

黒毛和種子牛の
母乳性白濁に関する研究

一九三八年

東京大学农学部
畜产学系研究科

三三三三

黒毛和種子牛の 母乳性白痢に関する研究

岡 田 啓 司

目 次

第1章 緒言	1
1 子牛の白痢	2
2 下痢発症子牛からの病原微生物の検出率	2
3 感染性白痢の証明	3
4 病原微生物の検出率と白痢発症との関係	3
5 非感染性要因による子牛白痢発症の可能性	4
6 本研究の作業仮説	5
7 本研究の意図と論文構成	5
第2章 黒毛和種白痢発症子牛とその母牛の血液および乳汁の性状	7
緒言	8
材料および方法	8
1 供試牛と飼養条件	8
2 試験区の設定	8
3 血液検査項目および方法	9
4 乳汁検査項目および方法	9
5 子牛の糞便の評価	10
6 統計処理	10
成績	10
1 臨床所見	10
2 血液および乳汁の検査成績	11
1) 第1病日の母牛の血液検査成績	11
2) 第1病日の母牛の乳汁検査成績	11
3) 第1病日の子牛の血液検査成績	11
考察	12
小括	16
図表	17
第3章 黒毛和種牛群における子牛の白痢発症と母牛の栄養状態との関係（牛群の代謝プロファイルテストによる解析）	22
緒言	23
材料および方法	23
1 対象農家	23
2 牛群検診の実施方法	23
3 データ処理	24
成績	24
1 牛群検診成績	24

1) 母牛の給与飼料診断	24
2) 子牛白痢の発症状況	25
3) 代謝プロファイルテスト成績	25
(1) エネルギー代謝関連項目の検査	25
(2) ボディコンディションスコア	25
(3) 蛋白質代謝関連項目の検査	26
(4) ルーメンコンディション関連項目の検査	26
2 飼料給与内容の改善とその後1年間の子牛白痢の発症状況	26
考察	27
小括	32
図表	33
第4章 分娩後の黒毛和種母牛の血液および乳汁の変化と子牛の白痢発症の関係	
緒言	41
材料および方法	42
1 供試牛および飼料給与内容	42
2 材料の採取と測定	42
成績	43
1 給与飼料と白痢発症	43
2 血液検査成績	43
3 乳汁検査成績	44
考察	45
小括	48
図表	49
第5章 黒毛和種子牛の母乳性白痢発症試験における母牛および子牛の生体内変化	
緒言	53
材料および方法	54
1 供試牛および試験期間	54
2 給与飼料	55
1) 母牛	55
2) 子牛	55
3 搾乳	55
4 材料の採取、処理および保存	56
1) 乳汁	56
2) 血液	56
3) ルーメン液	56

4) 糞便	56
5 検査項目および方法	57
1) 乳汁	57
2) 血液	57
3) ルーメン液	58
4) 糞便	58
6 データ処理	59
成績	59
1 母牛の分娩後からデントコーンサイレージ給与開始までの 飼料給与内容および泌乳量	59
2 デントコーンサイレージ給与後の子牛の臨床経過と母牛の 検査成績	59
1) 子牛の臨床経過	59
2) 母牛の臨床経過	60
3) 飼料充足状況	60
4) 母牛のルーメン液の変化	60
(1) pH	61
(2) 原虫の運動性	61
(3) 総原虫数	61
(4) 生細菌数	61
(5) アンモニア濃度	61
(6) VFA濃度	61
5) 母牛の血液の変化	62
(1) 脂質の転送系	62
(2) 脂質HDL系	62
(3) 総胆汁酸	62
(4) 脂質逆転送系・ケトン体	62
(5) 血糖値	63
(6) 蛋白代謝系	63
(7) 無機成分	63
(8) 肝臓酵素	63
6) 母牛の乳汁の変化	63
(1) 乳量、アルコールテスト、pH	64
(2) カゼイン凝固時間	64
(3) 乳脂肪、乳蛋白、乳糖	64
(4) 脂肪酸組成	64
(5) 無機成分	65
(6) ケトン体濃度	65
3 デントコーンサイレージ給与後の子牛の検査成績	66

1) 子牛の糞便中腸内生細菌数の変化	66
2) 子牛の血液の変化	66
4 デントコーンサイレージ給与前に白痢を発症した個体 (試験牛DC) とその母牛 (試験牛D) の検査成績	67
1) 母牛のルーメン液	67
2) 母牛の血液	67
3) 母牛の乳汁	67
4) 子牛の糞便と血液	68
考察	68
母牛個体のMPT	72
子牛個体のMPT	74
自然発症例	76
まとめ	77
小括	79
図表	80
第6章 子牛の”母乳性白痢”の発症機序に関する総合考察 ならびに結語	118
1 緒言	119
2 MPT実施牛群と発症試験牛の比較	119
3 アルコール不安定性母乳と子牛白痢の関連	119
4 母牛への給与飼料成分と子牛白痢の関連	121
5 乳汁成分と子牛白痢の関連	122
6 母牛の血液成分と子牛白痢の関連	123
7 子牛の臨床症状・血液および糞便の変化と白痢の関係	124
8 第4章および第5章における、デントコーンサイレージ給与 とは無関係の子牛白痢の発症	125
9 結語	125
第7章 総括	127
謝辞	131
引用文献	132

第 1 章

緒 言

1 子牛の白痢

子牛の下痢症のうち、糞便中に不消化脂肪を多く含み黄色～白色の下痢便を排出する症候群は白痢と呼ばれ、大腸菌、ロタウイルス、コロナウイルスが主な原因とされている。これら白痢を含む子牛の下痢の発症日齢については、Acres ら (3) は、40 頭中 32 頭 (80%) の子牛で生後 10 日以内に下痢の発症したことを認めている。DeLeeuw (14) は、子牛の下痢症を早発性下痢と遅発性下痢に分類し、毒素原性大腸菌 K99 株に起因する下痢の大部分は生後 3 日以内の早発性下痢に含まれるとしている。また、Krogh (43) は 1,814 頭の下痢症子牛あるいは死亡子牛から採材した糞便の微生物学的検索を行い、毒素原性大腸菌は 16.4% から検出され、それらの子牛の日齢はほとんどが 1 週間以内であったと報告している。Allen と White (6) は 3 年間で 793 頭の子牛を剖検しての調査で、大腸菌は生後 5 日以内、ロタウイルスは 1～4 週齢の牛から主に分離している。Shah と Jhala (71) は 1 週齢以下の下痢症子牛の糞便の 30% からロタウイルスを検出している。

このように白痢の原因となる病原微生物のうち、毒素原性大腸菌による白痢は生後 1 週齢以内に多発し、それ以降はロタウイルスによるものが主流を占めている。

2 下痢発症子牛からの病原微生物の検出率

これらの下痢を呈する子牛の糞便からの病原微生物の検出率については、多くの報告がある。

Acres ら (3) は、下痢子牛の糞便の 29.7% から大腸菌、24.1% からロタウイルスを検出し、この両者による下痢症が最も発症頻度が高かったことを報告している。さらに Acres ら (4) は、59 牛群の 222 頭の子牛の 31% から大腸菌、37% からロタウイルスを検出し、Morin ら (50) は、大腸菌とロタウイルスによる下痢の発症割合はそれぞれ 13～15% と 5～20% と報告している。恒光ら (81) は、同一牧場における 2 年間の連続調査で、それぞれの年のロタウイルスの年間検出率は 72% と 29.4%、K99 株保有大腸菌の検出率は 0% と 47.1% であったことを認めている。

この他、下痢症子牛の糞便からの毒素原性大腸菌あるいはその毒素の検出は、Krogh (43) は 16.4%、Isaacson ら (36) は 53%、Wieler ら (87) は 21.9% と報告している。

ロタウイルスについては、Shah と Jhala(71) は8 週齢以下の下痢症子牛 116 頭の糞便の 20.6% から検出しており、コロナウイルスについては、Tsunemitsu ら (82) は下痢発症牛 180 頭中 5 頭から分離している。

さらに Snodgrass ら (75) は、子牛の下痢が発症した 32 農場の 78% からロタウイルス、75% からクリプトスポリジウム、41% からコロナウイルス、13% から毒素原性大腸菌、6% からサルモネラを検出している。

このように報告によってばらつきはあるものの、下痢発症子牛の糞便の多くから病原性微生物が検出され、下痢と感染の間には密接な関連のあることがわかっている。

3 感染性白痢の証明

さらに病原微生物を子牛に経口投与することにより白痢を発症させる感染試験が行われている。ロタウイルスについては、Castrucci ら (11) および Goute ら (25) 、コロナウイルスについては Goute ら (25) および Kapil ら (39) 、大腸菌については Goute ら (25) および Tzipori ら (83) 、大腸菌とロタウイルスの混合感染については Snodgrass ら (74) の報告がある。このように、感染を成立させることにより白痢の発症することが実証されており、また、病理学的研究 (45、49) から、感染性白痢の病態は明らかになっている。

4 病原微生物の検出率と白痢発症との関係

農林水産省の家畜共済統計表 (54、55) によると、全国における子牛の白痢による死亡頭数は 1989 年の 1,687 頭から 1995 年には 2,185 頭に増加し、感染症に対する治療や予防の知識が十分に浸透しているにも拘わらず、その効果は見えてきていない。

そこで過去の報告を見直してみると、健康子牛からも病原微生物は分離されている。Weiler ら (87) は、大腸菌由来の Shiga-like toxin を下痢発症子牛の 21.9% から検出すると同時に、健康子牛の 12.9% から検出した。Murakami ら (51) は、ある牛群の 22 頭の子牛の追跡調査を行

い、子牛の下痢症は気温の較差が大きい日が続いた後に集団発症し、無症状感染や反復感染もあり、症状、ウイルス排出、抗体上昇の間には相関のないことを報告している。Acres ら (3) は、40 頭中 32 頭 (80%) で生後 10 日以内に下痢が発症したが、大腸菌およびロタウイルスの検出率は下痢子牛がそれぞれ 29.7%、24.1%であったのに対して、非発症子牛が 1.4%、21.6%でありロタウイルスの検出率には差のないことを認めている。Isaacson ら (36) は、17 日齢以下の子牛 62 頭中 34 頭で下痢が発症し、下痢子牛の 53%と非発症子牛の 15%から腸管毒素性大腸菌を分離している。Snodgrass ら (75) は、32 農場の下痢子牛 302 頭と下痢症が発症していない 14 農場の健康子牛 49 頭の微生物学的検索を行い、下痢子牛群と健康子牛群の間での各微生物の検出割合は、ロタウイルスのみで 2 群間に有意差が認められたが、コロナウイルス、クリプトスポリジウム、腸管毒素性大腸菌、サルモネラは、2 群間の検出割合に差のなかったことを報告している。

このように、臨床的に健康な子牛からも病原性微生物は検出されており、病原性微生物の感染が直接発症に結びつくとは限らないようであり、原因不明の白痢の存在が少なくないことがうかがえる。さらに Allen と White (6) は、3 年間で 793 頭の子牛を剖検し、その 25%は腸炎であったが、そのうちの 33%は微生物学的検索から原因が不明であったことを認めている。これらの報告は感染が成立しない下痢の存在の可能性を示唆するものと考えられる。

5 非感染性要因による子牛白痢発症の可能性

現在の子牛の白痢に関する考え方は、上記の実証的研究に基づいて、感染性疾患として扱われている。しかし、臨床現場では、抗生物質の投与で治癒しない症例や再発を繰り返す症例も多く、抗生物質の連用による腸炎の存在 (69) も指摘されている。

さらに子牛の感染防御の観点から、初乳中の移行抗体の摂取不足と易感染性との関連が注目され (17)、新生子期の血中コルチゾールの高値 (30) や低体重 (17) 等、子牛の生体機能の異常と下痢症との関連についても報告されている。

いっぽう、非感染性白痢としては、食餌性アレルギー (20)、乳糖不耐性 (61)、代用乳の脂

肪成分の違いによる白痢（18）などが報告されている。

母乳の異常による白痢に関しては、母乳のカゼイン凝固時間の延長（37,38）との関連の報告がある。近年、臨床現場からは白痢を発症した子牛において胆汁分泌能の減退（35）のあることが報告され、筆者らも、白痢発症子牛において脂質代謝や膵臓機能の異常（60）を認めている。また、断乳療法により白痢の治癒した子牛を母牛につけると白痢が再発したり、乳牛の産後疾患に伴って生じたアルコール不安定性母乳を子牛に給与すると子牛が下痢を発症することを経験しており、母乳性状と子牛の白痢の間には何らかの関連のあることを強く感じてきた。さらに本試験開始後に、国内の臨床獣医師からアルコール不安定性母乳と子牛白痢の関連を示唆する報告が連続してなされている（23,52,84）。しかし母乳が原因となる子牛の白痢については、いまだにその病因・病態は明らかではない。

6 本研究の作業仮説

以上のことから、子牛白痢の原因には、感染以外の要因、すなわち母乳の成分の変化が関与している可能性が考えられる。そこで、本研究は母乳の異常による白痢、いわゆる“母乳性白痢”の存在の証明とその発症メカニズムの解明を目的として行った。すなわち、

- 母乳の異常は子牛白痢の原因となりうるのか
- 母乳成分のうち、どの成分が子牛白痢の原因となるのか
- 母乳成分の変化は何に起因するのか
- 母乳成分の変化に伴い子牛の生体内でどのような変化が起きているのか

の4点についての試験を実施した。

7 本研究の意図と論文構成

論文構成は、第2章では、まず白痢を発症した黒毛和種子牛の母乳の多くがアルコール不安定性を呈しているという臨床経験に着目し、アルコール不安定性母乳を指標として、母牛の乳汁の性状

および血液性状と子牛の白痢の発症との関係を臨床例をもとに検討した。第3章では、母牛の乳汁の性状および血液性状の変化と母牛の栄養状態との関連を究明するため、黒毛和種雌牛において代謝プロファイルテストを行った。次に第4章では、分娩後および子牛の白痢発症前後における母牛の栄養状態の変化と子牛の白痢発症との関連を究明するため、白痢多発牛群の分娩後の母牛とその子牛を経日的に観察した。以上の結果に基づいて第5章では、母牛の飼料給与状態と子牛白痢発症の関係を明らかにするため、第4章で認められた母牛の給与飼料の変更による子牛白痢の発症試験を行い、変更前後の母牛および子牛の生体内変化をとらえ、母乳性白痢の原因とその発症機序について検討した。

第 2 章

黒毛和種白痢発症子牛とその母牛の 血液および乳汁の性状

緒言

黒毛和種子牛の白痢に関しては、従来から母乳の異常との関連を示唆する報告(37,38)が散発的にみられている。また近年、日本国内の臨床獣医師の間から黒毛和種牛における母乳の異常、特にアルコール不安定性母乳と子牛白痢の関連を示唆した報告(23,52,84)がなされている。

乳牛のアルコール不安定性母乳は、1970年代に牛乳の品質管理上の問題から注目され、いくつかの報告(31,32,33)がなされた。しかしアルコール不安定性母乳の発生のメカニズムは解明されておらず、黒毛和種雌牛のアルコール不安定性母乳に関する学術論文は見あたらない。

いっぽう、黒毛和種牛の母乳の性状に起因すると思われる白痢を臨床現場で診断できる手法としては、今日のところはアルコールテストのみである。さらに、乳汁成分は給与飼料により影響を受けるが、飼料の給与条件において乳牛のようなコントロールが行われておらず採食量が不明なうえ、泌乳量も不明なため、飼料および乳量からのアプローチは困難である。

そこで、黒毛和種子牛の白痢と母乳の性状との関連について、臨床現場での検査が可能なアルコールテストを中心に調査・検討を行った。

材料および方法

1 供試牛と飼養条件

供試牛は、E市の公共牧野(面積196ヘクタール、年間のべ230頭放牧)に放牧飼養されている黒毛和種牛の中から、白痢を発症した生後7~41日齢の子牛とその母牛16組、および対照として健康な母牛と子牛5組である。

これらの母牛は、5月10日から10月21日までの放牧期間中は、牧野に生育しているオーチャードを主体とした牧草を昼夜自由に採食し、分娩予定日の約1週間前から分娩後約1週間は、分娩房内で同一牧野で収穫した乾草およびヘイレージを自由に採食していた。子牛は出生直後から常時母牛と行動をともにし、随時哺乳していた。

2 試験区の設定

試験は1992年6月5日から9月6日の間に行った。

子牛に白痢が発症した第1病日にアルコールテスト陽性であった母牛9頭(A群)にはメンブロン製剤50g(メンブロンとして5g:エンドコール散、帝国臓器製薬(株)、東京)を2日間連日経口投与した。それらの子牛のなかで、体温が39.5℃以上であった7頭には抗生物質10ml(ピコザマイシンとして1g力価)の筋肉内注射を行い、体温が39.5℃未満で元気があり哺乳が良好であった2頭は無処置とした。

第1病日にアルコールテスト陰性であった母牛7頭(B群)およびその子牛は発症対照とし、子牛には従来法に従い抗生物質による治療(ピコザマイシン1g力価の筋肉内注射)を行った。

さらに、アルコールテスト陰性で子牛に白痢が発症しなかった5頭(C群)を非発症対照とした。

3 血液検査項目および方法

母牛と子牛の血液は第1病日に頸静脈から、フッ化ナトリウム加、EDTA加および血清分離剤加のそれぞれの真空採血管を用いて採取し、EDTA加血液は直ちにアミチェックメーター(京都第一科学(株)、京都)による血中アンモニア(NH₃)濃度の測定に供した。また、血清分離剤加血液は37℃10分間静置後、フッ化ナトリウム加血液は冷蔵保存後、それぞれ速やかに血清および血漿を分離し、測定まで-20℃に凍結保存した。母牛および子牛の血液検査項目および方法を表2-1に示した。

4 乳汁検査項目および方法

乳汁はオキシトシン50単位を頸静脈内に注射した後、直ちに全分房を手搾りにより搾りきり、その後搾り乳を採取し、アルコールテストおよびCMT変法による乳房炎の検査を行った。アルコールテストは各分房の乳汁について70%アルコールと等量混合して、その凝集の有無によって陰性か陽性かを分房毎に判定した。搾乳した4分房の合乳は4℃で冷蔵保存し、乳脂肪量をマイクロヘマトクリット管による高速遠心法(40)により測定した。その後、冷却遠心しクリーム層を除去して脱脂乳を分離し、その成分の測定に供した。脱脂乳生化学検査は、アルカリ性フォスファターゼ

(ALP: p-ニトロフェニルリン酸基質法)、 γ グルタミルトランスぺプチターゼ (γ GTP)、総蛋白質 (Tp)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (UN: ウレアーゼ GLDH 法)、グルコース (Glu)、カルシウム (Ca)、無機リン (iP) について、表 2-1 に示した血液と同様の方法により実施した。

5 子牛の糞便の評価

子牛の白痢の状態は表 2-2 に表記した通り、正常便の 0 から黄色あるいは白色水様便の 3 までの 4 段階にスコア化して表した。

6 統計処理

以上の検査により得られた各群の検査値の統計処理は t 検定で行った。

成 績

1 臨床所見

母牛の第 1 病日および第 3 病日におけるアルコールテスト成績と、子牛の両病日における白痢スコアおよび治癒までの日数を表 2-2 に示した。白痢発症子牛の母牛で、第 1 病日に乳汁がアルコールテスト陽性であったのは 9 頭 (56.3%) (A 群) であったが、CMT 変法は全頭とも陰性であった。その他の臨床的な変化は特に認められなかった。

第 1 病日の子牛の白痢の状態は、全頭とも白痢スコアが 2~3 の黄色あるいは白色の軟便あるいは水様便であった。第 3 病日には A 群の母牛のアルコールテストはすべて陰性となり、子牛の白痢スコアは 0~2 でほぼ治癒した。なお、このうちの 2 頭 (牛 Nos.1,6) の子牛は、母牛への処置のみで白痢スコアは 0~1 で治癒した。

乳汁がアルコールテストで陰性であった母牛 7 頭 (B 群) の子牛は、第 1 病日には白痢スコアが 2~3 の黄色あるいは白色の軟便あるいは水様便を呈していた。第 3 病日には 3 頭 (牛 Nos.12,14,16) の子牛の白痢スコアは 0~1 でほぼ治癒したが、他の 4 頭では黄色あるいは白色の軟便あるいは水様便が第 6~10 病日まで継続した。そのうちの母牛 1 頭 (牛 No.15) の乳汁は第

3 病日にアルコールテスト陽性を示し、この子牛の白痢は治癒するまでに 10 日を要した。

2 血液および乳汁の検査成績

1) 第 1 病日の母牛の血液検査成績

子牛に白痢が発症した第 1 病日における母牛の血液検査所見を表 2-3 に示した。

子牛が白痢を発症した母牛 (A、B 群) と無発症対照群の母牛 (C 群) の検査所見を比較した。

その結果、C 群に比べて A 群は遊離脂肪酸 (FFA) (A 群 $570 \pm 143 \mu\text{Eq/l}$ 、C 群 $324 \pm 120 \mu\text{Eq/l}$)、 β リポ蛋白 (β Lipo) (A 群 $73.3 \pm 12.0\text{mg/dl}$ 、C 群 $53.7 \pm 4.6\text{mg/dl}$) および尿素窒素 (BUN) (A 群 $7.0 \pm 2.0\text{mg/dl}$ 、C 群 $4.5 \pm 2.1\text{mg/dl}$) が有意な高値を示した。また B 群は FFA (B 群 $564 \pm 133 \mu\text{Eq/l}$ 、C 群 $324 \pm 120 \mu\text{Eq/l}$)、 β Lipo (B 群 $71.7 \pm 8.4\text{mg/dl}$ 、C 群 $53.7 \pm 4.6\text{mg/dl}$) が有意な高値を示した。

さらに A 群は B 群に比べて、血中 NH_3 (A 群 $29.6 \pm 12.0 \mu\text{g/dl}$ 、B 群 $16.5 \pm 8.6 \mu\text{g/dl}$) が有意な高値を示した。血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビン、血中肝臓酵素 (AST、 γ GTP) は、群間で差異は認められなかった。

2) 第 1 病日の母牛の乳汁検査成績

子牛に白痢が発症した第 1 病日における母牛の乳汁検査所見を表 2-4 に示した。

C 群に比べて A 群は、乳脂肪率 (A 群 $7.2 \pm 3.3\%$ 、C 群 $9.8 \pm 3.7\%$)、脱脂乳中 ALP (A 群 $156 \pm 109\text{IU/l}$ 、C 群 $388 \pm 204 \text{IU/l}$)、Glu (A 群 $3.1 \pm 2.2\text{mg/dl}$ 、C 群 $7.0 \pm 2.8\text{mg/dl}$)、Ca (A 群 $28.3 \pm 1.7\text{mg/dl}$ 、C 群 $30.3 \pm 0.2\text{mg/dl}$) が有意な低値、 γ GTP (A 群 $2622 \pm 843\text{IU/l}$ 、C 群 $2111 \pm 214\text{IU/l}$)、iP (A 群 $53.9 \pm 4.8\text{mg/dl}$ 、C 群 $46.4 \pm 5.1\text{mg/dl}$) が有意な高値を示した。また B 群は脱脂乳中 ALP (A 群 $244 \pm 301\text{IU/l}$ 、C 群 $388 \pm 204\text{IU/l}$) が有意な低値、 γ GTP (A 群 $2456 \pm 537\text{IU/l}$ 、C 群 $2111 \pm 214\text{IU/l}$) が有意な高値を示した。

さらに A 群は B 群に比べて、脱脂乳中の Glu (A 群 $3.1 \pm 2.2\text{mg/dl}$ 、B 群 $13.9 \pm 12.0\text{mg/dl}$) および Ca (A 群 $28.3 \pm 1.7\text{mg/dl}$ 、B 群 $38.3 \pm 13.0\text{mg/dl}$) が有意な低値を示した。

3) 第 1 病日の子牛の血液検査成績

子牛に白痢が発症した第1病日における子牛の血液検査所見を表2-5に示した。

A群はC群に比べてFFA (A群 $400 \pm 96 \mu\text{Eq/l}$ 、C群 $279 \pm 48 \mu\text{Eq/l}$) が有意な高値を、総コレステロール (Tcho) (A群 $73.8 \pm 28.8\text{mg/dl}$ 、C群 $106.2 \pm 20.4\text{mg/dl}$)、リン脂質 (PL) (A群 $80.0 \pm 32.5\text{mg/dl}$ 、C群 $137.2 \pm 28.9\text{mg/dl}$)、 βLipo (A群 $112.1 \pm 53.7\text{mg/dl}$ 、C群 $175.7 \pm 27.0\text{mg/dl}$) およびトリグリセリド (TG) (A群 $33.1 \pm 20.3\text{mg/dl}$ 、C群 $64.0 \pm 10.2\text{mg/dl}$) が有意な低値を示した。

B群はC群に比べてTcho (B群 $70.9 \pm 20.2\text{mg/dl}$ 、C群 $106.2 \pm 20.4\text{mg/dl}$)、PL (B群 $78.4 \pm 26.8\text{mg/dl}$ 、C群 $137.2 \pm 28.9\text{mg/dl}$)、 βLipo (B群 $76.0 \pm 33.0\text{mg/dl}$ 、C群 $175.7 \pm 27.0\text{mg/dl}$) およびTG (B群 $13.8 \pm 7.6\text{mg/dl}$ 、C群 $64.0 \pm 10.2\text{mg/dl}$) が有意な低値を示した。

また、A群はB群に比べてTG (A群 $33.1 \pm 20.3\text{mg/dl}$ 、B群 $13.8 \pm 7.6\text{mg/dl}$) は有意な高値を示した。

考 察

黒毛和種子牛の白痢発症と母乳の性状との関連性を探る目的で、白痢発症子牛および母牛の臨床症状を観察し、血液および乳汁の検査を行った。

子牛の白痢発症には、アルコールテスト陽性乳、すなわちアルコール不安定性母乳の関与を示唆した報告 (23,52,84) があるので、アルコールテストと子牛白痢の関連性を検討した。生後1~6週齢に白痢を発症した子牛の母牛16頭のうち9頭 (56.3%) の乳汁は第1病日にアルコールテストが陽性であったので、これらの母親 (A群) にメンブトン製剤を投与した。メンブトン製剤は膵液および胆汁の分泌を促進する作用を有するいっぽう、臨床現場では、経験的に乳牛のアルコール不安定性母乳の唯一の治療薬として以前より用いられているが、その薬理作用は不明である。このメンブトン製剤を投与した結果、第3病日には全頭でアルコールテスト不安定性母乳の改善が認められた。そして、ほぼ同時期に子牛の白痢が治癒したことから、アルコール不安定性を示す母乳は、子牛の白痢発症と何らかの関連のある可能性が示唆された。

いっぽうアルコールテストが陰性であった B 群の母牛 7 頭の子牛は感染性の下痢である可能性も考えられたが、細菌およびウイルスの検索を行っていないためその原因は不明であった。なお B 群の子牛 1 頭は、母牛の乳汁が第 3 病日にアルコールテスト陽性を呈し、子牛の白痢が治癒するまでに 10 日を要した。このことから、アルコール不安定性を示す母乳が子牛の白痢を悪化させている可能性も否定できなかった。

そこで、白痢の発症および乳汁のアルコール不安定性と乳汁成分の関連を調べる目的で、子牛の白痢が発症した A 群および B 群の母牛の第 1 病日の乳汁成分を、白痢が発症しなかった C 群の母牛のそれと比較した。

A 群および B 群の母乳は C 群の母乳に比べて、脱脂乳中 ALP が有意な低値、 γ GTP が有意な高値を示した。ALP は乳腺上皮細胞中に多く含まれる (21) ため、飯塚ら (33) は、アルコール不安定性母乳における ALP の低値は乳腺機能の減退を示していると考えしている。本試験ではアルコール不安定性母乳の発現の有無に拘わらず、子牛に白痢が発症した A 群および B 群で ALP の低値が認められ、A 群でその低下が著しく、B 群は個体差が大きかった。これより、子牛の白痢の発症は母牛の乳腺機能の減退による可能性が考えられた。 γ GTP の群間の差の原因は不明であった。

さらに、アルコール不安定性を呈した A 群の母乳は、C 群のそれに比べて乳脂肪率、脱脂乳中 Glu および Ca が有意な低値、IP が有意な高値を示した。また A 群の母牛の乳汁は、アルコールテストが陰性であった B 群と比べても脱脂乳中の Glu および Ca は有意な低値を示した。黒毛和種牛でのアルコール不安定性母乳の成分に関する報告はないが、乳牛のアルコール不安定性母乳での生乳凝固の原因は、乳汁中の Ca^{++} の増加 (9, 73)、あるいは乳汁中 Ca やマグネシウムの増加 (77) であると報告されている。また、カゼインミセルの構造異常 (47) との考え方もある。本試験では乳汁中の Ca^{++} の測定は行っていないが、脱脂乳中 Ca は A 群が B 群および C 群に比べて有意に低く、 Ca^{++} の増加は考えがたいと思われた。A 群の脱脂乳中の Glu の低値は、乳糖の測定を行っていないため推測でしかないが、乳腺での Glu の利用が亢進したためと考えられた。

乳牛のアルコール不安定性母乳の発生誘因について、飯塚は環境的誘因、潜在的疾病、飼料的誘因および内分泌的誘因に分類している(31)。今回の試験は対照牛も含めて同一環境、同一飼料の条件下で行われたことから、飼養環境の差による白痢の発症の可能性は少ないものと思われた。潜在的疾病については全頭とも血液検査および乳汁のCMT変法に異常が認められなかったことから、その存在の可能性は低いものと思われた。飼料的誘因については高蛋白給与群あるいは低カロリー給与群(32)において発生の多いことが報告されている。本試験では子牛白痢発症群の母牛は、血液所見からエネルギー不足の状態にあったことから、これが今回のアルコール不安定性母乳の誘因と思われた。同一飼料を給与しながらエネルギー充足状況の異なる個体が認められた原因としては、各個体の採食量の差、泌乳量の差およびルーメンコンディションの差による消化能力の差が考えられた。内分泌的誘因については、発情時の高エストロジェンの状態が乳汁の Ca^{++} を増加させることによりアルコール不安定性母乳となることが報告されている(15)。本試験の実施期間中に外部発情徴候を示した個体は認められなかったが、直腸検査あるいはホルモンの測定を行っていないので、発情がなかったとは言い切れないため、この点に関しては今後検討する必要があると思われた。

次に、子牛の白痢発症と母牛の栄養状態の関連を調べる目的で、子牛の白痢が発症したA群およびB群の母牛の第1病日の血液を、白痢が発症しなかったC群の母牛のそれと比較した。その結果、A群とB群ではC群と比べてFFAおよび β Lipoが有意に高い値を示した。供試牛は公共牧野およびその牛舎に飼養されており、母牛の飼料は同一でオーチャード乾草を主体とした牧草およびヘイレージといった脂肪成分をほとんど含有しない飼料しか摂取していなかった。このことから、A群およびB群の母牛の血中FFAの高値は、ルーメンコンディションの差等に起因する負のエネルギーバランスを生じたため、ホルモン感受性リパーゼの活性が高まって体脂肪が動員されたため(27)と考えられた。 β Lipoの増加は、負のエネルギーバランス時にリポ蛋白リパーゼの活性が低下することから、血中での β Lipoの代謝が低下したことによると考えられた。また、A群の血中BUNがC群に比べて高値を示したのは血中 NH_3 の高値によるものと思われるが、いずれの値も正常値の範囲内であった。したがって正常範囲内でのルーメンコンディションのわずかな差異

(59) が栄養障害の何らかの原因になっている可能性が示唆された。

さらに、子牛が白痢を発症した母牛のうち、乳汁のアルコールテストが陽性であった A 群と陰性であった B 群の第 1 病日の母牛の血液を比較した。その結果、A 群の母牛は血中 NH_3 が有意な高値を示し、アルコール不安定性母乳とルーメンコンディションとの間に何らかの関連のある可能性が示唆された。

このような血液および乳汁成分に差異の認められた母牛の乳汁を哺乳していた子牛の血液成分の変動はどうであったろうか。白痢が発症した A 群および B 群の子牛の第 1 病日の血液は、白痢が発症しなかった C 群の子牛に比べて Tcho、PL、 β Lipo および TG が有意な低値を示した。このように A 群および B 群の子牛は低脂質血症を呈していたことから、消化管の浮腫などにより乳脂肪の消化、吸収が阻害されている (35,60) 可能性が示唆された。この原因としては、膵液や胆汁の外分泌の不良、腸管の炎症、カード形成不良による乳汁の腸管通過速度の亢進などが考えられ、子牛の哺乳量過剰が白痢の誘因 (60) となっている可能性は低いものと思われた。

いっぽう、A 群の子牛の血中 TG は C 群に比べれば低いものの B 群よりも高く、消化管における脂質の吸収は B 群よりも高いレベルで維持されていた可能性がある。一般に第四胃内カードの形成阻害因子としては、乳汁中のカルシウムイオン (Ca^{++}) の不足や高脂肪乳があげられている (26)。A 群の母牛の脱脂乳中 Ca が B 群および C 群に比べて有意に低値を示したことから、カード形成が阻害されていた可能性がある。ゆえに子牛の白痢の原因として、A 群では第四胃内のカード形成の阻害による消化不良、B 群では母乳以外に起因する白痢、すなわち感染性白痢が考えられ、A 群と B 群では白痢の発症要因の異なる可能性が示唆された。

以上のことより、供試牛は同一環境・同一条件で飼養されていたことから、母牛のルーメンコンディションの違いによりもたらされたエネルギー不足が最終的には乳汁成分・乳汁性状の変動を招き、ひいては子牛の白痢発症の誘因になっていることが強く疑われた。

小 括

黒毛和種子牛の白痢と母乳の性状との関連を明らかにするため、白痢発症子牛の発症時における血液と、その母牛の血液および乳汁の性状を調べて検討した。その結果、白痢を発症した子牛の母牛の血液性状において、負のエネルギーバランスを示唆する所見が認められた。

このことから、子牛の白痢の発症には、母牛のエネルギー不足に起因する乳汁の性状の変化が関与していることが示唆された。

表2-1. 血液検査項目および方法

項目	略号	単位	測定方法
赤血球数	RBC	10 ⁴ /μl	自動血球計数器法
白血球数	WBC	/μl	自動血球計数器法
ヘマトクリット	Ht	%	自動血球計数器法
ヘモグロビン	Hb	g/dl	自動血球計数器法
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ	AST	IU/l	MDH・UVレート法
γグルタミルトランスペプチターゼ	γGTP	IU/l	1グルタミルピロアニリド基質法
遊離脂肪酸	NEFA	μEq/l	ACS-ACO酵素法
総コレステロール	Tcho	mg/dl	コレステロール・オキシダーゼ法
リン脂質	PL	mg/dl	フォスフォリパーゼD法
βリポ蛋白	βLipo	mg/dl	ヘパリンカルシウム比濁法
トリグリセライド	TG	mg/dl	遊離グリセロール消去酵素法
総蛋白質	Tp	g/dl	ビウレット法
アルブミン	Alb	g/dl	BCG法
尿素窒素	BUN	mg/dl	ウレアーゼ・GLDH法
グルコース	Glu	mg/dl	ヘキソキナーゼ・G6-PDH法
カルシウム	Ca	mg/dl	o-CPC法
無機リン	iP	mg/dl	酵素法
アンモニア	NH ₃	μg/dl	微量拡散法

表2-2. 処置前後における母牛の乳汁および子牛の糞便検査所見

牛 No.	母 牛			子 牛				
	アルコールテスト		メンブトン 投与	生後 日齢	治療	白痢スコア		治療までの 日数
	第1病日	第3病日				第1病日	第3病日	
A群								
1	4+	-	+	7	-	2	1	3
2	2+	-	+	8	Ab	3	1	3
3	4+	-	+	10	Ab	2	1	3
4	3+	-	+	12	Ab	2	1	3
5	3+	-	+	14	Ab	3	2	4
6	4+	-	+	20	-	2	0	2
7	4+	-	+	28	Ab	2	0	2
8	4+	-	+	34	Ab	3	1	3
9	4+	-	+	41	Ab	3	2	4
B群								
10	-	-	-	7	Ab	3	3	9
11	-	-	-	9	Ab	2	3	6
12	-	-	-	10	Ab	3	1	4
13	-	-	-	11	Ab	3	3	7
14	-	-	-	21	Ab	2	1	3
15	-	4+	-	28	Ab	2	2	10
16	-	-	-	30	Ab	2	0	3
C群								
17	-			6				
18	-			12				
19	-			13				
20	-			15				
21	-			22				

メンブトン：母牛にメンブトンとして1日5gを第1病日から連日2日経口投与

アルコールテストスコア：陽性1分房につき+

Ab：抗生物質投与

白痢スコア：0=正常

1=黄色あるいは白色の固い便、あるいは正常な色調の軟便

2=黄色あるいは白色の軟便

3=黄色あるいは白色の水様便

表2-3. 子牛の第1病日の母牛の血液検査所見

単位	A 群		B 群		C 群	
	アルコールテスト (+)	白痢 (+)	アルコールテスト (-)	白痢 (+)	アルコールテスト (-)	白痢 (-)
RBC	10 ⁴ /μl	750 ± 89	780 ± 62	777 ± 100		
WBC	/μl	7322 ± 1432	7785 ± 1607	8520 ± 2201		
Ht	%	38.7 ± 5.1	39.3 ± 2.7	38.5 ± 5.1		
Hb	g/dl	13.4 ± 1.6	13.7 ± 1.0	14.5 ± 0.9		
AST	IU/l	68.6 ± 13.9	65.9 ± 4.3	76.4 ± 16.8		
γGTP	IU/l	15.7 ± 3.3	14.3 ± 3.1	13.2 ± 3.3		
FFA	μEq/l	570 ± 143 a	564 ± 133 d	324 ± 120		
Tcho	mg/dl	79.1 ± 19.4	75.7 ± 19.1	72.2 ± 13.4		
PL	mg/dl	74.4 ± 16.5	77.4 ± 18.5	77.4 ± 12.2		
βLipo	mg/dl	73.3 ± 11.9 a	71.7 ± 8.4 d	53.7 ± 4.6		
TG	mg/dl	8.6 ± 4.7	8.6 ± 2.9	8.0 ± 1.9		
TP	g/dl	7.8 ± 0.2	7.4 ± 0.2	7.4 ± 0.2		
Alb	g/dl	3.3 ± 0.5	3.4 ± 0.6	3.3 ± 0.3		
BUN	mg/dl	7.0 ± 2.0 b	6.0 ± 2.3	4.5 ± 2.1		
Glu	mg/dl	61.6 ± 4.7	61.6 ± 7.1	57.2 ± 4.1		
Ca	mg/dl	8.2 ± 0.7	8.3 ± 0.4	8.6 ± 0.4		
iP	mg/dl	5.3 ± 0.7	13.2 ± 20.2	5.4 ± 1.6		
NH ₃	μg/dl	29.6 ± 11.6 c	16.5 ± 8.6	18.0 ± 5.2		

平均±標準偏差 C群に対する有意差 a,d: p<0.01, b: p<0.05
B群に対する有意差 c: p<0.05

表2-4. 子牛の第1病日の母牛の乳汁検査所見

項目	A 群		B 群		C 群	
	アルコ-ルテスト (+)	アルコ-ルテスト (-)	アルコ-ルテスト (-)	白痢 (+)	アルコ-ルテスト (-)	白痢 (-)
乳汁						
乳脂肪	%	7.2 ± 3.3	b	7.9 ± 1.2	d	9.8 ± 3.7
脱脂乳						
ALP	IU/l	156 ± 109	a	244 ± 301	d	388 ± 204
γGTP	IU/l	2622 ± 843	a	2456 ± 537	d	2111 ± 214
TP	g/dl	4.0 ± 0.5		4.0 ± 0.5		3.6 ± 0.2
Alb	g/dl	2.3 ± 0.3		2.2 ± 0.4		2.1 ± 0.1
UN	mg/dl	6.8 ± 1.9		5.8 ± 2.2		7.1 ± 1.1
Glu	mg/dl	3.1 ± 2.2	b,c	13.9 ± 11.6		7.0 ± 2.8
Ca	mg/dl	28.3 ± 1.7	b,c	38.3 ± 13.1		30.3 ± 0.2
iP	mg/dl	53.9 ± 4.8	b	45.4 ± 12.7		46.4 ± 5.1
平均±標準偏差						

