

# 黒毛和種新生子牛における 糞便中有機酸濃度の影響

しばの けんいち  
芝野 健一

帯広畜産大学 臨床獣医学研究部門 診断治療学分野

(〒080-8555 北海道帯広市稲田町西2線11番地)

(E-mail : shibano@obihiro.ac.jp)

新生子牛下痢は長期間の治療を必要とすることが多く、その後の成長に影響を及ぼしている。また原因が不明のまま治療を繰り返すことも多く、その原因を明らかにすることは临床上重要と思われる。新生子牛の下痢症は、細菌やウイルス感染、寄生虫や原虫の寄生が原因となる感染性下痢と、消化不良や母乳の性状に起因する非感染性下痢に分類される<sup>1, 2)</sup>。自然哺乳の黒毛和種新生子牛で散発する下痢の原因には、子牛消化管内における脂肪の消化不良、腺外分泌能の異常、胆汁分泌量の減退、母乳の品質変化、母牛飼料の変化や盗食等多岐にわたるため、原因を特定することが容易でなく苦慮することが多い<sup>3-5)</sup>。

下痢症は種々の原因によって腸蠕動が亢進し、同時に腸において水分の吸収不全、あるいは困難な状態となり、水分を多く含む流動状や液状の糞便を頻回排出する病態である。その要因には、病原微生物や毒素物質が消化管粘膜を刺激して下痢となる一方、ストレスなどの自律神経機能の変調によって腸管に異常が生じたことでも発生する。

近年、佐藤ら<sup>6, 7)</sup>は乳用子牛を対象とした人工哺乳時の下痢が便中有機酸濃度の変化に起因すると報

告しており、黒毛和種の自然哺乳においても子牛の便中有機酸濃度の変化と下痢との関連性を疑うことができる。

今回、肉用子牛の下痢をテーマとするが、下痢の原因を究明するにあたってできる限り他の要因を排除した子牛を用いて調査を実施した。なお、病原微生物に起因する下痢は他の資料に譲り、本稿では非感染性下痢について調査した。

## 材料および方法

調査地域は兵庫県東部に位置する黒毛和種牛の繁殖地帯で、対象農場は繁殖母牛を約100頭飼養する当地域で最も大きな農場である。当農場では、産前の母牛には分娩前2カ月より配合飼料を漸次3kgまで増量する増し飼い方法を以前より完全実施している。また分娩予定1カ月の母牛には、下痢5種不活化ワクチン(牛ロタウイルス感染症3価、牛コロナウイルス感染症、牛大腸菌下痢症K99精製線毛抗原混合不活化ワクチン、(株)微生物化学研究所、京都)を接種し、出生子牛の下痢予防対策に努めている。

当該農場の非感染性下痢の発生について、初診日

糞便性状はLarsonらの方法に準じて分類 (J.Dairy Sci. 60:989-991,1977)

