

生菌剤 *Bacillus cereus* および *Enterococcus faecium* の給与が ブロイラーの増体、肝臓と小腸の発育および血液成分に及ぼす影響

安達よしえ^{1*}・酒井一雄¹・佐々木克典¹・片桐孝志¹・本間秀彌²・田島淳史²

¹ 筑波大学農林技術センター, 305-8577 茨城県つくば市天王台1-1-1

² 筑波大学農林学系, 305-8572 茨城県つくば市天王台1-1-1

要 旨

生菌剤 *Bacillus cereus toyoi* (*B. cereus*) と *Enterococcus faecium* BIO-4R (*E. faecium*) を各々単独でブロイラーに給与し、増体効果と小腸および肝臓の発育に及ぼす影響を調べた。同時に、血液成分を調べて脂質代謝との関係を検討した。*B. cereus* を投与した場合、7週齢で増体効果が現れた。しかし、*E. faecium* をブロイラー雌に投与した場合に飼料摂取量には差がなく、増体効果は認められなかった。*E. faecium* を投与した場合、3週齢の小腸重が増加したが、7週齢では逆に減少した。この結果は *E. faecium* が小腸の発育に影響を及ぼしていることを示唆しているが、週齢によって結果が異なった理由は不明である。また、*E. faecium* の給与は3週齢の肝臓重を減少させ、7週齢で血液中の遊離脂肪酸を増加させた。これらの結果から、*E. faecium* は肝脂肪や脂肪組織の脂質代謝に影響を与え、エネルギーを有効に利用する効果を持っていることが示された。一方、*B. cereus* は小腸や肝臓および血液の脂質成分に影響を及ぼさなかった。

キーワード：肝臓、血液成分、小腸、生菌剤、増体

緒 言

近年、家禽や養豚業界では家畜の成長促進剤として、また予防的治療薬として非常に多種の抗生物質が使用されている。しかし、1976年に「飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律」(飼料安全法)が施行されてから、発育促進用としての抗生物質の飼料添加が厳しく規制されるようになった。家畜への抗生物質や合成抗菌剤などの投与は畜産物への残留や耐性菌の増加という問題を含んでいる。一方、これらの代替品または補完品として飼料用生菌剤が注目されるようになってきた。生菌剤とは「腸内のバランスを改善することによって宿主動物に有益に働く生きた微生物添加物」として定義づけられている (Fuller 1992)。

生菌剤は特に家禽及び養豚産業において生産性の向上、健康増進、飼育環境の改善など多面的な効果を期待して使用されている。しかしながら、生菌剤には有効性を証明するための科学的データが乏しく、その効果はかならずしも明瞭に現れない場合もあり、その作用機序は依然

* Corresponding Author: adachi@nourin.tsukuba.ac.jp

として不明である。そこで、市販されている *Bacillus cereus toyoi* (*B. cereus*) と *Enterococcus faecium* BIO-4R (*E. faecium*) の2種類をそれぞれ単独で用いてプロイラーに給与し、増体効果と肝臓と小腸の発育に及ぼす影響を調べた。また、血液成分を調べて脂質代謝との関係を検討した。

材料および方法

1) *E. faecium* 給与の影響

予備実験として1～3週齢までのプロイラーに *E. faecium* を給与したとき雌の腸管長と重量が雄よりも明らかに高かったため、本実験では、供試動物としてプロイラー（白色ロック：日本ハイポー株式会社）の初性雛の雌のみを30羽用い、処理区15羽と対照区15羽に分けた。対照区には3週齢まで配合飼料前期（ハイパワーチェック前期：東日本くみあい飼料株式会社）、4～5週齢までは配合飼料中期（ハイパワーチェック中期：東日本くみあい飼料株式会社）、6～7週齢は配合飼料後期（ハイパワーチェック後期：東日本くみあい飼料株式会社）を給与した。処理区には、それぞれの飼料に生菌剤 *E. faecium* BIO-4R（バランツール末：コーキン化学株式会社）を1%添加し、細菌濃度を 10^6 cfu/gとして給餌した。実験に用いた配合飼料の成分については表1に示した。3週齢まで照明は自然光としバタリーで飼い、4週齢以降照明は1日14時間でケージ飼いをを行った。飲水は自由摂取とした。飼料摂取量は3週齢までは毎日、4週齢以降は毎週測定した。体重は毎週測定した。1羽当たりの飼料摂取量の測定は両区で1週間給与した飼料の全量から残餌を差し引き羽数で割って求めた。臓器（肝臓、小腸の重量及び長さ）の測定と血液サンプルの採取は3週齢と7週齢に対してそれぞれ1回ずつ行った。3週齢で半数（14羽）解剖し、4週齢以降は残りの羽数（16羽）（実験途中で処理区1羽死亡）で続けた。なお、解剖の前日は絶食させた。実験期間は2000年5月9日～6月27日であった。

