

中間育成中のヒラメ0年魚に発生したエドワジェラ感染症

中津川 俊 雄

1993年7月1日から8月5日までの35日間、京都府阿蘇海の水深1~2mの浅瀬に設置された囲い網内で、放流のため平均全長68.4mmのヒラメ0年魚50,000尾の中間育成が行われた。育成終了時に取り上げ、計数したところ、衰弱・死亡魚が多くみられた。これらの衰弱・死亡魚の中に、腹部が膨満し腹水が貯溜して、肛門から腸管の一部が飛び出した症状のものが多数観察された。採取された死亡魚の腎臓から同一と思われる一種の細菌が純培養状に分離された。分離菌の性状検査と抗血清による検討の結果、非定型的な *Edwardsiella tarda* と同定された。病原性試験の結果、分離菌はヒラメ0年魚に対し強い病原性を有することが判った。したがって、非定型的 *E. tarda* が今回の中間育成中における減耗の大きな要因であると考えられた。なお、育成終了時の生残数は21,550尾、生残率は43.1%で、平均全長は92.0mmであった。

京都府阿蘇海の水深1~2mの浅瀬に設置された囲い網内で、放流のため35日間、種苗生産されたヒラメ *Paralichthys olivaceus* 0年魚の中間育成が行われた。中間育成最終日に取り上げ、計数したところ、腹部が膨満し肛門から腸管が飛び出した衰弱・死亡魚が多くみられた。そこで、死亡魚を採取し、死亡原因の推定のため、細菌の分離を試みた。病魚の腎臓から一種の細菌が純培養状に分離された。性状検査の結果、分離菌は運動性のない非定型的な *Edwardsiella tarda* に同定され、ヒラメに対する病原性が確認された。これまでわが国で報告されたヒラメのエドワジェラ感染症の原因菌は、運動性のある定型的な *E. tarda* であり(安永・小川・畑井, 1982; 中津川, 1983)、ヒラメからの非定型的 *E. tarda* の報告はない。このため、非運動性の非定型的 *E. tarda* が今回の中間育成におけるヒラメ0年魚の減耗の大きな要因と考えられたので、その性状と病原性について報告する。

材料および方法

疾病の発生状況 京都府立海洋センターでは、地元の溝尻漁業協同組合の協力を得て、京都府宮津湾の内湾である阿蘇海の水深1~2mの天の橋立側の浅瀬に25×20mの囲い網(7mm目合のモジ網)を設置し、1993年7月1日から8月5日までの35日間ヒラメ0年魚を放流のため中間育成を実施した。中間育成されたヒラメ0年魚は京都府栽培漁業センターで種苗生産されたもので、育成開始時の平均全長は68.4mm、平均魚体重は3.2gであった。育成



尾数は50,000尾で、育成期間中2回/日海産魚稚魚用の配合飼料(協和醸酵製)を与えた。

供試魚および原因菌の分離 供試魚2尾は、93年8月5日の育成終了時に死亡直後として採取され、翌8月6日まで冷蔵庫中に保存されたものであった。供試魚の腎臓から、常法によりTSAを用いて、細菌の分離を試みた。

分離菌についての迅速な診断同定のため、魚病診断用抗血清による簡易スライド凝集法および細菌簡易同定キットAPI-20Eによる検討を行った。

性状検査の供試菌 性状検査に供した分離菌株は、供試

魚2尾の腎臓から分離されたPK-9301およびPK-9302の2株と、後述する病原性試験の際再分離されたPK-9303の計3株であった。性状検査には、TSAあるいはBHI寒天により30°Cで1~2日間培養後、供された。

性状検査 生化学的性状検査は、坂崎・吉崎・三木(1988)に準じて行われた。なお、検査時の培養温度は30°Cであった。

病原性試験 PK-9301株を用い、平均全長14.0cm、平均体重27gのヒラメ0年魚5尾に、 4.5×10^5 CFU/尾を筋注した。対照として滅菌生理食塩水0.3mlを同様にヒ

Table 1. Biochemical characteristics of the present strains, compared with those of atypical *Edwardsiella tarda* described by KUSUDA *et al.*, 1977 (from crimson sea bream), and YASUNAGA *et al.*, 1982 (from red sea bream, yellowtail and crimson sea bream).

