

## 無線伝送式pHセンサーを用いた乳牛の亜急性第一胃アシドーシスの診断と制御に関する研究

木村 淳

### 要約

近年、生産性の向上を目指した濃厚飼料の多給や飼養管理の失宜によって、亜急性（潜在性）第一胃アシドーシス（SARA）の発生が問題となっている。SARAは、第一胃液pHが1日に3時間以上にわたっておおよそ5.6以下を呈する状態と定義されている。佐藤らは、臨床現場でのSARAの摘発を目的として、経口的に投与可能な無線伝送式pHセンサーを新たに開発した。しかしこのシステムは現在のところ、基礎的なデータの蓄積が少なく、臨床領域でのSARAの診断と制御を目的とした本システムの普及については多くの課題がある。そのためSARAの診断と制御に、無線伝送式pHセンサーを応用するための基礎的検討を行った。

キーワード：亜急性第一胃アシドーシス、無線伝送式pHセンサー

近年、急性アシドーシスとは病態が異なる亜急性第一胃アシドーシス（subacute rumen acidosis; SARA）が問題となっている。アメリカでは、泌乳初期牛～中期で19%～26%程度の発生があると報告されている [1, 2]。SARAの定義は第一胃液pHがおおよそ5.6以下となる時間が少なくとも3時間/日以上継続する状態である [3]。乳牛の飼養管理は、乾乳期から泌乳初期にかけて、低エネルギー・高繊維飼料から高エネルギー・低繊維飼料へと変更される。これに伴い、第一胃内で発酵酸の生成が増加するが、乳酸利用菌が十分に増殖していない場合や第一胃乳頭の増殖が十分でない場合にSARAが誘発される [4]。SARAの発生には濃厚飼料の多給や飼料給与の失宜など栄養管理上の問題が存在するため、SARA罹患牛群においては蹄葉炎、食欲減退、低乳脂肪症候群、第四胃変位や潰瘍、第一胃炎などが発生する [5, 6]。このため、SARAは牛個体の問題というより、牛群全体の問題と捉えられており、経済的損耗が大きい生産病である [4, 5]。

SARAの診断には第一胃液性状の検査が必須である。第一胃液採取の方法としては、カテーテルを用いた経口的採取法、または穿刺針による第一胃穿刺法が行われてきた [1, 7, 8]。経口カテーテルによる採取では、技術者および採取部位の違いによって第一胃液pHの

測定値が異なっており、第一胃穿刺では、採取による頻回穿刺に起因した腹膜炎や膿瘍誘発のリスクが伴うなど、第一胃液pHの測定には技術的問題が存在する [1]。そのため、第一胃液pHの測定は極めて重要であると認識されながら、臨床的に実施されないことが多かった。

牛の第一胃内恒常性は、発酵酸の生成と中和および吸収の均衡により維持されている。第一胃液pHは、この均衡の変動に鋭敏に反応するため、その測定は、第一胃環境のモニタリングにおいて極めて重要である。このことから、第一胃フィステルを介した有線型の第一胃留置型pH測定システムが開発され第一胃液pHの連続測定によって、SARAの病態に関する研究が行われてきた [1, 9-11]。

Satoら [12, 13] は、第一胃液pH測定の臨床的応用を目指し、外科的処置が不要で、経口的に投与可能な無線伝送式pHセンサーと第一胃液pH測定システムを新たに開発した。またこのセンサーを経口的に投与すると、第一胃底部に留置されることが、第一胃フィステル牛を用いた予備実験により明らかにされている。しかし、そのセンサーを用いたSARA病態解析への応用について十分なデータの蓄積がない。そのため乳牛の臨床領域において重要な課題となっているSARAの

