

## 牛における銅の毒性試験

誌名	農林水産省家畜衛生試験場研究報告
ISSN	03882403
著者	林, 光昭 小倉, 幸子 村田, 英雄 佐伯, 隆清 勝屋, 茂實 中村, 菊保 伊出, 優 小原, 嘉昭
巻/号	91号
掲載ページ	p. 25-32
発行年月	1987年12月

# 牛における銅の毒性試験

林 光昭<sup>1</sup>、小倉 幸子<sup>2</sup>、村田 英雄<sup>3</sup>、佐伯 隆清<sup>4</sup>、  
勝屋 茂實<sup>5</sup>、中村 菊保<sup>6</sup>、伊出 優<sup>7</sup>、小原 嘉昭<sup>8</sup>

(昭和61年8月29日受付)

体重106~295kgのホルスタイン種子牛7頭を用い、硫酸銅、塩化銅、酢酸銅、グリニン銅を経口、皮下、静脈内投与し、牛に対する銅の有害作用を調べた。

硫酸銅を用いて12~51 mg.Cu/kg.BWの2~3か月間の経口投与では、肝の銅蓄積量は1,000 ppm (DM) 以下で、臨床上的変化も全く出現しなかった。その間の1日増体量は極めて良好で1,036 gであった。しかし、255 mg.Cu/kg.BWの経口投与では2日後にへい死した。

グリニン銅では、20 mg.Cu/kg.BW経口投与で、2日後に牛はへい死した。しかし、グリニン銅及び酢酸銅の2~6 mg.Cu/kg.BWの経口投与5か月間でも肝の銅蓄積量は1,000 ppm (DM) 以下であった。

これらの銅の皮下注射では、肝の銅含量は急速に増加したが、硫酸銅の51 mg.Cu/kg.BWの皮下注射では、9時間後にへい死した。塩化銅の0.1~0.3 mg.Cu/kg.BWの6か月間の皮下注射では、肝の銅含量は5,292 ppm (DM) に達し、血中銅の上昇と、ALP, BUNの低下がみられた。しかし、慢性銅中毒の所見は認められなかった。

近年、社会環境上、重金属による汚染が種々問題となっている。銅についても産業廃棄物などによる汚染ばかりでなく、養豚飼料への銅添加、羊の脚浴、硫酸銅含有薬剤の使用や、それらによる家畜の飼料や放牧地の銅汚染も軽視できない時代となっている。

このような背景の下に、環境庁の重金属関係調査研究の一環として、牛に対する銅の有害作用について検討を行った。なお、本研究は昭和55~57年にわたって実施したものである。

試験は、牛に数種の銅化合物を長期間にわたって投与し、その間、臨床生化学的観察を続け、牛に対する

投与銅量とその効果との関係及び銅中毒の早期診断法の検討を目的に行ったものである。

## 材料と方法

試験開始時、体重106~295 kgのホルスタイン種子牛7頭を用いた(表1)。これらの供試牛は、舎飼いで、ハイキューブ主体の自由採食、自由飲水条件下で飼養された。銅投与の詳細は表1に示すが、硫酸銅、塩化銅、グリニン銅、酢酸銅を0.1~255 mg.Cu/kg.BW(体重)の投与量で、随時、成長に伴う体重増加の補正を行いながら投与した。

当初、試験Ⅰとして3頭(牛Nos. 1, 2, 3)の牛を用い、臨床症状の発現を指標に、硫酸銅の経口投与を2~3か月間行ったが、異常所見の出現が認められなかったので、試験Ⅱ(牛Nos. 4, 5, 6)として投与量の増量と、非経口投与の試み、さらに、吸収率の良い有機態のグリニン銅、酢酸銅の投与を行った。また、試験Ⅲ(牛No. 7)として、塩化銅の長期間の皮下投与も行った。

投与期間中は、臨床観察、定期的採材による血液生化学的検査、肝臓穿刺による肝臓銅蓄積量を、また試験終了時には剖検し、常法による病理組織学的検査と組織銅沈着量を調べた。

