

ホルスタイン種雌育成牛群に集団発生した 乾草による硝酸塩中毒例

高橋清志¹⁾・松崎和俊¹⁾・其田三夫¹⁾・黒沢 隆¹⁾
中出哲也²⁾・千早 豊³⁾・安宅一夫⁴⁾・榎崎 昇⁴⁾

A Mass Outbreak of Nitrate Poisoning from Hay in Holstein-Friesian Heifers

Kiyoshi TAKAHASHI¹⁾, Kazutoshi MATSUZAKI¹⁾, Mitsuo SONODA¹⁾
Takashi KUROSAWA¹⁾, Tetsuya NAKADE²⁾, Yutaka CHIHAYA³⁾
Kazuo ATAKU⁴⁾ and Noboru NARASAKI⁴⁾

(May, 1986)

本邦における硝酸塩中毒の発生報告をみると、青刈りトウモロコシ^{3,6)}、カブ葉^{6,7)}、アオビユ^{6,8)}などが原因とされている。しかしながら、乾草による発症例は、野本ら⁹⁾の記載のほかには見当たらない。

一方、オーストラリアの Carrigan ら¹⁾は、乾物中に 3.1% 以上の硝酸塩を含む sudax 乾草をショートホーン牛に給与したところ、157 頭のうちの 73 頭が急死、8 頭が流産した事例を報告している。また、英国において Jones ら⁴⁾は、乾物中に 2.20 および 3.40% 含む半乾燥の牧草ならびに大麦わらの給与により、69 頭の若牛のうちの 9 頭が死亡し、そのうち 5 頭は急死例であったことを報告している。

今回、著者らは、ホルスタイン種雌育成牛群 18 頭中 16 頭の急死例に遭遇した。これらの死亡牛の剖検、血液および給与粗飼料について硝酸塩の分析を行い、また原因として疑われた乾草を 2 頭のホルスタイン種雌成牛に給与し、発症試験を行ったところ、乾草による硝酸塩中毒と診断されたので、その概要を報告する。

1) 獣医学科家畜内科学教室

Department of Veterinary Medicine (Veterinary Internal Medicine), Rakuno Gakuen University, Ebetsu, Hokkaido 069, Japan

2) 獣医学科附属家畜病院

Veterinary Medical Teaching Hospital

3) 獣医学科家畜病理学教室

Department of Veterinary Medicine (Veterinary Pathology)

4) 酪農学科家畜栄養学研究室

Department of Dairy Science (Animal Nutrition)

供試材料と観察要領

1. 自然発症牛と観察方法

発症牛は、苫小牧市植苗町の約 260 頭を飼育する一牛舎に群飼されていた 18~23 カ月齢のホルスタイン種雌育成牛 18 頭で、これらのうち 16 頭が飼料給与後 7 時間以内に急死した。推定死亡時間から 15 時間後に、16 頭中の 10 頭が剖検に付された。剖検時、第一胃液、第四胃液、尿および眼房水の亜硝酸塩を、N-マルチスティックス SG (Ames) を用いて定性した。また、心臓および大血管内の血液について、メトヘモグロビン (以下、MHb と略記) の検出と血中亜硝酸態窒素 (以下、血中 $\text{NO}_2\text{-N}$ と略記) を定量した。その際、生存した 2 頭から得られた血液および尿材料についても、同じ項目の検査を同時に実施した。飼料の給与状況、飼料作物の施肥法および乾草調製法について、管理者より聞き取り調査を行った。また給与乾草の生育地から採取された生草について、硝酸塩を測定した。本牛群に給与されていた粗飼料中の乾草は、各貯蔵箇所から 4 検体宛採取し、またグラスサイレージはバンカーサイロの 2 カ所から採取した後、硝酸態窒素 (以下、 $\text{NO}_3\text{-N}$ と略記) 含有量を測定した。

2. 実験的発症試験牛と観察方法

2 頭のホルスタイン種雌牛 (No. 1: 雌, 6 歳, No. 2: 雌, 4 歳) を用い、延べ 4 回、原因と考えられた乾草を自由採食させ発症試験を行った。Table 1 に示したように、供試牛は試験前に 20~48 時間絶食させた後、乾草のみを給与したところ、約 2.0 から 2.5 時間にとり、6.5~9.5 kg, 1 頭平均 7.53 kg を採食した。乾草給与開始後から、2 時間間隔で、最も長い例では、22 時間後までの臨床症状、血液および尿所見を観察した。