診断と制御に、無線伝送式pHセンサーを応用するための基礎的検討を行った。

### 1. 無線伝送式pHセンサーおよび測定システムの構成

Satoら [12, 13] が開発した無線伝送式pH測定システムは牛の第一胃内に留置したpHセンサーからのデータを受信機で受信し、パーソナルコンピュータ (PC) に表示するものである。無線伝送式pHセンサーに内蔵されている電源はリチウムイオン電池 (3.6 V: 1700 mA) が使用されており、寿命は10分間隔で測定・送信を継続した場合、平均2.5カ月である。測定データ受信器は、無線式pHセンサーから送信されるデータ (無線電波) の受信、無線通信による無線式pHセンサーの動作条件や校正指示を行う。受信機は同時に最大8個までのpHセンサーのデータを受信可能である。無線式pHセンサーからの送信電波は、生体を通過する際に大きく減衰し、無線式pHセンサーと受信機の距離が制限されることがある。そのため、測定データ中継器を無線式pHセンサーの近傍に設置し、受信機との中継 (最大500m程度) を行う。専用アプリケーションは、無線式pHセンサーおよび測定データ受信器を制御するための専用ソフトウェアでWindows XP, Vista, Windows 7等のOS上で動作する。主な役割は、無線式pHセンサーからのデータ処理、パーソナルコンピュータディスプレイに結果の表示、ハードディスクに測定データの記録、無線式pHセンサーに対して測定周期や校正等の動作条件を設定することである。本無線システムは日本国電波法に定められている特定小電力無線 (429MHz帯) を採用し、無線システムは日本国内においては無線従事者資格がなくとも

運用が可能である。

### 2. pHセンサーと採取第一胃液pHの比較

Satoら [12] は、フィールドでの無線伝送式pHセンサーの有用性を検証するため、pHセンサーと第一胃フィステルから採取した第一胃液pH値を、それぞれの乾物中のデンプン濃度が、乾乳牛の水準、高泌乳牛の水準、第一胃アシドーシス誘発水準である3種類の異なる飼料を給与した牛で検討した。

採取第一胃液のpHは $6.36 \pm 0.23$  (96サンプル)、pHセンサーによるpHは $6.22 \pm 0.27$  (96サンプル) で、2つの方法による平均値の差は0.14であった。採取第一胃液pHとpHセンサーによる測定値との間に有意 ( $P < 0.01$ ) な正の相関 ( $r = 0.986$ ) が認められた (図1)。

AlZahalら [9] は、有線pHセンサーと採取第一胃液pHの測定値の差は、採材中における二酸化炭素および揮発性化合物の損失によると考察している。Satoら [12] の報告では、pHセンサーと採取第一胃液による測定値の差は0.14であり、AlZahalら [9] の報告した差 (0.07) に比べて大きかった。これは、AlZahalら [9] の実験では1種類の飼料を1頭の牛で1日3回の連続した3日間の測定値を比較しているのに対し、Satoら [12] の実験では4頭の牛で3種類の飼料給与前後の測定値を比較したため、AlZahalら [9] の報告より、pHセンサーと採取第一胃液による測定値に差が生じたと推測された。しかしこのような条件下ながら、無線伝送式pHセンサーと採取第一胃液のpH測定値との間に高い相関係数が認められ、無線伝送式pHセンサーによるpH測定値の精度が高いことが認められた。

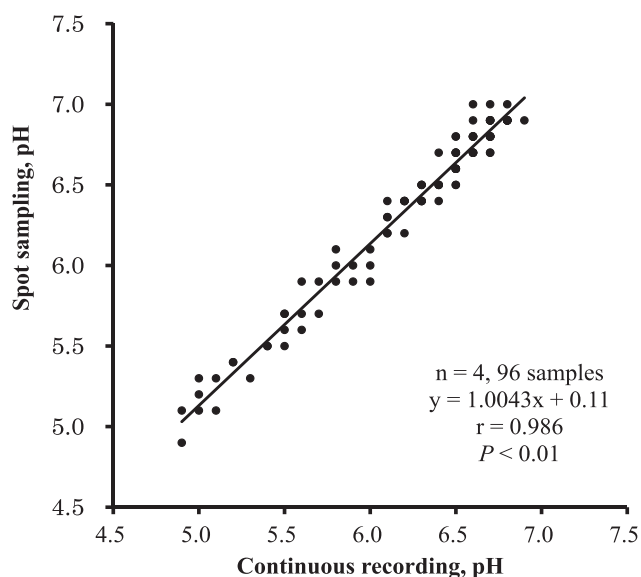


図1 pHセンサーと採取第一胃液におけるpHの比較 (Sato S, Mizuguchi H, Ito K, 2012)