- 1 Mitsuki HAYASHI: 農林水産省家畜衛生試験場研究第四部(現在、同場北海道支場、〒004 北海道札幌市豊平区羊ヶ丘4)
- 2 Yukiko OGURA: 同上(現在、同場北陸支場、〒945-03 新潟県柏崎市松波4-7-18)
- 3 Hideo MURATA: 同上(現在、同場総合診断研究部、〒305 茨城県つくば市観音台3-1-1)
- 4 Takakiyo SAEKI: 同上(現在、同場研究第二部)
- 5 Shigemi SHOYA: 同場研究第三部(現在、ASEAN Poultry Disease Research and Training Project, % Veterinary Research Institute, P.O.Box 369, 59 Tiger Lane, Perak, 31400 Malaysia)
- 6 Kikuyasu NAKAMURA: 同上(現在、同場鶏病支場、〒501-32 岐阜県関市倉知4909-58)
- 7 Yu IDE: 同場研究第四部(現在、麻布大学、〒229 神奈川県相模原市淵野辺1-17-71)
- 8 Yoshiaki OBARA: 同上(現在、農林水産省畜産試験場、〒305 茨城県稲敷郡基崎町池の台2)

検査項目は次のごとくであった。

血液学的検査：赤血球数，白血球数，ヘマトクリット値，メトヘモグロビン率，赤血球膜抵抗性，ハインツ小体。臨床生化学的検査：血清蛋白（屈折計法），セルロプラスミン<sup>®</sup>，ビリルビン，尿素態窒素，無機リン（以上比色法），Ca, Mg, Na, K, Cu, Fe, Zn（以上，原子吸光法，炎光法），コルチゾール（RIA法）。血清酵素：GOT, GPT, LDH, ALP, SDH, グルタチオンパーオキシダーゼ。尿及び被毛中銅含量，尿定性検査。

## 結果

表1に示すように，試験Ⅰでは牛Nos. 1, 2, 3について，それぞれ12.0, 17.7, 21.4 mg.Cu/kg.BW（以下mg.Cuと略）の結晶硫酸銅を飼料に混じ，連日給与した。41日間の観察で臨床的变化も，肝臓の銅蓄積量（図1，乾物中 ppm；ppm/DM）の増加も認められなかった。

そこで，引き続き牛No. 1には水溶液として硫酸銅をほぼ同量（12.0及び12.8 mg.Cu）35日間，その後，倍量の25.5 mg.Cuを7日間投与した。牛No. 2には水溶液として21.4 mg.Cuを10日間，25.5 mg.Cuを7日間投与し，牛No. 3には結晶のままで42.9 mg.Cuを10日間，51.0 mg.Cuを16日間経口投与した。投与量を増加した後10日目すなわち最初の経口投与開始51日目には肝臓の銅含量は急増して，それぞれ879, 818, 864 ppm（DM）となった。しかし，その後，牛No. 2は事故死したが，牛No. 1及びNo. 3では1か月後の肝臓銅量の増加は著明でなく，臨床的变化も認められなかった。

そこで，大量投与試験を行うための予備実験として牛No. 1に2倍量（51 mg.Cu）を経口投与したところ，2日目から5日間にわたって，食欲の減退が認められた。しかし，耐過のしるしがみられたので，同量の銅を皮下注射したところ，3時間後に起立困難となり，9時間後にへい死した。剖検では，肝臓に限局性混濁病巣，腎臓に小膿瘍が認められ，胃内容は脱水硬化し，第四胃粘膜は充血著明であった。組織学的には，肝臓における軽度の小葉中心性肝実質変性，腎臓間質における円形細胞浸潤，及び脾臓胚中心の疎性化が認められた。

また，No. 3には，硫酸銅の結晶及び水溶液で51 mg.Cuに増量して24日間投与の後，5倍量（255 mg.Cu）の水溶液を経口投与したところ，2日目に急死した。剖検では，第四胃幽門部から小腸，大腸にか

