

βカロテン及びセレン欠乏による虚弱が疑われた肉用子牛の死亡多発事例

仙台家畜保健衛生所

塩原綾早、山梨祐未

はじめに

虚弱子牛症候群は吸乳欲の減退、起立困難等の虚弱症状を呈する子牛の総称で、発育不良や治療経過中の重症化、感染症の併発が多く、死亡率が高い。原因として母牛のエネルギー、タンパク質、ビタミン、ミネラル不足や、子牛の初乳成分の吸収不足があげられる²⁾。

中でもβカロテンはビタミンAの前駆物質で、免疫賦活作用を有し、新生子牛には主に初乳を介して移行し、βカロテン欠乏の子牛では下痢発生率や死亡率が高いとする報告がある³⁾。一方、セレンは必須微量元素の一つであり、胎盤や乳を介して子牛へと移行する。セレン欠乏は白筋症を起こす恐れがあり⁵⁾、また子牛の血清中のセレン濃度が低値であると虚弱子牛症候群の発生率や死亡率が高いとする報告がある²⁾。今回、県内の肉用牛農家においてβカロテン及びセレン欠乏が原因で子牛が虚弱となり、死亡が多発した事例について報告する。

発生状況

本事例は肉用牛一貫経営農場(繁殖75頭、育成12頭、子牛70頭、肥育120頭)で発生した。当該農場では牛伝染性リンパ腫対策のため、令和5年2月以降、子牛の飼養管理を変更しており、出生直後に母子分離をして人工初乳を1L給与したのち、子牛舎へと移動させ、2週間程度1日あたり人工初乳を1L、代用乳を500g給与していた。

例年、農場での子牛の死亡は年間1~2頭程度であったが、令和5年1月から3月の間で新生子牛31頭中8頭が死亡した。死亡子牛では低体温、水様下痢、横臥、吸乳欲の低下等の症状がみら

れた。

病性鑑定の実施

3月に死亡した子牛2例について病性鑑定を実施した。

1. 材料

1例目は3月3日に出生し、7日に急死した子牛(検体No.1)を剖検に供し、その双子(No.2)と母牛(No.3)を採血し、得られた血清を生化学的検査に供した。

2例目は3月9日に出生し、12日から黄色水様下痢を呈し、17日に死亡した子牛(No.4)を剖検に供し、No.4を死後採血、その母牛(No.5)を採血し、得られた血清を生化学的検査に供した。

2. 方法

No.1とNo.4について病理学的検査、細菌学的検査を、No.1~5についてウイルス学的検査と生化学的検査を実施した。

病理学的検査では、定法に従いホルマリン固定及びパラフィン包埋を行い、ホルマリン固定パラフィン包埋組織標本について、No.1ではヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を実施し、No.4ではHE染色及び大腸菌O89抗体を用いた免疫染色を実施した。

細菌学的検査では、一般細菌検査として肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、大脳、延髄及び腸間膜リンパ節の好気培養と嫌気培養を実施し、PCRで大腸菌の同定を行った。定量培養検査として小腸内容物で好気培養と嫌気培養を実施した。分離された大腸菌について、一濃度ディスク法による薬剤感受性試験、病原因子及びO群血清型別の遺伝子検査を実施した。

ウイルス学的検査では、nested-PCR、RT-PCR

によりアカバネウイルス、アインウイルス、ブルータングウイルス、イバラキウイルス、チュウザンウイルス、A 群・B 群・C 群ロタウイルス、牛コロナウイルス、牛トロウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルスの遺伝子検査を、中和試験によりアカバネウイルスの抗体検査を実施した。

生化学的検査では、No.2～5 の血清を用いてドライケミストリー法(富士フィルムメディカル、富士ドライケム NX500V)により血液生化学的検査(TP、A/G 比、T-Cho)、アガロースゲル電気泳動法(株式会社ヘレナ、クイックジェル SP)により血清蛋白分画の測定を行った。また、血清(No.2～5)と肝臓(No.1)を用いて高速液体クロマトグラフィー法(日立ハイテック、日立 L2000)によるβカロテン、ビタミン A(血清はレチノール、肝臓はレチノールとビタミン A パルミテート)、ビタミン E の測定、蛍光検出フローインジェクション法によるセレンの測定を実施した。

