

平成29年度養殖場における病魚由来細菌の薬剤耐性モニタリング結果

1. はじめに

抗菌剤は、動物の健康を守り、畜水産物の安定供給を確保する上で重要な資材であるが、その使用により選択される薬剤耐性菌による人の医療や獣医療への影響のリスクも常に存在している。

このような中、平成28年に、国際的に脅威となる感染症関係閣僚会議において、我が国の「薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン」が策定され、水産分野における薬剤耐性菌対策として、養殖水産動物の薬剤耐性に関するモニタリングの充実・強化等が盛り込まれた。

このため、農林水産省では、平成29年度から、生産資材安全確保対策委託事業（水産分野における薬剤耐性モニタリング）により、都道府県の水産試験場等において分離された養殖病魚由来細菌について薬剤耐性菌のモニタリングを開始し、その結果を取りまとめたので報告する。

2. 材料及び方法

（1）対象魚種及び菌種

国内で生産されている養殖魚を対象とし、その細菌感染症のうち、国内での発生が多く、抗菌剤により治療が行われる疾病の原因菌であり、公衆衛生上重要な2菌種を対象とした（表1）。

（2）対象薬剤

水産動物に用いる動物用医薬品として国内で承認がある抗菌剤について、系統ごとに代表的な薬剤を8種類選択した（表2）。

（3）検体の採取及び菌分離

平成29年4月～12月の間に、8県10地域の水産試験場等において病魚から分離・保存された菌株を収集した。ラクトコッカス・ガルビエは、PCR法又は抗血清凝集法を用いて菌種及び血清型（I型又はII型）を同定した。ビブリオ属菌はPCRを用いて菌種を同定した。

（4）薬剤感受性試験

薬剤感受性の測定は、臨床検査標準協会（Clinical and Laboratory Standards Institute：CLSI）が提唱する微量液体希釈法¹（FOMのみ寒天平板希釈法）に準拠した方法で実施し、最小発育阻止濃度（MIC）²を測定した。

耐性限界値（ブレイクポイント：BP）³は、ビブリオ属菌のABPCではCLSIで設定されている値を採用した。その他の魚病細菌のBPについては、平成15～28年度に農林水産省が実施した水産防疫対策事業「ブリ類由来連鎖球菌症及び類結節症原因菌並びに水産養殖環境由来腸炎ビブリオの薬剤感受性」⁴（以下「平成28年度以前の調査」という。）において設定された値を採用した。また、平成28年度以前の調査においてBPが設定されていないラクトコッカス・ガルビエにおけるABPCのBP及びビブリオ属菌のBP（ABPCを除く）については、本試験におけるMIC分布が二峰性を示した場合にはその中間値を採用した。

1 微量液体希釈法：薬剤感受性試験の手法の一つ。薬剤の濃度段階をつけた液体培地を入れたマイクロプレートに菌を接種し、菌の発育を確認する。

2 最小発育阻止濃度（MIC）：細菌の発育を阻止する最小の薬剤濃度。

3 耐性限界値（ブレイクポイント：BP）：MICがブレイクポイント以上の菌を薬剤耐性菌という。

4 動物医薬品検査所HPにおいて掲載：http://www.maff.go.jp/nval/yakuzai/yakuzai_p8.html

3. 結果

(1) 分離菌株の由来及び血清型

ラクトコッカス・ガルビエは105株が収集され、そのうち、I型は40株、II型は65株であった。ビブリオ属菌は39株が収集された。分離菌株の種類と魚種ごとの株数を表3に示した。

(2) ラクトコッカス・ガルビエの薬剤感受性試験結果

ラクトコッカス・ガルビエが耐性を示した薬剤は、ABPC (1.9%)、EM (1.9%) 及びLCM (61.0%) であった。ABPC又はEMに耐性を示した株は、いずれもLCMに対しても耐性を示した。OTCに対して耐性を示した株はみられなかった。FOM、FF、OA及びSMMXについては、MIC分布が二峰性を示さなかったため、BP値を設定できなかった(表4-1)。