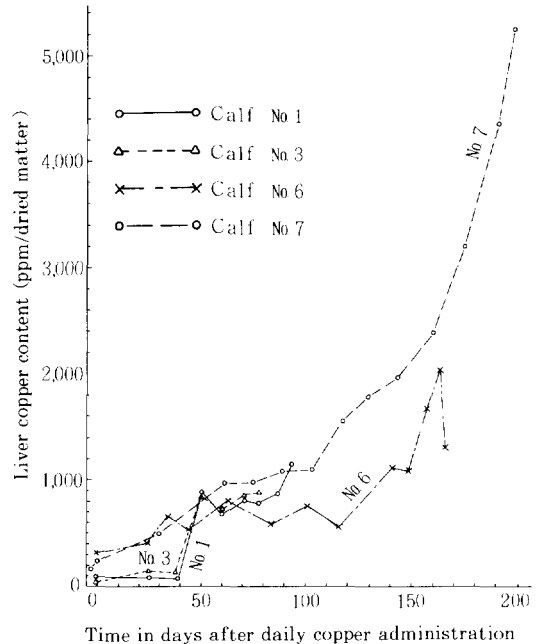


Fig. 1. Changes in liver copper content in calves following daily administration with copper.

けて輪状の出血斑がわずかに認められたほか，小腸粘膜の充血が著しかった。組織学的には軽度の小葉中心性肝細胞壊死，腸粘膜の出血，軟骨内骨化部の限局性壊死などが認められた。

これらの供試牛Nos. 1, 2, 3は，試験期間中いずれも体重の増加は順調で，56日間の平均1日増体量は1,036 gであった。最後に行った銅の大量投与の直前までは臨床的にも異常は認められなかった。

牛Nos. 1, 2, 3の組織銅蓄積量（表2）は，肝臓及び銅の排泄経路である胆汁あるいは胃粘膜で著しく高い値であった。肝臓の銅蓄積量は，剖検時に，それぞれNo. 1：1,162, No. 2：882, No. 3：878 ppm.Cu（DM）であった。

試験Ⅰで，硫酸銅の長期にわたる投与によっても肝臓の銅蓄積が著明でなかったことから，試験Ⅱとして有機態であるグリシン銅，酢酸銅の投与を試みた。グリシン銅0.4 mg.Cuを水溶液として，牛No. 4に経口投与した。75日間の投与で，肝臓の銅蓄積量は451 ppm（DM）であったので，酢酸銅を1.0及び5.0 mg.Cuと増して経口投与したが変化がみられず，0.5 mg.Cuを1日2回と翌日1回の計3回静脈内投与したところ，その翌日に急死した。剖検では，肝臓の小葉周辺性黄色

Table 1. Summary of experimental toxic activities of copper in calves

Experi- ment No.	Calf No.	Cuprous and cupric compounds	Route of administration	Dose of copper administration ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ of Cu)	Duration of copper administration (chemical form)*1	Termination	Body weight (kg)	Plasma copper ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )	Liver copper (ppm/DM)*2
I	1	Copper sulfate	oral	12.0	(cry.) ... 41 days	alive	106	153	(86)
		"	"	"	(sol.) ... 10 "	"	"	"	"
		"	"	12.8	( " ) ... 25 "	"	"	"	"
		"	"	25.5	( " ) ... 7 "	"	"	"	"
		"	"	51.0	( " ) ... 5 "	"	"	"	"
II	2	"	s.c.	"	( " ) ... 1 time	died	190	183	1,162
		"	oral	17.7	(cry.) ... 41 days	alive	108	140	(145)
		"	"	21.4	(sol.) ... 10 "	"	"	"	"
		"	"	25.5	( " ) ... 7 "	accidental death	171	91	882
		"	oral	21.4	(cry.) ... 41 "	alive	119	141	(50)
III	3	"	"	42.9	( " ) ... 10 "	"	"	"	"
		"	"	51.0	( " ) ... 16 "	"	"	"	"
		"	"	"	(sol.) ... 7 "	"	"	"	"
		"	"	255.0	( " ) ... 2 "	died	188	144	878
		"	oral	0.4	(sol.) ... 75 days	alive	276	85	(196)
IV	4	Copper glycinate	oral	0	( " ) ... 16 days	"	313	80	557
		Copper acetate	"	1.0	( " ) ... 1 time/8days	"	"	"	"
		"	i.v.	5.0	( " ) ... 1 " / 3days	"	"	"	"
		"	"	0.5	( " ) ... 2 times/day	"	"	"	"
		"	"	"	( " ) ... 1 time/day	died	"	"	"
V	5	Copper glycinate	oral	20.0	( " ) ... 2 days	died	235	99	354
		Copper glycinate	oral	2.0	( " ) ... 18 days	alive	254	88	(308)
		"	"	4.0	( " ) ... 32 "	"	"	"	"
		"	"	6.0	( " ) ... 25 "	"	"	"	"
		"	"	"	( " ) ... 7 "	"	"	"	"
VI	6	Copper acetate	"	"	( " ) ... 9 "	"	"	"	"
		Copper chloride	s.c.	0.3	( " ) ... 30 days(1 time/2 days)	"	"	"	"
		"	"	0.1 or 0.3	( " ) ... 18 " (daily)	killed	311	84	1,303
		Copper chloride	s.c.	0.2	(sol.) ... 2 days	alive	295	50	(228)
		"	"	0.1	( " ) ... 82 " (4 times/week)	"	"	"	"
VII	7	"	"	0.15	( " ) ... 70 " (daily)	"	"	"	
		"	"	0.2	( " ) ... 4 " ( " )	"	"	"	
		"	"	0.3	( " ) ... 29 " (20 times)	killed	382	99	5,292

