

イワナ稚魚の水腫症に関する研究 I

イワナ稚魚のいわゆる水腫症の原因に関する予報

河西一彦・長谷川敦子・福田穎穂^{*1}

本研究内容は魚病学会誌に掲載されているため、論文要旨のみを掲載した。

要 旨

種苗生産過程に発生するイワナ稚魚の「水腫症」の原因調査を行った。病魚の鰓には常に多数の細菌集落の付着が観察され、塩水処理によって鰓から細菌集落が消失し、水腫症状が回復した。このことから、鰓に観察された細菌が当疾病の原因である可能性が示唆された。しかし、鰓から分離された細菌による感染実験は成功せず、鰓に細菌集落を形成し、本症の原因となる細菌を特定することはできなかった。

魚病研究, 26(1), 21-28(1991)

^{*1} 東京水産大学水族病理学研究室

イワナ稚魚の水腫症に関する研究 II

発症および治癒過程

河 西 一 彦

前年度に行ったイワナ水腫症の原因調査および治療実験では、鰓表面で特徴的な集落を形成する細菌（短桿菌）が本症の原因である可能性が示唆され、塩水浴の有効性が確認された（河西ら、1990）。本研究では発病過程、治癒状況を調査し、発病要因と斃死要因を検討するとともに、効率的治療法、細菌の分離及び感染方法について検討を行った。

材料および方法

発病過程調査

供試魚は1990年11月に奥多摩分場海沢親鱒飼育池で採卵、受精し、発眼後イソジン消毒を施して入川試験池に搬入され、2月に孵化したイワナ稚魚である。孵化稚魚は4つの群に分け、1991年3月3日にそれぞれ表2に示したA～Dの4種類の大きさの飼育水槽に収容した。各水槽毎に毎日の斃死状況を観察、記録するとともに斃死魚の一部については光学顕微鏡による鰓の観察（以下、鰓の検鏡と記載）を実施した。さらに水槽Aについては水腫発症時まで4～6日毎に定期的なサンプリングを行い、5～10尾について鰓の検鏡を実施した。また、水腫発症時には水槽毎の発症状況を観察し、環境条件を比較した。

治療試験

水腫症発症時に明らかな症状を呈する病魚20尾ずつを15ℓのガラス水槽に収容し、1%塩水による治療試験を実施した。短時間浴区は1日1回1時間の1%塩水浴を行い、その後河川水で換水した。長時間浴区は1%塩水中で飼育し、食塩水は毎日新鮮なものと交換した。対照区は1日1回河川水で換水を行った。試験区は3区とも10日間止水通気のもとで同様の操作を繰り返した後、流水飼育に切替え、斃死、治癒状況を観察した。治癒状況の観察は供試魚を1尾ずつ手網で取り上げ、水腫症状の程度別に分類・計数した。水腫症状の程度は、病魚を背面から観察した時に体側部にやや水腫の膨らみがあるものを+、水腫が著しく半円状に膨らんでいるものを+++、その中間を++、水腫症状が認められないものを-とした。

治癒状況調査

発病群の水槽内で1日1～8時間の1%塩水循環浴を5回行った後、水腫症状の程度別に20尾ずつを約3ℓのプラスチック製水槽に収容して流水飼育し、治癒状況を観察した。治癒状況の観察は治療試験と同様の方法で行った。

細菌の分離

病魚の鰓を検鏡して細菌集落の存在を確認した後、鰓弓とともに鰓弁4片を摘出した。摘出した鰓弁は滅菌蒸留水中で軽く洗浄した後、ガラスホモジナイザーで磨砕し滅菌蒸留水を1 ml加えてよく混合し、ホモジナイズ原液とした。ホモジナイズ原液を滅菌蒸留水で10倍に希釈した後、その0.1 mlを表6に示した10種類の寒天平板培地に接種して15℃で培養し、発育するコロニー数を比較した。寒天平板の作製に用いた水は水腫症が発症したイワナ稚魚に注水されている河川水を0.45 μmのメンブランフィルターで濾過した後、高圧蒸気滅菌したものを使用した。また、ホモジナイズ原液の1 μlをスライドガラスに塗布し、風乾、火炎固定後、メチレンブルーによる単染色あるいはグラム染色を施した。染色された細菌及び細菌塊を光学顕微鏡下で計数し、寒天平板上に発育したコロニー数との比較を行った。

