



# 畜産技術ひょうご

第 68 号

## 目 次

但馬牛体細胞を用いたクローン牛の生産	2
〔衛生情報〕 生産性向上のための畜舎消毒	4
〔技術情報〕 トンネル換気による暑熱対策	6
〔家畜診療所だより〕 黒毛和種出生子牛への プロチゾラム製剤の臨床応用	10
〔畜産技術最前線〕 ルーメン液の採取法とその性状比較	12
〔食肉衛生検査センターだより〕 牛の肝臓の増殖性好酸球形小葉間静脈炎について	14



但馬牛雌牛体細胞由来のクローン牛  
(提供：兵庫県立農林水産技術総合センター)

## 巻 頭 言

### 「食の安全と遺伝子組替え技術」

先般、農林水産省から体細胞クローン技術を利用した牛の生産物について、科学的調査に基づき食品としての安全性が報告された。

農林水産省は平成11年に体細胞クローン牛を肥育販売したところ、安全性に対する科学的根拠もなく、時期尚早の感が否めない状況であったことから消費者団体をはじめとして各方面から非難の声が上がり、その対応に追われた経緯がある。

同じ食の安全・安心といっても、昨年9月のBSE発生に端を発して以来、牛肉の偽装問題、産地詐称、農薬問題等が噴出し大きな社会問題となったが、これ等と遺伝子組替えとは全く次元の違う問題で同一視して考えるべきではない。

現在、世界の人口は63億人であるが、50年後には90億人を超えると推定されている。加えて、砂漠化現象や土壌への塩分蓄積・流亡等により耕作面積が大きく失われつつあり、近い将来食糧危機に直面することが予測される。古くは、人口増加にともなって食糧増産が急務の時、硫安をはじめとする化学肥料の開発や殺虫目的でBHC等の開発により、食糧危機を乗り越えてきたが多くの問題点も顕著となった。今後の課題として土壌や環境保全に努め食糧生産をするのは言うまでもないが、これだけでは食糧増産の解決につながらない。食糧危機を安定的に回避する最も有望な手法としては、遺伝子組替え技術を駆使して乾燥や塩害、病害虫などの悪環境に耐える品種の開発があげられる。だが、遺伝子組替えトウモロコシ「スターリンク」に代表されるように、消費者の多くは遺伝子組替えのものに拒否反応が生じているのが現状である。

遺伝子組替え技術に対する消費者の不信感を払拭するためには、じっくりと腰をすえ正確な情報を迅速に提供する等、理解を得る努力をしていく必要がある。

(E. H)

## 但馬牛体細胞を用いたクローン牛の生産

### はじめに

クローン技術とは、同一遺伝子を持つ個体を複数生産する技術である。クローン動物を生産するには、核移植という技術が必要であるが、これは、あらかじめ核を除いた卵子の細胞質に、核（遺伝情報）を提供する細胞を注入して新たな受精卵を作出する技術である。

核を提供する細胞（ドナー細胞）によって、作出されるクローン牛は大きく二つに分けられる。一つは受精卵クローン牛であり、ドナー細胞は、受精後分割し始めて4～5日目（約32個の割球を含んでいる）の受精卵である。もう一つは体細胞クローン牛であり、ドナー細胞は既に個体を形作っている胎子、成牛などの耳、皮膚、筋肉、腎臓などから採取した細胞である。それぞれのクローン牛の特徴を表1に示す。

2002年7月現在、受精卵クローン牛は全国40機関で663頭が出生しており、既に202頭が食肉として販売されている。体細胞クローン牛は38機関で試験研究が行われており、312頭が出生、うち140頭が育成、試験中である。体細胞クローン牛はドナー細胞として既に個体の一部を形作っている細胞を用いるため、過去に働いた遺伝子の一部が眠っている状態になっている。個体を生産するためには、これらの遺伝子を一旦受精卵の状態に戻す（初期化）必要があるが、今のところ、初期化のしくみや、効率的に初期化できる薬剤などはよく分かっていない。初期化が不十分なため、流産、死産、生後直死が多くなっていると考えられている。

“良いものを多く” 作るには、ドナー細胞が無制限に確保できる体細胞クローン牛を利用する方が適当と

思えるが、流産や生後直死の割合が高いのが難点である。

兵庫県では1999年に受精卵クローン牛の生産に成功しており、今回、体細胞クローン牛の生産に成功したのでその概要を紹介する。

### 1. 実験の概要

体細胞クローン牛の生産効率は約10%（受胎牛10頭へ移植して1頭の正常子牛が生産）と言われている。

そこで、核移植による移植可能胚の作出効率を上げるため、核移植操作の中で、発生開始の刺激となる活性化刺激に着目した。従来は、ドナー細胞の核と卵子細胞質の電気融合を活性化刺激と兼ねていたが、両者を融合させた後に再度電気刺激を与える方法について検討した。また、様々な個体から採取した細胞を用いて核移植を行い、移植可能胚である胚盤胞の発生率を調査した。さらに、優良但馬雌牛の保存細胞を用いた核移植によるクローン牛の生産を試みた。

### 2. 実験方法

細胞質を提供するレシピエント卵子として、食肉センターで採取した未成熟卵子を成熟培養後、卵子の核を除去した。

ドナー細胞として、卵巣、成牛の耳、胎子の皮膚から採取した細胞を継代して増殖させた。核移植前に血清飢餓培養を行うか、長期培養により増殖を遅らせたものをドナーに用いた。

ドナー細胞の核と卵子細胞質を電気融合させ、融合

表1 受精卵クローン牛と体細胞クローン牛の違い

	受精卵クローン牛	体細胞クローン牛
ドナー細胞由来	受精後4～5日目の初期胚	個体(胎子、成牛)より採取した細胞
ドナーの個数	約16～32個	培養によって増やせるため、無制限
遺伝的同一性	クローン牛間	クローン牛間およびドナー牛
遺伝的能力	母親と父親から推定は可能	ドナー牛と類似する可能性
最大生産率	8頭(生産された約2/3は単子・双子)	論理的には無制限
流産、死産	30%	10%
	流産やや多い	流産、死産、生後直死多い



した卵子に再び活性化となる電気刺激を与え、電気刺激を与えない卵子との発生率を比較した。核移植後7～8日間体外培養を行い、移植可能胚である胚盤胞への発生率を調査した。

また、様々なドナー細胞を用いて核移植を行い、胚盤胞への発生率を比較した。

さらに、優良但馬雌牛の保存細胞を用いた核移植胚盤胞を受胎牛へ移植した。

### 3. 実験結果

表2に活性化刺激の有無による発生率を示す。活性化刺激を行った区は発生率が有意に高くなり、核移植による胚盤胞の作出効率が高まった。

表3に種々のドナー細胞を用いた核移植の成績を示す。胚盤胞の発生率には差が見られず、用いた全ての細胞から、核移植胚が作出できた。

表4に核移植胚の移植結果を示す。2胚移植した3頭は受胎したものの、正常産子は得られなかった。しかし、1胚移植し、受胎した2頭については、2002年7月に分娩誘起により、正常な雌子牛を1頭ずつ分娩し、9月現在も母子ともに健康である(表紙写真)。

### 4. 実験のまとめ

融合胚への電気による活性化刺激を行うことで、核移植胚盤胞の作出効率が高まった。作出した胚が正常であるかどうかを受胎牛への移植前に形態的に判断することは難しいが、高品質な胚では受胎率が高いという報告もあり、多くできた移植可能胚のなかから高品質な胚を移植することで、産子を得られる可能性が高くなると思われる。

