



Title	魚類Vibrio属病原菌の分類学的ならびに血清学的検討
Author(s)	絵面, 良男; 田島, 研一; 吉水, 守 他
Citation	魚病研究, 14(4), 167-179
Issue Date	1980-04
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/38319
Type	journal article
File Information	yoshimizu-14.pdf



魚類 *Vibrio* 属病原菌の分類学的ならびに血清学的検討絵而良男*¹・田島研一*¹・古水 守*²・木村喬久*¹

Studies on the Taxonomy and Serology of Causative Organisms of Fish Vibriosis

Yoshio EZURA*¹, Kenichi TAJIMA*¹, Mamoru YOSHIMIZU*¹
and Takahisa KIMURA*²*¹Laboratory of Microbiology, Fac. Fish., Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido, Japan*²Department of Food and Nutrition, Hakodate Junior College,
Hakodate, Hokkaido, Japan

Two hundred nineteen strains of causative organisms of fish vibriosis, which were isolated from various kinds of diseased fish cultured from all over the country, and 29 reference strains were examined by means of ordinary taxonomy, numerical taxonomy, DNA base composition and serological analysis.

One hundred and seventy strains (phenon I, see Fig. 1) isolated from coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), ayu (*Plecoglossus altivelis*), eel (*Anguilla* spp.), yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) and amberjack (*Seriola purpurascens*) were identified as *V. anguillarum*. Twenty five strains (phenon II, see Fig. 1) were not identified as *V. anguillarum*, but were closely related to above taxon in many characteristics. These strains were isolated from rainbow trout (*Salmo gairdnerii*), yamabe (*O. masou* var. *ishikawae*) and amago (*O. rhodurus* var. *macrostomus*) reared in fresh water. Twenty one strains isolated from ayu, yellowtail, red sea bream (*Chrysophrys major*) and anchovy (*Engraulis japonica*) could not be identified as any species in genus *Vibrio*, and many differences were observed among them. The other 3 strains isolated from rainbow trout and ayu were identified as *Aeromonas* spp.

One hundred and ninety two strains out of 195 strains identified as *V. anguillarum* and its related organisms (phenon I and II), were distinguished into three serological groups according to the serological analysis of the somatic antigens. Serotype J-O-1 was comprised of 100 strains of *V. anguillarum* and 25 strains related to the species. One hundred and ten strains out of the above 125 strains were originally isolated from ayu, eel, rainbow trout, amago and yamabe reared in fresh water. Serotype J-O-2 was comprised of 11 strains isolated from ayu and eel reared in fresh or salt water. Serotype J-O-3 was comprised of 56 strains isolated from ayu, coho salmon, yellowtail and amberjack. Except the 10 strains from ayu in fresh water, 46 strains were isolated from the fish reared in sea water.

魚類のビブリオ病と総称される疾病は淡水魚・海産魚を問わず罹病魚種が多く、かつ全世界にわたって被害が報告されている特異な疾病である(江草, 1978)。本病に関する研究報告は欧米では海水飼育のサケ科魚類に関するものが多い(PACHA and KIEHN, 1969; CISAR and FRYER, 1969; EVELYN, 1971; MCCARTHY ら, 1974; HARRELL ら, 1976; EGIDIUS and ANDERSEN, 1977; STROUT ら, 1978)が、我国ではアユ(室賀・江草,

1970; 若林ら, 1975; MUROGA ら, 1979), ウナギ(城・室賀, 1972; 室賀・城・西岡, 1976), ハマチ・マダイ(楠田, 1965; 畑井ら, 1975; 安永・山元, 1977)などサケ科以外の魚種に関するものが多く、サケ科魚類としてはエジマス(HOSHINA, 1957; SAITO ら 1964; 大西・室賀, 1977)など淡水飼育魚の疾病が報告されているに過ぎない。ちなみに本病原菌の大部分は発育にNa-塩を必要とする好塩性を有することから、本病は主として海産魚に多発することが知られている(EVELYN, 1971)。これまで我国においてサケ科魚類の本病による被害が上

