

## 乳牛の急性大腸菌 (*Escherichia coli*) 性乳房炎の 病態と予後診断

萩原 精一<sup>1)†</sup> 森 康一郎<sup>2)</sup>

1) 北海道農業共済組合連合会 (〒060-0004 札幌市中央区北4条西1-1 北農ビル15階)

2) オホーツク農業共済組合 (〒099-0879 北見市美園497-1)

(2018年3月8日受付・2018年8月23日受理)

### Pathology and Prognosis Prediction of Acute *Escherichia coli* Mastitis in Dairy Cattle

Seiichi HAGIWARA<sup>1)†</sup> and Kouichiro MORI<sup>2)</sup>

1) *Federation of Hokkaido Agricultural Mutual Aid Associations, North 4 West 1-1, Chuo-ku, Sapporo, 060-0004, Japan*

2) *Okhotsk Agricultural Mutual Aid Association, 497-1 Misono, Kitami, 099-0879, Japan*

#### はじめに

大腸菌群による急性乳房炎は、乳牛の代表的な致死性乳腺炎で、その経済的損害は甚大である。北海道においては、家畜共済に加入している乳牛約70万頭のうち年間約2,500頭が大腸菌群による急性乳房炎により死亡・廃用となり、その個体損失補償として5~7億円の共済金が酪農家へ毎年支払われている。大腸菌群乳房炎の発症牛は、急性の重篤全身症状を示すことが典型と考えられている。発症後、数日以内に死亡する症例が散発する一方で、数日以内に症状が消失する症例も多数存在する。

急性大腸菌群乳房炎の発症時における突然の重篤全身症状は、罹患牛の死亡・廃用を想起させ、獣医師を抗菌性物質製剤投与に駆り立てる。しかし、この急性の重篤全身症状は死亡・廃用牛に限らず、治癒症例においても観察されるため、急性の重篤全身症状のみをもって、その予後を診断することは困難である。このため、全身症状を示すすべての臨床例に抗菌性物質製剤が投与されるが、抗菌性物質製剤が乱用された場合には、薬剤耐性出現のリスクを高めるなど、社会問題につながりかねない。抗菌性物質製剤の慎重使用の実現には、その前提と

して乳牛の急性大腸菌 (*Escherichia coli*: *E. coli*) 性乳房炎の病態と予後診断の理解が欠かせない。

近年、急性 *E. coli* 性乳房炎の死産牛の致死病態と診断学的特徴の一端が明らかにされた。本稿では、乳牛の急性 *E. coli* 性乳房炎の病態、その予後診断方法を概説する。

#### 大腸菌群による乳房炎

大腸菌群による乳房炎は、牛の糞便中に常在する *E. coli* 等の *Escherichia* 属, *Klebsiella* 属, *Proteus* 属等の腸内細菌科に属する細菌が環境中に排泄されたのち乳頭管を經由して感染する乳腺炎と考えられている [1]。大腸菌群による乳房炎のうち *E. coli* が原因菌に占める割合は67~93%, *Klebsiella* 属が7~33%と報告されている [2]。大腸菌群による乳房炎のなかでも、最も重症例の原因となるのが *Klebsiella* 属であり、次いで *E. coli* が重症とされ、他の大腸菌群の菌は比較的軽症と考えられている [3]。

*E. coli* 性乳房炎は急性の症状を示す臨床型が一般的と考えられているが、無症状の潜在性乳房炎 [2, 4], 再発・持続感染型乳房炎 [5-7] など、その病態は無症状のものから重篤な全身症状を示す急性症例、そして致

† 連絡責任者: 萩原精一 (北海道農業共済組合連合会)

〒060-0004 札幌市中央区北4条西1-1 北農ビル15階 ☎011-271-7257 FAX 011-261-8630

E-mail: seiiti\_hagiwara@hknosai.or.jp

† Correspondence to: Seiichi HAGIWARA (Federation of Hokkaido Agricultural Mutual Aid Associations)

North 4 West 1-1, Chuo-ku, Sapporo, 060-0004, Japan

TEL 011-271-7257 FAX 011-261-8630 E-mail: seiiti\_hagiwara@hknosai.or.jp

死症例まで幅広い。また、*E. coli* は健康な乳牛の乳腺内微生物叢からも分離されており、乳腺内微生物叢の一員として牛と共生関係にあることも示唆されており [8, 9]、その共生関係と乳房炎発症との関連性を含む全体像はいまだ十分には解明されていない。

大腸菌群による臨床型乳房炎罹患牛を体温（直腸温度）、眼球陥没、第一胃運動（収縮数）、沈鬱症状の度合により重症、中程度、軽症に分類した場合、重症牛が死亡あるいは淘汰される確率は、中程度の牛より 3.6 倍、軽症牛より 11.2 倍高かったと報告されている [10]。

