

魚病対策試験

杉山昭博

1. 目的および内容

種苗生産時や養殖業においてはしばしば各種疾病が発生して問題となっており、発生原因の究明と有効な対策法の検討が必要である。

本県の環境条件や生息する水産動植物の種類は特異的であり、ほかからの技術導入だけでなく独自の診断や治療法などを開発する必要がある。そこで、継続した魚病発生調査を行って発生時期の周期性を把握し、また病魚等を細菌検査して原因の解明を試みた。そして分離した細菌の簡易同定法として標準抗血清とのスライド凝集反応を行い、さらに有効な対策法を検討するため薬剤感受性についても調べた。

なお、(社)日本水産資源保護協会魚類防疫センターと、(社)北里研究所・佐々本氏、(財)化学及血清療法研究所・前田氏には標準抗血清と菌株を分譲していただき深謝いたします。

2. 材料および方法

(1) 魚病発生調査

1985年4月17日から1986年3月5日にかけて養鰻場、水産試験場八重山支場、および日本栽培漁業協会八重山事業場で発生した病魚等について検査した。

(2) 細菌検査

本年度に発生した病魚等について前報（昭和58年度沖縄県水産試験場事業報告書）とほぼ同じ方法で検査した。

(3) 分離菌株の血清学的性状検査

病魚から分離した菌株を同定するため *Vibrio anguillarum* A型（菌株PT-24、抗体価2048）、B型（PT-496、1024）、C型（PT-213、286）、D型（PB-15、1024）と *Edwardsiella tarda*（EdK-1、512）の各抗血清を北里研究所から、*Streptococcus* sp. α 型（YT-3、L.NYS-1、1024）と *Pasturella piscicida*（Mp-8、L.NVP-1、1000）の抗血清を化学及血清療法研究所から分譲していただき、対照として生理食塩水を用いてスライド凝集反応を行った。なお、供試菌株の由来は表1に示すとおりである。

表1 供試菌株の由来

Strain No.	分離年月日	魚種	臓器
MK-1	1984. 2. 6	ミナミクロダイ	全魚体（ホモジナイズ）
MK-3	4. 4	ミナミクロダイ	肝臓
MK-4	4. 9	ミナミクロダイ	腎臓
MK-5	4. 9	ミナミクロダイ	腎臓
MK-7	1985. 4. 19	ミナミクロダイ	肝臓
KS-1	1984. 1. 7	コガネシマアジ	腎臓
AI-4	10. 29	シモフリアイゴ	腎臓
AI-5	11. 1	シモフリアイゴ	腎臓
AI-7	1985. 3. 7	ゴマアイゴ	肝臓
Sc-1	1986. 3. 5	ノコギリガザミ(Z ₂)	全体（ホモジナイズ）
Sc-2	"	"	(Z ₁) "
Sc-3	"	"	(Z ₁) "
Sc-4	"	"	(Z ₁) "
Sc-5	"	"	(Z ₁) "
Sc-6	"	"	(Z ₁) "
Cr-1	"	モクズガニ	(Z ₁) "
PT-24	<i>Vibrio anguillarum</i>	Serotype A	北 研
PT-496		B	"
PT-213		C	"
PB-15		D	"
EdK-1	<i>Edwardsiella tarda</i>		
USE-3 (α)	<i>Streptococcus</i> sp.	Serotype α	化血研

