

【原 著】 産業動物

乳牛におけるフレッシュチェック時の 血中βヒドロキシ酪酸濃度と分娩後60日までの排卵との関連性

大脇 茂雄¹⁾ 安藤 寿²⁾ 今井俊太郎²⁾

1) NOSAIオホーツク佐呂間家畜診療所 (〒093-0507 常呂郡佐呂間町字東142番8)

2) NOSAIオホーツク北見家畜診療所 (〒099-0879 北見市美園497-1)

要 約

北見管内3農場で分娩した乳牛173頭について、分娩後約30日で一般的に行われているフレッシュチェック時に、ポータブル測定器を用いて血中βヒドロキシ酪酸 (BHBA) 濃度を測定した。分娩後60日までの排卵の有無、各個体の周産期疾病の有無、フレッシュチェック時の子宮腔内貯留物スコア、農場、分娩季節、初産牛か否かについても調査し、BHBA濃度との関連について検討した。分娩後60日までの排卵を目的変数とした多変量解析の結果、有意差が認められたものは、血中BHBA濃度1.8 mmol/lより高い個体 (調整済みオッズ比0.42、 $p=0.0258$)、秋に分娩した個体 (調整済みオッズ比2.91、 $p=0.0404$)、2産以上の経産牛 (調整済みオッズ比3.6、 $p=0.00204$) であった。分娩後約30日で行われるフレッシュチェック時の血中BHBA濃度の測定は、分娩後の排卵の有無を予見する上で有効な指標になりうることが示唆された。

キーワード：βヒドロキシ酪酸、排卵、多変量解析、乳牛、フレッシュチェック

-----北獣会誌 62, 69~72 (2018)

乳牛において、妊娠は経済的に重要な事象である。妊娠するためには卵巣において排卵が起こり、黄体が形成されることが必要である。しかしながら、同じ牛群内で、同じような管理で飼養されているにもかかわらず、分娩後早期に排卵し、黄体を形成する個体もいれば、排卵がなかなか起こらず黄体が長期に確認されない個体も存在する。この排卵にはエネルギーバランスや子宮の炎症などが関連するといわれている^[1]。

現在の乳牛はその高泌乳能力から、特に分娩後早期において負のエネルギーバランス状態になり、この状態にうまく適応できない場合にはケトーシスに陥るとされ、臨床症状を示す臨床型ケトーシスと、臨床症状を示さないが血中ケトン体の上昇が認められる潜在性ケトーシスに分類される^[2,3]。

潜在性ケトーシスを血中βヒドロキシ酪酸 (BHBA) 濃度が1.2~2.9 mmol/lと定義した調査において、分娩後16日目までの追跡採血の結果、発生率は4割を超えて

いたという報告がある^[4]ように、ケトーシスは多くの牛にとって陥りやすい疾病の一つともいえる。近年、血中BHBA濃度がポータブル測定器により高精度に測定可能となり、乳牛のケトーシスの診断においてもその有用性が示されている^[5]。

今回、個体の繁殖性を予見する目的で、繁殖検診において分娩後約30日で一般的に行われるフレッシュチェック (分娩後第1回目の直腸検査) 時に併せて、血中BHBA濃度を測定し、分娩後60日までの排卵の有無、各個体の周産期疾病の有無、フレッシュチェック時の子宮腔内貯留物スコア、農場、分娩季節、初産牛か否かなどとの関連性を調査した。

材料および方法

調査対象は、北見管内の3農場 (O、S、Y) において、2014年10月~2015年9月の1年間に分娩したホルスタイン種、雌牛173頭である。3農場はいずれもつなぎ

連絡担当者：大脇 茂雄 NOSAIオホーツク佐呂間家畜診療所

〒093-0507 常呂郡佐呂間町字東142-8

TEL : 01587-2-3545 FAX : 01587-2-2859 E-mail : s-oowaki@nosaiok.or.jp

牛舎（ニューヨークタイストール式）であり、O、Y農場は乳検加入農場、S農場は乳検非加入農場であった。O農場とY農場の305日乳量は、それぞれ11,350kgと12,253kgであった（2015年3月乳検）。

今回の調査では、フレッシュチェックから分娩後60日までおおむね14日間隔で直腸検査を行い、超音波診断装置（Easi Scan:BCF Technology, UK）を使用した直腸検査において、触診および画像診断にて卵巣を観察して黄体形成を確認した。また、直腸検査にて黄体形成が確認されていない個体でも、分娩後60日までに人工授精が行われていた場合は排卵があったとみなした。なお、分娩後60日までの授精に関して、定時人工授精プログラムは実施しておらず、すべて自然発情によるものである。