種々の細胞を用いた核移植によって全ての細胞から胚盤胞が作出できた。子牛までの発生の検討が必要であるが、細胞を確保できれば個体を復元、再生できる可能性がある。

また、核移植胚の受胎牛への移植によって、正常な雌産子を2頭得ることができた。体細胞クローン牛に特徴的な異常として、妊娠後期での流産や、生後直死が多く報告されているが、今回は正常な妊娠経過、分娩状況であった。分娩例は少ないものの、当センターで行っている核移植方法や培養方法は子牛生産に大きな悪影響を及ぼさないと考えられる。

得られたクローン牛は発育性や、繁殖性を調査し、

表2 活性化刺激の有無による核移植胚の発生率

試験区分	活性化刺激	実験回数	細胞挿入卵子数	融合数	(%)	分割数	(%)	胚盤胞数	(%)
試験区	+	4	136	74	54	57	77 <sup>a</sup>	32	43 <sup>A</sup>
対照区	-	5	54	30	55	10	33 <sup>b</sup>	5	16 <sup>B</sup>

異符号間に有意差あり(ab:P<0.01, AB:P<0.05)

表3 ドナー細胞別核移植胚の発生率

ドナー細胞	細胞挿入卵子数	融合数 (%)	分割数 (%)	胚盤胞数 (%)
A(耳)	130	76 (58)	42 (55) <sup>b</sup>	25 (32)
B(耳)	129	66 (51) <sup>b</sup>	48 (72)	30 (45)
C(耳)	170	129 (75) <sup>a</sup>	78 (74)	58 (45)
D(顆粒膜細胞)	338	184 (54)	152 (82) <sup>a</sup>	67 (36)
E(顆粒膜細胞)	416	177 (42) <sup>b</sup>	111 (62) <sup>b</sup>	81 (45)
F(顆粒膜細胞)	302	154 (51) <sup>b</sup>	102 (66)	75 (48)
G(顆粒膜細胞)	703	406 (57)	300 (73) <sup>a</sup>	204 (50)
H(顆粒膜細胞)	103	60 (58)	31 (51) <sup>b,xy</sup>	27 (45)
I(胎子皮膚)	34	30 (88) <sup>a</sup>	23 (78)	13 (43)

異符号間に有意差あり(ab,xy:P<0.05)

表4 核移植胚の移植成績

移植年	移植頭数	受胎頭数	(%)	分娩頭数	生時体重	備考
2000年	3(2胚移植)	3	100	1	25.7kg/17.5kg	2001年8月14日双子死産
2001年	5(1胚移植)	2	40	2	23.6kg/21.6kg	2002年7月9日生

クローン牛間およびドナー牛との相似性について調査していく。

## 5. 終わりに

体細胞クローン牛のメリットは一つの細胞から個体を復元できることにあるのではないだろうか。枝肉共励会で最優秀賞に選ばれた牛の細胞、DNAの解析によって、遺伝的に優れた形質を持っていると判明した牛の細胞、さらに、系統的に稀少となってしまったウシの細胞などを確保していれば、同一遺伝子の牛が再生、増産できる。

2002年8月13日、農林水産省から、体細胞クローン牛について、「通常の牛となんら異なる点は認められない」との発表が出された。1998年の体細胞クローン牛の誕生以来、日本では食品としての利用を自粛し、多くの機関による様々な調査が実施されてきた。クローン牛の発育性、繁殖性の調査、流死産胎子の病理学的な検査、食品としての成分分析や実験動物への投与試験など、これまで収集してきたデータから導き出された報告である。

また、同月20日には、米政府の科学問題に関する諮問機関、全米科学アカデミーも、体細胞クローン動物

やその子孫の肉や乳などを食用にすることについては「現段階では安全上の問題を示す証拠はない」という報告書をまとめた。これを受け、米食品医薬品局（FDA）は、「クローン食品」に対する安全宣言を年内にも出す見通しとなっている。

日本の厚生労働省からも、今年度中に食品としての何らかの宣言が出される予定となっており、体細胞クローン牛も受精卵クローン牛と同様に近く食品として流通する可能性が高くなってきた。

今後も、食品としての家畜を生産する以上は、消費者の理解を得ながら新技術を進めていくことが重要であり、十分な説明を行っていかねばならない。

そのためには、体細胞クローン牛の生産効率の低さを解消できる初期化の仕組みの解明が必要である。この分野は、ヒトの再生医療（細胞から臓器を再生する）との関連も非常に多く、そのメカニズムが分かりつつある。生産効率が向上し、体細胞クローン技術も一畜産技術として認識され、利用されるようになる時期は近いと思われる。

県立農林水産技術総合センター

部長（生物工学担当）付 濱田 由佳子

## 衛生情報

# 生産性向上のための畜舎消毒

## はじめに

畜産現場における消毒の意義は、第1に、家畜を病原性微生物の侵入等から守ることであり、それにより生産性を向上させることは畜産経営の基本と言える。第2に、安全で安心な畜産物（食品）を生産することであり、サルモネラ、病原性大腸菌O-157等の食品衛生上問題となる病原菌を排除することは、畜産物を生産するうえで不可欠なことである。第3に、病原菌が排除され畜舎等の環境が改善することで、飼養者は快適かつ安全に作業を行うことができる。

本稿では、当所がこれまで実施してきた畜舎消毒の事例と効率的及び効果的に実施できる消毒方法について検討したので紹介する。

## 畜舎消毒の事例

乳質改善の事例では、経産牛70頭を飼養する酪農家で、バルク乳中の体細胞数が、平成13年5月頃から急に増加し始め、黄色ブドウ球菌や環境性乳房炎起因菌が搾乳牛ほぼ全頭から検出された。牛の配置換えを実施するとともに同年7月に消毒を実施したところ、バルク乳中の体細胞数は急激に減少した（図1）。



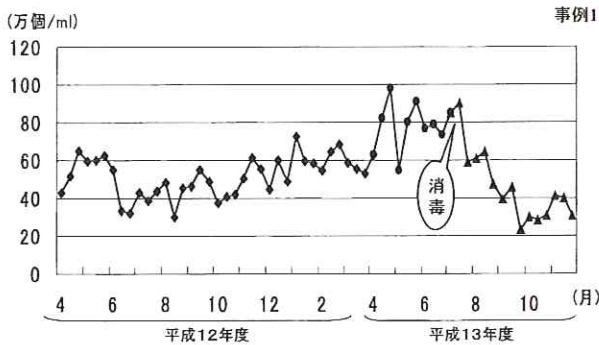


図1 バルク乳の月別体細胞数の推移

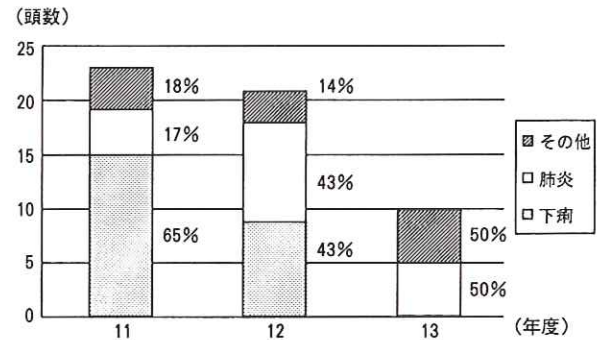


図2 疾病別による死亡状況

子牛の事故低減の事例は、和子牛200頭をほ育育成している農場で実施した。この農場は、年間の死廃事故頭数が20頭程度で、特に下痢による死亡率が高くなっていたことから平成13年5月と10月の2回消毒を実施した。その結果、下痢による死亡は無くなり、死廃事故頭数が同年12月末日で10頭と減少した(図2)。

