錦鯉におけるいわゆるエピスティリス病の観察

高瀬 善行・河野 薫・福井 康正・

井上 了・清水 当尚*

(昭和 47 年 12 月 16 日受理)

一昨年頃よりキンギョ、錦鯉に伝染性奇病が発生し「穴あき病」、「肉グサレ」、「エピスティリス」等と呼ばれている¹⁾。本年もそれらしい奇病により被害がかなり出ており、その為にキンギョ、錦鯉の生産業者のみならず、愛魚家の間でも、その対策に多大の関心が寄せられている²⁾³⁾。本病についてこれまでにその原因、対策等に関して種々討論された様であるけれども、その起炎因子については猶不明の点が多い様である。

今回、新潟錦鯉研究所よりそれらしい病鯉を入手する機会を得たので、その病因並びに治療法について検討を行った。以下得られた成績について報告する。

実験材料および方法

病鯉： 体長 10~20 cm の錦鯉 11 尾で、何れも体表の数ヶ所、多いものでは約 10 ヶ所に散在した充血性乃至、出血性の赤斑形成が見られるもので、その患部によっては赤斑の中心付近に白色の菌糸様物質が見られ、所謂水カビ様症状或いは白点病様症状を呈していた。1 ヶ所の患部の大きさは鱗 1 枚程度から数枚のものまで様々であった。又体表の一侧のみに患部のある魚、両側に患部のあるもの、又鰓蓋に患部のあるものもあった。その他の症状としては、全般的に鰭の損傷が目立ち、尾鰭の裂けたもの、鰭の一部が欠損したのもあった。以上の様な症状を呈するにも拘らず、病鯉の餌料摂取はかなり活発で、当方入手の翌日からキンギョ用固形餌料を与えるとよく摂餌した。又遊泳状態にも特に異状はみられなかった。しかし体表を時折水槽壁に擦り付ける泳ぎ方をする例が散見された。

起因菌検索： 患部の鱗を剝離し、寄生体の有無について観察し、菌の分離培養を試みた。菌培養には、患部を 60% エタノールで清拭の後鱗を剝離し、その深部に付着した粘液を白金耳により普通寒天平板に画線塗抹し、25° で 1 夜培養した。分離菌についてはコロニー形態観察、グラム染色、運動性、食塩要求性、糖分解その他の試験及びキンギョの筋肉内接種 (0.05 ml/fish) による病原性試験を実施した。

治療試験： 薬剤としてはニフルピリノール、ニフルピリノール・マラカイトグリーン合剤 (10:1) 並びに食塩を用いた。食塩濃度は 0.1%、ニフルピリノールおよびそのマラカイトグリーンとの合剤はニフルピリノールとして 0.05 ppm となる様に 50 l の水道水 (ハイポ添加) に溶解し供試した。食塩治療群は 2 尾を、ニフルピリノールの 2 群及び無処理対照群は夫々 3 尾を 1 群として供試した。薬浴期間は 1~2 週間、水温は期間中 27~28°C であった。猶ニフルピリノールの 2 群及び対照群については、薬浴期間中 3 日目毎に換水を行った。試験病魚は、毎日観察を行い、生死、摂餌状態、患部の肉眼所見、鰭の再生状態等を記録した。薬効は主として赤斑を呈する患部数の減少を指標として判定した。

実験結果

1) 起因菌検索

症状が著しい 2 尾を選択し供試した。患部の肉眼所見並びに顕微鏡による観察所見は次の如くであった。先づ肉眼的所見としては、鱗の周囲が発赤し、それが赤斑の様に見え、鱗は少々盛り上がり鱗表面よりむしろ内面に発赤病変が見られた。発赤症状を呈する部位の大半に水カビ様菌糸が認められた。その他の肉眼的に認められる寄生体として、魚ジラミ、イカリ虫を検出した。1 例ではイカリ虫が 10 体余り寄生していた。

