

## *Escherichia coli* および *Klebsiella pneumoniae* による 甚急性乳房炎牛の病態による原因菌の判別と予後評価

久枝啓一<sup>1)</sup>・今村智子<sup>1)</sup>・園部隆久<sup>2)</sup>・杉山美恵子<sup>3)</sup>・那須正信<sup>1)</sup>・永幡 肇<sup>4)</sup>

### Characteristics and prognosis of dairy cows with naturally occurring peracute *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* mastitis

Keiichi HISAEDA<sup>1)</sup>, Tomoko IMAMURA<sup>1)</sup>, Katahisa SONOBE<sup>2)</sup>, Mieko SUGIYAMA<sup>3)</sup>,  
Masanobu NASU<sup>1)</sup>, Hajime NAGAHATA<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> Ehime Prefectural Federation of Agricultural Mutual Aid Association Nanyo Core Veterinary Clinical Center,  
6-247, Age, Nomura-cho, Seiyoshi, Ehime, 797-1211, Japan

<sup>2)</sup> Touyo Veterinary Clinical Center, 379-1, Ohno, Saijyo-shi, 799-1312, Japan

<sup>3)</sup> Matuyama Veterinary Clinical Center, 457-1, Sigemitsu, Tobe-chou, Iyogun 791-2112, Japan

<sup>4)</sup> Animal Health, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University,  
582 Midori-chou, Bunkyou-dai, Ebetsu-shi, Hokkaido 069-8501, Japan)

(2012. 1. 10 受付 / 2012. 2. 18 受理)

#### Summary

This study was conducted to evaluate the characteristics and prognosis of dairy cows with naturally occurring peracute *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) mastitis on dairy farms. Clinical findings, concentrations of acute-phase proteins and cytokines in serum and milk from dairy cows with naturally occurring coliform mastitis were evaluated. The classification values for *K. pneumoniae* peracute mastitis of dairy cows were respiratory rates of 40 beats/min, blood urea nitrogen (BUN) 19 mg/dl, haptoglobin (Hp) in serum and milk of 2000 µg/ml and score >2. The values for total score 8, BUN17mg/dl, serum Hp2000 µg/ml and milk Hp1000 µg/ml and score for prognosis > 2 were considered to be fatal by *E. coli* peracute mastitis. The values for total score 8, BUN22mg/dl, serum Hp2030 µg/ml, and milk Hp2050 µg/ml and prognosis score >3 were considered to be fatal in *K. pneumoniae* mastitis. The evaluation of dairy cows with peracute coliform-mastitis by scoring selective measures employed may be valuable for estimating pathogen causing coliform mastitis and its prognosis.

Keywords : dairy cows, diagnostic values, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, mastitis, prognosis

家畜衛生学雑誌 37, 121～130 (2012)

#### 序 文

乳房炎による経済的損失は甚大である。その中でも大腸菌群による甚急性乳房炎の多くは、重篤な症状を示し斃死や廃用の転帰をとり、乳牛の経済的な価値を著しく損なわせる<sup>2, 4, 5)</sup>。

大腸菌群による甚急性乳房炎牛の原因菌種として *Escherichia coli* (以下 *E. coli*) および *Klebsiella pneumoniae* (以下 *K. pneumoniae*) がよく認められる。この2

<sup>1)</sup> NOSAI えひめ 南予基幹家畜診療所  
〒797-1211 愛媛県西予市野村町阿下6-247

<sup>2)</sup> NOSAI えひめ 東予家畜診療所  
〒799-1312 愛媛県西条市大野379-1

<sup>3)</sup> NOSAI えひめ 松山家畜診療所  
〒791-2112 愛媛県伊予郡砥部町重光457-1

<sup>4)</sup> 酪農学園大学 獣医学部獣医衛生学教室  
〒069-8501 北海道江別市文京台緑町582

つの菌種はセファム系の抗生物質による治癒率に違いがあり、*E. coli*による甚急性乳房炎牛の治癒率は*K. pneumoniae*によるそれより有意に ( $P < 0.05$ ) 高いことが報告されている<sup>3, 9)</sup>。*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎の臨床症状は*E. coli*を原因とするそれよりも重篤と考えられ、初診時に原因菌が*K. pneumoniae*であるか*E. coli*かを臨床所見から乳汁の細菌分離培養成績を待たずに迅速に判別可能となれば治療方針の決定や予後判断に有用と考えられる。

本研究は、*E. coli*および*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛における臨床所見、急性相蛋白およびサイトカイン濃度の比較から、原因菌による病態の特徴を明らかにし、初診時の臨床所見からの原因菌の判別の可能性を検討した。また、治癒牛と廃用牛の臨床所見および急性相蛋白の動態と予後との関連性を検討した。

## 材料および方法

### (1) 供試牛

#### 1) 調査1

*E. coli*および*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛群における初診時の臨床症状と血液ならびに血液生化学的所見、急性相蛋白およびサイトカインの動態と判別診断。

愛媛県東予地方の8酪農家で飼養されているホルスタイン種乳牛で*E. coli*による甚急性乳房炎牛11頭 (*E. coli*乳房炎牛群)、*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛16頭 (*K. pneumoniae*乳房炎牛群) および健康牛13頭 (健康牛群) を供試牛とした。*E. coli*乳房炎牛群と*K. pneumoniae*乳房炎牛群の乳房炎発症時の分娩後日数および健康牛群の分娩後日数は、7日以内が4頭、7頭および3頭、2～15週が4頭、7頭および5頭、16～35週が3頭、2頭および5頭であった。健康牛は、体温は正常で食欲があり、臨床的に異常が認められないものを供試した。健康牛の乳汁は細菌培養所見が陰性であり、分房乳のCMT変法所見が陰性、体細胞数は100,000/ml以下にあるものを供試した。