感染実験

各種寒天平板上に発育したコロニーのうち、代表的な4菌株を感染実験に供試した。供試菌株はCY（サイトファーガ）寒天培地を用いて純培養後、その1白金耳を同液体培地100 mlに接種し、20℃で5日間培養したものを接種原液とした。供試魚は健康なイワナ稚魚（平均体重0.4 g）で、グラスウールを濾材とする上面フィルターを装備した10 lの飼育水が入ったガラス水槽（容量15 l）にそれぞれ20尾ずつを収容し循環飼育した。1週間予備飼育を行った後、作製した接種原液100 mlを各水槽に添加し、供試魚の状態を観察するとともに24時間後に2尾、7日後に3尾を各水槽よりサンプリングして鰓の検鏡を行った。なお、1水槽は細菌を接種せず、対照区とした。

また、容量約370 ml（12.5×8.5×水深3.5 cm）のプラスチック製容器を水槽とし、2水槽に健康なイワナ稚魚（平均体重0.6 g）50尾ずつを収容して、流水で飼育した（換水率0.5回/分、飼育密度166尾/l、80.6 g/l）。4菌株のうち、CY寒天培地で分離された2菌株について、前述と同様の方法で接種原液を作製し、それぞれの水槽に30 ml接種して止水通気で10分間浸漬を行い、翌日及び3日後にそれぞれ数尾の供試魚について鰓の検鏡を行った。

表 1 水腫発症時の病魚観察結果

水槽 区分	被検魚の 状態	水腫症状* ¹	鰓上の細菌 コロニー数* ²	体表の 出血	排水部の 粘液
A	生 魚	++	++	—	
	生 魚	—	++	—	+
	斃死魚	—	+	—	
B	生 魚	++	++	—	
	生 魚	++	++	—	+
	斃死魚	+	++	—	
C	生 魚	++	+	—	
	斃死魚	—	—	—	+
	斃死魚	—	+	—	
D	生 魚	—	—	—	
	生 魚	—	—	—	—
	生 魚	—	—	—	

*¹水腫症状

- : 水腫症状が認められない
- + : 軽度の水腫症状が認められる
- ++ : 中程度の水腫症状が認められる
- +++ : 著しい水腫症状が認められる

*²鰓 1 片上の細菌集落数を示す

- : 細菌集落が観察されない
- +
- ++ : 細菌集落数 6 個以上

表2 水腫症発症時の飼育環境の比較

水槽区分	A	B	C	D
水槽の大きさ (cm)	180×30×10	140×30×7	105×30×6.5	49×30×6.5
(ℓ)	54	29.4	20.5	9.2
飼育容積 (cm)	155×30×10	125×30×7	85×30×6.5	39×30×6.5
(ℓ)	46.5	26.3	16.6	7.3
飼育面積 (cm ²)	4650	3750	2550	975
注水量 (ℓ/min)	18.0	16.8	14.4	3.6
換水率 (回/min)	0.39	0.63	0.87	0.49
収容尾数 (尾)	7876	7776	2336	672
平均体重 (g)	0.21	0.21	0.21	0.25
総魚体重 (g)	1654	1633	491	168
飼育密度 (尾/cm ²)	1.69	2.07	0.92	0.69
(尾/ℓ)	169	296	141	92
(g/cm ²)	0.36	0.44	0.19	0.17
(g/ℓ)	35.6	62.0	29.6	23.0
水腫発症度	++	+++	+	—
	30～40%	50～60%	10%以下	未発症

結 果

発病過程

水腫症は供試魚を各飼育水槽に収容して約50日経過した4月22日に、水槽Dを除く3つの水槽で確認した。発症に先立つ観察結果を以下に記載した。

水槽Aからの定期的なサンプリングによる検査の結果、約20日経過した3月下旬頃から鰓薄板の鰓上皮細胞が増生している個体が時々観察され、斃死個体の多くが同様の鰓の異常を示していた。水腫症が発生する約10日前から、発育不良で痩せた斃死個体が増加する一方、急速な成長を示す個体が目立ち始めたが、1週間前には成長の良い個体でも数尾の斃死が認められ、瀕死魚あるいは斃死魚の鰓に上皮細胞の増生が観察された。

