

池中養殖ペヘレイ (*Odonthestes bonariensis* C. & V.) の *Aeromonas salmonicida* 感染症の発生

佐藤 茂・山崎 尚

Occurrence of *Aeromonas salmonicida* Infection from
the Pond - cultured Pejerrey, *Odonthestes bonariensis* C. & V.

Sigeru SATOH and Hisashi YAMAZAKI

ペヘレイ (*Odonthestes bonariensis* Cuvier & Valenciennes) は1966年、アルゼンチンから初めて神奈川県に移植された。以来、各地の試験場や養魚場で再生産を繰り返しながら飼育してきたペヘレイには、その生育過程で種々の疾病が発生してきた。原虫類や甲殻類などの寄生による疾病^{1) 2)}、*Aeromonas* 属の細菌に起因する疾病^{3) 4)}、また *Mycobacterium* 感染症^{5) 6) 7)} などが発生している。

1989年11月末に、池中養成中のペヘレイの躯幹部、吻部、尾柄部から出血し、また、その部分の筋肉が融解して、斃死する個体が発生した。その罹病魚から、*Aeromonas salmonicida* が分離された。一般的な生化学的性状とともに薬剤の感受性を調べ、治療試験等を実施したので、それらの結果を報告する。

材料および方法

1989年春季から秋季にかけて、試験場（相模原市下溝）の飼育池で孵化させ、飼育したペヘレイ稚魚の一部 約30,000尾を1989年10月に当時仙石原試験池（足柄下郡箱根町）に移送し、試験池3号（13m²、45cm水深）に収容した。11月27日に分養を行い、試験池7号（13m²、45cm水深）に約15,000尾を収容した。分養する前に数尾の斃死が認められていたが、その後、斃死魚が徐々に増加したので、それらの罹病魚を試験

場へ持ち帰り、外部症状の観察とともに細菌検査を行った。なお、仙石原試験池の飼育水温は周年16～17℃である。

細菌検査は罹病魚の脳および腎臓の組織を BHI 寒天平板培地および BTB-teepol 寒天平板培地に塗抹し、22℃、48時間前後培養を行った。培地上に生育したコロニーを釣菌し、魚類等防疫指針；病原細菌鑑別法（1979）および魚類病原体の検出法ならびに同定法（1982）により、一般的な鑑別を行った。なお、検査に供した病魚の体重は3.1～8.5gであった。

薬剤感受性試験は BHI 寒天平板培地上の菌株を直接釣菌し、McFarland 濁度で1.5～2.5程度となるように生理食塩水に懸濁した。懸濁液の1白金耳を感性ディスク用培地-Nに塗抹し、その後、一定濃度の各ディスクを貼付した。22℃、48時間培養後、ノギスを用いて、阻止円の直径を計測した。

治療試験に供した抗菌剤は、オキシリン酸（以下「OA」という）、塩酸オキシテトラサイクリン（以下「OTC」という）およびニフルスチレン酸ナトリウム（以下「NFS-Na」という）である。OAの用法、用量は10～20mg/Kg・BWを6～7日間、OTCは50mg/Kg・BWを6日間、経口投与した。その際の給餌率は0.8%であり、OAは油脂に、OTCは水に溶解、懸濁後、飼料に添加した。また、NFS-Naでは2.0ppmの濃度で2時間30分、薬浴した。薬浴中は

止水、通気し、薬浴終了後直ちに注水を開始した。

攻撃試験には、42.8～46.4gの0年魚ベヘレイ、3尾を用いた。それらの第一背鰭基部の筋肉中に、McFarland 濁度で2.5～3.5程度となるように生理食塩水に懸濁した分離菌液をそれぞれ0.2、0.3、0.4mlを接種し、1.0m²×70cm水深のコンクリート槽に収容した。斃死したベヘレイはその都度患部、腎臓および脳の組織をBHI寒天平板培地に塗抹し、22℃、48時間前後培養した。再分離された菌の一般的な性状検査は既述の方法により、行った。