* 大日本製薬株式会社総合研究所

写真 1. 病患部の鱗周辺の顕微鏡像

写真 2. 病患部鱗の顕微鏡像

写真 3. 患部における水カビ様菌糸とエビスティリス

写真 4. 患部で認められたエビスティリスの集落

イカリ虫寄生部位は殆んど例外なく、虫体周囲の魚体組織は発赤症状を呈し、それに水カビ様菌糸が付着している様な外観であった。

顕微鏡下の観察(拡大: 100~400 倍)では、単に発赤の外見を呈する患部から採取した鱗には水カビ様菌糸並びにエビスティリス様虫体はみられず、桿菌が無数に存在し、鱗の斑紋が不規則に乱れ、又鱗の一部に穿孔があった。(写真 1,2) 一方外見的に水カビ様症状を伴う発赤部から採取した鱗には、無数の桿菌と共に水カビ様菌糸及びエビスティリス様虫体が存在していた。しかし乍ら、桿菌と水カビ様菌糸は混在するか、エビスティリス様虫体の認められない患部もあった。(写真 3,4,5) エビスティリス様虫体の着生部位について詳細に観察したか、魚体組織に着生しているという確証を得ることは出来ず、何れも糸状菌々糸とエビスティリス様虫体の柄部が絡み合っている例が多かった。(写真 3,4) 鱗の一部欠損かみられた例について観察の結果、かなり多数のサイクロキータが寄生していた。発赤患部の粘液を普通寒天平板で培養した結果、白金耳による画線部に菌体の発育が認められた。菌の発育はコロニー形成をする程少数ではなく、画線部全面に菌体を形成し、且殆んど同種の菌と見做し得る外観であった。(色調、粘度等) 更にコロニー形成させて菌株の分離を試みた。その結果、色調の少々異なる2種のコロニーを形成したのでそれ等の菌の性状につき検討した。結果は表1に見られる様に、菌株Aはクラム陰性の運動性の短桿菌であること、又カタラーゼ、オキシターゼ陽性、グルコースを分解、カスを産生し、食塩無添加培地中でよく生育することから本菌はエロモナス菌と推定された⁴⁾。菌株Bはカタラーゼ陰性、グルコース非分解の2点およびVP、MR反応において菌株Aとは異なる菌であった。

両菌株のキンキョに対する病原性試験の結果は、表2に示した如く、菌株Aはかなり強い病原性を示し、フイヨン中で1夜培養した菌液の100倍希釈液を接種(生菌数 約 10^5 /fish)した際に80%の斃死が見られ、死を免れた魚は、接種部位の筋肉が脱落し、所謂「穴あき」症状を呈した。(写真6) 菌株Bは、Aに比し病原性はかなり弱かったか、接種菌量が多い場合に

写真 5. 水カビ様菌糸の認められる患部の顕微鏡像

表 1. 分離菌の性状

観 察 項 目	菌 株 A	菌 株 B
培 養 条 件	25°C 好氣的	25°C 好氣的
コ ロ ニ ー 色 調	淡黄色	極く淡黄色
コ ロ ニ ー 形 態	表面滑沢円形, 周辺やや粗	表面滑沢円形, 周辺やや粗
菌 の 形 態	短桿状	短桿状
運 動 性	+	+
グ ラ ム 染 色 性	陰性	陰性
MR	—	+
VP	+	—
チ ト ク ロ ー ム ・	+	+
オ キ シ ダ ー ゼ	+	—
カ タ ラ ー ゼ	+	—
イ シ ン ド ー ル	+	+
グ ル コ ー ス 分 解	+	—
ガ ス	+	—
ク エ ン 酸 利 用	+	+
硫 化 水 素 産 生	+	+
乳 糖 分 解	±	±
食 塩 0%	よく生育	よく生育
0.5%	よく生育	よく生育

は斃死並びに「穴あき」症状が見られた。両菌株の抗菌剤に対する感受性試験の結果は表 3 に見られる様に、菌株 A ではニフルピリノールおよびクロラムフェニコールに良好な感受性を示した。B 菌株は A とは少々異なる薬剤感受性を示した。

