



畜産技術ひょうご

第 47 号

目 次

核移植技術を用いたクローン牛生産……………	2
〔衛生情報〕 ヨーネ病の病性と県内における発生事例……………	4
〔技術情報〕 「丹波篠山牛」肥育経営改善の取り組み……………	7
〔家畜診療所だより〕 プロピレングリゴール経口投与による ケトージス予防効果……………	9
〔食肉衛生検査センターだより〕 臨床生化学検査機器の機種による ビリルビン値の比較……………	11
〔畜産技術最前線〕 超音波ガイドを用いた 生体内からの牛卵胞卵子の採取法……………	13



交流センター“まきばの宿”
〔写真提供:兵庫県立但馬牧場公園〕

巻 頭 言

動物とのふれあい

「ウワー、カワイイ眼をしている」「少しコワイナー」「ウンチがついていて汚い」……小学校5年生の自然学校、但馬牛の飼育体験の一場面。ここ美方郡温泉町「県立但馬牧場公園」は、緑豊かな山岳地帯に県民が自然や動物とふれあえる牧場公園として開園した。

今年5年目を迎え、県内はもとより鳥取県、京都府等近隣の人々に親しまれ、日曜日や休日には家族連れが多い。この公園は、普段身近に見ることができない但馬牛をはじめ、山羊、ひつじ、にわとり、うさぎなどを飼育し、訪れた人達が直接動物にふれあうことができる場所である。子どもたちが柵に近づくと山羊やひつじが寄ってくる。青草を口元に近づけると警戒もしないで食べる。子どもたちも楽しくなって同じことを繰り返す。命の躍動に直接ふれてみて、生きていることを、命の大切さを体験できる。まさに何よりの情操教育であろう。子どもたちだけではなく、熟年者も、忘れていた日本のふるさとをこの公園で見つけることができる。山々の緑もまた心のふるさと。

当園も、より魅力のある場になれば職員一丸となって取り組んでいる。本年度はワラビー牧場とひつじの放牧場を新設した。より多くの家族に来園していただき、これら動物と直接ふれあうことにより、21世紀を担う子どもたちの心が成長していくよう期待してやまない。

(E.H)

核移植技術を用いたクローン牛生産

はじめに

平成9年2月27日号の「Nature」に報告された体細胞クローン羊ドーリーは、その後の新聞で発表されたサルスの1卵性双子と重ねられ、ヒトでクローン人間が誕生する等と報道され、世界中でショッキングな出来事となった。クローン技術については各国で冷静な議論が行われ、ヨーロッパやアメリカではヒトへの応用は行わないことが確認され、我国でも、文部省の学会議や総理大臣を議長とする科学技術会議はヒトへの応用には研究助成をしない方針を出し、平成9年7月28日に出された「ライフサイエンスに関する研究開発基本計画について」に対する科学技術会議の答申では、クローン技術をヒトへ応用する研究に対して予算化しないし、研究も実施しない。また、畜産動物、医用実験用動物、絶滅直前の希少動物には適宜利用するが、その際は情報公開を進めるということになっている。

1. 受精卵クローン

動物のクローンは同一の遺伝情報を有した個体と定義されている。一卵性双子もクローンと呼べないことはないが、一般には受精過程を経ないという条件が定義に加味されている。

羊ドーリーや牛ジーンのような体細胞を用いて作り出された動物個体を体細胞クローンと呼び、受精卵の分割割球を用いて作り出された動物個体を受精卵クローンと呼んでいる。現在、我国で生産されているクローン牛は32～64細胞期の受精卵の割球を用いた受精卵クローンであり、平成9年9月に全農は発生より進んだステージまで受精卵を培養し、増殖した細胞を用いて牛を作出することに成功しているが、この場合にも将来子供になる細胞を用いたということで受精卵クローンと呼ばれている。

2. 我国のクローン牛生産状況

我国におけるクローン牛の最初の生産は平成2年2月に農水省畜産試験場や千葉県畜産試験場のグループによる核移植産子の誕生であり、やや遅れて全農が成功したが、どちらも1頭であった。平成5年に東京農大、協同飼料や栃木県酪農試験場のグループが兄弟牛を生産した。その後、近大や奈良県のグループも子牛生産に成功し、全農では3つ子や5つ子のクローン牛を何組も作ることに成功している。平成8年6月の調査で155頭であったクローン牛が、平成9年10月の調査で306頭になり、この1年に都道府県の試験場や民間機関で生産頭数が急激に増加した。これは長年に亘る研究によって、クローン牛生産技術が改良され、再構築胚（ドナー割球とレシピエント細胞質を電気的に融合させた胚）を胚細胞期へ高率に発生させる技術が確立されつつあることを示している。

3. 核移植によるクローン牛の作出方法

レシピエント細胞質を得るために、体外受精と同じように2～5mmの大きさの卵胞から取り出し、卵丘細胞に包まれた未受精卵を5%濃度に調整した炭酸ガス培養器内で22～24時間培養して成熟させる。卵丘細胞が膨化した卵子にヒアルロニダーゼを処理して卵丘細胞を除去し、裸になった卵子を得る。卵丘細胞を除去した卵子では成熟の指標となる第1極体の確認が可能になるため、極体を持つ卵子のみを選別する。卵子の極体の近くには核があるため、細胞の骨組みを一時的に壊すサイトカラシンで処理し、あらかじめガラス刃でつけた透明帯の切り口を加圧することによって、極体とその近くの細胞質を3分の1程度取り除き、除核操作を行う。次に、Caイオノフォアという薬品で卵子を活性化し、蛋白合成阻害剤のシクロヘキシミドを含む