結果および考察

斃死魚及び罹病魚の症状

外部症状の代表的な症例は第1図に載せた。躯幹部のやや中央に、小円形状の白斑が診られ、真皮が露出



第1図 罹病ベヘレイの外部症状

第1表 罹病ベヘレイから分離された *Aeromonas salmonicida* の一般的な生化学的性状

項 目	結 果	SCHUBERT*
褐色色素産生	+	
グラム染色	陰性短桿菌	
オキシターゼ	+	+
チトクロームオキシターゼ	+	+
カタラーゼ	+	+
SIM培地		
硫化水素産生	—	—
インドール産生	—	—
運動性	—	—
MR試験	+	+
VP反応	—	—
ゼラチン液化	+	+
アルギニン脱水素酵素	+	+
シモンズクエン酸ナトリウム	—	—
O/F試験	発酵	発酵
炭水化物分解		
グルコース	AG**	AG
ラクトース	—	—
シュクロース	A	—
グリセロール	A	AG
マンニトール	A	AG
イノシトール	—	—
溶血性(綿羊血液)	+	+
O/129 感受性	—	—

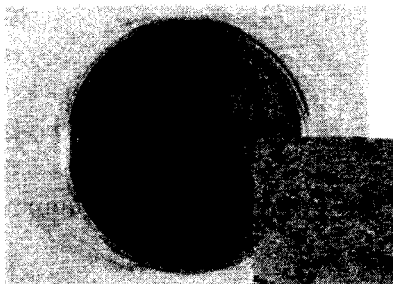
* SCHUBERT(1967)の結果は、江草(1984)から転記した。

**TSI 培地の高層部にガスの産生が観察された。

し、その中心部の筋肉はやや融解している。その白斑の縁辺からは出血が観察された。体色は一般に灰白色であった。

分離菌株の種類

BHI寒天平板培地に生育した菌株を試供菌として、一般的な生化学的性状を調べた。その結果は第1表に、



第2図 BHI寒天平板培地上に、褐色色素を産生した *A. salmonicida*

グラム染色の結果は第2図に示したとおり、グラム陰性短桿菌、運動性陰性、オキシターゼ陽性、O/129感受性陰性、O/F試験発酵形式、インドール産生陰性、VP反応陰性であった。3日後には褐色色素の産生が認められ、その色素は徐々に濃くなった。TSI寒天培地においてはブドウ糖を分解し、ガスを産生した。これには48時間以上を要した。また、48時間以内にはTSI寒天培地の斜面部が黄色に変色し、乳糖および白糖を分解する性状を示した。また、抗 *A. salmonicida* 血清に対するスライド凝集反応試験結果は陽性であった。これらのことから分離菌の種類は *Aeromonas salmonicida* と判断された。

ところで、*A. salmonicida* には一般に3亜種が知られている。その中の1亜種である *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* と分離菌株とは炭水化物(白糖)の分解性、グリセロールおよびマニトールのガス産生能で性状を異にしたものの、その他の性状では一致した。この糖の分解性に関して、丹治(1972)はアマゴ、ヒメマスから分離された菌株間にも多少の差があった、と報告している。このことは、この糖の分解能の差は無視できることを示しているとも考えられる。したがって、この分離菌は subsp. *salmonicida* と同定されるのが適当と考えられる。しかし、この結果は1株の一般的な性状による判断であり、亜種の確認にはより多くの菌株について生化学的性状を調べたうえで検討が必要であろう。

薬剤感受性試験

薬剤感受性試験結果は第2表に示した。スルファモノメトキシシンのサルファ剤およびナリジクス酸、ピロミド酸には感受性を示さなかったが、テトラサイクリン系の抗生物質には感受性を示した。ニトロフラン剤の NFS-Na にも高い感受性を示した。また、

OAの感受性試験では、0.5 μ g濃度のディスクには感受性を示さなかったが、2、10 μ g濃度のディスクには感受性を示した。これらの結果から、治療試験には OA、NFS-Na、OTC などの抗菌剤が適当と考えられた。

第2表 罹病ベヘレイから分離された *Aeromonas salmonicida* の薬剤感受性

薬 剤 名	阻止円直径	感 受 性	備 考
スルファモノメトキシシン	SMM	—	—
スルフィソキサゾール	SI	—	—
エクテシン	ET	41.4	
ニフルスチレン酸ナトリウム	NFS	35.2	+++ 20 μ g (エルパージュ)
塩酸オキシテトラサイクリン	OTC	48.9	+++
塩酸テトラサイクリン	TC	47.1	+++
クロラムフェニコール	CP	54.1	+++
硫酸ポリミキシンB	PL	22.2	+++
オキシリン酸	OA	++	0.5/2/10 μ g
オリジクス酸	NA	—	—
ピロミド酸	PA	—	2/10/30 μ g