表1 用いた配合飼料の化学成分*

	前期	中期	後期
飼料成分 (%)			
粗タンパク質	21.0	18.0	15.0
可溶性無窒素物	63.5	66.5	67.5
粗脂肪	2.5	2.5	2.5
粗繊維	5.0	5.0	6.0
粗灰分	8.0	8.0	9.0
(カルシウム)	(0.90)	(0.80)	(0.80)
(リン)	(0.60)	(0.55)	(0.45)
代謝エネルギー (kcal/kg)	2950	2800	2750
飼料添加物			
アンプロリウム (g/t)	90	100	—
エトパベート (g/t)	5.76	5	—
硫酸コリスチン (g力価/t)	5	—	—
エンラマイシン (g力価/t)	2.5	—	—
スルファキノキサリン (g/t)	—	60	—
バージニアマイシン (g力価/t)	—	5	—

* 製造メーカー（東日本くみあい飼料株式会社）の表示

2) *B. cereus* 給与の影響

本実験では、幼雛（1～3週齢）に対する実験を1999年8月4日～22日に、中雛（4～7週齢）に対する実験は1999年11月18日～12月16日に分けて実施した。供試動物としてブロイラー（白色ロック：日本ハイポー株式会社）の幼雛および中雛をそれぞれ40羽供試し処理区20羽と対照区20羽に分けた。対照区では3週齢までは配合飼料前期（ハイパワーチック前期）、4～5週齢までは配合飼料中期（ハイパワーチック中期）、6～7週齢までは配合飼料後期（ハイパワーチック後期）を給与した。処理区では、それぞれの飼料に *Bacillus cereus toyoi*（トヨセリン散：旭ヴェット株式会社）を0.1%混合し、細菌濃度を 10^6 cfu/gとしたものを給餌した。飼養管理は前述の *E. faecium* の場合と同様である。体重は毎週測定した。臓器（肝臓、小腸の重量及び長さ）の測定は3週齢で各区5羽ずつ、7週齢で各区6羽ずつ解剖して行った。解剖前日は絶食させ、血液サンプルの採取は解剖直前に行った。

3) 血液成分の測定

採取した血液を3000rpmで遠心分離した後、血清を分別し、測定まで凍結保存した。血液成分の分析はすべて市販の分析キット（和光純薬工業株式会社）を用いて行った。すなわち、グルコースはグルコーステストワコー、遊離脂肪酸はNEFAテストワコー、コレステロールはコレステロールCテストワコー、リン脂質はリン脂質テストワコー、トリグリセライドはトリグリセライドテストワコーを用いて測定した。

統計処理は全て Student の t-検定により行った。

結果および考察

1) 増体に及ぼす影響

ブロイラー生産において、体重の変化は最も重要な生産性の指標である。たとえ僅かの増減でも大規模経営が主流であるブロイラー産業では経済的には大きな影響となって現れる。図1に *E. faecium* を給与した場合の飼料摂取量の変化を示したが、飼育の全期間を通して大きな差は見られなかった。図2に *E. faecium* を給与した場合の増体量の変化を示したが、1週齢から7週齢まで全期間を通して増体量に有意差は見られなかった。一方、*B. cereus* を給与した場合は6週齢までは対照区と差が無かったが、7週齢で処理区の増体量が上回った（図3）。

Santosoら（1995）は *Bacillus subtilis* をブロイラー雌に与えて僅かな増体があったと報告している。また、Mohanら（1996）は数種類の乳酸菌を混合した生菌剤をブロイラーに与えて増体効果を確認している。市販されているほとんどの生菌剤は、成長促進や増体の改善などの効果を挙げている。しかし、今回用いた2種類の生菌剤では増体に関して一様な結果は得られなかった。考えられる原因の一つに用いた飼料に添加されている抗生物質の影響が挙げられる。5週齢までの飼料には成長促進と病気予防のために抗生物質が添加されているが、6から7週齢までの仕上期の飼料には薬物の残留防止のため抗生物質の添加は禁止されている（表1）。*B. cereus* の場合（図3）、6週齢まで増体に差がなく、7週齢で効果が現れたのは、飼料中に添加されている抗生物質によってこの菌の腸内における成育が6週齢までは抑制されたことを示唆している。しかし、*E. faecium* の場合（図2）、飼育の全期間を通して増体への効果が認められなかった。生菌剤が増体に及ぼす効果には、抗生物質に対する感受性の他に、用いる飼