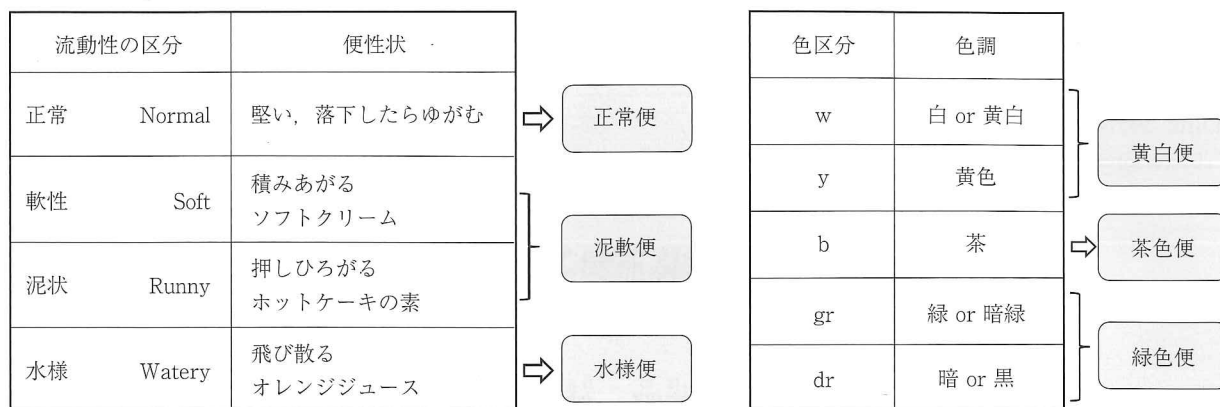


図1 糞便性状と分類

齢の集計は2年間とし、月別発生頭数は年間出生頭数90頭について追跡調査し、月別出生頭数に対する下痢頭数発生率を求めた。

糞便性状と糞便pHは、感染性下痢子牛を調査から除外するため、糞便中の病原性大腸菌由来であるエンテロトキシンを調査した。耐熱性エンテロトキシンは、市販検出キット(コリストEIA, デンカ生研株, 新潟), 易熱性エンテロトキシンは市販検出キット(VET-RPLA, デンカ生研株, 新潟)を用いた。*Salmonella spp*検査は糞便培養を実施した。主な原虫のククシジウムは飽和ショ糖浮遊法, クリプトスポリジウム原虫は市販キット(BioK155, Bio-X Diagnostics, Jemelle, Belgium)を用い、これらの検査結果がすべて陰性の子牛50頭(雄22頭, 雌28頭, 双子0頭)とした。供試子牛50頭は、試験開始時には発熱等の異常な臨床症状を認めない健常子牛とした。供試便は、50頭の子牛の生後3~4日齢, 5~9日齢, 10~14日齢, 15~19日齢, 20~30日齢にそれぞれ1回ずつ合計5回、午前10~12時の間に直腸便を採取した。採取した供試便250個は様々な便性

状を呈するため、Larsonら<sup>8)</sup>の方法に準じて形状や色調を分類した。分類後、得られた検体の頻度から、流動性の区分を「正常」, 「軟泥状」, 「水様」に、糞便色調を「茶色便」, 「緑色便」, 「黄白便」のそれぞれ3種類に再分類し記録した(図1)。

糞便pHは佐藤らの方法<sup>6)</sup>を参考に、糞便5gに蒸留水20 mLを加え攪拌後、80メッシュでろ過した後、そのろ液を用いてpHメーター(Twin pH; 株堀場製作所)で採便後30分以内に測定した。

便中有機酸濃度の測定は、生後15~19日齢時点の便を余分に採取し、semi-nested PCRによってロタウイルス感染の有無を調査し、ロタウイルス感染が否定された子牛10頭の採取便を測定に供した。これら10頭の子牛を、調査期間中に下痢を発症した子牛5頭(下痢群)と正常便で経過した子牛5頭(正常群)の2群に区分した。両群10頭から上記と同様の間隔で1頭あたり計5回採取した直腸便を用いて、Hinoらの方法<sup>9)</sup>により高速液体クロマトグラフィーで糞便中有機酸濃度を測定した。

