

せっそう病に関する研究—IX

1975年に県内で分離された *Aeromonas salmonicida* の薬剤感受性について

森川進・荒井真・田代文男

Studies on the Furunculosis in Salmonoid Fishes.—IX

On the Drug Sensitivity of *Aeromonas salmonicida*

Isolated in Gifu Prefecture in 1975.

SUSUMU MORIKAWA, MAKOTO ARAI, FUMIO TASHIRO

せっそう病の治療対策として、従来から各種抗菌剤による化学療法が広く行われ、一応の効果を上げている。近年病原菌である *Aeromonas salmonicida* の各種薬剤に対する耐性株が出現¹⁾し、従来有効であった薬剤の効果が低下しつつある例が見られる。耐性株の出現状況は、年度、養魚場によって異なり、岐阜水試では、県内の養魚場について、治療薬剤の選択基準を定めるために、毎年流行初期に *A. salmonicida* の薬剤感受性を調査している。その経年変化については別に報告するが、ここでは1975年度の調査結果について述べる。

なお本研究は昭和50年度水産庁指定調査研究総合助成事業「病害研究」として実施した。

調査の方法

調査は、1975年6月10日～8月3日にわたり、第1表に示す県内の35箇所の養魚場について行った。

菌分離は、原則として同一魚群から5尾の自然発病魚（瀕死魚または新鮮な斃死魚）を採取し、腎臓より普通寒天培地（ニッスイ）を用い

て行った。感受性の測定はディスク法によった。
すなわち、分離した各菌株の数コロニーを、ハ
ートインフュージョンブイヨン（栄研）で、20℃・
24時間培養し、その0.1mlを平板上に接種し、コ
ンラージ棒で塗抹した。使用した培地は変法ミ
ューラーヒントン培地〔感性ディスク用培地（ニ
ッスイ）〕、ディスクは昭和ディスクを用いた。

供試薬剤は、スルファモノメトキシ（以下 S
MMと記す）、クロラムフェニコール（同 C P）、

オキシテトラサイクリン（同 O T C）、ナリジク
ス酸（同 N A）である。判定は、20℃・48時間
培養した後に行った。

結果および考察

薬剤感受性測定結果を第 1 表、耐性型と出現
頻度を第 2 表、薬剤別耐性株出現頻度を第 3 表、

第 1 表 岐阜県内で分離された *A. salmonicida* の薬剤感受性 (1975)

養魚場	所在地	調査月日	魚種	年令	菌株No.	S M M		C P		O T C		N A		投薬歴
						阻止円直径	MIC*	阻止円直径	MIC*	阻止円直径	MIC*	阻止円直径	MIC*	
K. K	本巣郡根尾村	6・10	アマゴ	1	KK 7501	0	>460	—	—	58	<0.051	—	—	<0.35
					KK 7502	0	>460	26	4.4	25	2	54	—	
					KK 7503	0	>460	—	—	—	—	—	—	
					KK 7504	0	>460	18	21	16	16	44	<0.35	
K. Y	"	"	"	1	KY 7501	0	>460	26	4.4	24	2.5	—	—	CP無効
					KY 7502	0	>460	18	21	—	—	—	—	
					KY 7503	0	>460	22	9.6	—	—	—	—	
					KY 7504	0	>460	21	12	—	—	—	—	
					KY 7505	0	>460	20	14	0	>74	—	—	
				0	KY 7506	—	—	—	—	—	—	—	—	<0.35
					KY 7507	0	>460	47	<0.086	58	<0.051	50	<0.35	
					KY 7508	0	>460	—	—	0	>74	—	—	
					KY 7509	0	>460	—	—	—	—	—	—	
					KY 7510	—	—	—	—	—	—	—	—	
N. C	"	"	"	1	NC 7501	0	>460	17	25	—	—	—	—	SIZ無効
					NC 7502	0	>460	23	7.9	21	5.1	0	>90	CP無効
					NC 7503	0	>460	—	—	—	—	—	—	
					NC 7504	0	>460	19	17	—	—	—	—	
					NC 7505	0	>460	—	—	—	—	—	—	
N. S	"	"	"	1	NS 7501	0	>460	42	0.17	39	0.066	41	<0.35	CP無効
					NS 7502	0	>460	37	0.46	39	0.066	42	<0.35	
					NS 7503	9	460	14	43	40	0.051	39	<0.35	
M. C	山県郡美山町	"	"	0	MC 7501	0	>460	13	51	38	0.084	43	<0.35	SA・OTC 無効
					MC 7502	0	>460	39	0.3	42	<0.051	40	<0.35	
					MC 7503	0	>460	42	0.17	22	4	50	<0.35	
					MC 7504	—	—	—	—	—	—	—	—	
				1	MC 7505	0	>460	42	0.17	22	4	45	<0.35	SA・OTC 無効
					MC 7506	0	>460	12	60	41	<0.051	38	<0.35	
					MC 7507	9	460	12	60	40	0.051	41	<0.35	
E	"	"	"	1	E 7501	0	>460	—	—	—	—	—	—	CP無効
					E 7502	0	>460	—	—	—	—	—	—	
					E 7503	0	>460	—	—	—	—	—	—	
					E 7504	—	—	—	—	—	—	—	—	
H. R	"	"	"	1	HR 7501	0	>460	21	12	23	3.1	46	<0.35	CP無効
					HR 7502	11	350	26	4.4	—	—	—	—	
					HR 7503	0	>460	26	4.4	—	—	18	19	
					HR 7504	0	>460	22	9.6	57	<0.051	—	—	
					HR 7505	0	>460	25	5.3	58	<0.051	—	—	
M. I	吉城郡河合村	6・27	"	1	MI 7501	0	>460	50	<0.086	39	0.066	39	<0.35	<0.35
					MI 7502	0	>460	41	0.2	37	0.11	36	<0.35	

