

5. 黒毛和種子牛で発生した銅中毒の再発防止対策

大分県豊後大野家畜保健衛生所、1) 大分家畜保健衛生所
○波津久香織・寺山将平・手島久智・(病鑑) 菅正和・飯田賢
病鑑 大木万由子¹⁾・病鑑 人見徹¹⁾

【はじめに】

銅は牛の体内代謝の調節に必要な微量無機物であり、肉用牛の銅要求量は飼料乾物量当たり4~10ppmとされている(日本飼養標準2008年版)。市販の飼料および飼料添加物(以下、添加物)には銅が微量に含まれていることから、添加物を複数使用している場合はその含有量に注意する必要がある。

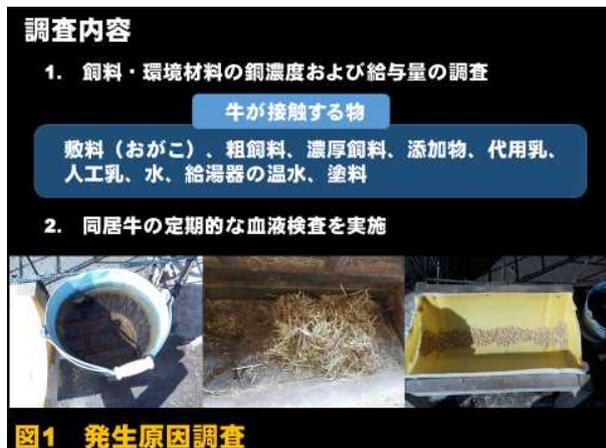
牛の銅中毒の機序は、多くの場合ミネラルミックスや不適切な配合飼料の持続的摂取により肝臓に銅が慢性的に蓄積する長いプロセスの後、肝臓から大量の銅が突然放出し血管内溶血が引き起こされることによって発症する。急性中毒の症状は、腹痛を伴う激しい胃腸炎やショック症状であるが、慢性中毒の症状は元気消失、起立不能、血色素尿、黄疸等を呈し、溶血と関連して突然発症する。今回、管内の黒毛和種繁殖農場において子牛の慢性銅中毒が発生したので、その概要と再発防止対策を報告する。

【発生概要】

発生農場は黒毛和種繁殖雌牛23頭規模の農場で、飼料は自給粗飼料および購入飼料を使用し、飲水は湧水を利用した地区共同の貯水タンクの水を使用している。2021年2月15日に3ヶ月齢の雄子牛が離乳20日後に突然起立不能となり、臨床獣医師によって大脳皮質壊死症を疑い抗生剤、ステロイド剤、チアミン製剤による治療が行われたが2021年2月16日に死亡したため病性鑑定を実施した。

【材料および方法】

死亡した子牛1頭について剖検後、細菌学的検査、ウイルス学的検査、病理組織学的検査および生化学的検査を定法に従い実施した。生化学的検査及び血清中銅濃度の測定は、死亡前日に採材した血液と解剖時に採材した肝臓を用いた。また、飼料及び環境中の銅濃度測定には、敷料(おがこ)、粗飼料、濃厚飼料、添加物、代用乳、人工乳、水桶の水、人工乳の溶解に用いた給湯器の温水を用いた。追跡調査として2021年2月から2021年8月の期間、市場出荷前までの子牛の血清中銅濃度の



測定と血液検査を実施した（図1）。

【検査結果】

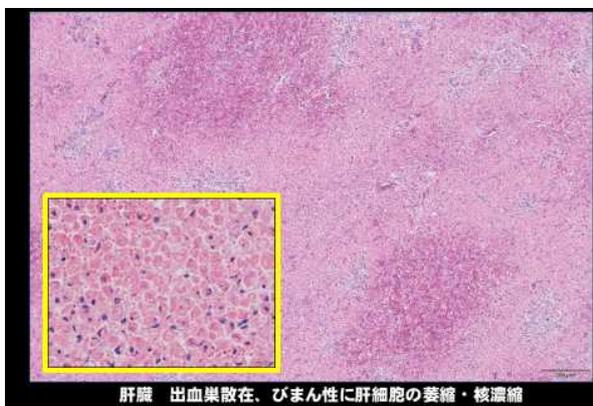
剖検では、皮下織の黄変、胸腺及び心臓に点状出血、肝臓では点状出血及び退色、肺の暗赤色化が認められた（図2）。大脳半球左側部で退色が認められたものの大脳表面および断面の紫外線（365nm）照射による自家蛍光は認められなかった。細菌学的検査では有意菌は分離されず、レプトスピラ属の特異的遺伝子も検出されなかった。ウイルス学的検査では、主要臓器から牛ウイルス性下痢ウイルスの特異遺伝子は検出されなかった。