表2 昭和60年度魚病発生調査

検査月日	魚種 (No.)	FL (mm)	BW (g)	症 状	備 考
1985. 4. 17	コガネシマアジ				
	1	101	16	} 特になし、斃死	陸上水槽 } 斃死率：75% 少し腐敗
	2	108	20		
	3	106	21		
4. 18	ミナミクロダイ				
	1	153	85	鱗の剥離、肝臓うっ血	
	2	171	90	肝臓うっ血	
	3	146	60	肛門から尻鰭にかけて出血	
4. 19	ミナミクロダイ				
	1	173	100	背鰭基部付近体表点状出血	} 多量の粘液のため水面 が泡立っていた。エル } バジン 40 ppm浴
	2	170	90	背鰭基部付近体表点状出血	
	3	174	100	吻端、尾鰭基部発赤、肝臓退色 背鰭基部付近体表点状出血 腹部膨満、肝臓退色	
5. 29	ハマフェフキ			25尾(約0.31g) フラフラ遊泳、斃死	
12. 1	コガネシマアジ親魚			斃死	
12. 2	コガネシマアジ親魚				
	845	4920		各鰭先端から縁辺部にかけて点状出血、 吻端に傷、鰓蓋裏側点状出血、肝臓委縮	
	マダラハタ				
	430	1430		腹水充満、腹腔内壁点状出血、鰓蓋裏側 発赤、各鰭発赤	
12. 4	コガネシマアジ親魚				
	1	-	-	} 頭を下にして表層をフラフラ遊泳	} OTC純末換算20 } mg/kg体重あて筋注 →斃死
	2	-	-		
	3	-	-		
1986. 2. 16	カンパチ	7尾		斃死、眼球内と体表粘液、鰓に絨毛虫	ホルマリン25ppm 1時間浴
2. 17	カンパチ				
	1	868	11740	生残魚、水底に静止、体表表皮がつかれたように剥離、 点状出血、} 硫酸銅 0.5ppm 3時間浴	
	2	935	14740		
	2尾	-	-	斃死	
2. 18	カンパチ				
	1	819	11060	} 肝臓退色、トウフ状、体表点状出血、 } 鰓蓋裏側出血、吻端出血、No.2 } 個体眼球突出、Ht値：平均55.5	
	2	810	10160		
	3	867	10620		
	4	831	8980		
	5	883	10750		
2. 22	ウナギ				
	1	480	184	尻鰭少し発赤、肛門開口、肝臓退色、空腸	
	2	493	182	尻鰭発赤、肛門開口、鰓の損傷、腸管内容物充満	
	3	520	224	肛門開口、鰓の退色、空腸	
	4	430	104	尻鰭発赤、肝臓まだらに退色、鰓の損傷、空腸	
	5	534	266	腹部陥没、鰓腐れ、肝臓退色、空腸	
	6	400	72	尻鰭少し発赤、空腸、平均Ht値：41.8	
	7	450	129	特になし	
	8	465	136	特になし、平均Ht値：37.8	
				1池収容量の1/10斃死	
3. 5	ノコギリガザミ Z ₁ 、Z ₂			斃死	
	モクズガニ Z ₂			斃死	

(4) 分離菌株の薬剤感受性試験

疾病の発生に有効な対策法を検討するため、分離菌株の薬剤感受性を調べた。方法はまず供試菌株を1% Trypticase Peptone (BBL) 溶液で30℃、24時間培養したのち感受性ディスク用培地(栄研)にコーラジ棒で塗抹し、薬剤ディスク(昭和)をのせて30℃、24ないし48時間培養後の成績を判定した。なお、海産魚由来菌株の培地はいずれも2% NaCl濃度になるように調整して用いた。

3. 結 果

(1) 魚病発生調査

表2に示すとおり1985年4月17日、陸上コンクリート水槽飼育中のコガネシマアジ幼魚が大量に斃死した。最終的な斃死率は約75%に達し、特に顕著と思われる症状はみられなかった。4月18日、19日に陸上飼育中のミナミクロダイに疾病が発生し、多量の粘液のため水面が泡立っていた。エルバジン40ppm浴を行う。5月29日ハマフエフキ仔魚斃死。12月1日から4日にかけてコガネシマアジとマダラハタ親魚が斃死。コガネシマアジは吻端部が欠損しており、塩酸オキシテトラサイクリン純末溶液を体側筋肉内接種したが効果なくすべて斃死した。1986年2月16日から18日にかけて日本栽培漁業協会八重山事業場で飼育中のカンパチが大量に斃死した。症状は体表表皮がつかれたようにはく離して点状出血がみられ、また鰭に繊毛虫の寄生が認められた。硫酸銅0.5ppm3時間浴でも効果なく、すべて斃死した。2月22日頃ウナギの大量斃死がみられ、特に被害の大きい池では収容量の約 $\frac{1}{10}$ 量が斃死した。特徴的な症状は斃死魚の鰓がほとんど腐敗したように欠損しており、細菌性鰓病の可能性が考えられた。3月5日頃に日本栽培漁業協会八重山事業場のノコギリガザミ種苗生産時の斃死原因について調査した。

表3 病魚の細菌検査

年月日	検 体	分離部位			備考
		鰓	肝臓	腎臓	
1985 4. 17	コガネシマアジ No. 1	+++	+++) 2種以上 腐敗
	2	+++	+++		
	3	+++	+++		
4. 18	ミナミクロダイ No. 1	+++	+++		2種以上 2種以上
	2	++	+		
	3	-	+		
4. 19	ミナミクロダイ No. 1	+	+) 2種以上
	2	++	+++		
	3	++	+		
5. 29	ハマフエフキ			+++	2種以上
2. 2	コガネシマアジ	-	-		腹水による汚染 が考えられる。
	マダラハタ	+++	+++		
1986 2. 22	ウナギ No. 1	-	-		No. 1-8) 鰓腐れの可能性大
	2	-	-		
	3	-	-		
	4	-	-		
	5	-	-		
	6	-	-		
	7	-	-		
	8	-	-		

