

α 溶血性レンサ球菌症および 類結節症原因菌の薬剤耐性とその疫学 —各種動物由来株の α 溶血性レンサ球菌症原因菌の性状解析も含めて—

川西路子

農林水産省動物医薬品検査所 (〒 185-8511 東京都国分寺市戸倉 1-15-1)

1. はじめに

抗菌性物質投与による食用動物由来細菌の薬剤耐性の出現については、ヒトへの伝播という危惧感から公衆衛生や家畜衛生関連の国際機関や欧米において、その対策が課題となっており、OIE が作成した「動物および動物由来食品の抗菌剤耐性モニタリング/サーベイランスプログラムを調和させるためのガイドライン」[5] においても、検体を採取する動物種として各種家畜の他に養殖魚が含まれている。

養殖魚においては水産動物由来細菌の薬剤耐性について個々の地域的な研究報告があるものの、ここ 10 年以上組織だって全国的に調査した例はほとんどない。食用の水産動物においても全国的な薬剤耐性の発現状況を把握し、抗菌剤のヒトと水産動物の健康に対するリスク分析の基礎資料を得る必要があるため 2002 年に水産動物（養殖魚）由来の細菌を収集し抗生物質感受性の全国的調査を実施することとした。今回は、魚病細菌用に CLSI (米国臨床検査標準委員会) 寒天平板希釈法の培養温度、NaCl 濃度、培養時間などの至適条件を検討の上、供試薬剤毎の仮の精度管理限界値を設定した試みおよび薬剤感受性調査結果について紹介する。

また、日本で最も養殖生産量が多いブリ属魚類において発生および被害も多い α 溶血性レンサ球菌症の原因菌である *Lactococcus garvieae* は、1996

年に諸外国でヒトの心内膜炎および肝膿瘍、ウシの乳房炎、その他健康なイヌおよびネコなどの哺乳動物からしばしば分離される菌と同菌種であることが明らかにされ、薬剤耐性菌問題と同様、公衆衛生上の観点から、人・獣・魚共通感染症の起原因菌である可能性のある、注意を払うべき菌種と考えられている [7]。しかし、未だに本菌に関する研究報告は少なく、哺乳動物における病原性の有無や、日本のブリ属魚類における感染源および病原因子などについては不明な点が多く残されている。

そこで、今回、ブリ属魚類の α 溶血性レンサ球菌症の原因菌について、分類学的変遷を紹介し話題を提供したい。また、ヨーロッパで分離された各種動物由来株と日本で分離されたブリ由来株について、ブリおよびマウスにおける病原性、その他各種性状を比較して、その疫学的な関連性を精査したので、その概要も紹介する。

2. ブリ属魚類由来 α 溶血性レンサ球菌症および類結節症原因菌培養条件における仮の精度管理値の設定

水生動物由来細菌の精度管理については、現在、Disk 法および Broth 法について薬剤感受性測定法およびその精度管理が定められているが [17]、寒天平板希釈法については未だ定められていない。今回、水生動物由来細菌として、養殖魚の中で最も生産量が多いブリ属魚類（ブリ、カン

パチ、ヒラマサ)で発症の多い α 溶血性レンサ球菌症の原因菌である *L. garvieae* と類結節症の原因菌である *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* (*P. damsela* subsp. *piscicida*) を選択し、各菌の培養条件における精度管理値をヒトおよび動物由来細菌の CLSI の寒天平板希釈法に準拠した方法 [16] により定めることとした。

培養条件は、ブリの生息温度が $25 \pm 2^\circ\text{C}$ であることおよび日本での過去の薬剤感受性報告がこの条件であることなどにより、*L. garvieae* については、培養温度 25°C 、培養時間 24 時間、培地はミューラーヒントン寒天培地とし、*P. damsela* subsp. *piscicida* については 25°C 、48 時間 2% NaCl 添加ミューラーヒントン寒天培地とした。各精度管理株 7 株について各 14 薬剤の MIC 値を *L. garvieae* の条件で 18 回、*P. damsela* subsp. *piscicida* の条件で 13 回測定し、MIC の最頻値 $\pm 1 \log_2$ を仮の精度管理値とした。仮の精度管理値については、本会報「動物由来細菌に対する抗菌性物質の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法」[18] に掲載した。

