

表3に示したように罹病体スッポンからは *Aeromonas* が主に分離され、健康体スッポンからは *Aeromonas* は分離されなかった。又、罹病体スッポンから分離した *Aeromonas* は10株の内7株が *A. hydrophila* と同定され、このように *A. hydrophila* が罹病体から最も多く分離された。病原性試験の結果からも、供試株数及び供試頭数の少ない点に問題を残すが、*A. hydrophila* は条件病原性であるといわれており、本結果も接種菌数 10^6 で100g前後のスッポンのへい死がみられた。*A. hydrophila* の場合、この株自身が毒素を産生しそれによってスッポンがへい死にいたるかどうかの試験は行っていないので今後検討しなければならない。

疾病の症状を呈しているもので *Aeromonas* が分離されたものは、外部所見では腹甲部がうっ血したり、出血性赤点がでたり、ひどいものは潰瘍状になったものもある。内部所見では肝臓は硬く、もろくなって褪色気味であり、腸管の充血、炎症が観察され、時々、咽喉群毛状小突起の炎症による口、鼻からの出血もみられる。これらの症状は病原性試験においても同様にみられ、大分内水漁試(1977)や清水(1969)の *Aeromonas* 感染症の報告とも同様の結果であった。

1例ではあるが、肺にガスが充満し水に潜れなくなったスッポンの肺の病巣から *Pseudomonas aeruginosa* (Serotype 多価 I-A 群) だけしか分離されないものもあつた(沖水試八重山支場1977)。

Aeromonas SP の池水での変動は、水温の上昇と共に減少し、高水温期には検出されないことが多く水温が下降してくると検出されはじめる傾向がみられ、これは図1、2のへい死時期ともよく一致する。若林・江草(1973)も養殖ウナギにおいて同様の傾向を示している。

池泥からの *Aeromonas* SP の分離は年間を通してほぼ一定であつた。9、10、11月の水温下降期には *Aeromonas*、*Pseudomonas*、*Citrobacter* が主に検出された。

分離された細菌だけに限って考えると、当地方のスッポンのへい死原因は、一次的か二次的かは分らないが、いずれにせよ一因として *Aeromonas* が関与しているらしいと思われる結果が示唆されるが、スッポン自身の生理学的な面や *Aeromonas* 以外の細菌やウイルス及びカビなどとの複合感染の問題や病理所見等総合的検討を行わなければ原因を明確にはできない。今後この点を十分考慮して、その他の面からの検討を行う必要がある。

V *Aeromonas hydrophila* に対する予防・治療基礎試験

(1) BAY9391 の薬効試験

目 的

BAY9391: 2-(N-12-hydroxyethyl Carbamoyl)-3-methyl quinoxalin-1,4-dioxide の *A. hydrophila* に対する薬効を試す。

方 法

A. hydrophila (山口株、大分内水漁試提供) を生体通過させた後、普通寒培地で 25°C 48時間増菌したものを湿重量 0.2 g/ml (菌数 1×10^7) となるように生理食塩水に懸濁し、それを原液とした。

材料には $50 \sim 150\text{ g}$ (平均 87.6 g) のスッポンを使用した。上記の *A. hydrophila* の原液10倍希釈液(以下 $\times 10$ 区)、100倍希釈液(以下 $\times 100$ 区)の3段階と対照には生理食塩水

