

畜産技術論と実習Ⅱ

動物栄養科学分野担当

牛からの採血とヘマトクリット測定

家畜の血液検査の目的

血液検査は

- ・ 栄養や代謝の状態の把握
 - ・ 各種疾患の診断
- などのために行われる。

健康な状態では、栄養素や代謝産物の吸収・生成・利用・分解・排泄のバランスがとれて代謝状態は安定している。一方、その代謝状態が破綻すれば、疾病の発生や生産性（乳量や増体）の低下につながる。

前臨床段階（＝症状が出る前）には、代謝状態のバランスが乱れ、血液所見に何らかの変化を認めることが多い。

代謝プロファイルテスト(MPT)

- ・ 牛において、特定の個体あるいは牛群から抽出した複数の個体を対象に、健康状態や代謝の状況を把握するために行う血液検査。
- ・ 結果をもとに、疾病の早期発見治療、飼養管理(主に飼料内容)の改善を行うことにより、牛群の健康状態や生産効率を維持向上させる。
- ・ 主に、獣医師や指導機関がサービスを提供

検査牛の選抜とデータの評価

MPTでは、既に臨床症状のある疾患牛は採血の対象から外す。

一般の臨床検査

サンプルの平均値 $\pm 2SD$ ($SD =$ 標準偏差)

すなわち全体の95%に入らなければ異常値

MPT

前臨床状態の異常を検出するため

平均値 $\pm 1 \sim 1.3SD$ の範囲を正常範囲とする。

代表的なMPTの検査項目

■ エネルギー代謝関連

グルコース、遊離脂肪酸、 β -ヒドロキシ酪酸

■ タンパク質代謝関連

尿素窒素、アルブミン、ヘマトクリット

■ 肝臓機能関連

総コレステロール、 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ

■ ミネラル代謝関連

カルシウム、無機リン、マグネシウム

■ ビタミンA(肥育牛)

エネルギー代謝の検査項目

- ・ グルコース (Glu)
- ・ 遊離脂肪酸 (NEFA)
- ・ β -ヒドロキシ酪酸 (BHB、BHBA)

グルコース(Glu)

- 正常値 60–69 mg/dl
- 高泌乳牛群では高い傾向。厳冬で高値
- (低値)重度エネルギー不足 (濃厚飼料不足、粗飼料が低品質)。ケトーシス、第四胃変位。
- (高値)飼養管理(環境)の急変、濃厚飼料やコーンサイレージの過剰摂取、繊維不足、ルーメンアシドーシス。

※“過剰摂取”の原因は、過給だけでなく、盗食や給餌器の故障もあり得る

遊離脂肪酸(NEFA)

- 正常値 200 μ Eq/l以下
- エネルギー不足による体脂肪動員。
- 高泌乳牛群では高い傾向。周産期の高値はケトーシスや脂肪肝のリスクが高まる。
- (高値)エネルギー不足(乾物摂取量不足)、第四胃変位。

β-ヒドロキシ酪酸 (BHBまたはBHBA)

- 泌乳初期の平均値770 μM
- 1200 μM 以上でケトーシスと診断
- 臨床性ケトーシスの症状: 元気消失、乳量減少、反芻しない、食滞
- ケトン体の1つ。肝臓で脂肪酸から生成するアセチルCoAがTCA回路に利用されないとケトン体に変化する。
- 泌乳初期には体脂肪動員が起こり、遊離脂肪酸が肝臓に大量に流入するため、ケトーシスになりやすい。(特に過肥の牛や高泌乳牛)

タンパク質代謝の検査項目

- ・ 尿素窒素(BUN)
- ・ アルブミン(Alb)
- ・ ヘマトクリット(Ht、Hct)

尿素窒素(BUN)

- 正常値 11～20mg/dl
- 高泌乳牛群では高い傾向。ルーメンでの分解性タンパク質とエネルギー（易発酵性炭水化物、主にデンプン）とのバランス、つまりルーメン微生物のアンモニアの利用効率を反映。
- 高値だと、繁殖性特にET受胎率が低下する。
- (低値) 低タンパク質飼料、高エネルギー飼料、牧草の低品質。夏場の水分過剰摂取。
- (高値) 溶解性タンパク質過剰、低エネルギー飼料、マメ科牧草やタンパク質飼料の単一給与や飼料給与順序。腎機能障害、脱水。

アルブミン(Alb)

