養殖アユの連鎖球菌症とビブリオ病に対する投薬の影響

楠田 理一・杉山 昭博・川合 研児

(1981 年 5 月 11 日受理)

Influence of Medication on Streptococciosis and Vibriosis in Cultured Ayu

Riichi KUSUDA*, Akihiro SUGIYAMA*, and Kenji KAWAI*

In ayu *Plecoglossus altivelis* fish farms throughout the country, the outbreak of streptococciosis has recently become a problem especially to fish culturists and investigators. In this paper which deals with the investigation, infected ayu samples were collected periodically from the ponds of a farm, and the incidence of streptococciosis and vibriosis were examined with the lapse of time. Influence of medication on the outbreak of both diseases and mortality of the infected fish were investigated.

The result shows that the outbreak of streptococciosis and vibriosis does not occur simultaneously in every pond. In one case, treatment with a dose of suppressive drugs of vibriosis shows increase in the outbreak of streptococciosis, but decrease in vibriosis. On the other hand, after a dose of suppressive drugs of streptococciosis was applied, the vibriosis spread increasingly while the streptococciosis decreased in each pond.

近年、全国各地のアユ養殖場において連鎖球菌症が多発して大きな被害を与えている。原因菌の *Streptococcus* sp. は水産薬として市販されている薬剤に対して感受性が低く、これらの薬剤投与による治療効果はほとんど認められていない。したがって、各養殖場においては本症の対策に苦慮しているのが現状である。

魚類における連鎖球菌症の研究はハマチでは比較的に詳しく行なわれているが、¹⁻⁹⁾ アユにおいては KITAO ら⁹⁾ の原因菌の性状に関する研究、楠田ら¹⁰⁾ の原因菌の病原性に関する研究、杉山ら¹¹⁾ の原因菌のアユ体内における動態に関する研究があるにすぎない。

一般に養殖アユにおける連鎖球菌症はビブリオ病と併発することが多く、ビブリオ病に対する化学療法後に被害の増加する傾向が認められている。そこで、本研究では高知県下のアユ養殖場を1か所選定し、各飼育池ごとの斃死魚における連鎖球菌症とビブリオ病の出現率を調査するとともに、斃死率と両疾病の出現率に及ぼす投薬の影響についても検討した。

実験方法

養殖場および飼育池の選定 1980 年 7 月中旬から 8 月上旬にかけて、高知県南国市にあるすべてのアユ養殖場を対象とした連鎖球菌症とビブリオ病の発生状況調査を行ない、両疾病の確認された養殖場のうちから被害の

比較的大きい養殖場を選び、1980 年 8 月 14 日から 9 月 30 日にかけて調査した。選定した養殖場の見取図は Fig. 1 に示すとおりで、連鎖球菌症とビブリオ病の出現率の調査には No. 1 から No. 15 までの 15 飼育池を、斃死率と両疾病の出現率に及ぼす投薬の影響調査には No. 1, No. 5, No. 13, No. 14 および No. 15 の 5 飼育池を用いた。

連鎖球菌症とビブリオ病の出現率 斃死魚における連鎖球菌症とビブリオ病との出現の比率は、各飼育池とも 10 日ごとに各 10 尾ずつを採集し、細菌学的検査の結果から求めた。しかし、No. 13 の飼育池のみは原則として 5 日ごとに調査した。なお、斃死魚がでない場合や、池換えて採集できない場合もあって、調査期間中の総調査斃死魚数は 675 尾となり、これらの平均体重は 41.7 g であった。また、調査した斃死魚についてはすべて外見的な症状を記載した。

細菌学的検査は斃死調査魚の腎臓から菌を分離して行なった。分離菌は 0.5% 食塩加普通寒天 (日水) を用いて、25°C で 24 時間培養し、生物学的ならびに生化学的性状検査による属の同定と、家兎抗血清による血清学的性状を調べて種を同定した。

斃死率と両疾病の出現率に及ぼす投薬の影響 本調査の対象とした 5 飼育池における毎日の斃死重量を記録し、日間斃死率を求めた。なお、各池ごとの日間斃死率

* 高知大学農学部水族病理学講座 (Fish Disease Laboratory, Faculty of Agriculture, Kochi University, Nankoku, Kochi 783, Japan).

