

原著論文

黒毛和種新生子牛における糞便中有機酸濃度の影響

芝野健一¹⁾ 三輪岳宏²⁾

1) 兵庫県農業共済組合連合会 阪神基幹家畜診療所
(〒651-2274 神戸市西区狩場台 3-9-18)

2) Meiji Seika ファルマ(株)
(〒104-8002 東京都中央区京橋 2-4-16)

連絡担当者：芝野健一

TEL 078-991-4531 FAX 078-991-9352 e-mail hansin@nosai-hyogo.or.jp

[要約]

自然哺乳飼養下の黒毛和種新生子牛に発生した下痢の原因を明らかにするため、便性状と便中有機酸濃度を調査した。50頭から採取した便性状は、60.0% (150/250) が黄白色を呈し、性状別の便 pH は、正常便 6.57 ± 0.61 (n=74)、軟便 6.61 ± 0.55 (n=45)、水様便 6.25 ± 0.66 (n=31) となり、下痢便になるに従って pH が低下していた。正常便を排する子牛 5 頭(正常群)と下痢便を排する子牛 5 頭(下痢群)の便中有機酸濃度は、10～14 日齢の下痢群は 63.79 ± 30.51 ($\mu\text{mol/g}$) で、正常群の 0.56 ± 1.12 (同) に比べ有意に高く、下痢群の pH は 5.44 ± 0.16 に対し、正常群は 6.18 ± 0.28 と有意に低かった。以上より、自然哺乳子牛の黒毛和種新生下痢の原因は、便中乳酸濃度の増加とそれに伴う pH 低下が一因と考えられた。

キーワード：下痢、便中有機酸、黒毛和種子牛

[緒論]

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すため、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症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 [11, 12]。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代謝や腓外分泌能の異常、胆汁分泌量の減退、母乳の品質変化、母牛飼料の盗食等多岐にわたるため、原因が特定で

きないものが多い [4-6]。

近年、佐藤ら [7, 8] は乳用子牛を対象とした人工哺乳下の下痢が便中有機酸濃度に起因すると報告しているが、黒毛和種の自然哺乳における子牛の便中有機酸濃度に関する報告は見あたらない。

本調査は、母子同居による自然哺乳子牛で飼養頭数規模とは無関係で、季節性がなく年間を通じて日常的に発生する子牛下痢の原因を明らかにするため、黒毛和種新生子牛の便中有機酸濃度および便 pH が便性状に及ぼす影響を調査した。

[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 100 頭飼

受付：2011 年 12 月 10 日
受理：2012 年 1 月 22 日

養する農場で当地域では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か月より配合飼料を漸次3kgまで増量する増し飼いを方法を実施している。また分娩予定1か月の母牛には、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、出生子牛の下痢対策に努めている。

供試子牛は、感染性下痢子牛を調査から除外するため、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では、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.*の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ヨ糖浮遊法、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。また供試子牛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[3]の方法に準じて形状や色調を分類した。便pHは佐藤らの方法[7]を参考にpHメーター（Twin pH；(株)堀場製作所）を用いて採便後30分以内に測定した。

便中有機酸濃度測定では、生後15～19日齢の採取便を用いて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頭を用いた。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、直腸便を採取し、Hinoらの方法[1]で高速液体クロマトグラフィーを用いて便中有機酸濃度を測定した。

統計処理では測定値の比較は、Mann-WhitneyのU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。便色調は黄白色便が250検体中150検体、茶褐色便は250検体中85検体、緑色便は250検体中15検体であった。黄白色の水様性下痢便は150検体中31検体と最も多かった。便のpHは水様性下痢便 6.25 ± 0.66 で、正常便 6.57 ± 0.61 、泥軟便 6.61 ± 0.55 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（Table 1）。

便中有機酸濃度は、10～14日齢の正常群の乳酸濃度は 0.56 ± 1.12 （ $\mu\text{mol/g}$ ）に対し、下痢群は 63.79 ± 30.51 （同）と下痢群で有意に高かった（ $p < 0.05$ ）。*n*-酪酸濃度は正常群 18.81 ± 9.91 （同）に対し、下痢群は 5.53 ± 2.38 （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。便pHは、10～14日齢の正常群は 6.18 ± 0.28 に対し、乳酸濃度が高