- 正常値 3.5～4.2g/dl
- 長期的な栄養(特に吸収タンパク)摂取状況を反映。高泌乳牛群では高い傾向。
- (低値)低タンパク飼料、デンプン過剰。脂肪肝、肝機能低下、下痢、腎炎。
- (高値)濃厚飼料過剰、繊維不足、Na過剰(醤油粕給与など)

ヘマトクリット(HtまたはHct)

- 正常値 28～34%
- 高泌乳牛群や厳冬期の乾乳牛で高い傾向。
栄養(特にタンパク)摂取状況を反映。
- (低値) 低タンパク質飼料、低品質粗飼料。
貧血(放牧牛のピロプラズマ原虫寄生)。
- (高値) 飲水不足、脱水やルーメンアシドーシスによる血液濃縮。

肝臓機能・障害の検査項目

- ・ 総コレステロール (T-cho)
- ・ γ -グルタミルトランスペプチダーゼ
(γ -GTP、GGT)
- ・ アスパラギン酸トランスアミナーゼ (AST)

総コレステロール (T-cho)

- 正常値 90～250mg/dl
- 高泌乳牛群では高い傾向。総合的な栄養摂取状況と肝機能を反映。
- (低値) 飼料摂取量不足、栄養(濃厚飼料)不足、肝機能障害。
- (高値) 油脂飼料の添加。

γ -GTP (GGT)

- 正常値 15～25IU/l
- 慢性的な肝障害を意味する。
- (高値)胆汁うっ滞、薬剤性肝障害、慢性肝炎、脂肪肝。変敗・カビの発生した飼料の摂取、濃厚飼料過剰(肥育中期、泌乳中後期)、繊維不足、ルーメンアシドーシス、消化障害。

※ヒトではアルコール性肝障害で高値

GOT (AST)

- 正常値 50～80IU/l
- 急性の肝障害や臓器障害を意味する。
- (高値)肝臓・心臓・血液・筋肉の疾患。濃厚飼料や高タンパク飼料の過剰、変敗・カビ飼料摂取。運動器の故障。

ミネラル代謝の検査項目

- ・ カルシウム(Ca)
- ・ 無機リン(iP)
- ・ マグネシウム(Mg)

カルシウム(Ca)

- 正常値 9～10mg/dl
- 低泌乳牛群、高齢牛では低い傾向。
- 低値だと起立不能や骨軟症になりやすい。
- (低値) 飼料中Caの不足、ミネラル添加剤の不足、低Ca/P比(特殊事例:リン酸カルシウムの極端な過剰添加)

無機リン(iP)

- 正常値 4.5～5.5mg/dl
- 低泌乳牛群、高齢牛では低い傾向
- 肉牛で高値だと尿石症になりやすい。
- (低値) 低泌乳、高齢牛。
- (高値) ふすまやヌカ類の過剰、腹膜炎・創傷性疾患。

マグネシウム (Mg)

- 正常値 2.0～2.5mg/dl
- (低値)飼料のマグネシウム不足、乾物摂取量不足

(参考) 血液検査項目と抗凝固剤の選択

a)ヘパリンナトリウム:血液1mlに対し0.01mg

血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビン、含窒素成分などの分析に用いられる。

(欠点)白血球の形態変化、血小板数減少、凝固検査不可

b)シュウ酸カリウム:血液1mlに対し2mg

含窒素成分の分析に用いられる。

(欠点)白血球の形態変化、ヘマトクリット測定不可

c)二重シュウ酸塩:血液100mlに対し200mg

(重シュウ酸塩;シュウ酸カリウム/シュウ酸アンモニウム
=2:3)