血中BHBA濃度の測定は、フレッシュチェック時に尾静脈より採血し、ポータブルBHBA・血糖測定器（Precision Xceed:アボットジャパン、東京）により全血を用いて即時に測定した。血中BHBA濃度は1.8 mmol/lをカットオフ値として分類した。

周産期疾病に関しては、オホーツク農業共済組合の電子カルテを参照し、分娩前後3週間における治療歴のある個体を抽出した。その際、全身症状を伴わない乳房炎は除いた。子宮腔内貯留物スコア（0～2）に関しては、小山の報告^[6]を参考にした（表1）。また、農場の内訳、分娩季節（春：3～5月、夏：6～8月、秋：9月～11月、冬：12月～2月）、初産牛か否かなどを調査した。

分娩後60日までの排卵を目的変数とし、その他調査項目を説明変数として単変量解析（Fisherの正確検定）および多変量解析（ロジスティック回帰分析）を行った。統計分析ソフトR（ver 2.2-3, <https://cran.r-project.org>）を使用した。

表1. 牛の分娩後の子宮腔内の貯留物スコア
（小山^[6]を参照）

子宮腔内の貯留物スコア	判定基準 （子宮腔内の超音波検査所見）
スコア 0	エコージェニックラインなし、もしくは小エコージェニックライン
スコア 1	強エコージェニックライン
スコア 2	吹雪状貯留物が多量に存在

結 果

フレッシュチェック時の血中BHBA濃度の測定は、分娩後平均29.03日（中央値29日、標準偏差5.31）で行われ、平均血中BHBA濃度は1.87 mmol/l（中央値1.4 mmol/l、標準偏差1.22）であった（図1）。

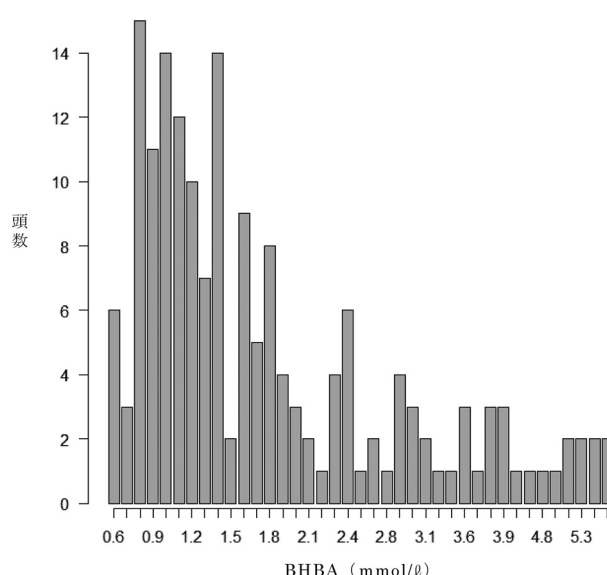


図1. フレッシュチェック時の血中BHBA濃度

周産期疾病が確認された個体は39頭、フレッシュチェック時の子宮腔内貯留物スコアの内訳はスコア0が142頭、スコア1が15頭、スコア2が16頭であった。農場の内訳はO農場60頭、S農場27頭、Y農場86頭であり、分娩季節の内訳は春51頭、夏57頭、秋38頭、冬27頭であった。初産牛は55頭、2産以上の経産牛は118頭であった。

各調査項目に関して、分娩後60日までの排卵との単変量解析（Fisherの正確検定）を行ったところ、有意差（ $p < 0.05$ ）が認められたものは「初産牛か否か」（ $p = 0.0148$ ）であった。1.8 mmol/lをカットオフ値としたフレッシュチェック時の血中BHBA濃度の p 値は0.131であった（表2）。

表2. 各調査項目と分娩後60日までの排卵に関する単変量解析の結果

	分娩後60日までの		p 値
	無排卵	排卵(黄体形成)	
BHBA < 1.8 mmol/l	30	78	0.131
BHBA > 1.8 mmol/l	29	39	
周産期疾病 なし	42	92	0.698
あり	14	25	
子宮腔内貯留物スコア 0	47	95	0.95
1	4	11	
2	5	11	
農場 O	16	44	0.518
S	9	18	
Y	31	55	
分娩季節 春	23	28	0.0782
夏	14	43	
秋	9	29	
冬	10	17	
初産牛	25	30	0.0148
2産以上の経産牛	31	87	