培地: BHI寒天

(2) 細菌検査

表3、4、および5に示すとおりいずれの検体からも2種以上の細菌を分離し、病原体を推定することは困難である。なお、ウナギ

表4 カンパチの細菌検査

年月日	BHI寒天		トリプトソイ寒天		サイトファーガ	
	肝臓	腎臓	鰓	肝臓	腎臓	鰓
1986						
2. 17	No. 1	-	-			
	2	-	-			
2. 18	No. 1			+	-	+
	2			+	-	-
	3			+	-	-
	4			+	-	-
	5			+	-	-

※: 2種以上

の場合水産試験場に持ち込まれたのは生きているウナギであり、比較的鰓の損傷がみら

れなかったので鰓からの細菌の分離は行わなかった。後日養殖場で検査した時に細菌性鰓病の発生を感じた。

(3) 分離菌株の血清学的性状検査

表6に示すとおり、病魚由来菌株は各標準抗血清に対してほとんど反応がみられず、また弱く凝集した例でも対照の生理食塩水にも同様の反応がみられ、自発凝集の可能性が考えられる。標準抗血清と標準菌株の交叉反応では *Vibrio*

anguillarum A型のPT-24株がD型抗血清と、D型のPB-15株がA型抗血清と凝集がみられた。またB型のPT-496株がC型抗血清と、C型のPT-213株がB型抗血清と凝集がみられた。さらに *Streptococcus* sp. α 型のUSE-3株が *Pastuella piscicida* 抗血清と弱く反応した。

(4) 分離菌株の薬剤感受性試験

表7に示すとおりである。いずれの菌株もスルフィソキサゾール、スルファジメトキシン、スルファモノメトキシン、アミノベンジルペニシリン、ストレプトマイシン、およびスピラマイシンにはほとんど感受性がみられず、エリスロマイシンに対しても比較的感受性が低い。魚類由来菌株はフラゾリドン、テトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、デメチルクロルテトラサイクリン、ドキシサイクリン、クロラムフェニコール、およびナリジキシックアシドに比較的強い感受性がみられる。また、MK-4とKS-1株はコリスチンとポリミキシン

表7 分離菌株の薬剤感受性試験

Strain No.	MK-1	MK-3	MK-4	MK-5	MK-7	KS-1	AI-4	AI-5	AI-7	Sc-1	Sc-2	Sc-3	Sc-4	Sc-5	Sc-6	Cr-1
スルフィソキサゾール	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
スルファジメトキシン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
スルファモノメトキシン	-	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
フラゾリドン	++	+++	+++	++	+++	+++	++	++	++	+	++	++	+++	++	++	+
アミノベンジルペニシリン	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
ストレプトマイシン	-	-	-	-	+	++	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+
テトラサイクリン	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	+++	---	++
オキシテトラサイクリン	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	+++	---	+++
デメチルクロルテトラサイクリン	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	+++	---	+++
ドキシサイクリン	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	+++	---	+++
エリスロマイシン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	++	+
スピラマイシン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
クロラムフェニコール	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	+	+	++	-
コリスチン	-	-	++	-	-	+++	-	-	-	-	++	++	++	++	+++	+
ポリミキシンB	-	-	+++	-	-	+++	-	-	-	-	++	++	+++	+++	++	+
ナリジキシックアシド	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	-	++	+++	++	++

+++ : きわめて感受性 ++ : かなり感受性 + : やや感受性 - : 耐性

表5 ノコギリガザミ等の細菌検査

	3% NaCl 普通寒天	1/2 海水 普通寒天	Pringsheim media	PYGS液
ノコギリガザミ				
Z ₁ -1	++	++	++	-
Z ₁ -2	++	++	++	-
Z ₁ -3	++	++	++	-
Z ₂ -1	+++	+++	+++	-
モクスガニ				
Cr-Z ₁	++	++	++	-

表6 分離菌株と標準抗血清のスライド凝集反応

血清型	<i>Vibrio anguillarum</i>				<i>Edwardsiella</i>	<i>Streptococcus</i> sp.	<i>Pastuella</i>	牛乳食塩水
	A	B	C	D	<i>larida</i>	α	<i>piscicida</i>	
MK-1	-	-	-	-	-	-	-	-
MK-3	-	-	-	-	-	-	-	-
MK-5	-	-	-	-	-	-	-	-
MK-7	-	-	-	-	-	-	-	-
KS-1	+	+	+	±	±	+	±	±
AI-4	+	+	+	+	+	+	±	±
AI-5	-	-	-	-	-	-	-	-
AI-7	-	-	-	-	-	-	-	-
NK-1	-	-	-	-	-	-	-	-
NK-2	-	-	-	-	-	-	-	-
NK-3	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc-1	-	-	-	-	±	-	±	-
Sc-3	-	-	-	-	±	-	-	-
Sc-4	-	-	-	-	-	±	±	-
Cr-1	-	-	-	-	-	-	-	-
PT-24	+++	-	-	+	-	-	-	-
PT-496	-	+++	++	-	-	-	-	-
PT-213	-	+	±	-	±	±	-	-
PB-15	+++	±	-	±	±	-	-	-
EOK-1	±	±	-	-	++	-	-	-
USE-3	-	-	-	-	-	-	+	-
(α)	-	-	-	-	-	+	+	-