(注) ET、NFS 及び OA の感受性は試作のディスクによる。

OA 及び PA の感受性は3濃度ディスクによる。

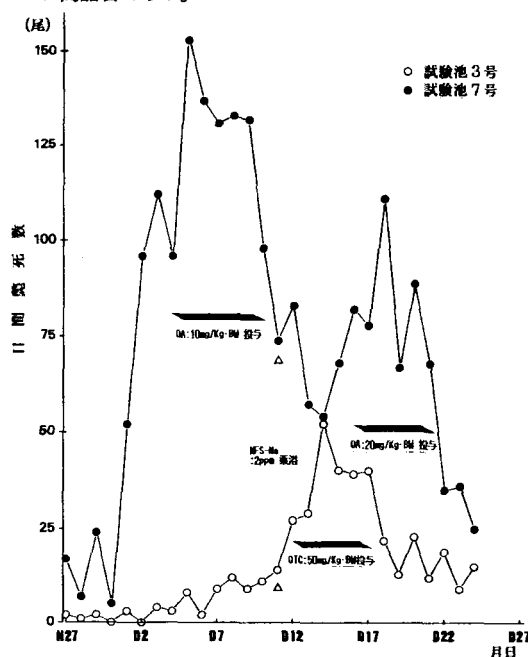
阻止円直径の単位はmmである。尚、エクテシンは商品名である。

治療試験

OA、NFS-Na、OTC の抗菌剤の投与と斃死数の変化の関係は第3図に示した。

試験池7号のベヘレイは12月1日頃から斃死が多くなったので、12月4日から7日間、OAを10mg/Kg・BW/Day 経口投与した。投与後、一時期斃死数が150尾以上にも達したが、その後130尾前後で推移し、投与7日後になって100尾以下に減少した。斃死数の減少が緩慢であると思われた。緩慢であることにに関して、ベヘレイの摂餌はヤマメなどの魚種に比べてあまりよくないので、マス類（せつ瘡病の場合）の用法、用量に準じた投薬では、群としてのOAの組織内濃度が一定の濃度に達し得る可能性が低いことによるものとも考えられた。

そこで、群としての組織内濃度を一定の水準に保とうとして、NFS-Na の薬浴を行ったところ、斃死数が50尾の水準にまで下がった。岩田（1988）はアユ種苗生産過程に発生したビブリオ病に対して、NFS-



第3図 ベヘレイ、*Odonthestes bonariensis* の *A. salmonicida* 感染症における抗菌剤の投与と斃死数の変化

Na の 2 ppm 2 時間 30 分の薬浴に効果があった、と報告している。ペヘレイの場合も、NFS-Na による薬浴に効果があったものと考えられる一方で、OA の投与直後の薬浴であったことから相乗の効果であったかもしれない。それにつけても斃死数の減少が緩慢であった。再び斃死数が増えだしたので、OA を 20mg/Kg・BW/Day 投与したところ、斃死数が 20 尾の水準にまで下げることができた。

一方、試験池 3 号で飼育していたペヘレイは、12 月 10 日頃までは 10 尾以下の斃死であったが、徐々に増加したので、OTC を所定量経口投与した。一時期、50 尾の斃死があったものが、10~20 尾の斃死にまで下げることができた。この場合も斃死数の減少がいささか緩慢であった。

一般に、魚病由来菌に対する OA や NFS-Na などの抗菌力はそれぞれで異なる。分離された *A. salmonicida* に対する抗菌力の測定はもとより、ペヘレイにおける OA など抗菌剤の吸収、分布、排泄を調べ、この魚の摂餌をふまえた適正な用法、用量を検討する必要がある。

攻撃試験

A. salmonicida の生菌が接種された 3 尾のペヘレイは、それぞれ 36、48、60 時間後に斃死した。それらのペヘレイの症状はいずれも、背鰭の基部から尾柄部にかけて充血し、また、口吻は点状出血、眼窩は充血していた。鰓薄板には点状の鬱血が認められた。生菌の接種部の周囲には血液と筋肉の融解物の混じった、血腫様物が診られた。

斃死魚の腎臓などからは、グラム陰性で、非運動性の、且つ褐色色素産生の性状を示す短桿菌が再分離された。また、これらの菌はいずれも抗血清に対して凝集する反応を示した。このように *A. salmonicida* はサケ科魚類の重要な病原菌であるが、ペヘレイにも感受性を示すことが判明した。

