

## 養殖ブリから分離された *Nocardia kampachi* の病原性\*

畑井喜司雄・安元 進

Pathogenicity of *Nocardia kampachi* Isolated from  
Cultured Yellowtail, *Seriola quinqueradiata*\*  
Kishio HATAI, and Susumu YASUMOTO

ノカルディア症は1972年 1975年に長崎県内の養殖場で流行し、ブリに大きな被害を与えたが、その後は他の細菌性疾病の被害が増加したこともあり問題になることは少なかった。ただし、本症は上五島の一部の地区には毎年発生し被害を与えてきた。ところが近年、本症は再び県内各地のブリ養殖場に流行するきざしをみせている。従って、本症の対策法を早急に確立することが今後ブリ養殖を健全に行うための重要な鍵になるものと思われる。

本報ではノカルディア症の対策法を検討するにあたり、その基礎となる病原菌のブリに対する病原性および宿主範囲について検討したのでその概要を述べる。

### 材料および方法

**供試菌株** 各病原性試験は *Nocardia kampachi* NA 8191 を用いた。本株は1981年11月4日に長崎県西彼杵郡大島町の養殖場でブリ0才魚の脾臓から分離したものである。

なお、最近ブリ病魚から分離される *N. kampachi* は小川培地には発育しないため、病魚からの分離、培養および継代は普通寒天培地又はブレインハートインヒュジョン (BHI) 寒天培地を用いて行った。

**人為感染方法** 普通寒天培地又はBHI寒天培地での25℃、4～5日間培養菌の各量(湿菌量)を体重100g宛0.2mlの生理食塩水に懸濁させ、MS 222で麻酔した各供試魚の背部筋肉内に接種する方法によった。

**ブリに対する病原性** 試験方法は表1に示した通りである。すなわち各試験は3月31日から12月14日までの間に6回実施し、前半の3回は1才魚を、また後半の3回は0才魚を用いて行った。なお、1才魚は2m×2m×2mの、また0才魚は1m×1m×1mの網生簀を用いて試験を行った。

菌接種後、人為感染魚は30日間の飼育を行い、この間へい死がみられた場合にはその都度剖検により病徴の有無を検査した。30日後、各試験における生残魚は剖検によりノカルディア

\*養殖ブリのノカルディア症に関する研究—I  
(Studies on Nocardiosis of Cultured Yellowtail, *Seriola quinqueradiata*—I)

表1. ブリから分離された *Nocardia kampachi* NA 8191 に対するブリの感受性試験方法  
 Table 1. Methods of inoculation experiments on the susceptibility of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) to *Nocardia kampachi* NA 8191 isolated from yellowtail.

No. of experiment	Course of experiment (1982)	Range water temperature (mean)	Age of fish used	No. of fish used	Mean body weight	Injection size per 100 grams of fish body
1	31, May to 1, Jul	21.6—23.8 (22.6)°C	1	9	660 g	1 mg (— CFU*)
2	9, Jun to 7, Jul	21.8—23.8 (23.0)	1	5	650	2 (5.6x10 <sup>6</sup> CFU)
3	19, Jun to 20, Jul	22.2—24.4 (23.4)	1	5	810	1 (1.7x10 <sup>6</sup> CFU)
	"	"	1	5	760	0.1 (5.2x10 <sup>4</sup> CFU)
	"	"	1	5	770	0.01 (1.4x10 <sup>4</sup> CFU)
	"	"	1	5	800	0.001 (1.1x10 <sup>3</sup> CFU)
4	11, Aug to 7, Sep	24.6—28.0 (26.3)	0	10	96	1 (2.4x10 <sup>6</sup> CFU)
5	17, Sep to 15, Oct	22.0—24.9 (23.6)	0	10	142	1 (— CFU)
6	15, Nov to 14, Dec	20.4—14.0 (17.3)	0	10	261	1 (4.0x10 <sup>6</sup> CFU)

\*Colony forming unit.

ア症の特徴的病徴である結節形成がみられるか否かを肉眼的に検査した。ただし、試験6における生残魚の剖検は68日後に実施した。

**12魚種に対する病原性** 接種菌量は各魚種とも1mgとし、カサゴ(120—220g)、ヒメラ(50—90g)、カワハギ(260—430g)、スズキ(200—260g)、メナダ(100—160g)、ハコフグ(80g)、メジナ(90—110g)、インダイ(200—300g)、マアジ(15—20g)、メバル(30—110g)、トラフグ(20—40g)およびブリ(60—90g)を供試して実施した。試験は1.5m×1.5m×1.5mの網生簀4面を用い、生簀Aにはカサゴ、ヒラメ、カワハギ、スズキ、メナダおよびハコフグを、生簀Bにはメジナ、インダイ、マアジおよびメバルを、生簀Cにはトラフグを、また生簀Dにはブリを収容して行った。試験経過の観察は菌接種後60日後まで行い、その時点で生残していた魚については剖検により結節が認められるか否かを検査した。試験期間中の水温は22.2—28.4°C(平均25.3°C)であった。

