

岐阜県で初めて確認された細菌性腎臓病(Bacterial Kidney Disease; BKD)について

荒井 真・川瀬好永^{*}・森川 進

On First Observation of Bacterial Kidney Disease in Gifu Prefecture

Makoto ARAI・Yoshinaga KAWASE^{*}・Susumu MORIKAWA

サケ科魚類の細菌性腎臓病(BKD)は、1933年にスコットランドの大西洋サケ(*Salmo salar*)で、1935年にアメリカのカワマス(*Salvelinus fontinalis*)¹⁾で発生、報告された古くから知られている細菌性の慢性疾患である。

日本では、木村・粟倉が、1973年から1974年にかけて北海道のマスノスケ(*Oncorhynchus tschawytscha*)・ヒメマス(*O.nerka*)・カラフトマス(*O.gorbuscha*)・ヤマメ(*O.masou*)での発病例を報告しているのが最初で、以後、1道18県の養魚場のギンザケ(*O.kisutch*)・マスノスケ・サケ(*O.keta*)・カラフトマス・ヤマメ(サクラマスを含む)・アマゴ(*O.rhodulus*)・ヒメマス・ニジマス(*S.gairdneri*)・イワナ(*Salvelinus pluvius*)・イワカワ(イワナとカワマスの交雑種)^{3) 4) 5)}の10魚種に本病の存在が報告されている。

*現在 岐阜県農政部水産振興室

本病の原因菌 *Renibacterium salmoninarum*⁶⁾は分離培養が難しく、従って本病の診断は、臟器の直接塗抹標本のグラム染色によるグラム陽性菌の観察によっていたが、より精度の高い診断法としてBULLOCK *et al.*, CHEN *et al.*, 木村,⁷⁾ 木村らのゲル内沈降反応, BULLOCK and STUCKEY¹¹⁾の蛍光抗体法, 木村・吉水のcoagglutination test(共同凝集試験), 酒井らのDot blot法などの免疫学的手法を用いた検査方法により、診断精度は著しく向上した。^{8) 9)}

本県におけるBKDの発生は、1986年4月17日の巡回指導時に県西部のA養魚場で採取したアマゴ1年魚5尾、ヒメマス2年魚2尾の斃死魚のなかに、腎臓に白い結節様病巣のある検体があつたため、木村・吉水の方法に従って、共同凝集試験を行った所、BKDであることが確認された。本報告では、当該養魚場の飼育魚で実施

した保菌調査、病魚の症状、当該養魚場から出荷した種卵の追跡調査の結果について報告する。

なお、本研究の一部は、近海漁業資源の家魚化システムの開発に関する総合研究として実施された。

材料及び方法

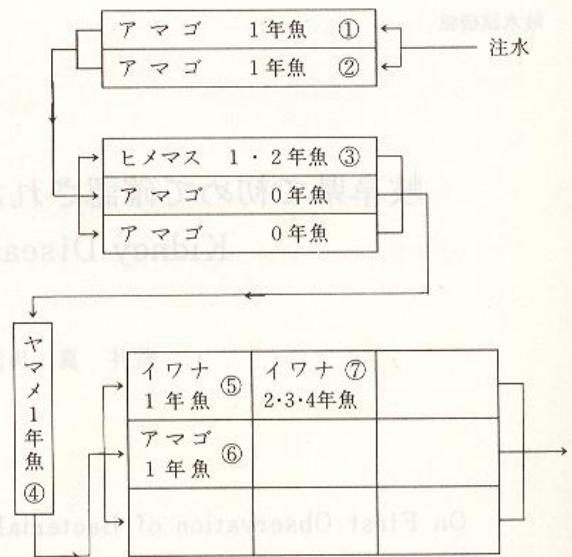
A養魚場で飼育中の全魚群の保菌検査及び1985年秋にA養魚場から出荷された発眼卵受入先の7養魚場(B~H)について、該当群及び一部については飼育群の保菌検査を実施した。A養魚場の検査の対象とした魚群の飼育池の概略を第1図に、A養魚場および上記の7養魚場で行った保菌検査の実施月日、魚種、検体数を第1表に示した。