K. G	吉城郡河合村	6・27	アマゴ	0	KG 7501	0	>460	9	100	39	0.066	33	0.57	
					KG 7502	0	>460	12	60	40	0.051	38	<0.35	
T. U	"	"	"	1	TU 7501	0	>460	12	60	36	0.14	39	<0.35	
					TU 7502	11	350	13	51	36	0.14	38	<0.35	
					TU 7503	11	350	13	51	34	0.23	37	<0.35	
M. O	"	"	"	1	MO 7501	0	>460	11	71	36	0.14	39	<0.35	
					MO 7502	0	>460	11	71	38	0.084	37	<0.35	
					MO 7503	0	>460	12	60	38	0.084	40	<0.35	
					MO 7504	0	>460	12	60	38	0.084	42	<0.35	
					MO 7505	0	>460	10	84	34	0.23	34	0.45	
S. N	"	"	"	1	SN 7501	0	>460	0	>100	37	0.11	30	1.2	
					SN 7502	0	>460	13	51	36	0.14	36	<0.35	
					SN 7503	0	>460	11	71	35	0.18	40	<0.35	
					SN 7504	0	>460	10	84	31	0.47	37	<0.35	
					SN 7505	0	>460	13	51	36	0.14	36	<0.35	
J	"	"	"	1	J 7501	0	>460	10	84	36	0.14	38	<0.35	SMM 無効('74)
					J 7502	0	>460	18	21	40	0.051	41	<0.35	SIZ 有効
					J 7503	0	>460	14	43	38	0.084	43	<0.35	
G. D	"	"	"	1	GD 7501	0	>460			0	>74	42	<0.35	
					GD 7502	0	>460	37	0.46	0	>74	41	<0.35	
					GD 7503	0	>460	41	0.2	0	>74	43	<0.35	
					GD 7504	0	>460	42	0.17	0	>74	40	<0.35	
					GD 7505	0	>460	41	0.2	0	>74	40	<0.35	
K. B	"	"	"	1	KB 7502	0	>460	14	43	0	>74	41	<0.35	
					KB 7503	0	>460	18	21	47	<0.051	47	<0.35	
					KB 7504	0	>460	16	30	35	0.18	42	<0.35	
					KB 7505	0	>460	13	51	0	>74	40	<0.35	
					KB 7506	12	300	13	51	37	0.11	41	<0.35	
O. T	"	"	"	1	OT 7501	35	4.8	40	0.25	40	0.051	43	<0.35	
					OT 7502	0	>460	39	0.3	44	<0.051	39	<0.35	
A	"	"	"	1	A 7501	0	>460	39	0.3	46	<0.051	39	<0.35	
					A 7502	0	>460	36	0.56	42	<0.051	39	<0.35	
					A 7503	0	>460	36	0.56	43	<0.051	39	<0.35	
					A 7504	0	>460	39	0.3	41	<0.051	36	<0.35	
					A 7505	0	>460	39	0.3	43	<0.051	37	<0.35	
T. K	"	"	"	1	TK 7501	0	>460	35	0.7	43	<0.051	39	<0.35	
					TK 7502	0	>460	37	0.46	42	<0.051	36	<0.35	
					TK 7503	0	>460	42	0.17	44	<0.051	34	0.45	
					TK 7504	0	>460	39	0.3	45	<0.051	32	0.76	
T. J	恵那郡付知町	7・3	"	1	TJ 7501	0	>460	11	71	40	0.051	32	0.76	
					TJ 7502	0	>460	13	51	41	<0.051	34	0.45	
M. K	中津川市	"	"	1	MK 7501	0	>460	36	0.56	24	2.5	41	<0.35	SIZ・CP
T. S	郡上郡高才村	6・20	"	1	TS 7502	0	>460	37	0.46	34	0.23	39	<0.35	やや有効
C. T	郡上郡明方村	6・19	"	1	CT 7501	0	>460	34	0.86	36	0.14	42	<0.35	
					CT 7502	0	>460	40	0.25	38	0.084	36	<0.35	
					CT 7503	0	>460	38	0.38	40	0.051	36	<0.35	CP無効
					CT 7504									
					CT 7505	0	>460	11	71	36	0.14	30	1.2	
O	"	"	"	0	O 7501	11	350	10	84	34	0.23	34	0.45	
					O 7502	0	>460	13	51	38	0.084	38	<0.35	
					O 7503	12	300	15	36	40	0.051	37	<0.35	
T. D	"	"	"	1	TD 7501	0	>460	26	4.4	32	0.37	32	0.76	
					TD 7502	0	>460	30	1.9	34	0.23	34	0.45	
					TD 7503	0	>460	28	2.9	36	0.14	36	<0.35	無投薬
					TD 7504	0	>460	32	1.3	38	0.084	30	1.2	
C. G	"	"	"	1	CG 7501	0	>460	32	1.3	32	0.37	32	0.76	
					CG 7502	0	>460	12	60	38	0.084	35	0.35	
					CG 7503	0	>460	16	30	38	0.084	41	<0.35	CP有効
					CG 7504	0	>460	12	60	38	0.084	26	3.4	
					CG 7505	0	>460	13	51	36	0.14	37	<0.35	
S. T	"	"	"	0	ST 7501	0	>460	13	51	40	0.051	30	1.2	
					ST 7502	0	>460	13	51	36	0.14	38	<0.35	
					ST 7503	0	>460	32	1.3	36	0.14	38	<0.35	
					ST 7504	0	>460	36	0.56	34	0.23	38	<0.35	
					ST 7505	0	>460	44	0.11	36	0.14	42	<0.35	

