

総説

## 大腸菌群による甚急性乳房炎の診断に関する一考察

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>

井原晴喜<sup>1)</sup> 那須正信<sup>1)</sup> 永幡 肇<sup>4)</sup>

1) NOSAI えひめ南予基幹家畜診療所

2) NOSAI えひめ東予家畜診療所

3) NOSAI えひめ松山家畜診療所

4) 酪農学園大学

\*連絡担当者：久枝啓一

(〒797-1211 愛媛県西予市野村町阿下6号247番地)

TEL : (0894) 72-0040 FAX : (0894) 72-1672

e-mail : nanyos@e-nosai.or.jp

### [要約]

*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を検討した。また、*E. coli* および *K. pneumoniae* による甚急性乳房炎牛においてそれぞれの治癒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を調査し、予後との関連を検討した。*E. coli* あるいは *K. pneumoniae* を判別する病態識別値は、呼吸数 40 回/分、BUN 値 19mg/dL、血清中 Hp 濃度 2000  $\mu$ g/ml および乳清中 Hp 濃度 2000  $\mu$ g/ml が示され、これらをスコア化しその合計の判別スコアは 2 以上で *K. pneumoniae* と示された。*E. coli* による甚急性乳房炎牛における予後を判別する病態識別値は、総スコア 8、BUN 値 17mg/dL、血清中 Hp 濃度 2000  $\mu$ g/ml および乳清中 Hp 濃度 1000  $\mu$ g/ml が示され、これらをスコア化しその合計の予後判定スコアは 2 以上で予後不良と示された。*K. pneumoniae* による甚急性乳房炎牛における予後を判別する病態識別値は、総スコア 8、BUN 値 22mg/dL、血清中 Hp 濃度 2030  $\mu$ g/ml および乳清中 Hp 濃度 2050  $\mu$ g/ml が示され、これらをスコア化しその合計の予後判定スコアは 3 以上で予後不良と示された。本研究より、*E. coli* および *K. pneumoniae* による甚急性乳房炎牛の初診時における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であることが考えられた。

キーワード：大腸菌群、甚急性乳房炎、急性相蛋白、乳牛、サイトカイン

### [緒論]

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ている [2, 5, 4]。

大腸菌群による甚急性乳房炎牛における原因菌種として著者らが診療している中で *Escherichia coli* (以下 *E. coli*) (62%) および *Klebsiella pneumoniae* (以下 *K. pneumoniae*) (37%) が主要に認められる。この2つの菌種には臨床的に違いがある。*E. coli* によ

る甚急性乳房炎牛の治癒率（93.5%）は、*K. pneumoniae*によるそれより（48.5%）有意に高かったことが愛媛では報告されている [9]。Erskine らも、*E. coli*による甚急性乳房炎の治癒率が *K. pneumoniae*によるそれと比較して高いことを報告している [3]。これらのことから、*K. pneumoniae*による甚急性乳房炎の臨床症状は *E. coli*によるそれと比較して重篤であることが考えられ、初診時に原因菌が *K. pneumoniae*であるか *E. coli*なのかを臨床所見により乳汁からの細菌分離培養時間を待たずに迅速に判別することは治療の策定や予後の判断に重要であると思われる。

今回の研究は、*E. coli*および *K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛におけるそれぞれの臨床所見、急性相蛋白濃度およびサイトカイン濃度の比較を行い、原因菌の違いによる疾患の特徴を調査し、初診時における臨床所見からの判別を検討した。また、*E. coli*および *K. pneumoniae*による甚急性乳房炎牛においてそれぞれの治癒牛と廃用牛における臨床所見および急性相蛋白を調査し、予後との関連を検討した。

#### [材料および方法]

**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一般検査、血液生化学的検査、急性相蛋白およびサイトカインの比較およびそれらの判別評価**  
供試牛

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。健康牛は、体温は正常で食欲があり、臨床的に異常の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 変法所見が陰性かつ体細胞数が 100,000/ml 以下のものとした。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 *E. coli* および *K. pneumoniae* が分離・同定されたものを陽性とした。*E. coli* および *K. pneumoniae* 乳房炎牛群の乳房炎発病時の分娩後日数は Table. 1 に示した。

乳房炎牛は、初診時に体温、心拍数および呼吸数さらに臨床症状の観察を行った。ヘマトクリット値、白血球数および血小板数を自動血球計算機 (Celltac  $\alpha$ 、日本電光、東京) により測定し、血液生化学検査 (Ca、BUN、AST、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) を用いて測定した。また、治療前に乳房炎分房から約 10ml の乳汁を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°C で 18 時間培養した。大腸菌群の同定は、EB

Table 1. Number of cows per postpartum period

| Postpartum period | Number of cows          |                               |         |
|-------------------|-------------------------|-------------------------------|---------|
|                   | <i>E. coli</i> mastitis | <i>K. pneumoniae</i> mastitis | Healthy |
| ≤ 7 days          | 4                       | 7                             | 3       |
| 2-15 weeks        | 4                       | 7                             | 5       |
| 16-35 weeks       | 3                       | 2                             | 5       |
| Total             | 11                      | 16                            | 13      |

同定キット（ニッスイ、東京）を用いて行った。

乳房炎牛の治療は、原因菌に感受性のある抗生物質を用い、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。

