情 報

養殖マダイから分離された *Pasteurella piscicida* について

安永統男*・畑井喜司雄*,**・塚原淳一郎*

(昭和 58 年 7 月 11 日受理)

Pasteurella piscicida from an Epizootic of Cultured Red Sea Bream

Norio YASUNAGA, Kishio HATAI and Jun-ichiro TSUKAHARA

Lab. Aquacult., Nagasaki Pref. Inst. Fish., Nomozaki, Nagasaki Pref.,
851-05, Japan

(Received July 11, 1983)

From July through September 1982, an epizootic occurred in a population of young cultured red sea bream, *Pagrus major*, in Nagasaki Prefecture. Some moribund fish without any significant lesions (average body weight 10 g) were submitted to bacteriological examination.

The organism isolated from the kidney or spleen of the specimens was identified as *Pasteurella piscicida*. The characteristics were identical to those of the isolates from pseudotuberculosis in cultured yellowtail, *Seriola quinqueradiata*, in Nagasaki Prefecture in the period 1980-1982.

The present isolate showed pathogenicity not only for red sea bream but also yellowtail, and LD₅₀ for red sea bream was between 0.001 mg and 0.01 mg cells per fish. The injection of the isolate caused consistently white spots in the internal organs of yellowtails, whereas their formation in red sea breams was scarcely observed.

1982 年 8 月、長崎県北松浦郡小佐々町の一養殖場で飼育中の当オマダイ (*Pagrus major*) に発生した疾病について調査を行った。採取病魚について細菌検査を行ったところ、養殖ブリ (*Seriola quinqueradiata*) の類結節症の原因菌として良く知られている *Pasteurella piscicida* に同定される菌株が分離された。以下にこれらの菌株の性状および病原性などについての検討結果を紹介する。

材料および方法

菌分離用検体魚 発病がみられた養殖場には人工採苗のマダイ稚魚が 5×5×5 m (約 20,000 尾収容) または 10×10×10 m (約 40,000 尾収容) の生簀で総数約 600,000 尾が飼育されていたが、7 月下旬からへい死魚がみられはじめ 9 月上旬までに約 1% が被害をうけた。8 月 5 日ひん死状態にあった 4 尾 (平均体重約 10 g, 平均体長約 5.4 cm) を採取し菌分離に供したが、2 尾の

えらに弱い貧血がみられたほかは体表および内臓ともに特徴となるような肉眼的病変は認められなかった。なお、病魚を採取した時の生簀内の海水温は 25°C であった。

菌分離と性状検査 病魚の脾臓および腎臓から普通寒天培地 (NaCl 含量 2%) を用いて塗抹培養を行ったところ、2 尾からの塗抹平板上に同一種とみられる集落が純培養状に発育した。これらの集落の発育状態や形状から *P. piscicida* が疑われたので、抗 *P. piscicida* Ehime 血清 (宮崎大学北尾教授分与) によりスライド凝集試験を予備的に行ったところいずれも明瞭な陽性反応を示した。ついで、釣菌した 2 株について形態・生理・生化学的性状を常法に従って検査し、1980 年~1982 年に長崎県下で発生した養殖ブリの類結節症から分離された 5 株の性状と比較しつつ、同定を行った。

分離菌の病原性試験 マダイ病魚から分離された 1 菌株を実験に供した。すなわち、供試菌を普通寒天培地 (NaCl 含量 2%) で培養後生理的食塩水で湿菌 5 mg (1.7×10^9 CFU)/ml の菌浮遊液を作り供試魚の背筋内に

* 長崎県水産試験場・増養殖研究所

** 現在日本獣医畜産大学

Table 1. Characteristics of the present isolate from diseased red sea bream compared with those of *Pasteurella piscicida*

Test	Present isolate (red sea bream)	<i>P. piscicida</i> (yellowtail)
Cell-form	Short rods	Short rods
Motility	—	—
Gram staining	—	—
Bipolar staining	+	+
Growth on nutrient agar	+	+
in nutrient broth	+	+
in peptone water	+	+
on heart infusion agar	+	+
on brain heart infusion agar	+	+
on SS agar	—	—
on MacConkey agar	—	—
on Endo agar	—	—
Growth at 10°C	—	—
20°C	+	+
25°C	+	+
30°C	+	+
37°C	—	—
NaCl range	0.5–3%	0.5–3%
Cytochrome oxidase	+	+
Catalase	+	+
Hugh-Leifson test	Fermentative	Fermentative
Gas from glucose	—	—
Gelatin liquefaction	—	—
Casein digestion	—	—
Litmus milk	Acid	Acid
Indole production	—	—
Starch hydrolysis	—	—
H ₂ S production	—	—
Nitrate reduction	—	—
Urease	—	—
Ammonium production	—	—
Voges-Proskauer test	+	+
Methyl red test	+	+
Tween 80	+	+
Phenylalanine deamination	—	—
Cholera-red test	—	—
Gluconate oxidation	—	—
Gluconate utilization	—	—
Citrate	—	—
Malonate	—	—
d-Tartrate	—	—
Mucate	—	—
Propionate	—	—
Pyruvate	—	—
Glycerophosphate	—	—
Succinate	—	—
Benzoate	—	—
Chitin decomposition	—	—
Methylene blue reduction	—	—
2,3-Butanediol dehydration	+	+
Arginine hydrolysis	+	+
Arginine decarboxylation	+	+
Lysine	—	—
Ornithine	—	—
Sensitivity to 0/129	+	+
penicillin	+	+
novobiocin	+	+
chloramphenicol	+	+
tetracycline	+	+
nalidixic acid	+	+
Anti- <i>P. piscicida</i> (Ehime) serum	+	+

