

神奈川県下で発生したアユの冷水病について

相澤 康

Yasusi AIZAWA#

Outbreak of Cold-Water Disease in Ayu(*Plecoglossus altivelis*) in Kanagawa Prefecture.

ABSTRACT

Bacterial cold-water disease, being caused by *Cytophaga psychrophila*, is a serious infection in ayu culture. In Kanagawa Prefecture, it was first isolated on February 17th, 1994. On infected fishes, ulcerations of dermis and muscle, anemia of the gills and viscera occurred. Isolation of bacteria was examined. When it was cultured from spleen tissue with a *Cytophaga* ager medium including 5% FBS, high isolation rate was found. Subclinical infection occurs in fishes which recover from the disease.

緒言

アユの“冷水病”は、*Cytophaga psychrophila* を病原菌とする細菌性疾病であり(1992)¹⁾、近年、全国的に被害を及ぼしている。本県では、1994年2月17日に初めて発生を確認し、その後、琵琶湖産種苗を中心に発生している。本魚病は、県内のアユ養殖においても少なからぬ被害を出しており、症例と病原菌の分離方法等について試験したので報告する。

分離は、原則として改変サイトファーガー寒天培地(以下、サイトファーガー培地という。)、TY寒天培地(以下、TY培地という。)(表1)、5%牛胎児血清添加サイトファーガー培地(以下、血清加サイトファーガー培地という。)、5%牛胎児血清添加TY培地(以下、血清加TY培地という。))及びBHI寒天培地(以下、BHI培地という。)を用い、分離部位は、体表患部、肝臓、脾臓及び腎臓とした。培養温度は10とし、5~10日後に分離の有無を確定した。

表1 分離培地の組成

| | 改変サイトファーガー培地 | TY培地 |
|----------|--------------|---------|
| ・トリプトン | 2.0 g | 3.0 g |
| ・酵母エキス | 0.5 | 2.0 |
| ・肉エキス | 0.2 | |
| ・酢酸ナトリウム | 0.2 | |
| ・塩化カルシウム | 0.2 | |
| ・寒天 | 15.0 | 15.0 |
| ・蒸留水 | 1000 ml | 1000 ml |
| ・pH | 7.2 | 7.2~7.4 |

材料及び方法

県内の養殖場で1994年1月25日から同年7月26日までの間に発生した冷水病検体、7ロット、31尾を氷蔵して実験室に持ち帰り、外観的症状を観察するとともに、寒天平板培地による細菌の分離を試みた。

冷水病が分離された魚群の飼育水温は8~20であった。

分離された菌株は、東京大学農学部水産学科若林教授から提供を受けた抗血清を用い、スライド凝集反応により同定を行った。

また、低水温期に冷水病が発生し、飼育水温の上昇とともにへい死の終息した飼育魚群について、保菌検査を行った。供試魚は50個体で、分離には5%血清加TY培地、分離部位は肝臓、腎臓とした。



