

## 研 究

## 黒毛和種子牛における非感染性下痢症への生菌剤の投与効果

福田 達也<sup>1)</sup>、松田 敬一<sup>2)</sup>、前田 洋佑<sup>3)</sup>、大塚浩通<sup>4)</sup>

1) 宮城県農業共済組合 県北家畜診療センター

2) 宮城県農業共済組合 家畜診療研修所

3) 北里大学 獣医学部

4) 酪農学園大学

## Ⅰ. はじめに

子牛の下痢症は臨床現場において最も頻繁に遭遇する疾病の一つであり、経済的損失も大きい疾病である。子牛の下痢症は、ウイルス、細菌、および寄生虫などにより発生する感染性下痢症とそれ以外の要因により発生する非感染性下痢症に分類される。その治療には原因に関わらず、抗生剤の使用が主流となっている。しかし、感染性下痢症のうちの細菌性下痢症以外への抗生剤の使用は原因療法ではなく、二次感染防止などの予防的投与であり抗生剤の慎重使用や食の安全安心の観点から望ましいものではない。子牛の下痢症のうち、細菌性下痢は少なく白痢に対して抗生剤を使用すべき指標は認められなかったとする報告<sup>1)</sup>、および耐性菌の発生やエンドトキシンを誘発する事により病態を悪化させるために抗生剤の投与は最小限にするべきという報告<sup>2)</sup>があるが、依然としてその治療には抗生剤が用いられているのが現状である。一方、ヒトの医療では生菌剤投与や食事療法などが一般的であり、抗生剤の使用は限定的である<sup>3)</sup>。牛における生菌剤の投与では、健康牛への投与により、飼料効率の改善効果<sup>4)</sup>、および免疫系への刺激<sup>5,6)</sup>など様々な効果が報告されているが、下痢発症牛への投与、特に非感染性下痢症の治療に対する報告は少ない。

そこで、本研究では非感染性下痢を発症した牛に生菌剤を投与し、その治療効果を抗生剤の投与と比

較検討した。

## Ⅱ. 材料および方法

## 1. 供試牛および群分け

平成25年6月から平成26年12月の間に、管内農場において飼養されており、下痢症との稟告で診療依頼のあった生後14日齢未満の黒毛和種子牛を調査対象牛とした。これらの牛において、39.5℃以上の発熱が認められず、補液を要するような重度の脱水が認められないものを非感染性下痢症と推定し、条件に該当した子牛11頭を供試した。供試牛を症例に遭遇した順に、生菌剤（動物用ビオスリー、東亜薬品工業株式会社、東京）で治療を行う生菌剤群（n=6）と、抗生剤で治療を行う抗生剤群（n=5）の2群に分類した。

各群に対する投与は、1日1回の診療時に行うものとし、生菌剤群では生菌剤100gを水または微温湯に溶解し、経口または経鼻カテーテルにより全量を投与した。抗生剤群では、初診時から5病日まではアンピシリンナトリウム（水性アンピシリン注「KS」、共立製薬、東京）を（10mg/Kg）、6病日から8病日までは硫酸カナマイシン（カナマイシン注射250、Meiji seikaファルマ株式会社、東京）を（10mg/Kg）筋肉内投与した。また、両群共にメンプトン製剤（動物用エンドコール注、あすかアニマルヘルス株式会社、東京）を（10mg/Kg）筋肉

内投与した。投与は治癒と判断された時点で終了し、治癒しない場合でも最大8病日までとした。

### Ⅲ. 調査項目と採材

#### (1) 糞便スコア

初診時より治癒するまでの間、連日糞便スコアを調査した。糞便スコアは糞便の固形度合いから、スコア＝1：正常便、スコア2＝軟便、スコア3＝泥状便、スコア4＝水様便の4段階とし肉眼所見により判定した。

#### (2) 治療日数、治癒率、再発率

初診時より糞便スコアが1になるまでの日数を調査した。8病日までにスコアが1になったものを治癒とし、その割合を治癒率とした。また、治療終了後7日以内に下痢症が再発した割合を再発率として調査した。

