鶏ひなの脳病巣から分離した緑膿菌に対するひなの感受性

高瀬公三* 西川比呂志* 山田進二*

(昭和 58 年 7 月 15 日受理)

Susceptibility of Chickens to *Pseudomonas aeruginosa*
Isolated From Brain Lesion of Chicken
KOZO TAKASE et al. (The Chemo-Sero-Therapeutic Research
Institute, Kumamoto, 860)

SUMMARY

Day-old chicks were highly susceptible to *Pseudomonas aeruginosa* isolated from chickens affected with cerebral necrosis when inoculated intracerebrally. In them, fatality was 100% with 10^2 viable organisms. They decreased gradually in susceptibility when administered subcutaneously, intraperitoneally or orally. Fatality after oral administration was 20% with 10^8 viable organisms. Deaths usually occurred 5 days postinoculation. Age-dependent susceptibility was also observed.

When administered subcutaneously with 10^8 viable organisms, chicks 1, 7, 14, and 24 days old presented a fatality of 100, 100, 50, and 10%, respectively. The 50% Lethal dosis of the isolate was $10^{4.6}$ and $10^{7.5}$ in day-old chicks and 4-week-old mice, respectively, by the subcutaneous route. Cerebral necrosis similar to that of the field case was reproduced in 4 chicks inoculated subcutaneously with more than 10^6 viable organisms.

要 約

脳病変をともなう鶏ひなから分離した *Pseudomonas aeruginosa* に対するひなの感受性を検討し、以下の成績を得た。

ひなの感受性は脳内接種で最も高く、 10^2 個で 100% 死亡した。皮下および腹腔内接種ではやや低下し、経口接種では最も低く、 10^8 個で 20% が死亡した。これらはすべて接種後 5 日以内に死亡した。

各種日齢のひなに 10^8 個を皮下接種した結果、1 および 7 日齢ひなで 100%，14 日齢ひなで 50%，24 日齢ひなで 10% の死亡率を示し、若い日齢でより高い感受性を示した。

皮下接種によるひなの 50% 致死量は $10^{4.6}$ 個であるのに比し、マウスでは $10^{7.5}$ 個で、明らかにひなの感受性が高かった。

皮下接種した 4 例のひなに、野外例と同様な脳病変を再現できた。

鶏ひなの緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*, 以下 Ps と略) 感染症はこれまでに多数の報告^{2-6,8)} があるが、Ps に対するひなの感受性については詳細に検討されたものがない。

著者らは、前報⁷⁾ においてひなの Ps 感染症に遭遇し、その発生状況を検討した結果、本病例は脳に明瞭な壊死巣をともなっていたこと、および雌のみが発病した点が、これまでの症例^{2-6,8)} とは異なっていたことを述べた。しかし、菌の侵入経路については明らかにすることができ

なかった。

そこで、前報⁷⁾ の脳病巣から分離した Ps, 57-175-1 株を用いてひなの Ps に対する感受性を、接種部位、菌量および日齢別に検討し、前報⁷⁾ における脳病変の再現を試みたので報告する。

1. 材料および方法

1) 供 試 動 物

ひなは市販の 1, 7, 14 および 24 日齢の雄を、またマウスは 4 週齢の dd 系雄をそれぞれ用いた。

* (財)化学及血清療法研究所 (熊本市清水町大窪668)

2) 供 試 菌 株

脳病変をともなったひなの Ps 感染症の脳から分離した Ps, 57-175-1 株 (血清型 G)⁷⁾ を用いた。普通寒天培地で 18 時間培養した後、白金耳でかきとり、滅菌生理食塩液で 2 回洗浄し、 $10^2 \sim 10^9$ 個/0.1 ml の 8 段階の濃度に調整して接種材料とした。

3) 病理学的検査

死亡または殺処分後のひなは、剖検後主要臓器を 10% ホルマリン水で固定し、パラフィン包埋、薄切およびヘマトキシリン・エオジン染色を施し、鏡検に供した。

4) 接種菌の回収

剖検後、脳、心、肝、脾、腎および肺から接種菌の回収を行った。NAC 寒天培地 (栄研) に各臓器の新鮮断面を直接塗抹して、 37°C 24 時間好気培養し、培地上のコロニーを観察した。発育した数によって一〜卅と表示し、発育状況と菌の形態で同定した。

