

4. 魚の感染症とその治療

林 不二雄 (群馬県水産試験場)

近年、魚類を含めた各種動物の感染症に対し多くの治療薬が使用されており、食肉中の抗菌性物質残留が指摘されている。今回このシンポジウムで魚類の感染症対策およびこれらに付随する問題を提起し、併せて、対策についても述べる。

さて、最初に、海産および淡水養殖魚類の現状と魚病被害について述べると共に、これらの感染症に対して使用されている薬剤の種類およびその使用状況を紹介する。現在、薬剤耐性菌の出現が問題となっているが、その対策については農林水産省も予算化し、効率的な投薬手法の開発を検討している。また、薬剤耐性因子 (R プラスミド) の現状と人由来病原菌への伝達実験からの警鐘、そして、家畜由来細菌と魚との係わり、さらに人間との係わりについても報告する。

1. 魚病被害状況の概略

国内での主要養殖魚類の生産量は約 33 万トンであるが、その内、魚病による推定被害量は 1.4 万トン (4.4%) にものぼる。被害量の多い魚種はアユで約 10% を占め、少ない魚種はコイの 0.3%

表 1 魚病被害状況の概略

養殖魚種	生産量	推定被害量 (%)	被害順位
ぶり類	161,077	8,153 (5.1)	4
たい類	60,296	1,541 (2.6)	6
ウナギ	39,013	1,181 (3.0)	5
海中養殖の さけ・ます類	25,730	1,448 (5.6)	3
コイ	16,160	55 (0.3)	7
ニジマス	15,127	978 (6.5)	2
アユ	13,855	1,374 (10.0)	1
	331,258	14,737 (4.4)	

(ton)

である。しかし、1 経営体当たりの被害額はぶり類が多く、養殖魚種の転換を余儀なくせざるを得なくなっている業者も多い。しかし、倒産などの実態は正確には掴めていない。

魚類別に魚病被害状況をみると先ずぶり類では連鎖球菌症、類結節症、黄疸症と続き、たい類ではウイルス病と原因不明の死亡が約 70% を占めている。ウナギではパラコロ病とカラムナリス病が大半を占め、海中養殖のさけ・ます類、主にギンザケでは赤血球封入体症候群、ビブリオ病、細菌性腎臓病で約 80% 以上を占めている。同じサケ科のニジマス (淡水) では伝染性造血器壊死症、ビブリオ病、水カビ病が主であるが、在来マスのイワナ、ヤマメではせっそう病が最近増加してきている。アユではここ 2~3 年、冷水病が多く、種々の要因から日和見感染症の様相を示している。さらに、グルゲア症、真菌性肉芽腫症も認められる。一方、ビブリオ病での死亡が減少したことは投薬・治療の成果とは逆に冷水病の増加との関連に興味を持たれる。コイではカラムナリス病 (鰓ぐされ、尾ぐされ) が約 30% を占めるがさほど影響はない。むしろ給餌過多に起因し、環境 (特に水温) の変化に対応できず体調を崩すことに起因した疾病が多い (消化不良)。

2. 治療薬としての水産用医薬品

水産用医薬品の使用については使用基準が決められている。薬事法に基づく動物用医薬品の使用方法の基準が該当する魚類はブリ、マダイ、ギンザケ、マアジ、ヒラメ、コイ、ウナギ、ニジマス、アユ、ティラピア、クルマエビの 11 種で、用法は医薬品を飼料に混ぜて与える経口投与法、医薬品を溶かした水に一定時間魚介類を漬けてお

表 2 養殖魚の主な細菌性疾病

ぶり類	たい類	ウナギ	さけ・ます類	コイ	アユ
連鎖球菌症	ビブリオ病	パラコロ病	ビブリオ病	カラムナリス病	冷水病
類結節症	滑走細菌症	鱧赤病	細菌性腎臓病	細菌性白雲病	ビブリオ病
黄疸症	エドワジェラ病	ビブリオ病	せっそう病	運動性エロモナス症	口ぐされ病
合併症		カラムナリス病 (鰓ぐされ, 尾ぐされ) 赤点病		穴あき病	細菌性鰓病 連鎖球菌症

