

富浦および勝山養殖場周辺の *Streptococcus* 属について

村田 靖彦

緒 言

近年、千葉県ハマチ養殖場において連鎖球菌症の流行がみられ問題となっている。そしてこれら病魚から分離される *Streptococcus* sp. は、他県で流行しているものと同様の性状を示し、養殖場周辺にも類似菌が存在することなどを1978年^{1)~2)}に報告した。

その後も連鎖球菌の発生は毎年みられている。そこで、漁場周辺の海泥中の連鎖球菌の状態などをさらに詳しく知るために、富浦および勝山養殖場周辺の海泥中の総菌数、*Streptococcus* spp. の分布と表面水の細菌数を調べた他、*Streptococcus* spp. の数株について病魚からの分離菌とともに性状検査を行い若干の知見を得たのでここに報告する。

Streptococcus 属の性状検査にあたり参考菌として、菌株を心よく分与して下さった高知県水産試験場の谷口道子氏(現内水面漁業センター)に感謝の意を表します。

材料及び方法

富浦および勝山養殖場に図1~2のような定点をもうけ1978年から1980年にかけて夏季と冬季の年2回表面水の採水と採泥を行った。また、1980年12月には連鎖球菌症で多量のへい死がみられた富浦養殖場の生簀を中心に採泥を行った。表面水の採水は滅菌した250ml細口試薬瓶を用いて船上から直接採水した。採泥はエックマンバーズ採泥器およびSK採泥器を使用し、250ml細口試薬瓶に100mlの長期保存海水(6月以上)をあらかじめ入れて滅菌したものに5~10g採集した。表面水は、総菌数のみの計数を行い、海泥については、総菌数と連鎖球菌の計数を行った。試料の処理は2時間以内に行った。細菌計数の方法は、総菌数では3% NaCl 加BHI agar(日水)、Membrane filter 0.45 μ m (TM-2, Toyo Roshi co, LTD)によるフィルター法、また泥中の連鎖球菌は、SF プイヨン(日水)によるMPN法(1978年7月~1980年8月)とA E broth³⁾によるMPN法(1980年12月)で行った。培養は、3%

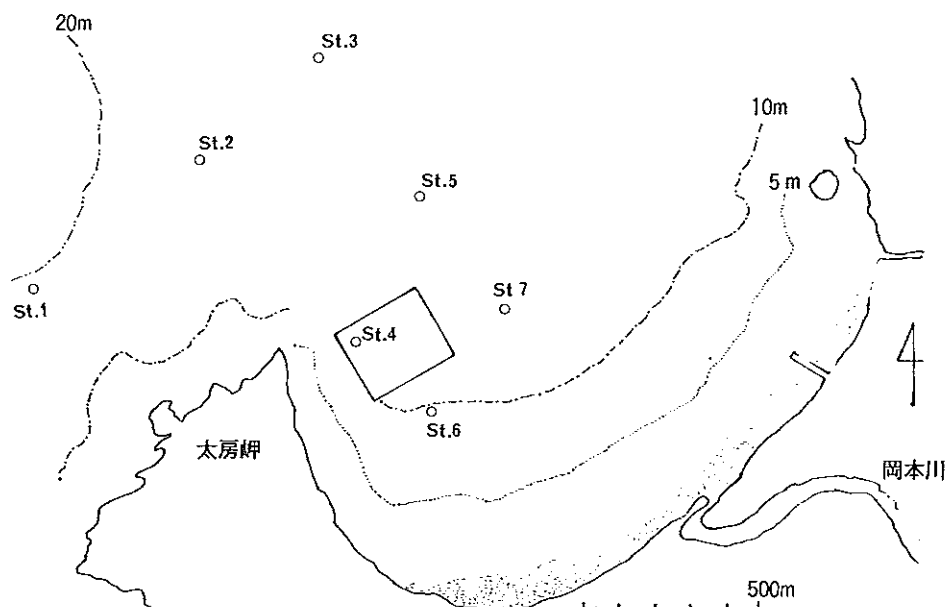


図1. 富浦養殖場周辺の調査点図 (四角枠は生簀設置を示す)

