子牛の有機リン系殺虫剤中毒の発生例

木村良男^{*1)} 岸 善明^{*2)} 中村祥子^{*2)} 吉成博雄^{*2)} 大根田 智^{*1)}

平井清司^{*1)} 佐藤満雄^{*1)} 山中晴通^{*3)}

(昭和 63 年 4 月 15 日受理)

Organic Phosphate Insecticide Poisoning in Fattening Calves

YOSHIO KIMURA (Livestock Sanitary Laboratory, Prefecture of Tochigi, 2634
Tomatouri-cho Utsunomiya, Tochigi 320), YOSHIAKI KISHI, SHOKO NAKAMURA,
HIROO YOSHINARI, SATOSHI OHNEDA, SEIJI HIRAI, MITSUO SATOH
and HARUMICHI YAMANAKA

SUMMARY

In a fattening-cattle farm, fourteen of thirty two calves purchased from a commercial market died. They showed clinical signs of anorexia, ataxia and mucous diarrhoea before death. Insecticide containing 5% fenthion (one of the organophosphorus insecticides) was used in that cowshed. Concentrations of 0.008~0.671 ppm of fenthion were detected in the serum and liver of three affected calves. A concentration of 138 ppm of fenthion was detected in the litter. The cholinesterase activity was decreased in the affected calves. Except for the fatalities, all affected calves recovered in a few day after they were removed to another cowshed.

These results suggest that the calves were affected by fenthion.

要 約

フェンチオンを5%含有する殺虫剤を散布した牛房に、生後2~5週齢のホルスタイン系子牛32頭を市場から導入したところ、全例に食欲不振、元氣消失、脱力感および下痢などの臨床症状が発現し、14頭が死亡した。発症牛の血清、死亡牛の肝臓および牛房の敷藁からはフェンチオンが検出された。また、発症牛の血清コリンエステラーゼ活性は健康牛のそれよりも有意に低値を示した。さらに、発症牛のうち生存していたものを殺虫剤の散布していない牛房に移したところ、2~3日ののちには大部分の牛の臨床症状が好転していることが確認され、その後、同様な症例の発生は認められなかった。

以上のことから、本症例にはフェンチオンが強く関与していたと診断した。

畜産施設で発生する衛生害虫は、家畜に対する直接の加害行動ばかりでなく、畜産公害としてもしばしば問題となる。衛生害虫の発生を防除する手段の一つとして、殺虫剤が応用されている。その中で、有機リン系殺虫剤は現在最も広く使用されている^{1,6)}。初期の有機リン系殺虫剤は毒性が強く、人畜の中毒事故が多発したが、現在ではおもに低毒性のものが使用されるようになり、中毒事故は少なくなった⁶⁾。

今回、著者らは有機リン系殺虫剤の一つであるフェンチオンを5%含有する殺虫剤を散布した牛房で飼養され

ていた子牛に死亡例がみられ、その牛群について病性鑑定を実施したところ、興味ある成績が得られたので報告する。

1. 材 料 と 方 法

1) 調査対象動物

調査対象牛は約600頭を飼養する乳用雄牛肥育專業農家で、1987年7月25日、同30日、8月5日および同10日にそれぞれ8頭ずつ導入された生後2~5週齢の肥育素牛32頭である。これらの子牛は面積約1,000 m² (20 m×50 m)の東西に吹き抜けた開放牛舎内南側の土間に設置された鉄柵製の移動式牛房(約3 m²)にそれぞれ収容された。病性鑑定は8月10日、12日、13日および19日に実施した。

*1) 栃木県家畜衛生研究所 (宇都宮市戸祭町2634)

*2) 栃木県氏家畜保健衛生所 (塩谷郡氏家町草川向2190-4)

*3) 農林水産省家畜衛生試験場 (茨城県つくば市観音台3-1-1)

注) A 列: 7月25日導入 B 列: 7月30日導入 C 列: 8月5日導入
D 列: 8月10日導入 ↓: しきわらの採取 (8月19日) 場所
▲: 死亡牛 ●: 鑑定殺された牛 ○: 死亡しなかった牛
数字は牛番号を表わす。

図1 発生牛舎の概要

2) 細菌検査

下痢便5例 (8月10日採取) について, DHL寒天培地およびラバポート培地により細菌検査を実施した。また, No. 1 (8月10日死亡) および No. 7 (8月12日鑑定殺) の各臓器については, 血液寒天培地を用いて好気培養により細菌の検出を試みた。

