

ブロイラー農場の疾病調査：II. 大腸菌症

| | |
|----------|---|
| 著者 | 岡本 嘉六, 廣嶋 精哉, 池田 仁, 岡村 洋徳, 並松 孝憲, 中馬 猛久, 柚木 弘之, 岩元 利典 |
| 雑誌名 | 鹿児島大学農学部學術報告=Bulletin of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University |
| 巻 | 42 |
| ページ | 111-117 |
| 別言語のタイトル | Survey of the Poultry Disease in the Broiler Farm : II. Colibacillosis |
| URL | http://hdl.handle.net/10232/1667 |

ブロイラー農場の疾病調査

II. 大腸菌症

岡本嘉六・廣嶋精哉・池田 仁・岡村洋徳・
並松孝憲・中馬猛久・柚木弘之・岩元利典*

(獣医公衆衛生学研究室)

平成3年8月10日 受理

Survey of the Poultry Disease in the Broiler Farm

II. Colibacillosis

Karoku OKAMOTO, Seiya HIROSIMA, Hitoshi IKEDA,
Hironori OKAMURA, Takanori NAMIMATSU, Takehisa CHUMA,
Hiroyuki YUKI and Toshinori IWAMOTO*
(Laboratory of Veterinary Public Health)

結 言

ブロイラーの大腸菌症は、コクシジウム症とならぶ最多発疾病で、呼吸器感染するマイコプラズマやウイルスなどと混合感染も多く、ブロイラー産業に甚大な被害をもたらしている^{2,7,9,16}。病型としては、心嚢炎、気嚢炎、肝包膜炎などの病変を特徴とする敗血症型が多く¹⁰、発生要因としては、換気不良、アンモニアなどの有毒ガスや浮遊粉塵粒子による気道粘膜刺激、ビタミンなどの栄養素の不足、ワクチンによる負荷などが挙げられている¹⁷。これらの要因は、近年の多頭羽密飼いによって増幅され、飼養管理を一層難しくしている。そのため、予防や防除のための抗菌物質が汎用されており、大腸菌の耐性化が進行していると報告されている^{3-6,8,11}。

本調査では、鹿児島県内のブロイラー農場における大腸菌症の蔓延状況を調べ、分離菌の性状を検討した。

材 料 と 方 法

対象農場は前報と同一であり、1988年10月から1989年8月入雛までの5サイクルについて調査した。淘汰鶏を剖検するとともに、病巣部位を持ち帰ってデスオキシコーレート寒天培地に塗抹し、典型的集落を釣菌して生化学的性状ならびに血清型別

(O1, O2, O78)を調べた。また、数羽の健康な4～5週齢の採卵鶏から得た血清に対する分離大腸菌株の抵抗性をEllisらの方法¹¹に準拠して検査した。すなわち、ブレインハートインヒュジョン(BHI)培地で前培養した新鮮菌を再度同培地で2時間培養して対数増殖期の細胞を採り、遠沈後Earle液で $10^7/ml$ に調整し、その $25\mu l$ を血清 $225\mu l$ と混合して $37^\circ C$ で3時間培養した。培養前後の菌数を測定し、対数換算値の差を血清抵抗性とし、各菌株について6回の検査の平均値を求めた。

これらとは別に、同農場のブロイラー糞便から分離した大腸菌株について、薬剤感受性試験とプラスミド伝達試験を、先に行った牛および豚の糞便由来菌株についてと同様に実施した¹²。耐性の判定は、耐性限界値濃度に調整したハートインヒュジョンまたはミュウラー-ヒントン寒天平板上での発育の有無に基づいた。

結 果

淘汰鶏216羽の剖検所見を、大腸菌の分離成績と合わせてTable 1に纏めた。40例(19%)の淘汰鶏のいずれかの臓器から大腸菌が分離され、肝包膜炎が53%と最も高率で、心嚢炎と腹水症33%、遺残卵黄23%、腎臓病変20%となり、偶然係数はいずれも有意であった。充出血やガス貯留などの消化管の異常も高頻度に観察されたが、大腸菌との関連性はなかった。

入雛から出荷までの淘汰鶏の大腸菌症の罹患率を

*鹿児島くみあいチキンフーズ, 鹿児島市鴨池新町15番地
Kagoshima Kumiai Chicken Foods,
Kamoikeshinmachi 15, Kagoshima 890.

