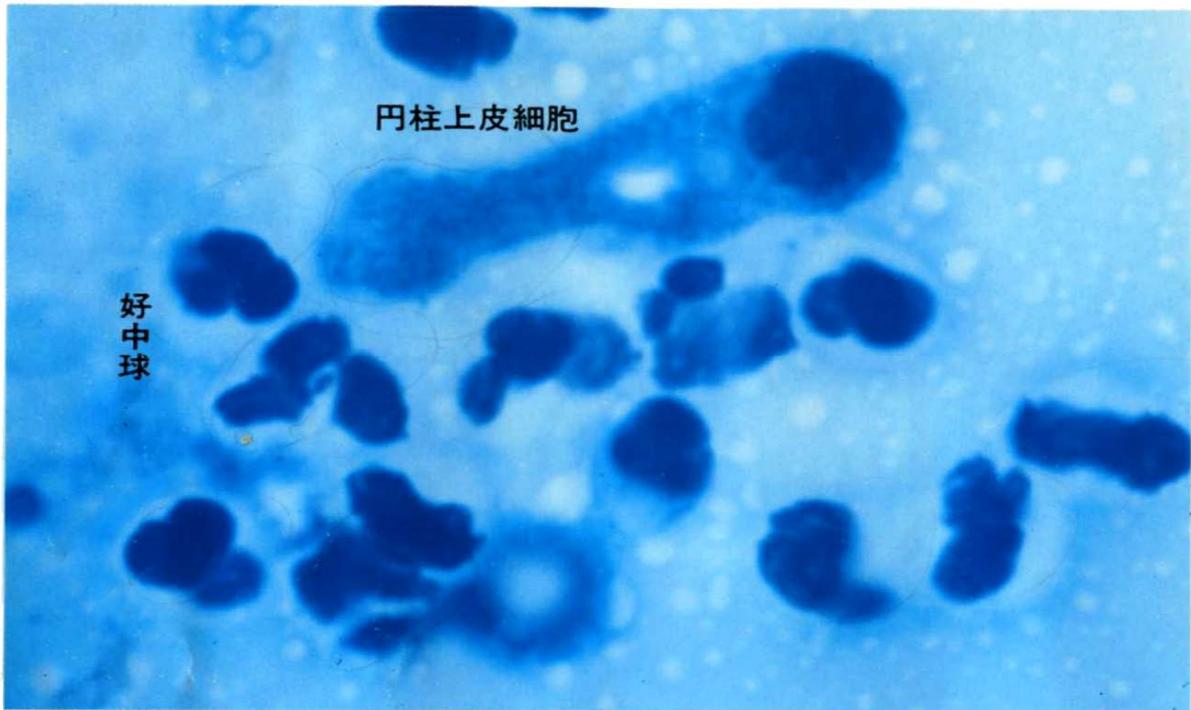
(上下ともライト・ギムザ染色)



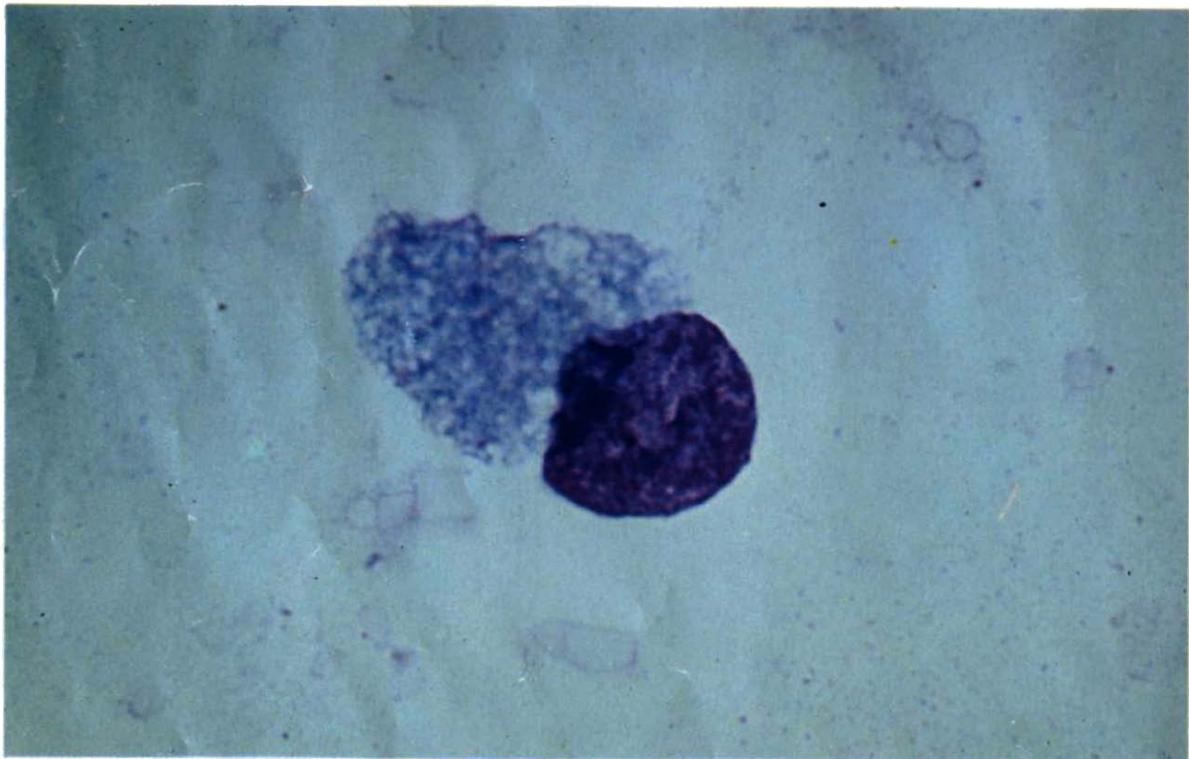
(上) 老化した上皮細胞 (25 μ) 老化にともなって濃染し、空胞が粗鋼になる。

(下) やや壮健な上皮細胞 緻密な空胞を有する。

円柱上皮細胞

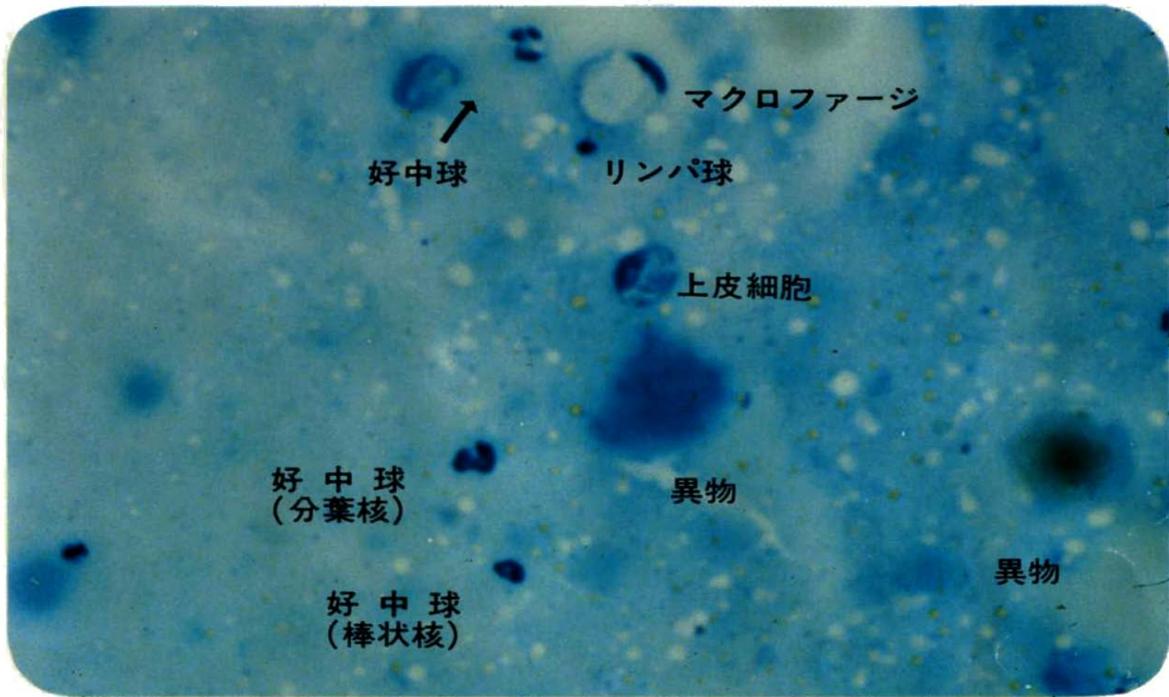


(上：ニューマン染色 下：ライト・ギムザ染色)