図2 解剖所見

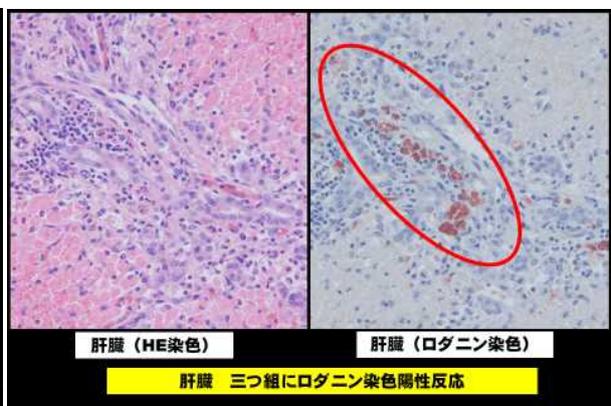
病理組織学的検査では、肝臓の広範囲に肝細胞の核濃縮とびまん性に壊死し、多数の出血巣が認められた（図3）。また、肝の三つ組みで少数のリンパ球および好中球の浸潤、褐色顆粒を貪食したマクロファージが認められ、さらに褐色顆粒は銅を検出するロダニン染色の結果、陽性反応を示した（図4）。

血液検査では、GOT 1,000IU/L以上、GGT 382IU/L、T-bil 2.8mg/dlに上昇し（表1）、銅濃度が肝臓 292.4μg/dl、血清 618.9μg/dlと高値であった（表2）。



肝臓 出血巣散在、びまん性に肝細胞の萎縮・核濃縮

図3 病理組織所見1（肝臓）



肝臓 (HE染色)

肝臓 (ロダニン染色)

肝臓 三つ組にロダニン染色陽性反応

図4 病理組織所見2（ロダニン染色）

| 表1 一般血液検査 血液検査結果 | | | |
|------------------|--------|-----------|----------------------|
| 項目 | 測定値 | 正常値 | 単位 |
| WBC | 370 | 50~100 | ×10 ³ /μl |
| RBC | 1,146 | 600~800 | ×10 ³ /μl |
| Hb | 15.9 | 11~17 | g/dl |
| Ht | 50 | 24~46 | % |
| GOT | >1,000 | 40~80 | U/l |
| GGT | 382 | 10~50 | U/l |
| T-bil | 2.8 | 0.1~1.0 | mg/dl |
| CRE | 12 | 1.0~2.0 | mg/dl |
| CPK | 292 | 10~50 | U/l |
| LDH | >9,000 | 700~1,500 | U/l |

肝機能、腎機能の低下あり

| 表2 銅濃度測定結果 | | | |
|------------|-------|--------|-------|
| 項目 | 測定値 | 正常値 | 単位 |
| 銅濃度（肝臓） | 292.4 | 25~100 | μg/g |
| 銅濃度（血清） | 618.9 | ~150 | μg/dl |

解剖所見、血液検査、病理組織学的検査および生化学的検査の結果から本症例を銅中毒と診断した（図5）。原因究明のため、死亡牛が摂取していた配合飼料（3種）、人工乳、ふすま、粗飼料、添加物（2種）、代用乳および給湯器温水、水桶の水の銅濃度測定及び給与量の調査を実施した結果、配合飼料①