みると、4週齢以降に急増して20~35%の範囲を推移し、3週齢までの若齢雛の陽性例は1例のみであった (Table 2)。比較的例数の揃っている4~8週齢の罹患率を入雛時期別にみると、10月入雛群が37%と最も高率で8月入雛群が8%と低率であったが、季節的変動はとくに認められず、この間の死廃率との関連性も強くはなかった (Fig. 1)。鶏舎別の罹患率をみると、統計的には有意でないものの、入雛順に15、26、29%と順次高率になった (Table 3)。

分離した44菌株の生化学的性状を調べたところ、アドニット陽性の非典型的株が4株 (19, 20, 21, 33) あったが、マロン酸陰性などの性状を考慮して

大腸菌と同定した (Table 4)。また、非運動性株が13株あり、そのうち8株はブドウ糖からのガス非産生であった。血清型については、O78と反応した株はなく、O1とO2型が各5株ずつあった。血清抵抗性を調べた26株中11株が抵抗性であり、血清型判明菌株のうちO2型のNo. 49とNo. 29は抵抗性であったもののその他の6株は感受性であった (Fig. 2)。アドニット陽性の3株は中~高度の抵抗性を示し、運動性株と非運動性株の血清抵抗性株の割合には差がみられなかった。

同農場のプロイラー糞便から分離した大腸菌253株について、6種の抗菌剤に対する感受性を調べた (Table 5, Fig. 3)。全菌株がいずれかの薬剤に耐性で、3剤以上の薬剤に耐性の菌株は202株で、80%であった。スルファジメトキシシン (SDM)、テトラサイクリン (TC)、ストレプトマイシン (SM) の80%以上が耐性菌であり、クロラムフェニコール (CP) に

Table 1. Macroscopical appearance of the broiler chickens culled out and incidence of *Escherichia coli*

| | Cultivate results | | Contingency coefficient* |
|------------------|-------------------|----------|--------------------------|
| | Positive | Negative | |
| No. of autopsies | 40(100) | 176(100) | |
| Lean body | 6(15) | 25(14) | 0.008 |
| Diarrhea | 9(23) | 22(13) | 0.110 |
| Lesion | | | |
| Heart | 13(33) | 13(7) | 0.287** |
| Liver | 21(53) | 32(18) | 0.296** |
| Kidney | 8(20) | 10(6) | 0.197** |
| Ascites | 13(33) | 7(4) | 0.357** |
| Yolk sac | 9(23) | 8(5) | 0.251** |
| Duodenum | 13(33) | 51(29) | 0.030 |
| Jejunioileum | 13(33) | 59(34) | 0.008 |
| Cecum | 11(28) | 37(21) | 0.060 |
| Colon | 9(23) | 16(9) | 0.161* |

* : $C = \{\chi^2_{cal}/(N + \chi^2_{cal})\}^{1/2}$

Statistically significant (** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$).

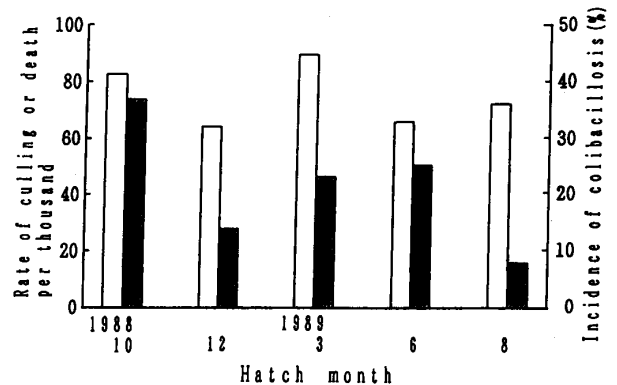


Fig. 1. Incidence of colibacillosis in the broiler farm and its correlation to culling or death rate.

