ウナギの赤点病

室賀清邦*

Red Spot Disease of Eels

Kiyokuni MUROGA

Fac. Fisheries & Animal Husbandry, Hiroshima University, Fukuyama

Red spot disease is one of the devastating bacterial diseases of cultured eels in Japan. The first outbreaks were observed in 1971 and the causative agent was identified as *Pseudomonas anguilliseptica*.

In this paper, the pathological changes of infected fish, epidemiology, characteristics and pathogenicity of the causative agent, and immunology are briefly reviewed.

The disease has three epidemiological characteristics: 1) it prevailed in brackish-water ponds, 2) prevailed when the water temperature was below 20°C or ceased when it rose to 27°C, and 3) prevailed among the Japanese eels (*Anguilla japonica*). These characteristics were found to be closely related to the nature of the causative agent.

Based on these findings, the following methods are proposed as prophylaxis: 1) For the culture of Japanese eels, water temperature of 27°C or above and freshwater ponds are preferable, and 2) European eels are recommended for the ponds where the above conditions are not provided.

赤点病は、1971 年春、徳島県および静岡県下の養鰻池において最初にその発生が確認された比較的新しいウナギの細菌性疾病である。赤点病という病名は病魚の皮膚に特徴的に認められる点状出血に由来している。そして本病の原因菌は WAKABAYASHI & EGUSA (1972) により *Pseudomonas anguilliseptica* と命名された。

本病は上記の 2 県のほか、高知県(楠田・三浦, 1972)**あるいは長崎県(安永, 1973)でも確認され、特に徳島県下では 1971 年以降、毎年のように本病による大きな被害を受けてきた。

以下、病魚の症状、本病の発生状況、原因菌の性状、病原性、免疫について簡単に紹介し、最後に本病の予防対策について述べる。

症 状

前述の如く、体表全面にわたる点状出血あるいは毛細血管の怒張が罹病魚の特徴的な症状である。*P. anguilliseptica* がウナギの表皮基底膜や真皮に侵入して増殖した結果、そこに分布する毛細血管には赤血球が充満し、

濾出性の出血や局所的な破綻性の塊状出血が生じる。これらの小出血塊が肉眼的に点状出血として観察される(宮崎・江草, 1977)。

その他、肝臓のうっ血、脾臓の退色萎縮、腎臓の萎縮、腸管と胃の発赤、腹膜の点状出血が認められ、症例によっては内臓全体に貧血がみられる。

なお、接種実験を行なってみると、被接種魚はかなり死期が近づいてから点状出血を呈する傾向にあった。また養魚場においても、かなり病勢が進行してから発症するようで、池で点状出血を呈する病魚を発見した時には既に病気が池全体に蔓延していることが多い。

発 生 状 況

1972 年以降、徳島県下の養鰻池において赤点病の発生状況に関する調査を行ない、以下の事実を明らかにした(室賀ら, 1973)。

本病は主として春先、すなわち 3 月ないし 4 月に発生するが、7 月になり日中の水温が 26°C~27°C に達するようになると自然に終息する。そして夏には本病の発生はまったくみられず、秋、すなわち水温が 20°C 前後に低下する 10 月になると再び発生する。ただし秋には自然抗体を有する魚が存在するためもあるとあって大きな被害

* 広島大学水畜産学部

** 楠田理一・三浦航 (1972): 昭和 47 年度日本水産学会春季大会 講演要旨 p. 143.

を受けることは少ない。

また本病は海岸近くのある程度塩分を含んだ池にのみ発生している。著者らが確認した限りでは、Clにして0.27~6.29‰の塩分を含む池で本病が発生していた。まったくの淡水池で発病した例も1例確認されたが、それらの病魚は塩分を含んだ水を使用している発病地域から養中として購入されたものであった。

更に、本病はヨーロッパウナギ (*Anguilla anguilla*) には発生しにくく、ニホンウナギ (*A. japonica*) に発生しやすい。ヨーロッパウナギでの発病例も確認されているが、ニホンウナギの場合に比べ、それらの病魚における点状出血はあまり顕著ではなく、また死亡率も低いものであった (城ら, 1975)。

