

# ブリ類結節症病原菌 *Pasteurella piscicida* の薬剤感受性について

池脇 義弘・沢田 健蔵・大塚 弘之

類結節症は、養殖ブリ当歳時夏季のへい死の主要な原因となっており、その病原菌 (*Pasteurella piscicida*) の薬剤耐性化は重要な問題となっている。

そこで、最近の徳島県における *P. piscicida* の薬剤感受性についてまとめ若干の検討を加えた。

## 材料および方法

### 1 供試菌

1983年度から1990年度にかけての8年間に徳島県北部の北灘周辺海域の養殖ブリより分離された *P. piscicida* 計120株(表1)を用いた。

### 2 薬剤感受性試験

試験対象薬剤は、スルファモノメトキシシン(以下、SMと略記する)、塩酸オキシテトラサイクリン(同、OTC)、アンピシリン(同、ABPC)、オキシリン酸(同、OA)および、ニフルスチレン酸ナトリウム(同、NFS)とした。

薬剤の感受性程度は、一濃度ディスク法(オキシリン酸のみ三濃度ディスク法)により、供試菌を市販の感受性試験培地上で25℃、24時間から48時間培養後、形成された阻止円の径より測定した。

なお、ここでは感受性程度 $\equiv$ 、感受性程度 $\equiv$ 、感受性程度 $\equiv$ および感受性程度 $\equiv$ をそれぞれ“ $\equiv$ ”、“ $\equiv$ ”、“ $\equiv$ ”、“ $\equiv$ ”と略記した。

表1 薬剤感受性試験を実施した *Pasteurella piscicida* の菌株数

年 度	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	総 計
菌 株 数	9	18	31	26	7	11	8	10	120

## 結 果

### 1 各薬剤に対する *P. piscicida* の感受性

1983年から1990年にかけての各年に分離した *P. piscicida* の、各薬剤に対する感受性程度を表2-1から表2-5に示す。

(1) SM 感受性 (表2-1)

SM 感受性は合計110株について検査したが、“卍”の菌は、2株(1983年および1988年に1株ずつ)と非常に少なかった。それに対し、“-”の菌は66株ともっとも高頻度で分離された。次に、分離株数が多かったのは、“卍”の24株であるが、その過半数は1986年に分離されたものであった。翌1987年以降をみると、“卍”の菌は、1987年に1株、1988年に2株分離されたのみで、1989年以降は1株も分離されなかった。一方、“+”および“-”の菌株は、毎年分離された。

(2) OTC 感受性 (表2-2)

OTC 感受性は合計118株について検査したが、“-”の菌は全く分離されなかった。“卍”の菌は13株と少なかったが、“卍”と“+”の菌がともに50株前後分離された。1985年を除けば、“卍”と“+”の菌は毎年分離された。唯一“卍”の菌が分離されなかった1985年は、検査株数31株中27株が“+”であったが、翌1987年は、“卍”の菌が26株中20株と最も多かった。これら以外の年は、検査株数も少ないため特徴的な傾向はうかがえなかった。

(3) OA 感受性 (表2-3)

OA 感受性は合計119株について検査したが、OTCと同様に“-”の菌は分離されなかった。“卍”の菌は毎年分離され、1985年以前と1988年はすべて“卍”の菌であった。8年間の合計でも“卍”の菌は97株とそのほとんどを占めた。しかし、1986年以降は、1988年を除き“卍”および“+”の菌も出現した。

(4) ABPC 感受性 (表2-4)

ABPC 感受性は合計115株について検査したが、“卍”の菌が67株ともっとも多く、次いで“-”の34株であった。“卍”および“+”の菌は、それぞれ4および10株と少なかった。

1987年はすべて“卍”の菌であったが、検査株数は6株と少なかった。それ以外の年は、“卍”と“-”の菌の両方が分離された。

(5) NFS 感受性 (表2-5)

NFS 感受性は合計108株について検査したが、“卍”の菌は毎年分離され、合計102株とそのほとんどを占めた。とくに、1986年以降はすべて“卍”の菌であった。

表2-1 スルファモノメトキシシ (SM) に対する P. piscicida の感受性程度

(表中の数字は菌株数)

年 度	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	総 計
感受性程度									
卍	1					1			2
卐	1	4		16	1	2			24
+	1	4	4	3	1	1	1	3	18
—	1	10	24	6	5	7	7	6	66
検査せず	5		3	1				1	10

表2-2 塩酸オキシテトラサイクリン (OTC) に対する P. piscicida の感受性程度

(表中の数字は菌株数)

年 度	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	総 計
感受性程度									
卍	6	10		20	1	5	4	3	49
卐		1	4		2	1		5	13
+	2	6	27	6	4	5	4	2	56
—									
検査せず	1	1							2

