

観賞魚由来細菌の薬剤感受性について

特に、ニシキゴイの「新穴あき病」病例由来細菌の抗菌剤感受性

和田新平¹⁾ 小熊俊寿²⁾

1) 日本獣医畜産大学 (〒180-8602 武蔵野市境南町1-7-1)

2) 小熊獣医科医院 (〒949-5201 新潟県刈羽郡小国町千谷沢253-1)

我が国では、古来よりキンギョおよびニシキゴイを観賞魚として飼育する習慣が定着し、諸外国においても日本を代表する文化の一つに数えられている。これに加えて、近年では熱帯性の淡水および海水魚の飼育が大きなブームとなっており、観賞魚の飼育尾数および観賞魚に対する飼い主の関心および意識の高さは、他の伴侶動物と比較しても遜色のない域に達しているものと考えられる。しかしながら、これまで観賞魚の疾病・健康管理に関する問題は、大部分が生産者、販売業者および愛魚家に委ねられてきたと言っても過言ではない。その結果として、観賞魚の疾病治療には多種多様な薬剤が使用されており、薬剤耐性菌を出現させるとともに病態を複雑化させている大きな要因になっている可能性が考えられる。本論文では、1997年より1999年までに、「新穴あき病」と診断されたニシキゴイの体表患部および腎臓より分離された細菌について、それらの薬剤感受性を検査した結果を報告する。

材料および方法

新潟県下において、飼育愛好家より持ち込まれたニシキゴイ (*Cyprinus carpio*) 病魚の中で、稟告および外観所見より「新穴あき病」と診断されたものの、体表に形成された糜爛・潰瘍性病変部および腎臓より、5%牛胎児血清を加えたハートインキュジョン寒天培地に分離された細菌を、平成9年度に15株、平成10年度に9株および平成11年度には15株供試した。これら菌株は20℃で

培養した。なお、それぞれの菌株の詳細な同定は行わなかった。

得られた菌株の薬剤感受性を一濃度ディスク法で調べた。使用した抗菌剤は、エンロフロキサシン、カナマイシン、クロラムフェニコール、ストレプトマイシン、ジフロキサシン、ミロキサシン、クロルテトラサイクリン、オシキテトラサイクリンおよびアンピシリンであった。これら抗菌剤に対する感受性は、ディスク周囲に形成される阻止円の小さいものから順に1+から3+として表記した。また、耐性を示すものはRとして表記した。

結 果

得られた結果を表1にまとめた。平成9年度から11年度にかけての感受性の変遷をみると、エンロフロキサシンおよびカナマイシンには顕著な感受性の低下が観察された。すなわち、エンロフロキサシンは初年度は分離された15株のうち10株が3+であり、残り5株も2+を示していたが、翌年になると供試菌株の半分以上が1+しか示さず、平成11年度には供試した15株のうち10株が耐性となっていた。カナマイシンも平成9年度は供試した15菌株のうち9株が2+ないし3+を示していたのに対して、平成11年度には3+を示したのは1株だけであり、耐性株が5株出現していた。