原因菌の性状

本病の原因菌 *Pseudomonas anguilliseptica* はグラム陰性、大きさ $0.5 \times 1 \sim 3 \mu\text{m}$ 程度の桿菌である。極毛を1本有し運動する。ただし、その運動性は培養温度が 20°C 以下の時には確認できるが、 25°C 以上ではほとんど認められない (室賀ら, 1977)。WAKABAYASHI & EGUSA の電子顕微鏡を用いての観察によれば、菌体周囲に厚いエンベロップが存在し、その中に鞭毛が包み込まれているものもあるという。本菌は普通寒天培地で发育するが、その发育は比較的遅く、 20°C ・2~3日培養後に直径1mm程度の透明で光沢のある粘ちよう性を有する集落を形成する。

Difco nutrient broth (NaCl 1%) で静止培養した時の温度別増殖実験の結果を Fig. 1 に示した。この実験結

Fig. 1. Effect of temperature on the growth of *P. anguilliseptica* (Medium: Difco nutrient broth, NaCl 1%, pH 7.8. Incubation: static culture for 10 days.)

果および他の実験結果から、本菌の发育可能温度域は $5 \sim 30^\circ\text{C}$ 、发育至適温度は $15 \sim 20^\circ\text{C}$ と認められた。一方、生存に対する温度の影響を調べた結果、 $6 \sim 37^\circ\text{C}$ という実験範囲内では温度が高い程本菌の生存期間は短くなり、特に 30°C 以上では、7日以内に死滅することがわかった (室賀ら, 1977)。

本菌の发育可能 pH 域は 5.3~9.7 であり、发育至適 pH は 7~9 である。

また、本菌の发育可能塩分域は 0.1~4‰ で、发育至適塩分濃度は 0.5~1‰ である。本菌の生存におよぼす食塩あるいは塩分の影響を調べた実験結果を Fig. 2 に示した。Fig. 2 の上部に示したのは淡水にいろいろな濃度で食塩を添加した水における本菌の生存を調べた結果であり、下部に示したのは海水 (Cl 16.9‰) をいろいろな濃度に希釈した水における本菌の生存を調べた結果である。これらの結果からわかるように、本菌は実験した濃度範囲内では食塩濃度あるいは塩分濃度が高い程、より長期にわたって生存しうることがわかった。特に Cl 1.9~16.9‰ の範囲の濃度の海水中では 200 日以上生存することが確められた。

Fig. 2. Effect of NaCl concentration or chlorinity on the survival of *P. anguilliseptica*.

Table 1. Biochemical characteristics of *Pseudomonas anguilliseptica* 100 strains

Gram stain	—	Phenylalanine deamination	—
Hugh-Leifson test	—	Urease	—
Gas from glucose	—	Starch hydrolysis	—
Other sugars utilization	—	β -galactosidase	—
Cytochrome oxidase	+	Nitrate reduction	—
Catalase	+	Ammonia production	+
Sensitivity to 0/129	—	Lactate	—
novobiocin	+	Citrate	± (58)
penicillin	— (9*)	Malonate	—
Litmus milk	+W	Tartrate	—
Gelatin liquefaction	± (63)	Succinate	+
Indole production	—	Mucate	—
Voges-Proskauer test	—	Pyruvate	± (73)
2, 3-butanediol production	—	Propionate	—
Methyl red test	—	Butyrate	—
H ₂ S production	—		

*: number of positive strains, +W: weakly positive

Table 2. Mortality and mean time to death of Japanese eels injected with *P. anguilliseptica* under different water temperatures

	Water temperature (range)					
	12.0°C (11.1–13.2)	15.9°C (13.7–18.8)	20.0°C (18.8–20.5)	22.4°C (21.1–23.1)	25.2°C (24.5–25.8)	27.2°C (24.8–28.5)
Dose mg/100 g	1	1	1	2	1, 2	1, 2
Mean body weight of fish tested	25 g	98 g	68 g	121 g	81 g	80 g
Number of fish died/tested	5/5	8/11	15/15	15/20	12/12	2/19
Mortality	100%	73%	100%	75%	100%	11%
Mean time to death	13.4 days	9.1 days	4.7 days	4.9 days	4.9 days	11.0 days

本菌の生化学的性状を Table 1 に示した。これは各地の病魚から分離された 100 株の検査結果であるが、糖類をいっさい利用しないことが大きな特徴となっている。

また 1972 年に分離した 6 菌株の薬剤感受性を調べたところ、スルフイソキサゾール、オレアンドマイシンなどには感受性を示さなかったが、クロラムフェニコールおよびテトラサイクリンなどに対しては強い感受性を示した。

