

## ヒラメの細菌性疾病

金井 欣也

長崎大学水産学部

ヒラメは、人工種苗が比較的安定的に供給され、出荷までの飼育期間が短く、製品魚がブリやマダイに比べて高値で取り引きされるなどの理由から新しい養殖対象種として注目され、養殖生産量が増加しつつある。しかし、他の魚種に比べて病気による被害が多く、ヒラメ養殖の発展のためには病気対策が重要な課題となっている。被害の中では、エドワジエラ症を筆頭に細菌性疾病によるものの割合が大きい。個々の疾病について十分に研究されているとは言えないが、これまでに得られている知見をもとに日本で報告されたヒラメの細菌性疾病について概説したい。

Key Words : *Paralichthys olivaceus*, Bacterial disease.

### 腸管白濁症

1970年代前半、種苗生産が試験的に行われていた頃より知られる、死亡率の高い疾病である。孵化後16~30日の変態期の仔魚が罹病するが、孵化後の経過日数が少ななものほど死亡率が高い傾向がみられる。病魚は体色がやや黒化し、腸の一部あるいは全体が白濁している。腹水が貯留し、腹部が膨満することもある(村田, 1987)。組織学的には、腸後半部から直腸にかけての粘膜に細菌が侵襲して増殖し、剥離性腸炎を引き起こすことを特徴とする(宮崎ら, 1990)。

病魚の腸管から、ある種の *Vibrio* 属細菌が優勢にあるいは純培養状に分離される。分離菌の性状に関しては、村田(1987)及び増村ら(1989)の報告があり、両者は同一種と考えられるが、血清学的には異なる(増村ら, 1989)。

筆者が長崎県下で腸管白濁症罹病魚から分離した細菌もこれらと性状が一致した(Table 1)。なお、本菌は新種と思われるが、*Vibrio* sp. INFL(Intestinal necrosis of flounder larvae)と呼んで他の菌種と区別されている。

*Vibrio* sp. INFLを取り込ませたワムシやアルテミア幼生を3日間連続して与える方法で人工感染が成功している(増村ら, 1989)。1回の経口投与や菌浴では発病させる

ことが困難であることから、発病に至るには、ある程度の菌数レベルの *Vibrio* sp. INFLがある期間腸内に留まっていることが必要であると推察される。なお、孵化後11日以前及び41日以降の仔魚は感受性が低いことが示されている(Muroga *et al.*, 1990)。

### 滑走細菌症

春から夏にかけて、各地の種苗生産場ならびに養殖場でよく発生する疾病である。成長したヒラメにも見られるが、幼稚魚での被害が大きい。主症状は鱗の欠損及び皮膚の壊死であり、患部は部分的に褪色し、粘液が失われてざらざらした感じになっている。魚体の辺縁部から半円状に患部が拡大することが多い。大型魚では、潰瘍化したり、口ぐされ、鰓ぐされなども見られる。患部の組織を取って検鏡すれば、長さが10~20µmの細長い桿菌が多量観察できる。組織学的には、表皮層が消失し、真皮表面および真皮層で長桿菌が増殖し、筋節の間隙に沿って脊椎骨まで長桿菌が侵入しているのが観察される。

原因はグラム陰性長桿菌の *Flexibacter maritimus* (Bergy's manual(Reichenbach, 1989)では *Cytophaga marina* として記載されている。)である。本菌は、初めマダ

イヤクロダイ稚魚の病原菌として報告されたものであり (Hikida *et al.*, 1979; Wakabayashi *et al.*, 1986)、海産魚における宿主範囲は広いと考えられる。生物学的及び生化学的性状が本采のものやや異なる菌株も分離されているが、DNA相同性が高いことから、それらも *V. maritimus* に分類されている (Baxa *et al.*, 1986, 1987)。血清学的な検討はなされていない。

### ビブリオ病

*Vibrio anguillarum* 及びそれに類似するビブリオ属の細菌による感染症である。発生件数はそれほど多くないが、稚魚から成魚に至るまでのいずれの成長段階でも発生し、稚魚では大量斃死することもある (山野井ら、1988)。病魚には、体色の黒化、鱗膜の破損や鱗軟条先端部の露出、体表及び鱗における出血、糜爛などが観察される。しかし、これらはビブリオ病固有の症状とは言えず、診断の際には原因菌の分離が必要である。