これらの結果を、現在標準の培養条件ミューラーヒントン寒天培地で 35°C 、16 ~ 20 時間培養で規定されている精度管理値と比較したところ、12 の精度管理株、各薬剤の組み合わせで、CLSI の精度管理値より低い値となるものがあり、これは、今回検討している培養温度が 25°C と標準の培養条件と 10°C も低いことによる影響と考えられた。

また、*P. damsela* subsp. *piscicida* の培養条件下ではアミノグリコシド系の KM、GM と各精度管理株の組み合わせで、CLSI の精度管理値より高い値となり、過去に Campos ら [2] も塩の添加によりアミノグリコシド系の MIC 値が上昇することを報告しているが、培地に塩が添加されていることが原因と考えられた。

つまり、測定した MIC 値にはヒトおよび動物由来細菌の CLSI の寒天平板希釈法で定める精度管理値の範囲に含まれないものもあり、現在 CLSI で定められている標準的な培養条件による精度管理値は、今回の魚病細菌である *L. garvieae* および *P. damsela* subsp. *piscicida* の培養条件で

は適用できないと考えられた。

CLSI の精度管理限界値設定のガイドラインに準拠するには最低 5 試験実施機関における 100 回以上の試験成績に基づき、設定する精度管理値の範囲は 95% 信頼限界を含むことが必要である。そのため、今回の精度管理値は動物医薬品検査所の試験成績に基づき設定した暫定的な参考値である。今後 CLSI により、水産動物由来細菌のための寒天平板希釈法による薬剤感受性測定法の制定が望まれる [9]。

3. ブリ属魚類由来 α 溶血性レンサ球菌症および類結節症原因菌の薬剤耐性

近年の海面養殖魚由来病原細菌における薬剤感受性を調査するため、2002 年 6 月 ~ 11 月に西日本を中心とした広範な地域からブリ属魚類由来の *L. garvieae* 170 株と *P. damsela* subsp. *piscicida* 74 株を収集した。最小発育阻止濃度 (MIC) は、動物由来細菌における CLSI 寒天平板希釈法を対象細菌に適合するよう培養温度、培養時間、培地条件を変更し、2. で紹介した仮の精度管理値を用いて実施した。

供試薬剤は 2 疾病の適用薬剤と耐性株が報告されたことのあるアミノグリコシド系薬剤およびヒトでの薬剤耐性が問題となっているキノロン剤とし、*L. garvieae* には ABPC, DSM, KM, GM, EM, LCM, OTC, FOM, FMQ, ERFX, CP, FF, SMMX, TMP を、*P. piscicida* には ABPC, BCM, DSM, KM, GM, OTC, FOM, OA, FMQ, ERFX, CP, FF, SMMX, TMP の各 14 薬剤を選択した。

L. garvieae では、調査薬剤 14 薬剤中、3 薬剤 (EM, LCM, OTC) の MIC 分布が 2 峰性を示し、耐性パターンは EM, LCM, OTC の 3 剤耐性パターンのみで耐性率は 44.1% であった (表 1)。他の 95 株 (55.9%) は感受性であった。3 剤耐性を示した菌株はいずれの県でも分離されており、分離時期も 2002 年 4 月 11 日から 11 月 8 日と収集時期全般にわたっていた。3 剤耐性を示した 75 株中、EM, LCM, OTC の使用経歴がある養殖場から分離されたのはそれぞれ 24 株、2 株、4 株であり、使用経歴と薬剤耐性には相関が認められな

表1 *Lactococcus garvieae* の薬剤感受性成績

供試 薬剤	MIC (mg/ml)													MIC ₅₀ (mg ml ⁻¹)	MIC ₉₀ (mg ml ⁻¹)	BP* (mg ml ⁻¹)	耐性 株数 (%)	
	≤ 0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512					>512
ABPC	133	37													0.125	0.25		
DSM								3	116	40	11				16	32		
KM					2		142	26							8	16		
GM				3	147	20									2	4		
EM	74	21			5	1	10	1			1	27	25	5	0.25	512	1	75(44.1)
LCM									50	45		7	44	10	14	32	64	75(44.1)
OTC	59	36					10	13	33	19					0.25	32	1	75(44.1)
FOM											1	130	39		128	256		
FMQ								40	110	20					32	64		
ERFX	25	70	75												0.25	0.5		
CP				71	99										2	2		
FF				95	75										1	2		
SMMX														170	>512	>512		
TMP					17	130	23								4	8		

