

在来マスのBKD垂直伝播防止に関する研究—II エリスロマイシン注射による養殖アマゴ親魚群のBKD保菌率の抑制

小原 昌和

The study on the vertical transmission of Bacterial Kidney Disease in Japanese salmon. —II

The control of the ratio of BKD carrier in the farmed AMAGO salmon bloodstock by erythromycin injection

Masakazu Kohara

細菌性腎臓病 (BKD) では、防除対策を検討する上で垂直伝播の問題が大きな課題である。このため防除対策研究においても垂直伝播に係る研究が主になされており、アメリカでは親魚、卵及び稚魚を対象にエリスロマイシンを投与する一連の防除対策が試みられている¹⁾。このうち、親魚へのエリスロマイシン注射についてはその有効性が認められてきている^{2) 3)}。わが国のBKD対策にとっては、これら対策の有効性を評価し、在来マスの養殖現場に普及できる技術に体系化することが必要である。

本報ではエリスロマイシンをアマゴ親魚に投与し、採卵期におけるBKD保菌率の抑制効果を検討した。

材料及び方法

供試魚群及び試験区

1991年及び1992年に、BKDに汚染された木曾郡内の民間養魚場のアマゴ親魚群へエリスロマイシンを注射投与し、採卵時におけるBKD保菌率を調査した。

試験を行った養魚場は、前報⁴⁾で報告した養魚場と同一であり、供試した親魚群も両年それぞれに同じである。

1991年には、採卵期約1ヶ月前までひとつの群で養成してきた親魚を、9月10日に投与群1600尾と無投与の対照群200尾に分けた。その後、投与群はコンクリート製飼育池(4×15×0.6m)で、対照群はFRP水槽(1×3×0.8m)で採卵期の検査時まで通常の管理方法で飼育した。試験期間中の水温は、9.0~17.5°Cであった。

1992年においても、採卵期約1ヶ月前まで1群で養成してきた親魚群を、9月3日に腹腔へ注射投与する群(以下、腹腔投与群と記す)2050尾、筋肉へ注射投与する群(以下、筋肉投与群と記す)200尾及び対照群200尾に3分した。

その後、腹腔投与群はコンクリート製飼育池(4×15×0.6m)で、筋肉投与群及び対照群はFRP水槽(1×3×0.8m)で採卵期の検査時まで通常の管理方法で飼育した。試験期間中の水温は、10.7~18.5°Cであった。

エリスロマイシンの投与

親魚群へのエリスロマイシン投与には、日本全業工業社製動物用エリスロマイシン注射液(エリスロマイシン注N Z)を使用した。投与量は魚体重1kgあたりエリスロマイシン100mg量とし、前もって2-フェノキシエタノールで麻酔した親魚に連続注射器(富士平工業社製)で注射投与した。注射した部位は、腹腔投与群では腹鰭付近の腹部であり、筋肉投与群では背鰭基部の筋肉である。

保菌魚の検査

1991年及び1992年ともに、採卵期1ヶ月前のエリスロマイシン投与時と採卵期の2期において親魚のBKD保菌検査を行った。採卵期の検査日は、1991年が10月20日、1992年が10月15、23日である。

1991年では、投与直前に60尾を、また採卵期には投与群及び対照群からそれぞれ60尾を無作為に採取し、検査に供した。1992年では、投与直前に60尾を、また採卵期には腹腔投与群から60尾、筋肉投与群から40尾並びに対照群から35尾を採取し、検査に供した。

検査の手順としては、まず魚体腹部を切開して腎臓を露出させた後、BKD発病魚において定型的に認められる白色の隆起した結節様病変の有無を観察した。そして、滅菌綿棒を使用して腎臓の塗沫標本を作製し、間接蛍光抗体法により病原菌の有無を検査した。

間接蛍光抗体法(IFAT)