統計処理は測定値の比較は、Mann-WhitneyのU

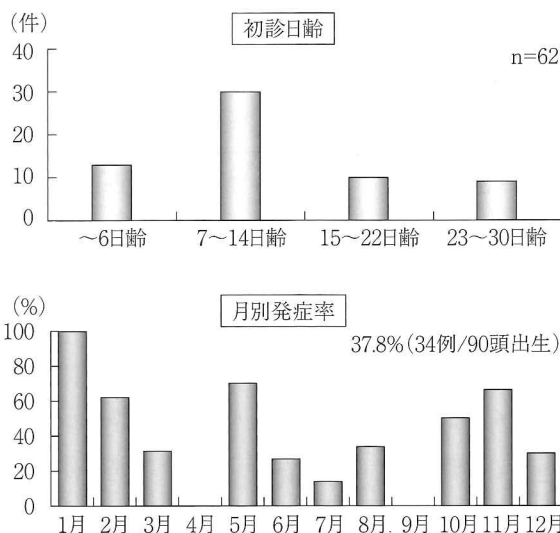


図2 下痢発生状況

検定を行い有意な場合Student t-testを用いて比較した。危険率5%未満を有意差ありとし、値は平均値±標準偏差で示した。

## 結果

下痢子牛の臨床症状は、軽症例では発熱は認めず活力もあり哺乳欲は旺盛で経過した。重症例では四肢や口腔内の冷感を認め、起立不能、歩様酩酊、腹囲大、右下腹部で拍水音が聴取されるのが特徴的所見であった。初診日齢は7~14日が最も多く、以後は減少した。月別発生頭数は一定の傾向を示すことなく、年間を通して発生していた(図2)。

糞便色調は、黄白便が250検体中150検体、茶色便は250検体中85検体、緑色便は250検体中15検体であった。水様便の38検体中31検体が黄白便と最も多かった(81.6%, 31/38)。糞便pHは黄白水様性下痢便 $6.2 \pm 0.6$ で、正常便 $6.6 \pm 0.6$ 、泥軟便 $6.6 \pm 0.5$ に比べ有意に低値であった( $P < 0.05$ )。茶色水様下痢は85検体中2検体、緑色水様下痢は15検体中5検体と少数で同一色調の正常便とpHに差はなかった(表1)。

糞便中有機酸濃度では、正常便から下痢症状がみられた下痢群10~14日齢の有機酸を正常群と比較したところ、正常群の乳酸濃度は $0.8 \pm 1.1$  ( $\mu\text{mol/g}$ )に対し、下痢群は $44.3 \pm 36.9$  (同)と下痢群で有意に

表1 子牛の便色調と糞便pH

	糞便色調		
	茶色便	緑色便	黄白便
正常便 (n=140)	$6.7 \pm 0.8$ (n=62)	$6.8 \pm 0.6$ (n=4)	$6.6 \pm 0.6$ (n=74)
泥軟便 (n=72)	$6.6 \pm 0.7$ (n=21)	$6.4 \pm 0.8$ (n=6)	$6.6 \pm 0.5$ (n=45)
水様便 (n=38)	$7.3 \pm 0.2$ (n=2)	$6.9 \pm 0.4$ (n=5)	$6.2 \pm 0.6$ (n=31)
合計	85	15	150

Mean  $\pm$  S.D \* :  $p < 0.05$

高かった( $p < 0.05$ )。n-酪酸濃度は正常群 $21.8 \pm 8.3$  (同)に対し、下痢群は $12.8 \pm 8.8$  (同)と下痢群で有意に低かった( $P < 0.05$ )。他の有機酸濃度に差はなかった。糞便pHでは、10~14日齢の正常群は $6.5 \pm 0.2$ に対し、乳酸濃度が高かった下痢群は $5.6 \pm 0.3$ と有意に低く( $P < 0.05$ )、その後15~19日齢においても下痢群で有意に低値を示した(表2)。

両群の10~14日齢の有機酸割合では、正常便では酢酸の割合が約半分を占め、乳酸は極めて少ない割合であったが、下痢便では乳酸が著増していた(図3)。

## 考察

本調査の下痢は生後1カ月以内に発生したが、その原因を特定するには多くの検査が必要となる。また臨床現場で遭遇する新生子牛下痢症には季節性は無く、年間を通じて発生することも経験している。また発生時期が集中するような集団的な発生ではなく、散発的に往診依頼があるため、一過性のものあるいは母牛や子牛に限られた原因が関与しているものと判断し、見過ごしているのが現状である。母乳の品質が影響した報告では<sup>3-5)</sup>、消化管における消化不良が関与している。ヒト乳幼児の乳糖不耐症は、先天的な乳糖分解酵素の欠損、酵素活性の低下、腸

