

# 1986年から1995年にヒラメ病魚から分離されたEdwardsiella tardaおよびStreptococcus iniaeの薬剤感受性

誌名	水産増殖
ISSN	03714217
著者名	松岡,学 和田,有二
発行元	水産増殖談話会
巻/号	44巻4号
掲載ページ	p. 445-449
発行年月	1996年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



# 1986年から1995年にヒラメ病魚から分離された *Edwardsiella tarda* および *Streptococcus iniae* の薬剤感受性

松岡 学<sup>1)</sup>・和田有二<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>愛媛県魚病指導センター, <sup>2)</sup>愛媛県中予水産試験場)

Drug Sensitivity of *Edwardsiella tarda* and *Streptococcus iniae* Isolated  
from Cultured Japanese Flounder From 1986 to 1995

Satoru MATSUOKA and Yuji WADA

## Abstract

*In vitro* drug sensitivity of 168 *Edwardsiella tarda* and 110 *Streptococcus iniae* strains against several kinds of chemotherapeutics were investigated by the standard agar plate dilution method. Bacterial strains were isolated from cultured Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* in Ehime Prefecture from 1986 to 1995.

Most of the *E. tarda* strains tested were highly sensitive to oxytetracycline (OTC), oxolinic acid, flumequine, florfenicol and sodium nifurstyrenate (MIC, 0.1~1.56  $\mu\text{g/ml}$ ). However, OTC resistant strains (MIC, 50~100  $\mu\text{g/ml}$ ) have been increasing in Ehime Prefecture since 1990.

All strains except 1 strain of *Streptococcus iniae* were highly sensitive to macrolides, OTC and doxycycline.

養殖ヒラメ *Paralichthys olivaceus* の主な細菌性疾病としては、幼魚期に発生する滑走細菌症 (原因菌 *Flexibacter maritimus*)<sup>1)</sup> および高水温期に発生するエドワジエラ症 (原因菌 *Edwardsiella tarda*)<sup>2)</sup> と連鎖球菌症<sup>3)4)</sup> ( $\alpha$  溶血性の *Enterococcus seriolicida* を原因とする場合も一部あるが、多くの場合は  $\beta$  溶血性の *Streptococcus iniae* が原因<sup>5)</sup>) が挙げられるが、これらの細菌性疾病の発生はヒラメ養殖量の増加とともに年々増加する傾向にあり、1992年の愛媛県魚病指導センターにおけるヒラメ魚病診断件数に占める滑走細菌症、エドワジ

エラ症および連鎖球菌症の割合は、それぞれ16%, 46% および13%となっている<sup>6)</sup>。しかしながら、これらの疾病に対する化学療法に関する知見は乏しい上、ヒラメに経口投与できる化学療法剤は塩酸オキシテトラサイクリン (OTC) およびアルキルトリメチルアンモニウムカルシウムオキシテトラサイクリン (OTC-Q) の2剤に限られ\*、しばしば治療に困難をきたす場合が生じている。本報では、過去10年間にわたり調べてきたヒラメ病魚由来の *E. tarda* および *S. iniae* 分離株に対する数種薬剤の最小発育阻止濃度 (MIC) を報告する。

受領日：1996(H8)年4月16日

索引語：ヒラメ/エドワジエラ症/ $\beta$ 溶血性連鎖球菌症/薬剤感受性

連絡先：〒798 愛媛県宇和島市坂下津外馬越 愛媛県魚病指導センター 松岡 学

Address : S. MATSUOKA, Ehime Prefectural Fish Disease Control Center, Sakashizu, Uwajima, Ehime 798, Japan

\* 水産庁 (1995) パンフレット「水産用の医薬品の使用について」第11報, 1-8.

### 材料および方法

**供試菌株** 1986年から1995年にかけて愛媛県下の養殖場の罹病ヒラメから分離された *E. tarda* 168株および *S. iniae* 110株についてそれぞれの年にMICを測定した (Table 1)。なお、それぞれの菌株の同定は、*E. tarda* はSS寒天培地 (日水) に、*S. iniae* はトリプトソーヤ寒天培地 (食塩濃度2%, 日水) に発育した菌株に対するスライド凝集試験 (日本水産資源保護協会配布の抗血清使用。抗血清の抗原株は、*E. tarda* がFPC-22, *S. iniae* がNIRA-2) によった。

**供試薬剤** *E. tarda* に対しては、OTC, ドキシサイクリン (DOTC), アンピシリン (ABPC), オキソリン酸 (OA), フルメキン (FMQ), ニフルスチレン酸ナトリウム (NFS), チアンフェニコール (TP), フロルフェニコール (FF), スルファメラジン (SFM) およびエンボン酸スピラマイシン (SPM) の合計10種類の薬剤を用いた。