*BP: ブレークポイント

かった。

Aoki ら [1] による愛媛、鹿児島、熊本、高知、三重、長崎、徳島、和歌山、山口の9県で分離された *L. garvieae* の薬剤感受性成績 (1986 ~ 1987年) においても EM, LCM, OTC の3剤耐性株が報告されている。*L. garvieae* の不活化菌液を主剤とする α 溶血性レンサ球菌症に対するワクチンが平成9年に承認され、養殖現場で広く使用されており [15]、ワクチンによる疾病予防により抗菌性物質の使用量が低下していると考えられる [12] が、今なお約10年前と同じ3薬剤について高い耐性株 (44.1%) が認められ、この3剤耐性遺伝子が時間を越えて広い地域に伝播している可能性が考えられた。なお青木らの報告 [8] で認められた CP, EM, LC の3剤耐性パターンは今回の調査では認められなかった。

一方、*P. damsela* subsp. *piscicida* では調査薬剤14剤中、8剤 (ABPC, KM, OTC, OA, FMQ, CP, SMMX, TMP) のMIC分布が2峰性を示し、耐性率は KM (63.5%), OTC (77.0%), OA (62%), FMQ (77.0%), CP (75.7%), SMMX (97.3%) と高かった (表2)。耐性パターンは単剤から7剤まで5パターンみられ、最も多かったのは CP, KM, OA, OTC, SMMX, FMQ の6剤耐性型であった。どの薬剤にも感受性を示す株は74株中2株

(2.7%) のみであった。水産用医薬品として使用されていない TMP, KM にも耐性が認められた。Kim ら [13] による愛媛、鹿児島、長崎、徳島の4県で分離された *P. damsela* subsp. *piscicida* の薬剤感受性成績 (1989 ~ 1991年) と比較すると、耐性が認められた8剤中7剤は同じであった [10]。

P. damsela subsp. *piscicida* は *L. garvieae* に比較して耐性を示す薬剤が多く、耐性率も高かった。 α 溶血性レンサ球菌症は急性の感染症であるが、類結節症は長期間持続感染する疾病であり、病原細菌が長期間にわたって薬剤に暴露されるため耐性菌が選択されたものと考えられる。したがって慢性感染症である類結節症においては特に薬剤の適正使用が耐性菌の出現を抑制するために重要であると考えられた。平成2年に水産用として承認されたクロラムフェニコール系の FF に対しては2菌種とも耐性株は認められず、現在、水産現場においても有効であると考えられた。また、近年食用動物におけるキノロン剤使用による人の健康に及ぼす影響が懸念されているが、今回の調査では、フルオロキノロン (ERFX) 耐性株は全く認められなかった。

以上のように、今回の調査では2菌種とも約10年前の報告と、ほぼ同じ薬剤にのみ耐性が認められ、危惧されるような新たな薬剤に対する耐性お

表 2 *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* の薬剤感受性成績

供試 薬剤	MIC (mg/ml)													MIC ₅₀ (mg ml ⁻¹)	MIC ₉₀ (mg ml ⁻¹)	BP* (mg ml ⁻¹)	耐性菌 株数 (%)		
	>0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512					>512	
ABPC	72			1					1						≤ 0.125	≤ 0.125	0.25	2(2.8)	
BCM					71	3									2	2	—		
DSM					2	38	24			6	3	1			4	32	—		
KM						22	3	2						47	>512	>512	64	47(63.5)	
GM			3	36	33	2									1	2	—		
OTC	17						1	30	13	11	2				8	32	0.5	57(77.0)	
FOM				1	50	22		1							1	2	—		
OA	17	11			3	27	16								2	4	0.5	46(62.0)	
FMQ	2	15			12	13	32								2	4	0.5	57(77.0)	
ERFX	54	20													≤ 0.125	0.25	—		
CP				7	11				1	40	15				32	64	4	56(75.7)	
FF			33	41											0.5	0.5	—		
SMMX									2						>512	>512	32	72(97.3)	
TMP	1	3	24	36							1	4	3	10	54	>512	>512	32	72(97.3)
											1	7	2		1	256	8	10(13.5)	