は飼育池の現存量 100 kg に対する 1 日の斃死重量で表わし、現存量は飼育開始時の重量に給餌量から求めた増重量を加え、累積斃死重量を差引いて概算した。連鎖球菌症とビブリオ病の出現率は前項の調査結果を使用した。投薬した薬剤名と投薬回数は養殖業者の記録した養魚日誌によった。なお、調査飼育池ごとの分離株に対する投薬した薬剤の感受性についても調査した。これらの薬剤に対する感受性は日本化学療法学会の標準法による最小発育阻止濃度 (MIC) を測定して求めた。

結 果

連鎖球菌症とビブリオ病の出現率 供試魚 675 尾のうち、*Streptococcus* sp. と *Vibrio anguillarum* が純培養状に検出された個体はそれぞれ 442 尾と 191 尾で、それぞれの検出率は 70% と 30% であった。なお、両菌が混合して検出された個体はわずかに 16 尾で全体の 2.5% にあたり、両菌とも検出できなかった個体は 42 尾であった。

実験期間中の各飼育池における連鎖球菌症とビブリオ病の出現状況は Fig. 1 に示すとおりで、両疾病による斃死魚の出現率は飼育池ごとに異なっている。そして、No. 6, No. 7, No. 10 の各飼育池では連鎖球菌症のみが、No. 3, No. 4, No. 5, No. 8, No. 12 の各飼育池では連鎖球菌症とビブリオ病が、No. 1, No. 3, No. 9, No. 11, No. 13, No. 14, No. 15 の各飼育池では連鎖球菌症、ビブリオ病および両疾病の合併症が流行しており、それぞれの飼育池ごとで独立した感染形態が認められた。

本調査で観察された養殖アユの連鎖球菌症とビブリオ病の外見的症状はよく類似しており、眼球の突出と出血、鰓蓋外側および内側の出血、各鰭基部の発赤と出血、腹部の点状出血、肛門の開口と発赤、腹腔内壁の出血、肝臓のうっ血および腸管の充血などの共通した症状が認められた。これらのうち、眼球の突出は連鎖球菌症斃死魚では 34% に、ビブリオ病斃死魚では 11% に認められ、前者は後者に比べて高い出現頻度であった。そのほかのおもな症状では、連鎖球菌症斃死魚においては腹腔内壁の出血が 29%、鰓蓋内側の出血が 20%、腹部の点状出血が 14% に認められたが、ビブリオ病斃死魚ではそれぞれ 6%、5% および 3% に認められたのみであった。

斃死率と両疾病の出現率に及ぼす投薬の影響 No. 1 の飼育池における斃死率および両疾病の出現率と投薬の関係は Fig. 2 に示すとおりである。No. 1 飼育池は 8 月 27 日に No. 8 飼育池からアユを池入れし、9 月 25 日まで飼育されたものである。斃死率は池入れ直後からかなり高い値を示し、9 月 4 日にピークがみられた。その後の斃死率は低下し、9 月 15 日から 20 日までのオキシリン酸投薬後には約 0.5% に減少した。連鎖球菌症とビブリオ病の出現率は池入れ前の No. 8 飼育池における 8 月 26 日の調査では 40% と 60% であったが、池入れ後の 9 月 5 日には 60% と 40% になり、連鎖球菌による斃死率が多少増加する傾向にあった。しかし、その後は逆にビブリオ病が増加して斃死率が 80% となり、連鎖球菌症では 20% まで減少した。9 月 15 日から 6

Fig. 1. Changes of the outbreaks of streptococcosis and vibriosis in each pond at the ayu sampling site.

□, streptococcosis; ▨, vibriosis; ▩, streptococcosis and vibriosis.

Fig. 2. Relation of the changes of mortality, incidence of streptococciosis and vibriosis and chemotherapy in No. 1 pond.

○, streptococciosis: ●, vibriosis: OA, oxolinic acid.