1. 効率的な消毒方法

1) 作業内容

今回の畜舎消毒は、「病原性微生物の除去」を目的に、当所が中心に関係機関の協力を得て実施した。

作業内容は、①天井、残飼等の清掃、②通路、牛床等の除ふん、③有機物の除去のための水洗、④消毒剤による消毒が基本的手順である。しかし、畜舎の周辺環境や構造等によって、水の使用制限や家畜の移動(畜舎を空にする)ができない場合があることから手順と作業内容が異なってくる。ここでは、3つのパターンに分類した(表1)。

パターンIは、家畜の移動の可・不可に関係なく、畜舎での水の使用が可能な場合で、清掃、除ふん後の

有機物を動力噴霧機等で水洗し、最後に消毒を行う基本的な方法である。

パターンIIは、畜舎での水の使用が不可、家畜の移動が可能な場合で、水洗による有機物除去ができないことから、清掃と牛床等の除ふんを徹底的に行う。

パターンIIIは、両者ともに制限を受ける場合で、牛床等の除ふんと水洗ができないことから清掃による有機物除去を重点に行う。

除ふん等の有機物除去の作業をおろそかにすると、消毒効果に雲泥の差が生じてくることから、作業者の技術と熱意さらには作業に必要な専門用具(各種スクレイパー、動力噴霧機等)が要求される。

2) 消毒剤と消毒方法

消毒剤は、用途によって異なるが一般的には殺菌力、殺ウイルス力が強く、安価で安全性が高く、安定性が良いものを使用することから、通常の畜舎消毒では、逆性石けんの単用もしくは逆性石けんと畜舎の床及び側壁等の細菌等を封じ込めるための石灰との併用が適当である。消毒の方法としては、逆性石けんを動力噴

表1 消毒方法及び作業内容の分類

消毒パターン	水使用	牛移動	作業内容				消毒方法	
			清掃	除ふん	水洗			
			壁・通路	牛床		逆性石けん	消石灰	
I	可	可・不可	○	○	○	○	噴霧	塗布・散布
II	不可	可	○	○	○	—	発泡	塗布・散布
III	不可	不可	○	○	—	—	発泡	塗布・散布

表2 牛舎消毒一覧表

◇ 作業面積 (5時間程度)		
飼養形態	フリーストール等	つなぎ
1人当たりの作業面積(m <sup>2</sup> )	60~80	30
牛舎の状態、季節、装備及び作業者の年齢により変動		
◇ 逆性石けんの必要量		
消毒方法	噴霧	発泡
1m <sup>2</sup> 当たりの必要量(ml)	3	4
希釈倍率	500	50
◇ 消石灰の必要量		
消毒方法	塗布	散布
1m <sup>2</sup> 当たりの必要量(g)	250	300
希釈倍率	4	—

霧機で噴霧又は発泡消毒した後、石灰を床等へ散布及び塗布する。それらの必要量は表2のとおりである。

### 3) 必要作業人員

作業人数は、多ければ作業内容の充実が図られ、また時間の短縮につながるが、これまで作業に必要な人員の指標となるものがなかった。そこで5時間程度で完了させるのに必要な人員を畜舎構造と面積から算出した(表2)。1人当たりの作業面積は、当所が実施した計7回の畜舎消毒から試算したものである。

## 2. まとめ

酪農家段階での消毒は、搾乳器具や牛床の石灰散布

等が消毒との意識がないまま日常的に行われている。今回の消毒は、技術者の指導のもと畜舎内の病原性微生物を除去するために実施した。その結果、乳質改善や死傷事故の低減につながり生産性が向上した。

今後は、生産性を阻害している要因を乳質検査等のデータからモニタリングし、消毒を含む衛生対策の適期を把握していくとともに、消毒に要する人員の確保や資材の調達ができる組織づくりをしていく必要がある。

姫路家畜保健衛生所神戸出張所

主査 加登 岳史

## 技術情報

# トンネル換気による暑熱対策

### はじめに

近年、乳牛の生産性向上により、より多くの生乳が生産され、多量の飼料を摂取するようになってきた。その結果、高泌乳牛ほど発熱量が多くなり、暑さの影響を受けやすくなっている。特に、牛舎内の熱の排出が困難な繋ぎ牛舎では、開放型牛舎などに比べてその影響が顕著である。

今まで繋ぎ牛舎での暑熱対策として、主に送風機による牛舎内送風が行われてきたが、牛舎内の様々な障害物により効率的に行われていたとは言い難い。今回、新たに暑熱対策としてトンネル換気を導入したN牧場の取り組みについて紹介する。(写真1)

## 1. 牧場の概要

### (1) 牛舎構造

牛舎の全長32m、幅9mの対尻式繋ぎ牛舎(牛床数:42床)(図1)で中二階になっており天井の高さが2.15mと低い。

### (2) ファン能力・台数等

羽径100cm、モーター出力0.4Kw、風量350m<sup>3</sup>/分の

ファンを9台設置している。

### (3) 運転方法

気温などの天候にあわせて9台のファンの運転を手動式インバータにより調整している。

### (4) 設置費及び維持費

使用していたファンを流用したため、ファンの移動

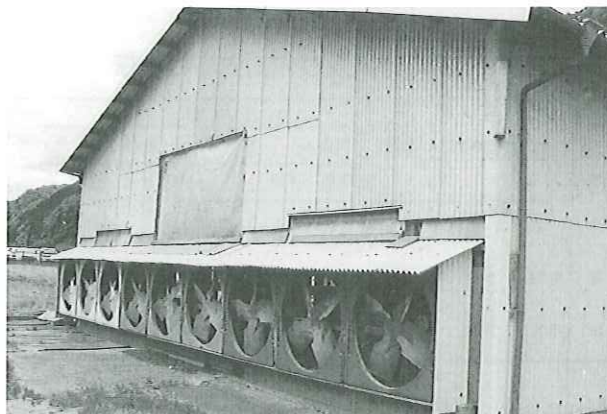


写真1 トンネル換気を設置した牛舎の外観



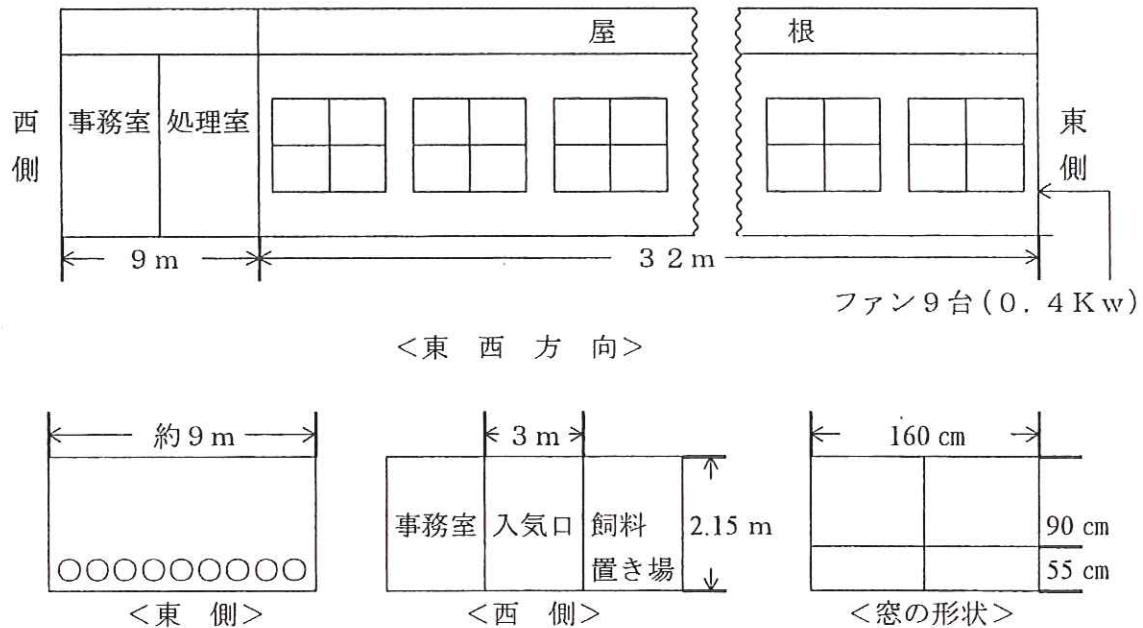


図1 牛舎の側面図および窓の形状

及び設置費用に4万円程度、インバータを含めた電気工事費が20万円かかった。運転にかかる電気代は、昼夜を通して運転しているため、設置前に比べて1.7万円/月ほど高くなっている。