血清型別では、I型が耐性を示した薬剤は、ABPC (2.5%)、EM (5.0%) 及びLCM (60.0%) であり、II型が耐性を示した薬剤は、ABPC (1.5%)及びLCM (61.5%) であった(表4-2及び4-3)。

(3) ビブリオ属菌の薬剤感受性試験結果

耐性がみられた薬剤は、ABPC (92.3%) 及びOTC (12.8%) であった。OTCに対して耐性を示した株は、いずれもABPCに対しても耐性を示した。EM、LCM、FOM、FF、OA及びSMMXについては、MIC分布が二峰性を示さなかったため、BP値を設定できなかった(表5)。

4. 考察

「薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン」に盛り込まれている養殖水産動物の薬剤耐性モニタリングの充実・強化のため、対象魚種を全ての魚種に拡大し、病魚由来のラクトコッカス・ガルビエ及びビブリオ属菌について薬剤耐性状況を調査した。

レンサ球菌症の治療薬として国内で承認されている製剤がある薬剤は、EM、LCM、OTC及びFFであるが、本調査において、ラクトコッカス・ガルビエは、LCMに対してやや高い耐性率を示す一方で、EMには低い耐性率を示し、OTCに対する耐性株はみられなかった。本調査と平成28年度以前の調査では対象魚種や供試株数等が異なることから厳密な比較はできないが、平成28年度以前の調査において、ラクトコッカス・ガルビエはLCMに対して60%を超える耐性率を示し、EM及びOTCに対する耐性率は低く抑えられており、本調査と同様の傾向であった。血清型別に比較すると、I型とII型では、耐性の傾向に大きな差異はなかったが、II型においてEMに耐性を示す株はみられなかった。また、ビブリオ病の治療薬として国内で承認されている製剤がある薬剤は、OTC、FF、OA及びSMMXであるが、本調査におけるビブリオ属菌は、OTCに対してのみ耐性を示した。

養殖業の重要な資材である水産用抗菌剤を今後も有効な治療薬として必要な場合に使用できるようにしていくためには、養殖業者等は、都道府県の水産試験場等による疾病の診断及び病原菌の薬剤感受性に基づき適切な抗菌剤を選択し、本年1月から運用を開始した「水産用医薬品の使用に関する記録及び水産用抗菌剤の取扱いについて」(平成29年4月3日消費・安全局長通知)⁵に基づき、専門家から適切な使用の指導を受け、使用指導書に沿って適正に使用することが重要である。なお、農林水産省は、引き続き、モニタリングを実施することにより養殖魚の生産段階における薬剤耐性の動向を把握す

⁵ 農林水産省HPにおいて掲載： http://www.maff.go.jp/j/syouan/suisan/suisan_yobol/

るとともに、その結果を、動物医薬品検査所のホームページ⁶において公表する予定である。

農林水産省 消費・安全局畜水産安全管理課
農林水産省動物医薬品検査所
(令和元年12月10日)

⁶ 動物医薬品検査所 薬剤耐性菌モニタリングサイト：http://www.maff.go.jp/nval/yakuzai/yakuzai_p3.html

表1 対象菌種

疾病	原因菌
α 溶血性レンサ球菌症	ラクトコッカス・ガルビエ (<i>Lactococcus garvieae</i>)
ビブリオ病	ビブリオ属菌 (<i>Vibrio spp.</i>)

表2 対象薬剤

系統	薬剤	略称	効能・効果を有する疾病	
			α 溶血性レンサ球菌症	ビブリオ病
ペニシリン系	アンピシリン ⁷	ABPC		
マクロライド系	エリスロマイシン	EM	○	
リンコマイシン系	リンコマイシン	LCM	○	
テトラサイクリン系	オキシテトラサイクリン	OTC	○	○
ホスホマイシン系	ホスホマイシン ⁸	FOM		
アンフェニコール系	フロルフエニコール	FF	○	○
キノロン系	オキシリン酸	OA		○
サルファ剤	スルファモノメトキシシ	SMMX		○