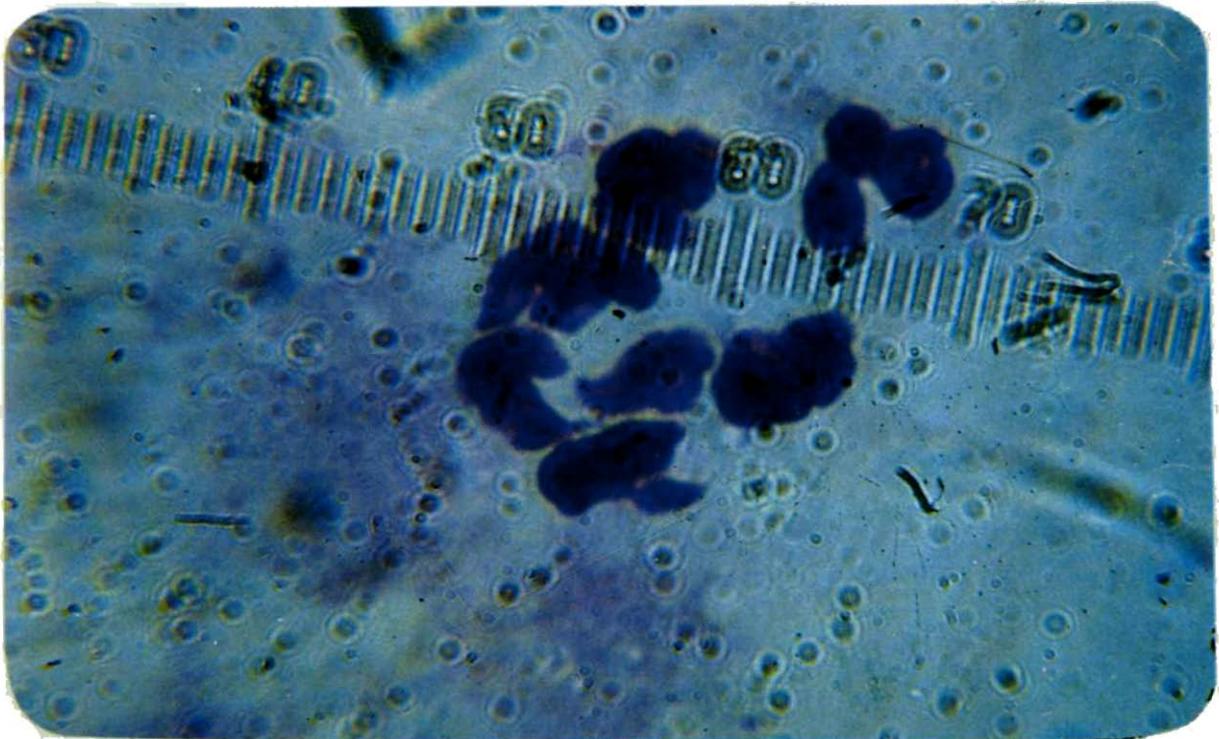


円柱上皮細胞は乳管壁等より剥離してくる。

好中球

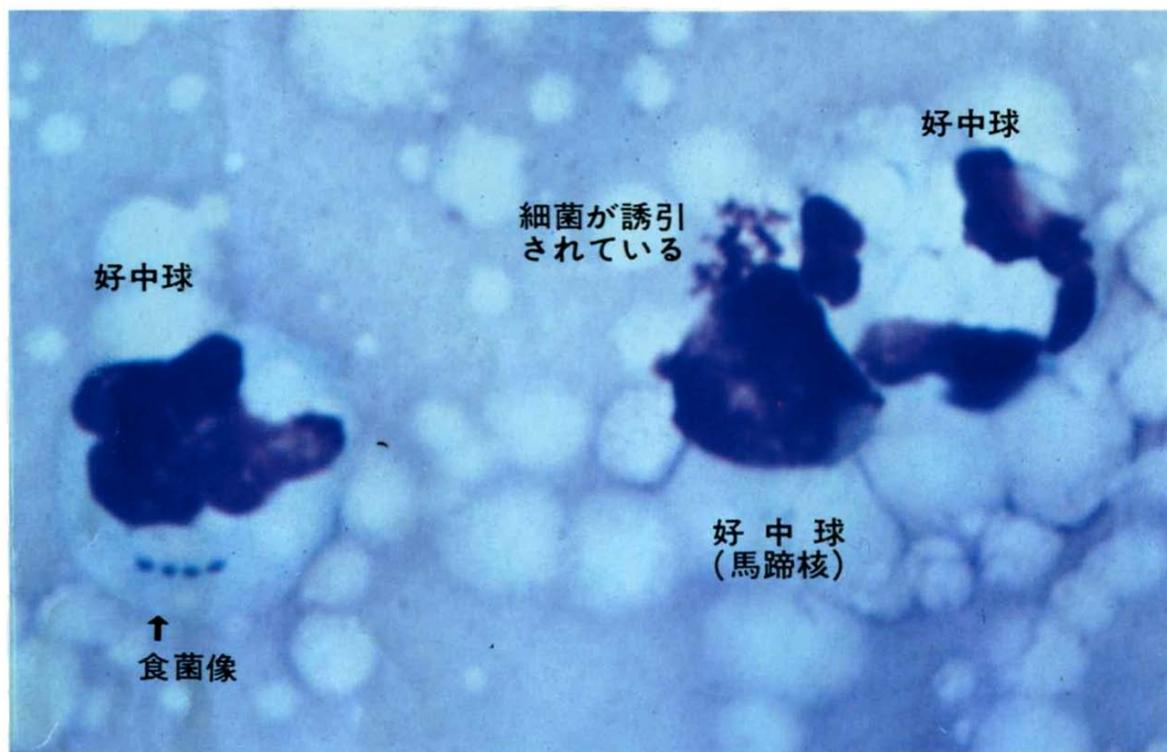


(上下ともニューマン染色)

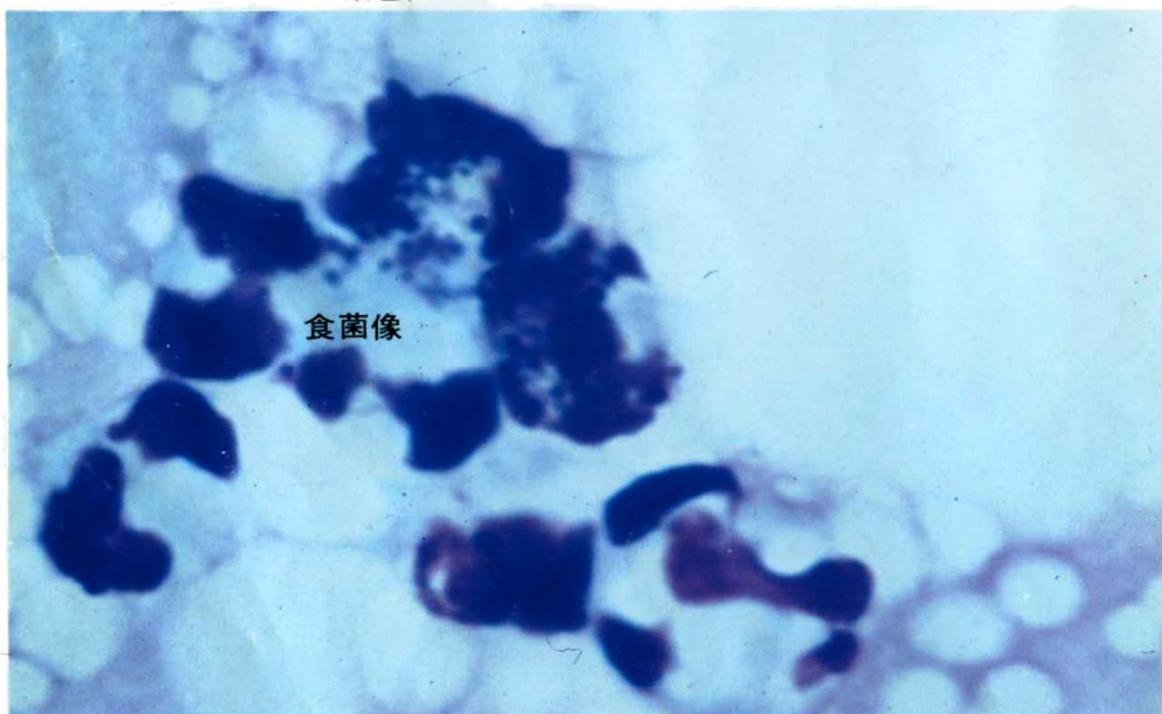


下は核糸でつながっている一個の好中球の分葉核 (8~9 葉核)