Table 2. Incidences of colibacillosis in the broiler chicken culled out

| Hatch month | Weeks of age | | | | | | | | | Sum | Partial sum 4-8 weeks |
|-------------|--------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|---------------|--------------|-------------|----------------|-----------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | | |
| '88/10 | | | | 3/8 (38) | 1/6 (17) | 2/4 (50) | 5/9 (56) | 3/11 (27) | 0/5 | 14/43 (833) | 14/38 (37) |
| 12 | 1/5* (20) | 0/3 | 0/5 | 2/9 (22) | 1/9 (11) | 1/7 (14) | 0/3 | | 0/5 | 5/46 (11) | 4/28 (14) |
| '89/ 3 | | | 0/2 | 1/9 (11) | 1/7 (14) | 0/10 | 4/8 (50) | 4/10 (40) | | 10/46 (22) | 10/44 (23) |
| 6 | 0/3 | 0/5 | 0/3 | 2/6 (33) | 2/7 (29) | 3/8 (38) | 1/8 (13) | 1/7 (14) | | 9/47 (19) | 9/36 (25) |
| 8 | 0/5 | 0/6 | 0/7 | 0/3 | | | 1/4 (25) | 0/6 | 1/3 (33) | 2/34 (6) | 1/13 (8) |
| Sum | 1/13 (%) | 0/14 (0) | 0/17 (0) | 8/35 (23) | 5/29 (17) | 6/29 (21) | 11/32 (34) | 8/34 (24) | 1/13 (8) | 40/216 (19) | 38/159 (24) |

* : Number of chickens with colibacillosis/the autopsied chickens (%).