鰓に初めて短桿菌による細菌集落が観察されたのは、水腫症が発生する4日前であった。瀕死魚4尾のうち1尾に1つの細菌集落が観察されたが水腫症状は認められなかった。しかし、4尾

とも鰓上皮細胞の増生が認められ、排水部金網スクリーンに褐色粘液の付着が確認されるようになった。翌日に検査した瀕死魚 5 尾に細菌集落は確認されなかったが、鰓弁の棍棒化のほか鰓薄板の部分的な浮腫が全個体で認められ、排水スクリーンの褐色粘液はより多くなっていた。なお、水腫症の発症はその 3 日後に確認したが、確認した日の前日、前々日は観察ができなかったため、詳細は不明であった。

水腫発症時の病魚の観察結果を表 1 に、各水槽の飼育環境の比較結果を表 2 に示した。

水腫症状を示すほとんどの個体が表層をふらついて遊泳し、鰓には短桿菌による細菌集落が観察され、排水部スクリーンには多量の褐色粘液の付着が認められた。水腫症状を示す病魚の鰓には必ず細菌集落が観察されたが、同集落が 20 個以上観察されたにもかかわらず、水腫症状が認められない個体もみられた。また、水腫症状を示しても鰓上皮細胞の増生あるいは浮腫の認められない個体もあり、鰓の異常と水腫症状との関連は明確でなかった。発症時において体表等に出血のみられる病魚は観察されなかった。

各飼育水槽の水腫の発症程度には明らかな差があり、肉眼的に発症度を区別できた。発症度は水槽 B が最も高く、半数以上の供試魚に水腫症状が現れていた。水槽 A では水槽 B ほどではないが、水腫症状を示す個体は多く、水槽 C では僅かに観察される程度で、供試魚の動きは発症した 3 水槽中、最も活発であった。各水槽の飼育環境を比較すると、飼育密度と発症度に相関が認められ、飼育密度が高いほど発症度は高い結果となった。

表 3 治療試験における水腫症状の変化と斃死状況

経過 日数	短 時 間 浴 区					長 時 間 浴 区					対 照 区				
	水腫症状				累 積 斃死数	水腫症状				累 積 斃死数	水腫症状				累 積 斃死数
	+++	++	+	-		+++	++	+	-		+++	++	+	-	
0		20			0		20			0		20			0
1		20			0		19			1		20			0
3		17		3	0		7	11	1	1		5	9	2	2
5		18	2		0		2	5	6	6	1	5	5	1	9
7		9	7	3	0		2	3	9	5	1	4	2	3	10
9		4	9	6	1	0		1	2	8	8	1	2	3	12
15				11	9	0			3	5	10	2	1	2	12
19				5	15	0			6	11	3			2	14
25				1	19	0			2	15	3			5	15
30				20	0				2	15	3			5	15

* 各処理は10日間実施し、11日以降は流水飼育とした。

治療試験

治療試験における水腫症状の変化と斃死状況を表3に示した。

収容時の病魚の水腫症状はいずれの試験区においても++であったが、日数の経過とともに水腫症状の進行する個体がみられた。また、最初の処理を行った翌日以降、体側部や眼球周囲の皮下に出血を伴う個体が出現した。

短時間処理区では処理3日目に+に回復した個体が3尾観察されたが、残りの17尾は+++に進行した。しかし、7日目以降症状の回復は急速に進み、9日目に水腫症状が完全に回復した個体が1尾観察され、30日後には全個体の水腫症状が治癒した。また、斃死する個体はみられず、30日後に検査した結果、3尾の鰓薄板に軽度の浮腫が、2尾の尾柄部に充血が認められた。

一方、長時間浴区では水腫症状が+++に進んだ個体は2尾と少なく、3日目に1個体、5日目に6個体が治癒した。しかし、30日後も2尾に+の水腫症状が観察された。また、斃死魚は処理を開始した翌日に1尾、15日目に1尾、19日目に1尾がみられ、いずれも水腫症状が観察された。これらの斃死魚はいずれも鰓薄板の癒着による鰓弁の棍棒化がみられたが、鰓に細菌集落は観察されなかった。生残した5尾について検査した結果、水腫症状が回復しなかった2尾では腹部にやや出血が残り、このうち1尾については鰓に軽度の浮腫が観察されたが、他の1尾は鰓に異常は認められなかった。治癒魚では3尾のうち、1尾の尾柄部に充血が、2尾の鰓に軽度の浮腫が認められた。