好中球

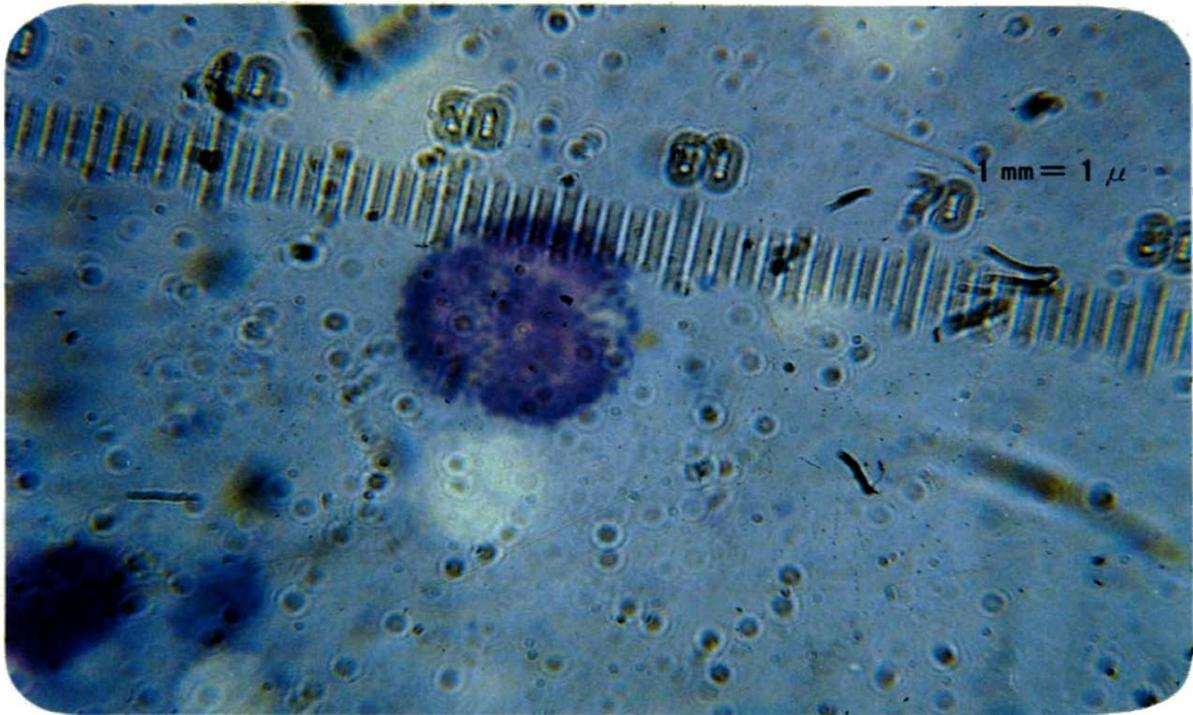


(上下ともニューマン染色)

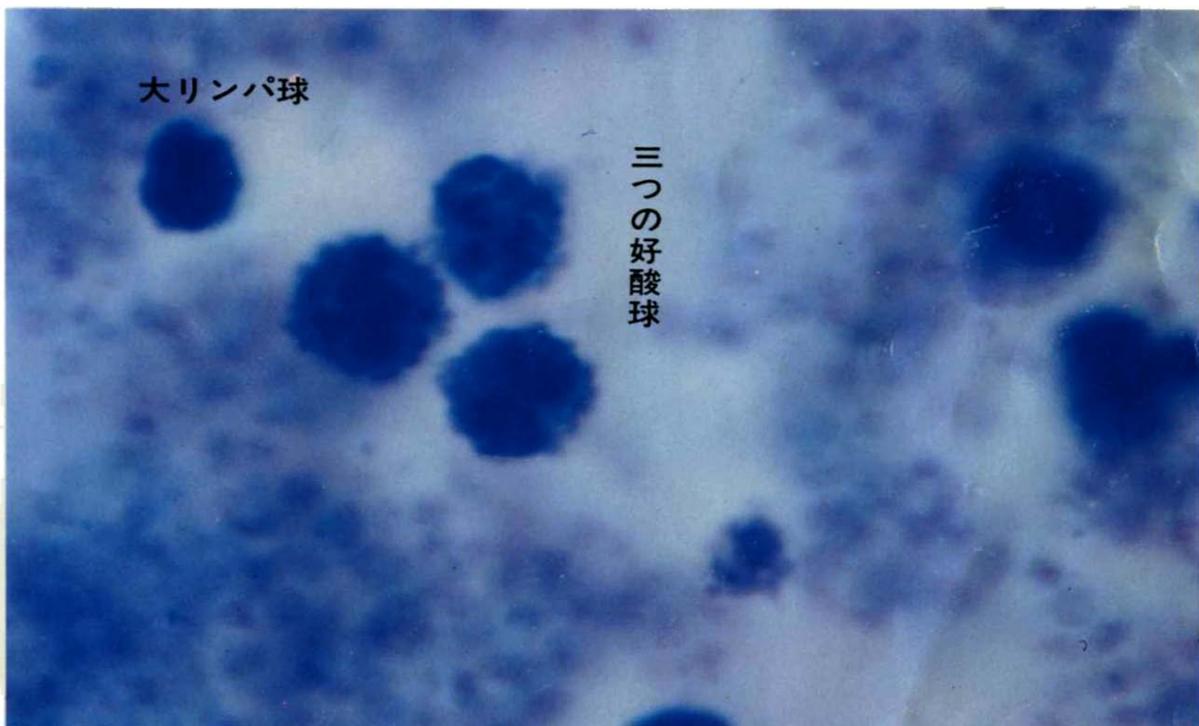


好中球による食菌 (貪食) 像

好酸球

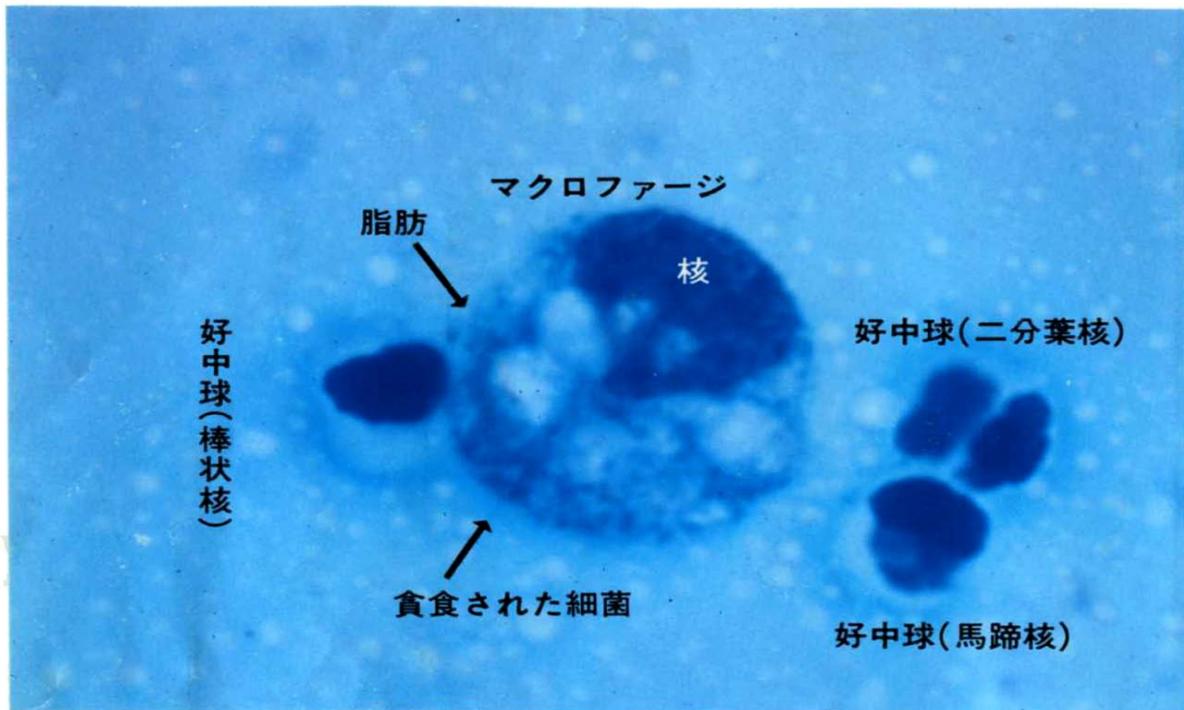


(上：ライト・ギムザ染色 下：ニューマン染色)

