

内毒素による壊疽性乳房炎
に関する研究

國城悦司

1988

内毒素による壊疽性乳房炎
に関する研究

司 悦 城 函

1 9 8 8

目 次

I	緒 論	1
II	材料および方法	3
	1. 発生状況の調査	3
	2. 対象牛	3
	3. 細菌学的検査	3
	4. 病理学的検査	3
	5. 血液生化学的検査	3
	6. 内毒素の検査	4
III	成 績	6
	1. 発生状況	6
	1) 年次別発生状況	6
	2) 月別・年齢別発生状況	6
	3) 発症の時期	6
	4) 経過日数	6
	5) 臨床症状	6
	2. 細菌学的検索	6
	1) 乳汁の細菌培養	6
	2) 主要臓器の細菌培養	7
	3) 分離菌の血清型別	7
	4) 薬剤感受性試験	7
	3. 病理学的検索	7
	1) 剖検所見	7
	2) 組織学的所見	8
	3) 分離菌と病理組織所見	9
	4. 血液生化学的検索	9
	1) 血球像および血液生化学的所見	9

2) 臓器内の酵素活性値	9
3) 血液凝固系の検査	10
5. 内毒素の検索	10
1) 血漿および乳汁中の非特異的アミダーゼ活性の測定	10
2) 回収率	10
3) 健康牛の内毒素量	10
4) 急性乳房炎牛の内毒素量	11
5) 壊疽性乳房炎牛の内毒素量	11
6) エンドスピーテストによる内毒素の検索	11
7) 内毒素量と臨床症状	11
8) 壊疽性乳房炎発症牛についての経時的変化	11
IV 考 察	13
1. 疫学からみた発生実態とその機序	13
2. 発生機序への検討	14
1) 分離菌種との関連	14
2) 病理組織所見との関連	14
3) 血液生化学所見との関連	16
4) 内毒素との関連	17
V 総括および結論	20
VI 謝 辞	22
VII 参考文献	23

付 図 ; 1 ~ 7

付 表 ; 1 ~ 2 5

写 真 ; 1 ~ 2 5

I 緒 論

牛の臨床型乳房炎は、1970年久米ら[42]によると *Staphylococcus* sp. および *Streptococcus* sp. などの球菌類によって起こることが多いとされている。

しかし、近年、飼養規模の拡大に伴い、飼養管理の省力化ならびに抗生物質の頻用による菌交代現象[2,25]によって乳牛の壊疽性乳房炎が多発し、家畜衛生上重要な問題を提起している。

兵庫県淡路地方は乳牛約27,000頭が飼育されている酪農の盛んな地域であるが、1974年頃から本症の発生が急増し、そのほとんどのものが治療効果がなく、死亡および廃用の転帰をとるため関係者からその原因究明と対策について強く要望されている。

Fey[9]は本症を Coli-mastitis、Eberhartら[8]、Johnsonら[36]、Jubbら[37]、Murphyら[54]は Coliform mastitis と呼んだ。

一方、わが国では1957年吉田ら[89]によってはじめて報告されて以来、臨床的、細菌学的、病理学的な見地から壊疽（壊死）性乳房炎、大腸菌性乳房炎および甚急性乳房炎と呼ばれるのが慣例となっているが[1,12,17,18,26,30,40,41,48,51,77,89]、分娩直後に発病し、急激な全身症状と乳房の局所症状を伴う乳房炎を総称している。

しかし、本症の実態および発生機序については今なお不明な点が多く、原因菌の検出状況、血液生化学的所見についても系統的な研究が少なく、未だに論議が多い。

これらのいわゆる壊疽性乳房炎の発生機序については、臨床症状、血液学的ならびに病理組織学的所見などから、グラム陰性桿菌による中毒が疑われている[12,13,17]。

これと同様の所見を示すものにヒトの腹膜炎、胆道疾患、産科領域の疾患などにおけるグラム陰性桿菌の感染による内毒素血症がある[19,39,72,78,84,85,91]。

内毒素は、グラム陰性桿菌の細菌細胞壁外膜を構成するリポ多糖体で、発熱をはじめとする臨床的に重要な種々の生物学的活性をもっている。この物質がカプトガニ血球抽出液 (Lysate) を凝固させる現象を利用してリムルスゲル化テストが創案され[43]、次いで、合成基質法に発展し客観および感度とも優れた内毒素の微量定量法として開発された[31,59,60,82]。以来、ヒトの内毒

素症の診断ならびにラット、ウサギなどの実験動物の血中内毒素測定に用いられるようになった[10,57]。

しかし、獣医学領域におけるグラム陰性桿菌の感染症、ことにいわゆる壊疽性乳房炎で内毒素の検出を臨床面で応用した報告は全く見当たらない。

そこで、筆者は家畜におけるリムルステストの基礎的研究を行うとともに、野外で発生した壊疽性乳房炎について内毒素の検出を試みたところ、本症の多くはグラム陰性桿菌による内毒素中毒であることを明らかにした。

さらに、本症の発生機序を探るために臨床的、細菌学的、病理学的、血液生化学的検査を実施し、発生機序についての検討を行ったのでこれらの概要を報告する。

II 材料および方法

1. 発生状況の調査

1974年から1984年までの11年間に、兵庫県淡路基幹家畜診療所管内で取り扱った診療カードならびに担当獣医師から臨床症状と経過を聞き取り調査した。

2. 対象牛

いずれもホルスタイン種乳牛で、臨床的に壊疽性乳房炎と診断した65頭と急性乳房炎牛12頭および異常の認められない健康対照牛26頭である。

3. 細菌学的検査

1) 細菌培養：牛血液加寒天培地、マッコンキー寒天培地、NAC寒天培地などに乳汁0.1mlずつまたはと殺時の臓器を直接塗抹して、37℃、48時間好気的に培養して生じた集落を数え、同時に嫌気性培養をガスバック法で行い、Bergeys Manual第8版によって同定した。

2) 薬剤感受性試験：分離した42株についてカナマイシン(KM)、クロラムフェニコール(CP)、コリスチン(CL)、クロルテトラサイクリン(CTC)、ストレプトマイシン(SM)、オキシテトラサイクリン(OTC)、フラジオマイシン(FM)、ペニシリン(PC)、アミノベンジルペニシリン(ABPC)、オレアンドマイシン(OM)、スピラマイシン(SP)、ロイコマイシン(LC)の薬剤で1濃度デスク法(昭和)を行うとともに、そのうち16株はFM、ABPC、CTC、スルベニシリン(SBPC)、ジヒドロストレプトマイシン(DSM)の薬剤で最小発育阻止濃度(MIC)を寒天平板希釈法によって求めた。

3) 分離菌の血清型別：E.coli 24株のO群血清型別は試験管内凝集反応で行い、P.aeruginosa 22株については緑膿菌診断用血清(デンカ製薬)を用いた。

4. 病理学的検査

採取した材料は10%緩衝ホルマリンで固定後、常法により切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色、アザン染色、隣タングステン酸・ヘマトキシリン染色、グラム染色、PAS染色を行った。

5. 血液生化学的検査

1) 血液の一般検査：血球数の算定はThoma-Zeiss法、ヘマトクリット値は毛細管法、血液像はMay-Giemsa複合染色を行った。血清総蛋白量は屈折計法、血清蛋白分画はセルローズ・アセテート膜電気泳動法、トランスアミナーゼ活性(GOT、GPT)はReitman-Frankel法、 γ -グルタミールトランス

ペプチターゼ活性 (γ -GTP) はOrlowski変法、アルカリ性ホスファターゼ活性 (ALP) はフェニールリン酸法、乳酸脱水素酵素活性 (LDH) はCABA-ud-wroblewski法、血清尿素窒素量はDiacetyl-monoxime法、血糖量はOTB法で測定した。

また、血清カルシウムはOCPC法、無機リンはモリブデンブルー法、血清マグネシウムはキシリジンプルー法、血清ビタミンAとカロチン量は藤田・青山法、ビタミンEはRindi法を用いて行った。

(2) 臓器内の酵素活性値：と殺放血直後の新鮮な心、肝、脾、肺、乳房などを採取し、それらの臓器を細切し、10倍量になるように生理食塩液を加えて冷却しながらホモゲナイズし、遠心分離で上清を採取して適当な測定範囲になるように希釈したのち、血清と同様な方法で測定した。

(3) 血液凝固系の検査：血小板の算出はFonio法、プロトロンビン時間 (PT) はQuick1段法、活性トロンボプラスチン時間 (APTT) はアクチン (ミドリ十字) および血漿フィブリノーゲンはトロンビン試薬 (ミドリ十字) を用い、BBLフィブロメータにより凝固時間を測定した。

6 内毒素の検査

1) 測定器具：試験管、ピペットおよびアルミキャップなどは250℃、2時間乾熱滅菌して使用した。

2) 採材方法：血液はディスポーザブル注射器に注射用ヘパリンをぬらす程度に入れ、頸静脈から3～5ml無菌的に採血して4℃、150×gで10分間遠心して得た血漿 (PRP) を用いた。また、乳汁は乳頭をアルコール綿で清拭し、最初の2～3搾りを捨てた後、5～10ml無菌的に採取して供試材料とした。

3) 非特異的アミダーゼ活性の測定：検体0.1mlに0.6mM合成基質 (0.2Mトリスバッファー) 0.1mlを加え、37℃、30分間感作後、ジアゾ化し、さらに14%トリクロール酢酸0.5mlを加えた後、3,500rpmで10分間遠心して、その上澄の吸光度を545nmで測定した (図1)。

4) 内毒素添加回収試験：PRPおよび乳汁0.1mlに *E. coli* 0111:B4内毒素 (2 ng ml^{-1}) 0.01mlを加えた後、0.32MPCA 0.2mlを加え、37℃、20分加温後、3,000rpm、10分遠心し、その上澄0.05mlを取り、乳汁の方は0.18MNaOHおよび0.21MNaOHをそれぞれ加えて中和し、PRPの方は0.21MNaOH 0.05mlで中和し、それぞれ被験液とした。その後は合成発色基質法で測定した。

5) 内毒素の測定方法

ア) ゲル化法：Cooperstockら[6]の希釈加熱処理により反応阻害因子を除去

した後、Lysateを分注してある反応試験管に検体0.1mlを添加し、軽く混和し、37℃ 1時間感作して、粘度が増し硬いゲル形成が認められたものを陽性と判定した（写真23、図2）。

イ） 合成発色基質法：氷冷下で検体0.1mlに0.32MPCA 0.2mlを加え、37℃、20分間加温した後、3,000rpm10分間遠心し、上澄0.05mlを取り、0.21MNaOH 0.05 mlで中和したものを被験液とした。次に被験液0.1mlに0.2MTris-HClバッファーPH8.0で溶解したトキシカラ-およびエンドスペシー（ESテスト；生化学工業）を0.1ml加え、37℃、30分反応させた後、0.04%亜硝酸ナトリウム（0.48MHCl溶液）、0.3%スルファミン酸アンモニウム、0.07%N-1-ナフチルエチレンジアミンニ塩酸塩を0.5ml順次加えてジアゾ化し、545nmで吸光度を測定した（写真24、25、図3）。

Ⅲ 成 績

Ⅰ 発生状況

1) 年次別発生状況：調査期間中に発生した壊疽性乳房炎の頭数は794頭で、総死廃頭数16,142頭の4.9%、乳房炎死廃頭数2,069頭の38.4%を占めており、年々増加する傾向がみられた。とくに乳房炎死廃頭数に対する本症の占める割合が多くなっていることが注目される（表1）。

2) 月別・年齢別発生状況：月別の発生状況は図4のとおりで、年間をたづねて発生がみられた。

また、年齢別にみると5才までに約74%のものが発病し、なかでも初産から3産牛にかけて死亡および廃用事故が多発する傾向がみられた（図5）。

3) 発症の時期：発症の時期についてみると分娩後7日以内のものが204例81.3%を占め、とくに分娩後2日以内のものが67.3%と最も多く、本症の発生が分娩と密接な関連があることがわかった（表2）。

4) 経過日数：発症から廃用までの日数を表3に示した。発症後3日以内に78.5%のものが死亡あるいは廃用となった。このことは本症の経過がきわめて急激で、短時間で病状が悪化していることを示している。また10日以上経過したものでは治療によっていったん全身症状は回復したが、乳房の機能停止により廃用に至ったものが多かった。

5) 臨床症状：本症の症状は乳房あるいは乳汁のみに限局するものではなく、食欲廃絶、呼吸器、運動器、消化器などの異常が前駆症状として現れる場合が多い。

そこで初診時にこれらの全身症状が把握できた64例について調査したところ、元気消失、食欲不振ないし廃絶、脈の増数、起立不能、黒褐色の悪臭ある水様性下痢などが主なものであった。乳房の所見は紫斑、冷感、熱感、腫大などを呈し、乳汁の色調は初乳様から赤褐色あるいは漿液性であった。また、乳房における発症部位は1分房だけのものが68.8%と最も多く、そのなかでも後乳房の発生例が多かった（表4）。

2. 細菌学的検索

1) 乳汁の細菌培養：発症牛の乳汁の細菌培養成績を表5に示した。

E.coli 30.9%、E.coliと他の菌種の混合感染 20.0%、P.aeruginosa 13.9%、P.aeruginosaとの混合感染 3.1%、Enterobacter aerogenes 4.6%、Klebsiella

pneumoniaeとの混合感染 4.6%、Alcaligenes faecalis 1.5%、Acinetobacter anitratus 1.5%などグラム陰性桿菌が全体の80.0%を占めていた。これに対しグラム陽性菌は全体の20.0%であり、Bacillus cereus、Clostridium perfringens、Streptococcus sp.、Actinomyces pyogenes、Staphylococcus aureusなどが分離された。

2) 主要臓器の細菌培養：廃用と殺時に採材できた11例について細菌培養を行ったところ、罹患分房からはほぼ純粋に起因菌が分離された。しかし、その他の臓器のうち肝11例中3例(27.3%)、乳房リンパ節2例(18.2%)、腎1例(12.5%)から罹患分房と同種の菌が検出されたのみで分離率は低かった(表6)。

3) 分離菌の血清型別：E.coli 24株についてO群別を行ったところO2が5株、O8、O75、O88がそれぞれ2株ずつ、O9、O64、O76、O89が1株ずつ、型別不能9株などの成績であった。

また、P.aeruginosa 22株の血清型別成績はGが6株、E、F、Iがそれぞれ3株ずつ、Aが2株、B、Kが1株ずつであり、両菌種ともにほぼ限られた血清型のパターンを示していた(表7)。

4) 薬剤感受性試験：1濃度デスク法による薬剤感受性試験の成績を表8に示した。すなわちE.coli (18株)はKM、CP、CL、CTC、SMなどに感受性であったが、PC、ABPC、OM、SP、LCには耐性を示した。P.aeruginosa (9株)はCL、SMに比較的感受性であっただけで他の薬剤には全て耐性であった。K.pneumoniae (3株)およびA.faecalis (1株)はPC、AB-PC、OM、SP、LCに耐性を示した。Streptococcus sp. (3株)はCL以外の薬剤、B.cereus はKM、CP、CTC、OTC、OM、Cl.perfringens (2株)はCP、CTC、OTC、PC、ABPC、SPなどに感受性であった。

最小発育阻止濃度を表9に示したが、E.coli (13株)はFM 1.56~3.13 $\mu\text{g ml}^{-1}$ 、ABPC 0.78~25.0 $\mu\text{g ml}^{-1}$ 、CTC 1.56~50.0 $\mu\text{g ml}^{-1}$ とABPC、CTCに比べてFMに感受性を示した。K.pneumoniae (1株)はCTC 1.56 $\mu\text{g ml}^{-1}$ 、ABPC 12.5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ 、FM 0.78 $\mu\text{g ml}^{-1}$ 、P.aeruginosa (1株)はCTC 6.25 $\mu\text{g ml}^{-1}$ 、FM 3.13 $\mu\text{g ml}^{-1}$ 、AM >100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ などの成績であった。

3 病理学的検索

1) 剖検所見

罹患分房を剥皮すると皮下組織は顕著な浮腫および点状出血あるいは充出血が認められた。断面は暗赤色もしくは淡褐色を呈し、強い出血と間質の浮腫が広

い範囲でみられ、健康部と病変部との境界は明瞭であった（写真1、2、3、4）。

乳汁は希薄で黄色ないし暗赤色の漿液となり、乳槽や乳管内に貯留していた。また、乳頭粘膜には出血とび爛が認められた。乳房リンパ節は全体に腫大し、断面は充出血あるいは髄様腫脹が認められた。

主要臓器では、肝はやや腫大し、淡黄色脂肪化ならびにうっ血がみられた。腎には充血と一部点状出血がみられ、脾は腫大し脾柱不明瞭で、肺および心において暗赤色斑がみられた（写真5、6、7）。

2) 組織学的所見

(1) 罹患分房：腺胞内の充出血は29例中全例に認められた。腺胞上皮細胞は変性、壊死、脱落など全体に強い変化のものが多くみられ、軽度のものでは核の濃縮、空胞変性が認められた。

腺胞内の細胞浸潤は好中球が主体であり、拡張した腺胞腔内には線維素凝固物あるいは脱落上皮細胞、好中球、リンパ球など種々の浸潤細胞がみられた。

間質においては腺胞間質および小葉間質の出血、血管内の充血、うっ血が29例中全例に認められた。間質の水腫は線維素折出による炎症性水腫がほとんどであり、ときには好中球を主とした細胞浸潤がみられた。また、拡張した血管およびリンパ管には血栓形成が認められ、その性状はフィブリン血栓が中心であった（写真8、9、10）血管については、血管壁は空胞化あるいは線維索性壊死に陥っているものが多くみられた（表10）。

(2) 肝：肝の脂肪変性は全例に認められ、重度なものはほとんど脂肪細胞でおきかえられていた。また肝の出血、うっ血、変性壊死ならびにフィブリン血栓もみられた（写真11、12、13）。

(3) 腎：腎の出血、うっ血、尿細管上皮の変性および糸球体細胞数の増数などはほとんどの症例でみられたが、間質の細胞浸潤は軽度であった、また血管内の血栓形成は26例中8例にみられた（写真14、15、16）。

(4) 脾：脾のうっ血は29例中24例で認められ、重度なものもあった。またリンパ組織の萎縮、血管周囲炎、血栓形成も一部の症例で認められた（写真17、18）。

(5) 肺：肺の出血あるいは間質のうっ血、血管内皮細胞の腫大がみられた（写真19）。

(6) 心：心の出血、うっ血が29例中17例に認められたが、心筋の変性壊死、血栓形成などは軽度であった（写真20、21、表11）。

3) 分離菌と病理組織所見

(ア) E.coli などグラム陰性桿菌が分離された症例：腺胞内における出血、充血、腺胞上皮細胞の変性壊死、腺胞および間質の小血管内における血栓形成と線維素膨化を示す変性像がみられた。腺胞内は漿液性滲出物が多くみられたが、好中球などの細胞浸潤は軽度であった。また、肝、腎、心および肺の出血、うっ血、血栓形成と変性壊死が認められた。

(イ) B.cereus などグラム陽性菌が分離された症例：腺胞上皮細胞の変性壊死および出血、細胞浸潤が顕著であった。また、間質の水腫、充出血、血管壁の線維素性変化も認められた。肝、腎、脾、肺などの主要臓器の病変はグラム陰性桿菌が分離された症例より軽度であった（表12）。

4 血液生化学的検索

1) 血球像および血液生化学的所見

赤血球数は、壊疽牛は対照牛に比し高い値（ $P<0.05$ ）を示し、ヘマトクリット値では両者間に著明な差（ $P<0.01$ ）が認められた。白血球数は、壊疽牛の内毒素陽性牛が若干低い値を示した。分画白血球数においては、壊疽牛は好酸球、分葉核好中球、単球などの減少と桿状核好中球の増加がみられた。

血清総蛋白量は、壊疽牛は対照牛に比し低い値を示し（ $P<0.01$ ）、血清蛋白分画では、アルブミンおよびグロブリンの減少がみられたが、 α および γ グロブリン、A/Gには差が認められなかった。

GOT、GPT、 γ -GTP、ALP、LDHなどの血清酵素活性値は、壊疽牛は対照牛に比し全般的に高く、とくに内毒素陽性牛は陰性牛に比べてGOT、GPT、LDHなど高度の活性上昇を示し、有意差が認められた。

