琉球大学学術リポジトリ

レサズリンテストを中心とする生乳の細菌学的検査 II(畜産学科)

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2008-02-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 日越, 博信, 久場, 良保, 大城, 義正, Higoshi, Hironobu, Kuba, Yoshiyasu, Oshiro, Yoshimasa メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/4215

レサズリンテストを中心とする生乳の細菌学的検査 II

日越博信*・久場良保*・大城義正*

Hironobu HIGOSHI, Yoshiyasu KUBA and Yoshimasa OSHIRO: Bacteriological examination of raw milk with particular reference to resazurin test II

I 緒 言

著者らは，沖縄県における生乳の細菌による汚染状況を調査中であるが，昨年度は特定酪農家の工場持込み生乳について，夏季と秋季に調査を行なった。そして，前報[2]ではそれらについて，全体としては細菌数の著しく多い生乳が多く，憂慮すべき成績であったが，気温の低い秋季には夏季に比べて各酪農家の生乳とも細菌数が減少したこと，また夏季においてもバルククーラー使用酪農家の生乳では，非使用酪農家の生乳に比べて細菌数が少ないこと，などを報告した。これらの成績は，生乳中に存在する細菌の増殖を抑制するために，生乳の十分な冷却がいかに重要であるかを示していよう。

そこで今回は，上記のことを確認するために，生乳の冷却にバルククーラーを使用している酪農家と，ユニットクーラーを使用している酪農家とに分けて調査を行なった。まず夏季には，それら酪農家の工場持込み生乳について，次いで秋季には，細菌の汚染源を探る一助として，酪農家で段階別に採取した乳房乳，バケット乳，冷却前乳および冷却乳について，昨年度と同様の検査を行なったので，それらの成績を報告する。

II 実験材料および方法

1 調査対象酪農家と試料の採取方法

調査した酪農家は，本県南部の6カ村（豊見城，大里，西原，玉城，南風原，具志頭）に分散し，そこから生乳を那覇市内の乳業工場に輸送缶で搬入しているバルククーラー使用酪農家（以下バルク酪農家）3戸，ユニットクーラー使用酪農家（以下ユニット酪農家）21戸，計24戸である。なお，これら24戸はすべてミルカーで搾乳を行なっていた。

工場持込み時の生乳（以下工場生乳）は，1977年6月～9月に，上記24戸の全輸送缶から缶別にそれぞれ滅菌サンプラーを用いて，滅菌中試験管に約20 ml ずつ採取し，合計227試料を得た。なお生菌数などの測定に用いた工場生乳は80試料であったが，これらは，まず全227試料について後述のレサズリンテストを行ない，その30分の成績から各酪農家とも良い方および悪い方から各1～3試料を選出した。

次いで，1977年11月～12月に，工場への搬入缶数が多いものからバルク酪農家4戸（工場生乳の

* 琉球大学農学部畜産学科

琉球大学農学部学術報告 25：411～420（1978）

検査時よりも使用戸数が増えた），およびユニット酪農家4戸を選出し，これら8戸で4段階の生乳(以下酪農家生乳）を採取した。

すなわち乳房乳は，各酪農家とも夕方搾乳時に搾乳の早い順に6頭を選び，それらの搾乳開始直前に，乳房を温湯または水で清拭し，乳頭などを70％アルコール綿で消毒後，初めの2～3搾りを捨て，手搾りで4分房からほぼ等量ずつ滅菌中試験管に採取した。次にバケット乳は，上記6頭からミルカーで搾乳し，2～3頭分の生乳が入ったバケットから滅菌サンプラーを用いて採取した。さらに冷却前乳は，全搾乳牛の搾乳終了後に，バルク酪農家ではバルクタンクから，ユニット酪農家では貯乳用の全輸送缶から均一に，それぞれ滅菌サンプラーで採取した。また冷却乳は，翌日の朝搾乳前に前日の生乳のみを，冷却前乳と同様にバルクタンクまたは輸送缶から採取した。各試料の採取量はほぼ20 ml であり，また得られた試料数は乳房乳48，バケット乳21，冷却前乳8，冷却乳8である。

なお，採取した試料は，すべて5℃以下のアイスボックスに入れて実験室に持ち帰り，直ちに実験に供した。

2　レサズリンテストの方法

レサズリンテスト（以下RT）は常法[3]に従って行なったが，レサズリン液は和光純薬のラクテスターA錠を用い，37℃の恒温水槽で30分，1時間および2時間培養後に色調を判定した。成績では1時間の値を採用した。