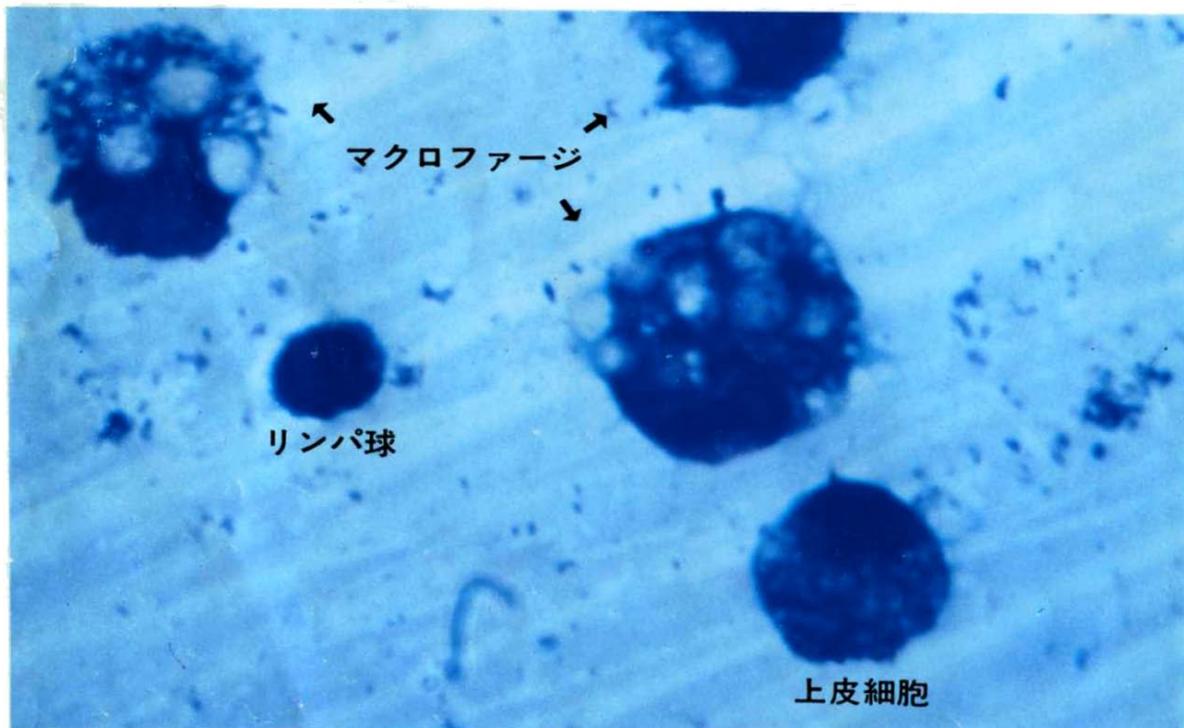


好酸球にみられる顆粒像 上：乳中の好酸球像 下：血液中の好酸球像
好酸球は、乳中にはほとんど出現しない。

単球 (マクロファージ)



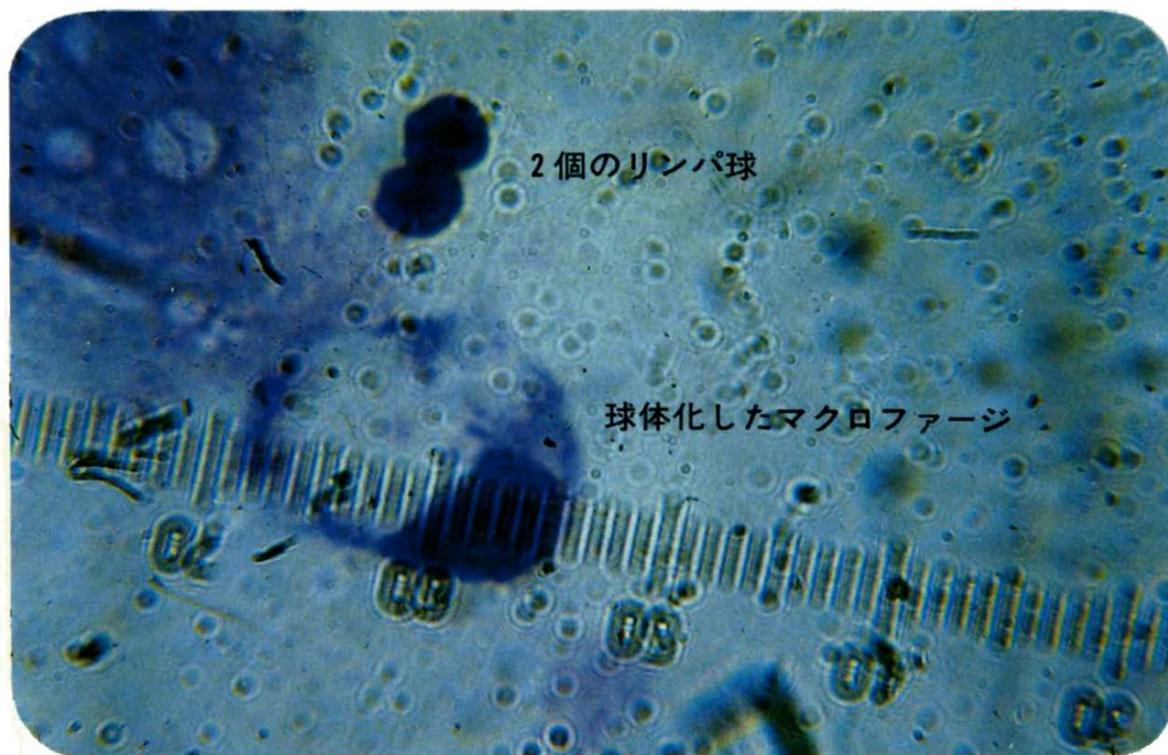
(上下ともニューマン染色)



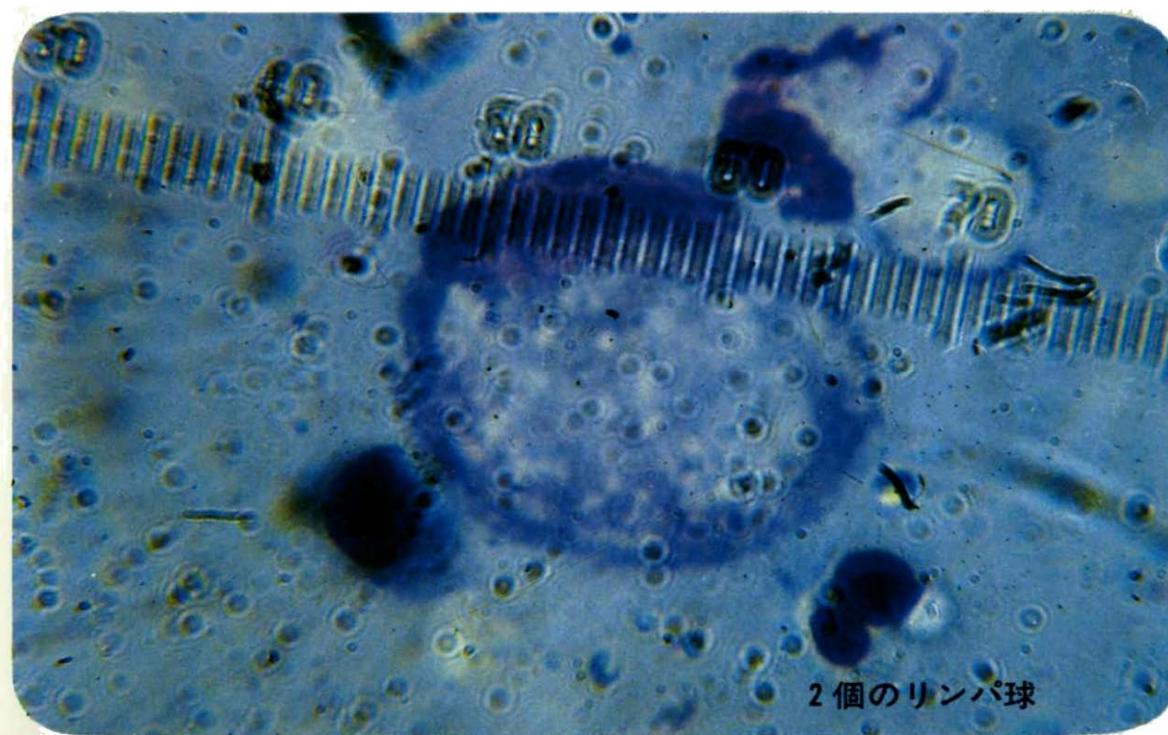
単球 (マクロファージ) は乳房炎回復期や乾乳時などに多く見られる。

単球 (マクロファージ) の空砲 (主として貪食された脂肪球) はソフトで内容物をみとめうる。

単 球 (マクロファージ)