#### 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℃で保存した。罹患乳房の乳汁は、血清とともに採取し、遠心分離後（2500xg、20分、4℃）、乳清を分離し測定まで-30℃で保存した。健康牛の血清と乳清も同様に処理し、-30℃で保存し測定に用いた。

#### 急性相蛋白の測定

採取した血清と乳清のHp および $\alpha$ 1-AG の測定を行った。血清中および乳清中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 $\mu$ g/ml で示した。血清中および乳清中 $\alpha$ 1-AG濃度は、一元放射免疫拡散（SRID）法（ウシ $\alpha$ 1AG 定量用キット、Ecosystem、宮城）により測定し $\mu$ g/ml で示した。

#### サイトカインの測定

血清中および乳清中のIL-1 $\beta$ 、IL-1ra、IL-6、IFN- $\gamma$  およびTNF- $\alpha$ の濃度は、サンドイッチELISA法[6]により測定した。

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耳介反射低下および⑥耳介および皮温冷感の6項目について症状を有するものを「1」、認めなかったものを「0」とし、そ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乳汁中ブツおよび⑤乳汁の色調の変化の5項目について症状を有するものを「1」、認めなかったものを「0」とし、そ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。

*E. coli* および *K. pneumoniae* 乳房炎牛群における初診時の判別スコア

*E. coli* および *K. pneumoniae* 乳房炎牛群の両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、血清中および乳清中サイトカイン濃度の有意差を認めた項目において 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を示した。判別スコアは、両群間で有意差を認めたそれぞれの項目について病態識別値以上のものを「1」、未満のものを「0」とし、その合計で示した。判別スコアの評価は、ROC 解析を用いて判別スコア値を示し、甚急性乳房炎牛の原因菌が *E. coli* および *K. pneumoniae* のいずれであるかを判定した。

## 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、血液一般検査および急性相蛋白の比較と予後判定への応用

### 供試牛

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、転帰により治癒群 (10 頭) および廃用群 (5 頭) に分けて示した。また、*K. pneumoniae* による甚急性乳房炎牛 20 頭も、転帰により治癒群 (12 頭) および廃用群 (8 頭) に分けて示した。供試牛の乳房炎発病時の分娩後日数は Table. 2 に示した。*E. coli* および *K. pneumoniae* による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 *E. coli* および *K. pneumoniae* がそれぞれ分離・同定されたものを陽性とした。

乳房炎牛の治療は、原因菌に感受性のある抗生物質を用い、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。

治癒群は、*E. coli* および *K. pneumoniae* による甚急性乳房炎により上記の治療を行い、食欲および元気が回復したものをを用いた。廃用群は、上記の治療を行うも症状が改善されず死に瀕したものをを用いた。

### 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℃ 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℃)、乳清を分離し測定まで -30℃ で保存した。健康牛の血清と乳清も同様に処理し、-30℃ で保存し測定に用いた。

### 血液および乳汁の検査

初診時に血液および罹患分房からの乳汁採取を行い、ヘマトクリット値、白血球数および血小板数を自動血球計算機 (Celltac α、日本電光、東京) により測定し、血液生化学検査 (Ca、BUN、AST、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) を用いて測定した。乳房炎乳汁は、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、薬剤感受性試験も行った。大腸菌群の同定は、EB

Table 2. Number of cows per postpartum period

| Postpartum period | Number of cows                   |            |  |            |
|-------------------|----------------------------------|------------|--|------------|
|                   | <i>E. coli</i> mastitis (n = 15) |            | <i>K. pneumoniae</i> mastitis (n = 20) |            |
|                   | Recovered                        | Euthanized | Recovered                              | Euthanized |
| ≤ 7 days          | 3                                | 2          | 5                                      | 3          |
| 2-15 weeks        | 3                                | 2          | 5                                      | 3          |
| 16-35 weeks       | 4                                | 1          | 2                                      | 2          |
| Total             | 10                               | 5          | 12                                     | 8          |

同定キット（ニッスイ、東京）を用いて行った。

#### 急性相蛋白の測定

採取した血清と乳清の Hp および  $\alpha$ 1-AG 濃度の測定を行った。血清中および乳清中 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  $\mu$ g/ml で示した。血清中および乳清中  $\alpha$ 1-AG 濃度は、一元放射免疫拡散（SRID）法（ウシ  $\alpha$ 1AG 定量用キット、Ecosystem、宮城）により測定し  $\mu$ g/ml で示した。

#### 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耳介反射低下および⑥耳介および皮温冷感の6項目について症状を有するものを「1」、認めなかったものを「0」とし、そ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乳汁中ブツおよび⑤乳汁の色調の変化の5項目について症状を有するものを「1」、認めなかったものを「0」とし、そ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。

#### *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

蛋白濃度の有意差を認めた項目において ROC 解析を用いてそれぞれ両群を判別する病態識別値を示した。判別スコアは、両群間で有意差を認めたそれぞれの項目について病態識別値以上のものを「1」、未満のものを「0」とし、その合計で示した。予後判定スコアは、*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の判別スコアを ROC 解析により示した。

#### 統計解析

すべてのデータは平均±標準偏差で表した。各項目の比較対照は Bonferroni's test による one-way ANOVA 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における呼吸数、BUN 値、血清中 Hp 濃度および乳清中 Hp 濃度の病態判別値、治癒群と廃用群における総スコア、BUN 値、血清中 Hp 濃度および乳清中 Hp 濃度の病態判別値は、Receiver operating characteristic (ROC) 解析を用いて示した。

