鱒より分離した病原性 *Vibrio* に関する研究

第1報 分離菌の性状と病原性について

岸 久 吉 原田 賢 治 三 橋 進

群馬大学医学部微生物学教室 (主任 三橋進教授)

山 本 郁 夫

伝染病研究所第五研究部 (部長 山本郁夫)

[受付: 12 月 13 日・1957 年]

魚類に病原性を有する *vibrio* の報告は、僅かに David¹⁾ によって鯉及び他の魚類の流行性疾患の原因菌として *Vibrio piscium* が記載されているに過ぎない。1953 年から1955年に至る間、群馬、静岡、鳥取の三県の養魚池で虹鱒の Frunculosis like disease の流行を見た。吾々は群馬県箱島の鱒の養殖池において流行した虹鱒の疾病の、病因について研究を進め、病魚及び養魚池の水より *vibrio* に属する一菌株を分離し、1955 年²⁾ にその性状の概要を報告した。その後屢々同一性状の菌が分離されておる。保料³⁾ は上述の流行病の原因菌として *vibrio* に属する一菌株を報告した。この報告では分離菌の有する諸性状と虹鱒に対する病原性について調査した。又保料³⁾ によつて報告された菌株と吾々の分離した菌株とを比較検討した結果についても併せて報告する。

症状の概要

多くの病魚の体表には癰、又は出血性の潰瘍が存在し、筋肉組織には溢血斑がみられた。あるものには著明の眼球突出が認められた。肛門は充血し、拡張 (dilatation) が明かであつた。腸及び腹膜は一般に充血してをり、肝及脾は肥大していて且もろかつた。腎の所見は特に著明で、充血又は壊死をみとめ極めてもろかつた。斃死した病魚の解剖所見は敗血症の状態を示し、各臓器、筋肉、眼球及びその他の何れの部分からも毎常 *vibrio* が証明された。

材料及び方法

斃死した虹鱒10匹と養殖池の水を採取して夫々可検材料となし型の如く菌検索を行つた。虹鱒は何れも20 cm 程度の大きさであつて前述した病変部を材料として用いた。水は 4000 r. p. m. 30分間遠心沈澱して、その沈査

を培養した。

検査方法: 上述の材料の一部を血液寒天、Drigalski 及び普通寒天の各平板に直接塗抹して37°C又は22°Cで一晩培養して、発生した集落を Kligler 培地に移殖して確認し、爾後生化学的性状及び血清学的性状について調べた。

V. P. 試験は Barrit⁴⁾ の方法に従い、インドール反応用ペプトン水には照内ペプトンを使用した。KCN試験に用いた基礎培地は Edwards 及び Ewing⁵⁾ の記述に従い Orthana peptone のかわりに Bacto proteose peptone No. 3 (Difco) を 0.3% の割合に加えた。

復原実験法: 使用した水槽は 71 cm × 118 cm × 32 cm の大きさであつて、これに13.5°C—14°C の泉を導入して用いた。供試した虹鱒は一年魚であり、15cm—18cm のものを28匹使用し、内9匹は腹腔内に、他の9匹は筋肉内に分離菌の Suspension を夫々0.25cc宛接種した。残りの10匹は無処置の対照として用い実験開始後7日間観察を続けた。使用した分離菌浮游液は0.25ml中 0.1mg, 0.01mg, 0.001mg 宛、その分離菌が含まれる濃度に調製し、各3匹宛に接種した。

実験成績

分離の状況: 虹鱒の何れの材料からも乳糖非分解の *Vibrio cholerae* の性状に似ている集落が多数純培養状

KISHI Hisakichi, HARADA Kenji, MITSUHASHI Susumu and YMAMOTO Ayao*: Study on the new strain of the pathogenic "Vibrio" isolated from fresh-water fishes. Department of Microbiology, School of Medicine, Gunma Univers. Institute for Infectious Diseases*. —Jap. J. of Bact. 13 (3), 256-258, 1958.