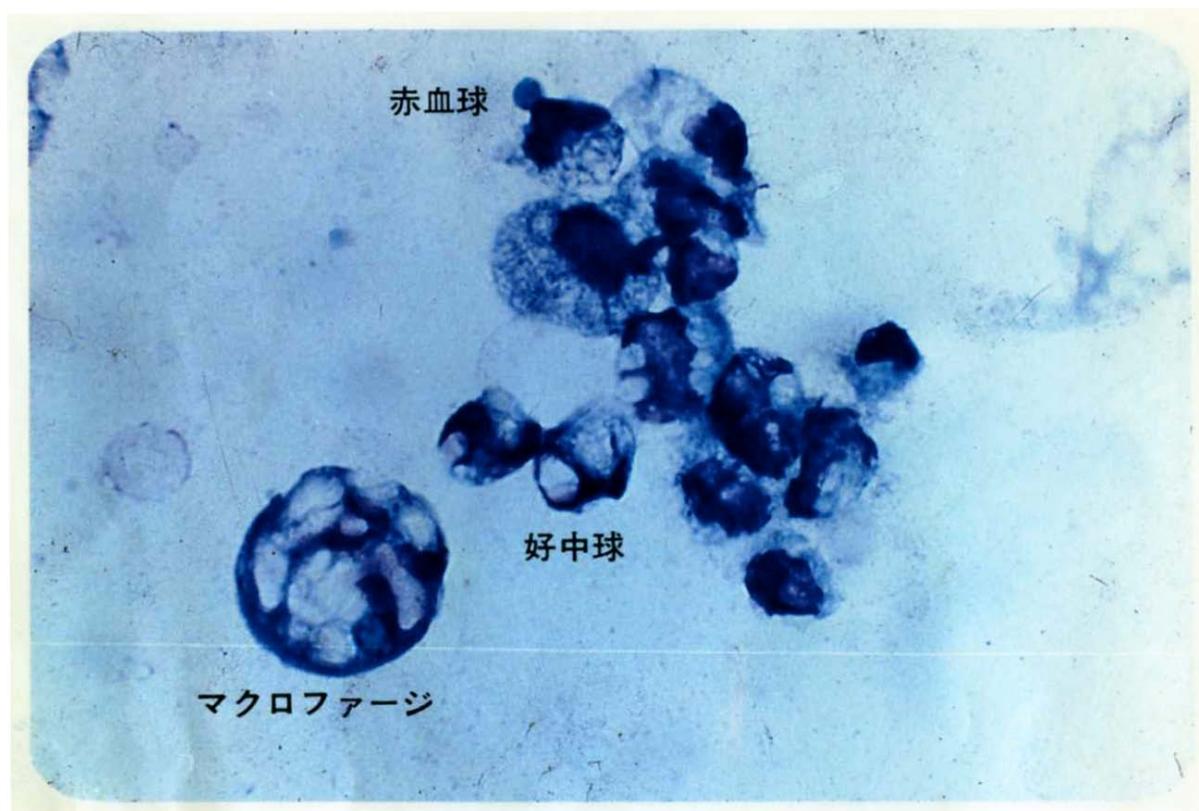


(上 : ニューマン染色 下 : ライト・ギムザ染色)

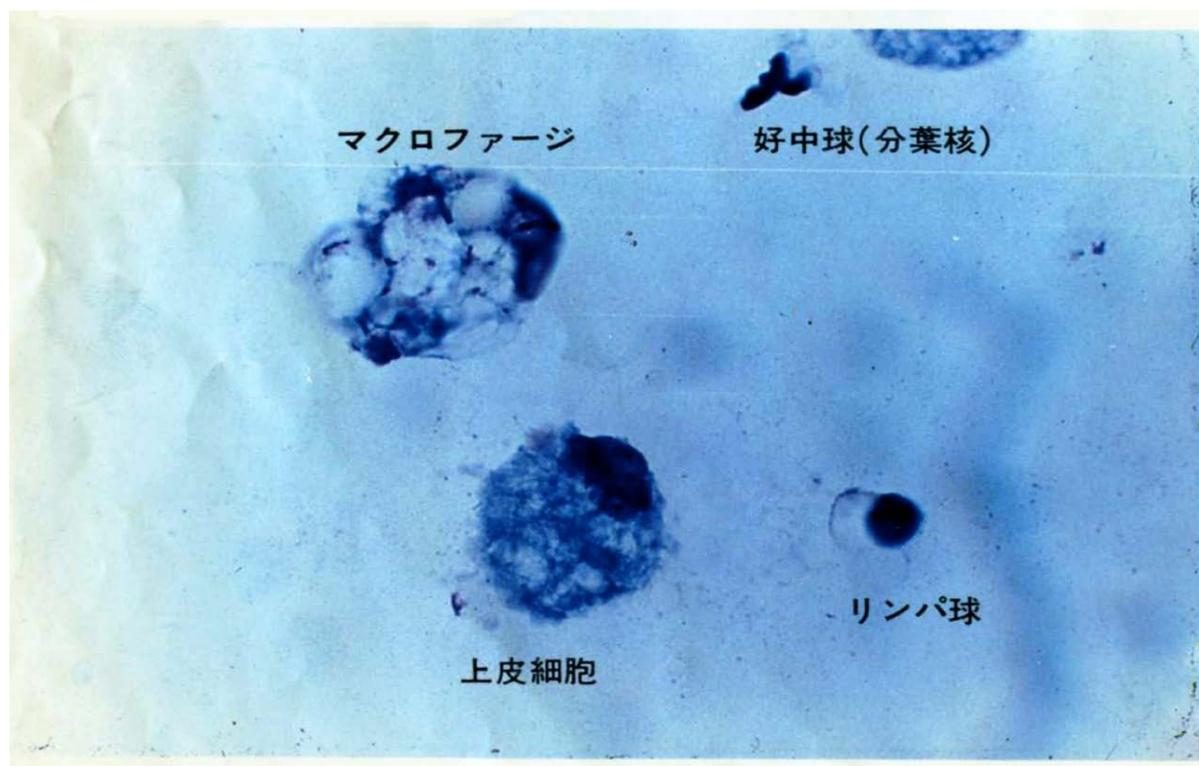


単球 (マクロファージ) は飽食すると球体となるので、レンズのピントをずらして内部を観察する。

単球 (マクロファージ)

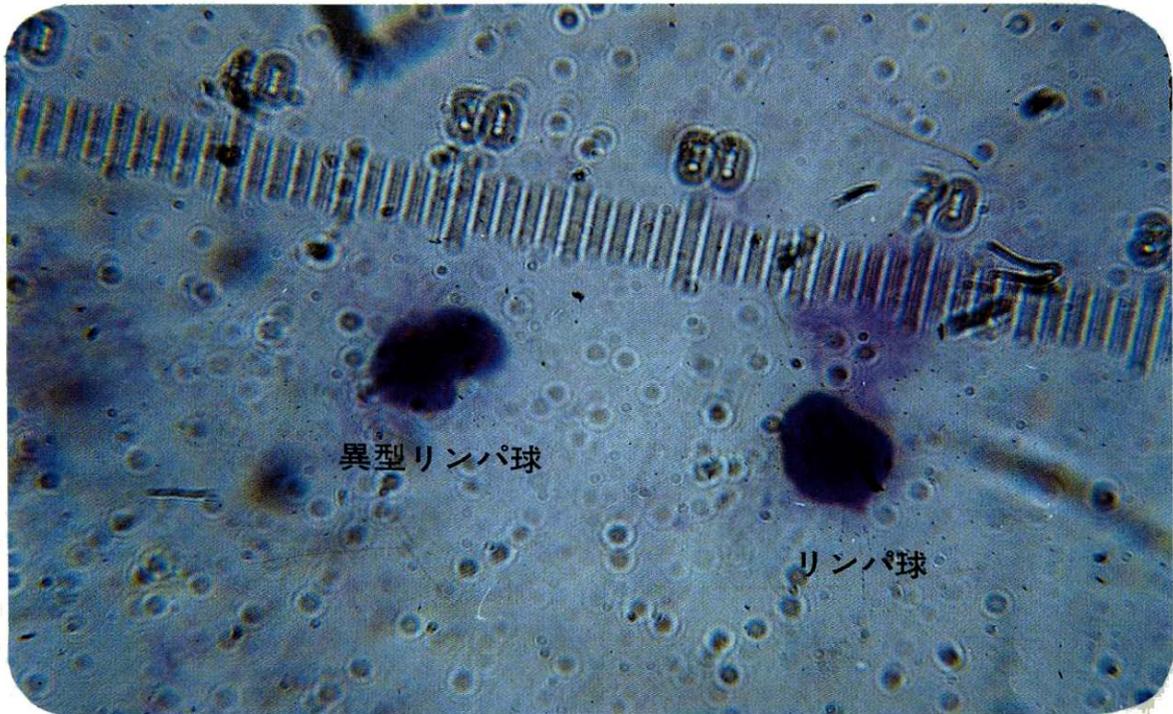


(上下ともライト・ギムザ染色)