### 3. 第一胃内の部位別および第一胃と第二胃液pHの比較

著者は、第一胃内の部位別および第一胃と第二胃液pHの比較について検討を行った。供試牛には第一胃フイステルを装着したホルスタイン種経産・非泌乳牛を用いた。実験期間の飼料は、粗飼料主体の飼料（対照飼料）と濃厚飼料主体の第一胃アシドーシス誘発飼料（RAI飼料）を用いた。給与スケジュールは、対照飼料とRAI飼料をそれぞれ2週間給与し、乾草のみを給与する2週間の休止期間を置いた後、群を入れ替え、再び2週間給与した。各飼料の給与は、等量を朝夕2回とし、飲水は自由とした。なお、第一胃固相部のpHの測定は、第一胃フイステルに有線式pHセンサーを固定して測定した。

対照飼料牛とRAI飼料牛の第一胃液および第二胃液pHの日内変動を比較した。対照飼料を与えた場合、各部位のpHは朝の給餌直後より穏やかに低下し始め、翌朝までに回復する傾向が見られ、pHは常時、第二胃>底部>固相部の順であった（図2）。一方、RAI飼料を与えた場合、各部位ともに午後に入ってから急

激にpHが低下し、対照飼料牛と異なり第一胃固相部よりも底部が低値となる時間帯が認められた（図2）。両飼料において第一胃液pHに比較し第二胃液pHが高値であった（図2）。

部位別のpHの関係を検討した結果、対照飼料給与期間において、第一胃固相部と第一胃底部および第一胃底部と第二胃において相関係数が有意（ $P<0.01$ ）であり、相関係数はそれぞれ0.409および0.826であった。一方、RAI飼料給与期間においても第一胃固相部と第一胃底部、第一胃固相部と第二胃および第一胃底部と第二胃において相関係数が有意（ $P<0.01$ ）であり、相関係数はそれぞれ0.894、0.764および0.797であった（表1）。

飼料変更による第一胃液pHの変化は、成牛におけるSARA誘発実験において確認されている [14, 15]。今回、飼料の変更による異なる第一胃液pHの変動が観察された。対照飼料の給与期間には、第一胃液pHは高値で安定して推移し、日内変動の最大値と最小値の差は小さかった。このことは、有効中性デタージェント繊維の高い飼料を給与すると、咀嚼時間が延長し、重炭酸塩やリン酸塩を含む唾液の分泌が促進され、さ