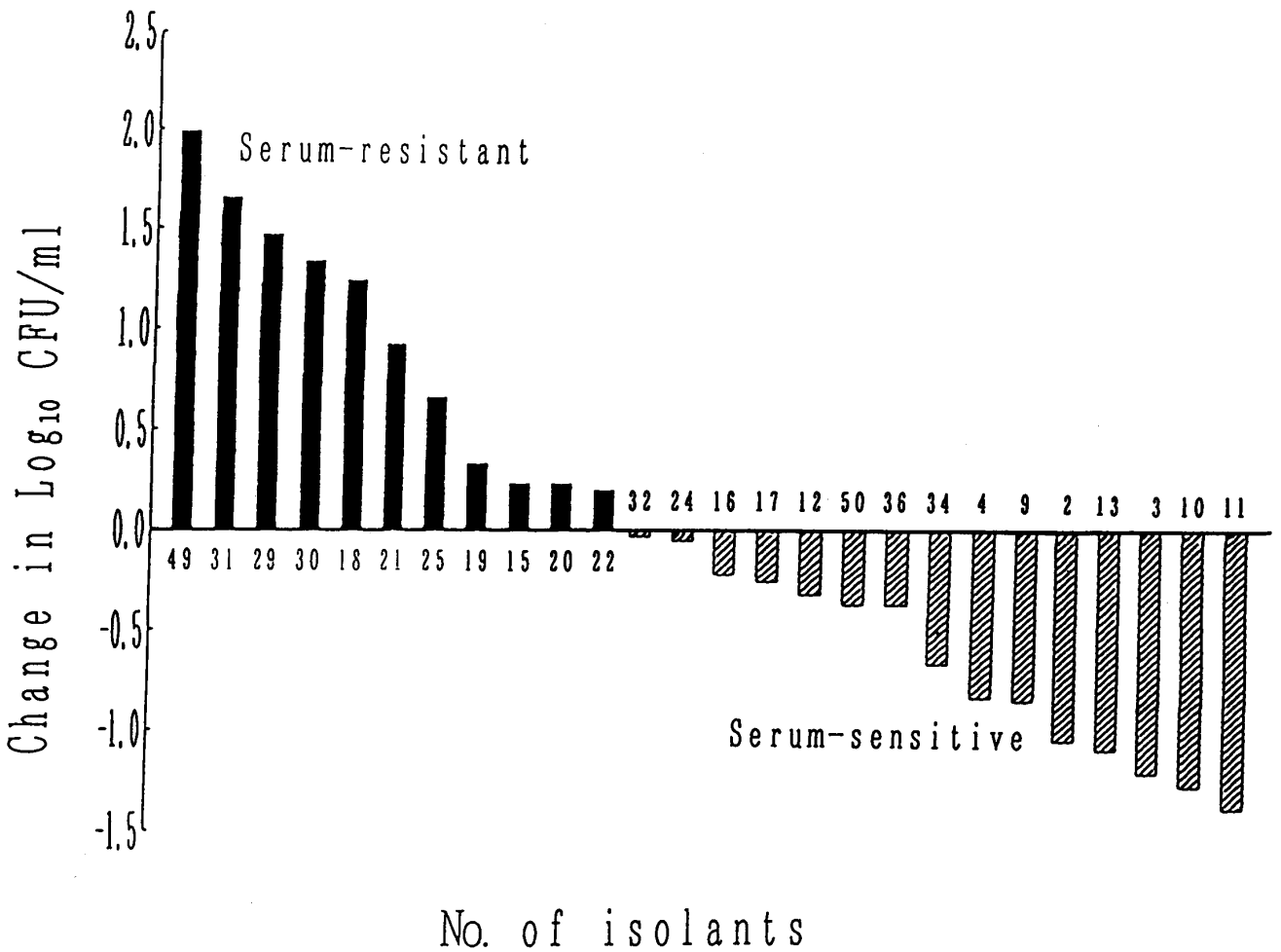


Fig. 2. Resistance of *E. coli* strains to the bactericidal effects of poultry serum. The value for each strain represents the mean of 4 replicates. Change of the ordinate equals viable number of bacteria (Log₁₀ CFU/ml) in 3-hour sample minus those in 0-hour sample.

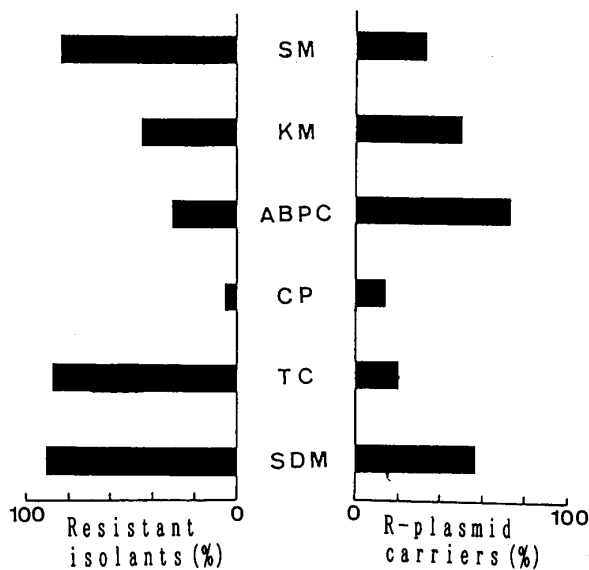


Fig. 3. Incidence of resistant *E. coli* and ratio of plasmid carrier among them.

率は20~35%の範囲にあった。このことは、通常の農場ではグラム陰性菌に有効な抗菌剤が飼料添加物として加えられた配合飼料が給餌されており、病勢も慢性的経過を辿ることを示すものと考えられる。また、7週齢で罹患率がやや高かったのは、中抜きのための休業期間に入っているためと思われる。

病鶏が比較的多い4~8週齢の平均罹患率で入雛時期別の変動をみると、10、6、3、12、8月入雛群の順に低率となり、季節的変動とは考えがたかった。多数の鶏群での発生率をみると、10~3月の呼吸器病の多発時期に高い¹⁶⁾、あるいは晩秋から梅雨時期にかけて高率である²¹⁾と報告されている。これらの食違いは、個別農場の罹患率と多数の鶏群における発生率とは必ずしも一致しないことを示しており、多頭羽密飼いにより飼養環境が悪化したため、画一的な季節要因よりも個別農場主の飼養管理の良否が罹患率を大きく左右する事態になっていること

