

子牛育成技術の確立

(2) 敷料資材の水分含量が細菌の生育に及ぼす影響

島袋宏俊 知念雅昭 玉城政信 貝賀眞俊*

I 要 約

オガコと砂の2種類の敷料資材およびホルスタイン種搾乳牛の直腸便より分離した*Escherichia coli* (大腸菌)を用い、敷料の水分含量が大腸菌の生育に及ぼす影響について検討するため、試験管内においてオガコおよび砂の水分含量を調整し、各含水率の大腸菌数の定量およびpHの測定を試みたところ、以下の結果が得られた。

1. オガコの含水率が0%のとき大腸菌は検出されず、オガコの含水率が大きくなるにつれ大腸菌数が増え、大腸菌数対数(Y)と含水率(x)の関係は回帰直線 $Y=0.1732x+1.6122$ ($R^2=0.8927$)で示された。この回帰式より大腸菌数は含水率37.8%以上のとき接種時より増加し、これ未満のとき減少することが判明した。

また砂の含水率が0%のときは大腸菌は検出されず、0%以外での含水率では接種時とほぼ同数の大腸菌が検出された。

2. pHは敷料の水分含量には影響を受けずほぼ一定の値を示し、砂がオガコより高い傾向にあった。

II 緒 言

1995年度における沖縄県内の一歳未満の子牛の死産事故および病傷事故のうち56.2%および67.3%は消化器病が占めている¹⁾。消化器病のほとんどが下痢症で、下痢症の被害による損失は大きいと考えられる。

下痢症を引き起こす原因は多様であるが、感染病によるものとそうでないものに大別され、ほとんどの場合が何らかの病原体が関与しているものと考えられている²⁾。下痢症の発生を防止するためにはさまざまな原因を除外していくことが重要である。

それらの原因の中には大腸菌性下痢症のような細菌が下痢症の原因になることがある。細菌が生育するためにはある一定以上の水分が必要であり、それ以下の環境下では細菌の生育は阻害される³⁾ことから、敷料資材の水分含量が細菌性下痢の発生に大きな影響を与えるものと推察される。

そこで今回、敷料資材の水分含量と細菌の生育との関係について大腸菌を用いて検討したので報告する。

III 材料及び方法

1. 材 料

1) 供試敷料：供試敷料にはオガコおよび砂を用い、それぞれの乾物率は91.8%および99.8%であった。オガコは、2.7㎡の単牛房に厚さ5~10cm程度敷いて黒毛和種肉用牛1頭を生後2週間飼養したもので、乾物中の無機物含量4.7%のペイマツオガコ(オガコ)を用いた。また、砂は乾物中の無機物含量96.7%の白砂(砂)を用いた。

2) 供試菌：5頭のホルスタイン種搾乳牛の直腸便よりDHL寒天培地を用いて1頭につき5株計25株の*Escherichia coli* (大腸菌)と思われる乳糖分解性の赤色コロニーから菌株を採取し、純培養した後、市販同定キット(api 20 E)を用い、25株の大腸菌を同定した。そのうち同定率(%ID)が97.9%であった1株を選定し、使用するまで20%グリセリン加PPLLO液体培地を加え、-80℃で凍結保存した。

2. 方 法

1) 水分含量の調整：敷料の水分含量は試験管内において調整し、試料として使用する前に121℃15分間滅菌した。水分含量の調整は、72℃48時間乾燥した敷料を含水率0%とし、重量比により2%ごとにダルベッコのリン酸緩

* 沖縄県北部家畜保健衛生所

- 衝液 (PBS) を加え調整し、オガコについては2%から40%まで調整し (オガコ区)、砂については2%から16%まで調整した (砂区)。また水分調整した敷料は水分を一定に保つため、10gを50mlの遠沈管に分注し、密封した。
- 2) 大腸菌の接種：保存した大腸菌株はPPLO液体培地を用い37°C24時間培養し、その培養菌液を定量した結果、 1.45×10^{10} CFU/mlであった。その大腸菌液を水分調整した各敷料に0.2mlづつ接種した。その後よく攪拌して37°C24時間静置した。
- 3) 敷料のpHの測定および大腸菌の定量培養：40mlのPBSで希釈し攪拌した後、pHメーター (HANNA pH HI 8114) を用いてpHを測定した。またその希釈菌液をDHL寒天培地に接種し、37°C18時間定量培養した後、発育コロニー数を計数した。

IV 結 果

1. コロニー計数

オガコ区の水分含量と大腸菌数の関係は図-1に示すとおり、オガコの含水率が0%の時には大腸菌が検出されず、オガコの水分含量が増すにつれ菌数も増え、大腸菌数対数 (Y) と含水率 (X) の関係は回帰式 $Y = 0.1732X + 1.6122$ ($R^2 = 0.8927$) で示された。