33.9ppm、配合飼料②40.8ppm、人工乳73.6ppm、ふすま3.1ppm、チモシー15.3ppm、添加物①34.1ppm、添加物②786.6ppm、代用乳40.8ppmの銅が検出された（表3）。添加剤②では786.6ppmと、給与している飼料の中では高い濃度の銅が検出されたが、その他の飼料は一般的な銅濃度であった。また、ブリキ製の水桶の水は0.1μg/dlであったのに対し、同じ水源の水を利用した給湯器温水からは38.7μg/dlの銅が検出された（表4）。一日当たりの飼料中銅濃度を算出したところ、生後1ヶ月齢86ppm、2ヶ月齢71ppm、3ヶ月齢60ppmと哺乳期間中で特に高い値であった。病性鑑定マニュアル第4版（2016）では、25ppm以上で銅中毒が疑われるとされており、当該農場では、全ての月齢で25ppm以上の結果となった（表4）。

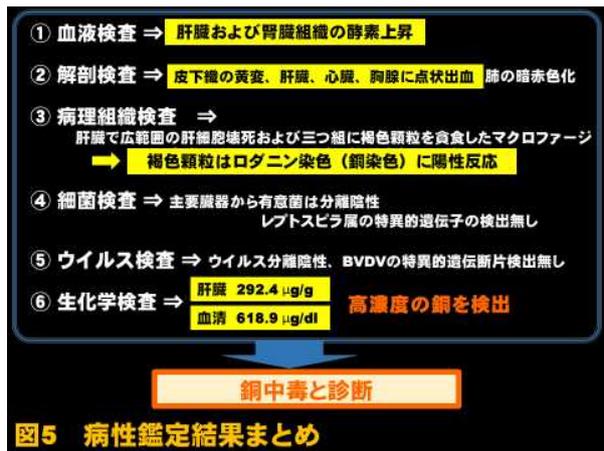


図5 病性鑑定結果まとめ

表3 給与飼料等の銅濃度

| 給与飼料・銅濃度測定結果 | | 推定給与量 (kg) | | | | | | | |
|--------------|-----------|------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 飼料 | 銅濃度 (ppm) | 1ヶ月 | 2ヶ月 | 3ヶ月 | 4ヶ月 | 5ヶ月 | 6ヶ月 | 7ヶ月 | 8ヶ月 |
| 配合飼料① | 33.9 | | | | 2.25 | 2.75 | 3.25 | 3.75 | 4.25 |
| 配合飼料② | 40.8 | | | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 配合飼料③ | NT | | | | | 0.22 | 0.3 | 0.3 | 0.3 |
| 人工乳 | 73.6 | 0.3 | 1.25 | 2.25 | | | | | |
| ふすま | 3.1 | | | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| チモシー | 15.3 | | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 添加物① | 34.1 | | | 0.022 | 0.022 | 0.022 | 0.022 | 0.022 | 0.022 |
| 添加物② | 786.6 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | | | | | |
| 代用乳 | 40.8 | 0.6 | 1.1 | 0.5 | | | | | |
| 飼料の総摂取量 (kg) | | 0.9 | 2.4 | 3.9 | 4.4 | 5.1 | 5.6 | 6.2 | 6.7 |

加えて同居牛11頭の血液検査では血中銅濃度は、51.4~119.2（平均86.7）μg/dlであった。特に123~160日齢の離乳後の子牛において103.7~119.2μg/dlと高値を示した。一方、血液検査では73~123日齢においてGOT 82~145 IU/L、GGT 38~81 IU/Lと高値を示す個体が見られたが、血中銅濃度との相関は見られず関連性は不明であった（表5）。

表4 給与飼料等の1日あたり銅摂取推定量

| 銅濃度測定結果 | | 推定給与量 (kg) | | | | | | | |
|--------------|--------------|------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 飼料 | 銅濃度 | 1ヶ月 | 2ヶ月 | 3ヶ月 | 4ヶ月 | 5ヶ月 | 6ヶ月 | 7ヶ月 | 8ヶ月 |
| 給湯器温水 | 38.7 (μg/dl) | 6.4 | 5.5 | 5.4 | | | | | |
| 桶の水 | 0.1 (μg/dl) | | | | | | | | |
| 飼料の総摂取 (kg) | | 0.9 | 2.4 | 3.9 | 4.4 | 5.1 | 5.6 | 6.2 | 6.7 |
| 銅の総摂取量 (mg) | | 80 | 172 | 237 | 134 | 150 | 167 | 184 | 201 |
| 飼料中銅濃度 (ppm) | | 86 | 71 | 60 | 31 | 30 | 30 | 30 | 30 |