### ノカルジア症

1984年に初めて確認された疾病であるが、その後の発生はあまりないようである。しかし、本症の発生した水槽では累積斃死率が15%に達したことや、ブリのノカルジア症のように治療が困難なことも考えられるので注意が必要である。報告\*によると、本症が発生したのは9月から10月にかけてであり、病魚の体表面には出血斑と小さく隆起した膿瘍が点在し、鰓、心臓、脾臓及び腎臓に白色結節が認められる。ブリやカンパチのノカルジア症の原因菌として知られる *Nocardia seriolae* が原因と考えられている。患部の塗抹標本にはノカルジア菌特有の分岐状の菌塊が認められる。

### 連鎖球菌症

1970年代後半に見つかった疾病で、当初は散発的に発生する程度であったが、ここ数年は発生件数、被害ともに増加傾向にある。高水温期の養成魚に発生しやすく、

エドワジエラ症との混合感染症も起こっている。一般的な症状に、体色の黒化、眼球の突出や白濁、鰓蓋部の発赤、鰓の褪色や出血、肝臓のうっ血、腎臓や脾臓の腫脹、腹水の貯留がある (中津川、1983a)。

原因はグラム陽性、β溶血性の連鎖球菌 (*Streptococcus* sp.) であり、ブリ、イシダイ (小川ら、1982)、アユ、ニジマス (Kitao *et al.*, 1981) などから分離されている菌と性状が一致する。さらに、これらの分離株はアマゾンの淡水イルカから分離されたという *Streptococcus iniae* (Pier and Madin, 1976) の近縁種と考えられている (Table 2)。*Streptococcus* sp. をヒラメに筋肉接種した時の最少致死量は魚体重100gあたりほぼ  $10^7$  CFU であることから、ヒラメに対する病原性はさほど強くないと思われる。感染経路や発病機構についてはほとんどわかっていない。

### エドワジエラ症

1980年頃より各地で発生し始めた、ヒラメ養殖に最も被害を与えている疾病である。数cm程度の稚魚から成魚まで罹病するが、高水温期の発生が多い。日間斃死率は低いものの、長期にわたって死亡が続くため、結果的に被害を大きくする。外観的性状として、腹水の貯留による腹部の著しい膨満と、腸が肛門から押し出される、いわゆる脱腸がある。腹水は多数の細菌や白血球を含み、白濁している。解剖学的には、上記の外観的性状が見られない軽症魚では脾臓や腎臓が腫大する程度であるが、重症魚では肝臓や腎臓に大小様々な膿瘍が認められる (Miyazaki and kaige, 1985)。また、頭部が腫脹および発赤し、眼球周囲や口腔内に膿瘍が形成される病型も時折見られる。

原因は *Edwardsiella tarda* であり、ウナギ由采のものと同様の性状が一致する (Table 3) (中津川、1983)。*E. tarda* の培養菌を体重が30~50gのヒラメに対して筋肉接種した場合の最少致死量は魚体重100gあたり約  $10^6$  CFU である。ウナギの場合はおそらく  $10^7$  ~  $10^8$  CFU と思われるので、

\* 玉井 登・畑井喜司雄・窪田三朗・磯田政恵・松本紀男 (1986) : ヒラメのノカルジア症に関する研究 - I 自然発生例について。昭和61年度日本魚病学会大会講演要旨, No. 11.

Table 1. Characteristics of *vibrio* sp. isolated from flounder larvae suffered from bacterial white enteritis.

Character	Test strains (5 strains)	Masumura <i>et al</i> (1988) (6 strains)	Murata(1987)
Motility	+	+	+
Oxidase	+	+	+
Catalase	+	+	+
Indole production	+	+	-
MR test	+	+	
VP test	-	-	+
H <sub>2</sub> S production	-	-	
Gelatin liquefaction	-	-	-
Starch hydrolysis	+		+
Lysine decarbo.	-	-	-
Ornithine decarbo.	-	-	-
Arginine dehydro.	-	-	
Acid from :			
Glucose	+	+	+
Xylose	-	-	-
Arabinose	-	-	+
Mannose	+	+	+
Galactose	-	-	-
Sucrose	+	+	+
Cellobiose	-	-	+
Lactose	-	-	-
Mannitol	+	-	
Sorbitol	-	-	-
Inositol	-	-	-
Rhamnose	-	-	-
Levulose	+	+	
Maltose	+	+	+
Raffinose	-	-	-
Adonitol	-	-	-

Table 2. Characteristics of  $\beta$ -hemolytic *Streptococcus* isolated from flounder.