3. 結果

(1)1 例目

外貌・剖検所見:17.8kg と低体重であり、胸腺がやや小格であった。

組織学的所見:左側後肢骨格筋にて横紋の消失と硝子様変性が認められた。頸部胸腺は低形成で、全身の諸リンパ節においてリンパ球の減少が認められた。また、腎臓系球体で多数の血栓形成が認められた。

細菌学的検査:肺・延髄・腸間膜リンパ節から ExPEC 病原因子を持つ大腸菌が分離され、血清型 OgUT と判定された。

ウイルス学的検査:小腸内容から牛トロウイルスと A 群ロタウイルスの遺伝子が検出された。

生化学的検査:No.1 はレチノール、ビタミン A パルミテート濃度が低値、セレン濃度は欠乏値を示した。No.2 は TP、γ-Glb、T-Cho 及び血清中βカロテン濃度が低値、セレン濃度が欠乏値を示

した。No.3 は血清中セレン濃度が低値を示した。

(表 1)

表 1 1 例目の生化学的検査結果

検査項目	単位	基準値		1	2	3
		子牛	成牛	死亡子牛 肝臓	1の双子 血清	1の母 血清
TP	g/dl	5.1~	6.5~7.5	NT	4.6 ↓	7.6
γ-Glb	g/dl	0.9~2.1	1.69~ 2.25	NT	0.37 ↓	1.66
A/G比	-	0.84~0.94		NT	1.71 ↑	0.85
T-CHO	mg/dl	69~123	80~300	NT	62 ↓	199
βカロテン	血清: μg/dl	20~175		検出限界 以下 ↓	3.83 ↓	278.01
	肝臓: μg/g	-				
ビタミンA パルミテート	血清: IU/dl	血清: 33.3~	血清: 90~150	1.78 ↓	34.88	92.54
	肝臓: μg/g	肝臓: 10~50	肝臓: 50~300	0.10 ↓	NT	NT
	μg/g	156~350 1.92μg/g~		7.52	298.73	483.18
ビタミンE	血清: μg/dl	156~350		7.52	298.73	483.18
	肝臓: μg/g	1.92μg/g~				
セレン	血清: ng/ml	70~	70~	0.7 ↓	32.8 ↓	41.2 ↓
	肝臓: μg/g	2.3~8.0	1.25~			

NT: 未実施

(2)2 例目

外貌・剖検所見:23kg で低体重であり、胸腺が小格であった。

組織学的所見:胸部胸腺は脂肪組織に置換されており、萎縮と診断された。また、左側腎臓腎盂(腎乳頭)にて、化膿性線維素性の炎症像と大腸菌 O89 抗原陽性像がみられた。

細菌学的検査:肝臓、脾臓、腎臓、大脳、脊髄及び小腸内容から ExPEC 病原因子を持つ大腸菌が分離され、血清型 O89 と判定された。

ウイルス学的検査:小腸内容から牛コロナウイルス遺伝子が検出された。

生化学的検査: No.4 は γ-Glb、T-Cho 及び A/G 比が高値で、血清中βカロテン濃度、肝臓中レチノール・ビタミン A パルミテート濃度が低値、肝臓中セレン濃度は欠乏値を示した。No.5 は血清中レチノールが低値であった。(表 2)

表 2 2 例目の生化学的検査結果

検査項目	単位	基準値		4	5	
		子牛	成牛	死亡子牛 血清 (死後採血)	4の母 血清	
TP	g/dl	5.1~	6.5~7.5	5.2	7.1	
γ-Glb	g/dl	0.9~2.1	1.69~ 2.25	0.49 ↓	2.46	
A/G比	-	0.84~0.94		1.89 ↑	0.69	
T-CHO	mg/dl	69~123	80~300	43 ↓	109.0	
βカロテン	血清: μg/dl	20~175		検出限界 以下 ↓	検出限界 以下 ↓	85.35
	肝臓: μg/g	-				
ビタミンA パルミテート	血清: IU/dl	血清: 33.3~	血清: 90~150	26.76 ↓	0.03 ↓	40.80 ↓
	肝臓: μg/g	肝臓: 10~50	肝臓: 50~300	NT	検出限界 以下 ↓	NT
	μg/g	156~350 1.92μg/g~		216.89	51.04	230.20
セレン	血清: ng/ml	70~	70~	60.1	0.9 ↓	71.4
	肝臓: μg/g	2.3~8.0	1.25~			