◎ 飼料乾物中 25 ~ 40 ppm を超えると中毒を起こす可能性がある (文献より引用)
 哺乳期間中は上回っている状態

表5 血液検査結果 (同居牛追跡調査)

| No. | 日齢 | 銅濃度 (μg/dl) | GOT (u/l) | GGT (u/l) | 備考 |
|-----|-----|-------------|-----------|-----------|--------|
| 1 | 55 | 88.2 | 76 | 48 | 哺乳中 |
| 2 | 57 | 70.8 | 69 | 34 | 哺乳中 |
| 3 | 73 | 74.4 | 82 | 38 | 哺乳中 |
| 4 | 74 | 76.6 | 119 | 44 | 離乳直後 |
| 5 | 75 | 51.4 | 131 | 81 | 離乳直後 |
| 6 | 123 | 111.5 | 145 | 57 | 解剖牛と同居 |
| 7 | 145 | 119.2 | 76 | 26 | 離乳 |
| 8 | 150 | 105.7 | 64 | 23 | 離乳 |
| 9 | 160 | 103.7 | 61 | 14 | 離乳 |
| 10 | 171 | 72.7 | 60 | 15 | 離乳 |
| 11 | 198 | 78.6 | 76 | 21 | 離乳 |

➢ 4~6ヶ月齢の子牛で軽度血中銅濃度が上昇
 ➢ GOT、GGTの値がやや高い傾向

【再発防止対策および血液モニタリング結果】

これまでの検査結果から、銅中毒の発生要因が飼料等からの過剰摂取および人工乳溶解に使用していた温水に原因があると考え、給与飼料の中で高い濃度を示した添加物②を40g/日から20g/日に減量と銅が検出された給湯器の使用を中止し、水源は同じであるが銅が検出されなかった水栓から水を誘引して瞬間湯沸かし器の新設を指導した。また、出生直後から市場出荷までの子牛の血液モニタリングを実施し、GOTやGGTが高値であった牛について、臨床獣医師へ治療を依頼する連絡体制を取る再発防止対策を実施した（図6）。2021年2月～2021年8月まで延べ検査頭数68頭の血中銅濃度測定と血液検査を実施した結果、瞬間湯沸かし器を新設した2021年3月後の血液検査では血中銅濃度が55.7～97.5μg/dlとなり、さらに添加物給与量調整後の5月には49.2～96.8μg/dlと対策後安定した血中銅濃度を示していた。しかし、瞬間湯沸かし器を新設し半年経過した8月頃から血中銅濃度が101.5μg/dlと上昇を示す個体が見られたことから給湯器の温水の成分調査を実施した（表6）。

要因

- 飼料等からの銅過剰摂取?・・・添加物② 786.6 ppm
- 人工乳を溶解する給湯器の温水から 39.7 μg / dl 検出
- × 環境材料からの検出は通常濃度
- 飲水桶の水：0.1 μg / dl おがこ：19.7 μg / dl

対策

1. 添加物②の減量：40g/日 → 20g/日
2. 給湯器の使用中止：水道水を加熱し使用瞬間湯沸かし器に交換
3. 生後から出荷直前までモニタリング調査を実施
GOT、GGTが高値

↓

臨床獣医師へ治療を依頼
肝保護剤、甘草の投与



瞬間湯沸かし器
給湯器の温水

図6 発生要因の推察と再発防止対策

表6 対策後の血中銅濃度検査結果 (銅濃度：μg/dl)