O. B	郡上郡明方村	6・19	アマゴ	1	OB 7501	0	>460	36	0.56	34	0.23	38	<0.35	CP有効
					OB 7502	0	>460	17	25	37	0.11	38	<0.35	
					OB 7503	0	>460	15	36	37	0.11	38	<0.35	
					OB 7504	0	>460	16	30	34	0.23	39	<0.35	
					OB 7505	0	>460	13	51	32	0.37	35	0.35	
N	"	"	"	1	N 7501	0	>460	31	1.6	34	0.23	38	<0.35	CP無効
					N 7502	0	>460	42	0.17	36	0.14	36	<0.35	
					N 7503	0	>460	35	0.7	38	0.084	41	<0.35	
S. M	"	"	"	1	SM 7501	0	>460	13	51	32	0.37	33	0.57	
					SM 7502	0	>460	16	30	36	0.14	33	0.57	
H	"	"	"	1	H 7501	0	>460	12	60	40	0.051	37	<0.35	
					H 7502	0	>460	12	60	34	0.23	32	0.76	
					H 7503	0	>460	13	51	32	0.37	33	0.57	
					H 7504	14	220	13	51	34	0.23	32	0.76	
					H 7505	0	>460	11	71	35	0.18	37	<0.35	
K	"	"	"	1	K 7501	0	>460	34	0.86	31	0.47	39	<0.35	CP有効
					K 7502	0	>460	32	1.3	32	0.37	36	<0.35	
					K 7503	0	>460	36	0.56	32	0.37	32	0.76	
					K 7504	0	>460	36	0.56	32	0.37	32	0.76	
					K 7505	0	>460	34	0.86	32	0.37	34	0.45	
T. N	益田郡小坂町	6・24	"	1	TN 7501	25	36	52	<0.086	54	<0.051	50	<0.35	無投薬(73) CP無効 (74)
					TN 7502	0	>460	32	1.3	36	0.14	34	0.45	
					TN 7503	0	>460	34	0.86	32	0.37	34	0.45	
					TN 7504	0	>460	30	1.9	33	0.29	34	0.45	
					TN 7505	0	>460	36	0.56	34	0.23	35	0.35	
O. S	"	"	"	1	OS 7501	0	>460	33	1	32	0.37	35	0.35	CP有効
					OS 7502	0	>460	36	0.56	33	0.29	34	0.45	
				0	OS 7503	0	>460	34	0.86	32	0.37	33	0.57	CP有効
					OS 7504	0	>460	38	0.38	34	0.23	32	0.76	
					OS 7505	9	460	39	0.3	34	0.23	44	<0.35	
					OS 7506	0	>460	38	0.38	36	0.14	38	<0.35	
Y	郡上郡大和村	6・25	"	0	Y 7501	0	>460	36	0.56	—	—	36	<0.35	CP有効
					Y 7502	0	>460	44	0.11	—	—	32	0.76	
					Y 7503	0	>460	41	0.2	—	—	34	0.45	
					Y 7504	0	>460	34	0.86	—	—	37	<0.35	
					Y 7505	0	>460	36	0.56	—	—	34	0.45	
		7・19	"	0	Y 7510	0	>460	44	0.11	—	—	39	<0.35	
					Y 7511	0	>460	40	0.25	—	—	39	<0.35	
					Y 7512	0	>460	38	0.38	—	—	36	<0.35	
					Y 7514	0	>460	36	0.56	—	—	34	0.45	
		7・21	"	0	Y 7516	0	>460	40	0.25	—	—	36	<0.35	
					G 7513	0	>460	40	0.25	—	—	34	0.45	
					G 7514	0	>460	41	0.2	—	—	41	<0.35	
G	益田郡萩原町	7・16	"	0	G 7515	0	>460	42	0.17	—	—	40	<0.35	PA・AMF有効
					G 7517	0	>460	42	0.17	—	—	42	<0.35	
					G 7519	0	>460	42	0.17	—	—	38	<0.35	
		7・23	"	0	G 7520	0	>460	43	0.13	—	—	38	<0.35	PA・AMF有効
					G 7522	0	>460	40	0.25	—	—	40	<0.35	
					G 7523	0	>460	48	<0.086	—	—	42	<0.35	
		8・1	"	0	G 7524	0	>460	43	0.13	—	—	41	<0.35	PA・AMF有効
					G 7525	0	>460	46	<0.086	—	—	47	<0.35	
					G 7526	0	>460	45	0.086	—	—	42	<0.35	
		8・3	"	0	G 7527	0	>460	41	0.2	—	—	36	<0.35	PA・AMF有効
					G 7528	0	>460	46	<0.086	—	—	39	<0.35	