#### 2) 調査2

*E. coli*および*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛における治癒群と廃用群の初診時の臨床症状、血液検査値および急性相蛋白の動態と予後判定。

愛媛県南予地方の9酪農家で飼養されているホルスタイン種乳牛の*E. coli*による甚急性乳房炎牛15頭および*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛20頭を供試牛とした。*E. coli*による甚急性乳房炎牛15頭は、転帰により治癒牛群 (10頭) および廃用牛群 (5頭) に分類した。また、*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛20頭を、転

帰により治癒牛群 (12頭) および廃用牛群 (8頭) に分類した。*E. coli*による甚急性乳房炎発症時の治癒牛群および廃用牛群の分娩後日数は、7日以内が各々3頭および2頭、2～15週が3頭および2頭、16～35週が4頭および1頭であった。*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎発症時の治癒牛群および廃用牛群の分娩後日数は、7日以内が各々5頭および3頭、2～15週が5頭および3頭、16～35週が2頭および2頭であった。

### 3) *E. coli*および*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛の判断基準

甚急性乳房炎牛の判断基準は、発熱、呼吸数および心拍数の増加を示し、食欲廃絶、元気沈衰等の明らかな全身症状を認め、罹患乳房の腫大、硬結、疼痛等を示し、その乳汁から下記に記載する細菌学的検査で*E. coli*および*K. pneumoniae*が分離・同定されたものを陽性とした。

#### 4) 臨床学的ならびに血液生化学的検査

乳房炎牛は、初診時に体温、心拍数、呼吸数および臨床症状の観察を行った。ヘマトクリット (Ht) 値、白血球数および血小板数は自動血球計算機 (Celltac  $\alpha$ 、日本電光、東京)、また、血中カルシウム (Ca)、血液尿素窒素 (BUN)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) および $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT) は、オートアナライザー (AU400、ベックマン・コールター・バイオメディカル、東京) を用いて定法に準じて測定した。

#### 5) 乳汁の細菌学的検査

治療前に乳房炎分房から約10mlの乳汁を無菌的に採取し定法に従い細菌学的検査を行った。採取した乳汁を5%羊血液寒天培地 (BBL-Blood Agar、東京) とマッコンキー培地 (ニッスイ、東京) に塗布し37℃で18時間培養した。大腸菌群の同定は、EB同定キット (ニッスイ、東京) を用いて行った。

#### 6) 甚急性乳房炎牛の治療法

乳房炎牛の治療は、原因菌に対して抗生物質に感受性が確認されたセファゾリン (セファゾリン注フジタ、フジタ製薬、東京) 4～6g 静脈内投与またはカナマイシン (カナマイ注250、フジタ製薬、東京) 5gの筋肉内投与を行った。また、輸液として高張食塩液 (高張食塩注「KS」、共立製薬、東京) 2～3Lの静脈内投与を行った。さらに、局所療法としてセファゾリン乳房炎軟膏 (セファゾリンL「フジタ」、フジタ製薬、東京150mg力価) の乳房内注入 (1日1回) を行った。

### (2) 血清および乳汁の採取

乳房炎牛の血清は、初診時および第3病日、7病日お

よび14病日に採取し測定まで $-30^{\circ}\text{C}$ で保存した。罹患分房の乳汁は血清とともに採取し遠心分離後(2500xg、20分、 $4^{\circ}\text{C}$ )、乳清を分離し測定まで $-30^{\circ}\text{C}$ で保存した。健康牛の血清と乳清も同様に処理し測定に用いた。

### (3) 急性相蛋白の測定

血清および乳清ハプトグロビン(Hp)および $\alpha_1$ -酸性糖蛋白( $\alpha_1$ -AG)の測定を行った。血清および乳清Hp濃度は、ウシ・ハプトグロビンラテックス凝集反応(ウシ・ハプトグロビン簡易測定キット、Ecosystem、宮城)により測定し $\mu\text{g/ml}$ で示した。血清および乳清 $\alpha_1$ -AG濃度は、一元放射免疫拡散(SRID)法(ウシ $\alpha_1$ -AG定量用キット、Ecosystem、宮城)により測定し $\mu\text{g/ml}$ で示した。

### (4) サイトカインの測定

血清および乳清のインターロイキン(IL)- $1\beta$ 、IL-1ra、IL-6、インターフェロン(IFN)- $\gamma$ および腫瘍壊死因子(TNF)- $\alpha$ の濃度は、サンドイッチ酵素結合免疫吸着(ELISA)法<sup>6)</sup>により測定した。

### (5) 初診時の臨床スコア、乳房スコアおよび総スコア

臨床スコアは、初診時の全身症状として、①食欲廃絶、②眼球陥凹、③起立困難または起立不能、④下痢、⑤耳介反射低下ならびに⑥耳介および皮膚冷感の6項目について症状を有するものを「1」、症状を示さなかったものを「0」とし、それらの合計を臨床スコアとして示した。乳房スコアは、初診時の罹患乳房において、①乳房腫脹、②乳房硬結、③乳汁透明、④乳汁中凝固物および⑤乳汁の色調変化の5項目について症状を有するものを「1」、症状を示さなかったものを「0」とし、それらの合計を乳房スコアとして示した。臨床スコアは6項目の観察項目の合計を、また乳房スコアは5項目の観察項目をそれぞれ合計して評価した。臨床スコアと乳房スコアを加算して総スコアとして示した。