Nac 加BHI agarについては25℃で48時間, SF broth およびAE broth については30℃で7日間行った。

性状比較には, 表-1のような株を用いた。このと

き用いた病魚からの分離菌は, クックトミート培地(日水) に保存し6カ月ごとに継代したものを, また海泥分離菌は同じくクックトミート培地で保存していたも

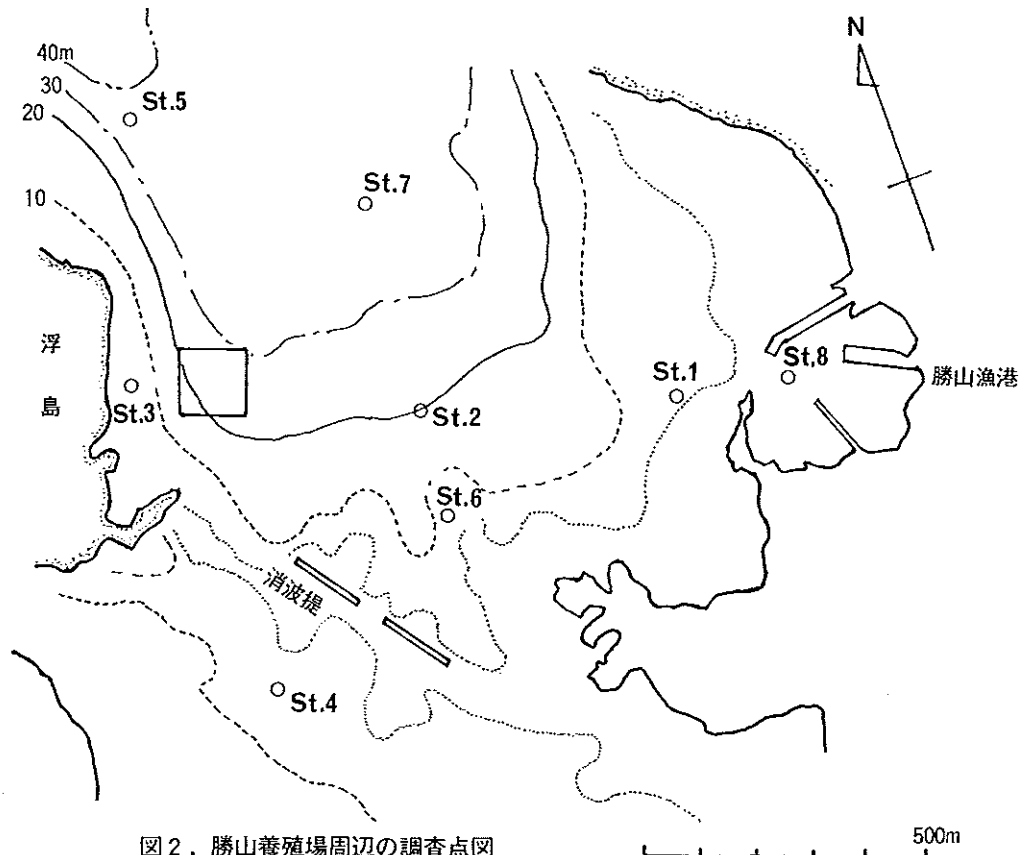


図2. 勝山養殖場周辺の調査点図
(四角枠は生簀設置位置を示す。)

表1 性状検査に用いた菌株

Strain No.	Date of isolation	Source	
1.	Mar., 15, 1979	Katuyama St. 8	Mud
2.	Oct., 1, 1978	Human	Feces
3.	July., 20, 1978	Kochi, No. 34	Kidney of yellowtail
4.	Aug., 24, 1978	Katuyama	Kidney of yellowtail
5.	Oct., 11, 1980	Tomiura	Intestine of yellowtail
6.	Oct., 27, 1977	Tomiura	Kidney of yellowtail
7.	Dec., 22, 1980	Tomiura	Spleen of yellowtail
8.	Oct., 9, 1980	Tomiura, St. 4	Mud
9.	Oct., 9, 1980	Tomiura, St. 4	Mud
10.	Oct., 9, 1980	Tomiura, St. 6	Mud
11.	Oct., 9, 1980	Tomiura, St. 4	Mud
12.	Dec., 17, 1980	Katuyama, St. 5	Mud
13.	Dec., 17, 1980	Katuyama, St. 5	Mud
14.	Dec., 17, 1980	Katuyama, St. 3	Mud
15.	Dec., 17, 1980	Katuyama, St. 7	Mud

のと計数時にAE培地で増殖したものをさらにEFagar(日水)で培養したものである。性状検査には常に3% BHIブイヨン(日水)25℃, 24時間培養のものを用い、形態と各種培地での発育、各種生化学的性状、各種炭水化物の分解能、各種薬剤に対する感受性などを検査した。検査の方式は、Cawan & Steelsのmanual⁴⁾やその他の成書⁵⁾に準じて行った。また、薬剤感受性試験には、昭和1濃度ディスクを用いた。培地は、原料にはBBLおよびDifcoのものを、調製された乾燥培地にはおもに日水のものを用いた。また試薬は、和光純薬およびMerck社のものをおもに用い、血液は半面脱繊維素血液(極東)、血清には粉末牛血清を用いた。