Table 5. Drug resistance-patterns of *E. coli* isolated from the feces of broiler chickens

| No. of drugs | Resistance pattern | | | | | | Number of isolants (%) | |
|-----------------|--------------------|----------|----------|----------|--------|----------|------------------------|--------|
| | ABPC | SM | KM | TC | CP | SDM | | |
| 6 | + | + | + | + | + | + | 4 | 4 (2) |
| | + | + | | + | + | + | 2 | |
| 5 | + | + | + | + | | + | 41 | 47(19) |
| | | + | + | + | + | + | 4 | |
| 4 | + | + | | + | | + | 18 | |
| | + | + | + | | | + | 3 | |
| | | + | + | + | | + | 48 | 73(29) |
| | | | + | + | + | + | 2 | |
| 3 | | | + | + | + | + | 2 | |
| | + | + | | | | + | 2 | |
| | | | | + | | + | 7 | |
| | | + | + | + | | | 3 | |
| | | + | | + | | + | 58 | 78(31) |
| | | | + | + | | + | 6 | |
| 2 | | | + | + | | + | 1 | |
| | | | + | | + | + | 1 | |
| | | + | | + | | | 9 | |
| | | + | | | | + | 13 | 40(16) |
| 1 | | | | + | | + | 18 | |
| | + | | | | | | 1 | |
| | | + | | | | | 2 | |
| | | | | + | | | 5 | 11 (4) |
| | | | + | | | 1 | | |
| | | | | | + | 2 | | |
| No. of isolants | 78 (31) | 215 (85) | 114 (45) | 222 (88) | 15 (6) | 232 (92) | 253 (100) | |

を示唆している。すなわち、気象条件の多少の変動に合わせたカーテン操作、早期淘汰の励行と早期診断による予防措置、舎内衛生管理などの細かな対応が必要となっており、その管理失宜が罹患率に影響しているものと思われる。このことは、入雛の遅い鶏舎の罹患率が高く、鶏舎間の汚染の交差が推定されることによっても支持される。

病巣から分離した菌株のうち4株がアドニットを発酵し、血清抵抗性を調べた3株はいずれも中～高度の抵抗性であった。血清抵抗性は、補体による溶菌作用を阻害する菌体外膜上の蛋白質に基づくものとされ¹⁷⁾、大腸菌の病原性と平行するとされている¹⁾。他方、アドニット発酵能を有する菌株は初生雛に対する毒力が強く、血清型O35が多いと報告されている¹⁵⁾。今回分離された菌株の血清抵抗性の成績はこの報告とも一致した。また、この報告は運動性の有無は初生雛に対する毒力と関係しなかったとしており、この点でも今回の血清抵抗性の検査成績は

Table 6. Pattern and incidence of R plasmid carrier

| No. of drugs | R plasmid pattern | | | | | | Number of isolants | |
|-----------------|-------------------|---------|---------|---------|--------|----------|--------------------|----|
| | ABPC | SM | KM | TC | CP | SDM | | |
| 5 | + | + | + | + | | + | 5 | 5 |
| | + | + | + | + | | | | 2 |
| 4 | + | + | | + | | + | 1 | 18 |
| | | + | + | + | | + | 5 | |
| | | | + | + | + | + | 10 | |
| 3 | + | + | + | | | | 2 | |
| | + | + | | | | + | 5 | |
| | + | | + | + | | | 2 | |
| | + | | + | | | + | 3 | |
| 2 | + | | | + | | + | 3 | 33 |
| | | + | + | + | | | 1 | |
| | | + | | + | | + | 2 | |
| | | | + | | | + | 1 | |
| | | | + | + | | + | 12 | |
| | | | | + | + | + | 2 | |
| 1 | + | + | | | | | 3 | |
| | + | | | + | | | 1 | |
| | + | | + | | | | 3 | |
| | + | | | | | + | 14 | |
| 1 | | + | | + | | | 1 | |
| | | + | | | + | | 1 | 55 |
| | | | + | + | | | 3 | |
| | | | + | | | + | 15 | |
| | | | | + | + | + | 9 | |
| | | | + | | + | 5 | | |
| 1 | + | | | | | | 8 | |
| | | + | | | | | 4 | |
| | | | | + | | | 7 | 61 |
| | | | + | | | | 2 | |
| | | | | | + | | 40 | |
| No. of isolants | 57 (73*) | 73 (34) | 57 (50) | 46 (21) | 2 (13) | 132 (57) | 172 (68) | |

* : Percentage of plasmid carriers in resistant isolants.