#### (3) 胸囲

初診時、3病日、および8病日に体重測定尺（体重測定尺和牛用A、富士平工業㈱、東京）を用いて胸囲を測定した。

#### (4) 採糞

初診時、3病日、および8病日に、直腸より直腸便の採糞を行った。採取した糞便は、株式会社栄養・病理学研究所に依頼し、real-time PCRを用いて、糞便1g中の*Bifidobacterium*属、*Clostridium perfringens*及び*Escherichia coli*（大腸菌）数を測定した。加えて、初診時の糞便では、仔ウシ糞便中のウイルス検出用ストリップテスト（TetraStrips、コスモバイオ㈱、東京）を用い、ロタウイルス、コロナウイルス、*Cryptosporidium parvum*および*Escherichia coli*（大腸菌）の感染の有無を検査した。

#### (5) 採血

初診時、3病日、および8病日に頸静脈から血清分離用凝固促進剤入真空採血管（ベノジェクトⅡVP-AS109K、テルモ株式会社、東京）、EDTA入真空密封型採血管（BD Vacutainer、日本ベクトン・ディッキンソン株式会社、福島）、およびヘパリン入真空採血管（ベノジェクトⅡVP-H100K、テルモ株式会社、東京）を用い血液を採取した。採血後1時間以内に遠心分離を行い、血清分離用凝固促進剤

入真空採血管から血清を得た。得られた血清は、血液生化学検査および血清ジアミンオキシターゼ（DAO）活性の測定に供した。EDTA-2Na添加真空採血管で採取した血液は、末梢血単核球表面抗原の解析に供した。ヘパリン入り真空採血管で採取した血液は、サイトカインmRNA発現量の解析に供した。

#### (6) 血液検査

血液生化学検査：栄養状態の指標として、総コレステロール（T-cho）、トリグリセリド（TG）、血清中総タンパク質（TP）、アルブミン（Alb）、尿素窒素（BUN）およびヘマトクリット（Ht）を測定した。また、炎症状態指標としてアルブミン、グロブリン比（A/G比）を算出した。Tcho、TG、およびBUNは酵素法により、ディスクリット方式臨床化学自動分析装置（Dade Behring, Inc., Illinois, U.S.A.）を用いて測定した。血清TP濃度はBiuret法を用いて測定した。血清Alb濃度はブロムクレゾールグリーン法を用いて測定した。Htはマイクロヘマトクリット遠心法を用いて測定した。血清DAO活性の測定は、Takagiらの方法<sup>7)</sup>に従って比色分析法を用いて測定した。

末梢血単核球表面抗原の解析：末梢血単核球表面抗原の解析は間接蛍光抗体法を用い、報告されている方法に準じてフローサイトメーター（FACScan, Becton Dickinson, U.S.A.）で測定・解析した<sup>8)</sup>。使用した一次抗体は、抗ウシCD3抗体（MMIA, VMRD, U.S.A.：成熟総T細胞）、抗ウシCD4抗体（CACT183B, VMRD, U.S.A.：ヘルパーT細胞）、抗ウシCD8抗体（9ACT80C, VMRD, U.S.A.：キラーT細胞）、抗ウシCD14抗体（MY-4, ベックマンコールター㈱、東京：単球）、抗ウシTcR-N12（TcR）抗体（CACT61A, VMRD, U.S.A.： $\gamma\delta$ 型T細胞）、抗ウシCD335抗体（MCA2365, AbDserotec, U.S.A.：NK細胞）、および抗ウシMHC class-II抗体（TH14B, VMRD, U.S.A.：単球、B細胞）である。算定はこれまでの報告を参考に<sup>9)</sup>、FACScan解析により得られたサイトグラム中の単核球単核球および顆粒球の割合、単核球中の各抗原の陽性割合および白血球数から下記の計算式をもちいて各細胞の実数値を算出した。

細胞数（ $\times 10^2 / \ell$ ）＝単核球中の対象細胞陽性率 $\times$ 白血球数 $\times$ 〔単核球割合/（単核球割合＋顆粒球割合）〕