3　総菌数および細胞数の測定方法

両者の測定には食品衛生検査指針[5]のブリード法を用い，総菌数は個体法で表わした。

4　生菌数および大腸菌群数の測定方法

試料の調製方法および生菌数と大腸菌群数の測定法は，食品衛生検査指針[5]に従った。生菌数は，標準寒天培地"栄研"を用い，前報[2]同様に5℃10日，20℃4日および35℃2日の3種培養法で測定した。また大腸菌群数は，デスオキシコーレイト培地"栄研"を用い，35℃24時間培養で測定した。

Ⅲ　実験成績

1　工場生乳について

まず，工場生乳のRTの成績を酪農家におけるクーラーの使用別に表1に示した。

Table 1.　Distribution of class by resazurin test of raw milk samples from processing plant

Cooling	No. of farm	No. of sample	Class by resazurin test					
			0	1	2	3	4	5
Bulk cooler	3	46(100.0)*	0	25(54.3)	21(45.7)	0	0	0
Unit cooler	21	181(100.0)	3(1.7)	11(6.1)	33(18.2)	45(24.9)	12(6.6)	77(42.5)
Total	24	227(100.0)	3(1.3)	36(15.9)	54(23.8)	45(19.8)	12(5.3)	77(33.9)

*　Number in parenthesis indicates percentage

全体ではRT の0～5級に分布した。しかし，バルク酪農家の46試料ではすべて1級と2級であったのに対し，ユニット酪農家の181試料では大多数が3級以上であり，しかも5級を示した試料が42.5％を占めた。

次に総菌数の出現状況を表2に示した。

Table 2. Direct microscopic count of raw milk samples from processing plant

Cooling	No. of sample	Direct microscopic count／ml ($\times 10^4$)			
		＜100	101－400	401－1000	＞1001
Bulk cooler	46(100.0) *	26(56.5)	16(34.8)	4(8.7)	0
Unit cooler	181(100.0)	6(3.3)	29(16.0)	26(14.4)	120(66.3)
Total	227(100.0)	32(14.1)	45(19.8)	30(13.2)	120(52.9)

* Number in parenthesis indicates percentage

全体では，総菌数の多い試料が目立ち，特に1001万以上の試料が過半数を占めた。また，乳等省令の規準（400万／ml 以下）に合格したのはわずかに33.9％であり，これは昨年度の成績とほぼ同じであった。しかし，クーラーの使用別にみると，バルク酪農家の試料では90％以上が400万以下であり，ほぼ満足できる成績であった。これに対してユニット酪農家の試料では80％が400万以上であり，しかもそれらの大多数が1001万以上であった。

表3には，工場生乳における細胞数の出現状況を示した。

Table 3. Udder cell count of raw milk samples from processing plant

Cooling	No. of sample	Udder cell count／ml ($\times 10^4$)				
		＜5	6－10	11－25	26－50	＞51
Bulk cooler	46(100.0) *	0	0	2(4.3)	0	44(95.7)
Unit cooler	181(100.0)	6(3.3)	13(7.2)	41(22.7)	27(14.9)	94(51.9)
Total	227(100.0)	6(2.6)	13(5.7)	43(18.9)	27(11.9)	138(60.8)

* Number in parenthesis indicates percentage

表から明らかなように，細胞数の著しく多い試料が多く，特に51万以上の試料が60％もあった。生乳中の細胞数は生乳の冷却方法とは直接関係ないと思われるが，バルク酪農家の試料ではほとんどが51万以上であった。一方，ユニット酪農家の試料では50万以下と以上とがほぼ半々にみられた。なお，

表には示さなかったが，51万以上の試料はほとんどすべてCMT法（カリフオルニア・マスタイテイ・テスト）[3]で強い陽性を示した。

次いで表4には，工場生乳における3種培養菌数および大腸菌群数の出現状況と平均値（対数）を示した。

Table 4. Viable bacterial counts at 5°C, 20°C and 35℃ incubation, and coliform count of raw milk samples from processing plant