検査の方法は、肉眼観察のほか、木村・吉水の方法に従って共同凝集試験によって行ったが平均体重5g以下の検体は、背骨ごと腎臓を切りだし、磨碎後約10倍のPBSを加えて加熱抽出液を作り共同凝集試験に供した。³⁾

結 果

1) A養魚場の保菌検査

1986年4月25・26日に、A養魚場で飼育されているアマゴ、ヤマメ、ヒメマス、イワナの保菌検査を実施した。検査の対象とした病魚の症状を第2表に、共同凝集試験の検査結果を第3表に示した。



第1図 A養魚場の池の配置と収容魚種
①；サンプリングを行った池
→；水の流れを示す

検査を実施した6群の魚のうち共同凝集試験による陽性率が一番高かったのはヒメマス1年魚・2年魚で実に90.9%もの高率であった。病魚は頭部、尾柄部、各鱗に水カビが寄生している個体や鰓に貧血症状がみられるものが多く、また体表や鰓葉に点状～線状の出血のみられる個体もあった。剖検すると、腎臓に白い結節様病巣がみられる個体が30尾中14尾、結節様病巣はみられないものの腎臓が腫脹している個体が30尾中8尾と、73.3%の検体の腎臓に異状が認められた。また、鰓、腹膜、臓器の周りの脂肪組織に出血の認められる個体も93.3%と多かった。また、木村・栗倉、花田らがギンザケ、アマゴの症例で報告した、肝臓、脾臓の結節様病巣も認められた。²⁾ ⁴⁾

アマゴは、共同凝集試験を行った検体全体の陽性率は11.8%であったが、飼育池から無作為に採取した60検体(①及び②；第1図に示した池

の番号、以下同じ) の陽性率は 5%, 犰死魚(⑥)のそれは、37.5%であった。無作為に採取した検体は、1 尾の腎臓がやや腫脹していた(共同凝集試験、陽性)ほかは、外観、剖検とともに異状は認められなかった。犰死魚は採取した30尾の全てに水カビの寄生があったほか腎臓の結節様病巣、腹部の膨満、鰓・肝臓の貧血症状、腹膜・脂肪組織の点状出血が認められ木村・粟倉²⁾花田らの報告と一致していた。

イワナは剖検した検体数が6尾と少ないが、腎臓の腫脹は全部に認められたものの、結節様病巣が見られた個体はなかった。しかし、共同凝集試験で3尾(50%)が陽性となった。症状としては前述の腎臓の腫脹の他全ての検体の体表、各鱗に水カビが寄生していた。また、鰓の貧血症状、腹膜・脂肪組織に点状出血がみられた。

ヤマメは無作為採取の検体30尾の全てが、外観、剖

第1表 B K D 保菌検査の実施状況

養魚場	月 日	ア マ ゴ	イ ワ ナ	ヤ マ メ	ヒ メ マ ス	備 考
A	4.25-26	60尾(190-210 g)* 30尾(50 g:犰死魚)	30尾(75 g) 6尾(犰死親魚) 12尾(親魚)	30尾(82 g)	30尾(300 g) 30尾(5 g)	
	7.25			12尾(♂:249-395 g)		
	9.30					
	10.12	65尾(250 g:採卵済み親魚)				
	11.12	発眼卵(10, 12採卵) 発眼卵(10, 20採卵)	未受精卵(11, 12採卵)		60尾(541 g:採卵済み親魚) 発眼卵(11, 12採卵)	
	11.19	発眼卵(10, 13, 19採卵)				
	6.20	30尾(2 g)				
	7.18	19尾(3-5 g)				
B	9.30	15尾(22.7 g)				
C	5.13	10尾(4-5 g)				
D	5.23	20尾(3-5 g)				
	10.7	10尾(20.9 g)				
E	7.22	18尾(11.3 g)	17尾(2.7 g)			
F	7.25		20尾(8.9 g)			
G	6.12	24尾(155 g)	24尾(30 g)			
H	12.5		23尾(42.2 g)			