また、血清尿素窒素量は壊疽牛において著しい上昇がみられたが、血糖量には差がみられなかった。血清無機物については、壊疽牛は対照牛に比しカルシウムが低く（ $P<0.01$ ）、無機リンが高い（ $P<0.01$ ）傾向がみられた。

ビタミンA、カロチンおよびビタミンEについては、壊疽牛はやや低値をとる傾向がみられたが、有意性は認められなかった（表13）。

2) 臓器内の酵素活性値

臓器内GOT活性値は、壊疽牛は対照牛に比し罹患乳房で有意に低く（ $P<0.01$ ）、とくに内毒素陽性牛では心、腎、肺、乳房においてGOT活性値の減少が見られた。

GPT活性値は、対照牛に比し壊疽牛の罹患乳房は低値を示した。 γ -GTP

Pは、壊疽牛の乳房が有意に低い活性値を示し、心でもやや低い傾向がみられた。ALPは、とくに差がみられなかった。

LDHは、対照牛に比し壊疽牛で乳房に活性値の減少がみられ、とくに内毒素陽性牛は、心、肝、腎、乳房において減少が認められた(表14)。

3) 血液凝固系の検査

血小板数は、健康対照牛に比し壊疽牛では著しい減少($P<0.01$)がみられた。とくに本症牛の内毒素陽性牛では血小板数 $10 \times 10^4 \text{ mm}^{-3}$ 以下を示すものが多くみられた。

PTおよびAPTTは、健康対照牛に比し壊疽牛では凝固時間の延長($P<0.01$)がみられた。

血漿フィブリノーゲンは、健康対照牛に比し壊疽牛では著しく減少($P<0.01$)していることがわかり、とくに内毒素陽性牛は $158.2 \pm 66.3 \text{ mg dl}^{-1}$ と著しい減少($P<0.01$)がみられた(表15)。

5 内毒素の検索

1) 血漿および乳汁中の非特異的アミダーゼ活性の測定

健康な家畜の血漿および乳汁中のBoc-Leu-GH-Arg-PNAに対する非特異的アミダーゼ活性を測定した。血漿については加熱処理とPCA処理により、545nmの吸光度で測定したところ、末処理血漿では0.23~0.31の範囲であったが、加熱処理では0.034~0.041に比べてPCA処理では0.017~0.02と低い値を示した。

このことから、PCA処理により血漿中の残存アミダーゼ活性はほぼ完全に除去されていた(表16)。

また、乳汁中の非特異的アミダーゼ活性では 0.017 ± 0.01 を示したことから血漿と同様に、リムルステストを行う前に何らかの前処理を施す必要性を認めた(表17)。

2) 回収率

血漿を加熱処理して合成発色基質法により内毒素の回収試験を行ったところ、各家畜の回収率にバラツキがみられたのに対し、PCA処理では、いずれも100%に近い回収率を示した(表18)。

また、乳汁ではPCA処理後、中和に用いるNaOH濃度による内毒素回収率は0.18MNaOHでは $82.9 \pm 6.9\%$ であったが、0.21MNaOHでは $101.9 \pm 6.1\%$ で、ほぼ100%の回収率であった。同様に血漿でも0.21MNaOH中和で、 $99.1 \pm 4.4\%$ と良好な回収率が得られた(表19)。

3) 健康牛の内毒素量

健康牛の血漿中内毒素量は $4.7 \pm 2.6 \text{ pg ml}^{-1}$ であり、また乳汁中内毒素量は $5.5 \pm 2.9 \text{ pg ml}^{-1}$ であった（表 2 0）。

4) 急性乳房炎牛の内毒素量

急性乳房炎牛でグラム陰性桿菌が分離された 12 症例の内毒素量は、血漿中では $3.7 \pm 1.7 \text{ pg ml}^{-1}$ 、乳汁中では $1147.0 \pm 766.8 \text{ pg ml}^{-1}$ であった。またグラム陽性菌が分離された 6 症例は、血漿中では $2.8 \pm 2.0 \text{ pg ml}^{-1}$ 、乳汁中では $5.6 \pm 2.6 \text{ pg ml}^{-1}$ であった。このように急性乳房炎牛の乳汁中内毒素量はグラム陰性桿菌が分離された症例から高い濃度で検出されたが、血漿中内毒素量はいずれも健康牛とほとんど同じ値であった（表 2 1）。

5) 壊疽性乳房炎牛の内毒素量

E.coli, *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae* などのグラム陰性桿菌が分離された 30 例の壊疽性乳房炎牛の乳汁中内毒素量は $9.1 \pm 5.2 \times 10^6 \text{ pg ml}^{-1}$ と非常に高値を示した。また血漿中内毒素量も $89.6 \pm 68.2 \text{ pg ml}^{-1}$ と急性乳房炎牛に比べて著しく高い値であった（表 2 2）。

しかし、*Cl.perfringens* などグラム陽性菌が分離された 3 症例の内毒素量は、乳汁中では $5.5 \pm 2.7 \text{ pg ml}^{-1}$ 、血漿中では $2.5 \pm 0.9 \text{ pg ml}^{-1}$ といずれも健康牛とほぼ同じ値であった（表 2 3）。

6) エンドスペシー（ES）テストによる内毒素の検索

内毒素だけにしか反応しない ES テストを用いて本症牛の血漿および乳汁中の内毒素を測定したところ、トキシカラーテストで測定した内毒素量とほぼ同じ値であった。さらに両テストの間の相関係数は、血漿では $r = 0.99$ 、乳汁では $r = 0.98$ といずれも有意性（ $P < 0.01$ ）が認められた（表 2 4）。

7) 内毒素量と臨床症状

本症発症牛の内毒素陽性牛（ 1.6 ± 1.0 日）は陰性牛（ 2.1 ± 1.8 日）に比べて若干廃用までの日数が短い傾向がみられたが、内毒素の濃度と廃用まで日数との間には関連はなかった。

また、臨床症状では内毒素陽性牛は陰性牛に比べて呼吸数の増加（ $P < 0.05$ ）、黒褐色の水様性下痢（ $P < 0.01$ ）および乳房の腫大（ $P < 0.05$ ）などの症状を呈するものが多くみられた（表 2 5）。

8) 壊疽性乳房炎発症牛についての経時的变化

症例 A は発症後 2 日目で死亡したものである。初診時の臨床症状は食欲不振、乳房の紫斑、硬結がみられ、白血球数の減少、BUN、GOT の上昇があり、乳汁から *E.coli* が $4.8 \times 10^8 \text{ ml}$ が分離された。内毒素量は、血漿では初診時

11.0 pg ml⁻¹、1日後 46.0 pg ml⁻¹、死亡時 153.9 pg ml⁻¹と著しく増加し、さらに、乳汁では初診時 7.8×10^6 pg ml⁻¹と非常に高値であった(図6)。

症例Bは抗生物質(カナマイシン)の動脈内注射、抗炎症剤(フルニキシン)および補液の投与により治癒したもので、初診時では起立不能、乳房の腫脹、硬結、白血球数の減少がみられた。また、乳汁から K.pneumoniaeが 3.8×10^{-7} 分離された。内毒素量は、血漿では初診時 26.5 pg ml⁻¹であったが、その後日数の経過とともに低下し、6日後では 2.6 pg ml⁻¹と健康牛のレベルにまで低下した。また、乳汁では初診時に 1.8×10^7 pg ml⁻¹であったが、6日後には 3.0×10^4 pg ml⁻¹まで低下した(図7)。

Ⅳ 考 察

1 疫学からみた発生実態とその機序

壊疽性乳房炎は、分娩前後の高泌乳牛に発症し病勢が急激なため、治療を施す余裕もなく死産の転帰をとるものが多く、農家に与える経済的打撃と失望は大きい[1,17]。一方、レンサ球菌やブドウ球菌による乳房炎に対するNIRDプログラムが広く適用され、大きな効果を上げている[2]が、この対策は壊疽性乳房炎に対しては効果はなく、むしろ本症の発生を増加させている[35]。

そこで、本症の発生実態調査を行ったところ1974年～1984年までの11年間に794頭の発生があり、乳房炎死産頭数の38.4%を占め、しかも年々増加の傾向があった。また、本症に罹患したものでは約95%が死亡および廃用の転帰をとっていた。このことは、原[17]、池本[26]、有田[1]、の報告と一致し、本症はきわめて難治性のものであることがうかがわれる。

月別の発生状況では、Schalmら[71]は寒くて雨の多い1月から4月の冬季に多発するとし、原[17]は冬季から早春にかけて多発する傾向がみられるとしたが、今回の調査では2月にやや多かったが年間をつうじて発生しており、月別との間に特別な関連はみられなかった。

また、発生時期をみると分娩後1週間以内に81.3%のものが発病し、とくに分娩後2日以内のものが67.3%も占めていたことから、分娩と密接な関係を示唆した。

Johnsonら[36]は飼育環境のよくないところで多発する傾向があるとし、Walserら[86]は高栄養飼料への変換あるいは不適な飼料給与によって本症の発生率が増加したと報告している。

また、乾乳期における潜在性乳房炎も分娩を契機として乳房炎になる[1,17]といわれていることから、本症の多発農家の乳房炎罹患率が非常に高かったことは、飼育環境の不良とともに潜在性乳房炎が本症の発生要因の一つとして考えられる。

さらに、分娩前後に乳房が異常に腫大するため乳房内圧の増大に伴う血行、リンパ流のうっ滞[17,73]、ストレスおよび疲労[1]、潜在性乳房炎[1,17]、高栄養による脂肪肝[86]など母体が病原菌の侵入を容易にするような条件が加わったことも十分考えられる。

2 発生機序への検討

1) 分離菌種との関連

本症からの分離菌種は、E.coli 50.8%、P.aeruginosa 16.9%、E.aerogenes 4.6%、K.pneumoniae 4.6%などグラム陰性桿菌が全体の80.0%を占めており、急性乳房炎の分離菌種とは大きな相違がみられた[42]。また、McDonaldら[47]は E.coliが45.0%を占めていたと報告し、Schalmら[71]、Jasperら[35]、久米ら[40,41]、有田[1]も同様に報告している。

これらの細菌が乳腺内への感染の時期については、搾乳と搾乳の間に、ミルカーの助けをかりずに乳頭口から乳頭洞へ入るとされている。また、McDonaldら[46]は、乾乳期の後半に感染すると分娩まで潜在的感染として残り、分娩後1～13日の間にすべて壊疽性乳房炎になったとしている。

さらに、Hill[20]は E.coliの乳房内感染試験で、分娩直後の母牛の乳房は病原体に対する反応が鈍く、そのため感染後の防御機構が遅れる傾向にあると報告している。その理由として、分娩に近いほど感染に対する好中球の動員の速度は遅く、食作用の効率も悪く[63]、また、初乳中に多く含まれているクエン酸塩がラクトフィリンの細菌に対する鉄干渉を防げる[71]などが考えられる。

乳房炎由来のE.coliの血清型に関する報告が多く[9,30,38,40,41]あるが、今回の調査ではO2、O8、O75、O88とO群はある程度限られていたことは、腸管あるいは糞便由来のE.coliが内因的もしくは外因的な感作を受けて感染し、さらに発病に至ったものと考えられる[13,40,41]。また、P.aeruginosaについて血清型別を行ったところ、E.coliと同様ほぼ限られたパターンがみられた。さらに、本症の発症牛と同じ血清型のものが、慢性乳房炎牛ならびにミルカーの洗浄液から分離されたことから、本菌の牛舎内汚染[28,61,75,76]が示唆された。

なお、感染経路については血行性、乳頭口および経皮説があげられているが、乳頭ないし乳房から病原微生物が侵入して感染と発病が起こるものであらうとされているものが有力である。

2) 病理組織所見との関連

Renk[67]はColiform mastitisの病理解剖所見として、乳房の皮下および間質の著しい水腫、小出血斑、組織障害をとめない、組織所見では乳房間質の著しい水腫、腺胞上皮の著しい変性、剥離、間質の著明な充出血、血管ならびにリンパ管の線維素血栓が特徴的であると報告している。これらの所見はSchalm

ら[70,71]、Ravinら[65]の報告とよく類似しており、細菌の内毒素の吸収によるものであるとしている。筆者らも、本症の発生については内毒素が関与していることはすでに報告したが[15,16]、今回の病理組織所見からみてもRenkの成績とほぼ一致した。

ヒトの内毒素血症では、出血、壊死、血栓形成[21,39]ならびに血液の凝固異常が起こり、末梢血管内に微小血栓が作られる播種性血管内凝固症候群(DIC)との関連についても報告している[27,55,79-81,90]。

今回の症例では、罹患分房の出血、水腫、変性壊死が特徴的な病変であり、血栓形成では、罹患分房に最も多く見られ、次いで肝、腎、肺の順であった。

また、主要臓器の病変については、腎の出血、うっ血、血栓形成、心の小壊死巣、肺の出血、うっ血などが認められた。これらの所見は、ウシに内毒素を投与したSchalmら[70,71]、Nagarataら[56]の報告とよく一致していた。

Corrigan[7]は、ヒトのDICのうちグラム陰性桿菌感染によるものが89.2%も占めていたとし、今村[27]も同様に報告している。また、渡辺ら[87]はヒトのDICにおける血栓形成過程は、まず細小血管内にフィブリン血栓が形成され、その好発臓器は腎(85.0%)、肺(76.7%)と最も多く、次いで脾、心、脳、肝であったと報告している。今回の症例でもほぼ同じ部位において血栓形成が認められた。

Pospisilら[64]は大腸菌性乳房炎では乳腺内のアルサス型の局所反応とアナフィラキシーショックによる全身症状がかかわっていると報告している。また、Eberhartら[8]はアルサス型の局所反応により広範な乳腺の壊死が生じるとし、Movatら[52,53]、Sabesinら[68]は血管の血栓形成とフィブリンの周辺部への滲出、漿液線維素性炎症、組織の壊疽などが認められたと報告している。同様にヒトの内毒素血症におけるDICは全身性シュワルツマン反応が発生要因と考えられている[24,27]。

このことから、本症の発生要因として細菌ことにグラム陰性桿菌による内毒素が直接的に組織障害を引き起こすとともに、アルサス型のアナフィラキシーショックが加わっているものと考えられる。さらに、肝の脂肪変性がほとんどの症例にみられたことは、解毒作用の低下、代謝機能の異常をきたして発生しやすい状態になっているものと考えられる。

3) 血液生化学所見との関連

壊疽性乳房炎では、循環血液中の白血球減少症は野外例[14,19]、実験例[34,62]のいずれも初期の段階にあらわれる。そのうち好中球が最も著しいが、リンパ球もまた減少する。

Paapeら[62]によれば内毒素(0.5 mg)の乳房内注入後血中の好中球数は1.5時間で25%、5時間で93%減少し、白血球の左方推移は注入後2時間から始まり、18~24時間で最高の比率になるとしている。今回の症例でも、白血球数の減少とくに好中球および単球の減少、桿状核好中球の増加が認められた。このように循環血液中の好中球の減少は、罹患乳房内へのこれらの細胞の大量の移動[62]と内毒素の刺激による好中球の辺縁趨向による[34]ものであり、そのため骨髓中の reserve pool は一時的に枯渇し、maturative pool から未熟な好中球が末梢血中に流出し、左方推移が起ったものと考えられる。ヒトの内毒素血症では、最初に白血球数の増加がみられるが内毒素ショックとともに白血球数の減少、核の左方推移がみられたと報告している[19,39,78]。

また、今回の症例では内毒素による血漿成分の喪失にともなう血清蛋白の低下、アルブミンの減少およびグロブリンの減少、血清カルシウムの低下、血清尿素窒素と無機リンの増加がみられた。

さらに、血清酵素量ではGOT、GPT、LDHが有意に高く、ALP、 γ -GTPも全般的に高値であった。これは罹患した乳腺組織中でのこれらの酵素活性値が著しく低下しており、組織の破壊によるこれらの酵素の血中への逸脱が示唆された。

Boginら[3]は搾乳牛の乳腺内にE.coli 内毒素を注入して発症された甚急性乳房炎の乳汁中のGOT、LDH、ALPの活性値が著しく上昇したと報告している。また、ウサギの乳腺内にE.coli 内毒素を注入した成績では、乳腺組織内の各酵素が著しく減少したと報告している[69]。さらに、ヒトの内毒素血症ではショック時において血清酵素と尿素窒素の上昇がみられ、それらは主要臓器の障害を意味し、予後に重大な影響を与えていると報告している[19,39,72,78]ことから本症においても同様に内毒素による主要臓器の崩壊をきたし、予後不良になっているものと考えられる。

また、内毒素は血管内皮細胞障害、凝固線溶系や補体系への異常をきたし、血小板の凝集がみられフィブリン血栓となり、出血、壊死などの組織障害を引き起こすことが報告されている[27,39,74,90]。本症牛についても血小板の減少、プロトロンビン時間と活性部分トロンボプラスチン時間の延長、血漿フィ

ブリノーゲンの著減ならびに罹患分房の出血、壊死、血栓形成などの所見から、ヒトの内毒素血症にみられるDICとよく一致していた。また、この変化は、子牛に内毒素の静脈内接種で生じたDICにおける血液凝固系の変化[83]と同様であり、家畜における各種の悪性腫瘍、敗血症、肺炎などの症例とほぼ同じ所見であつた[49, 56, 66, 83]。

このように本症牛は、白血球数の減少、血清酵素活性値の上昇と血小板数、血漿フィブリノーゲンの減少、プロトロンビン時間および活性トロンボプラスチン時間の延長など血液凝固系の異常が認められたことから、これらの検査項目の応用により、早期診断、予後の判定ならびに治療指針の一助になると思われる。

4) 内毒素との関連

グラム陰性桿菌の外膜にある化学的複合体のリポ多糖類は内毒素と呼ばれ、細菌が死滅したときのみ放出され、生体に対する作用も強く、血液凝固（播種性血管内凝固）、補体系の活性化、発熱性、免疫、代謝的影響、ショック、全身性シュワルツマン反応、肝毒素性などが挙げられる[22, 23]。この内毒素の測定には、Levin and Bang[43]によりカプトガニの血球成分を利用したリムルステストが報告されてから、ゲル化法および合成発色基質法が開発され、ヒトにおける内毒素が関与している疾病の臨床的研究が急速に進展した。

合成発色基質法は内毒素によって最終的に活性化されたカプトガニのclotting enzyme の合成基質水解能（アミダーゼ活性）が、内毒素の量に比例することに基づいている[31, 60]。したがって、血中の内毒素を測定する際には血中に存在するアンチトロンビンⅢ、 α_2 -プラスミンインヒビター、 α_1 -アンチトリプシンなどのインヒビターならびに合成基質を直接水解するトロンビンやXa因子などをあらかじめ除去しておく必要がある。これらの影響物質を除去するためにクロロホルム法[44]、希釈加熱法[6]などが考案されてきたが、内毒素添加回収率や偽陽性反応など様々な問題が残されていた[60, 88]。一方、近年開発されたPCAによる阻害物質除去法はほぼ100%の内毒素回収率が得られ、ヒト[60]、実験動物[10, 57]の血漿の処理法として広く用いられている。しかし、家畜の血漿および乳汁についての報告は全くない。

今回、本症牛の発症機序の解明ならびに予後診断の目的で、血漿および乳汁中の内毒素定量のための基礎的検討を行なったところ、健康牛の血漿および乳汁中には合成基質を直接水解する非特異的アミダーゼ活性が存在していることが判明し、PCA 前処理法により阻害物質を完全に除去することができた。

すなわち、PCA 処理後中和に用いる NaOH 濃度をヒトの血漿で用いられている 0.18 M から 0.21 M に上げることにより、ほぼ 100% と良好な内毒素回収率が得られ、血漿および乳汁中内毒素を高精度に再現性良く測定することが可能となった。とくに、乳汁では血漿より蛋白濃度が低いため、また成分組成も異なっているため PCA 処理後、0.18 M NaOH では十分に中和されず酸性になっていたことに起因すると考えられる。この PCA 前処理法と合成発色基質法による健康牛の乳汁および血漿中の内毒素量はいずれも 10 pg ml^{-1} 以下であったが、乳汁は血漿よりやや高い傾向を示した。

急性乳房炎牛の血漿中内毒素は、健康牛の値とほぼ同じであったが、乳汁中の内毒素はグラム陰性桿菌が分離された症例から高い濃度で検出された。また、壊疽性乳房炎牛では乳汁から非常に高濃度で内毒素が検出され、血漿についても同様に高い濃度で検出された。