Cooling	No. of sample	Incubation temperature	Bacterial count／ml 10^2-10^3	10^4-10^5	10^6-10^7	10^8	Average (Log.)
Bulk cooler	15	5°C	15	0	0	0	3.21 ± 0.30
		20°C	0	13	2	0	5.66 ± 0.32
		35°C	0	13	2	0	5.66 ± 0.36
		Coliform	1	14	0	0	4.45 ± 0.36
Unit cooler	65	5°C	19	39	7	0	4.76 ± 0.97
		20°C	0	4	58	3	7.00 ± 0.69
		35°C	0	6	57	2	6.97 ± 0.71
		Coliform	5	52	7	0	4.98 ± 0.90

5°C培養の低温細菌数は，バルク酪農家では10^2～10^3の，ユニット酪農家では10^4～10^5の試料がそれぞれ多かった。また，20°Cおよび35°C培養菌数は，バルク酪農家では10^4～10^5の，ユニット酪農家では10^6～10^7の試料が多かった。大腸菌群数は，バルク酪農家およびユニット酪農家ともに10^4～10^5の試料が多かったが，平均値では大腸菌群数を含むいずれの生菌数ともユニット酪農家の方で多かった。また，20°C培養菌数と35°C培養菌数の出現状況および平均値は，バルク酪農家およびユニット酪農家ともに，それぞれほぼ同じであった。

2　酪農家生乳について

バルク酪農家およびユニット酪農家各4戸で段階別に採取した生乳のRTの成績は，表5に示した。

多くの試料は，RTで1級および2級を示した。しかし，0級の試料が全くなく，また乳房乳のみではあったが，4級および5級の例も各1試料あり，予想に反して悪い成績であった。なお，4級および5級の乳房乳は同一酪農家のものであり，同試料は総菌数，生菌数および細胞数も著しく多く，さらにCMT法でも強い陽性を示した。

酪農家生乳における総菌数の出現状況およびその平均値を表6に示した。

大多数の試料は総菌数400万以下であったが，後段階の試料ほど総菌数が多くなる傾向を示した。しかし，注目されるのは，乳房乳においてもすでに401万以上の例がみられることであり，これらのうち2試料はRTで4級および5級を示した。

一方，総菌数の平均値は，バケット乳と冷却前乳とでほぼ同じであり，この間の増加はほとんどみられなかった。しかし，バケット乳の総菌数は乳房乳のそれの約2倍であり，バルク酪農家およびユニッ

Table 5. Distribution of class by resazurin test of raw milk samples from dairy farms

Sample	Cooling	No. of sample	Class by resazurin test					
			0	1	2	3	4	5
Mammary milk	Bulk	24	0	10	9	3	1	1
	Unit	24	0	15	5	4	0	0
Bucket milk	Bulk	11	0	0	7	4	0	0
	Unit	10	0	5	3	2	0	0
Milk before cooling	Bulk	4	0	0	2	2	0	0
	Unit	4	0	0	3	1	0	0
Cooled milk	Bulk	4	0	1	3	0	0	0
	Unit	4	0	0	3	1	0	0

Table 6. Direct microscopic bacterial count of raw milk samples from dairy farms

Sample	Cooling	No. of sample	Direct microscopic count / ml ($\times 10^4$)				
			<50	51−100	101−400	>401	Average
Mammary milk	Bulk	24	11	4	6	3	131.4 ± 161.3
	Unit	24	8	12	3	1	83.3 ± 82.8
Bucket milk	Bulk	11	1	5	2	3	233.1 ± 201.7
	Unit	10	0	2	8	0	158.0 ± 97.6
Milk before cooling	Bulk	4	0	2	1	1	220.5 ± 146.2
	Unit	4	0	2	2	0	142.0 ± 58.0
Cooled milk	Bulk	4	0	1	2	1	242.0 ± 154.1
	Unit	4	0	0	3	1	235.5 ± 142.9

ト酪農家ともにこの段階での増加が目立った。また，冷却乳においては冷却前乳に比較して，バルク酪農家ではわずかに増加したのみであったが，ユニット酪農家ではほぼ1.6倍増加した。今回の調査において，各段階の総菌数の平均値では，ユニット酪農家よりバケット酪農家で高かったが，この理由については詳しく追究しなかった。

なお，各段階における総菌数の出現状況は，酪農家によってまちまちであると同時に，乳房乳では同一酪農家でも乳牛個々によって著しく異なっていた。さらに，ここには細胞数の出現状況についても表示しなかったが，工場生乳と同様に細胞数の多い試料が多かった。特に，乳房乳の48試料中19（39.6%）が51万以上であり，これらはCMT法でも陽性であった。