粉末のままでもよいが、溶液にして試験管に加え
(1mlぐらい)55°Cでゆっくりと乾燥するとよい。

血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビン、網赤血球算定に
用いられる。

(欠点)白血球の形態変化、含窒成分測定不可

d)クエン酸ナトリウム:血液100mlに対し500mg

血液凝固検査、赤沈検査に用いられる。

(欠点)化学分析には不適

	材料			全血保存		血清保存			備考
	血漿	溶血	Bil	室温	冷蔵	室温	冷蔵	冷凍	
ALP	↑	○	○	1d		X	1d	6m	
AST	△	↑↑	○	↑↑	↑	X	1w	1m	採血3分以内↑
ALT	△	↑	○	↑↑	↑	X	3d	X	採血3分以内↑
γG TP	△	○	○	X		2d	1w	1w	
LDH	↓	↑↑	○	↑↑		X	3d	3d	全血振動↑
CK	↓	↑↑	○	↓↓	↓↓	X	1w	1m	遮光保存
アミラーゼ	△	↓		○	○	X	1w	2m	
リパーゼ	X	↓		X	X	3d	1w	1y	
グルコース		↓		X	X			1y	
NEFA	↑	↑		↑↑		X	X	X	
Tcho	△		○	↑			1w	1y	
TG	△			↓			1w	1m	
リン脂質	△	↑		↑			1w	3m	
βリポタンパク							1w	X	
βヒドロキシ酪酸						1d	1w	2w	
総タンパク	↑	↑	○	↓	↓	2d	1w		
アルブミン	△	○	○	↓	↓	1w	1m		
BUN	△	↑	○				1w	6m	
クレアチニン	△	↑	↓					6m	
総ビリルビン	△	↓		↓				1m	遮光保存
Ca		↓	○	↓				1m	
IP		↑↑	↓	↑↑	↑		1w	1m	

↓減少、↑増加、○影響なし、△ヘパリンのみ可、X不可

d)フッ化ナトリウム:血液100mlに対し1000mg
血糖検査に用いられる。

(欠点)フッ化ナトリウムは様々な酵素活性を抑制するので、酵素活性分析または酵素を分析に用いる場合には使えない。

e)EDTA塩:血液100mlに対し1-10g
血液検査一般、血小板算定、アンモニア測定に用いられる。

(欠点)凝固検査には不適

本日の実習内容の説明

作業の概要

牛の頸静脈から採血し、ヘマトクリットを測定する。

(牛舎)

全員が1回採血する。

牛は8頭いる(1頭1~2名)。

採血者は柵の外から採血を行う。

柵への牛の保定は職員が行う。

(採血後、実験室に移動)

毛細管に血液を取り、遠心し、ヘマトクリット値を読む

尾静脈からの採血もよく行われる
回し蹴りに注意！

作業の安全に気を付けて！

よくある事故

- 採血中に牛が動き、柵との間に手を挟まれる
→柵内への手の入れ方
- 露出した注射針で自分や周囲の人を傷つける
→採血後はすみやかにキャップをする
キャップをする時は慌てずゆっくり
→針を持っている人の動きに注意
- 飼槽の段差でつまづく

