

#### 4. 鶏マイコプラズマ症の抗生物質による 予防、治療に関する最近の知見

— 特に *Mycoplasma gallisepticum* 及び大腸菌による、単独または混合実験感染ヒナを用いた実験成績を中心として —

村 田 昌 芳

( 広島大学 生物生産学部  
衛生微生物学講座：家畜衛生学研究室 )

ここでは、この数年間に私共の研究室で行って来た、主として *M. gallisepticum* (MG) 感染症に対する抗生物質に関する一連の実験<sup>4-10)</sup> について、成績の概要を述べ、若干の考察を加えた。

鶏の呼吸器性マイコプラズマ病に対する薬剤による予防は、介卵性垂直感染及び主に気道感染による同居鶏群への水平伝播の防止を主な内容とする一方、不顕性感染鶏の発症予防も重要である。治療面では、病原体の撲滅よりも、むしろ症状の軽減に重点がおかれている<sup>4, 12, 13)</sup>。

従来、MGに対し用いられて来た主な抗生物質は、TSを中心としその他EM、SPM等のマクロライド系剤のほか、TC、SMなどであり、1960-65年頃の成績によれば、それらのMIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) は、それぞれTS: 0.004~0.02, TC: 0.1~0.5, SPM: 0.1~2.0程度であった<sup>3, 4, 11~13)</sup>。

##### (1) 国内分離MG株の抗生物質に対する *in vitro* での感受性について<sup>5)</sup>

Kuniyasu et al<sup>2)</sup> は、1970年日本各地の投薬養鶏場の鶏及び死ごもり卵由来MGの27株について調べ、TSとSPMのMICが従来のそれ<sup>3, 11)</sup> よりも100~1,000倍高い値を示す耐性株の出現を認めた。また、それらTS、SPM耐性MG株による実験感染ヒナでは、TS、SPM注射で除菌できなかったと述べた。そこで、私共は国安らとの共同研究<sup>5)</sup> により、前述のように国内各地の投薬養鶏場のMG感染鶏または死ごも

り卵から、1969-71年に分離送付された85株のMGについて、主要抗生物質5剤によるMICを調べた。なお、供試菌株は一般MG株のMIC分布調査を目的に無作為抽出されたものではなく、由来鶏群の投薬歴・地域・株数などにやや偏りがみられ、孵卵前にTS浸漬された死ごもり卵由来の38株(48%)も含まれた点は注意を要する。

その結果、卵のTS浸漬による差は認められず、各薬剤のMIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) とその分布は図1に示す通りで、それぞれTS: 3~30(80%), SPM: 100<(70%)で、Newnhamら(1965)<sup>11)</sup>の成績100~1,000倍の耐性化がみられ、SPCT<sup>4)</sup>: 3~10(90%), TC: 1~3(94%), CP: 10~30(90%)であり、最も高い比率(ピーク)のみられたMICはそれぞれTS: 10(39%), TC: 1(85%), SPCT: 10(67%)で、TCの耐性化は純い事が示唆された(図1)。

以上の成績その他<sup>2, 5)</sup> から、従来使用され近年耐性化のみられるTSやSPM等に代わる新しい薬剤につき検討した。

DOTC(1962, Pfizer社)のMG: 10株に対するMICは0.03~0.25(ピーク: 0.063)であり、*M. synoviae* (MS): 15株に対しては0.063~0.5(ピーク: 0.125)で、MG・MS間に大差はみられなかった<sup>7)</sup> Tiamulin(1974, Sandoz社)について前述のMG: 64株(マイクロプレート法)と種々由来のMS: 14株

