

5 . 科学の箱馬車

「pH 試験による簡便な分娩日の推定方法」および「非分娩馬への泌乳誘発処置」について

[JRA 日高育成牧場からの育成研究成果報告]

日本中央競馬会 日高育成牧場 専門役 頃末 憲治

JRA 日高育成牧場では、わが国の生産育成分野のレベルアップに資することを目的として、JRA ホームブリード（生産馬）やその母馬を用いて「母馬のお腹の中から競走馬までの一貫した調査研究や技術開発」を行い、その成果の普及・啓発に取り組んでいます。今回は生産地において関心の高い「pH 試験による簡便な分娩日の推定方法」、および育子放棄や出産後に母馬が死亡した場合の対応方法としての「非分娩馬への泌乳誘発処置」についてご紹介します。

pH 試験による簡便な分娩日の推定方法

1 . はじめに

サラブレッドの出産は、交配から受胎を経て、適切な栄養管理など細心の注意を払ってきた1年間の集大成であり、さらに、生まれてくる子馬は“高額な商品”であるために、ほとんどの牧場では人的な分娩介助を行っています。そのために、分娩が近づくと、徹夜での監視が一般的となっていますが、1頭の出産に対して1週間以上もの夜間監視が必要となることも珍しくなく、その労力とストレスは多大なものとなっています。

馬の妊娠期間は平均 335 日といわれていますが、個体差が大きく、320～360 日が正常範囲と考えられているために、交配日から算定した分娩予定日はあくまでも目安としかありません。また、胎子の成熟は分娩の 2～3 日前になってはじめて完了するといわれており、胎子が成熟するこの 2～3 日前に起こる兆候を把握することが、精度の高い分娩予知につながると考えられています。

生産牧場では繁殖牝馬ごとの過去における分娩前兆候の履歴を参考としながら、分娩予定日の約 2 週間前から注意深く観察し、分娩時期を推定するのが一般的です。主な分娩前兆候を以下に記します。乳房の成熟（腫脹）、漏乳（分娩に先立っての泌乳）、臀部の平坦化、外陰門部の弛緩、体温の低下（通常は朝よりも夕方の方が高い）。その他、機器等を必要とし、獣医師によって行われる分娩時期を推定する検査には、血清中プロゲステロン濃度の測定、乳汁カルシウム濃度の測定、子宮頸管の軟化の確認などがあります。これら分娩時期の推定方法のなかでも客観的かつ比較的信頼度が高いといわれている方法は、乳汁カルシウム濃度の測定です。この方法は、海外では一般的に普及しており、複数の簡易キットも市販されています。しかし、日本ではこの簡易キットは販売されておらず、前述の分娩前兆候に基づき経験的に分娩時期を推定しているために、1週間ほどの誤差が生じるのも珍しくない現状です。

JRA 日高育成牧場では、前述の方法以外による分娩時期の推定方法について検討した結果、市販の pH 試験紙（6.2～7.6 の範囲の測定が可能な pH-BTB 試験紙）による乳汁の pH 値を指標とする方

法が簡便かつ非常に精度が高いことが明らかとなりました。以下にその研究結果の概要を示します。

2. 材料と方法

供試馬はサラブレッド種妊娠馬 27 頭で、平均年齢は 9.1 ± 3.3 歳、平均体重は 663 ± 53 kg でした。供試馬のうち 2 頭は初産であり、その他の 25 頭は過去に出産経験 (2~10 回) がありました。乳汁は、pH 値が 7.0 未満になるまでは、1 日に 1 回、pH 値が 7.0 未満になってからは、1 日に 2 回採取しました。pH 値は 27 頭から得られた 222 検体について、測定範囲が 6.2~7.6 の pH 試験試 (pH - BTB、共立理化学研究所) を使用して、測定を実施しました。およそ 0.5ml の乳汁中に pH 試験試を 1 秒間浸し、指示薬部の色調の変化を標準色と比較して測定値としました。

