

奨励研究

生菌剤の経口投与が子牛の腸内細菌叢に及ぼす影響

高橋 純¹⁾ 高橋純子²⁾ 田中 愛¹⁾ 遠藤 洋²⁾ ○加藤敏英^{3)*}

山形県農業共済組合連合会 1):中央家畜診 2):置賜家畜診 3):家畜診療研修所

*連絡担当者: 加藤敏英

山形県農業共済組合連合会家畜診療研修所

(〒990-2171 山形県山形市七浦286-1)

[はじめに]

乳酸菌等の各種生菌剤は腸内細菌叢のバランスを改善する製剤として認識されており、家畜においては主に成長促進や消化管機能改善を目的として投与されている。特に、若齢の牛や豚では腸内細菌叢が不安定で下痢を発症しやすいといわれており、子牛ではその予防および治療の目的で投与されることが多い。このようなことから、近年、その使用頻度は急速に高まっているが、効果について臨床症状以外の面から客観的に評価した報告は少ない。そこで今回、牛の第一胃機能改善効果が確認されている生菌剤を子牛に投与し、腸内細菌叢に対する影響を調査検討した。

[材料と方法]

市場導入F1種子牛51頭および自家産黒毛和種子牛29頭を供試牛とした。F1種の試験群には導入時より20日間生菌剤（ボバクチン；ミヤリサン製薬）5g/dayを経口投与し（F1投与群、n=26、41.3±9.2日齢）、残りを非投与対照群とした（F1対照群、n=25、43.1±11.0日齢）。また、黒毛和種の試験群には生後10日齢より20日間ボバクチン10g/dayを経口投与し（黒毛投与群、n=18）、残りを非投与対照群とした（黒毛対照群、n=11）。試験開始日および試験終了日に血液（F1種は両群とも8頭ずつ）と糞便を採取し、血液および血液生化学検査、糞便中IgA濃度測定ならびにTRFLP法を用いた腸内細菌叢のク

ラスター解析（制限酵素：Msp I）を行った。また、一部の個体では試験終了日の糞便を用い *Clostridium butyricum* (MIYAIRI588；宮入菌) 検出を試みた。さらに、臨床的に治療を必要と診断された下痢症の発症頭数を調べた。それぞれの成績については、群ごとに試験前後（Wilcoxonの符号付順位和検定または対応のあるt検定）および群間（Mann-Whitney検定または対応のないt検定）で統計学的に比較した。

[成績]

血中IgG濃度：F1種投与群では、試験開始日よりも終了日で有意に上昇した（p<0.01）。黒毛和種対照群では、試験開始日よりも終了日で有意に減少した（p<0.05）。試験終了日では、黒毛和種対照群よりも黒毛和種投与群で有意に上昇した（p<0.01）。

BUN値：黒毛和種対照群では、試験開始日よりも終了日が低かったが、有意差はなかった（p=0.051）。試験終了日では黒毛和種対照群よりも黒毛和種投与群が高かったが、有意差はなかった（p=0.056）。

T-cho値：黒毛和種投与群では、試験開始日よりも終了日で有意に高かった（p<0.05）。試験開始日では、黒毛和種投与群よりも黒毛和種対照群のほうが有意に高かった（p<0.05）。

下痢発症率：F1種、黒毛和種とともに投与群、対照群で有意差はなかったが、F1投与群でやや低い傾向にあり、また試験期間内の発症はみ

られなかった。

糞便中IgA濃度：F1種投与群の試験開始日より終了時で減少したが、有意差は認められなかつた（ $p=0.074$ ）。F1種対照群では、試験開始日より終了時で有意に減少していた（ $p<0.01$ ）。黒毛和種投与群、対照群ともに試験終了日で上昇したが有意差は認められなかつた。

試験終了日糞便からの宮入菌検出結果：F1種では30.8%（8/26）、黒毛和種では50%（7/14）検出された。

TRFLP法におけるクラスター解析：F1種試験群において、試験開始日では両群とも各クラスターに幅広く分布したのに対し、試験終了日にはある程度一定のクラスターに集まる傾向が認められた（ $p<0.099$ ）。

[考察]

今回の成績より、ボバクチンは腸内環境をよ

り良好な状態にすることが示唆された。すなわち、投与群においては糞便から検出された菌種が試験終了日にはひとつのクラスターに集まる傾向を示したこと、同時に特に黒毛和種ではボバクチンが含む宮入菌が半数の個体から検出されたことにより、腸内細菌叢の安定化が促進されたものと推察された。さらに、栄養状態の指標となるT-choが黒毛和種投与群で試験後に有意に高い値を示したほか、BUNも投与群で高い傾向を示したことから、消化管の消化吸収機能亢進が推察された。一方、今回の成績では糞便中IgA濃度は個体のバラつきが大きく、生菌剤投与との関係を明らかにすることはできなかつた。同様に、生菌剤の下痢症発症予防効果を臨床的に裏付けることはできなかつた。