結果

表面水の総細菌数は富浦では、1978年12月のSt.4で332ケ/ml, 1980年12月のSt.3で285ケ/mlと比較的高い値がみられるが、全体的に低い値であった。勝山において港内で1979年3月に1,700ケ/ml, 1980年12月に4,000ケ以上/mlの高い値がみられたがその他は1979年3月のSt.7の340ケ/mlを除くと他の調査点では50ケ/ml以下で大差はみられなかった。(表2~3)

海泥の3%NaCl加BHI agarでの総菌数は富浦では、1978年, 1979年と比較すると1980年になってやや多い

表2 富浦における表面水(1ml)中の総細菌数 (3% NaCl 加BHI agar 発育菌)

St.	Jun., 5, 1978	Dec., 18, 1978	Jun., 11, 1979	Dec., 3, 1979	Aug., 1, 1980	Dec., 9, 1980
1	...	19	16	13	2	2
2	...	29	26	14	7	1
3	...	77	13	1	4	285
4	5	332	17	25	16	20
5	2	...	29	4	15	40
6	2	...	5	10	13	ND
7	1	81	14	39	2	5

...欠測

表3 勝山における表面水(1ml)中の総細菌数 (3% NaCl 加BHI agar 発育菌)

St.	Mar., 3, 1979	Jun., 13, 1979	Dec., 19, 1979	Jun., 17, 1980	Dec., 17, 1980
1	8	13	20
2	29	6	22	17	15
3	14	50	16	25	10
4	26	46	17	4	20
5	37	5	10	6	4
7	340	...	29	14	48
8	1,700	...	17	4,000 <	4,000 <

...欠測

傾向があり、勝山でも同じく1980年になって多くなっているところが目立ってきた。(表4~5)

表4 富浦における海泥(wet. 1g)中の総細菌数 (3% NaCl 加agar 発育菌)

St.	Jun., 5, 1978	Dec., 18, 1978	Jun., 11, 1979	Dec., 23, 1979	Aug., 1, 1980	Dec., 9, 1980
4	2.5 X 10 ³	2.0 X 10 ³	9.5 X 10 ²	1.1 X 10 ³	1.8 X 10 ³	1.9 X 10 ⁴
5	1.8 X 10 ³	4.0 X 10 ²	5.4 X 10 ³	5.3 X 10 ³	1.1 X 10 ³	1.4 X 10 ²
6	1.2 X 10 ³	1.1 X 10 ⁴	6.2 X 10 ³	4.3 X 10 ³	1.0 X 10 ⁴	2.0 X 10 ⁴
7	6.0 X 10 ²	1.0 X 10 ³	2.9 X 10 ³	2.6 X 10 ³	7.7 X 10 ³	2.9 X 10 ³

表5 勝山における海泥(wet. 1g)中の総細菌数 (3% NaCl 加BHI agar 発育菌)

St.	Aug., 8, 1978	Mar., 13, 1979	Aug., 13, 1979	Dec., 19, 1979	Jun., 17, 1980	Dec., 17, 1980
1	1.4 X 10 ⁴	5.8 X 10 ³	4.6 X 10 ³	4.5 X 10 ³	...	1.4 X 10 ⁴
2	1.2 X 10 ³	7.5 X 10 ²	3.7 X 10 ²	8.0 X 10 ²	2.1 X 10 ³	4.6 X 10 ³
3	3.7 X 10 ³	2.2 X 10 ³	4.0 X 10 ²	1.6 X 10 ³	1.5 X 10 ⁴	3.7 X 10 ³
5	5.2 X 10 ³	8.7 X 10 ²	5.3 X 10 ³	8.6 X 10 ³	1.1 X 10 ⁴	3.9 X 10 ⁴
7	1.4 X 10 ⁴	3.9 X 10 ³	4.9 X 10 ³	3.5 X 10 ³	1.5 X 10 ⁴	3.0 X 10 ⁴
8	...	2.8 X 10 ⁴	1.2 X 10 ⁴	3.0 X 10 ⁴

...欠測

連鎖球菌の数では、全体に富浦より勝山の方が多く1980年になってかなり高い値がみられた(表6~7)。このとき培地がSF培地からAE培地に変えられたためとも考えられるが、別にAE培地とSF培地の比較を行った結果2対1という値を示しているの、このことを考慮しても1980年12月はやや高い値とみられた。