C群に対する有意差 a,d: p<0.01, b: p<0.05
 B群に対する有意差 c: p<0.05

表2-5. 子牛の第1病日の血液検査所見

	A 群		B 群		C 群	
	アルコールテスト (+) 白痢 (+)		アルコールテスト (-) 白痢 (+)		アルコールテスト (-) 白痢 (-)	
FFA	μEq/l	400 ± 96	b	367 ± 82		279 ± 48
Tcho	mg/dl	73.8 ± 28.8	b	70.9 ± 20.2	d	106.2 ± 20.4
PL	mg/dl	80.0 ± 32.5	a	78.4 ± 26.8	d	137.2 ± 28.9
βLipo	mg/dl	112.1 ± 53.7	b	76.0 ± 33.0	d	175.7 ± 27.0
TG	mg/dl	33.1 ± 20.3	a,c	13.8 ± 7.6	d	64.0 ± 10.2
TP	g/dl	6.3 ± 0.2		6.5 ± 0.2		6.5 ± 0.3
Alb	g/dl	3.0 ± 0.4		3.2 ± 0.4		3.0 ± 0.9
BUN	mg/dl	10.3 ± 5.4		14.3 ± 8.5		8.1 ± 2.5
Glu	mg/dl	112.8 ± 4.3		105.4 ± 12.5		116 ± 19.3
Ca	mg/dl	9.7 ± 0.5		9.8 ± 0.9		10.2 ± 0.7
iP	mg/dl	8.6 ± 1.1		9.2 ± 1.6		9.8 ± 1.0
NH ₃	μg/dl	26.6 ± 7.1		39.5 ± 27.0		26.0 ± 13.0
平均±標準偏差			C群に対する有意差 a,d: p<0.01, B群に対する有意差 c: p<0.05			b: p<0.05

第3章

黒毛和種牛群における子牛の白痢発症と 母牛の栄養状態との関係 (牛群の代謝プロファイルテストによる解析)

緒言

第2章において、黒毛和種子牛の白痢の発症には母牛の栄養状態、特にエネルギーバランスの関与していることが示唆された。そこで、母牛の飼料給与状態と子牛の白痢の関係を明らかにする目的で、子牛の白痢が多発した農家と発症の全く認められなかった農家を抽出して、それぞれの牛群の栄養状態を評価した。栄養状態の評価方法としては代謝プロファイルテスト (MPT) を用いた。これは Payne ら (65) が提唱したもので、乳牛における摂取した栄養分と生産のために消費した栄養分のバランスを血液性状から診断するものである。この方法は、日本においても乳牛で多用され始めている (8, 63) が、和牛での報告は筆者らが関与した1報のみ (29) しかない。

本試験では、MPT を実施して子牛の白痢の発症と母牛の栄養状態との関連を検討した後、飼料給与内容の改善を指示し、その後1年間の白痢発症状況を追跡調査した。

材料および方法

1 対象農家

黒毛和種繁殖雌牛の飼養頭数が10頭以上の農家で、1995年の1年間に生後4週間以内の子牛の白痢の発症率が出生子牛の25%以上の農家5戸と、同一週齢で白痢の発症が全く認められなかった2戸の農家を対象とした。この7戸の農家において、過去13カ月の間に2産以上を分娩した臨床的に健康な雌牛83頭を対象に牛群検診を行った。なお、全ての農家は同一村内にあり、衛生管理上、特に問題のある農家はなかった。

2 牛群検診の実施方法

検診は過去1年間における子牛の白痢発症状況の調査、給与粗飼料の成分分析と給与飼料診断およびMPTを行った。粗飼料の分析は近赤外線法、給与飼料診断は日本飼養標準 (56) に基づいて行った。血液の採取は、各農家において牛の採食後4~6時間 (58) となる午前11時から午後2時の間に、頸静脈より血清分離剤加、EDTA加およびFluoride/EDTA加真空採血管を用いて行った。血清分離剤加血液は、採血後直ちに37℃で10分間加温した後、毎分3,000回転10分間遠心

して血清を分離し、冷蔵保存後、血液採取当日中に測定に供した。EDTA 加血液は、採血後直ちにアンモニア (NH₃) の測定に供した。Fluoride/EDTA 加血液は速やかに冷蔵し、毎分 3,000 回転 10 分間遠心して血漿を分離後、再び冷蔵保存し、採取当日中に乳酸の測定に供した。MPT の検査項目および方法を表 3-1 に示した。ボディコンディションスコア (BCS) は Edmonson らの方法 (16) に準じて評価した。

さらに、牛群検診の直後に給与飼料診断および MPT に基づいて給与飼料の改善を指示し、その後 1 年間、7 戸の農家の白痢発症状況を追跡調査した。

3 データ処理

これらの成績は、分娩後 8~99 日の泌乳期を前期、100~199 日の子牛が離乳する時期を中期、200 日以上の乾乳期を後期に分類してまとめた。MPT の成績の統計処理は、給与飼料内容によって分類された各群の個体について平均値と標準偏差を求め、t 検定により行った。

成 績

1 牛群検診成績

1) 母牛の給与飼料診断

母牛への給与飼料は、全農家ともにオーチャードの乾草あるいはヘイレージとデントコーンサイレージが主体であったが、給与量に差異がみられた。子牛の白痢発症農家のうち、前期にデントコーンサイレージの給与をしていた農家 No.1, 2 および 3 を A 群 (母牛 41 頭)、給与していなかった農家 No.4 および 5 を B 群 (母牛 22 頭)、白痢の発症が認められなかった農家 No.6 および 7 を C 群 (母牛 20 頭) とした (表 3-2)。A 群と B 群の可消化養分総量 (TDN) と可消化粗蛋白質 (DCP) の充足率とでんぷん濃度を C 群のそれらとの比較で図 3-1 に示した。TDN の充足率は、C 群は前期が 83±3%、中期が 149±6%、後期が 115±4%と、中期に高い充足率を示した。A 群は各時期とも 110%を越える高値で推移し、C 群に比べて前期と後期に有意に高い値を示した。B 群は C 群と同様の傾向を示したが、前期に有意に高かった。DCP の充足率は 3 群とも中期に 162

~263%の高い値を示したが、3群間に差異は認められなかった。でんぷん濃度はAおよびC群が各時期とも10.8%以上の値を示したのに対して、B群は前期に4.1%と有意に低い値を示した。

2) 子牛白痢の発症状況

1995年の1年間における各農家の生後4週齢以内の子牛の白痢の発症率は表3-2に示した。各群の子牛白痢の発症率は、A群が $52 \pm 11\%$ 、B群が $47 \pm 28\%$ 、C群は2戸とも0%であった。

3) 代謝プロファイルテスト成績

(1) エネルギー代謝関連項目の検査

A、BおよびC群のエネルギー代謝関連項目の検査成績をC群のそれと比較して図3-2に示した。グルコース(Glu)は、A群が各時期ともに比較的安定していたが、C群(前期 $55.3 \pm 3.5\text{mg/dl}$ 、中期 $60.0 \pm 9.6\text{mg/dl}$ 、後期 $58.7 \pm 5.3\text{mg/dl}$)と比較すると前期にA群($59.8 \pm 2.8\text{mg/dl}$)が有意な高値、B群($51.6 \pm 7.8\text{mg/dl}$)が有意な低値を示した。遊離脂肪酸(FFA)はC群(前期 $171 \pm 27\mu\text{Eq/l}$ 、中期 $214 \pm 107\mu\text{Eq/l}$ 、後期 $232 \pm 89\mu\text{Eq/l}$)に比べて、A群が中期($123 \pm 26\mu\text{Eq/l}$)と後期($128 \pm 50\mu\text{Eq/l}$)に有意な低値、B群が前期($387 \pm 187\mu\text{Eq/l}$)に有意な高値、中期に有意な低値($141 \pm 22\mu\text{Eq/l}$)を示した。総コレステロール(Tcho)は、後期にA群($120 \pm 33\text{mg/dl}$)およびB群($104 \pm 17\text{mg/dl}$)がC群($77 \pm 16\text{mg/dl}$)に比べて有意な高値を示した。トリグリセリド(TG)は、3群とも他の時期に比べて後期に高値を示したが、その中でC群($20.8 \pm 8.5\text{mg/dl}$)に比べてA群($16.1 \pm 3.8\text{mg/dl}$)は有意な低値、B群($29.1 \pm 15.8\text{mg/dl}$)は有意な高値を示した。 β リポ蛋白(βLipo)は、3群とも中期から後期にかけて増加する傾向にあり、C群(前期 $72.4 \pm 9.6\text{mg/dl}$ 、中期 $77.0 \pm 21.0\text{mg/dl}$ 、後期 $101.5 \pm 34.5\text{mg/dl}$)に比べてA群は全期間(前期 $60.8 \pm 11.0\text{mg/dl}$ 、中期 $62.9 \pm 18.7\text{mg/dl}$ 、後期 $86.9 \pm 19.2\text{mg/dl}$)、B群は前期($53.6 \pm 16.1\text{mg/dl}$)および中期($53.5 \pm 14.8\text{mg/dl}$)に有意な低値を示した。

(2) ボディコンディションスコア

AおよびB群のBCSをC群のそれと比較した成績を図3-2に示した。C群(前期 4.1 ± 0.5 、

中期 3.9 ± 0.4 、後期 4.5 ± 0.4) に比べて A 群では後期 (3.9 ± 0.7)、B 群では中期 (3.4 ± 0.4) と後期 (3.8 ± 0.5) に有意な低値を示した。

(3) 蛋白質代謝関連項目の検査

A および B 群の蛋白質代謝関連項目の検査成績を C 群のそれと比較して図 3-3 に示した。アルブミン (Alb) は、C 群では全期間 3.3g/dl の一定の値で安定しており、中期および後期には標準偏差は 0.1 と小さかったが、A および B 群は前期を最高値として以後低下の傾向を示し、C 群に比べて A 群では前期 ($3.4 \pm 0.2 \text{g/dl}$) に有意な高値、B 群では後期 ($3.2 \pm 0.2 \text{g/dl}$) に有意な低値を示した。尿素窒素 (BUN) は C 群 (前期 $9.1 \pm 1.9 \text{mg/dl}$ 、中期 $7.9 \pm 1.3 \text{mg/dl}$ 、後期 $8.3 \pm 2.4 \text{mg/dl}$) は比較的安定した値を示したが、A 群では前期 ($6.8 \pm 1.9 \text{mg/dl}$) および中期 ($6.0 \pm 2.5 \text{mg/dl}$) に有意な低値を示し、B 群では後期 ($10.3 \pm 2.1 \text{mg/dl}$) に有意な高値を示した。

(4) ルーメンコンディション関連項目の検査

A および B 群のルーメンコンディション関連項目の検査成績を C 群のそれと比較して図 3-4 に示した。血中 NH_3 は、B および C 群が全期間を通して $40 \mu\text{g/dl}$ 前後の値で安定していたのに対して、A 群は前期 ($53.9 \pm 32.3 \mu\text{g/dl}$) に有意な高値を示した。乳酸 (LA) は、C 群で中期 ($8.9 \pm 3.5 \text{mg/dl}$) および後期 ($9.3 \pm 5.8 \text{mg/dl}$) に増加する傾向があり、これに比べて B 群は中期 ($5.5 \pm 2.5 \text{mg/dl}$) および後期 ($6.5 \pm 1.3 \text{mg/dl}$) に有意に低い値を示した。A 群は B 群と類似の傾向を示したが、C 群との間には有意差は認められなかった。

2 飼料給与内容の改善とその後 1 年間の子牛白痢の発症状況

上記の牛群検診結果に基づいて表 3-3 に示すような飼料給与内容の適正化を農家に指示した。A 群の 3 戸と B 群の No.4 の農家は指示通りの改善を行ったが、B 群 No.5 の農家は、飼料給与の改善を行わなかった。また、C 群は飼料給与の改善の必要はなかったため、基本的には前年度と同様の方法を踏襲することとしたが、No.7 は乾草およびコーンサイレージの品質が大きく低下した

ために、結果的に前期の飼料充足率が低下した。

その結果、A群の全戸とB群のNo.4における1996年の1年間の子牛の白痢発症率は $25 \pm 18\%$ (平均±標準偏差) 減少した。また、C群No.6の白痢発症率は0%であった。いっぽう、飼料給与内容を改善しなかったB群No.5は白痢の発症の減少は認められなかった。また、飼料の質の低下が認められたC群No.7では子牛の27%に白痢が発症した(表3-4)。

考 察

本試験では、MPTを用いて子牛の白痢の発症と母牛の栄養状態との関連を、過去1年間に白痢が多発した牛群と白痢の発症がなかった牛群との比較により検討した。

まず、母牛に給与している飼料内容についての給与飼料診断から、牛群間の比較を行った。子牛の白痢が発症する泌乳期である前期に白痢が多発したAおよびB群におけるTDNの充足率は、白痢の発症がなかったC群に比べて有意に高い値を示した。さらにA群は後期にも有意に高い値を示し、白痢多発牛群では前期および後期の飼料給与が過剰であることが示唆された。いっぽう、DCPの充足率に差異は認められなかったが、B群の前期のでんぷん濃度は著しく低い値を示した。この時期にB群はTDNが高かったため、でんぷん濃度の低値は全身的な栄養不足というよりは、ルーメン微生物のエネルギー源に不足をきたす可能性が高いものと思われ、母牛のルーメンコンディションと子牛白痢の発症の間に何らかの関連のあることが示唆された。

母牛のMPT成績は、子牛に哺乳し白痢の発症時期でもある前期を主体に、C群のそれを基準として比較した。まずエネルギー代謝の状況を評価するために、Glu、FFA、Tcho、TG、 β Lipoと、あわせてBCSについて検討した。

Gluは3群中A群が最も安定しており、B群は前期に著しく低い値を示した。Gluは恒常性が強い(89)が、エネルギー不足が長期化すると低下する。B群は、この時期にFFAも高値を示したことから、エネルギー不足の状態に陥っている(63)ものと考えられる。こう考えると給与飼料診断の結果と相反するようと思われるが、これはTDN供給は充足しているが、でんぷん不足により

ルーメン原虫のエネルギーが不足し、ルーメンでの消化能が低下していたと考えることが可能であると思われた。

いっぽう Tcho は、C 群において泌乳期である前期と離乳期である中期に高値を示し、乾乳期である後期に低値を示した。Tcho は肝臓機能の低下による脂肪代謝能の低下の指標となるほか、乳牛において乳量 (44) および飼料中の脂肪量 (90) と正の相関があることが示されている。しかし C 群では肝臓機能の指標となる TG, β Lipo および Alb の値 (67) に異常が認められなかったことから、後期における Tcho の低値は泌乳が停止したことに起因する生理的なものと思われる。これに対して A, B 両群は C 群に比べて後期に Tcho が高値を示し、脂肪や脂肪代謝に影響を及ぼすエネルギーの供給が過剰である可能性が示唆された。

また A 群では後期に TG が低値を示した。乳牛においては TG は乳脂肪の原料になるため、泌乳期に低く乾乳期に高い値を示す (67,70)。また、飼料中の脂肪が腸管から吸収されて肝臓に到達するまでの担体であるカイロミクロンの主成分であるため、飼料中の脂肪量にも影響されると考えられている。さらに、TG は肝臓から体組織への脂肪の転送系である超低密度リポ蛋白および低密度リポ蛋白の主成分であるので、肝臓でのリポ蛋白合成能の指標にもなる (22,28) といわれている。今回の TG の値は、飼料構成内容からみて飼料中の脂肪成分の影響は少ないと思われ、後期には泌乳していないので、むしろ肝臓機能の指標と考えられることから、A 群は後期に肝臓機能の低下をきたしていた疑いがある。

ところで TG は飼料中の脂肪量や乳量に影響されるが、 β Lipo は肝臓から体組織への脂肪の転送系のみをモニターしており、肝臓から体組織への脂肪の転送能を最も良く表す測定項目と考えられる。C 群の血中 β Lipo は全期間を通して高い値で安定していたのに対し、A 群は全期間、B 群は前期と中期に C 群に比べて低い値を示したことから、A および B 群はこれらの時期において肝臓からの脂肪の転送能は低下していることが示唆された。

なお BCS は 3 群とも高い値を示したが、B 群は前期から中期にかけて大きく低下し、前期にエネルギー不足による体脂肪の動員 (63) のあったことが容易に想像され、これは血液検査成績か

らもうかがえた。

また、B群のNo.4とNo.5の農家における子牛の白痢の発生率に40%の差異が認められたが、これは飼料診断上は2農家ともほぼ同一の充足率を示していたが、MPTにおいては、成績には示してはいないが、白痢発症率の高いNo.5がNo.4に比べて前期のエネルギー不足の程度が激しかったためと推定された。その原因としては飼料給与内容や給与方法の差に起因するルーメンコンディションの差が考えられた。

次に、蛋白質代謝の状況を評価するためにAlb、BUNおよびNH₃について検討した。Albは肝臓での蛋白質合成能(42)の指標となるほか、半減期が約2週間の比較的安定した蛋白質であるため、長期の蛋白質代謝(48,63)の指標にもなる。AおよびB群では前期から後期にかけてAlbの低下が認められたが、飼料計算上、蛋白質は中期および後期には過剰であることから、これは肝臓の蛋白質合成能の低下によるものと考えられる。

A群は短期の蛋白質代謝の指標(48,63)であるBUNが前期および中期に低い値を示し、蛋白質の吸収不足が示唆された。いっぽう、血中NH₃は蛋白質の給与量に相関(12)するルーメン内NH₃を反映する(53)と考えられているが、A群では全期間を通して高い値を示し偏差も大きかった。一般にBUNとNH₃は相関性の高い項目であるが、A群では前期および中期にBUNが低くNH₃が高い現象が認められた。NH₃の高値については微生物が取り込みきれない過剰なNH₃がルーメン内に存在し、それがルーメン壁から血中に吸収された(59)ものと推定される。これは蛋白質の給与過剰の場合と、ルーメン微生物活性の低下した場合のいずれか、あるいは両方により認められる現象であるが、飼料計算上は他群に比べて蛋白質の給与が多いとは認められず、後者である可能性が高い。いずれの場合であれ、結局はルーメン内微生物活性が低下し、そのために第四胃以下の消化管内で消化・吸収される微生物体蛋白質量が低下して、そのためにBUNは低値を示した可能性が考えられた。いっぽうB群では、後期にBUNは高いがNH₃はC群と差がなく、この時期にはB群はC群に比べて蛋白質給与量の多い可能性が示唆された。

でんぷんは飼料中の濃度が適正であればルーメン内で微生物体エネルギーとして消費されるが、

過剰であればルーメン内 LA 濃度が増加し、それがルーメン壁から血中へ吸収される (88)。本試験において血中 LA は C 群では中期および後期に高く偏差が大きかったが、A および B 群では低値で偏差は小さかった。これは A 群および B 群は中期に高蛋白質飼料が給与されていたため、でんぷんがルーメン内で微生物体エネルギーとして消費されたためであり、C 群の偏差が大きかったのは、DCP 充足率が他の群ほど高くないため、ルーメン内での蛋白質とでんぷんの濃度の個体差が生じたことによるものと考えられた。

以上の MPT 成績から、A 群は全期間を通して肝臓からのリポ蛋白の放出能が低下しており、前期と中期にルーメンコンディションの異常が認められた。B 群は前期にルーメン微生物のエネルギー不足による消化不良に起因すると推定される低エネルギー状態におかれ、前期から中期にかけて肝臓からのリポ蛋白の放出能が低下していた。脂肪代謝は牛ではエネルギー代謝の重要な部分を占めており、その機能が子牛の白痢が多発する前期において A および B 群で低下していたことは、母牛の低エネルギー状態が子牛の白痢の発症と関連があることを示唆した第 2 章の結果を裏付けるものと考えられた。

そこで、飼料給与内容の改善を指示して 1 年間、子牛の白痢発症状況について経過を観察したところ、飼料給与内容を指示通り改善した 4 農家では、白痢の発症率が $45.3 \pm 14.7\%$ から $20.5 \pm 16.1\%$ に半減した。いっぽう、飼料給与内容を変更しなかった 1 戸と、飼料の質が低下したことにより TDN および DCP の充足率が低下した 1 戸では、白痢の発症の低下はみられなかった。このことは、母牛の肝臓機能あるいはルーメンコンディションが子牛の白痢発症と密接な関連を持つという、1 回目の牛群検診の結果に基づいてたてた仮説を支持するものと考えられた。

このように、母牛の栄養状態と子牛白痢の発症の間には密接な関連のあることが示唆されたが、では、どのような因果関係があるのであろうか。本試験はあくまでも MPT であるので、母牛と子牛の間をとりもつ乳汁に関しての検査を行っていないが、給与飼料と血液成分から推定できる範囲で検討した。なお、中期および後期の所見と前期における白痢発症の関連については、本試験のデータからはその因果関係を推定することは困難であるので、前期のみを対象とした。まず A 群の場

合、ルーメンコンディションの異常から乳汁の変化を示唆できる所見は見いだせなかった。しかし、肝臓からのリポ蛋白放出能の低下は、肝臓でのリポ蛋白合成能に何らかの変化のあった可能性があり、その主成分である TG 中の脂肪酸組成に何らかの変化があった可能性が考えられる。TG は乳脂肪の原料であり、乳脂肪中の脂肪酸組成の変化がもたらされた可能性は否定できない。いっぽう B 群も肝臓からのリポ蛋白放出能の低下が認められ、A 群と同様の変化のあった可能性が考えられる。A 群ではさらに低でんぷん飼料に起因すると思われるエネルギー不足が認められており、有意な FFA の高値が認められたことから、それによる乳脂肪中脂肪酸組成の変化の可能性も考えられ、その組成の変動は A 群よりも大きい可能性が考えられた。

小 括

母牛の飼料給与状態と子牛の白痢の関係を明らかにする目的で、子牛の白痢が多発した農家と発症の全く認められなかった農家を抽出して、それぞれの牛群の栄養状態を、代謝プロファイルテスト (MPT) を用いて評価した。その結果、以下のことがわかった。

1. 母牛の乾乳期における飼料の過剰給与に起因すると思われる、泌乳期の肝臓からのリポ蛋白の放出能の低下と、ルーメンコンディションの異常が認められた牛群で、子牛の白痢が多発した。
2. 母牛が泌乳期に低でんぷん飼料を給与され、エネルギー不足と肝臓からのリポ蛋白の放出能の低下が認められた牛群で、子牛の白痢が多発した。
3. 母牛の飼料給与内容を適正化した牛群では、子牛の白痢の発症が減少した。

以上のことから、母牛への飼料給与内容に起因する、泌乳期の肝臓からのリポ蛋白の放出能の低下とルーメンコンディションの異常に基づく乳汁の性状の変化が、子牛の白痢の発症と何らかの関連のある可能性が示唆された。

表3-1. 代謝プロファイルテスト検査項目および方法

検査項目	略号	単位	測定方法
グルコース	Glu	mg/dl	ヘキシナーゼ・G6PDH法
遊離脂肪酸	FFA	μEq/l	ACS-ACO酵素法
総コレステロール	Tcho	mg/dl	コレステロールオキシダーゼ法
リン脂質	PL	mg/dl	フォスホリパーゼD法
βリポ蛋白	β Lipo	mg/dl	βリカルジウム比濁法
トリグリセライド	TG	mg/dl	遊離グリセロール消去酵素法
アルブミン	Alb	g/dl	BCG法
尿素窒素	BUN	mg/dl	ウレアーゼ・GLDH法
アンモニア	NH ₃	μg/dl	微量拡散法
乳酸	LA	mg/dl	UV酵素法

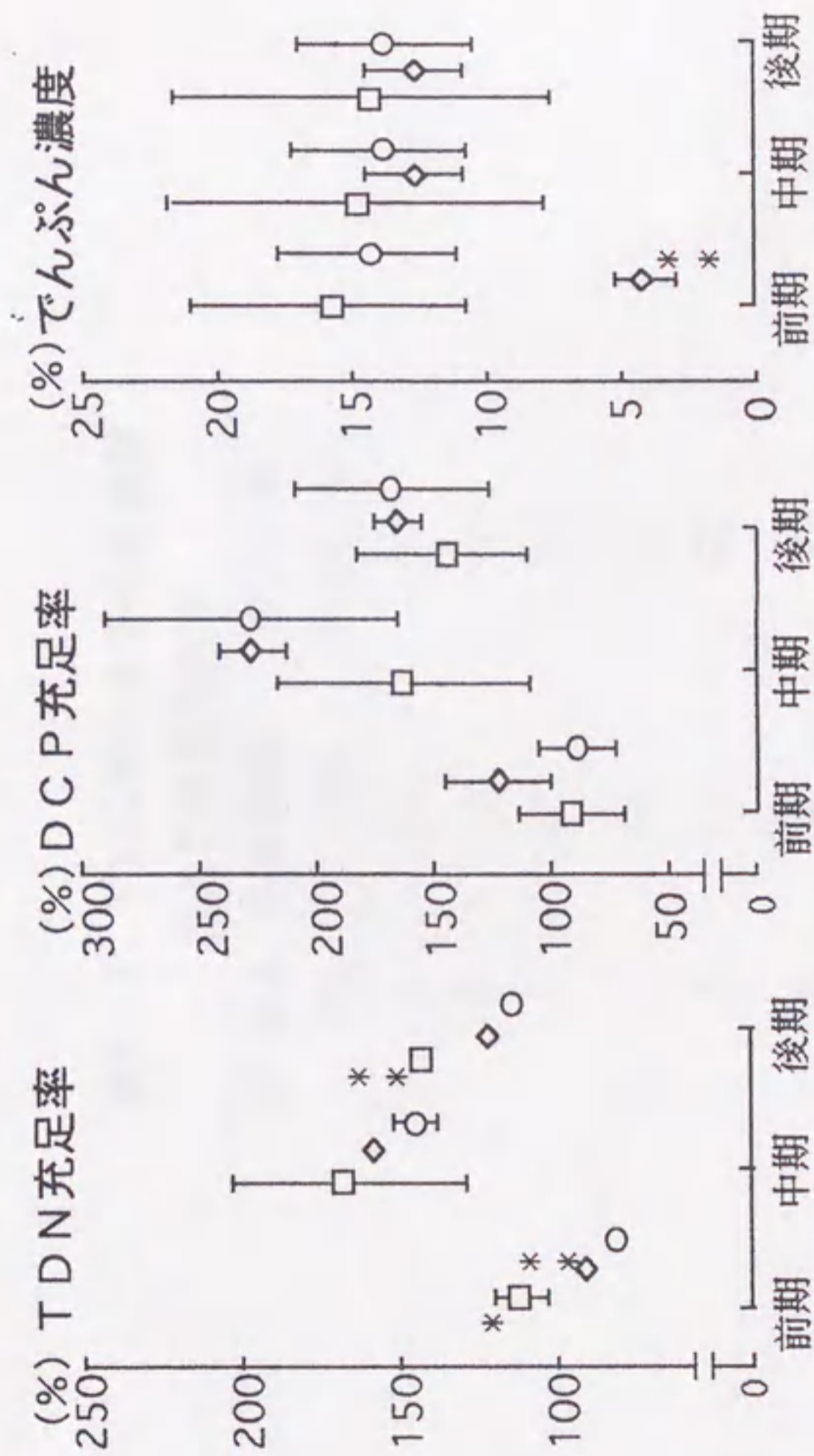


図3-1.飼料中のTDN、DCP充足率およびでんぷん濃度

□: A群, ◇: B群, ○: C群

C群に対しての有意差 * : p < 0.05, ** : p < 0.01

前期: 分娩後8~99日, 中期: 分娩後100~199日, 後期: 分娩後200日以降

表3-2. 1995年の子牛出生頭数
および白痢発症率

群	農家 No.	出生頭数 (頭)	子牛白痢 発症率(%)
A	1	8	50
	2	12	42
	3	21	62
B	4	10	27
	5	12	67
C	6	9	0
	7	11	0

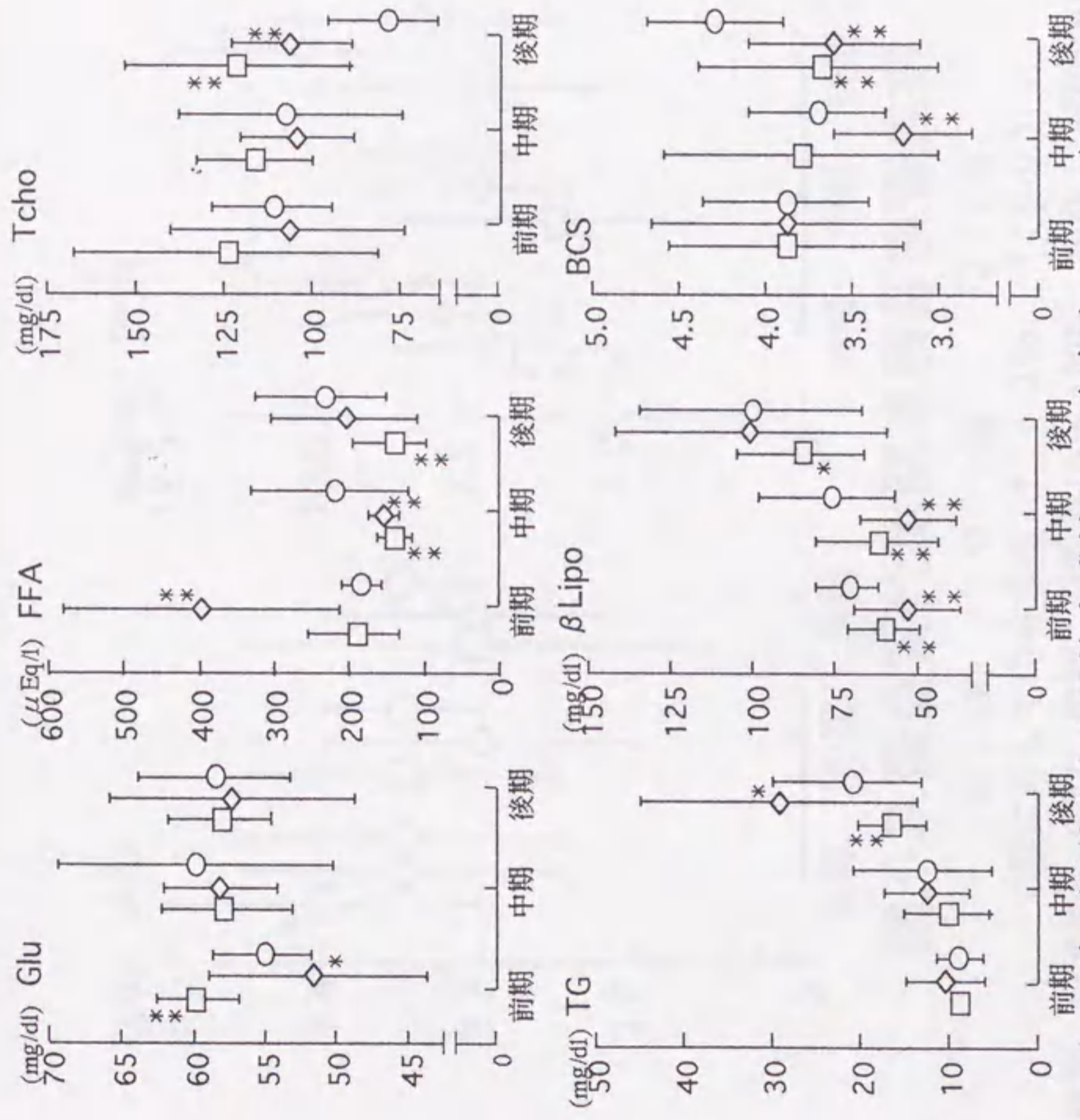


図3-2.エネルギー代謝関連項目検査成績およびボディコンディションスコア

□: A群, ◇: B群, ○: C群
 C群に対しての有意差 * : p<0.05, ** : p<0.01
 前期: 分娩後8~99日, 中期: 分娩後100~199日, 後期: 分娩後200日以降

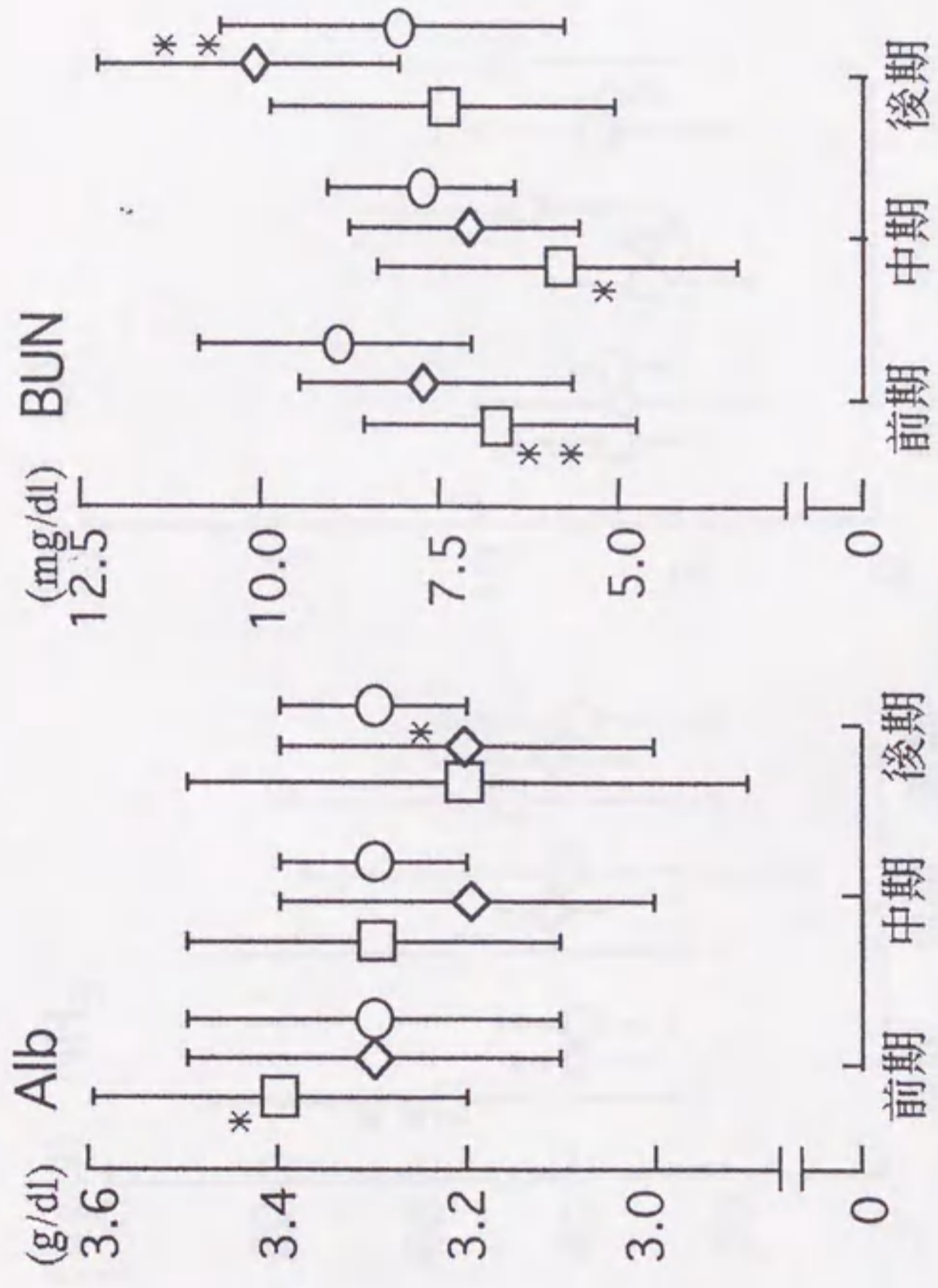


図3-3.蛋白質代謝関連項目検査成績

□：A群，◇：B群，○：C群
 C群に対しての有意差 *：p<0.05，**：p<0.01

前期：分娩後8～99日、中期：分娩後100～199日、後期：分娩後200日以降

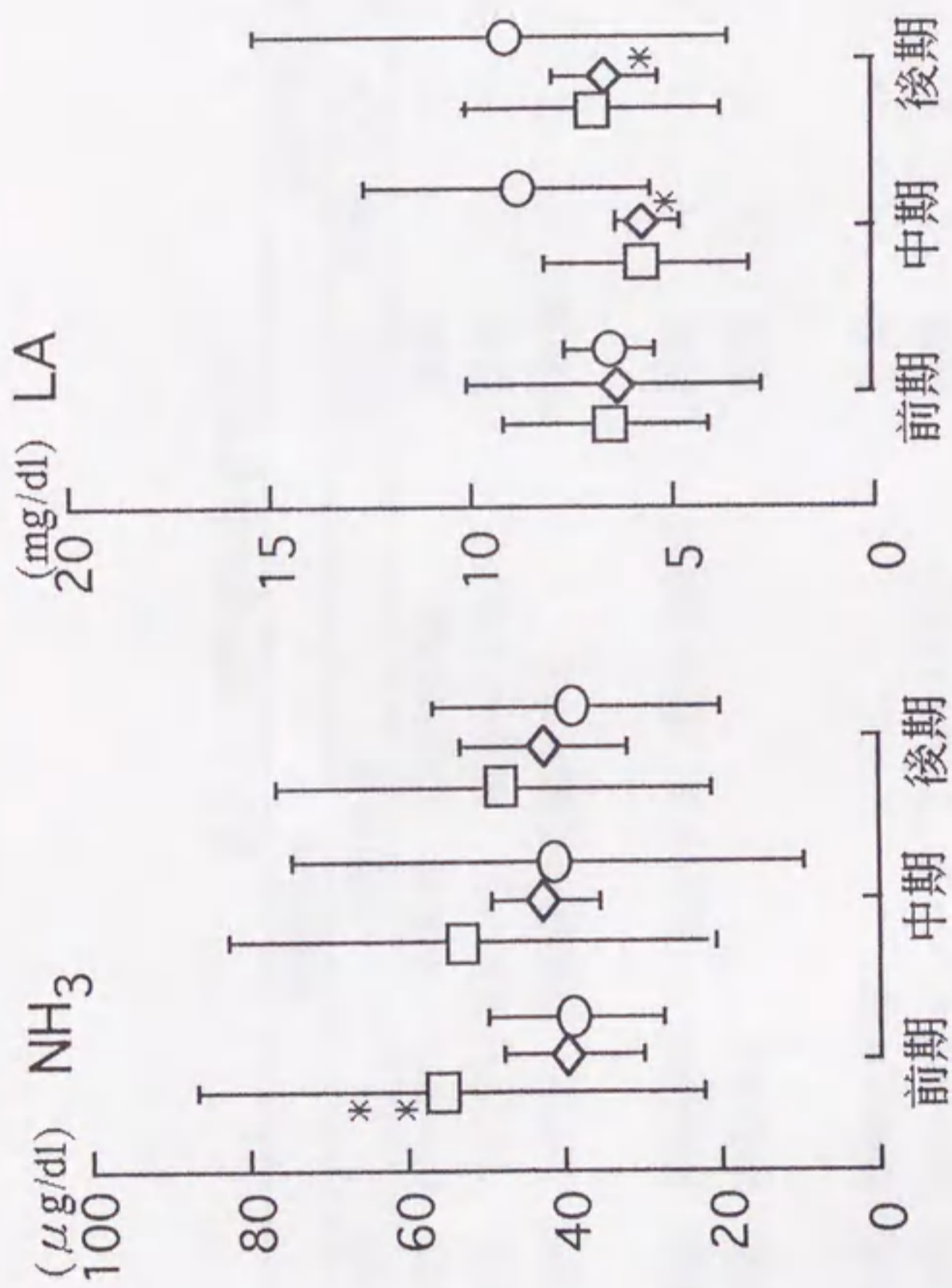


図3-4.ルーマンコンディション関連項目検査成績

□：A群，◇：B群，○：C群

C群に対しての有意差 *：p<0.05，**：p<0.01

前期：分娩後8～99日、中期：分娩後100～199日、後期：分娩後200日以降

表3-3. 飼料給与改善状況

群	飼料給与		飼料充足状況				
	農家 No.	時期	変更内容	時期	TDN	DCP	でんぷん濃度 (%)
A	1	全期	オーチャード乾草 3Kg→8Kg	後期	→	→	10.8 → 9.2
	2	後期	コーンサイレージ 9Kg→12Kg	後期	↓	→	16.5 → 10.4
	3	中後期	ふすま、配合飼料の給与中止	中後期	↓	↓	21.0 → 18.8
B	4	前期	配合飼料、一般ふすま 計2Kg追加	前期	→	→	4.9 → 9.4
	5	前期	改善せず	前期	↓	↓	3.3 → 3.3
C	6	全期	昨年と同様	全期	→	→	17.7 → 15.2
	7	前期	コーンサイレージ 7Kg→14Kg 配合飼料 0.8Kg追加	前期	↓	↓	14.5 → 12.3