※ 表中の○は各疾病の治療薬として国内で承認されている製剤がある薬剤及び系統を示す。

表3 分離菌株の種類と魚種ごとの株数

分離魚種		ラクトコッカス・ガルビエ			ビブリオ属菌
		計	I型	II型	
すずき目	ブリ	50	11	39	8
	カンパチ	21	3	18	10
	ヒラマサ	1	1	0	0
	シマアジ	14	6	8	0
	マアジ	7	7	0	0
	マサバ	2	2	0	0
	スマ	0	0	0	2
	クロマグロ	3	3	0	5
	スズキ	0	0	0	1
	イサキ	0	0	0	1
	マハタ	0	0	0	3
かれい目	ヒラメ	1	1	0	3
ふぐ目	トラフグ	0	0	0	2
	カワハギ	5	5	0	4
	ウマヅラハギ	1	1	0	0
合計		105	40	65	39

7 ABPCでは水産分野において類結節症に効能効果を有する製剤が承認されている。

8 FOMでは水産分野において類結節症及びエドワジエラ症に効能効果を有する製剤が承認されている。

表 4-1 ラクトコッカス・ガルビエの薬剤感受性試験結果 (n = 105)

薬剤	MIC($\mu\text{g/mL}$)													耐性株数	耐性率 (%)	BP ($\mu\text{g/mL}$)	
	≤ 0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512				>512
ABPC	2		71	30							1	1			2	1.9	8
EM*	84	11	7			1						2			2	1.9	8
LCM*	2	16	18	5		3			38	22	1				64	61.0	4
OTC*	26	34	26	17	1	1									0	0.0	8
FOM													9	96			
FF*				15	74	16											
OA								11	10	38	12	19	15				
SMMX														105			

* α 溶血性レンサ球菌症の治療薬として国内で承認されている製剤がある薬剤及び系統

表 4-2 ラクトコッカス・ガルビエ I 型の薬剤耐性 (n = 40)

薬剤	MIC($\mu\text{g/mL}$)													耐性株数	耐性率 (%)	BP ($\mu\text{g/mL}$)	
	≤ 0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512				>512
ABPC			17	22								1			1	2.5	8
EM*	19	11	7			1						2			2	5.0	8
LCM*		3	11	2		3			11	10					24	60.0	4
OTC*	3	17	10	10											0	0.0	8
FOM													9	31			
FF*				7	32	1											
OA								9	3	20	3	1	4				
SMMX														40			

* α 溶血性レンサ球菌症の治療薬として国内で承認されている製剤がある薬剤及び系統

表 4-3 ラクトコッカス・ガルビエ II 型の薬剤感受性試験結果 (n = 65)

薬剤	MIC($\mu\text{g/mL}$)													耐性株数	耐性率 (%)	BP ($\mu\text{g/mL}$)	
	≤ 0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512				>512
ABPC	2		54	8							1				1	1.5	8
EM*	65														0	0	8
LCM*	2	13	7	3					27	12	1				40	61.5	4
OTC*	23	17	16	7	1	1									0	0.0	8
FOM														65			
FF*				8	42	15											
OA								2	7	18	9	18	11				
SMMX														65			

* α 溶血性レンサ球菌症の治療薬として国内で承認されている製剤がある薬剤及び系統

表 5 ビブリオ属菌の MIC 分布及び薬剤感受性試験結果 (n = 39)

薬剤	MIC($\mu\text{g/mL}$)													耐性株数	耐性率 (%)	BP ($\mu\text{g/mL}$)	
	≤ 0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512				>512
ABPC	1	1	1						9	1			3	23	36	92.3	32**
EM				1	1	2	20	14		1							
LCM									1	9	6	18	5				
OTC*		16	18						1	1	1	1	1		5	12.8	4
FOM							7	26	5		1						
FF*			3	29	7												
OA*	13	7	15	4													
SMMX*							6	1		7	2	6		17			

* ビブリオ病の治療薬として国内で承認されている製剤がある薬剤及び系統

** CLSIで規定されたブレイクポイント