*BP：ブレイクポイント

および薬剤耐性率の急激な増加は認められなかった。

4. 各種動物由来 α 溶血性レンサ球菌原因菌株の性状解析

ブリ属魚類の α 溶血性レンサ球菌症は、1974 年夏にはじめて西日本の養殖場で発生し、それ以降、毎年各地で発生して甚大な被害を与えてきている疾病である。α 溶血性レンサ球菌症を発症したブリからグラム陽性のレンサ状球菌が分離され、当時は *Streptococcus faecalis* あるいは *Streptococcus faecium* と近似する性状を示すが完全に性状が一致しないために、便宜的に *Streptococcus* sp. とされた。

1991 年に Kusuda ら [14] は、本菌をその生物学的性状 (10℃ ~ 45℃, 6.5%NaCl, pH9.6, および 0.1%メチレンブルーミルクで発育,カタラーゼ陰性) から *Enterococcus* 属の菌種とし、*Enterococcus* 属の既知の菌種との DNA ハイブリダイゼーションで同一性が 25%以下であったことから、新菌種として *Enterococcus seriolicida* を提唱した。

その後、*E. seriolicida* については、1993 年に Domench ら [3] が膜蛋白の SDS-PAGE 像および 16S rRNA 遺伝子の塩基配列から *L. garvieae* と相

同であること、および 1996 年に Eldar ら [4] が全菌体蛋白の SDS-PAGE 像で *L. garvieae* と類似しており、DNA ハイブリダイゼーションで 70%以上の同一性があることを報告した。さらに、1996 年に Teixeira ら [20] は DNA ハイブリダイゼーションで 70%以上相同であり、ハイブリッドの安定度 (Δ Tm) が 1℃ 以内に収まること、また 10℃, 42℃, 45℃ および 6.5%NaCl 存在下で生育することから、*E. seriolicida* は *L. garvieae* と同一菌種であるとした。

ブリ属魚類由来以外の *L. garvieae* については、1981 年にはじめて Garvie ら [6] により乳牛の乳房炎から分離され、新菌種 *Streptococcus garvieae* と命名された。その後 1985 年に *Lactococcus* 属が新たに設定され [19], *S. garvieae* は現在 *L. garvieae* と認知されている。ウシや水牛では、その後も乳房炎、乳汁より分離される細菌として報告があるが、その他の感染症での報告はない。ヒトでは人工弁を装着した患者および老人の心内膜炎、免疫抑制状態の患者の肝膿瘍、骨髄炎から *L. garvieae* が分離されている。その他、健康なイヌ、ウシの扁桃、ネコの顔、カメの結膜からも本菌が分離されている。このように *L. garvieae* は、哺乳動物から病巣を含め広く分離されているが、感染症の原因菌であるのか、二次感染菌であるのか明らかに

されていない。

そこで、日本で分離されたブリ属魚類由来株と他の動物由来株との疫学的関係および *L. garvieae* の哺乳動物への病原性について調べることを目的に、ヨーロッパ（イギリス、イタリア、スペインおよびベルギー）で分離されたウシ（乳房炎：10株）、イヌ（1株）、ネコ（2株）、ウマ（1株）、ブタ（2株）ならびにマス由来株（病魚：3株）および日本で分離されたブリ由来株（病魚：1974年分離2株および2002年分離11株）の合計32株を供試し、ブリおよびマウスにおける病原性、バクテリオファージに対する感受性、パルスフィールド

ドゲル電気泳動（PFGE）パターンを調べた。

その結果、ブリに対してブリ属魚類由来株は強い病原性を、マス由来株は弱病原性を、一方その他の陸生動物由来株は病原性を示さなかった。マウスに対してはいずれの株も病原性を示さなかった。またブリ属魚類由来株はバクテリオファージに対して感受性を示したが、その他動物の由来株は感受性を示さなかった（表3）。PFGE解析では、ブリ属魚類由来は1974年由来株も含め相同性が80%以上と高かったが、由来動物が異なる株間では相同性は低かった（図1）[11]。