富浦養殖場の生簀下の3%NaCl加BHI agarでの総菌数とAE培地による連鎖球菌の数はともに生簀並びの内側の方がより高い値を示していた。(図-3~4)

表6 富浦における海泥(wet. 1g)中の連鎖球菌数 (SF broth によるMPN/wet. g)

St.	Jun., 5, 1978	Dec., 18, 1978	Jun., 11, 1979	Dec., 23, 1979	Aug., 1, 1980	Dec., 9, 1980*
4	1.0	ND	5.3	7.3	8.2	172.7
5	9.7	ND	25.1	ND	ND	6.8
6	3.1	ND	13.4	21.7	ND	475.0
7	4.5	ND	ND	5.2	ND	35.8

ND: Non detective * AE broth

表7 勝山における海泥(wet. 1g)中の連鎖球菌数 (SF broth によるMPN/wet. g)

St.	Aug., 8, 1978	Mar., 13, 1979	Jun., 13, 1979	Dec., 19, 1979	Jun., 17, 1980	Dec., 17, 1980*
1	11.1	ND	17.6	25.4	...	22.8
2	ND	1.8	ND	ND	41.8	2.5
3	8.1	9.8	2.6	ND	95.6	9.6
5	69.8	18.7	25.2	386.8	59.2	2,061.4
7	79.1	7.3	75.6	14.6	162.7	334.1
8	...	135.0	186.9	1,303.9

ND: Non difective. ...欠測, * AE broth

表 - 1 にあげた株の形態と各種培地での発育および

各種温度,各種 PH,各種Nacl 濃度での発育の結果(表-8)

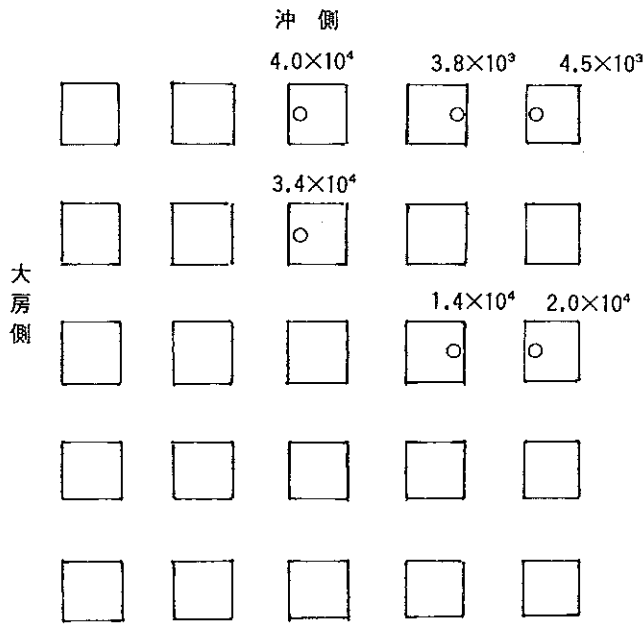


図 3 . 富浦養殖場生簀周辺の海泥(Wet. lg)中の総菌数 (3% Nacl BHI agar 発育菌), 生簀枠 1 つは 8 m × 8 m。

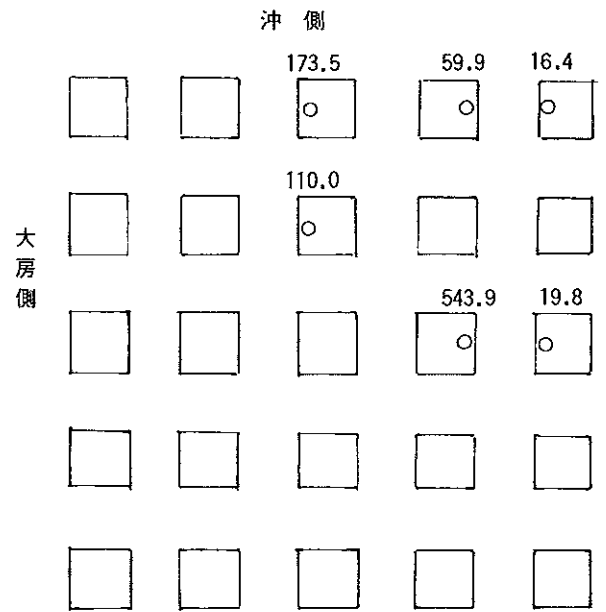


図 4 . 富浦養殖場生簀周辺の海泥(Wet. lg)中の連鎖球菌数 (AE プイヨンによるMPN), 生簀枠 1 つは 8 m × 8 m

表 8 各種条件での発育

Strain.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.
Cell form	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Size	0.4-0.8 μm	0.5-1.0	0.4-0.6	0.6-0.8	0.6-0.8	0.6-0.8	0.6-0.8	0.6-0.8	1.0	0.5-1.0	0.5-0.7	0.7-1.0	0.7-1.0	0.5-0.7	0.5-0.7
Motility	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
Growth of :															
BHI agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Blood agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nutrient agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SS agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Endo agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10% Bile agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40% Bile agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
EF agar	r	r	r	r	r	r	r	y	y	r	r	y	y	r	r
PEA agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth in :															
0.1% MB milk	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SF broth	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-
Growth at :															
10°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6.5% Nacl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 9.6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