Fig. 3. Relation of the changes of mortality, incidence of streptococciosis and vibriosis and chemotherapy in No. 5 pond.

○, streptococciosis: ●, vibriosis: OA, oxolinic acid: EM, erythromycin.

日間のオキシリン酸連続投与により、投薬後の9月25日には斃死率が連鎖球菌症では100%、ビブリオ病では0%となり、投薬前の両疾病の出現率が逆転した。なお、9月14日および25日に分離した *Streptococcus* sp. と *V. anguillarum* に対するオキシリン酸の MIC はそれぞれ 100 $\mu\text{g/ml}$ と 0.39 $\mu\text{g/ml}$ であった。

No. 5 飼育池における斃死率および両疾病の出現率と投薬の関係は Fig. 3 に示すとおりである。なお、No. 5 飼育池は7月から飼育されていたアユを8月22日にすべて出荷したのちに、8月26日に新たに No. 8 飼育池から池入れをして9月25日まで飼育されたものである。斃死率は8月22日までの飼育魚では低いが、8月26日に池入れされたアユではその直後から高い値を示し、9月1日にはピークの4.0%となった。その後もあまり低下せずに推移し、9月15日から19日までのオキシリン酸投薬後においても約1%の斃死が続いた。なお、池入れ直後のエリスロマイシン1回投薬による斃死率の低下はほとんど認められなかった。連鎖球菌症とビブリオ

病の出現率は池入れ前の No. 8 飼育池における8月26日の調査では、それぞれ40%と60%であったが、池入れ後の9月5日にはエリスロマイシン1回投薬で、連鎖球菌が減少してビブリオ病が増加し、それぞれ10%と90%になった。また、オキシリン酸投薬前の9月14日にはそれぞれ20%と80%であったが、投薬によってビブリオ病が減少して連鎖球菌症が増加し、それぞれ100%と0%になった。なお、8月26日および9月5日に分離した *Streptococcus* sp. と *V. anguillarum* に対するエリスロマイシンの MIC はそれぞれ 0.05 $\mu\text{g/ml}$ と 50 $\mu\text{g/ml}$ で、9月14日および25日に分離した両菌株に対するオキシリン酸の MIC はそれぞれ 100 $\mu\text{g/ml}$ と 0.39 $\mu\text{g/ml}$ であった。

No. 13 飼育池における斃死率および両疾病の出現率と投薬の関係は Fig. 4 に示すとおりである。No. 13 飼育池は7月から飼育していたアユを8月10日にすべて出荷したのちに、8月11日に新たに No. 14 飼育池から池入れをして、毎日少しずつ出荷しながら9月末まで

Fig. 4. Relation of the changes of mortality, incidence of streptococciosis and vibriosis and chemotherapy in No. 13 pond.

○, streptococciosis: ●, vibriosis: OA, oxolinic acid.

Fig. 5. Relation of the changes of mortality, incidence of streptococciosis and vibriosis and chemotherapy in No. 14 pond.

○, streptococciosis: ●, vibriosis: EM, erythromycin: OA, oxolinic acid.

飼育されたものである。なお、8月26日から9月9日までの死亡率は出荷作業のために記録されていない。死亡率は8月14日頃から増加して21日にはピークの1.5%となったが、オキシリン酸の7日間の投薬により、その後は低下した。しかし、9月10日頃から再び増加して9月11日には1.1%の死亡率となったので、9月12日から6日間にわたるオキシリン酸の投薬が行なわれた。その結果、死亡率の低下がみられ0.1%以下となったが、9月25日以降は再び増加した。連鎖球菌症とビブリオ病の出現率はオキシリン酸投薬前の8月16日にはそれぞれ0%と70%であったが、投薬によってビブリオ病が減少し、8月26日にはそれぞれ50%と40%になり、両疾病の出現率は逆転した。9月10日には連鎖球菌症の減少とビブリオ病の増加する傾向がみられたが、12日からのオキシリン酸の投薬で連鎖球菌症が増加し、ビブリオ病が減少した。なお、オキシリン酸の *Streptococcus* sp. と *V. anguillarum* に対する MIC はすべての分離菌株で同じ値となり、それぞれ 50 µg/ml