*E. coli* 性乳房炎の重症度は、おもに宿主側の乳牛の生体防御能によって決定付けられる [11]。*E. coli* は乳頭槽に到達後、2 時間ごとに 8~10 倍に増殖し、菌体成分であるリポポリサッカライド (Lipopolysaccharides : LPS) を大量に遊離させる [11]。LPS は、発熱、好中球等の白血球遊走、補体活性化、マクロファージ活性化、血管透過性亢進、急性相反応等、さまざまな臨床所見を引き起こす。感染分房に遊走した好中球は、貪食、好中球細胞外トラップ形成や細胞外殺菌により *E. coli* を殺菌するが、牛乳腺内に *E. coli* を注入した場合、好中球の殺菌能が低い牛は、高い牛よりも臨床症状がより重症であったことが報告されている [12]。好中球の殺菌能は、高齢牛で低下するほか [13]、負のエネルギーバランス時に非エステル型脂肪酸 (NEFA) から生成される  $\beta$ -ヒドロキシ酪酸 (BHBA) により阻害される [14]。また、感染分房内に大量に遊離した LPS は、好中球の酵素アシルオキシアシルヒドロラーゼ (Acyl-oxyacyl hydrolase : AOA) によって解毒される [11, 15]。好中球 AOA 活性の低い牛は、好中球 AOA 活性の高い牛よりも *E. coli* 牛乳腺内注入後の臨床症状がより重症であったと報告されている [16]。好中球 AOA 活性は分娩直後に減じることが報告されており [17]、分娩直後における *E. coli* 性乳房炎の重症化に関連すると考えられている。さらに、LPS が感染分房から全身の血液循環に遊離した場合、LPS は、肺において炎症による呼吸困難を引き起こし [18]、肝臓 Kupffer 細胞貪食により全身血液循環から除去され、Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) 等のサイトカインとともに胆汁を介して小腸に排出されるが、小腸粘膜細胞を壊死させ下痢を引き起こす [19]。健康牛は静脈内投与された LPS (25 $\mu$ g/kg) を 30 分以内に血中から除去できるが、脂肪肝罹患牛は投与 6 時間後においても LPS を除去し得ない [20]。脂肪肝等による肝臓機能低下は血中の LPS 解毒を困難にし、*E. coli* 性乳房炎の症状を重症化させると考えられる。

### 発 生 状 況

Menzies ら [21] は、大腸菌群による乳房炎が乳牛日獣会誌 72 25~32 (2019)

死亡事故で最も多い疾病であり、死亡事故全体の 12.3% を占めると報告している。北海道の家畜共済 (2010~2014 年度) においては、大腸菌群による乳房炎が乳牛の死産事故全体の 5.3~6.4% を占めていた。

大腸菌群乳房炎による死産牛頭数は多いが、それ以上に発症牛頭数が多い。大腸菌群乳房炎の発症牛のうち死産に至るものは少なく、その大半は治癒するため、治癒率は高い。フィンランドにおける *E. coli* 性乳房炎の治癒率は 74% [22]、スウェーデンにおける大腸菌群乳房炎の治癒率は 92% [23] と報告されている。北海道においては大腸菌群による乳房炎の保険診療 (2010~2014 年度の病傷事故 23,631~33,307 頭) のうち、治癒した乳牛 (19,881~27,948 頭) は 85% を占めていた。

*E. coli* 性乳房炎臨床例の多くは自然治癒すると考えられている [24]。*E. coli* の牛乳腺内注入実験においては、大半の牛は菌注入後 48 時間 [25] から 7 日間 [26] のうちに牛自身の免疫システムによって除菌し、抗菌剤を投与せずとも自然治癒する。Suojala ら [27] は軽症から中程度の臨床症状を示す *E. coli* 性乳房炎においては、抗菌剤を使用せずに抗炎症療法、頻回搾乳、補液療法を施すべきであり、抗菌剤の全身投与は重症例において、菌血症を制御する場合においてのみ推奨している。加えて、*E. coli* 性乳房炎においては乳房内用抗菌剤治療の有効性を示す根拠が乏しいため、乳房内用抗菌剤治療は推奨できないとしている。Lago ら [28] は、酪農家自らが選択培地を用いて乳房炎原因菌を特定 (On-farm culture) し、グラム陰性菌が分離あるいは菌が分離されなかった場合で、かつ軽症から中程度の臨床症状を示す場合に乳房内用抗菌剤を罹患牛に投与しなかったとしても、乳房炎再発リスク、細菌学的治癒、体細胞数、乳生産量、生存率は抗菌剤投与した場合と差がなく、抗菌剤使用量が半減したと報告している。これら抗菌剤の不投与を推奨する考えは、*E. coli* 性乳房炎臨床例の多くは自然治癒することを前提としている。

### 重篤な全身症状

急性 *E. coli* 性乳房炎の発症時の特徴である発熱、心悸亢進、呼吸促進、白血球減少等の全身性炎症反応症候群 (Systemic inflammatory response syndrome : SIRS) は、菌自体によるものではなく、*E. coli* の菌体成分 LPS と生体側の免疫応答、おもに炎症性サイトカインに起因する [11, 29]。SIRS は *E. coli* や LPS の牛乳腺内注入実験等によって容易に再現できるため、その症状発現機序に関する報告は多い。SIRS の診断基準として応用されている発熱、心悸亢進、浅速呼吸及び白血球減少症は、*E. coli* の牛乳腺内注入後、感染分房内の *E. coli* 菌数が増殖のピークを過ぎ菌数が最も少なくなり、同時に感染分房への好中球遊走がピークに達した時

に顕著になるため、LPSと好中球によって引き起こされていると考えられる。Vangroenwegheら [26] の *E. coli* の牛乳腺内注入実験においては、発熱、心悸亢進、浅速呼吸及び白血球減少症は、感染分房内の菌数が菌注入3～6時間後に最大値を経て減少に転じ、注入9～14時間後に菌数が一時最低値に達した時に、最も顕著になったと報告している。Grielら [30] の「LPSの牛静脈内投与」と「*E. coli*の牛乳腺内注入」の比較実験においては、LPS静脈内投与牛の発熱のピークは投与4時間後の白血球減少に伴い出現しているが、*E. coli* 乳腺内注入牛の発熱のピークは、菌数が菌注入8～12時間後に最大値を経て、白血球遊走が確認された注入12～16時間後に出現したと報告している。急性 *E. coli* 性乳房炎の重篤な全身症状であるSIRSは、菌数減少に伴い出現することから、好中球による菌貪食と殺菌に伴い菌体から放出されたLPSによって引き起こされるものと考えられている [31]。