| 牛No. | 2021/2/25 | | 2021/4/15 | | 2021/5/19 | | 2021/6/22 | | 2021/8/5 | |
|------|-----------|-------|-----------|------|-----------|------|-----------|------|----------|-------|
| | 日齢 | 銅濃度 | 日齢 | 銅濃度 | 日齢 | 銅濃度 | 日齢 | 銅濃度 | 日齢 | 銅濃度 |
| 1 | 198 | 78.6 | 247 | 83.6 | 281 | 77.8 | 出荷 | | | |
| 2 | 171 | 72.7 | 220 | 61.7 | 254 | 63.5 | 288 | 81.8 | | |
| 3 | 160 | 103.7 | 209 | 63.7 | 243 | 54.0 | 277 | 65.9 | | |
| 4 | 150 | 105.7 | 199 | 63.7 | 233 | 54.0 | 267 | 63.6 | | |
| 5 | 145 | 119.2 | 194 | 75.6 | 228 | 63.5 | 262 | 72.7 | | |
| 6 | 123 | 111.5 | 172 | 73.6 | 206 | 61.9 | 240 | 77.3 | | |
| 7 | 75 | 51.4 | 124 | 91.5 | 158 | 52.4 | 192 | 52.3 | 235 | 60.4 |
| 8 | 74 | 76.6 | 123 | 97.5 | 157 | 57.1 | 191 | 63.6 | 234 | 67.3 |
| 9 | 73 | 74.7 | 122 | 87.5 | 156 | 46.0 | 190 | 61.4 | 233 | 53.6 |
| 10 | 57 | 70.8 | 106 | 77.6 | 140 | 74.6 | 174 | 68.2 | 217 | 90.1 |
| 11 | 55 | 88.2 | 104 | 75.6 | 138 | 73.0 | 172 | 63.6 | 215 | 65.0 |
| 12 | | | 72 | 55.7 | 106 | 57.1 | 140 | 75.0 | 183 | 62.7 |
| 13 | | | 57 | 77.6 | 91 | 71.4 | 125 | 97.7 | 168 | 67.3 |
| 14 | | | 5 | 61.7 | 40 | 96.8 | 74 | 97.7 | 117 | 71.8 |
| 15 | | | | | 35 | 49.2 | 69 | 61.4 | 112 | 69.6 |
| 16 | | | | | 30 | 68.3 | 64 | 93.2 | 107 | 85.5 |
| 17 | | | | | 17 | 50.8 | 51 | 68.2 | 94 | 67.3 |
| 18 | | | | | | | 9 | 65.9 | 52 | 101.5 |
| 平均値 | | 86.7 | | 74.8 | | 63.0 | | 72.3 | | 71.9 |

【銅溶出試験結果】

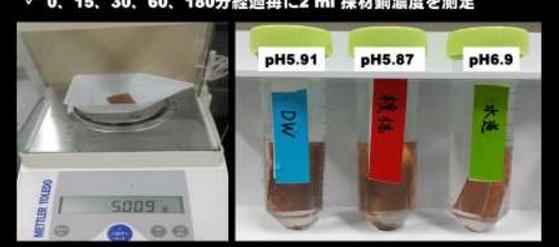
農場の水（以下農場水）はpH5.87の酸性水であった事から、酸性水によって給湯器の銅管が腐食し、銅溶出が起こった可能性が考えられたため銅溶出試験を実施した。材料は農場水 pH5.87、蒸留水 pH5.91 および大分家畜保健衛生所の水道水 pH6.9（以下水道水）を使用し、45mlの水に5gの銅板を入れ、0、15、30、60、180分経過毎に2ml採材し、銅濃度を測定した（図7）。試験開始0分では農場水、蒸留水、水

◆ 銅溶出試験

- ✓ A農場は、pH5.87の酸性水
- ✓ 使用の給湯器は銅管で水を加熱
- ✓ 酸性水による銅溶出を調査するため、銅板からの溶出を経時的に測定

◆ 材料と方法

- ✓ A農場の給湯器温水、pH5.91に調整した蒸留水（DW）、水道水
- ✓ 銅板を5g測り、45 mlの水に入れ振盪
- ✓ 0、15、30、60、180分経過毎に2 ml採材銅濃度を測定



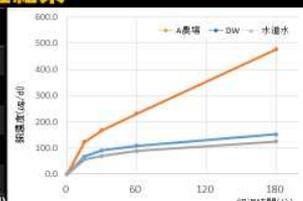
pH5.91 pH5.87 pH6.9

図7 給湯器温湯の銅溶出試験

表7 給湯器温湯の検査結果

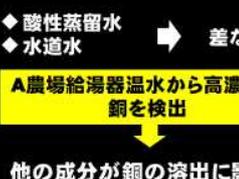
| pH | A農場 (5.87) | DW (5.91) | 水道水 (6.9) |
|------|------------|-----------|-----------|
| 0分 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 15分 | 122.7 | 68.2 | 56.8 |
| 30分 | 168.2 | 90.9 | 70.5 |
| 60分 | 231.8 | 109.1 | 88.6 |
| 180分 | 477.3 | 152.3 | 125.0 |

