人為経口感染におけるハマチの連鎖球菌症の経過

谷 口 道 子*

(1982 年 11 月 18 日受理)

Progress of Streptococciosis of Yellowtail in Peroral Inoculation

Michiko TANIGUCHI

To clarify the process of streptococciosis of yellowtail, the symptom, pathogen incidence, and mortality were recorded with time elapse using peroral inoculation of the bacteria. The incubation period was usually one to 3 days, rarely within one day. The pathogen increased tremendously to more than 10^4 cfu/g on the 4th or 5th day after inoculation, when viable bacteria were counted in the blood and liver of the inoculated fish.

The symptoms usually appeared more than 3 days after inoculation except redness inside the operculum, which often appeared within a day after inoculation. The seriously infected and dead fish were usually observed on the 5th day after inoculation. There was little time lag between the spread of pathogen to the different organs and the appearance of symptoms. The progress of the disease was very variable. Some inoculated fish died within a few days after the symptoms appeared while others died soon after the symptoms appeared. Some inoculated fish also recovered before showing serious symptoms.

The inoculated fish reared under good environmental conditions and given high quality food were not seriously infected. They tend to be more resistant to the disease, however, it was still not possible to prevent the occurrence of the disease. On the other hand, the inoculated fish reared in poor environmental conditions and fed with low quality food soon died after the appearance of serious symptoms.

これまでに、ハマチの連鎖球菌症について、病原細菌を投与する手法を工夫することによって、自然発症魚と同様の症状を人為的に出現させることに成功した。¹⁾ この手法を用いて、本病の発病要因について多面的に検討してきたが、^{2,3)} 予防対策を考えるうえで重要である疾病の経過に関する究明は、まだ十分とは言えない。そこで、本報では、病原細菌投与後、菌検出率、発症率、へい死率などを経時的に観察し、それらの推移から、人為経口感染における本病の経過を知ろうとした。さらに、餌料や海水交換などの飼育・感染条件の異なる試験区間で実験結果を比較し、疾病の経過と抵抗性との関連について考察を行った。

実験方法

供試魚 前報¹⁾と同様にして養成した後、以下のような餌料区にわけて一定期間飼育したハマチ *Seriola quinqueradiata* を用いた。Exp. 1 では、前報²⁾と同様の変敗カタクタイワシを用い、解凍区、解凍後水洗区、総合ビタミン剤添加解凍区、非解凍区にわけ、1ヶ月間飼育した。Exp. 2 では、総合ビタミン剤添加非解凍オ

オナゴ区と解凍マイワシ区を設け、3週間飼育した。

感染方法および菌液の調整 前報¹⁾で述べた方法によった。ただし、Exp. 2 では、菌投与後の環境条件を、総合ビタミン剤添加非解凍オオナゴ区は流水とし、解凍マイワシ区は止水とした。水温は、Exp. 1, 2 ともに、いずれの区も 20°C 前後に保った。

菌投与方法 前報¹⁾で述べた餌料魚の皮下に菌液を注入して投与する方法によった。ただし、菌投与に用いる餌料は、Exp. 1 では、解凍して切身にしたカタクタイワシをすべての区に、Exp. 2 では、飼育に用いたものと同様の餌料をそれぞれの区に用いた。投与菌量は、Exp. 1 がハマチ 1 尾あたり 6.0×10^9 cfu, Exp. 2 が 9.0×10^9 cfu であった。菌株は St. 36 を用いた。

経過の観察 Exp. 1 では、菌投与後 1, 3, 5, 8 日目に 5 尾ずつ、Exp. 2 では、6, 24, 96, 192 時間後に 6 尾ずつ、生残魚の中から無作為に取りあげて検査に供し、菌検出率、高濃度菌検出率、発症率、重症率、へい死率を求めた。発病の判定、菌検出は、前報¹⁾で述べた方法によった。さらに、前報³⁾と同様、1 個体に 3 ケ所もしくは 3 様以上の病徴がある場合を重症魚とし、これが供

* 高知県内水面漁業センター (Kochi Pref. Freshwater Fish. Lab., Tosayamada, Kochi 782, Japan).