Table 1. Results of experimental nitrate poisoning

Experiment No.	Cow No.	Hours of fasting	Intake of hay (kg)	$\text{NO}_3\text{-N}$ in hay (%)	Hours of intake	Severity of the disease
1	1	24	6.6	0.77	2.5	Severe
2	1	48	7.0	0.77	2.0	Mild
3	2	20	7.0	0.77	2.0	Mild
4	2	48	9.5	1.31	2.5	Death

3. 検査方法

検査方法は、Table 2 に示した通りである。

Table 2. Items of examination and analytical method

Samples	Analytical methods
Blood:	
Methemoglobin (MHb)	Evelyn & Mallow
Plasma Nitrite (NO ₂ -N)	Diven et al
Blood Urine Nitrogen (BUN)	urease indophenol
Blood glucose	ferricyanide ferric iron
Pressure of blood oxygen	Bloodgas analyzer (Corning Co. Ltd.)
Urine and other body fluids:	
Nitrate	diphenilamine
Nitrite	N-multistix SG (Ames)
Feed Stuff:	
Nitrate	diphenilamine

成 績

1. 自然発症牛の所見

1) 事故発生の概要

1985年8月29日午後2時頃、ホルスタイン種育成牛群18頭に、1頭当たり、日量グラスサイレージ4~6kg、乾草8~9kgおよび配合飼料2kgが給与された。同日午後9時頃の牛舎巡回時に、18頭中の16頭が苦悶の形跡なく、座臥もしくは横臥姿勢で死亡しているのが発見された (Fig. 1)。事故当日には、従来と変わった飼料として、新しい乾草が給与



Fig. 1. 死亡牛の全貌

されていた。また、事故の前日には乾草は全く給与されていなかった。

2) 剖検所見

剖検所見では、急性酸素欠乏症を示唆する所見が認められた。すなわち体腔液、とくに心嚢水の血様増量が10例全例に、全身性小出血斑が9例(90%)、肺のうっ血水腫が8例(80%)、血液凝固不全および可視粘膜のチアノーゼが5例(50%)にみられた。第一胃は、未消化の乾草およびサイレージを約60kg含有し、これら内容物はサイレージ臭が強かった。全例で膀胱内に残尿はみられなかった。

3) 血液、尿およびその他の体液の検査所見

亜硝酸塩の定性では、第四胃液と眼房水で10例(100%)、尿で7例(70%)、および第一胃液で4例(40%)にそれぞれ検出された。血中MHbは、死亡例の全例から検出された。血漿中のNO₂-N含有量は、3.25~6.00 μg/mlであり、第一胃液の硝酸塩含有量は、80~640 ppmであった。また翌日行われた生存例2頭からの尿の硝酸塩の検査では、40~80 ppmが検出された。

4) 給与飼料の分析結果

給与飼料中の乾物当たりのKNO₃およびNO₃-Nの含有量を、Table 3に示した。乾草のNO₃-Nは、最高値1.31%および最低値0.32%であった。グラスサイレージのNO₃-Nは、最高値0.30%および最低値0.20%であり、とくに乾草中のNO₃-Nが高濃度であった。

Table 3. Nitrate concentration in hay and grass silage

	Sample No.	KNO ₃ (%)	NO ₃ -N (%)
Hay	1	5.58	0.77
	2	9.46	1.31
	3	3.14	0.43
	4	2.33	0.32
Grass silage	1	1.44	0.20
	2	2.16	0.30

5) 乾草の草種、調製方法および施肥法

乾草中の牧草の草種は、オーチャード、チモシー、メトフェフク、アカクロバー、シロクロバーおよびイタリアンライグラスであった。また、原因乾草の生育地には、アオビユ、イヌホオズキおよびシロザなどの雑草が多量に繁茂しており、これらが乾草中に混在していた。採草後2カ月後の同一採草地の生牧草と雑草の硝酸塩含有量は、640~1,280 ppmであった。これら乾草は、新播の早刈り一番草であり、干ばつ気味の天候下で調製されてい

Table 4. Fertilizer used in the pasture

		Weight (/kg)	N	P ₂ O	K ₂ O	MgO
1984	Chemical fertilizer	800	104	144	112	32
	Compost	30 t	81	105	231	54
	Sewage sludge	10 t	—	—	—	—
	Total (kg/ha)		185	249	343	86
1985	Chemical fertilizer	600	84	102	78	18
	Compost	20 t	54	70	154	36
	Total (kg/ha)		138	172	232	54