と 6.25 µg/ml であった。

No. 14 飼育池における死亡率および両疾病の出現率と投薬の関係は Fig. 5 に示すとおりである。なお、No. 14 飼育は7月に池入れ後9月末日まで継続して飼育されたものであるが、成長に伴って8月11日には一部のアユが No. 13 池に分養された。死亡率は8月15日頃から増加し、19日にはピークの1.0%となった。その後は低下する傾向にあったが、連鎖球菌による死亡率が高いために、8月27日から5日間にわたってエリスロマイシンが投薬され、その結果、死亡率は0.2%に低下した。しかし、9月1日頃からビブリオ病によって再び死亡率が増加し、9月6日と11日には約0.8%となった。9月12日から5日間のオキシリン酸投薬によって死亡率はかなり低下し、0.1~0.2%となった。連鎖球菌症とビブリオ病の出現率は8月16日および26日の調査では前者がいずれも90%で、後者がそれぞれ0%と10%であった。しかし、エリスロマイシン投薬後の9月5日における出現率は連鎖球菌症が0%に減少し、ビブリオ

Fig. 6. Relation of the changes of mortality, incidence of streptococciosis and vibriosis and chemotherapy in No. 15 pond.

○, streptococciosis: ●, vibriosis: OA, oxolinic acid: OTC, oxytetracycline.

病が 100% を占めるようになり、投薬前後の出現率が逆転した。また、9 月 12 日から 5 日間のオキシリン酸の投薬で再び連鎖球菌症が増加し、9 月 25 日には連鎖球菌症が 100% を占め、ビブリオ病は認められなくなった。なお、8 月 26 日と 9 月 5 日に分離した *Streptococcus* sp. と *V. anguillarum* に対するエリスロマイシンの MIC はそれぞれ 0.10 $\mu\text{g/ml}$ と 50 $\mu\text{g/ml}$ であった。また、9 月 12 日、14 日および 25 日に分離した両菌株に対するオキシリン酸の MIC はそれぞれ 100 $\mu\text{g/ml}$ と 6.25 $\mu\text{g/ml}$ であった。

No. 15 飼育池における斃死率および両疾病の出現率と投薬の関係は Fig. 6 に示すとおりである。なお、No. 15 飼育池は 7 月から飼育していたアユを 8 月 7 日にすべて出荷したのち、8 月 10 日に新たに No. 13 飼育池から池入れをして 9 月末日まで飼育されたものである。斃死率は池入れ直後から増加して 8 月 17 日にはピークの 0.75% となった。8 月 16 日から 22 日までの 7 日間にわたるオキシリン酸とオキシテトラサイクリンの投薬によって、斃死率の著しい低下がみられ 0.1% 以下となった。しかし、9 月 5 日頃から斃死率は再び増加して 11 日には 1.1% となった。そこで、9 月 12 日から 6 日間にわたってオキシリン酸が投薬され、斃死率は再び低下して 0.1% 以下となった。両疾病の出現率を比較すると、オキシリン酸投薬前の 8 月 14 日にはビブリオ病が 100% を占めていたが、投薬開始直後の 16 日からはビブリオ病が減少し始め、26 日には逆に連鎖球菌症が 100% を占めるようになり、ビブリオ病は認められなくなった。また、9 月 5 日における両疾病の出現率は連鎖球菌症が 87% で、ビブリオ病が 13% であった。9 月 10 日頃からビブリオ病の増加する傾向が認められ、それに対して 12 日からオキシリン酸が投与された結果、投薬後の 9 月 25 日にはビブリオ病は減少して 0% となり、逆に連鎖球菌症が増加して 90% となった。なお、

オキシリン酸の *Streptococcus* sp. と *V. anguillarum* に対する MIC はすべての分離株で同じ値となり、それぞれ 50 $\mu\text{g/ml}$ と 6.25 $\mu\text{g/ml}$ であった。また、オキシテトラサイクリンの両菌株に対する MIC はいずれに対しても同じ値の 0.39 $\mu\text{g/ml}$ であった。