* : (-g)魚体重

第2表 細菌性腎臓病病魚の症状

	アマゴ ⑥*	ヒメマス ③	イワナ ⑦
眼球突出		1/30	
腹部膨満	12/30 **		
体表の出血		3/30	
腎臓の結節様病巣	4/30	14/30	0/6
他臓器の結節様病巣		6/30	
腹腔内面・内蔵表面の点状出血	4/30	28/30	4/6
肝臓の貧血	8/30	13/30	
水カビの寄生	30/30	11/30	6/6
鰓の貧血	24/30	28/30	4/6
腎臓の腫脹	18/30	8/30	6/6

* : ⑥は第1図に示した池の番号を示す

** : 出現尾数/検体数

第3表 A養魚場におけるB K D保菌検査の結果

魚種 採取月日	ヒメマス	アマゴ	ヤマメ	イワナ
86.4.25-26	③* 平均体重 300g 10/11 平均体重 5g 0/6	①平均体重 190g 1/29 ②平均体重 210g 2/31 ⑥平均体重 50g 6/16	④平均体重 80g 0/30	⑤平均体重 75g 0/30 ⑦平均体重 800g 3/6
7.25				⑦平均体重 800g 0/12
9.30			④平均体重 320g	
10.12	③ 平均体重 540g 4/60	①②平均体重 250g 0/65		
11.12	発眼卵(10.12採卵)1/1	発眼卵(10.12採卵)0/1 発眼卵(10.20採卵)1/1		未受精卵(11.12採卵) 0/1
11.19		発眼卵(10.19採卵)0/1		

* 検査は全て共同凝集試験^{3),12)}によって行った。

* : ③は第1図に示した池の番号を示す。

** : 陽性数/検体数

検とも異状は認められず、また共同凝集試験の結果も陰性であった。

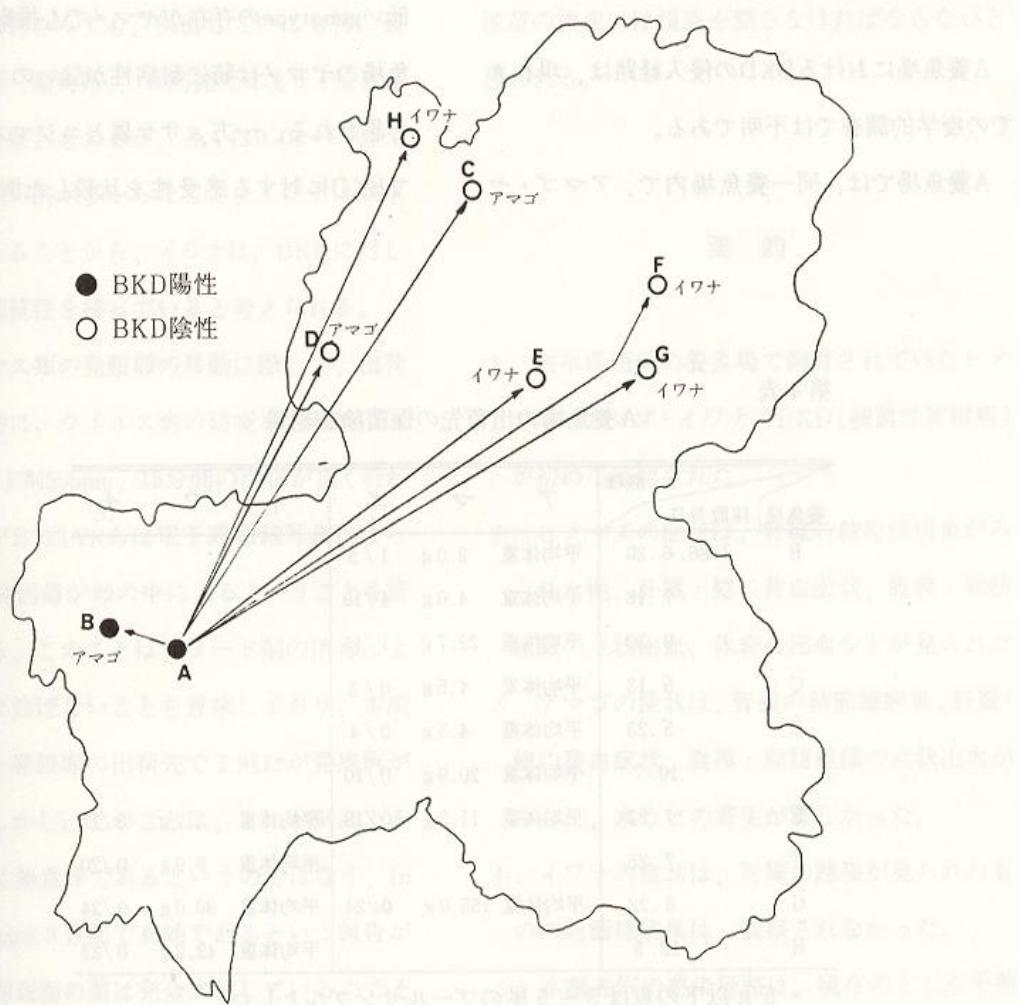
上述の調査後、7月25日にイワナ(7)；無作為採取12尾)，9月30日にヤマメ(4)；無作為採取12尾)の検査を行ったがいずれも陰性であった。