サイトカインmRNA発現量の解析：分離したリンパ球を  $5 \times 10^6$  個/ml となるように調整した。細胞は  $10 \mu\text{g/ml}$  の Phytohemagglutinin-P (PHA) を加え、 $37^\circ\text{C}$ 、 $5\%$   $\text{CO}_2$  湿潤の条件下で12時間培養した。培養した細胞からRNAを抽出し、サンプルのRNA濃度を測定した。抽出したRNAから定法により<sup>8)</sup>、cDNAの合成（逆転写反応）およびリアルタイムPCRを実施した。PCRプライマーは、インターロイキン（IL）-6、IL-10、IL-17、インターフェロン（IF） $\gamma$ 、TNF $\alpha$ 、Foxp3、およびTGF $\beta$ 1を使用し、内部標準遺伝子として $\beta$ -actinを用いて実施した。Step One Plus™ Real Time PCR System（Applied Biosystems, U.S.A.）を利用して、それぞれのPCR産物で融解曲線を求め、結果の定量は、比較Threshold Cycle (Ct) 法を用いて行った。反応量比較のために用いた $\Delta\Delta\text{CT}$ 値は、下記の式を用いて算出した。  
 $\Delta\Delta\text{CT}$ 値=PHA添加での $\Delta\text{CT}$ 値-Controlの $\Delta\text{CT}$ 値  
 $\Delta\text{CT}$ 値=対象遺伝子のCt値- $\beta$  actinのCt値  
 サイトカイン遺伝子反応量= $2(-\Delta\Delta\text{CT})$

#### (7) 統計解析

得られた結果は平均値±標準偏差で示した。治療日数、治癒率および再発率における各群間の平均値の比較は、F検定を用いて等分散とされたものにはstudentのt検定、非等分散とされたものにはWelchのt検定を用いて行った。その他の検査項目における群間の比較には、反復測定二元配置分散分析を用い、群間効果を求めた。各群における初診時と3病日および8病日との比較には、一元配置分散分析を行い、Tukeyの方法による多重比較を行った。サイトカインmRNA発現量においては、初診時において棄却検定を行ってから各統計解析に供した。いずれの検定においても、危険率 $5\%$ 未満となったものを有意差ありとした。

## IV. 結 果

### (1) 糞便スコア

各群における糞便スコアの推移は、両群ともに徐々に良化していったが、両群間に有意な差は認められなかった。両群共に、同群の初診時と比較して5病日以降で有意に低い値を示した（図1）。

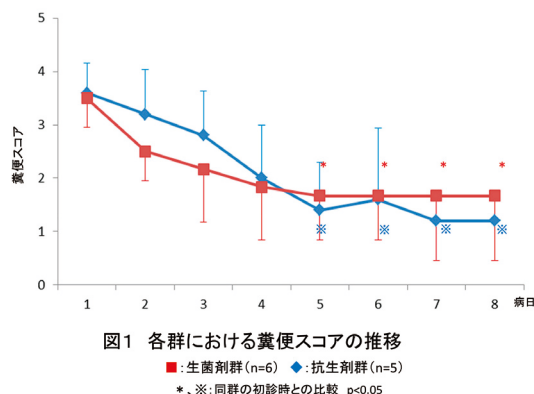


図1 各群における糞便スコアの推移

■: 生菌剤群 (n=6) ◆: 抗生剤群 (n=5)  
 \*, #: 同群の初診時との比較 p<0.05

### (2) 治療日数、治癒率、再発率

治療日数は、抗生剤群で $5.2 \pm 1.6$ 日、生菌剤群で $5.3 \pm 2.1$ 日であった。治療日数、治癒率および再発率において、両群間に有意な差は認められなかった（表1）。

表1 各群における治療日数、治癒率および再発率の比較

|      | 抗生剤群 (n=5)    | 生菌剤群 (n=6)    |
|------|---------------|---------------|
| 治療日数 | $5.2 \pm 1.6$ | $5.3 \pm 2.1$ |
| 治癒率  | 4/5 (80%)     | 4/6 (67%)     |
| 再発率  | 2/5 (40%)     | 1/6 (17%)     |