図1. *M. gallisepticum* : 第1~5群全菌株の薬剤感受性 (MIC) 分布

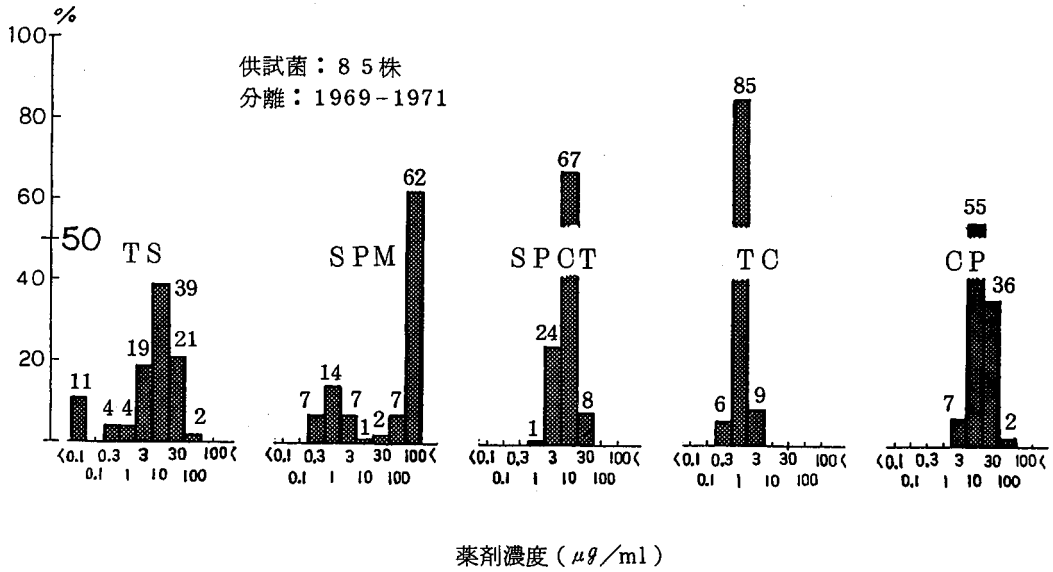
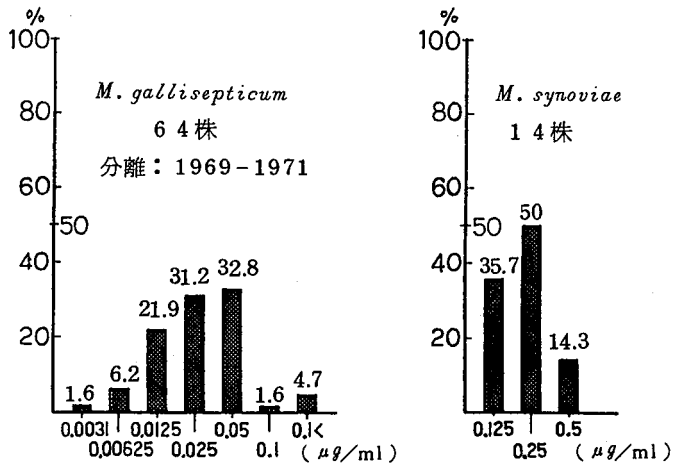


図2. Tiamulinの*M. gallisepticum*および*M. synoviae*に対する *in vitro*でのMIC分布



(試験管法)に対するMICを調べたところ(図2), MGでは0.0031~0.1以上で、ピークは0.025~0.05:各31~32%計60%余で、低MIC値がみられた。一方、MSでは0.125(36%)と0.5(50%)が中心で、MGの約10倍の値がみられた(図2)<sup>10)</sup>。

Linco-Spectin(LS, Upjohn Co.; Hamdy, 1969)はLCMとSPCTの1:2合剤で、MG感染症に対する効果が報告されている<sup>13)</sup>が、7株の保存MG株に対する本剤のMICはSPCTに対する値とほぼ同じで、0.8~3.13  $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった<sup>9)</sup>。

## (2) 初生ヒナにおけるMG及び大腸菌による単独ならびに混合実験感染系について

*in vivo*での薬剤効果の基礎的検討の為に、初生ヒナを用いた一実験感染系を確立する目的で、以下の実験を試みた。

### A) MG単独実験感染系について<sup>6)</sup>

供試菌MG:1RF株は佐藤ら<sup>13)</sup>により、鶏関節膜炎から分離された比較的強毒な菌株であり<sup>4, 13)</sup>、従来初生ヒナの気嚢内人工感染による実験には、著者らによる以外余り用いられていない<sup>4, 12-14)</sup>。そこで、供試菌の液体培養10倍段階希釈の0.4ml/ヒナを、ブロイラー初生ヒナ、雄の後胸気嚢内に接種後4週間観察し、接種菌のウィルレンスの程度を調べた。実験群は20羽/群とし、無処置及び感染無投薬対照を含む6群を設定した。接種菌数は $4 \times 10^{1-5}$ CCUの5段階とした。原則として毎週5羽/群のヒナを殺剖検し、種々の項目につき経時観察を試みた(死亡ヒナは、その週の殺ヒナ数に含めた)。