鯨よりの分離株の生化学的性状

	鯨よりの 分離菌	保科株		鯨よりの 分離菌	保科株
形 態	弧 状	弧 状	コレラ赤反応	—	—
グ ラ ム 染 色	陰 性	陰 性	KCN Test	—	—
固 有 運 動	+	+	グ ル コ ー ス	+ ¹	+ ¹
ク リ グ ラ ー 培 地	—/A	—/A	マ ル ト ー ス	+ ¹	+ ¹
硫 化 水 素	—	—	マ ノ ニ ト ー ル	+ ¹	+ ¹
イ ン ド ー ル	+ ¹	+ ¹	ト レ ハ ロ ー ス	+ ¹	+ ¹
V. P.	+ ⁴	+ ⁴	レ ブ ロ ー ス	+ ¹	+ ¹
M. R.	+ ⁴	+ ⁴	ガ ラ ク ト ー ス	+ ¹	+ ¹
尿 素	—	—	イ ノ シ テ ン	—	—
ゲ ラ チ ン	+ ¹²	+ ¹²	キ シ ロ ー ス	—	—
Ammonium citrate	+ ¹	+ ¹	ア ラ ビ ノ ー ス	+ ¹	+ ¹
Ammonium glucose	+ ¹	+ ¹	デ キ ス ト リ ン	+ ¹	+ ¹
PPA 反 応	—	—	ラ ム ノ ー ス	—	—
硝 酸 塩 還 元	+	+	ソ ル ビ ト ー ル	+ ¹	+ ¹
ガ ス 産 生	—	—	ヅ ル チ ト ー ル	—	—
			ラ フ ィ ノ ー ス	—	—
			イ ノ シ ト ー ル	—	—
			サ リ シ ン	—	—
			シュウクロース	+	+
			ラ ク ト ー ス	+ ⁴	V
			ア ド ニ ト ー ル	—	—
			マ ノ ノ ー ス	+ ¹	+ ¹

註: 1. 培養は 22°C にて行つた。

2. Vは遅れて分解, 又は非分解。

に発生した。養殖池の水からは前述の性状を有する集落が各平板に1—2個程度認められた。爾後虹鯨からの分離菌をSDと、水からの分離菌をSWと略称する。分離菌は22°Cの培養では良く発育するが、37°Cの培養では血液寒天のみに小集落の発生が認められた。

生物学的性状: 表及び図に示したように分離菌は *Vibrio* の保持すべき一般性状を備えている外、H₂S は非産生で、インドール、VP及びMRは何れも陽性であるがコレラロート反応は陰性であつた。ゲラチンは遅れて液化するが、尿素は分解しなかつた。

ammonium citrate 及び ammonium glucose の何れにも22°Cでは良く発育するが37°Cではまったく発育しなかつた。Mac Conkey 培地には極めてよく発育し、KCN試験及びPPA反応は陰性であつた。glucose を分解して酸を産生するがガスを形成しない。sucrose, mannose, arabinose, galactose laevulose, trehalose, maltose, sorbitol 及び dextrin を一日で分解するが, lactose は遅れて4日目まで分解する。adonitol, salicin, inositol, raffinose rhamnose, xylose, dulcitol 及び inulin はまったく分解しなかつた。尚保科によつて分離

鯨より分離した *Vibrio* (8250×)

された菌株(保科株と略)は lactose の分解が不定である事の外はまったくSD及びSWの両株に一致した。

血清学的性状: 抗SD-O血清に対して、SD及びSWは6,400倍まで凝集し、保科株は、12,800倍まで凝集した。この抗SD-O血清をSW又は保科株で吸収してみると、SD、SW及び保科株に反応する抗体は総て

吸収除去された。抗SD-H血清に対してSD, SW及び保科株は3株共102,400まで凝集し, SW又は保科株で吸収してみるとSD, SW及び保科株に反応する抗体は総て吸収除去された。