#### [成績]

#### 調査1：*E. coli* および *K. pneumoniae* 乳房炎牛群における初診時の臨床症状と血液一般検査、血液生化学的検査、急性相蛋白およびサイトカインの比較およびそれらの判別評価

両群間の初診時の各臨床所見の出現率に有意差はみられなかった (Table. 3)。初診時の両群における臨床スコアと血液検査値の比較では、*K. pneumoniae* 乳房炎牛群の呼吸数と BUN 値が *E. coli* 乳房炎牛群のそれらと比べて有意に高値を示した (呼吸数 :  $p < 0.001$ 、BUN 値 :  $p < 0.05$ ) (Table. 4)。両群間の血清中および乳清中サイトカイン濃度に有意差は認められなかった (Table. 5)。血清中および乳清中急性相蛋白濃度においては、*K. pneu-*

Table 3. Occurrence of clinical symptoms in cows with peracute *K. pneumoniae* and *E. Coli* mastitis at the initial examination

| Clinical finding                 | <i>E. coli</i> mastitis group (n = 11) | <i>K. pneumoniae</i> mastitis group (n = 16) |
|----------------------------------|--|--|
| Lack of appetite                 | 45.4 ( 5)                              | 68.7 (11)                                    |
| Diarrhea                         | 72 ( 8)                                | 100 (16)                                     |
| Impaired auricle reflex          | 100 (11)                               | 93 (15)                                      |
| Low auricle and skin temperature | 100 (11)                               | 87.5 (14)                                    |
| Enophthalmos                     | 72 ( 8)                                | 75 (12)                                      |
| Ananastasia                      | 9 ( 1)                                 | 12.5 ( 2)                                    |
| Mastocytosis                     | 100 (11)                               | 100 (16)                                     |
| Udder induration                 | 100 (11)                               | 100 (16)                                     |
| Watery milk                      | 100 (11)                               | 100 (16)                                     |
| Flakes in milk                   | 45.4 ( 5)                              | 18.8 ( 3)                                    |
| Color change in milk             | 63.6 ( 7)                              | 81.3 (11)                                    |

Data expressed as % (number of cows)

No significant differences

Table 4. Comparison of initial clinical findings and hematologic data from cows with peracute *K. pneumoniae* and *E. Coli* mastitis

| Test item              | Unit                  | <i>E. coli</i> mastitis group (n = 11) | <i>K. pneumoniae</i> mastitis group (n = 16) |
|------------------------|-----------------------|--|--|
| Clinical score         |                       | 4.55 ± 0.93                            | 4.50 ± 1.06                                  |
| Udder score            |                       | 3.91 ± 0.83                            | 4.38 ± 0.70                                  |
| Total score            |                       | 8.45 ± 1.44                            | 8.88 ± 1.65                                  |
| Rectal temperature     | °C                    | 40.2 ± 0.7                             | 40.8 ± 0.9                                   |
| Heart rate             | bpm                   | 106.7 ± 17.4                           | 112.4 ± 20.5                                 |
| Respiratory rate       | breaths/min           | 30.1 ± 7.0                             | 50.6 ± 11.0 ***                              |
| Hematocrit             | %                     | 33.8 ± 3.5                             | 33.5 ± 5.0                                   |
| White blood cell count | cells/μL              | 2858.2 ± 1646.8                        | 2452.0 ± 2145.5                              |
| Platelet count         | × 10 <sup>4</sup> /μL | 27.0 ± 6.0                             | 26.3 ± 8.8                                   |
| Serum calcium          | mg/dL                 | 8.0 ± 1.1                              | 8.1 ± 1.1                                    |
| BUN                    | mg/dL                 | 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                                  |

Data expressed as Mean ± S.D.

Significant difference: \*\*\* p &lt; 0.001; \* p &lt; 0.05

*moniae* 乳房炎牛群の血清中および乳清中 Hp 濃度が *E. coli* 乳房炎牛群のそれと比べて有意に高値を示した (Table. 6)。

*E. coli* および *K. pneumoniae* 乳房炎牛群において両群間で有意差がみられた呼吸数、BUN 値、血清中 Hp 濃度および乳清中 Hp 濃度について ROC 解析を用いてそれぞれにおけ

る *E. coli* あるいは *K. pneumoniae* を判別する病態識別値を決定した。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 19mg/dL (感度 80 %、特異度 66.6 %、AZ 値 = 0.704、P = 0.0022)、血清中 Hp 濃度 2000 μg/ml (感度 90.9 %、特異度 62.5 %、