表3. 各調査項目における分娩後60日までの排卵を目的変数とした多変量解析の結果

	オッズ比	95%信頼区間	p値
BHBA <1.8 mmol/l	1		
>1.8 mmol/l	0.420	0.196-0.901	0.0258*
周産期疾病 なし	1		
あり	0.751	0.303-1.860	0.535
子宮腔内貯留物スコア 0	1		
1	1.220	0.340-4.390	0.759
2	1.290	0.366-4.560	0.691
農場 O	1		
S	0.746	0.253-0.200	0.597
Y	0.615	0.261-1.450	0.265
分娩季節 春	1		
夏	2.130	0.897-5.060	0.0866
秋	2.910	1.050-8.100	0.0404*
冬	1.360	0.492-3.740	0.556
初産牛	1		
2産以上の経産牛	3.600	1.600-8.140	0.00204*

多変量解析（ロジステック回帰分析）の結果、有意差（ $p < 0.05$ ）が認められたものは、血中BHBA濃度が1.8 mmol/lより高い個体（調整済みオッズ比0.42、95%信頼区間0.196-0.901、 p 値0.0258）、秋に分娩した個体（調整済みオッズ比2.91、95%信頼区間1.050-8.100、 p 値0.0404）、および2産以上の経産牛（調整済みオッズ比3.6、95%信頼区間1.600-8.140、 p 値0.00204）であった（表3）。

考 察

乳牛はその高い泌乳性から分娩後負のエネルギーバランス状態になり、臨床型、潜在性問わず、ケトーシスの罹患リスクは高くなっている。血中BHBA濃度1.2 mmol/lを基準とした場合、高いものでは40%以上の発生率であったとの報告がある^[4]。血中BHBA濃度に関しては、ポータブル測定器を使用した全血測定も、従来血清で測定される血中BHBA濃度と高い相関性と極めて高い感度、特異度が確認されていること^[5]から、信頼性が高く、かつ比較的安価であるため、酪農現場でよく測定されるようになってきている。今回は、酪農現場で安価かつ容易に測定可能なポータブル測定器による血中BHBA濃度を基にして、個体の繁殖性の予測に活用できないか検討した。既に分娩前後3週間である移行期における血中BHBA濃度と繁殖成績に関する研究は多く報告されている。分娩後7～21日で潜在性ケトーシスと診断された牛について、潜在性ケトーシスではない牛と比較して、発情行動の低下と発情期間の短縮が特に泌乳初期で認め

られ、初回発情や初回授精までの期間、妊娠までの期間が延長するという報告^[7]や、分娩後1～3週において測定された血中BHBA濃度と排卵との関連性があるとの報告もある^[1]。その一方で、分娩後3～16日における血中BHBA濃度1.2 mmol/l以上の個体と、そうでない個体の初回人工授精における受胎率は関連が認められなかった^[4]との報告や、分娩後1、2、3週において測定された血中BHBA濃度と初回授精での妊娠は関連性がなかったという報告^[8]、分娩後の継続的なBHBA測定の結果、初回授精に関して影響するのは分娩後1週目で血中BHBA濃度1.0 mmol/l以上、分娩後2週目で1.4 mmol/l以上のみであったという報告もある^[9]。国内での報告としては、分娩後7±2日における血中BHBA濃度を1.2 mmol/l未満、1.2 mmol/l以上3.0 mmol/l未満、3.0 mmol/l以上に分類し調査を行ったが、初回授精日数、受胎に要した平均授精回数、空胎日数においていずれも有意差は認められなかった^[10]。このように、分娩前後3週間である移行期における血中BHBA濃度と繁殖成績を調査した結果は、繁殖成績との関連性があるという報告と、関連性はないという報告が混在し、さらにその内容もさまざまであるのが現状である。加えて、日本における中小規模の酪農現場では分娩前後3週間である移行期にわざわざ個体を確認したうえで繋留して採血し、血中BHBA濃度を測定するという事は現実的ではない。そこで今回は、酪農現場での測定機会という観点と、血中BHBA濃度は分娩前後3週間である移行期よりも、実際に人工授精が行われる繁殖期間に近い時期に測定した方が、繁殖成績との関連性が顕著に表れるのではないかという観点から、繁殖検診で分娩後約1カ月において一般的に行われているフレッシュチェック時に採血を行い、血中BHBA濃度を測定した。今回、フレッシュチェック時の採血はおおむね分娩後約30日で行われた（平均29.03日、中央値29日）が、食欲など外観はまったく著変が認められないにもかかわらず、潜在性ケトーシスの指標とされる血中BHBA濃度1.2 mmol/lを超える個体が多く認められ、その平均は1.87 mmol/lであり、もっとも高い個体は5.0 mmol/lを超えていた。このように、今回の調査では、フレッシュチェックを行う分娩後約30日においても潜在性ケトーシスが一定程度存在し、負のエネルギーバランスの状態であると考えられた。測定器が小数点以下1桁での測定であるため、今回のカットオフ値は平均値の1.8 mmol/lに設定した。繁殖性の指標としては、分娩後60日までの排卵とし、分娩後60日までの黄体形成の確認もしくは自然発情によ