図1 罹病魚（穴あき）

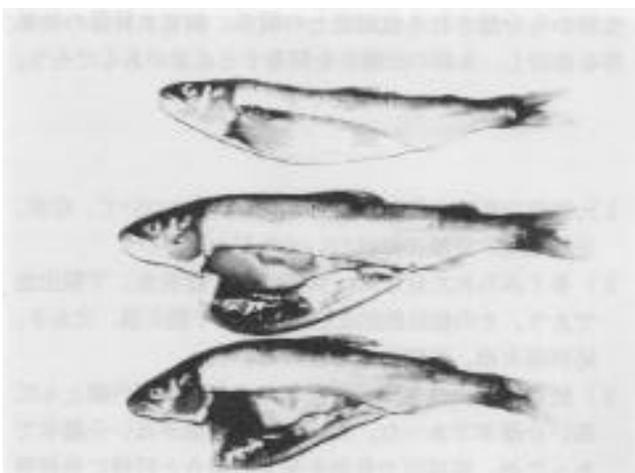


図2 罹病魚（鰓、肝臓、貧血）

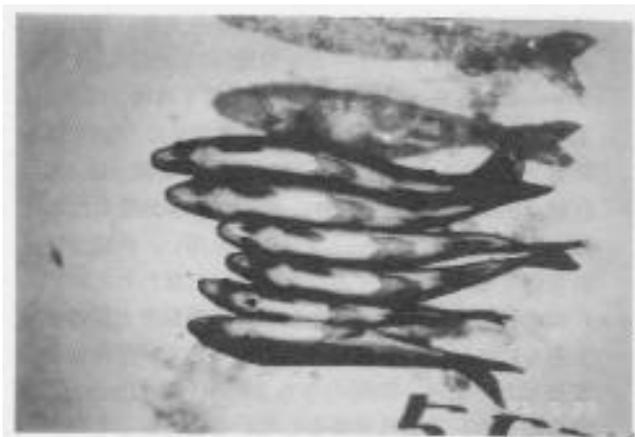


図3 罹病魚（鰓蓋下部出血）

この中で、冷水病に特徴的な症状は、鰓貧血、鰓蓋下部出血であり、その他には下顎欠損、穴あき、肝臓貧血が見られ（図1～3）、症状は多様であった（表3）。

C. psychrophila は分離率が低いといわれているが（1993）³⁾、今回は31尾の病魚を検査し、12尾が

表4 症状と分離率の関係

| 症状 | 個体数 | <i>C. psychrophila</i> の分離率 (%) | | 未同定菌の分離率 (%) |
|--------|-----|---------------------------------|-------|--------------|
| | | 臓器 | 体表 | 臓器 |
| 鰓蓋下部出血 | 11 | 54.5 | 36.4 | 27.3 |
| 鰓貧血 | 13 | 38.5 | 7.7 | 69.2 |
| 肛門拡張 | 9 | 33.3 | 0.0 | 55.6 |
| 体表退色 | 13 | 30.8 | 0.0 | 69.2 |
| 脾臓貧血 | 5 | 20.0 | 20.0 | 80.0 |
| 肝臓貧血 | 5 | 20.0 | 20.0 | 100.0 |
| 胆嚢肥大 | 6 | 16.7 | 0.0 | 83.3 |
| 下顎欠損 | 5 | 0.0 | 40.0 | 20.0 |
| 胸部穴あき | 2 | 100.0 | 100.0 | 0.0 |
| 躯幹部穴あき | 2 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 腎臓貧血 | 1 | 100.0 | 0.0 | 100.0 |
| 尾柄部欠損 | 1 | 0.0 | 100.0 | 100.0 |

ら分離でき分離率は38.7%であった。また、本菌以外の菌が高率に分離され、未同定であるが体表患部から分離された事例を除いても、分離率は51.6%であった。

件数の多かった症状と冷水病の特徴的な症状と思われるものについて、その症状を呈した個体数に対する *C. psychrophila* および未同定菌の分離率を表4に示した。鰓蓋下部出血を呈する個体では、臓器で54.5%、体表患部で36.4%と分離率が高かった。次いで、鰓貧血の場合は臓器で38.5%の分離率であったが、未同定菌の分離率も69.9%と高かった。冷水病と、ピブリオ病あるいはシュードモナス病の合併症が増加の傾向にあるとの報告があり（1994）⁴⁾、今後は分離された菌の同定を行う必要がある。

冷水病は、*C. psychrophila* の分離率の低さや、*in vitro* の薬剤感受性と養殖現場での投薬の効果が必ずしも一致しないことから、他の原因についても検討の余地があることが指摘されている（1993）³⁾。これら、高率に分離される他細菌が、症状の多様化、へい死の一因となっていることも考えられ、今後、それらの性状、病原性を明らかにする必要があるだろう。

2. 分離部位及び分離培地

分離部位、培地による分離率を表5に示した。BHI培地では分離できず、低張・低栄養の培地であるサイトファーガーが培地、TY培地で分離できた。分離率を大きい順に示すと、血清加サイトファーガー培地（23.4%）、サイトファーガー培地（17.7%）、血清加TY培地（15.0%）、TY培地（6.3%）であった。サイトファーガー培地の方がTY培地より分離率が高く、牛胎児血清添加の効果も認められた。

分離部位について大きい順に示すと、脾臓（22.0%）、体表患部（19.7%）、腎臓（11.3%）、肝臓（8.0%）であった。よって、適切な分離診断のためには、血清加サ

表5 培地及び分離部位別の *C. psychrophila* の分離率

| 培地 \ 部位 | 肝臓 | 腎臓 | 脾臓 | 体表患部 | 平均 |
|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| BHI | 0.0 (0/15) | 0.0 (0/15) | 0.0 (0/13) | 0.0 (0/12) | 0.0 (0/55) |
| TY | 0.0 (0/10) | 11.1 (1/9) | 14.3 (1/7) | 0.0 (0/6) | 6.3 (2/32) |
| TY+血清 | 0.0 (0/12) | 9.1 (1/11) | 22.2 (2/9) | 37.5 (3/8) | 15.0 (6/40) |
| サイトファーガー | 4.0 (4/25) | 17.4 (4/23) | 23.1 (3/13) | 16.7 (3/18) | 17.7 (14/79) |
| サイトファーガー+血清 | 12.0 (3/25) | 13.6 (3/22) | 23.5 (7/17) | 35.3 (6/17) | 23.4 (19/81) |
| 平均 | 8.0 (7/87) | 11.3 (9/80) | 22.0 (13/59) | 19.7 (12/61) | |