表3-4. 1995年と1996年の分娩頭数、母牛のエネルギー充足状況および子牛の白痢発症率

群	農家 No.	分娩頭数		エネルギー充足状況		子牛白痢発症率			
		1995年	1996年	1995年	1996年	1995年	1996年		
		前期	後期	前期	後期	前期	後期		
A	1	8	8	↓	↑	○	○	50	0
	2	12	11	↓	↑	○	○	42	27
	3	21	21	↓	↑	○	○	62	38
B	4	10	12	↓	○	○	○	27	17
	5	12	12	↓	○	↓	○	67	75
C	6	9	10	○	○	○	○	0	0
	7	11	11	○	○	↓	○	0	27

○：適正 ↓：不足 ↑：過剰

1995年：1995年7月～1996年6月までの成績

1996年：1996年7月～1997年6月までの成績

第 4 章

分娩後の黒毛和種母牛の 血液および乳汁の変化と 子牛の白痢発症の関係

緒言

第2章では、黒毛和種放牧牛における白痢発症子牛の母牛は負のエネルギーバランスを示唆する所見があり、乳汁の性状および成分が非発症群と若干異なっていることが認められた。さらに第3章では、黒毛和種牛群の代謝プロファイルテストを行い、白痢多発牛群の母牛は泌乳期に低でんぷん飼料が給与されていること、あるいは肝臓からの脂質の放出能が低下していること、およびルーメンコンディションに異常のあることを認めた。しかし母牛のエネルギーあるいはでんぷんの充足状態と子牛の白痢発症の因果関係は未だ不明である。そこで、子牛の白痢発症前後における母牛の血液および乳汁の変化からこの点を明らかにするため、子牛の白痢が多発している農家と発症のない農家の牛を用いて、分娩後から1カ月の間、母牛の飼料給与内容、母牛の血液ならびに乳汁性状、および子牛の白痢の発症状況を検討した。

材料と方法

1 供試牛および飼料給与内容

一般農家に舎飼い飼育されている2産以上の黒毛和種牛で、子牛の白痢が多発している農家4戸に飼養されている母子7組（多発群）と、発症のない農家2戸に飼養されている母子4組（健康群）を供試した。粗飼料分析は近赤外線法で行い、母牛の飼料診断は日本飼料標準（56）に基づいて実施した。飼養形態上、母牛の飼料給与量および乳量を正確に掌握することは困難であったので、1日当たりの泌乳量を7kgと仮定（79）して、乾物摂取量の充足率が100%になるように飼料を摂取した場合の値を採食量とした。

2 材料の採取と測定

母牛の採血と搾乳は、分娩後4～9日から1週間間隔で4週まで行い、子牛の白痢発症日にも実施した。

血液は頸静脈から、フッ化ナトリウム加あるいは血清分離剤加真空採血管を用いて採取した。採取した血液は速やかに毎分3,000回転15分間遠心して、分離した血漿および血清は冷蔵保存し、

24 時間以内に測定に供した。母牛および子牛の血液検査項目および方法を表 4-1 に示した。

乳汁はオキシトシン 50 単位（アトニン-O：帝国臓器製薬（株）、東京都）を頸静脈内注射後、直ちに全分房を搾りきり、ガラス電極法による pH の測定、アルコールテストおよび CMT 変法による乳房炎の検査を行った。また、搾りきった 4 分房の合乳は凍結保存し、ミルコスキャン（Foss Electric Co. Ltd., Copenhagen）により乳脂肪率、乳蛋白率、無脂固形分率および乳糖率の測定を行った。

統計処理は t 検定で行った。子牛が白痢を発症した母牛個体の経日的流れの中での白痢発症日の値の評価はスミルノフの棄却検定を用いた。

成 績

1 給与飼料と白痢発症

健康群の 4 頭では白痢の発症はなかったが、多発群では 7 頭中 5 頭（71.4%）で分娩後 7~27 日（ 17.2 ± 7.6 日、平均±標準偏差、以下同様）に白痢が発症した。供試牛は分娩後にはチモシーとオーチャードの混播乾草を主体とした飼料を摂取していたが、白痢を発症した 5 頭中 3 頭の母牛には、発症の 4~5 日前からデントコーンサイレージが日量 3.0~3.5kg 程度追加給与されていた。残りの 2 頭は分娩後からデントコーンサイレージが給与され続けていた。分娩後 10 日前後（デントコーンサイレージが追加給与された 3 頭については、デントコーンサイレージが給与される前）の飼料給与状況、および子牛の白痢発症状況を表 4-2 に示した。飼料充足率は、多発群は、 $TDN98 \pm 2\%$ 、 $DCP151 \pm 2\%$ であり、健康群は $TDN110 \pm 5\%$ 、 $DCP200 \pm 33\%$ であった。また、でんぷん（ST）濃度は多発群は $5.1 \pm 2.3\%$ 、健康群は $14.3 \pm 3.2\%$ であり、健康群に比べて多発群は TDN ($p < 0.05$) およびでんぷん濃度 ($p < 0.01$) が有意に低い値を示した。

2 血液検査成績

各個体の分娩後の約 1 週間間隔と白痢発症日の血清生化学検査成績は表 4-3 に示した。各検査

項目の平均値において、多発群の FFA が健康群に比べて高い傾向はあったが、他の項目も含めて、多発群と健康群との間に有意な差は認められなかった。しかしながら白痢発症個体の母牛は、子牛が白痢を発症した日には全頭で発症前 (Nos.2,3,4 : 発症の 1 日前、 Nos.1,5 : 発症の 2 日前) に比べて TG が 2.5~6.0mg/dl (3.8 ± 1.3 mg/dl)、BUN が 0.7~5.5mg/dl (3.7 ± 2.0 mg/dl) 増加した。このうち、白痢発症日の 5 頭中 4 頭の中性脂肪 (TG) は各個体の全ての測定値の平均値と標準偏差の和の値よりも高値であり、No.4 の値はスミルノフの棄却検定で棄却 ($p < 0.05$) 可能な異常値であった。また、白痢発症日の 5 頭中 3 頭の尿素窒素 (BUN) は各個体の全ての測定値の平均値と標準偏差の和の値よりも高値であり、Nos.1、3、5 の 3 頭の値はスミルノフの棄却検定で棄却 ($p < 0.05$) 可能な異常値であった。

3 乳汁検査成績

CMT 変法による乳汁の検査で乳房炎と診断された個体はなかった。各個体の分娩後の約 1 週間間隔と白痢発症日の乳汁性状および乳汁成分の検査成績は表 4-4 に示した。

乳汁 pH は、健康群はほぼ 6.5~7.0 の間で推移したが、多発群はそれよりも若干低い傾向を示し、変動が激しかった。多発群各個体の変動係数は 3.81 ± 3.17 と、健康群の 1.25 ± 0.34 に比べて有意 ($p < 0.05$) に高い値を示した。

pH 以外の検査項目は、多発群と健康群との間に差は認められなかった。しかしながら白痢発症個体の母牛の乳汁成分の経日的変化を個体別にみると、子牛が白痢を発症した日には、全頭で発症前 (Nos.2,3,4 : 発症の 1 日前、 Nos.1,5 : 発症の 2 日前) に比べて乳脂肪率が 0.82~6.24% (2.94 ± 1.82 %) 増加し、乳糖が 0.09~1.39% (0.54 ± 0.51 %) 減少した。このうち、白痢発症日の 5 頭中 3 頭の乳脂肪率は各個体の全ての測定値の平均値と標準偏差の和の値よりも高値であり、No.4 の値はスミルノフの棄却検定で棄却 ($p < 0.05$) 可能な異常値であった。その他の検査項目においては、白痢発症前後に一定の変化は認められなかった。

考 察

第2章および第3章の結果から、黒毛和種子牛の白痢の発症には、母牛のエネルギーバランスおよび給与飼料中のでんぷん濃度、あるいはルーメンコンディションの関与している可能性が示唆された。そこで母牛の給与飼料内容と子牛の白痢の関係を明らかにするため、子牛の白痢が多発している農家と発症のない農家の母牛について、分娩後1カ月の間、母牛の飼料給与内容、母牛の血液ならびに乳汁性状、および子牛の白痢の発症状況を検討した。

まず、母牛への給与飼料と子牛白痢の発症の関連については、本試験において健康群ではTDNとでんぷんの供給が適正であり、子牛の白痢の発症はなかったが、多発群は健康群に比べてTDN充足率 ($p < 0.05$) およびでんぷん濃度 ($p < 0.01$) が有意に低く、71.4%の子牛で白痢の発症が認められた。第3章において、泌乳期の母牛において飼料中のでんぷん濃度が低く、代謝プロファイルテスト (MPT) でエネルギー不足と診断された牛群の子牛で白痢の発症率が27.2~61.9%

($49.5 \pm 15.9\%$)であったのに対して、母牛へのエネルギー供給が充足されている牛群では白痢の発症はなかったことを認めたが、本試験においても同様の結果が得られた。本試験では、特に分娩後10日前後(デントコーンサイレージが追加給与された3頭については、デントコーンサイレージが給与される前)の給与飼料中のでんぷん濃度が7%以下の母牛の子牛では全頭で白痢が発症した。両群のTDNの差は小さかったことから、母牛の飼料中のでんぷん濃度が子牛の白痢の発症に大きく影響している可能性が示唆された。

次に、飼料給与内容の差異が母牛の代謝に及ぼす影響を血液成分から検討した。子牛の白痢発症前後に一定の明瞭な変化を認めた項目としては、TGとBUNがあげられる。白痢発症日に血中TGが急激な増加を示したが、この原因としては、①脂肪の消化管からの取り込みの増加(78)、②肝臓からのリポ蛋白の放出の増加、あるいは、③リポ蛋白リパーゼの機能低下による血中でのリポ蛋白代謝の低下などが考えられる。③が起きると乳腺へのTGの供給(41)が低下するため乳脂肪率が下がるが、本試験ではこのときに乳脂肪率の増加が認められており、この可能性は低いと思われる。②の可能性はあるが、本試験においてTGの変化と同時に認められたBUNの増加の説明がで

きないことと、 β リポ蛋白の増加がなかったことから、これの可能性も低いものと思われた。以上のことより、TG および BUN 増加は①の脂肪および蛋白の吸収の増加に起因する可能性が高いものと思われた。

そこで脂肪および蛋白の吸収の増加の原因について飼料給与の面から再度検討すると、供試牛は乾草を主体とした飼料を摂取していたが、白痢を発症した 5 頭中 3 頭の母牛には、発症の 4~5 日前からデントコーンサイレージが日量 3kg 程度追加給与されていた。これにより低エネルギーの状態が多少改善されたこと、あるいは飼料の変更によりルーメンの状態が急激に変化したことが、脂肪および蛋白の吸収の増加と、その結果としての血中 TG および BUN の増加の原因として考えられる。しかもデントコーンサイレージの脂肪および蛋白の含量は低く、単純に給与栄養分の変化が血中 TG の一過性の増加につながったとは考えにくい。いっぽう、デントコーンのでんぷんから供給されるプロピオン酸が TCA 回路に直接的に働いて、エネルギー代謝を改善した可能性がある。しかしこの考え方では BUN の増加の説明は困難であり、TG および BUN の同時増加の原因はさらに別にあると考えざるを得ない。また分娩後 7 日に子牛の白痢が発症した 1 頭では飼料の変更はなく、白痢の発症には乳量や乳汁成分の分娩後の生理的变化が関与している可能性もあり、デントコーンサイレージの給与はその発症のきっかけのひとつにすぎないとも考えられる。以上のように、子牛白痢の発症時の母牛の血液成分の変動の原因は種々考えられ、飼料の変更がひとつのポイントと思われるが、そのメカニズムは本試験では特定できなかった。

次に、この時の母牛の血液成分の変動が乳汁に与えた影響を検討した。多発群の乳汁 pH が低い値で推移したことについては、この群は低エネルギー飼料で飼養されていたことから、ケトン体が産生されている可能性も考えられた。しかし白痢の発症時における血中 BHB および乳汁 pH に一定の傾向はなく、白痢発症との直接的関連は低いものと考えられた。また乳糖は白痢の発症時に全頭で低下しており、本試験での白痢の発症は乳糖不耐性 (61) とは関係ないものと思われた。乳脂肪率の発症時の急激な増加は、母牛の血中 TG の急激な増加に起因するものと考えられ、これが子牛の白痢、すなわち脂肪便の直接的な原因と考えられた。

乳脂肪率の増加は、それを哺乳した子牛の血中 TG の増加につながる可能性がある。本試験では子牛の血液検査を行っていないが、筆者は白痢発症時の子牛の 18 頭中 6 頭の個体が、同一週齢の健康な子牛に比べて血中 TG が有意に高いことを認めている (60)。白痢発症時の子牛の血中 TG の高値は、白痢が微生物感染による腸管の炎症等に起因する消化吸収の不良によるとする旧来の考え方では説明できない現象であり、本試験で認められたような乳脂肪率の急激な増加により吸収過剰となった結果と考えられる。そして吸収しきれない脂肪が脂肪便として排出されて白痢が発症したと推定できる。

以上のことから、子牛の白痢は母牛の飼料が低でんぷんの群で多発し、特にデントコーンサイレージを給与開始後 4~5 日で発症しやすいこと、および子牛に白痢が発症した母牛の乳汁 pH は不安定であることがわかった。また、子牛白痢の発症日には、母牛の血中 TG、BUN の一過性の増加があり、これが乳脂肪率の増加につながり、子牛白痢発症の原因となったことが推定された。

小 括

母牛のエネルギーあるいはでんぷんの充足状態と子牛の白痢発症の因果関係を明らかにするため、白痢の多発している農家と発症していない農家の牛を用いて、分娩後1カ月の間、母牛の飼料給与内容、白痢の発症状況、母牛の血液ならびに乳汁性状を検討した。その結果、以下のことが認められた。

- 1 子牛白痢は母牛の飼料中でんぷん濃度およびTDN充足率が低い群で多発したが、充足している群では発症しなかった。
- 2 子牛の白痢が発症した母牛の乳汁はpHの変動が激しかった。
- 3 子牛が白痢を発症した5頭中3頭の母牛には、発症の4~5日前からデントコーンサイレージが日量3~3.5kg程度追加給与されており、これが白痢発症に何らかの関連のあることが示唆された。
- 4 子牛の白痢の発症日には、母牛の血中TG、BUNおよび血中TGの増加に起因すると思われる乳脂肪率の一過性の増加があり、これが子牛の白痢発症の原因の一つと推定された。

以上のことから、子牛白痢は低でんぷん飼料を給与されていた母牛にデントコーンサイレージを給与後に多発する傾向にあり、この飼料の変化が子牛白痢発症日の母牛の血液および乳汁の変化をもたらし、それにより子牛の白痢が発症したものと考えられた。

表4-1. 血液検査項目および方法

検査項目	略号	単位	測定方法
総コレステロール	Tcho	mg/dl	コレステロールキタダゼ法
リン脂質	PL	mg/dl	フォスホリパゼD法
遊離脂肪酸	FFA	μEq/l	ACS-ACO酵素法
トリグリセライド	TG	mg/dl	遊離グリセロール消去酵素法
βリポ蛋白	βLipo	mg/dl	βリンカルシウム比濁法
βヒドロキシ酪酸	BHB	μmol/l	酵素法
アルブミン	Alb	g/dl	BCG法
尿素窒素	BUN	mg/dl	ウリアゼ・GLDH法
グルコース	Glu	mg/dl	ヘキソキナーゼ・G6PDH法
カルシウム	Ca	mg/dl	o-CPC法
無機リン	iP	mg/dl	酵素法

表4-2. 供試母牛の飼料給与状況と子牛白痢の発症状況

No.	母牛飼養 母牛の飼料の状況		子牛の白痢の発症			
	個体農家	充足率 ^a	でんぷん濃度	発症日齢		
	TDN %	DCP %	%	給与開始後日数		
白痢多発群						
1	A	98	155	3.2	7	給与なし
2	B	97	152	3.2	13	4
3	C	97	152	3.2	17	4
4	A	97	151	3.2	22	5
5	D	96	150	7.0	27	27
6	A	99	147	7.3	-	-
7	C	101	153	8.3	-	-
平均		98 *	151	5.1 **		
白痢無発群						
8	E	117	249	9.6	-	-
9	F	107	185	15.7	-	-
10	F	107	183	15.9	-	-
11	F	107	182	16.0	-	-
平均		110	200	14.3		

a: 摂取乾物充足率を100%とした場合の充足率

-: 発症せず

白痢無発症群に対する有意差 * : p<0.05, ** : p<0.01

表4-3. 母牛の分娩後の日齢別の血清生化学検査成績

牛 白痢 No. 日*	Tcho			PL			TG			βLipo						
	4~9日	11~17日	18~22日	21~30日	4~9日	11~17日	18~22日	21~30日	4~9日	11~17日	18~22日	21~30日				
1	78	92	98	95	81	82	94	100	97	10.7	13.8	8.6	12.8	46	46	32
2	91	109	118	97	103	117	121	100	96	10.8	14.1	18.0	14.3	58	58	57
3	113	113	107	98	113	121	117	73	121	10.2	8.7	11.2	6.7	59	47	54
4	22	92	121	136	94	122	140	150	144	8.3	8.3	9.1	12.6	39	40	45
5	27	110	108	121	115	117	124	127	133	12.9	10.7	11.9	9.4	40	49	44
6	107	140	158	151	100	137	161	156	156	6.4	6.8	7.4	7.9	37	41	38
7	69	79	93	99	67	78	102	110	110	10.0	6.9	9.4	7.6	32	43	42
多頭群平均	94	108	114	114	96	112	114	122	122	10	9	10	10	43	50	46
8	58	75	81	75	94	97	99	97	97	11.4	7.6	9.9	7.6	110	79	93
9	80	82	99	102	79	93	108	119	119	7.1	10.9	13.2	9.4	42	54	60
10	102	116	109	131	114	120	122	140	140	10.4	9.8	8.9	15.8	35	52	53
11	79	84	82	82	92	91	94	96	96	10.1	10.2	9.8	9.1	46	49	38
多頭群平均	82	89	93	97	95	100	106	113	113	10	10	10	10	58	59	61

牛 白痢 No. 日*	FFA			BHB			Glu						
	4~9日	11~17日	18~22日	21~30日	4~9日	11~17日	18~22日	21~30日	4~9日	11~17日	18~22日	21~30日	
1	970	1065	621	544	685	578	641	350	325	69	70	65	64
2	1054	651	176	376	600	N.E.	322	253	N.E.	76	68	79	70
3	313	163	141	91	N.E.	327	285	325	187	65	65	62	61
4	22	1648	1365	587	1230	N.E.	881	735	813	59	61	61	66
5	27	215	223	139	309	N.E.	411	434	415	60	60	61	61
6	930	654	426	437	831	N.E.	775	562	61	56	63	56	56
7	1015	599	288	317	534	479	277	224	224	62	86	58	58
多頭群平均	878	611	350	376	698	482	465	424	424	64	64	62	62
8	482	357	281	357	353	341	310	341	341	62	59	60	60
9	257	173	199	108	406	N.E.	503	655	655	68	71	64	64
10	98	75	132	61	305	319	274	318	318	68	64	61	61
11	220	69	47	99	N.E.	332	378	310	310	61	60	67	67
多頭群平均	264	169	165	156	354	331	366	406	406	65	64	63	63

牛 白痢 No. 日*	Alb			BUN			Ca			IP		
	4~9日	11~17日	18~22日	21~30日	4~9日	11~17日	18~22日	21~30日	4~9日	11~17日	18~22日	21~30日
1	3.00	3.00	3.17	2.94	9.8	15.3	7.3	9.0	8.4	8.9	8.5	8.3
2	3.07	2.82	2.96	2.90	17.5	14.6	17.7	10.3	11.0	8.0	9.2	10.5
3	2.80	2.80	2.80	2.68	7.9	7.8	11.4	7.0	8.6	9.0	8.4	9.2
4	2.25	3.31	3.40	3.29	13.4	13.8	10.7	11.4	7.2	9.5	8.7	9.9
5	2.95	2.81	2.78	2.83	10.0	10.7	9.2	10.1	15.5	10.6	9.8	9.4
6	2.99	3.29	3.40	3.33	12.3	13.5	13.3	6.3	6.3	8.6	9.4	9.4
7	3.00	3.16	3.01	3.12	12.6	4.4	6.8	4.9	4.9	8.9	8.7	8.6
多頭群平均	3.00	3.00	3.00	3.00	12.0	10.0	10.0	9.0	8.0	9.0	9.0	9.0
8	2.61	2.71	2.79	2.71	7.6	9.6	14.0	9.6	9.6	10.4	8.1	8.0
9	2.94	3.07	3.21	3.13	8.8	13.0	15.3	12.9	12.9	10.1	9.7	9.6
10	2.82	2.76	2.73	3.21	11.1	7.7	12.9	16.2	16.2	9.7	9.9	9.3
11	2.53	2.65	2.80	2.54	12.1	9.7	10.2	10.8	10.8	8.9	8.2	9.4
多頭群平均	3.00	3.00	3.00	3.00	10.0	10.0	13.0	12.0	12.0	10.0	9.0	9.0

N.E.: 検査せず
 正常血清材料後白痢発症日までの日数: 牛No.2, 3, 4は1日, 牛No.1, 5は2日
 * : 分娩後日数
 青数字: 日齢別日数の測定値がその個体の全測定値の平均 \pm 標準偏差の範囲を逸脱したもの
 赤数字: 青数字項目の内, スミルノアの基準値で0.05%以内の危険率で異常であるもの
 緑数字: 分娩後日数で区分したグループ内において, スミルノアの基準値で0.05%以内の危険率で異常である白痢発症日の値

表4-4. 母牛の分娩後の乳性状および乳成分検査成績

牛白痢 No. 発症 日	pH						アルコールテストスコア						乳脂肪率													
	4~9日		11~17日		18~22日		21~30日		4~9日		11~17日		18~22日		21~30日		4~9日		11~17日		18~22日		21~30日			
	正常	発症	正常	発症	正常	発症	正常	発症	正常	発症	正常	発症	正常	発症	正常	発症	正常	発症	正常	発症	正常	発症	正常	発症		
1	7	5.60	6.40	6.40	-	6.60	-	6.40	-	4	4	-	4	-	4	-	4	-	4.64	5.46	4.34	-	2.95	-	4.07	-
2	13	6.82	-	7.62	6.95	6.79	-	N.E.	-	9	-	1.5	9	8	-	N.E.	-	6.92	-	3.99	10.23	5.57	-	N.E.	-	
3	17	6.70	-	6.50	6.40	6.70	-	6.70	-	2	-	1	1	1	-	0	-	2.68	-	2.85	4.74	3.89	-	2.67	-	
4	22	6.00	-	6.50	-	6.40	6.60	6.50	-	4	-	4	-	1	4	3	-	5.02	-	4.30	-	4.90	7.75	4.70	-	
5	27	6.54	-	6.83	-	6.76	-	6.76	8.30	12	-	11	-	7	-	7	0	9.33	-	5.16	-	5.05	-	3.86	6.76	
6		6.30	-	6.70	-	6.50	-	6.60	-	3	-	1	-	0	-	0	-	7.18	-	2.78	-	3.95	-	2.65	-	
7		N.E.	-	6.60	-	6.70	-	6.60	-	N.E.	-	2	-	1	-	3	-	N.E.	-	5.12	-	4.20	-	2.58	-	
多発群平均		6.49		6.74		6.64		6.59		5.70		3.50		3.10		2.80		5.96		4.08		4.36		3.42		
8		6.73	-	6.80	-	6.84	-	6.97	-	12	-	6	-	0	-	0	-	8.85	-	5.61	-	5.01	-	7.11	-	
9		6.75	-	6.80	-	6.63	-	6.86	-	7	-	10	-	0	-	2	-	5.65	-	5.48	-	6.52	-	10.21	-	
10		6.63	-	6.75	-	6.79	-	6.84	-	12	-	0	-	0	-	0	-	5.08	-	6.80	-	5.80	-	6.37	-	
11		6.86	-	6.87	-	6.83	-	6.95	-	8	-	5	-	3	-	0	-	4.80	-	4.08	-	5.81	-	3.47	-	
健康群平均		6.74		6.81		6.77		6.91		10.0		5.0		1.0		1.0		6.10		5.49		5.79		6.79		

牛白痢 No. 発症 日	乳濃率						乳無脂固形率																		
	4~9日		11~17日		18~22日		21~30日		4~9日		11~17日		18~22日		21~30日										
	正常	発症	正常	発症	正常	発症	正常	発症	正常	発症	正常	発症	正常	発症	正常	発症									
1	7	3.50	3.97	3.46	-	3.39	-	3.09	-	4.71	4.58	5.14	-	4.92	-	4.78	-	9.21	9.55	9.60	-	9.31	-	8.87	-
2	13	4.33	-	4.01	6.40	3.83	-	N.E.	-	4.34	-	3.87	2.48	4.69	-	N.E.	-	9.67	-	8.73	9.88	9.52	-	N.E.	-
3	17	3.82	-	3.17	3.19	3.37	-	3.34	-	5.02	-	5.19	5.10	4.87	-	5.29	-	9.84	-	9.35	9.28	9.23	-	9.64	-
4	22	3.44	-	3.32	-	2.81	2.69	2.84	-	4.50	-	5.07	-	4.99	4.75	4.94	-	8.94	-	9.39	-	8.79	8.44	8.78	-
5	27	3.78	-	3.62	-	3.27	-	3.28	3.51	4.44	-	4.99	-	4.86	-	5.11	4.25	9.22	-	9.61	-	9.12	-	9.38	8.76
6		3.38	-	3.01	-	2.96	-	2.92	-	4.16	-	5.03	-	5.10	-	5.03	-	8.54	-	9.04	-	9.06	-	8.95	-
7		N.E.	-	2.69	-	3.45	-	3.53	-	N.E.	-	4.91	-	5.12	-	5.37	-	N.E.	-	8.60	-	9.57	-	9.90	-
多発群平均		3.71		3.33		3.30		3.17		4.53		4.89		4.94		5.09		9.24		9.19		9.23		9.25	
8		3.66	-	3.48	-	3.47	-	3.25	-	4.32	-	4.96	-	5.02	-	4.75	-	8.98	-	9.44	-	9.48	-	9.00	-
9		3.80	-	3.38	-	3.29	-	3.12	-	4.50	-	4.61	-	4.83	-	4.55	-	9.30	-	8.98	-	9.12	-	8.66	-
10		4.17	-	3.51	-	3.40	-	3.57	-	4.88	-	4.94	-	4.95	-	5.10	-	10.05	-	9.45	-	9.35	-	9.67	-
11		4.26	-	3.54	-	3.47	-	3.26	-	4.48	-	5.00	-	4.81	-	4.57	-	9.74	-	9.54	-	9.28	-	8.83	-
健康群平均		3.97		3.48		3.41		3.30		4.55		4.88		4.90		4.74		9.52		9.35		9.31		9.04	

N.E.: 検査せず

*: 分娩後日数

正常血採材後白痢発症日までの日数: 牛No.2, 3, 4は1日, 牛No.1, 5は2日

青数字: 白痢発症日の測定値がその個体の全測定値の平均±標準偏差の範囲を逸脱したもの

赤数字: 青数字項目の内, スミルノフの薬却検定で0.05%以内の危険率で薬却できるもの

緑数字: 分娩後日数で区分したグループ内において, スミルノフの薬却検定で0.05%以内の危険率で薬却できる白痢発症日の値

第 5 章

黒毛和種子牛の 母乳性白痢発症試験における 母牛および子牛の生体内変化

緒言

今回の黒毛和種子牛の白痢についての一連の試験において、第2章では白痢発症子牛の母牛を個別に検査して、低エネルギー状態と乳汁の性状の異常が子牛白痢発症に何らかの関与をしていることが示唆された。第3章では母牛の代謝プロファイルテスト (MPT) を行い、白痢多発牛群の母牛は泌乳期にでんぷんの供給が少なくエネルギー不足に陥っていること、あるいは肝臓機能の低下とルーメンコンディションに異常のあることが認められ、第2章の結論と一致した。そこで第4章で分娩後の同一母牛の飼料給与状況、血液性状および乳汁成分と、その子牛の糞便性状を継続的に追跡したところ、子牛の白痢は低でんぷん飼料を母牛に給与している牛群で、デントコーンサイレージの給与開始後4~5日に多発すること、およびその時には母牛の乳脂肪率および血中中性脂肪 (TG) と尿素窒素 (BUN) の急激な増加のあることが認められた。

以上のことより、子牛の白痢発症の原因の一つとしては、母牛の低エネルギー、特に低でんぷん飼料で飼養されていたところにデントコーンサイレージを給与することが引き金となって、母牛の脂質代謝あるいはルーメンコンディションが急変して発症する可能性のあることが示唆された。

そこで今回は、母牛を分娩後低でんぷん飼料で飼養し、その後にデントコーンサイレージを給与することにより子牛の白痢が発症するか否かを明らかにすること、およびその時の母牛のルーメン液、血液、乳汁の変化と子牛の白痢発症の因果関係を究明することを目的として本試験を行った。

材料および方法

1 供試牛および試験期間

黒毛和種雌牛とその子牛5組を母牛の最終分娩日から供試した。試験は本学家畜病院入院牛舎の単房に母牛を飼養して実施した。供試母牛の個体名称をA~E、それに対応する子牛の名称をAC~ECとした。供試母牛の産歴、最終分娩年月日、分娩直後の体重を表5-1に示した。母牛は分娩予定日の2~3週間前に家畜病院に搬入し、搬入後直ちにコクシジウム、クリプトスポリジウム等の消化管内寄生虫の感染のないことを糞便検査により確認した。牛床は敷き料を一切入れずゴム

マットのみとし、随時、高圧蒸気洗浄や強酸性水、塩素系消毒剤および逆性石鹼等の薬剤による消毒を行い、清浄化を図った。子牛は出生直後から試験終了まで母牛から隔離して飼育した。子牛の飼育室入り口には踏み込み消毒槽を設置し、飼育室内の洗浄および消毒は母牛同様の方法で行った。

試験期間は、母牛の最終分娩日から子牛の白痢が発症した日までとした。

2 給与飼料

1) 母牛

分娩後は連日、オーチャード乾草を朝 9 時と夕方 6 時の 1 日 2 回、搾乳後に給与した。分娩後 10 日前後（分娩後 7~18 日）から子牛白痢発症までの間は、デントコーンサイレージを日量 3kg 追加給与した。試験牛 A は、泌乳量が極端に少なく子牛に給与する乳汁の確保が困難であったため、分娩後 4~6 日と 12~14 日にデントコーンサイレージを日量 1 kg 追加給与した。給与飼料および残飼は計量し、実際の採食量を算出した。給与飼料は近赤外線法で分析し、日本飼養標準・肉牛用（1995 年版）（57）に基づいて計算した。飲水は、水槽あるいはウォーターカップから常時自由に行わせた。

2) 子牛

出生後は、母牛から分娩後 1.5 時間に搾乳し、検査用乳汁を採取後の残りの乳汁全量を 38℃に加熱して哺乳バケツで給与した。翌日からは、朝夕に母牛から搾乳し検査用乳汁を採取後の残りの乳汁全量を、38℃に加熱して哺乳バケツで給与した。飲水は水槽から自由に行わせた。他の飼料は試験終了まで一切与えなかった。

3 搾乳

搾乳は、毎回、オキシトシン 50 単位（アトニン-O：帝国臓器製薬（株）、東京都）を頸静脈内に注射後、手搾りで全量を搾りきった。搾乳は初回は分娩後 1.5 時間に行い、翌日からは朝 8 時と夕方 5 時の 1 日 2 回行った。

4 材料の採取、処理および保存

1) 乳汁

毎日朝夕の搾乳時に全量を搾乳後、4分房の合乳を速やかに3つの容器に3~50ml ずつ入れ、
-50℃に凍結保存した。

2) 血液

母子ともに分娩（出生）後は1週間に2回、デントコーンサイレージ給与開始日からは毎日、い
ずれも午後3時に採血を行った。採血は頸静脈から血清分離剤加、およびヘパリン加真空採血管（日
本ベクトンデッキンソン（株）、東京都）を用いて行った。

血清分離剤加真空採血管は採血後直ちに37℃10分間加温後、毎分3,000回転15分間遠心して
血清を分離し、一部は測定に供し残りは-50℃に凍結保存した。

ヘパリン加真空採血管は、採血後直ちに氷冷保存し、血球検査後、速やかに毎分3,000回転15
分間遠心して血漿を分離し、-50℃に凍結保存した。

3) ルーメン液

母牛のルーメン液は、採血後に胃汁採取器（ルミナー：富士平工業（株）、東京都）を用いて採
取した。またVFAおよびアンモニア測定用のルーメン液は採取後直ちに二重ガーゼでろ過し、4℃、
毎分3,000回転で20分間冷却遠心して上清を分離し、測定まで-20℃に凍結保存した。原虫計
数用のルーメン液は、二重ガーゼでろ過したルーメン液1容を、固定染色液であるMHS液（メチ
ルグリーン0.3g、10倍希釈ホルマリン液1l、NaCl8.5g）4容と混和し冷蔵保存した。

細菌数計数用のルーメン液は、生理食塩液に20%ホルマリン液を加えた液と等量混和し、冷
蔵保存した。

4) 糞便

子牛の糞便採取は原則として1週間に2回行い、糞便に異常が認められた場合には随時行った。

採取した子牛の糞便は 4℃で冷蔵し、直ちに検査を行った。

5 検査項目および方法

1) 乳汁

毎日朝夕の搾乳時に、CMT 変法による乳房炎の検査とアルコールテストを行った。アルコールテストスコアは、各分房乳の凝集の程度により、0：凝集（－）、1：軽度粒子状凝集、2：粒子状凝集、3：塊状凝集、4：膜状凝集の 5 段階に区分した。搾乳終了後、直ちに 4 分房あわせた乳汁の pH をガラス電極法（Orion Research K.K., Boston）で測定し、乳量を計量した。

凍結保存した 3 容器の乳汁は、それぞれ以下の検査を行った。

①乳成分の測定：乳汁中の乳脂肪率、乳蛋白率および乳糖率を、ミルコスキャン（Foss Electric Co. Ltd., Copenhagen）により測定した。

②TG 中の脂肪酸組成：乳汁の TG 中の脂肪酸組成は、脂質を Bligh-Dyer 法（表 5-2）で抽出した後、TG をメチル化し、ガスクロマトグラフィー（GC-12APF、島津製作所（株）、東京都）で測定した。

③無機成分濃度：乳汁中の無機成分は、ナトリウム（Na）、カリウム（K）、カルシウム（Ca）およびマグネシウム（Mg）を原子吸光法により、またリン（P）を比色法により測定した。

④カゼイン凝固時間：乳汁 2ml を試験管にとり、37℃に加温した状態で、あらかじめ 37℃に加温しておいたレンニン（Sigma Chemical Company, ST.Louis）0.06U を添加し、2 回、転倒混和し 37℃に静置した。レンニン添加後 3 分から、1 分間隔で試験管を転倒混和して、凝固までの時間を測定した。

⑤乳汁中ケトン濃度：④で凝固した乳汁を毎分 3,000 回転 15 分間遠心して乳清を分離し（レンネット・ホエー法）、乳清中のアセト酢酸およびβヒドロキシ酪酸濃度を測定した。

2) 血液

血清生化学検査の項目および方法を表 5-3 に示した。検査は無機成分を除いて採血の当日中に

行った。無機成分は凍結血清を用いて後日測定した。

3) ルーメン液

ルーメン液は、採取後直ちに原虫の運動性を鏡検し、pH をガラス電極法 (Orion Research K.K., Boston) で測定した。

原虫数は、冷蔵保存サンプルを Fuchs-Rosenthal 計算板を用いて顕微鏡下で計数した。原虫の種類は大きさによって大型、中型、小型の 3 群に分類した。

細菌数は、冷蔵保存サンプルを吉田法の変法 (表 5-4) によって標本を作製し、顕微鏡下で計数した。

VFA は凍結保存サンプルを融解後、メタリン酸によって除タンパクし、ガスクロマトグラフィーで測定した。測定項目は、酢酸 (C2)、プロピオン酸 (C3)、酪酸 (C4) とした。

アンモニア (A) は、ルーメン液の上清試料 (R) 0.5ml に NaOH 0.5ml とフェノール混合液 3.0ml を加え、ついで次亜塩素酸ナトリウム溶液を 0.5ml 加えた後、よく攪拌して発色させ、20 分間放置後、分光光度計 (610nm) で測定した。ブランク (B) には水を、標準液 (S) には 0.25mM (NH₄)₂SO₄ を用い、以下の計算により算出した。

$$0.7 \text{ (mg)} \times ((R - B) / (S - B)) \times 17/14 = a \text{ (mg/100ml)}$$

$$a \times (10/17) = A \text{ (mM)}$$

4) 糞便

子牛の糞便について、ロタウイルス抗原検査、腸内生細菌数、腸内細菌同定を行った。

ロタウイルス抗原検査は、ロタレックスドライ (第一化学薬品 (株)、東京都) により行った。

腸内細菌数は、糞便 0.1g を PBS で 10 段階希釈し、5~10 倍希釈液をマッコンキー寒天培地 (日水製薬 (株)、東京都) にそれぞれ 0.1ml 塗布し、38℃、24 時間培養した後にコロニー数を数えた。

腸内細菌の同定は、腸内細菌数を確認した後、優勢コロニーをトリプトソイ寒天培地 (Difco Laboratories K.K., Detroit) に継代し、38℃、24 時間培養後、腸内細菌同定キット (API20 :

日本ビオメリュー・バイテック（株）、東京都）により行った。

6 データ処理

データはデントコーンサイレージ給与開始日を0日として処理した。対照は、デントコーンサイレージ給与開始前のサンプルとし、ルーメン液および血液については0日と給与開始3日前（-3日）の2サンプル、乳汁については-3日から0日までの朝夕の計8サンプルを用いた。母牛の血液、ルーメン液、乳汁は発症直前の材料を、子牛の血液および糞便は発症直後の材料を白痢発症日の材料とした。ただし給与開始日に発症した試験牛DCとその母牛のデータは区別した。

