

2. 鶏腸内菌叢に及ぼす抗生物質投与の影響とその意義

大宅辰夫

(農林水産省家畜衛生試験場九州支場)

Effect of Dietary Antibiotics on Intestinal Microflora in Broiler Chicken.

Tatsuo OHYA

Kyushu Branch Laboratory, National Institute of Animal Health.

抗生物質は、発育促進の目的で畜産の分野で広汎に使用されているが、それらの作用機序については完全には解明されていない。抗生物質の発育促進作用のメカニズムとしてVissekは次の仮説を挙げている。¹⁰⁾ 1) 不顕性感染の抑制, 2) 発育を阻害する微生物トキシンの産生低下, 3) 腸管内栄養物の微生物による消費の抑制および有用菌によるビタミンなどの発育因子の産生, 4) 腸管粘膜からの吸収効率の亢進, この中でも微生物の関与するメカニズムの重要性が指摘されている。そこで、我々は、飼料添加抗生物質であるコリスチン(CL), バシトラシン(BC), エンラマイシン(ER)の3剤についてブロイラー腸内菌叢に及ぼす影響を調べた。

材 料 と 方 法

試験方法の概要はTable 1. に示すとおりである。常用量の長期連続投与および高濃度短期集中投与の2つの方法で実施した。

1) 実験動物および飼育方法

実験鶏としてはブロイラー初生ヒナ(Meat nick,)を用いた。各抗生物質はブロイラー実験用標準飼料(日配中研)に目的の濃度に添加し自由摂食とした。摂餌量は毎日、体重は1週毎に測定した。投与期間は、実験I~IIIでは1日齢~6週齢、実験IVでは10日齢~

12日齢の3日間であった。

2) 材料の採取と腸内菌叢の検索

実験I~IIIでは、1, 2, 3, 4, 6週齢時に各群5羽を殺処分し、腸管内容物を空腸(メッケル憩室付近)、盲腸から採取し腸内菌叢の検索を行なった。腸内菌叢の検索は光岡の方法¹⁾によった。使用した培地はM10培地(Plate-in-bottle法)BL寒天、EG寒天、TS寒天、BS寒天、ES寒天、NBGT寒天、NN寒天、PNC寒天、変法LBS寒天、DHL寒天、TATAC寒天、PEES寒天、P寒天培地である。実験IVにおいては、10日齢、13日齢、19日齢時に各群5羽を殺処分し実験I~IIIと同様の方法で腸内菌叢の検索を実施した。

成 績

今回の試験成績のうち、各菌群の菌数に関するデータは割愛し、統計的に有意($P < 0.05$)の変動の認められた菌群の変動についてFig. 1~3で模式的に示す。抗生物質の投与により有意の菌数変化を示す菌群はCL, BC, ER投与群ともに好気性菌群、*Lactobacillus*が主であり、試験期間の前半に集中して認められる傾向があった。

1) コリスチン投与試験(Fig. 1)

CL連続投与(実験I)では、1週齢で

Streptococcus, *Lactobacillus* の有意の増加が認められた。この傾向は盲腸でより顕著であった。*Enterobacteriaceae* については1週齢での菌数の変動は認められなかったが、5 ppm. 投与群2週齢の盲腸および4週齢小腸での増加が認められた。また、5 ppm. 投与群3週齢では *Lactobacillus* が減少した。

短期投与(実験IV)では、投与中止1日目小腸で *Enterobacteriaceae* が減少したが盲腸では *Streptococcus* が増加していた。その他の菌群では有意の菌数変動は認められなかった。

2) バシトラシン投与試験 (Fig. 2)

連続投与(実験II)では48 ppm. 投与群盲腸で *Enterobacteriaceae* が1週~6週齢まで増加傾向を持続した。*Streptococcus* は小腸での変動が主であり、1週齢および4週齢での減少が認められた。*Lactobacillus* も同様の変動を示したが2週齢で一時的に増加した。

短期投与(実験IV)では投与中止1日後盲腸での *Enterobacteriaceae* の増加と小腸での *Streptococcus* の減少が認められた。また、*Lactobacillus* は投与中止1週目に小腸で減少した。

3) エンラマイシン投与試験 (Fig. 3)

連続投与(実験III)では、1週~2週齢にかけて盲腸で *Enterobacteriaceae* が増加した。*Streptococcus* も1週齢、3週齢で増加が認められた。しかし、*Lactobacillus* の変動は顕著でなく20 ppm. 投与群小腸で3週齢時に減少を示したのみであった。短期投与(実験IV)では投与中止1日目、1週目に小腸で *Enterobacteriaceae* の減少、中止1週目小腸で *Streptococcus* の減少が認められた。*Lactobacillus* は中止1日目に減少した。

