

県内の養魚用水中における連鎖球菌の生態

誌名	事業報告書
ISSN	02862166
著者	山本, 淳
巻/号	15号
掲載ページ	p. 69-74
発行年月	1987年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



県内の養魚用水中における連鎖球菌の生態

山 本 淳

まえがき

わが国の淡水魚類の連鎖球菌症は、HOSHINA *et al.* (1958)によって静岡県下の養殖ニジマスに初めて確認された。その後、長い間本症または類症の報告はなされていなかったが、近年になって、ニホンウナギ、アユ、ニジマス、ティラピアおよびアマゴから相次いで β 溶血性連鎖球菌感染症が確認されている(KUSUDA *et al.*, 1978; 大西・城, 1981)。ニジマスの本症による被害例は、宮崎、鹿児島および福島県から報告されているが、山梨県においては現在のところ確認されていない(長野県水産試験場, 1987)。しかしながら、県内の養鱒業者の中には、本症による新たな被害を懸念する者もある。さらには、当所においてアユ親魚の養成期間中の河川水を使用する時期に本症による斃死が起きており、用水中の連鎖球菌の存在が疑われている。

これらの観点から、1986年6月から10月まで県内6ヶ所の養魚池を対象として用水中の連鎖球菌の分布を調査し、分離菌の病原性を検討した。

材料および方法

調査対象とした養魚池：河川水使用3ヶ所(M; 南巨摩郡増穂町、T; 都留市、G; 魚苗センター)、湧水使用2ヶ所(F; 富士吉田市、O; 忍野養魚場)、河川水・湧水併用1ヶ所(H; 北巨摩郡白州町)。

試水の採取：1986年6月から10月まで5回に渡り、上記養魚池のそれぞれの最上流池の注水と排水を実験室に持ち帰り検査に供した。

菌分離：採取した試水20mlを孔径0.45 μ mの滅菌ミリポアフィルターで濾過後、そのフィルターを2mlの滅菌PBS中に浸し、チューブミキサーで2分間攪拌した。これを原液として、10倍階段希釈系列を作成し、原液、10倍、100倍のそれぞれを0.1mlずつトリプトソーヤ寒天培地に接種し、25°Cで72~96時間培養した。出現したコロニーのうち、グラム陽性、オキシダーゼ、カタラーゼともに陰性でブドウ糖を発酵的に分解するものについて、CTA培地に保存しまとめて性状試験に供した。なお、連鎖球菌抗血清との凝集反応は、日本水産資源保護協会より分与された α 溶血型連鎖球菌(VT-3)、 β 溶血型連鎖球菌(ATCC 29178)のそれぞれの抗血清を用いて行った。

攻撃試験：分離株について、湿菌重量で1mgを1株につき5尾あてのニジマス(平均体重70g)の腹腔内に接種し、17°Cで2週間観察した。

表1 県内養魚場における用水中の連鎖球菌の分布調査結果

養魚場	用水の種類	採集日	水温 (°C)	注水 (cfu/ml)		排水 (cfu/ml)		分離菌 株数 (株)	魚種	収容量 (尾)	備考
				総生菌数	連鎖球菌数	総生菌数	連鎖球菌数				
H	河川+湧水	6.24	14.3	1.6×E2		1.6×E2	2.0×E1	1			最上流池
		7.15	12.5	1.0×E0		8.5×E2					〃 (湧水のみ)
		8.15	15.3	6.1×E1	1.0×E0	1.3×E2	1.0×E0	2	アマゴ	10,000	〃
		9.18	15.3	2.3×E3	1.0×E1	1.5×E3	4.0×E1	5			〃
		10.23	12.1	5.4×E3		4.7×E3				20,000	〃 (池掃除中)
M	河川	6.24	14.0	6.0×E1		8.5×E1				18,000	最上流池
		7.15	15.9	3.0×E1		7.4×E1				18,000	〃
		8.15	18.0	4.0×E1		2.4×E1					〃
		9.18	16.0	4.9×E1	1.0×E0	7.8×E1		1	アマゴ		〃
		10.23	9.2	4.1×E1		3.3×E1				2,000	〃
G	河川	6.24	20.0	2.7×E2		1.5×E2	2.0×E1	1		1,000	
		7.15	19.9	3.2×E2		4.2×E2	2.0×E1	2		1,000	
		8.15	21.8	3.1×E2		6.7×E2	4.0×E1	4	アユ	1,000	
		9.18	18.5	4.0×E2		5.1×E2				1,000	
		10.23	12.2	4.4×E2	1.0×E1			1		0	注水のみ調査
F	湧水	6.25	11.0	1.2×E2		1.4×E2				200,000	0年魚池
		7.14	11.0	2.0×E0		3.5×E1					ふ化稚魚池
		8.14	10.5	1.0×E1		8.0×E0				3,000	〃
		9.17	10.5	1.7×E1		4.1×E1					〃
		10.24	10.5	8.9×E0		1.1×E1				100,000	〃
T	河川	6.25	14.0	2.1×E2		3.1×E2	2.0×E1	1		100,000	最上流池
		7.14	15.0	7.5×E2		3.8×E2	1.0×E1	1		100,000	〃
		8.14	15.0	1.3×E2		1.6×E2					〃
		9.17	14.0	1.5×E3	1.0×E1	1.7×E3	2.0×E1	3	ニジマス		〃
		10.24	11.9	4.9×E2		5.5×E2					〃
O	湧水	6.25	10.5	3.0×E1		5.0×E1				2,000	最上流池
		7.14	10.5	3.6×E1		9.6×E1				2,000	〃
		8.14	10.5	1.2×E1		1.0×E1				2,000	〃
		9.17	10.3	1.2×E2		8.0×E1				2,000	〃
		10.24	10.0	1.2×E1		1.0×E1				2,000	〃