試魚に占める割合をもって重症率とした。また、病原細菌が、血液または臓器 1 g あたり 10^4 cfu 以上検出された個体を高濃度菌検出個体とし、これが供試魚に占める割合をもって高濃度菌検出率とした。ただし、本報告の場合、このようにして得た各項目の比率は、生残魚に対するものである。へい死魚をも含めた全体の中での各項目

目の比率の推移を見たほうが、疾病の経過の全体像を把握するのに適しているので、上述の各値にそれぞれの検査時点での生残率を乗じて補正を行った。

結果ならびに考察

飼育餌料を異にするハマチを用いて行った Exp. 1 の

Fig. 1. Progress of streptococciosis of yellowtail under the various food condition after peroral inoculation.

- Exp. 1-1: defrosted anchovy,
 Exp. 1-2: defrosted and washed anchovy,
 Exp. 1-3: defrosted anchovy with vitamin mixture,
 Exp. 1-4: unthawed anchovy.

Fig. 2. Progress of streptococciosis of yellowtail under the various rearing condition after peroral inoculation.

- Exp. 2-1: reared in the running water using unthawed sand lance with vitamin mixture,
 Exp. 2-2: reared in the stagnant water aerated using defrosted anchovy without vitamin mixture.

結果は Fig. 1 に、飼育・感染条件を異にする Exp. 2 の結果は Fig. 2 に示した。まず、菌検出率の推移から病原細菌が魚体内へ侵襲するに要する時間について考察すると、Fig. 2 の Exp. 2-2 のように、菌投与後 6 時間目で大半の供試魚から病原細菌が検出され、迅速に魚体内へ侵襲することが認められる場合があるが、一方、Fig. 1 の Exp. 1-3 のように 3 日目まで全く病原細菌が検出されない場合もあった。しかし、一般的には、1 日目に一部の供試魚から、3~5 日目には大半の供試魚から病原細菌が検出された。高濃度に病原細菌が検出されるのは 4~5 日目であった。症状は、菌投与後 3 日目に現われる場合が多かったが、Fig. 1 の Exp. 1-2、Fig. 2 の Exp. 2-2 のように、菌投与後 24 時間目にすでに、一部の供試魚に症状が現われる場合があった。この場合の症状は鰓蓋内側の発赤であった。その他の症状は、3 日目には明らかに認められるようになったが、多くの供試魚が顕著な症状を示したのは 5 日目からであった。また、心外膜の肥厚、癒着や鰓条骨間膜の融解、乾酪膿などの末期的症状も、早い場合には、5 日目から認められた。このように、短時日のうちに末期的症状が形成される場合があることは、注目に値すると思われる。前報³⁾ および本報で定義した重症魚、すなわち、3 ケ所もしくは 3 様以上の病徴を有する個体やへい死魚も 5 日目から出現した。潜伏期間は、これまでに示したように、宿主や実験条件によって左右されるが、通常の場合、1~3 日間とするのが妥当であると考えられる。

潜伏期から発病、へい死に至る経過は、つぎのとおりである。すなわち、病原細菌の魚体内への侵襲、続いて、心臓や鰓蓋内側における主要病徴の発現という段階的経過を辿るよりも、むしろ、両者が同時に進行する傾向が強く認められた。発病からへい死に至る過程では、一定の傾向が認められず、Fig. 1 の Exp. 1-1 や Fig. 2 の Exp. 2-1 のように重症魚や高濃度菌検出個体が 3~4 日後にへい死に至る場合と、Fig. 1 の Exp. 1-3 や Fig. 2 の Exp. 2-3 のように潜伏状態や軽症の状態にあったものが、3~4 日後に急にへい死する場合もあった。また、Fig. 1 の Exp. 1-2 のように、1 日目にすでに発病魚が出現し、その後も、高濃度菌検出率が増加したにもかかわらず、へい死率は 7.7% と低い値のまま増加せずに推移する場合もあった。全体的には、時間の経過とともに重症魚の比率が増加し、へい死に至るという傾向が強いが、Fig. 1 の Exp. 1-2, 4 のように明らかに回復の傾向が認められる場合もあった。このようなことから、初期の発病率の大きさから、その後の経過を推測することは非常に困難であると考えられる。