その結果、全群呼吸器症状はみられず、多数菌接種群で頸部捻転と脚麻痺を主徴とする死亡ヒナがみられた。それらの脳からは、MGが分離され、病理組織学的に脳軟化病変が認められた。その発病機序としては、MGによる塞栓やMG毒素等が考えられる。多数菌接種群では、増体量少く、飼

料効率悪く、2週令迄の死亡率は $10^5$ CCU接種群で45%で、供試菌のLD<sub>50</sub>は $10^5 \sim 10^6$ CCUの間と推定された。気嚢・気管の肉眼病変出現率は多数菌接種群で高く、病変程度も強い傾向がみられた。低率ながら、肝に点状出血や線維素性包膜炎・壊死巣等が、接種菌数に拘らず認められた。MG分離率は気嚢よりも気管で高かった。MG血清凝集素価は、2週以後で上昇がみられ、接種菌数による差は明確でなかった。

### B) 大腸菌の単独実験感染系について<sup>8)</sup>

鶏MG感染症の混合感染菌の一つとして重要な大腸菌の気嚢内人工感染による、初生ヒナに対するウィルレンスの程度を調べた。

供試菌*E. coli*:TK18-A株(O群2)の液体培養の10倍段階希釈( $5.4 \times 10^{0-5}$ CFU/0.4ml)を、ブロイラー初生ヒナ、雄の後胸気嚢内に接種し4週間観察した。各実験群20羽宛のヒナを用いた。得られた成績は下記の通りであった。

全群呼吸器症状はみられず、ヒナの死亡は主に感染後7日以内にみられた。供試菌のLD<sub>50</sub>は $5.4 \times 10^{2-4}$ CFUで、菌接種10CFU以下では死亡率は極めて低く、接種菌数の減少に伴い、死亡時期遅延の傾向がみられた。肉眼病変出現率と接種菌数とはほぼ平行し、LD<sub>50</sub>以上の菌接種群で病変陽性の傾向がみられた。顕著な病変は、 $10^3$ CFU接種亜急性死亡例で多くみられ、気嚢病変は $10^2 \sim 5$ CFU接種群にみられた。組織病変については検討中である。大腸菌分離率は、接種菌数とはほぼ平行し、ヒナの死亡は敗血症によると思われた。

以上の事から、本実験での供試菌のLD<sub>50</sub>は単に死亡率のみならず、肉眼病変出現や接種菌分離率等各種病原性に関する指標としても重要な意義をもつ事が知られた。

### C) MG及び大腸菌による混合実験感染系について

上述のAとB)におけると同様の実験材料と方

法を用いて、MGと大腸菌による混合感染実験系についても目下検討を進めている<sup>1)</sup>。

(3) 初生ヒナ対MG及び大腸菌実験感染系を用いての、*in vivo*での抗生物質投与と効果の検討について

A) 初生ヒナにおけるMG及び大腸菌による実験的混合感染に対する、DOTC飲水投与の予防効果について<sup>2)</sup>

まず、前記(2)-A)に述べた実験系を用いてDOTCの飲水投与効果を調べたが、DOTCはMG単独感染に対しては左程優れた効果を示さなかった。そこで、前記(2)-C)に述べた実験系を用いて、MG及び大腸菌による混合感染に対するDOTC飲水投与効果を調べた。飲水投薬開始24時間後のヒナ気嚢内にMG( $2 \times 10^4$  CCU)及び*E. coli*( $6.4 \times 10^5$  CFU)の混合菌液を人工感染し、4週間観察した。DOTC投薬は3群(200mg力価/1.4時間/日・3日、同5日、400mg力価/1.4時間/日・3日)とし、対照にTS投与(500mg力価/1.5日)及びSM・SPM合剤投与(K社、基準量を5日)の2群と、無処置及び感染無投薬各1群、計7実験群(20羽/群)を設定した。