考 察

常用量の長期連続投与(実験I~III)において腸内菌叢は1週齢~3週齢を中心に有意の変動を示した。このことは、トリの腸内菌叢の形成時期と関係があると考えられる。従来、トリの腸内菌叢はふ化後2~3週目に完成されることが知られている。^{2,3,4)} 腸内菌叢の変動が4, 6週齢では比較的少ないことから、飼料に添加した抗生物質がトリの腸内菌叢の形成過程に影響を与えることが示唆された。Fig. 1~3に示すように抗生物質投与による腸内菌叢の変動は使用した抗生物質の抗菌スペクトルとは必ずしも一致しなかった。CL投与群では2週齢と4週齢で *Enterobacteriaceae* の増加が認められている。Kikuchiら⁵⁾は gnotobiotic マウスにCLを投与し、そのときの *E. coli* の動きを調べた試験で同様の成績を得ている。Salomaら⁶⁾はこのような変化は投与抗生物質に対して耐性をもつ菌が増加した結果ではないかと考察している。ER投与群での1週齢における *Streptococcus* の増加、BC投与群1~3週齢での *Lactobacillus* の変動(減少-増加-減少)は抗生物質投与による腸内菌叢の変動が各菌群を構成する菌種、菌株レベルでの変動の総和であることを示唆するものである。BC投与時の *Streptococcus* の変動が菌種レベルのものであることが Barnesら⁷⁾によって示されている。

以上を総括すると、抗生物質の投与による腸内菌叢の変動は次の3つの変化の総和として表現されることが考えられる。

1) 当該抗生物質の抗菌スペクトルを直接反映する変化、2) 腸内菌叢を構成する菌群の生態学的バランスに関係した変化、3) 各菌群を構成する菌の属、種および菌株レベルでの変化。

Lactobacillus 以外の嫌気性菌群は今回の実験では有意の変動はほとんど示さなかった。

とくに嫌気性菌群については菌種レベルでの検討が今後必要であろう。

高濃度短期投与試験(実験IV)の成績は連続投与試験の成績と類似していたが、投与抗生物質の抗菌スペクトルにより合致するような変化を示した。注目すべきことに、投与中止1週後においても抗生物質投与の影響が認められた。今回使用した抗生物質がいずれも腸管難吸収性であることを考えると興味深いものがある。ひとたび腸内菌叢が抗生物質あるいは他の薬剤によって修飾を受けると、腸内菌叢の再構成にはかなり長い時間を要するのであろう。このような腸内菌叢が不安定な時点で何らかの病原菌が侵入した場合、安定した腸内菌叢が本来備えている排除能力が充分には発揮できないことが考えられる。特に、トリの腸内菌叢の形成にとって重要な時期である2~3週齢での薬剤の投与は慎重に行なう必要がある。長期投与試験の中で増体に関してはBC48 ppm. 投与群で6週齢に有意の増加が、同じく6週齢のCL5 ppm. 投与群で有意の低下が認められた。飼料要求率についてもCL50 ppm. 添加群, ER20 ppm. 添加群で低下したがBC48 ppm., ER2 ppm. 添加群で亢進が認められた。しかし増体, 飼料要求率ともに実験群が小規模であったこと、また、Coatesら,⁸⁾ Hillら⁹⁾が述べているように抗生物質投与の発育促進, 飼料要求率の改善効果は動物が清浄な環境, 飼料で飼育された場合は顕著には認められないことなどを加味すると不十分なデータである。

今回の成績では、抗生物質投与の腸内菌叢に対する影響と意義について明確なデータは得られなかったが、抗生物質投与時の腸内菌叢の変動のメカニズムに関して若干の知見が得られた。抗生物質の畜産分野でのより有効な利用を目指すためにも宿主生理, 環境因子, 腸内菌叢の3者を総合した研究が将来ともに必要である。

(本講演の概要は1981年の第92回日本獣医学会で発表した。)

文 献

1. 光岡知足(1980). 腸内菌の世界, 嫌気性菌の分離と同定, 叢文社, 東京.
2. Huhtanen, C.H. and Pensack, J.M. (1965). The role of *Streptococcus faecalis* in the antibiotic growth effect in the chickens. *Poult. Sci.*, 32, 335~347.
3. Ochi, Y., Mitsuoka, T. and Segal, T. (1964). Untersuchungen über die Darmflora des Huhnes III. Mitteilung: Die Entwicklung der Darmflora von Küken bis zum Huhn. *Zbl. Bacteriol. I. Orig.* 193, 80~95.
4. Barends, E.M. (1972). The avian intestinal flora with particular reference to the possible ecological significance of the cecal anaerobic bacteria. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 25, 1475~1479.
5. Kikuchi, T., Oikawa, T., Inoue, K., Sakai, M., Hara, N., Sunagawa, K. and Ichihashi, Y. (1969). The effect of antibiotics against the intestinal bacterial flora. In *Germ-Free Biology. Experimental and Clinical Aspects*, Mirand, E. A. and Back, N., editors, Plenum Press, New York, 355~359.
6. Saloma, A. E., Creger, C. R. and Couch, J. R. (1970). The intermittent feeding of antibacterial and/or antifungal agents to laying hen. *Br. Poult. Sci.*, 11, 281~289.