10月12日にアマゴ、ヒメマスの採卵済み親魚の保菌検査を実施した。アマゴは無作為に採取した雌60尾、雄5尾を用いたが全て陰性であった。一方、ヒメマスは、無作為に採取した雌55尾、雄5尾について行ったところ、雌2尾に結節様病巣がみられ、共同凝集試験の結果4尾が陽性であった。

更に、11月12日にアマゴ(2群)、ヒメマス(1群)の発眼卵とイワナ(1群)の未受精卵、11月19日にアマゴの発眼卵について、木村・吉水の方法に従って、共同凝集試験を行ったところ、12日採卵のアマゴの1群及びヒメマス発眼卵が陽性となり、親から汚染を受けていることがわかった。

2) 発眼卵の追跡調査

1985年秋にA養魚場から第2図に示めしたように、アマゴ卵が3養魚場(B, C, D)に計30万粒、イワナ卵が4養魚場(E, F, G, H)に計18万粒出荷されていた。A養魚場での発病を確認



第2図 A養魚場からの発眼卵の出荷先

すると同時に、これら7箇所の養魚場にBKD発生の情報を伝えるとともに、可能ならば該当魚群を殺処分するように依頼したが、処分をおこなったのは1経営体のみであった。

保菌検査の結果は第4表に示したとおりで、B養魚場の1群のみが陽性であった。

B養魚場では、稚魚期にIHN(伝染性造血器壊死症)の発生があり9月末までの発眼卵からの生残率は、16.7%であった。

考 察

A養魚場におけるBKDの侵入経路は、現在までの疫学的調査では不明である。

A養魚場では、同一養魚場内で、アマゴ・ヤ

マメ・ヒメマス・イワナを養殖しており、BKD陽性のアマゴ親魚(①, ②)が最上流部の池に、ヒメマスがその下段の池に収容されており養魚場全体が汚染されていたと考えられたにもかかわらず、ヤマメはほとんど斃死もなく、しかも、2回の検査で全て陰性であった。このことは、⁵⁾ヤマメの他県の発病状況をみても累積斃死率が75%に及ぶもの(岩手県)や、発病時に検体の60%が陽性でありながら累積斃死率が20%程度にしかならなかった例(宮城県)があり、飼育条件の違いを考慮しても、SUZUMOTO *et al*¹⁴⁾がギンザケで報告している本病に対する感受性の低いgenotypeの存在がヤマメでも推察され、A養魚場のヤマメは特に耐病性が強いのではないかと思われる。一方、サケ属とニジマス属についてBKDに対する感受性を比較した例としては、

第4表
A養魚場の出荷先の保菌検査結果

養魚場	採取月日	魚種	ア マ ゴ		イ ワ ナ	
			平均体重	陽性数/検体数	平均体重	陽性数/検体数
B	1986. 6. 20	アマゴ	2.0 g	1 / 5*		
	7. 18	アマゴ	4.0 g	1 / 19		
	9. 30	アマゴ	22.7 g	1 / 15		
C	5. 13	アマゴ	4.5 g	0 / 2		
D	5. 23	アマゴ	4.5 g	0 / 4		
	10. 7	アマゴ	20.9 g	0 / 10		
E	7. 22	アマゴ	11.3 g	0 / 18	イワナ	2.7 g 0 / 17
F	7. 25	アマゴ			イワナ	8.9 g 0 / 20
G	6. 22	アマゴ	155.0 g	0 / 24	イワナ	30.0 g 0 / 24
H	12. 5	アマゴ			イワナ	42.2 g 0 / 23