*E. coli* の菌自体は、必ずしも臨床症状を発現させるわけではない。Pyöräläら [32] の *E. coli* 感染実験による急性乳房炎においては、感染後第2病日に症状が消失した後、感染分房乳汁から5日間もの間、*E. coli* が分離され続けたと報告している。

急性 *E. coli* 性乳房炎の臨床例における治癒（生存牛と死産牛は、等しくSIRS所見たる発熱、心悸亢進、浅速呼吸、白血球減少症を示し、これら臨床症状を2所見以上示す割合も生存牛と死産牛の両群間に有意差は認められていない [33]。SIRSは、宿主（牛）の生体防御（好中球の菌貪食と殺菌）に付随したLPSへの免疫応答であり、死産症例のみならず、治癒症例にも共通する臨床症状である。このため、SIRS所見のみをもって、急性 *E. coli* 性乳房炎罹患牛の予後不良もしくは死亡を診断することは困難と考えられる。

### 致死病態

急性 *E. coli* 性乳房炎の死産に至る病態として、菌血症とLPS血症の関与が指摘されている。大腸菌群による乳房炎の病態として、菌血症が罹患牛の32% [34, 35]～75% [36] で観察されており、またLPS血症 [36]、代謝性アシドーシス [34]、尿毒症 [37] もそれぞれ報告されている。これらの知見から、急性 *E. coli* 性乳房炎は菌血症 [34-36] とLPS血症 [36] から播種性血管内凝固（Disseminated intravascular coagulation : DIC）の経過をたどって致死病態に進行するものと推測される。しかし、*E. coli* のLPS牛乳腺内注入実験において軽度のプロトロンビン時間延長、血小板数の減少が再現されているも、アンチトロンビン活性は変化なく、致死病態としてのDICは報告されていない [38]。急性 *E. coli* 性乳房炎の致死病態に関する報告は非常に少な

い。これは、*E. coli* の乳腺内感染実験を実施しても致死症例の再現が困難であったことに起因する。感染実験牛の大半はSIRSを発症するが、治療の介入なしに自然治癒する [25, 26, 32, 39-51]。 *E. coli* 乳腺内感染実験における致死症例の発生割合は非常に低く、ベルギー6報 [26, 40, 41, 50-52]、アメリカ5報 [25, 45, 48, 49, 53]、フィンランド3報 [32, 42, 54]、オランダ2報 [43, 46]、カナダ2報 [29, 44]、イギリス1報 [55]、デンマーク1報 [39]、フランス1報 [47] の計21報の感染実験供試牛の総和270頭における致死症例はわずか7頭 [29, 52-55] であり、その発生割合は2.6%（7頭/270頭）にすぎない。

*E. coli* 乳腺内感染実験の致死7症例における死、あるいは安楽殺に至るまでの経過日数は、2日（2頭） [29]、3日（1頭） [53]、4日（2頭） [54]、6日（1頭） [55]、数週間後（1頭） [52] と報告されている。致死症例7頭のうち3頭 [29, 52] で白血球減少症、1頭 [53] で罹患分房への不十分な白血球遊走、3頭 [53, 54] で起立不能、2頭で低体温 [29]、1頭が発熱の持続 [52] が確認されている。また、死亡牛2頭 [54] の臨床症状は感染実験2日後から急速に悪化し、生存牛との差が明瞭になったことが報告されている。

白血球減少症が確認された3頭のうち、2頭は感染実験12時間後より白血球減少症が死に至る48時間後まで続き [29]、1頭は好中球減少症に続いて、幼若好中球の持続性出現を主徴とする極度の好中球増加症を呈し、数週間後に死亡している [52]。罹患分房への不十分な白血球遊走が確認された1頭は、感染実験30時間後の罹患分房の乳汁体細胞数が生存牛より少なく（乳汁体細胞数：生存牛  $10^7$  cells/ml > 安楽殺牛  $3 \times 10^6$  cells/ml）、結果的に *E. coli* の増殖を招き感染3日後に安楽殺されている [53]。これら実験感染の結果から、致死症例の出現機序には好中球の機能障害、すなわち好中球の遊走能と殺菌能の障害に伴う *E. coli* 増殖阻止失敗が介在していることが示唆されている。しかし、実験感染による致死症例の再現割合は低いため、DICの関与も含めて致死病態は十分には解明されていなかった。

### 疫学的研究による致死病態の解明

急性 *E. coli* 性乳房炎の致死病態の解明には、実験感染研究よりも臨床例を対象とした疫学的観察が適している。実験感染による致死症例の再現割合は2.6% [25, 26, 29, 32, 39-55] と低い。北海道の家畜共済加入乳牛では、急性大腸菌群乳房炎発症牛のうち死産に至る牛の発生割合は8%に達する。臨床例の疫学的観察は、実験感染よりも死産症例に遭遇する割合が高く、より大きな分析母集団から、数多くの死産症例を抽出、観察し得る利点がある。