病 原 性

ニホンウナギとヨーロッパウナギに本菌を筋肉内接種したところ、ニホンウナギの死亡率が 100% (38/38 尾) であったのに対し、ヨーロッパウナギのそれは 71% (29/41 尾) であり、両魚種の間には本菌に対する感受性の差があると認められた。同様に接種実験により、アユ、ドジョウ、ブルーギル・サンフィッシュは高い感受性を、

コイ、フナ、キンギョは低い感受性を有し、マウスはまったく感受性を有さないことが明らかにされた(室賀ら, 1975)。

次に、ニホンウナギに筋肉内接種した場合の、水温と死亡率および平均死亡日数の関係をみるために、既報および未発表の実験結果をまとめて Table 2 に示した。なお、1 mg と 2 mg という接種量の違い、あるいは実験魚の大きさの違いは、実験結果に大きな差をもたらさないことが予備実験で確かめられている。同表に示されたように、水温 12°C から 25°C の範囲では常に 73~100% という死亡率が得られ、また水温が高くなる程死亡日数は短縮されている。ただし水温 20~25°C の範囲では、平均死亡日数はいずれも約 5 日となっている。これらに対し、水温約 27°C の場合は死亡率は 11% と極端に低く、平均死亡日数も 11 日とかなり長くなっている。

また水温 20°C および 27°C の水槽に収容したニホン

Fig. 3. Effects of temperature on the agglutinin production of eels against *P. anguilliseptica*. Fish were injected with 4 mg of the formalin-killed cells per 100 g of body weight. Fish: *Anguilla japonica*.

ウナギに本菌を 1 mg/100 g の割合で筋肉注射した後の血中菌数の変化を調べたところ、20°C の場合のウナギの血中では菌数が $10^4 \sim 10^5$ から 5 日後には 10^7 前後に増加したのに対し、27°C の場合には $10^5 \sim 10^6$ から 5 日後には 10^3 前後に減少していた (室賀ら, 1975)。

免 疫

徳島県、静岡県、および高知県などで分離された計 100 株の *P. anguilliseptica* とそのうちの 1 株 (徳島株) の免疫家兎血清とのスライド凝集反応を調べた結果、100 株中 99 株が陽性反応を示し、少なくとも 1 つの種共通抗原が存在することがわかった。

次に、水温と抗体産生速度の関係を知るために行なった実験結果の一部を紹介する。Fig. 3 に水温 15°C、20°C、25°C および 28°C で行なったホルマリン死菌筋肉内接種実験の結果を示した。本図に示されたように、10 日間という実験期間中では 25°C と 28°C におけるニホンウナギの抗体産生の強さおよび速さには差がみられない。そして、20°C の場合はそれらに比べてかなり遅れて抗体産生がみられ、15°C の場合は 10 日後までには凝集素抗体は確認されなかった。

予 防 対 策

原因菌 *P. anguilliseptica* はクロラムフェニコールなどいくつかの抗生物質に対しかかなり高い感受性を有するにもかかわらず、実際にはそれらの薬の経口投与による本病の治療は比較的困難とされている。その理由として、2 月あるいは 3 月のまだウナギが摂餌しない時期に本病が発生することや、また投餌を開始した後でも、赤

点症状を伴う病魚を発見した時には既に病魚は摂餌しなくなっていることなどが挙げられる。

ところで、本病の流行に関しては前述した 3 つの疫学的特徴が認められる。そこで、これらの特徴を原因菌の生理学的特性あるいは病原性実験の結果から検討してみた。

まず、本病の原因菌は 15~20°C の温度条件下では、よく増殖し、活発な運動性を示し、また生存も良好であるのに対し、温度を 20°C 以上に上昇させると本菌の生理学的活性は、増殖、運動性、生存とすべての面で、次第に低下していくことが明らかにされた。そして一方では、少なくとも 10 日間という実験期間内では 25°C と 28°C とにおけるニホンウナギの抗体産生速度には差がないことが確められた。

以上のことから本病が 20°C 以下の水温時に流行しやすく、一度発生しても水温が 27°C 以上になると自然に終息するという現象は、温度が高くなると魚側の防禦作用が高まるためというよりも、むしろ原因菌の活性が低下することに基づいて起こるものと判断された。

そして、筋肉内接種実験によっても、水温 25°C 以下の場合には接種したウナギの多くが死亡するのに対し、水温 27°C 以上では死亡するものは非常に少ないことが確認された。

次に、本菌の増殖および生存にはある程度以上の塩分が必要と認められた。特に海水ないし稀釈海水中で 200 日以上も生存したことから、本菌は海水由来のものと考えられた。そしてこのことが、徳島県の海岸近くの海水を含んだ飼育水を用いている養鰻池に本病が多発する原因となっているものと判断された。