イトファーガー培地を用い、脾臓及び体表患部を主体に分離することがよいと思われる。部位別の分離率については、鰓蓋下部を除く体表患部からの分離率が高く、臓器別の分離率は腎臓、脾臓では同程度であり、肝臓ではやや分離率が低いとの報告があり(1994)⁴⁾、今回の結果とは、体表患部からの分離率が高く、肝臓では分離率が点では一致していた。しかし、体表患部でも鰓蓋下部で分離率が高くないこと、腎臓と脾臓では同程度の分離率であった点については、結果を異にしていた。いずれにしても、分離率が低く、分離培養に時間を要するため、正確かつ迅速な診断のためには、蛍光抗体法等の手法を現場での診断に応用することが望まれる。

3. 保菌検査

表1に示したGロットは低水温期に冷水病が発生し、その後飼育水温の上昇とともにへい死が終息した飼育魚群であるが、供試魚50尾のうち2尾から、*C. psychrophila* が分離され、不顕性感染をしていることを示していた。沢本(1994)⁵⁾は、飼育水温を昇温することにより、冷水病の治療が可能であるが、水温の下降により再発し、マス類で見られる「高水温飼育によるIHNに対する免疫獲得」のような現象は見られなかったと報告している。

ところで、近年、冷水病は琵琶湖産種苗を中心に発生しているが、本県で最初に冷水病の発生を確認したのはロットBの人工種苗においてであり、その伝播経路は不明である。ロットAについては、疾病の発生はなく、通常の保菌検査であったが、後の細菌検査から *C. psychrophila* と同定されたものである。ロットA、Bは由来を同じにする人工種苗であるが、自発凝集性の有無から *C. psychrophila* は由来を異にする菌株と考えられる。本県においては、鰓及び肝臓の著しい貧血、鰓蓋下部出血を特徴とする疾病が1989年前後から散発しており、過去の発生事例や伝播経路が興味深い。

本病は、一般に抗菌剤等の投与が著効しないといわれている(1993)³⁾。本県での発生事例を見ても、投薬時はへい死数が減少するが、完全に終息せず、長期間継続

するのが特徴であった。病原菌の薬剤感受性、冷水病発生群から分離される他細菌との関係、飼育水温の効果等を検討し、本病の治療法を開発する必要があるだろう。

摘要

- 1) 神奈川県下で発生したアユの冷水病について、症状、分離培地、分離部位について検討した。
- 2) 多くみられた症状は、体表退色、鰓貧血、下顎出血であり、その他特徴的な症状として下顎欠損、穴あき、尾柄部欠損、肝臓貧血であった。
- 3) 鰓蓋下部出血を呈する症状では体表及び内臓ともに高い分離率であった。次いで、鰓貧血が高い分離率であったが、他部位で貧血を呈する場合と同様に他細菌が高率に分離された。
- 4) 分離培地・分離部位の検討を行ったところ、BHI培地では分離できなかった。分離率を大きい順に示すと、血清加サイトファーガー培地(23.4%)、サイトファーガー培地(17.7%)、血清加TY培地(15.0%)、TY培地(6.3%)であった。分離部位については、脾臓(22.0%)、体表患部(19.7%)、腎臓(11.3%)、肝臓(8.0%)の順であり、適切な分離診断のためには、血清加サイトファーガー培地を用い、脾臓及び体表患部を主体に分離することがよいと思われた。
- 5) 低水温期に冷水病が発生し、その後飼育水温の上昇とともにへい死が終息した魚群について、保菌検査を実施したところ、50尾のうち2尾から *C. psychrophila* が分離され、不顕性感染をしていることを示した。

謝辞

分離菌の同定用の抗血清を提供いただいた東京大学農学部水産学科若林久嗣教授に、また、適切にご指導、資料を提供いただいた長野県水産試験場佐久支場の沢本宏氏に厚くお礼申し上げます。

引用文献

- 1) 若林 久嗣、沢田 健蔵(1992): アユの冷水病について, 平成4年度日本魚病学会春期大会講演要旨集, p 5 .
- 2) 沢田 健蔵(1992): アユの冷水病, 養殖, 29(7), p 47 .
- 3) 沢田 健蔵(1993): アユにおける冷水病の発生事例, 日本水産資源保護協会平成5年度魚病技術者研修魚病専修コース専門コース研修会資料(プリント).
- 4) 前川 義孝(1994): アユ冷水病研究部会報告, 全国河川湖沼養殖研究会第68会大会要録, p 6 ~ 8 .
- 5) 沢本 良宏(1994): 高水温飼育によるアユの冷水病の治療試験, 平成5年度長野県水産試験場事業報告, s