牛の頸静脈からの採血の手順

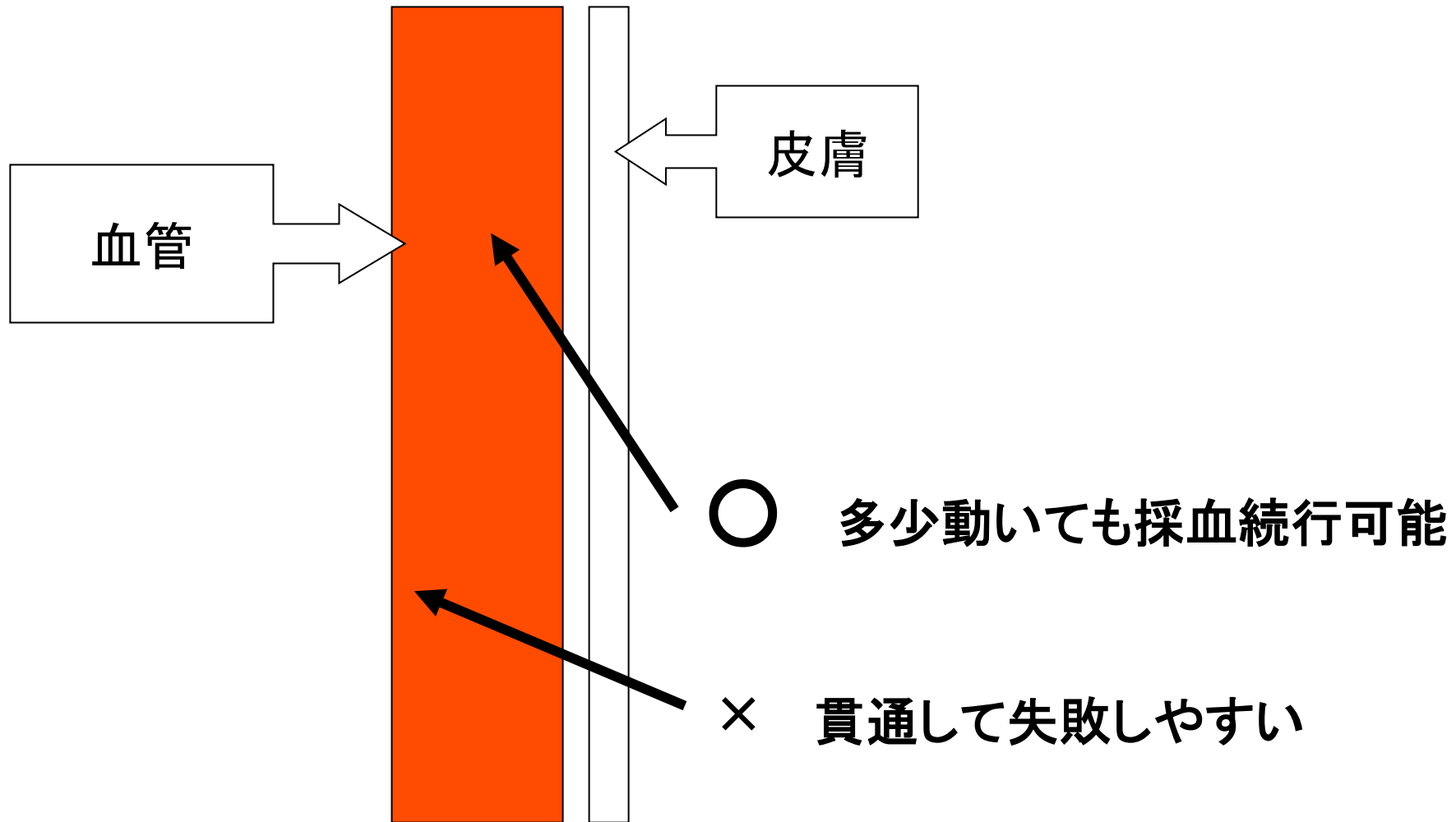
- 1) 必要なもの: ロープ、真空採血管(ヘパリンNa)、注射針(21G、38mm)、採血針ホルダー、アルコール綿、マジック(ラベル用)
 - 2) 採血針ホルダーに注射針を装着する。針のキャップはポケット等に入れておく。続いて採血管をホルダーの半ばまで挿入する。(まだ針に刺してはならない。)
- ※持ち方: 親指と中指でホルダーを握り、薬指と小指と手のひらで採血管を支える。
- 3) 職員が牛の頸部下方にロープをかけて、後方から力一杯引っぱる。それによって頸静脈が浮き上がり、針を刺す部位が明瞭になる。

- 4) 針を刺す部位の皮膚をアルコール綿で消毒する。
- 5) 採血針を、下方から斜めに血管の方向に沿って頸静脈の上の皮膚に刺し入れ、そのまま進めて血管内に到達させる。血管に針が入るとき弾力のある触感を覚える。

※牛の皮膚は厚く、刺す時はやや力を要する。

※一気に血管まで到達しようとせずに、まず皮膚のみを通過させ、つぎに方向を確認して血管に到達させてもよい。ただし、何度も押したり引いたりしてはならない（血管が傷ついて牛にダメージを与える）。

採血針の刺しかた



6) 針が血管に入ったら、採血管をホルダーの奥に突き当たるように差し込み針を貫通させる。血液が勢いよく採血管に流入する。

※途中で血液の流入が止まったら、針が血管から抜けたか、逆に貫通してしまっているので、ゆっくり動かして正しい位置を探る。

※それでも血液が流入しない場合は、真空度が落ちてしまっているかもしれない。採血管と針を替えて最初からやり直す。

- 7) 採血管の8割程度採血ができたなら、ロープを緩めてもらう。針を抜き、刺した部位のやや上方を1分間押えて止血する。(この時、揉まないこと)。
- 8) 針にキャップをし、ホルダーからはずす。もう一方にもキャップをする。
- 9) 採血管を静かに3－4回反転振とうする。採血後迅速にやらないと凝固し、振とうが激しいと溶血するので注意する。ラベルが消えていないことを確認して採血管を試験管立てに置く。



実験室に移動

ヘマトクリットの測定

(血球容積 Packed cell volume, PCV)

- 1) 採血管のフタを開け、ラベルしたヘマトクリット測定用毛細管を血液に差し込む。少し傾ければ血液は自然に入ってくる。
2/3程度まで入れる。
- 2) 血液を入れた端とは反対の端をパテに突き刺し、シールする。
。遠心機にパテが外側になるようにセットする。
- 3) 毛細管を10000rpmで3-5分間遠心する。
- 4) 遠心機付属の目盛盤で赤血球層長と全層長を読む。

ヘマトクリット(%) = 赤血球層長 / 全層長である。