□: 耐性菌説明疾病

表 3 水産用医薬品の使用基準

目	魚種	薬 剤															
		BCM	ABPC	EM	OTC	OTC	OA	OA	OA	KT	SP	SDMX	SMMX	SMMX	SMMX	TP	FP
				* (A-C)		(HCl)		(水性)		(薬浴)		(薬浴)		(+) OMP			
スズキ	プリ	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	×	○	×	×	○	○
	マダイ																
	マアジ																
	ティラピア																
ニシン	ギンザケ	×	×	×	×	○	○	×	×	×	×	×	○	×	×	×	×
	ニジマス																
	アユ																
コイ	コイ	×	×	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
ウナギ	ウナギ	×	×	×	×	○	○	×	○	×	×	×	○	×	○	×	○
カレイ	ヒラメ	×	×	×	○	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
十脚	クルマエビ	×	×	×	×	○	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×

* (A-C): アルキルトリメチルアンモニウムカルシウム

その他の薬剤 {
 スズキ目: AMPC, JM, SIZ, TC, DOXY, NFS, NB, FMQ, NB, FMQ, OL, LCM
 ニシン目: CL, SIZ
 コイ目: SIZ
 ウナギ目: PA, MLX
 カレイ目: NFS

く薬浴法，飼育水中に医薬品を溶かす散布法が一般的である。用量は1日に魚介類の体重 1 kg 当たりに与える量，薬浴法と散布法では水に溶かす量で表示してある。さらに，休薬期間は上記 11 種の場合，5~30 日で医薬品の添付文書（水産試験場などの指導機関でも対応）などの記載に従って使用されている。

3. 薬剤耐性菌

細菌性疾病に対して多量の動物用医薬品を使用した場合，病原細菌の耐性化が起り治療が困難になることがしばしばある。代表的な病原細菌であるブリの類結節症原因菌の (*Pasteurella pisci-*

表 4 *Aeromonas hydrophila* の薬剤耐性株と R プラスミド

魚種	菌株数	耐性株数							R+ 保有株数	R プラスミドの 耐性型			
		TC	CM	SM	SA	ABPC	KM	NA		TC	SA	CM	KM
コイ	40*	29	5	2	32	40		2	20	TC	SA		
	84**	35	14	9	56	84	2	1	[1 6	TC	CM	SA	KM
	124	64	19	11	88	124	2	3	27				

* Fish cultured in stagnant water.

** Fish cultured in stream water.

cida 場合, 比較的多剤耐性菌が多く, CM KM SA TC の薬剤耐性因子 (R プラスミド) に最近ではフロルフェニコール (FF) 耐性をコードしていることが確認されている¹⁾.

たい類 (エドワジェラ病) とウナギ (パラコロ病) とでは病名を異にするが同じ病原菌 (*Edwardsiella tarda*) である。ウナギから分離される耐性菌の耐性型は TC SA と CM TC SA の 2 タイプに分かれているが, いずれも R プラスミドに支配されている。一方, たい類からの耐性菌は現在のところ検出されていない。せつそう病原菌 (*Aeromonas salmonicida*) の耐性に関し, A. E. Tranzo ら²⁾の報告によると TC SA タイプと SA の単剤であることを他国の文献から掲載しているが, SA の伝達性については述べていない²⁾。コイなどの病原細菌として知られている *Aeromonas hydrophila* は TC SA をコードする R プラスミドを基本に多剤耐性菌が多いが, 溜池で養殖するコイからは多くの R プラスミドが検出され (50%), 流水で養殖するコイからの検出率は低

かった (8.3%)。このことはニジマスなど流水で飼育する魚種に共通する現象である³⁾。今回のシンポジウムでは R プラスミド (非伝達性プラスミド) については省略した。