## 2. 導入経緯

トンネル換気設置以前は、直下式送風機を設置していたが十分な暑熱対策を行えていたとはいえなかった。様々な事例がある中で以下のような理由で平成13年7月にトンネル換気を導入した。

- ①天井が低いため、牛舎容積が少なく空気の移動が容易に行える
- ②牛舎側面がサッシであるため気密性が保ちやすい
- ③排気側に民家がない

## 3. 設置してみると

### (1) 空気が動かない

計算上では、9台のファンをフル稼働すると、風速2.7m/sの風が流れるはずである。

〈計算式〉

理論風量：350m<sup>3</sup>/分・台×9台=3,150m<sup>3</sup>/分

断面積：2.15m（高さ）×9m（幅）=19.35m<sup>2</sup>

風速：3,150m<sup>3</sup>/分÷19.35m<sup>2</sup>÷60≒2.7m/s

しかし、ファンの近くの空気以外はほとんど動かな

い。原因を追及していくと中二階の開口部（中央通路部分3m幅×30m）を通して屋根の隙間から空気が入ってきており、入気口部分から十分な風量が確保出来ず空気が動かなかった。そこで、開口部をパイプハウスのビニールでふさぎ気密性を高めた。（写真2）

### (2) 牛の尻は涼しいが

気密性を高めたため、入気口から十分な空気が入ってくるようになった。しかし、牛の腰から尻にかけての後駆は十分な空気が当たっているものの、肩から顔にかけての前駆は空気の流れが鈍く、人間にとっても

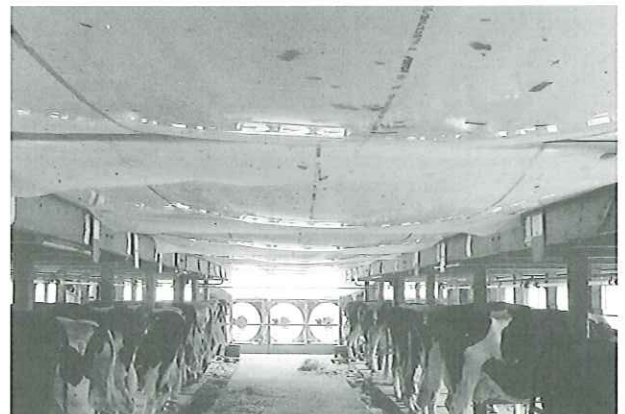


写真2 中央通路上の開口部をビニールでふさぐ

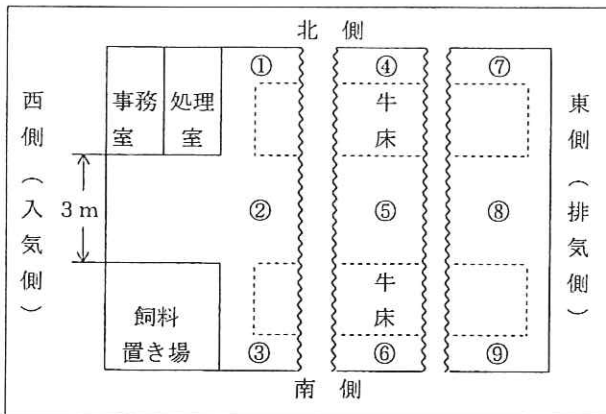


図2 牛舎平面図（測定地点①～⑨）

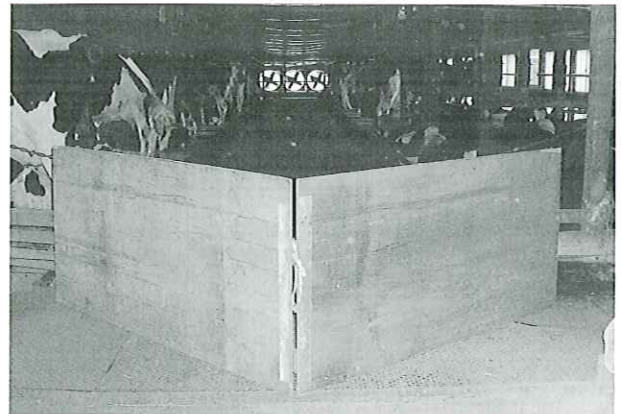


写真3 コンパネを設置して風を左右に流す

暑く感じられた。牛の体表面からの水分蒸散量は、前駆が後駆に比べて多く、前駆に空気を送る方が効果的に牛を冷やすことが出来ると言われている。そこで、前駆部分へ空気が流れるよう入気条件の検討を行った。

(3) 入気条件の検討

側面サッシの開け方による5つの入気条件を設定し、牛舎内の9地点で風速を測定した。(表、図2)

ア. 条件1 (側面のサッシを全閉)

9台のファンでの排気量に対して、入気口が狭いため(3m×2.15m)に、中央通路の風速は数値的にも感覚的にも強いと感じられたが、牛の前駆付近では所々で空気が淀んでいた。

イ. 条件2 (側面のサッシを5cmずつ開ける)

アの条件では、牛の前駆側の空気が淀んでいたため、側面からの入気を増やすためにサッシを5cmずつ開けた。一つの測定地点を除き1.0m/s以上の風速は確保されていたが数値的にも感覚的にも中央通路を中心に空気が動いている。また、排気側から入気側に行くにつれて窓から入ってくる空気が弱くなっているように

感じられたが数値的には差がなかった。

ウ. 条件3 (側面のサッシを半分ずつ開ける)

イの条件では、まだ空気が中央通路を中心に動いている状態なので、側面からの入気を更に増やす目的でサッシを半分ずつ開けた(窓一つにつき40cm×145cm)。この条件では、排気側の窓から中心に入気しており、牛舎の半分から入気口側では、中央通路においても風速が弱くなっている。

エ. 条件4 (排気側全閉、入気口側半分ずつ開ける)

ウの条件では、入気口側の空気が極端に淀んでいる状態なので、入気口側の空気移動を目的に牛舎の半分から入気口側の窓を開けた。この条件では、牛舎全体で感覚的には空気は動いていたものの、窓側では十分な数値を得られなかった。

オ. 条件5 (排気側5cm、徐々に広げ入気口側で半分開ける)

エの条件を更に改善する目的で、排気側の窓の開ける面積を少なくし(5cm)、徐々に広げていき入気口側で半分(40cm)の窓が開くように調節した。この条

表 測定地点別および条件別風速

入気条件	(単位：m/秒)								
	測定地点①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
条件1	4.14	5.63	0.35	1.01	3.25	0.27	1.22	2.79	0.79
条件2	2.09	4.41	1.09	1.50	3.00	0.56	1.20	3.51	1.43
条件3	0.44	0.70	0.68	1.27	1.41	2.47	1.77	2.72	2.44
条件4	1.08	2.59	0.55	2.33	3.60	0.36	1.60	3.24	0.77
条件5	1.59	1.97	1.46	1.67	2.09	1.87	1.46	3.23	1.34