た。またこれら乾草の一部にはカビが認められた。採草地への施肥量は、Table 4 に示した。1984 年度に施肥された 10 t/ha の汚泥の成分は不明であったが、1985 年度では特に過剰な施肥は行われていなかった。

2. 実験的発症試験牛の所見

供試牛に給与された乾草の NO₃-N 含有量、採食量および採食時間は、Table 1 に示したとおりである。

1) 臨床症状

4 回の発症試験（以下、各試験を E-1～E-4 と略記）でみられた臨床症状は、E-2 と E-3 では軽度、E-1 では重度および E-4 では著しく重度で、給与 14.5 時間後に死亡した。重度例（E-1）および死亡例（E-4）の臨床症状の推移は、Fig. 2 および Fig. 3 に示した。重度例（E-1）では、給与開始後、短時間内に比較的大量の乾草を摂取し、2 時間後から尿中に硝酸塩および亜硝酸塩が出現した。6 時間後からは心拍数が増加し、沈うつ、食欲減退、頻尿、歩様蹣跚および可視粘膜のチアノーゼが高度になった。その後、尿中の硝酸塩および亜硝酸塩は持続して認められたが、症状は回復する傾向を示し、13～16 時間後には、正常に復した。尿の pH は、13 時間後よりアルカリ性に傾いた。死亡例（E-4）では、尿中硝酸塩および亜硝酸塩は 2 時間後より出現した。その他の臨床症状発現は、8 時間目以降で、その後急速に悪化し、10 時間経過後起立不能に陥り眼瞼下垂が著明となり、苦悶することなく 14.5 時間後に死亡した。

2) 血液所見 (Fig. 4)

血中 MHB 量の推移は、採食状況が異なるために、その傾向はそれぞれ変動した。死亡例（E-4）では、8 時間以降急激に上昇し、最高値 76.7% に達した。血中 NO₂-N 濃度の推移は、一定の傾向はみられず、死亡例（E-4）では、急激に上昇した。E-2 では、6 時間後に死亡例と同程度の濃度がみられた。血中 PO₂ 濃度の推移では、E-4 は死亡直前に 10 mm

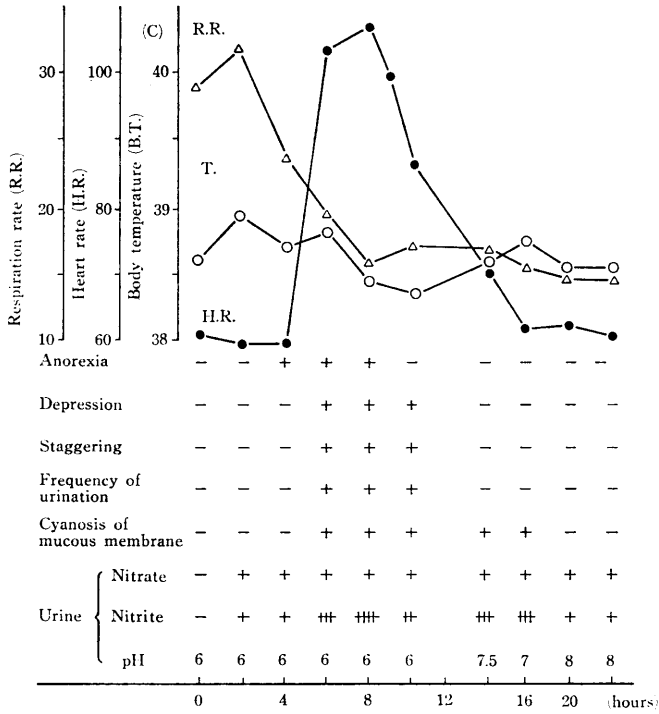


Fig. 2. Changes of clinical signs (Exp. 1, Cow No. 1)