4. R プラスミドの人由来病原細菌への伝達実験

グラム陰性桿菌でのプラスミドの分離技術の進歩はめざましいが, 食中毒原因菌である *Vibrio parahaemolyticus* では薬剤耐性菌および R プラスミドの報告は少ない。また, 腸内細菌由来 R プラスミドの宿主域は広いにもかかわらず *V. cholerae* においては多くの R プラスミドが不安定であり, この菌の特異的な種属特異性が報告されている。しかし, *V. anguillarum* 由来 C 群 (不和合性) R プラスミドは高濃度の塩類溶液内での伝達頻度が高いため, 適当な栄養と塩類の存在下で複製蔓延し, 海水中での耐性菌の伝播を一層助長するものと考えられる^{4,5,6)}。*V. cholerae* によ

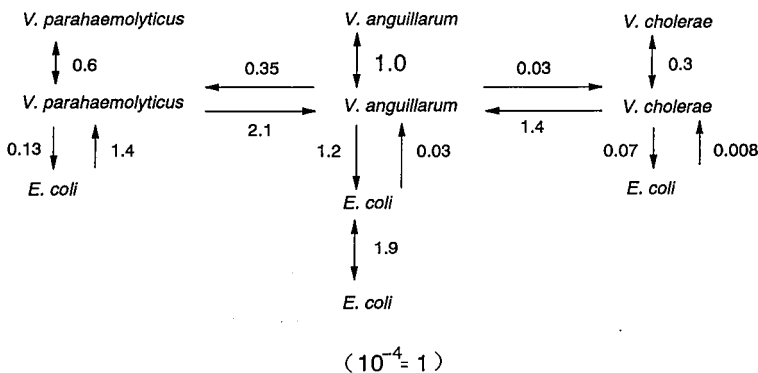


図 1 *Vibrio anguillarum* 由来 R プラスミドの *Vibrio* 間での伝達頻度

る神奈川県鶴見川（1978）での汚染，バングラデシュでの耐性菌の検出例から，種々の菌株への伝播などを考えると益々公衆衛生上 R プラスミドの汚染は問題化しており，引き続いての疫学的監視が必要であろう⁷⁾。

5. 家畜由来細菌（サルモネラ）と魚との係わり

魚類を介する食中毒は大きく2種類に分けられる。それらは水の汚染が主で魚類は一時的な媒体となったもの，および魚自身の持つ病原菌がそれ自身または薬剤耐性因子を介して人に害を及ぼすに至る場合である。本報告はある食中毒事件から明らかになった養殖コイの *Salmonella* 汚染であ

る。この汚染は数種の菌種が主であったが，その中でも *S. typhimurium* が最も多かった。さらに，この菌種には多剤耐性菌が多く，また，その耐性

表 5 分離菌種名

種名	分離株数					分離株数(計)
	埼玉			群馬		
	FP	WT	GI	FW	GI	
<i>S. typhimurium</i>	5	3	3	2	4	17
<i>S. litchfield</i>	2	1	4	1		8
<i>S. java</i>	1		5		1	7
<i>S. braendrup</i>		3	2			5
Others	3	6	12	1	3	5
計	11	13	26	4	8	62

FP: 飼育水 GI: 鰓および腸管
WT: 輸送水 FW: 蓄養水

表 6 耐性型と R プラスミド

耐性型	菌株数	菌種名*	R プラスミド数
TC CM SM SA ABPC KM	2	Ty	1**
TC CM SM SA KM	3	Ty	3
TC CM SM SA	1	Ty	1
SM SA ABPC	2	Ot	
CM SM SA	1	Ja	
TC SA	1	Li	
SM SA	2	Ot	
KM SA	1	Ot	
SA	28 (Li, 4; Ty, 8; Ja, 3; Ot, 13)		
Sensitive strain	9 (Ot, 7; Ja, 1; Li, 1)		
計	50		