	Present strains	<i>E. tarda</i> KUSUDA <i>et al.</i>	<i>E. tarda</i> YASUNAGA <i>et al.</i>
Motility	—	—	—
Hydrogen sulfide	+	+	+
Catalase	+	+	+
Cytochrome oxidase	—	—	—
MR test	+	+	+
VP test	—	—	—
SIMMON'S citrate	—	—	—
ONPG	—	—	—
Urease	—	—	—
Malonate	—	—	—
Gluconate	—	—	—
Gelatin liquefaction	—	—	—
Nitrate reduction	+	+	+
Phenylalanine deaminase	—	—	—
Esculin hydrolysis	—	—	—
Starch hydrolysis	—	—	—
Indole production	+	+	+
Casein digestion	—	—	—
Lipase: Tributylin	—	—	—
Triacetin	—	—	—
Tween 80	—	—	—
Corn oil	—	—	—
Decarboxylase: Lysine	+	+	+
Ornithine	+	+	+
Arginine	—	—	—
2,3-Butanediol	+	+	+
Organic acid utilization* ¹ : D-Tartrate	—	(+)* ²	—
Citrate	—	+	+
Mucate	—	—	—

*1: Medium for organic acid utilization: M70 medium was used in present study. KAUFFMANN and PETERSEN medium was used by KUSUDA *et al.* and YASUNAGA *et al.*

*2: weakly positive.

ラメ0年魚5尾に接種した。試験の際の飼育水温は21～22°Cであった。

結果および考察

疾病の発生状況 中間育成期間中の1日2回の投餌の際、水温と摂餌状況および斃死状況を観察し、7月23日に斃死魚がみられたため、異常のあることが確認された。しかし、透明度が悪く、斃死状況を十分観察することができず、育成終了の取り上げ時まで詳細は不明であった。育成終了時の生残数は21,550尾で、生残率は43.1%であった。育成終了時の平均全長は92.0mm、平均魚体重は8.0gであった。囲い網の取り上げ時に衰弱・死亡魚が多くみられ、それらの中で、外観症状として体色の黒化、腹部の膨

満および肛門からの腸管の飛び出し（脱腸）を呈したものが多数観察された。斃死した28,450尾がすべて同一の疾病により減耗したとは考えられないが、この疾病が減耗の大きな要因の一つであることは間違いない。なお、育成期間中の水温は20～29.5°Cで、塩分は3.0～22.8‰の間で変動した。

供試魚および原因菌の分離 供試魚2尾は、いずれも体色が黒化し、腹部が膨満して腹水が貯溜し、腸管の一部が肛門から飛び出した状態であった。外観観察では他に異常はみられなかった。内部所見では肝臓の出血、腎臓の出血・腫脹・膿瘍化、腸管の発赤および腹腔壁の発赤が認められた。また、臓器に白い結節や小白斑等はみられなかった。

供試魚2尾の腎臓からは、同一と思われる細菌が純培養

Table 2. Utilization of carbohydrates of present strains, compared with those of atypical *E. tarda* described by KUSUDA *et al.* (1977) and YASUNAGA *et al.* (1982).