考 察

本研究の結果、アユの連鎖球菌症とビブリオ病は同一の飼育池内において併発する場合の多いことが観察され、感染病死魚からはそれぞれの病原菌のみが純培養状に検出される個体が大部分を占め、両菌の混合して検出される個体は極めて少ないことが明らかにされた。これらの原因はアユの両疾病原因菌に対する感受性が、ほかの魚種に比較して極めて高い¹⁰⁾のために、それぞれの原因菌に感染した個体が二次感染を許すまでに斃死してしまうためと思われる。なお、両疾病の外見的症状はよく類似していることが明らかにされたので、両疾病ならびに両疾病の混合感染症の診断には、外見的症状の観察のみでなく、細菌学的検査を併用すべきである。

今回の調査で供試した 675 尾のうち、*Streptococcus* sp. および *Vibrio anguillarum* が純培養状に検出された個体は 442 尾および 191 尾で、それぞれの検出率は 70% と 30% になり、連鎖球菌症によって斃死した個体の多い結果が得られた。両疾病の原因菌の病原性については、楠田ら¹⁰⁾によって *Streptococcus* sp. よりも *V. anguillarum* のほうが強いことが報告されており、同一の飼育池で両疾病が併発した場合には、連鎖球菌症よりはビブリオ病による斃死魚の占める比率が高くなるように思われる。しかし、本調査においては逆に連鎖球菌症による斃死魚が 70% を占めたが、これらの原因については両疾病に対する投薬の影響が考えられる。すなわち、ビブリオ病による斃死が増加した場合にはオキシリン酸などビブリオ病の抑制剤が、連鎖球菌症による斃死が増加

した場合にはエリスロマイシンなど連鎖球菌症の抑制剤が投薬されており、これらの投薬の結果が両疾病の出現率に関与しているものと思われる。そして、両疾病に対する化学療法剤の使用頻度と有効性の差異によって、病原性の弱い連鎖球菌による斃死のほうがビブリオ病によるものよりも多い結果になったのではないかと考えられる。なお、両疾病の発生状況は各飼育池ごとに異なっており、これらの原因も投薬による影響ではないかと考えられる。

次に各飼育池ごとの斃死率および両疾病の出現率について検討する。

No. 1 飼育池におけるアユの池入れ直後の高い斃死率は、両疾病の原因菌である *Streptococcus* sp. と *V. anguillarum* を保菌していたアユが、移動によるストレスで発病あるいは感染して、大量に斃死したものと思われる。本飼育池においても、オキシリン酸の投薬によって斃死率は低下し、ビブリオ病に対する治療効果が認められたが、その後は連鎖球菌症が増加し、菌交代症によって投薬の効果が弱められている。なお、菌交代症の原因としては両疾病の原因菌に対するオキシリン酸の感受性の相違が原因すると考えられる。

No. 5 飼育池ではアユの池入れ後に No. 1 飼育池と同様の高い斃死率が認められた。本飼育池においてはビブリオ病による斃死率が高いにもかかわらず、連鎖球菌症の抑制剤であるエリスロマイシンが選択され、1 回のみの投薬が行なわれている。その結果、連鎖球菌症は減少したもののビブリオ病が増加して、斃死率はあまり低下しないで推移した。そこで、オキシリン酸が投薬されてビブリオ病の減少がみられたが、逆に連鎖球菌症が増加したために、全体の斃死率の顕著な低下はみられなかったものと推定される。

No. 13 飼育池ではアユの池入れに後高い斃死率が認められたので、オキシリン酸が投与されたが、斃死率の急激な低下は認められなかった。本飼育池から分離された *V. anguillarum* のオキシリン酸に対する感受性は、ほかの飼育池から分離された菌株にくらべて低く、そのために投薬によるビブリオ病の急激な減少がみられなかったのではないかと考えられる。また、本飼育池におけるオキシリン酸の投与量はほかの飼育池にくらべて多少少なくなっており、このこともビブリオ病の抑制効果を弱める原因となっているものと思われる。なお、9 月 10 日から 20 日にかけての高い斃死率の原因はオキシリン酸の投薬抑制効果が認められているので、ビブリオ病によるものであろう。また、オキシリン酸投薬後の 9 月 25 日から再び斃死率の増加がみられているが、これは連鎖球菌による斃死であると考えられる。