*S. iniae* に対しては、エリスロマイシン (EM), SPM, キタサマイシン (LM), オレアンドマイシン (OL), ジョサマイシン (JM), リンコマイシン (LCM), OTC, DOTC, ABPC, OA, NFS, TP, FFおよびSFMの合計14種類の薬剤を用いた。

**薬剤感受性測定法** MICの測定は日本化学療法学会標準法<sup>7)</sup>に準じ、寒天平板希釈法により行った。すなわち、ミューラーヒントン液体培地 (Difco) にて25℃で24時間培養した菌液を $10^5$  cfu/mlに調整し、2倍段階希釈した薬剤を含むミューラーヒントン寒天培地 (Difco) に接種器を用いて接種し、25℃で48時間培養後にMICを測定した。なお、各培地には2%となるよう食塩を添加した。

### 結果

***E. tarda* の薬剤感受性** *E. tarda* 168株に対する供試薬剤のMIC値の分布を Table 2 に示した。

供試薬剤のうち、OAでは0.1~1.56  $\mu$ g/ml, FMQでは0.1~1.56  $\mu$ g/ml, FFでは0.2~1.56  $\mu$ g/ml, NFSでは0.39~6.25  $\mu$ g/mlの範囲にそれぞれほぼ1峰性のMIC分布を示したが、TPのMIC値はこれらに比べてやや高く、いずれの株に対しても3.13  $\mu$ g/ml以上であった。ABPCでは菌株によってMIC値に著しいばらつきが認められ、0.2~>100  $\mu$ g/mlの範囲にあった。SPMおよびSFMは100  $\mu$ g/ml以上のMIC値を示した。OTCに対しては、MIC値0.39~12.5  $\mu$ g/mlの感受性株と50~100  $\mu$ g/mlの耐性株が、DOTCでは、0.78~6.25  $\mu$ g/mlの感受性株と25~

**Table 1.** Number of tested strains of *Edwardsiella tarda* and *Streptococcus iniae* isolated from diseased Japanese flounder in Ehime Prefecture

strain	year											Total
	1986	87	88	89	90	91	92	93	94	95		
<i>E. tarda</i>	8	4	13	16	17	22	32	13	14	29	168	
<i>S. iniae</i>	6	3	6	27	27	12	12	6	6	5	110	

**Table 2.** Drug sensitivity (MIC) of *Edwardsiella tarda* strains isolated from diseased Japanese flounder in Ehime Prefecture from 1986 to 1995

Drug	Number of strains showing each MIC													Total
	MIC ( $\mu$ g/ml)													
	$\leq 0.05$	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
OTC				3	38	50	8	37	8		9	15		168
DOTC					1	15	60	5		15	1			97
ABPC			6	33	10	7	7	24	23	23	29	1	5	168
SPM												1	167	168
OA		32	119	15		2								168
FMQ		2	21	97	20	3								143
NFS				37	59	58	11	3						168
TP							2	12	107	35	8	1	3	168
FF			1	16	76	34								127
SFM												1	153	154

OTC, oxytetracycline; DOTC, doxycycline; ABPC, ampicillin; SPM, spiramycin; OA, oxolinic acid; FMQ, flumequine; NFS, sodium nifurstyrenate; TP, thiamphenicol; FF, florfenicol; SFM, sulfamerazine.