	Present strains	<i>E. tarda</i> KUSUDA <i>et al.</i>	<i>E. tarda</i> YASUNAGA <i>et al.</i>
Acid from: Adonitol	—	—	—
L-Arabinose	—	(+)	+
Cellobiose	—	—	—
Dulcitol	—	—	—
Erythritol	—	—	—
Esculin	—	—	—
D-Galactose	+	+	+
Glucose	+	+	+
Glycerol	(+)* ¹	—	(+)
Glycogen	—	—	—
Inositol	—	—	—
Inulin	—	—	—
Lactose	—	—	—
Fructose	+	+	+
Maltose	+	+	+
Mannitol	—	+	+
D-Mannose	+	+	+
Melibiose	—	—	—
Raffinose	—	—	—
L-Rhamnose	—	—	—
Salicin	—	—	—
D-Sorbitol	—	—	—
Starch	—	—	—
Sucrose	—	—	—
D-Trehalose	—	—	—
D-Xylose	—	—	—

*1: weakly positive.

状に分離された。病魚の症状からエドワジェラ症が疑われたため、*E. tarda* 診断用抗血清によるスライド凝集法を実施したところ、いずれの分離菌も凝集がみられ、一応 *E. tarda* と考えられた。

また、API-20E による簡易同定の結果得られた数値プロファイルはインデックスに記載されており、分離された2株は *E. tarda* に分類された。

性状検査 供試した3株の性状検査の結果、供試菌はすべて同一の性状を示し、グラム陰性の非運動性桿菌であり、カタラーゼ陽性、オキシダーゼ陰性で、グルコースを発酵的に分解してガスを産生した。他の主な性状では、硫化水素産生 (+)、インドール産生 (+)、MR 試験 (+)、VP (-)、ONPG (-)、ゼラチン液化 (-)、リシン・オルニチン脱炭酸 (+)、アルギニン脱炭酸 (-)、リパーゼ (トリアセチン、トリブチリン、ツィーン80、コーンオイル) (-)、有機酸利用能 (-)、フェニルアラニン (-) 等を示し、これまでにヒラメから報告されている定型 *E. tarda* と、運動性の点を除けばほぼ同一性状であった。

養殖チダイ (楠田ら, 1977) 並びに養殖マダイ、チダイおよびブリ (安永・小川・畑井, 1982) からは非運動性の非定型的 *E. tarda* の報告があり、これらの分離菌との性状比較を Table 1 および Table 2 に示した。糖分解試験の一部や有機酸利用能等で相違点があるが、他の性状は同一

であり、スライド凝集法および API-20E による簡易同定の結果とも考え併せて、本分離菌は非定型的 *E. tarda* に同定された。

病原性試験 PK-9301 株接種区では、接種4日後に1尾そして5日後に4尾が死亡した。接種部位の発赤、消化管の発赤、腎臓、脾臓の褪色、肝臓の充出血が認められた。死亡した5尾の腎臓から接種菌が再分離された。対照区のヒラメでは10日後にも斃死魚はなかった。

以上のように、今回海面での中間育成中のヒラメ0年魚死亡魚から分離された非定型的な *E. tarda* は、ヒラメに対し強い病原性があり、中間育成期間中の減耗の大きな要因と考えられた。また、ヒラメから運動性のない非定型的な *E. tarda* が分離されたのは、わが国では今回が初めてであろう。

文 献

- 楠田理一・伊丹利明・宗清正広・中島博司. 1977. 日本誌, **43**: 129-134.
安永統男・小川七朗・畑井喜司雄. 1982. 長崎県水試研報, **8**: 57-65.
中津川俊雄. 1983. 魚病研究, **18**: 99-101.
坂崎利一・吉崎悦郎・三木寛二. 1988. 新細菌培地学講座・下第2版, 近代出版, 東京, 218 p.

Synopsis

Edwardsiellosis on Young Flounder Breeding in Inland Bay

Toshio NAKATSUGAWA

In July–August 1993, a bacterial disease occurred on young flounder, *Paralichthys olivaceus*, breeding in Aso-kai of inland bay, Kyoto Prefecture. A bacterium isolated from dead fish were identified as non-motile atypical *Edwardsiella tarda*. The pathogenicity of the isolate for flounder was proved positive by intramuscular injections. Atypical *E. tarda* from flounder was first reported in Japan.