### (3) 胸囲

各群における胸囲の推移は、両群間に有意な差は認められなかったが、生菌剤群において初診時と比較して8病日で有意に高値となった（表3）。

### (4) 糞便検査

1) 糞便ストリップ検査：全検体でロタウイルス、コロナウイルスおよび大腸菌は検出されなかった。11検体中2検体で、*Cryptosporidium parvum* が検出された。

2) Real-time PCRによる、糞便中細菌数の推移：*Bifidobacterium*属菌数、*Clostridium perfringens*数及び大腸菌数において、両群に有意な差は認められなかった。しかし、*Clostridium perfringens*数及び大腸菌数において、生菌剤群で初診時よりも3病日、および8病日で徐々に低下していく傾向が認められた（表2）。

表2 各群における糞便中細菌数の推移

|                                                 |      | 初診時     | 3病日     | 8病日     |
|-------------------------------------------------|------|---------|---------|---------|
| <i>Bifidobacterium</i> sp.<br>(log cells/g)     | 生菌剤群 | 7.5±0.7 | 7.5±0.2 | 7.4±0.4 |
|                                                 | 抗生剤群 | 7.4±0.8 | 7.2±0.6 | 7.4±0.4 |
| <i>Clostridium perfringens</i><br>(log cells/g) | 生菌剤群 | 6.2±1.7 | 6.5±1.8 | 5.0±1.9 |
|                                                 | 抗生剤群 | 3.6±0.9 | 4.4±1.9 | 5.0±2.1 |
| <i>Escherichia coli</i> (大腸菌)<br>(log cells/g)  | 生菌剤群 | 8.3±0.3 | 8.2±0.4 | 7.7±0.6 |
|                                                 | 抗生剤群 | 7.9±0.4 | 7.8±0.8 | 7.7±0.5 |

mean±SD

## (5) 血液検査

1) 血液生化学検査：血液生化学検査の推移を表3に示した。両群間の比較では、全ての項目で有意な差は認められなかった。初診時との比較ではT-choにおいて、生菌剤群で8病日に有意な上昇が認められた。その他の項目において有意な差は認められなかった（表3）。

2) DAO活性：両群間に有意な差は認められなかった。生菌剤群において、初診時と比較して3病日、および8病日で有意に高い値を示した（P<0.01）（表3）。

表3 各群における胸囲および血液生化学検査結果の推移

|                          |      | 初診時         | 3病日           | 8病日          |
|--------------------------|------|-------------|---------------|--------------|
| 胸囲<br>(cm)               | 生菌剤群 | 84.3±6.9 a  | 84.5±6.4 ab   | 86.7±6.4 b   |
|                          | 抗生剤群 | 82.8±7.2    | 82.6±6.8      | 83.8±5.5     |
| 血清総コレステロール濃度<br>(mg/dl)  | 生菌剤群 | 93.8±24.3 a | 110.1±36.0 ab | 133.7±22.0 b |
|                          | 抗生剤群 | 80.8±26.2   | 83.6±26.6     | 99.2±36.6    |
| 血清トリグリセリド濃度<br>(mg/dl)   | 生菌剤群 | 25.1±13.5   | 46.1±21.2     | 52.9±27.7    |
|                          | 抗生剤群 | 31.2±45.0   | 36.9±21.3     | 24.0±16.1    |
| ヘマトクリット値<br>(%)          | 生菌剤群 | 10.8±3.2    | 7.9±3.5       | 6.5±1.4      |
|                          | 抗生剤群 | 13.5±5.0    | 9.4±5.9       | 8.2±1.4      |
| 血清尿素窒素濃度<br>(mg/dl)      | 生菌剤群 | 31.1±4.5    | 30.1±5.1      | 33.1±3.6     |
|                          | 抗生剤群 | 27.6±4.6    | 25.5±5.0      | 27.2±4.0     |
| 血清アルブミン濃度<br>(mg/dl)     | 生菌剤群 | 3.0±0.2     | 3.2±0.4       | 3.2±0.3      |
|                          | 抗生剤群 | 3.1±0.3     | 3.0±0.3       | 3.2±0.3      |
| アルブミン・グロブリン比             | 生菌剤群 | 1.1±0.2     | 1.2±0.3       | 1.3±0.3      |
|                          | 抗生剤群 | 0.9±0.2     | 0.9±0.3       | 1.1±0.3      |
| 血清アンモニオンキナーゼ活性<br>(IU/l) | 生菌剤群 | 5.3±0.6 A   | 6.6±0.6 B     | 7.3±0.5 B    |
|                          | 抗生剤群 | 4.9±0.9     | 5.4±0.5       | 5.7±0.6      |