S : 球状 r : red y : yellow

から、EF agar でのコロニーの色および SFbroth での発育、また Motility および Size で異なる他は同じ性状を示していることがわかった。

次に生化学性状では、MRtest, TTCtest, H₂S, Hippurate 加水分解, Arginine 脱炭酸で異なる他は同じ性状であった(表-9)。

炭水化物の分解では、Arabinose, Xylose, Rhamnose, Sucrose, Melibiose, Starch, Raffinose, Melzitose, Mannitol, Glycerol, Sorbitol, Inositol, Adonitol で異なる他は同じであった(表-10)。

表9 生化学的性状

Strain.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.
Catalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cytochrome oxidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hugh -Leifson test	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
Indole	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MR test	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
VP reaction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Casein digestion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urease	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MB reduction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gluconate	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
Bile dissolution	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PT test	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TTC test	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+
Hydrolysis of :															
Gelatin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Starch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tyrosin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hippurate	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
Esculin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arginine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Decarboxylation of :															
Lisine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arginine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
Ornithine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

F : 発酵 ± : weak

考 察

性状検査の結果を総合してみると、まずここに用いた菌株はすべて、Bergey's manual⁶⁾ の *Streptococcus faecalis* と *Streptococcus faecium* の属する

薬剤感受性試験では、魚病細菌であまり感受性を示さないで、漁場海泥分離菌で強い感受性を示すものに Chromaphenicol, Spiramycin, Novobiocin がみられ、逆に魚病細菌で強い感受性を示し、漁場海泥分離菌で感受性を示さないものに Mikamycin, Lincomycin がみられた。また、Bacitracin にわずかに感受性を示すものも4種みられた(表-11)。

腸球菌のグループに入り、またこれらは Lancefield Group D^{6), 7)} にあてはめられる。さらに TTC test で Strain, 8, 9, 12, 13 が陰性で EFagar, yellow であることだけからみれば、これらは *Streptococcus faecium* に近く、その他は、*Streptococcus faecalis*

表10 各種炭水化物の利用

Strain.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.
Gas from carbohydrates :	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Acid from :															
Arabinose	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	+	—	+
Xylose	±	±	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—	+	—	+
Rhamnose	±	±	—	—	—	—	—	±	—	—	±	—	—	—	±
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cellobiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sucrose	+	+	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Melibiose	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	+	—	+	—	—
Starch	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	+
Dextrin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Raffinose	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	—	—
Melzitose	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
Glycogen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+
Glycerol	+	+	—	—	—	—	—	+	—	—	+	+	—	—	—
Sorbitol	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
Salicin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Esculin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Inositol	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±
Dulcitol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Adonitol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—

± : weak

に近い性状である。しかし、Arginine加水分解では Strain 11, 15が陰性と他と異なる上に SIM培地で、Strain. 15 はH₂S陽性であるのでStrain 11, 15はこのいずれもあてはまらない。

したがって、これら15株は3つのグループに区分けされる。すなわち第1のグループは Strain 1, 2で、*Streptococcus faecalis*に著しく類似するもの、第2のグループは Strain, 3, 4, 5, 6, 7, 14で楠田ら(1976, 1978)^{(8), (9)}のハマチ連鎖球菌症原因菌 *Streptococcus* sp. に著しく類似するもの、第3のグループは、Strain 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15でいずれにも当てはまらないものとなる。

Streptococcus 属の定量を試みた SF培地は、ハマチ連鎖球菌症原因菌 *Streptococcus* sp. が発育しな

い培地であるので、類似菌検出には適当な培地ではない。AE培地ではこの *Streptococcus* sp. は発育する。ここで、AE培地を使用し分離して海泥菌を含む数株とハマチ病魚からの分離菌とを比較すると先に述べたように三つのグループに分けられる。このとき、魚病細菌と非常に性状が似ているものが分離されたのは、勝山漁場の St. 3 で生簀が一番近いところである。この株はおそらく魚病細菌との関係があるであろう。今回この魚病細菌 *Streptococcus* sp. と著しく類似するものが一株みつかったということは、かなり多く類似菌の存在が指定される。なぜなら総菌数百~数千という数で *Streptococcus* 属が計数されたなかで、わずが8株の性状検査であったことを考慮するとさらに多くの *Streptococcus* sp. 類似菌が混入していると考え