このように、合成発色基質法を用いたリムルステストにより壊疽性乳房炎牛の血漿および乳汁から高濃度に内毒素が検出された。一方、近年、岩永ら[32]のカプトガニ凝固酵素の一連の研究によりライセート中には内毒素で活性化される経路とは別に、(1→3)-B-D グルカンによって活性化される経路の存在が明らかとなり、内毒素以外にも真菌多糖、クレスチン、レンチナン、サイモサンなどがごく微量でも存在するとリムルステスト偽陽性を示すことが明らかとなった[59]。

そこで、内毒素によってのみ活性化される因子を再構成し、これに合成発色基質を加えたリムルステスト（エンドスペシー；ES テスト）で検討したところ、グラム陰性菌感染例ではきわめて高い特異性で内毒素が検出されたことから、本症牛のうちグラム陰性菌感染例の発生原因は内毒素によることが再確認された。

壊疽性乳房炎牛は、分娩直後に多発し、病勢が急激なため治療を施す余裕もなく死廃の転機をとるものが多い[1,12,17,51]。感染経路は、主に乳頭から侵入したグラム陰性桿菌が、乳腺乳槽および乳管内で増殖し、その結果、大量の内毒素を産生する[5]。これらの産生された内毒素が乳腺上皮から循環血液中に侵入し、重篤な内毒素血症を引き起こすものと考えられる。

今回の研究において、血漿より乳汁中内毒素の方が著しく高値を示したことは、このような発症機序を証明している。また、血漿中の内毒素が高くなると臨床症状が悪化し、予後不良となることが多かったことから、早期診断、早期治療が非常に重要である。その点、血漿に比べて乳汁の方が 10^5 倍も高い内

毒素が検出され、さらに採取が簡便であることから非常に有利である。

すなわち、乳汁中の内毒素を測定することは、グラム陰性桿菌による急性および壊疽性乳房炎の早期診断となり、さらに血漿中の内毒素を測定することにより、効果的な治療法と予後判定に有効な指標になると考えられる。

また、実験的に内毒素を注入すると、乳汁中のプロスタグランディン(PG)のうち、 $\text{PGF}_2\alpha$ と6-Keto- $\text{PGF}_1\alpha$ 濃度の著しい増加がみられるが、 PGE とトロンボキサン(TX) B_2 は変化はなかった[11,50]と報告している。このようにPGは内毒素による乳房の炎症経過に関与するので、 TXA_2 (TXB_2)と PGI_2 ($\text{PGF}_1\alpha$)の放出を遮断し、内毒素誘起の炎症を緩和する非ステロイド系抗炎症剤の投与[4,58]が期待される。さらに、内毒素と特異的に結合するポリミキシンBの投与も有意なことである。Zivら[92]はin vitroでグラム陰性桿菌に感受性を示すポリミキシンBは、*E.coli*の内毒素中毒を阻止したとし、岩崎ら[33]、Liehrら[45]はヒトでの内毒素陽性の肝硬変に投与して治療効果を上げている。

いずれにしても、近年、増加しつつある本症については、各種の臨床病理検査とリムルステストによる内毒素の測定により早期に発見し、初期に十分な治療を施すことが治癒に結びつくことになろう。そして内毒素の産生による中毒症状に対する処置が急務であることはいうまでもない。

V 総括および結論

分娩直後に発病し、急激な全身症状と乳房の局所症状を伴う壊疽性乳房炎について内毒素の検出を行うとともに、その発生機序について臨床的、細菌学的、病理学的、血液生化学的に検討し、次の結果を得た。

1、1974年から1984年にかけて兵庫県淡路地方における壊疽性乳房炎の実態調査を行ったところ、発生総数は794頭で乳房炎死産頭数の38.4%を占め、年々増加していた。発症時期は分娩と密接な関係があり、分娩後7日以内に81.3%のものが発病し、経過が急激であるため初診後3日以内に78.5%のものが死亡あるいは廃用の転帰をとっていた。主要な症状として元気消失、食欲廃絶、心悸亢進、起立不能、悪臭のある下痢などの全身症状と乳房の紫斑、冷感、腫大、乳汁の変化がみられた。

2、発症牛の乳汁の細菌検査では、E.coli 50.8%、P.aeruginosa 16.9%とこの両者の菌種が主に分離され、次いでK.pneumoniae 4.6%、E.aerogenes 4.6%、Cl.perfringens 4.6%、B.cereus 4.6%、S.aureus 4.6%、Streptococcus sp. 4.6%などの検出率であった。罹患乳房および一部の乳房リンパ節から純粋に多数の起病因菌を分離したが、主要臓器からはほとんど分離出来なかったことから本症の発生機序が起病因菌の菌体毒素の作用によることを確認した。また、多く分離されたE.coli、P.aeruginosaの血清型はほぼ限られたパターンがみられたことは、腸管あるいは糞便由来のこれらの細菌が、内因的もしくは外因的な感作を受けて感染し、さらに発病に至ったものと考えられる。

3 病理組織所見では、乳房腺胞内の出血、腺胞上皮細胞の変性壊死、水腫、血管の線維素性壊死が認められた。また、血栓形成は罹患乳房に最も多くみられ、次いで肝、腎、肺の順に認められたことはヒトの内毒素血症にみられる血管内凝固症候群ときわめて類似する所見であった。主要臓器の病変では、肝の脂肪変性、出血、壊死、血栓形成、腎の出血、尿細管上皮細胞の変性壊死、肺のうっ血、出血、心の小壊死巣がみられた。このことから細菌の毒素により直接的に組織障害を引き起こし、重篤な症状を呈するものと考えられる。

4 血液生化学的検査では、赤血球数、ヘマトクリット値の増加、白血球数の減少、好酸球、分葉核好中球および単球の減少と桿状核好中球の増加、血清総蛋白量、アルブミン、グロブリンおよび血清カルシウムの減少と血清尿素窒素、血清無機リンの増加が認められた。とくに分葉核好中球の減少は罹患乳房

内への大量の移動と内毒素の刺激による好中球の辺縁趨向によるものと考えられる。また、血清GOT、GPT、LDHの著しい上昇がみられたことは、内毒素による臓器障害、とくに乳腺組織の破壊によりこれらの酵素が血液中に逸脱したためと考えられる。

5 牛の血漿および乳汁中のリムルス反応影響因子の除去法として、PCA処理は最も有効であり、さらに0.21 M NaOHで中和することにより血漿および乳汁中の内毒素を合成発色基質法により定量する方法を確立した。

6 健康牛の血漿および乳汁中の内毒素量を測定したところ、すべて10 pg ml⁻¹以下であった。また、急性乳房炎牛からグラム陰性桿菌が分離された症例は、血漿中の内毒素量はすべて10 pg ml⁻¹以下であったが、乳汁中では1,147.0 ± 766.8 pg ml⁻¹と高い値を示したが、グラム陽性菌が分離されたものは血漿および乳汁中の内毒素量はすべて10 pg ml⁻¹以下であった。

壊疽性乳房炎牛のうちグラム陰性菌感染群の血漿中の内毒素量は、89.6 ± 68.2 pg ml⁻¹と高値を示した。また、乳汁中の内毒素量は血漿中のそれよりも著しく高く9.1 ± 5.2 × 10⁶ pg ml⁻¹であった。しかし、本症からグラム陽性菌が分離された症例の血漿および乳汁中の内毒素量はすべて10 pg ml⁻¹以下であった。

このことから本症のうちグラム陰性菌感染群の発症原因は内毒素によるものであることが確認された。また、乳汁中の内毒素を測定することはグラム陰性桿菌による急性および壊疽性乳房炎の早期診断となり、さらに血漿中の内毒素を測定することにより本症牛の効果的な治療法と予後判定に有用な指標となると考えられる。

本症の発生機序として、罹患乳房で増殖したグラム陰性桿菌が内毒素を産生し、それが血液中に流入して凝固線溶系や補体系へ作用し、血管内凝固症候群を引き起こす。また、内毒素の直接的な作用により乳房および主要臓器に損傷を起こし、重度になると全身性シュワルツマン反応により死亡するものと考えられる。さらに、発生要因の背景として飼養環境の不良、高栄養の飼料給与による脂肪肝、代謝障害、分娩によるストレス、潜在性乳房炎など母体に病原菌の侵入を容易にするような条件が加わったことも十分に考えられる。

VI 謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究のご指導ならびにご校閲を賜った本学教授、田淵 清博士、清水武彦博士、松浦健二博士に深甚なる謝意を表する。

また、本研究に助言をいただいた大阪市立大学医学部 丹羽 允博士、全国酪農業協同組合技術顧問 原 茂博士、北里大学柏猷医畜産学研究所（故）久米常夫博士に深謝するとともにご協力をいただいた生化学工業（株）東京研究所 田中、田村研究員、洲本家畜保健衛生所、淡路基幹家畜診療所ならびに関係畜産団体の職員の方々に感謝する。

Ⅶ 参 考 文 献

- 1) 有田忠義 ; 壊疽性乳房炎の経過と治療について(上、下), 家畜診療, 118, 13~18; 119, 17~20 (1973).
- 2) Blood, D.C., Henderson, J.A. and Radostitis, O.M. (臼井和哉、本好茂一訳) ; 臨床獣医学(I), 文永堂, 東京 (1981).
- 3) Bogin, E. and Ziv, G.; Enzymes and minerals in normal and mastitic milk, Cornell Vet., 63, 666~676 (1972).
- 4) Bottoms, G.D., Johnson, M.A. and Roesel, O.F.; Endotoxin-induced hemodynamic changes in dogs; Role of thromboxane and prostaglandin I₂, Am. J. Vet. Res., 44, 1497~1500 (1983).
- 5) Carroll, E.J., Schalm, O.W. and Lasmanis, J.; Experimental coliform(Aerobacter aerogenes) mastitis; characteristic of the endotoxin and its role in pathogenesis, Am. J. Vet. Res., 25, 720~726 (1964).
- 6) Cooperstock, M.S., Tucker, R.P. and Baublis, J.V.; Possible pathogenic role of endotoxin in Reys syndrome, Lancet. I., 1272~1274 (1975).
- 7) Corringan, J.J.; Heparin therapy in bacterial septicemia, J. Pediatrics, 91, 695~700 (1977).
- 8) Eberhart, R.J., Natzke, R.P., Newbould, F.H.S., Nonnecke, B. and Thompson, P.; Coliform mastitis-A review, J. Dairy Sci., 62, 1~22 (1979).
- 9) Fey, H.; VI Serologische, biochemische und biologische Untersuchungen an Stämmen aus boviner Colimastitis, Ergebn. Hyg. Bact., 29, 394~474 (1955).
- 10) Fujikawa, H., Igarashi, H., Usami, H., Tanaka, S. and Tamura, H.; Clearance of endotoxin from blood of rabbits injected with staphylococcal toxic shock syndrome toxin-I, Infect. Immun., 52, 134~137 (1986).
- 11) Giri, S.N., Chen, Z., Carroll, E.J., Mueller, R., Schiedt, M.J. and Panico, L.; Role of prostaglandins in pathogenesis of bovine mastitis induced by Escherichia coli endotoxin, Am. J. Vet. Res., 45, 586~591 (1984).

- 12) 函城悦司、春海礼二、余田 岬、蓬来英造、西 剛、皆木敏夫、伊藤郁夫、久米常夫、; 乳牛の壊疽性乳房炎に関する研究 I. 発生状況, 日獣会誌., 33, 319~324 (1980).
- 13) 函城悦司、蓬来英造、入谷晋市、柏崎 守、久米常夫; 乳牛の壊疽性乳房炎に関する研究 II 細菌学的研究, 日獣会誌., 33, 485~489 (1980).
- 14) 函城悦司、島田保昭、石田史郎; 乳牛の壊疽性乳房炎に関する研究, IV. 血液生化学的所見, 日獣会誌., 36, 315~319 (1983).
- 15) 函城悦司、島田保昭、岡田啓延、久米常夫、田淵 清; 乳牛の壊疽性乳房炎に関する研究 III リムルステストによるエンドトキシンの検出, 日獣会誌., 35, 330~334 (1982).
- 16) Hakogi, E., Shimada, Y., Kume, T. and Tabuchi, K.; Perchloric acid treatment and use of chromogenic substrate in the limulus test: Application to veterinary diagnosis., Vet. Micro., 10, 33~42 (1984).
- 17) 原 茂: 乳牛の乳房炎に関する研究-とくに壊疽性乳房炎の発性機序に関連して, 麻布大研究報告., 21, 53~79 (1971).
- 18) 長谷川篤彦、本好茂一、臼井和哉、湯川定夫; 甚急性経過をたどった牛の壊疽性乳房炎の一例, 日獣会誌., 第69回日本獣医学会記事, 32, 105~106 (1969).
- 19) 早坂 滉、江端俊彰; エンドトキシンショック, 外科Mook., 9, 23~26 (1979).
- 20) Hill, A. W.; Factors influencing the outcome of *Escherichia coli* mastitis in the dairy cow, Res. Vet. Sci., 31, 107~112 (1981).
- 21) 本間 遜; エンドトキシンの基礎と臨床 (1) 羊土社, 東京 (1979).
- 22) 本間 遜; エンドトキシン研究の動向, 最新医学, 35, 452~454 (1980).
- 23) 本間 遜、岩永貞昭、丹羽 充、吉田昌男; 内毒素-その構造と活性, 医歯薬出版, 東京 (1983).
- 24) Horn, R. G.; Fragmentation of granulocytes in pulmonary capillaries during development of the generalized Shwartzman reaction, Lab. Invest., 19, 451~459 (1968).
- 25) 飯塚三喜、久米常夫、原 茂、野附 巖; 牛の乳房炎, 日本獣医師会, 東京 (1979).

- 26) 池本安夫; 乳房炎の臨床, ミルカーと乳房炎について, 家畜診療., 89, 33~41 (1970).
- 27) 今村 司; 播種性血管内凝固症候群に関する臨床病理学的研究, 福岡医誌., 73, 15~33 (1982).
- 28) 井上 貢, 山田 完, 加藤清人, 金子 晋, 宮田 基, 清水 健; 千葉県下における牛緑膿菌性乳房炎の実態調査成績, 日獣会誌., 29, 620~624 (1976).
- 29) 井上雅介, 中野 進, 森田 修, 芝野健一, 門田文隆, 村田敏信; 壊疽に移行すると思われた甚急性乳房炎の早期診断と外陰部動脈内注射の応用について, 兵庫県家畜共済研究発表集, 17, 17~21 (1984).
- 30) 井土俊郎; 牛乳房炎の細菌学、特に大腸菌性乳房炎について、北獣会誌., 11, 155~163 (1967).
- 31) Iwanaga, S., Morita, T., Harada, T., Nakamura, S., Niwa, M., Takada, K., Kimura, T. and Sakakibara, S.; Chromogenic substrates for horseshoe crab clotting enzyme; its application for the assay of bacterial endotoxins, Haemostasis., 7, 183~188 (1978).
- 32) Iwanaga, S., Morita, T., Miyata, T., Nakamura, T., Hiranaga, M. and Ohtsubo, S.; The limulus coagulation system sensitive to bacterial endotoxins, In; Homma, J.Y., et al eds, Bacterial endotoxin; Chemical, biological and clinical aspects, Weinheim, Verlag Chemie GmbH, 365~382 (1984).
- 33) 岩崎正高、丸山 泉、佐藤克昭、桑木敏光、江畑浩之、池尻直幹、阿部正秀、長崎嘉和、長田英輔、前山豊明、安部弘彦、谷川久一; エンドトキシン血症の基礎と臨床; エンドトキシン血症に対するポリミキシンBの効果について, 149~160, 羊土社, 東京 (1980).
- 34) Jain, N.C., Schalm, O.W. and Lasmanis, J.; Neutrophil kinetics in endotoxin-induced mastitis, Am. J. Vet. Res., 39, 1662~1667 (1978).
- 35) Jasper, D.E., Dellinger, J.D. and Bushnell, R.B.; Herd studies on coliform mastitis, J. Amer. Vet. Med. Ass., 166, 778~780 (1975).
- 36) Johnson, C.W. and Siddique, I.H.; A herd problem of acute coliform mastitis, Vet. Med. Small. Anim. Clin., 60, 940~942 (1965).
- 37) Jubb, K.V.F. and Kennedy, P.C.; Pathology of domestic animals Vol I., 2nd. ed., Acad. Press N.Y. and London (1970).
- 38) 柏崎 守、久米常夫、杉本千尋、田村和満、坂崎利一; 家畜・家禽の病的材料由来大腸菌のO群型別; 第88回日獣学会講演要旨, 101 (1979).

- 39) 川山昭雄; エンドトキシン血症の実験的臨床的研究, 札幌医誌., 49, 602
～618 (1980).
- 40) 久米常夫; Enterobacteriaceaeによる牛の乳房炎, 畜産の研究., 31, 15
～21 (1977).
- 41) 久米常夫、柏崎 守、三谷賢治、平棟孝志、田村和満、坂埼利一; 牛乳房炎乳汁
から分離された Enterobacteriaceaeについて, 第80回日獣学会講演要旨
, 19 (1975).
- 42) 久米常夫、平棟孝志、村瀬信雄; 牛の臨床型および潜在性乳房炎と乳汁の細
菌叢、家衛試研究報告., 61, (1970).
- 43) Levin, J. and Bang, F.B.: Clottable protein in Limulus: its localiza-
tion and kinetics of its coagulation by endotoxin, Thromb. Diath.
Haemorrh., 19: 186～197 (1968).
- 44) Levin, J., Tomasulo, P.A. and Oser, R.S.: Detection of endotoxin in
human blood and demonstration of an inhibitor, J. Lab. Clin. Med.,
75, 903～911 (1970).
- 45) Liehr, H., Grun, M., Brunswing, D. and Sautter, T.; Endotoxemia in liver
cirrhosis; Treatment with polymyxin B, Lancet, 1, 810～811 (1975).
- 46) McDonald, J.S., and Anderson, A.J.; Experimental intramammary infec-
tion of the dairy cow with Escherichia coli during the nonlactat-
ing period, Am. J. Vet. Res., 42, 229～231 (1981).
- 47) McDonald, T.J., McDonald, J.S., and Rose, D.L.; Aerobic gram-negative
rods isolated from bovine udder infections, Amer. J. Vet. Res., 31,
1937～1941 (1970)
- 48) 三宅 勝、小野 斎、清水亀平次、吉田 隆、白幡敏一、; Clostridium perfrin-
gensによる牛の壊疽性乳房炎の1例, 日獣会誌., 21, 555 (1968).
- 49) 三浦 昇、佐々木伸雄、米田久美子、大和康夫、竹内 啓、小川博之; 第88回
日獣学会講演要旨, 181 (1979).
- 50) Moore, J.N., Garner, H.E. and Sharland, J.E.; Equine endotoxemia; An
insight into cause and treatment, J. Amer. Vet. Med. Assoc., 179,
473～477 (1981).
- 51) 森永修正、工藤幸也、松尾秀人、工藤忠明; 大腸菌による牛の壊疽性乳房炎
について, 北獣会誌., 14, 78～81 (1970).
- 52) Movat, H.Z.; Antigen-Antikörperkomplex und allergische Entzündung
., Verhandl. deutsch. Ges. Path., 46, 48～74 (1962).