5) ひな接種試験

接種部位別、菌量別および日齢別にひなの接種菌に対する感受性を検討した。接種部位は 1 日齢ひなの脳内、皮下、腹腔内および経口を、菌量は $10^2 \sim 10^8$ 個/羽を、また日齢は 1, 7, 14 および 24 日齢をそれぞれ設定した。接種後ひなの生死を 7 日間観察した。死亡例は直後、一部のものは瀕死期に、また生残例は接種後 7 日目に殺処分し、それぞれ剖検後、接種菌の回収および組織学的検査を実施した。

6) マウス接種試験

4 週齢マウスに $10^3 \sim 10^9$ 個/匹を腹腔内および皮下に接種し、マウスの接種菌に対する感受性を検討した。また比較のため、1 日齢ひなを準備し、マウスと同様の試験を行った。接種後 7 日目までの生死によって感受性を判定し、Reed and Muench の方法により LD_{50} を求めた。

2. 成 績

1) ひなの接種部位別菌量別感受性

接種部位および菌量別のひなの死亡状況および死亡率を表 1 に示した。脳内接種群では、接種菌量に関係なく接種後 1 日目に全例死亡または瀕死状態となった。皮下接種群ではほとんどのものが接種後 1〜3 日目に死亡した。腹腔内接種群は接種後 3 日目までに死亡した。経口接種の 10^8 個群では接種後 5 日目に 2 例が死亡したのみで、その他の群では死亡するものが認められなかった。接種部位別の死亡率は、脳内接種群で最も高く、ついで皮下および腹腔接種群であり、最も低かったのは経口接種群であった。

接種部位および菌量に関係なく、死亡例および瀕死期殺例の各臓器から接種菌が高率に回収できた。しかし、接種後 7 日目殺処分例では、いずれの臓器からも回収で

きなかった。

2) ひなの日齢別感受性

ひなの日齢別死亡状況および死亡率を表 2 に示した。死亡率は 1 および 7 日齢群では 100%，14 日齢群では 50%，24 日齢群では 10% であった。また、日齢の上昇とともに死亡時期が遅れ、24 日齢群では接種後 4 日目にそれが認められた。

3) マウスの感受性

マウスおよび比較のために用いたひなの死亡状況を表 3 に示した。マウスでは $10^3 \sim 10^9$ 個接種群で、ひなでは $10^3 \sim 10^9$ 個接種群で死亡するものが認められた。接種部位別の死亡状況にほとんど差はなく、それぞれの LD_{50} はマウスの腹腔内および皮下接種群では $10^{7.5}$ 個、ひなの

表 1 ひなの接種部位別菌量別感受性

部位	菌量	羽数	接種後日数							計 (%)
			1	2	3	4	5	6	7	
脳内	10^6	10	10*	.	.	.	.	.	.	10 (100)
	10^4	10	10	.	.	.	.	.	.	10 (100)
	10^2	10	10	.	.	.	.	.	.	10 (100)
皮下	10^8	10	6	3	1	.	.	.	.	10 (100)
	10^6	10	2	4	1	1	.	.	.	8 (80)
	10^4	10	.	4	1	1	.	.	.	6 (60)
腹腔	10^8	10	.	1	2	.	.	.	.	3 (30)
	10^6	10	5	3	2	.	.	.	.	10 (100)
	10^4	10	2	3	1	.	.	.	.	6 (60)
経口	10^8	10	1	2	1	1	.	.	.	5 (50)
	10^6	10	.	.	.	.	2	.	.	2 (20)
	10^4	10	.	.	.	.	.	.	.	0 (0)

注) *: 死亡羽数、ひん死期殺例を含む

表 2 ひなの日齢別感受性

日齢	羽数	接種*	接種後日数							計 (%)
			1	2	3	4	5	6	7	
1	10	10**	.	.	.	.	.	.	.	10 (100)
7	10	5	5	.	.	.	.	.	.	10 (100)
14	10	1	3	1	.	.	.	.	.	5 (50)
24	10	.	.	.	1	.	.	.	.	1 (10)