10日間河川水で換水を繰り返した後流水飼育を行った対照区では、3日目に水腫症状が+++に進行した個体が5尾認められ、別の2個体は同様の症状を示して斃死した。斃死魚は9日目までほぼ毎日観察され、この間の斃死魚は全て+++の水腫症状を呈し、鰓弁の棍棒化とともに細菌集落が観察された。15日目以降の斃死魚では水腫症状は+を呈し、鰓弁の棍棒化は観察されたが、細菌集落は観察されなかった。30日後までに合計15尾が斃死し、5尾の水腫が治癒した。生残した5尾には細菌集落は観察されなかったが、1尾の尾柄部に充血がみられ、鰓薄板における軽度の浮腫は全個体にみられた。

治癒状況

塩水処理後の水腫の治癒状況を表4に示した。

治癒状況の観察に先立ち、各水槽から3尾を供試してあらかじめ鰓の検鏡を行ったが、水腫症状の程度にかかわらず、いずれにおいても鰓に細菌集落は観察されなかった。

31日間の観察で斃死魚がみられたのは水腫症状+++の水槽で1尾、同++の水槽で2尾であった。水腫の治癒速度は症状の程度に比例し、水腫症状+の水槽では11日後に、同++の水槽では25日後に、生残した全ての供試魚の水腫が治癒した。また、水腫症状+++の水槽では31日後に17尾が治癒したが、2尾には軽度の症状が残っていた。また、収容時より水腫症状が進行する個体や、再発症する個体は認められなかった。

細菌の分離

鯉のホモジナイズ原液の標本中に観察された細菌及び細菌塊の数を表 5 に示した。

3 枚のスライド標本には、病魚の鰓に観察された短桿菌と同種と考えられる細菌以外の形態を示す細菌は観察されなかった。単独で存在した細菌は 3 ～26 個、2 個以上の細菌が集合し塊を形成しているものは 12 ～31 塊観察された。3 枚のスライド標本上の細菌及び細菌塊の数に差がみられたが、希釈率をもとに算定した培養期待数（表 5 参照）は寒天平板 1 枚当り 150 ～570 コロニーであった。

各種寒天平板培地において発育した細菌コロニー数を表 6 に示した。

市販されている栄養の高い合成培地（T S A、B H I、N A）ではほとんどコロニーは発育しなかったが、低栄養の C Y 培地や今回試作した 1/10 M E M 培地で発育したコロニー数は多く、前述の培養期待数とほぼ同じオーダーであった。また、5 %の牛胎児血清を添加しても、コロニーの数や種類に変化はみられなかった。C Y（血清添加）培地では白色半透明及び黄色半透明の 2 種類のコロニーが肉眼的に識別され、それぞれの数は 112 及び 59 個（合計 171 個）であった。また、1/10 M E M 培地では培養 4 日後に白色半透明のコロニーが 108 個、微小な白色半透明のコロニーが 26 個発育していたが、約 10 日後に白色半透明でやや固い微小なコロニー 80 個も発育し、3 種類（合計 214 個）のコロニーが識別された。これら 5 種類のコロニーはいずれも短桿菌によるものであり、運動性は + であった。

5 種類のコロニーを純培養し、C Y 及び 1/10 M E M 培地にそれぞれの菌株を接種して、発育状況、形態を比較した結果、C Y 培地から得られた白色半透明の菌株と、1/10 M E M 培地から得られた白色半透明の菌株は同種と判断されたため、次の感染実験には 4 菌株を供試した。また、C Y 培地における発育が良好であったため、原液の作製は、すべて C Y 液体培地を用いた。

表 4 塩水処理後の水腫症状別治癒状況（流水飼育）

経過 日数	水腫症状			水腫症状			水腫症状			水腫症状		
	水腫症状			水腫症状			水腫症状			水腫症状		
	果 積			果 積			果 積			果 積		
	+++	++	+	+++	++	+	+++	++	+	+++	++	+
1	20			20			20			20		
2	18	2		13	7		18	2		20		
4	9	11		4	15	1	14	6		20		
9	7	6	4	3	0		2	18	0	20		0
11	4	4	8	4	0		20		0	20		0
15	2	2	9	6	1		4	15	1	20		0
19		3	3	13	1		2	17	1	20		0
21		1	3	15	1		2	17	1	20		0
25			3	16	1	18	20		0	20		0
28			2	17	1		20		0	20		0
31			2	17	1		20		0	20		0