3) ウイルス検査

No. 1 および No. 7 の糞便について, 逆受身赤血球凝集反応法に基づく市販のキットを用いてロタウイルス抗原の検出を試みた⁵⁾。さらに, 同じ材料について牛腎精巢細胞および MA 104 細胞を用いて培養を実施した。

4) 病理組織検査

2例 (No. 1, No. 7) の主要臓器を10% 中性ホルマリン液で固定したのち, 型のごとく脱水, パラフィン包埋したのち薄切し, ヘマトキシリン・エオジン染色を実施し鏡検した。

5) 生化学検査

血清の臨床生化学検査は8月12日に採血した No. 7 および No. 8 について実施した。

グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT) 活性はライトマンフランケル法, グルタミン酸脱水素酵素 (GLDH) 活性は紫外外部吸光度法および総コレステロール (TC) 濃度はo-フタルアルデヒド発色法に基づく市販のキットを用いて測定した。また, 尿素態窒素 (SUN)

はジアセチルモノオキシム佐々木変法で, コリンエステラーゼ (ChE) 活性はヘステリン法^{7,11)}で測定した⁴⁾。さらに, 8月13日に採血した7頭についても ChE 活性を測定し, 他農場で飼養されていた, ほぼ同日齢の臨床的に健康な子牛5頭と比較した。

6) 血清, 肝臓および数臓中のフェンチオンの分析^{3,7)}

No. 1 と No. 7 の肝臓, No. 7 と No. 8 の血清および8月19日に3カ所の牛房より採取した数臓を細切し混合したものを試料とした (図1)。

これらの試料はいずれもアセトンにより抽出し, 塩析, ヘキサン・アセトニトリル分配ののち, 含水アルミナカラムによるクリアップを行い, 炎光光度検出機を装着したガスクロマトグラフ (GC 5A 型, 島津製作所) に注入した。キャリアガスは窒素を用い, 分離カラムには 2% OV-1 (クロモソルブ W, 60~80 メッシュ) を 3 mm × 2.0 m のガラス管に充填したものを使用した。

2. 成績

1) 発生状況

調査の対照となった牛群は, 導入直後は臨床的になら異常を認めなかったが, 2~3日後より一様に下痢症状を示し, その後, 元気消失, 食欲不振, 脱力感および粘液性の下痢などの臨床症状が全例にみられた。この間, 抗生剤や補液などの治療を行ったが, 5~20日の経過ののち14頭が死亡した。また, 衰弱が著しく回復の見込みがないと判断されたもの1頭を鑑定殺した。いっぽう, そのほかの牛房で飼養されていた牛群に異常は認められなかった。

畜主はハエなどの衛生害虫の発生を防止する目的で, 有機リン系殺虫剤の一つであるフェンチオンを5% 含有する市販の殺虫剤 (鉱物質を基質とした粒剤) を, 子牛導入前の7月中旬に用手法により当該牛房のみに散布した (約 30~40 g/m²)。また, 導入後も適宜糞便周囲を中心に同殺虫剤の散布を8月18日まで実施していたことが, 稟告より明らかとなった。また, 死亡例は導入日時の早い群, すなわち, 散布回数のより多い群に多くみられた (図1)。

このことから, フェンチオンの関与を疑い当該牛房に収容されていた子牛を, 殺虫剤を散布していない牛房に移したところ, 上記の臨床症状は翌朝から2~3日の後にはほとんどのもので回復した。さらに, その後同様な臨床症状を示すものは認められなかった。

2) 細菌検査

5例の下痢便中にサルモネラ菌は検出されなかったが, 大腸菌数は10⁵~10⁹/gと増加しているものも認められた。いっぽう, 鑑定殺例および死亡例の各臓器からは有意な細菌は分離されなかった。