次に，酪農家生乳の3種培養菌数および大腸菌群数を平均値（対数）で表7に示した。

Table 7. Viable bacterial counts at 5°C, 20°C and 35°C incubation, and coliform count of raw milk samples from dairy farms

Sample	Cooling	No. of sample	Bacterial count (Log.) /ml			Coliform count (Log.)
			5°C	20°C	35°C	
Mammary milk	Bulk	24	0.40 ± 0.87	3.88 ± 1.08	4.04 ± 0.96	0.52 ± 0.66
	Unit	24	0.15 ± 0.30	3.65 ± 0.72	3.79 ± 0.73	0.16 ± 0.52
Bucket milk	Bulk	11	1.98 ± 1.38	5.63 ± 0.42	5.57 ± 0.38	2.82 ± 1.45
	Unit	10	1.76 ± 0.98	5.12 ± 0.54	5.13 ± 0.49	2.96 ± 0.47
Milk before cooling	Bulk	4	2.91 ± 1.18	5.60 ± 0.43	5.68 ± 0.19	3.09 ± 0.73
	Unit	4	2.10 ± 0.70	5.23 ± 0.35	5.17 ± 0.33	3.09 ± 0.69
Cooled milk	Bulk	4	3.62 ± 0.91	5.59 ± 0.44	5.61 ± 0.34	2.76 ± 0.66
	Unit	4	3.20 ± 0.50	5.78 ± 0.47	5.77 ± 0.42	3.26 ± 0.79

乳房乳では，低温細菌数および大腸菌群数はごく少数であり，乳房乳に存在する細菌の多くは，20°Cまたは35°C培養で増殖する細菌であることを示している。バケット乳では，各培養菌数は著しく増加し，バケットを含むミルカーからの汚染が明らかであった。その後の段階において，低温細菌数はクーラーの使用別に関係なく，各酪農家とも増加し続けた。低温細菌数以外の細菌数は，ユニット酪農家ではわずかずつ増加したが，バケット酪農家ではほとんど増加しなかった。

3 RTと総菌数，3種培養菌数および大腸菌群数との関係

RTと各細菌数との関係は，工場生乳のみについて，総菌数との関係を表8に，また3種培養菌数および大腸菌群数との関係を表9に，それぞれ示した。

RTと総菌数の関係は，表8に示したように，0級および1級のほとんどが400万以下であった。また，2級では54試料のうち38試料（70.4%）が400万以下であり，これは昨年度の成績とほぼ同じ

Table 8. Relationship between resazurin test and direct microscopic bacterial count of raw milk samples from processing plant

Class by resazurin test	No. of sample	Direct microscopic count／ml ($\times 10^4$)			
		＜100	101 − 400	401 − 1000	＞1001
0	3	2	1	0	0
1	36	26	9	1	0
2	54	4	34	12	4
3	45	0	1	15	29
4	12	0	0	2	10
5	77	0	0	0	77
Total	227	32	45	30	120

Table 9. Relationship between resazurin test and viable bacterial counts at three temperatures or coliform count of raw milk samples from processing plant

Class by resazurin test	No. of sample	Bacterial count (Log.)／ml			Coliform count (Log.)
		5°C	20°C	35°C	
0	2	3.87 ± 0.28	5.87 ± 0.36	5.60 ± 0.09	3.97 ± 0.70
1	13	3.50± 0.69	5.68 ± 0.52	5.63 ± 0.47	4.11 ± 0.70
2	18	3.83± 0.70	6.19 ± 0.52	6.20 ± 0.52	4.47 ± 0.56
3	15	4.80± 0.78	6.88 ± 0.30	6.85 ± 0.30	4.87 ± 0.48
4	4	5.15± 0.72	7.23 ± 0.12	7.17 ± 0.17	5.32 ± 0.35
5	28	5.10± 1.05	7.52 ± 0.41	7.53 ± 0.38	5.52 ± 0.75

であった。一方，RT で3級以上を示した試料では，3級の1試料を除くすべてが400万以上であり，これらの大多数は1,001万以上であった。

次に，RT と各培養菌数（平均値）の関係は，表9に示したように，RT の級が高いほど各細菌数とも増加した。なお，0級および1級の試料では，20°Cおよび35°C培養菌数ともに 10^6／ml 以下がほとんどであり，2級の試料では 10^6／ml 以下と以上とが約半々みられた。3級以上の試料はすべて 10^6／ml 以上であった。