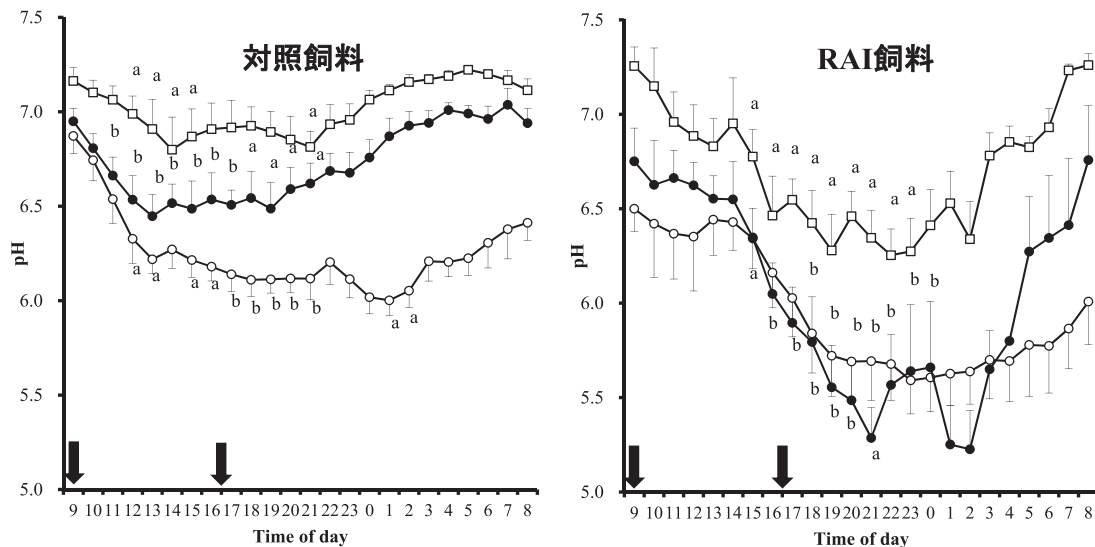


図2 第一胃および第二胃液pHの日内変動（給与飼料別）  
Mean±SEM (n=4). a:  $P<0.05$ , b:  $P<0.01$  (各部位9:00との有意差).  
第一胃固相部 (○), 第一胃底部 (●), 第二胃 (□).

表1 第一胃内の部位別および第二胃液pHの相関係数（給与飼料別）

	対照飼料			RAI 飼料		
	n	r	$P<$	n	r	$P<$
固相部VS.胃底部	4	0.409	0.01	4	0.894	0.01
固相部VS.第二胃	4	0.170	NS	4	0.764	0.01
胃底部VS.第二胃	4	0.826	0.01	4	0.797	0.01

576 サンプル, r: 相関係数

らには、有効中性デタージェント繊維は、第一胃液pHと正の相関関係にあることが報告されている [16, 17]. RAI飼料牛では、給餌後に第一胃液pHが速やかに低下する日内変動を示した。これは濃厚飼料に含まれる易発酵性炭水化物が第一胃内のデンプン分解菌に急速に分解され、発酵酸の生成が第一胃緩衝作用を凌駕したために第一胃内pHが低下したと考えられた [18].

Tafajら [19] は、第一胃マット表面から5-10cm部分の表層部、25-35cm下部の中央部および第一胃底より5-10cm上部の3カ所から内容物を採取し、その性状を比較した。その結果、第一胃マット表層部、中央部および第一胃底部の順に揮発性脂肪酸 (VFA) 濃度が高値となり、第一胃液pHはVFAと負の相関関係を示し、採取部位により第一胃液の性状が異なることを示した。また、今回の検索においてRAI飼料牛では、朝の給餌から夕方給餌の間の第一胃液pHは第一胃固相部と比較して第一胃底部が高値であったが、夕方の給餌後は、第一胃底部の方が低値であった。

これらのことは第一胃の部位および飼料内容により第一胃内環境が異なることを示唆している [1, 6, 20, 21]. 第二胃液pHは第一胃各部液pHと比較し、常に高値で推移した。Liら [21] は第一胃の頭側領域が食道に近接しており、唾液の緩衝作用を受けやすいためと考察している。第二胃と背嚢部は隣接しているため、第二胃液pHは第一胃各部液pHと比較し、高値であったと思われる。

#### 4. 第一胃および第二胃液pHによるSARAの診断

第一胃液pHと第二胃液pHを比較し、両部位の測定値が高い相関性を示すことが明らかになった。また、第二胃液pHは第一胃液pHと比較して有意な高値を示した。これらのことより、第二胃液のSARAの診断基準は、第一胃液pHによるSARAの診断基準と異なることが考えられる。また、無線伝送式pHセンサーを経口的に投与すると通常、第一胃底部に留置されるが、センサーが第二胃に移動する例が認められたため、第二胃におけるSARAの診断基準が必要となった。なお、センサーの位置の確認は、外部から金属探知器で容易にできることを予備試験において確認している。そのため、Satoら [22] は、第一胃フィステルを装着したホルスタイン種経産・非泌乳牛に対照飼料およびRAI飼料を給与し、無線伝送式pHセンサーを使用し、第一胃底部および第二胃液によるSARAの診断基準を検討した。