Table 5. Comparison of initial inflammatory cytokine levels in serum and whey from cows with peracute *K. pneumoniae* and *E. Coli* mastitis

| Cytokine (unit) | <i>E. coli</i> mastitis group<br>(n = 11) | <i>K. pneumoniae</i> mastitis group<br>(n = 18) | Healthy group<br>(n = 13)    |
|-----------------|---|---|------------------------------|
| Serum (ng/mL)   |   |   |                              |
| TNF- $\alpha$   | 8.1 $\pm$ 2.5                             | 5.9 $\pm$ 2.9                                   | 18.3 $\pm$ 4.4               |
| IL-1 $\beta$    | 654.9 $\pm$ 248.8 <sup>a</sup>            | 244.0 $\pm$ 68.8 <sup>b</sup>                   | 21.1 $\pm$ 7.8 <sup>ab</sup> |
| IL-6            | 35.0 $\pm$ 10.1 <sup>a</sup>              | 28.6 $\pm$ 5.1 <sup>b</sup>                     | 16.8 $\pm$ 6.3 <sup>ab</sup> |
| IFN- $\gamma$   | 65.6 $\pm$ 28.3 <sup>a</sup>              | 37.4 $\pm$ 11.6 <sup>b</sup>                    | 0.3 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>  |
| Whey (ng/mL)    |   |   |                              |
| TNF- $\alpha$   | 126.7 $\pm$ 116.8                         | 215.3 $\pm$ 116.8                               | 3.7 $\pm$ 1.0                |
| IL-1 $\beta$    | 607.5 $\pm$ 132.2 <sup>a</sup>            | 414.9 $\pm$ 167.5 <sup>b</sup>                  | 21.5 $\pm$ 6.6 <sup>ab</sup> |
| IL-6            | 56.5 $\pm$ 43.2 <sup>a</sup>              | 85.4 $\pm$ 26.2 <sup>b</sup>                    | 5.8 $\pm$ 0.9 <sup>ab</sup>  |
| IFN- $\gamma$   | 30.1 $\pm$ 5.4 <sup>a</sup>               | 22.5 $\pm$ 7.2 <sup>b</sup>                     | 0.3 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>  |

Data expressed as Mean  $\pm$  S.E.  
Significant difference: a and b, p < 0.05

Table 6. Comparison of initial serum and whey concentrations of acute-phase proteins in cows with peracute *K. pneumoniae* and *E. Coli* mastitis

| Acute-phase protein (unit) | <i>E. coli</i> mastitis group<br>(n = 11) | <i>K. pneumoniae</i> mastitis group<br>(n = 18) | Healthy group<br>(n = 13)      |
|----------------------------|---|---|--------------------------------|
| Serum ( $\mu$ g/mL)        |   |   |                                |
| Haptoglobin                | 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>ab</sup> |
| Whey ( $\mu$ g/mL)         |   |   |                                |
| Haptoglobin                | 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>ab</sup>   |

Data expressed as Mean  $\pm$  S.E.  
Significant difference: a and b, p < 0.05

AZ 値 = 0.828、P = 0.0076) および乳清中 Hp 濃度 2000  $\mu$ g/ml (感度 92.8%、特異度 76.9%、AZ 値 = 0.986、P = 0.0003) が示された。両群を判別する 4 項目の病態識別値とそのスコアを Table. 7 に示し、それぞれのスコアの合計を判別スコアとして示した。*E. coli* および *K. pneumoniae* 乳房炎牛群における 4 項目の病態識別値によるスコアとその合計スコアを Table. 8 に示した。*K. pneumoniae* 乳房炎牛群における病態識別値による合計スコア (2.49  $\pm$  0.90) が *E. coli* によるそれ (0.45  $\pm$  0.66) と比較して有意に (p < 0.01) 高値を示した。また、両群を判別するスコア(判別スコア)は、ROC 解析により 2 であること

が示された (感度 93.7%、特異度 90.9%、AZ 値 = 0.962、p = 0.0003)。

#### 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、血液一般検査および急性相蛋白の比較と予後判定への応用

初診時の *E. coli* による甚急性乳房炎牛における治癒群と廃用群の臨床症状の比較を Table. 9 に示した。廃用群の症状で食欲廃絶、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、乳汁中ブツおよび乳汁変色の 9 項目で治癒群のそれらより有意に (p < 0.05) 多く観察された。廃用群

Table 7. Pathological cutoff values and scores of cows with peracute *K. pneumoniae* and *E. Coli* mastitis at the initial examination

| Item             | Pathological cutoff value | Score |
|------------------|---------------------------|-------|
| Respiratory rate | < 40 times/min            | 0     |
|                  | ≥ 40 times/min            | 1     |
| BUN              | < 19 mg/dL                | 0     |
|                  | ≥ 19 mg/dL                | 1     |
| Serum Hp         | < 2000 μg/mL              | 0     |
|                  | ≥ 2000 μg/mL              | 1     |
| Whey Hp          | < 2000 μg/mL              | 0     |
|                  | ≥ 2000 μg/mL              | 1     |

Table 8. Pathological cutoff values and scores of cows with peracute *K. pneumoniae* and *E. Coli* mastitis at the initial examination

| Group                               | Number | Respiratory score | BUN score    | Serum Hp score | Whey Hp score | Total score   |
|-------------------------------------|--------|-------------------|--------------|----------------|---------------|---------------|
| <i>E. Coli</i> mastitis group       | n = 11 | 0.00 ± 0.00       | 0.27 ± 0.45  | 0.09 ± 0.29    | 0.09 ± 0.29   | 0.45 ± 0.66   |
| <i>K. pneumoniae</i> mastitis group | n = 16 | 0.75 ± 0.43**     | 0.69 ± 0.46* | 0.63 ± 0.48**  | 0.88 ± 0.33** | 2.94 ± 0.90** |

Data expressed as Mean ± S.D.