* Ty, *S. typhimurium*; Ja, *S. litchfield*; Ot, Others. ** Two plasmids

表 7 R プラスミドの伝達における温度感受性と不和合性

供与菌 R プラスミド	受容菌 R プラスミド	選択薬剤	伝達頻度		不和合性群
			30°C	37°C	
pMS 901 (TC CM SM SA)	— R27 (TC)	CM CM	10 ⁻⁵ <10 ⁻³	<10 ⁻³	H
pMS 902 (KM ABPC)	— R387 (CM SM)	ABPC ABPC	10 ⁻⁴ <10 ⁻⁸	10 ⁻⁴	K
pMS 903 (TC CM SM SA KM)	— R27 (TC)	CM CM	10 ⁻⁵ <10 ⁻³	<10 ⁻⁸	H
pMS 904 (TC CM SM SA KM)	— R27 (TC)	CM CM	10 ⁻⁵ <10 ⁻⁸	<10 ⁻⁸	H
pMS 905 (TC CM SM SA)	— R27 (TC)	CM CM	10 ⁻⁵ <10 ⁻⁸	<10 ⁻⁸	H
pMS 906 (TC CM SM SA KM)	— R27 (TC)	CM CM	10 ⁻⁵ <10 ⁻⁸	<10 ⁻⁸	H

菌はほとんどプラスミドを保持していた。この R プラスミドの不和合性型を調べると H 群に属し、人の赤痢菌 (*Shigella*) や *E. coli* から多く分離される他の型と異なって、家畜、動物由来のサルモネラに特長のある R プラスミドの型であることが分かった。現在、コイの養殖池に流れ込む水系は牛、豚など家畜舎からの排水による汚染を免れ難く、これらの関係が推定される。しかし、本来 *Salmonella* はコイに定着性のある菌種ではなく、腸管から分離される主要菌種 15 種の中には入っていない⁹⁾。したがって、*Salmonella* の魚体または蓄養水からの分離には一旦増菌してからでないと分離し難い。この様な条件下では魚体の *Salmonella* による汚染防除には、取り上げ後、蓄養 (活メ、現状どおり約 2 週間以上) にきれいな水を用い、よく洗い流した後、運搬し、消費地で蓄養するだけで十分な成績を収めえた。

6. 結 語

- 1) 海産魚および淡水魚共に細菌性疾病の占める割合が高い。
- 2) 治療薬の使用は地域・魚種別に異なり、業者間でも処置方法が異なるが、比較的閉鎖的な内水面関係の魚種の対処方法が容易である。
- 3) 投薬の結果、病原細菌の耐性化が認められ、その原因は薬剤耐性因子 (R・r プラスミド) に起因する。
- 4) 現在、農水省 (水産庁) では耐性菌を出さない効率的な投薬方法などを検討しており、併せ

て、情報などのネットワーク作りを実施中である。

- 5) 最終的には消費者に安心して食べてもらえる養魚を目指している。

7. 謝 辞

今回のシンポジウムに際し農林水産省、動物医薬品検査所、細菌製剤検査室長、中村政幸博士、鹿児島県水産試験場、福留己樹夫主任研究員をはじめ、多くの方々からご助言を頂きましたことに深謝致します。また、発表内容は群馬大学医学部薬剤耐性菌実験施設、伊豫部志津子助教授らとの共同研究である。

文 献

- 1) Kim, E.-H., Toshida, T. and Aoki, T.: *Gyobyou Kenkyu*, 28, 165-170 (1993)
- 2) Toranz, A. E., Santos, Y., Nunez, S. et al.: *Gyobyou Kenkyu*, 26, 55-60 (1991)
- 3) 林不二雄, 荒木康久, 原田賢治ほか: *日水誌*, 48, 1121-1127 (1982)
- 4) Hayashi, F., Harada, K., Mituhashi, S. et al.: *Microbiol. Immunol.*, 26, 479-485 (1982)
- 5) Hayashi, F., Suzuki, M., Harada, K. et al.: *Drug Resistance in Bacteria*, Tokyo, Thieme-Stratton Inc., New York. 381-385 (1982)
- 6) Hayashi, F., Araki, Y., Inoue, M. et al.: *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54, 845-849 (1987)
- 7) Hayashi, F., Fuse, A., Inoue, M. et al.: *Letters Appl. Microbiol.*, 16, 28-31 (1993)

Treatment Methods of Infectious Disease in Cultured Fish

Fujio HAYASHI

Gunma Prefectural Fisheries Experimental Station

Various species of pathogenic bacteria have been isolated from diseased fish. The emergence of bacterial strains resistant to antibacterial agents has become an important problem in clinical microbiology and food hygiene. Many fish are cultured in small freshwater breeding ponds and in small areas of sea, and several drugs may be used to prevent

bacterial infections. Thus the ministerial ordinance responsible for the control of animal drugs (including their use for eleven types of fish, 1991) restricted fish culturing in Japan.