符合した。

大腸菌症の起因菌の大半は、O2, O1, O78の血清型で占められるとされ、近年O35による症例もアメリカで増加していると報告されている^{15,18)}。しかし、それ以外の血清型による場合もあり、O50, O45, O88などの菌株が血清抵抗性を含むその他の性状で強毒株であったとの報告もある²²⁾。今回用意できた抗血清は3種類に限られていたが、O2とO1型が各5株あった。ただし、これらの菌株の血清抵抗性は必ずしも高くなかった。

糞便由来の大腸菌株は高度の多剤耐性状態にあり、とくにSDM, TC, SMの3剤の耐性率は80%

を越えていた。また、プラスミドの保有率も68%と高率で、その半数以上は複数の耐性を伝達した。このような状況は、10以前の報告^{3-6,8,11)}と比べて大差なく、外国でも同様である^{19,20)}。牛に比べて豚の糞便から分離した菌株の耐性状況は今回の成績に近く^{5,12,13)}、飼料に添加されている抗菌物質がプラスミドの脱落を阻害しているためとも考えられる。

要 約

鹿児島県内の一ブロイラー農場について、大腸菌症の発生状況を調べた。淘汰鶏216羽中19%が大腸菌症であり、大腸菌陽性例のうち、肝包膜炎(53%)、心嚢炎と腹水症(33%)、遺残卵黄と腎病変(約20%)が主な肉眼的病変であった。罹患率は、4週齢以降急増して20~35%の範囲で推移し、1週間隔で入雛される各群の4~8週齢の平均罹患率は、15、26、29%と順次高率になった。入雛時期別の陽性率は8~37%の範囲で変動したが、季節性はとくに認められなかった。

分離した44菌株のうち、アドニット陽性株が4株あり、その中の血清抵抗性を調べた3株はいずれも抵抗性であった。また、非運動性が13株あったが、抵抗性株と非抵抗性株の割合は等しく、運動性株の両者の割合との違いはなかった。血清型O78に該当する菌株はなかったが、O1とO2型が各5株ずつあった。これらの8株中6株は感受性株であり、抵抗性株は2株のみであった。

薬剤感受性を調べた253菌株は、6種の抗菌剤のいずれかに耐性であり、3剤以上の多剤耐性株が80%(172株)を占めた。プラスミド保有率は68%であり、そのうち複数の薬剤耐性を伝達したものが65%(111株)を占めた。薬剤別にみると、SDM、TC、SMの3剤は80%以上が耐性株であり、耐性株中のプラスミド保有率はABPCが73%と最も高く、ついでSDM57%、KM50%であった。