* 5 g 以下の魚は3~5尾のプールサンプルとした。

* : 陽性数/検体数

¹⁵⁾ WOLFがマス属はサケ属に比べて抵抗性が強く、中でもニジマスは最も強いと報告している。また、¹⁶⁾ 河村らはサケ・マスノスケ・スチールヘッド・ラウト (*Salmo gairdneri*)・ヤマメの4魚種について実験感染試験による感受性を比較してサケ・マスノスケ・スチールヘッド・ヤマメの順でBKDに対して罹病しやすく、生活史の中で淡水生活期間の占める割合の高い程、本病に対して抵抗力が強い傾向がうかがわれると報告している。本症例の場合イワナについては、陽性個体はあったものの、BKDの主症状の1つである腎臓の結節様病巣が見られないこと、また他県の発病報告をみても、保菌していても特に被害のない例（福島県）、日間斃死率も0.1%と高い例（長野県）もあるが、多くは0.02~0.05%と比較的低い例が多かったこと、イワナは淡水生活者であることから、イワナは、BKDに対して比較的抵抗性を持っていると考えられる。

現在、マス類の発眼卵の移動に際して、出荷時と入荷時に、ウイルス病の防疫を主目的にボビドンヨード剤50ppm、15分間の消毒が広く行われているがEVELYNらは電子顕微鏡写真によってBKDの原因菌が卵の中に入るということを証明している。このことは、ヨード剤の消毒によって完全に防げないことを意味しており、本調査例でも、発眼卵の出荷先で1例だが発病例があった。しかし、このことは、ヨード剤による消毒が全く無意味であるというのではなく、in vitroで¹⁸⁾ 25ppm 5分間で有効であるという報告があり発眼卵表面の菌は完全に殺しているのでそれなりの効果はあると考えられる。従って、完

全な防疫手段がないことから、発眼卵を導入する際には、出荷者の池の飼育経過等を十分把握することが大切になってくる。

今回の調査の場合、発眼卵を導入して放流用種苗を生産している養魚場が多く、多くの場合一回の調査での陰性の結果で河川へ放流された。¹⁹⁾ ALLISONは、BKDにかかったカワマスを天然水系へ放流したが、このことによって直ちに天然に生息している本種に感染は生じなかったと報告しているが、一方、²⁰⁾ EVELYNらは天然水系に生息するニジマスが本病に感染していることを報告しており、本病の感染が疑われるような種苗の放流には慎重を期さなければならないと思われる。

要 約

1. 岐阜県西部の養魚場で飼育されていたヒメマス・アマゴ・イワナでBKD(細菌性腎臓病)が初めて確認された。
2. ヒメマスの症状は、腎臓の結節様病巣がみられた他、肝臓・鰓の貧血症状、腹膜・脂肪組織の点状出血、体表の出血などが見られた
3. アマゴの症状は、腎臓の結節様病巣、肝臓・鰓の貧血症状、腹膜・脂肪組織の点状出血がみられ、水カビの寄生が著しかった。
4. イワナの症状は、腎臓の腫脹が見られたものの結節様病巣は、観察されなかった。
5. 本調査例の感染経路は、現在のところ不明である。

6. A 養魚場から出荷された発眼卵の追跡調査の結果、アマゴの1群だけが陽性であった。
7. 発病したアマゴ群は、発眼卵をヨード剤で消毒していたが発病がみられたことから、発眼卵の導入の際には、出荷者の十分な吟味が必要である。
8. 汚染の疑いのある魚群の河川への放流については慎重な配慮が必要と考えられる。