2) 治療試験

ニフルピリノール、ニフルピリノール・マラカイトグリーンおよび 0.1% 食塩水による連続薬浴効果につき検討した結果を表 4 に示した。表に見られる様に、非薬浴対照群では、7 日後に自然治癒傾向を示し、14 日後には外見的に殆んど異常なく、症状は自然に消失していた。食塩水浴群では、7 日後に症状が悪化の傾向を示し、体表の発赤患部数は当初よりも稍々増加したので、8 日目以後は食塩水浴を中止し、非薬浴対照群の水槽中に病魚を移し、更に 7 日間の観察を行った。その結果、1 尾は 10 日目に斃死したが、残り 1 尾は 14 日目には殆んど治癒した。ニフルピリノールおよびニフルピリノール+マラカイトグリーンの両薬浴群は、何れもかなり速やかな治癒経過で、当初見られた 1 尾当たり数個以上の発赤患部は、7 日後には 1~2

表 2. 分離菌 (A および B) のキンギョに対する病原性

菌 株	接種菌量* (希釈倍数)	観 察 日 数								死亡率 (%)
		0	1	2	3	4	5	6	7	
A	菌原液	11**	2	0	—	—	—	—	—	100
	×3	3	2	0	—	—	—	—	—	100
	×10	6	4	0	—	—	—	—	—	100
	×30	6	5	2	—	—	—	—	—	100
	×100	6	6	1	1	1	1	1	①	83
	×300	3	3	2	2	2	2	2	①	67
	×1000	3	3	2	2	2	2	2	②	33
B	菌原液	11	3	2	2	0	—	—	—	100
	×3	3	3	2	1	1	1	1	①	67
	×10	3	3	1	1	1	1	1	①	67
	×30	3	3	3	3	3	3	3	3	0
	×100	3	3	3	3	3	3	3	3	0

* 中性ブイヨン中 25°C 1夜培養の菌液を原液として、同培地にて希釈し筋肉内接種した。接種菌液量は 0.05 ml/fish であった。

** 生存尾数

○: 接種部位の筋肉脱落症状を呈する例。

写真 6. Strain A の筋肉内接種により「穴アキ」症状を呈したキンギョ

表 3. 分離菌の薬剤感受性

薬 剤	菌 株	
	A	B
Nifurpirinol ^(*)	1*	3
Nitrofurazone**	10	10
Furazolidone	10	10
Tetracycline	30	100
Chloramphenicol	1	30
Malachite green	30	10

* 中性ブイヨン寒天での MIC: $\mu\text{g/ml}$

(*) 商品名: フラネース

** 商品名: モナフラシン

表 4. いわゆるエピスティリス症状を呈する錦鯉に対する薬浴効果の試験

薬 剤	薬浴濃度, 期日	観 察 日 数					生存率 (%)	発赤患部数/尾数		
		0	3	5	7	14		当初	7日後	14日後
ニフルピリノール	0.05 ppm, 14日	3*	3	3	3	3	100	19/3	7/3	2/3
ニフルピリノール + マラカイトグリーン	0.05 ppm,** 14日 (0.005 ppm)	3	3	3	3	3	100	30/3	3/3	0/3
食 塩	0.1% 7日	2	2	2	2	1	50	14/2	16/2	4/1
無処理対照	— —	3	3	3	3	3	100	20/3	10/3	0/3

* 生存尾数

** ニフルピリノールの濃度, () 内はマラカイトグリーンの濃度

個に減少した。この時点で多数のイカリ虫が寄生していたことを発見し、虫体を抜去した。その後更に7日間の薬浴により、斃死もなく病魚は略々回復した。

考 察

所謂エピスティリス症とは如何なる症状であるのか、それに関して十分な知識を持たないが今回の供試魚はそれに近い症状を呈するものと見做した場合、これまでに報告されているキンギョにおける「肉グサレ」或いは「穴アキ病」とはかなり異なる症状であった。一般に錦鯉において認められている症状は、局所的な水カビ感染症に類似したものが多くキンギョにおける症状とはかなり異なるとされている見解³⁾と一致している。

