

エリスロマイシンと *Lactococcus garvieae* 感染症ワクチンの 投与がブリの *L. garvieae* 感染症の発生動向と原因菌の 薬剤感受性に及ぼす影響

小川智恵子, 伊東 崇, 山本 淳*

Influence of Erythromycin and Vaccine for *Lactococcus garvieae* Infection in Cultured Yellowtail *Seriola quinqueradiata* on the Drug Resistance of *L. garvieae* and Occurrence of This Disease

Chieko Ogawa, Takashi Itoh, and Atsushi Yamamoto*

Key words : *Lactococcus garvieae*, vaccine, yellowtail, drug resistance.

Abstract

Influence of treatment with erythromycin (EM) and vaccine for *Lactococcus garvieae* infection in cultured yellowtail *Seriola quinqueradiata* on the drug resistance of *L. garvieae* and occurrence of this disease were studied. *L. garvieae* infection in yellowtail has been one of the most serious recent disease problems in Azumacho Fisheries Cooperative Association which has achieved the largest production of cultured yellowtail in Japan. Control of the infection with erythromycin increased the number of resistant strains of *L. garvieae* and following the drug withdrawal period in winter allowed for the recovery of sensitivity to EM. Since occurrence of the infection was not reduced during an oral vaccination period from 1997 to 2000, the oral vaccine was not widely used because of its poor performance. *L. garvieae* infection has been remarkably reduced by the injection of a new vaccine that has been available commercially since 2001. Only a few strains of *L. garvieae* were still isolated from the diseased fish which had not been vaccinated and those isolates showed resistance against EM because the drug had been administered to their host fish. We conclude that *L. garvieae* infection in cultured yellowtail has been effectively controlled by the injection vaccine in Azumacho Fisheries Cooperative Association.

ブリ *Seriola quinqueradiata* の *Lactococcus garvieae* 感染症 (以下レンサ球菌症) は, 1974年に高知県のブリ養殖場でその発生が確認されて以来, 西日本を中心とする養殖地域に拡大した主要な細菌性疾病である。病魚の眼球は突出し, しばしば白濁あるいは出血がみられ, 鰓蓋内壁の潰瘍・出血や尾柄部の出血, さらには心外膜炎などの特徴的な症状を示す¹⁾。原因菌はグラム陽性, α 溶血性の *Lactococcus garvieae* で数種類の薬剤, 特にマクロライド系の抗生物質に対して感受性を示すため^{2,3)}, 治療

にはエリスロマイシン (以下EM) が多用されてきたが, 1986年以降マクロライド系の抗生物質に耐性を示す菌株が出現し治療が困難になった⁴⁾。本疾病はこれまでブリ養殖において最大の漁業被害をもたらしてきたため, 養殖業界からは薬剤治療に代わる有効な予防方法が切望されてきた。2001年に使用が解禁されたレンサ球菌症の注射ワクチンはその劇的な予防効果から広く普及し, このため本症の発生病数は激減した^{5,6)}。

著者らは過去の資料を基に1990年から2003年にかけて

鹿児島県東町漁業協同組合のブリ養殖漁場におけるレンサ球菌症の発生動向を調べ、またEM投与量が本症原因菌のEMに対する感受性に及ぼす影響を考察し、さらに最近解禁された注射ワクチンの接種が本症の発生に及ぼす影響を調査した。

材料および方法

発生動向

東町漁協営漁指導課に保管されていた1990年から2003年までの魚病検査記録を元に*L. garvieae*の分離菌株数とEMに対する感受性の有無を調べた。東町漁協ではEMを3 µg/ml含むトリプトソーヤ寒天培地(ニッスイ)とEMを含まない同培地を用い、同じ分離菌株を両培地に接種し30℃、24時間培養後、両培地上へのコロニー出現の有無で感受性菌と耐性菌を判別した。

EM投与量

同病魚検査記録から2001年6月から2002年9月までに投与されたEM量を調査した。

ワクチン処理されたブリ稚魚数

1997年から2002年まで鹿児島県水産試験場(現水産技術開発センター)が発行した水産用ワクチン指導書(未発表資料)に基づいてレンサ球菌症ワクチン処理されたブリ稚魚数を算出した。

供試菌の採取

2001年6月から2003年1月まで毎月(2002年2月、8月および10月は調査せず)、東町漁協のブリ養殖漁場(11箇所)からブリ病魚を採取し、剖検後脳の一部をトリプトソーヤ寒天培地(ニッスイ)へ接種した。30℃、24時間後出現したコロニーから1尾1株当て分離し供試株とした。

最小発育阻止濃度(MIC)の測定

動物用抗菌剤研究会標準法⁷⁾に従ってMICを測定した。すなわちEMの最終濃度が0.1~102.4 µg/mlに調製したトリプトソーヤ寒天培地を検定培地として供試菌液を接種した。25℃、48時間後、出現したコロニーの有無でMICを測定した。なお、ここではMICが3 µg/mlを境にして感受性菌と耐性菌を判別した。