表2 糞便中有機酸量とpH

日齢	群	乳酸 ( $\mu\text{mol/g}$ )	酢酸 ( $\mu\text{mol/g}$ )	プロピオン酸 ( $\mu\text{mol/g}$ )	n-酪酸 ( $\mu\text{mol/g}$ )	pH
3~4 (n=10)	下痢群 <sup>a</sup>	2.0±4.5	23.6±0.9	7.4±3.9	10.4±7.7	5.9±0.3
	正常群	0.0±0.0	36.7±13.3	9.1±2.4	23.3±11.5	6.0±0.2
5~9 (n=10)	下痢群 <sup>a</sup>	2.8±3.8	34.9±16.0	13.3±16.0	16.4±8.6	6.2±0.3
	正常群	0.2±0.3	44.1±11.8	16.9±7.8	21.4±10.9	6.4±0.2
10~14 (n=10)	下痢群 <sup>b</sup>	44.3±36.9	42.0±31.2	16.8±15.6	12.8±8.8	5.6±0.3
	正常群	0.8±1.1	46.6±22.3	27.2±14.3	21.8±8.3	6.5±0.2
15~19 (n=10)	下痢群 <sup>c</sup>	20.1±27.5	50.1±30.5	21.0±12.9	14.1±12.4	6.5±0.3
	正常群	0.3±0.1	50.0±23.7	27.3±13.1	14.3±6.0	7.6±0.2
20~30 (n=10)	下痢群 <sup>d</sup>	1.4±2.1	51.6±17.9	23.6±6.2	14.7±5.4	7.7±0.5
	正常群	0.0±0.0	57.7±7.6	27.1±10.7	18.6±10.6	7.2±0.2

Mean±S.D      \*: P<0.05,

a: 下痢群3~9日齢正常便

b: 下痢群10~14日齢黄白色水様便

c: 下痢群15~20日齢黄褐軟便

d: 下痢群21~30日齢正常便

正常群はすべて正常便

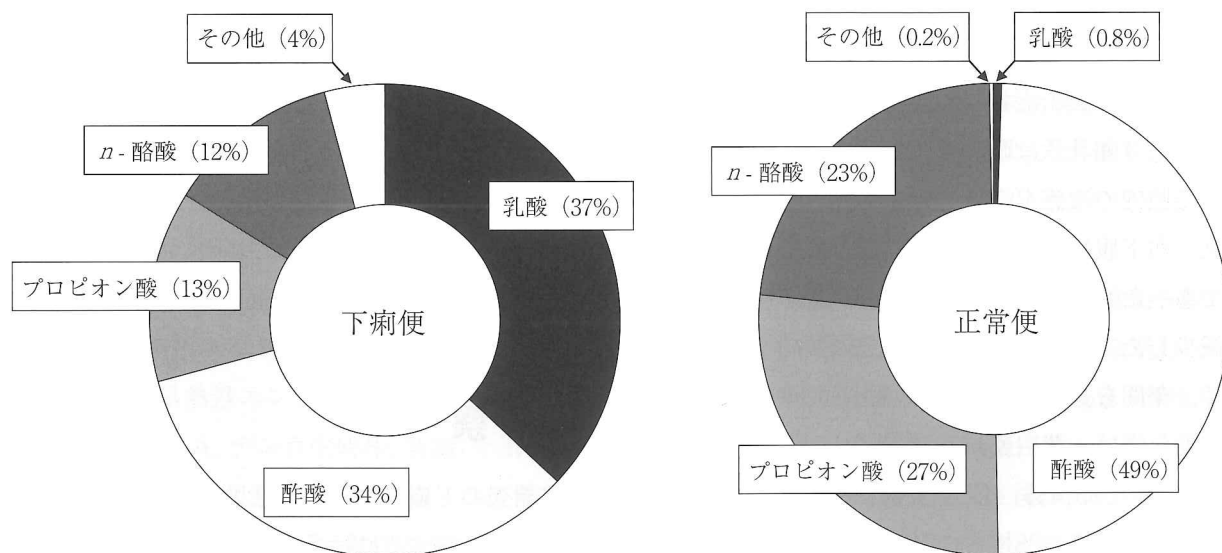


図3 10~14日齢子牛の糞便中各有機酸割合

炎等による二次的な分解酵素作用の低下によるもので、気体を含んだ水様性下痢を排泄する。これは乳汁中の乳糖が小腸内で分解されずそのまま大腸に移行し、腸内細菌により乳糖から乳酸や酢酸が産生される。産生された高濃度の有機酸が腸粘膜を刺激するため蠕動運動が亢進し下痢を誘発すると考えられ