### (6) *E. coli*および*K. pneumoniae*による初診時の甚急性乳房炎牛群における原因菌の判別スコア

*E. coli*および*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛群間における初診時の臨床症状、血液一般検査値、血液生化学検査値、血清中および乳清中急性相蛋白濃度および血清中ならびに乳清中サイトカイン濃度に有意差を認められた項目についてReceiver operating characteristic(ROC)解析を用いてそれぞれ両群を判別する病態識別値で示し、病態識別値以上のものを「1」、未満のものを「0」とし、そのスコアの合計を判別スコアとしてROC解析

により甚急性乳房炎牛の原因菌が*E. coli*もしくは*K. pneumoniae*のいずれかを判定した。

### (7) *E. coli*および*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛の治癒群および廃用群における初診時の予後判定スコア

*E. coli*および*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛のそれぞれの治癒群および廃用群の初診時において、臨床症状、血液一般検査値、血液生化学検査値、血清中および乳清中急性相蛋白濃度に有意差を認めた項目でROC解析を行い、それぞれ両群を判別する病態識別値を算出し、病態識別値以上のものを「1」、未満のものを「0」とスコア化し、それらのスコアの合計をROC解析により*E. coli*および*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛のそれぞれの予後判定スコアを示した。

### (8) 統計解析

測定値は平均 $\pm$ 標準偏差で表した。各項目の比較はBonferroni's testによるone-way ANOVAを用いた。また、二群間の有意差検定は、Student's *t* testを用いた。*E. coli*および*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛群の呼吸数、BUN値、血清Hp濃度および乳清Hp濃度の病態識別値、治癒群と廃用群における総スコア、BUN値、血清Hp濃度および乳清Hp濃度の病態識別値はROC解析を用いて示した。これらの検定で $P < 0.05$ を有意とした。

## 成 績

### (1) 調査1

*E. coli*および*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛群における初診時の臨床症状と血液ならびに血液生化学的所見、急性相蛋白およびサイトカインの動態と判別診断。

*E. coli*乳房炎牛群および*K. pneumoniae*乳房炎牛群間の初診時における各臨床所見の出現率には有意差は認められなかった。初診時の両群における臨床スコアと血液検査値において、*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛群の呼吸数およびBUN値は*E. coli*のそれらと比較して有意に(呼吸数: $P < 0.001$ 、BUN値: $P < 0.05$ )高値を示した(表1)。両群間の血清および乳清中サイトカイン濃度には有意差は認められなかった(表2)。血清および乳清中の急性相蛋白濃度においては、*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛群の血清および乳清中Hp濃度は*E. coli*のそれらと比較して有意に( $P < 0.05$ )高値を示した(表3)。

原因菌である*E. coli*および*K. pneumoniae*を判別する

表1. *E. coli*および*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛の初診時の臨床所見と血液検査値の比較

検査項目	単位	<i>E. coli</i> 乳房炎牛群 (11)	<i>K. pneumoniae</i> 乳房炎牛群 (16)
臨床スコア		4.55±0.93	4.50±1.06
乳房スコア		3.91±0.83	4.38±0.70
総スコア		8.45±1.44	8.88±1.65
体温	℃	40.2±0.7	40.8±0.9
心拍数	回/分	106.7±17.4	112.4±20.5
呼吸数	回/分	30.1±7.0	50.6±11.0
ヘマトクリット値	%	33.8±3.5	33.5±5.0
白血球数	/μL	2858.2±1646.8	2452.0±2145.5
血小板数	×104/μL	27.0±6.0	26.3±8.8
血中カルシウム	mg/dL	8.0±1.1	8.1±1.1
BUN	IU/L	16.2±3.9	21.8±7.6
AST	IU/L	87.1±65.9	112.9±79.0
GGT	IU/L	24.3±12.9	24.1±10.9
T-bil	mg/dL	0.4±0.3	0.5±0.5
Glu	mg/dL	50.8±11.5	54.7±10.3

( ): 頭数

BUN: 血液尿素態窒素

AST: アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ

GGT: γ-グルタミルトランスペプチターゼ

T-bil: 総ビリルビン

平均±S.D.

両群間の有意差 \*\*\*:  $P < 0.001$  \*:  $P < 0.05$ 表2. *E. coli*および*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛の初診時の血清中および乳清中炎症性サイトカインの比較

サイトカイン (単位)	<i>E. coli</i> 乳房炎牛群 (11)	<i>K. pneumoniae</i> 乳房炎牛群 (16)	健康牛群 (13)
血清中 (ng/mL)			
TNF-α	8.1±2.5	5.9±2.9	18.3±4.4
IL-1β	654.9±248.8 <sup>a</sup>	244.0±68.8 <sup>b</sup>	21.1±7.8 <sup>a,b</sup>
IL-6	35.0±10.1 <sup>a</sup>	28.6±5.1 <sup>b</sup>	16.8±6.3 <sup>a,b</sup>
IFN-γ	65.6±28.3 <sup>a</sup>	37.4±11.6 <sup>b</sup>	0.3±0.1 <sup>a,b</sup>
乳清中 (ng/mL)			
TNF-α	126.7±116.8 <sup>a</sup>	215.3±116.8 <sup>b</sup>	3.7±1.0 <sup>a,b</sup>
IL-1β	607.5±132.2 <sup>a</sup>	414.9±167.5 <sup>b</sup>	21.5±6.6 <sup>a,b</sup>
IL-6	56.5±43.2 <sup>a</sup>	85.4±26.2 <sup>b</sup>	5.8±0.9 <sup>a,b</sup>
IFN-γ	30.1±5.4 <sup>a</sup>	22.5±7.2 <sup>b</sup>	0.3±0.1 <sup>a,b</sup>