3) ウィルス検査

細胞培養では、No. 1 で MA 104 細胞に CPE が認められた。また、この材料については、逆受身赤血球凝集反応によりロタウィルス抗原が証明された。

4) 病理組織検査

No. 1 には、以下の変化がみられたが、No. 7 では特筆すべき変化は認められなかった。

肝臓：毛細血管内に胆汁栓形成。

脾臓：中心動脈周囲リンパ濾胞の軽度の腫大。

腎臓：尿細管上皮に褐色色素沈着および髄質における空胞形成と結合織の増生。

心臓：内膜の一部に出血水腫とフィブリン析出および軽度の好中球浸潤。

第四胃：絨毛先端の限局性壊死。

小腸：粘膜上皮の変性壊死，固有層の出血水腫およびパイル板の軽度な萎縮と細胞減数。

大腸：粘膜上皮の変性剥離および固有層の充血。

5) 生化学検査

2 例の GOT 活性および GLDH 活性，ならびに No. 8 の SUN 濃度は高値を示していた。いっぽう，発症牛の

表 1 血清生化学検査所見

牛 No.	KU/ml GOT	U/l GLDH	ChE	mg/dl	
				TC	SUN
7	89.5	7.1	0	85.1	13.3
8	76.5	10.6	0.085	104.8	51.8

表 2 発症牛と健康牛の血清コリンエステラーゼ (ChE) 活性

発 症 牛		健 康 牛	
牛 No.	ChE 活性	牛 No.	ChE 活性
9	0.21(3)	101	0.34
11	0.12(8)	102	0.24
12	0.13(8)	103	0.19
13	0.05(14)	104	0.15
14	0(14)	105	0.25
15	0(19)	—	—
16	0.02(19)	—	—
平 均	0.075*		0.234**
95%信頼限界	0.073		0.088

注) ()内は導入から採血までの日数。*～**間に有意差あり (P<0.01)

表 3 血清，肝臓および敷薬中のフェンチオン濃度

牛 No.	血 清	肝 臓
1	—*	0.671**
7	0.158	0.056
8	0.008	—
敷 薬		138**

注) *：測定せず **：ppm

ChE 活性の平均値は健康例よりも低値であり，各個体の比較では，導入後の経過日数の長いものほど低い傾向を示した。

6) 血清および肝臓ならびに敷薬中のフェンチオンの分析

No. 1 と No. 7 の肝臓中にはそれぞれ，0.671 ppm および 0.056 ppm，また，No. 7 および No. 8 の血清中には 0.158 ppm および 0.008 ppm のフェンチオンが検出された。

いっぽう，当該牛房の敷薬からは 138 ppm のフェンチオンが検出された。

3. 考 察

本症例の発生した牛房の敷薬および死亡牛や鑑定殺例の血清および肝臓からはフェンチオンが検出された。このことから，子牛がフェンチオンと接触し，フェンチオンを吸収していたことが証明された^{6,10)}。

有機リン系殺虫剤による中毒は，ChE 活性が阻害されることによりアセチルコリンの蓄積を生じ，おもに，コリン作動性神経の興奮症状を発現するものとされている^{4,6-8,10,11)}。本症例でみられた脱力感や粘液性下痢便の排泄などの臨床症状は，有機リン系殺虫剤中毒のそれに類似していた。また，牛房を変更したあとで，臨床症状の改善することが観察されたが，これはフェンチオンとの接触を断ったことにより，フェンチオンの吸収が中断されたことによるものと考えられる。

一般に有機リン系殺虫剤の動物体内からの消失速度は速く⁷⁾，耐過したものでは，本剤の摂取が継続されないかぎり，大部分のものが回復するとされている^{6,10)}。こうしたことから，本症例でみられた臨床症状は，フェンチオンが関与していたことを示唆するものであろう。

本症例の原因となった殺虫剤は鉍物質を基質とした粒剤で，散布後徐々に有効成分のフェンチオンが滲出し，殺虫効果を発揮する。また，フェンチオンは酸やアルカリに対する安定性は比較的高い⁷⁾。こうしたことから，本殺虫剤の蚊や蠅の幼虫に対する殺虫効果は散布後20～30日以上持続する(メーカー提供資料)。他方，有機リン系殺虫剤は，経口，経皮および吸入といずれの経路でも吸収されやすい^{8,11)}。発症牛は殺虫剤の散布された牛房内で飼養されていた。また，その牛房は鉄柵製で，隣接する子牛はたがいに容易に接触可能であった。子牛は自身の体表またはたがいの体表をなめる習性や比較的新鮮な敷薬を摂取する習性がある。これらのことから，発症牛は皮膚や敷薬に付着したフェンチオンを，導入後，経口あるいは経皮より継続的に吸収していたことは容易に理解できる。

いっぽう，発生のみられた牛舎は解放牛舎で，換気状況は良好であり，フェンチオンの揮発性も低い(メーカ

一提供資料) ので, 吸入によるフェンチオンの吸収は比較的少なかったものと考えられた。

下痢便の細菌検査では大腸菌の増加が認められ, ウイルス検査では1例でロタウイルス抗原が検出された。臨床症状の一つに下痢がみられたが, これらの細菌やウイルスが病勢に関与していたことも推察される。