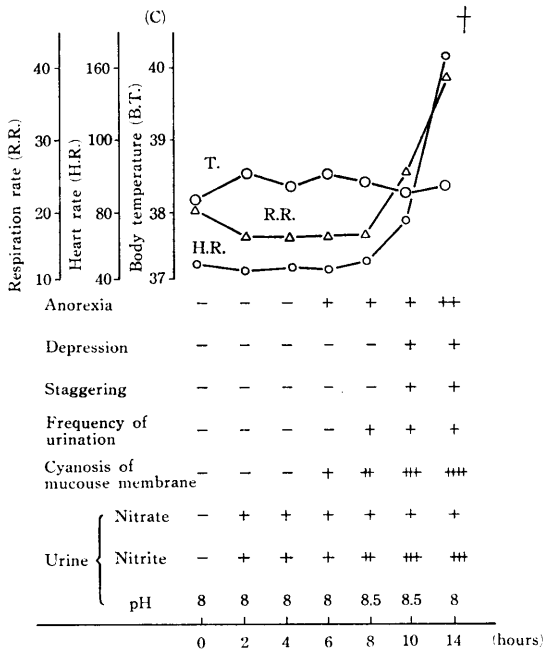


Fig. 3. Changes of clinical signs (Exp. 4, Cow No. 2)

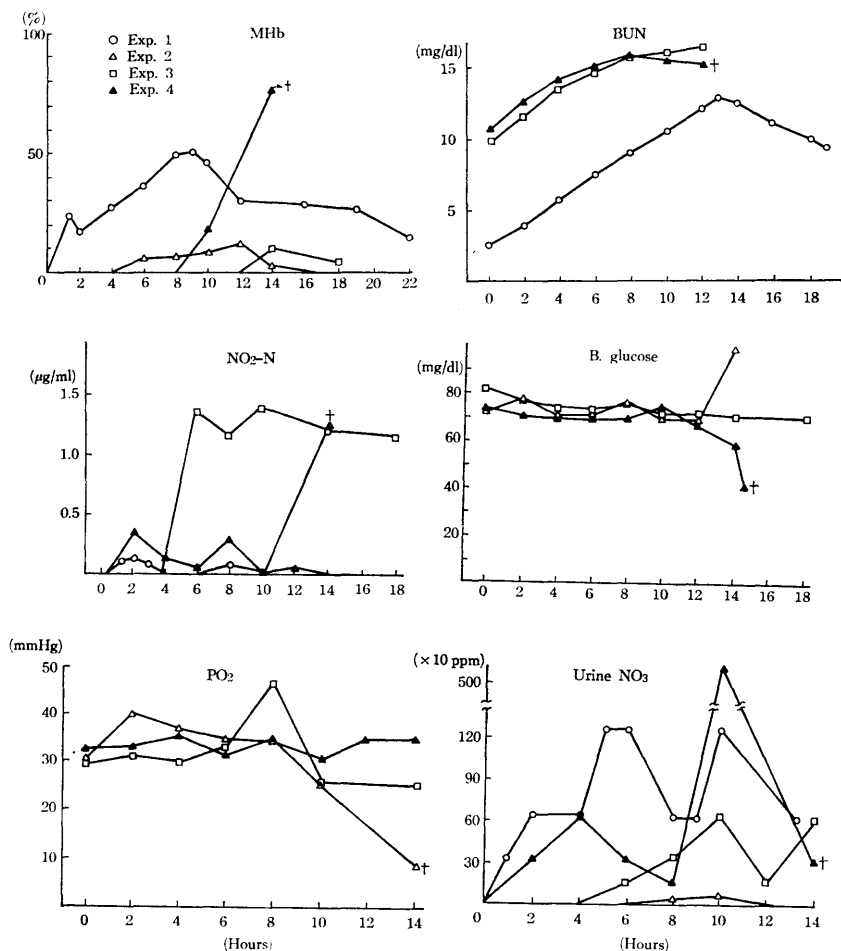


Fig. 4. Changes of Blood Mhb, BUN, NO₂-N, PO₂, glucose and Urine nitrate in experimental nitrate poisoning by hay.