培養液で培養する。

電気融合の2時間前からドナー割球を作るために、32～64細胞期胚の透明体を切断して割球を取り出し、ピペティングして割球を1個ずつ分離する。外径15～30μmのガラス管でドナー割球を1個ずつ吸い取り、外径140μmの固定ピペットで保定したレシピエント細胞質内に割球を注入する。

核移植操作は顕微鏡下で、約200倍の高倍率に拡大

して行う。この操作を容易にするために、顕微鏡下でも動きが小さく低速の作業ができるマイクロマニピュレーターと呼ばれる人工の手を用いる。

活性化6時間後に、ドナー割球を導入した卵子に約0.75KV/cmの直流電流をかけて、ドナー割球とレシピエント細胞質とを融合させて再構築胚を作製する。再構築胚は約7日間、胚盤胞期まで体外で発育させた後、受胎牛へ移植する(図)。

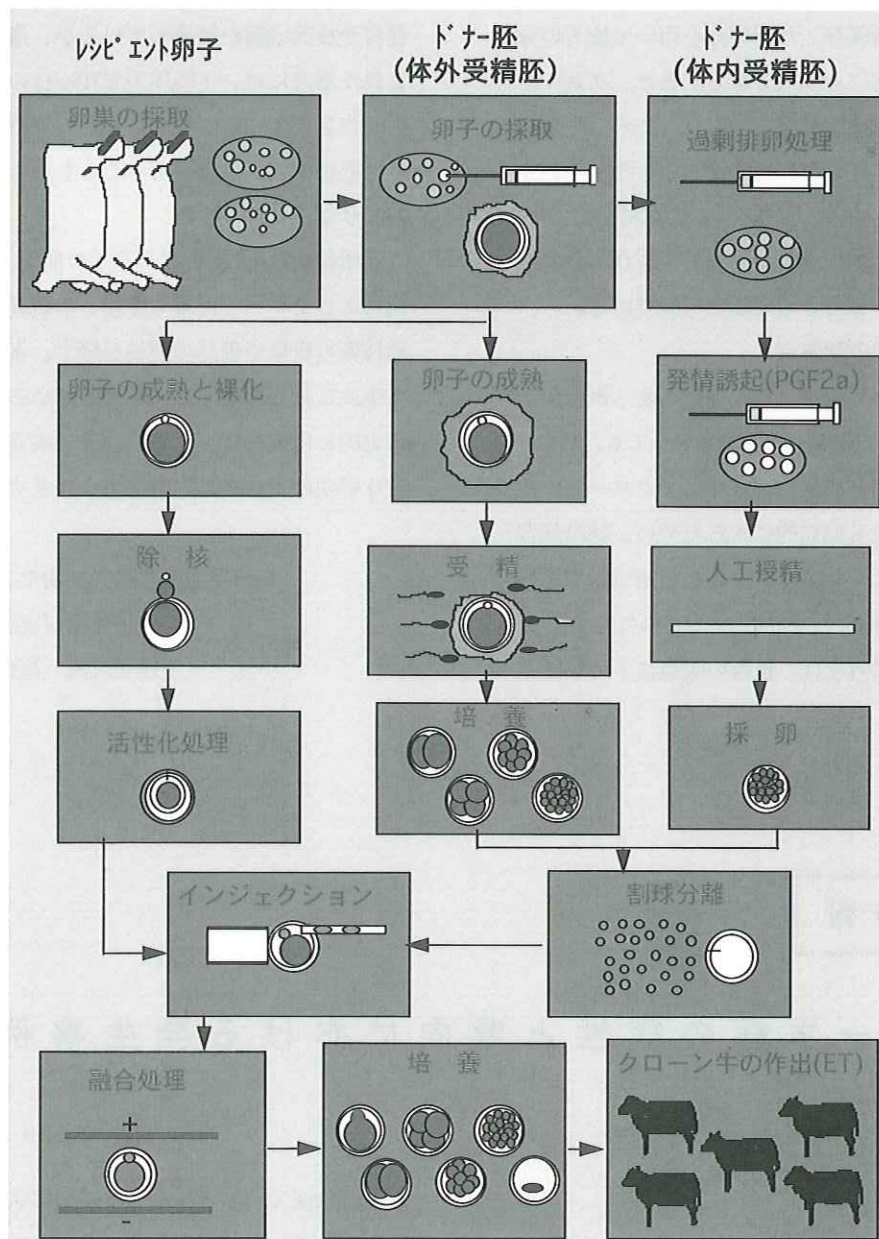


図 核移植によるクローン牛生産

4. クローン牛の利用

クローン牛生産の目的は遺伝形質が同じであるため、能力がそろった個体を多数生産することである。畜産では「よい牛をたくさん増やす」ことが重要であるため、この目的を実現させる有力な手段となる。

核移植技術を確立し、効率よくクローン牛の生産ができるようになれば、能力が判明し、性別もわかった、疾病のない優良牛の再構築胚を効率よく作製することができる。これにより、優良雌牛を確保することは言うまでもなく、凍結保存した受精卵を用いて能力の分かった優良牛の生産にも利用できる。また、クローン検定によって現在の検定精度を維持しながら、短期間に能力の分かった種雄牛を作出することも可能になる。

さらに将来、ドーリーやジーンのような体細胞クローン技術を用いれば、現在活躍中の種雄牛を含めた名牛を一度に多数生産することも理論上可能である。

5. クローン牛生産の問題点

クローン牛生産の利用方はいくつも考えられるが、現実には受精卵を用いた核移植技術においても、クローン牛の作出効率は非常に低い。さらに、クローン牛生産を効率的に、しかも簡易的にするために、凍結保存胚の核の利用が考えられるが、現在の技術では凍結胚を利用すると、再構築胚の作出効率がさらに低くなる。そのため、こしばらくは、技術の改良に十分な時間