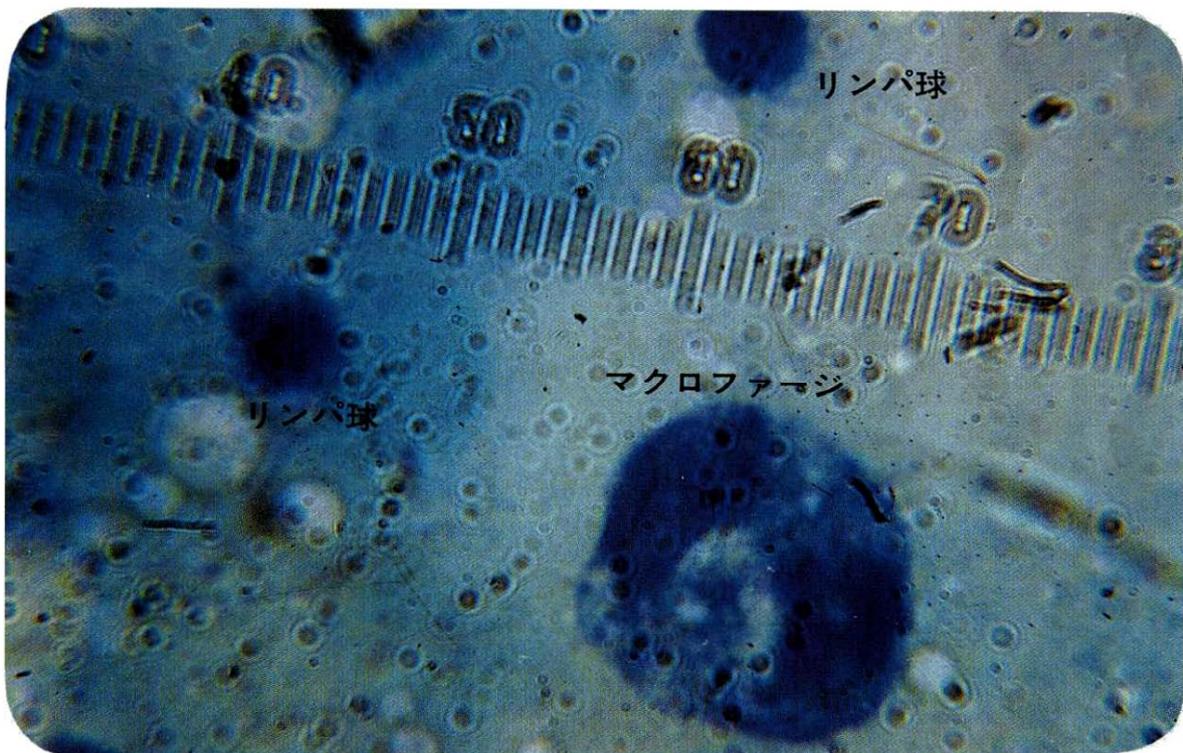


細菌を貪食して球体となった単球（マクロファージ）

リンパ球

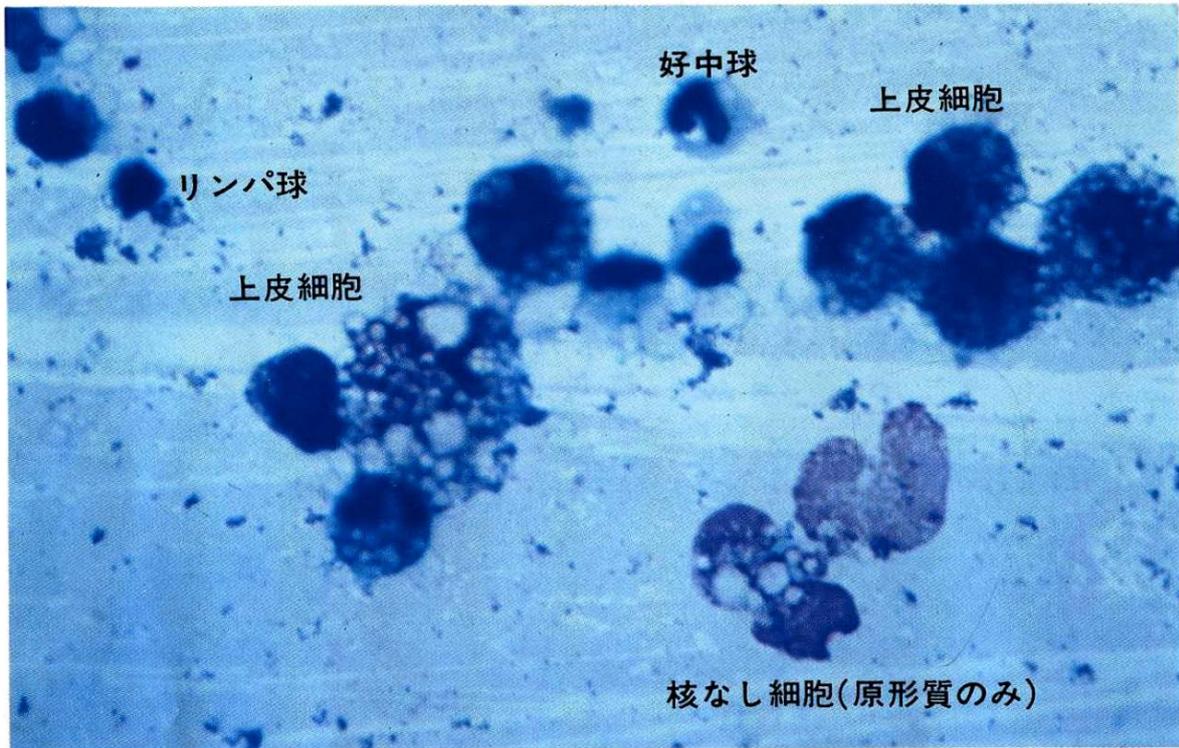


(上下ともニューマン染色)