## 結果および考察

**ブリに対する病原性** 各試験におけるへい死状況は表2に示した通りである。

ブリに *N. kampachi* NA 8191 を接種した結果、最初にへい死がみられるのは菌接種後8日後であることが多く、その後約1週間の間に大部分の供試魚がへい死する傾向を示した。へい死魚を剖検すると例外なく脾臓および腎臓に結節が形成されており、さらに鰓および心臓にも結節がみられる個体が多かった。また体表に膿瘍が形成されている個体もあり、まれに肝臓に結節のみられることもあった。

試験4において菌接種4日後に人為感染魚を剖検した結果、肉眼的にはまだ結節が認められなかった。従って、菌接種後4日から8日の間に急速に結節が形成されるものと思われる。

試験1から3において人為感染魚は試験1でのみ2尾生残したが、剖検の結果これら2尾の臓器には明瞭な結節が認められた(表3)。従って、これら2尾もやがてへい死するものと推察されることから、1才魚に対する *N. kampa-*

畑井・安元：養殖ブリから分離された *Nocardia kampfachi* の病原性

表 2. *Nocardia kampfachi* NA 8 1 9 1 に対するブリの感受性試験結果  
Table 2. Results of inoculation experiments on the susceptibility of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) to *Nocardia kampfachi* NA 8 1 9 1.

No. of experiments	Injection size	Number of fish died													Mortality															
		Days after inoculation																												
		2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26		28	30													
1	1 mg				1	2	3	1																				77.8%		
2	1				1	2								1														1	100	
3	1								2	3																			100	
	0.1									1				1	1														60	
	0.01												1	1															1	60
	0.001											1		1																40
4	1				2	1	1	1					2	1	1											1			100	
5	1				2	5				1															1				90	
6	1													1														1	20	

表 3. 人為感染試験で生存した供試魚の病徴  
Table 3. Symptoms of fishes survived by inoculation experiments.

No. of experiment	Injection size	No. of fish	Body weight	Folk length	Degree of tubercle formation*					
					Body	Gill	Spleen	Kidney	Heart	Liver
1	1 mg	1	900g	39.5cm	—**	+	++	++	—	—
		2	740	36.7	—	+	++	—	—	—
3	0.1	3	1,160	41.5	—	—	+	—	—	—
		4	920	39.2	—	—	—	—	—	—
		5	955	40.0	—	—	—	—	—	—
	0.01	6	850	38.5	—	—	+	—	—	—
		7	880	37.7	—	—	—	—	—	—
		8	850	39.5	—	—	+++	++	—	—
		9	770	37.2	—	—	++	+++	+	—
10	1,030	41.2	—	—	+	—	—	—	—	
5	1	11	250	—	—	—	++	++	+	—

\* Judged by the naked eye.

\*\* Symbols: —, indicated no tubercle; +, ++, +++, increasing amounts of tubercle from slight to excellent.

*chi* の致死量は 1 mg 以上であると判定された。

試験 3 において 1 mg 以下の菌量を接種したブリは菌接種後 30 日以内に 100% へい死することはなく、また最初にへい死がみられたのは菌接種後 14 日後であった。生残魚を剖検すると(表 3), 0.1 mg および 0.01 mg 接種魚にはほとんど病徴は認められなかったが、0.001 mg 接種魚では 3 尾中 2 尾に明瞭な結節形成がみられた。すなわち、1 mg 以下の菌量では接種量よりもむしろ宿主側の要因が病徴発現に大きな影響を及ぼしていることを示しており、少ない

菌量であってもいったん魚体内に取込まれた菌は除菌されにくい場合があることを示唆したものである。

いっぽう、0 才魚に 1 mg の菌量を接種した結果、水温が下降するに従ってへい死率も低下する現象がみられた。この事実は実際の養殖の場においても高水温時に本症の発生が多く、水温が下降するに従って減少してくるという事実によく一致している。ただし、試験 6 において生残魚を剖検した結果、へい死率の低下は必ずしも魚体内からの完全な除菌とは関係のないこと

表4. *Nocardia kampfachi* NA 8191 に対する12魚種の感受性に関する接種試験結果  
 Table 4. Results of inoculation experiments on the susceptibility of 12 species of fishes to *Nocardia kampfachi* NA 8191.