注) *: 10^8 個/羽 (皮下接種) **: 死亡羽数

表 3 マウスの感受性

動物部位	接種	接種菌量						
		10^9	10^8	10^7	10^6	10^5	10^4	10^3
マウス	腹腔	7/7*	7/7	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7
	皮下	7/7	7/7	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7
ひな	腹腔	7/7	7/7	4/7	6/7	7/7	4/7	4/7
	皮下	7/7	6/7	6/7	6/7	5/7	3/7	1/7

注) *: 死亡数/接種数

腹腔内および皮下接種群ではそれぞれ $10^{3.9}$ および $10^{4.6}$ 個で、マウスの LD_{50} が高値を示した。

4) 病理学的所見

剖検時の肉眼所見は、各接種群ともほぼ同様の变化を示した。すなわち、死亡例では全身の充・うっ血が見られ、接種後1～2日目の死亡例には皮下の水腫が、接種後3日目以降の死亡例には心膜炎、脾腫、腹膜炎および関節炎などが認められた。また、脳内接種群では脳膜の黄白色化が、皮下接種群では接種部に黄白色チーズ様物の貯留がそれぞれ認められた。

いっぽう、大脳における小豆大黄白色壊死巣は皮下に 10^6 個接種した群で2例、 10^7 個および 10^8 個接種した群で各1例、計4例に認められた(写真1)。

組織学的には、各接種群は共通の変化を示した。肝で

写真1 脳の壊死巣 (矢印)

写真2 肝の壊死巣および細胞浸潤

写真3 脳の軟化・壊死巣 (中央) および周囲の細胞浸潤

は RES 細胞の活性化および壊死巣(写真2)が見られ、一部では菌塊も認められた。脾では英組織の活性化および好酸性物質の滲出が、また壊死が一部の例で観察された。心膜および腹膜には水腫と単核細胞の浸潤が、関節および腱鞘部には多数の偽好酸球ならびに少数の単核細胞の浸潤が認められた。脳では、皮下接種群の4例で肉眼的に認められた黄白色巣は軟化壊死巣と一致した(写真3)。壊死巣の周囲には血管の変性、血管周囲に菌塊および細胞浸潤が見られた。また、脳内接種群では脳膜に多数の菌塊と細胞浸潤、脳室内への細胞浸潤と上衣下の脳炎が観察された。なお、接種後7日目まで生残したひなには肉眼的にも、組織学的にも変化は認められなかった。

3. 考 察

わが国における鶏ひなの Ps 感染症の発生については、これまでにいくつかの報告^{3,5,6,8)} がなされており、また分離菌によるひな接種試験も行われている。しかし、ひなの Ps に対する感受性を詳細に検討した報告は見あたらない。

今回の試験により、ひなの Ps に対する感受性は接種菌量、接種部位および日齢により大きな差のあることが明らかになった。すなわち、非経口的に接種するとひなの感受性は高く、脳内あるいは皮下接種では菌量が 10^2 個でも死亡した。いっぽう、経口接種でのそれは低く、 10^8 個の菌量でも死亡例はわずかであり、経口感染による水平伝播は少ないものと思われる。しかしながら、Ps に起因したふ卵器内爆発卵による高濃度汚染では、 10^8 個以上の経口感染も起こりうるものと考えられる。

ひなの日齢が低いほど感受性は高くなり、同時に死亡時期も早かったが、このことは野外発生例の多くが幼すうで、しかも急性の発症であることと一致している。

マウスの Ps に対する感受性はひなよりも明らかに低かった。しかしながら、接種菌量間における生死のばらつきはひなにおいて大きく、マウスの生死は菌量により明確に区分された。ひなにおける生死のばらつきの原因は不明である。阿部ら¹⁾ は Ps のマウスに対する病原性を3群に分類している。すなわち、 10^8 個接種で100%死亡させる群、約60%死亡させる群および全く死亡させない群に大別している。この分類に従えば、分離菌57-175-1株は 10^8 個接種でマウスを100%死亡させたことから、病原性の最も強い群に属するものと思われる。