をかける必要がある。また、体細胞クローンについては、今後5年くらいは世界のトップクラスの研究所で技術の改良が行われると思われ、実用化にはさらに多くの年数を要する。

クローンといわれる牛は遺伝的に同じでも、それらの経済形質が全く同じであるかは証明されていない。さらに、細胞質のDNAがどれくらい遺伝的に影響するかも不明である。胚の切断によって作出された一卵性双子では、同一母牛から誕生した場合には生時体重、発育や枝肉成績が類似しているが、違った母牛から生まれた場合には、生時体重で10kg位の差があったことも報告されている。しかし、この場合でもその後の発育は肥育中期から類似することも示されている。

おわりに

兵庫県では平成9年度から国の補助を受けて「核移植によるクローン但馬牛生産」の研究に着手し、核移植技術の研修や備品の整備を経て、本格的にクローン牛生産に取り組むために準備を進めている。これから精力的に研究して、核移植技術の確立、さらにできる限り早期のクローン牛の作出を目指す。

兵庫県立中央農業技術センター

生物学研究所

主任研究員 富永 敬一郎

衛生情報

ヨ－ネ病の病性と県内における発生事例

はじめに

ヨ－ネ病はパラ結核菌（*Mycobacterium avium* s ubsp. paratuberculosis）に起因する反芻動物の慢性

腸管感染症で、家畜伝染病予防法により法定伝染病に指定されている。世界各地で発生があり我国でも増加傾向にある。本県でも平成9年度に2戸2頭の発生があっ

あった。主に幼齢期に感染するが、潜伏期が3～5年程度と長いので摘発が困難で、家畜防疫上重要な疾病の一つである。

1. 原因菌

原因菌は $0.5 \times 1.0 \sim 2.0 \mu\text{m}$ の大きさの桿菌で、おなじMycobacterium属のM.bovis（牛型結核菌）等と同様に強い抗酸菌染色性がある。この菌の特徴は鉄獲得能力が他の細菌に比べて弱く、培養に鉄イオンキレート剤であるマイコバクチンの添加を要することである。その他の性質はM.avium（鳥型結核菌）と似ており、抗原構造もきわめて類似している。宿主域は反芻動物である。抵抗性は結核菌よりもさらに強く、環境中に数か月から数年間生存する。加熱処理では 65°C 5分間で完全に死滅する。消毒剤はフェノール剤、塩素剤等が有効である。またこの菌は発酵処理には弱く、堆肥や長期間貯留したふん尿中では大部分が死滅する。

2. 発生・疫学

我国では1980年代前半までは輸入牛を中心に散発的発生であったが、その後北海道を中心に増加傾向にある。平成8年には298頭の発生があった。乳牛より和牛の方が感染率が高い。これは主に子牛の哺育形式の差によるものと考えられている。感染は主に6か月齢以下の幼獣に限られ、感染経路は胎盤感染、乳汁やふんからの経口感染である。和牛は哺育期に母牛との接触期間が長いので、感染が起こりやすいと考えられる。

発症牛のふん便1グラム中には 10^4 から 10^8 個と大量の病原菌が含まれており、重要な感染源である。このような大量の菌を持続的に経口摂取した場合、成牛でも感染が起こり得る。しかし成牛が感染した場合は発症する確立は極めて低い。

感染成立後、初期には菌は子牛体内で増殖するが、その後菌の増殖は抑制される。発症期もしくは潜伏期後期になると菌は再び増殖を始める。これにあわせて子牛の時期にはヨーニン抗体が産生されるが、菌の抑制期には抗体産生は抑制され、発症期にはELISA抗体、CF抗体が産生される。

3. 感染のメカニズム

経口的に取り込まれたヨーネ菌は、回腸のドーム部

より受動的に上皮内に取り込まれ、マクロファージに捕捉される。マクロファージはリソゾーム酸素等でヨーネ菌の消化を図ろうとするが、ヨーネ菌の細胞壁中の脂質や電子透明帯がこれを阻害する。また細菌感染症の場合、生体防御作用の影響で鉄がマクロファージ内に取り込まれる。この鉄はヨーネ菌の増殖に必要な要素である。

このようにヨーネ菌はマクロファージの中に長期間寄生し、鉄などの条件が整えば急激に増殖する。

4. 症 状

一般的に分娩などのストレスが引き金になって発症する。食欲不振、1～2週間隔の間欠的下痢を繰り返し、次第に便は泥状になり血液が混ざりようになる。抗生物質、輸液、整腸剤などによる治療では根治せず、次第に症状が悪化するのが特徴である。発症牛の腸から血漿タンパク質が漏出する他、筋肉のタンパク質合成も阻害され著しく消瘦し、とくに臀部の消瘦は顕著である。一般に発症後数か月で死に至る。

また無症状個体においても乳量や増体量の減少、受胎成績の低下など悪影響が見られる。

5. 診 断

分娩後に周期性の難治性下痢をみた場合、特にその牛が本病多発地域から導入されたものである場合は、本病を疑うべきである。

(1) 免疫学的診断法

ヨーニン反応、CF反応、ELISA反応がある。この菌に対する各種抗体の産生は時期的な消長があり、感染ステージによっては反応しないことがある。

(2) 病理学的診断

発症牛の腸壁は正常牛の数倍にも肥厚する。また粘膜面はわらじ様に皺壁が形成される。好発部位は空腸中部から回盲移行部である。無症状期ではほとんど異常所見はない。

(3) その他の検査法

ふん便の塗抹検査法、培養法、PCR法などがある。

6. 本県における発生事例

次に平成9年度に本県で発生した二つの事例の概要を紹介する。

(1) 事例 1

- ア 発生年月日
平成9年7月31日
- イ 飼養形態
搾乳牛約50頭
- ウ 発生牛の導入先
北海道より平成8年に初妊牛を購入
- エ 症状および経緯
分娩後水様下痢をおこし、約40日間治療を試みたが効果がなく、診療獣医師より家畜保健衛生所に検査依頼があった。
- オ 検査結果および所見
ふん便塗抹検査 陰性
生化学的検査 非選択性蛋白漏出症
免疫学的検査 ELISA反応陽性
病理学的検査 空回腸の粘膜面肥厚、腸管膜リンパ節のスタンプ標本で菌腸性