\* p < 0.05, significant against *E. Coli* mastitis group

\*\* p < 0.01, significant against *E. Coli* mastitis group

Table 9. Comparison of initial clinical symptoms between recovered and euthanized cows with peracute *E. Coli* mastitis

| Clinical finding                 | Recovered group (n = 10) | Euthanized group (n = 5) | Sensitivity | Specificity | p value |
|----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------|-------------|---------|
| Lack of appetite                 | 20 (2)                   | 100 (5)                  | 0.71        | 1           | 0.007   |
| Diarrhea                         | 30 (3)                   | 100 (5)                  | 0.63        | 1           | 0.026   |
| Impaired auricle reflex          | 30 (3)                   | 100 (5)                  | 0.63        | 1           | 0.026   |
| Low auricle and skin temperature | 40 (4)                   | 100 (5)                  | 0.56        | 1           | 0.044   |
| Enophthalmos                     | 40 (4)                   | 100 (5)                  | 0.56        | 1           | 0.044   |
| Anastasia                        | 10 (1)                   | 80 (4)                   | 0.8         | 0.9         | 0.017   |
| Mastocnus                        | 100 (10)                 | 100 (5)                  | 0.33        | None        | 1       |
| Udder induration                 | 100 (10)                 | 100 (5)                  | 0.33        | None        | 1       |
| Watery milk                      | 60 (6)                   | 100 (5)                  | 0.45        | 1           | 0.231   |
| Flakes in milk                   | 40 (4)                   | 100 (5)                  | 0.56        | 1           | 0.044   |
| Color change in milk             | 40 (4)                   | 100 (5)                  | 0.56        | 1           | 0.044   |

Data expressed as % (number of cows)

の臨床スコア、乳房スコア、総スコア、心拍数、Ht 値および BUN 値で治癒群のそれらより有意に高値を示した（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）（Table. 10）。また、廃用群の白血球数、血小板数および血中カルシウム値で治癒群のそれらより有意に低値を示した（p < 0.05）（Table. 10）。初診時の *E. coli* による甚急性乳房炎牛における廃用群の血清中および乳清中 Hp 濃度が治癒群のそれらと比較して有意に高値を示した（p < 0.01）（Table. 11）。また、初診時の *E. coli* による甚急性乳房炎牛における治癒群および廃用群の臨床所見

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の関係では、総スコアと血清中 Hp 濃度（治癒群：r = 0.755、p < 0.05、廃用群：r = 0.836、p < 0.05）および乳清中 Hp 濃度（治癒群：r = 0.847、p < 0.05、廃用群：r = 0.836、p < 0.05）との間にそれぞれ正の相関を認めた。

*E. coli* による甚急性乳房炎牛における治癒群および廃用群において両群間で p < 0.01 の有意差がみられた総スコア、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決定した。病態識別値は、総スコア 8（感度

Table 10. Comparison of initial clinical findings and hematologic data between recovered and euthanized cows with peracute *E. Coli* mastitis

| Test items             | Unit        | Recovered group (n = 10) | Euthanized group (n = 11) |    |
|------------------------|-------------|--------------------------|---------------------------|----|
| Clinical score         |             | 1.70 ± 1.19              | 5.80 ± 0.40               | *  |
| Udder score            |             | 3.40 ± 1.02              | 4.80 ± 0.40               | *  |
| Total score            |             | 5.10 ± 2.07              | 9.60 ± 1.02               | ** |
| Rectal temperature     | °C          | 40.2 ± 0.6               | 40.0 ± 0.1                |    |
| Heart rate             | bpm         | 103.8 ± 14.5             | 122.4 ± 8.5               | *  |
| Respiratory rate       | breaths/min | 28.0 ± 3.6               | 33.6 ± 8.5                |    |
| Hematocrit             | %           | 33.7 ± 3.5               | 38.0 ± 1.4                | *  |
| White blood cell count | cells/μL    | 1684.0 ± 205.7           | 1360.0 ± 313.7            | *  |
| Platelet count         | × 104/μL    | 27.6 ± 5.8               | 22.4 ± 1.6                | *  |
| Serum calcium          | mg/dL       | 8.7 ± 0.6                | 7.8 ± 0.4                 | *  |
| BUN                    | mg/dL       | 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                |    |

Data expressed as Mean ± S.D.  
Significant difference: \*\* p < 0.01; \* p < 0.05

Table 11. Comparison of initial serum and whey concentrations of acute-phase proteins between recovered and euthanized cows with peracute *E. Coli* mastitis

| Acute-phase protein (unit) | Recovered group (n = 10) | Euthanized group (n = 5) |    |
|----------------------------|--------------------------|--------------------------|----|
| Serum (μg/mL)              |                          |                          |    |
| Haptoglobin                | 446.0 ± 203.6            | 2230.0 ± 292.6           | ** |
| α1-AG                      | 580.0 ± 161.9            | 564.0 ± 88.0             |    |
| Whey (μg/mL)               |                          |                          |    |
| Haptoglobin                | 229.1 ± 175.1            | 1160.0 ± 86.0            | ** |
| α1-AG                      | 169.2 ± 179.9            | 163.6 ± 17.1             |    |

