

ノカルジア症の薬剤感受性研究について

水産食品部 研究専門員 柳 宗悦

目的

サルファ剤(スルファモノメキシンナトリウム(SMM-Na):商品名ダイトソーダ)の薬効を正確に現場評価し、ノカルジア症の治療対策の確立と既承認抗菌性薬剤の有効性を検証し、新薬開発に向けた基礎的知見を得る。

現状と問題点

プリ属養殖魚で最大の被害のある感染症
(鹿児島県:養殖魚類被害の3割、年間的5億円以上の被害額)

効果のあるワクチンがない

スルファモノメキシン(すずき目薬)
スルフィンゾールナトリウム(ぶりのみ)

現在は、サルファ剤の治療薬があるにすぎない

現場では遺伝子や性状の異なるタイプと思われるような菌が発生
(承認薬に対するMIC値も含めた早急な特性把握が必要不可欠)

◆プリ類の魚病被害額(全体)に占めるノカルジア症被害額の推移

被害割合:24.7%
(6年間の平均)

◆養殖カンパチのノカルジア症の月別診断件数の推移(2005年度~)

方法

- ①サルファ剤の薬効を評価する標準法の開発: Resazurinを添加したマイクロイリュージョン法(REMA法)によるMIC測定法の開発
- ②疫学調査:ノカルジア症野外分離株のα-グルコシダーゼ活性とサルファ剤及び既承認抗菌性薬剤のMIC値の関連性を調査
- ③最適治療方法の調査: SMM-Na投薬方法の整理とエリスロマイシン(EM), 塩酸オキシテトラサイクリン(OTC)の治療効果の探索

結果

【MIC測定法の開発】

REMA法

10⁵ cfu/well
10⁴ cfu/well
10³ cfu/well
10² cfu/well

菌が増殖 ← 菌の増殖なし

従来の測定法

MICとは?