( ): 頭数

平均±SE

各検査項目における各群間において同符号間で有意差あり a, b:  $P < 0.05$

表3. *E. coli* および *K. pneumoniae* による甚急性乳房炎牛における初診時の血清中および乳清中急性相蛋白濃度の比較

急性相蛋白 (単位)	<i>E. coli</i> 乳房炎牛群 (11)	<i>K. pneumoniae</i> 乳房炎牛群 (16)	健康牛群 (13)
血清中 ( $\mu\text{g/mL}$ )			
ハプトグロビン	646.0 $\pm$ 155.3 <sup>a</sup>	1230.0 $\pm$ 210.8 <sup>a</sup>	6.9 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>
$\alpha_1$ -AG	547.0 $\pm$ 60.3 <sup>a</sup>	604.7 $\pm$ 59.9 <sup>b</sup>	256.9 $\pm$ 10.7 <sup>a,b</sup>
乳清中 ( $\mu\text{g/mL}$ )			
ハプトグロビン	1066.6 $\pm$ 217.9 <sup>a</sup>	1766.6 $\pm$ 140.7 <sup>a</sup>	7.1 $\pm$ 1.0 <sup>a</sup>
$\alpha_1$ -AG	210.8 $\pm$ 72.7 <sup>a</sup>	154.2 $\pm$ 32.9 <sup>b</sup>	18.4 $\pm$ 0.7 <sup>a,b</sup>

( ): 頭数

平均  $\pm$  SE各検査項目における各群間において同符号間で有意差あり a, b:  $P < 0.05$ 

ために、呼吸数、BUN 値、血清中 Hp 濃度および乳清中 Hp 濃度を指標とした 4 項目の病態識別値は、呼吸数 40 回/分 (感度 100%、特異度 73.3%、AZ 値 = 0.889、 $P = 0.0002$ )、BUN 値 19 mg/dl (感度 80%、特異度 66.6%、AZ 値 = 0.704、 $P = 0.002$ )、血清中 Hp 濃度 2000  $\mu\text{g/ml}$  (感度 90.9%、特異度 62.5%、AZ 値 = 0.828、 $P = 0.008$ ) および乳清中 Hp 濃度 2000  $\mu\text{g/ml}$  (感度 92.8%、特異度 76.9%、AZ 値 = 0.986、 $P = 0.0003$ ) であった。これらの 4 項目の病態識別値の合計スコアより *K. pneumoniae* による甚急性乳房炎牛の合計スコア (2.49  $\pm$  0.90) は *E. coli* のそれ (0.45  $\pm$  0.66) と比較して有意に ( $P < 0.01$ ) 高値であった。また、両群の判別スコアは、ROC 解析で 2 と算定された (感度 93.7%、特異度 90.9%、AZ 値 = 0.962、 $P = 0.0003$ )。

## (2) 調査 2

*E. coli* および *K. pneumoniae* による甚急性乳房炎牛における治癒群と廃用群の初診時の臨床症状、血液検査値および急性相蛋白の動態と予後判定。

*E. coli* による甚急性乳房炎牛における治癒牛群と廃用牛群の初診時の臨床症状の比較を表 4 に示した。廃用牛群の臨床症状において食欲廃絶、下痢、耳介反射低下、耳介および皮温冷感、眼球陥凹、起立不能および起立困難、乳汁中凝固物および乳汁の色調変化の 9 項目で治癒牛群のそれらより症状の出現は有意に ( $P < 0.05$ ) 高かった。廃用牛群の臨床スコア、乳房スコア、総スコア、心拍数、Ht 値および BUN 値は治癒牛群のそれらより有意に (臨床スコア、乳房スコアおよび心拍数および Ht 値:  $P < 0.05$ 、総スコアおよび BUN 値:  $P < 0.01$ ) 高値であった (表 5)。また、廃用牛群の白血球数、血小板数および Ca 値は治癒牛群のそれらより有意に ( $P < 0.05$ ) 低値であった (表 5)。初診時の *E. coli* による甚急性乳房炎牛における廃用牛群の血清中および乳清中 Hp 濃度 (2230.0  $\pm$  292.6  $\mu\text{g/mL}$ 、1160.0  $\pm$  86.0  $\mu\text{g/mL}$ ) は治癒牛

群のそれら (466.0  $\pm$  203.6  $\mu\text{g/mL}$ 、229.1  $\pm$  175.1  $\mu\text{g/mL}$ ) と比較して有意に ( $P < 0.01$ ) 高値であった。また、初診時の *E. coli* による甚急性乳房炎牛における治癒牛群および廃用牛群の臨床所見および血液生化学検査値と血清中および乳清中急性相蛋白濃度との関係では、総スコアと血清中 Hp 濃度 (治癒牛群:  $r = 0.755$ 、 $P < 0.05$ 、廃用牛群:  $r = 0.836$ 、 $P < 0.05$ ) および乳清中 Hp 濃度 (治癒牛群:  $r = 0.847$ 、 $P < 0.05$ 、廃用牛群:  $r = 0.836$ 、 $P < 0.05$ ) との間にそれぞれ相関を認めた。