Data expressed as Mean ± S.D.  
Significant difference: \*\* p < 0.01

100%、特異度 100%、AZ 値 = 0.938、P = 0.0003)、BUN 値 17mg/dL (感度 71.4%、特異度 100%、AZ 値 = 0.716、P = 0.0070)、血清中 Hp 濃度 2000  $\mu$ g/ml (感度 100%、特異度 100%、AZ 値 = 0.938、P = 0.0005) および乳清中 Hp 濃度 1000  $\mu$ g/ml (感度 100%、特異度 100%、AZ 値 = 0.995、P = 0.0003) が示された。*E. coli* による甚急性乳房炎牛の初診時の予後判定における 4 項目の病態識別値とそのスコアを Table. 12 に示し、このスコアリングを用いて治癒群および廃用群における 4 項目のスコアとその合計スコアを Table. 13 に示した。*E. coli* による甚急性乳房炎牛の廃用群における合計スコア (3.80  $\pm$  0.40) が治癒群によるそれ (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 であることが示された (感度 100%、特異度 100%、AZ 値 = 0.995、 $p = 0.0001$ )。

初診時の *K. pneumoniae* による甚急性乳房

炎牛における治癒群と廃用群の臨床症状の比較を Table. 14 に示した。廃用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、乳汁中ブツおよび乳汁変色の 6 項目で治癒群のそれらより有意に ( $p < 0.05$ ) 多く観察された。初診時の *K. pneumoniae* による甚急性乳房炎牛における治癒群と廃用群の臨床所見と血液生化学検査値の比較では、廃用群の臨床スコア、乳房スコア、総スコア、呼吸数、Ht 値および BUN 値で治癒群のそれらより有意に高値を示した (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 :  $p < 0.01$ ) (表 15)。また、廃用群の白血球数および血中カルシウム値で治癒群のそれらより有意に低値を示した ( $p < 0.05$ ) (Table. 15)。初診時の *K. pneumoniae* による甚急性乳房炎牛における廃用群の血清中および乳清中 Hp 濃度が治癒群のそれらと比較して有意に高値を示した ( $p < 0.01$ ) (Table. 16)。また、初診時の *K.*

Table 12. Pathological cutoff values and scores of cows with peracute *E. Coli* mastitis at the initial prognosis

| Item        | Pathological cutoff value | Score |
|-------------|---------------------------|-------|
| Total Score | < 8                       | 0     |
|             | $\geq 8$                  | 1     |
| BUN         | < 17 mg/dL                | 0     |
|             | $\geq 17$ mg/dL           | 1     |
| Serum Hp    | < 2000 $\mu$ g/mL         | 0     |
|             | $\geq 2000$ $\mu$ g/mL    | 1     |
| Whey Hp     | < 1000 $\mu$ g/mL         | 0     |
|             | $\geq 1000$ $\mu$ g/mL    | 1     |

Table 13. Clinical scoring of recovered and euthanized cows with peracute *E. Coli* mastitis at the initial examination

| Cows with <i>E. Coli</i> mastitis | Number | Score of total score | BUN score          | Serum Hp score     | Whey Hp score      | Total score        |
|-----------------------------------|--------|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Recovered group                   | n = 10 | 0.00 $\pm$ 0.00      | 0.20 $\pm$ 0.40    | 0.00 $\pm$ 0.00    | 0.00 $\pm$ 0.00    | 0.20 $\pm$ 0.40    |
| Euthanized group                  | n = 5  | 0.80 $\pm$ 0.40 *    | 1.00 $\pm$ 0.00 ** | 1.00 $\pm$ 0.00 ** | 1.00 $\pm$ 0.00 ** | 3.80 $\pm$ 0.40 ** |

Data expressed as Mean  $\pm$  S.D.

\*  $p < 0.05$ , significant against recovered group

\*\*  $p < 0.01$ , significant against recovered group

Table 14. Comparison of initial clinical symptoms between recovered and euthanized cows with peracute *K. pneumoniae* mastitis

| Clinical finding                 | Recovered group (n = 12) | Euthanized group (n = 8) | Sensitivity | Specificity | p value |
|----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------|-------------|---------|
| Lack of appetite                 | 41.7 (5)                 | 100 (8)                  | 0.54        | 1           | 0.037   |
| Diarrhea                         | 50 (6)                   | 100 (8)                  | 0.5         | 1           | 0.053   |
| Impaired auricle reflex          | 41.7 (5)                 | 100 (8)                  | 0.54        | 1           | 0.037   |
| Low auricle and skin temperature | 41.7 (5)                 | 100 (8)                  | 0.54        | 1           | 0.037   |
| Enophthalmos                     | 41.7 (5)                 | 100 (8)                  | 0.56        | 0.88        | 0.131   |
| Ananastasia                      | 8 (1)                    | 62.5 (5)                 | 0.83        | 0.92        | 0.004   |
| Mastocytosis                     | 100 (10)                 | 100 (8)                  | 0.33        | None        | 1       |
| Udder induration                 | 100 (10)                 | 100 (8)                  | 0.33        | None        | 1       |
| Watery milk                      | 58.3 (7)                 | 100 (8)                  | 0.46        | 1           | 0.114   |
| Flakes in milk                   | 25 (3)                   | 100 (8)                  | 0.66        | 1           | 0.009   |
| Color change in milk             | 41.7 (5)                 | 100 (8)                  | 0.54        | 1           | 0.037   |

Data expressed as % (number of cows)