著者らは、急性 *E. coli* 性乳房炎罹患乳牛 24 頭を発症直後から継続的に血液学的所見と臨床症状を観察し、死亡あるいは安楽殺された 7 頭 (死廃牛) と治癒 17 頭 (生存牛) の予後別に比較した。死廃牛と生存牛の血液学的所見と臨床症状の群間差は、発症 2 日後より明瞭になった。死廃牛は全頭 (7/7) が第 2 病日に起立不能に陥ったが、生存牛は全頭が起立不能に陥らなかった (0/17)。第 2 病日以降、死廃牛群は生存牛群よりヘマトクリット (HCT) 値、血清 NEFA 濃度が顕著に高く、アンチトロンビン活性と血小板数が顕著に低値であることを認めた。プロトロンビン時間の延長を伴うアンチトロンビン活性と血小板数の減少は死廃牛で観察されたが、生存牛では観察されなかった。死廃牛において血清 NEFA 濃度は第 1 病日から第 3 病日にかけて増加したが、生存牛では変化しなかった。また、生存牛においてアンチトロンビン活性は NEFA 濃度と負の相関関係にあることが観察された [33]。

起立不能と血液濃縮は致死的な乳房炎罹患牛の特徴であると報告されている [37]。 *E. coli* 乳腺内感染実験による致死症例 7 頭 [29, 52-55] のうち 3 頭が起立不能に陥ったことが報告されている。1 頭は 36 時間後に起立不能に陥り [53]、2 頭は 2 日後に起立不能に陥っている [54]。死廃牛で確認された HCT 値の高値は、起立不能による飲水困難の結果、脱水・血液濃縮に陥った結果と考えられた。

プロトロンビン時間の延長 [56] を伴うアンチトロンビン活性と血小板数の減少 [57] は、致死性 DIC の特徴であることが医療分野で報告されている。恒常性維持の初期段階において、アンチトロンビン等の血液凝固抑制因子、血小板等の血液凝固因子は、利用され遂には枯渇するが、凝固を引き起こす状態が続くと肝臓や骨髄からの産生によっても完全には補い得ない状態、すなわち非代償性の DIC における消費性凝固障害が起こる [58]。アンチトロンビン活性が減少した人の致死率は高いことが報告されている [59]。死廃牛で確認されたプロトロンビン時間の延長を伴うアンチトロンビン活性と血小板数の減少は、非代償性の DIC における消費性凝固障害に陥った結果であると考えられた。

血清 NEFA 濃度の増加は脂肪組織から肝臓への脂肪動員を示すものであり、過剰に動員された NEFA はトリグリセロールとして肝臓に蓄積され、脂肪肝あるいはケトン症を誘発し、肝臓の代謝機能を障害する [60, 61]。死廃牛における NEFA 濃度の増高とアンチトロンビン活性の低値は、死廃牛では肝臓でのアンチトロンビン合成が障害されていたことを示唆させる。重篤な急性 *E. coli* 性乳房炎罹患牛において、NEFA 濃度の増高に伴う肝臓機能障害は LPS 解毒を困難にさせる [20] のみならず、血液凝固抑制因子のアンチトロンビン合成低

下により血液凝固系機能を低下させ、全身循環障害の破綻を誘起し個体死のリスクを高めるものと考えられる。

これらの結果から、起立不能、血液濃縮と非代償性の DIC における消費性凝固障害、そして負のエネルギーバランスに伴う肝機能低下が、急性 *E. coli* 性乳房炎の致死病態の発生に関与していることが示唆された [33]。これら死廃牛の特徴は発症当日には顕在化していないため、発症当日ならば罹患牛救命の可能性が残されており、同時に血液濃縮と非代償性 DIC 消費性凝固障害、肝機能低下を防ぐことに焦点を絞った治療や予防が、罹患牛救命に有効であることが示唆された。

## 予 後 診 断

急性 *E. coli* 性乳房炎の臨床例において、体温、心拍数、呼吸数、白血球数のみでは予後診断は困難である [33]。ヒト敗血症においても、SIRS による予後診断は無効であり、アンチトロンビン活性を含む DIC に焦点を絞った予後診断が有効と報告されている [62, 63]。

予後診断に有用と考えられる知見が、いくつか報告されている。Hirvonen ら [54] は、*E. coli* による実験的乳腺感染にて罹患乳房の泌乳量の著減と乳汁中の菌量  $10^8$  CFU/ml 以上が致死転帰予測に有用と報告している。Wenz ら [64] は、体温 (直腸温度) の上昇、眼球陥没、第一胃運動 (収縮数) の減少、沈鬱症状を含む重篤な全身症状が、大腸菌群による臨床型乳房炎の致死転帰の 48% を予測し得たと報告している。Hisaeda ら [65] は、*Klebsiella pneumoniae* による甚急性乳房炎の臨床例において、初診時の血清中 Haptoglobin 濃度  $2,020 \mu\text{g/ml}$  以上と、血清中 Interleukin (IL)-6 濃度  $32 \text{ng/ml}$  以上が予後不良の予測に有用と報告している。Sordillo ら [29] は、死亡牛 2 頭が *E. coli* 乳腺内注入後 12~24 時間後に血清中 TNF $\alpha$  の高値を示し、36 時間後には生存牛の値まで復したと報告し、Hirvonen ら [54] は、安楽殺牛 2 頭が *E. coli* 乳腺内注入後 1~2 日後に血清中 TNF $\alpha$  の高値を示し、3 日後には実験感染前の値にまで復したと報告している。血清中 TNF $\alpha$  は個体差が大きく [54]、その増高は短時間で収束するため、その臨床応用はさらなる検証を経る必要があるが、予後診断に有用と考えられる。