表11 各種薬剤に対する感受性

Strain.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.
Penicillin (P)	#	#	#	#	#	#	#	#	+	+	#	+	+	-	#
Streptomycin (S)	-	#	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-
Kanamycin (Ka)	#	#	-	-	+	-	+	#	+	-	-	#	#	+	-
Tetracycline (T)	#	#	#	#	#	#	#	+	#	#	#	#	#	#	#
Chloramphenicol (C)	#	#	-	+	-	#	#	#	-	+	-	#	#	#	#
Erythromycin (E)	+	+	#	#	#	#	#	-	+	#	#	#	+	#	+
Leucomycin (L)	#	#	#	#	#	+	#	-	#	#	-	+	#	#	+
Oleandomycin (Ol)	#	+	#	#	+	#	#	-	+	#	-	#	+	#	-
Colistin (K)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sulfisoxazol (i)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Phenoxyethyl Penicillin (Ph)	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	-	-	#	#
Dimethoxyphenyl Penicillin (Fd)	+	+	-	-	-	-	-	+	-	#	-	-	-	-	-
Methylphenyl-isoxazolyl Penicillin (Ps)	+	+	-	-	#	+	-	-	-	#	-	-	-	#	+
Phenoxypropyl Penicillin (Pp)	#	#	#	#	#	#	#	-	#	#	#	-	-	#	+
Aminobenzyl Penicillin (Pb)	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#
Methylchlorophenyl isoxazolyl Penicillin (Pm)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	#	-	-	-	-	-
Oxytetracycline (O)	#	#	#	#	#	#	#	+	#	#	+	#	#	#	+
Spiramycin (Sp)	#	#	#	+	+	+	+	-	#	#	+	#	#	+	#
Novobiocin (N)	#	#	-	-	-	#	-	-	#	#	#	#	#	#	-
Fradiomycin (F)	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	#	#	-
Furazolidone (f)	#	#	#	#	#	#	+	#	-	#	#	#	-	#	-
Nitrofurantoin (ft)	#	#	#	#	#	#	#	#	+	#	#	#	+	#	#
Polymixin B (xp)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacitracin (B)	-	-	-	-	-	-	-	#	#	-	-	-	#	#	-
Mikamycin (Mi)	#	+	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	+
Sulfisomezole (z)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sulfamethizole (u)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sulfamonomethoxin (mp)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sulfamethoxy pyridazine (m)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sulfisomidine (D)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sulfaphenazole (P)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sulfadimethoxin (x)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sulfamethomidine (mt)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nalidixic acid (Nd)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lincomycin (Li)	-	-	#	#	#	#	#	-	#	+	-	-	+	#	+
Dimethylchlor tetracycline (Td)	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	+
Cephaloridine (Cr)	#	#	-	-	-	+	-	#	-	#	#	#	#	-	#
Cephalothin (Ct)	#	#	#	#	#	#	#	-	-	#	#	-	-	#	#
Gentamicin (Gm)	-	#	-	+	+	+	#	#	#	+	#	#	#	#	-
Minocycline (Mno)	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#
Methacycline (Tm)	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	+
Paromomycin (H)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

: きわめて感受性 # : かなり感受性 + : やや感受性 - : 耐性

られる。もちろん、最終的には、病原性まで調べる必要がある。

ハマチ連鎖球菌症原因菌の感染機構の研究には楠田ら(1980)³⁾、北尾ら(1979)¹⁰⁾のものがあるが、特に北尾らは、養殖場内の海泥から、数株の原因菌を分離しており、これらの同定の最終段階で病魚から分離した保存菌のウナギ免疫血清によるスライド凝集反応で精度を高めている。この方法はきわめて有効と考えられるので今後の調査にとり入れていくべきであろう。

性状の比較を行った病魚分離菌では、高知水試分離菌と富浦、勝山の病魚分離菌は、まったく同じであったが、楠田ら(1976, 1978)^{8), 9)}とPT testと糖分解のLactose, Sorbitolで異なるが、北尾(1980)¹¹⁾とほぼ同じであった。またPT testについては、楠田はハマチの連鎖球菌症原因菌 *Streptococcus* sp. の鑑別法¹²⁾の中でこれを *Streptococcus faecalis* と *Streptococcus* sp. の区別に用いた陰性を *Streptococcus* sp. としている。このことは、用いた試薬や血液などの条件が異なることなどが原因と思われ、厳密には、比較したい菌株と同時に検査する必要がある。これら細菌の分類は検索的な方法であるが、性状のひとつひとつに同価値を与えて行う数値分類¹³⁾がいわれているので、このような方法での検討も必要であろう。