Character	Test strains (11 strains)	Nakatsugawa(1982) (4 strains)	<i>S. iniae</i> Pier and Madin(1976)
Oxidase	—	—	—
Catalase	—	—	—
Motility	—	—	—
Hemolysis	$\beta$	$\beta$	$\beta$
Growth at :			
10°C	—	—	+
45°C	—	—	—
6.5% NaCl	— (10/11)	—	—
pH9.6	—	—	—
Growth in 0.1% methylene blue milk	—	—	—
Growth with :			
10% bile	+	+	—
40% bile	—	—	—
PT test	+	—	—
TTC test	+	+	+
MR	+	+(3/4)	—
VP	—	—	—
Indole production	—	—	—
Simmon's citrate	—	—	—
Hydrolysis of :			
gelatin	—	—	—
casein	—	—	—
starch	+	+	+
hippurate	—	—	—
esculin	+	+	+
Lysine decarbo.	—	—	—
Ornithine decarbo.	—	—	—
Arginine dehydro.	+	+	—
Hyaluronidase	+	—	—
NADase	—	—	—
DNase	+	—	—
Chondroitinase	—	—	—
Acid from			
Arabinose	—	—	—
Adonitol	—	—	—
Cellobiose	+	+	—
Dulcitol	—	—	—
Esculin	+	+	—
Galactose	+	+	+
Glucose	+	+	+
Inositol	—	—	—
Lactose	—	—	—
Maltose	+	+	—
Mannitol	+	+	+
Mannose	+	+	+
Raffinose	—	—	—
Levulose	+	—	+
Rhamnose	—	—	—
Salicin	+	+	+
Sorbitol	—	—	—
Starch	+	+	—
Sucrose	+	+	+
Xylose	—	—	—

Table 3. Characteristics of *Edwardsiella tarda* isolated from flounder.

Character	Test strains (7 strains)	Nakatsugawa(1983) (4 strains)	<i>E. tarda</i> from eel Wakabayashi and Equis(1973)
Motility	+		+
Oxidase	-		-
Catalase	+		+
H <sub>2</sub> S production	+	+	+
Indole production	+	+	+
Simmon's citrate	-	-	-
Urease	-	-	-
Gelatin hydrolysis	-	-	-
Starch hydrolysis	-		-
MR test	+	+	+
VP test	-	-	-
Lysine decarbo.	+	+	+
Ornithine decarbo.	+	+	+
Arginine dehydro.	-	-	-
Hemolysis	β		
Gas from glucose	+	+	+
Hyaluronidase	+		
NADase	-		
DNase	-		
Chondroitinase	+		
Acid from			
Arabinose	-	-	-
Adonitol	-	-	-
Cellobiose	-	-	-
Dulcitol	-	-	-
Esculin	-	-	-
Galactose	+	+	+
Glycerol	+	+	+
Glucose	+	+	+
Lactose	-	-	-
Levulose	+	+	+
Maltose	+	+	+
Mannitol	-	-	-
Mannose	+	+	+
Raffinose	-	-	-
Rhamnose	-	-	-
Salicin	-	-	-
Sorbitol	-	-	-
Starch	-	-	-
Sucrose	-	-	-
Xylose	-	-	-