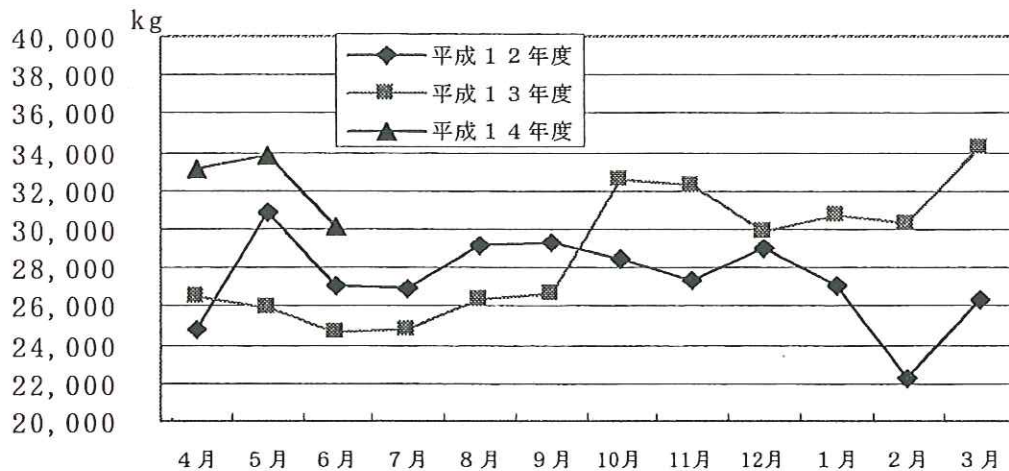


図3 出荷乳量の変化

件下では、窓側、中央通路のどの測定地点においても空気の流れが見られ、感覚的にも淀んでいる状況は感じられなかった。

以上の結果から、もっとも良い成績を示した条件5を採用した。

#### (4) コンパネ設置でさらに改善

空気の流れをさらに改善するため、中央通路の入気側にコンパネをV字型に設置した。これによって、通路の空気の流れを強制的に左右に流れることになり、牛体間から前駆側に空気が流れるようになった。(写真3)

### 4. 設置から1年経ってみると

#### (1) 種付け

設置以前は夏場の発情が無く種付けがほとんど出来なかったが、昨年、本年ともに夏場の種付けが順調に行うことができた。

#### (2) 乳量の変化

設置前の平成12年度と平成13年度の乳量を比較すると、10月以降に出荷乳量の増加している。また、平成14年度の6月までの乳量は、平成12、13年の同時期までと比較して1割程度増加している。しかし、この増加は平成14年1月に連続水槽を設置した影響も考えられる。(図3)

#### (3) 付帯的な効果

トンネル換気を導入した目的は、牛に対する暑熱対策であったものの、設置してみると以下のような付帯

的な効果があった。

- ①真夏の昼間でも牛舎内作業が快適になった
- ②牛舎内に蚊や蠅がいなくなった
- ③牛床が乾燥するようになった
- ④換気扇本来の目的である換気が十分にされることで牛舎内の臭気が激減した

#### おわりに

今回の事例では、トンネル換気によって暑熱対策の効果が期待できるとともに、効率的に換気ができることが示唆された。しかし、トンネル換気を導入する場合は、牛舎の気密性、牛舎の容積(断面積)、入気条件などを考慮して、設置可能かどうかを検討するとともに、他の暑熱対策(細霧システム、リレー式換気、ファンの台数増、ダクトファンなど)との効果比較を行った上で導入を決める必要がある。

また、暑熱対策としてトンネル換気を導入するためには、目標とする風速(2 m/s以上)を確保する必要がある。今回の事例でも、ほとんどの測定地点で理論値と比べて風速が低く、余裕を持った設計が必要と思われる。

和田山農業改良普及センター

技術吏員 大崎 茂

## 黒毛和種出生子牛へのプロチゾラム製剤の臨床応用

生後まもない子牛は、自力で立ち上がり乳頭に吸い付き、勢い良く初乳を飲みつづけることで、日々成長していく。しかし、早産・難産等分娩時のトラブルや、下痢や発熱などによって自力哺乳が出来ない場合は、子牛の体力低下を招き、その後の発育に重大な影響をおよぼす。また、人工哺乳は、若干の技術を必要とするため、これに伴う誤嚥性肺炎等、経済的損失につながる場合が少なくない。

今回、我々は哺乳欲の消失した黒毛和種子牛に対し、自力哺乳力の回復を目的に、視床下部腹内側核に存在する満腹中枢への伝達刺激を抑制する作用をもつ、プロチゾラム製剤を投与したところ、良好な結果が得られたので、その概要を報告する。

### 1. 材料及び方法

#### 供試牛

供試牛は1999年12月より、2001年7月の間、哺乳状況が著しく低下し、診療依頼のあった黒毛和種子牛15頭である。哺乳欲消失のほか、主な臨床症状は、起立不能が3例、高熱が2例、低体温が2例で、その他には1週間から2週間の早産子牛が5頭、難産が1頭であった。

#### 供試薬剤と投与方法

供試した薬剤は、ベンゾチアゼピン誘導体のプロチ

ゾラム製剤（動物用医薬品、要指示、S社）で、投与量は体重1kg当り0.002mgで、5%ブドウ糖で10倍希釈し静脈内に徐々に投与した。

#### 効果判定の基準

- 著効…投与後5分以内に自力哺乳したものを著効。
- 有効…投与後5分経過後でも哺乳を開始しない場合は、補液や抗生剤等を併用し、その後30分以内に自力哺乳したものを有効。
- 無効…著効または有効と判定されなかったものを無効。

### 2. 結果

自力哺乳しない黒毛和種子牛にプロチゾラム製剤を投与したところ、著効12例、有効2例、無効1例で、有

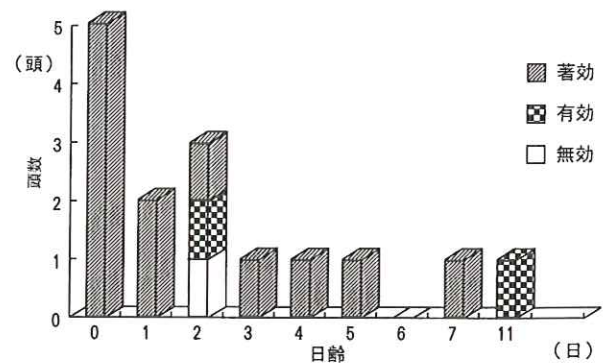


図1 日齢別投与効果

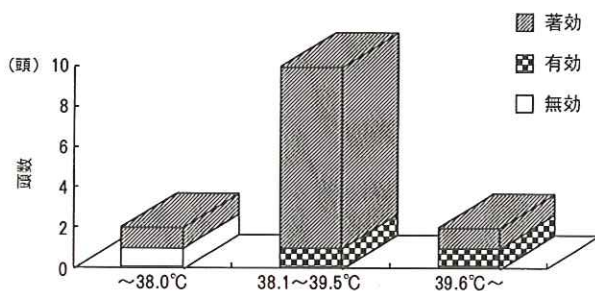


図2 体温別投与効果

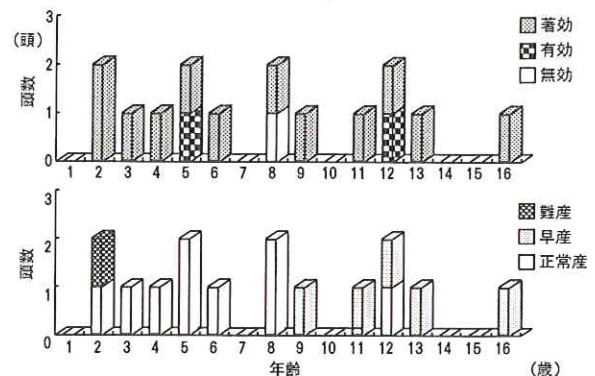


図3 母牛の年齢別投与効果と分娩状況



効率は93%(14/15)であった。投与した日齢は0日から11日齢で、投与日齢別では2日齢の子牛1頭が無効であったが、今回供試した出生後0～11日齢の子牛に対して、満足すべき効果が得られた(図1)。