mean±SD

異符号間に有意差あり 小文字：p&lt;0.05、大文字：p&lt;0.01

3) 末梢血単核球表面抗原陽性細胞数：両群間の比較では、全ての項目で有意な差は認められなかった。各群における初診時との比較では、CD335陽性細胞は生菌剤群で3病日および8病日に増加する傾向、抗生剤群で3病日および8病日に減少する傾向が認められた（表4）。

4) サイトカインmRNA発現量：両群間の比較では、全ての項目で有意な差は認められなかった。各群における比較では、TNF $\alpha$ は抗生剤群で3病日と比較して8病日で有意に高い値を示し、IL-17Aは生菌剤群において初診時と比較して8病日に有意に低い値を示した。また、

TGF $\beta$ 1は、生菌剤群で初診時と比較して3病日に有意に高い値を示した（表5）。

表4 各群における末梢血単核球数の推移

|                                        |      | 初診時          | 3病日          | 8病日           |
|----------------------------------------|------|--------------|--------------|---------------|
| CD3陽性細胞<br>(個/ $\mu$ l)                | 生菌剤群 | 1586.4±666.2 | 1409.9±530.3 | 2053.1±1187.8 |
|                                        | 抗生剤群 | 1646.0±445.7 | 1357.4±645.1 | 1873.9±763.2  |
| CD4陽性細胞<br>(個/ $\mu$ l)                | 生菌剤群 | 419.1±309.7  | 266.1±142.7  | 450.8±287.9   |
|                                        | 抗生剤群 | 295.5±193.8  | 388.6±225.8  | 543.4±255.2   |
| CD8陽性細胞<br>(個/ $\mu$ l)                | 生菌剤群 | 262.7±192.3  | 249.2±143.8  | 350.0±172.9   |
|                                        | 抗生剤群 | 570.1±493.1  | 288.6±163.4  | 328.6±64.9    |
| CD3陽性TCR-N12陰性細胞<br>(個/ $\mu$ l)       | 生菌剤群 | 687.5±489.0  | 476.8±191.9  | 931.0±687.3   |
|                                        | 抗生剤群 | 591.9±291.1  | 588.3±274.4  | 881.4±414.7   |
| CD3陽性TCR-N12陽性細胞<br>(個/ $\mu$ l)       | 生菌剤群 | 898.9±364.0  | 834.5±356.4  | 1122.0±930.2  |
|                                        | 抗生剤群 | 1054.1±321.7 | 769.1±441.7  | 992.6±362.2   |
| MHCclass II 陽性CD14陽性細胞<br>(個/ $\mu$ l) | 生菌剤群 | 497.9±369.2  | 336.7±74.7   | 852.5±1100.5  |
|                                        | 抗生剤群 | 189.9±131.7  | 477.0±261.7  | 516.9±211.5   |
| CD14陽性細胞<br>(個/ $\mu$ l)               | 生菌剤群 | 1238.9±395.6 | 1215.2±390.2 | 1097.4±755.0  |
|                                        | 抗生剤群 | 816.2±239.1  | 691.5±392.6  | 747.5±510.7   |
| CD335陽性細胞<br>(個/ $\mu$ l)              | 生菌剤群 | 137.6±54.1   | 185.4±86.2   | 282.3±151.3   |
|                                        | 抗生剤群 | 307.2±104.1  | 195.1±157.5  | 191.4±79.0    |