表5 鰐のホモジナイズ原液 $1\mu\ell$ 中に
確認された細菌及び細菌塊数

スライド番号	1	2	3
単独の細菌数	3	4	26
細菌塊 ^{*1} 数	12	16	31
(総細菌数	109	203	213)
培養期待数 ^{*2}	150	200	570

^{*1} 2つ以上の細菌が塊となっているものを示す。

^{*2} 細菌がすべて生菌であると仮定してホモジナイズ原液の10倍希釈液 0.1ml を寒天平板に接種して培養した場合、単独の細菌、細菌塊に由来して発育する可能性のあるコロニー数の期待値。

表6 各種寒天平板上における細菌の発育コロニー数

培地の種類	コロニー数	培地の種類	コロニー数
BH I ^{*1}	1	NA ^{*5}	0
CY ^{*2}	175	MEM ^{*6}	4
CY+5%Serum ^{*3}	171	MEM+5%Serum	4
TSA ^{*4}	0	1/10希釈MEM ^{*7}	214
TSA+5%Serum	3	1/10希釈MEM+5%Serum	234

^{*1} ブレインハートインフュージョン寒天培地

^{*2} サイトファーガ寒天培地

^{*3} 5%の牛胎児血清を添加

^{*4} トリプトソイ寒天培地

^{*5} 普通寒天培地

^{*6} 組織培養用MEM培地（カマイツ、フェーレルド不含）に2%の粉末寒天を添加して作製した。

^{*7} MEM培地の成分含量を1/10とした。

感染実験

循環水槽で行った実験では、いずれの菌株においても鰓上に病魚でみられるような細菌集落は観察されず、水腫症状も再現されなかった。また、7日後には循環飼育による水質の悪化が原因と考えられる鰓上皮の増生が対照区を含むいずれの水槽でも観察された。

飼育密度を高めて実施した感染実験においても、鰓の細菌集落は観察されず、水腫症状、その他異常な所見は認められなかった。

考 察

本研究において水腫症発症前のイwana稚魚の鰓を定期的に検鏡した結果、発症のかなり以前から鰓薄板の増生と考えられる鰓での異常が観察された。この現象は発病時が近づくにつれて次第に強まる傾向がみられ、発病直前には鰓弁が棍棒化し、成長の良好な個体にも斃死を起こさせた。このような鰓の異常を示して斃死した個体に水腫症状が認められなかったことや、鰓薄板の増生は細菌性鰓病原菌*Flavobacterium branchiophila*等の感染時にも観察されるが水腫症状の発現はみられないことから、今回観察された鰓薄板の増生と水腫の発症とは直接の関連はないように思われる。ただし、このような鰓の異常が現れた原因は病原体以外の点からは調査しておらず、イwana稚魚の生理的悪化の指標を示す現象と考えられるため、後にも述べるが、水腫発症の前提条件として今後、十分検討する必要がある。

水腫の発症確認時には昨年と同様に、鰓の表面に多数の細菌集落の付着が観察された。残念ながら、この日の前日及び前々日に観察できなかったため、この2日間で鰓にどのような変化が起きて水腫が発症したかは不明であるが、2日間で細菌集落が急速に増加したことは事実である。感染実験が成立し、鰓上の細菌が確定するまで推測の域を出ないにしても、鰓への細菌の感染とその急速な繁殖が水腫の発症と密接に結びついている可能性は非常に高いと考えられる。ただし、水腫発症魚には必ず細菌集落が観察されたのに対し、細菌集落が多数付着していたにもかかわらず水腫が発症しない個体があったことは、水腫の発症がただ単に細菌の感染によってのみ引き起こされるのではないこと、すなわち細菌の存在は水腫の発症にとって必要条件ではあるが、十分条件でないことを示唆している。さらに、水腫の発症度と飼育密度との間に関連がみられることや、細菌集落が付着し水腫症状を示しても鰓に異常が認められない個体が存在することをも考え併せると、細菌の感染、水腫症状の発現には環境要因と魚体の生理状態とが複雑に係わっている可能性が考えられる。したがって、水腫症の原因を明らかにするには、まず水腫発症以前に観察されたような鰓に異常を引き起こす要因を、飼育条件、餌料あるいは微量成分を含む飼育水そのものの水質等の点から明らかにし、魚体の生理的側面についても検討する必要がある。