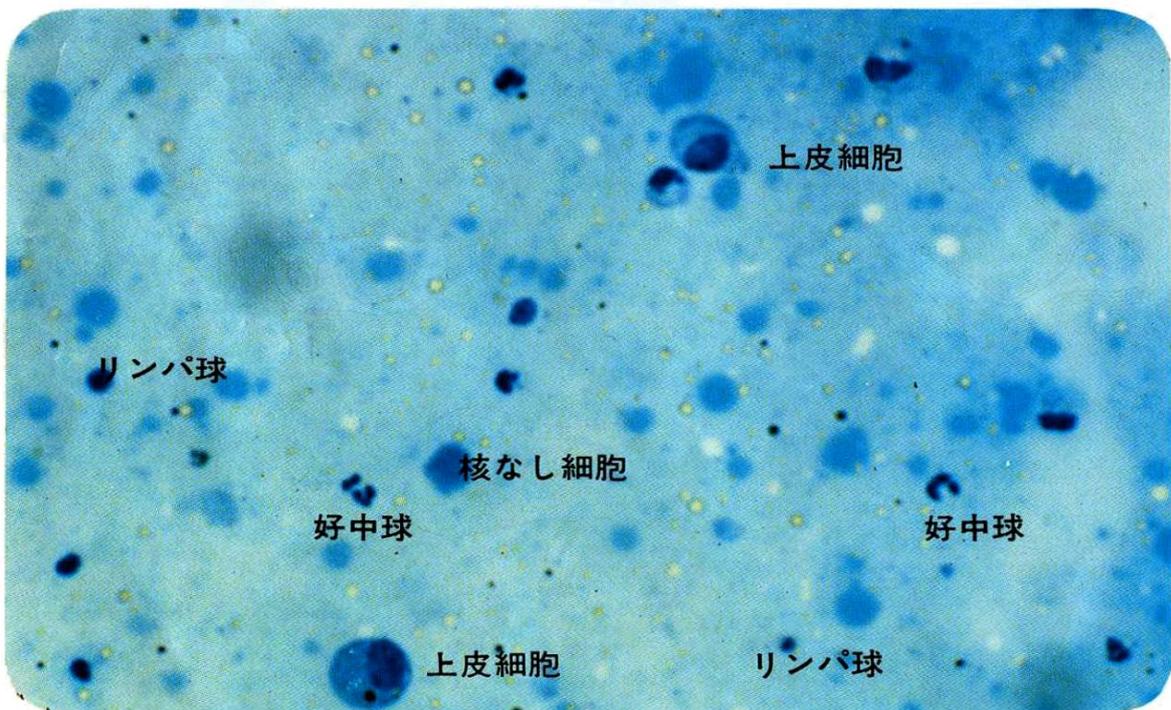


上の異型リンパ球は核が分裂している。1mm 目盛が1 μ

核なし細胞

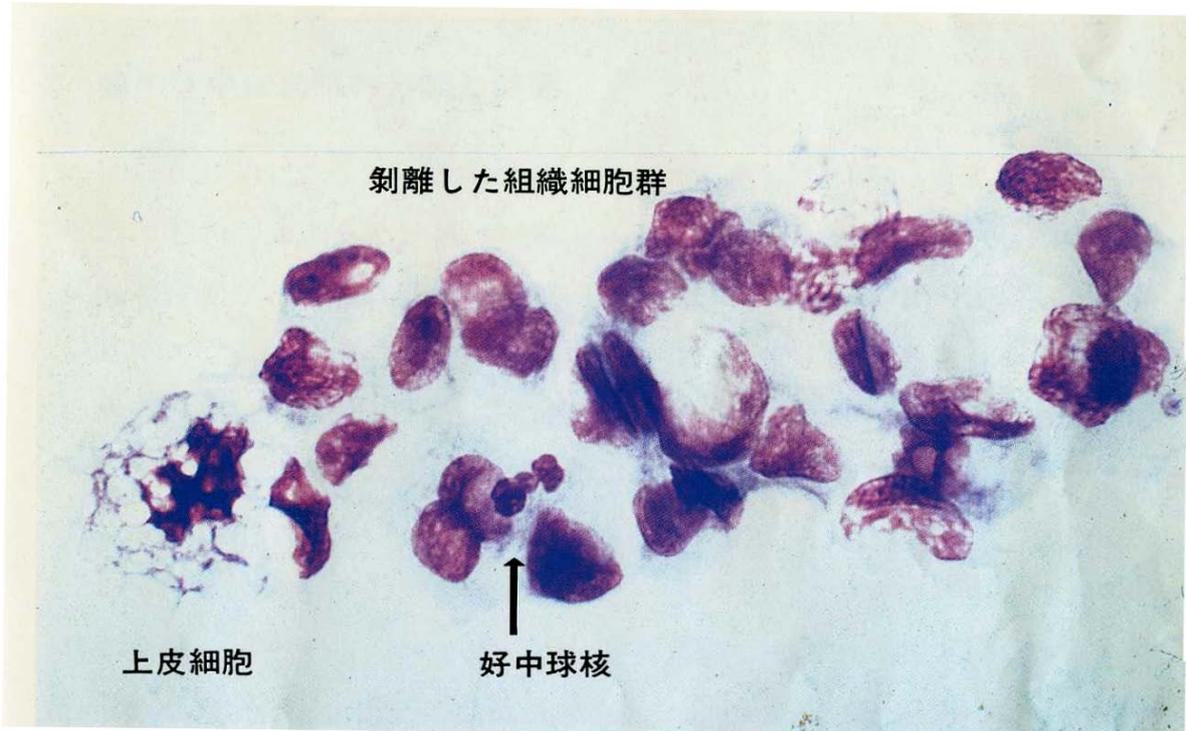


(上：ライト・ギムザ染色 下：ニューマン染色)

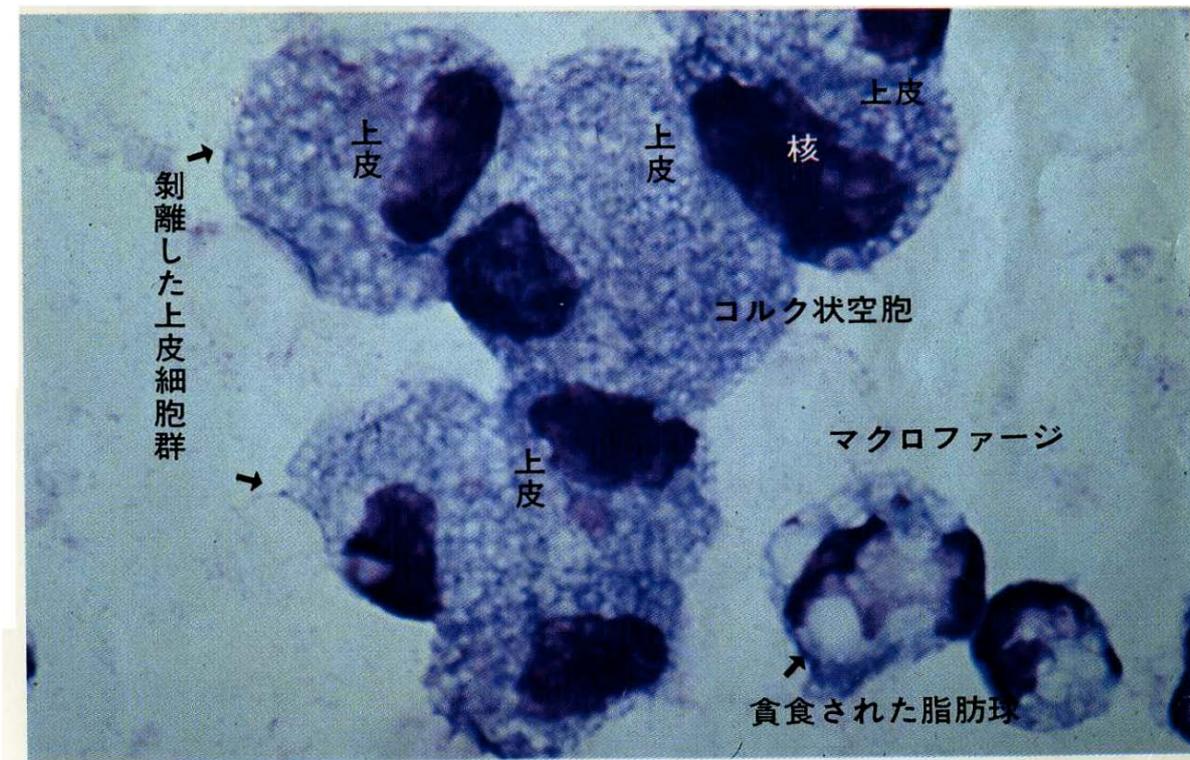


核なし細胞（原形質のみ）は数を加えない。

剥離した細胞群

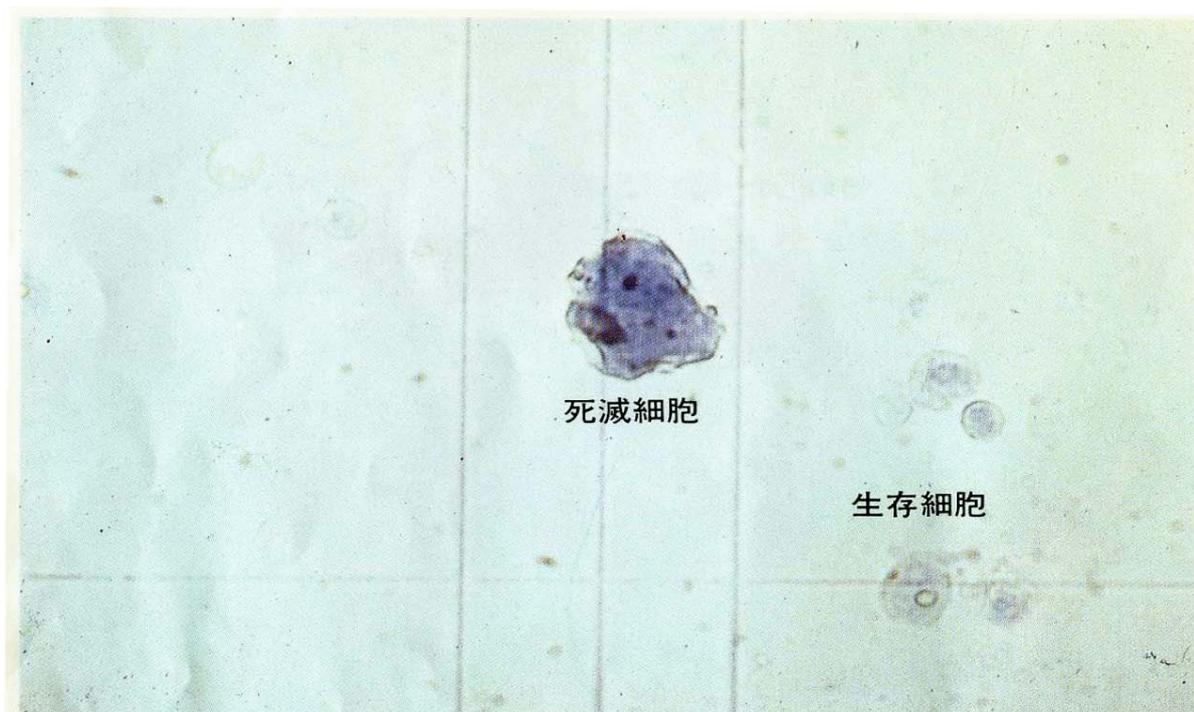


(上下ともライト・ギムザ染色)