間接蛍光抗体法(以下、蛍光抗体法と記す)の操作手順、

材料及び判定方法は、前報と同じである。

結 果

親魚群のBKD保菌率

エリスロマイシンを投与したアマゴ親魚群のBKD保菌率について表1に示した。

1991年では、採卵期1ヶ月前の親魚群では60尾中1尾(1.7%)の保菌魚が検出された。採卵期の検査では、エリスロマイシンの腹腔投与群で60尾中3尾(5.0%)の保菌魚が、対照群で60尾中7尾(11.7%)の保菌魚が検出された。腹腔投与群の保菌率は対照群に比べて低かったが、統計学的な有意差は認められなかった($P>0.05$)。また採卵期における対照群及び腹腔投与群の保菌率は、採卵期1ヶ月前に比べて保菌率が高まっていた。なお、検出された保菌魚の腎臓に定型的な病変所見は認められなかった。

1992年では、採卵期1ヶ月前の検査で、60尾中1尾(1.7%)の保菌魚が検出された。採卵期の検査では、腹腔投与群で60尾中1尾(1.7%)の保菌魚が、そして筋肉投与群で40尾中1尾(2.5%)の保菌魚が検出された。これに対して対照群では35尾中7尾(20.0%)の保菌魚が検出された。エリスロマイシンを投与した両群の保菌率は対照群に比べて低く、腹腔注射群では確率水準1%で、また筋肉注射群では確率水準5%でそれぞれ対照群との間において統計学的な有意差が認められた。腹腔投与群と筋肉投与群の保菌率には、統計学的な有意差は認められなかった($P>0.05$)。また、採卵期1ヶ月前と採卵期における保菌率を比べると、投与両群の保菌率は増減しなかったが、対照群の保菌率が高まっていた。なお、蛍光抗体法で検出された保菌魚の腎臓に定型的な病変所見は認められなかった。

表1 エリスロマイシン投与したアマゴ親魚群におけるBKD保菌魚の検出率

検査年	試験区	FAT	
		採卵1ヶ月前	採卵期
1991年	腹腔投与群	—	3/60 (5.0)
	対照群	1/60 (1.7)	7/60 (11.7)
1992年	腹腔投与群	—	1/60 (1.7)
	筋肉投与群	—	1/40 (2.5)
	対照群	1/60 (1.7)	7/35 (20.0)

* ()内の数値は、百分率を示す。

1991年及び1992年に、エリスロマイシンを投与した親魚群と対照群で検出した採卵期の保菌魚について、階級別の判定尾数を表2に示した。

エリスロマイシンを投与した親魚群から検出した保菌魚

は5尾であり、判定階級は++階級以下のレベルであった。これに対して、対照群から検出した14尾の保菌魚のうちで+++階級が6尾みられた。

表2 採卵期に検出したアマゴ保菌親魚の判定階級別の出現尾数

試験区分	判定階級	FAT		
		+++	++	+
エリスロマイシン投与群			3	2
対 照 群		6	1	7

*判定階級 +++: 各1視野中に10菌体以上

++: 各1視野中に1~10菌体

+: 100視野中に2~10菌体

考 察

採卵期前の親魚へエリスロマイシンを注射投与する試みに関しては、Lee and Gordon⁵⁾がマスノスケ親魚へエリスロマイシン 20mg/kg・BW 量を皮下注射し、腎臓及び体腔液における保菌率が非投与群に比べて下がることを報告している。わが国では、兵藤ら⁶⁾が養魚場のヤマメ親魚にエリスロマイシンを筋肉注射した投与試験例がある。投与群と非投与群の保菌率には差がないが、非投与群の中には腎臓において蛍光抗体法により確認される病原菌数が非常に多い個体が含まれ、投与群の個体では総じて確認菌数が少ないことを報告している。

アマゴ親魚を対象に行った本研究においても、採卵期 1ヶ月前の時期に親魚へエリスロマイシンを注射投与することにより、採卵期における保菌親魚の割合を低減できることが分った。さらに、対照群から検出した保菌魚には判定階級が+++レベルの保菌親魚が含まれたのに対して、投与群からは+++レベルの重度な保菌魚は検出しなかった。これは、兵藤ら⁶⁾の結果と一致するものであり、エリスロマイシンの投与により親魚の保菌レベルも抑制できたと考える。

著者は前報⁴⁾において、採卵期のアマゴ親魚の保菌検査を行い、腎臓の保菌レベルが重度な親魚において体腔液の汚染がみられたことを報告した。本研究でエリスロマイシンを投与した親魚では、腎臓において重度な階級の保菌魚を検出しなかったことから、エリスロマイシン投与により体腔液の汚染を抑制できたものと推察できる。よって、採卵期前にエリスロマイシンを投与することは、保菌親魚の数を低減し、かつ体腔液を介しての卵汚染の防止についても有効であると考えられる。