今回実施した治療試験の結果、1%の塩水による短時間処理は当初水腫症状が進行する個体は多数観察されたが、流水飼育後は急速に回復し斃死魚もみられなかったことから、長時間処理と

比較した場合、より効率的な治療法であると考えられる。また、塩水処理を行わなかった対照区では斃死数が多いにもかかわらず、細菌集落が消失し水腫が回復した個体がみられた。このことは飼育環境が改善されれば自然回復するものがあることを示しており、飼育環境の悪化が水腫症を誘発する要因であることを示唆している。さらに、治癒状況で観察されたように鰓の細菌が消失した後は、水腫症状の程度にかかわらず治癒し、再発しないことから、水腫症状そのものは斃死要因としてそれほど重要でないと考えられる。むしろ細菌の鰓への大量付着が、鰓表面の呼吸面積を減少させ、呼吸困難による窒息死を招来していると考えの方が妥当であろう。これらのことから、水腫症の治療は鰓上の短桿菌の除去とその後の環境改善によって、比較的容易になされることが考えられ、短桿菌の除去のみを目的とするより簡便な治療法を塩水濃度、処理時間、回数の点から検討する必要がある。

病魚の鰓に観察される細菌は、発育コロニー数が培養期待数とほぼ一致することからみて、1/10MEM、CY培地によって分離された菌株中に存在している可能性が高い。それにもかかわらず、感染実験が成立しなかったことは、本細菌の感染に要求される条件が非常に高いと推測される。今回、数種類の菌株が分離されたが、鰓に観察された細菌集落が複数の細菌によって形成されている可能性も考えられ、今後、分離されるコロニーの種類を明確にするとともに、混合感染も含め感染条件の検討を行う必要がある。

なお最後に、1992年6月に開かれた全国養鱒技術協議会水産用医薬品研究部会の席上で、水腫症に関する情報の収集を行ったところ、長野、埼玉の両県からそれぞれキザキマス及びムサシトミヨに同様の水腫症が発症し、鰓に多数の短桿菌の集落が観察されたとの発言があった。このことはイワナ以外の魚種についても同様の細菌の感染と水腫症が存在することとして特筆すべきことである。

文 献

河西一彦・長谷川敦子・福田穎穂（1991）：イワナ稚魚のいわゆる水腫症の原因に関する予報。
魚病研究，26(1)，21-28.

サケ科魚類の水カビ病に関する病理学的研究 I *¹

2 ヲ所のヤマメ養魚池における水カビ病発生要因の比較

和田新平*²・畑井喜司雄*²・窪田三朗*²・小松俊夫

本研究内容は日本獣医畜産大学研究報告に掲載されているため、論文要旨のみを掲載した。

要 旨

東京都下に存在する2 ヲ所のヤマメ養魚池は水カビ病の発生が全く異なることから、その発生状況および環境要因について検討した。1987年における水カビの発生は、A養魚池では10月の選別後に急増したが、B養魚池では全く認められなかった。環境要因を比較すると、B養魚池のカルシウム濃度および総細菌数はA養魚池よりも有意に高い値を示しており、ミズカビ科菌数は逆にA養魚池の方がB養魚池よりも高値を示した。以上のことから、水カビ病の発生が異なる要因は飼育水中のミズカビ科菌数の違いであり、これはカルシウム濃度および総細菌数の違いによるものと推察した。

日獣畜大研報, 38, 32-37(1989)

*¹ 昭和63年度日本魚病学会春季大会口頭発表

*² 日本獣医畜産大学魚病学教室

ヤマメのせっそう病に対するフロルフェニコールの臨床試験

河西一彦・小野 淳

主として在来マスに発病するせっそう病には各種抗菌性物質が承認、販売されているが、耐性菌の出現により治療効果が低下している例が少なくない。フロルフェニコールは海産魚病の治療薬として承認されている薬剤であるが、広い抗菌性スペクトラムを有し、クロラムフェニコールやチアンフェニコール耐性菌に対しても抗菌活性を示すことから今後期待される新薬剤である。