を1 ml/kg ずつ後肢のつけ根に接種した。

BAY9391の投与は0 mg/kg、2.5 mg/kg、5.0 mg/kgを菌接種後1時間目と2.5時間目の2回、菌接種部位の反対側の後肢のつけ根に接種した。

供試亀数は1区4頭で、菌接種後7日間へい死の動向を観察した。菌濃度、BAY9391濃度、接種方法は、大分内水漁試と同様である。

結果及び考察

生残頭数は表6のとおりであった。その結果原液区はA. hydrophilaは強い毒性を示し、BAY9391の薬治効果はあまりみられなかった。

表-6 A. hydrophila (山口株) 接種後の菌量別・投薬量別生残頭数

池	菌量	経過日数	1	2	3	4	5	6	7	生残率(%)
		投薬量 (mg/kg)								
原液区		0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1 × 10 ⁷	25	2	2	2	1	0	0	0	0
		50	3	3	2	1	1	1	1	25
×10区		0	4	3	1	1	1	1	1	25
	1 × 10 ⁶	25	4	4	4	4	4	4	3	75
		50	4	4	4	4	4	4	4	100
×100区		0	4	4	4	4	4	4	4	100
	1 × 10 ⁵	25	4	4	4	4	4	4	4	100
		50	4	4	4	4	4	4	4	100
対照区		0	4	4	4	4	4	4	4	100
	0	25	4	4	4	4	4	4	3	75
		50	4	4	4	4	4	4	4	100
		水温(°C)	26.0	-	26.4	26.4	26.2	-	26.7	26.3 (平均水温)

×10区ではBAY9391無投薬区の場合75%がへい死したのに対し、BAY9391、5.0 mg/kg投薬区ではへい死は0で薬治効果が十分に認められた。また2.5 mg/kg投薬区は75%の生残率であったが、生残っていたスポンの菌接種部位には潰瘍がみられた。

×100区ではA. hydrophilaは毒性を示さなかった。

A. hydrophila接種によってへい死したスポンの病徴は、外部所見では中心部が膿状で周囲が充血した潰瘍が腹甲部に多かった。内部所見では腸の充血がみられた。生残個体では腸の充血はみられない。

生残ったスポン(各区2頭)の肝臓からの菌の再分離では×10区、×100区の無投薬区からはA. hydrophilaが分離された。しかし投薬区では菌は分離できず、×10区、×100区では2.5 mg/kgの投薬でもBAY9391の薬治効果があるものと思われる。

対照区のへい死個体からは表7のようにA. hydrophilaは分離されなかった。

表-7 接種菌と再分離菌の性状

性状テスト項目	接種菌と分離菌 (A. hydrophila)	菌接種スッポン よりの分離菌	対照スッポンよりの 分離菌
グラム染色	-	-	-
菌形	R	R	R
チトクローム・オキシダーゼ	+	+	+
TSI	A/AG	A/AG	A/AG
運動性	+	+	+
H ₂ S産生	-	-	+
インドール	+	+	+
OF	F (G)	F (G)	F
0/129	-	-	-

最後に本試験ではBAY9391を接種して薬治効果をみたが、元来BAY9391はグラム陰性腸内細菌用の経口投与薬であり、また養殖場での注射による治療は困難であるので、今後、経口投与による試験を行う必要があろう。

(2) 各種魚病薬の抗菌力試験

目的

現在市販されている魚病薬は抗生物質、サルファ剤、フラン系製剤、その他いろいろあるが、それらの中から抗生物質のクロラムフェニコール、サルファ剤のスルファモノメトキシナ、フラン系製剤のニフルスチレン酸Na、その他の化療剤からはナリジクス酸の4種を選び、スッポンから分離したA. hydrophilaに対する最少発育阻止濃度(MIC)を求めた。

方法

試験-1

上記の各薬剤を100 mcg/mlになるように調整し滅菌水で培数希釈して100mcg/ml~0.2mcg/mlまでの系列をつくった。なお、ナリジクス酸、クロラムフェニコールは少量のエチレングリコールに溶してから用いた。

0.5%食塩加NUTRIENT BROTH "DIFCO" (pH7.2)培地を9 mlずつ分注した試験管に各々希釈した薬剤を1 mlずつ入れた。その時培地中の薬剤濃度は10mcg/ml~0.02mcg/mlとなる。

それらに前もって培養(25℃48時間)していたA. hydrophilaを0.05 ml接種し、25℃48時間培養後それらの発育の有無により最少発育阻止濃度(MIC)を判定した。

なお、本試験は昭和52年8月8日~10日に行った。

試験-2

試験1と同じように各薬剤を100~0.01 mcg/mlまでの希釈系列をつくり、それぞれを径6mmの口紙にしみてませ感受性ディスクを作った。

感受性ディスク用培地“栄研”に *A. hydrophila* を全面に塗抹して、それに各濃度のディスクを
おいて 25℃ 48 時間培養した。培養後、阻止円の有無により MIC を判定した。