(2) 事例 2

- ア 発生年月日
平成9年10月3日
- イ 飼養形態
搾乳牛約30頭
- ウ 発生牛の導入先
北海道より平成8年に初妊牛を購入
- エ 症状および経緯
妊娠末期の牛が間歇的に下痢をおこしており、畜主より検査の依頼があった。
- オ 検査結果および所見
ふん便塗抹検査 陰性
免疫学的検査 ELISA反応陽性
病理学的検査 空回腸の粘膜面肥厚、腸管膜リンパ節のスタンプ標本で菌腸性

7. 防疫措置

この病気は発生地域がほぼ限局されているので、発生地域からの牛の導入に注意をすることが大切である。家畜保健衛生所では県外導入牛については全頭ELISA

反応による検査を実施している。しかし先に述べたように感染ステージによっては無反応になる可能性もあるので、完全な防疫は困難である。検査後も難治性の下痢を起こした場合は注意が必要である。特に自家育成を中心としている農家では、本病が侵入すると次々と子牛が感染し、数年後には牛群全体に本病がまん延する可能性がある。またフリーストール様の飼養形態では、牛が大量のふんを経口摂取する可能性があり注意が必要である。

この病気の発症率は数パーセントから一割程度であり、相当数の感染牛が無反応のまま検査をすり抜けている可能性もある。今後はさらに検査体制を充実させ、本病の侵入防止に努めていきたい。

姫路家畜保健衛生所 防疫課

課長補佐 北野 和博

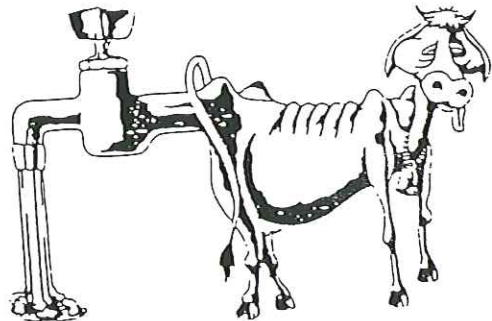
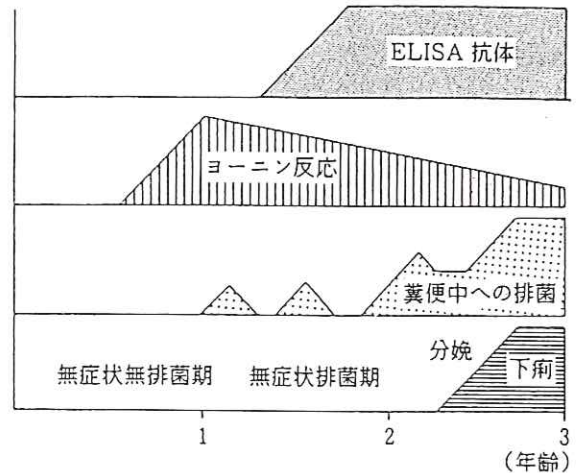


図 ヨーネ菌感染牛の免疫応答、排菌態度、臨床症状の推移 (横溝原図)

技術情報

「丹波篠山牛」肥育経営改善の取り組み

はじめに

多紀郡は県内の和牛肥育産地の中でも古くからの産地の1つで、県内外の共進会、枝肉共励会等では常に上位入賞していたが、ここ数年は共進会、共励会等で名前が出るのが少なくなるなど多くの面で課題を抱えている。

1. 和牛肥育経営の問題点

多紀郡肉牛研究会(事務局、篠山農業改良普及センター)は、昭和44年に発足し、現在会員は9戸、14人で活動を行っている。主な活動は畜産経営実績発表会の開催で、今年度で27回目となる。

発表会では、各農家が導入、出荷成績と経営収支を集計分析し、優秀農家の事例発表等を行っている。その成績を分析してみると、一頭当たり販売金額の低下による収入の減少がある。原因としては枝肉相場の低迷もあるが、かつては郡内の生体市場への出荷等生体出荷が4~5割占めていたが、最近急速に減少し枝肉出荷が8割以上になっているため、枝肉重量、格付けなど枝肉成績の良否が販売額に大きく影響するようになった来ている。費用については素牛相場による影響が一番大きいですが、購入粗飼料の増加による飼料費や支払利



写真1 畜産経営実績発表会

息などが増加傾向にある。

2. 肥育技術改善の取り組み

(1) 庭先情報交換会の開催

肥育技術は個人差が大きく、また後継者への経営移譲がうまく行かない等の問題があり、地域での肥育技術のレベルアップが必要である。

経営実績発表会では、優良農家の発表を行っているが、結果の発表や検討だけに終わり、なぜその結果になったのか、経過や実際の管理等がよく分からず、個々の飼育管理にはあまり活かしていない。また肉牛肥育農家も年を重ねると共に何かと忙しくなり、他の農家が実際にどのような飼育をやっているのか、お互いの牛舎を見るような機会が減少をしていた。

そこで多紀郡肉牛研究会の新しい活動として「庭先情報交換会」と称し、会員の牛舎に順番に出向き、牛を実際に見ながら意見交換をする形式の研修会を開催している。後継者にも参加してもらい会員全員の技術向上を目指している。

