

魚類養殖試験（マダイのエドワジエラ症対策）

田中真二

目的

当県の養殖マダイに最も大きな被害を及ぼす病気であるエドワジエラ症の対策を確立するため、漁場における原因菌の分布状況を調査するとともに、効果の薄い抗生物質等の投与に代わる有効な対策について検討する。

材料および方法

1. *Edwardsiella tarda* 分布調査

昨年度に調査した尾鷲市および海山町の各1生簀のマダイを引き続き調査対象とした。平成16年6, 7, 9および12月に底泥, 5m層海水およびマダイ1歳魚10尾（正常遊泳魚）の腎臓と腸管について、昨年度と同様の方法にPCR法を加えて*E. tarda*の検出を行った。

2. 人為感染手法の検討

昨年度に引き続き、*E. tarda*の人為感染手法を検討した。供試魚、供試菌株および飼育方法は昨年度と同様とした。

3. 予防、治療方法の検討

平均体重23~30gのマダイ用い、1試験区25~30尾として、バクテリオファージ、ワクチンおよび多糖類（マンノース）+乳酸菌製剤の効果を検討した。攻撃菌株には*E. tarda*のMEE0301株を用いた。

バクテリオファージの試験は3回繰り返し行った。*E. tarda*をマダイに浸漬（試験1, 2: 5.2×10^7 cfu/mL海水で1.5時間）または経肛門接種（試験3: 1.5×10^8 cfu/尾）により感染させ、1および5時間後に*E. tarda*溶菌活性を有するファージ培養液を1尾あたり0.3mLの計算で市販のエクストルーダーペレット（EP）に添加し、自由摂餌させた。ファージの投与は試験1, 2では感染当日のみ、試験3では感染当日の2回に加え、翌日~5日後にも毎日1回行った。

ワクチン試験では、*E. tarda*（MEE0301株）不活化菌体含有リポソームワクチン（ $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ ）を1尾あたり200 μL の計算でEPに添加し、10日間隔で2回経口投与（1回につき3日間連続投与）した。1回目の投与初日から20日後に*E. tarda*を浸漬（ 8.0×10^7 cfu/mL海水で1.5時間）により感染させた。

多糖類+乳酸菌製剤の試験では、本製剤を1尾あたり0.014gの計算でEPに添加し、5日間経口投与後、*E. tarda*を経肛門接種（ 3.4×10^8 cfu/尾）により感染させた。

これらの供試魚を23~26°Cで10~25日間飼育し、死亡状況を観察した。

結果および考察

1. *E. tarda* 分布調査

尾鷲市の漁場では、本症の発生は小規模で、調査対象生簀では本症が発生せず、底泥、海水および魚体のいずれからも*E. tarda*は全く検出されなかった。

海山町の漁場における、魚体からの*E. tarda*検出結果を昨年度分と合わせて図1に示す。両年とも底泥および海水からは*E. tarda*は検出されなかったが、本症が流行した7~12月に1~6尾の腸管あるいは腎臓から本菌が検出された。特に腸管からの検出頻度が高かったことから、*E. tarda*はまず腸管に定着した後に体内に侵入（感染）することが示唆された。したがって、本症の流行の初期に腸管から本菌を排除する対策が確立されれば、本症による被害を軽減できると考えられる。

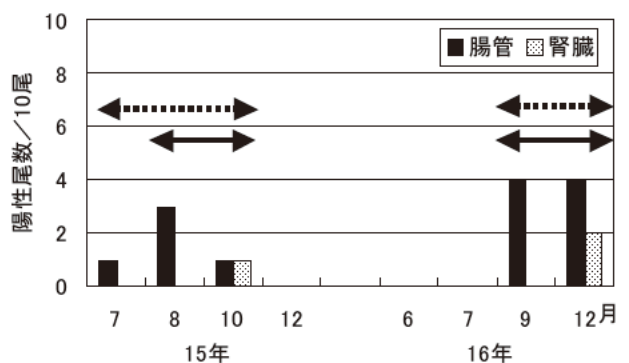


図1 マダイ定期採材魚における*E. tarda*検出結果
エドワジエラ症流行期間 (漁場) (調査生簀)

2. 人為感染手法の検討

各手法による感染実験の結果を表1に示す。腹腔内接種では、感染2日後に全ての魚が死亡し、症状も再現されなかった。また、経口感染では、死亡率が10~30%と不十分であった。一方、経肛門、浸漬および皮下接種の各手法では、症状を発現した魚が徐々に死亡し、死亡率も適度であったことから、これらの3手法を予防、治療試験に用いることとした。

3. 予防、治療方法の検討

予防、治療試験の結果を表2に示す。バクテリオファージの試験では、3回の試験のいずれにおいても有効性が

認められなかったことから、ファージによる本症の治療は困難であると思われる。

リボソームワクチンの試験では、ワクチン区の死亡率(16%)は対照区(40%)より低かったものの、有意差は認められなかった。本ワクチンについては、作製方法や投与量等に改善の余地があるので、これらを改良した上で再試験を行う必要がある。

多糖類+乳酸菌製剤の試験では、製剤投与区の死亡率(3%)が対照区(33%)より有意に低かったことから、今後は効果の再現性を確認するとともに、適切な投与条件(投与量および投与間隔)を明らかにする必要がある。

表1 エドワジエラ症の人為感染手法の検討

感染方法	死亡までの経過日数	症状再現の有無	死亡率(%)
腹腔内 (4.0~5.5×10 ⁶ cfu/尾)	2	なし	100
経口 (8.6×10 ⁸ ~7.0×10 ⁹ cfu/尾×3日間)	5~15	有	10~30
経肛門 (1.0×10 ⁷ ~1.4×10 ⁹ cfu/尾)	5~20	有	30~45
浸漬 (1.2×10 ⁷ ~1.7×10 ⁸ cfu/mL×1.5時間)	2~15	有	24~90
皮下 (3.4×10 ⁵ ~3.4×10 ⁶ cfu/尾)	5~20	有	67~73

表2 エドワジエラ症の予防、治療試験

検討項目	試験区	死亡率(%)	
バクテリオファージ	試験1	ファージ区	68
		対照区	72
	試験2	ファージ区	68
		対照区	48
	試験3	ファージ区	20
		対照区	44
リボソームワクチン	ワクチン区	16	
	対照区	40	
多糖類+乳酸菌製剤	製剤区	3*	
	対照区	33	

* χ^2 検定で有意差あり ($p < 0.05$)