統計処理は、デントコーンサイレージ給与開始前の平均値を100%とした場合のその後の変動について、デントコーンサイレージ給与開始前との差をMann-Whitney検定で求めた。

成 績

1 母牛の分娩後からデントコーンサイレージ給与開始までの飼料給与内容および泌乳量

母牛への給与飼料の成分分析結果を表5-5に示した。この分析値と、実際の体重、給与量、残飼量、乳量および産次補正を加味した上での飼料の乾物量(DM)、可消化養分総量(TDN)および粗蛋白質量(CP)の充足率およびでんぷん(ST)濃度の推移を図5-1に示した。DMおよびTDNの充足率はおおむね60~120%、CPは90~210%、STは3.4%前後で推移した。

分娩後デントコーンサイレージ給与開始までの母乳のアルコールテストスコアを図5-2に示した。分娩後は試験牛Aを除いて比較的高値で推移したが、デントコーンサイレージ給与開始後は試験牛Bを除いて漸次低下する傾向がみられた。

2 デントコーンサイレージ給与後の子牛の臨床経過と母牛の検査成績

1) 子牛の臨床経過

母牛にデントコーンサイレージを給与開始後の、子牛の糞便の性状および色調の変化を表5-6に示した。

試験牛 AC は給与開始前から軟便傾向であったが、給与開始後3日の朝に黄色水様便を排出した。これはすぐに泥状便程度に改善されたが、5日の夕方、再度、黄色水様便を排泄し、翌日夕方まで継続した。試験牛 BC は開始翌日の夕方に黄色軟便を呈したが、すぐに回復し、6日朝に黄色水様便を排出した。同日夕方からは症状が重篤になり、9日朝まで水様便が継続した。試験牛 CC は、開始後3日の夕方に糞便に直径1~3mmの白色粒子が混在していた。これは翌日には消失したが7日の夕方から3日間にわたって水様下痢が継続し、5頭中最も重症となった。試験牛 DC はデントコーンサイレージ給与開始直前に黄色軟便を排出し、さらに開始後3日夕に粘稠便を排出したが、すぐに回復し、5日の夕方から2.5日間、泥状下痢便を排出した。試験牛 EC は3日夕に軟便を排出後すぐに回復し、7日夕と翌朝に白色水様便を排出した。この間いずれの個体に対しても、治療は一切行わなかった。

以上のように、子牛はデントコーンサイレージ給与開始後1~3日で1回目の糞便の異常があり、5~7日に本格的な下痢症状を呈した。そこで、1回目の異常を前駆症状、2回目の異常を白痢発症と称することにする。

2) 母牛の臨床経過

デントコーンサイレージ給与開始後試験終了までの間、母牛に臨床的な異常は認められなかった。

3) 飼料充足状況

デントコーンサイレージ給与開始後の飼料充足状況を図5-3に示した。デントコーンサイレージ給与前に比べて、DM、TDN および CP はほとんど変動がなかった。しかし ST は、給与開始後に平均170%以上の値に増加した。

4) 母牛のルーメン液の変化

母牛へのデントコーンサイレージ給与開始日と-3日(試験牛 D は-3日と-8日)におけるルーメン液の性状と成分の平均値と標準偏差を表5-7に示した。また、この値を100%とした

場合の、前駆症状発現前日、前駆症状発現日、前駆症状発現翌日、白痢発症前日、白痢発症当日の5頭の平均値と標準偏差の変動を図5-4~5に示した。

(1) pH

デントコーンサイレージ給与開始後若干上昇し、白痢発症前日から低下する傾向にあったが、各個体で変動の幅に大きな差がみられた。(図5-4)

(2) 原虫の運動性

常時活発な運動性が認められ、個体間および経日変化に差は認められなかった。

(3) 総原虫数

総原虫数は前駆症状発現翌日から $198 \pm 77\%$ (平均±標準偏差) の高値を示し、そのままのレベルで推移した。このうち大型原虫は前駆症状発現日の前日と翌日に大きく変動し、中型原虫は前駆症状発現翌日に有意に増加した。その後、大型および中型の原虫の割合が減少傾向を示し、小型原虫が増加の傾向を示した時点で白痢が発症した。(図5-4)

(4) 生細菌数

生細菌数は前駆症状発現翌日に大きな個体差を示したが、開始前に比べて有意な変化は認められなかった。(図5-4)

(5) アンモニア濃度

ルーメン液中アンモニア濃度はデントコーンサイレージ給与開始後、若干の低下傾向を示しながらも標準偏差(S.D.)は15~27%の範囲で安定して推移したが、白痢発症日のS.D.は51%と変動が大きかった。(図5-5)

(6) VFA濃度

酢酸(C2)、プロピオン酸(C3)、酪酸(C4)の合計を総VFAとし、その変化を図5-5に示した。S.D.は5~12%の範囲で安定して推移したが、白痢発症前日のS.D.は19%と変動が大きかった。

酢酸 (C2) およびプロピオン酸 (C3) は、総 VFA と同様の傾向を示し、白痢発症前日に大きく変動した。酪酸 (C4) は、前駆症状発現前後に 125% 前後の有意に高い値を示した。

5) 母牛の血液の変化

デントコーンサイレージ給与開始日と-3日 (試験牛 D は-3日と-8日) における母牛の血液成分の平均値と標準偏差を表 5-8 に示した。また、この値を 100% とした場合の、前駆症状発現前日、前駆症状発現日、前駆症状発現翌日、白痢発症前日、白痢発症当日の 5 頭の平均値と標準偏差の変動を図 5-6~8 に示した。

(1) 脂質の転送系

TG は前駆症状発現日に $139 \pm 8\%$ と有意に高い値を示した後、高い値で推移していたが、発症当日には $144 \pm 28\%$ とさらに増加した。いっぽう β リポ蛋白 (β Lipo) はデントコーンサイレージ給与後大きく変動したが、前駆症状発現翌日には $107 \pm 10\%$ の値に収束し、その後は安定して推移した (図 5-6)。

(2) 脂質 HDL 系

総コレステロール (Tcho) は、前駆症状発現日から不安定に推移したが、リン脂質 (PL) は白痢発症前日および白痢発症日にそれぞれ $115 \pm 17\%$ および $116 \pm 8\%$ と有意に高い値を示し、また PL/Tcho は同様の変化を示した。

(3) 総胆汁酸

総胆汁酸 (TBA) は前駆症状発現前日には $60 \pm 27\%$ と有意に低い値を示したが、その後 100% 前後で推移した後次第に変動幅が大きくなり、白痢発症前日には試験牛 E が 330% であった他は 43 ± 12 の低値を示した。さらに発症当日には試験牛 E の 119% を除くと全般的には $66 \pm 19\%$ と低値を示した (図 5-6)。

(4) 脂質逆転送系・ケトン体

遊離脂肪酸 (FFA) はデントコーンサイレージ給与開始後低下し、平均値で 52~70% の有意に

低い値で推移した。アセト酢酸 (ACAC) は一定の傾向は認められず、 β ヒドロキシ酪酸 (BHB) はデントコーンサイレージ給与開始後増加傾向を示し、白痢発症前日に有意に高い値を示した (図 5-7)。

(5) 血糖値

グルコース (Glu) はデントコーンサイレージ給与開始後低下傾向を示したが、白痢発症日には $104 \pm 5\%$ と有意に高い値を示した。

(6) 蛋白代謝系

アルブミン (Alb) はデントコーンサイレージ給与開始後低下傾向にあったが個体差が大きかった。尿素窒素 (BUN) はデントコーンサイレージ給与開始後低下し、前駆症状発現翌日には $85 \pm 10\%$ と有意に低い値を示した。しかし白痢発症前日には増加に転じ、発症当日には $108 \pm 15\%$ に増加した。

(7) 無機成分

前駆症状発現翌日に K が有意に高い値を示し、その後低下した。Ca も同様な傾向で推移した。Mg は前駆症状発現日から増加傾向を示し、白痢発症日に最高値に達したが、個体差が大きく、有意差は認められなかった。IP および Ca/IP には、有意な変化は認められなかった (図 5-8)。

(8) 肝臓酵素

AST および γ GTP の検査結果を表 5-9 に示した。試験牛 A の γ GTP がやや高値であった他は異常は認められなかった。

6) 母牛の乳汁の変化

母牛の乳汁成分のデントコーンサイレージ給与開始前 4 日間 (試験牛 D は -3 日と -8 日) の平均値と標準偏差を表 5-10 に示した。また、この値を 100% とした場合の、前駆症状発現前日、前駆症状発現日、前駆症状発現翌日、白痢発症前日、白痢発症当日の 5 頭の平均値と標準偏差の変動を図 5-9~12 に示した。

(1) 乳量、アルコールテスト、pH

乳量の推移は図 5-9 に示した。前駆症状発現日の朝に増加した後、夕方の乳量が有意に低い値を示した他は、一定の傾向は認められなかった。

乳汁の CMT 変法による乳房炎の検査では、陽性牛は認められなかった。

乳汁の pH の推移は図 5-10 に示した。白痢発症前日に変動が大きかった。

乳汁のアルコールテスト (ALT) の成績を図 5-10 に示した。デントコーンサイレージ給与開始後低下する傾向にあり、白痢との関連は認められなかった。

(2) カゼイン凝固時間

カゼイン凝固時間を図 5-10 に示した。前駆症状発現前日および白痢発症日の前に低下する傾向があったが、個体差が大きく、有意差は認められなかった。

(3) 乳脂肪、乳蛋白、乳糖

乳汁成分の推移を図 5-11 に示した。乳脂肪率は、夕の値はほぼ一定に推移したが、朝の値は前駆症状発現日には前日に比べて 17.0% 増加し、白痢発症前日には 89.1% に低下後、白痢発症当日に 6.5% 増加して 95.6% になった。

乳蛋白率は、デントコーンサイレージ給与開始後低下し続け、白痢発症前日以降は 90.0~92.5% の有意に低い値を示した。

乳糖率は白痢発症前日に 104.4~105.4% の有意に高い値を示した。

(4) 脂肪酸組成

脂肪酸組成の推移を図 5-12 に示した。ラウリン酸 (C12:0) とリノール酸 (C18:2) はデントコーンサイレージ給与開始後低下傾向を示した。ミリスチン酸 (C14:0) とオレイン酸 (C18:1) はほぼ横這い、パルミチン酸 (C16:0) とステアリン酸 (C18:0) は増加傾向を示した。このうち飽和脂肪酸であるラウリン酸 (C12:0)、ミリスチン酸 (C14:0)、パルミチン酸 (C16:0) およびステアリン酸 (C18:0) の合計の値は、図 5-13 に示したとおり、デントコーンサイレージ給与開始後増加傾向を示し、白痢発症前後には軽度に低下したが、有意差は認められなかつ

た。また、パルミチン酸 (C16:0) とステアリン酸 (C18:0) の合計は図 5-13 に示した通り、デントコーン給与開始後増加した。

個体別の脂肪酸組成を、図 5-14~18 に示した。全頭でパルミチン酸 (C16:0) とオレイン酸 (C18:1) の増減は対照的であった。オレイン酸 (C18:1) とパルチミン酸 (C16:0) の比率の推移において、泌乳量の多かった試験牛 B および E でオレイン酸 (C18:1) がパルミチン酸 (C16:0) より多く、試験牛 A、C および D でその逆の傾向が認められた。全頭とも前駆症状発現日あるいはその翌日から比率の変動が大きくなった。また、ミリスチン酸 (C14:0) とステアリン酸 (C18:0) の比率では泌乳量の多かった試験牛 B および E でミリスチン酸 (C14:0) がステアリン酸 (C18:0) より多く、試験牛 A、C および D でその逆の傾向がみられた。全頭とも前駆症状発現日あるいはその翌日から比率の変動が大きくなった。ラウリン酸 (C12:0) とリノール酸 (C18:2) は試験牛 A、C および D でラウリン酸 (C12:0) がリノール酸 (C18:2) より多く、試験牛 B および E でその逆の傾向が認められた。

(5) 無機成分

無機成分濃度の推移は図 5-19 に示した。Na は前駆症状発現日の朝に有意に高い値を示したが、翌日には朝夕とも 85%前後の有意に低い値に低下した。白痢発症前日にはやや増加し当日には低下したが、個体差が大きかった。

K は Na と逆の増減傾向を示して推移したが、個体差が大きかった。

Mg は前駆症状発現前日に朝夕の値が大きく乖離したが、前駆症状発現翌日から朝の値が有意な低値で推移した。

Ca は前駆症状発現前日夕に有意に高い値となり、その後低下傾向を示した。

IP は有意な変動は認められなかった。

2 価の陽イオンである Ca と Mg の和は、全頭で前駆症状発現前日夕方に高値を示した。

(6) ケトン体濃度

ケトン体濃度の推移を図 5-20 に示した。アセト酢酸 (ACAC) は一定の傾向は認められな

った。 β ヒドロキシ酪酸 (BHB) は前駆症状発現日にデントコーンサイレージ給与開始前の倍以上に増加したが、個体差が大きく有意差は認められなかった。

3 デントコーンサイレージ給与後の子牛の検査成績

1) 子牛の糞便中腸内細菌数の変化

母牛へのデントコーンサイレージ給与開始日と-3日 (試験牛 D は-3日と-8日) の子牛5頭の糞便中の腸内細菌数の平均値 ($3.2 \times 10^8/g$) を100%とした場合の、前駆症状発現前日、前駆症状発現当日、前駆症状発現翌日、白痢発症前日、白痢発症日の平均値と標準偏差の推移を図5-21に示した。腸内細菌の優勢菌は常時 E.coli であり、その数はデントコーンサイレージ給与開始後低下し、前駆症状発現日以降は有意に低い値を示した。この間の腸内細菌生菌数は $10^6 \sim 10^8/g$ であり、ロタウイルスは全ての個体で終始検出されなかった。

2) 子牛の血液の変化

母牛へのデントコーンサイレージ給与開始日と-3日 (試験牛 D は-3日と-8日) における子牛5頭の血液成分の平均値と標準偏差を表5-11に示した。また、この値を100%とした場合の、前駆症状発現前日、前駆症状発現当日、前駆症状発現翌日、白痢発症前日、白痢発症日の平均値と標準偏差の推移を図5-22~23に示した。

TG は前駆症状発現日に $65 \pm 15\%$ と有意に低下した。その後、変動に差がみられるものの徐々に増加する傾向が認められた。 β Lipo は前駆症状発現日に低下する傾向があったが、個体差が大きく有意差は認められなかった。Tcho および PL は前駆症状発現前日に増加傾向を示したが、その後横這いで推移した。TBA は個体差が次第に大きくなり、前駆症状発現翌日に $145 \pm 51\%$ の有意な高値を示した (図5-22)。FFA は前駆症状発現日に $56 \pm 20\%$ の低値を示したが、その後増加傾向を示した。ACAC は前駆症状発現翌日に大きな個体差を示した。BHB は前駆症状発現日に $34 \pm 26\%$ に有意な低下を示し、その後増加傾向を示したが、変動に大きな個体差がみられた。Glu は一定の傾向は認められなかった。BUN は前駆症状発現翌日、Alb は前駆症状発現前日に最低値

を示した後、漸次増加し、発症翌日にはそれぞれ $150 \pm 59\%$ および $104 \pm 4\%$ になったが、個体差が大きく、有意差は認められなかった (図 5-23)。

4 デントコーンサイレージ給与前に白痢を発症した個体 (試験牛 DC) とその母牛 (試験牛 D) の検査成績

試験牛 DC はデントコーンサイレージ給与開始直前 (0 日) に白痢を発症した。この子牛と母牛の発症前後の各種検査結果をまとめた。

1) 母牛のルーメン液

-3 日と 0 日および翌日のルーメン液の変化を表 5-12 に示した。pH は、-3 日の 7.0 から 0 日には 6.7 に低下した。原虫運動性には変化は見られなかったが、総原虫数は 0 日には -3 日の 66% に減少し、その中でも大型原虫は 51.4% 減少した。生細菌数は 0 日に -3 日に比べて 14.3% の一過性の減少が認められた。アンモニア濃度の変化は認められなかったが、総 VFA 量は 9.7 mmol/l 増加した。VFA 組成は、プロピオン酸 (C3) が 1.52 mmol/l 増加、酢酸 (C2) が 7.95 mmol/l 増加、酪酸 (C4) が 0.26 mmol/l 増加した。

2) 母牛の血液

母牛の、デントコーンサイレージ給与開始日を 0 日とした場合の -10 日、-8 日、-3 日、0 日および 1 日の血液検査成績を表 5-13 に示した。給与開始日には -3 日に比べて、TG が 10.8 mg/dl 、 β Lipo が 90 mg/dl 、Tcho が 29 mg/dl 、Glu が 26 mg/dl 増加し、Alb が 0.7 g/dl 、BUN が 5.9 mg/dl 、ACAC が $14 \mu \text{ mol/l}$ 、BHB が $281 \mu \text{ mol/l}$ 低下した。また、AST が 28 U/l 低下、 γ GTP が 34 U/l 増加した。いずれの値も、翌日には -3 日の値程度に戻った。

3) 母牛の乳汁

11 日前から給与開始日までの乳汁成分は図 5-25 に示した。乳脂肪率は -2 日には、朝が 4.91%、夕が 4.98%、-1 日朝が 3.94% であったが、-1 日夕には 6.99%、0 日朝には 5.07% と高い値を

示した。発症前後の脂肪酸組成は安定していた(図5-17)。

乳清中ケトン濃度には著変は認められなかった。乳汁 pH は-3日の6.3から白痢発症日には6.5に増加した。カゼイン凝固時間は、-3日に3分と短縮していたのが-2日には6分、0日には5分と、若干の延長が認められた。アルコールテストは-2日から0日にかけて不安定になっていた(図5-2)。

4) 子牛の糞便と血液

子牛の糞便は $10^8 \sim 10^9$ の範囲で推移し、特に変化はみられなかった。子牛の血液では、0日にTGおよび β Lipoが-3日に比べて増加した(表5-14)。

考 察

本章では、第2章~第4章の結果から考えられる子牛白痢の発症機序に関する作業仮説、すなわち母牛の給与飼料内容の変化による乳汁成分の変化が子牛の白痢の発症に関与する、いわゆる“母乳性白痢”の存在を証明するために、白痢の発症試験を行った。具体的には、低でんぷん飼料を給与していた母牛にデントコーンサイレージを追加給与した時の子牛の白痢の発症状況を調べるとともに、その前後の母牛のルーメン液、血液および乳汁の変化から、白痢発症の背景にある母牛の代謝異常を明らかにすることを試みた。また、併せて子牛の代謝プロファイルテストから、乳汁成分の変化と子牛の白痢発症との関連を検討した。

白痢の発症試験の結果、試験牛5頭の子牛全頭が白痢を発症した。子牛の糞便は、デントコーンサイレージの給与開始後1~3日に軽度の変化を示し、5~7日に明瞭な白痢が発症した。白痢の発症率は100%で、第3章における泌乳期の母牛の低でんぷん飼料と低エネルギーが認められた牛群の子牛の $49.5 \pm 15.9\%$ 、第4章におけるTDNとでんぷんの供給が不足した群の71.4%に比べて高い値を示した。

第2章~第4章の結果から、母牛への給与飼料内容と子牛白痢の関連が示唆されたので、母牛の飼料充足率と白痢発症との関連を検討したところ、全頭ともDM、TDNおよびCPとの関連は認められなかった。しかしデントコーンサイレージの給与により、でんぷん濃度は著しく増加した。

今回の白痢発症日はデントコーンサイレージ給与開始後 5~7 日であり、第 4 章の試験での白痢発症日であるデントコーンサイレージ給与開始後 4~5 日とほぼ一致した。また、第 4 章ではデントコーンサイレージ給与開始前の給与飼料中のでんぷん濃度が 7% 以下の母牛の子牛では全頭で白痢が発症したが、本試験においても、全頭ともデントコーンサイレージ給与開始まではでんぷん濃度が 7% 以下であった。これらのことから、母牛の飼料中のでんぷん濃度と子牛の白痢の発症には何らかの関連のあることが示唆された。

第 2 章の白痢自然発症例では、アルコール不安定性母乳との関連が示唆されたので、これとの関連を検討したが、本試験ではアルコールテストスコアはデントコーンサイレージ給与開始後低い値で推移し、両者の関連は特に認められなかった。しかし試験牛 B は、他の 4 頭が分娩後アルコールテストスコアが低下していったのに対してアルコールテストスコアが増加傾向にあり、増加したところでその子牛が 5 頭中最も重症な白痢となり治癒の遅れたことから、アルコール不安定性母乳は白痢の病態に何らかの影響を与えている可能性も完全には否定できないと思われた。

給与飼料とアルコール不安定性母乳の関連については、乳牛では高蛋白あるいは低カロリー飼料給与群でアルコール不安定性母乳の発生の多いことが知られている (32)。今回、飼料が低 TDN であった試験牛 B および E は、常時アルコールテストスコアが高いレベルで推移したが、高蛋白であった試験牛 C および D は、そのスコアは分娩後徐々に低下し、デントコーンサイレージ給与期間中は低い値で推移した。飼料充足率に問題のなかった試験牛 A のアルコールテストスコアはほとんど陰性で推移し、黒毛和種牛のアルコール不安定性母乳はそのエネルギー充足状況を反映していることがうかがわれた。これは母牛へのエネルギー供給が充足していない牛群で子牛白痢の発症が多いという第 3 章の結果と一致した。すなわち、エネルギー供給の不足の結果のひとつとしてアルコール不安定性母乳、もうひとつの別の結果として子牛の白痢の発症があり、アルコール不安定性母乳と子牛の白痢の発症とは直接には結びついていないことが推定された。

子牛が摂取し、直接的に母乳性白痢の発症の原因となり得る乳汁の性状については、まず、前駆症状発現当日の朝夕の乳量の変動の大きいことが注目された。しかし母牛の血液所見からは関連す

る項目の変化が認められず、これは VFA の変動の影響と考えられた。乳汁 pH は第 4 章では白痢発症群で変動が激しかったが、本試験においても白痢発症前後に大きな変動が認められた。このことは乳汁中のケトン体濃度と関連はなく、ルーメン液 pH の変動とも無関係であり、原因は不明であった。

母乳に起因する白痢の原因として、カゼイン凝固時間の延長が指摘されている。カゼイン凝固時間が延長すると子牛の第四胃でのカード形成がうまくいかなくなり、哺乳した乳汁が第四胃を短時間に通過するので白痢が発症する (37,38)。本試験においては、白痢発症前後に凝固時間が若干延長する傾向がみられたがその程度はわずかであり、他の血液や乳汁成分の変化より若干遅れて発現したことから、今回の白痢発症の原因とは言いがたいと考えられた。

今回の試験において、乳汁成分の変化のうち特徴的な所見は、前駆症状発現日および白痢発症日における乳脂肪率の前日に比べての増加であったが、第 4 章の結果ほど顕著なものではなかった。これは、第 4 章では乳汁の採取が白痢発症時であったのに対して、本試験では朝夕定期的に搾乳したものであることの差によるものと思われた。

試験牛 A および B の前駆症状発現日と、試験牛 C、D および E の前駆症状発現日と白痢発症日は、血中 TG と乳脂肪量は連動して変化した。この乳脂肪の起源については、血中 TG 由来であれば C16 以上の脂肪酸が増加し、ルーメン由来であれば C16 以下が増加する (46)。血中 TG と乳脂肪量が連動しなかった試験牛 A および B の白痢発症日の乳汁中脂肪酸は、発症 2 日前からオレイン酸 (C18:1) とパルミチン酸 (C16:0) が 10%以上の振幅で激しくかつ相反する変動を示した。この時オレイン酸 (C18:1) はリノール酸 (C18:2) と連動し、パルミチン酸 (C16:0) はミリスチン酸 (C14:0) およびステアリン酸 (C18:0) と連動して変化した。すなわち試験牛 A および B の白痢発症日の乳汁中脂肪は、その総量は変化しなかったが、その組成のうち血中 TG 由来の成分が大きく変動し、血清 TG 中脂肪酸組成の変動した可能性が示唆された。試験牛 C はオレイン酸 (C18:1) とパルミチン酸 (C16:0) の振幅は 5%前後と小さく、ミリスチン酸 (C14:0) とステアリン酸 (C18:0) も同様な変動を示した。いっぽう、試験牛 D と E は発症の 2~3

日前からオレイン酸 (C18:1)、ミリスチン酸 (C14:0)、ラウリン酸 (C12:0) の若干の変動は認められたが、その振幅は 5% 前後と小さかった。すなわち、試験牛 C、D および E は血中 TG 由来とルーメン由来の脂肪酸のいずれもが変動したことになる。この変動は VFA の変化と一致しない部分もあり、また、本試験では血中脂肪酸組成の測定を行っていないため、そのメカニズムは不明であるが、全頭とも血液あるいはルーメン内での脂質代謝に変化のあったことが示唆された。

乳汁の脂肪酸組成と下痢との関連では、子牛に低級脂肪酸 (C8、C10) あるいは中級脂肪酸の多い代用乳を飲ませると下痢発症が多いとの報告 (1) がある。また子牛では飽和脂肪酸のうち低級飽和脂肪酸の消化率は 100% と高いが、C16 以上の脂肪酸の消化率は、不飽和脂肪酸で 70~90%、飽和脂肪酸では 50% 以下に低下する (66)。新生児では飽和脂肪酸含量が増えると 2 価イオンと結合し、特に Ca 塩を形成すると融点上がり、腸管内腔に沈殿しやすくなる。そのため乳化が不十分となり、消化・吸収が低下する (34) と言われている。いっぽう、同じく新生児で C18 の脂肪酸は水分や電解質の吸収を阻害するため下痢が起こる (7)、あるいは高級不飽和脂肪酸の給与で下痢が発症し結腸へのダメージが生じる (2) との報告もある。脂肪酸塩が形成されると脂肪が腸管内に滞留し、脂肪酸が常在細菌叢の作用で水酸化脂肪酸となり、吸収されずに Na や水分の分泌を促進して脂肪便の原因となる (10,76,80) と言われている。さらにラットにおいては、C18:1 で OH 基を持つリシノレイン酸を投与すると、結腸での水分および電解質分泌の増加が認められている (10)。

本試験では糞便中の脂肪酸の分析を行っていないので、これらの腸管内での脂肪酸の変化との関連は不明であった。しかし本試験では有意差は認められなかったが、デントコーンサイレージ給与開始後に乳汁中の飽和脂肪酸量の増加が認められ、また、2 価イオンである Ca および Mg が前駆症状発現前日に増加し、飽和脂肪酸との結合量が増えた可能性が考えられた。さらに C16 および C18 の飽和脂肪酸がデントコーンサイレージ給与開始後増加していることから、これら脂肪酸組成および無機成分の変動により乳汁の消化・吸収が低下して白痢の発症した可能性が示唆された。

この乳汁組成の変化の原因としては、給与飼料の変化とそれに伴うルーメンコンディションの変化が考えられる。そこで、ルーメンコンディションについて検討した。ルーメン液中微生物において、総原虫数は前駆症状発現日から増加の傾向を示した。このうち最初に前駆症状発現前日に大型原虫数が増加し、前駆症状発現翌日には中型原虫数が増加した。しかしこの日を最高値として pH の低下が始まり、白痢発症前日から大型および中型原虫数が減少した。小型原虫数は大型および中型原虫の減少と入れ替わるように増加したが、これはその栄養源となる細菌数が増加したためと思われる。しかし細菌数は牛個体によって原虫に捕食される程度に差異があったためか、一定の傾向は認められなかった。このように pH の低下とそれに呼応した大型および中型原虫の減少と小型原虫の増加という、ルーメン内の微生物叢の大きな変化が白痢発症日にむけて進行していったことが認められた。ルーメン液中アンモニア濃度の白痢発症日における変動は、これが微生物の変化に遅れて発現したことから、微生物叢が変化した結果と推定された。以上のことより、白痢発症日には母牛のルーメン環境が悪化していたこと (59) が示唆された。

ルーメンコンディションに変化が現れた場合、その結果として VFA 組成の変動が考えられる。本試験において、前駆症状発現日には酢酸 (C2) とプロピオン酸 (C3) に変化は認められなかったが、酪酸 (C4) は前駆症状発現前日に有意に増加した。VFA と乳汁成分の関係において、酢酸 (C2) は乳量と脂肪、乳糖、蛋白の増加、特に脂肪を増加させる作用が顕著であり、プロピオン酸 (C3) は乳量は増えないが蛋白が増加するいっぽう脂肪が低下する (68)。また酪酸 (C4) は、乳量は増えないが脂肪が増加する (68)。このことから、前駆症状発現日の酪酸 (C4) の増加は、乳脂肪率の増加に影響している可能性が示唆された。また白痢発症日には、いずれの VFA も前日に比べて増加しているが、乳脂肪の変化に一定の傾向はなかった。これはルーメン発酵の状態により、乳脂肪率を増加させる酢酸 (C2) ・酪酸 (C4) と、減少させるプロピオン酸 (C3) (68) の比率に差異が生じたためと考えられた。

母牛個体の MPT

以上のように、母牛の摂取飼料の変化がルーメンコンディションに変化をもたらし、それが子牛の白痢の発症の転機となる可能性の大きいことが認められた。次に、この飼料の変化が母牛の代謝にどのような影響を与えたかを検討した。

母牛について MPT を行ったところ、白痢発症日に母牛の血中 TG、PL、Glu、BUN の増加が認められたが、これは、デントコーンサイレージ給与開始後白痢発症までの間、飼料中の TDN や CP の増加がなく、飼料中脂肪濃度にも変化はなかったため、摂取飼料成分由来以外の要因と考えざるを得ない。

母牛の血中 TG の増加の要因としては、①飼料中脂質の増加 (78)、②ルーメン微生物体脂質の増加 (24、41、86)、③肝臓中脂質の放出の 3 つが可能性として考えられるが、①は飼料計算から否定され、③は β Lipo の白痢発症日前後の変動との相関が無いことため否定されるので、②のルーメン微生物体脂質由来の可能性が高いと考えられた。

PL の増加の要因としては、PL の供給源として①飼料中脂質 (78)、②ルーメン微生物体脂質 (5、13、41、86)、③胆汁酸 (5) および④肝臓や組織の細胞中の脂質が考えられるが、①は飼料計算から否定された。④は PL/Tcho の変動が大きかったことから、PL と Tcho がほぼ 1:1 で構成されている高密度リポ蛋白 (HDL) の増加は考えられず、FFA の増加がなかったことから組織からの供給の可能性も低かった。さらに β Lipo の変動とも連動していないので、④は要因とはなり得ないと考えられた。③の胆汁酸は、白痢発症前日に著しく増加した個体が 1 頭 (試験牛 E) あり、この個体の PL に限っては胆汁酸由来 (5) も考えられた。しかし、他の 4 頭の TBA は開始前に比べて半減しており、腸肝循環の円滑でないことが示唆され、これも共通の要因とは考えにくかった。いっぽう、牛の第四胃を通過したエステル化脂肪酸の 50% はリン脂質で、これは微生物由来のものと推定されており (85)、試験牛 E 以外の 4 頭の PL は②のルーメン微生物由来の可能性が高いと思われた。試験牛 E についても②の可能性のあることは否定できなかった。

Glu の増加の要因としては、①糖原性物質、特に VFA 中プロピオン酸 (C3) の増加、②肝臓等での糖新生の亢進、③ストレス、④ルーメン微生物体の糖が考えられる。③については、毎日同様

な飼養管理と採材を行っており、子牛の白痢発症日に全頭ともにストレスを負荷したということはありません。②の糖新生の亢進は、エネルギー不足時のインスリンの低下に伴って起きるが、これはホルモン感受性リパーゼ (HSL) の活性増加を伴うが、本試験ではそれによる FFA の増加は認められず、また、給与飼料内容からみてもこの可能性は低いと思われる。①については、VFA の分析から白痢発症前後にプロピオン酸 (C3) の増加が認められ、これが Glu の増加の原因となっている可能性もあると考えられた。また、④の可能性も考えられた。

BUN の増加の要因としては、①飼料中蛋白質の増加 (48、64)、②ルーメン内アンモニアの増加 (19)、③糖原性アミノ酸の利用による異化亢進 (72)、④ルーメン微生物の第四胃以下での消化 (62) が考えられる。これらのうち①は飼料計算から否定された。②はルーメン液の分析から認められたが、BUN の変化はルーメン内アンモニアの変化に 1 日先行していることから、これを原因とすることは困難と思われた。③は著しい飢餓の状況で起きるが、供試牛は飼料計算上からも血液の MPT からも著しい飢餓の状況とは考えにくい。ゆえに、④のルーメン微生物由来の可能性が高いと考えられた。

このように、母牛の血中 TG、PL、Glu、BUN の同時増加の要因として、ルーメン微生物由来以外に起源を求めることは、Glu や一部個体の PL を除いては困難であった。このことと、白痢発症前日からの大型および中型原虫数の低下および小型原虫数の増加を考え併せると、白痢発症日にルーメン微生物が大量にルーメンから排出され、第四胃以下で消化・吸収されたものと考えられた。この微生物の大量流出は、大型および中型原虫が死滅してルーメンから流出したのか、小型原虫が増えすぎて流出したものかは不明であるが、飼料、特にでんぷん濃度の増加に起因したルーメン内微生物叢の変化によるものと考えられた。

子牛個体の MPT

以上のように、母牛への給与飼料の変更により母牛の脂質代謝を中心とする種類の栄養成分の代謝に変化が生じ、それによって白痢の前駆症状発症前後や白痢発症前後に乳汁の性状の変化したこ

とがわかった。次に、それが子牛の白痢にどのように関与したかを検討した。

まず、子牛に発症した白痢が感染性のものであったか否かが問題となる。感染性白痢の原因として最も多いのは病原性大腸菌とロタウイルス (3) である。本試験においては、いずれの時期においても子牛の腸内細菌数の増加は認められず、ロタウイルスは常時検出されず、また他の牛との接触も無かった。さらに本試験では高圧蒸気あるいは薬剤で牛舎を頻繁に洗浄・消毒しており、今回の症例が感染性下痢症である可能性は低いものと考えられた。

子牛の血液の MPT からは、白痢の前駆症状発現日を境に各種の代謝活性に変化の起こることが認められた。すなわち、前駆症状発現日 (試験牛 DC は給与開始日の自然発症日の 3 日前) 前後に全頭で TG が低値を示し、それ以降は哺乳量が多く TG が著しく高かった試験牛 EC を除く 4 頭で、デントコーンサイレージ給与開始前 (試験牛 DC は給与開始 3 日前) より TG が増加した。腸管から吸収された脂質は肝臓を経由して体組織へ転送される。血中 TG は消化管からリンパ管を経て肝臓に至るカイロミクロン (78) と、肝臓から放出される β Lipo の主成分である。子牛の場合、肝臓の蓄積脂肪量は少ないので、消化管からの摂取脂質が比較的速やかに肝臓を通過して体組織に転送されると考えられる。筆者らのホルスタイン哺乳子牛における実験 (未発表、投稿準備中) において、血中 TG は哺乳後 1~2 時間に最高値を示し、4 時間には哺乳前の値に戻ることを確認している。このことと、TG と β リポ蛋白とが連動して変化したことから、本試験においては前駆症状発現日 (試験牛 DC は給与開始 3 日前あるいは給与開始日の自然発症日) 前後に腸管からの脂質の吸収が一時的に低下し、その後、TG の吸収が増加したことがうかがわれた。血中 TG 増加の原因としては、母牛の乳量および乳脂肪量の増加がまず考えられるが、本試験においては子牛の血中 TG と母牛の乳量および乳脂肪量は連動していなかったため、これは無関係と考えられた。いっぽう本試験において哺乳後採血までの時間は 6 時間であり、通常であれば哺乳後の血中 TG の一過性の増加の影響の消失している時間帯であるので、母乳の脂肪酸組成のところで考察したように乳汁の腸管内での滞留があり、それによる持続的な脂肪吸収のあったことが推定される。この乳汁の滞留はいくつかの影響を及ぼす。まず、乳糖の吸収が TG 同様に増加するため、血中 Glu は一時的に

増加する可能性があるが、本試験では前駆症状発現日前後にそれが認められた。また、新生児では飽和脂肪酸塩の刺激による腸管粘膜の炎症が生じて下痢が起きやすくなる(34)と言われている。また長時間腸管に滞留した脂肪は常在細菌叢の作用で水酸化されて吸収されにくくなり、これが腸管の運動性の変化やナトリウムおよび水分の分泌を促進するとされている。さらに乳糖が長時間腸管内に滞留すると腸管内の微生物叢が変化し下痢が起きやすくなる(34)。これらのことが前駆症状発現日から進行し、母乳性状の不安定化ともからみあって白痢の発症した可能性が考えられた。TGの増加の原因として肝臓からの脂質の放出の活性化も考えなければならないが、 β Lipoは前駆症状発現日以前の値を上回ることはなく、肝臓からの脂質の放出能が亢進しているとは考え難かった。

以上のように子牛は前駆症状発現日以降、消化管内環境は不安定となり、それが徐々に悪化していった可能性が示唆された。白痢発症日には子牛の血液に著変はなく、白痢の発症は子牛の代謝異常や脂質の吸収不良によるものではなく、消化管内での消化不良によるものと推定された。

自然発症例

今回、1頭(試験牛DC)はデントコーンサイレージ給与開始直前に白痢を発症した。第4章でもデントコーンサイレージ給与とは関係なく発症した個体が1頭いたが、その症例の母牛の血液および乳汁は、他のデントコーンサイレージ給与個体と同様な変化を示した。本試験の症例の母牛(試験牛DC)の場合は、ルーメン液のpH、微生物およびVFAの変化は、デントコーンサイレージ給与開始後の白痢発症日の変化よりも顕著に現れた。血液では、TG、GluおよびBUNの変化は白痢発症時と同様であったが、その変化は最も大きかった。その他にTchoとAlbの増加、およびACACとBHBの低下がみられ、肝臓機能の一時的な亢進があるものと思われた。また、 γ GTPの増加という一過性の胆汁鬱滞所見が認められた。この個体は成績には示さなかったが肝蛭感染はなく、 γ GTPの増加は腸管の浮腫等による胆管開口部の閉鎖によるものと考えられた。Tcho、Albおよび γ GTPの変化は、第2章および第4章の個体では認められず、この個体で初めて認められ

た変化であり、デントコーンサイレージ給与開始後に発症した白痢とは異なった機序で発症した可能性があり、今後検討する必要がある。乳汁の変化では乳脂肪率の急激な増加が特徴的であり、これは第4章の症例と一致した。しかし白痢発症日の乳汁中の脂肪酸組成に変動はなく、他の4頭とは異なっていた。デントコーンサイレージ給与開始3日前朝の著しい高脂肪乳の時が他の牛の前駆症状発現日に当たるかもしれない。このように、試験牛Dのデントコーンサイレージ給与直前の白痢の発症については、給与開始後の発症と類似した所見があるいっぽう異なる点もあり、子牛の母乳性白痢の原因は多くの要素が複雑に絡み合っている可能性が示唆された。