なお本試験は昭和 53 年 1 月 12 日～14 日に行った。

結果及び考察

試験 1 の結果は表-8、試験 2 の結果は表-9 に示した。

スルファモノメトキシリン Na は *A. hydrophila* に対して 100 mcg/ml 以上でも効かず、MIC は
100 mcg/ml 以上と思われる。この株を分離したスッポンは前年 11 月に一週間と今年 4 月に 3 日間、
スルファモノメトキシリン Na を 100 mg/kg BW 経口投与したことがある。そのため、*A. hydrophila* は
スルファモノメトキシリン Na に対して耐性を獲得したと思われる。窪田(1966)、Aoki & Egusa
(1971) もサルファー剤は抗生物質、フラン系性剤よりも耐性を獲得しやすいことをのべている。

ナリジクス酸の MIC 実験結果は、これまでに報告されたもの(表-10)と比べると、MIC が
2.5 mcg/ml と約 10 倍程高い値を示している。ナリジクス酸は過去に使用していないのになぜこのよ
うな高い値を示すか不明である。

クロラムフェニコールの MIC は表 10 と比べ、ほぼ同じ値を示しているが、ニフルスチレン酸 Na
の MIC は、0.6～1.25 mcg/ml と約 10 倍程高い値を示している。

試験 1 では使用した 4 剤のうちクロラムフェニコール、ニフルスチレン酸 Na の MIC が他の 2 剤
に比べ 1.25 mcg/ml と低く、又、試験 2 ではニフルスチレン酸 Na の MIC は 0.6 mcg/ml と他 2 剤
に比べ最も低かった。

よって今回の試験結果では、*A. hydrophila* に対する MIC はニフルスチレン酸 Na、クロラム
フェニコール、ナリジクス酸、スルファモノメトキシリン Na の順であった。

ニフルスチレン酸 Na、クロラムフェニコールは広範囲なスペクトラムを有し、しかも毒性が比較
的低いと一般にいられているので現時点では有効かと思われる。

表-8 試験1の結果

薬品名	薬品濃度 (単位:mcg/ml)														
	100	50	25	12.5	10	5	2.5	1.25	0.6	0.3	0.15	0.075	0.04	0.02	0
クロラムフェニコール					-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
スルファモメトキシシンNa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ニフルスチレン酸 Na					-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
ナリジクス酸					-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+

注) (+) 発育 (-) 発育阻止

表-9 試験2の結果

薬品名	薬品濃度 (単位:mcg/ml)															
	100	50	25	12.5	10	5	2.5	1.25	0.6	0.3	0.15	0.075	0.04	0.02	0.01	0
クロラムフェニコール	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
スルファモメトキシシンNa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ニフルスチレン酸 Na	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

注) (+) 阻止円ができたもの (-) 阻止円ができなかったもの

表-10 これまでに報告されているクロラムフェニコール・スルファモノメトキシジンNa・ニフルスチレン酸Na・ナリジクスのAeromonas属
に対するMIC(田中1977より改変)と本試験結果の比較

菌種	薬品名	ナリジクス酸	スルファモノメトキシジンNa	ニフルスチレン酸Na	クロラムフェニコール
A. liquefacience		0.1-6.3 ※1	2.5 ※2	0.031-0.125 ※3	1.6, 3.1 ※4
A. formicans		0.2 ※1			
A. hydrophila		0.2 ※1		0.15-0.62 ※3	
A. punctata		0.2 ※1		0.25 ※3	0.4※5, 1.5-3.0※6
A. salmonicida		0.2-0.8 ※1	0.63 ※2	0.062-0.125 ※3	0.4※4, 1.0※7
A. hydrophila		2.5 ※8	100以上 ※8 100以上 ※9	1.25 ※8 0.6 ※9	1.25 ※8 5.0 ※9

(注) ※1: 高島(1975), ※2: 田中(不明), ※3: 山下(不明), ※4: 畑井・習木・渡辺(1973)
 ※5: 假科(1959), ※6: SCHUPERCLAUS(1956), ※7: SNIESZKO(1957)
 ※8: 試験1, ※9: 試験2,