謝辞 本調査研究にあたり、三菱化成㈱から奨学寄付金の御援助をいただいたことに対し深謝いたします。

文 献

- 1) Ellis, M. G., Arp, L. H. and Lamont, S. J.: Serum resistance and virulence of *Escherichia coli* isolated from turkeys. *Am. J. Vet. Res.*, 49, 2034-2037 (1988)
- 2) 井熊深雪: 最近における鶏伝染性疾患の発生状況について。鶏病研報, 25, 192-196 (1989)
- 3) 金井 久: 最近のプロイラー由来大腸菌の各種化学療法剤に対する感受性分布について。獣医畜産新報, 721, 469-476 (1981)
- 4) 金井 久・五十嵐丈人: 育成中の1プロイラー群(1日齢と28日齢)から分離された大腸菌の薬剤耐性とRプラスミド。日本家禽学会誌, 17, 193-198 (1980)
- 5) 金城俊夫: 沖縄における各種動物および人糞便由来大腸菌の薬剤耐性とRプラスミド。日畜会報, 50, 542-548 (1979)
- 6) 馬淵貞三・後藤新平・山本隆典: プロイラーの症例より分離した大腸菌。鶏病研報, 16, 59-68 (1980)
- 7) Nakamura, M., Yoshimura, H. and Koeda, T.: Fluctuation of drug-resistant *Escherichia coli* strains in chickens. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 43, 481-490 (1981)
- 8) 村上寛史・岡崎好子・風間達也・鈴木達郎・岩淵 功・桐岡寛司: プロイラーに発生したウェルシュ菌と大腸菌の混合感染症。日獣会誌, 42, 405-409 (1989)
- 9) 南川禮次: 野外でみられたプロイラーの大腸菌症。鶏病研報, 24, 23-30 (1988)
- 10) 中村菊保: 鶏の大腸菌症野外例及び実験例の病理学的変化について。鶏病研報, 24, 37-48 (1988)
- 11) 農林水産省畜産局: 動物用抗菌製剤耐性菌調査成績(1979)
- 12) Okamoto, K., Oka, Y., Toshima, T. and Amemiya, J.: Survey of drug resistant *Escherichia coli* isolated from cattle and swine. *Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ.*, 25, 91-97 (1989)
- 13) Okamoto, K., Ishitobi, E. and Amemiya, J.: Epidemiological survey of drug-resistant *Escherichia coli* isolated from the river water in Kagoshima prefecture. *Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ.*, 26, 69-76 (1990)
- 14) 岡本嘉六・瀬戸藤朗・中馬浩子・岡村洋徳・並松孝憲・中馬猛久・柚木弘之・岩元利典: プロイラー農場の疾病調査I. コクシジウム症。鹿大農学術報告, 42, 101-109 (1992)
- 15) Rosenberger, J. K., Fries, P. A., Cloud, S. S. and Wilson, R. A.: In vivo and in vitro characterization of avian *Escherichia coli*. II. Factors associated with pathogenicity. *Avian Diseases*, 29, 1094-1107 (1985)
- 16) 斎藤和子・合田光昭: 愛知県のプロイラーにおける大腸菌症の発生状況。鶏病研報, 24, 31-36 (1988)
- 17) 佐藤静夫: 鶏の大腸菌症。鶏病研報, 24, 1-11 (1988)
- 18) 関崎 勉: 鶏の大腸菌症より分離された大腸菌の病原因子について。鶏病研報, 24, 13-22 (1988)
- 19) Spears, K. R., Wooley, R. E., Brown, J., Fletcher, O. J. and Payeur, J. B.: Characteristics of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* isolated from broiler flocks classified as "good" or "poor" producers. *Avian Diseases*, 34, 855-860 (1990)
- 20) 田村 豊・宇田川哲: タイ国におけるニワトリおよび牛由来大腸菌の薬剤耐性調査。日獣会誌, 35, 402-405 (1982)

- 21) 内田幸治・原田良昭・古谷徳次郎・高山公一：ブロイラーにおける大腸菌性敗血症の発生状況。鶏病研報，20，91-94 (1984)
- 22) Vidotto, M. C., Müller, E. E., Freitas, J. C., Alfieri, A. A., Guimarães, I. G. and Santos, D. S. : Virulence factors of avian *Escherichia coli*. *Avian Diseases*, 34, 531-538 (1990)

Summary

Incidence of colibacillosis were surveyed throughout a whole year at a broiler-farm in Kagoshima prefecture. Of 216 culling chickens, 19% were suffering from colibacillosis, and macroscopical lesions were observed in the following organs with the percentage ascertained, respectively : liver (53%), heart (33%), ascites (33%), remnant yolk (23%), and kidney (20%). Morbidity of the culling chickens rapidly increased after 4 weeks of age, its range being within 20-35%. The mean morbidity of the flocks brought into the premises at the interval of one week, were 15,26 and 29%, respectively, showing an uprising trend in the order of introduction. The morbidity of each cycle ranged widely 8 to 37%, however, no seasonal correlationship was observed.

Of 44 isolants examined, there were 4 strains of *E. coli* which fermented adonitol. Resistance to pooled chicken serum was examined in 3 strains of them, with the confirmation of positive result in each strain. Non-motile strains held 30% of the isolants, and in the ratio of serum-resistant strains there was no difference from that observable in motile strains. Although no isolants possessing O78 antigen was noticed, there was one set of 5 strains belonging to O1 serotype, and another belonging to O2 serotype, respectively. Of these 10 strains, only two were determined as serum-resistant and other six were sensitive ones.

All the 253 isolants from the chicken-feces in the same farm were resistant to anyone of the 6 antimicrobial drugs, multi-resistant strains amounting to 80% (172 strains). The isolants possessing R-plasmid amounted to 68%, and 65% of which (111 strains) were transmitted with the resistance to plural drugs. To SDM, TC and SM, more than 80% of the isolants were resistant. The percentage of plasmid carriers in the strains resistant to ABPC (73%) was highest, followed SDM (57%), KM (50%), respectively.