以上のことから日本でブリ属魚類に分布してい

表3 各種動物由来 *L. garvieae* のブリおよびマウスにおける病原性とファージ感受性

株名	由来		分離年	死亡率		ファージ感受性			
	動物	国		ブリ	LD ₅₀ (CFU/Fish)	マウス	PLgW-1	PLgY-16	PLgY-30
KG9502	Yellowtail	Japan	1995	10/10	<10 ²	0/10	+	+	+
Lg2	Yellowtail	Japan	2002	10/10	<10 ²	0/10	+	+	+
Lg6	Amberjack	Japan	2002	10/10		1/10	+	+	-
Lg8	Yellowtail	Japan	2002	10/10		0/10	+	-	-
Lg27	Yellowtail	Japan	2002	10/10		0/10	+	+	+
Lg38	Yellowtail	Japan	2002	10/10		1/10	+	+	+
Lg44	Yellowtail	Japan	2002	10/10		1/10	+	+	-
Lg74	Yellowtail	Japan	2002	10/10		0/10	+	+	+
Lg96	Yellowtail	Japan	2002	9/10		0/10	+	+	+
Lg122	Kingfish	Japan	2002	10/10		0/10	+	+	-
Lg147	Yellowtail	Japan	2002	10/10		0/10	+	+	-
ATCC49156 ^T	Yellowtail	Japan	1974	0/10		0/10	+	+	+
ATCC49157	Yellowtail	Japan	1974	2/10		0/10	+	+	+
CP-1	Trout	Spain	1991	8/10	5.3 × 10 ⁷	0/10	-	-	-
01/5664	Trout	Spain	2001	6/10	5.9 × 10 ⁷	0/10	-	-	-
1684	Trout	Italy	1997	2/10		1/10	-	-	-
BCCM8501	Cow	Belgium	1979	0/10		0/10	-	-	-
BCCM9443	Cow	Belgium	1947	0/10		0/10	-	-	-
BCCM9472	Cow	Belgium	1989	0/10		0/10	-	-	-
BCCM14413	Cow	Belgium	1993	0/10		0/10	-	-	-
BCCM14415	Cow	Belgium	1993	0/10		0/10	-	-	-
BCCM14416	Cow	Belgium	1993	0/10		1/10	-	-	-
BCCM14419	Cow	Belgium	1993	0/10		0/10	-	-	-
BCCM14492	Cow	Belgium	1994	0/10		0/10	-	-	-
G-34	Cow	Spain	1994	0/10		0/10	-	-	-
ATCC43921 ^T	Cow	United Kingdom	1984	0/10		0/10	-	-	-
1364/02b	Pig	Spain	2002	0/10		0/10	-	-	-
170/03a	Pig	Spain	2003	0/10		0/10	-	-	-
BCCM13620	Cat	Belgium	1993	0/10		0/10	-	-	-
BCCM13633	Cat	Belgium	1993	0/10		0/10	-	-	-
BCCM12175	Dog	Belgium	1992	0/10		0/10	-	-	-
BCCM14493	Horse	Belgium	1994	1/10		0/10	-	-	-
		Control PBS		0/10		0/10			