Satoら [22] の報告によるとRAI飼料牛の第一胃液pHは朝の給餌後、速やかに低下し、朝の給餌からお

およそ12時間後に5.4近くまで低下した。一方、対照飼料牛の第一胃液pHはRAI飼料牛と比較し、終日安定した高値を示した。RAI飼料牛の第二胃液pHは朝の給餌から約12時間後に6.2付近まで低下した。一方、対照飼料牛の第二胃液pHは第一胃液pH同様、RAI飼料牛と比較し、終日安定した高値を示した。第一胃液pHが5.6を3時間以上上下回った典型的なSARA牛の第二胃液pHは6.3を下回り、その持続時間はおよそ3時間であった。

第一胃液pHによるSARAの診断は1日のうち第一胃液pHがおよそ5.6を下回る持続時間によって判定される [3]. 今回、RAI飼料を与えることによって第一胃液pHが5.6を下回る時間が3時間以上認められたためSARAが誘発されたと判断した。このことは、pHセンサーが留置される第一胃底部におけるSARAの診断基準もpH < 5.6、持続時間は1日3時間以上が適切であることが明らかとなった。また、このような典型的なSARA牛では、第二胃液pHは3時間超にわたり6.3を下回った。このことは無線伝送式pHセンサーを用いた第二胃液pHによるSARAの診断基準は、pH < 6.3、持続時間は1日3時間以上が適した基準であることが、Satoら [22] らの報告により明らかとなった。従って、pHセンサーが第二胃に存在している場合でも応用可能であることが明らかとなった。

SARAによる影響を検討する上で考慮をしなくてはならないのは、第一胃環境と第一胃上皮である。第一胃液pHが6.0未満である状態が継続するとデンプン分解性の微生物の成長を促進し、セルロース分解性微生物の成長が抑制される。そのうえ、乳酸利用微生物の著しい増殖が第一胃液pH5.8で起こり、第一胃環境の変化が生じ始める [18, 23]. さらに、第一胃液pH 5.6で第一胃上皮に変化が生じる [3]. Steelら [24] は、乾乳牛を用い、粗飼料主体から濃厚飼料主体に変更した際の第一胃粘膜の形態的变化を観察し、飼料変更から1週間後、第一胃乳頭における角質層の広範囲な脱落および角質層と顆粒層の間に間隙が生ずることを認めている。このように、SARAは第一胃環境の変化によって生じる第一胃粘膜の変化に起因する病態である。

濃厚飼料は第一胃内で乳酸生成を増大させるが、それに伴いVFA産生量も増加する [25, 26]. この乳酸からのVFA産生が滞るとSARAが発症すると考えられる [26]. また、第一胃液pHの主なコントロールとして、頂端膜を介した第一胃内へのHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>の取り込みと血中への解離型短鎖脂肪酸 (SCFA) 放出、血中へのHSCFAの親油性拡散、第一胃上皮からの唾液と同レベルのHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>の分泌、モノカルボン酸供輸送体



を介した乳酸と水素イオンの排泄が主な第一胃内のpH緩衝作用として提唱されている。つまりVFA自体が緩衝剤としての作用を持つことが考えられている [18, 20].

以上のように第一胃上皮からの乳酸およびVFAの吸収もSARAの病態を考える上で重要である [26]. また第一胃上皮に生息する細菌叢は、第一胃内細菌叢と種類が異なり、飼料の違いにより変化することが明らかとなっている [27, 28]. 今後、SARAの病態解明のためにも、これらのさらなる解析が期待される [26].