分娩から逆算して 72、48、24 時間以内という 3 つの設定時間に分けて、pH 値が 6.4 以下になってから設定時間以内に分娩する確率の精度を客観的に評価するために、それぞれの設定時間における感度、特異度、陽性反応的中度および陰性反応的中度を算出しました。感度は設定時間以内に分娩した頭数のうち pH 値が 6.4 以下であった頭数の割合となり、特異度は設定時間以内に分娩しなかった頭数のうち pH 値が 6.4 に達していなかった頭数の割合となります。一方、陽性反応的中度は pH 値が 6.4 以下であった頭数のうち設定時間以内に分娩した頭数の割合となり、陰性反応的中度は pH 値が 6.4 に達していなかった頭数のうち設定時間以内に分娩しなかった頭数の割合となります。

3. 結果

分娩が近づくにつれて乳汁中の pH 値は下降する傾向を認めました (図 1)。設定時間を分娩の 24 時間以内とした場合の感度は 96.3% であり、設定時間を分娩の 72 時間以内とした場合の特異度は 99.3% でした。また、設定時間を分娩の 72 時間以内とした場合の陽性反応的中度、つまり pH 値が 6.4 以下であった場合に 72 時間以内に分娩する確率は 97.9% であり、設定時間を分娩の 24 時間以内とした場合の陰性反応的中度、つまり pH 値が 6.4 に達していなかった場合に 24 時間以内に分娩しない確率は 99.4% と非常に高い結果となりました (表 1)。

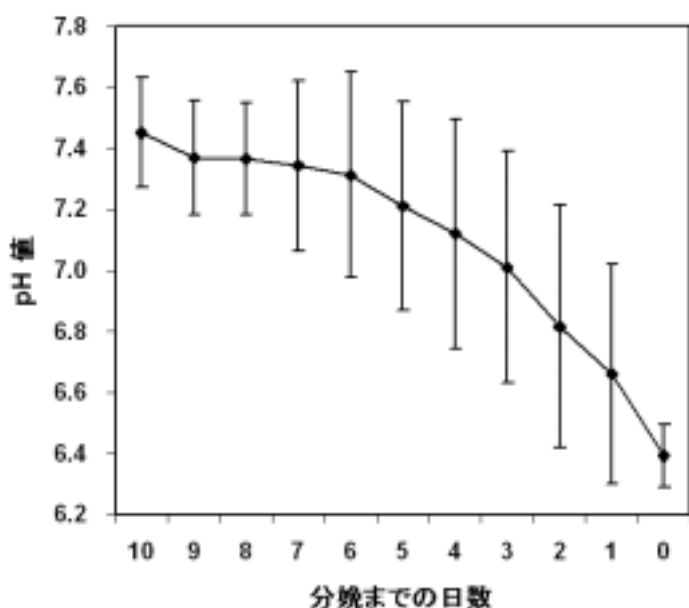


図 1 分娩 10 日前からの乳汁の pH 値の変化

表1 pH値による分娩日の予測方法の感度、特異度、陽性および陰性反応的中度

	分娩までの時間		
	24h	48h	72h
pH \leq 6.4/分娩(+)	26	41	47
pH \leq 6.4/分娩(-)	22	7	1
pH $>$ 6.4/分娩(+)	1	13	32
pH $>$ 6.4/分娩(-)	173	161	142
感度	96.3%	75.9%	59.5%
特異度	88.7%	95.8%	99.3%
陽性反応的中度	54.2%	85.4%	97.9%
陰性反応的中度	99.4%	92.5%	81.6%

4. 考察

近年、海外では乳汁中のカルシウム濃度の変化によって分娩時期を推定する検査キットが市販され、客観的な分娩時期の推定が可能となっています。この方法は、分娩日の予測よりも、むしろ分娩が起こらない日の予測としての精度の方が高く、牧場現場において夜間分娩監視の必要性の有無を判断する基準として非常に役立っています。