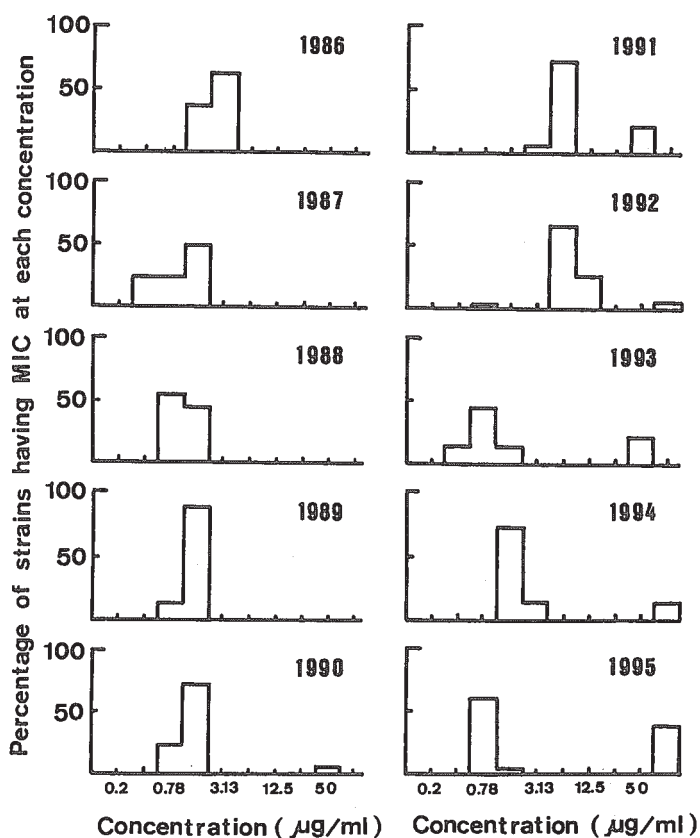


Fig. 1. Yearly changes in sensitivity (MIC) to oxytetracycline of *Edwardsiella tarda* strains isolated from cultured Japanese flounder in 1986~1995.

Table 3. Drug sensitivity (MIC) of *Streptococcus iniae* strains isolated from diseased Japanese flounder in Ehime Prefecture from 1986 to 1995

Drug	Number of strains showing each MIC												Total	
	≤0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	MIC (µg/ml)								
						1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
EM	83	18	7	1									1	110
SPM			7	76	21	3		1	1				1	110
LM		12	66	13	6	1							1	99
JM	1	40	37	14	2								1	95
OL		2	20	42	16	5		1					1	87
LCM	19	47	31	6									1	104
OTC			14	23	38	24	5	5					1	110
DOTC		18	33	7							1			59
ABPC		5	15	81	5	2	2							110
FF				1	26	29	8	4						68
OA											8	9	93	110
NFS		11	6	80	7	1		4	1					110
TP						13	80	16		1				110
SFM											6	4	100	110

EM, erythromycin; LM, kitasamycin; JM, josamycin; OL, oleandomycin; LCM, lincomycin; Others are explained in the Table 2.

~50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ の耐性株が認められた。OTCに対する耐性菌株は1990年からみられており、その出現率は1990年5.9%, 1991年22.7%, 1992年6.3%, 1993年23.1%, 1994年14.3%, 1995年37.9%で、年々耐性菌株の出現頻度が高くなる傾向がみられている (Fig. 1)。

**S. iniaeの薬剤感受性** S. iniae 110株に対する供試薬剤のMIC値の分布をTable 3に示した。

供試薬剤のMIC値は、多くの株に対しEMでは $\leq 0.05\sim 0.39\ \mu\text{g}/\text{ml}$ , SPMでは $0.2\sim 1.56, 6.25$ および $12.5\ \mu\text{g}/\text{ml}$ , LMでは $0.1\sim 1.56\ \mu\text{g}/\text{ml}$ , JMでは $\leq 0.05\sim 0.78\ \mu\text{g}/\text{ml}$ , OLでは $0.1\sim 6.25\ \mu\text{g}/\text{ml}$ , LCMでは $\leq 0.05\sim 0.39\ \mu\text{g}/\text{ml}$ , OTCでは $0.2\sim 6.25\ \mu\text{g}/\text{ml}$ , DOTCでは $0.1\sim 0.39\ \mu\text{g}/\text{ml}$ と比較的低濃度であったが、1株のみ $> 100\ \mu\text{g}/\text{ml}$ または $50\ \mu\text{g}/\text{ml}$  (DOTC)のMIC値を示し、明らかな耐性株であった。また、ABPCは $0.1\sim 3.13\ \mu\text{g}/\text{ml}$ , FFは $0.39\sim 6.25\ \mu\text{g}/\text{ml}$ , NFSは $0.1\sim 12.5\ \mu\text{g}/\text{ml}$ , TPは $1.56\sim 25\ \mu\text{g}/\text{ml}$ , OAおよびSFMは $50\sim > 100\ \mu\text{g}/\text{ml}$ のMIC値を示した。

## 考 察

ヒラメ由来のE. tardaに対する薬剤感受性については小川ら<sup>8)</sup>および畑井ら<sup>9)</sup>の比較的古い報告があり、OTC, CP, OA等に高い感受性を示すことが明らかにされている。本研究では過去10年間に亘って愛媛県下で分離されたE. tarda 168株の10種類の薬剤に対する薬剤感受性を調べた結果、OA, NFSおよびSPMに対しては既報とほぼ同様の感受性がみられたが、ABPCおよびSFM (サルファ剤) に対する感受性は畑井ら<sup>9)</sup>の報告と異なった。また、OTCおよびDOTCに対しては過去に報告されていない耐性株が認められたうえ、感受性株に対するMIC値も年々耐性側へ移行している傾向がみられた。養殖ヒラメのエドワジエラ症は、愛媛県の海域においては高水温期を中心にほぼ周年発生し、死亡率が数十%に達することもあることからヒラメ養殖において最も重要な細菌性疾患となっている。原因菌の薬剤耐性化により養殖現場でのOTCおよびOTC-Qによる治療効果が顕著でなくなってきたり、薬剤による治療はますます困難になりつつある。今回調査した水産用医薬品のうちでは、OAやFMQといったキノロン系合成抗菌剤に対しE. tardaはOTCよりも高い感受性を示しており、経口投与した場合の血中濃度の上昇も認められている<sup>10)</sup>ことからエドワジエラ症治療薬として有望であると思われる。