結果および考察

6ヶ所の対象池における連鎖球菌の分布調査結果をまとめて表1に示した。

総生菌数については注・排水ともに河川水使用池では1 mlあたり $10^1 \sim 10^2$ 個、湧水池では 10^1 個、併用池では 10^2 個程度であり湧水池が最も低かった。また、連鎖球菌数は、河川水使用池および併用池では、1 mlあたり $1 \sim 10^1$ 個で合計22株が分離されたが、湧水池からは分離されなかった。供試株の性状試験および攻撃試験の結果を表2に、また病原性が確認された菌株の薬剤感受性試験の結果を表3にまとめて示した。

表2 分離菌株の性状及び攻撃試験結果

	HI-1	HI-2	HO-1	HO-2	HO-3	HO-4	HO-5	HO-6	MI-1	GI-1	GI-2	GI-3	GI-4	GO-1	GO-2	GO-3	GO-4	TI-1	TI-2	TO-1	TO-2	TO-3
グラム反応	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
形態	二連球菌																					
運動性	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl 6.5%における増殖	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-
pH 9.6における増殖	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
胆汁寒天培地における																						
発育 10%											+	+	+		+	+						+
40%											+	+	+		+	+						+
増殖至適温度範囲											25~30℃											
オキシダーゼ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
カタラーゼ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OF試験	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
デンプン加水分解	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
馬尿酸塩加水分解											+	+	+		+	+						+
溶血性 馬	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ニジマス											-	-	-		-	-						-
抗血清との凝集性																						
α溶血連鎖球菌(VT-3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β溶血連鎖球菌(ATCC 29178)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ニジマスに対する病原性	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
斃死数 / 供試魚数											5/5	1/5	2/5		3/5	4/5						5/5
平均致死日数											3.4	4.0			3.6	5.7						12.6

表3 病原性を保有する菌株の薬剤感受性

	GI-2	GI-4	GO-1	GO-3	GO-4	TO-3
OA*	-	-	-	-	-	-
OTC	-	+	++	+	+	++
SMM	-	-	-	-	-	-
SDM	-	-	-	-	-	-
PA	-	-	-	-	-	-
CO	-	-	-	-	-	-
NA	-	-	-	-	-	-
SN	-	-	+++	-	-	++

* OA; オキシリン酸 OTC; オキシテトラサイクリン
 SMM; スルファモノメトキシシン SDM; スルファジメトキシシン
 PA; ピロミド酸 CO; コリスチン NA; ナリジクス酸
 SN; ニフルスチレン酸ナトリウム

すなわち、供試22株はグラム陽性非運動性の球菌で、一般に2連あるいはそれ以上の連鎖状の配列を示した。オキシターゼ、カタラーゼはともに陰性であり、ブドウ糖を発酵的に分解した。これらの性状から供試株はすべて *Streptococcus* 属に分類された。しかし、供試株は α 溶血型連鎖球菌、 β 溶血型連鎖球菌のいずれの抗血清に対しても凝集しなかった。また、ニジマスに対して6株が病原性を有することが確認され、それらのほとんどがOTCに対して感受性を示した。

本報において、河川水中から連鎖球菌が分離され、それらのうちに病原性を有する菌株が確認されたのに対して、湧水中には連鎖球菌は確認されなかった。湧水使用池はいずれも水源からの距離が短く、また河川水使用のM養魚場は河川の上流に位置し、その上流に人家、生物飼育施設等がなく外部からの細菌の混入の機会が小さいこと、河川水使用の他の3ヶ所の養魚場は水源からの流程が長く、生活雑排水等の流入が多いこと、さらに分離菌株の増殖至適温度が25~30℃と高いこと等の事実は、AUSTIN・AUSTIN (1985)も述べているように本報で分離された連鎖球菌が温血動物に由来する可能性を示唆するものであると考えられた。

また、連鎖球菌症は比較的新しい疾病で、まだ連鎖球菌の自然界における生態や本症の発病機序についてはほとんど解明されていない。本症の効果的な魚病対策を進めるには、血清型、由来を含めた淡水中における連鎖球菌の生態、魚体内に侵入した本菌の動向におよぼす種々の環境要因などについてさらに検討を進める必要があると考えられた。

文 献

AUSTIN、B. and D. ALLEN -AUSTIN (1985) : Bacterial pathogens of fish. J.

Appl. Bact., 58, 483 ~ 506.

Hoshina, T., T. SANO and Y. MORIMOTO (1958) : A Streptococcus pathogenic to fish. Tokyo Univ. Fish., 44, 57 ~ 68.

KITAO, T., T. AOKI and R. SAKOH (1981) : Epizootic caused by β -haemolytic Streptococcus species in cultured freshwaterfish. Fish Path., 15, 301 ~ 307.

KUSUDA, R., I. KOMATSU and K. KAWAI (1978) : Streptococcus sp. isolated from an epizootic of cultured eels. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 44, 295.

長野県水産試験場 (1987) : ニジマス・在来マスの疾病実態調査について. 第12回全国養鱒技術協議会資料.

大西圭二・城 泰彦 (1981) : 淡水殖養魚の連鎖球菌症に関する研究-I. 1977年および1978年に養殖アユおよびアマゴから分離された β 溶血連鎖球菌の性状・魚病研究、16、63 ~ 67.