著者ら [66] は、急性 *E. coli* 性乳房炎臨床例の死廃牛の特徴から予後診断基準を作成し、臨床例での実証試験を経てその実用性を確認した。予後診断基準は第 2 病日以降に HCT 値  $>32\%$ 、NEFA 濃度  $>0.4 \text{mEq/l}$ 、アンチトロンビン活性  $<120\%$ 、血小板数  $<15 \times 10^4 / \mu\text{l}$  及び起立不能の症状発現、これら 5 項目のうち 3 項目以上が基準に合致した場合に、死廃転帰を予後診断するものである。この予後診断基準は、臨床例での実証試験の結果、62.5% の確率で死廃転帰を予後診断でき (敏感度

62.5%),あるいは基準に合致した項目数が3項目未満の場合には80.8%の確率で生存転帰を予後診断できた(特異度80.8%)。予後診断基準5項目を、単独の予後診断基準とした場合には、起立不能が、死産転帰を予測するに当たって最も信頼性が高かった。

著者ら[66]の予後診断は第2病日以降においてのみ有効であったが、これは死産牛と生存牛の血液学的所見と臨床症状の群間差は、発症2日後より明瞭になったこと[33]を反映した結果である。Hirvonenら[54]は、*E. coli*乳腺内感染実験4日後に安楽殺された牛2頭は実験感染2日後より臨床症状が急速に悪化、横臥したが、生存牛は感染2日後に全身症状が消失し、安楽殺牛と生存牛の全身症状の差異は実験感染2日目より明瞭になったと報告している。Pyöräläら[32]は、*E. coli*乳腺内感染実験において治癒した12頭の牛のすべてが、感染実験2日後までに全身症状が消失したことを報告している。Suojalaら[67]は、急性*E. coli*性乳房炎132臨床例において発症後3日間連続で重篤な全身症状を示した牛は、死亡あるいは安楽殺されるリスクが著しく高かったことを報告している。急性*E. coli*性乳房炎による死産牛と生存牛の差異は第2病日以降より明瞭になるため、第2病日以降の予後診断は診断精度が高いと考えられる。

## 総 括

乳牛の急性*E. coli*性乳房炎は、*E. coli*の乳腺感染により、時に重篤な全身症状を示し死に至らしめる泌乳器感染症である。

急性*E. coli*性乳房炎の発症時の特徴である発熱、心悸亢進、呼吸促進、白血球減少等のSIRSは、大腸菌の菌体成分であるLPSと生体側の免疫応答の結果であり、その発現は必ずしも予後不良を意味しない。急性*E. coli*性乳房炎臨床例の生存牛と死産牛は、等しく発熱、心悸亢進、浅速呼吸、白血球減少症を示す。このため体温、心拍数、呼吸数等のみをもって、その予後不良もしくは死亡を診断することは困難である。

感染実験による急性*E. coli*性乳房炎の致死病態の再現割合は低いことから、致死病態は十分には解明されてこなかった。近年、急性*E. coli*性乳房炎の臨床例を対象とした疫学的観察から、死産牛の診断学的特徴と致死病態の一端が解明された。

急性*E. coli*性乳房炎による死産牛は生存牛との対比から、第2病日以降に、起立不能、血液濃縮と非代償性のDICにおける消費性凝固障害、そして負のエネルギーバランスに伴う肝機能低下を示すことが明らかとなった。死産牛は、起立不能による飲水困難の結果として脱水・血液濃縮(HCT値の高値)に陥り、非代償性DIC消費性凝固障害により血液凝固抑制因子(アンチトロン

ビン等)と血液凝固因子(血小板等)が枯渇し、加えて負のエネルギーバランス(血清NEFA濃度の増加)に伴う肝機能低下(アンチトロンビン活性の低値)が血液凝固系機能を低下させて全身循環障害の破綻を誘起し、死に至ったものと考えられた。

これら死産牛の特徴に基づく診断基準により予後診断が可能であった。すなわち、第2病日以降にHCT値>32%、NEFA濃度>0.4mEq/l、アンチトロンビン活性<120%、血小板数<15×10<sup>4</sup>/μl及び起立不能の症状発現、これら5項目のうち3項目以上が基準に合致した場合に、予後不良のリスクが高いと診断できることが確認された。

急性*E. coli*性乳房炎罹患牛の発症時における重篤な全身症状は、罹患牛の死を想起させるため救命治療として抗菌性物質製剤が多用されている。抗菌性物質製剤の多用に伴う残留事故[68]、薬剤耐性発現[69]の危険を回避するために、その慎重使用、すなわち治療効果が確認されている抗菌性物質製剤を選択し、必要な場合にのみ使用すべきことが獣医師に求められている。急性*E. coli*性乳房炎罹患牛のうち、抗菌性物質製剤を投与せずとも、あるいは診療経過中において投与を中止したとしても、治癒するものが多く含まれていると考えられる。乳牛の急性*E. coli*性乳房炎の致死病態に基づく予後診断が、診療の一助となり、抗菌性物質製剤の慎重使用につながることを期待される。