病原性: SD株を接種した虹鱒は48—72時間の間に総て斃死したが, 対照の無処置の虹鱒は総て生存し変化がなかった。斃死した虹鱒からは総て供試した *Vibrio* が証明された。剖検所見は前述した病魚の所見に一致し, 接種部位の筋肉組織には極めて強度の充血が認められた。

疫学的調査: 群馬県における虹鱒の frunculosis like disease は殆ど年間を通じてみられたが特にはげしい流行は晩秋から春にかけて認められ, 高い死亡率を示した。伝染経路としては購入した稚魚に本菌の感染を受けていたものが混入していたものか或は導入した水の汚染によるか明かでないが, 日本の各地域に亘つて本菌による虹鱒の疾患の流行がみられた事から考えて, 感染稚魚が混入していたものではなかろうかと推量される。

考 按

鮭及び鱒の腎疾患の原因菌として記載された菌株を Ordal 及び Earp⁶⁾ は *Corynebacterium* に属するものであると述べている。

今回吾々によつて分離された菌株は *Vibrio* であり, Heiberg⁷⁾ の分類に従うと第三型に属するものと考えられる。保科²⁾ は同一流行の材料から分離した *Vibrio* の報告では, 彼の記載した分離菌の生化学的性状と吾々の分離した *Vibrio* の性状とは幾分異つていたので, 保科より本菌の分与を受けて同一条件でその性状を調査した処, 彼の記載した性状とは異なり, 生化学的にも血清学的にも吾々の分離菌と同一であることが証明された。次に分離菌は Ammonium 塩を唯一の N 源とした培地に 22°C では良く発育するが 37°C ではまったく発育しない。然しながら血液寒天では 37°C の培養で発育が認められる。このようにして, 分離菌は培養温度により栄養要求

が異なるものと考えられるので現在この研究を続けている。

虹鱒への復原実験の結果, その病原性が確認されたが, この疾患の原因菌と考えられる *Vibrio piscium* が入手できなかったため, この菌と分離菌との関係は調べることができなかった。尚冷血動物対 *Vibrio* の関係を追求してゆく上に本菌の分離は意義深く考えられる。

結 言

虹鱒の流行病の原因を細菌学的に追求して虹鱒及び水から *Vibrio* に属する一菌株を分離し, 原因菌である事を決定した。この *Vibrio* は Heiberg の云う第3型に属し保科によつて分離された *Vibrio* と生化学的にも血清学的にも同一菌であることを明らかにした。

擱筆に臨み水産大学保科教授より, 菌株を分与して戴いた事を附記し深く謝意を表する。

文 献

- 1) David, H.: Ueber eine durch choleraähnliche Vibrionen hervorgerufene fish-seuche. Centralb u. Parasitk, Bd. 1 Abt. orig. 102, S. 46-60, 1927.
- 2) 岸久吉: 群馬県下に発生した鱒の伝染病の病原菌について, 日本衛生検査協会群馬県支部会, 1955 10月。日本衛生検査協会群馬県支部会誌, 1, 43, 1956.
- 3) Hoshina, T.: An epidemic disease affecting rainbow-trout in Japan. Tokyo Univ. Fish., 42 (1), 15-16, 1956.
- 4) Barrit, M. M.: J. Path Bact. 42, 441, 1936.
- 5) Edwards, P. R., Ewing, W. H.: Identification of Enterobacteriaceae. printed in the U. S. A., P. 178, 1956.
- 6) Ordal, E. J., Earp, B. J.: Pro. Soc. Exp. Biol. & Med., 92, 85-88, 1956.
- 7) Heiberg, B., On the classification of *Vibrio cholerae* and the cholerae like Vibrios. Arnold Busck, Copenhagen, 1935.
- 8) Heiberg, B., J. Hyg., Camb., 36, 114, 1936.