投与後の治療回数では、12頭がプロチゾラム製剤の1回投与で翌日も正常哺乳を続け、他の2頭は翌日再投与により正常哺乳に回復した。

診察時の体温別効果では、高熱及び低体温にも効果がみられ、体温による影響は認められなかった(図2)。また、起立不能を呈していた子牛3頭のうち2頭は著効であった。

供試牛15頭について、母牛の年齢構成別に分娩状況と投与効果を図3に示した。9歳以上の牛で早産が5頭みられたが、それ以下の牛には見られなかったことから、早産はすべて高齢牛に発生していた。しかし、プロチゾラム製剤の投与効果は、母牛の年齢・分娩状況に影響されなかった。

#### 有効例

症例牛1は、「予定より10日早く生まれたが、乳を飲まない」と求診依頼があった。体温37.8℃、起立不能・口腔冷たく、哺乳意欲欠如にて、本剤を投与した。2分後に畜主が搾った初乳を横になったままであったが、600mlを飲み干した。翌日からは起立し哺乳した。

症例牛2は、「生まれた子牛が、起立するが乳を飲まないため、畜主が初乳を飲まそうとしたが、嚥下しない」との求診依頼があった。体温は平熱であったが、乳頭をくわえるがすぐに離し持続吸飲しなかった。本剤投与1分後に哺乳動作に入り、5～6分哺乳を続けた。投与翌日は、活力増大し、正常哺乳していた。

#### 無効例

無効例は、「出生時起立し哺乳したが、その数時間後起立不能」と往診依頼があった。胎便なく、本剤を投与するも薬効なく予後不良と診断した。当該牛の剖検所見は、第四胃幽門部から、十二指腸にかけて、内腔が著しく狭窄しマッチ棒が通る程の太さで、空回腸内には内容物は認められず、幽門狭窄症と診断された。

### 3. 考 察

新生子牛の哺乳不良は、子牛にとっては致命的である。母体からの移行抗体の摂取が出生直後の初乳に限られているため、免疫グロブリンが十分に供給されない。その結果、子牛自身の免疫系が確立されるまでの最初の数週間は多くの感染症に対して無防備となる。

また、畜主による不適切な強制経口投与によって、致命的な転帰をとる誤嚥性肺炎を引き起こす危険性が高まる。また、哺乳量が減少すると、体温調節、呼吸および筋肉の活動によってエネルギーが急速に消費され、低血糖症を発症する。これらの理由から、薬剤投与による自発的哺乳の発現は、実用的で効果的な方法であると思われる。

中枢神経系(CNS)において、 $\gamma$ -アミノ酪酸(GABA)は、視床下部腹内側核(VMH)に存在する満腹中枢への伝達刺激を抑制する抑制性の神経伝達物質として作用する。今回供試した薬剤は、このGABAの作用を増強し、満腹感を解除し採食行動を誘発する作用をもつ。また、薬剤の効果持続時間は20～30分間といわれている。

新生子牛で観察される哺乳障害および食欲不振の主な原因は、出生時における身体的ストレスによる一過性または持続性の脳障害にあるといわれている。さらに、視床下部の前正中中部が摂食を制御しているが、GABA、エンドルフィン、メチオニンなどには食欲誘発作用が認められている。ベンゾジアゼピン類の薬理作用にも食欲誘発作用があり、これらの物質は中枢神経内でGABA濃度を増加させることによるといわれている。

ドイツのニューメイヤーらは、32頭の子牛にプロチゾラム製剤を投与したところ、24頭(75%)が30分以内に自発的に哺乳を開始し、反応しなかった8頭はすべて10日以内に死亡したと報告している。また無反応および新生子牛の予後不良の原因として、血中の酸素不足による中枢神経系の不可逆な局所損傷の可能性を挙げている。さらに、本薬剤の投与が無効な子牛は、予後不良であると示唆し、今回の無効例も同様と思われた。

本剤の主成分であるベンゾジアゼピンは依存性や副作用の少ない安全性の高い薬剤である。今回、副作用は軽度の傾眠が2頭にみられたものの短時間で消失し、臨床上問題はなかった。

本剤は哺乳行動をとらない出生子牛に対し、有効な薬剤と考えられ、乳を飲まない子牛の世話の労力軽減と不慣れた強制哺乳による事故防止に役立つと思われた。

兵庫県農業共済組合連合会  
但馬基幹家畜診療所

和田 次雄

## ルーメン液の採取法とその性状比較

はじめに

牛の飼養改善に関する講習会や現地指導の場で、指導者は必ずと言っていいほど第一胃（ルーメン）液のpHや揮発性脂肪酸（VFA）といった言葉を口にす。しかし、実際にルーメン液を採取し、その分析値を飼養改善の指標にしている指導者は少ない。

ルーメン液性状の評価が普及・指導の現場でされていないのは、その採取法と分析法にそれぞれ問題点があるものと考えられる。今回はとくに採取法に関して若干の知見を紹介し、その問題点解決の一助としたい。

正確にルーメン液性状を把握するには 臍部に外科的に取り付けられた窓（フィステル）を介して直接採取する（フィステル法）必要がある。一方、通常の牛からの採取方法には、注射針による穿刺法、経口カテーテル（ルミナー：F社製）や経鼻カテーテルによるカテーテル法などがある。穿刺法は、ルーメンマット下層の液状部を狙って注射針を刺入するため、フィステル法と同様の検体を得ることができるが、牛に苦痛を与え、腹膜炎の危険性もある。そのため、一般的には手技が最も簡単で牛の苦痛も少ない経口カテーテル法が用いられている。

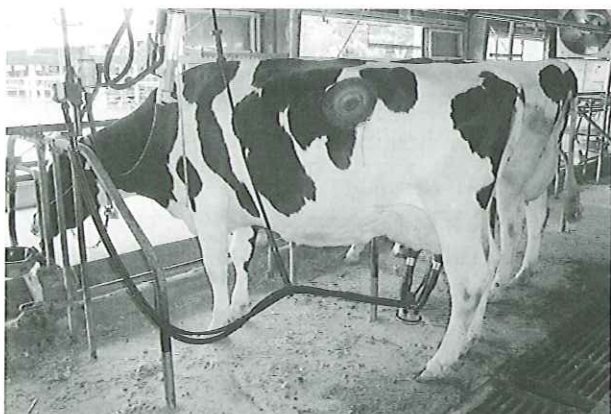


写真 フィステルを装着した乳用牛

本試験では、経口カテーテル法とフィステル法で同時に採取したルーメン液の性状の違いを明らかにした。また、経口カテーテル法で採取した検体の測定値からフィステル法での測定値の推定を検討した。

### 1. 試験方法

試験にはフィステル装着乳牛4頭を供試した。

まず、経口カテーテル法におけるルーメン液採取部位を確認するため、ルミナーを挿入した状態でフィステルから手を挿入し、ルミナー先端部を探索した。

ルーメン液の採取は、測定値に幅を持たせるため、各供試牛毎に飼料構成（養分含量）や給与量の異なる時期において複数回実施した。また、各採取日には朝の給与前と給与後4時間目の2回採取した。採取時にはルミナーで経口的に採取した直後に、フィステルからも手を挿入し、ルーメンマットをかき分けて下層の液状部より内容物を取り出し、ガーゼに包んで容器に搾り込んだ。以上より、16組のルーメン液検体を得た。

pHは採取直後にpH電極で測定し、アンモニア態窒素は水蒸気蒸留法、VFAはガスクロマトグラフィーでそれぞれ測定した。

### 2. 結果および考察

#### (1) 経口カテーテル法のルーメン液採取部位

ルミナー先端部はルーメンマット中層から上層の間に触知された。従って、カテーテル法ではルーメン下層の液状部ではなく、ルーメンマットに含まれる液体を採取していると考えられる。