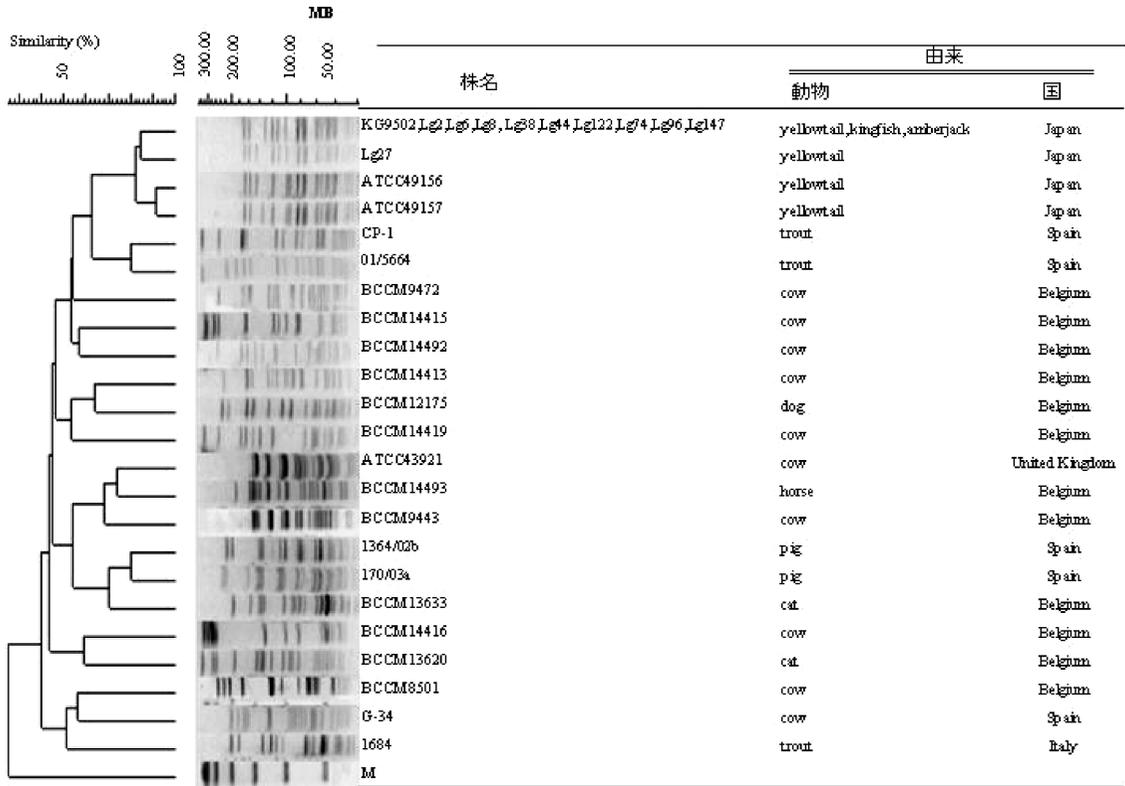


図1 各種動物由来 *L. garvieae* の PFGE パターン

る株は、日本で α 溶血性レンサ球菌症の発生が認められた 1974 年由来の株を含め非常に近似であり、1974 年以降ブリへ病原性を獲得した特定の由来株が日本のブリ属魚類において分布している可能性が示唆された。西日本のような広い地域において、30 年以上の長い期間にわたってほぼ同じ PFGE パターンを示す株が分布しているという現象は、他の家畜由来の病原細菌では認められることはなく非常に興味深い。その原因の解明は困難であるが、養殖業に特徴的な、沖合の「もじゃこ（ブリの稚魚）」を導入し養殖を実施する飼育形式、その「もじゃこ」の流通や、餌なども感染源として考えられる。一方、1997 年にブリ用の不活化ワクチンが日本で承認されて以降、現在まで混合ワクチンを含め 10 種のワクチンが承認されており、これらのワクチンが使用されたことにより本疾病の発生は激減してきている [15]。いずれのワクチンも日本のブリ属魚類由来株を製造用株と

しているが、今回調査した日本で分布している株の近似性からワクチン株と流行株の抗原性が一致していることが推察され、高いワクチン効果に繋がっていると考えられる。

また、今回の調査では、ブリへの病原性をはじめとし、フェージ感受性、PFGE パターンなど、日本のブリ属魚類由来の株は、他の動物由来の株とは非常に異なる特徴があることが示された。

日本では、ブリを生食する文化があるが、ヒトから分離された例はないこと、Vela ら [21] が調べた PFGE パターンと比較するとヒト由来とブリ属魚類由来株はパターンが異なることなどから、ブリ属魚類由来株がヒトへ感染する可能性は極めて低いことが考えられる。日本のブリ属魚類由来株については、今後、分類学上の再整理を視野に、ヒト由来株も含めて調査し、感染源、病原性などを究明する必要がある。