全群死亡ヒナ以外に顕著な臨床症状はみられず、死亡率はDOTC投薬群の方が対照投薬群におけるよりも低かった。ヒナ肉眼病変出現率はDOTC 400mg/1.3日投与群で低かった。MG分離率はTS投与群で低かった。大腸菌分離率は、対照投薬群よりもDOTC投与の3群全てが低かった。以上の成績をヒナ死亡率と気嚢病変出現率の点で整理すると、DOTC投薬群は他の3感染対照群に対し有意に低かった。

以上の実験条件の範囲で、DOTC投薬は有効と認められた。

B) 初生ヒナのMG単独実験感染に対するSPCT注射の予防効果について<sup>3)</sup>

前記(2)-A)に述べた実験系を用いて実験を行

った。プロイラー初生ヒナ、雄にSPCT 5mg(25mg/Kg体重)宛を皮下注射し、1時間後にMG:1RF株( $4 \times 10^8$  CFU/ヒナ)を気嚢内に人工感染させ、4週間観察した。上記SPCT投与は3群、対照にはTS 1mg力価/ヒナ(TS 200注)投与、無処置、感染無投薬の3群をおいた(20羽/群)。その結果(図3)、対照群も含め死亡率は極めて低く、肉眼病変出現率・MG分離率・MG血清凝集素出現率と凝集素価は、対照に比べてSPCTまたはTS投薬群では極めて低いか、陰性であった。

以上の成績から、SPCT注射は初生ヒナのMG人工感染に対し、少くともTSと同等の阻止効果をもつ事が示された。

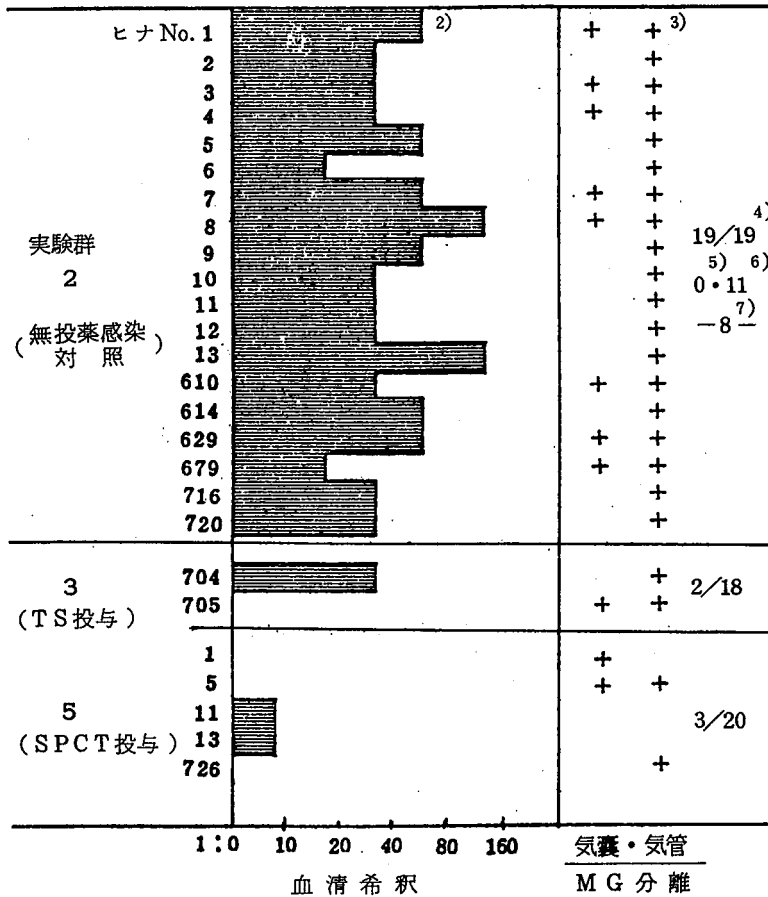
C) 初生ヒナのMG単独、及びMG・大腸菌混合実験感染に対するLS飲水投与効果について

前述のSPCTに関する実験に関連して、同様にMGに対する作用が報告されているLS(LCMとSPCTの1:2合剤:前記(2)項末尾参照)<sup>4)</sup>について、プロイラー初生ヒナ、雄でのMG単独実験感染ならびにMG及び大腸菌混合実験感染の2系を用いて、その感染阻止効果を検討した。実験方法は、前記(3)-AまたはB)に準拠した。ただし、供試菌はMG:KP-13株と*E. coli*:TK18-A株、3週間観察とした。