(2) 飼料試験の実施

肥育技術にはまだ不明な点も多く、それが肥育成績の不安定な原因にもなっている。

以前から農家と関係機関が一体になり肥育技術解明のために肥育状況調査を進めてきたが、さらに丹波篠山肉のブランド化を進めるために、篠山町農協肉牛部会では指定配合飼料の「ササヤマビーフ89」の給与試験を行った。

参加農家7戸を3グループに分け、グループ毎に「ササヤマビーフ89」の給与量、給与方法などを検討して飼育設計し、その設計に沿って給与を行った。

飼育設計の概要は以下のとおり、

Aグループ：全期間ササヤマビーフ、ふすま、トウモロコシを基礎に発育に合わせ大麦を増やす設計。

Bグループ：前期には他の配合飼料を給与し、後期にササヤマビーフを給与する設計。

Cグループ：ササヤマビーフは全期間定率給与、大麦を徐々に増やし、トウモロコシ、ふすま等を減らす設計。

他の農家と同じ内容で飼料給与するのは初めての試みであったが、情報交換を常に行い、体重測定などもグループごとに協力して行った。また飼料給与内容、給与量等は毎日細かく記録した。

表1 試験の結果

グループ	A	B	C
頭数(頭)	15	8	8
肥育日数(日)	717	683	717
出荷体重(kg)	569.8	629.7	551.4
DG(kg/日)	0.520	0.541	0.468
枝肉重量(kg)	344.7	381.3	334.4

試験の結果は表1のとおりで、飼料と牛の発育、疾病等障害の発生などの関係や飼料の嗜好性などの問題が明らかになった。特に肥育初期において増体に違いが見られたのは飼料の影響と考えられる。

A,Cグループでは肥育初期のDGが一度0.0kg近くまで低下し、その後0.8kg程度まで回復するという状況であったのに対し、BグループはDGの低下が少なく0.5kgにとどまった。

「ササヤマビーフ89」にはビタミン添加がされておらず、前期から「ササヤマビーフ89」を給与したA,Cグループでは、早期からビタミン欠乏の兆候が見られた農家があった。早い所では肥育開始から3か月、遅い所でも6か月頃にはビタミン剤の投与を行わなければならなかった。

前期にはビタミンを含む配合飼料を給与したBグループでは、後期飼料に切り替え後の9か月頃からビタミ

ン剤の投与が行われた。

また「ササヤマビーフ89」の嗜好性の悪さも給与を行うなかで農家から指摘があった。

これらの結果を基に「ササヤマビーフ89」へのビタミン添加等の配合内容の改善、給与方法の基準作りなどを行った。

現在でも改善された「ササヤマビーフ89」について、さらに的確な給与法確立に向けて調査を続けている。



写真2 飼料試験牛の枝肉調査

3. 経営の改善への取り組み

当地域の肥育経営の発展は、預託牛制度によるところが大きく、経営開始から拡大期においては有効な制度だったと言える。しかし経営安定期を迎えるにあたっては、自己資金による素牛導入、金利負担の軽減など経営体質の強化が必要である。

しかし自己牛の増頭を一度に行うには多額の資金が必要である。そこで償還等に無理のない程度で低利な制度資金等を活用した、段階的な自己牛増頭に現在3戸の農家が取り組んでいる。

まとめ

表2に示したとおり平成8年は、平成7年に比べて枝肉重量は向上傾向にある。従来からの肥育技術を反省し、研究会として取り組んできた成果が見えかけてきた。幸い平成9年度から、兵庫県産和牛肥育研究会においても、約20名の会員が現在の飼料給与内容と発育状況および枝肉成績等の実態調査を実施しており、肉質や増体と飼料給与方法、衛生管理等との因果関係について検討を始めている。

表 2 枝肉出荷成績

	平成7年	平成8年
枝肉重量 (kg)	359.5	377.2
DG (kg/日)	0.494	0.530

但馬牛の肥育経営では、枝肉成績（格付）をA5に保ち、枝肉重量は400kg以上のものを生産していかなければ採算が合わない。まだ必ずしも満足できる状況には至っていないが、今後も質・量共に向上できる肥育技術の確立と、経営体質の強化に取り組んでいかなければならない。

篠山農業改良普及センター

主任 佐藤 吉昭

家畜診療所だより

プロピレングリコール経口投与による ケトージス予防効果

TMRによる1群管理や長期不受胎牛は、泌乳後期に過肥となりやすく、分娩後に脂質代謝異常を伴う重度のケトージスを発症するものが多い。今回われわれは、過肥で乾乳期に入った乳牛に対し、分娩後にみられるケトージス発症予防を目的に、プロピレングリコール（以下PD）を分娩直後から数日間投与し、その予防効果について若干の知見を得たので、その概要について報告する。

1. 材料および方法

予備試験

PD投与牛は管内のTMR1群管理のA牧場で、1996年6月から9月迄の間に分娩した24頭にPD250mlを朝夕2回、分娩直後から3～5日間経口投与し、比較対照牛は同農場で、1995年11月から1996年5月までに分娩した51頭。1995年11月から1996年9月までのケトージスの発症状況を病傷カルテから調査した。なお、この間に飼料の大幅な変更はなかった。

本試験

調査期間は、1996年10月から1997年1月までとした。供試牛はA農場を含めた4農場で、乾乳後期をBCS

3.75以上の乳牛22頭とした。PDを投与した13頭を投与群、投与しなかった9頭を対照群とした。PDの投与量は、250ml朝夕2回とし、投与期間は分娩直後から分娩4日後までとした。採血時期は分娩予定日4日前から18日前をⅠ期、分娩日から分娩4日後をⅡ期、分娩14日後から27日後をⅢ期とし、給餌後4時間以内に採血した。