5. おわりに

今回の薬剤感受性調査では *L. garvieae* および *P. damsela* subsp. *piscicida* の2菌種とも約10年前の報告と、ほぼ同じ薬剤にのみ耐性が認められ、危惧されるような新たな薬剤に対する耐性および薬剤耐性率の急激な増加は認められなかった。薬剤耐性菌対策には、薬剤耐性の動向を把握し、抗菌剤の適正使用を指導する必要がある、今後も魚病細菌の薬剤感受性について周期的にモニタリングを実施することが重要である。

また、薬剤感受性が異なる施設および異なる時期に調査した結果を客観的に比較することができるよう、水産動物由来細菌のための寒天平板希釈法による精度管理値および薬剤感受性測定法の制定が望まれる。

一方、ブリ属魚類の α 溶血性レンサ球菌症の原因菌である *L. garvieae* については、ワクチンが市販されて以降発生が減少しているが、今後、異なるタイプの株が分布し、ワクチンブレイクが生じることがないかモニタリングしておく必要がある。また、ヒト、ウシ、魚、環境中での生態、感染経路、病原性など *L. garvieae* については不明な点が多く、今後分類学上の再整理も視野に入れた研究が進むことが望まれる。

6. 謝 辞

薬剤感受性調査の遂行に当たり培養温度などご助言頂きました東京水産大学大学院 青木先生、廣野先生、養殖研究所 飯田先生に深謝致します。

また、魚類防疫業務、研究業務がご多忙の中、菌株の収集にご協力下さいました各県の水産試験場、魚病指導センター、漁業指導所、水産研究所、水産研究部担当者の皆様に心から感謝いたします。

要 約

1. ブリ属魚類由来 α 溶血性レンサ球菌症および類結節症原因菌培養条件における仮の精度管

理値を設定した。

2. 2002年の薬剤感受性調査の成績は、*L. garvieae* (1986～1987年)、*P. damsela* subsp. *piscicida* (1989～1991年)とほぼ同様であり、新たな耐性の出現および耐性率の著しい増加は認められなかった。
3. 日本でブリ属魚類に分布している *L. garvieae* 株は非常に近似であり、他の魚類および動物由来の株と異なる特徴があることが示された。

参考文献

- 1) Aoki T, Takami K, Kitao T: Drug resistance in a non-hemolytic *Streptococcus* sp. Isolated from cultured yellowtail, *seriola quinqueradiata*, a marine fish. *Dis Aquat Org*, 8, 171-177 (1990)
- 2) Campos JM, Gill CJ, Hare RS, et al.: Effect of NaCl supplementation of Mueller-Hinton broth on susceptibility of staphylococci to aminoglycosides. *Antimicrob Agents Chemother*, 29, 152-154 (1986)
- 3) Domenech A, Prieta J, Fernandez-Garayzabal JF, et al.: Phenotypic and phylogenetic evidence for a close relationship between *Lactococcus garvieae* and *Enterococcus seriolicida*. *Microbiologia*. 9, 63-68 (1993)
- 4) Eldar A, Ghittino C, Asanta L, et al.: *Enterococcus seriolicida* is a junior synonym of *Lactococcus garvieae*, a causative agent of septicemia and meningoencephalitis in fish. *Curr Microbiol*, 32, 85-88 (1996)
- 5) Franklin A, Acar J, Anthony F, et al.: Antimicrobial resistance: harmonization of national antimicrobial resistance monitoring and surveillance programmes in animals and animal-derived food. *Rev Sci Tech Off Int Epiz*, 20, 859-870 (2001)
- 6) Garvie, E I, Farrow J A E, Phillips B A: A taxonomic study of some strains of streptococci which grow at 10 °C but not at 45 °C including *Streptococcus lactis* and *Streptococcus cremoris*. *Zbl Bakt Hyg. I Abt Orig*. C2, 151-165 (1981)
- 7) Kawanishi M: *Lactococcus garvieae*, the pathogen