なお、現在黒毛和種のTRFLP法におけるクラスター解析と対照群の糞便を用いた宮入菌検出を進めているところである。

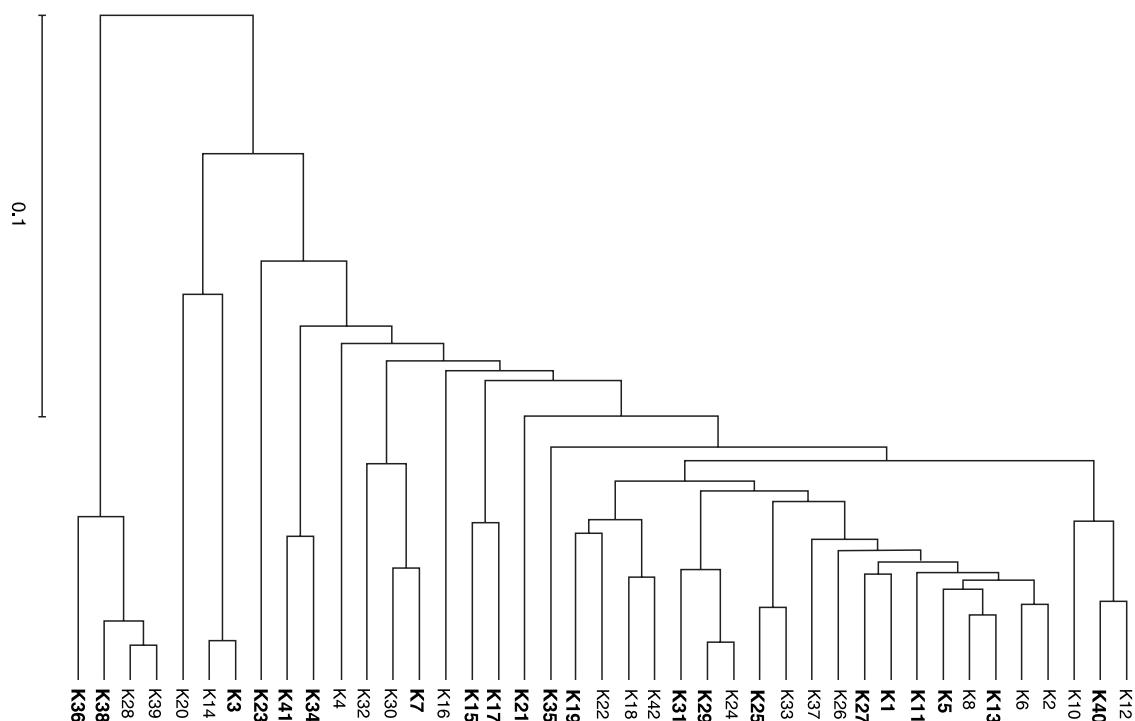


図1. F1種子牛の投与開始日糞便を用いたクラスター解析樹形図
(TRFLP法、制限酵素はMsp I、太字；投与群)