- 53) Movat, H.Z. and Fernando, N.V.P.; Allergic inflammation; I, The earliest fine structural changes at the blood-tissue barrier during antigen-antibody interaction. *Amer. J. Path.* 42, 41~60 (1963).
- 54) Murrphy, J.M. and Hanson, J.J.; Infection of the bovine udder with coliform bacteria, *Cornell. Vet.*, 33, 61~77 (1943).
- 55) Murrphy, H.W., Tuason, C.U. and Sheagren, J.N; Staphylococcal septicemia and disseminated intravascular coagulation; *Arch. Intern. Med.*, 137, 844~847 (1977).
- 56) Nagarata, T.G., Bartley, E.E., Anthony, H.D., Leipold, H.W. and Fina, L.R.; Endotoxin shock in calves from intravenous injection of rumen bacterial endotoxin, *J. Anim. Sci.*, 49, 567~582 (1979).
- 57) Nakao, A. and Shinohara, M.; Changes of circulating blood endotoxin analyzed by quantitative assay after intravenous administration of endotoxin, *Jpn. J. Gastroenterol.*, 82, 296~300 (1985).
- 58) 仲岡 優、函城悦司; 乳牛の急性及び甚急性乳房炎に対する動脈内注射の治療効果について、昭和60年日獣畜産学会(近畿)講演抄録集, 26 (1985).
- 59) Obayashi, T., Tamura, H., Tanaka, S. and Kawai, T.; "Perchloric acid treatment of blood samples for limulus endotoxin assay using chromogenic substrate and its clinical application", *Thrombos. Haemostas.*, 50, 268 (1983).
- 60) Obayashi, T.; Addition of perchloric acid to blood samples for colorimetric limulus test using chromogenic substrate; comparison with conventional procedures and clinical applications, *J. Lab. Clin. Med.*, 104, 321~330 (1984).
- 61) 大前憲一、寺門誠致、小山敬之、小枝鉄雄、畦地速見、清水 健; 動物由来緑膿菌の薬剤感受性と血清型について, *日獣会誌.*, 27, 386~390 (1974).
- 62) Paape, M.J., Schultze, W.D., Desjardins, C. and Miller, R.H.; Plasma corticosteroid, circulating leukocyte and milk somatic cell responses to Escherichia coli endotoxin-induced mastitis; *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 145, 553~559 (1974).
- 63) Paape, M.J., Guidry, A.J., Kirk, S.T. and Bolt, D.J.; Measurement of phagocytosis of ^{32}P -Labeled Staphylococcus aureus by bovine leukocytes; Lysostapbin digestion and inhibitory effect of cream, *Am. J. Vet. Res.*, 36, 1737~1743 (1975).

- 64) Pospisil, Z. and Salajka, E.; Pathogenesis of in coliform mastitis cattle, II, A comparison of morphological findings in coliform mastitis in cattle and in the experimentally induced Arthus phenomenon in the mammary gland of rabbits, Zbl. Vet. Med., B. 15, 631~639 (1968).
- 65) Ravin, H.A., Rowley, D., Jenkins, C. and Fine, J.; On the absorption of bacterial endotoxin from the gastro-intestinal tract of the normal and shocked animal, J. Exp. Med., 112, 783~792 (1960).
- 66) Reece, W.O. and Wahlstrom, J.D; Escherichia coli endotoxemia in conscious calves; Am. J. Vet. Res., 34, 765~769 (1973).
- 67) Renk, W.; Etiology, pathogenesis and morphology of bovine mastitis, Jet. Med. Rev., 1, 3~21 (1967).
- 68) Sabesin, S.M. and Banfield, W.G.; Electron microscopy of hypersensitivity reactions; the Arthus phenomenon, Amer. J. Path., 42, 551~570 (1963).
- 69) Said, A.H.; Experimental coliform mastitis in rabbits, Zbl. Vet. Med., 16, 387~403 (1969).
- 70) Schalm, O.W., Lasmanis, J. and Carroll, E.J.; Pathogenesis of experimental coliform (Aerobacter aerogenes) mastitis in cattle, Am. J. Vet. Res., 25, 75~82 (1964).
- 71) Schalm, O.W., Carroll, E.J. and Jain, N.C.; Bovine mastitis, Lea and Febiger, Philadelphia (1971) [保坂安太郎訳, 学窓社, 東京 (1971)]
- 72) 関口晃一: 笠岡シンポジウム、カプトガニの医学への貢献記録、大阪市立大医学部細菌学教室, 大阪 (1976).
- 73) 桜井信夫: 人畜境界領域の医学—破傷風、えそ性乳房炎、牛糞処理に関する研究の序論, 家畜診療., 62, 23~29 (1967).
- 74) 柴田 昭、高橋 薫: エンドトキシンの実験的研究: 凝固、線溶、DICの面から, 最新医学, 35, 474~476 (1980).
- 75) 清水 健: 牛乳房炎から分離された緑膿菌の血清型別と薬剤感受性, 家畜衛生週報, 1257, 254~256 (1973).
- 76) 清水 健: 家畜、家禽の緑膿菌感染症とその対策, 畜産の研究, 28, 1047~1052; 1181~1186 (1974).

- 77) 白幡敏一、清水亀平次、吉田 隆、後藤 仁、三宅 勝、小野 斉; Clostridium perfringensによる牛の急性壊疽性乳房炎について, 日獣会誌., 22, 215~217 (1969).
- 78) 玉熊正悦、石山 寛; エンドトキシンショック, 中外医学社., 東京 (1977).
- 79) 田中健蔵; 線溶現象の病理学的意義, 日病会誌., 66, 3~26 (1977).
- 80) 田中健蔵、今村 司; 病理組織学よりみた血管内凝固の発現機構、医学のあゆみ., 109, 738~744 (1979).
- 81) 田中健蔵、今村 司; 血管内凝固症候群, 脳神経外科., 9, 549~557 (1981)
- 82) Tanaka, S., Tamura, H., Obayashi, T., Ohki, M., Takahashi, S., Nakagawa, A., Fujiwara, T. and Kawai, T.; A new method of human blood treatment for quantitative endotoxin assay by limulus test, *Thrombos. Haemostas.*, 50, 114 (1983).
- 83) Tomson, G. W., Masherry, B. J. and Valli, V. E. O.; Endotoxin induced disseminated intravascular coagulation in cattle, *Can. J. Comp. Med.*, 38, 457~466 (1974).
- 84) 土屋周二、嶋田 紘; 外科とエンドトキシンショック, 外科診療., 21, 137~147 (1979).
- 85) 土屋周二、; エンドトキシンの基礎と臨床; 展望と問題点, 35, 450~451 羊土社, 東京 (1980).
- 86) Walser, K., Bieber, Dannerback, G., Gropper, M., Horpot, M., Lankenfeld, H., Mayer, J., Vergho, H. and Viktor, H.; Clinical contribution to the knowledge of acute mastitis in cows III influence of climate, *Berliner und Munchen Tierarztliche wochenschrift.*, 85, 330~333 (1972).
- 87) 渡辺照男、田中健蔵; DICと腎, 腎の透析., 4, 273~280 (1978).
- 88) Yamamoto, M.; The methods of determination of blood endotoxin levels; lack of suitability of conventional blood pretreatment for limulus test and usefulness of perchloric acid pretreatment with chromogenic limulus test, *The. St. Marianna. Med. J.*, 13, 642~650 (1985).
- 89) 吉田信行、桐沢 統、兼清知彦; 乳房炎の化学療法 VII 薬物の拡散浸透を阻害する病理組織学的所見, 獣畜新報., 203, 319~323 (1957).
- 90) Yoshikawa, T., Tanaka, K. and Guze, L. B.; Infection and disseminated intravascular coagulation, *Medicine (Baltimore).*, 50, 237~258 (1971).

- 91) 吉岡守正; リポ多糖の化学構造と活性, 最新医学., 35, 460~468 (1980).
- 92) Ziv, G., Hartman, I. and Torton, M.; In vitro inactivation of endotoxin by polymyxin B and colistin in mastitic milk, J. Vet. Pharmacol. Therap., 1., 213~216 (1978).

0.1 ml	検 体
0.1 ml	0.6mM Boc-LGR-PNAー 0.2M トリス緩衝液
37 °C	30 分
1.5 ml	ジアゾ化
0.5 ml	14%トリクロル酢酸
3,500 r.p.m	10 分
上 澄	
吸 光 度	545 nm

図1 非特異的アミダーゼ活性の測定方法

0.2 ml 血漿および乳汁

0.4 ml 滅菌蒸留水

100 °C 10 分

上 澄 0.1 ml

Lysate 0.1 ml

37 °C 1 時間

肉眼的判定 (ゲル形成)

図2 ゲル化法の測定方法

0.1 ml 血漿および乳汁
 |
 0.2 ml 0.32 M 過塩素酸
 |
 37 °C 20 分
 |
 3,000 r.p.m 10 分
 |
 0.05 ml 上 澄
 |
 0.05 ml 0.21 N NaOH
 |
 0.1 ml トキシカラー主剤溶液
 (Lysate 合成基質混合液)
 |
 37 °C 30 分
 |
 ジアゾ化
 0.5 ml 0.04% NaNO_2 (0.48 N HCl 溶液)
 0.5 ml 0.03% スルファミン酸アンモニウム
 0.5 ml 0.07% N-1 ナフチルエチレンジアミン二塩酸塩
 |
 吸光度 545 nm

図3 合成発色基質法の測定方法

表 1 兵庫県淡路地方における壊疽性乳房炎
の年次別発生状況

区分 年	総死廃 頭 数	乳房炎死廃 頭 数	壊疽性乳房 炎死廃頭数	発生率 ※
1974	1,292	165	46	27.9
1975	1,184	186	56	30.1
1976	1,336	186	74	39.8
1977	1,563	195	75	38.5
1978	1,518	194	78	40.2
1979	1,412	183	72	39.3
1980	1,495	179	70	39.1
1981	1,661	198	81	40.9
1982	1,377	184	79	42.9
1983	1,658	202	83	41.1
1984	1,646	197	80	40.6
計	16,142	2,069	794	38.4

※ 乳房炎死廃頭数に対する割合

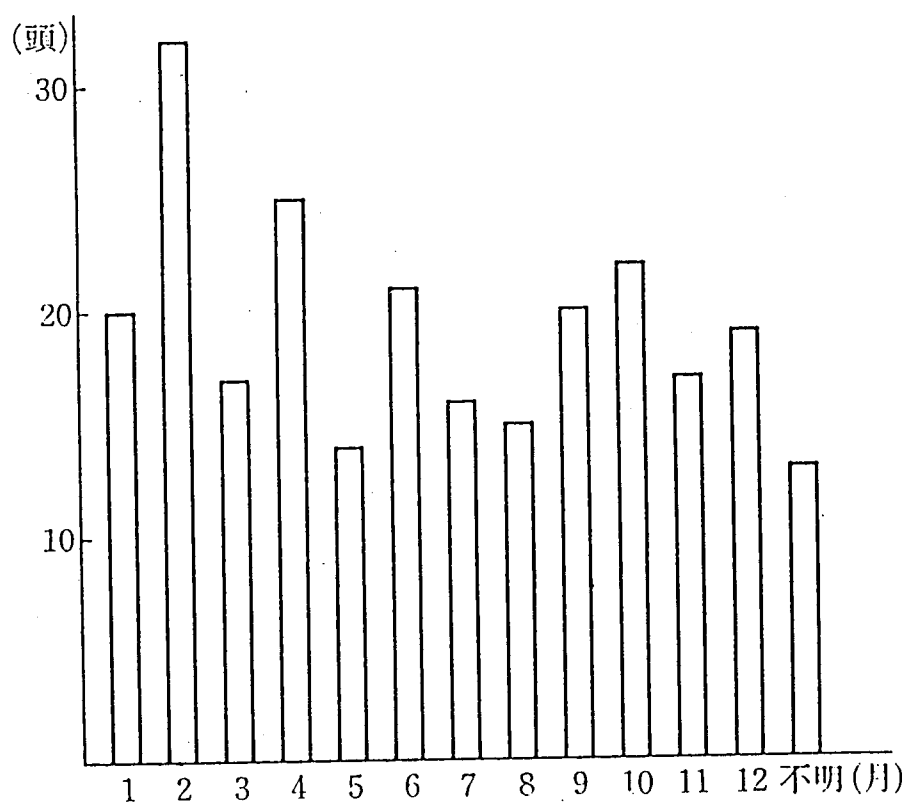


図4 月別発生状況

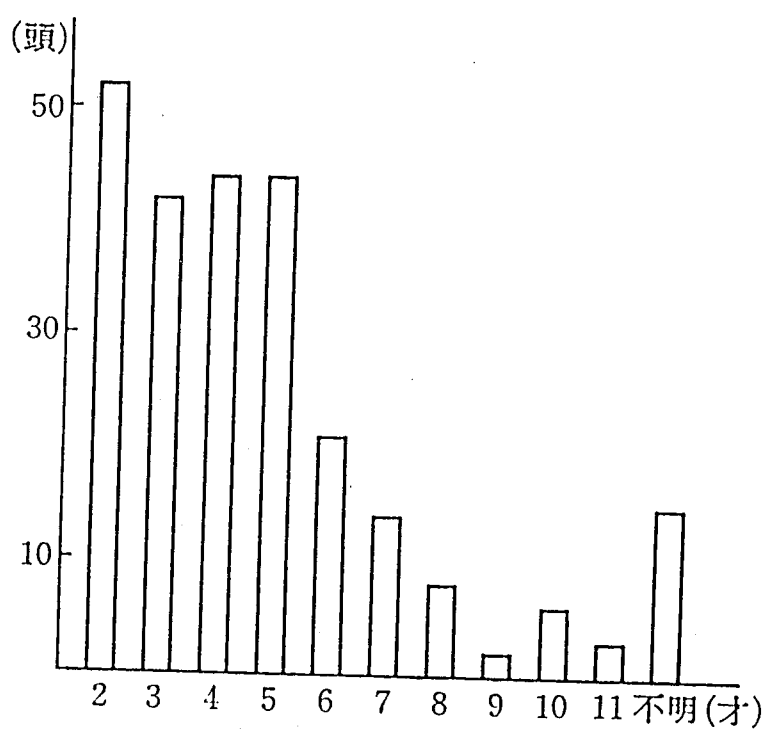


図5 年齢別発生状況

表 2 発 症 の 時 期

区 分	頭 数	%	
分 娩 前	11	4.4	
分娩後1 (日)	124	49.4	81.3
2	45	17.9	
3	15	6.0	
4	11	4.4	
5	4	1.6	
6	1	0.4	
7	4	1.6	
8~10	2	0.8	
11~30	6	2.4	
30 以上	2	0.8	
不 明	26	10.3	
計	251	100	

表3 発症から廃用までの日数

区 分	頭 数	%
1 (日)	134	53.4
2	37	14.7
3	26	10.4
4	11	4.3
5	5	2.0
6	2	0.8
7	4	1.6
8	4	1.6
9	1	0.4
10	3	1.2
11 以上	4	1.6
不 明	20	8.0
計	251	100

表 4 臨床症状（初診時）

区 分		頭 数	%
元 気	な し	51	79.7
食 欲	廃 絶	58	90.6
体 温	≤ 39℃	42	65.6
	> 39℃	22	34.4
脈 博	≤ 80	5	7.8
	81~100	20	31.3
	≥ 101	39	60.9
呼 吸	40~60	8	12.5
	61~80	9	14.1
反 芻	停 止	10	15.6
下	痢	40	62.5
起 立	不 能	42	65.6
外	傷(乳房)	4	6.3
眼の充血、陥没		16	25.0
乳 房	紫 斑	40	62.5
	冷 感	34	53.1
	炎 症	37	57.8
	腫 大	40	62.5
	ガ ス	19	29.6
	下 垂	14	21.8
乳 汁	外 傷	5	7.8
	赤 色	11	17.1
	赤 褐 色	19	29.6
	黄 色	18	28.1
	漿 液	24	37.5
	初 乳 様	21	32.8

(64例)

表 5 病牛乳汁の細菌培養成績 (65例)

分 離 菌 種	株数	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	4.6
<i>Streptococcus sp.</i>	2	3.1
<i>Streptococcus</i> + 他の菌種	1	1.5
<i>Actinomyces pyogenes</i>	1	1.5
<i>Bacillus cereus</i>	3	4.6
<i>Clostridium perfringens</i> + 他の菌種	3	4.6
<i>Escherichia coli</i>	20	30.9
<i>Escherichia coli</i> + 他の菌種	13	20.0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> + 他の菌種	3	4.6
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3	4.6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	13.9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> + 他の菌種	2	3.1
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1	1.5
<i>Acinetobacter anitratus</i>	1	1.5

表6 主要臓器の細菌培養成績 (11例)

供試 No.	培 養 臓 器				罹患分房の乳汁	
	肝	脾	腎	乳房リンパ節		
1	<i>E. coli</i>	++	—	—	<i>E. coli</i>	∞
2	—	—	•	—	<i>K. pneumoniae</i>	∞
3	—	—	•	—	<i>Sta. epidermidis</i>	∞
4	—	—	—	<i>P. aeruginosa</i> +	<i>E. coli</i>	∞
5	—	—	—	<i>A. anitratus</i> +	<i>P. aeruginosa</i>	∞
6	—	—	—	—	<i>A. anitratus</i>	∞
7	<i>E. coli</i> + <i>Streptococcus sp.</i> +	—	<i>Streptococcus sp.</i> +	—	<i>A. faecalis</i>	+++
8	—	—	—	—	<i>Streptococcus sp.</i>	+++
9	<i>B. cereus</i> + <i>A. pyogenes</i> ++	—	—	—	<i>E. coli</i>	++
10	—	—	—	—	<i>Streptococcus sp.</i>	+++
11	—	—	—	—	<i>E. coli</i>	∞
					<i>Streptococcus sp.</i>	∞
					<i>B. cereus</i>	++
					<i>P. aeruginosa</i>	∞
					<i>Sta. aureus</i>	∞

コロニー数 (個) — : 0 + : 1~20 ++ : 21~80 +++ : 81~200 卍 : 201~400 ∞ : 400以上 • 検査せず

表 7 分離菌の血清型別成績

1) <u>E. coli</u>										
0 群	0 2	0 8	0 9	0 6	0 75	0 76	0 88	0 89	不明	計
株数	5	2	1	1	2	1	2	1	9	24

2) <u>P. aeruginosa</u>									
血清型	A	B	E	F	G	I	K	不明	計
株 数	2	1	3	3	6	3	1	3	22

表 8 分 離 菌 の 薬 剤 感 受 性

(1 濃度法)

薬 剤	<i>E. coli</i> (18株)			<i>P. aeruginosa</i> (9株)			<i>K. pneumoniae</i> (3株)			<i>E. aerogenes</i> (3株)			<i>A. faecalis</i> (1株)			<i>Streptococcus sp.</i> (3株)			<i>B. cereus</i> (3株)			<i>Cl. perfringens</i> (2株)			
	卅	卅	+	卅	卅	+	卅	卅	+	卅	卅	+	卅	卅	+	卅	卅	+	卅	卅	+	卅	卅	+	
カナマイシン (KM)	3	10	4	1	0	0	3	6	0	3	0	0	0	2	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1
クロラムフェニコール (CP)	7	9	0	2	0	1	3	5	1	1	1	0	0	0	3	0	0	1	0	0	2	1	0	0	
コリスチン (CL)	3	11	0	4	0	4	5	0	1	0	2	0	0	1	2	0	0	1	0	0	0	0	0	2	
クロルテトラサイクリン (CTC)	7	9	1	1	1	0	5	3	1	2	0	0	0	1	2	0	0	1	0	0	2	0	1	0	
ストレプトマイシン (SM)	2	6	9	1	1	5	2	1	0	3	0	0	0	0	2	1	0	0	1	0	0	2	0	2	
オキシテトラサイクリン (OTC)	6	9	0	3	0	2	7	0	3	0	0	0	0	3	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	
フラジオマイシン (FM)	2	6	10	0	0	1	7	1	0	1	2	0	0	0	0	3	0	1	0	0	0	1	0	1	
ペニシリン (PC)	0	0	0	18	0	0	0	9	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	1	0	0	0	0	
アミノペニシリンベニシリン (ABPC)	0	0	0	18	0	0	0	9	0	0	1	2	0	1	2	0	0	0	0	1	1	2	0	0	
オレファンマイシン (OM)	0	0	0	18	0	0	0	9	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	1	2	1	0	0	
スピラマイシン (SP)	0	0	0	18	0	0	0	9	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	1	0	1	2	0	0	
ロイコマイシン (LC)	0	0	0	18	0	0	0	9	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	1	0	1	2	0	0	
卅: 高度感受性	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
卅: 比較的感受性	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
+: 比較の耐性	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
-: 耐性	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

卅：高度感受性 卅：比較的感受性 +：比較の耐性 -：耐性

表9 最小発育阻止濃度 (MIC)

供菌 試株 No.	菌 種	FM	ABPC	CTC	SBPC	DSM
1	<i>E. coli</i>	3.13	3.13	1.56	3.13	3.13
2	"	1.56	25.00	12.50	25.00	100.00
3	"	3.13	3.13	25.00	3.13	3.13
4	"	1.56	3.13	50.00	3.13	3.13
5	"	1.56	3.13	50.00	3.13	3.13
6	"	1.56	6.25	3.13	12.50	3.13
7	"	3.13	3.13	3.13	3.13	3.13
8	"	1.56	3.13	3.13	3.13	3.13
9	"	1.56	3.13	1.56	3.13	3.13
10	"	3.13	3.13	3.13	3.13	12.50
11	"	3.13	3.13	3.13	3.13	3.13
12	"	1.56	3.13	1.56	3.13	3.13
13	"	1.56	0.78	3.13	0.39	1.56
14	<i>K. pneumoniae</i>	0.78	12.50	1.56	>100.00	1.56
15	<i>P. aeruginosa</i>	3.13	>100.00	6.25	12.50	6.25
16	<i>A. faecalis</i>	3.13	0.78	≤0.20	1.56	3.13