- which causes streptococcosis in yellowtail. Japanese J Lactic Acid Bacteria, 14, 2-6 (2003)
- 8) Kawanishi M, Kojima A, Tamura Y, et al.: Drug resistance and pulsed-field gel electrophoresis patterns of *Lactococcus garvieae* isolates from cultured seriola (yellowtail, amberjack and kingfish) in Japan. Lett Appl Microbiol, 40, 322-328 (2005)
 - 9) Kawanishi M, Kojima A, Tamura Y, et al.: Quality control ranges of minimum inhibitory concentrations for *Lactococcus garvieae* and *Photobacterium damsela* subs. *piscicida*. Fish Pathol, 39, 111-114 (2004)
 - 10) Kawanishi M, Kijima M, Tamura Y. et al.: Drug resistance and random amplified polymorphic DNA analysis of *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida* isolates from cultured seriola (yellowtail, amberjack and kingfish) in Japan. Lett Appl Microbiol, 42, 648-653 (2006)
 - 11) Kawanishi M, Yoshida T, Suzuki S, et al.: Differences between *Lactococcus garvieae* isolated from the genus *Seriola* in Japan and those isolated from other animals (trout, terrestrial animals from Europe) with regard to pathogenicity, phage susceptibility and genetic characterization. J Appl Microbiol, 101, 496-504 (2006)
 - 12) Kijima M, Tamura Y: International trend for containment of antimicrobial resistance. Proceedings of the Japanese Society of Antimicrobials for animals, 22, 1-8 (2000)
 - 13) Kim E, Aoki T: Drug resistance and broad geographical distribution of identical R plasmids of *Pasteurella piscicida* isolated from cultured yellowtail in Japan. Microbiol Immunol, 37, 103-109 (1993)
 - 14) Kusuda R, Kawai K, Salati F, et al.: *Enterococcus seriolicida* sp. nov., a fish pathogen. Int J Syst Bacteriol, 41, 406-409 (1991)
 - 15) Nakanishi T: Current status of the use and development of fish vaccines in Japan and overseas. Proceeding of Japan Fisheries Resource Conservation Association 9, 7-12 (2003)
 - 16) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. Approved standards M31-A2. 22(6) National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa (2002)
 - 17) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for antimicrobial disk susceptibility testing of bacteria isolated from aquatic animals. Approved report M42-R. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa (2003)
 - 18) Japan Society of Antimicrobials for Animals: Revision of the Determination Method of the MIC of Antimicrobials against Bacteria Isolated from Animals. Proceedings of the Japanese Society of Antimicrobials for Animals, 49-60 (2003)
 - 19) Schleifer KH, Kraus J, Dvorak C, et al: *Streptococcus lactis* and related streptococci to the genus *Lactococcus* gen. nov. Syst Appl Microbiol, 6, 183-95 (1985)
 - 20) Teixeira LM, Merquior VL, Vianni MC, et al.: Phenotypic and genotypic characterization of atypical *Lactococcus garvieae* strains isolated from water buffalos with subclinical mastitis and confirmation of *L. garvieae* as a senior subjective synonym of *Enterococcus seriolicida*. Int J Syst Bacteriol, 46, 664-668 (1996)
 - 21) Vela AI, Vazquez J, Gibello A, et al.: Phenotypic and genetic characterization of *Lactococcus garvieae* isolated in Spain from lactococcosis outbreaks and comparison with isolates of other countries and sources. J Clin Microbiol, 38, 3791-3795 (2000)

Drug Resistance of *Lactococcus garvieae* and *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* Isolates from Cultured *Seriola* (Yellowtail, Amberjack and Kingfish) in Japan
— Differences between *Lactococcus garvieae* Isolated from the Genus *Seriola* in Japan and those Isolated from the Other Animals —

Michiko KAWANISH

*National Veterinary Assay Laboratory, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries,
1-15-1 Tokura, Kokubunji, Tokyo 185-8511, Japan*

1. We measured the MICs of 14 drugs for the 4 strains and 5 quality control strains under culture conditions recommended for *L. garvieae* and *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* and determined tentative quality control ranges from the model MIC $\pm 1 \log_2$ dilution step.
2. Antimicrobial resistance pattern of *L. garvieae* and *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* observed in 2002 is similar to that observed in the latter half of 1990's.
3. *L. garvieae* isolated from the *seriola* in Japan appears to be very different from the isolates obtained from the other animals and the isolates prevalent among the genus *Seriola* in Japan might be homogenous.