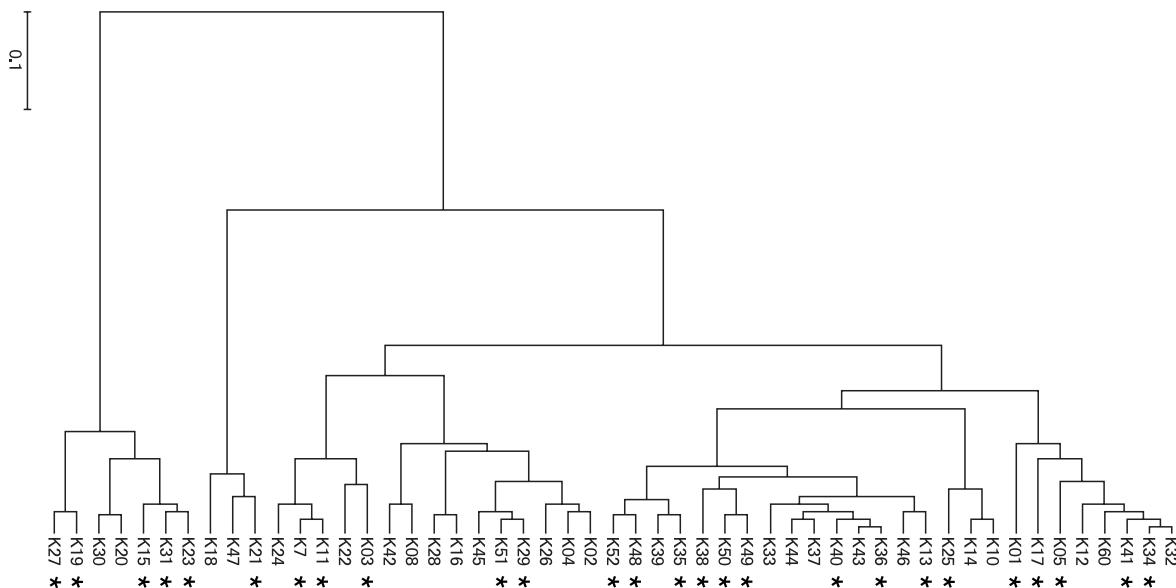


図2. F1種子牛の投与終了日糞便を用いたクラスター解析樹形図
(TRFLP法、制限酵素はMsp I 、 * ;投与群)

表1. 主な血液生化学検査成績

| 項目 | F1種試験群(n=8) | | F1種対照群(n=8) | |
|---------------|------------------------|---------------------------|-----------------------|------------------------|
| | 試験開始日 | 試験終了日 | 試験開始日 | 試験終了日 |
| BUN (mg/dl) | 11.0±3.1 (7.6~17.7) | 8.9±1.6 (6.6~11.3) | 9.0±2.4 (6.1~12.6) | 10.3±3.7 (5.5~17.2) |
| T-cho (mg/dl) | 115±35 a) (77~192) | 82±30 a) (38~109) | 123±47 b) (60~170) | 73±29 b) (43~120) |
| IgG(mg/ml) | 8.1±1.7 c) (60~170) | 11.4±1.6 c) (9.2~13.9) | 8.2±3.1 (5.0~12.6) | 9.3±2.8 (4.4~12.2) |

| 項目 | 黒毛和種試験群(n=18) | | 黒毛和種対照群(n=11) | |
|---------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|------------------------------|
| | 試験開始日 | 試験終了日 | 試験開始日 | 試験終了日 |
| BUN (mg/dl) | 12.4±5.1 (7.2~26.2) | 12.5±3.7 (7.0~21.0) | 11.5±5.3 (5.7~24.3) | 8.8±2.7 (4.8~12.1) |
| T-cho (mg/dl) | 83±29 a) c) (34~136) | 118±45 a) (27~202) | 115±27 c) (72~152) | 132±48 (69~207) |
| IgG(mg/ml) | 13.8±8.4 (1.9~26.5) | 9.3±3.8 c) (3.8~16.8) | 18.1±6.5 a) (8.4~28.4) | 14.1±2.8 a) c) (7.6~16.0) |

数字は平均値±標準偏差(範囲)、項目ごとに有意差あり:a-a,b-b;p<0.05, c-c; p<0.01

表2. 粪便中IgA濃度測定および宮入菌検出成績

| 項目 | F1種試験群(n=15) | | F1種対照群(n=13) | |
|-------------------------|---------------------|--------------------|----------------------|-------------------|
| | 試験開始日 | 試験終了日 | 試験開始日 | 試験終了日 |
| IgA ($\mu\text{g/g}$) | 1,389 (46~4,051) | 662 (3.3~3,764) | 2,019 (269~4,718) | 633 (55~3,652) |
| 宮入菌検出 (n=26) | — | 8/26(30.8%) | — | — |

| 項目 | 黒毛和種試験群(n=18) | | 黒毛和種対照群(n=10) | |
|-------------------------|-------------------|-------------------------|----------------------|--------------------------|
| | 試験開始日 | 試験終了日 | 試験開始日 | 試験終了日 |
| IgA ($\mu\text{g/g}$) | 857 (86~1,381) | 69,028 (135~524,300) | 1,948 (136~4,257) | 205,655 (380~791,735) |
| 宮入菌検出 (n=14) | — | 7/14(50.0%) | — | — |

(宮入菌は*C. butyrium*選択培地にて24時間嫌気培養して検出)

Effect of the oral administration of live bacterial agent on intestinal bacterial flora of calves

Jun Takahashi¹⁾, Junko Takahashi²⁾, Ai Tanaka¹⁾, Hiroshi Endo²⁾ and Toshihide Kato³⁾¹⁾ Chuou Food Animal Clinic, ²⁾ Okitama Food Animal Clinic, ³⁾ Veterinary Clinical Training Center, Yamagata Prefecture Federation of Agricultural Mutual Aid Association

(286-1 nanaura, yamagata-shi, yamagata, 990-2171)