2. 成績およびまとめ

予備試験

PD投与以前の1995年11月から1996年5月までの間に分娩した51頭のうち、11頭（21.5%）がケトージスを発症した。しかし、PD投与後の1996年6月から1996年9月までの間に分娩した24頭でケトージスの発症はなかった。

本試験

対照群9頭中5頭（55.6%）にケトージスの発症があったが、投与群13頭には、全く発症がみられなかった。Ⅰ期のT-choとGOTとの関係を図1に表した。対照群において、T-cho100mg/dl以下でGOT40IU/L以下の牛は全頭ケトージスを発症したが、投与群では一頭も

発症しなかった。NEFAの動きを図2に表した。投与群、対照群ともI期に比べII期にNEFAが上昇した。投与群は、II期に高くなったNEFAがIII期には200 μ Eq/l前後に集中したが、発症牛は、すべて900 μ Eq/l以上でIII期も高いまま推移した。このNEFAの動きから分娩直後からのPD投与によりインスリン濃度が上昇し、分娩時に上昇したNEFAが抑えられ、また、体脂肪の動員によるNEFAの上昇が抑えられたと考える。

食品添加物やケトージスの治療薬として知られているPDは、無色透明な粘調性の液体で、わずかな甘みおよび苦味がある。化学式がプロピオン酸とよく似ており、牛に経口投与されるとルーメン内でプロピオン酸に換えられるか、もしくは、そのままの形でルーメン壁より吸収され、肝臓で糖新生されるといわれている。PD投与後にこのブドウ糖とプロピオン酸が、インスリンを上昇させ、このインスリンの同化作用によ

り、血中のNEFAが低下し、また、脂肪組織でのホルモン感受性リパーゼを抑制することで、体脂肪の動員が抑えられるといわれている。今回、PDの投与により血中インスリン濃度を上昇させ、体脂肪の動員と血中のNEFAを低下させることで脂質代謝異常を伴うケトージスの発症予防を目的とした試験を行った。その結果、PD投与牛にはケトージスの発症がなかった。TMRの1群管理や長期不受胎により過肥のまま乾乳した牛に、分娩直後からPDを投与することは、分娩後ケトージス発症を予防するのに有効な一手段であると考えた。

兵庫県農業共済組合連合会

東播基幹家畜診療所

安田 太一

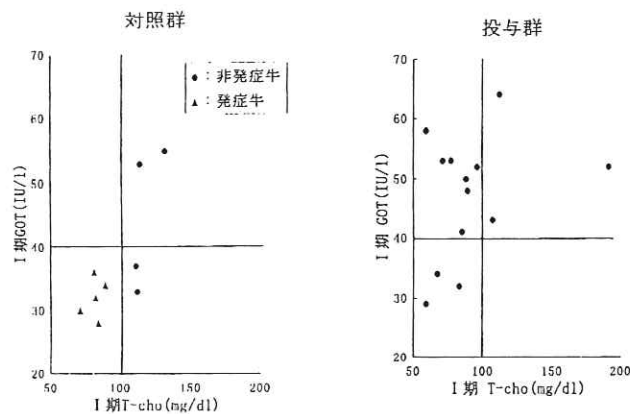


図1 I期のT-choとGOTとの関係

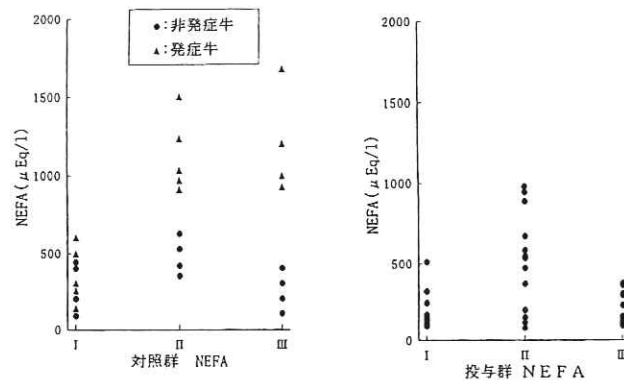


図2 NEFAの動き

食肉衛生検査センターだより

臨床生化学検査機器の機種による ビリルビン値の比較

はじめに

現在、県下の各検査所において、検査レベルの統一を図るために、臨床生化学検査機器の機種毎の測定値の比較調査を行っており、尿毒症の判定指標である血中尿素窒素値（以下BUN値）については、本誌第39号で報告を行った。

今回は黄疸の判定指標である血中ビリルビン値（以下T-Bil値）について、比較調査を行ったのでその概要を報告する。

1. 材料および方法

1) 材 料

平成6年6月～9年8月に県下9食肉センターで黄疸を疑った牛27頭から採取した血液を検体とした。

2) 機 器

- (1) ドライ系・スポットケム（以下スポット）
京都第一科学(株)
- (2) レフロトロン2台（以下レフロ①、レフロ②）
ベーリンガー・マンハイム(株)
- (3) ウェット系・分光光度計 島津(株)

3) 方 法

同一検体の血清を紫外線遮断チューブに分注、冷蔵保存し、各所に分配後、各々の機器で同時期に一齐にT-Bil値を測定し、比較分析を行った。

- (1) 一次調査: 分光光度計、スポット、レフロ①、レフロ②の比較
- (2) 二次調査: スポットとレフロ①、レフロ②の比較及び検体毎に3回の繰り返し測定

2. 成 績

1) 一次調査

分光光度計での測定値を100とした相対値の平均は、図1のとおりであった。

また、分光光度計のT-Bil値を従属変数にし、スポット・レフロ①・レフロ②の各T-Bil値を独立変数として回帰分析を行ったところ、相関係数(r)はほぼ等しく、回帰式の係数はスポットが最も分光光度計に近い値であった(表1)。