Table 2. Carbohydrate utilization of the present isolate from diseased red sea bream compared with that of *Pasteurella piscicida*

Test	Present isolate (red sea bream)	<i>P. piscicida</i> (yellowtail)
Acid from:		
Glucose	+	+
Fructose	+	+
Galactose	+	+
Mannose	+	+
Glycerin	—	—
Xylose	—	—
Arabinose	—	—
Rhamnose	—	—
Sucrose	—	—
Maltose	—	—
Lactose	—	—
Threhalose	—	—
Raffinose	—	—
Cellobiose	—	—
Starch	—	—
Dextrin	—	—
Inulin	—	—
Glycogen	—	—
Adonitol	—	—
Mannitol	—	—
Sorbitol	—	—
Inositol	—	—
Dulcitol	—	—
Erythritol	—	—
Salicin	—	—
Melibiose	—	—
Melezitose	—	—
Esculin	—	—

接種してコンクリート水槽内に張った小型網生簀で飼育し生死と症状を観察した。実験は8月から9月にかけて3回行った。実験1では、健康マダイ（平均体重 75 g）を5尾ずつ2区に分け、菌 1 mg または 0.1 mg をそれぞれ接種した。実験2では、健康マダイ（平均体重 72 g）を5尾ずつ3区に分け、菌 0.1 mg, 0.01 mg または 0.001 mg をそれぞれ接種した。実験3では、健康マダイ（平均体重 99 g）5尾と健康ブリ（平均体重 130 g）5尾の2区に分け、すべて菌 1 mg を接種した。各実験期間中の飼育水槽内の平均海水温は 24.8°C, 27.6°C および 24.5°C であった。

結果および考察

今回養殖マダイから分離された2株の諸性状を、近年養殖ブリの類結節症から分離された5株のそれらと対比させ表1および表2に示す。生物学的な一般性状および糖分解能ともに両者間で全く相違は認められなかった。楠田・山岡(1972)はブリ類結節症の原因菌を *Pasteurella piscicida* として報告しているが、それにしたがえば、今回分離の菌株は本菌種に同定される。マダイと近縁の魚種における本菌感染症としてはクロダイ (*Acanthopagrus schlegeli*) 稚魚での発症例 (MUROGA *et al.*, 1977; 大西ら, 1982) が知られているが、今回分離した菌株の性状とこれらのクロダイ由来株のそれとを相互に比較すると、デンプン加水分解、増殖可能塩分域および 10°C における発育などで相違した。このような性状の相違が疫学的に意義をもつものかどうかについては今後検討の余地がありそうに思われる。

今回分離した菌株について行った人為感染試験（実験1~3）の結果を表3および表4に分けて示す。マダイが *P. piscicida* に感受性をもつ魚種であることはすでに知られている（江草, 1978）が、今回の実験でマダイでの

Table 3. Susceptibility of red sea bream to the injection of the present isolate

Ave. water temperature (°C)	Ave. body weight (g)	Dose (mg cells)	Fish no. tested	Fish number died						
				Days after injection						
				1	2	3	4	5	6	7
24.8	75	1	5	1	2	2	—	—	—	—
		0.1	5	1	1	2	1	—	—	—
27.6	72	0.1	5	0	1	1	0	2	0	0
		0.01	5	0	0	0	2	2	0	0
		0.001	5	0	0	1	0	1	0	0

None of the fishes showed white spot in the internal organs throughout the test.

Table 4. Comparison in susceptibility against the present isolate between red sea bream and yellowtail

Fish		Body weight (g)	Time to death (days)	Formation of white spots in		
				Spleen	Kidney	Liver
Red sea bream	No. 1	100	7	+	±	±
	2	110	10	—	—	—
	3	100	Survived	—	—	—
	4	105	Survived	—	—	—
	5	80	Survived	—	—	—
Yellowtail	No. 1	160	4	+	+	±
	2	148	4	+	+	—
	3	82	4		Putrefied	
	4	130	4	++	+++	+
	5	140	6	+++	+++	+

Dose: 1 mg cells, average water temperature: 24.5°C.

* Symbols indicate the degree of white spot formation.

発症が実証された。へい死状況やへい死率は菌株の状態、魚体重および飼育水温などの実験条件によって若干相違しているが、表3に示した結果からは本菌のマダイに対する LD_{50} は $0.01 \sim 0.001$ mg と判断された。今回の分離菌株の病原性をブリとマダイとで比較してみると、ブリの感受性がかなり高いことが判った。また、腎・脾臓などにおける白点形成もブリでは高率であり、一部の個体では多数形成されていたが、マダイでの白点形成はきわめて低率であり、また形成されている個体でも少なかった。今回の自然発病マダイに白点が認められなかったのは幼魚期（平均体重約 10 g）に加え症状が比較的急性に経過したためかもしれない。

終りにあたり、ウサギ免疫血清を分与いただいた宮崎

大学農学部北尾忠利教授に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 江草周三 (1978): 魚の感染症. 恒星社厚生閣 (東京), 554 pp.
- 楠田理一・山岡政興 (1972): 養殖ハマチの細菌性類結節症の原因菌に関する研究—I. 形態学的ならびに生化学的性状による種の同定. 日水誌, **38** (12), 1325-1332.
- MUROGA, K., T. SUGIYAMA, and N. UEKI (1977): Pasteurellosis in cultured black sea bream (*Mylio macrocephalus*). *J. Fac. Fish. Anim. Husb., Hiroshima Univ.*, **16** (1), 17-21.
- 大西圭二・渡辺健一・城 泰彦 (1982): クロダイ稚魚のパストレラ感染症. 魚病研究, **16** (4), 207-210.