抗生剤を倍々希釈していき、そこに細菌を入れて培養し、どの濃度で細菌の発育が抑制されるかを判定した値
最小発育阻止濃度

【α-グルコシダーゼ活性の判定】

chromID™ MRSA培地による判定

ノカルジア症に2つのタイプが存在
コロニーの色で判定
緑色 → 陽性株
乳白色 → 陰性株

α-グルコシダーゼ活性とMIC値の関連性

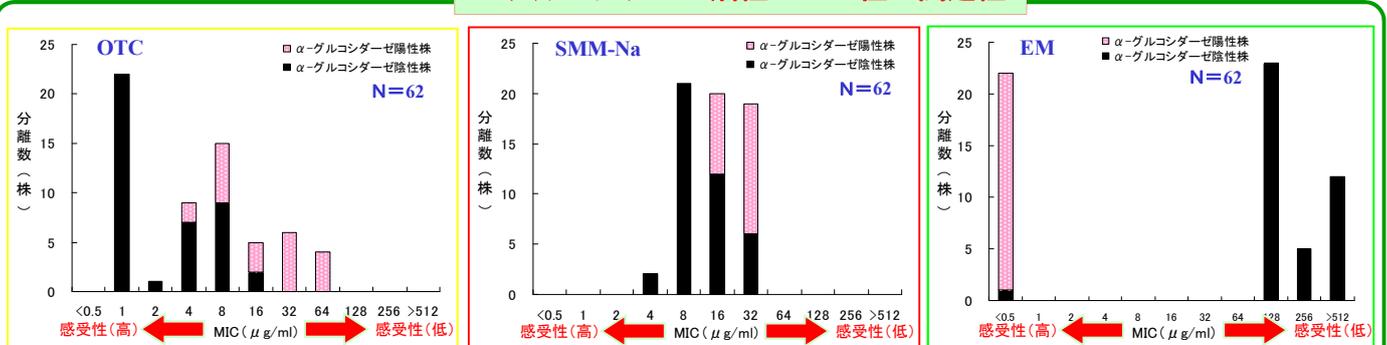


図2 REMA法による*Nocardia seriolae*のMIC分布

α-グルコシダーゼ陽性株の分析



●α-グルコシダーゼ陽性株: ①カンパチに多い(5割強) ②ほとんど当歳魚で確認(9割) ③春先~初夏で多く確認

エリスロマイシン (EM) 治療試験

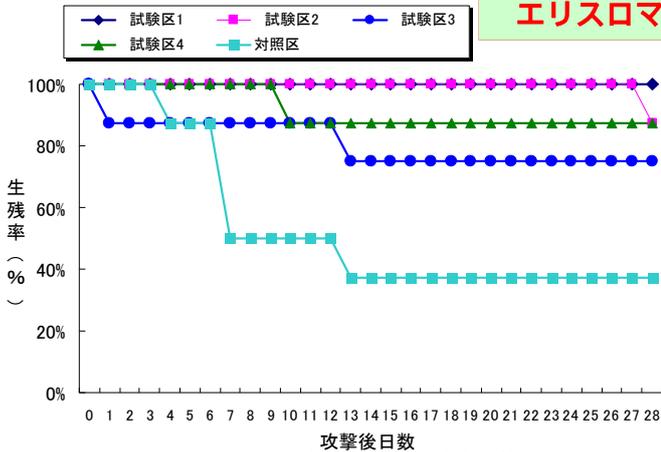


図6 EM治療効果試験の生残率の推移

投薬→休薬→投薬→休薬のパターンが最も治療効果に優れていた。

EMはSMM-Naとほぼ同等の治療効果があることが示唆された。

試験設定の概要

	1週目	2週目	3週目	4週目	備考
試験区1	投薬	休薬	投薬	休薬	水産用ダイムン散 (スルファモトキシ)
試験区2	投薬	休薬	休薬	投薬	
試験区3	投薬	休薬	休薬	休薬	
試験区4	投薬	休薬	投薬	休薬	
対照区	無投薬	無投薬	無投薬	無投薬	水産用エリスロマイシン

(注) 用量は「水産用医薬品の使用について」の第24報に基づき、ダイムン、エリスロマイシンとも 50mg/kg・日 を基準に、1週間当たり5日間連続投与とした。

塩酸オキシテトラサイクリンOTC治療試験

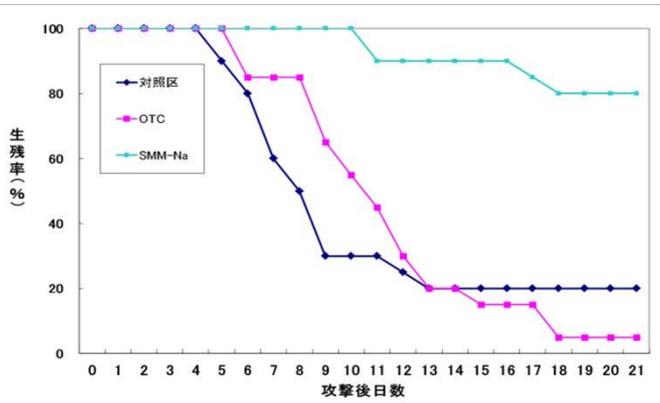


図7 EM治療効果試験の生残率の推移

投薬→休薬→投薬→休薬のパターンをベースに投薬を実施。

OTCは感染初期(1週間程)は有効性を示すが治療効果は低いと推察された。

試験設定の概要

	1週目	2週目	3週目	4週目	備考
対照区	無投薬	無投薬	無投薬	無投薬	
OTC区	投薬	休薬	投薬	休薬	水産用OTC散
SMM-Na区	投薬	休薬	投薬	休薬	水産用ダイムン散

(注) ①用量「水産用医薬品の使用について」の第25報に基づき、オキシテトラサイクリン(OTC)、ダイムン(SMM-Na)とも50mg/kg/日を基準に、1週間当たり5日間連続投与とした。



図8 *Nocardia seriolae*による攻撃試験



図9 治療効果試験中・終了時の供試魚の状況

まとめ

● レサズリンResazurin(色素)を添加することで、視覚により薬剤感受性を容易に判定することが可能となった。

ピンク色：菌が増殖(薬が効いていない), 紫色：菌の増殖が認められない(薬が効いている)

● α-グルコシダーゼ活性はSMM-Na, OTC, EMの薬剤感受性との関連性が高く、当該活性のモニタリングは薬剤耐性菌発生の有益な指標になり得るものと推察された。

● SMM-Na及びOTC → 陽性株:低感受性, 陰性株:感受性 ● EM → 陽性株:感受性, 陰性株:低感受性

● EM はSMM-Naとほぼ同等の治療効果が、OTCは治療効果が低いことが示唆されたが、SMM-Na, EMとも生残魚で保菌個体が確認されており、完全には除菌できておらず、治療効果の高い新薬及びワクチン開発が望まれる。