Ⅳ　考　　察

工場生乳については，昨年度と同様夏季に検査を行なったが，昨年度の成績[2]では1例もみられなかった総菌数100万以下の試料が，今回の成績では14%あり，若干良くなった。しかし，相変わらず総菌数および各培養菌数の著しく多い試料が目立ち，特に総菌数1,001万以上の試料が全体の53%を占めた。このような成績は，前報[2]でも記述したように，他府県においては決してみられないことであり，細菌学的乳質の改善には本県でも早急に取組む必要があろう。

酪農家でのクーラーの使用別にみると，総菌数400万以下の試料は，バルク酪農家では91%であったのに対し，ユニット酪農家ではわずかに19%であった。逆に，1,001万以上の試料は，前者では0%，後者では66%もあり，明らかにユニット酪農家の生乳で悪い成績であった。さらに，バルク酪農家の試料は，ユニット酪農家のそれに比べて，3種培養菌数および大腸菌群数も少なかった。なお，ユニット酪農家の試料では，同一酪農家のものでも輸送缶によって細菌数が著しく異なるものがあった。これは，すでに前報でも記述したように，一部の輸送缶の冷却不備によるものと思われるが，さらに夏季の高温時にはユニットクーラーの冷却力に問題があるのかもしれない。以上のことから，本県のような高温環境において細菌学的に良質な生乳を確保するためには，生乳の十分な冷却が重要であり，各酪農家でのバルククーラーの設置が望まれる。

一方，各酪農家で段階別に採取した生乳では，乳房乳においても細菌数の多い例が目立ち，日越と浜田が北海道で検査した分房乳の成績[1]に比較して悪い成績であった。また，乳房乳には，細菌数および細胞数が多いうえに，CMT法で強い陽性を示し，乳房炎乳を疑わせるような例もあった。さらに，バケット乳では乳房乳に比べて，総菌数が約2倍，各培養菌数が10^1～10^2も増加した。これらのことは，乳牛の健康管理および衛生管理に，またミルカーの洗浄，消毒，その保管，使用方法などに不備な点があることを示していよう。なお，今回は予備的に乳牛，牛舎などの清潔度と各細菌数の出現状況を検討してみたが，外観的な清潔度と細菌数の多少とは必ずしも一致しなかった。これらについては，さらに詳細に調査する必要がある。

各段階別の生乳における総菌数および各培養菌数は，バルク酪農家の方がユニット酪農家より多かった。しかし，冷却前と後の生乳における各細菌数の増加率は，ユニット酪農家の方で高かった。これらのことから，乳房および生乳の接触する器具類の細菌による汚染度は，バルク酪農家の方で高いが，汚染した細菌の増殖を抑制するには，バルククーラーの方が優れていると思われる。これは，前述の工場生乳における成績を裏付けているが，バルク酪農家の生乳でも低温細菌数の増加がみられたことには注目すべきであろう。

本県でもバルク酪農家の生乳に限って，タンクローリーによる隔日集乳が実施されつつある。このことは，すでに先人[6,8]も指摘しているように，生乳の保存期間が延長される結果，低温細菌数の増加をうながし，本細菌による品質低下を来たす可能性がある。また，十分な冷却が行なわれていても，終末細菌数は最初汚染細菌数に影響されることが報告されている[4]から，乳房などの清潔保持はもち論，生乳の接触する器具類の衛生管理には十分留意する必要がある。

最後に，RTと総菌数または各培養菌数との関係は，前報[2]の成績とほぼ同じであり，また他の研究者の報告[7,9]ともほぼ一致した。すなわち，RTで0級および1級のほとんどすべてと，2級の大多数の生乳では総菌数が400万以下であるのに対し，3級以上はほとんどすべて400万以上であった。これらの区分は，20°Cおよび35°C培養菌数の10^6／mlを基準にして区分した場合とほぼ一致した。

V 要　約

著者らは，沖縄県における生乳の細菌による汚染状況を調査中であるが，今回は，バルク酪農家とユニット酪農家とに分け，それらの工場生乳および酪農家で段階別に採取した生乳について，調査を行なった。