疾病の経過と飼育餌料との関係について考察すると、前報³⁾で抵抗性が高いとされた非解凍区では、Fig. 1 の

Exp. 1-4 に示されるように、感染後の早い時期には、他区と同様の発症率や菌検出率を示すが、重症魚およびへい死魚は出現せず、8 日目には、菌検出率および発症率ともに 0% を示し、回復の傾向が明らかに認められた。前報³⁾で最も抵抗性が低いとされた総合ビタミン剤添加解凍区は、試験期間の後半になっての急激な病状の進行が特徴としてあげられ、前述の非解凍区と対照的な経過を示している。ここで、総合ビタミン剤を添加した区が他区に比較して最も抵抗性が低いという結果になった理由として、前報³⁾に述べたように、飼育に用いた餌料が変敗カタクチイワシであり、解凍に際して生じたドリップを、粘結剤の効果によって他区よりも多量に摂取したことによる障害が、栄養剤の効果を上まわったためと考えられる。解凍区と解凍後水洗区との比較では、前報³⁾でやや抵抗性が高いとされた解凍後水洗区において、5 日目から 8 日にかけて病状が進まず、回復する傾向が認められた。

飼育・感染条件と疾病の経過との関係について考察すると、ハマチにとって劣悪な条件である解凍マイワシ投与止水区は、Fig. 2 の Exp. 2-2 に示すように、病原細菌投与後 6 時間目で、すでに 50% の魚体の内臓に病原細菌が到達、侵襲しており、また、96 時間目（4 日目）から 192 時間目（8 日目）にかけて急激に症状が進み、へい死に至った。一方、ハマチにとって良好な条件である総合ビタミン剤添加非解凍オオナゴ投与流水区では、Fig. 2 の Exp. 2-1 に示すように、24 時間目までは、発症率、菌検出率ともに 0% であり、1 日目から 4 日にかけて病状が進むものの、8 日目には、一部分にはあるが、回復の傾向が認められた。以上、二つの実験結果から、ハマチの連鎖球菌症において、人為経口感染による感染、発病は、比較的短時日のうちに進行することが明らかになった。また、餌料や海水交換等飼育・感染条件がハマチにとって良好な場合、本病に対する抵抗性が高まるが、それは、感染、発症が当初から阻止されるのではなく、病状の進行が抑制され、回復する傾向が強まることによるものと判断された。一方、飼育条件が劣悪な場合、症状は、徐々にではなく、3~4 日のうちに急激に悪化し、へい死に至ることが特徴としてあげられた。

要 約

ハマチの連鎖球菌症の経過を、人為経口感染法により調べ、つぎの結果を得た。

1. 潜伏期間は、通常、1~3 日間であったが、6 時間目に、すでに、肝臓や心臓に病原細菌が侵襲し、発病している場合があった。
2. 連鎖球菌症の各症状は、通常、菌投与後 3 日目に

ら出現したが、鰓蓋内側の発赤は、1日目から現われる場合があった。心外膜の肥厚、癒着や鰓条骨間膜の融解、乾酪膿形成など末期的症状は5日目から現われた。重症魚およびへい死魚も5日目から現われた。

3. 病原細菌の魚体内への侵襲と発症は、ほぼ同時に進行した。

4. 発病からへい死に至る経過は一様でなかった。すなわち、病状が徐々に進み、重症になって後、3~4日目にへい死に至る場合と、症状の認められなかったものが、3~4日のうちに急激に発症し、へい死する場合があった。また、一旦発病するが、へい死に至らず、病状も軽減され、回復する場合もあった。

5. 餌料や海水交換など飼育・感染条件が、ハマチにとって良好な場合、感染や発病が阻止されることはない

が、病状の進行が抑制され、回復する傾向が強まった。一方、飼育・感染条件が、ハマチにとって劣悪な場合、病状は、徐々に進行するのではなく、急激に悪化し、へい死に至る傾向が見られた。

終りに、本研究は、高知県水産試験場において、病害防除試験の一部として行われたものであり、研究を進めるにあたり、多大のご理解とご協力をいただいた場長はじめ職員諸氏に感謝します。

文 献

- 1) 谷口道子：日水誌，**48**，1717-1720 (1982).
- 2) 谷口道子：日水誌，**48**，1721-1723 (1982).
- 3) 谷口道子：日水誌，**49**，363-366 (1983).