FM : フラジオマイシン ABPC : アミノペニシリン
 ニシリン CTC : クロルテトラサイクリン SBPC : ス
 ルベニシリン DSM : ジヒドロストレプトマイシン
 (μg/ml)

表 10 病理組織学的所見 (乳房)

症 例	検 出 菌 種		腺 胞					間 質				血 管		
			充 出 血	変 性 壊 死	上 皮 脱 落	細 胞 浸 潤	菌 塊	充 出 血	水 腫	細 胞 浸 潤	線 維 素 折 出	充 血 ・ う っ 血	血 栓 形 成	線 維 素 性 壊 死
1	<u>E. coli</u>	∞	++	+++	++	+	++	++	+++	+	+++	++	++	+
2	<u>E. coli</u>	∞	+++	+++	++	++	+	++	++	+	+++	++	++	+
3	<u>E. coli</u>	∞	++	++	++	+	+	+	++	-	++	++	+	+
4	<u>E. coli</u>	∞	+++	++	+	+	+	++	+	+	+	+++	++	++
5	<u>E. coli</u>	∞	+	+	+	++	+	++	+	++	+++	++	++	+++
6	<u>E. coli</u>	∞	++	+	+	+	+	+	+	-	++	++	+	++
7	<u>E. coli</u>	∞	+	++	++	++	+	++	+++	+	++	+++	+	+++
8	<u>E. coli</u>	∞	+++	+	+	+	-	+	+	+	++	+++	++	+
9	<u>E. coli</u>	∞	+	+	++	-	-	+++	++	+	+++	++	+	++
10	<u>E. coli</u>	∞	++	++	++	+	+	+	++	+	++	+++	+	++
11	<u>E. coli</u>	∞	+	+	+	+	-	++	+	+	+	+	+	+
12	<u>E. coli</u>	∞	+	+	+	+++	+	+	+	++	++	+	+	++
13	<u>E. coli</u>	∞	++	++	++	+	+	+	++	-	+	++	+	+
14	<u>P.aeruginosa</u>	∞	++	+++	++	+	++	+	+	+	++	++	+	+
15	<u>P.aeruginosa</u>	∞	+++	+++	+++	+	+	+	++	+	++	++	+++	++
16	<u>P.aeruginosa</u>	∞	++	+	+	+	+	+	++	++	+++	++	+	+++
17	<u>P.aerug</u> + 他の菌	∞	+++	+	+	+	+	++	+	+	++	++	++	+
18	<u>K.pneumoniae</u>	∞	++	+++	+++	+	-	+	+	+	+++	++	+	+
19	<u>K.pneu</u> + 他の菌	∞	++	+++	+++	+	+	++	++	+	+++	+++	+++	++
20	<u>K.pneu</u> + 他の菌	∞	+++	+++	+++	++	+	+++	+++	+	++	+	+++	++
21	<u>K.pneu</u> + 他の菌	∞	++	++	++	+	+	++	+	+	+++	+	++	++
22	<u>E.aerogenes</u>	∞	+	++	++	++	+	+	+++	+	++	++	+	+
23	<u>E.aerogenes</u>	∞	+	+++	++	++	++	+	+	+	++	+	+	++
24	<u>B.cereus</u>	++	+++	++	++	+	+	+++	+	+	+++	+++	++	++
25	<u>B.cereus</u>	∞	+++	++	+++	++	-	+++	++	+	+++	+++	++	+++
26	<u>B.cereus</u>	++	+++	++	+	+	-	+	++	-	++	++	++	++
27	<u>B.cereus</u>	∞	+++	++	++	+	-	+	+	+	++	++	++	++
28	<u>B.cereus</u>	+++	+++	+++	++	+	+	+++	++	-	+	+++	++	++
29	<u>B.cereus</u>	+++	+++	+	+	+	-	+	+	++	++	+	+	++

表11 病理組織学的所見（主要臓器）

症 例	肝					腎					脾				肺				心		
	出 血 う っ 血	変 性 壊 死	脂 肪 変 性	血 栓 形 成	グ 潤 鞘 細 胞 浸	出 血 う っ 血	尿 細 管 上 皮	変 性 細 胞	糸 球 体 増 加 細 胞	細 胞 浸 潤 形 成	血 栓 形 成	う っ 血	リ ン パ 組 織	萎 縮 周 囲 炎	血 管 形 成	出 血 う っ 血	血 管 内 皮 細 胞	血 栓 形 成	出 血 う っ 血	変 性 壊 死	血 栓 形 成
1	+	+	+	-	-	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	+	+	+	NT	NT	NT
2	+	-	+	-	-	NT	NT	NT	NT	NT	++	-	+	-	-	++	+	+	-	-	-
3	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	++	-	-	-	-	+	+	-	-	++	-
4	++	+	++	+	-	+	+	++	-	++	++	+	+	-	-	++	+	+	++	+	+
5	NT	NT	NT	NT	NT	++	++	++	-	+	++	+	++	-	-	++	+	-	-	+	-
6	+	+	+	+	-	+	++	++	+	-	+	-	-	-	-	++	+	+	+	+	-
7	-	+	+	-	-	++	+	+	+	-	+	+	-	-	-	++	+	-	+	-	-
8	+	+	+	++	-	++	+	+	-	-	NT	NT	NT	NT	-	+	+	+	+	-	-
9	+	-	+	+	-	++	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	++	-	-
10	+	+	++	-	-	++	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	++	+	-
11	++	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	++	-	-	+	-	-
12	++	-	+	-	-	NT	NT	NT	NT	NT	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
13	+	+	++	+	-	++	+	+	-	+	+	-	-	-	-	NT	NT	NT	+	-	-
14	+	+	+	-	-	++	+	+	-	-	++	-	+	-	-	++	+	-	+	+	-
15	+	++	++	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	NT	NT	NT	-	+	-
16	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	++	-	-	+	-	-
17	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
19	+	+	+	+	+	++	+	+	-	+	++	++	+	+	+	++	+	-	NT	NT	NT
20	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	++	+	-	+	-	-
21	-	+	++	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	NT	NT	NT	+	-	-
22	+	+	++	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	NT	NT	NT	NT	NT	NT
23	++	++	++	++	-	++	+	+	-	-	++	-	-	-	-	++	+	+	-	++	-
24	++	+	+	-	-	++	+	+	-	-	++	++	++	+	+	NT	NT	NT	-	+	-
25	++	++	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	++	-	-	++	+	+
26	++	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	NT	NT	NT	+	-	-
27	+	+	+	-	-	++	++	+	-	-	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	+	-	-
28	+	+	++	-	-	++	+	+	-	+	++	++	+	+	+	++	+	+	+	++	-
29	+	++	+	-	-	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	NT	NT	NT	-	-	-

表12 細菌の種類と病変との関係

部 位	菌 種 程 度	<u>E.coli</u>			<u>P.aerug</u> <u>inosa</u>			<u>K.pneum</u> <u>oniae</u>			<u>Entero</u> <u>bacter sp.</u>			<u>B.cereus</u>			<u>S.aureus</u>		
		++	+	-	++	+	-	++	+	-	++	+	-	++	+	-	++	+	-
腺 胞	充血・出血	8	5	0	4	0	0	4	0	0	0	2	0	5	0	0	1	0	0
	変性壊死	7	6	0	2	2	0	4	0	0	1	1	0	5	0	0	0	1	0
	細胞浸潤	4	8	1	0	4	0	4	0	0	1	1	0	4	1	0	0	1	0
腺 胞 間 質	水腫	7	6	0	2	2	0	2	2	0	0	2	0	3	2	0	0	1	0
	充血・出血	7	6	0	1	3	0	3	1	0	1	1	0	3	2	0	0	1	0
	細胞浸潤	2	8	3	2	3	0	0	4	0	0	2	0	0	3	2	1	0	0
腺 胞 血 管	線維素析出	10	3	0	4	0	0	4	0	0	2	0	0	2	2	1	1	0	0
	充血・うっ血	11	2	0	4	0	0	2	2	0	1	1	0	5	0	0	0	1	0
	血栓形成	5	8	0	2	2	0	3	1	0	0	2	0	5	0	0	0	1	0
肝	線維素性壊死	7	6	0	2	2	0	3	1	0	1	1	0	5	0	0	1	0	0
	うっ血・出血	3	7	2	0	1	3	0	2	2	1	1	0	3	2	0	0	1	0
	脂肪変性	3	9	0	1	1	2	1	3	0	2	0	0	1	4	0	0	1	0
腎	変性壊死	0	8	4	1	0	3	0	2	2	1	1	0	1	3	1	1	0	0
	尿細管上皮変性	2	8	2	0	2	1	0	4	0	0	2	0	1	4	0	0	1	0
	うっ血・出血	6	4	2	1	1	1	1	2	1	1	1	0	3	2	0	1	0	0
肺	うっ血・出血	6	5	2	2	0	1	2	0	1	1	0	0	2	0	1	0	0	1
脾	うっ血	4	7	1	1	2	1	1	3	0	1	1	0	2	2	0	0	0	1
	リンパ組織の萎縮	0	4	7	0	1	3	1	0	3	0	0	2	2	2	0	0	0	1
心	うっ血・出血	3	5	4	0	2	2	0	3	0	0	0	1	1	3	1	0	0	1
	変性壊死	1	4	7	0	2	2	0	0	3	1	0	0	1	2	2	0	0	1

表 13 血球像および血液生化学検査成績

区	分	壊 疽 性 乳 房 炎 牛			健 康 対 照 牛
		内 毒 素		計	
		陽 性 牛	陰 性 牛		
頭	数	24	11	35	12
赤 血 球 数 ($\times 10^4/\text{mm}^3$)		719 \pm 138*	784 \pm 146**	739 \pm 142*	623 \pm 89
白 血 球 数 ($\text{個}/\text{mm}^3$)		6,413 \pm 3,595	6,764 \pm 3,860	6,523 \pm 3,620	8,042 \pm 1,558
ヘマトクリット値 (%)		36.4 \pm 6.5*	38.6 \pm 4.9**	37.1 \pm 6.0**	32.0 \pm 4.0
好 塩 基 球	(個/mm ³)	5 \pm 18	0	5 \pm 18	13 \pm 30
好 酸 球		133 \pm 167**	102 \pm 141**	124 \pm 158**	733 \pm 341
桿 状 核 好 中 球		1,877 \pm 1,682**	2,794 \pm 2,334**	2,165 \pm 1,924**	283 \pm 220
分 葉 核 好 中 球		357 \pm 326*	629 \pm 622**	442 \pm 449**	2,049 \pm 940
リ ン パ 球		4,045 \pm 2,659	3,058 \pm 2,215*	3,735 \pm 2,538	4,564 \pm 1,055
単 球		76 \pm 108**	101 \pm 97**	84 \pm 104**	377 \pm 194
血 清 総 蛋 白 量	(g/dl)	6.6 \pm 0.9*	6.3 \pm 1.0**	6.5 \pm 0.9*	7.2 \pm 0.2
ア ル ブ ミ ン		2.96 \pm 0.58*	3.10 \pm 0.45	3.01 \pm 0.54*	3.35 \pm 0.27
α -グ ロ ブ リ ン		1.22 \pm 0.56	1.04 \pm 0.27	1.17 \pm 0.49	1.05 \pm 0.09
β -グ ロ ブ リ ン		0.73 \pm 0.37*	0.73 \pm 0.26**	0.73 \pm 0.34**	1.03 \pm 0.2
γ -グ ロ ブ リ ン		1.66 \pm 0.60	1.55 \pm 0.38	1.63 \pm 0.53	1.77 \pm 0.35
アルブミン・グロブリン比		0.87 \pm 0.28	0.98 \pm 0.19	0.90 \pm 0.26	0.92 \pm 0.17
GOT ¹⁾ (K-単位)		662 \pm 569**	292 \pm 168**	545 \pm 485**	72 \pm 16
GPT ²⁾ (K-単位)		64.6 \pm 56.6**	25.3 \pm 13.6**	52.2 \pm 50.7**	9.6 \pm 3.9
γ -GTP ³⁾ (mu/ml)		40.4 \pm 41.5**	40.5 \pm 40.3**	40.5 \pm 40.6**	7.2 \pm 2.0
AL-P ⁴⁾ (K-A 単位)		16.3 \pm 12.7*	13.3 \pm 7.5*	15.4 \pm 11.3*	8.6 \pm 2.4
LDH ⁵⁾ (W 単位)		6,439 \pm 2,128**	3,968 \pm 1,704**	5,662 \pm 2,296**	1,947 \pm 233
血 清 尿 素 窒 素 量 (mg/dl)		31.0 \pm 12.3**	29.5 \pm 12.0**	30.5 \pm 12.0**	12.8 \pm 1.9
血 糖 量 (mg/dl)		82.4 \pm 44.4	98.3 \pm 46.6*	87.7 \pm 44.6	67.3 \pm 10.9
血 清 カ ル シ ウ ム	(mg/dl)	8.3 \pm 1.6**	7.4 \pm 1.3**	8.0 \pm 1.5**	10.2 \pm 1.2
血 清 無 機 リ ン		8.4 \pm 2.3**	7.2 \pm 2.4**	8.0 \pm 2.4**	6.0 \pm 0.8
血 清 マ グ ネ シ ウ ム		3.0 \pm 1.2	2.9 \pm 0.8	3.0 \pm 1.1	2.8 \pm 0.3

注) *: $P < 0.05$ **: $P < 0.01$ 1): グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ 2): グルタミン酸ピルヒ酸トランスアミナーゼ 3): γ -グルタミールトランスベプチターゼ 4): アルカリ性ホスファターゼ 5): 乳酸脱水素酵素

表14 臓器内の酵素活性値

区 分	頭 数	壞 疽 性 乳 房 炎 牛		計	健 康 對 照 牛
		內 毒 素			
		陽 性 牛	陰 性 牛		
		5	2	7	3
GOT	心	29,140	55,900	36,786	32,000
	肝	33,734	23,528	30,818	44,200
	腎	23,420	27,300	24,529	25,617
	脾	6,160	4,800	5,771	5,767
	肺	1,625	2,400	1,780	2,007
	乳房	275**	332*	316**	2,351
GPT	心	1,980	3,050	2,286	2,283
	肝	1,300	2,225	1,564	1,817
	腎	750	850	779	800
	脾	360	330	351	417
	肺	268	250	264	310
	乳房	33**	3**	25**	365
γ-GTP	心	164△	339	214△	326
	肝	2,471	2,515	2,484	2,501
	腎	63,107△	72,850	65,891	84,122
	脾	343	313△	334	450
	肺	548	442	527	344
	乳房	7,514**	10,994	8,508**	19,289
ALP	心	14△	11	13	7
	肝	521	475	508	409
	腎	1,563	647	1,302	1,385
	脾	363	241	328	346
	肺	579	423	548	329
	乳房	375△	527	419	697
LDH	心	202,300△	550,000	301,643	296,667
	肝	166,700	248,750	190,143	225,000
	腎	174,600	210,000	184,714	249,667
	脾	88,100	87,000	87,786	96,000
	肺	72,313	60,000	69,850	59,833
	乳房	25,190*	25,750	25,350*	40,938

注) △: $P < 0.10$ *: $P < 0.05$ **: $P < 0.01$

表 1 5 血 液 凝 固 系 の 検 査 成 績
 (壊 疽 性 乳 房 炎 牛)

区 例	分 数	内 毒 素			健康対照牛 26
		陽 性 牛 10	陰 性 牛 4	計 14	
血 小 板 数(10 ⁴ mm ⁻³)		11.1± 6.4*	11.0± 6.2*	11.1± 6.1*	40.2± 7.5
プロトロンビン時間(秒)		23.7± 6.2*	20.2± 3.1*	22.7± 5.7*	17.1± 0.8
活性部分トロンボプラスチン(秒)		79.3±38.9*	69.5±15.3*	76.5±33.5*	46.7± 2.1
血漿フィブリノ-ゲン(mg dl ⁻¹)		158.2±66.3*	187.5±62.0	166.6±64.2*	229.7±42.2

注) *:P<0.01

表16 血漿中の非特異的アミダーゼ活性

(吸光度 545 nm)				
区 分	牛	馬	豚	鶏
例 数	9	3	3	4
未 処 理	0.260±0.008	0.315±0.020	0.307±0.001	0.230±0.009
加熱処理	0.034±0.001	0.039±0.002	0.041±0.001	0.037±0.001
PCA 処理	0.018±0.001	0.019±0.002	0.020±0.001	0.017±0.001

表 1 7 乳汁中の非特異的アミダーゼ活性

NO	吸 光 度
1	0 . 0 1 4
2	0 . 0 1 5
3	0 . 0 3 5
4	0 . 0 2 1
5	0 . 0 0 2
6	0 . 0 2 3
7	0 . 0 3 8
8	0 . 0 1 9
9	0 . 0 2 2
1 0	0 . 0 2 6
1 1	0 . 0 1 3
1 2	0 . 0 1 8
1 3	0 . 0 1 6
1 4	0 . 0 0 7
1 5	0 . 0 0 9
1 6	0
1 7	0 . 0 0 7
M±SD	0 . 0 1 7 ± 0 . 0 1

表 1 8 加熱処理における健康牛の
血漿中内毒素添加回収試験

区 分	牛	馬	豚	鶏
例 数	1 2	5	7	6
回収率				
(平均±SD)	49.7±3.3	54.1±4.8	55.8±4.4	56.4±6.5

内毒素 ; E.coli 011 B4

表 1 9 P C A 処理における健康牛の乳汁
および血漿中内毒素添加回収試験

区 分	乳 汁	乳 汁	血 漿
例 数	1 7	1 7	6
NaOH濃度	0 . 1 8 M	0 . 2 1 M	0 . 2 1 M
回収率 (平均±SD)	82.9±6.9	101.9±6.1	99.1±4.4

表 2 0 健康牛の内毒素濃度

区 分 (n)	乳 汁 (3 6)	血 漿 (3 6)
内 毒 素 (pg ml ⁻¹)	5 . 5 ± 2 . 9	4 . 7 ± 2 . 6

表 2 1 急性乳房炎牛の内毒素濃度

No.	年齢 (才)	分娩から 発病(日)	内 毒 素 (pg ml ⁻¹)		分離菌種
			乳汁	血漿	
1	7	4 7	97.2	1.9	<u>K.pneumoniae</u>
2	3	1 1	160.0	1.6	<u>K.pneumoniae</u>
3	5	6	2,130.0	1.6	<u>K.pneumoniae</u>
4	4	3 0	387.5	2.3	<u>K.pneumoniae</u>
5	6	8	1,900.0	4.0	<u>E.coli</u>
6	3	6 7	1,520.0	5.5	<u>P.aeruginosa</u>
7	5	1 5	2,100.0	4.4	<u>E.coli</u>
8	5	1 6	1,810.0	6.0	<u>E.coli</u>
9	4	2 6	1,310.0	6.0	<u>E.coli</u>
10	3	2 9	980.0	3.6	<u>E.coli</u>
11	6	4 3	289.0	4.8	<u>P.aeruginosa</u>
12	4	1 2	1,080.0	2.6	<u>K.pneumoniae</u>
平均	4.6	25.8	1,147.0	3.7	
±SD	±1.3	±18.6	±766.8	±1.7	
13-1	4	1 3	4.6	1.2	<u>S.dysgalactiae</u>
14-2	6	1 8	8.2	5.8	<u>A.pyogenes</u>
15-3	5	1 0	6.3	4.9	<u>S.epidermidis</u>
16-4	3	5 7	8.8	1.1	<u>S.aureus</u>
17-5	4	3 1	3.1	1.6	<u>S.aureus</u>
18-6	5	2 2	2.8	2.0	<u>S.dysgalactiae</u>
平均	4.5	25.2	5.6	2.8	
±SD	±1.0	±17.2	±2.6	±2.0	