工場生乳のRTは，バルク酪農家の46試料すべてが2級以下であったが，ユニット酪農家の181試料では2級以下が27％であった。総菌数は，バルク酪農家の試料では91％が400万以下であったのに対し，ユニット酪農家の試料では80％が逆に400万以上であった。また生菌数は，20℃および35℃培養では10^4～10^8，5℃培養では10^2～10^7，大腸菌群数では10^2～10^6の範囲にあったが，バルク酪農家の試料はユニット酪農家のそれに比べて，いずれの細菌数も少なかった。なお，細胞数は51万以上の試料が62％もあり，特にこのような試料はバルク酪農家に多かった。

一方，酪農家で段階別に採取した試料のRTは，乳房乳では1～2級が，バケット乳，冷却前乳および冷却乳では2～3級が多かった。総菌数，3種培養菌数および大腸菌群数は，一般に後段階ほど増加したが，各細菌数の増加率はバケット乳で最も高かった。また，冷却乳の各細菌数は，冷却前乳のそれに比べて増加したが，増加率はバルク酪農家よりユニット酪農家の方で高かった。

なお，RTの級と各細菌数との関係は，級が高いほど細菌数も多かった。

試料の採取に多大なご協力をいただいた乳業会社および各酪農家の方々に感謝する。

参　考　文　献

1. 日越博信，浜田輔一　1976　搾乳直後分房乳における低温細菌群，食衛誌，**17**：27～33
2. 日越博信，大城盛徳，赤嶺辰雄，田港朝明　1977　レサズリンテストを中心とする生乳の細菌学的検査，琉大農学報，**24**：487～496
3. 北海道酪農検査所編　1972　生乳取扱技術必携，p 131～136，札幌市，北海道酪検査所
4. 加藤英一，浜田輔一，石川　恒　1958. 乳中細菌の増殖に関する研究，日獣会誌，**11**:13～15
5. 厚生省環境衛生局監修　1973　食品衛生検査指針　I　p87～115，東京，日本食品衛生協会
6. 中江利孝　1976　微生物学的見地からみた原料乳及び市乳の諸問題，酪農科学・食品の研究，**25**：233～240
7. 笹野　貢，岡田迪徳，長南隆夫，大浦義教　1974　レサズリン試験に関する研究，酪農科学・食品の研究，**23**：40～42
8. Thomas, S. B. and Thomas, B. F. 1973 Psychrotrophic bacteria in refrigerated bulk–collected raw milk, Dairy Inds., **38**：11～15
9. ――――, ――――　1974 The development of dye reduction tests for the bacteriological grading of raw milk 2：Resazurin test, Dairy Inds., **39**: 31～34

Summary

Although the authors' survey of the status of bacterial contamination of raw milk in Okinawa, Japan, is still under way, an investigation has recently been made for contamination of the raw milk delivered to the processing plant by the dairy farms. and of the mammary milk, bucket milk, milk before cooling, and cooled milk at the farms, by classifying the farms into those using the bulk cooler and those using the unit cooler, and the following have been found:

The resazurin test of raw milk delivered to the plant showed that 46 samples delivered by the farms using the bulk cooler were all classed as class 2 or below, while only 27% of 181 samples delivered by the farms using the unit cooler were classed as such. The direct microscopic count was not more than 4,000,000/ml in 91% of the samples delivered by the farms using the bulk cooler, while conversely 80% of the samples delivered by the farms using the unit cooler were found to contain not less than 4,000,000/ml. In all of these samples, the viable bacterial count was $10^2 \sim 10^7$/ml by incubation at 5°C, and $10^4 \sim 10^8$/ml by incubation at 20°C and 35°C, and the coliform count, $10^2 \sim 10^6$/ml, however, the number of either bacteria in the samples delivered by the farms using the bulk cooler was smaller than that in the samples delivered by the farms using the unit cooler.

The resazurin test of the samples collected at the dairy farms showed that many samples of mammary milk were classed as 1 or 2 class, while many samples of bucket milk, milk before cooling and cooled milk were classed as 2 or 3 class. The direct microscopic count, the viable bacterial counts by the three different ways of incubation and the coliform count were greater at the later stages, however, the ratios of increase in the numbers of bacteria were greatest in the bucket milk. The ratio of increase in the number of bacteria in the cooled milk to that in the milk before cooling was higher in the samples from the farms using the unit cooler than in those from the farms using the bulk cooler.

There was such a relationship between the classes by the resazurin test and the numbers of bacteria that the higher the class, the greater were the numbers of bacteria.