\*1 cry. : crystal, sol. : solution

\*2 The number in parentheses indicates the preadministration value.  
DM : dried matter

化と中心性充血（ニクズク肝）、心外膜及び心内膜の出血、小腸粘膜の点状ないし斑状出血などが認められ、組織学的には肝臓における充出血を伴った小葉中心性壊死、心筋及び腸粘膜固有層における血管壁変性と出血などが認められた。

牛No. 5は、グリシン銅20mg.Cuの経口投与2回で、その2日後に急性症状を呈してへい死した。剖検では、ニクズク肝が認められたほか、第三胃から回腸にかけて粘膜の充血とカタル、心内、心外膜の斑状出血及び肺の出血と肺炎が認められた。組織学的には、肝臓における充血を伴った小葉中心性壊死、脾臓肝中心の疎性化と壊死、腸粘膜の出血などが認められた。肝臓の銅量は354 ppm (DM) で、投与前値の169 ppm (DM) に比べわずかな増加に過ぎなかった。

牛No. 6では、2 mg.Cuのグリシン銅の経口投与で試験を開始し、肝臓銅蓄積量を測定しながら4、6 mg.Cuと次第に増量投与した。しかし、図1に示すように、肝臓銅量は著明には増加しなかったため、銅沈着を促進させるため、投与方法を皮下注射に切り変えた。その結果、0.3あるいは0.1 mg.Cuの酢酸銅と塩化銅の皮下注射48日間、肝臓の銅蓄積量は図1に示すように2,057 ppm (DM) に達した。しかし、臨床的には異常を示さなかったため剖検に供した。肉眼的には、腎臓における灰白色網目状病巣のほか著変は認められず、組織学的には腎臓間質における円形細胞浸潤が認められたのみであった。

試験Ⅰ、Ⅱの結果、牛では銅の経口投与によって、慢性銅中毒を発現するほど、肝臓の銅沈着量を高めるには、相当長期間を必要とすること、また、皮下注射は比較的速やかに肝臓の銅蓄積量を増加させることなどが明らかとなった。

そこで、牛No. 7を用い当初から塩化銅による皮下注射を行った。牛の状態と肝臓の銅蓄積量を勘案しながら、0.1~0.3 mg.Cuを、連日あるいは4~6回/週皮下注射で187日間投与を行った。その間の肝臓の銅蓄積量の経過は図1に示した。最終的には5,292 ppm.Cu (DM) に達したが、認むべき臨床的变化は出現せず、剖検結果にも、著明な変化を認めなかった。しかし、図2に示すように他の個体では変化の認められなかった血漿銅の漸増と、ALP, BUNの漸減が認められた。

試験終了時の各組織内銅含量は表2のように、肝臓における沈着が最も著明で、次いで腎臓、心臓の順であった。胆汁中に高濃度に認めた例もあった。銅投与期間中の血漿銅の上昇は、No. 7を除いては認められなかった。