mean±SD

表5 各群におけるサイトカインmRNA発現量の推移

|               |      | 初診時               | 3病日                | 8病日            |
|---------------|------|-------------------|--------------------|----------------|
| IL-6          | 生菌剤群 | 4430.3±2427.4     | 2591.4±1191.2      | 13896.7±6753.6 |
|               | 抗生剤群 | 3716.6±2339.3     | 4461.0±3606.7      | 4179.3±3425.2  |
| IL-10         | 生菌剤群 | 2733.7±1816.8     | 1324.8±496.0       | 6656.3±6239.5  |
|               | 抗生剤群 | 1097.6±534.8      | 4425.2±4322.4      | 11519.4±6278.7 |
| IL-17A        | 生菌剤群 | 30498.6±19175.8 a | 27620.9±16457.3 ab | 2545.9±862.7 b |
|               | 抗生剤群 | 765.4±481.4       | 6069.6±4916.2      | 824.5±680.5    |
| TNF $\alpha$  | 生菌剤群 | 26.2±15.1         | 12.5±5.4           | 39.3±19.8      |
|               | 抗生剤群 | 35.8±11.9 ab      | 30.8±16.5 a        | 80.2±29.8 b    |
| IFN- $\gamma$ | 生菌剤群 | 729.7±280.1       | 883.7±505.8        | 865.2±367.2    |
|               | 抗生剤群 | 96.0±61.1         | 365.3±161.3        | 1101.8±961.9   |
| Foxp3         | 生菌剤群 | 36.9±16.5         | 16.0±8.9           | 23.5±10.8      |
|               | 抗生剤群 | 13.3±6.2          | 11.2±10.2          | 35.8±12.2      |
| TGF $\beta$ 1 | 生菌剤群 | 22.1±7.2 a        | 28.2±10.1 b        | 54.3±23.6 ab   |
|               | 抗生剤群 | 33.8±22.5         | 15.9±5.2           | 31.9±10.9      |

mean±SE

異符号間に有意差あり 小文字：p&lt;0.05

## V. 考 察

今回の研究に用いた39.5℃以上の発熱が無く、重度の脱水がみられなかった11症例からは、大腸菌、ロタウイルスおよびコロナウイルスは検出されなかった。2症例から*Cryptosporidium parvum*が検出されたが、クリプトスポリジウム症は代謝性アシドーシスにともなう重度の沈うつが主症状の難治性の下痢とされており<sup>10)</sup>、今回の2症例は全身症状も良好で短期間で治癒していることから、*Cryptosporidium parvum*が下痢の原因ではなかったと推察された。よって、本研究に用いた11症例は非感染性下痢症であった事が確認された。また、臨床現場において、発熱や脱水の有無は感染性下痢症と非感染性下痢症を分類する指標になると考えられた。

ヒトにおける生菌剤投与の効果の一つとして、腸

内有用菌である*Lactobacillus* (乳酸菌) および*Bifidobacterium* (ビフィズス菌) を増加させ、腸内腐敗菌である*Clostridium* や大腸菌を減少させる事によって腸内環境を改善し、下痢や便秘などの便性状を改善する事により保健効果を促進するとされている<sup>6)</sup>。本研究の結果より、生菌剤投与群において、*Clostridium perfringens* 数及び大腸菌数が減少していく傾向がみられ、腸内環境の改善が示唆された。

DAOは、小腸の粘膜上皮細胞、特に絨毛において高い活性を示す酵素であり、腸炎などにより腸管粘膜上皮が障害されると、血清DAO活性値がその程度を反映し低値となるため、ヒト医療において小腸粘膜の機能評価の指標として用いられている<sup>11)</sup>。本研究において、生菌剤群で生菌剤の投与後に血清DAO活性値が有意な増加を示したことから、生菌剤の投与が小腸粘膜の機能を早期に回復させている事が示唆された。