結果および考察

発生動向

東町漁協において1990年1月から2003年1月の間に分離された本症原因菌の菌株数の動向(東町漁協、未発表データ)と鹿児島県下のレンサ球菌症ワクチン処理されたブリ稚魚数(鹿児島県水産試験場;未発表データ)をFig. 1に示した。東町漁協では毎月の調査において病魚1尾あたり*L. garvieae* 1株を分離してきたので、分離株数が採取した病魚数に相当し発生動向の目安となる。1990年から2000年までは多少の変動はあるものの、年間2500~3000株程度が分離されていた。レンサ球菌症の経口ワクチンが解禁された1997年以降も分離株数の減少(=病魚数の減少)という傾向は認められなかった。これは経口ワクチンが飼育魚に対して比較的容易に投与できるが、著しい免疫効果が得られないことや投与量が正確に把握できないことなどの理由によってその使用量が増加しなかったことと関連していると考えられた。これに対して2001年10月に解禁された注射ワクチンは大量の魚を短時間に処理できない反面、ワクチン液を確実に魚体へ接種でき、また著しい免疫効果が発揮されたため急速に普及した。これが2001年以降のワクチン使用量の急増の原因であり、その結果2002年の*L. garvieae*分離菌株数は915株とそれまでの約1/3に激減したと考えられる。おそらく2003年のワクチン使用量は引き続き増加し、分離株数は減少したが、東町漁協において必ずしも飼育されているすべてのブリが注射ワクチンを接種されるわけではない。このため、今後も年間数10株程度の原因菌は分離されると考えられる。

EM投与量と耐性菌の出現

2001年6月から2002年9月までのEM投与量と

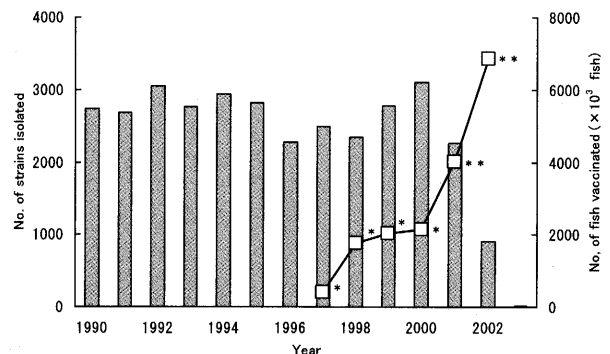


Fig. 1 Number of *L. garvieae* isolated from yellowtail reared in Azumacho Fisheries Cooperative Association and number of vaccinated yellowtail in Kagoshima Prefecture. *; oral vaccine. **; oral and injection vaccine

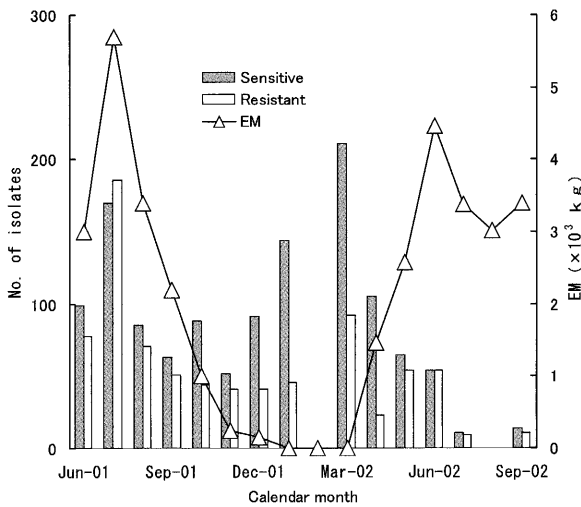


Fig. 2 Amount of EM administered to yellowtail and resistance of *L. garvieae* against EM in Azumacho Fisheries Cooperative Association from January 2001 to September 2002. Bacterial examination was not done in February, August and October, 2002.

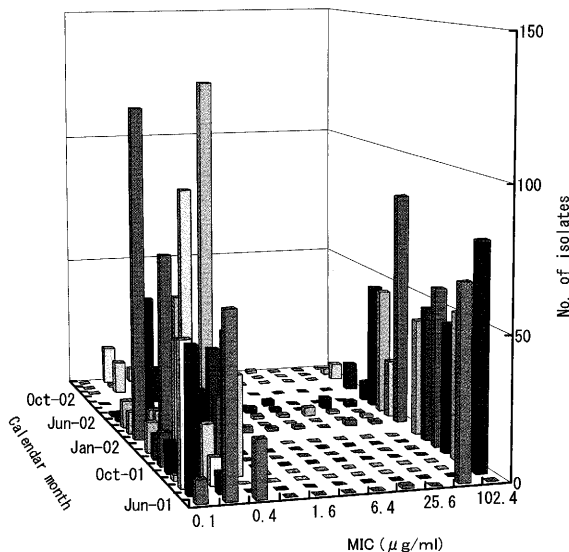


Fig. 3 MIC of *L. garvieae* isolated from yellowtail in Azumacho Fisheries Cooperative Association from January, 2001 to January, 2003. Bacterial examination was not done in February, August and October, 2002.