Japanese name of fish used*	No. of floating cage used**	No. of fish used	Range body weight of fish used (mean)	Number of fish died												Mortality %
				Days after inoculation												
				8	10	12	14	16	18	20	25	30	40	50	60	
Kasago	A	5	120-220g (156)													0%
Hirame	A	5	50-90 (64)			2	1	2								100
Kawahagi	A	4	260-430 (340)	1	1	1										75
Suzuki	A	3	200-260 (220)													0
Menada	A	5	100-160 (138)					1						1		40
Hakofugu	A	1	80											1		100
Mejina	B	5	90-110 (96)													0
Ishidai	B	5	200-300 (262)													0
Maaji	B	4	15-20 (17)			2										50
Mebaru	B	5	30-110 (63)													0
Torafugu	C	5	20-40 (28)			1				2		1	1			100
Buri	D	5	60-90 (72)													0

\* Scientific name of fish : Kasago (*Sebaticus marmoratus*), Hirame (*Paralichys olivaceus*), Kawahagi (*Stephanolepis cirrhifer*), Suzuki (*Lateolabrax japonicus*), Menada (*Liza haematocheilia*), Hakofugu (*Ostracion cubicus*), Mejina (*Girella punctata*), Ishidai (*Oplegnathus fasciatus*), Maaji (*Trachurus japonicus*), Mebaru (*Sebastes inermis*), Torafugu (*Fugu rubripes rubripes*), Buri (*Seriola quinqueradiata*).

\*\* 1.5 x 1.5 x 1.5 m.

Each fish was intramuscularly injected with  $1.0 \times 10^7$  CFU of viable cells of *N. kampfachi* NA 8191 per 100 g of fish body.

The water temperature was 22.2 to 28.4°C (average 25.3°C) during the course of experiment.

表5. 人為感染試験で生存した供試魚の病徴  
 Table 5. Symptoms of fishes survived by inoculation experiments.

Japanese name of fish used	No. of fish survived	Range body weight of fish survived (mean)	No. of fish examined	No. of fish with tubercles in		
				spleen	kidney	heart
Kasago	5	130-230 (176) g	5	0	0	0
Hirame	0					
Kawahagi	1	420	1	0	0	0
Suzuki	3	202-252 (228.7)	3	0	0	0
Menada	3	90-178 (140)	3	3	0	2
Hakofugu	0					
Mejina	5	97-143 (116.6)	5	0	0	0
Ishidai	5	294-490 (358.8)	5	0	0	0
Maaji	2	40-45 (42.5)	2	0	0	0
Mebaru	5	26-106 (60.6)	5	1	1	0
Torafugu	0					
Buri	5	244-328 (284)	5	0	0	0

が示された。すなわち、生残魚の剖検は菌接種後68日後であったにもかかわらず、脾臓に微小結節が多数認められた。これは低水温期の場合、致死量である菌量が接種されても魚体内で菌が十分に増殖できず、しかも除菌されにくいことを示している。従って、このような魚は水温の上昇に伴い再び体内で菌の増殖がおこることが考えられる。養殖場においてもこのような保菌魚が新たな感染源になる場合もあるものと思われるので、本症の防除法を考える際にはこの点を十分に考慮する必要がある。

**12 魚種に対する病原性** 試験結果は表4に示した通りである。本試験の結果、表4から明らかかなように、ブリに対して致死量である1mgの菌量を接種したにもかかわらず対照として用いたブリにへい死がみられなかった。60日後にこれらのブリを剖検した結果、肉眼的に結節の形成もみられなかった(表5)。ところがヒラメ、カワハギ、メナダ、ハコフグ、マアジおよびトラフグではへい死する個体がみられ、へい死魚には明瞭な結節が認められた。従って、供試菌の状態にとくに問題があったとは考えられず、むしろこれらの魚種は *N. kampachi* に高い感受性を有するものと判定して差支えないと思われた。これらの魚種中、とくにヒラメ、ハコフグおよびトラフグはへい死率が100%であったことからとくに感受性の高い魚種といえる。またメナダは生残した3尾中3尾ともに結節がみられたことから同様に高い感受性を有する種と思われた。

いっぽう、カサゴ、スズキ、メジナ、イシダイおよびメバルの5魚種はブリと同様へい死がみられなかった。ただし生残魚を検査した結果、

1尾のメバルだけに結節が認められた(表5)。しかし、本来の宿主であるブリにへい死がみられなかったことから、ブリにへい死がみられる試験条件下では他魚種においても感染が成立したのではないかと考えられる。従って、今後宿主範囲を明確にするにはさらに検討が必要と思われる。

なお、今回ブリに病徴が発現されなかった要因の一つとして収容密度があげられる。すなわち、収容密度が低いために魚体にストレスが加わることがなく、その結果として耐病性が増加され発症が抑制されたのではないかと考えられる。今後この点に関しては極めて興味ある問題なので実証したいと考えている。