まとめ

以上のことから子牛白痢発症までの経過をまとめると、以下のようになった。デントコーンサイレージの給与開始後1~3日に子牛の糞便に軽度の変化が認められたので、この日を前駆症状発現日とした。前駆症状発現日の乳汁中MgおよびCaは高値の傾向を示し、飽和脂肪酸量あるいは高級飽和脂肪酸も増加の傾向にあった。前駆症状発現日前後にはルーメン液中の大型および中型原虫数が増加したが、白痢発症前日から減少し、小型原虫が増加した。この日から母牛の血中PL、およびBUNが増加し、これは大型および中型原虫あるいは小型原虫を消化吸収することによるものと推定された。この間、乳汁のpH、脂肪酸組成およびケトン体濃度が次第に不安定になった。いっぽう子牛の血液検査結果からは、前駆症状発現日以降、腸管での乳汁成分の滞留を示唆する所見が得られた。新生児の白痢においては、高級飽和脂肪酸は吸収が著しく悪い上、二価の陽イオンと結合して脂肪酸塩を形成して腸管に滞留しやすく、腸管内に脂肪が長時間滞留すると、常在菌が脂肪酸を水酸化することで吸収されにくいオキシ脂肪酸が形成されてナトリウムや水分の分泌を促進することが発症の原因の一つとされており、この変化が子牛の腸管内で起きていた可能性が考えられた。さらに母乳の変化が日を追って増幅され、飼料変更後5~7日の白痢発症日には、大量のルーメン微生物の消化・吸収に起因すると思われる母牛の血液成分(PL、TG、Glu、BUN)の一過性の増加があり、それによるとと思われる乳汁成分(乳脂肪率、脂肪酸組成、pH)の一過性の変

化が起こった。子牛は前駆症状発現日以降すでに消化不良の状態であったところに、乳脂肪率、脂肪酸組成および pH 等に変化をきたした乳汁を哺乳し、これにより脂肪の消化不良が急激に進行し、脂肪消化不良便としての白痢が発症したと推定された。白痢発症時には子牛の血中 TG の低下は認められず、この時点での脂肪吸収不良はないものと推定された。これは病原微生物により腸管が損傷されて白痢が発症するという、低脂質血症を伴う感染性白痢の病態とは異なるものであった。

このように子牛の“母乳性白痢”は、デントコーンサイレージ給与後に生じる母牛のルーメンコンディションの変化に起因する乳汁の変化により引き起こされることが示唆された。しかし母牛のルーメンコンディションの変化、乳汁の生産過程での変化および子牛の消化管内環境については、さらに詳細な検討が必要と思われた。

本試験では牛舎は頻繁に洗浄・消毒を行い、微生物感染の防御には細心の注意を払った。しかし一般農家ではこのような管理は不可能であり、前駆症状発現日以降の子牛の消化管の機能が不全であれば、腸内細菌叢が変化し、感染性白痢の誘因ともなりうる。第3章で示したように母牛の飼養管理の改善で子牛の白痢は激減することから、感染性白痢と分類されている子牛白痢のうちの相当数の原因あるいは誘因は母乳の異常である可能性も考えられ、子牛白痢の予防および治療については母牛の飼養管理から考え直す必要があると思われた。

小 括

デントコーンサイレージ給与後 5~7 日に、供試牛 5 頭全頭の子牛で白痢が発症した。デントコーンサイレージ給与後に発症する子牛の母乳性白痢の発症メカニズムは以下のように推定された。

1. 母牛へのデントコーンサイレージの給与あるいはその他の何らかの原因でルーメン内の環境が変化し、飼料変更後 1~3 日の前駆症状発現日からルーメン原虫数の増加が始まった。
2. 前駆症状発現前日に乳汁中 Mg、Ca および高級飽和脂肪酸濃度が高値を示し、前駆症状発現日には乳脂肪率が前日に比べて増加した。このとき子牛の脂肪の吸収は低下していた。
3. 前駆症状発現日以降、子牛の腸管内での脂肪酸塩形成あるいは脂肪の水酸化による乳成分の滞留によると思われる子牛の血清中 TG の増加が始まった。
4. 前駆症状発現日から乳汁の pH、乳脂肪率、脂肪酸組成およびケトン体濃度が不安定になり、その変化は次第に増幅していった。
5. 白痢発症前日から、大型および中型原虫の減少と小型原虫の増加に呼応するように、ルーメン微生物を消化吸収することによるものと推定される母牛の血中 TG、PL、Glu および BUN の増加があった。

以上のように、子牛の側では前駆症状発現日に消化管はすでに消化吸収不良の状態になり、その後は脂肪酸の消化管内での滞留による変化が継続し、白痢発症日にも脂肪の持続的吸収は継続しており、目立った変化は認められない。いっぽう母牛の側は、乳汁成分の不安定さが白痢発症日に向けて次第に増幅され、飼料変更後 5~7 日の白痢発症日には大量のルーメン微生物の消化・吸収によると推定される血液 (TG、PL、Glu、BUN) の一過性的変化が生じ、それにより乳汁成分 (乳脂肪率、脂肪酸組成、pH) が変化して、不安定であった子牛の消化管内での消化・吸収のバランスを一気に悪化させたと推定される。この時子牛は、摂取した乳汁を脂肪消化不良便として排出し、白痢が発症した。

表5-1. 供試牛

試験牛	母 牛			子 牛		
	年齢 (歳)	産歴 (産)	最終分娩 年月日	分娩日	試験牛	出生日 体重(kg)
A	14	12	1997.6.10	373	AC	24
B	2	1	1997.6.16	341	BC	27
C	3	2	1997.8.11	421	CC	31
D	3	2	1997.8.6	403	DC	32
E	6	4	1997.9.16	440	EC	30

表 5-2. 乳汁中脂肪の抽出とメチル化

脂質の抽出(Bligh-Dyer 法)

1. 15ml 共栓付スピッツグラスを用い、乳汁 0.5ml に対してクロロホルム-メタノール(C-M, 1:2) 2.0ml を加える。
2. その混合物を1~2時間ときどき振とうした後遠心(3000rpm/10min)する。
3. 上層(メタノール層)をピペットで別のスピッツ管に移す。
4. 残渣(クロロホルム層)にさらにクロロホルム-メタノール-水(C-M-H₂O, 1:2:0.8) 2.5ml を加え、同様に振盪遠心し、上層を3のスピッツ管に加える。
5. 上層を合わせたものにクロロホルムを1.5ml 加えて50回振盪し、1.5ml の水を加えて軽く反転させ、遠心する。
6. 上層(メタノール-水層)をアスピレーターで(白い膜まで)吸い取り、下層(クロロホルム層)を十分に乾燥したネジ口試験管に移す。
7. 2ml のベンゼンを加え、30℃で窒素気流中で1~2時間濃縮し、乾固後ただちにベンゼン0.5ml に溶かす。

TG のメチル化

1. 得られた試料に1.8%濃硫酸メタノール2mlを加え、50℃で2時間ときどき振りながら加熱する。
2. 室温まで温度を下げた後、2ml のヘキサンで3回震とうして抽出する。
3. ヘキサン層をあわせ、2%KHCO₃2ml で後洗いし、とりだした上層に約20g の硫酸ナトリウムを入れて1晩放置後、窒素気流中で1~2時間溶媒を乾固する。
4. 冷暗所に保存し、ガスクロマトグラフィーで測定する直前にジエチルエーテル500μl に溶解する。

表5-3 血液検査項目および方法

検査項目	略号	単位	測定方法
脂質の転送系			
トリグリセライド	TG	mg/dl	遊離グリセロール消去酵素法
βリポ蛋白	βLipo	mg/dl	パリンカルシウム比濁法
脂質の逆転送系			
遊離脂肪酸	FFA	μEq/l	ACS-ACO酵素法
ケトン体			
アセト酢酸	ACAC	μmol/l	酵素法
βヒドロキシ酪酸	BHB	μmol/l	酵素法
HDL系			
総コレステロール	TCho	mg/dl	コレステロールオキシダーゼ法
リン脂質	PL	mg/dl	フォスホオリパラーゼD法
総胆汁酸	TBA	μmol/l	酵素法
糖新生系			
グルコース	Glu	mg/dl	ヘキソキナーゼ・G6PDH法
蛋白代謝系			
アルブミン	Alb	g/dl	BCG法
尿素窒素	BUN	mg/dl	ウリアーゼ・GLDH法
肝臓酵素			
AST	AST	IU/l	MDH・UVレト法
γGTP	γGTP	IU/l	γグルタミルPニトロニトリド基質法
無機成分			
ナトリウム	Na	mg/dl	原子吸光法
カリウム	K	mg/dl	原子吸光法
カルシウム	Ca	mg/dl	原子吸光法
マグネシウム	Mg	mg/dl	原子吸光法
リン	iP	mg/dl	比色法

表5-4. 吉田法変法によるルーメン液中の細菌計数

1. 生理食塩液 8 ml を入れた試験管によく混合した保存ルーメン液 2 ml をとる。
2. 1 分間振とう後 10 分間静置する。
3. この中層部から 0.5 ml をとり、生理食塩液 9.5 ml を入れた試験管に加える。(A液)
4. 22 ゲージの針をつけたシリリンジに、0.2% 寒天溶液 0.5 ml、A液 0.5 ml を吸引し混和する。
5. 最初の何滴かを捨てた後、スライドグラスに 2 滴 (0.02 ml) ずつ滴下して直径約 1 cm の円形にする。
6. 自然乾燥させ、塗布円の面積を求めためノギスで長径、短径をはかる。
7. グラム染色を行い、乾燥後封入する。
8. 20 視野についてグラム陽性菌・陰性菌にわけて計数を行う。
9. 各視野の全部を集計して百分率を求め。
10. 塗布円の面積と視野の面積の比より、総細菌数を算出する。

表5-5 給与飼料の成分分析結果

	試験牛	DM	TDN	CP	ST	Fat	Ca	Mg
オーチャードラップサイレージ	A,B	87.3	48.8	13.9	3.0	3.4	0.6	0.2
	C,D,E	80.2	45.2	13.7	3.0	2.6	0.6	0.2
デントコーンサイレージ	A,B	20.4	11.5	1.5	7.0	2.1	0.3	0.3
	C,D	22.4	14.5	0.9	7.3	4.0	0.1	0.3
	E	21.5	13.2	1.3	6.8	3.8	0.2	0.3

TDN,CP,ST: 乾物中濃度 (%)

DM: 現物中濃度 (%)

ST: でんぷん濃度

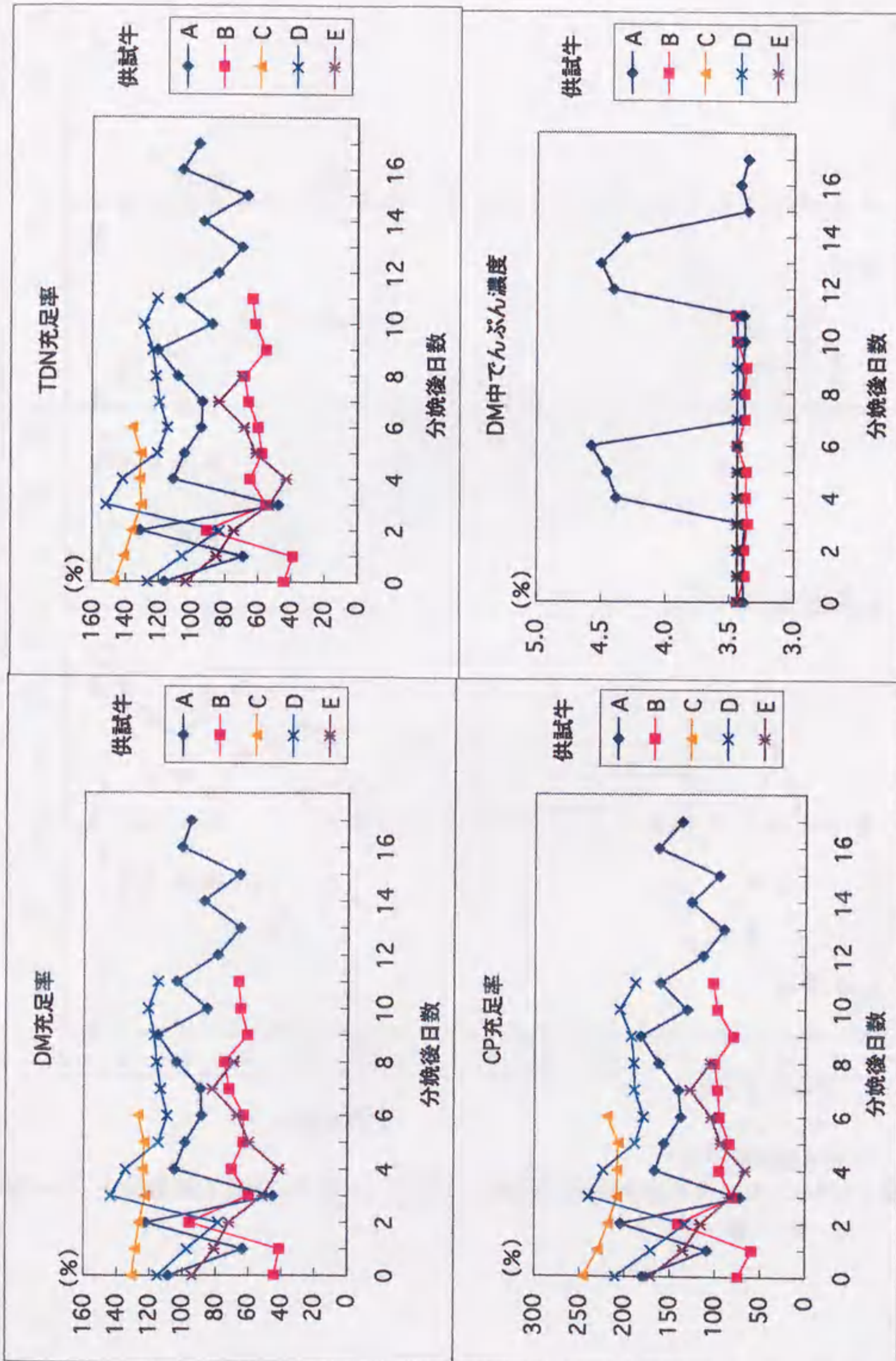


図5-1. 分娩後デントコーンサイレージ給与開始までの母牛の飼料充足率およびでんぷん濃度の推移

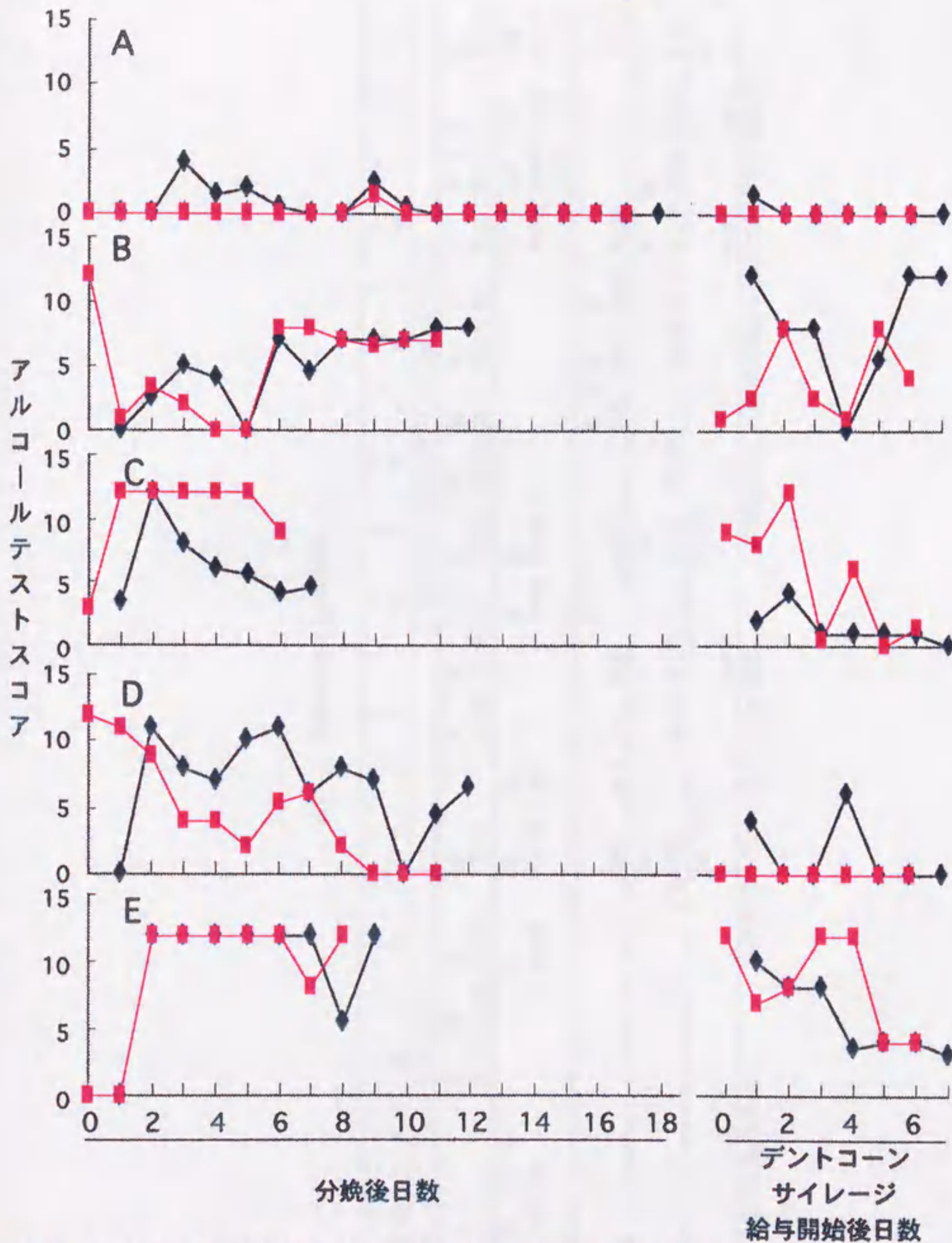


図5-2. 分娩後およびデントコーンサイレージ給与開始後の乳汁アルコールテスト成績

—■— 朝 —◆— 夕

表5-6 子牛の糞便の性状の変化

デントコトコトコサイレージ 給与からの日数	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	
母牛飼料	オーチャード乾草とデントコトコトコサイレージ											
AC 性状	軟	軟	軟	軟	泥	泥	泥	泥	泥	水	泥	泥
色調	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色
BC 性状	軟	軟	軟	軟	軟	軟	軟	軟	軟	軟	軟	軟
色調	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色
しぶり												
CC 性状					軟	軟	軟	軟	軟	軟	軟	軟
色調					黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色
DC 性状				軟	軟	軟	軟	軟	軟	軟	軟	軟
色調				黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色
EC 性状					軟	軟	軟	軟	軟	軟	軟	軟
色調					黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色	黄土色

無記入は異常所見なし 0日夕からデントコトコトコサイレージ給与開始 C,Dは6日夜から、A,B,Eは7日夜から、母牛にメンブロン製剤を投与

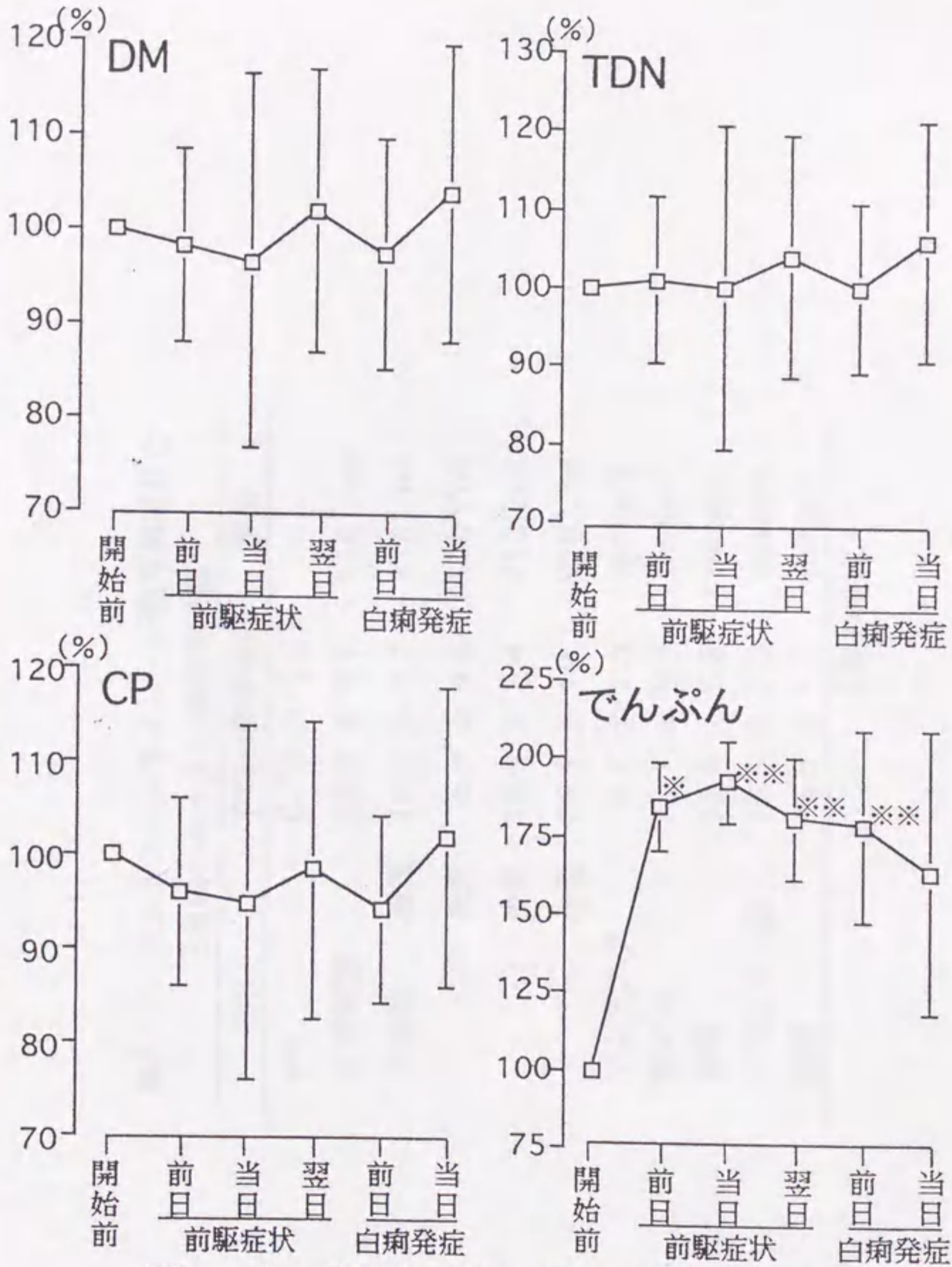


図5-3. 飼料成分の充足状況の推移

開始前に対する有意差 ※: $p < 0.05$ ※※: $p < 0.01$

表5-7. デントコーンサイレージ給与開始日と
3日前のルーメン液検査成績

項目	平均±標準偏差	単位
pH	6.75 ± 0.29	
生細菌数	28.8 ± 8.2	X10 ⁸ /ml
原虫数	総数	10.2 ± 1.2 X10 ⁴ /ml
	大型	6.5 ± 4.8 X10 ⁴ /ml
	中型	18.9 ± 8.4 X10 ⁴ /ml
	小型	76.5 ± 19.1 X10 ⁴ /ml
アンモニア	6.1 ± 1.5	mmol/l
総VFA	75.7 ± 9.3	mmol/l
酢酸	55.4 ± 6.6	mmol/l
プロピオン酸	13.5 ± 2.0	mmol/l
酪酸	6.8 ± 1.7	mmol/l

5頭の平均

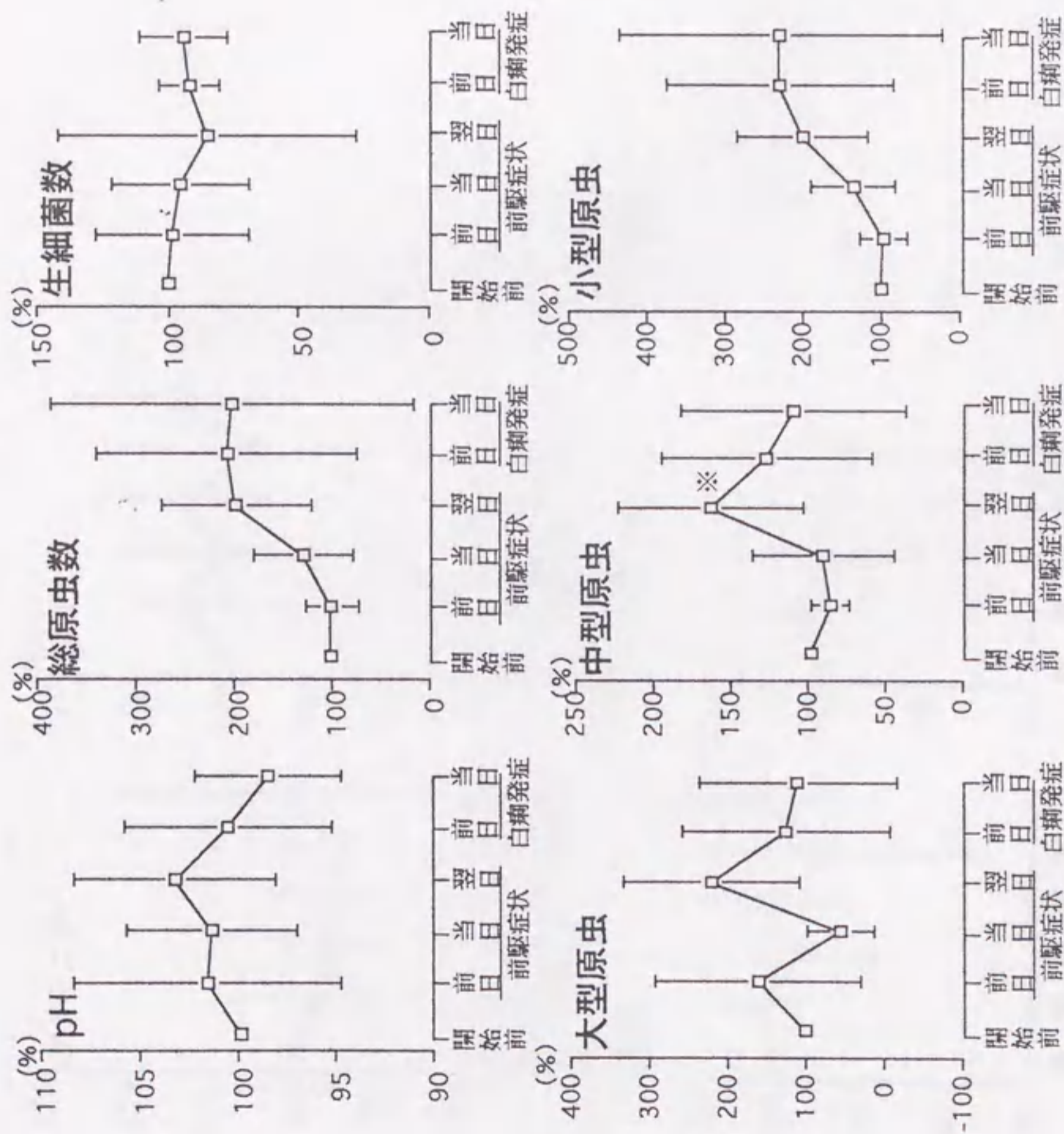


図5-4. ルーメン液のpHおよびルーメン液中微生物の変化

※: $p < 0.05$ (開始前に対する有意差)

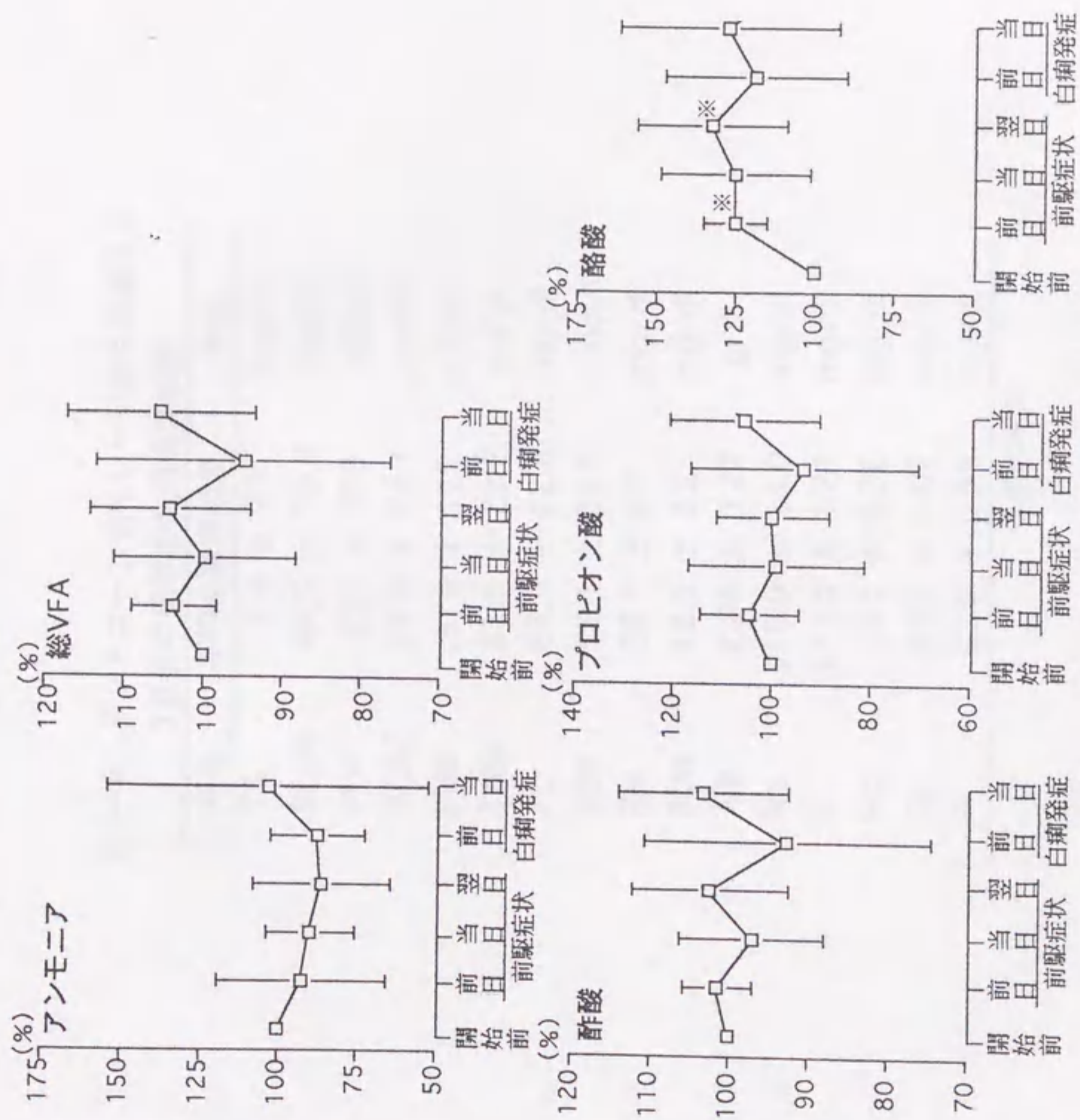


図5-5. ルーメン液成分の推移
開始前に対する有意差 ※: p<0.05

表5-8. デントコーンサイレージ給与開始日と
3日前の母牛の血液検査成績

項目	平均±標準偏差	単位
TG	9.4 ± 2.8	mg/dl
BLipo	44.1 ± 19.9	mg/dl
FFA	653 ± 398	μEq/l
ACAC	28.9 ± 24.1	μmol/l
BHB	374 ± 115	μmol/l
Tcho	61.5 ± 23.2	mg/dl
PL	63.9 ± 22.8	mg/dl
TBA	52.1 ± 26.0	μmol/l
Glu	66.1 ± 3.7	mg/dl
BUN	12.5 ± 2.2	mg/dl
Alb	2.84 ± 0.22	g/dl
Na	319.0 ± 14.0	mg/dl
K	17.10 ± 1.21	mg/dl
Mg	1.51 ± 0.36	mg/dl
Ca	8.82 ± 0.07	mg/dl
iP	6.10 ± 0.53	mg/dl
5頭の平均		

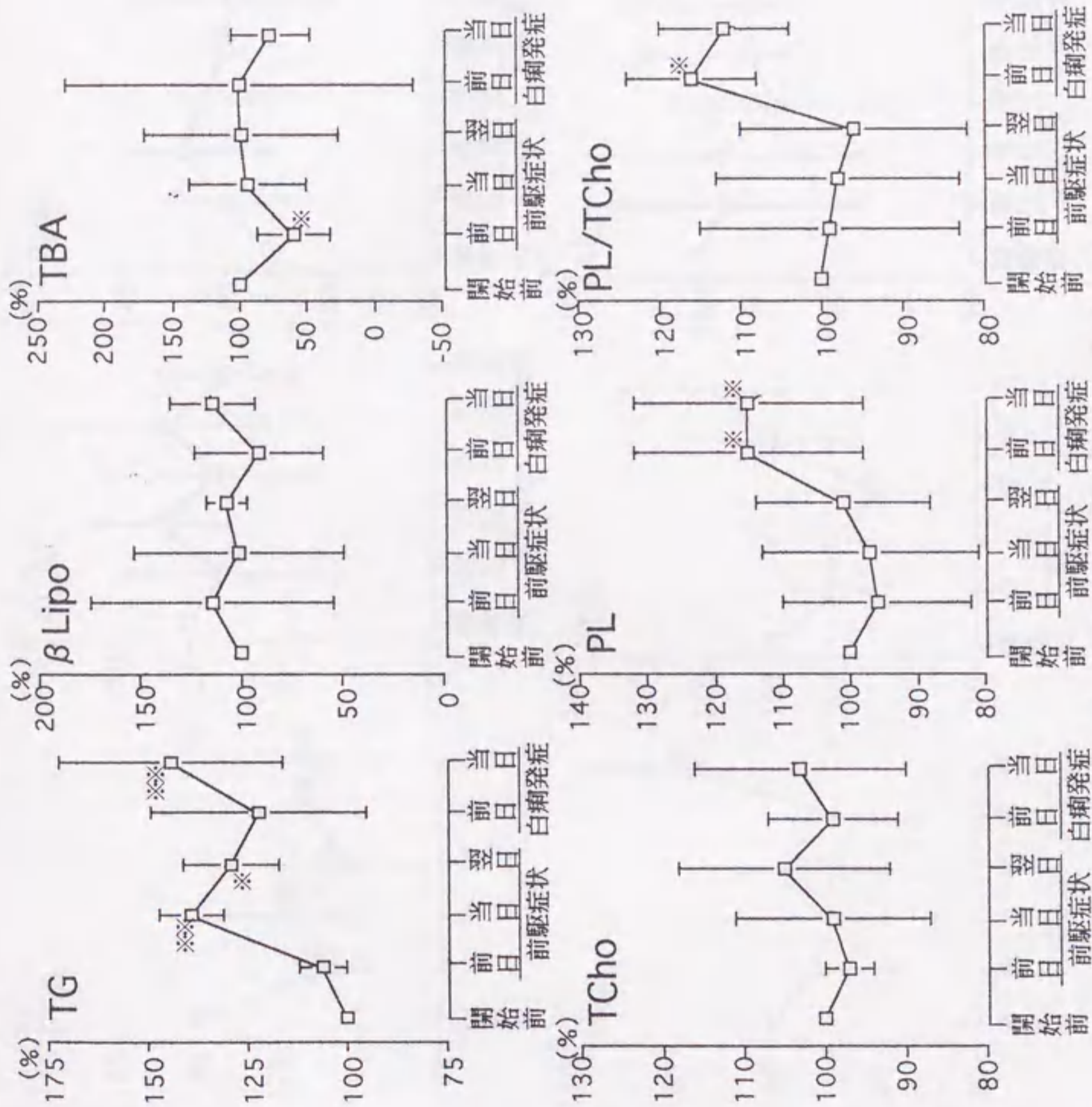


図5-6. 母牛の血液成分の推移 (1)

開始前に対する有意差 * : $p < 0.05$ ** : $p < 0.01$

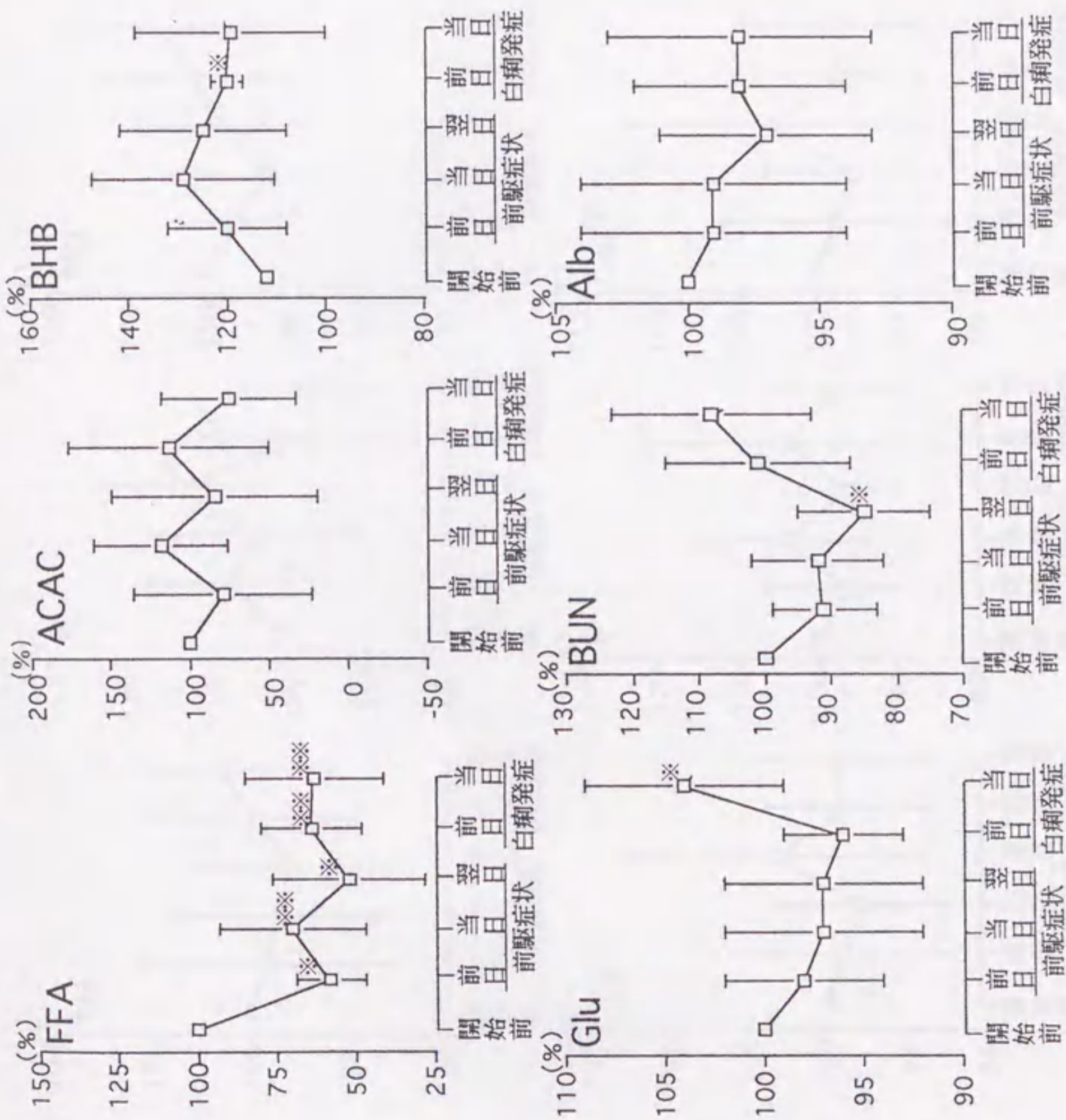


図5-7. 母牛の血液成分の推移 (2)