*E. coli* による甚急性乳房炎牛における治癒牛群および廃用牛群間で有意差 ( $P < 0.01$ ) が認められた総スコア、BUN 値、血清中 Hp 濃度および乳清中 Hp 濃度について ROC 解析を用いて予後を判別する病態識別値を算定した。病態識別値は、総スコア 8 (感度 85.7%、特異度 98.2%、AZ 値 = 0.897、 $P = 0.0009$ )、BUN 値 17 mg/dl (感度 71.4%、特異度 100%、AZ 値 = 0.716、 $P = 0.007$ )、血清中 Hp 濃度 2000  $\mu\text{g/ml}$  (感度 98.0%、特異度 90.9%、AZ 値 = 0.976、 $P = 0.0014$ ) および乳清中 Hp 濃度 1000  $\mu\text{g/ml}$  (感度 98.3%、特異度 90.9%、AZ 値 = 0.959、 $P = 0.0014$ ) であった。*E. coli* による甚急性乳房炎牛の廃用牛群における 4 項目の病態識別値の合計スコア (3.80  $\pm$  0.40) は治癒牛群のそれ (0.20  $\pm$  0.40) と比較して有意に ( $P < 0.01$ ) 高値を示し、予後を判別する予後判定スコアは、ROC 解析により 2 と算定された (感度 98.8%、特異度 90.9%、AZ 値 = 0.949、 $P = 0.0014$ )。

初診時の *K. pneumoniae* による甚急性乳房炎牛における治癒牛群と廃用牛群の臨床症状の比較を表 6 に示した。廃用牛群の症状で食欲廃絶、耳介反射低下、耳介および皮温冷感、起立不能および起立困難、乳汁中凝固物および乳汁の色調変化の 6 項目で治癒牛群のそれらより症状の発現は有意に ( $P < 0.05$ ) 高かった。初診時の *K. pneumoniae* による甚急性乳房炎牛における治癒牛群と廃用牛群の臨床所見と血液生化学検査値との比較では、廃用牛群の臨床スコア、乳房スコア、総スコア、呼吸数、

表4. *E. coli*による甚急性乳房炎牛における初診時の治癒群と廃用群の臨床症状の比較

臨床所見	治癒牛群 (10)	廃用群 (5)	感度	特異度	<i>p</i> 値
食欲廃絶	20 (2)	100 (5)	0.71	1	0.007
下痢	30 (3)	100 (5)	0.63	1	0.026
耳介反射低下	30 (3)	100 (5)	0.63	1	0.026
耳介および皮温冷感	40 (4)	100 (5)	0.56	1	0.044
眼球陥凹	40 (4)	100 (5)	0.56	1	0.044
起立不能および起立困難	10 (1)	80 (4)	0.8	0.9	0.017
乳房腫脹	100 (10)	100 (5)	0.33	none	1
乳房硬結	100 (10)	100 (5)	0.33	none	1
乳汁透明	60 (6)	100 (5)	0.45	1	0.231
乳汁中凝固物	40 (4)	100 (5)	0.56	1	0.044
乳汁の色調変化	40 (4)	100 (5)	0.56	1	0.044

( ): 頭数

% (頭数)

表5. *E. coli*による甚急性乳房炎牛における初診時の治癒群と廃用群の臨床所見と血液検査の比較

検査項目	単位	治癒牛群 (10)	廃用群 (5)	
臨床スコア		1.70±1.19	5.80±0.40	*
乳房スコア		3.40±1.02	4.80±0.40	*
総スコア		5.10±2.07	9.60±1.02	**
体温	℃	40.2±0.6	40.0±0.1	
心拍数	回/分	103.8±14.5	122.4±8.5	*
呼吸数	回/分	28.0±3.6	33.6±8.5	
ヘマトクリット値	%	33.7±3.5	38.0±1.4	*
白血球数	/μL	1684.0±205.7	1360.0±313.7	*
血小板数	×104/μL	27.6±5.8	22.4±1.6	*
血中カルシウム	mg/dL	8.7±0.6	7.8±0.4	*
BUN	IU/L	14.4±3.1	21.6±6.9	**
AST	IU/L	90.9±64.8	81.6±19.9	
GGT	IU/L	22.6±11.6	33.6±6.6	

( ): 頭数

平均±S.D.

両群間の有意差 \*\* :  $P < 0.01$  \* :  $P < 0.05$ 

Ht値およびBUN値で治癒牛群のそれらより有意に(臨床スコア、乳房スコアおよび総スコア:  $P < 0.01$ 、呼吸数とHt値:  $P < 0.05$ およびBUN値:  $P < 0.01$ )高値であった(表7)。また、廃用牛群の白血球数および血中Ca値は治癒牛群のそれらより有意に( $P < 0.05$ )低値であった(表7)。初診時の*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛における廃用牛群の血清中および乳清中Hp濃度( $3012.5 \pm 422.6 \mu\text{g/mL}$ 、 $2962.5 \pm 254.6 \mu\text{g/mL}$ )が治癒牛群のそれら( $1056.9 \pm 687.7 \mu\text{g/mL}$ 、 $1296.9 \pm 556.2 \mu\text{g/mL}$ )と比較して有意に( $P < 0.01$ )高値であった。また、初診時の*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎

牛における治癒牛群および廃用牛群の臨床所見および血液生化学検査値と血清中および乳清中急性相蛋白濃度との関係では、総スコアと血清中Hp濃度(治癒牛群:  $r = 0.766$ 、 $P < 0.05$ 、廃用牛群:  $r = 0.774$ 、 $P < 0.05$ )および乳清中Hp濃度(治癒牛群:  $r = 0.638$ 、 $P < 0.05$ 、廃用牛群:  $r = 0.801$ 、 $P < 0.05$ )との間にそれぞれ有意な相関を認めた。