本研究では、pH値の変化によって分娩時期を推定する方法について検討しました。設定時間を分娩の72時間以内とした場合の陽性反応的中度は97.9%、そして24時間以内とした場合の陰性反応的中度は99.4%と高く、カルシウム濃度の測定による方法と同様に、分娩日の予測よりも、むしろ分娩が起こらない日の予測としての精度の方が高いという結果となりました。

結論として、pH値の測定に基づく分娩予知方法は基準値を6.4に設定することによって、分娩予知方法として海外で最も普及しているカルシウム濃度の測定に基づく方法と同様に、24時間以内に分娩が起こらないという予測、すなわち牧場現場において夜間分娩監視の必要性の有無を判断する基準としての有用性が非常に高いことが明らかとなりました。また、pH値の測定にはシリンジやピペットなどの器材が不要で、少量の乳汁（約0.5ml）での測定が可能であり、数秒間で客観的な評価が可能という測定手技の簡便性、さらに非常に安価であるという点において、カルシウム濃度の測定よりも利点が大きいため、牧場現場での応用に非常に優れています。

まとめ -

採乳方法

採乳者および乳頭の消毒

採乳前には必ず石ケン等で手・指を洗浄し、乳頭を逆性石ケンで濡らしたガーゼで拭きます。また、軽く乳頭をマッサージして、乳腺を活性化させます。

乳汁の採取

採乳側の後肢を後踏みさせてから採乳します。初産の場合には、必要であれば肩を取ったり、鼻ネジ、枠場での保定を行い、徐々に慣らしていきます。乳汁の採取は、新生子の吸乳に対する馴致にもなります。

乳汁中のゴミの除去

採取した容器から別の測定用の容器に移す際に、ガーゼでろ過し、ゴミを除去します。

pH 値の測定手順と分娩日の推定

pH 試験紙の実施

容器に入った乳汁中に pH-BTB 試験紙（6.2～7.6 の測定可能）を 1～2 秒浸します。

標準色との比較による pH 値の判定

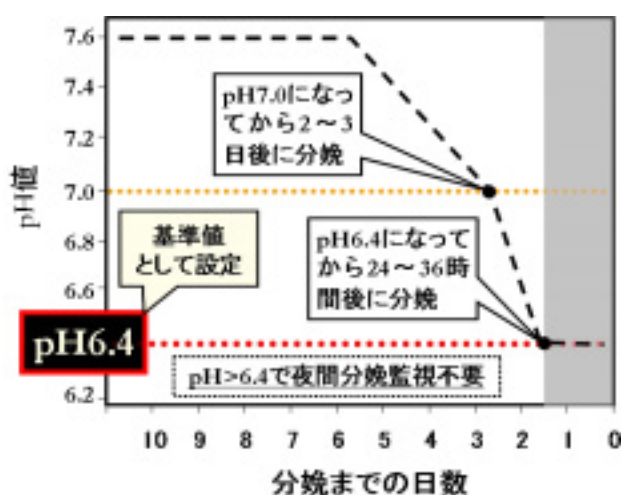
pH 試験紙を浸した直後の色調を標準色と比較して、乳汁の pH 値を確認します。

分娩日の推定

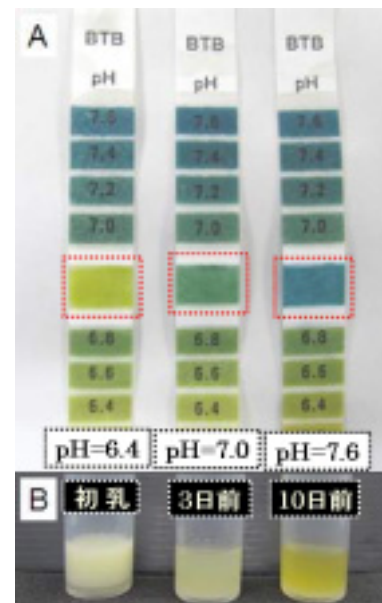
pH 値が 6.4 に達してから 48、72 時間以内に出産する確率はそれぞれ 85%、98% となります。

pH 値が 6.4 に達していなければ 24 時間以内に分娩する確率は 1% 未満となります。

つまり検査当日の「夜間分娩監視が不要」という判断基準となります。



分娩 10 日前からの乳汁の pH 値の推移
(イメージ図)