Food poisoning from *Vibrio parahaemolyticus* is common in Japan because of the custom of eating raw seafood. *Salmonella*, *V. parahaemolyticus* and *Escherichia coli* strains are frequently isolated from patients showing symptoms of bacillary dysentery. In spite of the marked development of techniques for plasmid study in Gram-negative rods, drug resistant *V. parahaemolyticus* strains have not been isolated. However, it should be noted that the R plasmids from *V. anguillarum* strains are stably maintained in *V. parahaemolyticus* and *V. cholerae*. This suggests that drug-resistant *V. parahaemolyticus* and *V. cholerae* might increase in number if this type of R plasmid that spreads naturally from fish-breeding ponds to sea water as a result of water pollution. Recently, a spread of R plasmids occurred in the People's Republic of Bangladesh.

About nineteen percent of cultured carp and their pond water in Gunma and Saitama prefectures are contaminated with *Salmonella*. *Salmonella* strains were also isolated from the ponds where the carp were kept, but the rate of isolation varied from place to place. About eighty percent of isolates was resistant to some of the 10 drugs tested. Six kinds of R plasmids (two incompatible groups) of *S. typhimurium* strains were found. Most of them belonged to H incompatible group which is known to be common in *Salmonella* plasmids from livestock.

Contamination of fish ponds mostly occurs through drainage from livestock. Washing of cultured carp in clean water for about two weeks prevented contamination. Following this procedure, *Salmonella* was no longer detectable from gills and intestines on repeated trials.

As these results demonstrated, the pollution containing plasmids has to be reduced as much as possible and continuous monitoring to prevent the increase of environmental pollution is necessary.

討 論 (座長: 畑井喜司雄, 日獣畜大)

質問 (小野浩臣, 日獣畜大)

コイを摂取した食中毒の原因が抗菌剤耐性のサルモネラで、由来が家畜らしいとのことで、魚由来でないことが明白とのご説明と解したが、家畜由来であれば、その追跡・再現試験を是非進めて頂きたい。

答 (林 不二雄)

県内畜舎と河川のマップが作成されており、調査対象コイ池上流の畜舎は確認済ですが、県レベルでの追求は行政上難しい。論文の投稿についても米・英ともに「ある特別な事情があって」と不受理の状態であることから、ご理解頂きたい。

質問 (末永 格, 武田薬品工業 (株))

1. コイのサルモネラ汚染はどの時点の水か？

2. コイのサルモネラ汚染の部位は？

3. その汚染はそんなに簡単に消える？

答 (林 不二雄)

1. 飼育用水、すなわち池に入る水が既に汚染されているため、一時的にコイをストックしている水 (蓄用水)、消費地まで輸送する水、消費先で食するまでの生簀 (イケス) の水すべてが汚染されていた。しかし、その程度は異なっていた。

2. 鰓、腸管内部を主に調べたが、表皮にも付着している可能性はある。

3. 一般に池から取り上げ、食卓に上がるまで活メ (イケシメ、蓄養) を行うが、この期間が少なくとも2週間で、最後の仕上げを清水で行うとほぼ十分な結果が

得られている。

質問 (橋本和典, 日本全薬中研)

1. 鯉から検出されたサルモネラの検出菌量はどの程度でしたか。
2. このような鯉は感染でしょうか, 汚染でしょうか。どちらにしても, 公衆衛生上注目せねばなりません。

答 (林 不二雄)

1. 検出には, 増菌・選択の工程を入れないと難しい

位の頻度である。

2. 汚染であり, 水産サイドは被害者であるが, 公衆衛生上 (食中毒) では加害者になっている。生食をしない国ではさほどでもないが, ドナウ川などは汚染源すら推察できないのが現状のようです。また, 食中毒の現場でのヒアリングからは, 料理した後, 十分な板を洗浄せず, 卵焼きの調理をしたため, ここで増菌したものと推察された。