Hg 以下に低下した。BUN 値は、時間の経過とともにおおむね上昇する傾向を示した。血糖値は、E-3 で12 時間後より急に上昇し、死亡例ではその直前に低下した。

3) 尿所見 (Fig. 4)

尿中硝酸塩濃度の推移は、E-4 では、Mhb 出現の初期より急速に増加し、死亡時に急激に低下した。重度例 (E-1) および軽度例 (E-3) の両者において尿中硝酸塩濃度は増加していたが、その最大値は死亡例 (E-4) の約 1/4 であった。

4) 剖検所見

1 頭の死亡例 (E-4) の剖検では、可視粘膜チアノーゼおよび血液凝固不全が認められたが、他にはとくに異常所見はみられなかった。

考 察

今回の自然発生例では、発生状況と剖検所見に加え、死亡牛の血液、尿、第四胃液および眼房水で、高濃度の亜硝酸塩とMHbが検出され、硝酸塩中毒と診断された。聴き取り調査から原因と考えられた乾草の硝酸塩濃度を測定したところ、いずれも危険値を上回る高水準値であることが判明し、本事故が乾草による硝酸塩中毒であることが明らかになった。本症例と同様のケースは、Jonesら⁴⁾も報告しており、硝酸塩2.20%および3.40%含有の乾草を新たに給与しはじめた日に発症をみている。これらの乾草は、下水の汚泥を施肥した放牧地より採取後調製されたもので、その汚泥量は6,600,000 l/haであり、一般農家の約58倍量であった。このため飼料中の硝酸塩蓄積は、気象条件^{7,8,10)}(干ばつ)なども加わって起こったとしている。今回の発生例でも、1984年度に汚泥を10 t/ha施肥しており、他の施肥量に過剰がないことから、この汚泥が本症発生の原因で、この年の干ばつ気味の異常気象により乾草中の硝酸塩の蓄積が起こったものと考えられた。さらに給与された乾草は早刈りの一番草であったこと、ならびに宮崎⁵⁾および中村ら⁸⁾が報告しているように硝酸塩を高濃度に蓄積しやすい牧草であるイタリアンライグラスに加え雑草として、アオビエ、イヌホオズキおよびシロザなどが多く混入していたため、高硝酸塩を含有した乾草になったと考えられる。また事故当日の飼料給与法は、乾草を前日給与せず、当日乾草給与と同時に約2 kgの配合飼料を給与しており、このことも今回の本症発生の原因と推定される。すなわち、乾草の隔日給与のため、原因乾草を死亡牛が短時間に比較的大量に採食し、加えて約2 kgの配合飼料によって、第一胃内pHが、宮崎ら⁵⁾の報告にあるように、硝酸塩還元最適状態となり、NO₂-Nの大量生成を起こしたものと考えられる。

つぎに発症試験では、摂取量と臨床症状および血液性状は必ずしも平行しなかった。これは、20~48時間の絶食後、供試牛に自由採食させたため、採食時間、採食量および第一胃内環境が一定でなかったためと考えられる。一部臨床症状で既報の実験発症試験^{2,10)}とは、その発現時間に差がみられた。しかし、その他の臨床症状および血液の生化学的検査所見はおおむね一致していた。血中MHb量の最大値を示した時間は、佐伯ら¹⁰⁾の報告に比較し若干幅が広く2~8時間であった。本中毒症における血中PO₂濃度に関する報告は少ないが、堀尾²⁾の報告と同様にMHb量との間には高い負の相関がみられた。血清BUN値が上昇したのは、第一胃内で大量のNO₂-Nが生成され、その一部は直接血中に吸収されるが、大部分はアンモニアまで変化した後第一胃壁から吸収されていることを示していると考えられる。

今回の中毒事例は、わが国では稀な乾草による集団的な死亡事故であり、その発症要因として、汚泥の施肥、干ばつなどの異常天候による牧草の硝酸塩の蓄積、硝酸塩の蓄積しやすいアオビユなどの混入した早刈り一番草、原因乾草の隔日給与、約2kgの配合飼料の同時給与による硝酸塩還元最適第一胃内pHの条件などが複合したために発症したものと考えられた。すなわち、このように高硝酸塩濃度の乾草も、大量摂取すると危険であることが明らかになった。

要 約

1985年8月29日、北海道苫小牧市植苗町における一乳牛牛舎18頭のホルスタイン種雌育成牛群(18~23カ月齢)のうちの16頭が、急死するという事故が発生した。その原因を調査し、つぎの結果を得た。

1. 死亡例の剖検では、可視粘膜チアノーゼ、小出血斑および心嚢水の増量がみられた。全例の血液からはMHb また血液、第一胃液、第四胃内容液、尿および眼房水からは $\text{NO}_2\text{-N}$ が検出され、硝酸塩中毒と診断された。

2. 硝酸塩中毒の原因飼料は、事故当日給与された高硝酸塩濃度の乾草($\text{NO}_3\text{-N}$: 1.31~0.32)であり、1頭当たりの採食量は8~9kgと推定された。