スチンとポリミキシンBに感受性が認められる。

カニ類由来菌株はフラゾリドンに比較的感受性がみられ、Sc-1株はその他テトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、デメチルク

ロルテトラサイクリン、およびナリジキシグアシドに感受性が認められる。Sc-2株はコリスチンとポリミキシンBに、Sc-3株はデメチルクロルテトラサイクリン、ドキシサイクリン、コリスチン、およびポリミキシンBに感受性がみられる。Sc-4とSc-5株はテトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、デメチルクロルテトラサイクリン、ドキシサイクリン、コリスチン、ポリミキシンB、およびナリジキシグアシドに感受性が認められる。Sc-6株はデメチルクロルテトラサイクリン、ドキシサイクリン、エリスロマイシン、コリスチン、ポリミキシンB、およびナリジキシグアシドに、Cr-1株はテトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、デメチルクロルテトラサイクリン、ドキシサイクリン、およびナリジキシグアシドに感受性がみられる。

4. 考 察

昭和58年度から魚病の発生状況を継続して調査しているが、同年にわたり散発的な発生がみられ、特に種苗生産期の4、5月頃と12月以降の冬季に多発する傾向がみられる。原因としては水温など環境条件の日変化の増加にともなう魚のストレス上昇が耐病性の減少に関係しているものと思われる。また、種苗生産した稚仔魚は環境変化や病原体に対する抵抗性の弱いことが十分に予想され、種苗生産の実績はこのような負の要因の有無に影響されていることが考えられる。したがって安定した生産体制を確立するためには負の要因の解明とその対策方法を詳しく検討する必要がある。

本年度の細菌検査ではほとんど純粋培養できず、病原菌の推定が困難であった。また、カニ類幼生などの稚仔魚等では細菌を分離するために個体のホモジナイズ液を使用しているが、この方法では腸内細菌などが混入して病原体の判別が困難である。このため一般に稚仔魚の診断は成魚に比べて難しい。

日本栽培漁業協会八重山事業場で飼育中に斃死したカンパチについての調査では原因を推定できなかったが、養殖研究所などの情報では病原性の強い繊毛虫の可能性を指差され、今後の検討が必要と思われる。

分離菌株と標準抗血清のスライド凝集反応では分離菌株はいずれの抗血清とも反応せず、他の種類に属するものと思われる。なお、標準抗血清と標準菌株間で共通抗原性が存在すると思われる反応がみられたが、このことについては十分な情報がないので不明である。

分離菌株の薬剤感受性試験ではほとんどの菌株がサルファ剤、ペニシリン系とアミノグルコシド系抗生物質に対して感受性がみられなかった。またマクロライド系抗生物質に対する感受性も低く、魚類由来菌株のほとんどはペプチド系抗生物質にも感受性を示さなかった。一般にフラン剤、テトラサイクリン系抗生物質とナリジキシグアシドには広い感受性がみられ、魚類由来菌株はクロラムフェニコールにも感受性が認められた。また、カニ類由来菌株はペプチド系抗生物質に比較的感受性がみられる。

5. 要 約

- (1) 魚病発生調査から周年にわたり散発的な疾病の発生がみられ、特に4、5月頃と冬季に増加する傾向がみられる。

- (2) 本年度の細菌検査では病原菌の推定は困難であった。
- (3) 標準抗血清を用いた分離菌株の簡易同定法では特に顕著な反応はみられず、使用した菌種以外に属する可能性が考えられる。
- (4) 分離菌株の薬剤感受性試験では一般にほとんどの菌株がフラン剤、テトラサイクリン系抗生物質、およびナリジキシクアシドに感受性を示し、サルファ剤、ペニシリン系、アミノグルコシド系、およびマクロライド系抗生物質には感受性がみられなかった。

6. 今後の課題

- (1) 継続した疾病の発生調査と詳しい検査体制の確立
- (2) 有効な対策法の検討
- (3) 病原体のすみやかな同定
- (4) 新しい知見の収集
- (5) 予算面からの研究体制の確立

文 献

- 杉山昭博：昭和58年度沖縄県水産試験場事業報告書、212-218 (1985)
———：昭和59年度沖縄県水産試験場事業報告書、254-259 (1986)
医科学研究所学友会：細菌学実習提要、改訂5版、丸善、東京、1976、228-377
坂崎利一：新細菌培地学講座、初版、近代出版、東京、1978、127-136