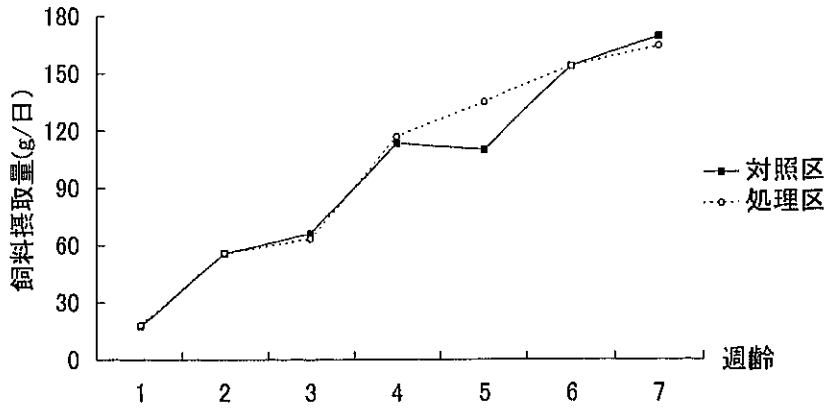


図1 *E. faecium* を給与したブロイラーの飼料摂取量の変化

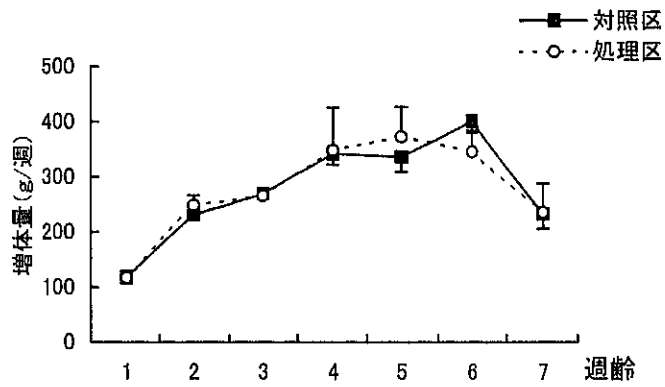


図2 *E. faecium* を給与したブロイラー雌の増体量の変化

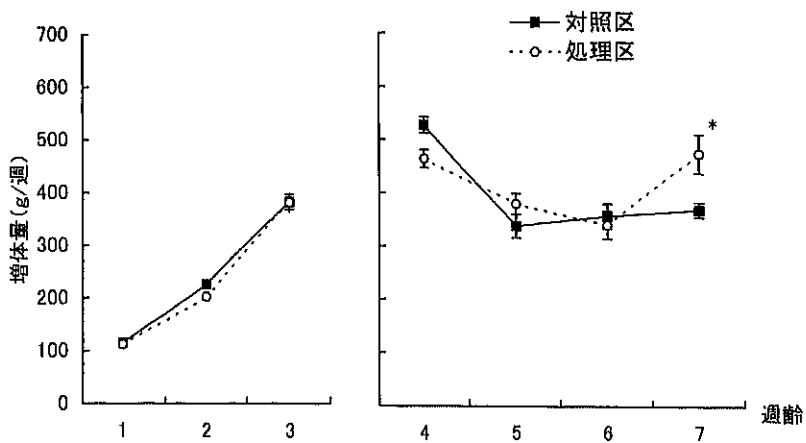


図3 *B. cereus* を給与したブロイラーの増体量の変化
(*: Student's t-検定, $P < 0.05$)

料の化学成分など腸内微生物環境に影響を及ぼす要因も深く関係していると思われる。

2) 小腸と肝臓の発育に及ぼす影響

家畜の成育は最終的には増体量の変化で現れるが、成育段階の前期と後期では体組織の発育は各組織で異なっていることがわかっている。すなわち、前期では主に筋肉組織や内臓組織が発育し、後期には主に脂肪組織が発育する。従って、成育過程で増体に及ぼす要因を更に詳しく理解するためには、各組織の発育状態を調べる必要がある。しかし、生菌剤が発育過程の各組織に及ぼす影響についてはほとんど報告されていない。そこで、本研究では栄養素の消化・吸収と代謝にそれぞれ最も関係する小腸と肝臓の発育をブロイラーの3週齢と7週齢で調査し、生菌剤給与との関係を検討した(表2)。