ている。北海道内でみられる黒毛和種哺乳子牛の乳糖不耐症では、水様性下痢便の3割以下で、その発生頻度は高くない<sup>10)</sup>。本調査では供試子牛50頭中20頭が下痢を発症し、発症率は40%と乳糖不耐症に比べて発症率が高率であったこと、生後2週前後に集中して下痢症状がみられること、軽度な症例が多い

ことから、母乳の摂取量や母乳の消化過程で何らかの異常が生じた可能性が推察される<sup>8)</sup>。また下痢が多発する生後日齢は子牛自身の哺乳が旺盛な時期と一致し、多量に哺乳したと仮定すると、黄白便色調は母乳のみを摂取した証拠で過剰な哺乳量に消化が追い付かないことも疑われた。小岩らは、1回の摂取量が体重の5%を超えると過剰なミルクは第四胃から第一胃へ逆流し、ルミナードリンカーの発病要因になると報告している<sup>11)</sup>。便色はその後の人工乳等の摂取開始に伴って茶褐色あるいは暗緑色へと変化する。今回の調査期間では緑褐色下痢はほとんどみられなかった。

糞便pHの調査結果においても、最も低値を示したものは黄白下痢便であった。pHの低下要因は、糞便中有機酸濃度が関与しており、主に乳酸濃度の増加が影響したと推察された。乳酸は強酸性の性質を示すため、生理的に中性域である腸管内ではほとんどがイオン化する。腸管内の乳酸産生の増加は、浸透圧調整による腸管粘膜からの水分の分泌亢進、酸性下による粘膜損傷、腸管の水分吸収能低下による下痢と思われた。塚原ら<sup>12)</sup>は産生された乳酸は中間代謝物質で酸利用菌によって通常プロピオン酸や酢酸に変化する。Ireland-Perryら<sup>13)</sup>は、成牛において摂取した飼料が未消化のまま第一胃を通過した後、腸管内の細菌で乳酸が産生されるため糞便pHを低下させると報告している。

一方、子牛を対象とした調査では、Shimomuraら<sup>14)</sup>は人工哺乳の乳用子牛の酸性便は結腸における乳酸に起因すると報告し、腸管内の乳酸産生は急激なデンプン分解の結果と報告している。佐藤<sup>7)</sup>は乳用子牛において、乳酸の増加は小腸を通過した乳汁中の乳糖が腸内細菌による嫌気性発酵によって産生されたもので、病原菌の腸管への定着を助長すると報告し、生体にとって好ましい状態ではない。黒毛和種繁殖農場では、離乳に至るまで自然哺乳が主体となっているため、母乳の泌乳ピークとなる2週齢前後やスターター摂取の遅れがかえって母乳に依存する期間を長期化させることが心配される。このよ

うな状況では、第四胃内でカード化を免れた母乳が腸管へ流入することによって、腸管内で急激に乳酸が産生されることが下痢症を誘発するものと思われる。糞便中有機酸は腸管の保全や機能の持続に必要である<sup>8)</sup>。その他の有機酸濃度の比較では、下痢便中のn-酪酸は正常便に比べ有意に低かった。n-酪酸は大腸のエネルギーとして利用されるため、若齢子牛の消化管発達を妨げるものと推察された。