そこで、本試験ではせっそう病が自然発症したヤマメ飼育群にフロルフェニコール製剤（DA-98L）を経口投与し、治療効果の検討を行った。

材料および方法

1 供試薬剤

1) 被験薬剤：DA-98L（武田薬品工業(株)製、以下フロルフェニコールと記載）

本品は1 ml中、フロルフェニコールを20mg含有する液剤である。

2) 対照薬剤：水産用パラザン（田辺製薬(株)製、以下オキシリン酸と記載）

本品は1 g中、オキシリン酸を50mg含有する散剤である。

2 供試魚および試験池

供試魚は奥多摩町T養魚場で1990年12月に孵化し、飼育されていたヤマメ1+年魚（月齢16ヵ月）を用いた。試験の約1ヵ月前からせっそう病が自然発症していたため、発症群から8000尾（4000尾×2区）を計数して試験池に収容した。

試験池はT養魚場の並列にならぶ同条件の池（9.8×2.5×水深0.6m、注水量約1 t/分）を使用した。

3 試験区分

試験区	供試薬剤	投与量（有効成分）	平均魚体重	収容尾数
1	フロルフェニコール	10mg/kg×5日間×2回	78 g	4000尾
2	オキシリン酸	10mg/kg×5日間×2回	83 g	4000尾

表 1 分離された細菌の性状

菌株No.	魚体重 (g)	グラム 染色	運動性	褐色 色素 産生	フクロム・ リンダーゼ 試験	O/F 試験	<i>A. Salmonicida</i> 抗血清 凝集試験
T0-9201	135.1	—	—	+	+	F	+
T0-9204	119.8	—	—	+	+	F	+
T0-9205	60.8	—	—	+	+	F	+

4 投薬方法

フロルフェニコールでは規定量を配合飼料（ニジマス用ベレット）に直接添加、吸着させ投薬用飼料を作製した。オキシリン酸では薬剤を配合飼料の3%の水に懸濁させた後、飼料に添加、吸着させ投薬用飼料を作製した。投薬は1日1回とし、投薬時および経過観察時の給餌量は総魚体重の1.2%とした。

5 経過観察および検査

投薬7日前から投薬終了7日後まで斃死数を記録するとともに、水温測定、摂餌状況の観察を行った。斃死魚は全て氷冷して持帰り、剖検した後腎臓からT S A寒天培地を用いて細菌の分離を行った。また、投薬前の斃死魚から分離された細菌について簡易同定を行うとともに、ディスク法によりフロルフェニコール（FF）、オキシリン酸（OA）、スルファモノメトキシシン（SMM）、塩酸オキシテトラサイクリン（OTC）、ナリジクス酸（NA）、クロラムフェニコール（CP）の6薬剤に対する感受性試験を実施した。

6 試験期間

試験期間：平成4年4月24日～5月23日（30日間）

結果および考察

投薬開始前に実施した斃死魚の検査では体表の点状出血あるいはせっそう患部の形成が認められ、いずれの斃死魚からも褐色色素を産生する細菌が純分離された。分離された細菌の簡易同定の結果を表1に示したが、これらのことから本疾病は*Aeromonas salmonicida*によるせっそう病と判断された。これ以降の斃死魚検査において褐色色素を産生する細菌をせっそう菌として扱った。また、薬剤感受性試験の結果を表2に示したが、供試薬剤のフロルフェニコールに対する薬剤感受性は+++、オキシリン酸に対するそれは+～++であった。

試験期間中の水温および日間斃死数推移を図1に示した。

投薬開始前7日間の斃死数は、試験区1が3～18尾／日（合計77尾）、試験区2が5～13尾／日（合計65尾）で、試験区1の斃死数がやや多かったが、ほぼ同様の斃死状況であった。供試薬剤は試験区1にフロルフェニコールを、試験区2にオキサリジン酸を投薬した。以下、それぞれフロルフェニコール投薬区、オキサリジン酸投薬区と記載した。