## 引用文献

- [1] Eberhart RJ : Coliform mastitis, *Vet Clin N Am-Large*, 6, 287-300 (1984)
- [2] Kalmus P, Aasmäe B, Kärssin A, Orro T, Kask K : Udder pathogens and their resistance to antimicrobial agents in dairy cows in Estonia, *Acta Vet Scand*, 53, 4 (2011)
- [3] Schukken Y, Chuff M, Moroni P, Gurjar A, Santisteban C, Welcome F, Zadoks R : The "Other" gram-negative bacteria in mastitis: *Klebsiella*, *Serratia* and more, *Vet Clin N Am-Food A*, 28, 239-256 (2012)
- [4] Wilson DJ, Gonzalez RN, Case KL, Garrison LL, Gröhn YT : Comparison of seven antibiotic treatments with no treatment for bacteriological efficacy against bovine mastitis pathogens, *J Dairy Sci*, 82, 1664-1670 (1999)
- [5] Bradley AJ, Green MJ : Adaptation of *Escherichia coli* to the bovine mammary gland, *J Clin Microbiol*, 39, 1845-1849 (2001)
- [6] Döpfer D, Barkema HW, Lam TJ, Schukken YH, Gastra W : Recurrent clinical mastitis caused by *Escherichia coli* in dairy cows, *J Dairy Sci*, 82, 80-85 (1999)
- [7] Hill AW, Shears AL : Recurrent coliform mastitis in the dairy cow, *Vet Rec*, 105, 299-301 (1979)
- [8] Masoud W, Vogensen FK, Lillevang S, Abu Al-Soud W, Sørensen SJ, Jakobsen M : The fate of indigenous

- microbiota, starter cultures, *Escherichia coli*, *Listeria innocua* and *Staphylococcus aureus* in Danish raw milk and cheeses determined by pyrosequencing and quantitative real time (qRT)-PCR, *Int J Food Microbiol*, 153, 192-202 (2012)
- [9] Quigley L, O'Sullivan O, Stanton C, Beresford TP, Ross RP, Fitzgerald GF, Cotter PD : The complex microbiota of raw milk, *FEMS Microbiol Rev*, 37, 664-698 (2013)
- [10] Wenz JR, Barrington GM, Garry FB, Dinsmore RP, Callan RJ : Use of systemic disease signs to assess disease severity in dairy cows with acute coliform mastitis, *J Am Vet Med Assoc*, 218, 567-572 (2001)
- [11] Burvenich C, Van Merris V, Mehrzad J, Diez-Fraile A, Duchateau L : Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors, *Vet Res*, 34, 521-564 (2003)
- [12] Mehrzad J, Duchateau L, Burvenich C : High milk neutrophil chemiluminescence limits the severity of bovine coliform mastitis, *Vet Res*, 36, 101-116 (2005)
- [13] Gilbert RO, Gröhn YT, Miller PM, Hoffman DJ : Effect of parity on periparturient neutrophil function in dairy cows, *Vet Immunol Immunop*, 36, 75-82 (1993)
- [14] Grinberg N, Elazar S, Rosenshine I, Shpigel NY : Beta-hydroxybutyrate abrogates formation of bovine neutrophil extracellular traps and bactericidal activity against mammary pathogenic *Escherichia coli*, *Infect Immun*, 76, 2802-2807 (2008)
- [15] McDermott CM, Cullor JS, Fenwick BW : Intracellular and extracellular enzymatic deacylation of bacterial endotoxin during localized inflammation induced by *Escherichia coli*, *Infect Immun*, 59, 478-485 (1991)
- [16] Mehrzad J, Dosogne H, De Spiegeleer B, Duchateau L, Burvenich C : Bovine blood neutrophil acyloxyacyl hydrolase (AOAH) activity during endotoxin and coliform mastitis, *Vet Res*, 38, 655-668 (2007)
- [17] Dosogne H, Capuco AV, Paape MJ, Roets E, Burvenich C, Fenwick B : Reduction of acyloxyacyl hydrolase activity in circulating neutrophils from cows after parturition, *J Dairy Sci*, 81, 672-677 (1998)
- [18] Mei SH, McCarter SD, Deng Y, Parker CH, Liles WC, Stewart DJ : Prevention of LPS-induced acute lung injury in mice by mesenchymal stem cells overexpressing angiopoietin 1, *Plos Med*, 4, e269 (2007)
- [19] Gong JP, Wu CX, Liu CA, Li SW, Shi YJ, Yang K, Li Y, Li XH : Intestinal damage mediated by Kupffer cells in rats with endotoxemia, *World J Gastroentero*, 8, 923-927 (2002)
- [20] Andersen PH, Jarløv N, Hesselholt M, Baek L : Studies on in vivo endotoxin plasma disappearance times in cattle, *Zentralb Vet Riehe A*, 43, 93-101 (1996)
- [21] Menzies FD, Bryson DG, McCallion T, Matthews DI : A study of mortality among suckler and dairy cows in Northern Ireland in 1992, *Vet Rec*, 137, 531-536 (1995)
- [22] Pyörälä SH, Pyörälä EO : Efficacy of parenteral administration of three antimicrobial agents in treatment of clinical mastitis in lactating cows: 487 cases (1989-1995), *J Am Vet Med Assoc*, 212, 407-412 (1998)
- [23] Holmgren N, Haggmar B, Tolling S : A field trial evaluating the use of cefoperazone in the treatment of bovine clinical mastitis, *Nord Vet Med*, 37, 228-233 (1985)
- [24] Hill AW : Factors influencing the outcome of *Escherichia coli* mastitis in the dairy cow, *Res Vet Sci*, 31, 107-112 (1981)
- [25] Erskine RJ, Wilson RC, Riddell MG Jr, Tyler JW, Spears HJ, Davis BS : Intramammary administration of gentamicin as treatment for experimentally induced *Escherichia coli* mastitis in cows, *Am J Vet Res*, 53, 375-381 (1992)
- [26] Vangroenweghe F, Duchateau L, Burvenich C : Moderate inflammatory reaction during experimental *Escherichia coli* mastitis in primiparous cows, *J Dairy Sci*, 87, 886-895 (2004)
- [27] Suojala L, Kaartinen L, Pyörälä S : Treatment for bovine *Escherichia coli* mastitis-an evidence-based approach, *J Vet Pharmacol Ther*, 36, 521-531 (2013)
- [28] Lago A, Godden SM, Bey R, Ruegg PL, Leslie K : The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results: I. Effects on antibiotic use, milk withholding time, and short-term clinical and bacteriological outcomes, *J Dairy Sci*, 94, 4441-4456 (2011)
- [29] Sordillo LM, Peel JE : Effect of interferon-gamma on the production of tumor necrosis factor during acute *Escherichia coli* mastitis, *J Dairy Sci*, 75, 2119-2125 (1992)
- [30] Griel LC Jr, Zarkower A, Eberhart RJ : Clinical and clinico-pathological effects of *Escherichia coli* endotoxin in mature cattle, *Can J Comp Med*, 39, 1-6 (1975)
- [31] Dunn C : Acute coliform mastitis in a dairy cow, *Can Vet J*, 35, 301-302 (1994)
- [32] Pyörälä S, Kaartinen L, Käck H, Rainio V : Efficacy of two therapy regimens for treatment of experimentally induced *Escherichia coli* mastitis in cows, *J Dairy Sci*, 77, 453-461 (1994)
- [33] Hagiwara S, Mori K, Okada H, Oikawa S, Nagahata H : Acute *Escherichia coli* mastitis in dairy cattle: diagnostic parameters associated with poor prognosis, *J Vet Med Sci*, 76, 1431-1436 (2014)
- [34] Cebra CK, Garry FB, Dinsmore RP : Naturally occurring acute coliform mastitis in Holstein cattle, *J Vet Intern Med*, 10, 252-257 (1996)
- [35] Wenz JR, Barrington GM, Garry FB, McSweeney KD, Dinsmore RP, Goodell G, Callan RJ : Bacteremia associated with naturally occurring acute coliform mastitis in dairy cows, *J Am Vet Med Assoc*, 219, 976-981 (2001)
- [36] Katholm J, Andersen PH : Acute coliform mastitis in dairy cows: Endotoxin and biochemical changes in plasma and colony-forming units in milk, *Vet Rec*, 131, 513-514 (1992)
- [37] Bleul U, Sacher K, Corti S, Braun U : Clinical find-