NT: 未実施

4. 判定及び考察

1 例目はセレン欠乏と骨格筋の一部で硝子様変性がみられ、白筋症と診断された。2 例目も肝臓のセレン濃度からセレン欠乏値を示した。また 2 事例ともビタミン A と β カロテンの低値に加えて γ -Glb と T-Cho 低値、A/G 比高値で、さらに胸腺低形成もしくは萎縮が認められた。一方で、1 例目は大腸菌 OgUT による敗血症、2 例目は大腸菌 Og89 による化膿性線維素性腎盂腎炎と牛コロナウイルス病と診断され、両者の病原因子に共通点は見られなかった。

新生子牛は IgG やビタミンを主に初乳を介して獲得することから²³⁾、両事例とも初乳摂取不足と考えられた。また、虚弱子牛症候群では胸腺萎縮を認めるとする報告があり²⁾、本事例においてもビタミンやセレン欠乏が子牛の虚弱を誘発し、死亡多発に関与した可能性が考えられた。

農場で実施した対策

農場では子牛の死亡多発後に以下の対策を実施した。まず、令和 4 年 11 月頃に母牛に給与していた粗飼料の品質が悪かったため、品質の良いものへと徐々に変更した。また、子牛の飼養管理について、令和 5 年 3 月 8 日頃以降、人工初乳の給与は継続しつつ、代用乳の給与を中止し、2 週間程度母子を同居させるという従来の飼養管理に変更した。その結果、飼養管理を変更した子牛は死亡せず、2 ヶ月後には下痢等の症状を示す子牛もいなくなった。(図 1)



図 1 農場で実施した対策

飼養管理変更前後の子牛の比較

1. 材料

飼養管理変更前後の子牛を比較するため、60 日齢未満の子牛について、飼養管理変更前(3 月 8 日採材:n=1、23 日採材:n=3)、変更 2 週間後(23 日採材:n=5)、変更 2 ヶ月後(5 月 15 日採材:n=6)の 3 つの群に分け、採血を実施し、得られた血清を供した。(図 2)

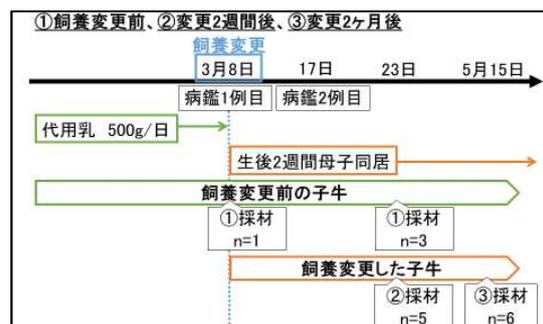


図 2 飼養変更前、変更 2 週間後、2 ヶ月後の子牛の採材

2. 方法

血液生化学検査、血清蛋白分画測定、脂溶性ビタミン測定、セレン測定を実施し、飼養管理変更前、変更 2 週間後、変更 2 ヶ月後の 3 群で Kruskal-Wallis 検定及び Steel-Dwass 検定で比較し、 $p < 0.1$ を傾向あり、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。データ解析には統計ソフト EZR を用いた。

3. 結果

変更前と変更 2 ヶ月後を比較すると、TP と γ -Glb は 2 ヶ月後で増加傾向を示した($p < 0.1$)。 β カロテンは変更前の中央値が $1.57 \mu\text{g}/\text{dl}$ 、2 ヶ月後が $6.55 \mu\text{g}/\text{dl}$ で、2 ヶ月後で有意に増加していた($p < 0.05$)。

変更 2 週間後と 2 ヶ月後を比較すると、T-Cho は 2 ヶ月後で増加傾向を示した($p < 0.1$)。セレンは 2 週間後の中央値が $33.2 \text{ng}/\text{ml}$ 、2 ヶ月後が $51.2 \text{ng}/\text{ml}$ で、2 ヶ月後で有意に増加した($p < 0.05$)。(図 3)