表 2 2 壊疽性乳房炎牛の内毒素濃度

No.	年齢 (才)	分娩から 発病(日)	内毒素 (pg ml ⁻¹)		分離菌種
			乳 汁	血 漿	
1	4	1	1.8×10^7	126.5	<u>K.pneumoniae</u>
2	3	1	5.7×10^6	70.6	<u>E.coli</u>
3	3	3	3.1×10^6	66.0	<u>E.coli</u>
4	4	1	3.5×10^6	70.8	<u>E.coli</u> + 他の菌種
5	5	3	1.7×10^7	128.4	<u>E.coli</u>
6	4	2	1.1×10^7	112.8	<u>E.coli</u> + 他の菌種
7	4	1	6.9×10^6	74.4	<u>P.aeruginosa</u>
8	4	4	8.9×10^6	49.2	<u>P.aeruginosa</u>
9	3	3	3.1×10^6	70.8	<u>Enterobacter spp.</u>
10	5	2	1.5×10^7	112.8	<u>P.aeruginosa</u>
11	3	7	1.3×10^7	96.0	<u>E.coli</u>
12	5	4	3.4×10^6	50.4	<u>P.aeruginosa</u>
13	7	2	8.8×10^6	46.8	<u>E.coli</u>
14	4	3	1.6×10^6	50.4	<u>E.coli</u>
15	3	2	1.7×10^7	153.9	<u>E.coli</u>
16	4	3	7.8×10^6	38.1	<u>E.coli</u>
17	5	3	1.0×10^7	105.5	<u>P.aeruginosa</u>
18	4	1	1.8×10^7	26.5	<u>K.pneumoniae</u>
19	4	4	4.3×10^6	46.0	<u>Enterobacter spp.</u>
20	3	1	1.8×10^7	409.8	<u>E.coli</u>
21	6	6	7.2×10^6	51.2	<u>P.aeruginosa</u>
22	4	3	6.6×10^6	87.2	<u>E.coli</u>
23	5	2	7.5×10^6	39.9	<u>A.anitratus</u>
24	5	1	9.3×10^6	101.8	<u>E.coli</u>
25	6	1	1.3×10^7	93.0	<u>E.coli</u>
26	3	4	3.4×10^6	66.6	<u>E.coli</u>
27	4	3	1.4×10^7	121.5	<u>E.coli</u>
28	4	1	2.6×10^6	74.1	<u>E.coli</u>
29	5	2	8.8×10^6	58.2	<u>P.aeruginosa</u>
30	5	2	5.2×10^6	89.3	<u>E.coli</u>
平均					
+SD 4.3±1.0 2.5±1.5 9.1±5.2×10 ⁶ 89.6±68.2					

表 2 3 Clostridium perfringens による
壊疽性乳房炎牛の内毒素濃度

No	年 齢 (才)	分娩から 発病 (日)	内毒素 (pg ml ⁻¹)	
			乳 汁	血 漿
1	5	2	4 . 9	2 . 7
2	3	1	8 . 4	3 . 3
3	4	3	3 . 2	1 . 6
平均	4 . 0	2 . 0	5 . 5	2 . 5
±SD	± 1 . 0	± 1 . 0	± 2 . 7	± 0 . 9

表 2 4 トキシカラーとエンドスペシーによる内毒素濃度の相関

No	血 漿 (pg ml ⁻¹)		乳 汁 (pg ml ⁻¹)	
	トキシカラー	エンドスペシー	トキシカラー	エンドスペシー
1	126.5	120.1	1.8×10 ⁷	1.6×10 ⁷
2	70.8	69.6	5.7×10 ⁶	5.8×10 ⁶
3	128.4	117.0	3.5×10 ⁶	3.3×10 ⁶
4	112.8	108.2	1.7×10 ⁷	1.4×10 ⁷
5	74.4	73.0	1.1×10 ⁷	0.9×10 ⁷
6	49.2	43.5	8.9×10 ⁶	7.9×10 ⁶
7	112.8	106.7	3.1×10 ⁶	3.0×10 ⁶
8	96.0	89.4	3.4×10 ⁶	3.5×10 ⁶
9	50.4	46.9	8.8×10 ⁶	7.2×10 ⁶
10	46.8	40.4	1.6×10 ⁶	1.5×10 ⁶
11	50.4	55.1	1.0×10 ⁷	1.2×10 ⁷
12	105.5	99.7	1.8×10 ⁷	1.6×10 ⁷
13	101.8	98.3	7.2×10 ⁶	7.0×10 ⁶
14	93.0	96.8	6.6×10 ⁶	5.8×10 ⁶
15	74.1	67.7	7.5×10 ⁶	7.3×10 ⁶
16	58.2	59.9	8.8×10 ⁶	8.4×10 ⁶
平均				
±SD	84.4±28.7	80.8±30.0	8.7±5.2×10 ⁶	8.0±4.5×10 ⁶

相関係数 ; 血漿 $r = 0.99$ 乳汁 $r = 0.98$

$P < 0.01$ で有意差あり

表 2 5 内 毒 素 の 濃 度 と 臨 床 症 状

(壊疽性乳房炎牛 29例)

区 分	例数	体 温		脈 拍 数	呼 吸 数	水様性下痢	起立不能	乳房腫大	乳房冷感							
		以下	以上													
		38.9℃	39.0℃	81～100, 101～120, 121	31～50, 51～70	なし	あり	なし	あり	なし	あり					
陽 性 牛	21	7	14	3	12	6	3	18*	0	21**	9	12	1	20*	5	16
		(66.7)		(57.1)		(28.6)		(85.7)		(100)		(57.1)		(95.2)		(76.2)
陰 性 牛	8	4	4	3	3	2	4	4	2	6	4	4	3	5	3	5
		(50.0)		(37.5)		(25.0)		(50.0)		(75.0)		(50.0)		(62.5)		(62.5)

注) *: P < 0.05 **: P < 0.01 () %

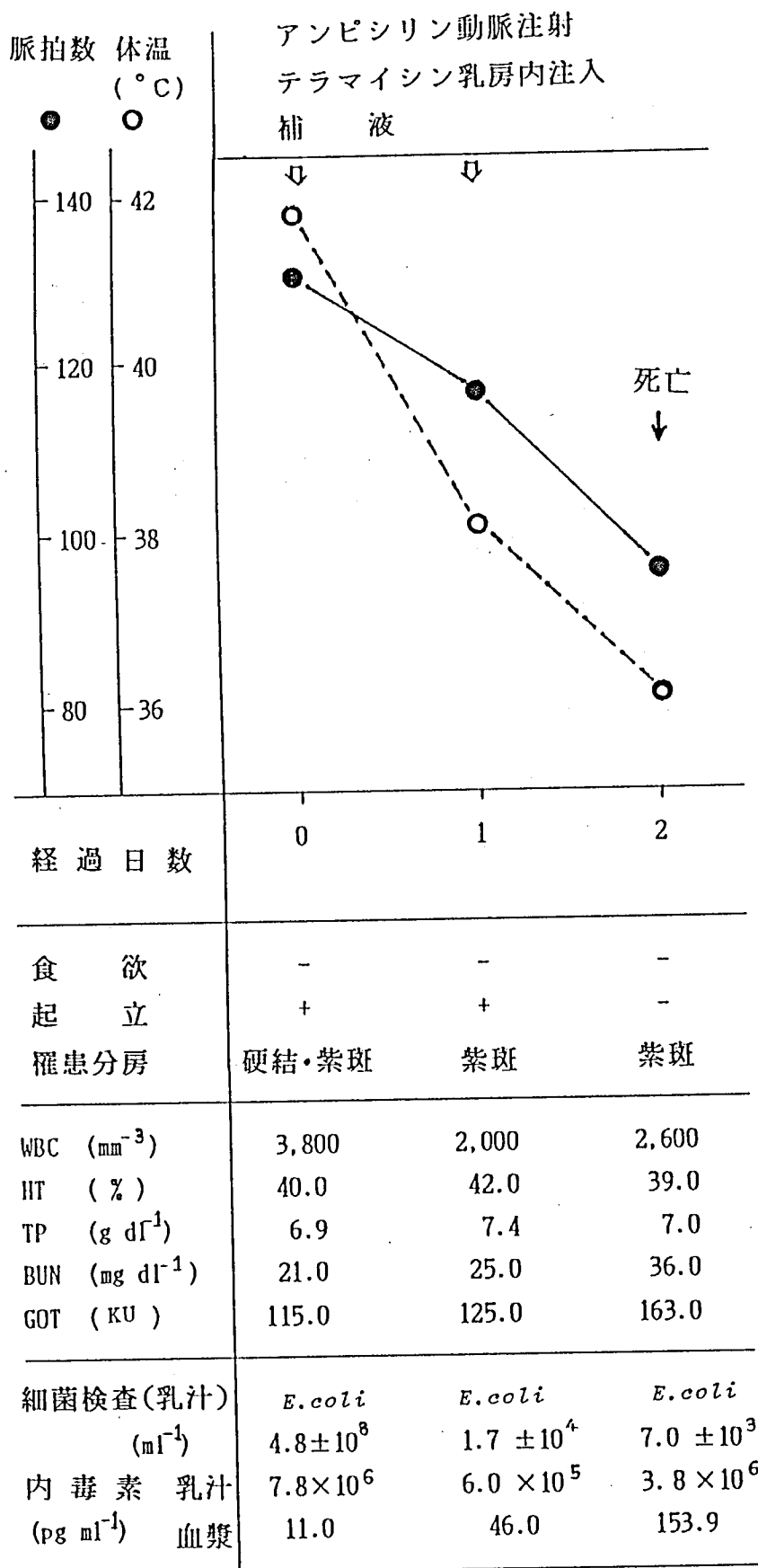


図 6 壊疽性乳房炎の臨床経過 (症例 A)