病理学的所見は、脳病変以外では従来¹¹⁾の所見とほぼ一致した。供試菌株を分離した野外例⁷⁾と同様な脳病変は、全試験をととして $10^6 \sim 10^8$ 個の菌量を皮下接種した群51羽中4羽(7.8%)に再現された。脳病変は Ps が血行性に伝播され、形成されたものと思われるが、皮下以外の経路で接種した群には再現できなかった。脳病

変形成には菌の侵入部位が関与しているのかもしれない。脳病変形成に皮下接種が必要であると仮定すれば、野外例⁷⁾の場合にも Ps が人工的に皮下接種されたことを示唆しており、興味深い。Ps と脳病変形成との関連は、血清型を含めて異なった菌株での検討が必要であろう。

文 献

- 1) 阿部尚人, 小枝鉄雄, 井上剛光, ほか: 動薬検年報, 9, 45~50 (1972).
- 2) ANDREEV, I., PETKOV, A., SLAVOVA, D., et al.: *Vet. Sb.*, 80, 27~29 (1982) [*Poult. Abstr.*, 9, 20 (1983)].
- 3) 遠藤恭介, 尾田 進, 本間穂積, ほか: 鶏病研報, 14, 135~141 (1978).
- 4) 小枝鉄雄: 日獣会誌, 29, 429~433 (1976).
- 5) 佐藤洋三朗, 一瀬賢夫, 松村博敏, ほか: 神奈川県家畜保健衛生業績発表会抄録, 98~102, 神奈川県農政部畜産課 (1974).
- 6) 清水 健: 畜産の研究, 28, 1047~1186 (1974).
- 7) 高瀬公三, 丸山智之, 西川比呂志, ほか: 日獣会誌 (36, 656~658 (1983)).
- 8) 渡木一昌, 佐藤 隆: 鶏病研報, 15, 23~26 (1979).
- 9) MARKARYAN, M.: *Veterinarnomeditsinski Nauki Bulgaria*, 12, 33~39 (1975) [*Poult. Abstr.*, 2, 141 (1976)].
- 10) MIREKES, V., ALVAREZ, C. and SALSURY, S. A.: *In Proceedings of 28th Western Poultry Disease Conference and 13th Poultry Health Symposium*, Davis California, USA., 55~57 (1979) [*Poult. Abstr.*, 6, 106 (1980)].
- 11) 森田幹夫: 新鶏病全書, 高松泰人監修, 94~101, 鶏友社, 名古屋 (1982).

子豚下痢における腸内菌叢と気候

小野武男*1) 久保田泰夫*1) 森谷保昭*1) 寺田 厚*2) 内田和夫*2)

(昭和 58 年 9 月 16 日受理)

Relationship between Climate and the Bacterial Flora of Piglets with Diarrhea
TAKEO ONO Tokyo Metropolitan Livestock Hygiene Service Center, Tachikawa,
Tokyo, 190) et al.

SUMMARY

The relationship between the bacterial flora on diarrhea of piglets and the climate were investigated. The results obtained are summarized as follows.

In the flora of the feces of piglets, resident organisms were *Bacteroidaceae*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, curved rods, *Bifidobacterium*, *Peptococcaceae*, and *Escherichia coli*. At 8-10 days of age, *Clostridium perfringens* was not found in the predominant genes.

Rapid recovery from diarrheal feces of piglets showed a decrease in *E. coli* and an increasing tendency in *Lactobacillus*, and *Bifidobacterium*. Few other bacteria showed a great variation among individuals.

In diarrheal piglets, *E. coli* increased rapidly in the ileum and intestine and lactic acid bacteria decreased in the upper part of the ileum. In one of these piglets *C. perfringens* seemed to have taken part in the occurrence of colibacillosis.

It was considered that low temperature and high humidity might have stimulated the outbreak of diarrhea of piglets.

要 約

子豚下痢症における腸内菌叢や気候との関係を検討し、次の成績を得た。

1) 子豚の腸内菌叢は, *Bacteroidaceae*, *Lactobacillus*, Curved rods, *Bifidobacterium*, *Peptococcaceae*, および *Escherichia coli* などが主要菌を構成した。

*1) 東京都家畜保健衛生所 (東京都立川市富士見町 3-137)

*2) 日本獣医畜産大学 (東京都武蔵野市境南町 1-7-1)