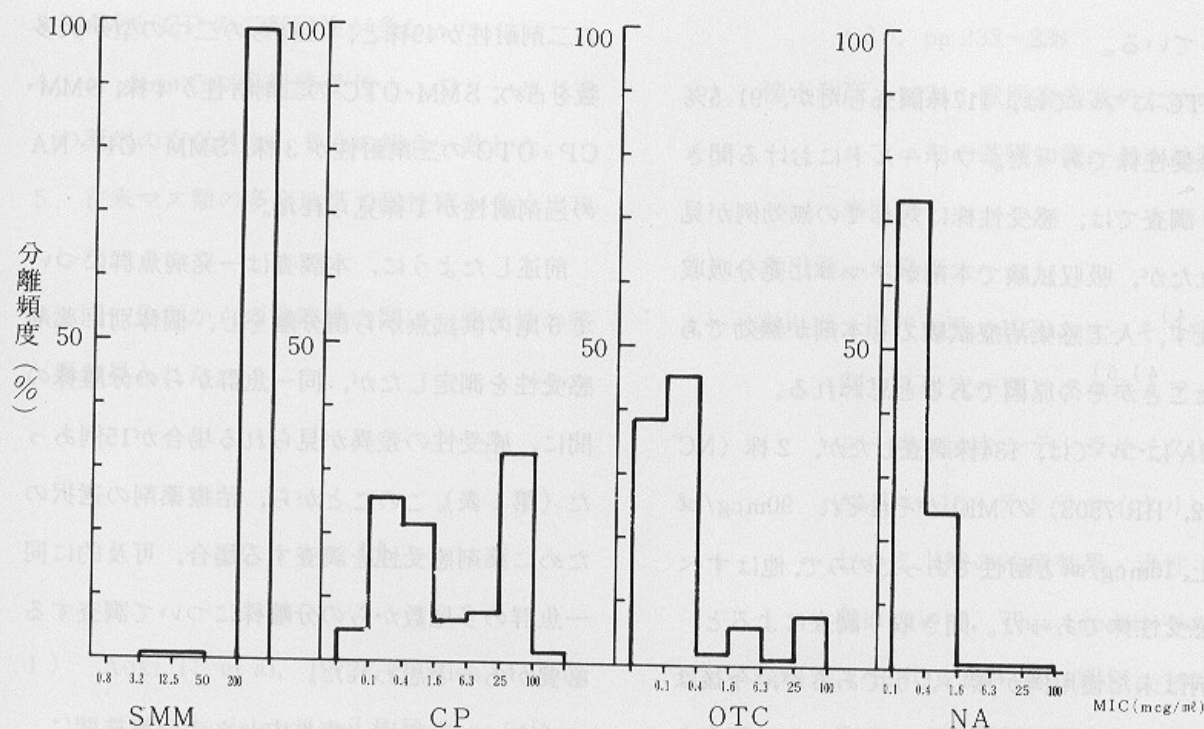
※ MIC ……阻止円直径よりの近似値 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (昭和ディスク 使用便覧より), ※※ — : 欠測,
SMM: スルファメノメトキシシ, SIZ: スルフィソゾール, CP: クロラムフェニコール, OTC: オキシテトラサイクリン,
NA: ナリジクス酸, PA: ピロミド酸, AMF: AMF16 (スルフィソゾール5:トリメトプリム1), SA: サルファ剤