*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛における治癒牛群および廃用牛群において両群間で有意差( $P < 0.01$ )が認められた総スコア、BUN値、血清中Hp濃度および乳清中Hp濃度についてROC解析を用いて予後を判別す

表6. *K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛における初診時の治癒群と廃用群の臨床症状の比較

臨床所見	治癒牛群 (12)	廃用群 (8)	感度	特異度	p値
食欲廃絶	41.7 (5)	100 (8)	0.54	1	0.037
下痢	50 (6)	100 (8)	0.5	1	0.053
耳介反射低下	41.7 (5)	100 (8)	0.54	1	0.037
耳介および皮温冷感	41.7 (5)	100 (8)	0.54	1	0.037
眼球陥凹	41.7 (5)	100 (8)	0.56	0.88	0.131
起立不能および起立困難	8 (1)	62.5 (5)	0.83	0.92	0.004
乳房腫脹	100 (10)	100 (8)	0.33	none	1
乳房硬結	100 (10)	100 (8)	0.33	none	1
乳汁透明	58.3 (7)	100 (8)	0.46	1	0.114
乳汁中凝固物	25 (3)	100 (8)	0.66	1	0.009
乳汁の色調変化	41.7 (5)	100 (8)	0.54	1	0.037

( ): 頭数  
% (頭数)

表7. *K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛における初診時の治癒群と廃用群の臨床所見と血液検査の比較

検査項目	単位	治癒牛群 (12)	廃用群 (8)	
臨床スコア		2.08 ± 2.20	5.63 ± 0.48	**
乳房スコア		3.31 ± 0.61	4.88 ± 0.33	**
総スコア		5.38 ± 2.17	10.38 ± 0.48	**
体温	℃	40.7 ± 0.9	40.6 ± 0.6	
心拍数	回/分	108.2 ± 19.8	119.3 ± 12.8	
呼吸数	回/分	45.2 ± 14.4	61.3 ± 10.9	*
ヘマトクリット値	%	32.9 ± 4.6	37.8 ± 2.5	*
白血球数	/μL	1745.8 ± 969.4	1621.7 ± 366.9	*
血小板数	× 10 <sup>4</sup> /μ	27.5 ± 6.8	23.7 ± 14.6	
血中カルシウム	mg/dL	8.1 ± 0.6	7.1 ± 0.5	*
BUN	mg/dl	20.2 ± 6.5	28.8 ± 6.2	**
AST	IU/L	94.5 ± 34.2	169.3 ± 115.3	
GGT	IU/L	26.7 ± 10.4	19.2 ± 4.9	

( ): 頭数  
平均 ± S.D.  
両群間の有意差 \*\* :  $P < 0.01$  \* :  $P < 0.05$

る病態識別値を決定した。病態識別値は、総スコア 8 (感度 87.5%、特異度 92.8%、AZ 値 = 0.931、 $P = 0.0004$ )、BUN 値 22 mg/dl (感度 70.0%、特異度 90.0%、AZ 値 = 0.851、 $P = 0.0190$ )、血清中 Hp 濃度 2030 μg/ml (感度 87.5%、特異度 92.8%、AZ 値 = 0.945、 $P = 0.0004$ ) および乳清中 Hp 濃度 2050 μg/ml (感度 80.0%、特異度 98.2%、AZ 値 = 0.906、 $P = 0.001$ ) が算定された。*K. pneumoniae* による甚急性乳房炎牛の廃用牛群における 4 項目の病態識別値の合計スコア ( $3.88 \pm 0.33$ ) は治癒牛群によるそれ ( $0.38 \pm 0.62$ ) と比較して有意に ( $P < 0.01$ ) 高値を示し、両群を判別する予後判定スコアは、

ROC 解析により 3 と算定された (感度 92.8%、特異度 98.8%、AZ 値 = 0.988、 $P = 0.0001$ )。

## 考 察

*E. coli* および *K. pneumoniae* 乳房炎牛群間において初診時の臨床症状と血清中および乳清中サイトカイン濃度との間には有意差は認められなかったが、*K. pneumoniae* 乳房炎牛群の呼吸数、BUN 値および血清中および乳清中 Hp 濃度は *E. coli* 乳房炎牛群のそれらと比較して有意な高値が認められた。呼吸数の増加は、ヒトにおいては感染などによる敗血症ショックにより交感神経が緊張

状態に起因することや、局所循環血液量低下および酸素拡散能低下による末梢組織細胞の嫌気性代謝が亢進し、血液中の $H^+$ とラクテート産生が亢進し、代謝性アシドーシスを呼吸性アルカローシスで代償するために起こる全身性炎症反応の症状の一つとされている<sup>11)</sup>。外傷、発熱および重症感染症等での体組織に急激な異化作用の亢進が起こる場合に体内でアンモニア生成が促進され、尿素合成量が増加するためBUN値が上昇するとされている<sup>11)</sup>。また、ヒトの敗血症ショックによる予後不良のSIRS患者において血中IL-6およびIL-10濃度の増加とともにBUN値が増加することが知られている<sup>12)</sup>。さらに、実験的にエンドトキシンや*E. coli*を乳房内に注入した甚急性乳房炎牛では、全身性炎症による影響により、BUN値が増加することが報告されている<sup>7, 15)</sup>。Hpは、LPSの刺激により分泌された炎症性サイトカインにより誘導され<sup>8)</sup>、自然感染の大腸菌群による乳房炎では劇的に増加することが報告されている<sup>12)</sup>。本研究において、*K. pneumoniae*乳房炎牛群において*E. coli*乳房炎群よりも呼吸数、BUN値および血清中および乳清中Hp濃度が有意に高かったことは、*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎の全身炎症症状が*E. coli*によるそれよりも重篤であることが示唆され、以前の報告<sup>3, 9)</sup>で示された*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎の治癒率が*E. coli*によるそれよりも低いことに関連しているものと考えられた。