No. 14 飼育池では 8 月 15 日から 30 日にかけて高い

斃死率がみられたが、これは 8 月 11 日に一部のアユを分養したための作業によるストレスが原因するものと思われる。そして、連鎖球菌症とビブリオ病の出現率から考えて、これらのアユに連鎖球菌症が発生し、斃死率を増加させたものと思われる。8 月 27 日からのエリスロマイシンの投薬で斃死率は低下したが、9 月 1 日からは再び増加している。この原因は両疾病の出現率から考えて、ビブリオ病の発生によるものと思われ、9 月 12 日からのオキシリン酸の投薬で抑制効果が認められている。

No. 15 飼育池における池入れ直後の高い斃死率は移動に伴うストレスによって、ビブリオ病が急激に発生したためと思われる。これらの斃死は 8 月 16 日から 22 日にかけてのオキシリン酸とオキソテトラサイクリンの投薬によって減少した。また、9 月 5 日頃からの斃死率の増加はビブリオ病の発生によるものと思われ、オキシリン酸の投与で斃死率は低下した。なお、本飼育池においては連鎖球菌症がかなり高い出現率で推移したにもかかわらず、斃死率の変化にはほとんど関与しておらず、連鎖球菌症による斃死はアユの健康状態と密接な関係があることが示唆された。

以上のように、ビブリオ病の抑制剤が投薬された場合には連鎖球菌症が増加し、連鎖球菌症の抑制剤が投薬された場合にはビブリオ病が増加することから、投薬によって両疾病の出現率に変化が起るものと思われる。

要 約

養殖アユにおける連鎖球菌症とビブリオ病は併発することが知られている。そこで、本研究では高知県下のアユ養殖場を 1 カ所選定し、各飼育池ごとの斃死魚における連鎖球菌症とビブリオ病の出現率を調査するとともに、斃死率と両疾病の出現率に及ぼす投薬の影響についても調査した。その結果、連鎖球菌症とビブリオ病の発生状況は各飼育池で異なり、飼育池ごとに独立した感染形態の存在することが認められた。また、オキシリン酸やオキソテトラサイクリンを投薬した場合にはビブリオ病の発生が抑制されて連鎖球菌症が増加し、エリスロマイシンを投薬した場合には連鎖球菌症の発生が抑制されてビブリオ病が増加することが認められた。すなわち、投薬によって両疾病の出現率に変化が起るものと思われる。

終わりにあたり、本研究にご協力いただいた高知県内水面漁業センターの稲田善和主任研究員に対して厚くお礼を申し上げます。

文 献

- 1) 楠田理一・川合研児・豊嶋利雄・小松 功：日水誌，**42**，1345-1352 (1976).
- 2) 楠田理一・小松 功：日水誌，**44**，1073-1078 (1978).
- 3) R. KUSUDA and H. KIMURA: *J. Fish Diseases*, **1**, 109-114 (1978).
- 4) H. KIMURA and R. KUSUDA: *J. Fish Diseases*, **2**, 501-510 (1979).
- 5) 見奈美輝彦・中村正夫・池田弥生・尾崎久雄：魚病研究，**14**，33-38 (1979).
- 6) 見奈美輝彦：魚病研究，**14**，15-19 (1979).
- 7) 北尾忠利・青木 宙・岩田一夫：日水誌，**45**，567-572 (1979).
- 8) 塩満捷夫・楠田理一・大須賀穂作・宗清正広：魚病研究，**15**，17-23 (1980).
- 9) T. KITAO, T. AOKI, and R. SAKOH: *Fish Pathol.*, **15**, 301-307 (1981).
- 10) 楠田理一・杉山昭博・川合研児・稲田善和・米田 実：日水誌，**47**，993-997 (1981).
- 11) 杉山昭博・楠田理一・川合研児・稲田善和・米田 実：日水誌，**47**，1003-1007 (1981).