観賞魚の治療に頻繁に使用されているオシキテトラサイクリンは、検査を開始した平成9年度

表1 新穴あき病罹患ニシキゴイの体表患部より分離された細菌に対する数種の抗生物質・合成抗菌剤の感受性の推移

| 薬 剤 名 | 平成9年 (15例) | 平成10年 (9例) | 平成11年 (15例) |
|--------------|--------------------------|----------------------------------|--|
| エンロフロキサシン | 3+(10) 2+(5) | 2+(4) 1+(5) | 2+(2) 1+(3) R (10) |
| カナマイシン | 3+(3) 2+(6) 1+(6) | 3+(1) 2+(5) R (3) | 3+(1) 1+(9) R (5) |
| クロラムフェニコール | 2+(8) 1+(5) R (2) | 3+(2) 2+(4) 1+(2) R (1) | 3+(5) 2+(4) 1+(4) R (2) |
| ストレプトマイシン | 2+(3) 1+(5) R (7) | 3+(1) 2+(4) 1+(4) | R (4) 4例のみ検査 |
| ジフロキサシン | 2+(1) 1+(1) 2例のみ検査 | 3+(3) 2+(2) 1+(4) | 3+(1) 2+(3) 1+(1) R (1) 6例のみ検査 |
| ミロキサシン | 1+(4) R (11) | 1+(4) R (5) | 1+(1) 1例のみ検査 |
| クロールテトラサイクリン | 1+(1) R (14) | 1+(4) R (5) | R (15) |
| オキシテトラサイクリン | 1+(1) R (14) | 2+(1) R (8) | 2+(2) 1+(2) R (11) |
| アンピシリン | R (7) 7例のみ検査 | 1+(1) R (8) | R (7) 7例のみ検査 |

の段階で、供試菌株のほとんどが既に耐性株となっており、この傾向は翌年および翌々年も観察された。一方、供試菌株はクロラムフェニコールに対しては比較的良好な感受性を示し、平成9年度から11年度にかけて供試した菌株の半数以上が2+の感受性を示していた。

考 察

「新穴あき病」の発症原因については、コロナ様ウイルス (Miyazaki et al.³⁾ および非定型 *Aeromonas salmonicida* (加来ら¹⁾, 的山ら²⁾) が挙げられているが、いずれの病原体も人為感染試験では接種後1週間を経過しても顕著な潰瘍性病変を形成することはないとされている。Miyazaki

et al.⁴⁾ は、潰瘍性病変の形成と病勢の悪化には、二次感染する細菌の存在が重要であると報告しており、供試魚にコロナ様ウイルスを最初に接種し、続いて *Aeromonas hydrophila* の菌液に浸漬することで典型的な潰瘍性病変を再現させている。

本研究においても、病魚より分離された菌株は同一種類ではなかったことから、多種の細菌が「新穴あき病」患部の形成に関っている可能性が示唆されたと言える。従って、発症原因となる病原体に対する対策とともに、二次感染する細菌を制御することが、本病の治療法として重要であると考えられた。しかしながら、本病に対してはオキシテトラサイクリンのようなこれまで使用されてきた魚病用の抗菌剤がほとんど無効であったことから、養殖現場では新規の感受性のある薬剤を

積極的に使用する傾向にあった。実際に、現場では平成9年以降はエンロフロキサシンが多用されていた可能性が高く、その結果が本研究で明らかとなった顕著な感受性の低下につながったものと推察される。同様に、おそらくカナマイシンも養殖現場において多用されていたものと考えられる。本研究をまとめた時点では、「新穴あき病」罹病魚より分離される菌株は、クロラムフェニコールに対して感受性があったが、これも現場で多用されるとエンロフロキサシンやカナマイシンと同様に耐性菌が多数出現してくるものと考えられる。さらに、耐性菌が出現しやすい原因の一つとして、魚類では陸上動物のように体重測定が正確に実施できない事情が挙げられる。これは、発育の最盛期を迎えている2～3才のニシキゴイなどでは、真夏の1ヶ月間に体重が10%近く増加することがあるため、このために特に生産地の養殖池では、投与すべき用量よりも多い量の薬剤が与えられてきたものと推察される。また、共同利用の河川水などを飼育水として利用している場所では、本病の発生を予防する目的で年2回程度の薬剤の投与を実施している場合も見受けられた。

言うまでもなく、魚類は水中に棲息する生物種であり、それらに対して投与する薬剤はそのまま水環境中へと移動していくことが想定される。最終的には分解されるにせよ、その途上で水環境に何らかのインパクトを与えることは想像に難くない。中でも抗菌性薬剤によるインパクトは耐性菌の出現という形で表現されるために、水環境以外に棲息する生物種に対する影響も少なくないと言えよう。観賞魚に対する抗菌剤の使用状況と分離菌の薬剤感受性についてはまだ不明な点が多く、今後も同様な研究を継続していく必要があると考える。