開始前に対する有意差 ※: $p < 0.05$ ※※: $p < 0.01$

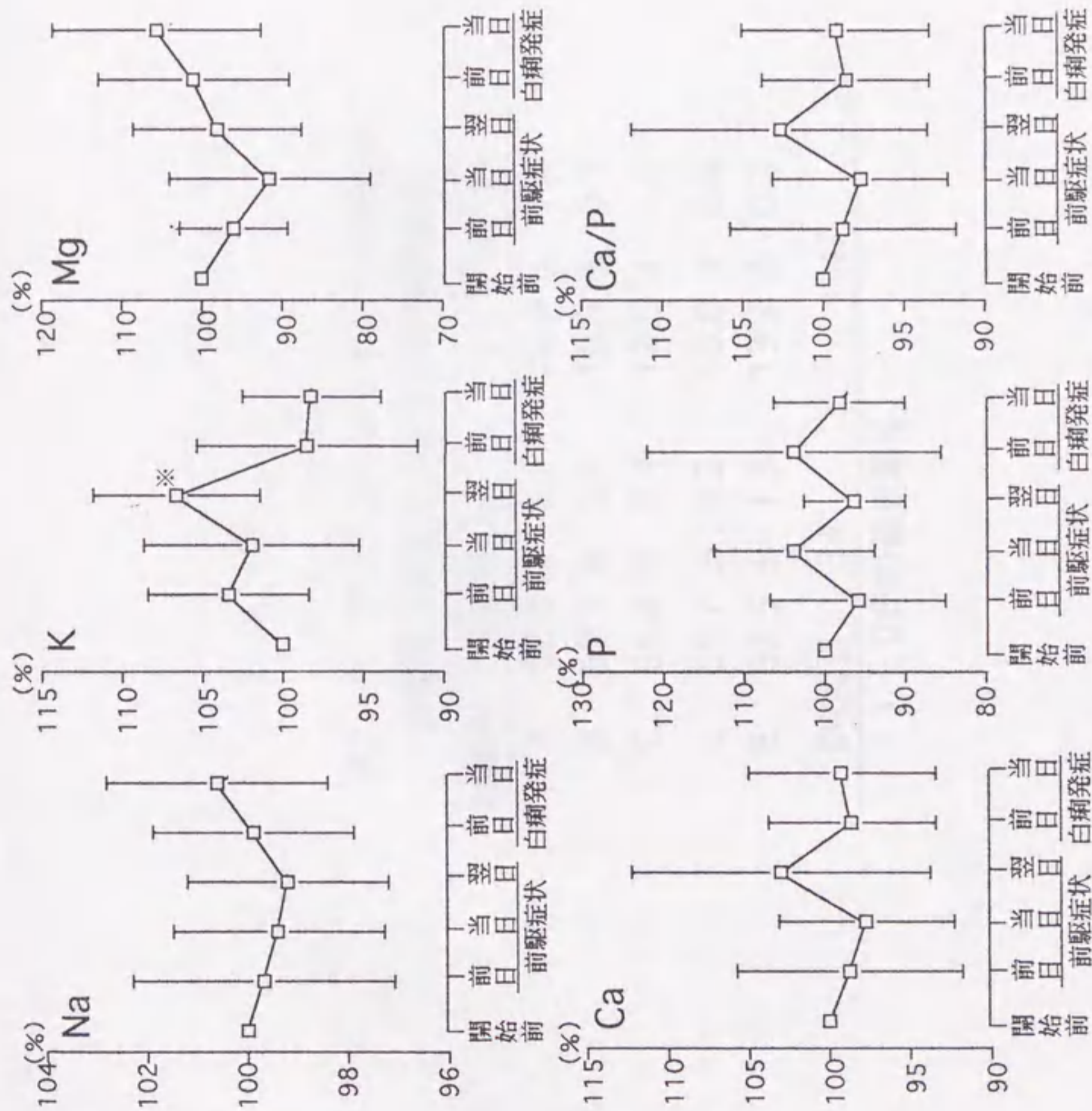


図5-8. 血液中無機成分濃度の推移

開始前に対する有意差 ※: p < 0.05

表5-9. デントコーンサイレージ給与後
試験終了時までの母牛の肝臓酵素値

試験牛	AST(U/l)	γ GTP(U/l)
A	52.8 \pm 5.3	22.6 \pm 1.2
B	50.1 \pm 5.4	10.3 \pm 0.5
C	65.8 \pm 2.4	12.0 \pm 1.0
D ¹⁾	59.7 \pm 3.2	13.0 \pm 0.0
E	62.5 \pm 1.3	13.7 \pm 0.3
Dの0日	34	47

1) : 0日の値を除く

表5-10. デントコーンサイレージ給与開始前4日間の
母牛の乳汁検査成績

項目	平均±標準偏差		単位
	朝	夕	
乳量	1783 ± 581	1027 ± 405	g
pH	6.37 ± 0.10	6.42 ± 0.13	
脂肪	4.91 ± 1.43	5.53 ± 1.14	%
乳糖	4.70 ± 0.21	4.67 ± 0.22	%
蛋白	3.77 ± 0.41	3.82 ± 0.40	%
Na	66.37 ± 12.65	68.6 ± 11	mg/dl
K	140.8 ± 48.7	139.0 ± 48.4	mg/dl
Mg	12.65 ± 3.72	11.7 ± 3.5	mg/dl
Ca	139.4 ± 14.8	138.3 ± 19.5	mg/dl
P	123.1 ± 14.2	125.9 ± 24.3	mg/dl
カゼイン凝固時間	6.0 ± 2.0	5.9 ± 1.3	分
			5頭の平均

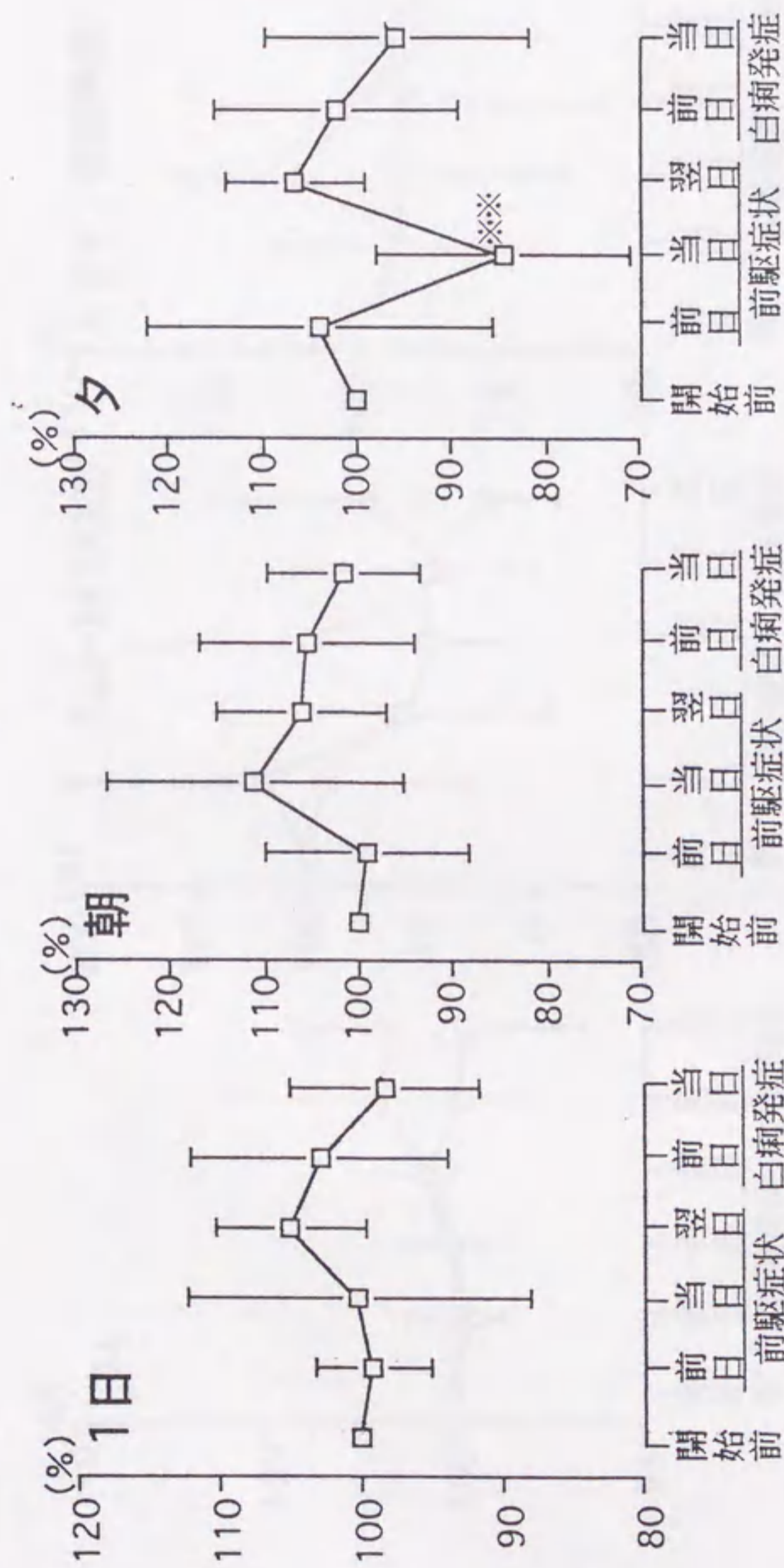


図5-9. 乳量の推移

開始前に対する有意差 ※※: $p < 0.01$

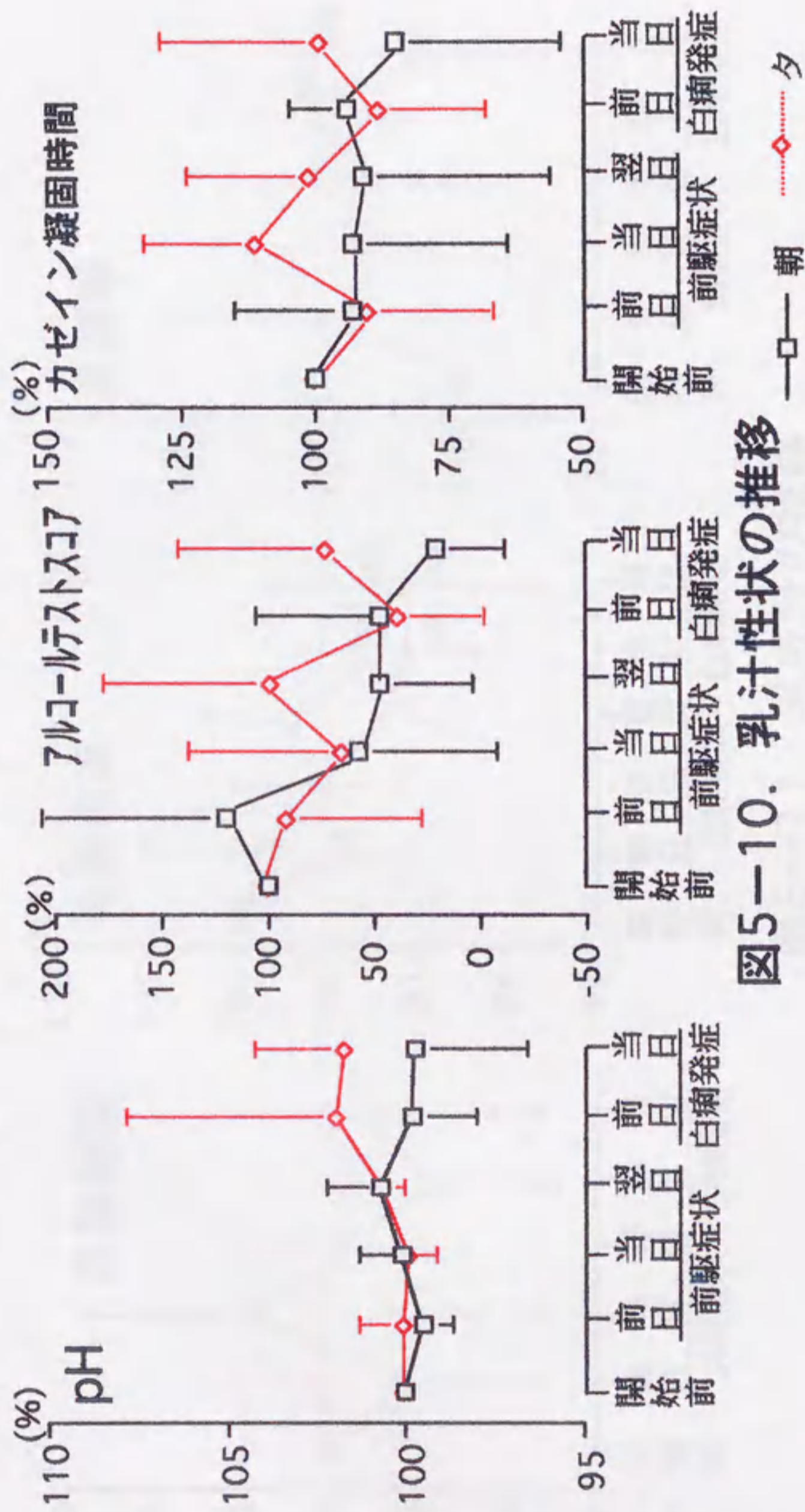


図5-10. 乳汁性状の推移

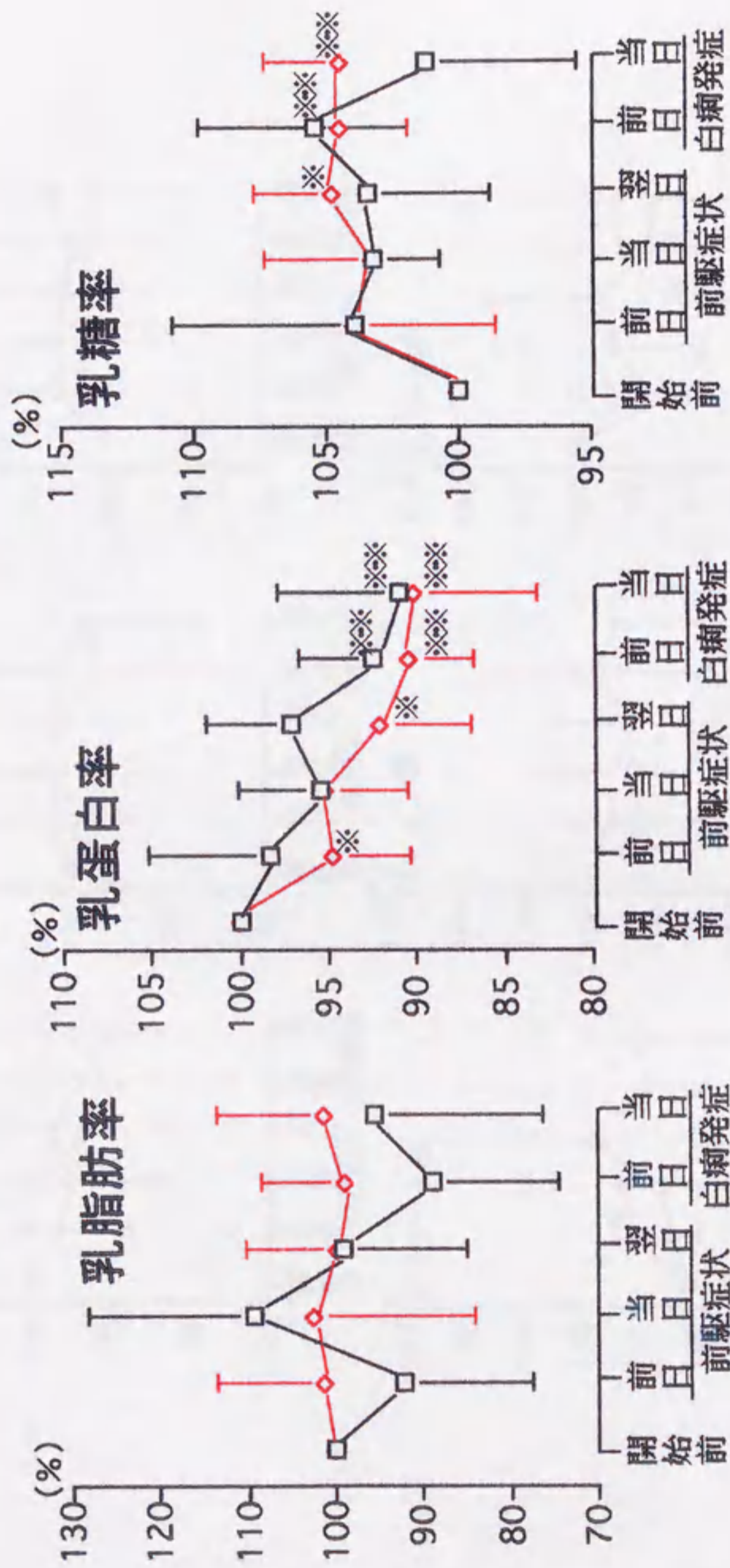


図5-11. 乳成分の推移

—□— 朝 ◇ 夕 開始前に対する有意差 * : p<0.05 ** : p<0.01

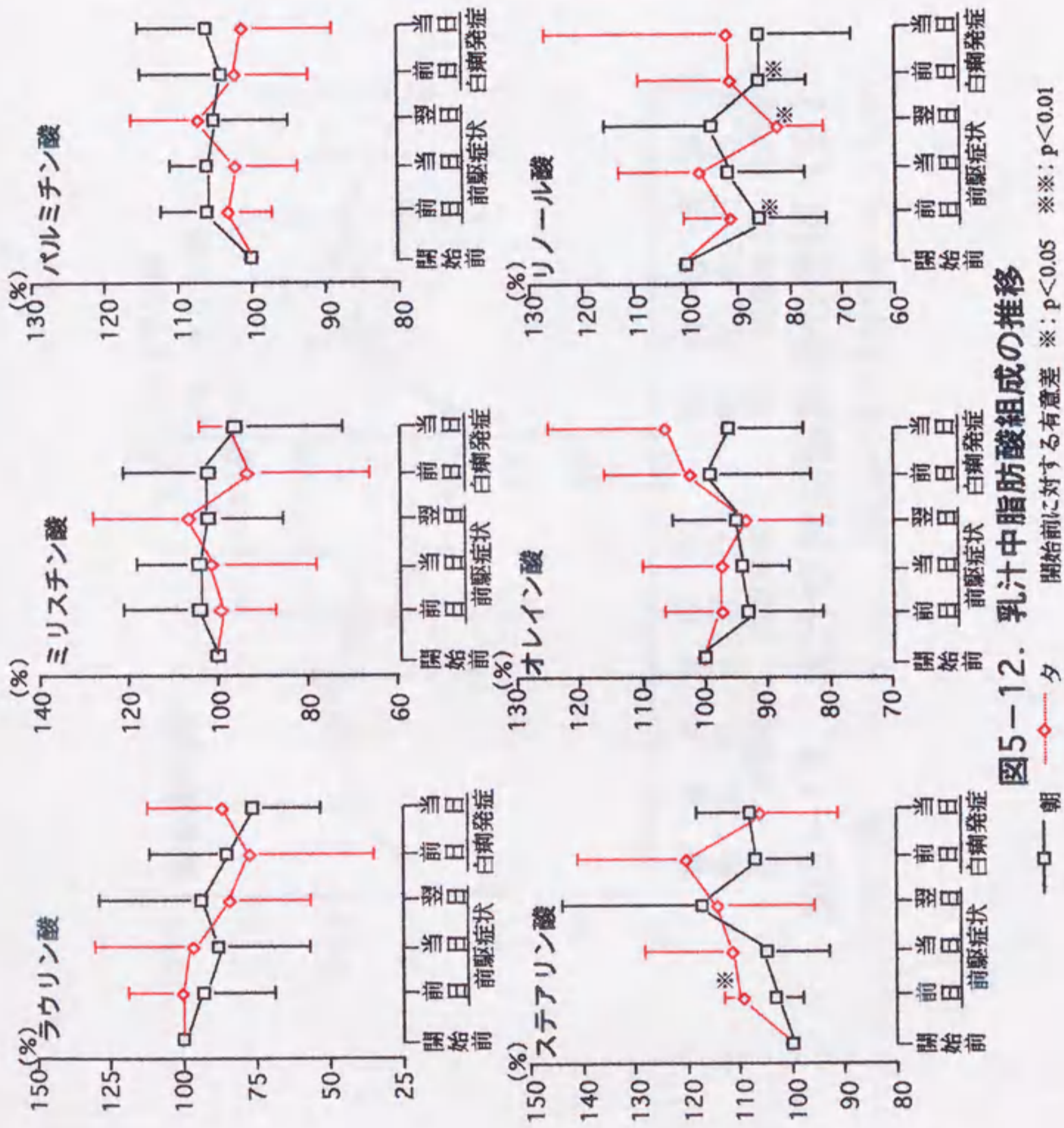


図5-12. 乳汁中脂肪酸組成の推移

—□— 朝 -◇- 夕
 ※: p < 0.05 **: p < 0.01 ***: p < 0.001

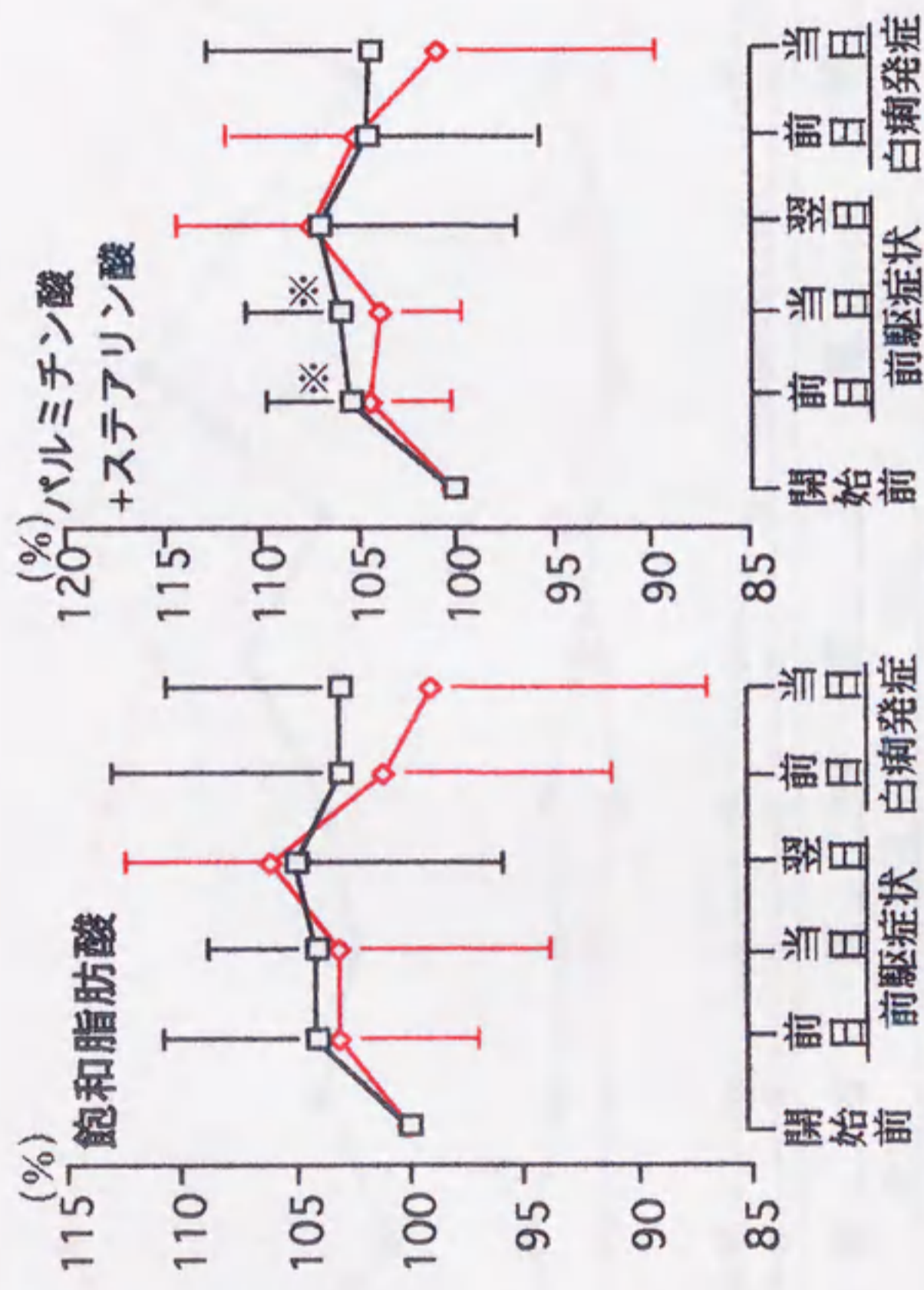


図5-13. 乳汁中脂肪酸組成の推移(2)