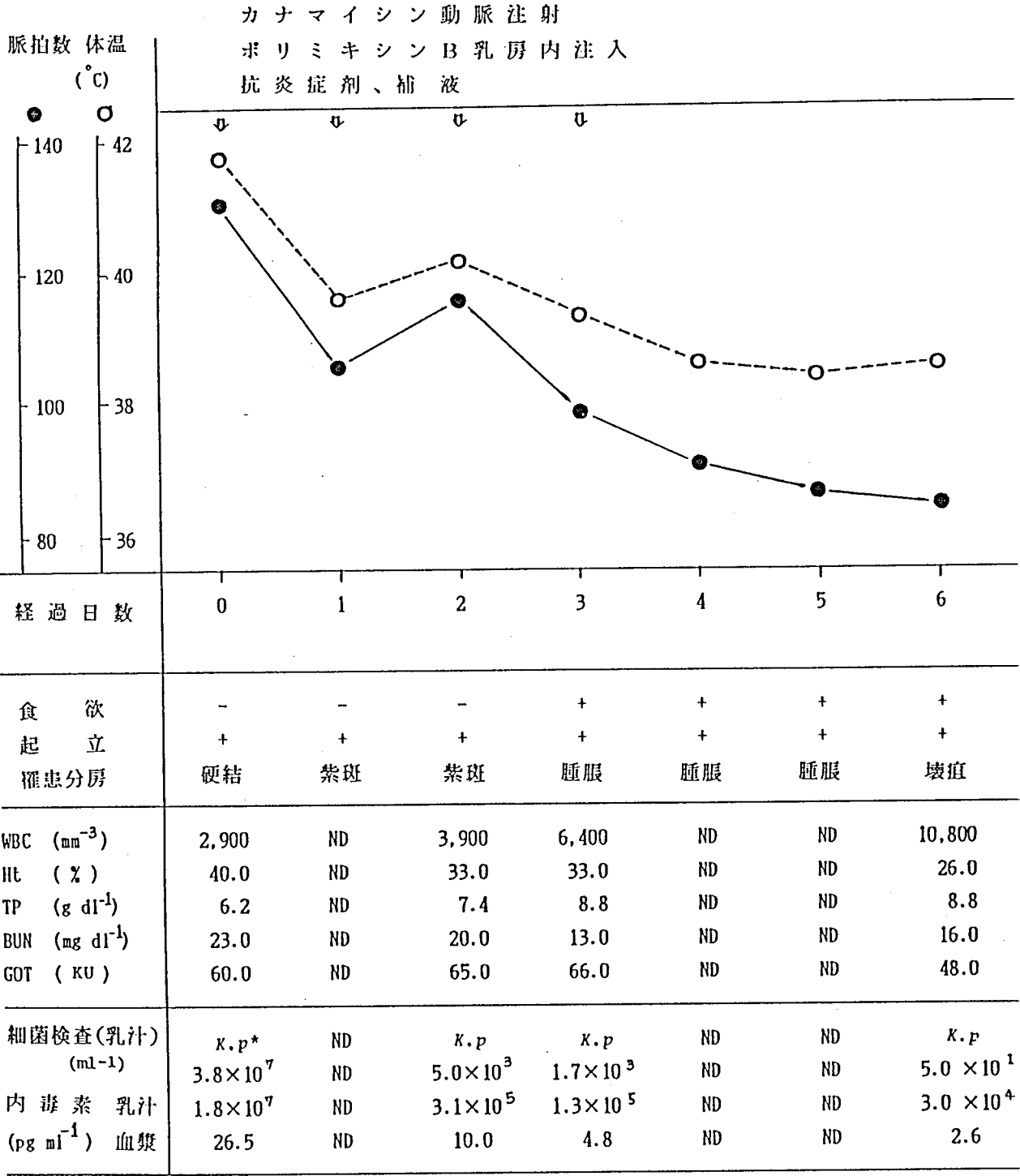


図 7 壊疽性乳房炎の臨床経過（症例 B）
*: *Klebsiella pneumoniae*, ND: 検査せず



写真1 罹患牛で食欲不振、呼吸速迫、悪臭ある下痢、乳房の腫脹、硬結、紫斑。（分娩後2日目）



写真2 乳房の腫脹、硬結、発赤および罹患乳頭を中心とした紫斑。（E.coli検出）

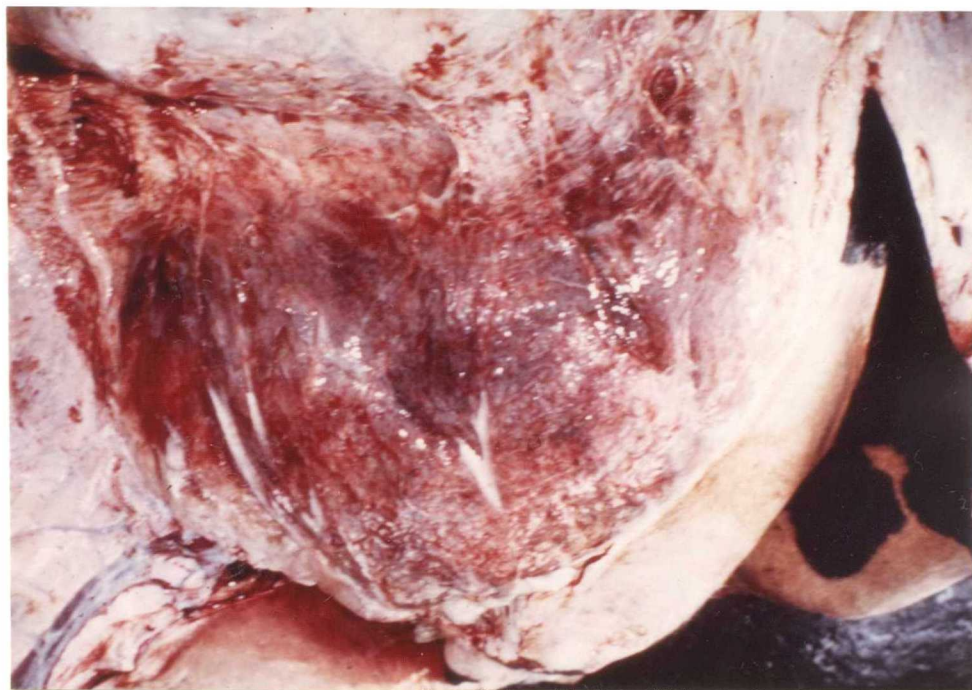


写真3 剥皮した乳房で皮下織の顕著な充出血と浮腫。

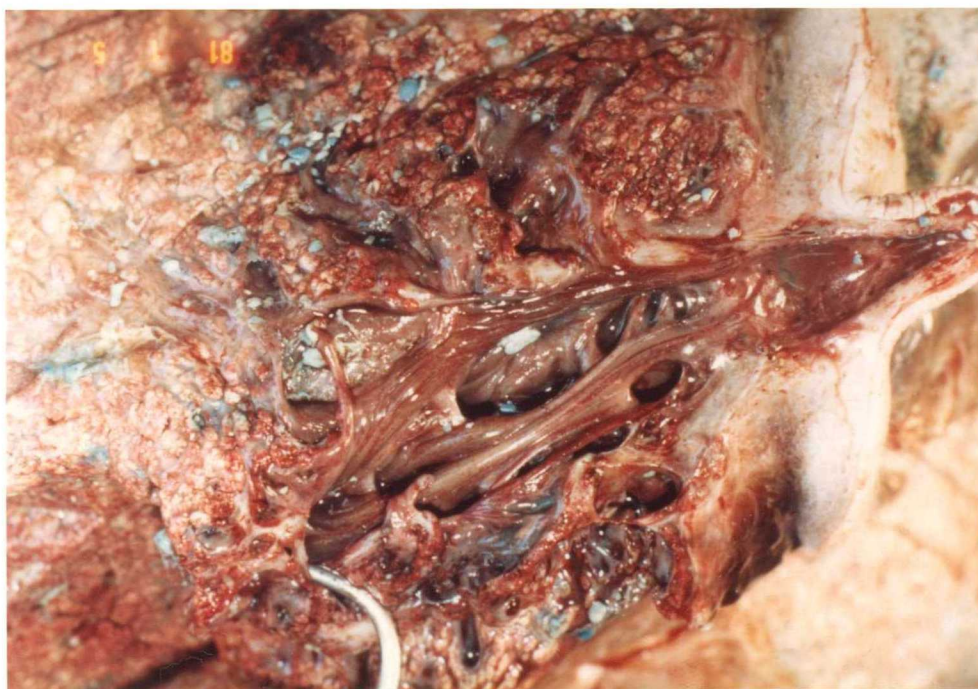


写真4 乳房断面で乳頭口から乳槽内にかけて充血、出血。



写真5 肝はやや腫大し淡黄色脂肪化、うっ血。

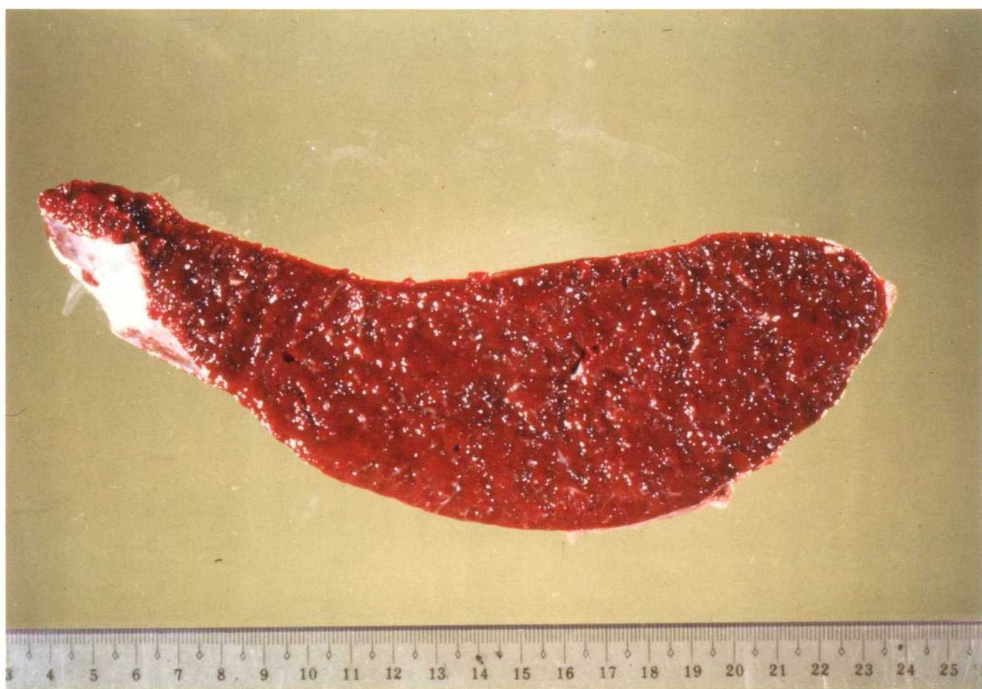


写真6 脾は腫大し脾柱不明瞭。

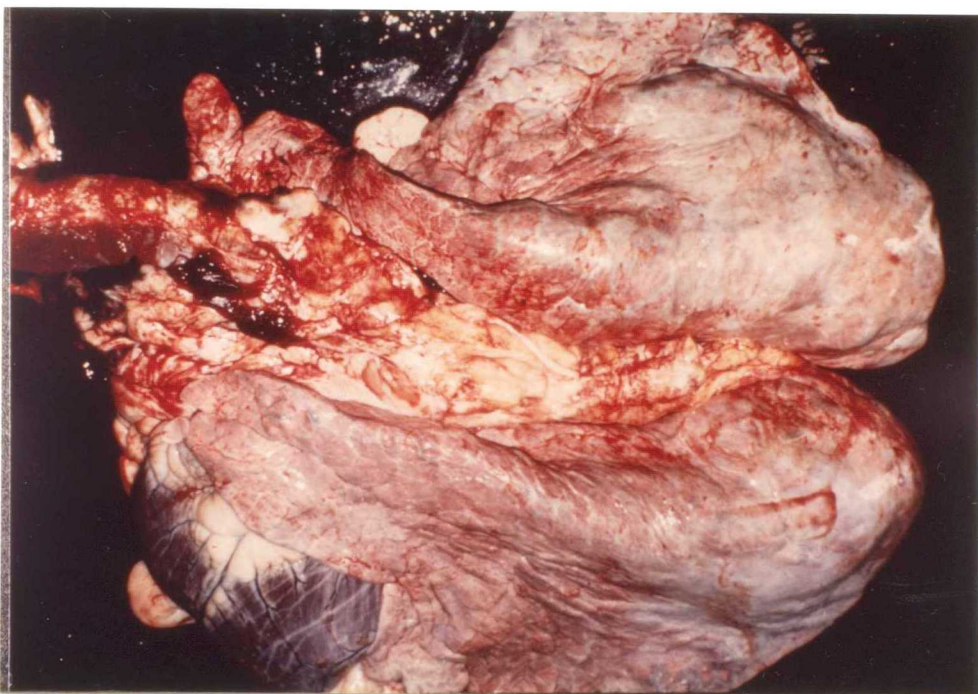


写真7 肺の一部に気腫および暗赤色斑。

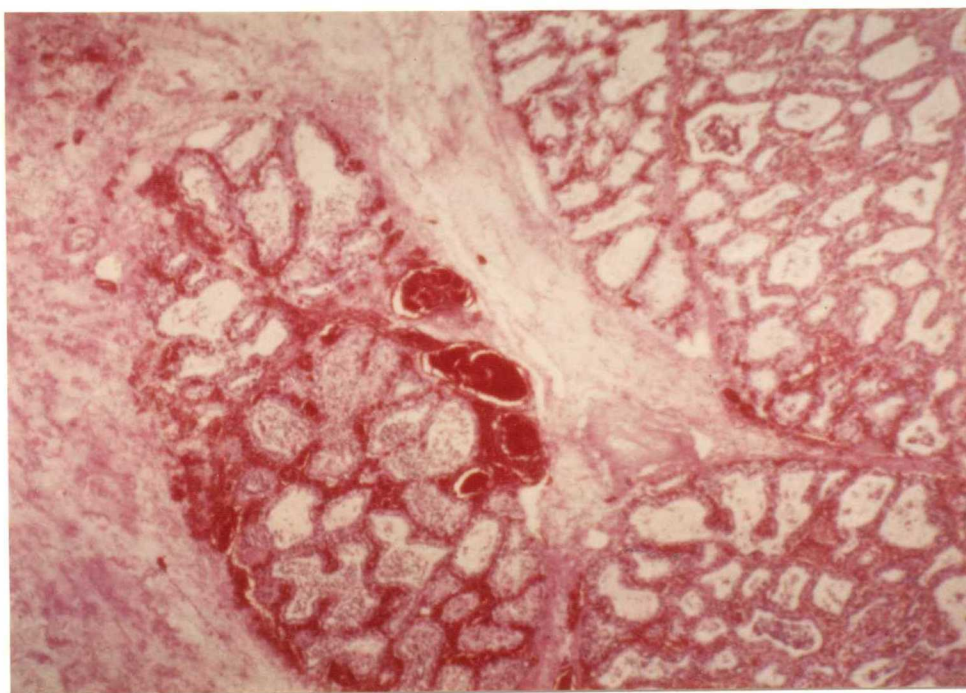


写真8 乳房腺胞内の出血、血栓形成、間質の浮腫、フィブリン析出。(H E 染色, ×40)

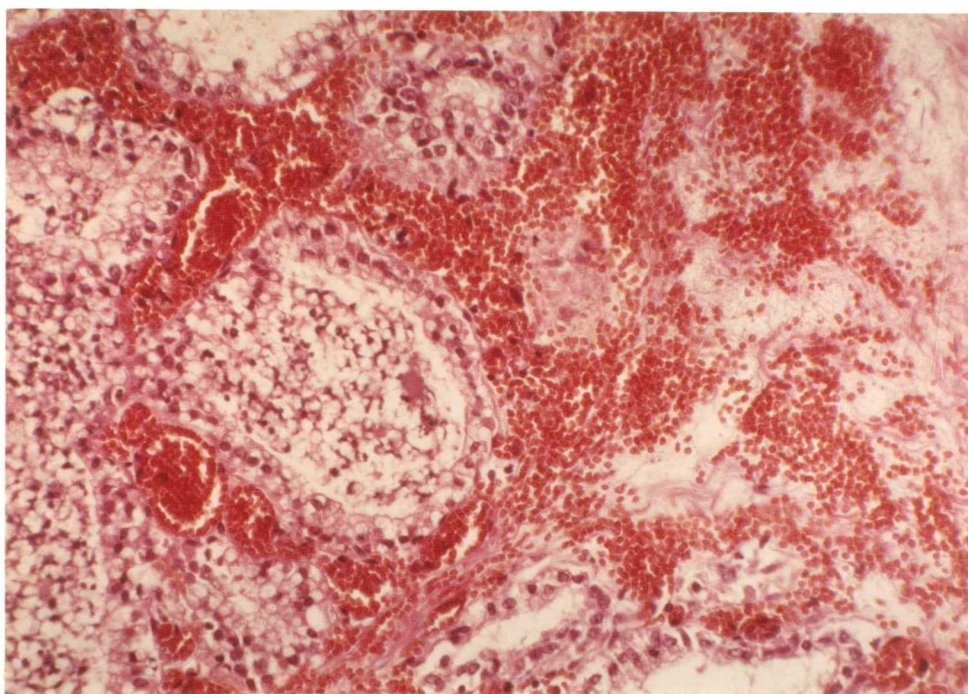


写真 9 腺胞上皮細胞の変性壊死、脱落、細胞浸潤。
（H E 染色，×100）

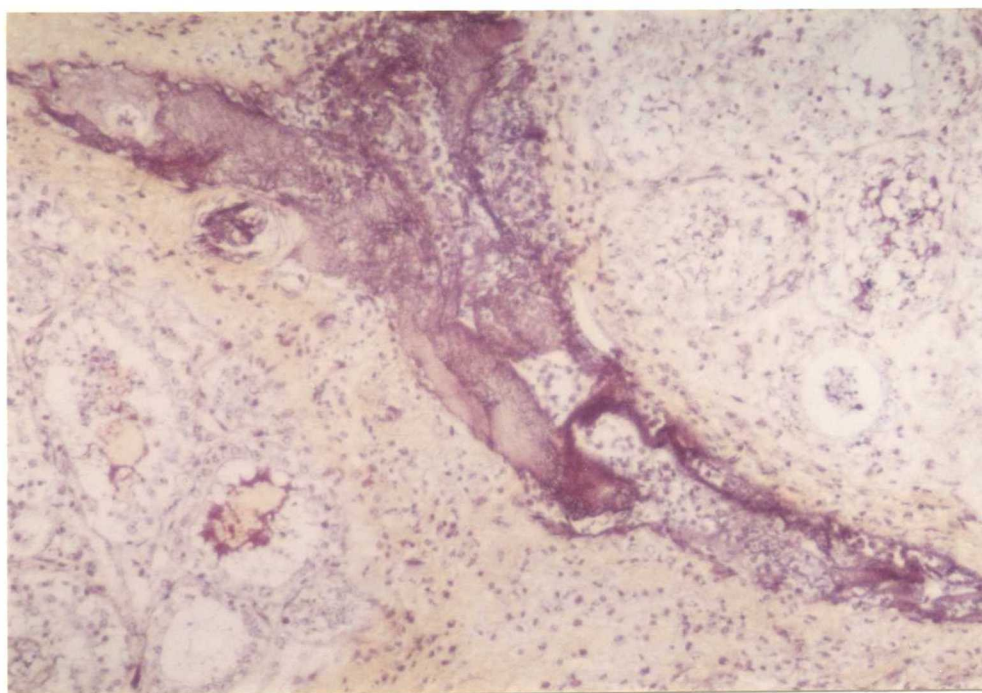


写真 1 0 腺胞間質のフィブリン折出による炎症性水腫。
（P T A H 染色，×100）

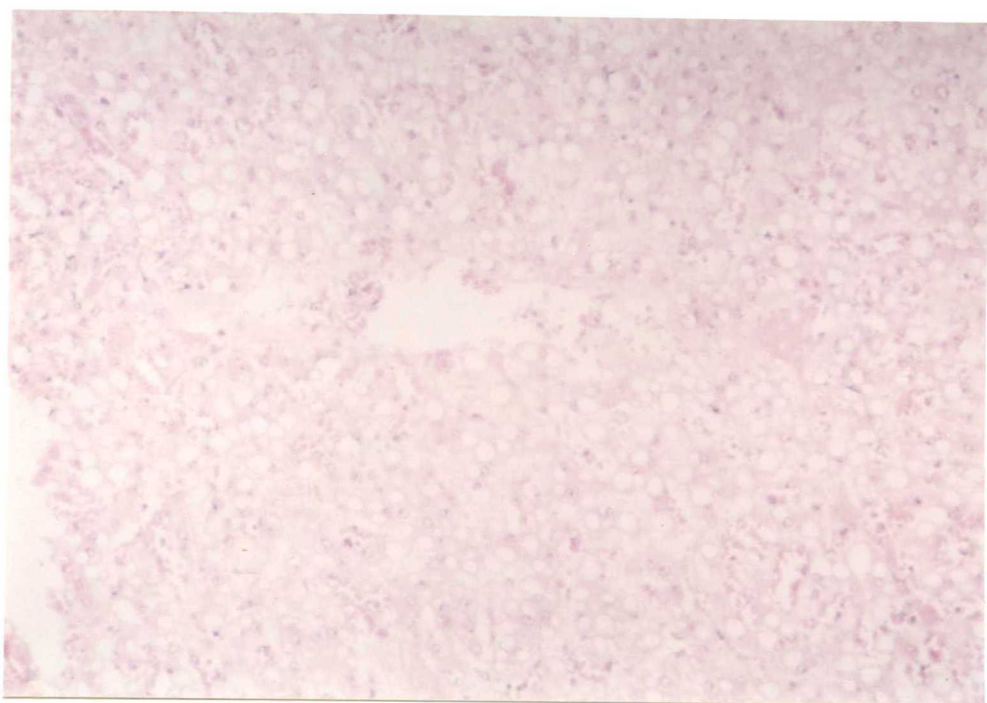


写真 1 1 肝の肝細胞脂肪変性。(H E 染色, ×100)

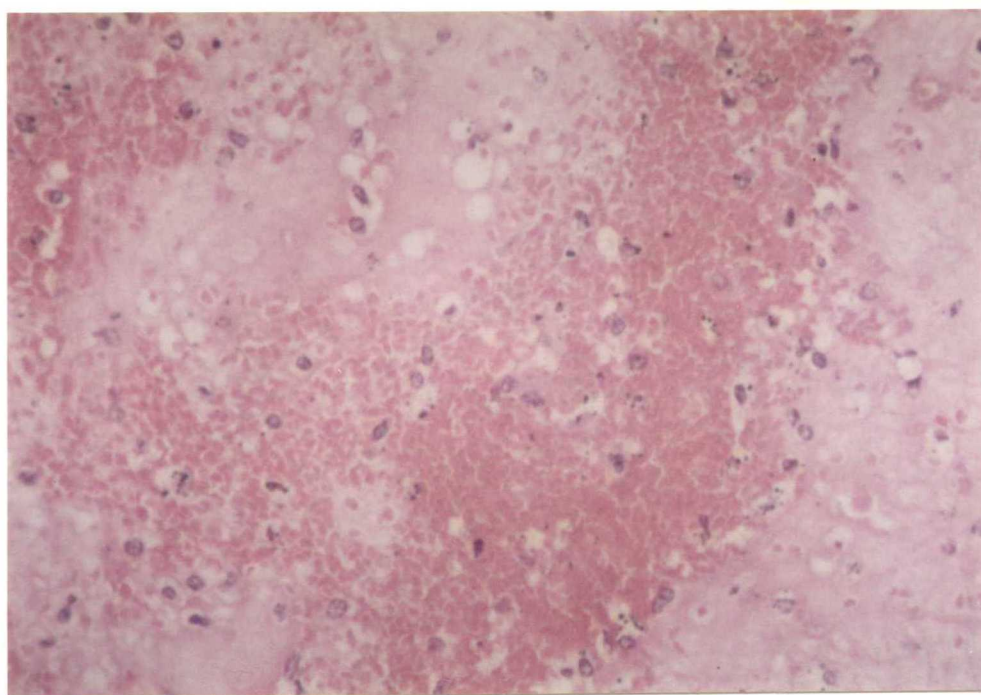


写真 1 2 肝の出血と広範囲な壊死。(H E 染色, ×100)

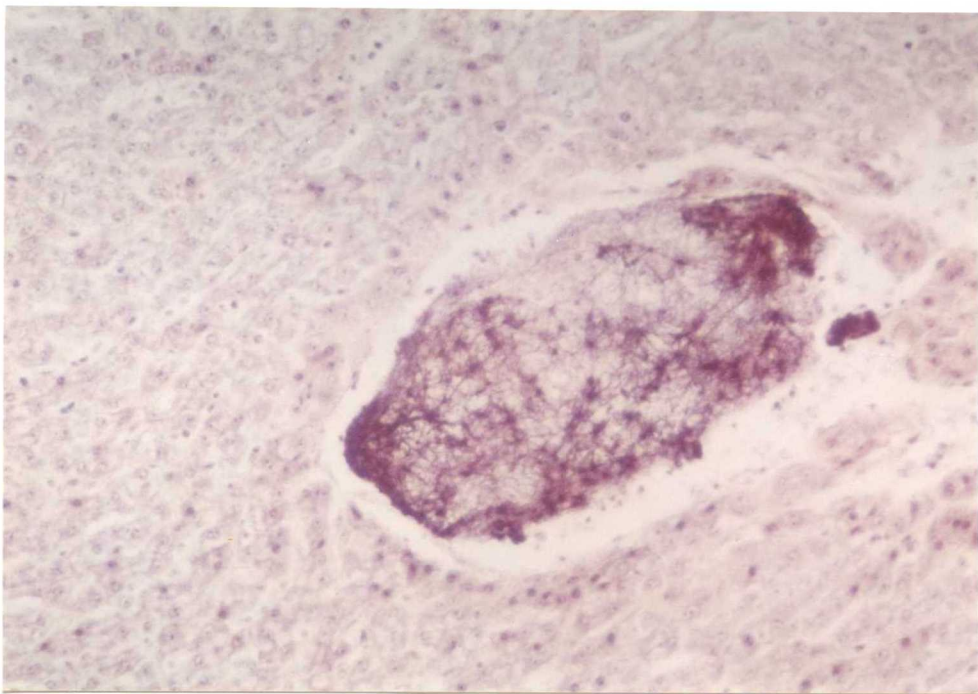


写真13 肝のフィブリン血栓。(PTAH染色, $\times 100$)

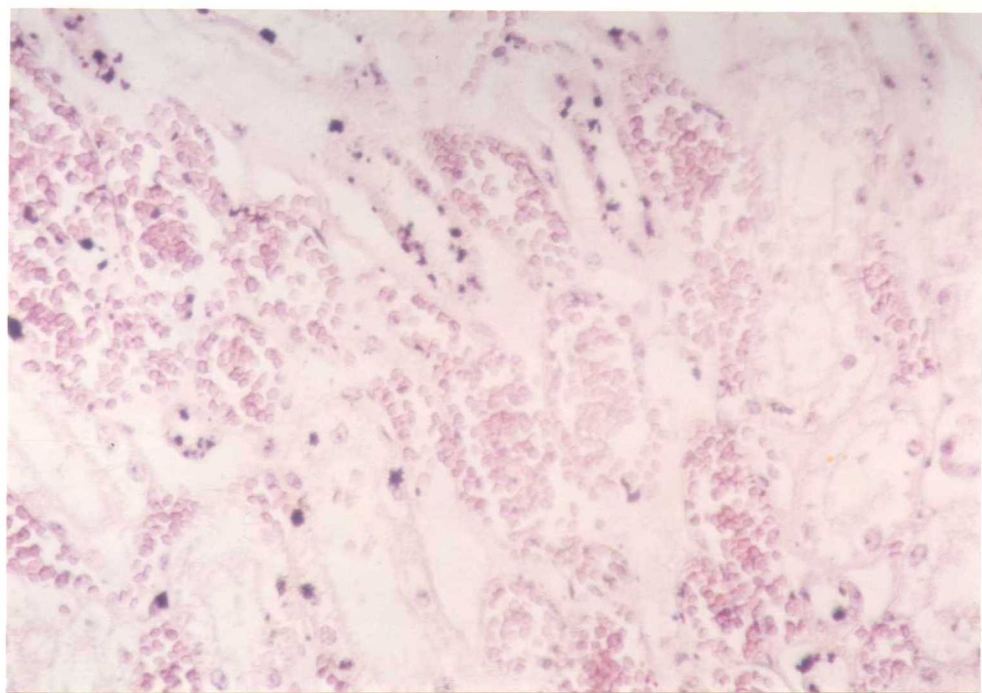


写真14 腎の出血、うっ血、尿細管上皮細胞の変性。
(HE染色, $\times 200$)

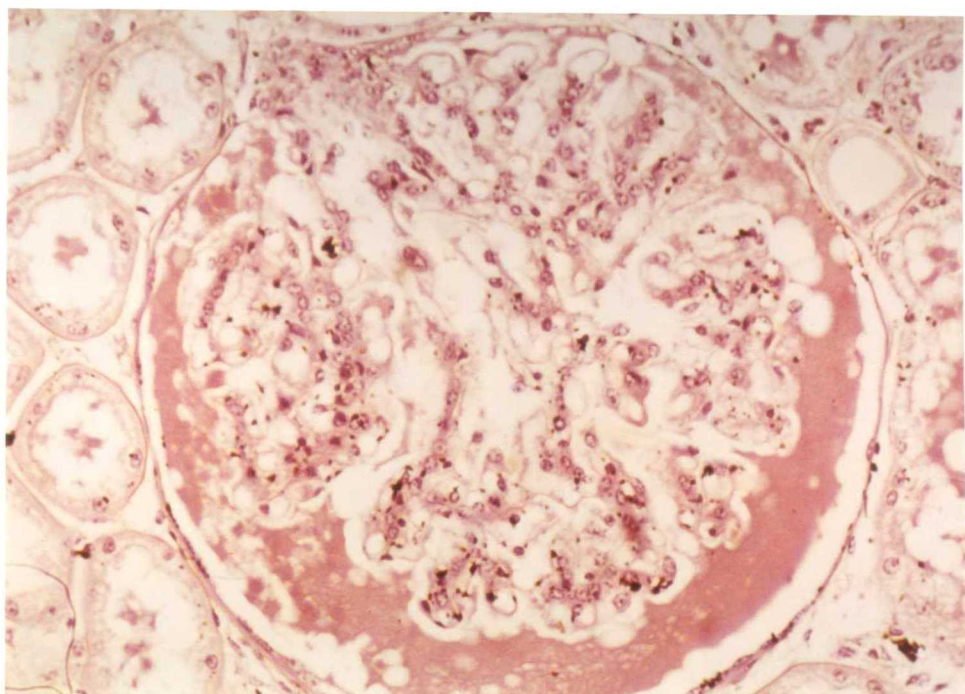


写真15 腎のボーマン氏嚢にエオジン好染物質、メサングウム増数。(H E 染色, $\times 200$)