ヒトの肺炎の診療では、診療時に病原体を特定し、治療を行うことが短時間では困難であるため、医師の経験や病態から原因菌を推定し、適正と思われる治療法を選択するempiric therapyが行われており、種々の分類法が存在する<sup>1, 10, 18)</sup>。*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎は、*E. coli*と比較して症状が重篤化し、感受性のある抗生剤による治療効果が低く治癒率が低い<sup>3, 9)</sup>、その初診時において迅速に原因菌種を推定し、それによる適正な診療方針の策定および治療法の選択が求められる。

本研究では、*E. coli*および*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛群において初診時の両群間に有意差が認められた呼吸数、BUN値、血清Hp濃度および乳清Hp濃度の4項目についてそれぞれの病態識別値を示し、それらの総和の合計スコアを判別スコアとして表し、原因菌が*K. pneumoniae*であることを推定する診断基準を検討した。その診断基準として、大腸菌群による甚急性乳房炎牛の初診時において、①呼吸数が40回/分以上、②BUN値が19 mg/dL以上、③血清中Hp濃度が2000 $\mu$ g/ml以上、④乳清中Hp濃度が2000 $\mu$ g/ml以上、の4項目のうち2項目以上(判別スコア2以上)を満たすものの原因菌種は*K. pneumoniae*である可能性が高いことが示され、迅速な診療方針の策定に活用可能なもの

と考えられた。

Wenzら<sup>17)</sup>は、大腸菌群の急性乳房炎における初診時の臨床症状において、体温、脱水の程度、第一胃の一分あたりの収縮運動の回数および沈鬱の程度をそれぞれスコア化し、その総和で症状の重篤度を示すことを報告している。また、その全身症状のスコアに加えて罹患乳房の硬結、腫脹、疼痛、乳汁中凝固物等をスコア化し、それぞれのスコアを4つの方法により集計し、菌血症および治癒との状況を比較評価している<sup>16)</sup>。しかし、この評価は各菌種における予後判定ではなく、またそのスコア集計の評価方法の感度および特異度も満足のいくものではない。本研究では、*E. coli*および*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛のそれぞれの治癒群および廃用群における初診時の臨床所見、血液一般検査、血液生化学検査値および血清中および乳清中急性相蛋白濃度を測定し、予後の指標となる項目の選定とそのスコア化による判定を行った。

本研究での*E. coli*による甚急性乳房炎牛の廃用群においては、総スコア、BUN値、血清中Hp濃度および乳清中Hp濃度は治癒群のそれらと比較して有意差( $P < 0.01$ )を認めた。これらの4項目を予後判定の項目としてROC解析を用いて病態識別値を算出し、それぞれをスコア化し、その総和の合計スコアを予後判定スコアとして示した。その予後判定の診断基準として、*E. coli*による甚急性乳房炎牛の初診時において、①総スコアが8以上、②BUN値が17 mg/dL以上、③血清中Hp濃度が2000 $\mu$ g/ml以上、④乳清中Hp濃度が1000 $\mu$ g/ml以上、の4項目のうち2項目以上(予後判定スコア2以上)を示すことにより予後不良である可能性が高いことがROC解析により示され(感度98.8%、特異度90.9%、AZ値=0.949、 $P = 0.0014$ )、初診時において診療方針の策定および治療方法の選択に活用可能と考えられた。

本研究で*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛の廃用群において、総スコア、BUN値、血清中Hp濃度および乳清中Hp濃度が治癒群のそれらと比較して有意差( $P < 0.01$ )を認めた。これらの4項目を予後判定の項目としてROC解析で病態識別値を算出し、それぞれをスコア化し、その総和の合計スコアを予後判定スコアとして示した。その予後判定の診断基準として、*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎の初診時において、①総スコアが8以上、②BUN値が22 mg/dL以上、③血清中Hp濃度が2030 $\mu$ g/ml以上、④乳清中Hp濃度が2050 $\mu$ g/ml以上、の4項目のうち3項目以上(予後判定スコア3以上)が該当する場合に予後不良となる可能性が高いことが示され(感度92.8%、特異度98.8%、AZ値=0.989、 $p = 0.0001$ )、初診時において診療方針の策



定および治療方法の選択に有用と考えられた。

以上のことから、本研究において *E. coli* および *K. pneumoniae* による甚急性乳房炎牛の初診時においてスコアリングを行うことにより原因菌の判別や予後判定を行うことができ、治療方針の策定や治療法の選択に有用と考えられた。