要 約

臨床的に「新穴あき病」と診断されたニシキゴイの体表に形成された糜爛・潰瘍性患部および腎臓より分離された細菌について、それらの薬剤感受性試験を平成9年度から3年間にわたって実施した。その結果、初年度は分離菌のほとんどがエンロフロキサシンに対して感受性を示していたが、最終年度には大半の分離菌が同薬剤に対して耐性を獲得していた。同様な傾向はカナマイシンにおいても観察された。このことは、ニシキゴイの養殖現場においてエンロフロキサシンないしカナマイシンが多用されていたことを示すものと考えられる。

文 献

1. 加来佳子, 山田義行, 若林久嗣: 細菌流行している穴あき病様疾病のコイから分離された非定型 *Aeromonas salmonicida* の性状. 魚病研究, 34, 155-162 (1999)
2. 的山央人, 星野正邦, 細谷久信: ニシキゴイの“新穴あき病”病魚から分離された非定型 *Aeromonas salmonicida* の病原性. 魚病研究, 34, 189-193 (1999)
3. Miyazaki T, Okamoto H, Kageyama T, Kobayashi T: Viremia-associated ana-aki-byo, a new viral disease in color carp *Cyprinus carpio* in Japan. Diseases of Aquatic Organisms, 39, 183-192 (2000)
4. Miyazaki T, Kageyama T, Miura M, Yoshida T: Histopathology of viremia-associated ana-aki-byo in combination with *Aeromonas hydrophila* in color carp *Cyprinus carpio* in Japan. Diseases of Aquatic Organisms, 44, 109-120 (2001)

Drug Susceptibility of Ornamental Fish Pathogenic Bacteria

Antibiotic Susceptibility of Bacteria Isolated from Koi carp (*Cyprinus carpio*) with “New-type Ulcer Disease”

Shinpei WADA¹⁾ and Toshihisa OGUMA²⁾

1) *Nippon Veterinary & Animal Science University, 1-7-1 Kyonan-cho, Musashino, Tokyo 180-8602, Japan*

2) *Oguma Veterinary Hospital, 253-1 Chiyazawa, Oguni-machi, Kariha-gun, Niigara, 949-5201, Japan*

Drug sensitivity test was performed on some bacteria isolated from erosive and/or ulcerative lesion and kidney in koi carp clinically diagnosed as “new-type ulcer disease”, in 1997 ~ 1999. Although the most strains in the first year showed high sensitivity against enrofloxacin and kanamycin, the most of strains isolated in the last year were low sensitivity to the same drugs. It was considered that the drugs had been used very often in koi carp farm and related facilities.

討 論 (座長：畑井喜司雄，日獣畜大)

質問 (佐藤静夫，全農家畜衛研)

動物の場合，新しい疾病の発生要因として海外からの輸入動物によって持ち込まれる。また一方，生産性向上を目標とした育種の結果として抗病性低下による伝染病の増加がある。魚においてもこのようなことがあるのでしょうか。

答 (和田新平，日獣畜大)

養殖魚および鑑賞魚共に検疫体制は不完全であり，特に，観賞魚は全くフリーの状態です。従って，新しい疾病が国内に侵入することは十分に考えられる。

生産性の向上の結果として，抗病性が低下することは魚類でも考えられますが，その詳細はまだ不明な点が多いと思います。

質問 (片岡 康，日獣畜大)

A. hydrophila などは人の出血性腸炎の原因としても重要である。公衆衛生的見地から，観賞魚由来 *A. hydrophila* が耐性化していることに問題はありますか。

答 (和田新平，日獣畜大)

個人的にはやはり問題があると感じていますが，詳細は今後検討していかなければならないと思います。