患部の顕微鏡による観察でエピスティリス様虫体は必ずしも病患部全域に亘り存在するのではなく、一部の病患部に局在していた。何れの病患部にも常に共通して存在していたのは多数の桿菌であった。次いで高頻度に認められたのは糸状菌々糸であった。その他の寄生体として、サイクロキータ、イカリ虫及び魚ジラミが多く認められた。その内、イカリ虫については当初糸状菌々糸並びにエピスティリス様虫体の蔭になり、その存在は見落されていたが、薬浴により、所謂エピスティリス症状の軽快の後、寄生を確認したもので、多い例では1尾当たり10体のイカリ虫が穿刺していた。

患部から分離されたグラム陰性桿菌は2種類であったが、量的に多数を占めていたのはエロモナス菌と推定される菌株Aであった。本菌のキンギョに対する病原性はかなり強く、致死毒性と筋肉壊死毒性を有することが観察された。

以上得られた成績から今回の供試魚の感染経過を次の様に推定出来る；最初の寄生体は魚ジラミ、イカリ虫又はサイクロキータであって、それ等により体表に傷が出来た為に運動性グラム陰性桿菌が感染し、発赤および浮腫症状を呈する様になり、更に水生菌並びにエピスティリス様虫体が付着したものであろう。これまでに余り問題とされていなかったエピスティリス様虫体が、一昨年から突然増えて来た理由については不明である。しかし乍ら、これまでも同様の虫体が魚体に存在していたことは知られているが、魚に対する病原性の確認されたものは知られていない⁴⁾。今回の供試魚においても、患部のすべてにエピスティリス様虫体が存在していたのではなく、むしろその1部にのみ見られたことより、若しエピスティリス様虫体を本症の原因と見做した場合、非寄生部位の病因を他に求めねばならないという矛盾が生じる。

一方治療試験において、0.1%食塩水浴では却って症状の悪化がみられた。ニフルピリノール薬浴により、症状の早期寛解傾向がみられたことより本症の治療に抗菌剤が有効であることが示唆された。

終りに、本研究に際し、病鯉の入手に御尽力を賜った全日本愛鱗会々長黒木健夫先生並びに病鯉を恵送戴きました新潟錦鯉研究所、村川俊雄所長に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 緑書房編集部：金魚、錦鯉に伝染病が発生、原因対策情報交換討論、養殖、10、96 (1972)。
- 2) 村川俊雄：エピスティリスコイの恐怖、錦鯉、7月号、13 (1972)。
- 3) 小池寿幸：エピスティリス菌および併発症の対策について、鱗光、No. 58-11-7、18 (1972)。
- 4) 江草周三：運動性エロモナス菌について、魚病研究、2(1)、36 (1967)。
- 5) C. van Duijn Jnr.: Harmless Organism on the Skin, Disease of Fishes, 2nd Ed. p 71.

Observation of Epistylis Disease in colour carp

Yoshiyuki TAKASE, Kaoru KOUNO, Yasumasa FUKUI,
Satoru INOUE and Masanao SHIMIZU

(Dainippon Pharmaceutical Co. Ltd., Research Laboratories)

The colour carp with the so-called Epistylis Disease which were sent from Niigata Colour-Carp Research Institute to our laboratory were submitted to study the causative organism and the way of treatment.

Red spots and/or suppurative wounds amounted to 5 or more per fish were present on the body surface of the diseased fish. The red spots showing haemorrhagic swelling were 5—20 mm in diameter size. A large number of rod bacteria was present in all of the wounds, and also water molds and Epistylis like bell animalcula were found in several wounds, occasionally. Two strains of gram-negative bacteria (strain A and B) which were virulent to goldfish were isolated from the wounds. The strain A, *Aeromonas* like, was a major bacterium, and the strain B of a minor bacterium differed from the member of *Aeromonas* or *Vibrio*. Both strains were sensitive to nifurpirinol, and rather resistant to tetracycline and malachite green.

The majority of red spots and wounds disappeared within 7 days following the continued bathing in 0.05 ppm of nifurpirinol. From the results obtained, it was considered that *Aeromonas* like bacterium participated as a causative organism in this case.