本調査におけるBKDの診断方法である共同凝集試験に使用した、抗BKD家兎血清感作staphylococciを分与して下さった、北海道大学水産学部、木村喬久教授、吉水守博士に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 江草周三, 1978; 魚の感染症, 229-235, 恒星社厚生閣, 東京.
- 2) 木村喬久・栗倉輝彦, 1977; わが国で初めて見出された養殖サケ科魚類の細菌性腎臓病(Bacterial Kidney Disease)について, 日水誌43(2), 143-150.
- 3) 木村喬久・吉水 守, 1981; 特異抗体感作Staphylococciを用いたCoagglutination Testによるサケ科魚類の細菌性腎臓病(BKD)の迅速診断法について, 日水誌47(9), 1173-1183.
- 4) 花田 博・渡辺佳一郎・木村喬久, 1984; 静岡県の養殖サケ科魚類にみられた細菌性腎臓病 (Bacterial Kidney Disease), 静岡水試研報No19, 41-50.
- 5) 岐阜県, 1985; 第10回全国養鱈技術協議会要録, 192-235.
- 6) SANDERS, J. E. and J. L. FRYER 1980; *Renibacterium salmoninarum* gen. nov., the causative agent of bacterial kidney disease in salmonid fishes. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 30, 496-502.
- 7) BULLOCK, G. L., H. M. STUCKEY and P. K. CHEN, 1974; Corynebacterial kidney disease of salmonids: Growth and serological studies on the causative bacterium. *Appl. Microbiol.*, 28, 811-814.
- 8) CHEN, P. K., G. L. BULLOCK, H. M. STUCKEY and A. C. BULLOCK, 1974; Serological diagnosis of corynebacterial kidney disease of salmonids. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 31, 1939-1940.
- 9) 木村喬久, 1978; サケ科魚類の細菌性腎臓病, 魚病研究, 13(1)43-52.
- 10) 木村喬久・絵面良男・田島研一・吉水 守, 1978; 病魚患部の加熱抽出液を抗原としたゲル内沈降反応によるサケ科魚類の細菌性腎臓病(BKD)診断について, 魚病研究, 13(2), 103-108.

- 11) BULLOCK, G. L. and H. M. STUCKEY, 1975; Fluorescent antibody identification and detection of the corynebacterium causing kidney disease of salmonids, *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 32, 224-227.
- 12) SAKAI, M., N. AMAAKI, S. ATSUTA and M. KOBAYASHI 1987; Comparative sensitivities of several dot blot methods used to detect bacterial kidney diseases, *J. Fish. Dis.*, (10), 229-231.
- 13) 木村喬久・吉水 守, 1983; 昭和57年度魚病対策技術開発研究結果報告書、冷水性魚類の細菌性疾病の早期診断技術、1-5。
- 14) SUZUMOTO, B. K., C. B. SCHREEK and J. D. MC-INTYRE 1977; Relative resistances of three transferrin genotypes of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and their hematological responses to bacterial kidney disease. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 34, 1-8.
- 15) WOLF, K., 1970; Bacterial Kidney disease of salmonid fish. *Fish Disease Leaflet No. 8* U. S. Bureau of Sport Fish and Wildl., Washington D. C., 1-4.
- 16) 河村 博・栗倉輝彦・渡辺克彦・松本春義, 1977; 細菌性腎臓病に対するエリスロマイシンの治療効果並びにサケ科魚類4種の感受性について, 北海道立水産孵化場研究報告No.32, 21-35.
- 17) EVELYN, T. P. T., J. E. KETCHESON and PROSPERI-PORTA, 1984; Further evidence for the presence of *Renibacterium salmoninarum* in salmonid eggs and for the failure of povidone-iodine to reduce the intra-ovum infection rate in water-hardened eggs, *J. Fish Diseases*, 7, 173-182.
- 18) ROSS, A. J. and C. A. SMITH, 1972; Effect of two idophors on bacterial and fungal fish pathogens, *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 29, 1359-1361.
- 19) ALLISON, L. N. 1961; The fate of Kidney disease among hatchery brook trout stocked in natural water, *Prog. Fish-Cult.*, 23(2)76-78.
- 20) EVELYN, T. P. T., G. E. HOSING and G. R. BELL 1973; First record of bacterial kidney disease in an apparently wild salmonid in British Columbia, *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 30, 1578-1580.