左から 6.4、7.0、7.6 の pH 試験紙の色調
の変化 (A) と対応する乳汁 (B)

非分娩馬への泌乳誘発処置

1. はじめに

馬においては、出産後に疝痛や子宮出血など様々な原因による母馬の斃死や、母馬の育子放棄も珍しくありません。この場合、残された子馬を育てるために、畜主は代用乳による人工哺乳を行うか、あるいは乳母を導入するかを選択しなければなりません。しかし、人工哺乳においては深夜の授乳の負担や、子馬の社会性の欠落などが、また、乳母の導入においては導入に際する高額な費用や、一般的に乳母として使用されている重種や中間種をサラブレッド種の孤児の乳母とする場合の乳量過多などがデメリットとして挙げられ、生産現場において大きな問題となっています。もし、前年不受胎であった空胎馬に泌乳を誘発し、乳母として導入が可能となるなら、これらの問題はほとんど解決されるにちがいありません。近年、非分娩馬に対して人為的に泌乳を誘発させ、子馬に適応させる試みが報告されていますが、サラブレッド種での報告はありません。今回、サラブレッド種非分娩馬に泌乳を誘発し、育子放棄された子馬の乳母として導入することに成功しましたので、その過程における内分泌の変化、泌乳量および乳母として保育した子馬の体重の推移について報告するとともに、今後の臨床現場での応用について検討しましたのでその概要を示します。

2. 材料と方法

人為的に泌乳誘発を試みた馬は、前年の出産後に未交配であり、過去に12産している20歳サラブレッド種でした。そして泌乳誘発後には母馬から育子放棄を受け孤児となり、人工哺乳を実施していた23日齢の子馬（サラブレッド種、牡）に対する乳母としての導入を試みました。なお、乳母として泌乳誘発馬を導入後も、子馬の発育を促すために1日に3~5回、4~5リットルの代用乳の給与を3週間併用しました。

ホルモン剤投与による泌乳処置は以下のとおり実施しました。

合成黄体ホルモン（Regu-mate）72mg/day（経口投与）および安息香酸エストラジオール（エストラジオール注「KS」）7.1mg/day（静脈注射）を14日間継続投与しました。なお、この継続投与の初日を処置1日目としました。

8日目には、安息香酸エストラジオール50mg（静脈注射）およびPGF2製剤クロプロステノール（プラネート）125μg（筋肉注射）を投与しました。

ドパミンD2受容体拮抗薬であるスルピリド（ピリカップル筋注）1mg/kg（筋肉注射）を8日目から21日目までの14日間、1日2回継続投与しました。

11日目から孤児に導入する14日目までの間、泌乳促進を目的として1日に5~7回の搾乳を実施しました。

3. 結果

【泌乳誘発処置による泌乳量】

泌乳誘発処置による泌乳誘発馬の泌乳量を調査するために、搾乳を開始した泌乳誘発処置開始後 11 日目から孤児に導入する 14 日目までの間の毎回の搾乳量を計測しました。毎回の搾乳量の変化は図 1 のとおりでした。1 日の総搾乳量は、搾乳を開始した 11 日目は 160 ml であり、12 日目および 13 日目には 900 ml および 1900ml と経時的に増加し、それとともに乳房も大きくなっていきました（写真 1）。さらに、14 日目の朝 6 時には 1 回の搾乳で 800ml の乳量を得られ、子馬を哺乳するのに十分量であると推測されたために、この後に乳母として子馬に導入しました。