—□— 朝 ◇..... 夕 開始前に対する有意差 ※: p<0.05

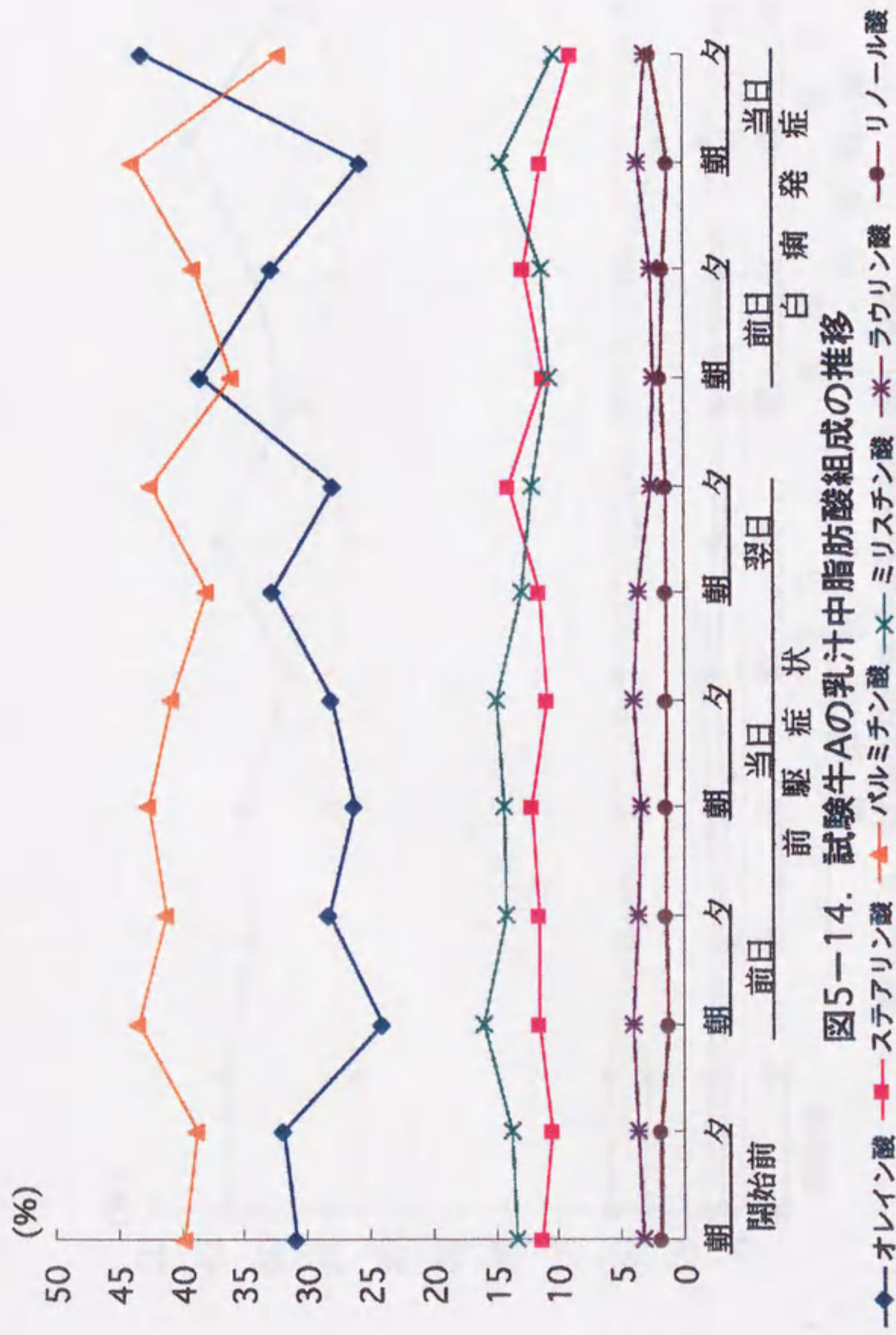


図5-14. 試験牛Aの乳汁中脂肪酸組成の推移

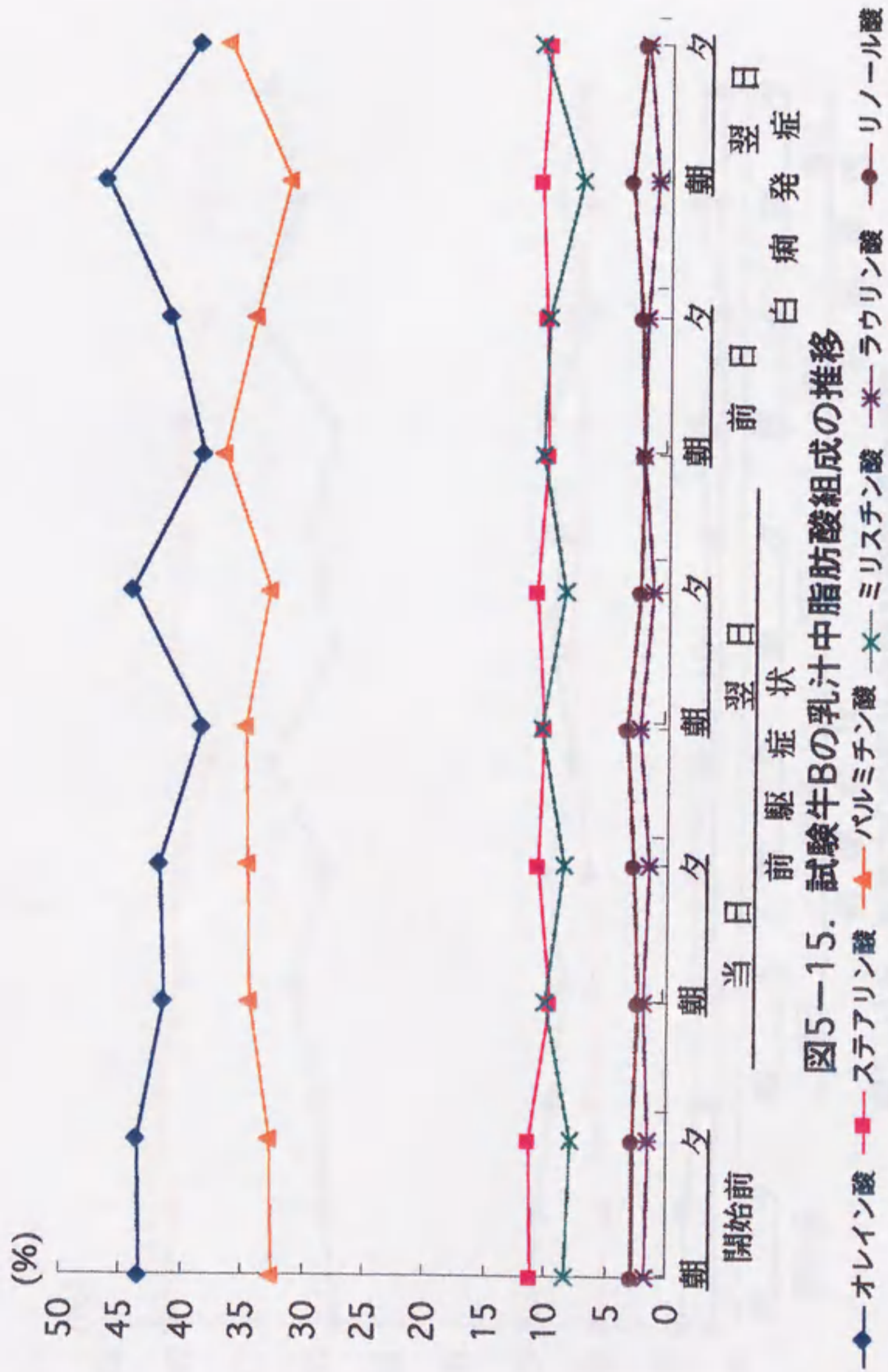


図5-15. 試験牛Bの乳汁中脂肪酸組成の推移

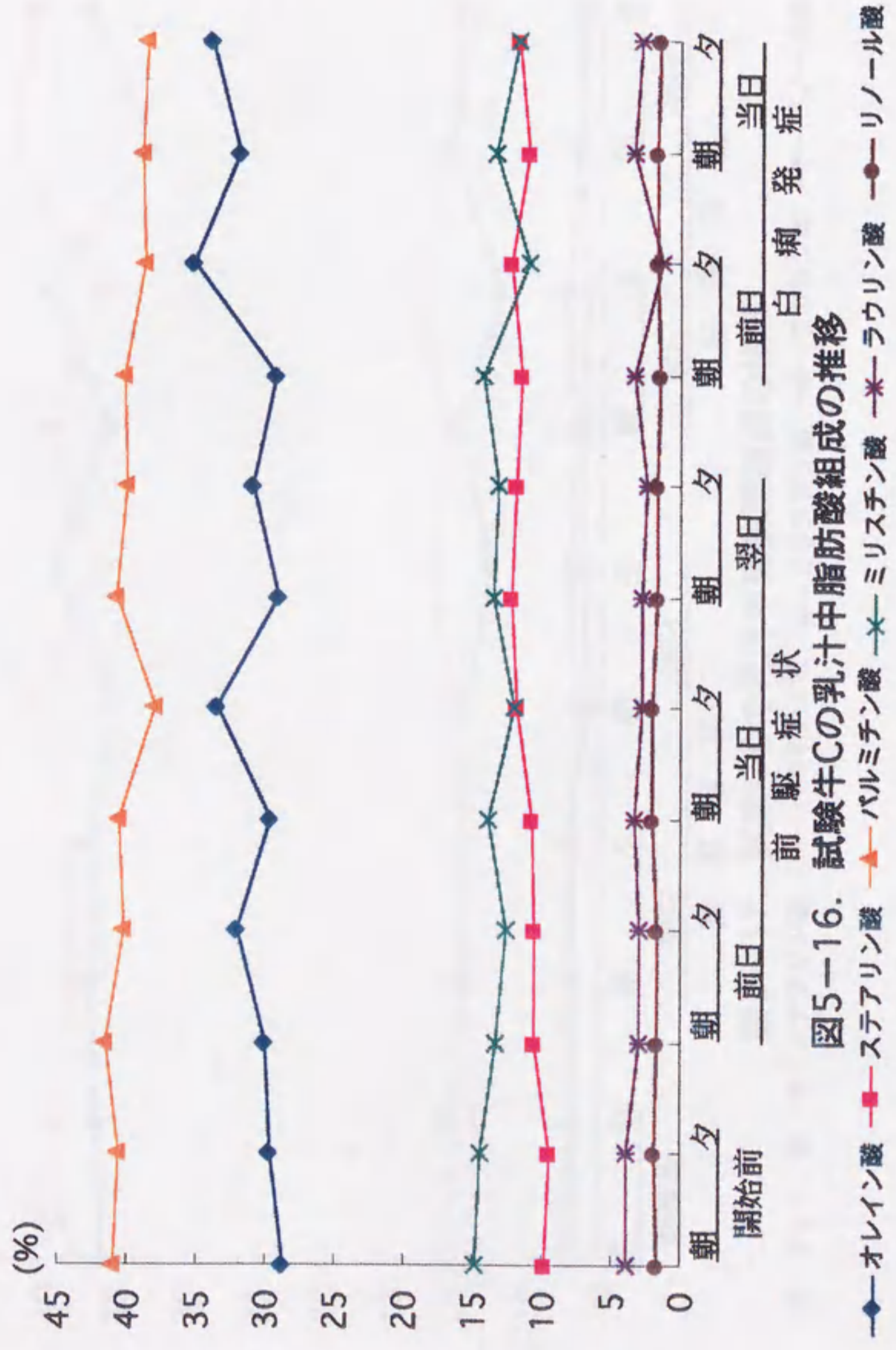


図5-16. 試験牛Cの乳汁中脂肪酸組成の推移

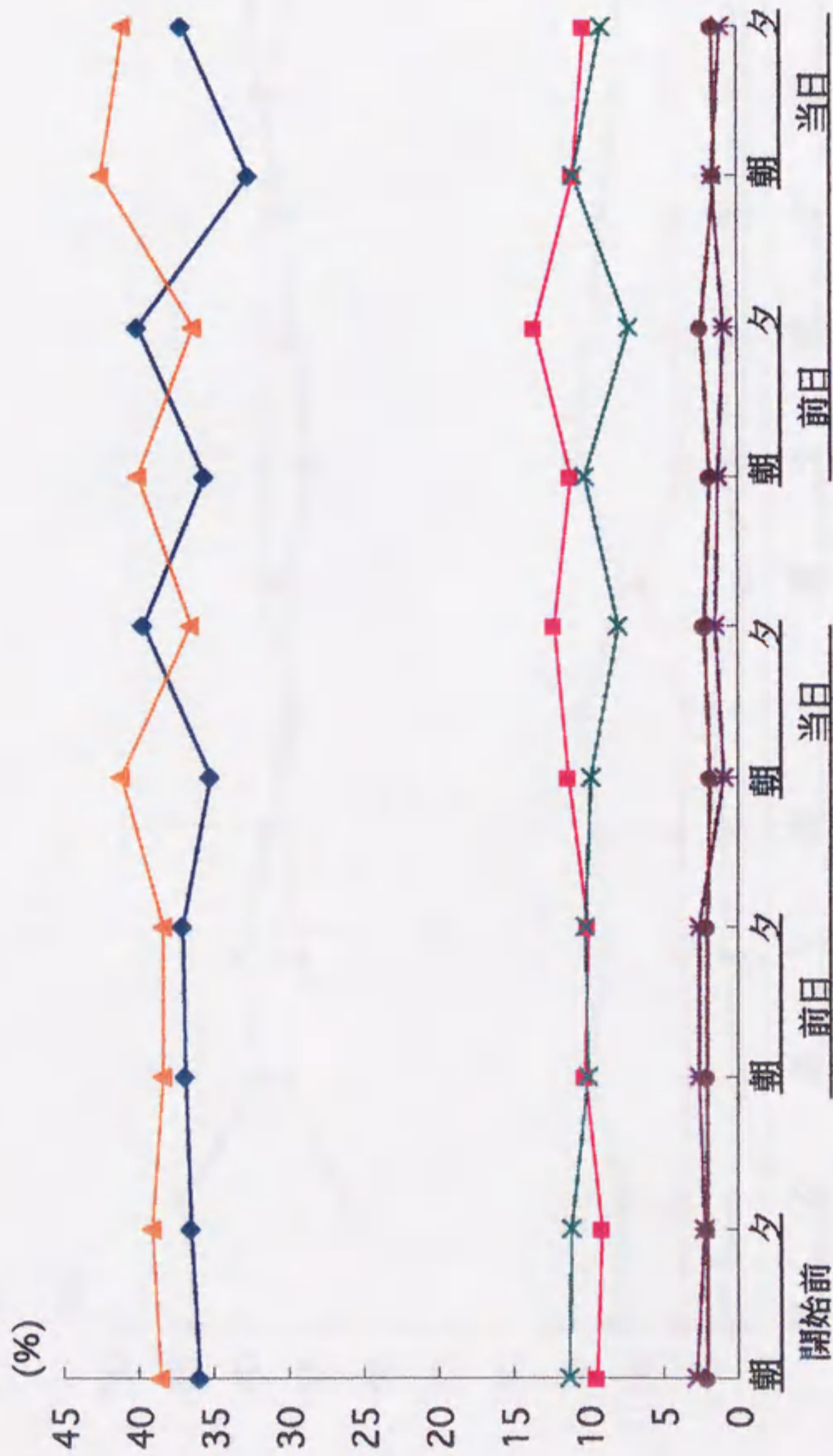


図5-17. 試験牛Dの乳汁中脂肪酸組成の推移

—●—オレイン酸 —■—ステアリン酸 —▲—パルミチン酸 —×—ミリスチン酸 —*—ラウリン酸 —●—リノール酸

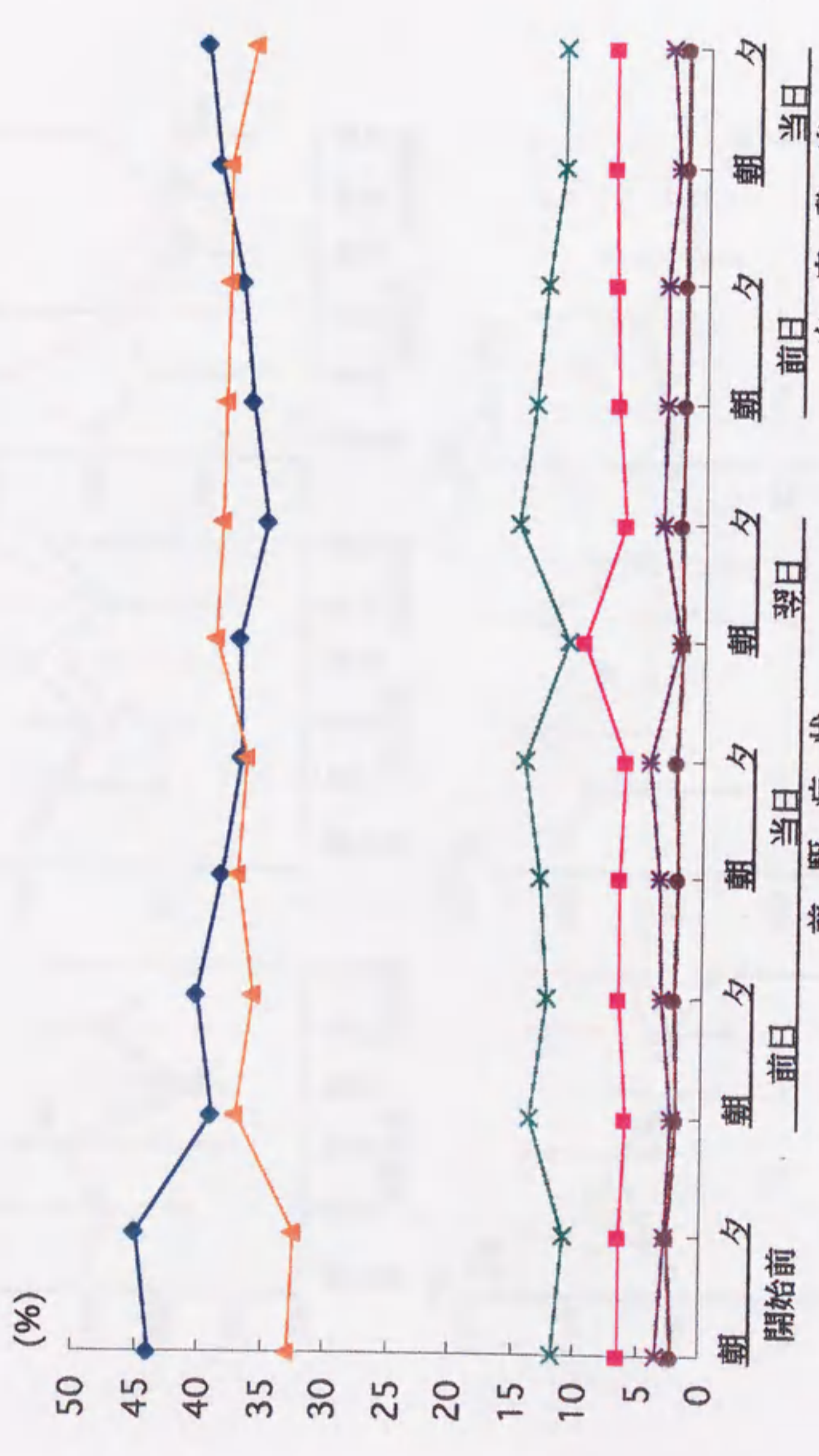


図5-18. 試験牛Eの乳汁中脂肪酸組成の推移

◆—オレイン酸 ■—ステアリン酸 ▲—パルミチン酸 ✱—ミリスチン酸 ✱—ラウリン酸 ✱—リノール酸

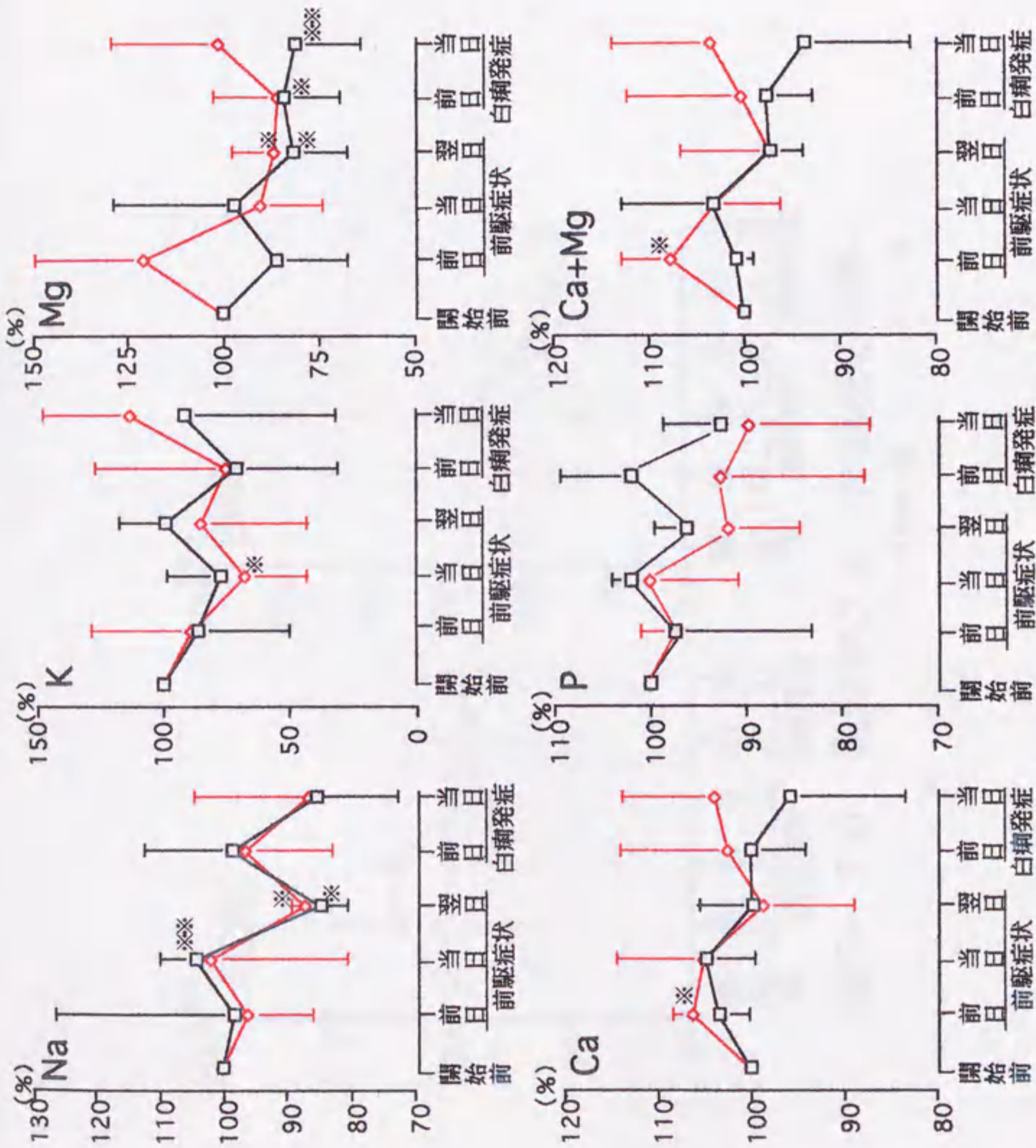


図5-19. 乳汁中無機成分濃度の推移

—□— 朝 -◇- 夕 開始前に対する有意差 * : p < 0.05 ** : p < 0.01

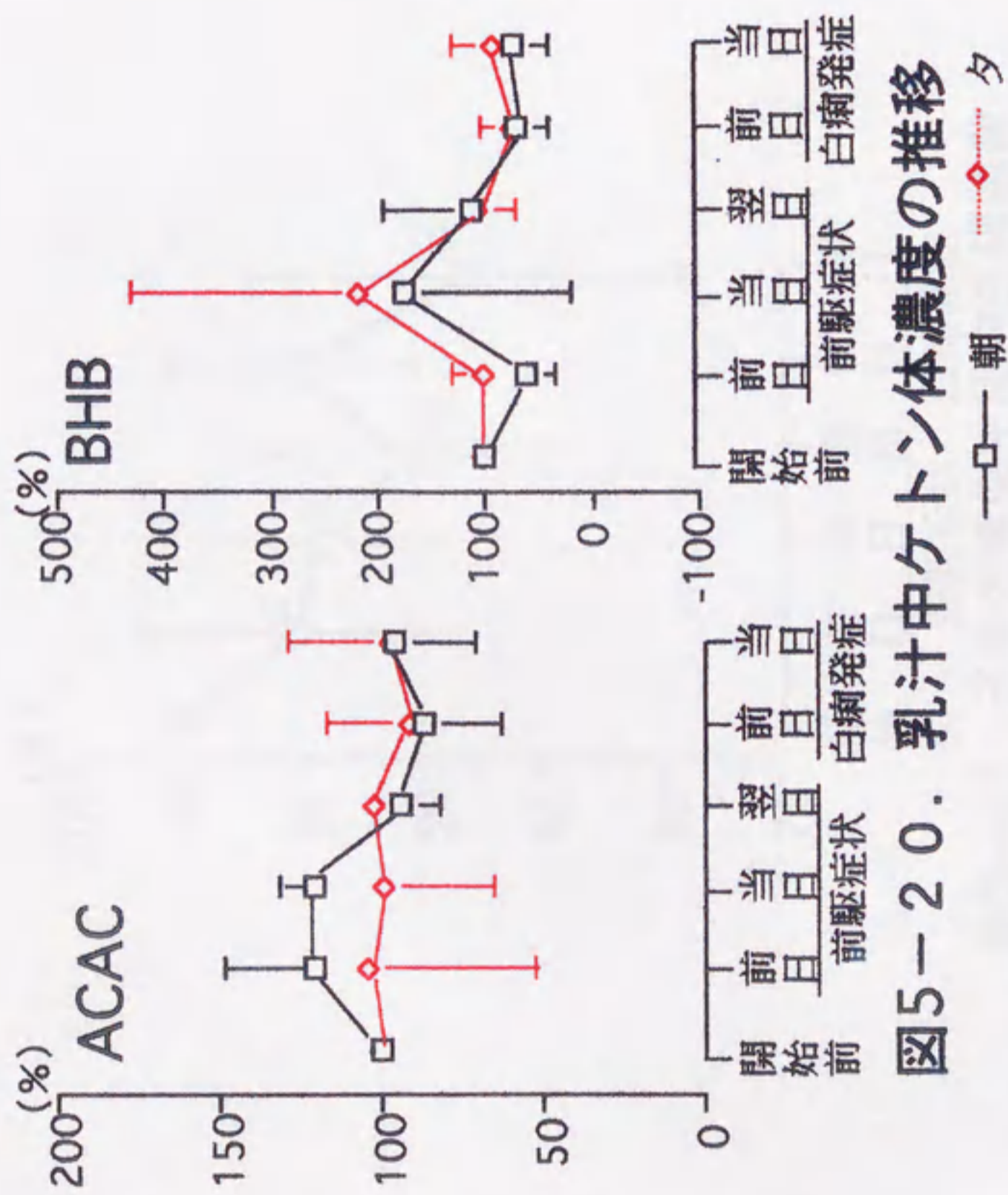


図5-20. 乳汁中ケトン体濃度の推移

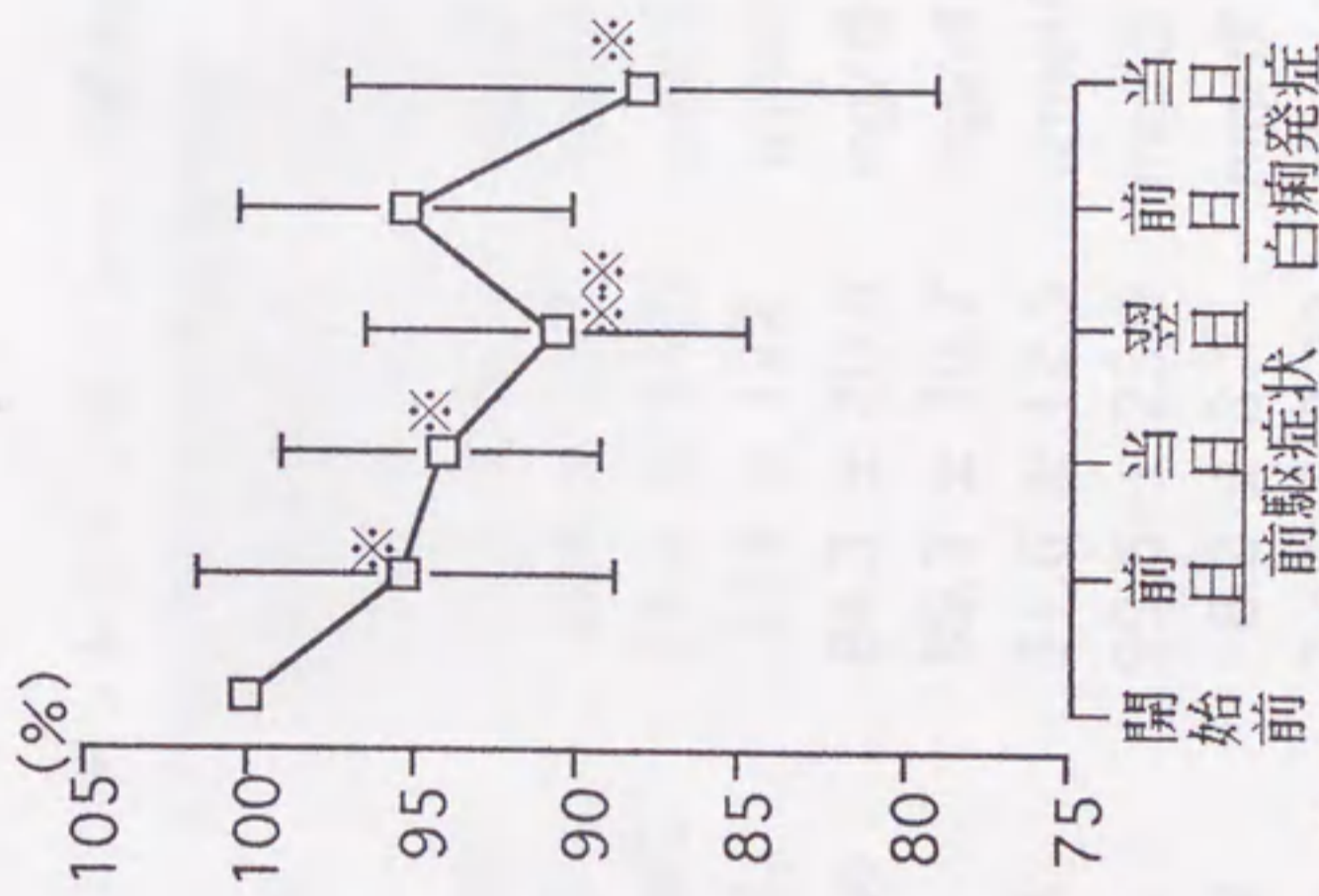


図5-21. 子牛の糞便中腸内細菌数
 開始前に対する有意差 ※: $p < 0.05$ ※※: $p < 0.01$

表5-111. デントコーンサイレージ給与開始日と
3日前の子牛の血液検査成績

項目	平均±標準偏差	単位
TG	34.2 ± 25.0	mg/dl
BLipo	104.9 ± 50.1	mg/dl
FFA	284 ± 152	μEq/l
ACAC	13.4 ± 14.0	μmol/l
BHB	124 ± 132	μmol/l
Tcho	84.3 ± 20.8	mg/dl
PL	89.3 ± 20.7	mg/dl
TBA	31.6 ± 12.5	μmol/l
Glu	99.6 ± 23.9	mg/dl
BUN	8.2 ± 3.1	mg/dl
Alb	2.43 ± 0.23	g/dl

5頭の平均

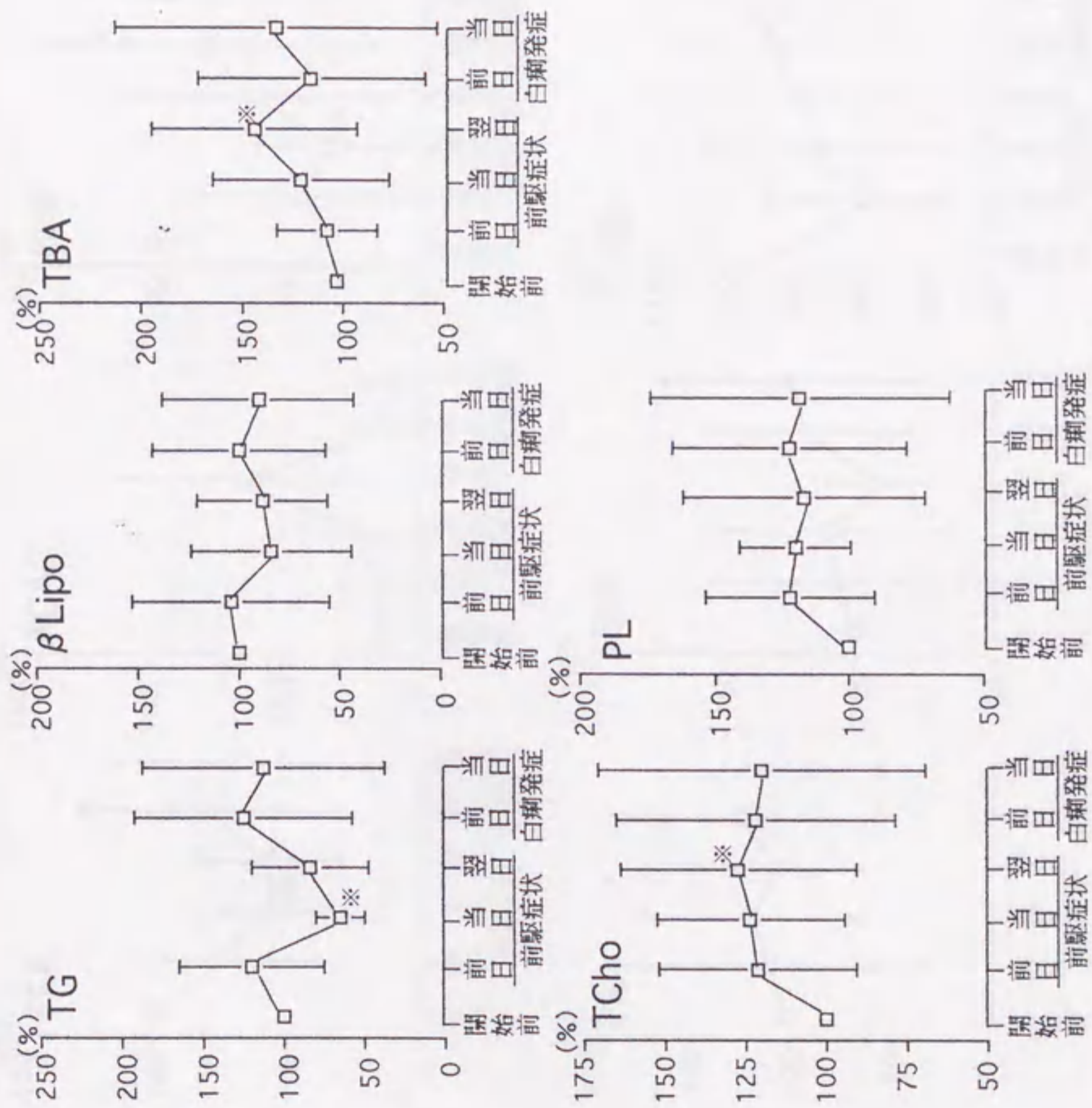


図5-22. 子牛の血液成分の推移 (1)

開始前に対する有意差 ※: $p < 0.05$

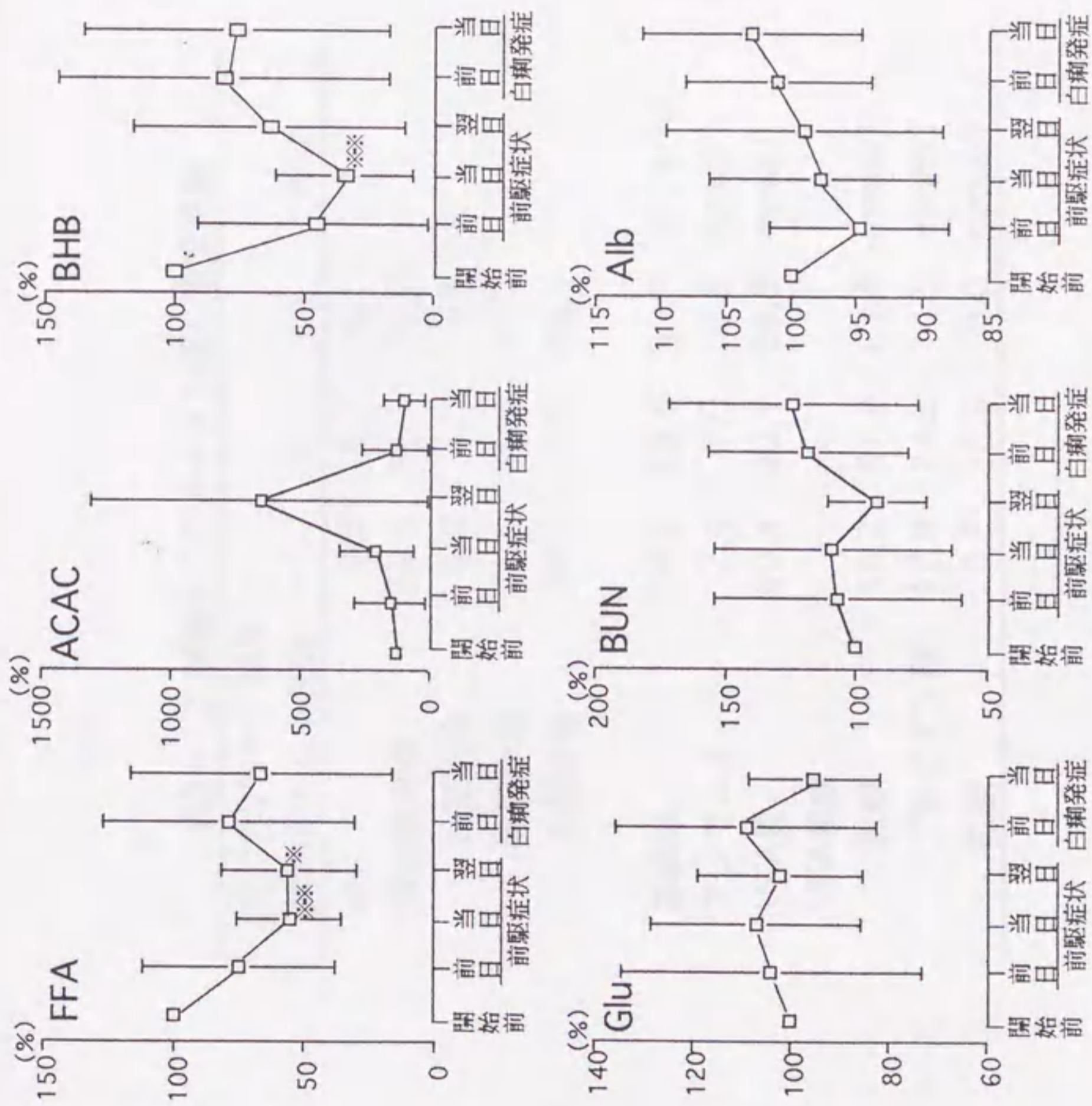


図5-23. 子牛の血液成分の推移 (2)

開始前に対する有意差 * : p < 0.05 ** : p < 0.01

表5-12. 試験牛Dのルーメン液の検査成績

デントコーンサイレージ給与		開始日からの日数		単位	
		-3	0	1	
pH		7.0	6.7	6.7	
原虫数総数		85.4	56.5	73.7	
大型原虫		9.6	4.7	9.6	
中型原虫		21.6	15.4	23.7	
小型原虫		54.2	36.5	40.4	
細菌数		34.9	29.8	35.3	x10 ⁸ /ml
アンモニア		7.4	7.0	8.5	mmol/l
VFA量		80.4	90.1	86.9	mmol/l
VFA組成					
酢酸		59.2	67.2	63.4	mmol/l
プロピオン酸		12.9	14.5	14.5	mmol/l
酪酸		8.2	8.5	9.0	mmol/l

表5-13 試験牛Dの分娩後の血液性状の変化

分娩後日数	2	4	9	12*	13
デントコ-ザレ-ジ 給与 給与開始からの日数	-10	-8	-3	0	1
脂質転送系					
TG mg/dl	12.0	10.5	13.7	24.5	13.0
BLipo mg/dl	38	37	33	123	49
逆転送系/TCA					
FFA μ Eq/l	678	362	723	265	276
ACAC μ mol/l	10	6	23	9	11
BHB μ mol/l	334	345	331	50	349
HDL系					
Tcho mg/dl	71	62	55	84	56
PL mg/dl	70	67	59	88	61
糖新生					
Glu mg/dl	74	65	64	90	63
蛋白代謝系					
Alb g/dl	3.09	2.93	2.91	2.21	2.89
BUN mg/dl	17.8	16.3	13.3	7.4	12.0
腸肝循環					
TBA μ mol/l	47	42	36	30	25
肝臓酵素					
AST U/l	76	61	62	34	22
γ GTP U/l	15	13	13	47	19

※：白痢発症日

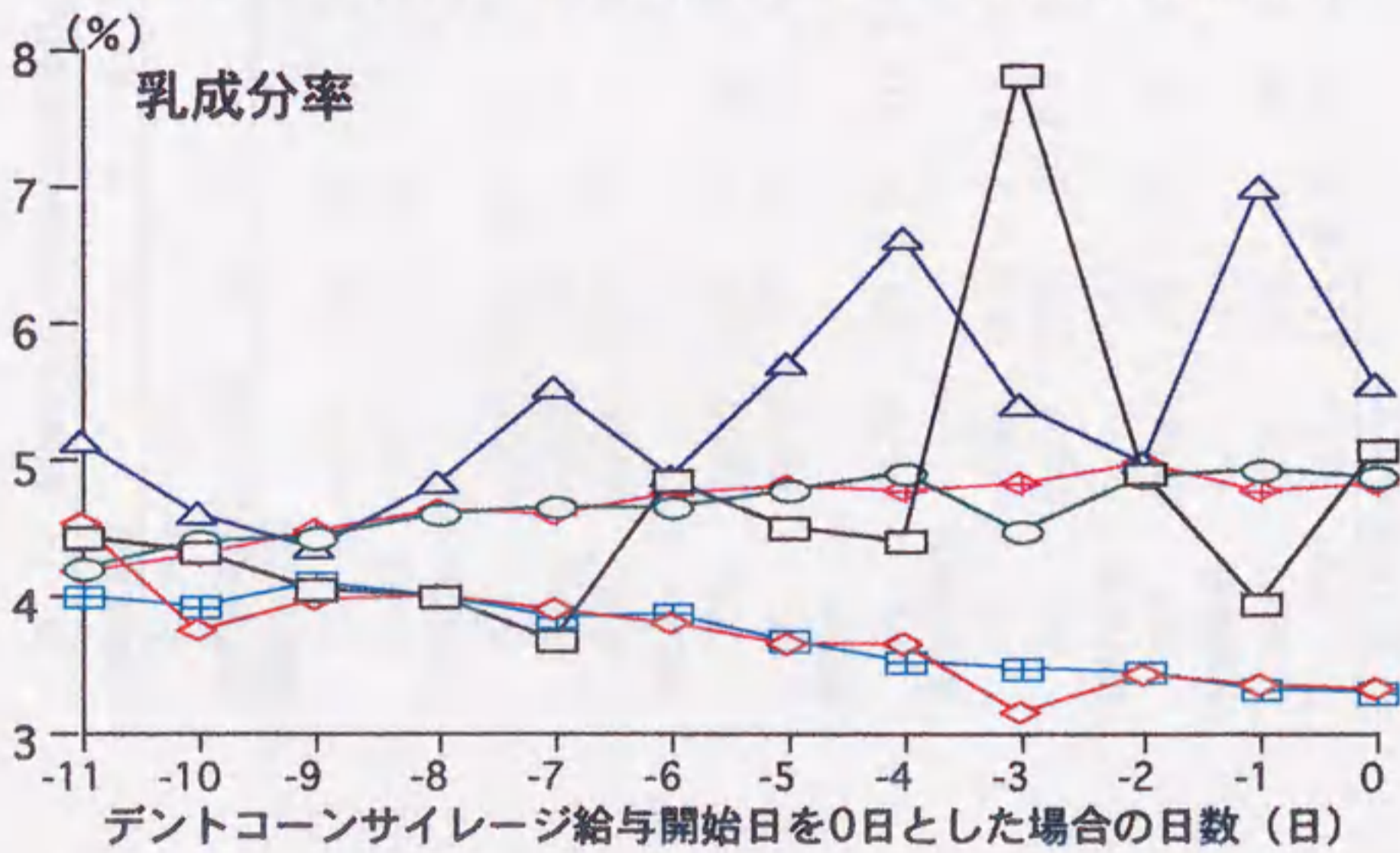
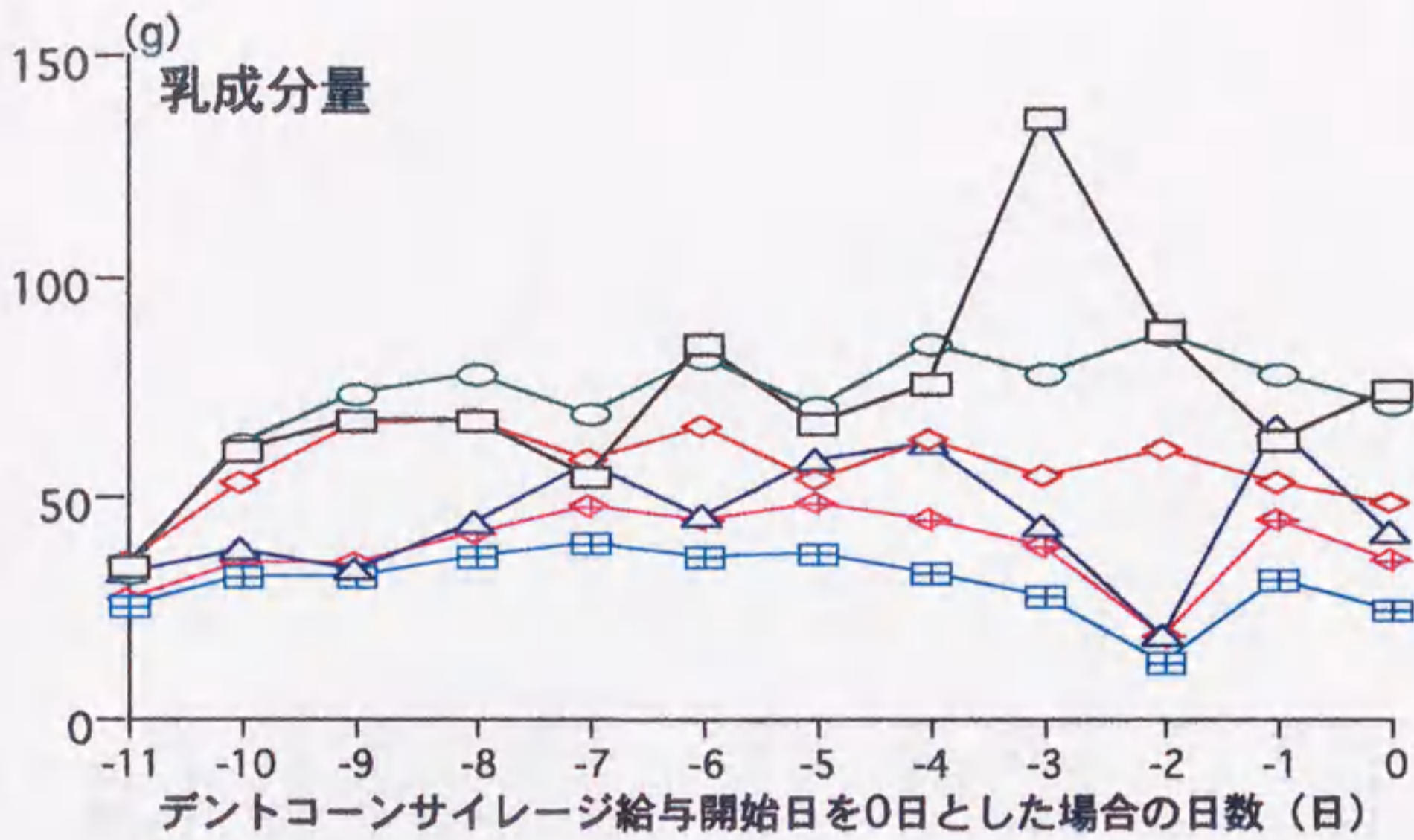


図5-24. 試験牛Dのデントコーンサイレージ給与前の乳成分量および乳成分率の推移

乳脂肪 (—□—朝 ---△---夕) 乳糖 (---○---朝 ---◇---夕)
 乳蛋白 (---◇---朝 ---■---夕)

表5-14 試験牛Dの分娩後の血液性状の変化

分娩後日数	2	4	9	12*	13
デントコ-サレ-ジ 給与 給与開始からの日数	-10	-8	-3	0	1
脂質転送系					
TG mg/dl	49	30	42	31	33
BLipo mg/dl	138	96	127	107	117
逆転送系/TCA					
FFA μ Eq/l	586	441	431	233	180
ACAC μ mol/l	0	5.2	0.1	1.3	2.6
BHB μ mol/l	73	77	62	50	
HDL系					
TCho mg/dl	33	54	88	96	101
PL mg/dl	57	82	102	93	109
糖新生					
Glu mg/dl	101	132	120	111	124
蛋白代謝系					
Alb g/dl	2.1	2.2	2.3	2.3	2.5
BUN mg/dl	10	8	6.4	8.4	9.2
腸肝循環					
TBA μ mol/l	39	32	55	38	44
肝臓酵素					
AST U/l	63	57	29	28	29
γ GTP U/l	355	215	53	45	43

※：白痢発症日

第 6 章

子牛の“母乳性白痢”の 発症機序に関する 総合考察ならびに結語

1. 緒言

本論文では、黒毛和種牛の母乳の異常による子牛白痢の存在を明らかにし、その発症機序を証明する目的で、一連の試験を行った。第2章および第4章では、子牛白痢の自然発症例についての検討を行った。また、第3章では白痢多発牛群と非発症牛群の代謝プロファイルテスト (MPT) を行い、母牛の栄養状態の違いを検討した。それに基づいて子牛の母乳性白痢発症の仮説をたて、第5章で人為的に母乳性白痢を発症させることを試みた。

第5章の白痢発症試験から得られた知見は、分娩後に低でんぷん飼料で飼養していた母牛にデントコーンサイレージを給与すると、ルーメンコンディションの変化を誘発し、それによる代謝異常により乳汁成分が変化して、その乳汁を哺乳した子牛が白痢を発症する、というものであった。

そこで、この仮説と第2章～第4章の自然発症例の結果を比較し、発症試験成績の信憑性を検証した。

2. MPT 実施牛群と発症試験牛の比較

まず、牛群の MPT 解析を行った第3章では、子牛の白痢多発群はその飼料給与内容から後期飼料過剰群と前期低でんぷん群の2群に分けられた。飼料過剰群は過剰な蛋白の給与のため、また、前期低でんぷん群はでんぷんの給与不足のため、いずれの群も対象群に比べてルーメンコンディションに差異のあったことが推定された。これに対して第5章の発症試験に用いた5頭の給与飼料内容は、乾物量、可消化養分総量、粗蛋白量については一定の傾向は認められなかった。しかしでんぷん濃度は第3章の前期低でんぷん群の状況と符合する7%以下の低い値であった。

また第3章では、いずれの群も特に前期と中期に肝臓からの脂肪の転送能の低下が認められた。いっぽう第5章の発症試験に用いた5頭の母牛の肝臓機能は個体差のため一定の傾向は認められず、肝臓機能との関連は不明であった。

3. アルコール不安定性母乳と子牛白痢の関連

次に第2章および第4章の子牛白痢の自然発症例と第5章の人為的発症例を対比させて比較した。

第2章の白痢自然発症例では、臨床現場で注目されているアルコール不安定性母乳と子牛の白痢の関連性を検討し、両者には何らかの関連のある可能性が示唆された。いっぽう第5章の人為的発症例では、分娩後アルコールテストスコアは漸次低下していき、アルコール不安定性母乳と子牛の白痢発症の間には、直接的な関連は認められなかった。しかし第5章の人為的発症例の5頭中1頭ではアルコールテストスコアが増加した時にその子牛が最も重症な白痢となり、治癒も遅かった。この現象は第2章の自然発症例でも認められている。すなわちアルコールテスト陽性の母牛を治療することにより陰転させたところ、全頭の子牛の白痢が治癒したが、アルコールテストが第3病日に陽転した母牛の子牛は、白痢が治癒するまでに10日を要した。このことより、例数が少ないため確定的なことは言えないが、アルコール不安定性母乳と子牛白痢は完全に無関係とは言い切れない可能性がある。

アルコール不安定性母乳の原因は、第2章でカゼインミセルの構造異常に起因する可能性が考えられた。カゼインミセルの構造異常があると、カゼイン凝固時間は延長する可能性が高くなる(24, 38)。しかし、第5章の試験ではカゼイン凝固時間の延長は認められず、これとの関連性はないものと思われた。

いっぽう第5章から、黒毛和種牛のアルコール不安定性母乳は、そのTDN充足状況を反映していることがうかがわれ、アルコール不安定性を一つの特徴とする母乳は、負のエネルギーバランスの指標となり得ることが認められた。この負のエネルギーバランスは、第2章～第4章の自然発症例の白痢発症牛の母牛あるいは子牛白痢多発牛群の母牛のいずれの血液診断からも認められた。

ゆえにアルコール不安定性母乳は、負のエネルギーバランスの指標となり得、同じ負のエネルギーバランスがひとつの誘因であるかもしれない子牛白痢の発症の可能性を間接的に表しているものと考えられた。

4. 母牛への給与飼料成分と子牛白痢の関連

第4章の自然発症例では、TDNとでんぷんの供給が適正な群では白痢の発症がなく、TDNとでんぷんの供給が不足した群では71.4%の子牛で白痢の発症が認められた。特に、母牛への給与飼料中でんぷん濃度が7%以下の群の子牛では全頭で白痢が発症した。このことから、子牛白痢の発症要因はTDNよりもむしろでんぷん濃度との関連の強い可能性が示唆された。これは第3章のMPTにおける白痢多発の前期低でんぷん群と一致する。第5章の飼料設計は第4章の結果に基づいて行ったので、全頭ともデントコーンサイレージ給与開始まではでんぷん濃度が7%以下であった。その結果、全頭で白痢が発症したことから、母牛の飼料中でんぷん濃度は子牛の白痢の発症と密接な関連のあることが示唆された。