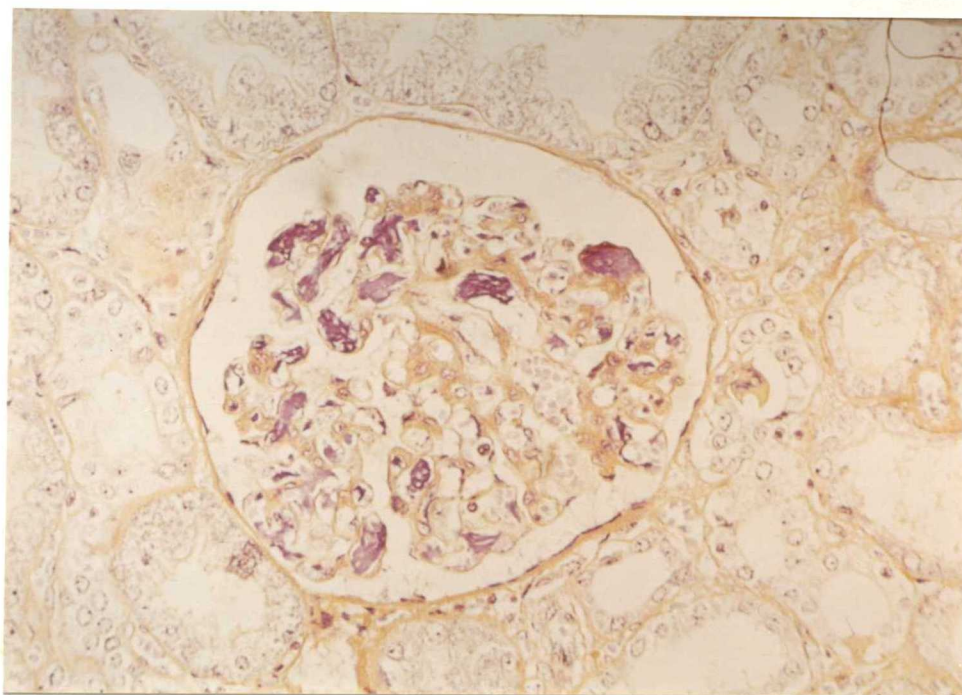


写真16 腎のフィブリン血栓。(P T A H 染色, $\times 200$)

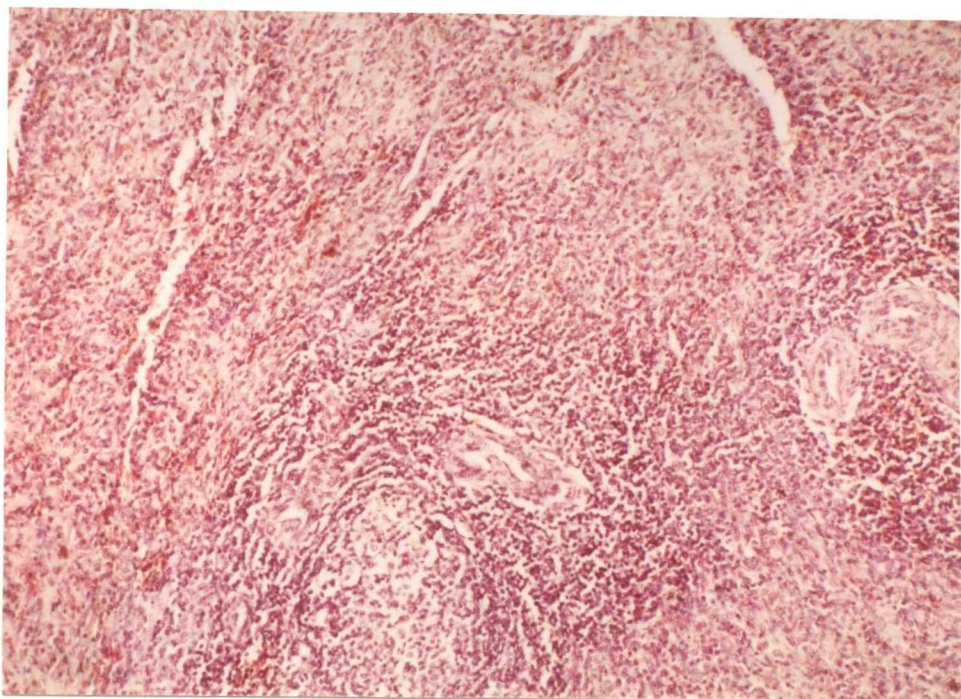


写真 1 7 脾のリンパ組織の萎縮。(H E 染色, ×200)

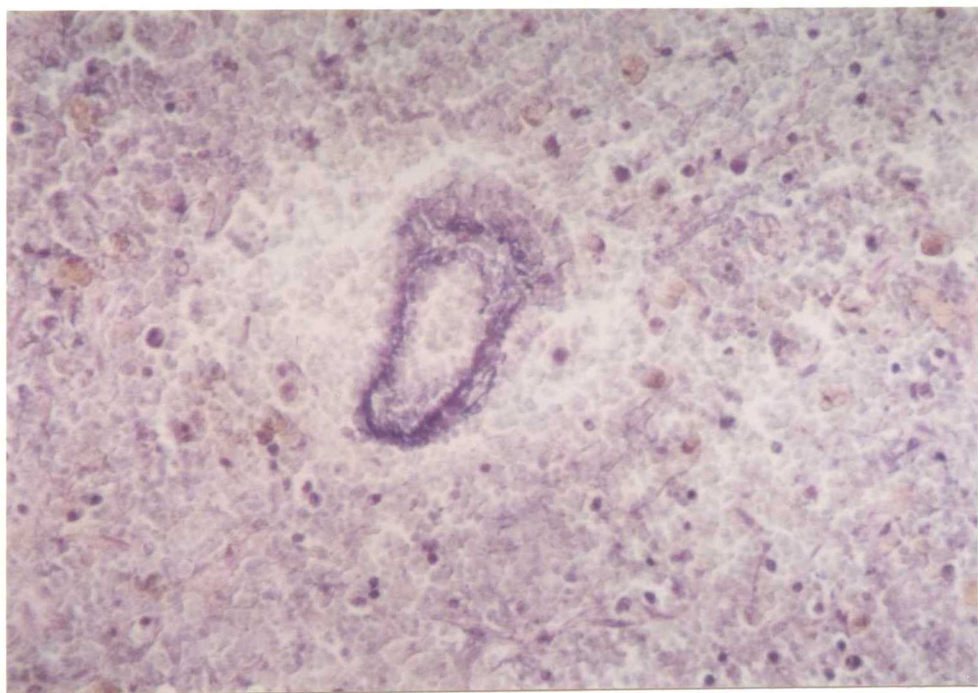


写真 1 8 脾の血管フィブリノイド変性。(P T A H 染色, ×200)

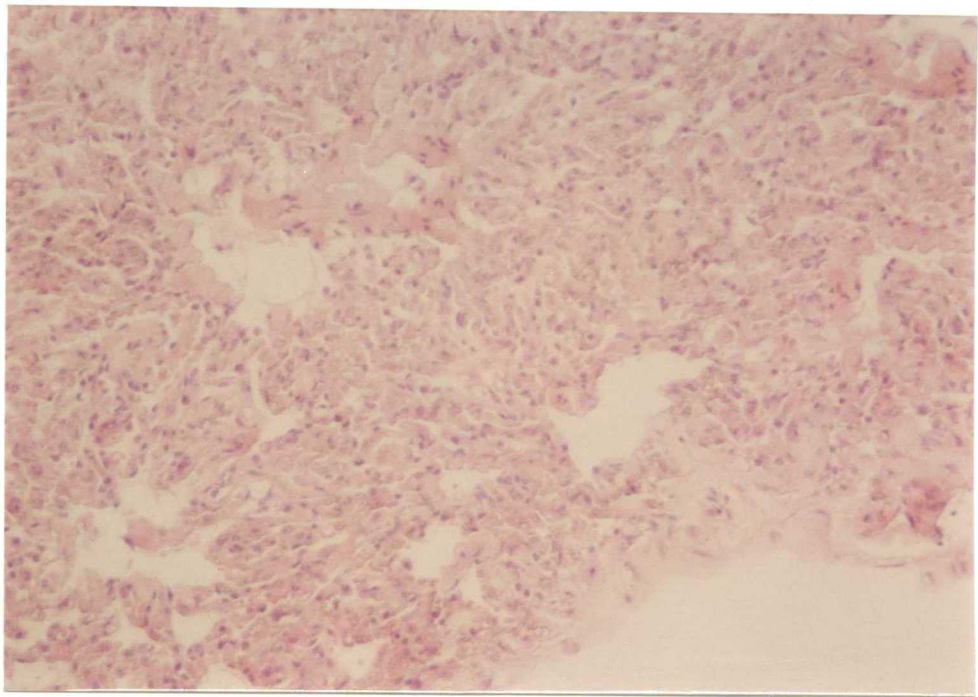


写真 1 9 肺のうっ血、無気肺。(H E 染色, $\times 100$)

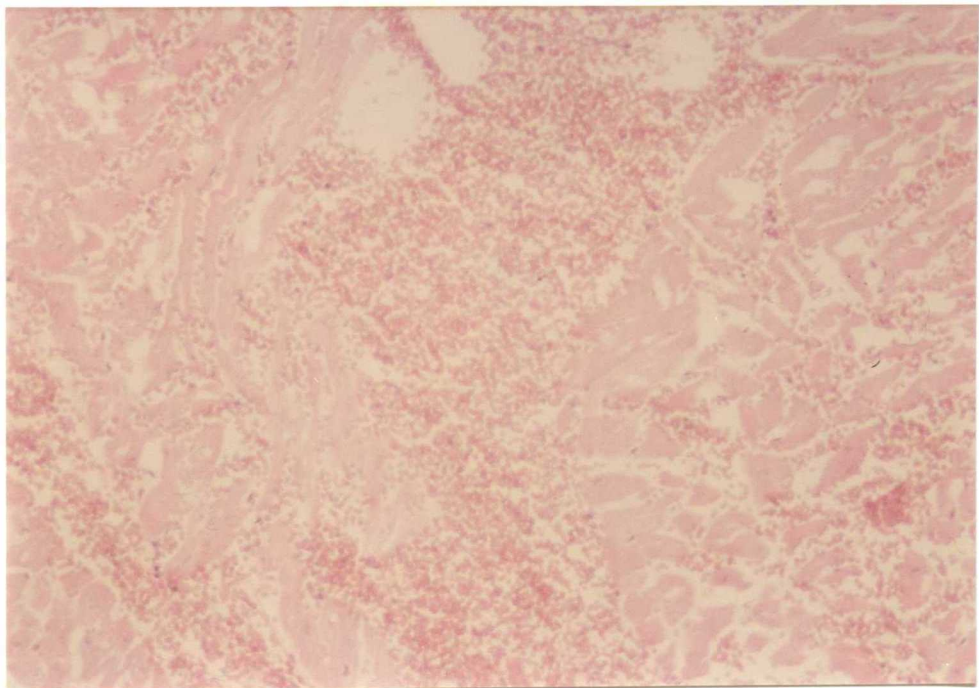


写真 2 0 心の広範囲な出血、うっ血。(H E 染色, $\times 100$)

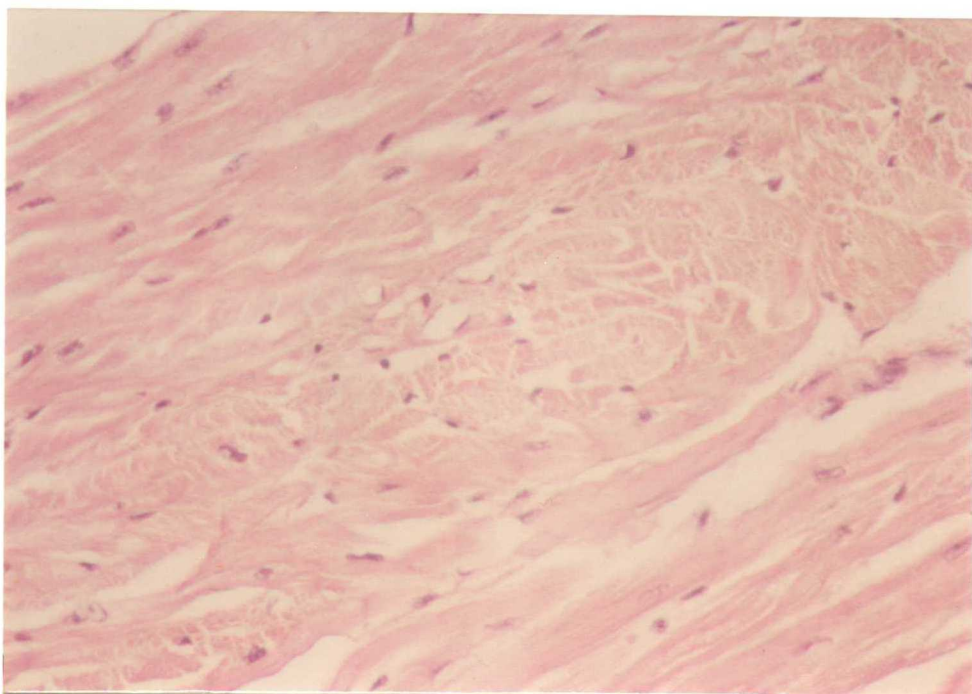


写真 2 1 心の心筋線維の変性。(H E 染色, $\times 200$)

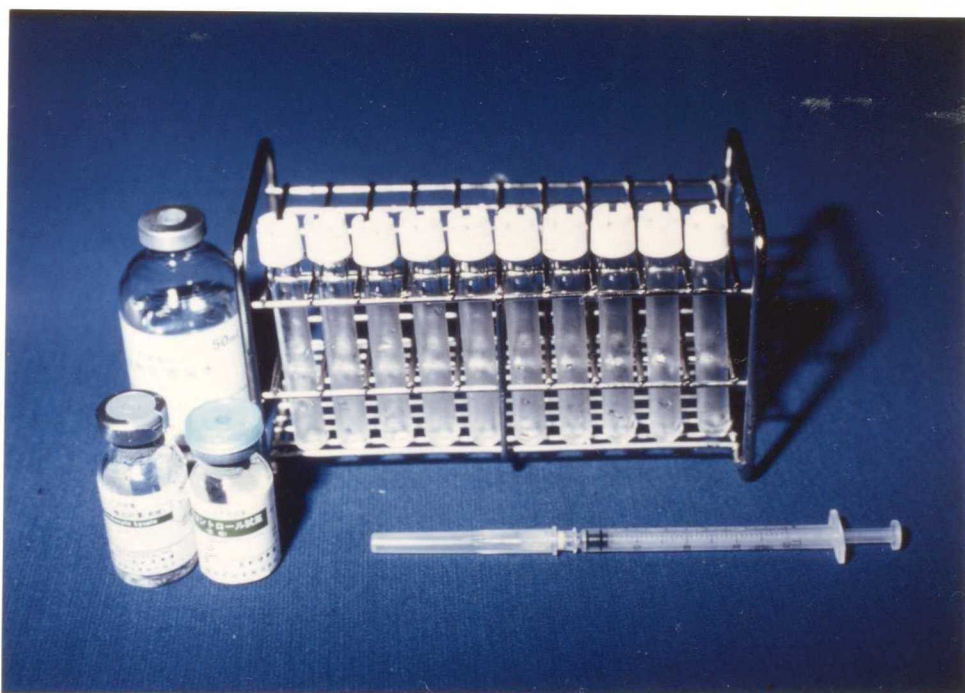


写真 2 2 リムルステストゲル化法の測定器具。

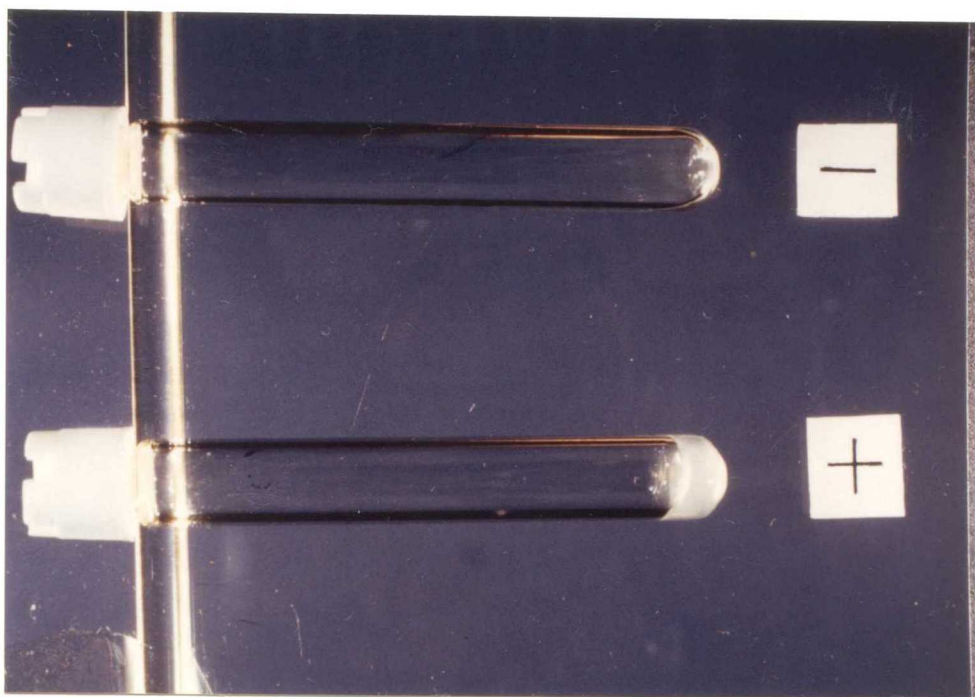


写真 2 3 リムルステストゲル化法の判定。
試験管を180℃転倒して形がくずれない硬いゲル
形成が認められたものを陽性と判定。



写真 2 4 リムルステスト合成発色基質法の測定器具。

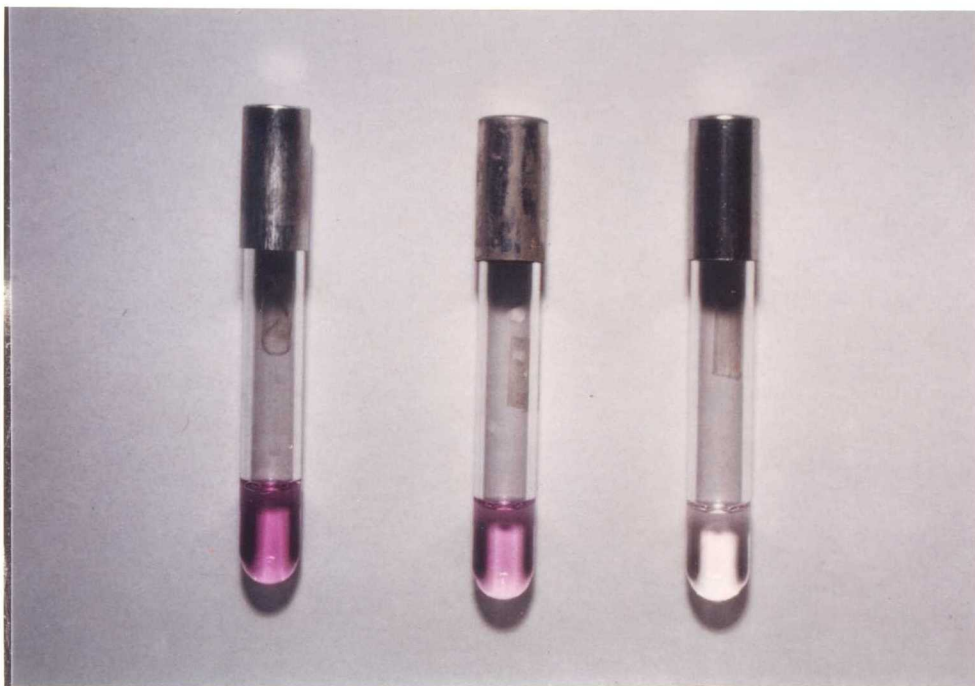


写真 2 5 合成発色基質法の判定。

合成基質液とLysateを緩衝剤で溶解後ジア
ゾ化して吸光度を測定。

内毒素陽性例はピンク色を呈する(左端)、
内毒素陰性例は透明(右端)。