各薬剤に対する MIC の分布を第 1 図にそれぞれ示した。合計159株の *A. salmonicida* について感受性を測定したが、全供試薬剤について測定できたのは110株であった。

SMM については、154株測定したが、1株

(OT 7501) のみが感受性 (MIC 4.8mcg/ml) で、
※
他の153株はすべて耐性株であった。これらの耐性株のうち1株 (TN 7501) は MIC が36mcg/ml

※ 本報では、MIC が SMM: >12.5mcg/ml,
CP, OTC, NA: >6.3mcg/ml を耐性株とした。



第1図 各薬剤に対するMICの分布

第2表 耐性型と出現頻度

耐性 [*] 型	株数	出現頻度
—	1	0.9 %
SMM	52	47.3
SMM・CP	49	44.5
SMM・OTC	4	3.6
SMM・CP・OTC	3	2.7
SMM・CP・NA	1	0.9

※ 耐性：MIC ($\mu\text{g/ml}$) が SMM： >12.5 ，
CCP・OTC・NA： >6.3

第3表 薬剤別耐性株出現頻度

薬 剤	株 数	出 現 頻 度
SMM	153	99.4 %
CP	60	41.7
OTC	10	8.5
NA	2	1.5

であったが、152株はMICが220mcg/ml以上の高度耐性株であった。これらの結果は、フィールドにおける聞き取り調査で、サルファ剤の無効例が数多く見られたことと一致している。しかし各サルファ剤間には完全な交差耐性があるとされているが、フィールドにおいてSMMが無効であるのに、スルフィソゾール（以下SIZと記す）が有効であった例があり、感受性試験でもSMM耐性株がSIZに感受性を持つ例が見られたことと、SIZの使用例が増加しつつあるので、今後はサルファ剤として、SMMとSIZの両剤を供試薬剤として検討する予定である。

CPについては、144株調査したが、MIC 6.3 mcg/ml以上の耐性株が41.7%を占め、うち22株はMIC 60mcg/ml以上の高度耐性株であった。この結果はフィールドにおける聞き取り調査で約半数の養魚場でCPが無効であったことと一

致している。

OTC については、117株調査したが、91.5%が感受性株であった。フィールドにおける聞き取り調査では、感受性株に対しての無効例が見られたが、吸収試験で本剤がアマゴに充分吸収されず⁴⁾、人工感染治療試験でも本剤が無効であったことがその原因であると思われる^{4) 5)}。

NA については、134株調査したが、2株 (NC 7502, HR 7503) の MIC がそれぞれ 90mcg/ml 以上、16mcg/ml と耐性であったのみで、他はすべて感受性株であった。聞き取り調査によると、本剤は未だ使用例が無いようであるが、今後は同系の薬剤であるオキシリン酸とともに調査を続けたい。