表 1 分光光度計と各機種の回帰分析

	n	r	回 帰 式
スポット	9	0.96	$y=1.01x+0.02$
レフロ①	9	0.96	$y=0.77x+0.86$
レフロ②	9	0.97	$y=0.83x+0.42$

y: 分光光度計の予測値 x: 各機種の実測値

2) 二次調査

(1) 分光光度計に近い値を示したスポットの測定値を100とした相対値は、図2のとおりであった。

また、スポットのT-Bil値を従属変数にし、レフロ①・レフロ②の各T-Bil値を独立変数として回帰分析を行ったところ、相関係数(r)、回帰式の係数共に等しかった(表2)。

表 2 スポットとレフロの回帰分析

	n	r	回 帰 式
レフロ①	22	0.97	$y=0.86x+0.35$
レフロ②	22	0.97	$y=0.86x+0.20$

y: スポットの予測値 x: 各機種の実測値

(2) 同一検体を各機器で3回繰り返し測定し、それぞれの測定値の最高値と最低値およびその差、いわゆる測定誤差の平均は表3のとおりであった。

表 3 繰り返し測定によるT-Bil誤差

	(mg/dl)		
	スポット	レフロ①	レフロ②
平 均	0.23	0.14	0.20
分 散	0.06	0.01	0.05
最 小	0.00	0.00	0.00
最 大	0.70	0.30	0.70

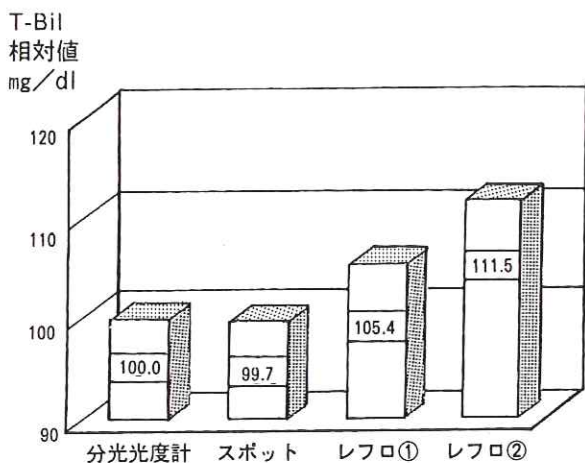


図1 分光光度計と各機種種のT-Bil相対値比較

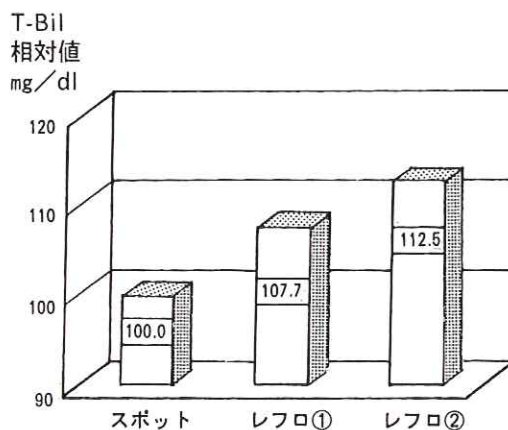


図2 スポットとレフロのT-Bil相対値比較

3. 考察

1) スポット・レフロ共に、測定値は分光光度計に対し相関が高く、特にスポットが非常に低い値を示したのに対し、レフロは一割前後高い値を示した。

2) 繰り返し測定により、レフロの方がスポットより平均誤差が小さいことが確認できた。

レフロ同士の比較では、レフロ①の方が誤差が少なく、数値が安定していた。この理由として、レフロ①が、マニュアルで規定しているよりも、測定部のクリーニング間隔を短縮していたことが考えられ、日常のメンテナンスの重要性が伺われた。

3. と畜検査では、高度の黄疸の判定基準を4mg/dl

としており、今回、スポット・レフロ共に、繰り返し測定での測定誤差が0.7mg/dlの検体があったことから、最初の測定値が3~5mg/dlの検体については、複数回の測定を行い、測定誤差を最小限におさえることが必要である。

スポットでの測定値が4mg/dl未満で、レフロによる測定値が4mg/dl以上の検体が4例あり、また図2のとおり、スポットに比べレフロの方が1割前後高い測定値となることから、レフロの測定値については表2の回帰式を用いて補正し、判定の参考として活用することも必要である(図3、図4)。