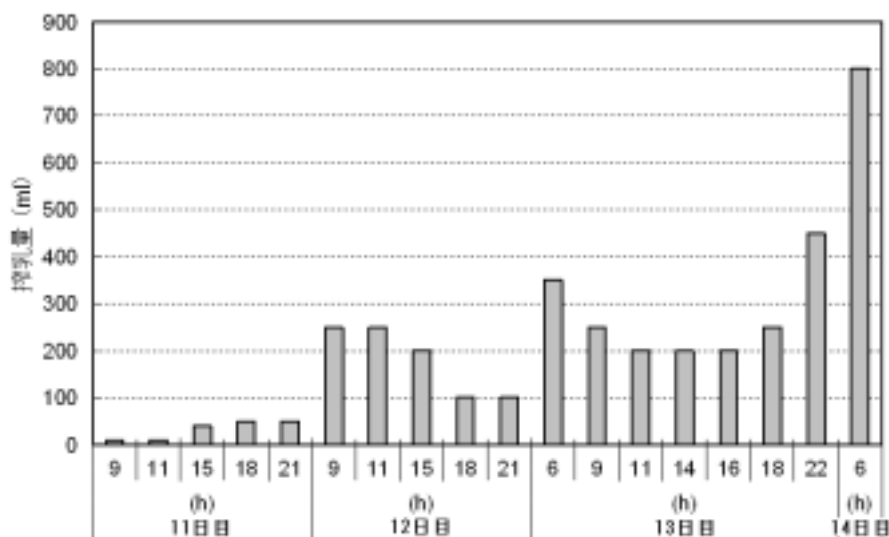


図 1 泌乳誘発処置後の搾乳量の変化

6 ~ 22 の数値は時刻を表す



写真 1 泌乳誘発処置前（左）と泌乳誘発処置 14 日目（右）の乳房の比較

【子馬の体重の推移】

子馬の生後 1 週目から 13 週目までの 1 日あたりの増体量の推移を図 2 に示しました。育子放棄を受けていた生後 1 週目の増体量は 0.33kg と対照群 (1.85kg) と比較して明らかに低くなりました。人工哺乳を開始した生後 2~3 週目、また、泌乳誘発馬を導入し、さらに補助的に人工哺乳の給与を併用した 4~6 週目の増体量は対照群と同程度でした。一方、人工哺乳を中止した 7 週目のみ明らかに低下しましたが、これは子馬が肺炎を発症したことが主因と考えられました。8 週目以降の増体量は対照群と同程度かやや低く推移しました。

生後 1 日齢から 51 週齢までの体重の推移を図 3 に示しました。生後 1 日齢の体重は、対照群と比較してすでに 8kg も小さかったのですが、これは母馬が初産であったことが原因であると考えら

れました。さらに、経時的に対照群との体重差が大きくなり、その差は12週齢において29kgと最大となりました。その後は徐々に体重差は小さくなり、離乳が行われた24週齢ではその差は17kgになり、さらに35週齢以降はほぼ同程度の体重の推移を認めました。