Table 15. Comparison of initial clinical findings and hematologic data between recovered and euthanized cows with peracute *K. pneumoniae* mastitis

| Test item              | Unit                  | Recovered group (n = 12) | Euthanized group (n = 8) |    |
|------------------------|-----------------------|--------------------------|--------------------------|----|
| Clinical score         |                       | 2.08 ± 2.20              | 5.63 ± 0.48              | ** |
| Udder score            |                       | 3.31 ± 0.61              | 4.88 ± 0.33              | ** |
| Total score            |                       | 5.38 ± 2.17              | 10.38 ± 0.48             | ** |
| Rectal temperature     | °C                    | 40.7 ± 0.9               | 40.6 ± 0.6               |    |
| Heart rate             | bpm                   | 108.2 ± 19.8             | 119.3 ± 12.8             |    |
| Respiratory rate       | breaths/min           | 45.2 ± 14.4              | 61.3 ± 10.9              | *  |
| Hematocrit             | %                     | 32.9 ± 4.6               | 37.8 ± 2.5               | *  |
| White blood cell count | cells/μL              | 1745.8 ± 969.4           | 1621.7 ± 366.9           | *  |
| Platelet count         | × 10 <sup>4</sup> /μL | 27.5 ± 6.8               | 23.7 ± 14.6              |    |
| Serum calcium          | 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               |    |

Data expressed as Mean ± S.D.

Significant difference: \*\* p < 0.01; \* p < 0.05

Table 16. Initial concentrations of serum and whey acute-phase proteins in cows with peracute *K. pneumoniae* mastitis

| Acute-phase protein (unit) | Recovered group (n = 12) | Euthanized group (n = 8) |    |
|----------------------------|--------------------------|--------------------------|----|
| Serum (μg/mL)              |                          |                          |    |
| Haptoglobin                | 1056.9 ± 687.7           | 3012.5 ± 422.6           | ** |
| α 1-AG                     | 611.5 ± 202.9            | 524.5 ± 147.8            |    |
| Whey (μg/mL)               |                          |                          |    |
| Haptoglobin                | 1296.9 ± 556.2           | 2962.5 ± 254.6           | ** |
| α 1-AG                     | 181.9 ± 127.4            | 271.3 ± 116.9            |    |

Data expressed as Mean ± S.D.

Significant difference: \*\* p < 0.01

*pneumoniae* による甚急性乳房炎牛における治癒群および廃用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の関係では、総スコアと血清中 Hp 濃度（治癒群： $r = 0.766$ 、 $p < 0.05$ 、廃用群： $r = 0.774$ 、 $p < 0.05$ ）および乳清中 Hp 濃度（治癒群： $r = 0.638$ 、 $p < 0.05$ 、廃用群： $r = 0.801$ 、 $p < 0.05$ ）との間にそれぞれ正の相関を認めた。

*K. pneumoniae* による甚急性乳房炎牛における治癒群および廃用群において両群間で  $p < 0.01$  の有意差がみられた総スコア、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決定した。病態識別値は、総スコア 8（感度 100%、特異度 100%、AZ 値 = 0.927、 $P = 0.0001$ ）、BUN 値 22mg/dL（感度 70.0%、特異度 90.0%、AZ 値 = 0.851、 $P = 0.0190$ ）、血清中 Hp 濃度 2030  $\mu\text{g/ml}$ （感度 100%、特異度 100%、AZ 値 = 0.945、 $P = 0.0001$ ）および乳清中 Hp 濃度 2050  $\mu\text{g/ml}$ （感度

100%、特異度 100%、AZ 値 = 0.966、 $P = 0.0001$ ）が示された。*K. pneumoniae* による甚急性乳房炎牛の初診時の予後判定における 4 項目の病態識別値とそのスコアを Table. 17 に示し、このスコアリングを用いて治癒群および廃用群における 4 項目のスコアとその合計スコアを Table. 18 に示した。*K. pneumoniae* による甚急性乳房炎牛の廃用群における合計スコア（ $3.88 \pm 0.33$ ）が治癒群によるそれ（ $0.38 \pm 0.62$ ）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 であることが示された（感度 100%、特異度 100%、AZ 値 = 0.995、 $p = 0.0001$ ）。

**[考察]**

今回の調査では、*E. coli* および *K. pneumoniae* 乳房炎牛群において、両群間の初診時の臨床症状および血清中および乳清中サイトカイン濃度の有意差は認められなかったが、*K.*

Table 17. Pathological cutoff values and the scores at the initial examination of cows with peracute *K. pneumoniae* mastitis

| Item        | Pathological cutoff value    | Score |
|-------------|------------------------------|-------|
| Total score | < 8                          | 0     |
|             | $\geq 8$                     | 1     |
| BUN         | < 22 mg/dL                   | 0     |
|             | $\geq 22$ mg/dL              | 1     |
| Serum Hp    | < 2030 $\mu\text{g/mL}$      | 0     |
|             | $\geq 2030$ $\mu\text{g/mL}$ | 1     |
| Whey Hp     | < 2050 $\mu\text{g/mL}$      | 0     |
|             | $\geq 2050$ $\mu\text{g/mL}$ | 1     |

Table 18. Initial discriminant scores in recovered and euthanized cows with peracute *K. pneumoniae* mastitis

| Cows with <i>K. pneumoniae</i> mastitis | Number | Score of total score | BUN score            | Serum Hp score       | Whey Hp score        | Total score          |
|---|--------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Recovered group                         | n = 12 | $0.08 \pm 0.27$      | $0.31 \pm 0.46$      | $0.00 \pm 0.00$      | $0.00 \pm 0.00$      | $0.38 \pm 0.62$      |
| Euthanized group                        | n = 8  | $1.00 \pm 0.00^{**}$ | $0.88 \pm 0.33^{**}$ | $1.00 \pm 0.00^{**}$ | $1.00 \pm 0.00^{**}$ | $3.88 \pm 0.33^{**}$ |

Expressed as Mean  $\pm$  S.D.