S. iniaeは、マクロライド系抗生物質 (EM, SPM, LM, JM, OL) およびLCMには高い感受性を示し、ヒラメ由来株でMICを測定した小川ら<sup>8)</sup>, 畑井ら<sup>9)</sup> および佐古<sup>11)</sup>らの報告と同様の傾向であったが、ABPCおよびNFSに対する感受性は佐古<sup>11)</sup>の報告に比べるとかなり低かった。OTCおよびTPのMIC値も既報の値より高いうえ、年々耐性側に移行する傾向がみられている。なお、1989年にはマクロライド耐性株が認められた。マクロライド耐性株は1990年以降は認められていないが、ブリ等の連鎖球菌症においてはマクロライド耐性株の蔓延が問題になっており、S. iniae感染症においても今後の本症発生動向および薬剤感受性の変化に注意する必要があると思われる。

## 要 約

過去10年間にわたりヒラメ病魚から分離された*Edwardsiella tarda* 168株および*Streptococcus iniae* 110株の各種薬剤に対する感受性を調べた。*E. tarda*はOAおよびFMQといったキノロン系合成抗菌剤やFF, NFSに高い感受性を示した。OTCおよびDOTCに対しては、高い感受性を示す株の他に1990年以降耐性株が認められており、これらの出現頻度が年々増加する傾向がみられた。マクロライド系抗生物質およびサルファ剤には耐性を示した。

S. iniaeでは、マクロライド系およびテトラサイクリン系抗生物質に対しほとんどの株が高い感受性を示したが、これら薬剤に対する耐性株も1株認められた。キノロン系合成抗菌剤およびサルファ剤には耐性を示した。

## 謝 辞

本稿の校閲を賜った広島大学生物生産学部室賀清邦教授に深謝いたします。

## 文 献

- 1) Baxa D. V., K. Kawai, and R. Kusuda (1986): Characteristics of gliding bacteria isolated from diseased cultured flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Fish Pathol.*, 21 (4), 251-258.
- 2) 中津川俊雄 (1983): ヒラメ幼魚から分離された*Edwardsiella tarda*. 魚病研究, 18 (2), 99-101.
- 3) 小川七朗・安永統男・畑井喜司雄・平川栄一 (1982): 海面養殖場の各種病魚から分離された $\beta$ 溶血連鎖球菌について. 長崎水試研報, (8), 81-90.

- 4) 中津川俊雄 (1983): 養殖ヒラメの連鎖球菌症について. 魚病研究, 17(4), 281-285.
- 5) 佐古 浩 (1993): 海水魚および淡水魚から分離された $\beta$ 溶血性連鎖球菌の性状ならびに病原性. 水産増殖, 41(3), 387-395.
- 6) 松岡 学・室賀清邦 (1993): 愛媛県下の養殖海産魚における細菌性疾病発生の歴史(1966-1992). 広大生物生産学部紀要, 32(2), 109-118.
- 7) 日本化学療法学会 (1981): 最小発育阻止濃度(MIC)測定法再改訂について. *Chemotherapy*, 29(1), 76-79.
- 8) 小川七朗・畑井喜司雄・安元 進・平川栄一・安永統男 (1982): 近年長崎県内の養殖魚から分離された各種病原細菌の薬剤感受性. 長崎水試研報, (8), 91-100.
- 9) 畑井喜司雄・安元 進・塚原淳一郎・平川栄一・安永統男・市来忠彦 (1983): 1982年に長崎県内の養殖魚から分離された各種病原細菌の薬剤感受性. 長崎水試研報, (9), 13-23.
- 10) 安永統男・安元 進 (1987): ヒラメへのオキソリン酸の強制投与による組織内濃度について. 水産増殖, 34(4), 231-234.
- 11) 佐古 浩 (1993): 各種化学療法剤に対する $\beta$ 溶血性連鎖球菌症原因菌の感受性. 水産増殖, 41(3), 397-404.