(μg/dl)





腐食あり



蒸留水



水道水

A農場の温水 蒸留水 水道水

◆ 酸性蒸留水
◆ 水道水 → 差なし

A農場給湯器温水から高濃度の銅を検出

他の成分が銅の溶出に影響？

道水は 0 $\mu\text{g}/\text{dl}$ であったが 15 分後から徐々に銅濃度が上昇し 180 分後には銅濃度が、農場水 477.3 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、蒸留水 152.3 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、水道水 125.0 $\mu\text{g}/\text{dl}$ と蒸留水と水道水は同程度であったものの農場水のみ増加が見られた。実験から 1 ヶ月後には農場水に入れた銅は青く変色が見られた (表 7)。

【農場水の水質検査】

銅溶出試験から、酸性水が銅を溶出しているのではなく、他の成分が疑われたため、水質検査を実施した。その結果、農場水から 96.4 mg/l の硫酸イオンが検出された (図 8)。

【まとめおよび考察】

当該農場では飼育環境に銅製の資材はなく、一日当たりの飼料中銅濃度が哺乳期間で特に高く、中毒が起きやすい状態である事が判明し、再発防止対策として瞬間湯沸かし器の新設や添加物の給餌量見直しを行った。病性鑑定マニュアル第 4 版 (2016) では、25ppm 以上で銅中毒が疑われるとされており、当該農場では、全ての月齢で 25ppm 以上の結果であったが、銅中毒が発生した時期は離乳後であった。疾病発生の一因として、特に高値であった哺乳期間に銅が蓄積し離乳のストレスによって発症したと考えられる。また、他の文献 (Journal of veterinary research, volume 63, 1996) では中毒濃度には幅があるとの報告もある事から、当該農場では離乳以降の発生が見られないのではないかと考えられた。

血液モニタリング調査では時間の経過と共に血中銅濃度が上昇する個体が見られたため、原因調査として銅溶出試験および水質検査を実施したところ、農場水から温泉成分である硫酸イオンが検出された。当該農場が位置する地域は周辺に炭酸、硫酸塩泉が分布しており酸性水が多く湧出している。当該農場を含む地区はその湧水を利用した地区共同の貯水タンクを使用しており給湯器の配管が腐食し修理することが以前より度々あった。今回の水質検査で、農場水から温泉成分である硫酸イオンが検出され、その成分によって給湯器に使用している銅管が腐食し、銅溶出に影響を与えていた可能性が示唆された。また、湧水中に炭酸ガスや硫酸イオンが含まれ、給湯器内部の銅管が炭酸ガスと反応して酸化銅となり、さらに酸化銅が硫酸イオンと反応して、硫酸銅が生成、子牛は硫酸銅を含む温水で溶解された人工乳を給与されていた可能性も示唆された。

今回の調査から銅管を使用している給湯機器では時間の経過と共に銅溶出が起き、銅中毒が発生する可能性が考えられるため、地区の生産者に対し水質検査を実施し、銅湧出が確認された生産者には銅管を使用していない給湯設備への変更を提案している。また、温泉県である本県では同様の症例が発生する可能性が示唆されたため、再発防止及び啓発を進め、関係機関と連携した対策を行いたい。

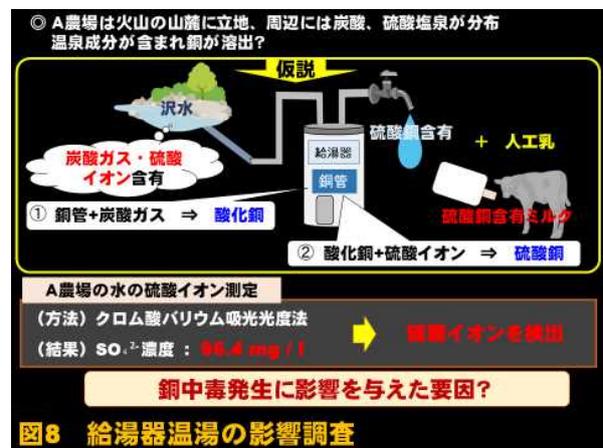


図8 給湯器温湯の影響調査