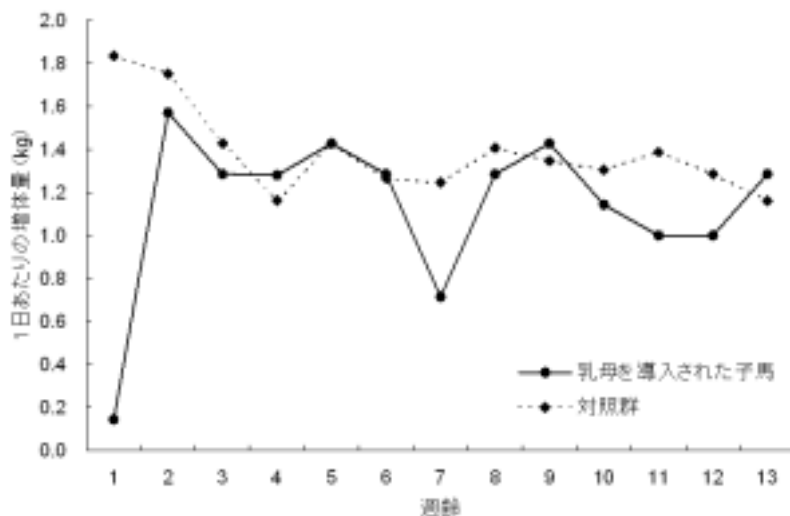


図2 泌乳誘発馬を導入した子馬の生後1週から13週までの1日あたりの増体量の推移

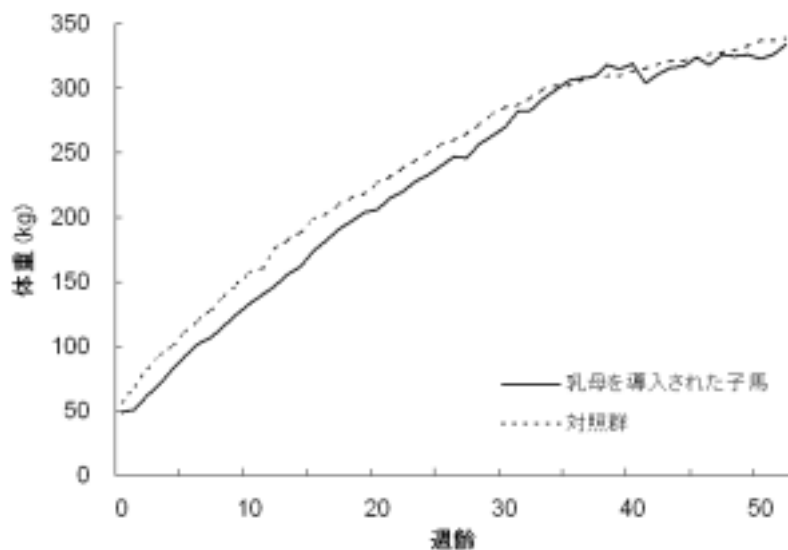


図3 泌乳誘発馬を導入した子馬の生後1日齢から51週齢までの体重の推移

4. 考察

本症例は、サラブレッド種非分娩馬に泌乳誘発を行い、育子放棄された子馬の乳母として導入し、成功した初めての報告であり、サラブレッド種非分娩馬であっても、泌乳誘発処置によって十分な血清中 PRL 濃度の上昇を認め、子馬を保育するのに十分量の泌乳誘発が可能であることが明らかとなりました。

一方、本症例での手法を臨床現場で応用する際には、2週間という泌乳誘発処置期間の短縮が望まれます。そこで、泌乳誘発処置期間の短縮について検討したところ、1週間の処置期間でも同程度の泌乳量を得ることができました。これらの1週間に短縮した泌乳誘発処置を含めた臨床現場で応用方法について以下にまとめます。この方法によって、もし何らかの理由で孤児となってしまった

場合に、同一牧場内において前年不受胎であった牝馬に人為的に泌乳誘発を行い、1週間後に乳母として孤児に導入できること、さらに、泌乳誘発処置終了後1週間程度で受胎、つまり翌年に出産できることが可能となります。この方法は、サラブレッド生産現場において経済面、防疫面、さらには動物倫理面の観点から非常に有益であり、臨床現場での応用が期待されます。