\*\*  $p < 0.01$ , significant against recovered group

*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 濃度が *E. coli* 乳房炎牛群のそれらと比べて有意に高値を示した。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なることに起因することや、局所循環血液量低下（末梢血管収縮、血管透過性亢進）および酸素拡散能低下（細胞間質液増加）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 [11]。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をみ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 [14]。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 値が増加していることが知られている [13]。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は、全身性炎症による影響により、BUN 値の増加を認めることが報告されている [7, 15]。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 [8]、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 [12]。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確認され、以前の報告 [3, 9] で示された *K. pneumoniae* による甚急性乳房炎の治療率が *E. coli* によるそれよりも低いこととの関連性があるものと考えられた。

ヒトにおける肺炎の診療では、診療時に病原体を検査により特定し、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、種々の分類法が存在する [1, 10, 18]。大腸菌群による甚急性乳房炎の中でも *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、治癒率が低いため [3, 9]、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必要となってくる。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に両群間で有意差が認められた呼吸数、BUN 値、血清中 Hp 濃度および乳清中 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の初診時において①呼吸数が 40 回 / 分以上であること、② BUN 値が 19mg/dL 以上であること、③血清中 Hp 濃度が 2000  $\mu$ g/ml 以上であること、④乳清中 Hp 濃度が 2000  $\mu$ g/ml 以上であること、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が *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有効利用できるものと考えられた。

Wenz らは、大腸菌群による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、第一胃の一分間の蠕動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 [17]。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、乳汁中ブツ等をスコア化し、それぞれのスコアを 4 つの方法により集計し、菌血症および治癒の状況を比較評価している [16]。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によるそれぞれの評価方法の感度および特異度も満足のものではない。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療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調査し、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 濃度が治療群のそれらと比較して  $p < 0.01$  の有意差を認めた。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示し、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以上であること、②BUN 値が  $17\text{mg/dL}$  以上であること、③血清中 Hp 濃度が  $2000\ \mu\text{g/ml}$  以上であること、④乳清中 Hp 濃度が  $1000\ \mu\text{g/ml}$  以上であること、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 100%、特異度 100%、AZ 値 = 0.995、 $p = 0.0001$ ）、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効利用できるものと考えられた。

本研究での *K. pneumoniae* 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 濃度が治療群のそれらと比較して特に大きい有意差を認めた ( $p < 0.01$ )。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示し、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以上であること、②BUN 値が  $22\text{mg/dL}$  以上であること、③血清中 Hp 濃度が  $2030\ \mu\text{g/ml}$  以上であること、④乳清中 Hp 濃度が  $2050\ \mu\text{g/ml}$  以上であること、の4項目のうち3項目以上（予後判定スコア3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 100%、特異度 100%、AZ 値 = 0.995、 $p = 0.0001$ ）、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であるものと考えられた。

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けるスコアリングを用いる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であることが考えられた。これらのスコアリングを利用することで、本病の罹患牛の初診時においてより正確な病態を把握することができ、過剰診療や病状の評価の誤りによる治療方法の失敗を避けることで、酪農家に対して信頼度の高い診療の提供や経済的負担の軽減に貢献できるものと考えられた。

#### [引用文献]

1. Biernawska, J., Zukowski, M., Zegan-Bbranska, M and Zukowska, A. 2009. Cefepim in empiric therapy of ventilator-associated pneumonia. *Anestezjologia Intensywna Terapid.* 41. 242-245.
2. Burvenich, C., Van Merris, V., Mehrzad, J., Diez-Fraile, 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. 日獣会誌, 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. 日獣会誌, 33, 485-489
  6. Hagiwara, K., Kataoka, S., Yamanaka, H., Kirisawa, R and Iwai, H. 2000. Detection of cytokines in bovine colostrum, *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 Ingvarsten, K. L. Gene expression profiling of liver from dairy cows treated intra-mammary with lipopolysaccharide. *Bio Med. Cent. 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. *Antimicrob. Agents Chemother.* 54. 3590-3596.
  11. 小川道雄. 2001. SIRS と CARS. 医学のあゆみ. 196. 3-7.
  12. Pyörälä, 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.

### **Evaluation of Diagnosis in Dairy Cows with Naturally Occurring Peracute Coliform Mastitis**

Keiichi Hisaeda<sup>1)</sup>, Tomoko Imamura<sup>1)</sup>, Katuhisa Sonobe<sup>2)</sup>, Mieko Sugiyama<sup>3)</sup>, Haruki Ihara<sup>1)</sup>, Masanobu Nasu<sup>1)</sup>, Hajime Nagahata<sup>4)</sup>

1) Nanyo Core Veterinary Clinical Center, 2) Touyo Veterinary Clinical Center, 3) Matuyama Veterinary Clinical Center, Ehime Prefectural Federation of Agricultural Mutual Aid Association. 4) Rkuno Gakuen University. (6-247, Age, Nomura-cho, Seiyo-shi, Ehime, 797-1211)