る人工授精により排卵があったとみなした。黄体形成および子宮腔内貯留物の確認はひとりの獣医師が超音波診断装置にて画像診断することでバイアスを除去した。加えて、分娩後60日までの人工授精の全ては、薬剤を使用した発情誘起や定時授精ではなく、畜主の発情発見による自然発情の人工授精であることも確認した。

多変量解析のために、血中BHBA濃度のほかに、周産期疾病、フレッシュチェック時の子宮腔内貯留物スコア、農場、分娩季節、初産牛か否かを調査した。単変量解析の結果、フレッシュチェック時の血中BHBA濃度に有意差は認められず ($p=0.131$)、有意差が認められたものは初産牛か否か、のみであった。多変量解析では、血中BHBA濃度が1.8 mmol/lを超える場合、分娩後60日までの排卵に有意な負の影響があることが示された(調整済みオッズ比0.42倍、 $p=0.0258$)。その他、多変量解析で分娩後60日までの排卵に有意な正の影響が認められたものとして、秋に分娩した個体(調整済みオッズ比2.91倍)、2産以上の経産牛(調整済みオッズ比3.6倍)があげられた。この理由としては初産牛においては分娩後においてもまだ自身の成長が継続されているため、繁殖にエネルギーを十分に配分できないことが関係しているのかもしれない。分娩季節の影響はその時期の問題、たとえば餌などの要因が関与している可能性も考えられたが、特定はできなかった。また、農場間での差や周産期疾病の有無に関しては、影響は認められなかった。

今回の調査の結果、フレッシュチェック時に牛を保定する機会を利用して血中BHBA濃度を測定することで、単変量解析では有意差は得られなかったが、多変量解析では分娩後60日までの排卵に対してある程度予見できることが示された。ポータブル測定器は比較的安価であり、尾静脈からの採血は牛にとってもストレスは少なく、酪農場への応用は容易であると考えられる。今回のカットオフ値は平均の1.8 mmol/lに設定したが、排卵の予見が可能かカットオフ値を農場ごとに設定しなければならないのかどうかは検討が必要であると考えられた。今後の課題としては、フレッシュチェック時に血中BHBA濃度を測定し、一定の濃度を超える個体は、無排卵のリスクが高い要注意個体として認識し、早期に治療などを行うことで、他の個体と同程度の排卵とその後の早期受胎が達成できるのかどうかを検討する必要性があると考えられた。

引用文献

- [1] Dubuc J, Duffield TF, Leslie KE, Walton JS, LeBlanc SJ: Risk factors and effects of postpartum anovulation in dairy cows, *J Dairy Sci*, 95, 1845-1854 (2012)
- [2] Baird GD: Primary ketosis in the high-producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook, *J Dairy Sci*, 65, 1-10 (1982)
- [3] Peek SF, Divers TJ: *Rebhun's Disease of dairy cattle*, 2nd ed, 590-596, Saunders Elsevier, USA
- [4] McArt JA, Nydam DV, Oetzel GR: Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle, *J Dairy Sci*, 95, 5056-5066 (2012)
- [5] Iwersen M, Falkenberg U, Voigtsberger R, Forderung D, Heuwieser W: Evaluation of an electronic cowside test to detect subclinical ketosis in dairy cows, *J Dairy Sci*, 92, 2618-24 (2009)
- [6] 小山 毅: 超音波画像診断による牛の子宮修復評価の試み、*北獣会誌*、56、10-15 (2012)
- [7] Rutherford AJ, Oikonomou G, Smith RF: The effect of subclinical ketosis on activity at estrus and reproductive performance in dairy cattle, *J Dairy Sci*, 99, 4808-4815 (2016)
- [8] Chapinal N, Carson ME, LeBlanc SJ, Leslie KE, Godden S, Capel M, Santos JEP, Overton MW, Duffield TF: The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance, *J Dairy Sci*, 95, 1301-1309 (2012)
- [9] Walsh RB, Walton JS, Kelton DF, LeBlanc SJ, Leslie KE, Duffield TF: The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows, *J Dairy Sci*, 90, 2788-2796 (2007)
- [10] 濱嶋洋輔、杉山友人、竹内基貴、水上佳大、宮島吉範、大藪康一、芳野和弘、伊藤泰孝、伊藤 貢、鈴木保宣: 乳牛における分娩後の血中 β -ヒドロキシ酪酸濃度と疾病発生および繁殖成績との関連、*家畜診療*、63、23-27 (2016)