## 引用文献

- 1) BIERNAWSKA, J., ZUKOWSKI, M., ZEGAN-BBRANSKA, M. and ZUKOWSKA, A. (2009) Cefepim in empiric therapy of ventilator-associated pneumonia. *Anaesthesiology Intensive Therapy*, 4, 201-204.
- 2) BURVENICH, C., VAN MERRIS, V., MEHRZAD, J., DIEZ-FRRAILE, A. and DUCHATEAU, L. (2003) Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factor. *Vet. Res.*, 34, 521-564.
- 3) ERKINE, R.J., BARTLETT, P.C., VANLENTE, J. L. and PHIPPS, C. R. (2002) Efficacy of systemic ceftiofur as a therapy for severe clinical mastitis in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 85, 2571-2575.
- 4) 布施勝利, 函城悦司, 菊池直哉, 中野良宣, 中岡祐司, 村上晋一 (1993) 乳牛の甚急性乳房炎から分離された大腸菌の性状. *日本獣医師会雑誌*. 46, 917 - 919.
- 5) 函城悦司, 蓬来英造, 入谷普市, 柏崎守, 久米常夫 (1980) 乳牛の壊疽性乳房炎に関する研究. *日本獣医師会雑誌*. 33, 485 - 489.
- 6) HAGIWARA, K., KATAOKA, S., YAMANAKA, H., KIRISAWA, R. and IWAI, H. (2000) Detection of cytokines in bovine colostrums. *Vet. Immuno. Immunopathol.*, 76, 183-190.
- 7) ISMAIL, Z. A. and DICKINSON, C. (2010) Alterations in coagulation parameters in dairy cows affected with acute mastitis caused by *E. coli* and *S. aureus* pathogens. *Vet. Res. Commun.*, 34, 533-539.
- 8) JIANG, L., SORENSEN, P., RONTVED, C., VALS, L. and INGVARSEN, K. L. (2008) Gene expression profiling of liver from dairy cows treated intra-mammary with lipopolysaccharide. *BMC Genomics.*, 9, 443-455.
- 9) 神野雅子, 今村智子, 杉山美恵子, 豊田洋治 (2010) *Klebsiella pneumoniae* による牛甚急性乳房炎に対する抗生剤の使用法の検討. *家畜診療*. 57, 259 - 263.
- 10) MARTINEZ, J. A., COBOS-TRIGUEROS, N., SORIANO, A., ALMELA, M., ORTEGA, M., MARCO, F., PITART, C., STERZIK, H., LOPEZ, J. and MENSA, J. (2010) Influence of empiric therapy with a  $\beta$ -lactam alone or combined with an aminoglycoside on prognosis of bacteremia due to gram-negative microorganisms. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 54, 3590-3596.
- 11) 小川道雄 (2001) SIRSとCARS. *医学のあゆみ*. 196, 3 - 7.
- 12) PYÄRÄLÄ, S. (2003) Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Vet. Res.*, 34, 565-578.
- 13) RODRIGUEZ, G. M., SANTOLARIA, F., JARQUE, L. A., GONZALEZ, R. E., MILENA, A., VEGA, M. J., RODRIGU, R. E. and GOMEZ, S. J. (2001) Prognostic value of cytokine in SIRS general medical patients. *Cytokine*, 15, 232-236.
- 14) 友田勇 (1989) 腎疾患の検査：臨床血液化学検査Ⅱ. 学窓社. 東京. pp35 - 69.
- 15) VANGROENWEGHE, F., DUCHATEAU, L., BOUTET, P., LEKEUX, P., RAINARD, P., PAAPE, M. J. and BURVENICH, C. (2005) Effect of carprofen treatment following experimentally induced *Escherichia coli* mastitis in primiparous cows. *J. Dairy Sci.*, 88, 2361-2376.
- 16) WENZ, R. J., BARRINGTON, M. G., GARRY, B. F., DINSMORE, R. P. and CALLAN, J. R. (2001) Use of systemic disease signs to assess disease severity in dairy cows with acute coliform mastitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 218, 567-566.
- 17) WENZ, R. J., BARRINGTON, M. G., GARRY, B. F., MCSWEENEY, D. K., DINSMORE, R. P. and GOODELL, G. (2001) Bacteremia associated with naturally occurring acute coliform mastitis in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 219, 976-981.
- 18) ZHANG, L., LOVATEL, R., NICOLETE, D., SINZKEL, E., MATIELLO, J., STASZKO, K. and LINCHO, C. (2007) Empiric Antibiotic therapy in children with community-acquired pneumonia. *Indian Pediatrics*, 45, 554-558.

## 要 旨

〈*Escherichia coli* および *Klebsiella pneumoniae* による甚急性乳房炎牛の病態による原因菌の判別と予後評価〉

*E. coli* および *K. pneumoniae* による甚急性乳房炎牛における初診時の臨床所見、急性相蛋白濃度およびサイトカイン濃度からの原因菌の判別および治療牛と廃用牛における初診時の臨床所見および急性相蛋白と予後との関連を検討した。原因菌病態識別値は、呼吸数40回/分、BUN値19 mg/dL、血清および乳清中Hp濃度2000 $\mu$ g/mlであり判別スコアは2以上で *K. pneumoniae* と示された。*E. coli* の予後判別病態識別値は、総スコア8、BUN

値17 mg/dL、血清中Hp濃度2000 $\mu$ g/mlおよび乳清中Hp濃度1000 $\mu$ g/mlであり、予後判定スコア2以上、また、*K. pneumoniae*の予後判別病態識別値は、総スコア8、BUN値22 mg/dL、血清中Hp濃度2030 $\mu$ g/mlおよび乳清中Hp濃度2050 $\mu$ g/mlであり、予後判定スコア3以上で予後不良と示された。*E. coli*および*K. pneumoni-*

*ae*による甚急性乳房炎の初診時のスコアリングにより原因菌の判別や予後判定が可能であり、治療方針の策定や治療法の選択に有用と考えられた。

キーワード：乳牛、臨床スコア、*Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae*、乳房炎、予後判定