血液所見、血液成分については、いずれも急性死の1~2日前までは異常な所見は認めなかった。

その他、本試験で得られた特記すべき所見としては、硫酸銅の経口投与（牛Nos.1-3）開始とともにみられた、糞性状の硬化と増体量の向上がある。

Table 2. Cumulative copper concentration in tissues of calves following administration with copper

Calf No.	1	2	3	4	5	6	7
Liver (ppm/DM <sup>*1</sup> )	1,162	882	878	557	354	1,303	5,292
Kidney ( " )	288	144	21	125	278	19	23
Heart ( " )	32	114	14	22	18	17	16
Lung ( " )	81	181	7.0	13	16	8.3	7.8
Spleen ( " )	98	5.2	7.3	22	15	4.9	4.8
Pancreas ( " )	129	-	-	9.7	10	4.3	11
Muscle ( " )	7.1	9.3	1.8	4.0	4.1	2.4	1.9
Rumen, mucosa ( " )	74	420	13,676	9.5	35	9.2	-
Duodenum, mucosa ( " )	57	70	21	16	12	8.6	5.3
Bile (µg/dl)	518	386	3,278	14	21	41	3,130
Serum ( " )	183(0) <sup>*2</sup>	91(3)	144(1)	80(2)	99(4)	84(0)	99(0)
Duration of copper administration(days)	92	59	77	105	2	155	195

\*1 dried matter

\*2 The number in parentheses indicates the time in days when a sample were collected before the animal died or was killed.

## 考察

一般に、銅に対する感受性は、動物種間で差が大きく、単胃動物に比べ反芻動物では感受性が大きく、特に羊は感受性が大きい。しかし、牛は羊やヤギに比べて比較的抵抗性が大とされている<sup>7,12,15,16)</sup>。我が国でも、羊の銅中毒についてはいくつかの報告<sup>1,4,11)</sup>がみられるが、牛についてはこれまで報告をみない。しかし、諸外国においては少なからぬ牛の銅中毒例の報告<sup>7,10,12,15)</sup>がある。

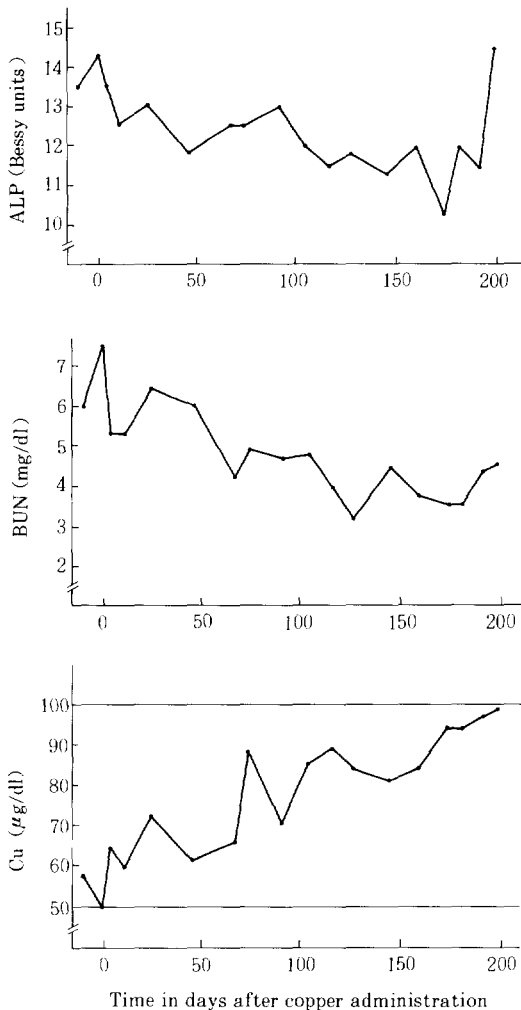


Fig. 2. Changes in plasma copper (Cu), alkaline phosphatase (ALP) and urea nitrogen (BUN) levels in calf No. 7 following daily administrations with copper.