*L. garvieae*の感受性の結果（東町漁協、未発表データ）をFig. 2に示した。本疾病は周年発生するが、特に夏期の高水温期に多発することが知られており、EMの投与量はこの傾向を裏付けるものであると考えられる。また、EM投与期間中は耐性菌の割合が高いが、EM投与を中止すると感受性菌の分離数が増加した。このため東町漁協では1月から3月まで全ての漁場で一斉にEMの投薬を中止しているが、2001年11月から2002年3月にかけての感受性菌の増加は休薬期間を設定した効果であると考えられる。Fig. 3に示した2001年6月から2003年1月の分

離菌のMICの分布は前述の変化をさらに詳しく示している。すなわち、MICが0.4 $\mu\text{g/ml}$ 以下の菌株数は2001年7月から10月にかけて徐々に減少し、分布のピークは0.4 $\mu\text{g/ml}$ 以下と51.2 $\mu\text{g/ml}$ 以上の2峰性の分布を示したが、2001年12月から2002年3月にはMICが0.4 $\mu\text{g/ml}$ 以下を示す菌株が増加した。また、3月から5月にかけては0.8～25.6 $\mu\text{g/ml}$ のMICを示す菌株も僅かではあるが出現した。この事実は薬剤を添加しない培地で耐性株を60～120日間継代培養すると感受性が回復するという実験結果^{8,9)}を支持し、休薬期間の設定による感受性の回復が伺えた。さらに2003年3月に行った最後の調査でも20株の*L. garvieae*が分離され、そのうち1株のMICが12.8 $\mu\text{g/ml}$ であった。これはワクチン接種を受けていない一部のブリに発生したレンサ球菌症の治療のためにEMが投与されたためであると考えられる。

最近の「食の安全安心」に対する消費者の関心の高まりから、養殖魚の疾病対策は従来の投薬による治療からワクチンによる予防へと速やかに移行し、レンサ球菌症ワクチンの使用量は一層増加すると考えられる。2002年11月から2003年3月の分離株数はいずれも20株以下でありこれは前年の1/10に満たない。東町漁協において養殖ブリの α 溶血型レンサ球菌症はワクチンによって効果的に防除されたと考えられる。

謝 辞

東町漁協営漁指導課石田幸生氏と松尾齊氏には貴重な魚病検査記録を参照させていただいた。また、鹿児島県水産技術開発センター平江多積研究員にはワクチン使用量に関する資料を提供していただいた。記して感謝します。

文 献

- 1) 楠田理一, 川合研児, 豊島利雄, 小松 功 (1976). 養殖ハマチから分離された*Streptococcus*属の新魚病細菌について. 日水誌, **42**: 1345-1352.
- 2) 片江宏巳 (1982). エリスロマイシンのすべてーブリレンサ球菌症への応用に関する研究一. 魚病研究, **22**: 77-82.
- 3) Aoki, T., S. Takeshita and T. Kitao (1983). Antibacterial action of chemotherapeutic agents against non-hemolytic *Streptococcus* sp. isolated from cultured marine fish, yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **49**: 1673-1677.
- 4) Aoki, T., K. Takami and T. Kitao (1983). Drug resistance in a non-hemolytic *Streptococcus* sp. isolated from cultured marine fish, yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Dis. Aquat.*

Org., **8**: 171-177.

- 5) 竹丸 巖, 平江多積 (2003). 魚病総合対策事業-I. 平成13年度鹿児島県水産試験場事業報告書, p 45.
- 6) 竹丸 巖, 平江多積 (2004). 魚病総合対策事業-I. 平成14年度鹿児島県水産試験場事業報告書, p 42.
- 7) 動物用抗菌剤研究会MIC測定法改訂委員会 (1997). 動物由来の細菌に対する薬剤の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法. 動物用抗菌剤研究会報, **18**: 40-41.
- 8) 小川智恵子 (2002). 鹿児島県下の養殖ブリから分離された*Lactococcus garvieae*の薬剤感受性について. 平成13年度鹿児島大学水産学部卒業論文, pp. 1-21.
- 9) 伊東 崇 (2004). レンサ球菌症ワクチンが*Lactococcus garvieae*の薬剤感受性に及ぼす影響. 平成15年度鹿児島大学水産学部卒業論文, pp. 1-22.