#### (2) ルーメン液性状の比較

経口カテーテル法のルーメン液はフィステル法と比べて、pHは有意に高く、アンモニア態窒素濃度と総VFA量は有意に低かった。一方、VFAモル比率と酢酸/プロピオン酸比には有意な差はなかった（表1）。つまり、採取法あるいは採取部位の違いは成分濃度に影響し、成分構成（比率）には影響しないことから、



表 1 採取法の異なるルーメン液の性状比較

(n=16)

	フィステル法	経口カテーテル法	有意水準
pH	6.19±0.55	6.76±0.30	p<0.01
アンモニア態窒素濃度 (mg/dl)	9.44±5.56	8.53±4.82	p<0.05
総揮発性脂肪酸 (VFA) 量 (mmol/dl)	16.28±3.88	12.79±2.05	p<0.01
VFAモル比率			
酢酸 (%)	71.38±4.73	71.69±4.43	NS
プロピオン酸 (%)	18.69±4.54	18.39±3.94	NS
酪酸 (%)	8.33±1.12	8.36±1.07	NS
その他の酸 (%)	1.60±0.51	1.56±0.51	NS
酢酸/プロピオン酸比	4.05±1.03	4.08±0.94	NS

平均±標準偏差

表 2 フィステル法採取ルーメン液性状の推定

(n=16)

	回帰式	寄与率	有意水準
pH	Y=1.2980X-2.5783	R <sup>2</sup> =0.495	p<0.01
アンモニア態窒素濃度	Y=1.1272X-0.1750	R <sup>2</sup> =0.954	p<0.01
総揮発性脂肪酸 (VFA) 量	Y=1.3910X-1.5134	R <sup>2</sup> =0.543	p<0.05

Y: フィステル法採取ルーメン液の測定値 X: 経口カテーテル法採取ルーメン液の測定値

唾液の混入等による希釈が起こっていると考えられる。

## (3) フィステル法採取検体測定値の推定式

経口カテーテル法の測定値からフィステル法の測定値 (真のルーメン液性状) を推定するため、両採取法の測定値を基に回帰分析を行った。

pH、アンモニア態窒素濃度、総VFA量とも有意な回帰式が得られたが、pHと総VFA量では寄与率がやや低かった (表2)。従って、pHと総VFA量については発酵状態等、希釈以外の要因も測定値の違いに関与していると考えられる。

## (4) ルーメン液採取の留意点

ルーメン液性状は飼料摂取に伴って大きく変動するので、飼料摂取から採取までの時間は統一する必要がある。通常、飼料摂取後3~4時間目の採取が適当とされている。しかし、アンモニア態窒素濃度のピーク

は摂取後1~2時間目であるため、検査目的によっては採取時間を適宜変更する必要がある。

また、採取に際しては唾液の混入を最小限とするため、頭部を下げた状態で保定し、カテーテルの挿入・吸引・抜去まで一連の操作をできるだけ素早く行う必要がある。

pHはルーメン液採取後、直ちに測定する必要があるため、試験紙もしくはpHメーターを携行しておく必要がある。

県立農林水産技術総合センター

淡路農業技術センター畜産部

主任研究員 生田 健太郎

## 牛の肝臓の増殖性好酸球性小葉間静脈炎について

### はじめに

近年、肉牛の肝周縁部、尾状葉あるいは肝臓全体に寄生虫性血栓性静脈炎に酷似する肝内門脈枝の炎症が見いだされているが、虫卵性肉芽腫を欠き、肉眼的には断面に目立つ白色管構造（写真）、組織的には不規則に分枝する血管腔、多数の好酸球浸潤が見えるのが特色で、牛の肝臓の増殖性好酸球性小葉間静脈炎（いわゆる肝静脈炎）という。この肝静脈炎は、当センターにおける牛の肝臓の一部廃棄もしくは全部廃棄の理由を代表するものの一つになりつつあるが、その発生状況、原因など未だ不明な点が多い。今回、加古川食肉センターにおける肝静脈炎についてのデータを分析、検討したので報告する。

### 1. 調査材料及び方法

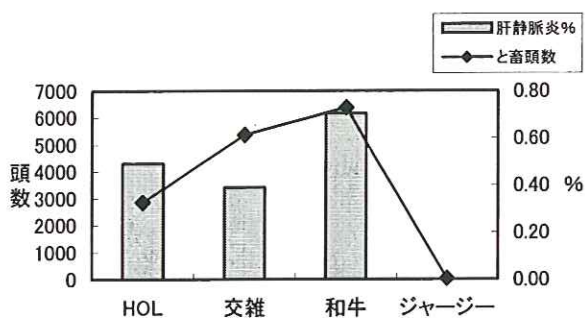
検査記録がデータベース化された2001年4月から2002年7月までの計1年4ヶ月間にと畜された牛20,692頭について、その肝臓に肝静脈炎の所見がみられた162頭を調査対象とし、それを分析した。

### 2. 結果

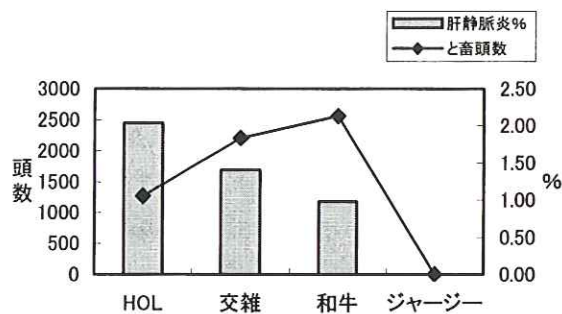
#### (1) 品種別発生率の比較（グラフ1-1・1-2）

肉牛の疾病ではないかと言われていた本病であるが、ホルスタイン種、黒毛和種、ホルスタイン種の交雑種にもそれぞれ発生が見られた。H13年度は発生率の高い順に黒毛和種(0.71%)、ホルスタイン種(0.49%)、交雑種(0.39%)となっているが、H14年度はホルスタ

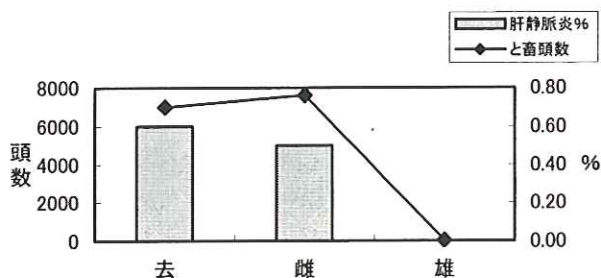
グラフ1-1 H13年度品種別



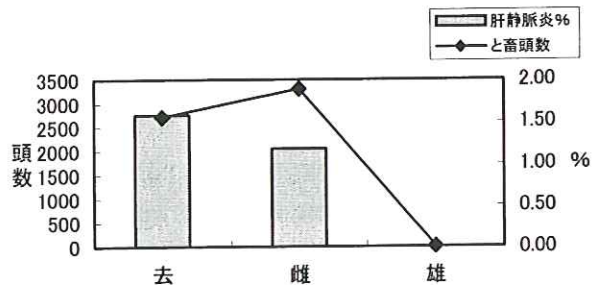
グラフ1-2 H14年度品種別



グラフ2-1 H13年度性別



グラフ2-2 H14年度性別





イン種(2.04%)、交雑種(1.41%)、黒毛和種(0.98%)と、H13年度とは異なる発生率を示したが、品種別による発生の傾向はわからなかった。

(2) 性別発生率の比較 (グラフ2-1・2-2)