元来、家畜、特に羊の典型的慢性中毒の発現は、長期にわたり過剰の銅摂取が続き、吸収された銅が主として肝臓に蓄積して、肝臓の銅結合能を越えたとき<sup>12)</sup>、あるいはある種のストレスを被ったとき<sup>7)</sup>などに肝臓から一気に血中に銅が放出され血管内溶血をもたらす、最終的にはヘモグロビン血症に由来する腎障害でへい死するとされている<sup>6)</sup>。このような例でも、発症の24~48時間前までは、肝臓の銅含量が異常に高くとも、血中の銅濃度は正常範囲内である。また、発症の6~8週間前からGOTなど肝臓関連酵素の上昇することが知られている<sup>7)</sup>。一方、大量の銅摂取による急性障害では、肝臓あるいは血中の銅量に変化を示さないまま、激烈な胃腸障害によって急性経過で死に至るものとされている<sup>3,7)</sup>。

一方、銅の腸管からの吸収が、共存する重金属元素の種類や量によって大きく左右されること<sup>7,15)</sup>、あるいは基礎飼料の種類や年齢によっても異なることが知られている<sup>7,12)</sup>。さらに、生体側の要因として肝臓機能の障害<sup>7,12)</sup>やストレス<sup>7)</sup>も発症促進因子とされている。

銅中毒の発症機序には、これらの多くの因子が関与していることが知られているが、今回の牛での試験では、各種の銅化合物の大量、長期間の投与にもかかわらず、溶血を伴う慢性銅中毒の所見はもちろん、血液形態学、臨床生化学、酵素化学的にも急性死の直前までは、全く異常は観察されなかった。

銅の慢性中毒発現の最大の指標と考えられている肝臓の銅蓄積量については、羊の発症例では1,000 ppm (DM) という例<sup>3,15)</sup>、150 ppm (wet weight) 以上は危険レベルとする報告<sup>7)</sup>、ときには4,000~5,000 ppm (DM) にも達する例も示されている。しかし、比較的銅耐性の強い牛の発症例では、1,750, 2,300 ppm (DM)<sup>8)</sup>、1,250~2,410 ppm (DM)<sup>10)</sup>、1,500~2,300 ppm (DM)<sup>14)</sup>などの報告があり、発症条件により大きな幅が存在するものと考えられている。それ故、今回の試験では、肝臓銅量が5,292 ppm (DM) という極めて高含量に達しても発症がみられなかつた例のあったことから、銅中毒の発症は、単に、肝臓の銅蓄積量のみには依存しているものではなく、何らかの他の発症要件の存在を必要とするものと考えられた。しかし、急性死に至るまでは臨床的变化に乏しいため、牛における慢性銅中毒を予測するための指標としては、やはり肝臓の銅蓄積量を測定する以外にないものと思う。

今回の経口投与試験では、2～3か月間の投与期間では、肝臓の銅量は1,000ppm(DM)を越えるものもなく、症状の発現するものも無かった。牛の慢性中毒例での銅の摂取期間は、子牛で10週<sup>9)</sup>、2か月<sup>2)</sup>、乳牛で5か月<sup>14)</sup>、6か月<sup>10,13)</sup>の報告があり、経口摂取による肝臓における銅の障害誘起量の蓄積には相当の長い期間を必要とするものと思われた。

一方、皮下投与を187日間にわたって続けた牛No. 7では、他の例と異なり、血中銅の漸増を伴って、肝臓の銅含量も5,000ppm(DM)を越えるまで上昇した。しかし、他の例と同様に、典型的な慢性銅中毒の症状は発現するには至らなかった。これは、牛の銅耐性の強さばかりでなく、非経口投与による胃腸管粘膜への銅イオンの刺激の欠如なども関与している可能性が考えられた。

急性障害と銅量との関係では、経口的な硫酸銅水溶液の投与では、51mg.Cuまではほとんど影響がみられなかったが、5倍量の255mg.Cuの2回投与は致死的であった。通常、硫酸銅の中毒量は、羊で20mg.Cu/kg<sup>3)</sup>、子牛では羊に近いが、成牛では200mg.Cu<sup>3)</sup>あるいは1頭当たり硫酸銅約300g相当で発症<sup>5)</sup>、また、ラットでは244mg.Cu<sup>16)</sup>とされている。

今回の若牛での成績も、ほぼこれらの成牛やラットの中毒量に近似したものと考えるが、グリン銅では、その1/10以下の20mg.Cuで致死的であり、肝臓の銅蓄積量の増加からも、有機態銅の高い吸収率と危険性がうかがわれた。