牛に対する生菌剤の投与効果として、飼料効率の増加に伴い、T-choおよび一日増体量 (DG) が増加すると報告されている<sup>4)</sup>。本研究においても、生菌剤投与によりT-choおよび胸囲の有意な増加がみられた。これらのことから、下痢を発症して消化吸収能力が低下している状態であっても、生菌剤の投与によって腸内環境が改善し小腸粘膜の機能が早期に回復される事により、栄養分の吸収能力が改善され、下痢による損耗を減少させる事が可能であると考えられた。

一般に生菌剤の投与は免疫系を刺激し免疫力を高める事が知られている<sup>6)</sup>。本研究で用いた、動物用バイオスリーもラットにおいて免疫機能に対する効果が報告されている<sup>5)</sup>。本研究では、末梢血単核球表面抗原陽性細胞数の解析において、NK細胞を示すCD335陽性細胞数が生菌剤群で増加する傾向、および抗生剤群で減少する傾向が認められた。また、サイトカインmRNA発現量の解析では、炎症性サイトカインであるTNF $\alpha$ が、抗生剤群で、8日目に3日目と比較して有意に高い値を示し、同じく炎症性サイトカインであるIL17Aにおいて、生菌剤群が8日目に初診時と比較して有意に低い値を示した。また、レギュレトリーT細胞を誘導するサイトカインである、TGF $\beta$ 1において、生菌剤群で、3日目

に初診時と比較して有意に高い値を示した。これらのことから、非感染性下痢を発症した子牛への生菌剤投与は、子牛の免疫システムを改善し、過剰な炎症を抑制させる可能性が示唆された。

今回、子牛の非感染性の下痢症に対し生菌剤を投与した結果、生菌剤投与は抗生剤投与と同等の治療日数、治癒率および再発率を得られる事が確認され、生菌剤の投与による治療でも十分な治療効果が得られる事が確認された。臨床現場において、下痢症全般に抗生剤が使用されている理由として、感染の疑いが排除できない事、および二次感染予防などが考えられるが、本研究の結果から非感染性下痢の摘発は可能であり、生菌剤の投与により、下痢による損耗の低減や免疫機能への刺激などがみられたことから、非感染性下痢症に対しては抗生剤の投与を行わず、積極的に生菌剤を投与していくべきと思われる。

## 引用文献

- 1) 三浦潔, 他: 黒毛和種子牛の白痢治療における抗菌剤使用の是非に関する考察, 家畜臨床誌, 27(1), 20-24 (2004)
- 2) 懸田和子, 他: 黒毛和種子牛の白痢治療における抗菌剤投与が血中エンドトキシン濃度および腸内細菌叢に及ぼす影響, 家畜診療, 59, 353-360 (2012)
- 3) 金子一成: 今日の治療指針第6版, 1881-1883, 医学書院, 東京 (2010)
- 4) 乙丸孝之助, 他: 離乳後の子牛に対する生菌剤の投与効果, 産業動物臨床医誌, 4(1), 21-24 (2013)
- 5) 岡部正明, 他: Sprague-Dawleyラットの脂質代謝および免疫機能に及ぼす活性生菌剤の摂食効果, 日本食品科学工学会誌, 50, 224-229 (2003)
- 6) 辨野義己: プロバイオティクスに用いられる乳酸菌の分類と効能, モダンメディア, 57(10), 277-287 (2011)
- 7) Takagi, K. et al., : Sensitive colorimetric assay of serum diamine oxidase, Clin. Chim. Acta., 266, 67-75 (1994)
- 8) Ohtsuka, H. et al., : Comparison of two different nutritive condition against the change in peripheral blood mononuclear cells of periparturient dairy cows, J.Vet.Med.Sci., 68: 1161-1166 (2006)
- 9) 大塚浩通, 他: 黒毛和種とホルスタイン種の子牛における末梢白血球の比較, 日獣会誌, 55, 789-795 (2001)
- 10) 小岩政昭: 子牛のクリプトスポリジウム下痢症, 家畜診療, 54(6), 341-346 (2007)
- 11) 千葉正博, 他: 臨床応用を考慮した血清DAO活性測定の意義 (短腸症候群を中心に), 外科と代謝・栄養, 49(1), 1-4 (2015)