去勢牛、雌牛共に発生は見られるが、発生率はH13年度もH14年度もそれぞれ去勢牛の方が高かった。さらに、品種と性別を合わせて見てみると(グラフ3-1・3-2)、H13年度もH14年度もホルスタインの去勢牛が高率の発生率であることから、品種のみでは発生の傾向はわからなかったものの、ホルスタイン種の去勢牛に高率にみられることが示唆されている。

(3) 年齢別発生率の比較 (グラフ4-1・4-2)

H13年度は高齢牛が高発生率であるのに比べ、H14年度は高齢牛に発生が見られない。

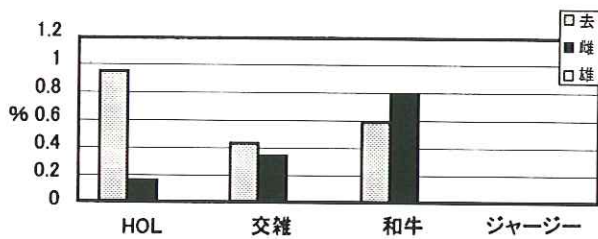
(4) 月別発生率の比較 (グラフ5)

H13年度を見ると寒い時期に発生率が高くなっているが、H14年度は7月にかなりの高率で発生している。

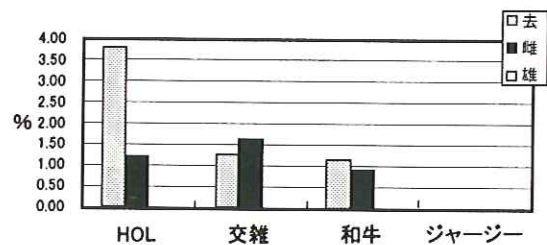
(5) 搬入業者別発生率の比較 (グラフ6-1・6-2)

搬入業者別に発生率を調べたところ、H13年度、H14年度ともに搬入業者CとHが高発生率であった。CがH13年度1.20%、H14年度3.23%、HがH13年度0.85%、H14年度2.30%で、さらに、このCとHについて生産者を調べてみた結果が表1である。現在のところ、ある特定の生産者に頻発しているとは言い難い。

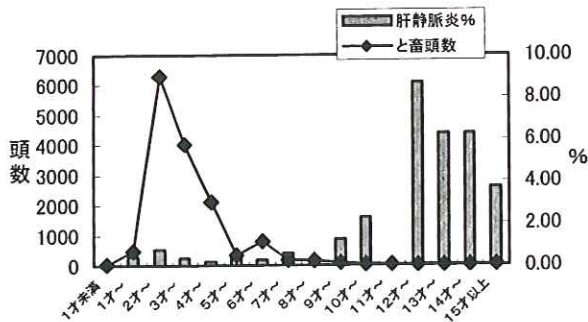
グラフ 3-1 H13年度品種と性別



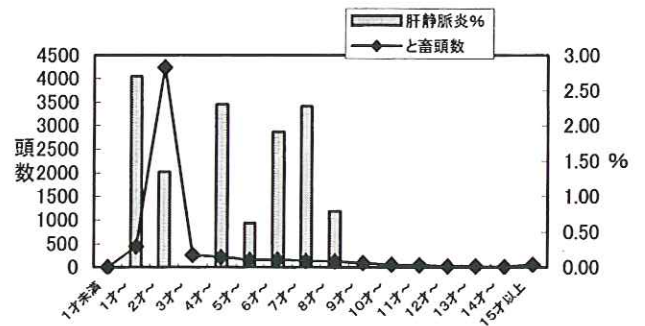
グラフ 3-2 H14年度品種と性別



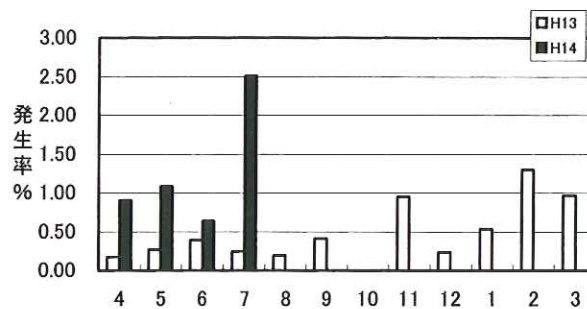
グラフ 4-1 H13年度年齢別



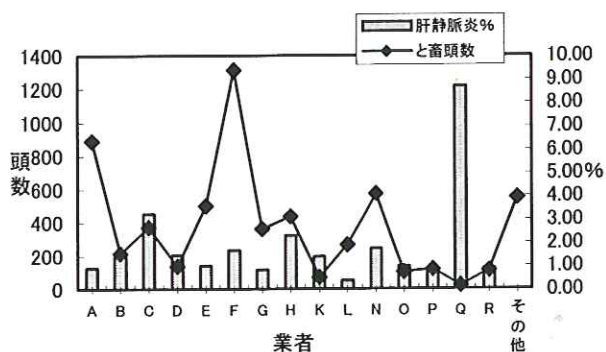
グラフ 4-2 H14年度年齢別



グラフ 5 月別発生状況



グラフ 6-1 H13年度業者別



グラフ 6-2 H14年度業者別

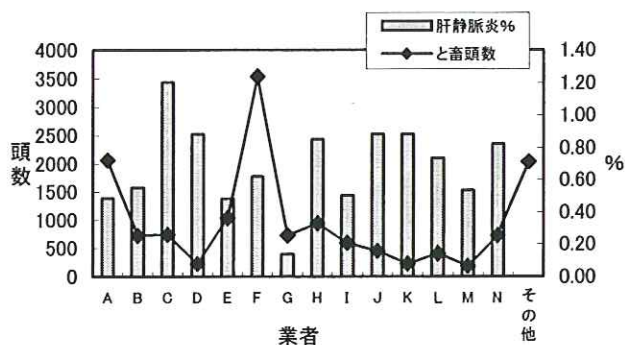


表 H14年度搬入業者CとHの生産者と肝静脈炎数

搬入業者C	と畜日	肝静脈炎数
生産者 a	2002/07/02	7
生産者 b	2002/07/18	2
生産者 c	2002/05/01	1
生産者 d	2002/05/23	1
生産者 e	2002/07/03	1
Cの肝静脈炎数/全肝静脈炎数		12/82

搬入業者H	と畜日	肝静脈炎数
生産者 f	2002/04/08	1
	2002/04/12	1
生産者 g	2002/04/11	1
生産者 h	2002/04/15	1
生産者 i	2002/05/20	1
生産者 j	2002/05/23	1
生産者 k	2002/05/22	2
生産者 l	2002/05/02	1
生産者 m	2002/05/22	1
Hの肝静脈炎数/全肝静脈炎数		10/82



写真 肝静脈炎数の肝臓の断面  
白色矢印のところに白色管構造があるのがわかる。

### 3. 考 察

今回の結果は、母集団がまだまだ少なく、発生傾向を定められるものではなかった。しかし、特定の品種に発生するものではなく、黒毛和種、ホルスタイン種、ホルスタイン種の交雑種それぞれに発生がみられ、特にホルスタイン種の去勢牛により多く発生する傾向にあることがわかってきた。さらに、ある特定の搬入業者の肝臓に肝静脈炎が多く発生していることから、生産者や地域に発生の傾向ひいては肝静脈炎の原因となるものが潜んでいるのではないかと考えている。今後、さらに母集団を増やしてデータの検討を行いたい。

兵庫県食肉衛生検査センター  
技術吏員 荻野 暢子

畜産技術ひょうご

平成 14 年 11 月 29 日 発行  
第 68 号

発 行 兵庫県・社団法人 兵庫県畜産会  
編 集 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