E. faecium をブロイラー雌に投与した場合、小腸の長さは3週齢と7週齢のいずれの時期も生菌剤給与の影響は見られなかった。しかし、体重に対する小腸重の割合は3週齢で処理区が有意に高かった。小腸内で増殖する乳酸菌は腸管粘膜を刺激して粘膜層を発達させると言われている(奥村・古瀬1994a)逆に、抗生物質の給与は腸内細菌の量を減らすことで腸管粘膜層への刺激を減少させると言われている(奥村・古瀬1994b)。本研究で用いた *E. faecium* は乳酸菌の一種であり、抗生物質のある環境下でありながら腸管粘膜層の刺激に関与している可能性を示している。しかし、抗生物質のない環境下の7週齢では、逆に体重に対する小腸重の割合は処理区が下回った。小腸粘膜に対する他の腸内細菌との競合関係などが抗生物質のない環境下で顕著になったと推察される。

E. faecium をブロイラー雌に投与した場合の体重に対する肝臓重の割合は3週齢において処理区が有意に低かったが、7週齢では有意差は認められなかった(表2)。Santonoら(1995)は *Bacillus subtilis* を給与した42日齢のブロイラー雌で肝臓重の減少と同時に肝臓における脂質成分の減少を報告している。これらの結果から、3週齢における肝臓重の減少は発育の不良によるものではなく、肝臓における脂質蓄積の減少に拠るものと考えられる。しかしながら、*B. cereus* 給与の場合は3週齢と7週齢のいずれの時期も小腸と肝臓の発育に生菌剤の影響は見られなかったことから、用いる細菌の種類によってこれらの臓器に対する影響は異なるものと考えられる。

3) 血液成分に及ぼす影響

生菌剤が血液成分に及ぼす影響を表3に示した。*E. faecium* を給与した時、血液中のグルコースと遊離脂肪酸濃度は3週齢では処理による差は認められなかったが、7週齢では処理区

表2 生菌剤 *E. faecium* 及び *B. cereus* を給与した時の小腸長と体重当りの臓器重量の割合

生菌剤	3週齢			7週齢		
	小腸長 (cm)	小腸重 (%)	肝臓重 (%)	小腸長 (cm)	小腸重 (%)	肝臓重 (%)
<i>E. faecium</i>						
対照区	97.2±2.56	2.8±0.09	3.3±0.07	142.8±33.78	1.9±0.04	2.1±0.07
処理区	97.4±4.10	3.4±0.14**	2.8±0.13**	157.7±20.53	1.7±0.05*	1.9±0.08
<i>B. cereus</i>						
対照区	119.2±6.47	—	2.7±0.73	136.7±38.26	2.0±0.08	1.6±0.03
処理区	113.6±4.07	—	2.7±0.73	113.3±45.22	2.1±0.10	1.7±0.12

Student, s t-検定 (**: P<0.01, *: P<0.05)

の遊離脂肪酸濃度が有意に増加した。血液中の遊離脂肪酸濃度は脂肪組織からのエネルギーの利用を示す指標であることから、*E. faecium* の給与は肝脂肪や脂肪組織の脂肪を効果的にエネルギーに変換する効果があるのではないかと考えられる。

血液中のコレステロール、リン脂質およびトリグリセライドなどの脂質成分には *B. cereus* 給与により差は見られなかった (表3)。また、予備実験で *E. faecium* を1から3週齢のプロイラーに給与した場合にも血液中脂質成分に差は見られなかった。しかし、Santonoら (1995) は *Bacillus subtilis* をプロイラー雌に給与して血液中のトリグリセライドとリン脂質の減少を報告している。また、Abdulrahimら (1996) は *Lactobacillus acidophilus* を卵用鶏へ給与して血液中および卵黄中のコレステロールとトリグリセライドの減少を報告している。市販の生菌剤の多くは肉や卵のコレステロールや中性脂肪含量の減少を効果の一つに挙げている。しかし、今回の実験結果とこれまでの結果から、生菌剤に使われる菌の種類の違いや用いる飼料成分の違いなどで脂質成分については効果の現れ方に差異が生じるのではないと思われる。