7) Barnes, E. M., Mead, G. C., Impey, C. S. and Adams, B. W. (1978). The effect of dietary bacitracin on the incidence of *Streptococcus faecalis* subspecies *liquefaciens* and related *streptococcus* in the intestines of young chicks. *Br. Poult. Sci.*, 19, 713~723.

8) Coates, M. E., Dickinson, C. D., Harrison, G. F., Kon, S. K., Cummins, S. H., and Cuthbertson, W. F. J. (1951). Mode of action of antibiotics in stimulating growth of

chicks. *Nature*, London, 168, 332.

9) Hill, D. C., Branison, H. D. and Slinger, S. J. (1952). Influence of environment on the growth response of chicks to penicillin. *Poult. Sci.*, 31, 920.

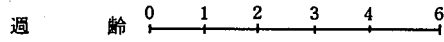
10) Visek, W. J. (1978). The mode of growth promotion by antibiotics. *J. Anim. Sci.*, 46, 1447~1469.

(Table 1, Fig. 1~3は次頁以下に掲載)

Table 1. 実験計画

1. 長期投与

	薬剤	投与量($\mu\text{g}/\text{Kg}$)
実験Ⅰ	CL	0, 5, 50
実験Ⅱ	BC	0, 4.8, 48
実験Ⅲ	ER	0, 2, 20



抗生物質投与 ←-----→

腸内菌叢検査

2. 短期投与

	薬剤	投与量($\mu\text{g}/\text{Kg}$)
実験Ⅳ	None	0
	CL	100
	BC	96
	ER	40



抗生物質投与 <-->

腸内菌叢検査

Fig. 1.

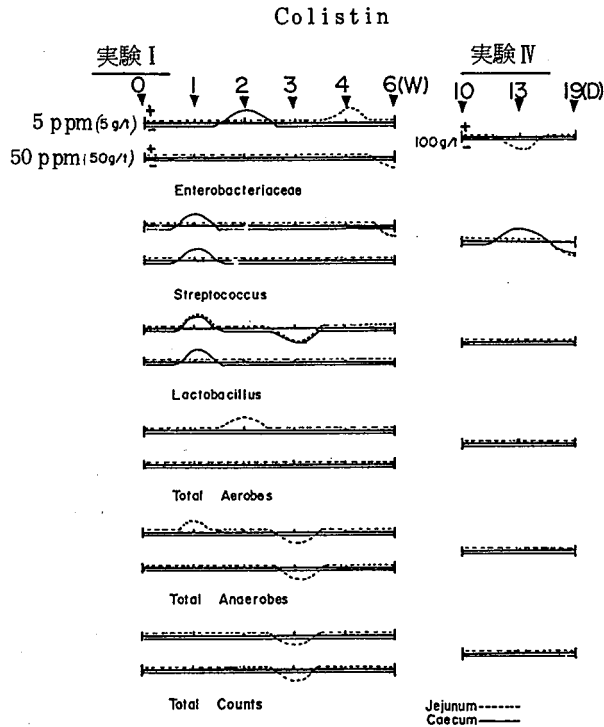


Fig. 2. Bacitracin

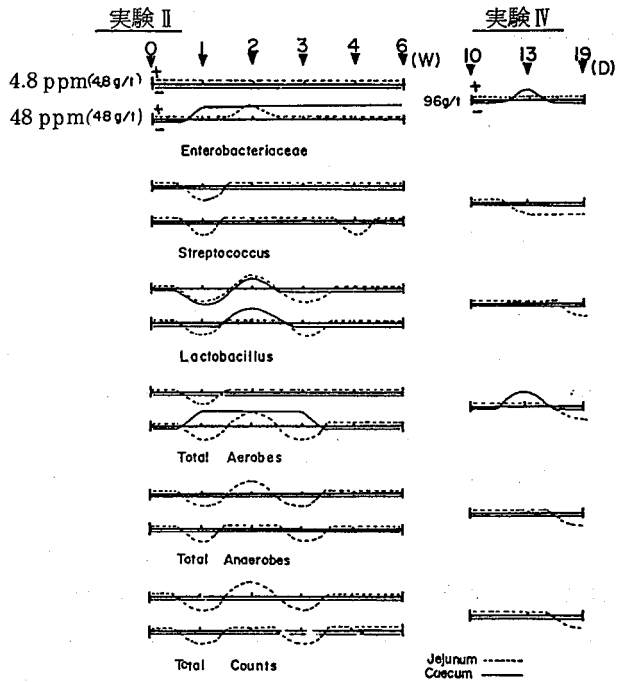


Fig. 3. Enramycin