性状検査の中で *Streptococcus* D group では通常みられないか、もしくはまれであるものがいくつかみられたのでこれについて述べる。

まず、Motility 陽性が Strain. 11 と 15 でみられたが、Cowan & Steel (1974)⁴⁾ ではこれらのグループは、Motility 陰性でありまれに例外ありとしている。また Bergey's manual⁶⁾ では *Streptococcus faecalis* は一般に Motility 陰性であるが *Streptococcus faecalis* ではしばしば陽性のものがあるとしている。Langston et al (1960)¹⁴⁾ はヒトから Motility 陽性 *Streptococcus* のべん毛観察と性状検査を行っているし、Graual (1957)¹⁵⁾ もヒトから分離したものの性状比較を行っている。これらのものと比較してみると今回の Motility 陽性菌はやや *Streptococcus faecalis* に近いようである。なお海泥中の *Streptococcus* 属の Motility 陽性菌の存在は研究が少ないために知るかぎりでは例をみない。

次に、SIM 硫化水素産生陽性が Strain 15 にみられたことである。普通 *Streptococcus* 属は硫化水素を産生しないし、今のところ海泥の *Streptococcus* 属にも例をみない。その他北尾ら(1981)¹⁵⁾ の β 溶血菌にみられるような Bacitracin にやや感受性のあるものが

みられたことである。なお、楠田(1976)⁸⁾ の *Streptococcus* sp. は α 溶血菌である。

表面水の細菌数は、流れ、風向、投餌後の時間経過の相異などでかなり変動があると思われる。勝山の港内で著しく高い数値がみられるのは陸水および生活排水の影響であろう。また生簀周辺の調査点での高い値は投餌による海水の汚染と考えられるがこれは一時的な値であろう。培地の条件が同じではないが清水(1962)¹⁷⁾の千葉県鴨川沖 6 km の表面水の細菌数が 8~500 個/ml であるのと比較する今回の調査海域の数値は同じレベルである。またちなみに、これを陸上の飼育水と比較するためにヒラメ種苗生産タンク内の細菌数¹⁸⁾を例にとると 3% NaCl 加 BHI agar で 1.0×10^3 ~ 3.3×10^3 /ml である。このことからこれらの海域での表面水の細菌数は通常はかなり少ないといえる。なお、このとき発育条件の一つである培地を特殊な Marine agar 2216 (Difco Labo.) を使用すると一桁高い値を示すことから、実際には総菌数はもっと高い数値となると考えられる。このことについて清水(1973)¹⁹⁾は、海水、底土などの微生物のうちで、現在的人工的な培養基で増殖しうるものの割合は、海域により多くて数パーセントときには 0.01% 以下と考えられるとしていることからわかる。

海泥には 10^3 ~ 10^4 のオーダの 3% NaCl BHI 発育菌がみられたが、Robina B. et al (1964)²⁰⁾ の例からこのほとんどはグラム陰性菌と考えられ、グラム陽性菌では、*Streptococcus* 属以外のものもあると思われる。石田(1973)²¹⁾によると沿岸海域底土には Coryneform bacteria, Micrococcus 属, Bacillus なども見いだされるようである。これら海泥菌の組成についても一度調査しておく必要がある。

以上のことから、AE 培地の MPN 法によるハマチ養殖場周辺の *Streptococcus* 属の経年的な定量を行うことや、その他の微生物の分布を知ることは、養殖場の汚染および養殖場の適正使用や防疫を考えるのに参考になると思う。

要 約

- 1) 1978年~1980年の冬夏期に富浦及び勝山養殖場周辺の細菌数および連鎖球菌数を計数し、そのいくつかの株について、ハマチ連鎖球菌分離菌とともに性状検査を行って比較した。
- 2) その結果表面水の総細菌数は大きな差はなく全体的に低い値であった。
- 3) 海泥の総細菌数では富浦、勝山養殖場とも1980年