表2-3 オキシリン酸 (OA) に対する P. piscicida の感受性程度

(表中の数字は菌株数)

年 度	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	総 計
感受性程度									
卍	9	18	30	20	1	11	5	3	97
卐				5	6		3	1	15
+				1				6	7
—									
検査せず			1						1

表 2 - 4 アンピシリン (ABPC) に対する P. piscicida の感受性程度

(表中の数字は菌株数)

年 度	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	総 計
感受性程度									
卅	7	16	6	19	6	6	4	3	67
卍		1	2			1			4
+	1		7					2	10
-	1	1	13	6		4	4	5	34
検査せず			3	1	1				5

表 2 - 5 ニフルスチレン酸ナトリウム (NFS) に対する P. piscicida の感受性程度

(表中の数字は菌株数)

年 度	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	総 計
感受性程度									
卅	5	13	29	25	2	11	7	10	102
卍		3							3
+		1							1
-		1	1						2
検査せず	4		1	1	5		1		12

## 2 各年内における薬剤感受性の変化

表 3 に、北灘周辺海域で最初に P. piscicida が分離された月日と、OTC、OA および ABPC に対する感受性の低下した菌株が分離された月日を年別に示した。なお、ここでは便宜上、4 段階ある感受性程度のうち、“卅”の菌を“高感受性菌”、“卍”、“+”および“-”の菌を“感受性低下菌”としてまとめて扱った。

毎年最初に P. piscicida が分離されたのは、6 月末から 7 月中旬にかけてであった。1985 年は、最初に分離された菌株が OTC および ABPC に対する感受性低下菌であり、1987 年も同様に OTC および OA に対する感受性低下菌であった。しかし、これら以外の年は、最初に分離された菌株は OTC、OA および ABPC に対して高感受性であった。1983、1986、1989 および 1990 年は、複数の薬剤に対して同時に感受性低下菌となった。

表3 北灘周辺海域で、各年に *P. piscicida* が最初に分離された月日と、薬剤感受性が低下した月日

年 度	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990
最初に分離された月日	7.14	7.16	7.15	7.1	6.29	7.7	6.27	6.30
各薬剤に対する感受性低下菌の出現月日								
OTC 感受性低下菌	8.1	7.24	7.15	8.17	6.29	7.21	8.9	7.31
OA 感受性低下菌				8.17	6.29		8.17	7.18
ABPC 感受性低下菌	8.1	8.8	7.15	8.17		7.27	8.9	7.18

### 3 OTC,OA および ABPC に対する薬剤感受性の相互関係

前節で述べたように、*P. piscicida* の OTC,OA および ABPC に対する薬剤感受性はしばしば同時に低下した。そこで、これらの薬剤に対する感受性の相互関係にみられる特徴についてさらに詳しく調べてみた。なおここでは、OTC,OA および ABPC のすべてに対して感受性試験を実施できた計 112 株を対象とした。

#### (1) 2 薬剤間の感受性程度の関係

まず、3 薬剤のうちの 2 薬剤間の感受性程度の関係（8 年間の合計値）を表 4 に示した。

##### 《OTC と ABPC》

OTC と ABPC に対する感受性程度の間をみると、OTC “卍” の菌のほとんどは ABPC に対して “卍” であったが、ABPC “卍” の菌の中には OTC 感受性低下菌（“卍” および “+”）がかなり含まれていた（表 4-1）。

よくみられた組合せは、OTC “卍”・ABPC “卍”、同 “+”・“-”、同 “+”・“卍” であった。

##### 《OTC と OA》

OTC と OA に対する感受性程度の間をみると、OTC “卍” の菌はすべて OA “卍” であったが、OA “卍” の菌の中には OTC 感受性低下菌（“卍” および “+”）が含まれていた（表 4-2）。

よくみられた組合せは、OTC “卍”・OA “卍”、同 “+”・“卍”、同 “+”・“卍” であった。

##### 《ABPC と OA》

ABPC と OA に対する感受性程度の間をみると、両者ともに “卍” がもっとも多かった。次いで、ABPC “-”、OA “卍” がよくみられた。OA “+” の菌の ABPC 感受性は、“+” あるいは “-”、と低かった（表 4-3）。

#### (2) 感受性低下薬剤の組合せ

表 5 に、感受性が低下した薬剤の組合せ別に検査菌株数を示した。1985・1987 年を除いては 3 薬剤全てに高感受性である菌が分離された。1 薬剤のみ感受性が低下した菌は、OTC 感受性低下菌がもっとも多く（計 14 株）、ABPC のみ、あるいは OA のみ低下した菌はそれぞれ 1 株、0 株と、ほとんど分離され