無線伝送式pHセンサーは、野外の乳牛におけるSARAの診断と制御において有効なツールであり、高泌乳牛を対象とした栄養管理や牛群管理に広く応用可能である。また、無線伝送式pHセンサーは、家畜福祉の増進に寄与し、飼養管理の改善と濃厚飼料の効率的利用によって生産阻害要因を軽減して、我が国の酪農振興に貢献することが期待される。

本稿を終えるに臨み、多大なる御指導を賜りました岩手大学教授 佐藤繁先生に心から深謝いたします。

#### 引用文献

- [ 1 ] Duffield T, Plaizier JC, Fairfield A : Comparison of techniques for measurement of rumen pH in lactating dairy cows, *J Dairy Sci*, 87, 59-66 (2004)
- [ 2 ] Mulligan FJ, Doherty ML : Production diseases of the transition cow, *Vet J*, 176, 3-9 (2008)
- [ 3 ] Gozho GN, Plaizier JC, Krause DO : Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response, *J Dairy Sci*, 88, 1399-1403 (2005)
- [ 4 ] Kleen JL, Hooijer GA, Rehage J : Subacute ruminal acidosis (SARA), *J Vet Med*, 50, 406-414 (2003)
- [ 5 ] Enemark, JMD : The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA), *Vet J*, 176, 32-43 (2008)
- [ 6 ] Plaizier JC, Krause DO, Gozho GN : Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences, *Vet J*, 176, 21-31 (2009)
- [ 7 ] Bramley E, Lean IJ, Fulkerson WJ : The definition of acidosis in dairy herds predominantly fed on pasture and concentrates, *J Dairy Sci*, 91, 308-321 (2008)
- [ 8 ] Enemark J MD, Jorgensen RJ, Kristensen NB : An evaluation of parameters for the detection of subclinical rumen acidosis in dairy herds, *Vet Res Commun*, 28, 687-709 (2004)
- [ 9 ] AlZahal O, Rustomo B, Odongo NE : Technical note: a system for continuous recording of ruminal pH in cattle, *J Anim Sci*, 85, 213-217 (2007)
- [ 10 ] Marden JP, Bayourthe C, Enjalbert F : A new device for measuring kinetics of ruminal pH and redox potential in dairy cattle, *J Dairy Sci*, 88, 277-281, (2005)
- [ 11 ] Penner GB, Beauchemin K A, Mutsvangwa T : An evaluation of the accuracy and precision of a stand-alone submersible continuous ruminal pH measurement system, *J Dairy Sci*, 89, 2132-2140 (2006)
- [ 12 ] Sato S, Mizuguchi H, Ito K : Technical note : development and testing of a radio transmission pH measurement system for continuous monitoring of ruminal pH in cows, *Prev Vet Med*, 103, 274-279 (2012)
- [ 13 ] Sato S, Kimura A, Anan T : A radio transmission pH measurement system for continuous evaluation of fluid pH in the rumen of cows, *Vet Res Commun*, 36, 85-89 (2012)
- [ 14 ] Keunen JE, Plaizier JC, Kyriazakis L : Effects of a subacute ruminal acidosis model on the diet selection of dairy cows, *J Dairy Sci*, 85, 3304-3313 (2002)
- [ 15 ] Oba M, Allen MS : Extent of hypophagia caused by propionate infusion is related to plasma glucose concentration in lactating dairy cows, *J Nutr*, 133, 1105-1112 (2003)
- [ 16 ] Mertens DR : Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows, *J Dairy Sci*, 80, 1463-1481 (1997)
- [ 17 ] Yang WZ, Beauchemin KA : Effects of physically effective fiber on chewing activity and ruminal pH of dairy cows fed diets based on barley silage, *J Dairy Sci*, 89, 217-28 (2006)
- [ 18 ] Aschenbach JR, Penner GB, Stumpff F : Ruminant nutrition symposium: role of fermentation acidabsorption in the regulation of ruminal pH, *J Anim Sci*, 89, 1092-1107 (2011)
- [ 19 ] Tafaj M, Junck B, Maulbetsch A : Digesta characteristics of dorsal, middle and ventral