組織学的に、グリン銅を静脈内投与した牛No. 4及び経口投与した牛No. 5では、いずれも肝臓全域に及ぶ比較的強い病変が認められ、充出血を伴った小葉中心性壊死を特徴としていた。一方、硫酸銅の大量を経口投与して急死した牛No. 3では肝臓に軽度の小葉中心性壊死を認め、また硫酸銅の皮下注射で9時間後にへい死した牛No. 1では、軽度の小葉中心性肝細胞実質変性が認められたに過ぎず、明らかにグリン銅の肝細胞障害性が高かった。

羊では、銅中毒の発症に先がけて、肝臓の細胞壊死が、また溶血発作時に肝臓の広範な巣状壊死が起こるといい<sup>15)</sup>、慢性銅中毒死した乳牛でも、肝臓の充血、腫大、退色と全葉に及ぶ壊死が認められている<sup>10)</sup>。また、羊で、銅投与による溶血発作6週前に、肝細胞壊死が、主として小葉中心性に認められ、溶血発作時には巣状壊死が認められている<sup>15)</sup>。

これらのことから、今回の実験牛の肝臓に認められ

た壊死性病変は、個体により強弱はあるが、いずれも銅中毒によるものと考えられ、投与方法が種々異なったため整合性のよい結論は出しにくい。投与銅の有機態と無機態による差あるいは投与経路における差によって、病変に強弱の差が現れたものと思われる。

今回の試験では、牛での慢性銅中毒の経過を十分に実現できなかった。有機態銅では無機態銅に比べ、吸収率以外にも組織結合や銅排泄機構に差があるのか、グリン銅投与牛で胆汁中銅含量が低く、肝臓の組織変化が著しかったことや、塩化銅の長期皮下投与例で、5,000ppm(DM)という大量の肝臓銅の蓄積量でも、なお発症のみられなかったことなど、今後解明しなければならぬいくつかの問題点は残されたが、銅の大量投与による急性症との量的関係と病態の一端について若干の知見を得た。

## 謝 辞

終始実験に御協力をいただいた各道県の家畜保健衛生所の松居信勝(滋賀県)、竹内康裕(香川県)、柿野 淳(秋田県)、南川藤夫(佐賀県)、島野 健(石川県)、野上良邦(北海道)、恒吉雅治(宮崎県)の諸氏に深甚な謝意を表します。

## 引用文献

- 1) 阿部修二ほか：子めん羊の銅中毒と血液生化学検査値について。第33回家畜衛生業績発表会集録(北海道)、169-176(1985)。
- 2) Chapman, H. L. Jr. et al.: Toxicity of cupric sulfate for beef cattle. *J. Anim. Sci.* 21, 960-962(1962)。
- 3) Clarke, E. G. C. & Clarke, M. L.: *Garner's Veterinary Toxicology*. 3rd ed. 70-75, Williams & Wilkins, Baltimore(1967)。
- 4) 一条 茂ほか：綿羊の慢性銅中毒に関する臨床的観察。日獣会誌 32, 11-16(1979)。
- 5) Ishmael, J. et al.: Experimental chronic copper toxicity in sheep. *Res. Vet. Sci.* 12, 358-366(1971)。
- 6) Marshall, D. & Todd, J. R.: A case of acute copper oxychloride poisoning in cattle. *Vet. Rec.* 69, 77-78(1957)。
- 7) Osweiler, G. D. et al.: *Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology*. 87-103, Kendall/Hunt, Dubuque(1985)。
- 8) Ravin, H. A.: An improved colorimetric enzymatic assay of ceruloplasmin. *J. Lab. Clin. Med.* 58, 161-168(1961)。
- 9) Shand, A. & Lewis, G.: Chronic copper poisoning in young calves. *Vet. Rec.* 69, 618-621(1957)。