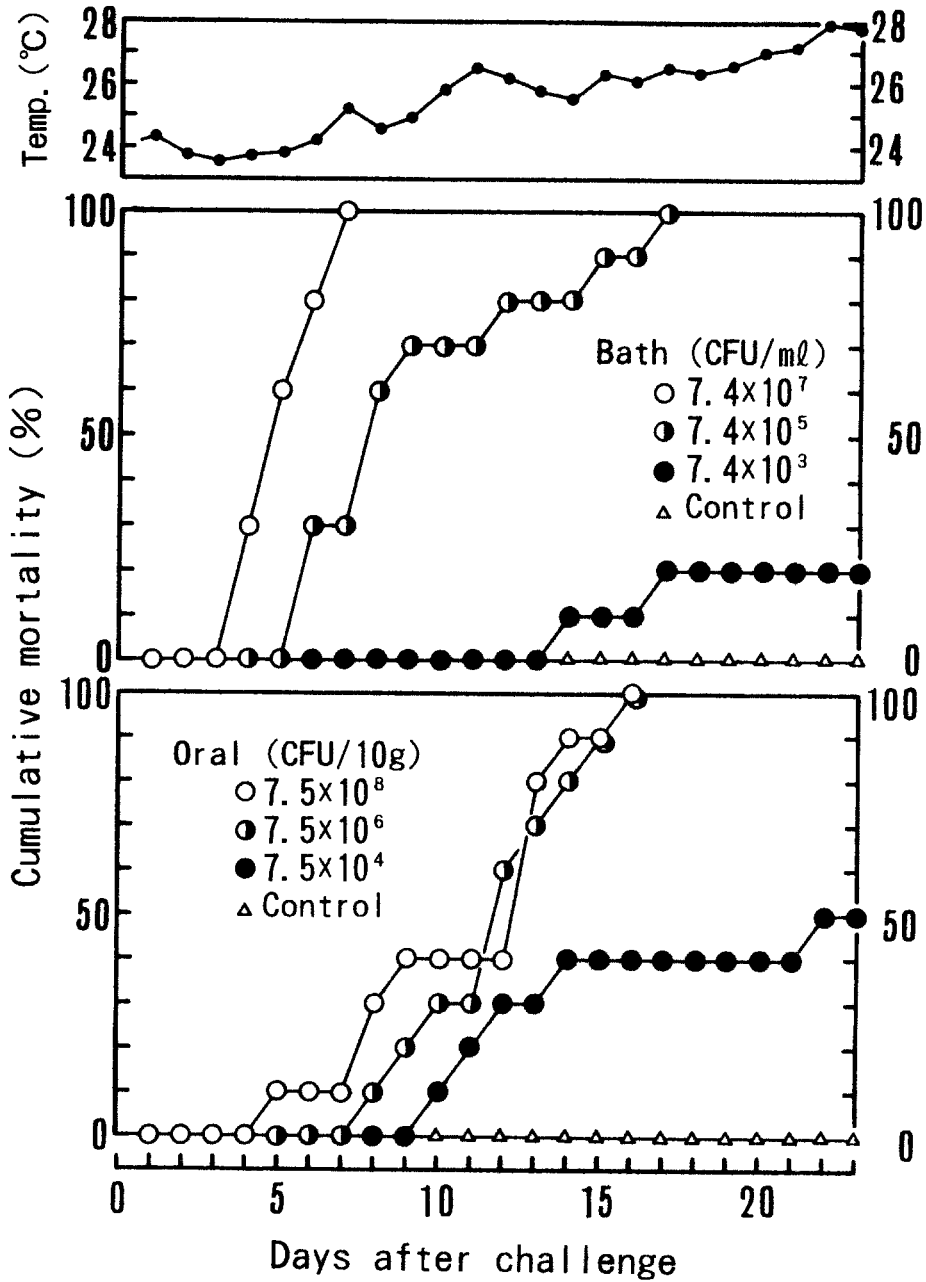


Fig. 1. Cumulative mortality of flounder(Ave. BW, 17g) artificially infected with *E. tarda*.  
 Bath : Flounder were immersed in the bacterial suspension for 15min.  
 Oral : Flounder were administrated the bacteria with food.

ヒラメはかなり感受性が高いと考えられる。また、菌浴や強制経口投与でも自然感染と同様の病状を再現させることができる(Fig. 1)\*。なお、菌浴では経口投与に比べて致死日数が短く、体表に出血などの異常が現れやすい。

*E. tarda*は養鰻環境には常在化しているようであるが(皆川ら、1983)、我々が行ったヒラメ養殖場の調査では、エドワジエラ症の流行時以外に海水や底泥から*E. tarda*が分離されることは殆どなかった(金井ら、1988)。感染実験で生き残った魚の体内からは*E. tarda*が高率に分離されるが、病気が終息した後、生き残った魚の一部が保菌魚となり、次の流行の感染源になるものと思われる。