Table 1 Comparison of fecal pH and color of neonatal calves

Fluidity	Color of fecal samples		
	Brown	Green	Yellowish-white
Normal (n=140)	6.68 ± 0.75 (n=62)	6.78 ± 0.62 (n=4)	6.57 ± 0.61 (n=74)
Soft and runny (n=72)	6.56 ± 0.71 (n=21)	6.43 ± 0.80 (n=6)	6.61 ± 0.55 (n=45)
Watery (n=38)	7.3 ± 0.20 (n=2)	6.88 ± 0.43 (n=5)	6.25 ± 0.66 (n=31)

Mean ± S.D. *: $P < 0.05$

Table 2 Comparison of organic acid concentration and pH between in diarrhea feces and neutral feces of the neonatal calves

Age in days	Group	n	succinate	lactic-acid	acetate	propionate	n-butyrate	pH
			(μ mol/g)	(μ mol/g)	(μ mol/g)	(μ mol/g)	(μ mol/g)	
3 ~ 4 (days)	diarrheic	5	10.82 \pm 10.55	1.57 \pm 3.14	27.96 \pm 7.09	5.54 \pm 4.31	16.09 \pm 8.50	5.90 \pm 0.33
	neutral	5	1.73 \pm 2.49	0.00 \pm 0.00	36.19 \pm 11.89	9.29 \pm 2.18	9.29 \pm 2.18	5.96 \pm 0.21
5 ~ 9 (days)	diarrheic	5	2.66 \pm 3.71	5.73 \pm 5.76	37.53 \pm 14.25	14.18 \pm 5.34	18.93 \pm 10.04	6.12 \pm 0.43
	neutral	5	0.00 \pm 0.00	0.54 \pm 1.08	44.60 \pm 10.92	22.59 \pm 5.72	22.49 \pm 7.35	5.86 \pm 0.35
10 ~ 14 (days)	diarrheic	5	4.29 \pm 4.56	63.79 \pm 30.51	27.71 \pm 16.39	16.61 \pm 8.54	5.53 \pm 2.38	5.44 \pm 0.16
	neutral	5	0.00 \pm 0.00	0.56 \pm 1.12	46.23 \pm 11.71	26.41 \pm 2.54	18.81 \pm 9.91	6.18 \pm 0.28
15 ~ 19 (days)	diarrheic	5	1.38 \pm 1.80	25.18 \pm 30.91	38.79 \pm 23.65	20.16 \pm 8.50	12.86 \pm 3.58	6.20 \pm 0.54
	neutral	5	0.00 \pm 0.00	0.62 \pm 1.24	42.00 \pm 16.77	24.91 \pm 10.29	16.25 \pm 5.23	7.16 \pm 0.29
20 ~ 30 (days)	diarrheic	5	0.00 \pm 0.00	1.04 \pm 2.08	51.62 \pm 17.87	23.58 \pm 6.23	14.66 \pm 5.40	7.32 \pm 0.24
	neutral	5	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	57.74 \pm 7.60	27.06 \pm 10.68	18.60 \pm 10.58	7.14 \pm 0.17

Mean \pm S.D. *: P < 0.05

かった下痢群は 5.44 ± 0.16 と有意に低かった (P < 0.05) (Table 2)。

[考 察]

本調査の下痢は生後 1 か月以内に発生したが、その原因は特定できないものである。新生子牛下痢の発生は、季節性は無く年間を通じて発生する。また、発生時期が集中するような集団的な発生ではないため、その原因が明らかにされていないのが現状である。母乳の品質が影響したとする報告では [4-6]、消化管における消化不良が関与している。ヒトの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。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発生すること、軽度例が多いことから、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 [8]。また下痢発生時期は子牛の哺乳が旺盛な時期と一致し、この便色調は黄白色で母乳のみを摂取した証拠と思われた。その後、