地区別に見ると、SMM はすべての養魚場から耐性株が検出された。CP については、根尾村で4経営体全部、美山町で3経営体中2、河合村で11経営体中6、明方村で10経営体中7、付知町で1経営体から耐性株が検出された。OTC については、根尾村と河合村でそれぞれ2経営体から耐性株が検出された。NA については、根尾村と美山町の各1経営体から耐性株が検出された。

以上を総合すると、多くの場合 *in vitro* での薬剤感受性と、フィールドでの薬剤の有効性とが一致していることと、せつそう病の発生が多く、薬剤の使用頻度が高いと思われる在来マス類の多産地区 (根尾村・河合村・明方村) で、耐性株の出現が多い傾向が見られた。

分離された109株の耐性型は、第2表に示したとおり、SMM 単剤耐性が52株、SMM・CP

の二剤耐性が49株と、これらの二つの型が大多数を占め、SMM・OTC の二剤耐性が4株、SMM・CP・OTC の三剤耐性が3株、SMM・CP・NA の三剤耐性が1株見られた。

前述したように、本調査は一発病魚群について5尾の供試魚から菌分離をし、個体別に薬剤感受性を測定したが、同一魚群からの分離株の間に、感受性の差異が見られる場合が15例あった (第1表)。このことから、治療薬剤の選択のために薬剤感受性を調査する場合、可及的に同一魚群の多尾数からの分離株について調査する必要があると思われた。

また、ヒトの同一病巣内からの分離株間に、感受性の差異があることが知られている⁶⁾。本調査では、一代分離平板より数個の集落を釣菌し液体培地で増菌後、感受性を測定したので、おおむね支障はないと思われるが、今後、魚体より直接ディスク試験の平板へ接種する方法、例えば、血液、腎臓、肝臓の塗沫などを検討する必要もあると思われた。

要 約

1. 県内35ヶ所の養魚場で、1975年に分離された *A. salmonicida* 159株について、薬剤感受性をディスク法で調査した。
2. 分離株のうち、99.4%が SMM に、41.7%が CP に、8.5%が OTC に、1.5%が NA に耐性であった。
3. 5種類の耐性型が見られたが、SMM 単剤、

SMM と CP の二剤耐性が多かった。

(3), pp 233~238

4. *in vitro* での薬剤感受性と、フィールドでの薬剤の有効性が、多くの場合一致した。

5. 在来マス類の多産地帯で耐性菌が多く出現した。

6. 同一魚群からの分離株の間に、感受性の差異が見られた。

2) 傍士和彦, 1971; 獣医畜産家のためのサルファ剤の基礎知識, 日本動物薬事協会

3) 森川進, 未発表

4) 森川進・田代文男, 1976; せっそう病に関する研究-VIII クロラムフェニコール・オキシテトラサイクリン・AMF-16・テトラサイクリン・ピロミド酸の治療効果・毒性・吸収について, This report

文 献

1) AOKI T. et al, 1972; Studies of Drug Resistance and R Factors in Bacteria from Pond-Cultured Salmonids 1. Amago (*Oncorhynchus rhodurus macrostomus*) and Yamame (*Oncorhynchus masou ishikawae*), Japan J. Microbiol., 16

5) 森川進・田代文男・谷口朝臣, 1975; Ditto-VI 薬剤に関する試験(1) 岐水試研報, No.20, pp 67~98

6) 紺野昌俊, 1967; 同一病巣内の菌の感受性の差について, 最新医学, Vol. 22, No. 8, pp 1,873~1,880

実験の方法

本菌の耐熱性、耐乾性、水中の生存日数、薬剤の影響についてそれぞれ次の方法によって

1. 耐熱性

新鮮な培養菌の菌液を滅菌水(菌の濃度は適量)を、あらかじめ滅菌生理食塩水を入れて試験温度に設定してある小試験管に加え、以後毎時的に約10分間普通寒天平板(日本)に塗布して結果を判定した。

2. 耐乾性

新鮮な培養菌の菌液を滅菌水(生理食塩水および滅菌池水)を清潔なスライドグラスに塗布して自然乾燥させ、所定の時間毎に滅菌水を加えてそれを約滿し、普通寒天平板(日本)に塗布した。実験時の室温は20℃であった。

3. 水中の生存日数