3. 乾草の硝酸塩蓄積の原因として、硝酸塩の蓄積しやすいイタリアンライグラスに加え、アオビユ等の雑草混入、早刈り一番草、前年までの窒素含有量の不明な汚泥を使用した肥培管理および干ばつなどの条件が複合したためと考えられた。

4. 発症要因として、乾草の隔日給与による大量摂取と第一胃内における硝酸塩の生成が容易となる配合飼料2~3kgの同時給与が考えられた。

5. 2頭の乳牛(延4回の発症試験)に、20~48時間絶食後、原因乾草のみを自由採食させたところ、6.0~9.5kg摂取し、2回は軽度また2回は重度な臨床症状を示し、そのうち1頭は、給与後14.5時間以内に硝酸塩中毒により死亡した。

謝 辞

本症の原因調査に、御指導いただきました土壌肥料学研究室原田勇教授、飼料作物学研究室村山三郎教授、家畜管理学研究室西埜進教授、井上錦次酪農学園大学附属農場長ならびに五十嵐巖酪農学園大学附属高校農場長に深謝する。

文 献

- 1) Carrigan, M. J. and I. A. Gardner, 1982. Nitrate poisoning in cattle fed sudax (Sorghum

- sp. hybrid) hay. Aust. vet. J. **59**: 155-157.
- 2) 堀尾政博, 1982. 硝酸塩中毒の実験的臨床生理学的研究, KNO_3 投与山羊血液の MHB を中心とした医化学的变化. 日本獣医畜産大学研究報告, **31**: 75-87.
 - 3) 糸井徳吉, 小松清香, 関 功, 野口和夫, 1968. 乳牛の青刈トウモロコシ含有の硝酸塩による中毒死例. 畜産の研究, **22**: 67-68.
 - 4) Jones, T. O. and D. R. Jones, 1977. Nitrate/Nitrite poisoning of cattle from forage crops. Vet. Rec. **101**: 266-267.
 - 5) 宮崎 昭, 1977. 飼料中の硝酸塩が反すう動物に及ぼす影響に関する研究. 日畜会報, **48**: 53-61.
 - 6) 野本貞夫, 1977. 牛の硝酸塩中毒. 日獣会誌, **30**: 3-12.
 - 7) 農林省家畜衛生試験場生化学研究室, 1966. カブ菜に起因した乳牛の硝酸塩中毒について. 日獣会誌, **19**: 5-6.
 - 8) 中村亮八郎, 吉田條二, 中村 豊, 加藤寿次, 萩野順三, 1972. 野外における乳牛の硝酸塩中毒と野草アオビユの硝酸塩含量. 日畜会報, **43**: 286-288.
 - 9) 野本貞夫, 飯塚三喜, 村上大蔵, 小野 斉, 1976. 飼料作物と牛の生理障害. pp. 20-98. 農山漁村文化協会, 東京.
 - 10) 佐伯隆清, 林 光昭, 1973. 牛の血液中硝酸および亜硝酸態窒素とメトヘモグロビン出現との関係. 家畜衛試研究報告, **67**: 24-30.

Summary

At a dairy farm in Hokkaido, sixteen of 18 heifers died abruptly on the 29th of August, 1985.

1. Necropsy showed cyanosis of skin and mucous membrane, haemorrhages on the epicardium and increase of bloody fluid in the pericardium. Methemoglobin was detected in the blood of all the heifers that died. Nitrite was confirmed in the blood, rumen and abomasal fluids, urine and aqueous humor. These findings showed that the disease was nitrate poisoning. The new hay given that day was suspected as causal agents.

2. The concentration of nitrate nitrogen in the dry matter of the hay was 0.32 to 1.31%. The volume of hay taken by the heifers on that day was 8 to 9 kg individually.

3. The early harvest of the grass, application of sewage sludge (10t/ha) and the drought of that summer season were suspected to be the causes of the high nitrate in the hay.

4. Nitrate poisoning in this case involved hay given at 48 hour intervals, with simultaneous feeding of concentrate which accelerated nitrite production in the rumen.

5. In the experimental feeding test with the hay takes of 6.0 to 9.5 kg over 2.0 to 2.5 hours, one of the two cows died and the other recovered from the disease with severe symptoms of nitrate poisoning.