MG単独感染実験では、MG: $4 \times 10^7$  CCU接種1時間後に飲水投薬(自由摂取、1週間)を開始した。投薬群別は、SPCTの0.05%と0.075%、LCMの0.025%と0.075%、LSの0.075%(指示濃度)力価液投与とした。ヒナは30羽/群で、2週令時10羽/群と3週令生残全例を剖検した。その成績から、本実験条件でのLS飲水投与効果はSPCT飲水投与と同程度で左程高くない、また合剤としての利点も明確でなかった<sup>5)</sup>。

混合感染実験では、飲水投薬(自由摂取、1週間)開始20時間後に、MG( $4 \times 10^5$  CCU)・大腸菌( $5.7 \times 10^5$  CFU)混合液を20羽/群の

図3. 供試ヒナ<sup>1)</sup>におけるMG分離と血清凝集素価の関係



- 1) ここに示したヒナ以外はMG分離，MG血清凝集素ともに全例陰性
- 2) 個体別MG血清凝集素価
- 3) +は気嚢または気管からのMG分離を示す
- 4) MG分離羽数/供試羽数
- 5) 気嚢のみMG分離羽数
- 6) 気管のみMG分離羽数
- 7) 気嚢，気管ともMG分離羽数

ヒナに接種，途中殺せず死亡例と3週令生残全例を剖検した。投薬群別は，SPCTの0.05%，LCMの0.025%，LSの0.075及び0.15%，対照CPの0.004%力価とした。多項目にわたる実験成績から，本実験条件ではLS指示濃度投与で感染を十分阻止し得なかったが，同剤の2倍指示濃度投与は重篤な本実験感染に対しかなりの効

果を示した。この事から，LSのMG・大腸菌混合感染阻止効果は，SPCT及びLCMの単剤に比べ高い事，そしてLSはMG単独感染よりもむしろMG・大腸菌混合感染に対し有効な事が示唆された<sup>10)</sup>。

以上の研究は，家畜衛試の佐藤静夫・国安主税

両博士の援助，ならびに教室の研究生・学生諸氏の協力の下になされたものであり，深く感謝する。

#### 文 献

- 1) 江副伸介(1978)． 広島大学，水畜産学部卒業論文。
- 2) Kuniyasu, C. et al.(1974). *Natl. Inst. Anim. Health Q.(jpn)* 14, 48-53.
- 3) 松井光蘭ほか(1967)． 鶏の呼吸器性マイコプラズマ病，(技術の手引き 6)． 日本獣医師会，東京．
- 4) 村田昌芳ほか (1973)． 第76回日本獣医学会講演要旨，114． 演題№183 [川崎博史，(1974)． 広島大学，水畜産学部卒業論文]．
- 5) 村田昌芳ほか (1974)． 第78回日本獣医学会講演要旨，73， 演題№142 [梶川道治 (1975)，広島大学，水畜産学部卒業論文]．
- 6) 村田昌芳ほか (1979)． 第85回日本獣医学会講演要旨，73， 演題№1-13 [藤井英明 (1977)，広島大学，水畜産学部卒業論文]．
- 7) 村田昌芳ほか (1978)． 第86回日本獣医学会講演要旨，15， 演題№1-30 [竹之内利郎(1978)，広島大学，水畜産学部卒業論文]．
- 8) 村田昌芳ほか (1979)． 第87回日本獣医学会講演要旨，96， 演題№Ⅲ-43 [川口忍 (1979)，広島大学，水畜産学部卒業論文]．
- 9) 村田昌芳ほか (1979)． 第88回日本獣医学会講演要旨，123， 演題№Ⅲ-細-46 [秋田孝(1979)． 広島大学，水畜産学部卒業論文]．
- 10) 同上未発表
- 11) Newnham, A.G. and H. P. Chu. (1965). *J. Hyg., Camb.* 63, 1-23.
- 12) 佐藤静夫 (1976)． 鶏病研報. 12 (増刊号)，35-52．
- 13) 佐藤静夫 (1977)． 日獣会誌. 30, 421-430．
- 14) 柚木弘之ほか (1974)． 凍結及び乾燥研究会会誌. №20: 41-45．