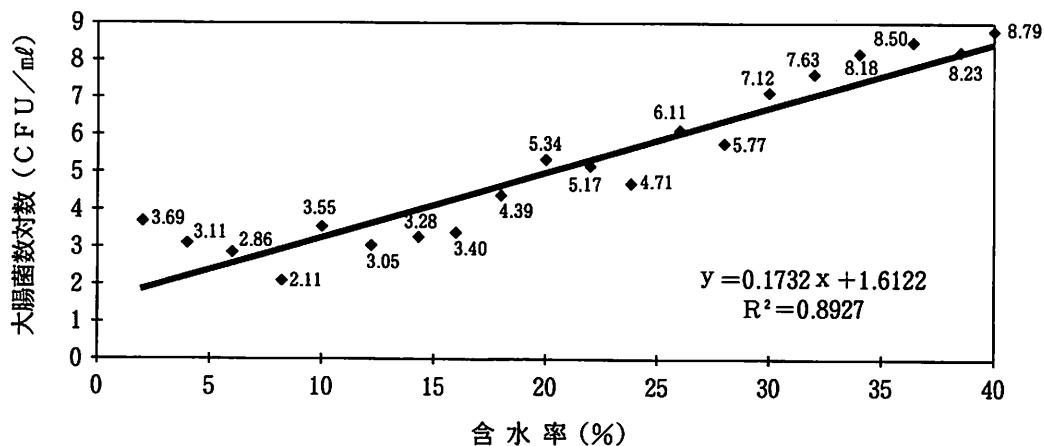


図-1 オガコの水分含量と大腸菌数の関係

砂区の水分含量と大腸菌数の関係は表-1に示すとおり、含水率が0%では大腸菌が検出されず、それ以外の含水率では 1.66×10^8 CFU/mlの大腸菌が検出された。

表-1 砂区の含水率と大腸菌数

含水率 (%)	大腸菌数 (CFU/ml)	大腸菌数対数 (CFU/ml)
0	0	-
2	79,783,333	7.90
4	591,333,333	8.77
6	33,025,000	7.52
8	140,725,000	8.15
10	136,750,000	8.14
12	118,300,000	8.07
14	123,025,000	8.09
16	106,000,000	8.03
平均値	166,117,708	8.08 ± 0.32

2. pHの測定

pHの敷料資材の水分含量には影響を受けずにほぼ一定しており、オガコ区が 6.62 ± 0.08 で、砂区が 7.73 ± 0.05 で、砂区がオガコ区より高い傾向にあった。なお、これらの値は大腸菌の生育至適範囲内であった。

V 考 察

オガコ区では含水率が大きくなると大腸菌数は増える傾向にあり、含水率と大腸菌数対数との関係は回帰式 $Y = 0.1732x + 1.6122$ で示された。今回は水分含量を調整した敷料に大腸菌を 2.90×10^8 CFU/ml 接種し、 37°C 24時間静置した後、200倍希釈した。かりに静置時に大腸菌の増殖と死滅がなければあるいは平衡状態にあるものと仮定すると、大腸菌数は 1.45×10^8 CFU/ml になり、その時のオガコの含水率を回帰式より求めると37.8%になる。オガコの水分含量がそれより低い含水率の場合は大腸菌が死滅し減少し始めているものと考察され、よって敷料としてオガコを使用し子牛を飼養する際、オガコの水分含量は含水率37.8%未満に保つようにすれば、大腸菌性下痢症の発生防止に効果があるものと考えられる。

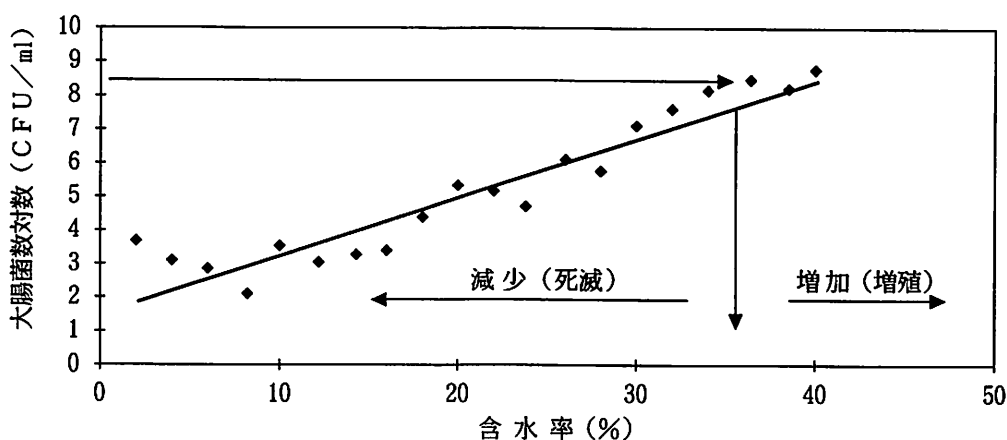


図-2 オガコの水分含量と大腸菌の増殖と死滅

砂区は含水率が0%の時大腸菌は検出されず、その他の含水率でほぼ一定数の大腸菌が 1.66×10^8 CFU/ml 検出され、ほぼ大腸菌を接種したときと同数の菌数になっていた。これは砂に2%の水分が含まれるとその水分は大腸菌の生育に利用されていることが示唆された。これらのことより砂を敷料に活用する際には、勾配を大きくし水はけをよくした環境下または砂を堆積した環境下で子牛を飼養することが望ましいと思われた。

VI 引用文献

- 1) 沖縄県家畜共済連合会家畜診療所、1996、内部資料
- 2) 清水高正・稲葉右二・小沼操・金川弘司・藤永徹・小好茂一、1988、牛病学、487～491、近代出版
- 3) 石井泰造、1996、微生物制御実用事典、15～16、フジ・テクノシステム