- ings in 56 cows with toxic mastitis, *Vet Rec*, 159, 677-679 (2006)
- [38] Welles EG, Williams MA, Tyler JW, Lin HC : Hemostasis in cows with endotoxin-induced mastitis, *Am J Vet Res*, 54, 1230-1234 (1993)
- [39] Buitenhuis B, Røntved CM, Edwards SM, Ingvarsen KL, Sørensen P : In depth analysis of genes and pathways of the mammary gland involved in the pathogenesis of bovine *Escherichia coli*-mastitis, *BMC Genomics*, 12, 130 (2011)
- [40] Dosogne H, Meyer E, Sturk A, van Loon J, Massart-Leën AM, Burvenich C : Effect of enrofloxacin treatment on plasma endotoxin during bovine *Escherichia coli* mastitis, *Inflamm Res*, 51, 201-205 (2002)
- [41] Hoeben D, Burvenich C, Trevisi E, Bertoni G, Hamann J, Bruckmaier RM, Blum JW : Role of endotoxin and TNF-alpha in the pathogenesis of experimentally induced coliform mastitis in periparturient cows, *J Dairy Res*, 67, 503-514 (2000)
- [42] Hyvönen P, Suojala L, Orro T, Haaranen J, Simola O, Røntved C, Pyörälä S : Transgenic cows that produce recombinant human lactoferrin in milk are not protected from experimental *Escherichia coli* intramammary infection, *Infect Immun*, 74, 6206-6212 (2006)
- [43] Kornalijnslijper E, Beerda B, Daemen I, van der Werf J, van Werven T, Niewold T, Rutten V, Noordhuizen-Stassen E : The effect of milk production level on host resistance of dairy cows, as assessed by the severity of experimental *Escherichia coli* mastitis, *Vet Res*, 34, 721-736 (2003)
- [44] Lee JW, Paape MJ, Elsasser TH, Zhao X : Recombinant soluble CD14 reduces severity of intramammary infection by *Escherichia coli*, *Infect Immun*, 71, 4034-4039 (2003)
- [45] Leininger DJ, Roberson JR, Elvinger F, Ward D, Akers RM : Evaluation of frequent milkout for treatment of cows with experimentally induced *Escherichia coli* mastitis, *J Am Vet Med Assoc*, 222, 63-66 (2003)
- [46] Lohuis JA, Kremer W, Schukken YH, Smit JA, Verheijden JH, Brand A, Van Miert AS : Growth of *Escherichia coli* in milk from endotoxin-induced mastitic quarters and the course of subsequent experimental *Escherichia coli* mastitis in the cow, *J Dairy Sci*, 73, 1508-1514 (1990)
- [47] Riollet C, Rainard P, Poutrel B : Differential induction of complement fragment C5a and inflammatory cytokines during intramammary infections with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, *Clin Diagn Lab Immun*, 7, 161-167 (2000)
- [48] Scaletti RW, Trammell DS, Smith BA, Harmon RJ : Role of dietary copper in enhancing resistance to *Escherichia coli* mastitis, *J Dairy Sci*, 86, 1240-1249 (2003)
- [49] Shuster DE, Kehrli ME Jr, Rainard P, Paape M : Complement fragment C5a and inflammatory cytokines in neutrophil recruitment during intramammary infection with *Escherichia coli*, *Infect Immun*, 65, 3286-3292 (1997)
- [50] Van Merris V, Meyer E, Duchateau L, Blum J, Burvenich C : All-trans retinoic acid is increased in the acute phase-related hypoproteinemia during *Escherichia coli* mastitis, *J Dairy Sci*, 87, 980-987 (2004)
- [51] Van Oostveldt K, Tomita GM, Paape MJ, Capuco AV, Burvenich C : Apoptosis of bovine neutrophils during mastitis experimentally induced with *Escherichia coli* or endotoxin, *Am J Vet Res*, 63, 448-453 (2002)
- [52] Heyneman R, Burvenich C, Vercauteren R : Interaction between the respiratory burst activity of neutrophil leukocytes and experimentally induced *Escherichia coli* mastitis in cows, *J Dairy Sci*, 73, 985-994 (1990)
- [53] Shuster DE, Lee EK, Kehrli ME Jr : Bacterial growth, inflammatory cytokine production, and neutrophil recruitment during coliform mastitis in cows within ten days after calving, compared with cows at midlactation, *Am J Vet Res*, 57, 1569-1575 (1996)
- [54] Hirvonen J, Eklund K, Teppo AM, Huszenicza G, Kulcsar M, Saloniemi H, Pyörälä S : Acute phase response in dairy cows with experimentally induced *Escherichia coli* mastitis, *Acta Vet Scand*, 40, 35-46 (1999)
- [55] Poutrel B, Stegemann MR, Roy O, Pothier F, Tilt N, Payne-Johnson M : Evaluation of the efficacy of systemic danofloxacin in the treatment of induced acute *Escherichia coli* bovine mastitis, *J Dairy Res*, 75, 310-318 (2008)
- [56] Davis-Jackson R, Correa H, Horswell R, Sadowska-Krowicka H, McDonough K, Debata C, Gardner R, Penn D : Antithrombin III (AT) and recombinant tissue plasminogen activator (r-TPA) used singly and in combination versus supportive care for treatment of endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation (DIC) in the neonatal pig, *Thrombosis Journal*, 4, 7 (2006)
- [57] Taylor FB Jr, Toh CH, Hoots WK, Wada H, Levi M : Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation, *Thromb Haemostasis*, 86, 1327-1330 (2001)
- [58] Mammen EF : Disseminated intravascular coagulation (DIC), *Clinical Laboratory Science*, 13, 239-245 (2000)
- [59] Fourrier F, Chopin C, Goudemand J, Hendrycx S, Caron C, Rime A, Marey A, Lestavel P : Septic shock, multiple organ failure, and disseminated intravascular coagulation. Compared patterns of antithrombin III, protein C, and protein S deficiencies, *Chest*, 101, 816-823 (1992)
- [60] Jirillo E, Caccavo D, Magrone T, Piccigallo E, Amati L, Lembo A, Kalis C, Gumenscheimer M : The role of the liver in the response to LPS: experimental and clinical findings, *J Endotoxin Res*, 8, 319-327 (2002)
- [61] Katoh N : Relevance of apolipoproteins in the development of fatty liver and fatty liver-related peripartum diseases in dairy cows, *J Vet Med Sci*, 64, 293-