なかった。2 薬剤低下菌は,OTC・ABPC の組合せがもっとも多く(計 30 株),OA・ABPC の組合せ(すなわち,OTC のみ“卍”)の菌株は全く分離されなかった。OA・OTC の組合せは,1987 年のみ出現した。3 薬剤全て感受性が低下した菌も 1986,1989 および 1990 年に(計 16 株)分離された。

表 4 - 1 OTC と ABPC に対する P. piscicida の感受性程度の関係 (1983 ~ 1990 年の合計)  
(表中の数字は菌株数)

A B P C の 感受性程度	O T C の感受性程度			
	卍	卄	+	—
卍	46	4	15	
卄	1		3	
+		4	6	
—		4	29	

表 4 - 2 OTC と OA に対する P. piscicida の感受性程度の関係 (1983 ~ 1990 年の合計)  
(表中の数字は菌株数)

O A の 感受性程度	O T C の感受性程度			
	卍	卄	+	—
卍	47	5	39	
卄		2	12	
+		5	2	
—				

表 4 - 3 ABPC と OA に対する P. piscicida の感受性程度の関係 (1983 ~ 1990 年の合計)  
(表中の数字は菌株数)

O A の 感受性程度	A B P C の感受性程度			
	卍	卄	+	—
卍	60	4	8	19
卄	5			9
+			2	5
—				

表5 OTC,OA および ABPC に対する *P. piscicida* の感受性低下

年 度	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	総 計
全て高感受性	6	9		19		5	4	3	46
感受性低下薬剤の組合せ									
O T C		6	6		1	1			14
A B P C		1							1
O A									0
O T C ・ A B P C	2	1	21			5	1		30
O A ・ A B P C									0
O A ・ O T C					5				5
O T C ・ O A ・ A B P C				6			3	7	16

## 考 察

一般に耐性菌とは、常用薬剤投与による体液内薬剤濃度ではその増殖を阻止されない病原菌を示す。今回行ったディスク法は、間接的に最小発育阻止濃度を測定する方法であるため、前述の定義による“耐性菌”を正確には区別できなかった。その代わりに、ここでは“卍”の菌(“高感受性菌”)以外を“感受性低下菌”として扱った。プリ類結節症に対して現場で実際に投薬を行っている ABPC や OA に関しては、投薬の効果が高感受性菌に対しては有るが、感受性低下菌に対してはほとんど無いことが経験的に知られている。しかしながら、この分け方の妥当性は今後の検討を要するであろう。

また、各年の調査期間や調査間隔などは統一されておらず、また、検査菌株数が少ない年もあるため、*P. piscicida* の薬剤感受性について正確に把握し得たかは若干の疑問が残る。たとえば、ABPC 感受性低下菌は 1987 年のみ出現しなかったが、この年は、赤潮発生により類結節症発生期後半の菌株が入手できなかったため、他の年と同じには扱えないと思われる。しかしながら、感受性低下菌が分離された年については、少なくともその存在が確認されたことになる。1987 年以外は毎年 ABPC 感受性低下菌の出現が確認されており、また、SM および OTC に対しても毎年感受性低下菌が出現した。OA に対しても、1986 年以降ほぼ毎年感受性低下菌が出現した。以上のことより、SM, OTC, OA および ABPC に対する感受性低下菌は、現在北灘周辺海域に定着しているものと思われる。

OTC, OA および ABPC について感受性低下薬剤の組合せをみると、OA に対してのみ感受性が低下することはなかった。また、OA・ABPC という組合せの菌株もみられなかったことより、OA に対する感受性の低下は、つねに OTC に対する感受性の低下と同時にみられることがわかる。ABPC についても、1984 年の 1 株を除き同様のことがいえる。また、1986 年以降出現した感受性低下菌のほとんどは複数の薬剤に対して感受性を低下させていた。したがって、*P. piscicida* の多剤耐性化が進行している可能性が高いと思われる。特に、1989 年以降 2 年連続で 3 薬剤 (OTC, OA および ABPC) 感受性低下菌が出現しており今後の動向に注目しなければならないだろう。R プラスミドによる耐性化が起こる OTC および

ABPC については、同時に感受性が低下することも多かった。しかしながら、染色体変異によって耐性化するといわれる OA に対する感受性低下が単独では起こらず、必ず OTC や ABPC の感受性低下が同時にみられることは興味深い。R プラスミドの検出を含めさらに詳しく調べることが今後の課題として残されている。一方、感受性低下菌がほとんど出現していない NFS や 1990 年に認可されたフロルフェニコールに関しても、感受性低下菌の出現やその多剤耐性化に注意してゆく必要がある。