## 文 献

- Baxa, D. V., K. Kawai and R. Kusuda : Characteristics of gliding bacteria isolated from diseased cultured flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Fish Pathology*, 21, 251~258, 1986.
- Baxa, D. V., K. Kawai and R. Kusuda : Molecular taxonomic classification of gliding bacteria isolated from diseased cultured flounder. *ibid.*, 22, 11~14, 1987.
- Hikida, M., H. Wakabayashi, S. Egusa and K. Masumura : *Flexibacter* sp., a gliding bacterium pathogenic to some marine fishes in Japan. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 45, 421~428, 1979.
- 金井欣也・田脇誠一・内田洋祐 : ヒラメ養殖場における *Edwardsiella tarda* の分布. 魚病研究, 23, 41~47, 1988.
- Kitao, T., T. Aoki and R. Sakoh : Epizootic caused by  $\beta$ -hemolytic *Streptococcus* species in cultured freshwater fish. *Fish Pathology*, 15, 301~307, 1981.
- 増村和彦・安信秀樹・岡田直子・室賀清邦 : ヒラメ仔魚の腸管白濁症原因菌としての *vibrio* sp. の分離. 魚病研究, 24, 135~141, 1989.
- 皆川武夫・中井敏博・室賀清邦 : 養鰻環境中における *Edwardsiella tarda*. 同誌, 17, 243~250, 1983.
- Miyazaki, T. and N. Kaige : Comparative histopathology of edwardsiellosis in fishes *Fish Pathology*, 20, 219~227, 1985.
- 宮崎照雄・梶原直人・藤原和恵・江草周三 : ヒラメ仔魚の腸管白濁症の病理組織学的研究. 魚病研究, 25, 7~13, 1990.
- 村田 修 : ヒラメの伝染性腸管白濁症. 同誌, 22, 59~61, 1987.
- Muroga, K., H. Vasunobu, N. Okada and K. Masumura : Bacterial enteritis of cultured flounder *Paralichthys olivaceus* larvae. *Dis. aquat. Org.*, 9, 121~125, 1990.
- 中津川俊雄 : 養殖ヒラメの連鎖球菌症について. 魚病研究, 17, 281~285, 1983a.
- 中津川俊雄 : ヒラメ養魚から分離された *Edwardsiella tarda*. 同誌, 18, 99~101, 1983b.
- 小川七朗・安永統男・畑井喜司雄・平川栄一 : 海面養殖場の各種魚病から分離された  $\beta$  溶血性連鎖球菌について. 長崎水試研報, 8, 81~90, 1982.
- Pier, G. B. and S. H. Madin : *Streptococcus Iniae* sp. nov., a beta-hemolytic *Streptococcus* isolated from an Amazon freshwater dolphin, *Inia geoffrensis*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 26, 545~553, 1976.
- Reichenbach, H. : Genus I. *Cytophaga*. In "Bergey's manual of systematic bacteriology vol. 3" (ed. by J. T. Staley, M. P. Bryant, N. Pfennig and J. G. Holt). Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 2015~2050.
- Wakabayashi, H., M. Hikida and K. Masumura : *Flexibacter maritimus* sp. nov., a pathogen of marine fishes. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 36, 396~398, 1986.
- 山野井英夫・桃山和夫・安信秀樹・室賀清邦 : ヒラメ稚魚に発生した *vibrio anguillarum* 感染症. 魚病研究, 23, 69~70, 1988.

\* 金井欣也・福島義之・西村 真・花井 拓・塚原淳一郎・長谷川義信(1991) : 菌浴および経口法によるヒラメエドワジエラ症の人為的発症. 平成 3年度日本魚病学会春季大会講演要旨, No. 27.

---

## Bacterial diseases of flounder, *Paralichthys olivaceus*

Kinya Kanai

*Faculty of Fisheries, Nagasaki University, 1-14 Bunkyo-machi, Nagasaki 852, Japan*

Flounder culture has been developed mainly in the western parts of Japan, and, to date, following six bacterial diseases have been reported.

Bacterial white enteritis occurs in 16 to 30-day-old flounder larvae and often causes mass mortality in seed production. Bacterium named *Vibrio* sp. INFL invades and multiplies in the mucosae of posterior part of intestine, and causes desquamative enteritis.

Gliding bacterial disease occurs mostly in juvenile stage and in spring to summer. Diseased signs are partial discoloration and erosion of skin and fins. Histologically, epidermis are removed, and the causative bacterium, *Flexibacter maritimus*, multiplies on the surface of dermis and invades into the muscular tissue.

Vibriosis caused by *Vibrio anguillarum* and related organism is one of the well-known diseases among marine fish. Outbreaks of the disease in flounder culture are relatively few, but mass mortalities in fingerlings due to the disease were reported.

An outbreak of nocardiosis in the autumn of 1984 has been reported, but since then the disease scarcely occurred. The disease is characterized by formation of abscesses under the skin and white nodes in the gill, heart, spleen and kidney.

Streptococciosis occurs frequently in recent years. Beta-hemolytic *streptococcus* is the causative bacterium, which possesses the same biochemical and serological characteristics as  $\beta$ -*streptococci* isolated from some marine and freshwater fish, and is seemed to related to *Streptococcus iniae*.

Edwardsiellosis is the disease that causes most damage in flounder culture in Japan. Characteristic symptoms are swelling of abdomen and intestinal protrusion from the anus due to accumulation of ascites. *Edwardsiella tarda*, a well-known pathogen of freshwater fish, is the causative bacterium of the disease.