まとめ

ホルモン剤投与による泌乳誘発処置

処置開始1日目

合成黄体ホルモン（商品名：Regu-mate）72mg（経口投与）

安息香酸エストラジオール（商品名：エストラジオール注「KS」）50mg（静脈注射）

スルピリド（商品名：ピリカップル筋注）1mg/kg（筋肉注射）

PGF₂ 製剤クロプロステノール（商品名：プラネート）125 μg（筋肉注射）

処置開始2～7日目

合成黄体ホルモン（商品名：Regu-mate）72mg/日（経口投与）

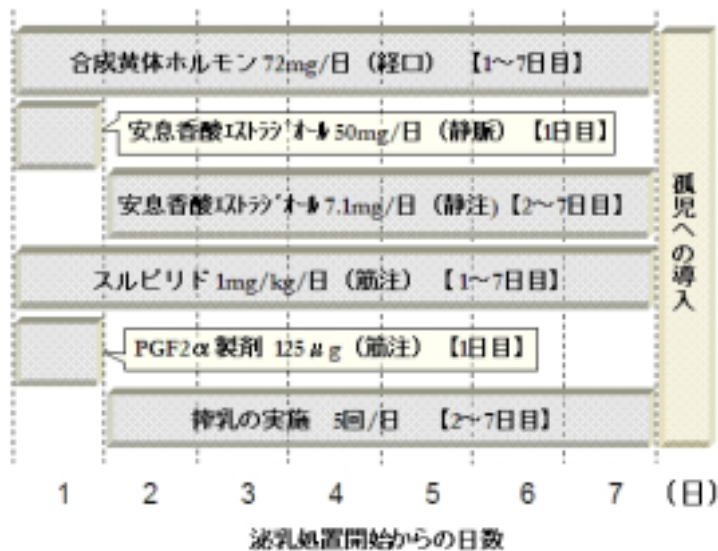
安息香酸エストラジオール（商品名：エストラジオール注「KS」）7.1mg/日（静脈注射）

スルピリド（商品名：ピリカップル筋注）1mg/kg/日（筋肉注射）

搾乳の実施

泌乳促進を目的として、処置開始2～7日目に1日に5回の搾乳を実施します。

1日あたりの総搾乳量が3～5リットルに達すれば、孤児への導入が可能となります。

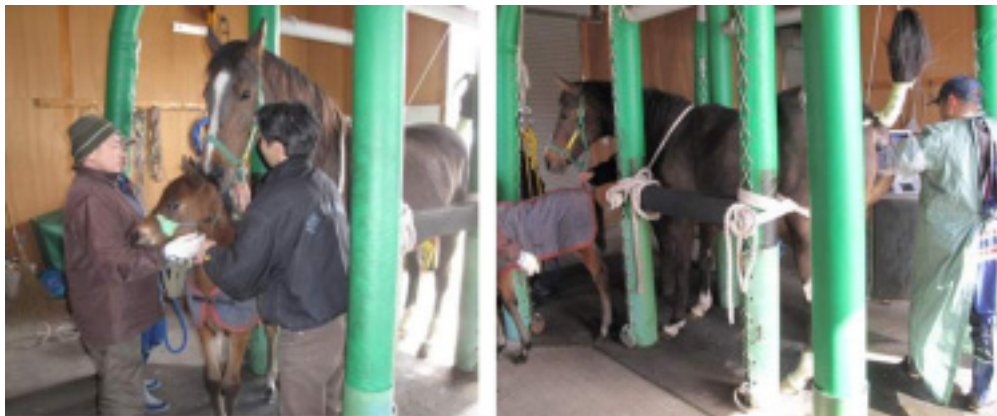


ホルモン剤投与による泌乳誘発処置方法

泌乳誘発後の乳母としての子馬への導入方法

母性の誘発のための子宮頸管刺激の実施

泌乳誘発馬を柵馬内に收容後、柵場前方の鼻面が届く範囲内に子馬を保定（写真左）し、拳を子宮頸管に挿入後、前後に動かしながら3分間の子宮頸管マッサージを10分間隔で2回実施します（写真右）。



子馬の安全を確保するための馬房内における簡易柵場の設置

導入後に乳母が子馬を威嚇あるいは攻撃する場合には、馬房内に簡易柵馬を設置したり（写真左中）乳母の胸の高さに設置した鉄パイプで馬房の真中を仕切り、子馬専用のスペースを確保して、子馬の安全を確保します（写真右）。



母性の誘発のための他馬との放牧

他馬や他の親子と同じ放牧地に放牧（写真左）あるいは隣接するパドックに放牧することによって、乳母が他馬から子馬を守ろうとして完全な母性が誘発される場合があります（写真右）。