飼料の変更との関連では、低でんぷん飼料を給与していたところに高でんぷん飼料であるデントコーンサイレージを給与したところ、第5章の人為的発症例での白痢発症日はデントコーンサイレージ給与開始後5~7日であり、第4章の自然発症例の試験での白痢発症日であるデントコーンサイレージ給与開始後4~5日とほぼ一致した。このことから、飼料中でんぷん濃度の変化が白痢の発症と密接な関連性を持つことが考えられた。

第5章のデントコーンサイレージ給与開始後における人為的発症例の子牛の糞便の性状は、5頭とも給与開始後1~3日に最初の軽度の変化が現れ、5~7日に明瞭な白痢が発症するという類似した経過をたどった。この間、ルーメン液中の微生物は、総原虫数が前駆症状発現日から増加の傾向を示し、このうち、まず前駆症状発現前日に大型原虫数が増加し、次いで前駆症状発現翌日には中型原虫数が増加した。しかしこの日を最高値としてルーメン液のpHの低下が始まり、白痢発症前日から大型および中型原虫数が減少し、これと入れ替わるように小型原虫数が増加した。その結果として、ルーメン液中の NH_3 濃度は白痢発症日に大きく変動し、白痢発症日にはルーメン内微生物叢に大きな変化のあったこと(59)が示唆された。この時のVFAの変化としては、前駆症状発現日の酪酸(C4)の増加が乳脂率の増加に影響している可能性が示唆された。以上のように飼料の変更によりルーメン環境が大きく変化したことが認められ、これが子牛の白痢と何らかの関わり

を持つことが考えられた。

しかし第4章の自然発症例において、分娩後7日に子牛の白痢が発症した1頭では飼料の変更はなかった。これは第5章の1頭でもデントコーンサイレージ給与開始直前に白痢を発症した個体があり、白痢の発症には乳量や乳汁成分の分娩後の生理的変化が関与している可能性もあり、デントコーンサイレージ給与はその発症のきっかけのひとつにすぎないことも考えられる。

5. 乳汁成分と子牛白痢の関連

このように、母牛へのデントコーンサイレージの追加給与によりルーメン環境の変化したことが認められたが、子牛の白痢と直接的に結びつく乳汁の性状・成分との関連はどうであったろうか。

乳量は第5章において、前駆症状発現日の朝夕の変動の大きさが目立った。これはVFAの変動の影響と考えられた。

乳汁pHは、第4章の自然発症例では多発群が健康群に比べて低い値で推移し、その変動も大きかった。いっぽう第5章の人為的発症例においても白痢発症前後に大きな変動が認められ、子牛白痢の発症との関連が疑われたが、変動の原因は究明できなかった。

乳糖は第4章の自然発症例では発症時に全頭で低下しており、乳糖不耐性(61)との関係はないものと思われた。いっぽう第5章の人為的発症例においては、乳糖は前駆症状発現翌日以降、デントコーンサイレージ給与開始前に比べて高値を示す傾向があった。しかし、これは分娩後に乳糖が漸増する生理的変化と重なっており、その幅もわずかであることから、白痢発症との関連はないものと思われた。

乳脂肪率は、第4章の自然発症例では、白痢発症日に急激な増加が認められ、これが子牛白痢、すなわち脂肪便の直接的な原因と考えられた。いっぽう第5章の人為的発症例でも、前駆症状発現日および白痢発症日に乳脂肪率の前日に比べての増加があったが、第4章の自然発症例の結果ほど顕著なものではなかった。これは第4章では子牛が母牛について自由に哺乳させていた中での子牛の白痢の発症時の採材であるのに対して、第5章では朝夕の定時搾乳時の採材であったため、乳汁

の変化を十分にとらえきれなかったものと思われた。しかし第5章の人為的発症例においては、前駆症状発現日と白痢発症日のいずれかあるいは両方で乳脂肪率は血中TGと連動して変化するという、第4章と同様の変化が認められた。

乳汁中TGの脂肪酸組成は、第5章の人為的発症例においては主に血液由来の成分が変動した。特にデントコーンサイレージ給与開始後に乳汁中の飽和脂肪酸量の増加が認められ、また、2価イオンであるCaおよびMgが前駆症状発現前日に増加していたので、これらによる融点の高い飽和脂肪酸塩の形成が増え、消化・吸収が低下(34)したことが考えられた。また子牛では消化率が低下する(66)と言われているC16以上の飽和脂肪酸がデントコーンサイレージ給与開始後増加していることから、これら脂肪酸組成および無機成分の変動により乳汁の消化が低下して白痢の発症した可能性が示唆された。

6. 母牛の血液成分と子牛白痢の関連

母牛への飼料給与の変更により、ルーメン環境と乳汁成分の変化したことが認められたが、それと関連した母牛の代謝はどうであったろうか。

第4章の自然発症例の母牛の血液成分において、発症前後に有意な変化を認めたものとしては、TG、BUNの増加があり、また、有意差は認められなかったがPLも高値の傾向を示した。いっぽう第5章ではTG、PL、Glu、BUNの増加が認められ、TG、PL、BUNの3項目が第4章および第5章で類似した変動を示した。この変動の原因として考えられるものは、両章ともに日量3kg程度のデントコーンサイレージの給与しかないが、いずれの章の症例も、この摂取飼料成分の変動から血液成分の変動の説明は困難であった。

そこで第5章で、ルーメン環境の諸検査を併せて実施したところ、TGおよびBUNの増加の要因としては、ルーメン微生物体の脂質および蛋白質が第四胃以下で消化・吸収された(62)可能性が高かった。またPLの増加の要因としては、胆汁酸由来(5)とルーメン微生物体脂質の第四胃以下での消化・吸収の可能性が高いと考えられた。また、Gluの増加の要因としては、VFA中ブ

ロピオン酸 (C3) の増加とルーメン微生物の消化・吸収が原因となっている可能性が高いと考えられた。

以上のことより、白痢発症日にルーメン微生物が大量にルーメンから排出され、第四胃以下で消化・吸収されたために、母牛の血液および乳汁の脂肪率・脂肪酸組成に大きな変化がもたらされたと考えられた。この微生物の大量流出は、飼料、特にでんぷん濃度の増加に起因したルーメン内微生物の食物連鎖の変化による可能性が考えられた。

7. 子牛の臨床症状・血液および糞便の変化と白痢の関係

第5章の人為的発症例においては、試験期間中に子牛の糞便中の腸内生細菌数の増加は認められず、ロタウイルスも常時検出されず、また他の牛との接触も無かった。さらに本試験では高圧蒸気あるいは強酸性水、塩素系消毒剤、逆性石鹼等の薬剤で牛舎を頻繁に洗浄・消毒しており、今回の症例が感染性下痢症である可能性は低いものと考えられた。

子牛の血液は、白痢発症時およびその後の変化を第2章の自然発症例で、白痢発症前からの変化を第5章の人為的発症例で検討した。第2章の自然発症例の初診時、白痢を発症した子牛は低脂質血症を呈しており、消化管での乳脂肪の消化、吸収が阻害されている(27,35)ことがうかがわれたが、そのうち母乳がアルコール不安定性を示した群の消化管における脂質の吸収は、非アルコール不安定性母乳群よりは高いレベルを示した。これは第5章の人為的発症例でも、前駆症状発症日から白痢発症日にかけて血中TGが増加しており、これと関連する可能性がある。第5章ではこれを、乳汁の腸管内での滞留による持続的な脂肪吸収と考え、血中TG増加の原因と推定した。ゆえに、第5章の白痢発症時には、脂肪の吸収不良は認められていない。いっぽう、第2章の自然発症例の初診時の白痢発症群子牛の低脂質血症は、フィールドでの試験であるので白痢の発見が遅れたための消化管の損傷の進行による脂肪吸収低下の結果である可能性もあるが、第5章の前駆症状発現日と同じ状態であったのかも知れない。

8. 第4章および第5章における、デントコーンサイレージ給与とは無関係の子牛白痢の発症

今回、第4章および第5章の各1頭の子牛に、デントコーンサイレージ給与とは関係なく白痢が発症した。これらの2症例の白痢発症日の母牛の血液および乳汁の成分は、他のデントコーンサイレージ給与個体と同様な変化を示した。第5章の症例の自然発症例におけるルーメン液のpH、微生物およびVFA、血液中TG、GluおよびBUNの変化は人為的発症例のそれらに比べて大きく、その他にTcho、Alb、 γ GTPの増加と、ACACおよびBHBの低下が見られた。Tcho、Albおよび γ GTPの変化は、第2章および第4章の自然発症例の個体では認められず、この個体で初めて認められた変化であったが、母牛の代謝が子牛の白痢発症前後に急激に変化したことと、その変化にルーメン内環境の変化がからんでいる可能性の高いことについては、デントコーンサイレージ給与後に発症した子牛白痢の母牛の例と同様であった。

第5章のデントコーンサイレージ給与開始前に白痢が発症した子牛の母牛の乳汁の変化では、乳脂肪率の急激な増加が特徴的であり、これは第4章の自然発症例の症例と一致した。しかしこの時の脂肪酸組成には変動がなく、増加した乳脂肪の由来には変化がないものと推定され、第5章の人為的発症例の変化とは異なっていた。このように、子牛の母乳性白痢の原因は多くの要素が複雑に絡み合っている可能性が示唆されたが、基本的な母牛の代謝には多くの共通項が認められた。

9. 結語

以上のことから、第5章で行ったデントコーンサイレージ追加給与による子牛白痢の人為的発症試験は、第2章および第4章の自然発症例と類似した生体の変化を示した。また第3章のMPTの子牛白痢多発牛群の前期低でんぷん群の血液所見とも一致し、第2章～第4章でその存在が疑われた母乳性白痢を再現できたと考えられる。いっぽう、第4章および第5章においてデントコーンサイレージ給与とは関係なく子牛白痢の発症した症例では、他の自然発症や人為的発症の症例と類似した母牛の所見が認められており、母牛の代謝の変化によるものと考えられるが、発症機序に多少の差異のある可能性もあり、母乳性白痢の原因は今回究明したものだけではない可能性が示唆され

た。

第7章

総括

第1章では、子牛の白痢の今日までの知見を概観し、感染によらない別の原因による白痢の発症の可能性を示唆する報告のあることから、本試験に至るまでの経緯を概説した。

第2章では、黒毛和種牛において、白痢を発症した子牛の母乳の多くがアルコール不安定性を呈しているという臨床経験に着目し、アルコール不安定性母乳を1つの指標として子牛の白痢の発症との関係を検討した。その結果、白痢を発症した子牛の母牛は、負のエネルギーバランスの状態にあることが認められた。

第3章では、母牛のエネルギー代謝と子牛白痢発症との関連を明らかにするため、過去1年間に子牛の白痢が多発した5牛群と、子牛の白痢が発症しなかった2牛群の2産以上の健康な母牛を対象として、代謝プロファイルテスト(MPT)を行った。その結果、泌乳期の母牛において、肝臓からの脂質の転送能が低下しルーメンコンディションの異常が認められた3牛群と、著しい低でんぷん飼料で飼養されMPTからエネルギー不足と肝臓からの脂質の転送能の低下が認められた2牛群で、子牛白痢の多発することが認められた。そこで飼料給与内容の改善を指示して1年間経過を観察したところ、飼料給与内容に問題がなくなった4農家で、白痢が $45.3 \pm 14.7\%$ (平均 \pm 標準偏差) から $20.5 \pm 16.1\%$ に半減した。このことより、母牛の飼料給与内容に起因する肝臓機能の低下あるいはルーメンコンディションの異常が子牛の白痢発症と密接な関連を持つ可能性が示唆された。

第4章では、母乳に起因した子牛白痢の発症前後の母牛の変化を明らかにするため、子牛の白痢の多発している牛群(多発群)と発生のない群(健康群)で、母牛とその子牛を分娩後1カ月間、1週間間隔で連続的に観察したところ、健康群での白痢の発症はなかったが、多発群では7頭中5頭で分娩後 17.2 ± 7.6 日に白痢が発症した。白痢を発症した5頭中3頭の母牛には、白痢発症の4~5日前からデントコーンサイレージが日量3~3.5kg程度追加給与されていた。発症個体の白痢発症日の母乳の乳汁成分は、全頭で発症前(3頭が発症の1日前、2頭が発症の2日前)に比べて乳脂肪が $2.94 \pm 1.82\%$ 増加し、乳糖が $0.54 \pm 0.51\%$ 低下した。血清の生化学検査成績では、白痢を発症した個体の母牛は全頭で発症前(3頭が発症の1日前、2頭が発症の2日前)に比べて中性

脂肪が $3.8 \pm 1.3 \text{mg/dl}$ 、尿素窒素が $3.7 \pm 2.0 \text{mg/dl}$ 増加し、第 2 章と類似した成績が得られた。この結果から、子牛白痢の発症前後に母牛のエネルギー代謝および蛋白質代謝が急激に変化し、その結果として乳脂肪濃度の著しく増加することが、子牛の白痢の発症と何らかの関連のあることが示唆された。

第 5 章では、第 4 章で子牛白痢発症の一つの要因と推定された低でんぷん飼料給与母牛へのデントコーンサイレージ追加給与後の子牛白痢の発症試験を行った。分娩直後の 5 頭の黒毛和種雌牛とその子牛を供試し、連日の飼料摂取量と泌乳量を計測しながら、母牛のルーメン液、血液および乳汁、子牛の血液および糞便について、子牛の白痢発症まで追跡した。その結果、供試牛の子牛全頭で母牛へのデントコーンサイレージ給与開始後 5~7 日に白痢が発症した。白痢発症までの経過は以下のものであった。

すなわち、デントコーンサイレージ給与開始後 1~3 日に、子牛の糞便に軽度の変化が認められた。この日を前駆症状発現日とすると、この前後にルーメン液中の大型および中型原虫数の増加が見られた。この前日にルーメン VFA 中の酪酸の増加が認められ、前駆症状発現日には、これによると思われる前日に比べての乳脂肪率の増加が認められた。さらに前駆症状発現前日には乳汁中 Mg、Ca および高級飽和脂肪酸濃度が高値を示し、この乳汁を哺乳した子牛は、血中 TG が低値を示し、脂肪の吸収不良に陥ったことが推察された。前駆症状発現日以降は、乳汁の pH および脂肪酸組成が不安定になると同時に、子牛の腸管内での脂肪酸塩形成および脂肪酸の水酸化による乳汁成分の滞留が起こり、その結果、子牛の血中 TG の増加が始まったものと考えられた。白痢発症前日には、母牛のルーメン原虫のうち大型および中型原虫数が減少しはじめるいっぽう小型原虫が増加し、それに呼応するようにルーメン微生物を消化吸収することによるものと推定される血中 PL および BUN の増加が認められた。飼料変更後 5~7 日の白痢発症日には大量のルーメン微生物の消化・吸収が一気に起こったことによると思われる、母牛の血中 PL、TG、Glu および BUN の一過性の増加があり、それによる乳脂肪率の増加、脂肪酸組成および pH の不安定という乳汁成分の変化が生じ、この乳汁を哺乳した子牛は、乳汁を脂肪消化不良便として排出することにより白痢が

発症した。白痢発症日には子牛の血中 TG の低下は認められず、この時の子牛は脂肪の吸収不良はないものと推定された。

第 6 章においては、第 2 章～第 4 章の知見と第 5 章の子牛白痢の発症試験から得られた知見について項目ごとに対比検討し、第 5 章の子牛白痢の人為的発症は、子牛白痢の自然発症例と、きわめて類似していることが確認された。

以上のことから、デントコーンサイレージ給与によって生じた母牛のルーメンコンディションの変化は、母牛の主に血中脂質の変化を引き起こし、これに起因すると思われる乳汁の変化をもたらし、その乳汁を哺乳した子牛が“母乳性白痢”を発症することが明らかとなった。

謝辞

本稿を終えるに臨み、御懇篤なる御指導を賜った岩手大学教授 内藤善久博士に心から拝謝し、本論文作成にあたり有益な御助言と御校閲を頂いた岐阜大学教授 武脇 義博士、東京農工大学教授 金田義宏博士、帯広畜産大学教授 山田明夫博士、岩手大学教授 三宅陽一博士に深甚なる謝意を表します。また、本試験遂行にあたり終始御懇切なる御指導を頂いた岩手大学教授 志賀 龍郎博士、岩手大学教授（現：日本大学教授）竹内 啓博士に深甚なる謝意を表します。

採材等の御協力を頂いた NOSAI 久慈、NOSAI 岩手、NOSAI 江刺、NOSAI 二戸、小岩井農牧（株）、岩手大学農学部附属御明神牧場の諸先生、および、採材と分析に際して御協力を頂いた農林水産省家畜改良センター岩手牧場の諸先生、岩手大学農学部附属家畜病院研究室および応用生物学動物栄養学講座の学生諸君に深く感謝の意を表します。また、薬剤を御提供くださった帝国臓器製薬（株）および第一化学薬品（株）に深謝いたします。

引用文献

1. Abe, M., Iriki, T., Ikeda, K. and Funaba, M. (1992). Effect of fatty acid composition of milk replacer on digestibility, incidence of diarrhoea and lipid metabolism in newborn calves. *Anim. Sci. Technol.* 63, 1014~1024.
2. Abe, M. and Takase, O. (1981). Neonatal diarrhoea in calves given milk-substitutes differing in fat source and fed by different procedures. *Br. J. Nutr.* 46, 543~548.
3. Acres, S. D., Laing, C. J., Saunders, J. R. and Radostits O. M. (1975). Acute undifferentiated neonatal diarrhea in beef calves I. Occurrence and distribution of infectious agents. *Can. J. Comp. Med.* 39, 116~132.
4. Acres, S. D., Saunders, J. R. and Radostits, O. M. (1977). Acute undifferentiated neonatal diarrhea of beef calves: The prevalence of enterotoxigenic E. Coli, Reo-Like (Rota) virus and other enteropathogens in cow-calf heads. *Can. Vet. J.*, 18, 113~121.
5. Adams, E. P. and Heath, T. J. (1963). The phospholipids of ruminant bile. *Biochim. Biophys. Acta.* 70, 688~690.
6. Allen, S. D. and White R. D. (1985). Dairy calf diarrhea. *Agri. Prac.*, 6, 23~31.
7. Ammon, H. V. and Phillips, F. P. (1973). Inhibition of colonic water and electrolyte absorption by fatty acids in man. *Gastroenterology* 65, 744~749.
8. 渥美孝雄, 岡田啓司, 後藤浩弥, 南館君夫 (1991). 高泌乳牛群における代謝プロファイルテスト成績と産乳および繁殖成績. *東北家畜臨床研究会誌* 14, 11~18.
9. Boogaerdt, J. (1954). Instability of milk due to a high content of calcium ions. *Nature* 174, 884.
10. Bright-Asare, P. and Binder, H. J. (1973). Stimulation of colonic secretion of water and electrolytes by hydroxy fatty acids. *Gastroenterology* 64, 81~88.

11. Castrucci, G., Frigeri, F., Cilli, V., Gualandi, G. L. and Aldrovandi, V. (1988). Neonatal calf diarrhea induced by Rotavirus. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.* 11, 71~84.
12. Claypool, D. W., Pangborn, M. C. and Adams, H. P. (1980). Effect of dietary protein on high-producing dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 63, 833~837.
13. Dawson, R. M. C. and Kemp, P. (1967). The aminoethylphosphonate-containing lipids of rumen protozoa. *Biochem. J.* 105, 837~842.
14. DeLeeuw, R. W. (1980). Rotavirus infections in calves in dairy herds. *Res. Vet. Sci.* 29, 135~141.
15. 土井一夫, 高橋高信, 田中稔夫, 福島義信 (1959). 低酸度二等乳とホルモンの関係について. *日獣会誌* 12, 477~479.
16. Edmonson, A. J., Lean, I. J., Weaver, L. D. and Farver, T. (1989). A body condition scoring chart for holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72, 68~78.
17. Fallon, R. J. and Harte, F. J. (1983). The occurrence of diarrhoea in calves under different management systems. *Ann. Rech. Vet.* 14, 473~478.
18. Fettman, M. J., Brooks, P. A., Burrows, K. P. and Phillips, R. W. (1986). Evaluation of commercial oral replacement formulas in healthy neonatal calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 188, 397~401.
19. Ferguson, J. D., Blanchard, T., Galligan, D. T., Hoshall, D. C. and Chalupa, W. (1988). Infertility in dairy cattle fed a high percentage of protein degradable in the rumen. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 192, 659~662.
20. Fledderus, A., Dijk, J. E. V., Mouwen, J. M. V. M. and Holzhauer, C. (1985). Prevention of intestinal disturbances using disodium cromoglycate in veal calves. *Vet. Rec.* 117, 582~583.
21. Folley, S. J., and Kay, H. D. (1935). CCXV. The alkaline phosphomonoesterase of the

- mammary gland. *Biochem. J.* 29, 1837~1850.
22. Fronk, T. J., Schultz, L. H. and Hardie, A. R. (1980). Effect of dry period overconditioning on subsequent metabolic disorders and performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 63, 1080~1090.
 23. 古川英幸, 柚之原通雄 (1997). 黒毛和種牛の分娩後の乳汁成分と子牛の下痢症との関係. *家畜診療* 405, 3~7.
 24. Girard, V. and Hawke, J. C. (1978). The role of holotrichs in the metabolism of dietary linoleic acid in the rumen. *Biochem. Biophys. Acta.* 528, 17~27.
 25. Goute, M., Contrepolis, M. Dubourguier, H. C. Riou, Y. Scherrer, R., Laporte, J., Vautherot, J. F., Cohen, J. and Lharidon, R. (1978). The experimental production of diarrhoea in colostrum deprived axenic and gnotoxenic calves with enteropathogenic *Escherichia coli*, Rotavirus, Coronavirus and in a combined infection of Rotavirus and *E. coli*. *Ann. Rech. Vet.* 9, 433~440.
 26. 濱田龍夫 (1987). 子牛の消化能力の適応変化. 津田恒之監修・柴田章夫編, 新 乳牛の科学, 初版, pp.249~255. 農産漁村文化協会, 東京.
 27. Hart, I. C., Bines, J. A., Morant, S. V. and Ridley J. L. (1978). Endocrine control of energy metabolism in the cow: Comparison of the levels of hormones (Prolactin, Growth hormone, Insulin and Thyroxine) and metabolites in the plasma of high- and low-yielding cattle at various stages of lactation. *Endocr.* 77, 333~345.
 28. Herdt, T. H., Liesman, J. S., Gerloff, B. J. and Emery, R. S. (1983). Reduction of serum triacylglycerol-rich lipoprotein concentrations in cows with hepatic lipidosis. *Am. J. Vet. Res.* 44, 293~296.
 29. 平野哲夫, 高橋清治, 矢崎 薫, 渥美孝雄, 岡田啓司, 南館君夫, 後藤浩弥, 鈴木利行 (1991). 黒毛和種繁殖雌牛における代謝プロファイルテストと繁殖成績. *家畜診療* 336, 35~39.

30. Hudson, S., Mullord, M., Whittlestone, W. G. and Payne, E. (1976). Plasma corticoid levels in healthy and diarrhoeic calves from birth to 20 days of age. *Br. Vet. J.* 132, 551~556.
31. 飯塚三喜 (1971). 異常乳の成因と予防. *家畜衛試研究報告* 62, 189~202.
32. 飯塚三喜, 本間惣太, 米村寿男, 野口一郎, 須川章夫, 吉田信行 (1965). いわゆる低酸度アルコール反応陽性乳に関する研究. *獣畜新報* 397, 433~436.
33. 飯塚三喜, 杉浦邦紀, 窪道護夫, 吉田信行 (1961). いわゆる低酸度アルコール反応陽性乳に関する研究 III. 肝障害に伴う「ア」陽性乳発生の機構に関する研究. *日獣誌* 23, 193~206.
34. 今泉勝巳, 窄野昌信 (1996). 脂肪の消化と吸収. *栄養学雑誌* 54, 271~283.
35. 井上 亮, 後藤浩人, 小林隆之, 小屋正人, 山科 淳, 斉藤才吉, 高橋公明, 吉田 登, 伊藤金助 (1987). 子牛の低色素便排泄の成因とその治療法について. *家畜診療* 286, 9~16.
36. Isaacson, R. E., Moon, H. W. and Schneider, R. A. (1978). Distribution and virulence of *Escherichia coli* in the small intestines of calves with and without diarrhea. *Am. J. Vet. Res.* 39, 1750~1755.
37. Johnston, W. S. and Maclachlan, G. K. (1977). Digestive illness in the calf associated with non-coagulation of cow's milk. *Vet. Rec.* 101, 325~326.
38. Johnston, W. S., Maclachlan, G. K. and Hopkins, G. F. (1980). The association of non-clotting of cow's milk with scour in the single suckled beef calf. *Vet. Rec.* 106, 174~175.
39. Kapil, S., Trent A. M. and Goyal, S. M. (1990). Excretion and persistence of bovine coronavirus in neonatal calves. *Arch. Virol.* 115, 127~132.
40. 片貝富夫, 車田真人, 松本公一, 原田博之, 半谷正秀, 泉田敬義, 栄 利文, 角田元成 (1993). 黒毛和種の乳成分 (第1報). *東北家畜臨床研究会誌* 16, 18~21.
41. Katz, I. and Keeney, M. (1967). The lipids of some rumen holotrich protozoa. *Biochim.*

Biophys. Acta. 144, 102~112.

42. Kronfeld, D. S. (1972). Diagnosis of metabolic diseases of cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 161, 1259~1264.
43. Krogh, H. V. (1983). Occurrence of Enterotoxigenic Escherichia coli in calves with acute neonatal diarrhoea. Nord. Vet. Med. 35, 346~352.
44. Kweon, O. K., Ono, H., Osasa, K., Onda, M., Oboshi K., Uchisugi, H., Kurosawa, S., Yamashina, H. and Kanagawa, H. (1989). Factors affecting serum total cholesterol level of lactating Holstein cows. Jpn. J. Vet. Sci. 48, 481~486.
45. Landsverk, T. (1981). An enzyme histochemical investigation of the intestinal mucosa in diarrheic calves. Acta Vet. Scand. 22, 449~458.
46. Linzell, J. L., Annison, E. F., Fazakerley, S. and Leng, R. A. (1967). The incorporation of acetate, stearate and D (-) - β -hydroxybutyrate into milk fat by the isorated perfused mammary gland of the goat. Biochem. J. 104, 34~42.
47. 前野正久 (1955). 異常乳の原因と検査法及びその対策. 畜産の研究 9, 1259~1262.
48. Manston, R., Russell, A. M., Dew, S. M. and Payne, J. M. (1975). The influence of dietary protein upon blood composition in dairy cows. Vet. Rec. 96, 497~502.
49. Moon, H. W., McClukin, A. W., Isaacson, R. E., Pohlenz, J., Skartvedt, S. M. and Baeta, A. L. (1978). Pathogenic relationships of Rotavirus, Escherichia coli and other agents in mixed infections in calves. J. Am. Vet. Med. Assoc. 73, 577~583.
50. Morin, M., Lariviere, S. and Lallier, R. (1976). Pathological and microbiological observations made on spontaneous cases of acute neonatal calf diarrhea. Can. J. Comp. Med. 40, 228~240.
51. Murakami, T., Hirano, N., Chitose, K., Tsuchiya, K., Ono, K., Sato, F., Suzuki, Y. and Murakami, Y. (1987). A survey on bovine Rotavirus type 1-associated neonatal calf

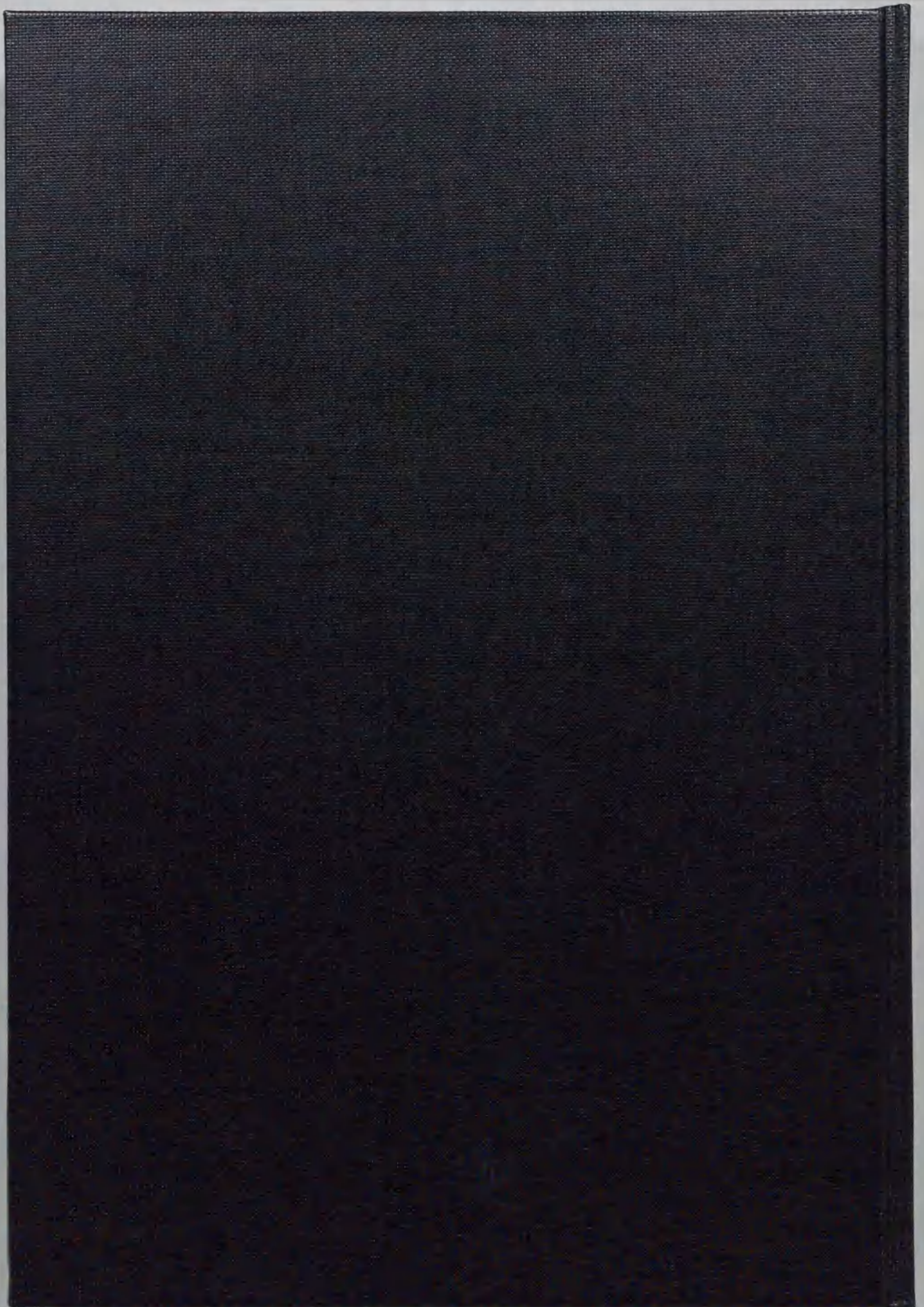
- diarrhea in a beef herd. *Jpn. J. Vet. Sci.* 49, 23~30.
52. 中村 修, 竹之下浩和, 下村雄二, 末之下高広 (1996). 黒毛和種における子牛下痢発症別の母牛乳成分. *家畜診療* 395, 3~6.
 53. Nalon, J. V. and Leng, R. A. (1972). Dynamic aspects of ammonia and metabolism in sheep. *Br. J. Nutr.* 27, 177~194.
 54. 農林水産省経済局保険管理課編 (1989). 家畜共済統計表, 農林水産省経済局保険管理課, 東京.
 55. 農林水産省経済局保険管理課編 (1995). 家畜共済統計表, 農林水産省経済局保険管理課, 東京.
 56. 農林水産省農林水産技術会議事務局編 (1995). 日本飼養標準・肉用牛 (1995年版), 初版. 社団法人・中央畜産会, 東京.
 57. 農林水産省農林水産技術会議事務局編 (1983). 日本飼養標準・肉用牛 (1975年版), 第8版. 社団法人・中央畜産会, 東京.
 58. 岡田啓司, 佐藤忠弘, 佐々木重荘, 赤坂 茂, 下山茂樹, 佐々木洋子, 高橋覚志, 平田統一 (1997). 採食前後における乳牛血液成分の変動. *日獣会誌* 50, 705~708.
 59. 岡田啓司, 佐藤忠弘, 下山茂樹, 赤坂 茂, 佐々木重荘, 佐々木洋子, 高橋覚志, 平田統一 (1997). 高蛋白・高デンプン飼料給与乳牛における血中アンモニア・乳酸濃度. *日獣会誌* 50, 705~708.
 60. 岡田啓司, 高橋千賀子, 渥美孝雄, 菊池 薫, 小島佳岳, 南館君夫 (1992). 黒毛和種下痢症子牛の血清脂質および膵臓酵素に関する検討. *東北家畜臨床研究会誌* 15, 15~21.
 61. Olchoway, T. W. J., Linnabary, R. D., Andrews, F. M. and Longshore, R.C. (1993). Lactose intolerance in a calf. *J. Vet. Intern. Med.* 7, 12~15.
 62. 小野寺良次 (1985). ルーメン内における栄養素の代謝. 神立 誠・須藤恒二監修, *ルーメンの世界*, 初版 pp.171~259. 社団法人・農産漁村文化協会, 東京.

63. 扇 勉, 前田善夫, 伊藤季春, 梶野清二, 岸 昊司, 松田信二, 安里 章, 白井 章 (1989). 北海道における乳牛群の代謝プロファイルテスト. 日獣会誌 42, 306~311.
64. Parker, B. N. J. and Blowey, R. W. (1976). Investigation into the relationship of selected blood components to nutrition and fertility of the dairy cow under commercial farm conditions. *Vet. Rec.* 98, 394~404.
65. Payne, J. M., Dew, S. M., Manston, R. and Faulks, M. (1970). The use of a metabolic profile test in dairy herds. *Vet. Rec.* 87, 150~158.
66. Radostits, O. M. and Bell, J. M. (1968). Nutrient digestibility by new-born calves fed milk replacer. *Can. J. Anim. Sci.* 48, 293~302.
67. Reid, I. M., Roberts, C. J. and Manston, R. (1979). Fatty liver and infertility in high-yielding dairy cows. *Vet. Rec.* 27, 75~76.
68. Rook, J. A. F. and Balch, C. C. (1961). The effects of intraruminal infusions of acetic, propionic and butyric acids on the yield and composition of the milk of the cow. *Brit. J. Nutr.* 15, 361~369.
69. Rollin, R. E., Mero, K. N., Kozisek, P. B. and Phillips, R. W. (1986). Diarrhea and malabsorption in calves associated with therapeutic doses of antibiotics: Absorptive and clinical changes. *Am. J. Vet. Res.* 47, 987~991.
70. 佐藤 博 (1978). 乳牛の分娩前後の血漿ブドウ糖, 脂質およびミネラル濃度の変化について. 日畜会報 49, 333~338.
71. Shah, N. M. and Jhala, V. M. (1992). Epizootiological investigations on Rotavirus infection in cases of neonatal calf diarrhoea. *Indian vet. J.* 69, 5~7.
72. Sinnett-Smith, P. A., Slee, J. and Woolliams, J. A. (1987). Biochemical and physiological responses to metabolic stimuli in friesian calves of differing genetic merit for milk production. *Anim. Prod.* 44, 11~19.

73. Smeets, W. T. G. M. and Seekles, L. (1952). Determinations of the content of calcium ions in milk ultrafiltrate. *Nature* 169, 802~803.
74. Snodgrass, D.R., Smith, M. L. and Krautil, F. L. (1982). Interaction of Rotavirus and enterotoxigenic *Escherichia coli* in conventionally-reared dairy calves. *Vet. Microbiol.* 7, 51~60.
75. Snodgrass, D. R., Terzolo, D., Sherwood, D. Campbell, I., Menzies, J. D. and Synge, B. A. (1986). Aetiology of diarrhea in young calves. *Vet. Rec.* 119, 31~34.
76. Soong, C. S., Thompson, J. B., Poley, J. R. and Hess, D. R. (1972). Hydroxy fatty acids in human diarrhea. *Gastroenterology* 63, 748~757.
77. Sommer, H. H. and Binney, T. H. (1923). A study of the factors that influence the coagulation of milk in the alcohol test. *J. Dairy Sci.* 6, 176~197.
78. 田中桂一, 清水良三, 崎元道男, 誉 徳芳 (1974). ヤギにおける胸管リンパ系への不飽和脂肪酸の吸収. *日畜会報* 45, 206~213.
79. 寺田隆慶, 吉田正三郎, 小野寺 勉 (1979). 肉用牛の授乳量に及ぼす 2, 3 の要因の検討ならびに授乳量の推定法について. *中国農試報* B24, 23~36.
80. Thomas, P. J. (1972). Identification of some enteric bacteria which convert oleic acid to hydroxystearic acid in vitro. *Gastroenterology* 62, 430~435.
81. 恒光 裕, 工藤卓二, 八田忠雄, 森 清一 (1986). 一肉牛牧場における子牛の下痢発生状況と牛ロタウイルスならびに K99 保有大腸菌の検索. *日獣会誌* 39, 631~635.
82. Tsunemitsu, H., Yonemichi, H., Hirai, T., Kudo, T., Onoe, S., Mori, K. and Shimizu, M. (1991). Isolation of bovine Coronavirus from Feces and nasal swabs of calves with diarrhea. *J. Vet. Med. Sci.* 53, 433~437.
83. Tzipori, S., Smith, M., Halpin, C. and Krautil, F. (1983). Intestinal changes associated with Rotavirus and enterotoxigenic *Escherichia Coli* infection in calves. *Vet. Microbiol.*

8, 35~43.

84. 梅木隆富, 佐藤義明, 甲斐雅彦 (1994). 黒毛和種子牛の下痢症と母牛の乳汁成分との関連性. 家畜診療 369, 15~18.
85. Viviani, R., Cortesi, P., Borgatti, A. R. and Criselig, G. (1968). Lipid components of sheep rumen bacteria and protozoa. *Nuova vet.* 144, 279~283.
86. Watanabe, Y., Kyuma, Y. and Murai, H. (1969). Hydrolysis and hydrogenation of lipids in the rumen of goats. *Jap. J. Zootech Sci.* 40, 390~397.
87. Wieler, L. H., Bauerfeind, R. and Baljer, G. (1992). Characterization of Shiga-like toxin producing *Esherichia coli* (SLTEC) isolated from calves with and without diarrhoea. *Zbl. Bakt.* 276, 243~253.
88. Williams, V. J. and Mackenzie, D. D. S. (1965). The absorption of lactic acid from the reticulo-rumen of the sheep. *Aust. J. Biol. Sci.* 18, 917~934.
89. Wilson, J. R., Bartley, E. E., Anthony, H. D., Brent, B. E., Sapienza, D. A., Chapman, T. E., Dayton, A. D. and Milleret, R. J. (1975). Analysis of rumen fluid from "sudden death," lactic acidotic and healthy cattle fed high concentration. *J. Anim. Sci.*, 41, 1249~1255.
90. Yang, Y. T., Baldwin, R. L. and Russel, J. (1978). Effects of long supplementation with lipids on lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 61, 180~188.



Inches 1 2 3 4 5 6 7 8
cm 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