- になって10% wet.g 台の数値が目立ちやや多くなっていた。
- 4) 連鎖球菌数では、全体的に富浦より勝山の方が多く、両海域とも1980年になってかなり高い値がみられた。
 - 5) 富浦の生簀並びの内側と外側では総菌数と連鎖球菌ともに内側の方が多い傾向を示した。
 - 6) 15株の性状検査から3つのグループに分けられた。すなわち、第1のグループは、*Streptococcus faecalis* に類似するもの、第2グループはハマチ連鎖球菌症原因菌 *Streptococcus* sp. に類似するもの、第3グループは陽球菌の Lancefield Group D に入られるが、第1, 2のいずれのグループにも類似していないものであった。
 - 7) これらの調査から、勝山養殖場の生簀近くの調査地点の海泥からハマチ連鎖球菌症原因菌とほとんど同じ性状のものがみられた。これらのことから、もっと多くの菌株について調べれば、さらに多くの病因菌類似菌が見つかるものと推測された。
 - 8) 性状検査から特異なものとして、Motility陽性、硫化水素産生それにBacitracin弱感受性の株がみられた。
 - 9) 養殖場周辺の微生物調査は養殖場の適正使用や防疫を考えるに参考になると思われた。
- 文 献
- 1) 村田靖彦：富浦湾養殖ハマチより分離された *Streptococcus* 属について 千葉県水産試験場研究報告 Vol. 37, pp. 49~56 (1978)
 - 2) 村田靖彦：富浦養殖場海泥から分離された *Streptococcus* 属について (予報) 千葉県水産試験場研究報告 Vol. 37, pp. 57~60 (1978)
 - 3) 楠田理一：養殖ハマチ連鎖球菌症の感染機構および防御機構に関する研究, 昭和54年度魚病対策技術開発研究報告書 日本水産資源保護協会 (1980)
 - 4) Cowan. S. T. : Cowan and steel's Manual for the Identification of Medical bacteria. 2nd ed. Cambride University Press, London. (1974)
 - 5) 坂崎利一：新 細菌培地学講座 上・下 近代出版 東京 (1978)
 - 6) Buchanan, R. E. and Gibbons, N. E. : Bergeys Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed., Williams and Wilkins, Baltimore (1974)
 - 7) Deibel R. H. : The group D Streptococci. Bacteriological Reviews., Vol. 28, No.3, pp.330-366 (1964)
 - 8) 楠田理一：川合研児・豊嶋利雄・小松功：養殖ハマチから分離された *Streptococcus* 属の新魚病細菌について, Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries Vol.42, pp.1345~1352(1976)
 - 9) 楠田理一・小松 功 : 各種病魚から分離された *Streptococcus* 属細菌の比較研究, Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries Vol. 44 pp. 1073~1078 (1978)
 - 10) 北尾忠利・青木 宙・岩田一夫：ハマチ連鎖球菌病の疫学的研究—I, ハマチ養殖場における海水・海泥中の *Streptococcus* sp. の分布, Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries Vol. 45, pp. 567~572 (1979)
 - 11) 北尾忠利・青木 宙：病原体の生態分布に関する研究, 昭和54年度魚病対策技術開発研究結果報告書, 日本水産資源保護協会 (1980)
 - 12) 水産庁：魚類等防疫指針 3, P.79 (1979)
 - 13) Gibson, D, M., Margaret S. Hendrie, N. C and Hobbs G. : The Identification of Some Gram Negative Heterotrophic Aquatic Bacteria, pp.135~159 Aquatic Microbiology. Academic Press. (1977)
 - 14) Langston, C. W. Joyce Gutierre , and Cecelia Bouma : Motile enterococci (*Streptococcus faecium* Var. Mobilis var. N.) isolated from grass silage. Juarnal Bacteriology. Vol. 80, pp. 714~718 (1960)
 - 15) Graual H.: The classification of Motile Streptococci within the enterococcus group. Acta Phathol. Microbiol. Scand. Vol. 41, pp. 403~410 (1957)
 - 16) Tadatoshi kitao, Takashi Aoki and Ryomei Sakoh : Epizootic caused by β -Haemolytic Streptococcus Species in Cultured Freshwater Fish, Fish pathology Vol.15, pp.301~307 (1981)
 - 17) 清水 潮・相磯和嘉：千葉県鴨川沿岸の海水細菌, Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. Vol. 28, pp.1133~1141 (1962)
 - 18) 村田靖彦：ヒラメ種苗生産タンク内の細菌数について 未発表資料
 - 19) 清水 潮：海洋細菌の分類 海洋科学 No 9 pp.100~105 (1973)
 - 20) Bobina B. Scholes and J. M. Shewan. : The Present Status of Some Aspects of Marine

Microbiology. Advance Marine Biology., Vol. 2,
pp.133~169 (1964)

- 21) 石田祐三郎：海洋細菌の生理的特性, 海洋科学No. 9
pp.107~111 (1973)