表2 薬剤感受性試験（ディスク法）結果

菌株No.	FF	OA	SMM	OTC	NA	CP
T0-9204	+++	++	—	+++	—	+++
T0-9205	+++	+	—	+++	—	+++

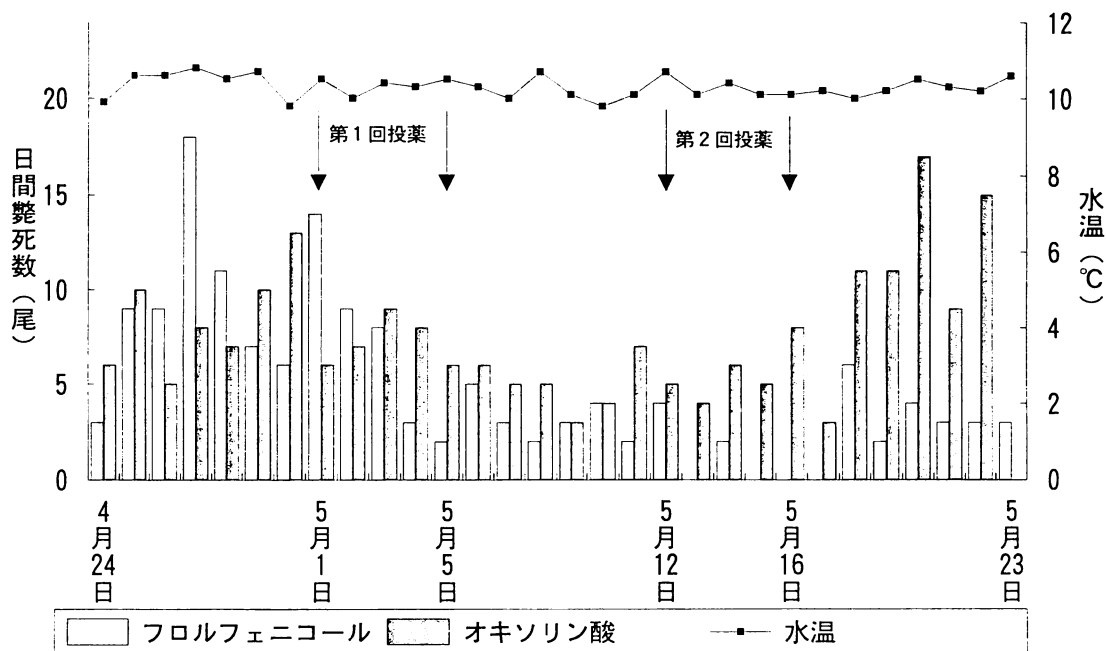


図1 水温および日間斃死数の推移

フロルフェニコール投薬区では投薬の翌日より斃死数の減少が認められ、投薬終了後7日間の斃死数は2～4尾／日に低下した。一方、オキサリジン酸投薬区でも4日目から斃死数が減少し、投薬終了後7日間の斃死数は3～7尾／日であった。しかし、両区のほぼ全ての斃死魚からせっそう菌が分離されたため、1回目の投薬終了7日後から2回目の投薬を実施した。

フロルフェニコール投薬区では2回目の投薬の翌日にはほぼ斃死が治まり、投薬終了時には斃死はみられなくなった。投薬終了2日後に6尾の斃死がみられ、このうち2尾からせっそう菌が分離されたが、その後の斃死魚からはせっそう菌は分離されず、せっそう病による斃死は治まったと判断された。なお、せっそう菌が分離されなかった斃死魚から細菌は分離されず、尾柄部の欠損等が観察されたためスレによる斃死と判断された。一方、オキシリン酸投薬区では2回目の投薬中に斃死数の減少傾向は認められず、投薬終了後に斃死数が増加した。このうち、8割以上の斃死魚からせっそう菌が分離され、投薬の効果は認められなかった。せっそう菌が分離されなかった斃死魚はフロルフェニコール投薬区と同様にスレによる斃死と判断された。また、1回目投薬開始時から2回目投薬終了7日後までの累積斃死数はフロルフェニコール投薬区が68尾（累積斃死率1.7%）、オキシリン酸投薬区が167尾（累積斃死率4.3%）であった。

本試験を実施したT養魚場では毎年低水温でせっそう病が発生し、せっそう菌の培地上での発育が非常に遅いのが特徴である。また、以前より投薬効果はあまり高くなく、オキシリン酸に対しても耐性菌が出現している養殖池である。本試験の結果、1回目のフロルフェニコール投薬で斃死数の減少がみられたものの、斃死魚からはせっそう菌が分離された。しかし、7日後の再投薬によりフロルフェニコールに対する耐性菌の出現もなく、せっそう病は治癒した。これらのことから、フロルフェニコール10mg/kg、5日間の1回または2回の投与がヤマメのせっそう病治療に有効であると判断された。