人工乳等の摂取開始に伴って便色調は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色下痢便であった。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が誘発されたと思われた。塚原ら [10] 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 [2] 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 [9] 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 [7] 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ている。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た。便中有機酸は腸管の保全や機能の持続に必要である [8]。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。

以上より、自然哺乳子牛の出生 2 週齢前後に発生する下痢症の原因として、腸管内で乳酸産生量が増加することによる浸透圧性下痢の発生が示唆され、同時に糞便中 pH の低下が観察されることが明らかとなった。

[引用文献]

1. Hino T, Shimada K, Maruyama T. 1994. 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.
2. Ireland-Perry RL, Stallings CC. 2001. Fecal consistency as related to dietary composition in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 76. 1074-1082.
3. Larson LL, Owen FG, Albright JL, Appleman RD, Lamb RC and Muller LD. 1977. Guidelines Toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. *J. Dairy Sci.* 60. 989-991.
4. 岡田啓司, 菊地 薫, 三浦 潔, 佐藤利博, 森田 靖, 田高 恵, 荻野朋子, 金田義宏. 1997. 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.
5. 岡田啓司, 田高 恵, 佐藤忠弘, 村田 修, 伊藤 真, 渡辺一雅, 下山茂樹, 佐々木重荘, 金田義宏. 1997. 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.
6. 岡田啓司, 深谷敦子, 志賀龍郎, 平田統一, 竹内 啓, 内藤善久. 2003. 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.
7. 佐藤 博, 黒澤 隆, 及川 伸. 2009. 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.
8. Sato H. 2009. Increased fecal lactate and decreased Volatile Fatty Acid (VFA), particularly *n*-butyrate concentrations in diarrheic young calves. *J. Vet. Med. Sci.* 71. 117-119.
9. Shimomura Y, Sato H. 2006. Fecal D- and L-lactate, succinate and volatile fatty acid levels in young dairy calves. *J. Vet. Med. Sci.* 68. 973-977.
10. Tsukahara T, Ushida K. 2001. Organic acid profiles in feces of pigs with pathogenic or non-pathogenic diarrhea. *J. Vet. Med. Sci.* 63. 1351-1354.
11. 矢澤 彬, 扇元敬司. 2004. 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.
12. Velazquez OC, Seto RW, Rombeau JL. 1996. The scientific rationale and clinical application of short-chain fatty acids and medium-chain triacylglycerols. *Proc. Nutr. Soc.* 55. 49-78.

The effect of fecal organic acid concentration in Japanese black calves

Kenichi Shibano¹⁾ and Takehiro Miwa²⁾

1) Hanshin Central Veterinary Clinic Hyogo Prefecture Federation of Agricultural Mutual Aid Association
(3-9-18, Karibadai nishi-ku Kobe, 651-2272)

2) Meiji Seika Pharma Ltd. (2-4-16, Kyobashi, Chuo-ku, Tokyo, 104-8002)

Correspondence to KENICHI SHIBANO
TEL 078-991-4531 FAX 078-991-9352 E-mail: hansin@nosai-hyogo.or.jp

[Abstract]

In this study, examined the association of fecal organic acid concentrations and diarrhea in Japanese Black calves neonates fed with dam's milk. sixty percent (150/250) of fecal samples obtained from 50 calves was yellowish-white. In these samples there were significant differences in pH among samples (watery diarrhea, soft and runny, normal; 6.25 ± 0.66 , 6.61 ± 0.55 , 6.57 ± 0.61 , respectively). Organic acid

concentrations examined for 10 calves (diarrhea and control group, 5 for each) showed significantly higher lactic-acid (63.79 ± 30.51 vs. 0.56 ± 1.12 mol/g, respectively) and lower pH (5.44 ± 0.16 vs. 6.18 ± 0.28) in 10 days to 14 days old samples.

Results suggested that an increase in lactate and lower pH caused diarrhea in Japanese Black calves fed with dam's milk.

Key words: diarrhea, fecal organic acid, Japanese Black calf