しかし、エリスロマイシンを投与しても、採卵期には依然として保菌魚が含まれることから、投与回数、時期及び投与方法などを検討し、これらを複合させたより有効な投与スケジュールを追究する必要がある。

また、BKD垂直伝播においては体腔液の汚染による卵内感染が強く疑われている^{7) 8)}が、本研究ではエリスロマイシンを投与した親魚の卵内における病原菌の存在に関しては未検討である。卵内感染の機序については依然不明な点が多く、野外調査及び実験感染手法による検討が必要である。

なお本実験において、採卵期 1ヶ月前の時期に比べて採

卵期における保菌親魚の割合が増加している。これは、成熟に伴う免疫機能の低下が原因していると考えられる。成熟期になる以前の段階において保菌魚の割合が高かった場合には、採卵期における保菌魚の割合は本結果よりさらに高まることが考えられる。従って、親魚群にBKDが発生、流行した場合の投薬による治療、あるいは予防投薬による流行の防止対策についても親魚の保菌対策の一環として考えるべきである。

要 約

- 1) BKDに汚染された養魚場のアマゴ親魚に対して採卵 1ヶ月前の時期にエリスロマイシンを注射投与し、採卵期における親魚の保菌状態を調べた。
- 2) エリスロマイシンを投与しない対照群の保菌率が 11.7~20.0%であったのに対して、投与群の保菌率は 1.7~5.0%であり、エリスロマイシンの注射投与が保菌率の抑制に有効であった。
- 3) 投与群では、対照群でみられた+++階級の重度な保菌魚がみられず、エリスロマイシンの投与により保菌レベルも抑制できることが分った。
- 4) エリスロマイシン腹腔投与群と筋肉投与群の保菌率には統計学的有意差がなく、同等の効果がみられた。

参考文献

- 1) 木村喬久, 吉水 守, 原 武史: サケ科魚類の細菌性腎臓病 (BKD) の診断技法. 水産増養殖叢書 35, 日本水産資源保護協会, 東京, 1987, pp. 26-47.
- 2) Evelyn, T. P. T.: Bacterial kidney disease in British Columbia, Canada: Comments on its epizootiology and on methods for its control on fish farms. In AQUA NOR 87 Trondheim international Conference, Norske Fiskeoppdretters Forening - Fiskeoppdretternes Salgslag A/L, Trondheim, 51-57 (1988).
- 3) Elliott, D. G., Pascho, R. J. and Bullock, G. L.: Developments in the control of bacterial kidney disease of salmonid fishes. Dis. Aquat. Org., 6, 201-215 (1991).
- 4) 小原昌和: 在来マスのBKD垂直伝播防止に関する研究-I, 採卵期アマゴ親魚からのBKD病原菌の検出. 長野水試研報 第5号, **-* (2000).
- 5) Lee, E. G. H and Gordon, M. R.: Immunofluorescence screening of

Renibacterium salmoninarum in the tissues and eggs of farmed Chinook salmon spawners. *Aquaculture*, 65, 7-14 (1987).

- 6) 兵藤明子, 山田和雄, 野上康宏, 鈴木惇悦, 吉水 守 : 細菌性腎臓病 (BKD) の防疫に関する研究-I, 垂直感染防除を目的としたエリスロマイシン注射時期の検討. 新潟県水試研報 No.21. 33 (1995).
- 7) Evelyn, T. P. T., Proserpi-Porta, L. and Ketcheson, J. E. : Experimental intra-ovum infection of salmonid eggs with *Renibacterium salmoninarum* and vertical transmission of the pathogen with such eggs despite their treatment with erythromycin. *Dis. Aquat. Org.*, 1, 197-202 (1986).
- 8) Lee, E. G. H. and Evelyn, T. P. T. : Effect of *Renibacterium salmoninarum* levers in the ovarian fluid of spawning Chinook salmon on the prevalence of the pathogen in their eggs and progeny. *Dis. Aquat. Org.* vol. 7 179-184 (1989).