- 307 (2002)
- [62] Asakura H, Takahashi H, Uchiyama T, Eguchi Y, Okamoto K, Kawasugi K, Madoiwa S, Wada H, DIC subcommittee of the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis : Proposal for new diagnostic criteria for DIC from the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis, *Thrombosis Journal*, 14, 42 (2016)
- [63] Iba T, Di Nisio M, Thachil J, Wada H, Asakura H, Sato K, Kitamura N, Saitoh D : Revision of the Japanese Association for Acute Medicine (JAAM) disseminated intravascular coagulation (DIC) diagnostic criteria using antithrombin activity, *Crit Care*, 20, 287 (2016)
- [64] Wenz JR, Garry FB, Barrington GM : Comparison of disease severity scoring systems for dairy cattle with acute coliform mastitis, *J Am Vet Med Assoc*, 229, 259-262 (2006)
- [65] Hisaeda K, Arima H, Sonobe T, Nasu M, Hagiwara K, Kirisawa R, Takahashi T, Kikuchi N, Nagahata H : Changes in acute-phase proteins and cytokines in serum and milk whey from dairy cows with naturally occurring peracute mastitis caused by *Klebsiella pneumoniae* and the relationship to clinical outcome, *J Vet Med Sci*, 73, 1399-1404 (2011)
- [66] Hagiwara S, Mori K, Nagahata H : Predictors of fatal outcomes resulting from acute *Escherichia coli* mastitis in dairy cows, *J Vet Med Sci*, 78, 905-908 (2016)
- [67] Suojala L, Simojoki H, Mustonen K, Kaartinen L, Pyörälä S : Efficacy of enrofloxacin in the treatment of naturally occurring acute clinical *Escherichia coli* mastitis, *J Dairy Sci*, 93, 1960-1969 (2010)
- [68] Erskine RJ, Tyler JW, Riddell MG Jr, Wilson RC : Theory, use, and realities of efficacy and food safety of antimicrobial treatment of acute coliform mastitis, *J Am Vet Med Assoc*, 198, 980-984 (1991)
- [69] Su Y, Yu CY, Tsai Y, Wang SH, Lee C, Chu C : Fluoroquinolone-resistant and extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* from the milk of cows with clinical mastitis in Southern Taiwan, *J Microbiol Immunol*, 49, 892-901 (2016)