- 10) Stogdale, L. : Chronic copper poisoning in dairy cows. *Aust. Vet. J.* 54, 139-141 (1978).
- 11) 高橋清志ほか：溶血性貧血と肝機能障害をともない銅中毒と診断された綿羊の一例. 北獣会誌 28, 120-126 (1984).
- 12) Todd, J. R. : Chronic copper poisoning in farm animals. *Vet. Bull.* 32, 573-580 (1962).
- 13) ibid : Suspected chronic copper poisoning in a cow. *Vet. Rec.* 77, 498-499 (1965).
- 14) Todd, J. R. & Gracey, J. F. : Chronic copper poisoning in a young heifer. *Vet. Rec.* 71, 145-146 (1959).
- 15) Underwood, E. J. : Trace Elements in Human and Animal Nutrition. 4th ed. 95-99, Academic Press, New York (1977).
- 16) Venugopal, B. & Luckey, T. D. : Metal Toxicity in Mammals. 2. Chemical Toxicity of Metals and Metalloids. 24-32, Plenum Press, New York (1978).



## SUMMARY

## Experimental Studies on Toxic Activities of Copper in Calves

Mitsuaki HAYASHI<sup>1</sup>, Yukiko OGURA<sup>2</sup>, Hideo MURATA<sup>3</sup>, Takakiyo SAEKI<sup>3</sup>,

Shigemi SHOYA<sup>4</sup>, Kikuyasu NAKAMURA<sup>5</sup>, Yu IDE<sup>6</sup>, and Yoshiaki OBARA<sup>7</sup>

- 1 *National Institute of Animal Health (NIAH) (Present address : Hokkaido Branch, NIAH, 4 Hitsujigaoka, Toyohira ku, Sapporo shi, Hokkaido, 004 Japan )*.
- 2 *The same institute ( Present address : Hokuriku Branch, NIAH, 7-18, Matsunami 4-chome, Kashiwazaki shi, Niigata-ken, 945-03 Japan )*.
- 3 *The same institute, 1-1 Kannondai 3-chome, Tsukuba shi, Ibaraki ken, 305 Japan*.
- 4 *The same institute ( Present address : ASEAN Poultry Disease Research and Training Project, c/o Veterinary Research Institute, P. O. Box 369, 59 Tiger Lane, Perak, 31400 Malaysia )*.
- 5 *The same institute ( Present address : Poultry Disease Research Branch, NIAH, 4909-58, Kurachi, Seki shi, Gifu ken, 501-32 Japan )*.
- 6 *The same institute ( Present address : Azabu University, 17-71, Fuchinobe 1-chome, Sagami-hara shi, Kanagawa-ken, 229 Japan )*.
- 7 *The same institute ( Present address : National Institute of Animal Industry, 2 Ikenodai, Kuzizaki-machi, Inashiki-gun, Ibaraki ken, 305 Japan )*.

Toxic activities of cuprous and cupric compounds were examined in seven young calves 106 to 295kg in body weight. Sulfate, chloride, acetate and glycinate of copper were administered by the oral, subcutaneous or intravenous route daily for a given period.

Cumulative copper dose in the liver after daily oral administration of cupric sulfate at a dose containing 12 to 51mg of Cu per kilogram of body weight for 2 to 3 months did not exceed 1,000ppm dried matter (DM) of the liver. No clinical changes were observed in any calf during such period.

Average daily gain of body weight was 1,036g in all the calves during the experimental period.

A calf was administered orally once with 255mg/kg of Cu contained in cupric sulfate and died 2 days after administration. Another calf was administered orally with 20mg/kg of Cu contained in copper glycinate daily for 2 days and died 2 days after the last administration.

The copper content of the liver after daily oral administration of copper acetate at a dose containing 2 to 6mg/kg of Cu for 5 months did not exceed 1,000ppm/DM. The copper content of the liver increased rapidly after subcutaneous injection with cuprous compounds. When injected subcutaneously with 51mg/kg of Cu contained in cupric sulfate, a calf died 9 hours after injection. The copper content of the liver reached 5,292ppm/DM after daily subcutaneous injection with a dose of cupric chloride containing 0.1 to 0.3mg/kg of Cu for 6 months. No symptoms of chronic copper poisoning were observed, but an increase in plasma copper level and a decrease in plasma alkaline phosphatase activity and plasma urea nitrogen level were detected.

At the end of the experimental period young calves weighing 188 to 382 kg showed a strong resistance to copper toxicity, which resembled that of the rat (the lethal dose of copper sulfate was 244mg/kg of Cu for the rat).