生菌剤は抗生物質や合成抗菌剤の代替品として注目されてきているが、これまでのところまだ完全に代替品として確立されている生菌剤は見当たらない。従って、現状では一般に、抗生物質等と併用して使用されている。今回の実験は、このような実際の家禽及び養豚産業などの現状に即して実験を行い生菌剤の効果を検証したものである。本実験で、用いた生菌剤の影響が示唆されたが、抗生物質無添加の条件での生菌剤の有効性については影響が異なる可能性もあるので、更に検討する必要がある。

表3 生菌剤 *E. faecium* 及び *B. cereus* を給与した時の血液成分の変化 (mg/dl)

生菌剤	3週齢		7週齢				
	グルコース	遊離脂肪酸	グルコース	遊離脂肪酸	コレステロール	リン脂質	トリグリセライド
<i>E. faecium</i>							
対照区	199.9±5.51	0.6±0.04	212.8±4.10	0.7±0.09	—	—	—
処理区	207.1±4.93	0.6±0.07	208.9±4.82	1.0±0.07*	—	—	—
<i>B. cereus</i>							
対照区	—	—	—	—	200.0±16.91	250.2±33.13	16.6±0.75
処理区	—	—	—	—	173.4±14.53	217.5±25.51	19.4±0.77

Student's t-検定 (*: P<0.05)

謝 辞

本実験を遂行するにあたり、筑波大学農林学系畜産学研究室の方々に御協力いただいたことに謝意を表します。

引用文献

- Abdulrahim, S.M., M.S.Y. Haddadin, E.A.R. Hashlamoun and R.K. Robinson 1996. The Influence of *Lactobacillus acidophilus* and Bacitracin on Layer Performance of Chickens and Cholesterol Content of Plasma and Egg Yolk. Br. Poultry Sci. 37: 341-346.
- 奥村純一・古瀬充宏1994a. プロバイオティックス (4). 畜産の研究48: 919-923.
- 奥村純一・古瀬充宏1994b. プロバイオティックス (5). 畜産の研究48: 1022-1027.
- Fuller Roy 1992. プロバイオティックスと畜産の研究, 46: 43-49.

- Mohan, B., R. Kadirvel, A. Natarajan and M. Bhaskaran 1996. Effect of Probiotic Supplementation on Growth, Nitrogen Utilisation and Serum Cholesterol in Broilers. Br. Poultry Sci. 37: 395-401.
- Santono, U., K. Tanaka and S. Ohtani 1995. Effect of Dried *Bacillus subtilis* Culture on Growth, Body Composition and Hepatic Lipogenic Enzyme Activity in Female Broiler Chicks. Br. J. Nutri. 74: 523-529.

Effect of Supplementation of Probiotic *Bacillus cereus* and *Enterococcus faecium* on Body Weight, Development of the Small Intestine and the Liver, and Brood Components in Broilers

Yoshie ADACHI^{1*}, Kazuo SAKAI¹, Katsunori SASAKI¹, Takashi KATAGIRI¹,
Hideya HOMMA² and Atsushi TAJIMA²

¹ Agricultural and Forestry Research Center, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8577, Japan

² Institute of Agriculture and Forestry, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8572, Japan

Abstract

Two commercial probiotics, *Bacillus cereus toyoi* (*B. cereus*) and *Enterococcus faecium* BIO-4R (*E. faecium*) were given to broilers separately and body weight gain, development of the small intestine and the liver of broilers were investigated. Glucose, free fatty acid, cholesterol, triglycerol and phospholipid in the plasma were also measured. When broilers were given *B. cereus*, body weight increased significantly at 7 weeks old. But when given *E. faecium*, no change was found in body weight gain. When broilers were given *E. faecium*, small intestine weight per body weight increased at 3 weeks old but decreased at 7 weeks old, indicating that *E. faecium* has some effects on development of the small intestine. Moreover, supplementation of *E. faecium* led to a decrease of liver weight at 3 weeks old and an increase of free fatty acid concentration in the plasma at 7 weeks old. These results suggest that *E. faecium* has some effects on lipid metabolism in the liver and the lipid tissue in broilers. However, supplementation of *B. cereus* showed no effect on development of the small intestine and the liver as well as lipid components in the plasma.

Key words : Body weight, Brood components, Liver, Probiotics, Small intestine

* Corresponding Author: adachi@nourin.tsukuba.ac.jp