- rumen of cows fed with different hay qualities and concentrate levels, Arch Anim Nutr, 58, 325-42 (2004)
- [20] Krause MK, Oetzel GR : Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds, Anim Feed Sci Technol, 126, 215-236 (2006)
- [21] Li M, Penner GB, Hernandez-Sanabria E : Effects of sampling location and time, and host animal on assessment of bacterial diversity and fermentation parameters in the bovine rumen, J Appl Microbiol, 107, 1924-1934 (2009)
- [22] Shigeru S, Ikeda A, Tuchiya Y : Diagnosis of subacute ruminal acidosis (SARA) by continuous reticular pH measurements in cows, Vet Res Commun, 36, 201-205 (2012)
- [23] Mackie RI, Gilchrist FM : Changes in lactate-producing and lactate-utilizing bacteria in relation to pH in the rumen of sheep during stepwise adaptation to a high-concentrate diet, Appl Environ Microbiol, 38, 422-430 (1979)
- [24] Steele MA, AlZahal O, Hook SE : Ruminal acidosis and the rapid onset of ruminal parakeratosis in a mature dairy cow : A case report, Acta Vet Scand, 51, 39 (2009)
- [25] Mackie RI, Gilchrist FMC, Heath S : An *in vivo* study of ruminal microorganisms influencing lactate turnover and its contribution to volatile fatty acid production, J Agric Sci, 103, 37-51 (1984)
- [26] 三森真琴 : 亜急性ルーメンアシドーシスにおけるルーメン微生物の動態, 日獣会誌, 65, 503-510 (2012)
- [27] Mitsumori M, Ajisaka N, Tajima K : Detection of Proteobacteria from the rumen by PCR using methanotrophspecific primers, Lett Appl Microbiol, 35, 251-255 (2002)
- [28] Chen Y, Penner GB, Li M : Changes in bacterial diversity associated with epithelial issue in the beef cow rumen during the transition to a highgrain diet, Appl Environ Microbiol, 77, 5770-5781 (2011)

## 文 献 抄 録

マイコプラズマ・ガリセプチカムおよび  
低病原性鳥インフルエンザ H3N8亜型ウイルスの  
混合感染に起因した鶏における病理学的病変

Stipkovits L, Glavits R, Palfi V, Beres A, Egyed L, Denes B, Somogyi M, Szathmary S  
(ハンガリー科学アカデミー獣医学研究所, ハンガリー)  
*Avian Pathol*, 49, 273-283 (2012)

実験条件下において、鶏にマイコプラズマ・ガリセプチカムおよび低病原性鳥インフルエンザ (LPAI) A型/マガモ/ハンガリー/19616/07 (H3N8) を感染させた。2つの鶏群は、マイコプラズマ・ガリセプチカム 1226株を噴霧された。7日後、一つの鶏群とマイコプラズマを感染させていない鶏群は、LPAI H3N8亜型ウイルスが接種された。マイコプラズマ・ガリセプチカムを感染させた残りのもう一方の鶏群は、対照群として残された。8日後、これらの鶏は安楽殺され、肉眼および組織学的病変について検索された。体重が測定され、マイコプラズマ接種およびウ

イルス接種の前、そして実験の最後には両病原体の感染を確認するために、抗マイコプラズマ抗体および抗ウイルス抗体の存在が検査された。マイコプラズマを感染させた鶏群では、抗マイコプラズマ・ガリセプチカム抗体が発現していたが、抗インフルエンザウイルス抗体は発現していなかった。インフルエンザウイルスを感染させた鶏群では、血清学的にこのウイルスに対してのみ陽性を示し、混合感染させた鶏群では両病原体に対する抗体が発現していた。LPAI H3N8亜型ウイルス感染では、体重減少や臨床症状は引き起こさず肉眼病変も認められなかった。マイコプラズマ・ガリセプチカム感染では、マイコプラズマ感染に特徴的な呼吸器症状、気嚢炎、腹膜炎引き起こされた。しかしながら、マイコプラズマ・ガリセプチカムを単独感染させた群よりもマイコプラズマ・ガリセプチカムおよびLPAI H3N8亜型を混合感染させた群の方が、臨床症状や病理学的病変、増体の減少などがさらに顕著であった。

(岩手大学獣医病理学研究室)