摘 要

池中養成中のペヘレイに細菌性の疾病が発生し、その罹病魚から、*Aeromonas salmonicida* が分離された。この分離菌の一般的な生化学的性状とともに薬剤の感受性を調べ、その治療試験等を実施した。

1) 罹病魚の腎臓から、グラム陰性で、褐色色素産生、

非運動性、オキシターゼ陽性、V P 反応陰性の性状を示す短桿菌が分離された。また、抗 *A. salmonicida* 血清に対するこの菌のスライド凝集反応は陽性であった。これらのことから分離菌は *Aeromonas salmonicida* と判断された。

2) 分離菌はテトラサイクリン系の薬剤やニトロフラン剤などには高い感受性を示したが、サルファ剤やピロミド酸などには感受性を示さなかった。

3) McFarland 濁度で 2.5~3.5 程度の分離菌懸濁液の接種により、0 年魚のペヘレイは 36~60 時間後に斃死した。斃死魚の腎臓などから分離菌と同じ性状を示す菌が再分離された。

4) 10~20mg/Kg・BW/Day 用量の OA を 6~7 日間、また 50mg/Kg・BW/Day 用量の OTC を 6 日間、ペヘレイに経口投与することにより、斃死魚を少なくすることが出来た。しかし、斃死は慢性的に続いた。

5) ペヘレイにおける OA など抗菌剤の吸収、分布、排泄を調べ、この魚の摂餌をふまえた適正な用法、用量を検討する必要がある。

文 献

- 1) 神奈川県淡水魚増殖場 (1972): ペヘレイの種苗生産について、第 45 回全国湖沼河川養殖研究会要録, pp.116~122.
- 2) 神奈川県淡水魚増殖試験場 (1984): ペヘレイの種苗生産の現況。全国湖沼河川養殖研究会第 57 回大会要録, pp.92~97.
- 3) 鈴木 栄ほか (1982): ペヘレイ (*Odonthestes bonariensis*) から分離された *Aeromonas hydrophila*。埼玉県水産試験場研究報告, 41, 107~110.
- 4) 山本正一 (1985): ペヘレイからの病原細菌分離の試み。神奈川県淡水魚増殖試験場報告, 21, 81~82.
- 5) 畑井喜司雄ほか (1988): ペヘレイから分離された *Mycobacterium* sp. の病原性。魚病研究, 23 (3), 155~159.
- 6) O. ラオーホワイトほか (1988): 池中養殖ペヘレイにおける抗酸菌症の発生。日本獣医畜産大学研究報告, 37, 28~34.
- 7) O. ラオーホワイトほか (1988): ペヘレイの抗酸菌症治療試験。日本獣医畜産大学研究報告, 37, 35

- ～38.
- 8) 魚類等防疫指針編集委員会 (1979): 魚類等防疫指針 (3). 水産庁. pp.69～100.
 - 9) D.マクダーニル (木村 喬久訳) (1982): 魚類病原体の検出法並びに同定法 (魚類保健ブルーブック). 日本水産資源保護協会. 東京, pp.1～103.
 - 10) 医科学研究所学友会 (1970): 細菌学実習提要. 丸善. 東京, pp.1～478.
 - 11) 坂崎利一 (1967): 培地学各論 (1). 納谷書店. 東京, pp.1～222.
 - 12) 河喜多龍祥 (1987): 薬剤感受性検査. 近代出版. 東京, pp.80～112.
 - 13) 江草周三 (1978): 魚の感染症. 恒星社厚生閣. 東京, pp.128～146.
 - 14) R.E.Buchanan & N.E.Gibbons (1974): Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (8th edition). Williams & Wilkins. pp.346～348.
 - 15) 丹治一義 (1972): アマガおよびヒメマスのせつ瘡病から分離した *Aeromonas salmonicida* について. 魚病研究, 6, 90～96.
 - 16) 岩田一夫ほか (1988): アユ種苗生産過程に発生したビブリオ病に対するニフルスチレン酸ナトリウムの薬浴効果. 魚病研究, 23 (1), 67～68.
 - 17) 水産用医薬品使用指針編集委員会 (1981): 水産用医薬品使用指針 (2). 日本水産資源保護協会. p. 71～84. 117～128. 163～179.