下痢子牛に対する主な治療内容は、発生から経過が長い症例や四肢の冷感、脱水症状がみられるものにはリンゲル液等の電解質を1~2L輸液を行った。さらに重症例(起立不能、6%以上の重度脱水)では重曹注(7%重曹注では4mL/kg)をリンゲル液等に混合し点滴した。さらに抗炎症とショック緩和のために保険給付外薬として、非ステロイド剤の静脈内注射を行った。経口薬は、腸管粘膜の修復を目的に収れん剤、経口用胆汁製剤、生菌剤を混和し、団子状にして1日2回投与した。抗生剤については、重症例では積極的に1~2回使用したが、いずれも経口投与ではなく静脈内投与とした。また断乳処置はいっさい行わなかった。

下痢の原因は様々である。感染以外にも多くの原因が考えられ、飼養環境や母牛飼料、初乳の摂取量等との関連性も無視できない。いずれにしても、個体治療については輸液を主体とした対症療法が重要であり、積極的な輸液により治療期間を短縮させることができる。

黒毛和種繁殖農場で、自然哺乳飼養の出生子牛に出生後まもなく下痢症の発生がみられた。この原因を明らかにするため、糞便中の有機酸を測定したところ、腸管内で乳酸産生量が増加していた。その結果、強酸性環境下の腸管内では浸透圧性下痢が誘発されものと推察された。

報告を終わるにあたり、糞便のウイルス検査、大腸菌エンテロトキシン検査、培養検査にご協力いただいた岐阜大学応用生物学部獣医学講座人獣共通感染症学研究室・杉山誠教授並びに研究室の諸先生方に深謝いたします。

## 引用文献

- 1) 矢澤彬, 扇元敬司: 子豚の下痢症: 糞便の微生物叢および乳酸量とVFA量の検索, 畜産の研究, 58, 675-683(2004)
- 2) Velazquez OC, Seto RW, Rombeau JL: The scientific rationale and clinical application of short-chain fatty acids and medium-chain triacylglycerols, Proc Nutr Soc, 55, 49-78(1996)
- 3) 岡田啓司, 菊地薫, 三浦潔ら: 黒毛和種子牛の白痢とアルコール不安定母乳の関係, 日獣会誌, 50, 74-79(1997)
- 4) 岡田啓司, 田高恵, 佐藤忠弘ら: 黒毛和種繁殖母牛の栄養状態と子牛白痢の発生, 日獣会誌, 50, 209-213(1997)
- 5) 岡田啓司, 深谷敦子, 志賀龍郎ら: 黒毛和種母牛の飼料変更による乳成分の変化と子牛の白痢, 日獣会誌, 56, 311-315(2003)
- 6) 佐藤博, 黒澤隆, 及川伸: 乳用子牛の糞中アンモニア, 尿素および有機酸と下痢との関係, 日獣会誌, 56, 517-521(2009)
- 7) Sato H: Increased fecal lactate and decreased Volatile Fatty Acid (VFA), particularly n-butyrate concentrations in diarrheic young calves, J Vet Med Sci, 71, 117-119(2009)
- 8) Larson LL, Owen FG, Albright JL, *et al*: Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data, J Dairy Sci, 60, 989-991(1977)
- 9) Hino T, Shimada K, Maruyama T: Substrate preference in a strain of *Megasphaera elsdenii* a ruminal bacterium and its implications in propionate production and growth competition, Appl Environ Microbiol, 60, 1827-1831(1994)
- 10) 今津佳夫, 鈴木重雄, 土屋久司ら: 黒毛和種哺乳子牛の乳糖不耐症の疫学, 家畜診療, 45(5), 303-307(1998)
- 11) 小岩政照, 安藤貴朗, 鹿取多恵子ら: 子牛のルミナードリンカー, 臨床獣医, 28(2), 44-48(2010)
- 12) Tsukahara T, Ushida K: Organic acid profiles in feces of pigs with pathogenic or non-pathogenic diarrhea, J Vet Med Sci, 63, 1351-1354(2001)
- 13) Ireland-Perry RL, Stallings CC: Fecal consistency as related to dietary composition in lactating Holstein cows, J Dairy Sci, 76, 1074-1082(2000)
- 14) Shimomura Y, Sato H: Fecal D- and L-lactate, succinate and volatile fatty acid levels in young dairy calves, J Vet Med Sci, 68, 973-977(2006)