## 要 約

1. 養殖ブリのノカルディア症罹病魚から分離された *Nocardia kampachi* NA 8191 を用い、ブリに対する病原性試験およびブリ以外の魚種に対する病原性試験を実施した。
2. ブリ1才魚に対する *N. kampachi* の致死量は1mg以上と判定され、1mg以下の菌量を接種した場合、接種量よりもむしろ宿主側の要因が病徴発現に関与しているものと推察された。
3. ブリ0才魚に1mgの菌量を接種した結果、水温の低い時期の試験ほど低いへい死率を示した。とくに20℃以下では生残魚の脾臓に微小な結節が多数形成されていたことから、接種菌は魚体内で十分発育できず、しかも長期間除菌もされずに存在することが示唆された。これはいわゆる保菌の状態であると思わ

れる。

4. 12魚種に対する人為感染試験を行った結果、ヒラメ、カワハギ、メナダ、ハコフグ、マアジおよびトラフグは *N. kampfachi* に強い感受性を示す魚種であると判定された。いっぽう、カサゴ、スズキ、メジナ、イシダ

イ、メバルおよびブリにはへい死がみられなかった。ただし、対照魚として用いたブリにへい死がみられなかったことから、*N. kampfachi* の宿主範囲についてはさらに検討する必要がある。

### Abstract

Susceptibilities of many marine fishes to *Nocardia kampfachi* NA8191 isolated from the spleen of cultured yellowtail, *Seriola quinqueradiata* with nocardiosis were tested by means of intramuscular injection.

An attempt was made first to infect cultured yellowtails. As the results of the injection experiments to one-year-old yellowtails, the injection of over 1mg of *N. kampfachi* cells in wet weight per 100 grams of body weight killed almost all of the animals within 14 days, but the injection of under 1mg of viable cells were 40 to 60% in the mortalities. As the results of the injection experiments to zero-year-old yellowtails, the mortalities were higher in injection experiment performed at 26.3°C than at 17.3°C. Namely, it was suggested that the pathogenicity of *N. kampfachi* to yellowtails depended on the water temperature.

As the results of the injection experiments on the susceptibility of 12 species of marine fishes to *N. kampfachi*, it appeared that 6 species of them were susceptible as shown in Table 4.

## 養殖マダイに寄生する頸長鉤頭虫の駆除試験

畑井喜司雄・安元 進・安永 統男

Experiments upon the Control of *Longicollum pagrosomi*

in Cultured Red Sea bream, *Pagrus major*

Kishio HATAI, Susumu YASUMOTO and Norio YASUNAGA

近年、長崎県内の養殖マダイに頸長鉤頭虫 (*Longicollum pagrosomi*) が多数寄生することにより原因するロンギコラム症が多発している。とくに県北部の養殖場には本症が蔓延しており、マダイ養殖上大きな障害となっている。

本報では本症を概説するとともに、頸長鉤頭虫の駆除試験を試みた結果についてその概要を述べる。

### 材料および方法

**供試魚** 1982年7月3日に長崎県北松浦郡のマダイ養殖業者より頸長鉤頭虫の多数寄生したマダイ(3年魚)を200尾購入し、それらを長崎県水産試験場増養殖研究所へ陸上輸送後、いったん2m×2m×2mの網生簀に収容し、十分馴致した後にその一部を駆除試験に供した。

**供試薬剤** ビチオノール(田辺)およびデパラシン-30\*(三共)を用い、投薬量は前者が魚体重1kg当たり0.5gおよび0.25g、後者が

0.5gおよび0.1gとし、各々連続的に3日間経口投与した。

**投薬試験** 試験は1.5m×1.5m×1.5mの網生簀を用いて実施した。

ビチオノールの投薬は8月31日に網生簀3面に供試魚を各々15尾ずつ分養し、以後馴致を行った後に、9月10日から12日に実施した。投薬量は9月3日に個体測定した供試魚の体重(表1)<sup>2</sup>より算出した。

デパラシン-30の投薬は10月5日に網生簀2面に供試魚を各々10尾ずつ分養し、以後馴致を行った後に、10月18日から20日に実施した。投薬量は10月5日に個体測定した供試魚の体重(表1)より算出した。

**投薬方法** 馴致期間中のオレゴンペレット飽食量より投薬時の給餌率(表1)を定めた。各薬剤はマッシュおよびマイワシミンチと十分に混合し、オレゴンペレットとした後に直ちに投与した。

**駆除効果の判定** 薬効は生理食塩水を入れたシャーレ内に検査魚の直腸を摘出した後、腸管

\*牛・豚・鶏の広範囲駆虫剤：本剤1g中にパーベンダゾール300mgを含有