更に、ニホンウナギとヨーロッパウナギの間には実験的に本菌に対する感受性の差があることが確められ、この差が本病がニホンウナギに多く発生し、ヨーロッパウナギに発生しにくい結果をもたらすと判断された。

以上述べたように、本病における一連の疫学的特徴は、主として原因菌の生理学的性状に基づく必然的な結果であることが確められた。

従って予防対策としては、ニホンウナギを 27°C ないしそれ以上の水温で飼育すること、あるいは完全な淡水中で飼育することが挙げられる。またニホンウナギのかわりにヨーロッパウナギを飼育することによっても本病による被害を軽減できるものと考えられる。

事実、徳島県の発病地域において、最近完全加温養殖が普及し、また一部では池水の淡水化を計り、結果的に本病の発生は次第に減少し、特にここ 2 年ばかりは本病

の発生はきわめて少なくなっている。

なお、予防免疫も本病の有望な予防対策の一つと考えられる。

引用文献

- 城 泰彦・室賀清邦・大西圭二 (1975): 養殖ウナギの赤点病に関する研究—III. ヨーロッパウナギ (*Anguilla anguilla*) における発病例. 本誌, 9, 115-118.
- 宮崎照雄・江草周三 (1977): ニホンウナギの *Pseudomonas anguilliseptica* 感染症の病理組織学的研究—I. 自然感染. 同誌, 12, 39-49.
- 室賀清邦・城 泰彦・矢野雅行 (1973): 養殖ウナギの赤点病に関する研究—I. 1972 年徳島県下の養鰻池における赤点病発生状況. 同誌, 8, 1-9.
- 室賀清邦・城 泰彦・沢田達男 (1975): 同上—II. 原因菌 *Pseudomonas anguilliseptica* の病原性について. 同誌, 9, 107-114.
- 室賀清邦・中井敏博・沢田達男 (1977): 同上—IV. 原因菌 *Pseudomonas anguilliseptica* の生理学的特性. 同誌, 12, 33-38.
- WAKABAYASHI, H. and S. EGUSA (1972): Characteristics of a *Pseudomonas* sp. from an epizootic of pond-cultured eels (*Anguilla japonica*). Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 38, 577-588.
- 安永統男 (1973): 長崎県下の養鰻場で発生した赤点病の原因菌. 本誌, 7, 134-135.

質疑応答

【問】 岡: ヨーロッパウナギが顕著な赤点症状を示さずに死亡するのは、むしろ感受性が高く症状を呈する以前に死亡するという事ではないのか?

【答】 室賀: そうとは考えられない。単に症状を示さないだけではなく、ニホンウナギの死亡率に比較してヨーロッパウナギの死亡率は現場においても、また接種実験においても低いことから、やはり感受性は低いものと

判断される。

【問】 広瀬: ヨーロッパウナギにおける本病の診断についてうかがいたい。

【答】 室賀: 体色が白っぽくなる、摂餌が不活発になるなどの変化は認められるが、ニホンウナギにみられるような特異的な赤点症状はほとんど見られないので、外観的症状からの診断は困難。

【問】 池田: 死菌接種による抗体産生の実験で、抗体価が7日目で最高になっているのはウナギの特性か?

【答】 室賀: そうとは限らない。実験水温、死菌接種の回数、アジュバント使用の有無などにより結果は異なる。

【問】 青木: 本病の感染経路についての推論を。

【答】 室賀: 本病の多発地である徳島県下の養鰻地帯では、ウナギ養殖が盛んになるにつれ、多量の地下水が使用されるようになり、その地域が海岸に近いことから地下水にかなりの塩分が含まれるようになった。その頃から赤点病が発生した事、および本病原菌が、海水由来と考えられる性質を有することから、原因菌が地下水を通じて海水から養鰻池へ持ち込まれ、ウナギに感染したものと推定される。

【問】 楠田: 菌接種後 4~5 日たってから投薬した場合の治療効果についてうかがいたい。

【答】 城: それについての実験は行っていないが、その場合はあまり効果が期待できないように思われる。

【問】 木村(北大): 1972 年に北海道の山の中にある池で赤点病が発生した。この池では寄生虫駆除のために食塩を使用しており、食塩と本病との関連は考えられるが、それを海水との関連まで考えるのはどうかと思うが。

【答】 室賀: そのウナギの由来についても調べる必要があるかと思いますが。