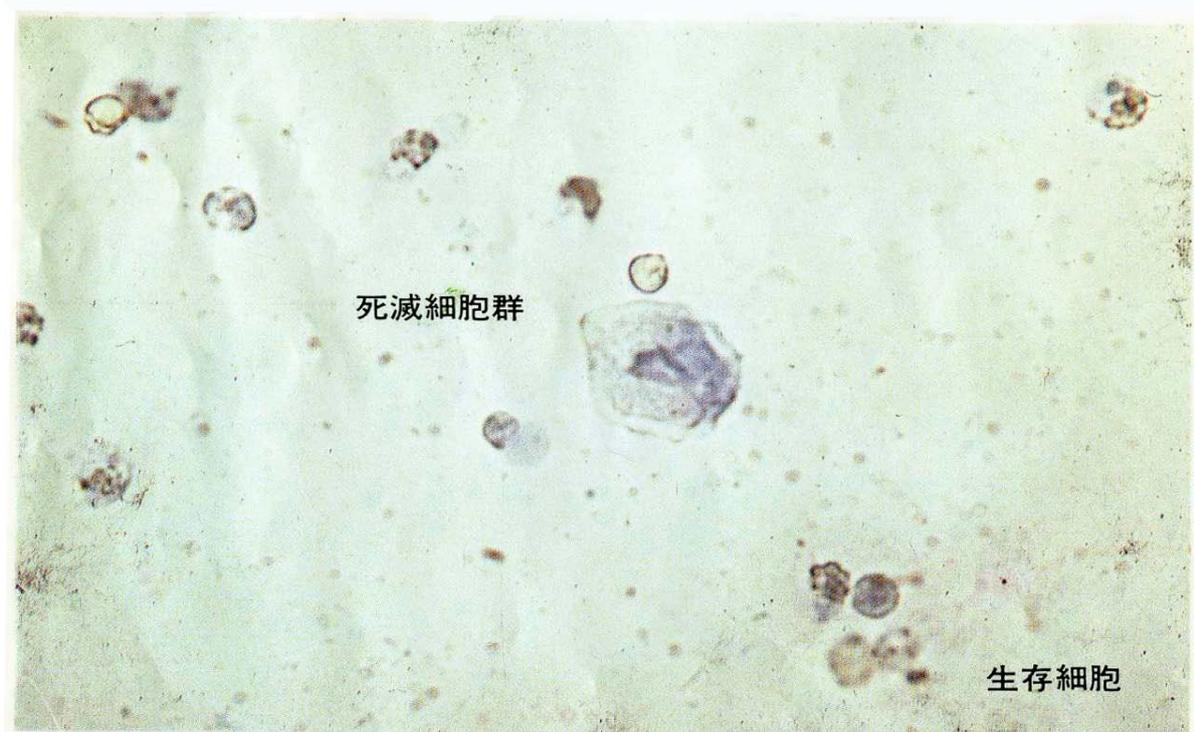


乳房炎の治癒期や過搾乳、過激な後搾乳を行なったときに剥離した細胞群が見られる。

生存細胞 と 死滅細胞



(上下ともトリパンブルーによる生体染色)



トリパンブルーによる乳中の生存細胞と死滅細胞群

生存細胞は核を含み光沢（屈折光）ある円形物、死滅細胞は濃染する。

以上

内部精度管理の評価例

管理限界係数表

試料数 n	A2	D3	D4
2	1.88		3.27
3	1.02		2.58
4	0.73		2.28
5	0.58		2.11
6	0.48		2
7	0.42	0.08	1.92
8	0.37	0.14	1.86
9	0.34	0.18	1.82
10	0.31	0.22	1.78

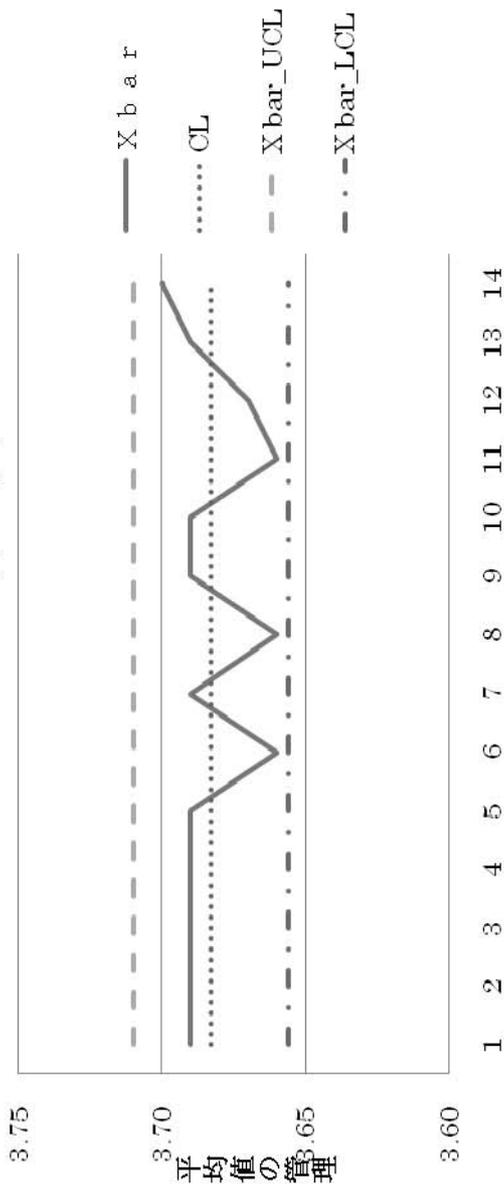
\bar{x} bar-R 管理図の上方管理限界
 $UCL(\bar{x} \text{ bar}) = \bar{x} \text{ bar の平均} + A2 \cdot R \text{ の平均}$
 \bar{x} bar-R 管理図の下方管理限界
 $LCL(\bar{x} \text{ bar}) = \bar{x} \text{ bar の平均} - A2 \cdot R \text{ の平均}$
R 管理図の上方管理限界
 $UCL(R) = D4 \cdot R \text{ の平均}$

管理限界係数		A2	D3	D4
		0.58	0	2.11

試料数n	5
------	---

日	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	X _{bar}	R _s	R	Min	Max	CL	x bar管理図		R管理図								
												上方管理限界	下方管理限界	上方管理限界	下方管理限界	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目		
1	3.70	3.70	3.70	3.70	3.65	3.69	0.00	0.05	3.65	3.70	3.6829	X _{bar} _UCL	X _{bar} _LCL	R_UCL	R_LCL	前回比	前回比	前回比	前回比	前回比	平均	
2	3.70	3.70	3.70	3.65	3.70	3.69	0.00	0.05	3.65	3.70	3.6829	3.7098	3.6559	0.0980	0.0000	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	
3	3.70	3.70	3.70	3.65	3.70	3.69	0.00	0.05	3.65	3.70	3.6829	3.7098	3.6559	0.0980	0.0000	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	
4	3.70	3.70	3.70	3.65	3.70	3.69	0.00	0.05	3.65	3.70	3.6829	3.7098	3.6559	0.0980	0.0000	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	
5	3.70	3.70	3.70	3.65	3.70	3.69	0.00	0.05	3.65	3.70	3.6829	3.7098	3.6559	0.0980	0.0000	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	
6	3.65	3.65	3.65	3.70	3.65	3.66	0.03	0.05	3.65	3.70	3.6829	3.7098	3.6559	0.0980	0.0000	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	
7	3.70	3.70	3.70	3.65	3.70	3.69	0.03	0.05	3.65	3.70	3.6829	3.7098	3.6559	0.0980	0.0000	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	
8	3.65	3.65	3.70	3.65	3.65	3.66	0.03	0.05	3.65	3.70	3.6829	3.7098	3.6559	0.0980	0.0000	0.05	0.00	0.05	0.00	0.00	0.03	
9	3.70	3.70	3.70	3.70	3.65	3.69	0.03	0.05	3.65	3.70	3.6829	3.7098	3.6559	0.0980	0.0000	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	
10	3.65	3.70	3.70	3.70	3.70	3.69	0.00	0.05	3.65	3.70	3.6829	3.7098	3.6559	0.0980	0.0000	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.02	
11	3.65	3.65	3.65	3.70	3.65	3.66	0.03	0.05	3.65	3.70	3.6829	3.7098	3.6559	0.0980	0.0000	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	
12	3.70	3.65	3.70	3.65	3.65	3.67	0.01	0.05	3.65	3.70	3.6829	3.7098	3.6559	0.0980	0.0000	0.05	0.00	0.05	0.05	0.00	0.03	
13	3.70	3.70	3.70	3.65	3.70	3.69	0.02	0.05	3.65	3.70	3.6829	3.7098	3.6559	0.0980	0.0000	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	
14	3.70	3.70	3.70	3.70	3.70	3.70	0.01	0.00	3.70	3.70	3.6829	3.7098	3.6559	0.0980	0.0000	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	
						計	51.56	0.1900								0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
						平均	3.68	0.0136									0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Xbar 管理図



R 管理図