病理組織検査では, 1例の諸臓器に変化がみられたが, 死後変化のあることや, 他の例ではそうした変化はみられず, フェンチオンを摂取したことによるものと断定することはできない。

医療における血清 ChE 活性の測定は, 肝臓機能検査の一つとして応用されている²⁾。また, 有機リン系殺虫剤中毒の場合でもその活性は低下することから, 有力な診断法の一つとして認識されている^{6-8, 10, 11)}。牛の場合でも, 血清 ChE 活性の測定はほぼ同様な意義を有するものと思われるが, 牛の血清 ChE 活性は健康例でも低値で, その測定値からはヒトの場合ほど明確な情報は得られないと考えられている⁹⁾。しかし, 本症例における発症牛の本酵素活性の平均値は健康例よりも低値を示し, さらに, 導入後の日数の多いものほど低値であった。これは, フェンチオンを摂取したことによるものと考えられた。

いっぽう, 血清の生化学検査では, GOT 活性, GLDH 活性およびSUN濃度の上昇しているものが認められた。これらの変化は, 肝臓や腎臓に障害のあることを示唆するものであろう。また, 導入に伴う輸送や環境の変化などのストレスは体力を低下させるとされている。こうした肝臓や腎臓の機能障害に基づく解毒機能や排泄機能の低下および体力の低下は, 有機リン系殺虫剤に対する感受性を高めるものと考えられている^{1, 10)}。さらに, PALMER⁹⁾は幼若な子牛の有機リン系殺虫剤に対する感受性は4~6カ月齢のものよりも高いことを報告している。本症例における発症牛はすべて2~5週齢であったが, こうしたことも被害をより大きくした一因であると考えられた。

本症例は有機リン系殺虫剤の誤った使用方法に起因す

るものである。有機リン系殺虫剤は, それぞれの残効性により毒性が異なる⁹⁾。今回のように, 残効性のすぐれた殺虫剤ではとくに注意が必要である。また, 幼若な動物の有機リン系殺虫剤に対する感受性は高い^{1, 9, 10)}ことも配慮しなければならない。

畜産施設で殺虫剤を使用する際には, ほとんどのものは家畜にとって有害であることを認識し, 可及的に家畜との接触を避けるような使用方法をとることが, 中毒防止上重要であろう。

本症例の病性鑑定を実施するにあたり, ご助言を賜った農林水産省家畜衛生試験場総合診断部生化学研究室・長沢成吉室長, ならびに同動物医薬品検査所検査第2部残留化学検査室・佐々木信夫室長に深謝します。また, フェンチオンの定量に際して, ご指導を賜った栃木県衛生研究所・吉沢朋子主任研究員に謝意を表します。

引用文献

- 1) ABDELSALAM, E. B.: *Vet. Bull.*, 57, 441~448 (1987).
- 2) 藤沢 洵: 臨床病理, 特集第67号, 42~50 (1986).
- 3) 後藤真康, 加藤誠哉: 残留農薬試験法, 初版, 104~105, ソフトサイエンス社, 東京 (1980).
- 4) 飯塚三喜: 牛病学, 大森常良ほか編, 第1版, 914~915, 近代出版, 東京 (1980).
- 5) 真壁朝光: 地域農業の新技術, 3号, 122~129, 農林水産省農業研究センター, 茨城 (1987).
- 6) 長沢成吉, 飯塚三喜: 豚病学, 熊谷哲夫ほか編, 第2版, 623~628, 近代出版, 東京 (1982).
- 7) 日本薬学会: 薬毒物化学試験法注解, 日本薬学会編, 第2版, 271~286, 南山堂, 東京 (1982).
- 8) 大川徳太郎: 家畜中毒学, 初版, 209~240, 文永堂, 東京 (1964).
- 9) PALMER, J. S., ROWE, L. D. and CROOKSHANK, H. R.: *Am. J. Vet. Res.*, 41, 1323~1325 (1980).
- 10) RUE, J. and DONALD, R. M.: *Diseases of Feedlot Cattle*, 3rd ed., Lea and febiger Ltd., Philadelphia (1979).
- 11) 内山 充: 裁判化学, 吉村英敏編, 第1版, 257~271, 南山堂, 東京 (1983).