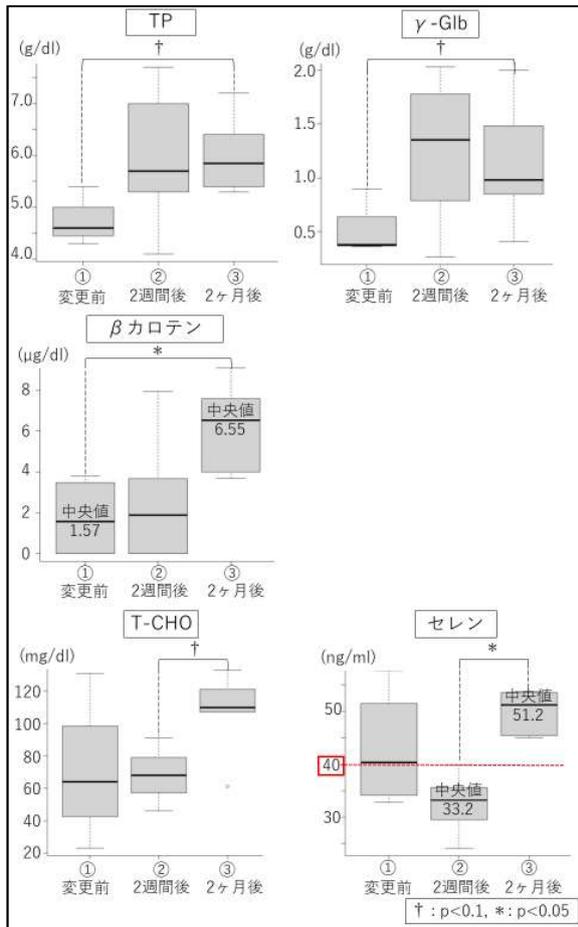


図3 飼養管理変更前・変更2週間後・2ヶ月後の血液生化学性状

4. まとめ及び考察

飼養管理変更前と変更2ヶ月後を比較したところ、2ヶ月後のTPとγ-Glbが増加傾向にあり、βカロテン濃度が有意に高かったことから、変更前の子牛は初乳摂取不足でβカロテンが欠乏していたと考えられた。βカロテンはホルスタイン種でリンパ球の増殖、ネズミで胸腺の発育等、免疫力に関与するとの報告があることから¹⁾、変更前の子牛は免疫力が低下していたと考えられた。また、対策の2週間後と2ヶ月後を比較したところ、T-Choは増加傾向にあり、セレン濃度の中央値は33.2ng/mlから51.2ng/mlと有意に増加した。血清中セレン濃度は40ng/mlを下回ると虚弱子牛症候群の発生率や死亡率が高くなるとの報告があることから²⁾、2週間後の子牛は虚弱の状態にあった

可能性が考えられた。小形ら⁴⁾は子牛のセレンは母牛から胎盤や乳を介して移行し、母牛のセレンと相関すると報告している。本農場では、母牛への低品質粗飼料の給与時期と死亡子牛の在胎期間がほぼ重なっていたことから、母牛の低品質粗飼料の影響で子牛がセレン不足となったと考えられた。

以上のことから、本事例はβカロテン不足という子牛側の要因とセレン不足という母牛側の要因が重なり、子牛の虚弱が誘発され、感染症の合併と、下痢や死亡の多発へと発展した可能性が考えられた。虚弱子牛の予防には母牛と子牛両方の適切な栄養管理が必要で、母牛の栄養状態は胎子の発育のみならず初乳の品質にも影響を与えることから、特に母牛の分娩前後の栄養管理が重要と考えられた。

得られた知見は今後の病性鑑定や、農場の指導に活用していきたい。

引用文献

- 1) Chew B.: Role of Carotenoids in the Immune Response. *Journal of Dairy Science*. 76, 2804-2811(1993).
- 2) 家畜感染症会:新しい子牛の科学. 第1刷. 株式会社緑書房. 東京都(2021)
- 3) Kume S., Toharmat T.: Effect of colostrum β-carotene and vitamin A on vitamin and health status of newborn calves. *Livestock Production Science*. 68, 61-65 (2001).
- 4) 小形芳美、渡辺栄次、高橋純子、遠藤洋、熊田昇二、味戸忠春、遠藤健太郎、大橋秀一:東北6県における和牛新生子の血清中微量元素濃度と疾病発生との関係. *Biomed Res Trace Elements*. 21 (3), 163-170 (2010)
- 5) 辻本元:獣医内科学, 第2版. 206-207. 文永堂出版. 東京都(2014)