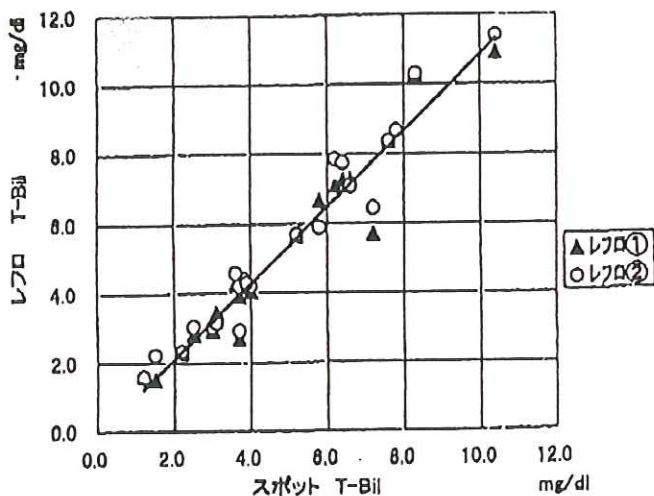


図3 スポットとレフロのT-Bil比較

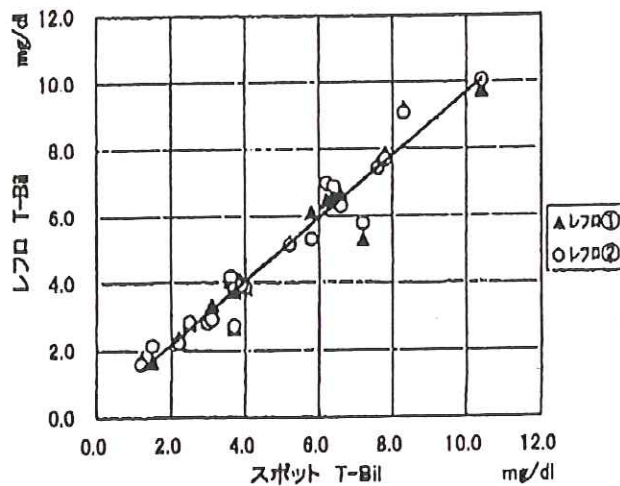


図4 スポットと回帰式で補正したレフロのT-Bil比較

まとめ

BUN値では、スポットケムでの測定値に大きな誤差が見られ、現在は2倍希釈法により測定を実施している。

T-Bil値については、レフロトンでの測定値が他の機種と比べ、1割前後高値であったが、BUN値ほど極端な誤差は見られなかった。従って、レフロトンのT-Bil値については、回帰式により補正をして判定

すれば、問題はないと思われるが、今後はメーカーとも協議を行い、より正確に安定して測定できる方策を検討して行きたい。

兵庫県食肉衛生検査センター

西播磨食肉衛生検査所

課長補佐 田路 幸敏

畜産技術最前線

超音波ガイドを用いた生体内からの 牛卵胞卵子の採取法

近年、牛の生体内から卵胞卵子を採取し、体外受精卵を作出する技術が研究されている。この方法では、生体の卵巣から直接卵胞卵子を反復的に採取ができることから、効率的に体外受精卵を作出することが可能となる。また、この技術が実用化されると、雌側からの遺伝改良速度を速め、選抜の強度、世代交代の短縮を計画的に実施できる。

当センターでは、超音波ガイドを用いて、生体内から効率良く卵胞卵子を吸引する方法を試験課題として取り組んでいる。今回はホルモン剤処理後の卵子吸引採取について、そのホルモン投与量を検討した。

1. 試験内容

ホルモン剤はFSH製剤とし、アントリンの30と40AUを比較した。超音波ガイドおよび吸引用アタッチメントはアロカのSSD-500・FHKの卵胞卵子採取システム（L-1型）を用いた。

穿刺針はクックのダブルルーメン針を用い、35ml/min程度で吸引した。試験スケジュールは以下に示したとおりで試験牛2頭を用い8週間連続で実施した。

2. 試験スケジュール

1. 第1回FSH投与2日前にドミナントフォリクル（主卵胞）を除去した。
2. アントリン30と40AUを交互に3日間朝夕暫減投与した。
3. アントリン最終投与の次の日に第1回目採取、更に2日後に第2回目採取を実施した。
4. 第2回目吸引2日後から次の卵胞卵子吸引のためのアントリン投与を繰り返した。

卵胞数は卵巣の超音波画像をビデオに記録した後にカウントした。採取卵は、顆粒膜細胞の付着程度により3層以上・1～2層・裸化の3つに区分した。

3. 結果

表に示すように、吸引可能な大中卵胞数は両区とも14個程度であった。吸引卵子数も1回目は5～6個、2回目は2個程度

と両区に有意差はなかった。30AU区の1回目と2回目の吸引卵子数では、1回目が有意に ($P<0.05$) 多かった。40AUにおいてもその傾向 ($P<0.09$) が認められた。

顆粒膜細胞の付着程度も、両区とも3層以上のものが、約半数を占めていた。一般的に顆粒膜細胞層が3層以上のものが体外受精に適するとされており、吸引された卵子の形態も区による差は認められなかった。

以上の結果より、アントリン30と40AUでは、差がないことが判った。また、1回目と2回目の吸引卵子数に差が認められたことから、実用面では2回目吸引は次のアントリン処理のためのドミナントフォリクル除去と位置づけて良いと考えられた。

表. 試験成績

		アントリン30AU区	アントリン40AU区
大 中 卵 胞 数		14.1±7.8	14.6±7.4
吸 引 卵 子 数	1 回 目	5.6±3.2 ^a	4.9±4.0
	2 回 目	1.6±1.7 ^b	2.0±1.6
3 層 以 上		51.2%	49.1%
顆 粒 膜 細 胞	1～2 層	24.4	32.7
	裸 化	24.4	18.2

a b間で有意差有り ($P<0.05$)

4. 今後の問題点

一般的に本技術により個体差が非常に大きいものの1回の卵子吸引で、約2～3個の移植或いは凍結可能な受精卵が作成できるが、経済的な問題が残されている。今後乳用牛では飛躍的に個体別の体外受精技術が向上するか、数頭の価値ある雌牛群を持つか、或いは採取卵子の凍結保存技術が確立されれば、本技術の応用される場面が多くなると考える。

兵庫県立淡路農業技術センター

畜産部 主任研究員 小鴨 睦

表紙写真

交流センター「まきばの宿」は、交流人の滞在施設として利用の促進を図り、農村と都市交流の拠点として建設された。建物は、鉄骨2階建て、総床延べ面積1,083.43m²で収容人員43名、平成9年12月20にオープンしました。

畜産技術ひょうご

平成10年2月2日発行
第47号

発行所 神戸市中央区中山手通7丁目28番33号
兵庫県立産業会館
社団法人兵庫県畜産会
TEL 078(361)8141(代)
FAX 078(366)2068 〒650-0004
発行人 小島秀俊