*¹ 北海道大学水産学部微生物学講座*² 函館短期大学食物栄養学科

に淡水域に限定されていたのは淡水域での養殖が主体をなしていたためと考えられる。しかし近年、サケ科魚類の海面養殖や飼育放流が発展する傾向にあり、本病による被害の増大が懸念されている。

従来、本病原菌は *Vibrio anguillarum* またはその類似菌とされているが、未だ総合的な分類学的検討は充分なされていない。著者は数年来、本病原菌の分類に関する検討を進めてきた(田島ら, 1979 a, b; 絵面ら, 1979) が、ここでは既往の研究報告を含めて、現在までに得られた知見を紹介する。

1. ビブリオ病原菌の分類学的検討

ビブリオ病原菌魚由来の国内株 219 株、ビブリオ病原菌由来対照株 14 株およびそれ以外の対照株 15 株の総計

248 株を供試し分類学的検討を行なった。なお国内株 219 株の由来を Table 1 に、対照株を Table 2 に示した。以上の 248 株について先ず常法に従い主だった性状を調べ、その検査結果をもとに *Bergey's manual 8th ed* (1974) に従って同定を試みた。

その結果、国内分離株 219 株中一応 *V. anguillarum* と同定されるもの 170 株、これとはいくつかの性状が異なるもののきわめて近似の菌種と考えられるもの 25 株、*Vibrio* 属のいずれの種にも同定し得ないもの 24 株となった。なお Table 3 に示すごとく *V. anguillarum* と同定された国内株 170 株および対照株 14 株中の 12 株の性状も *Bergey's manual* の記載性状と少しづつ相違した。中でもクエン酸塩の利用、アルギニンアルカリ反応、0% NaCl での発育など *V. anguillarum* の同定

Table 1. Sources of collected strains isolated from fish vibriosis in Japan

Location (Prefecture)	Sources													Total
	rainbow trout (<i>Salmo gairdnerii</i>)	coho salmon (<i>Oncorhynchus kisutch</i>)	yamabe (<i>O. masu</i> var. <i>ishikawae</i>)	amago (<i>O. rhodurus</i> var. <i>macrostomus</i>)	ayu (<i>Plecoglossus altivelis</i>)	eel (<i>Anguilla</i> spp.)	yellowtail (<i>Seriola quinqueradiata</i> , adult)	mojako (<i>Seriola quinqueradiata</i> , fry)	amberjack (<i>Seriola purpurascens</i>)	red sea bream (<i>Chrysophrys major</i>)	anchovy (<i>Eugraulis japonica</i>)			
Hokkaido		5			21									26
Miyagi		7												7
Gunma					1									1
Tochigi					6									6
Tokyo					5									5
Nagano	8			1	12									21
Yamanashi	1		4											5
Shizuoka	8													8
Aichi						1								1
Gifu	1				5									6
Shiga	3				7									10
Mie											13			13
Kyoto							1							1
Wakayama							1							1
Tokushima					70	2	8	19	1					100
Kochi					2		2			1				5
Ehime							1							1
Hiroshima										1				1
Yamaguchi					1									1
Total	21	12	4	1	130	3	13	19	1	2	13			219

Table 2. Reference strains used

Strain	Specis name	Donor
TUF	<i>V. piscium</i> var. <i>japonicus</i>	T. HOSHINA* ¹
NCMB 6	<i>V. anguillarum</i>	NCMB* ²
NCMB 828	"	NCMB
NCMB 829	"	NCMB
NOAA V-775	<i>V. anguillarum</i> biotype 1	M. H. SCHIEWE* ³
NOAA V-1669	<i>V. anguillarum</i> biotype 2	"
NCMB 407	<i>V. ichthyodermis</i>	NCMB
NCMB 571	<i>V. piscium</i> var. <i>japonicus</i>	NCMB
LS-174	<i>V. anguillarum</i>	J. L. FRYER* ⁴
MSC-275	<i>Vibrio</i> sp.	"
VA-6	<i>V. anguillarum</i>	D. H. MCCARTHY* ⁵
VA-8	"	"
VA-15	"	"
VA-28	"	"
HO5	<i>V. parahaemolyticus</i>	NIHJ* ⁶
T-77-5	"	T. Sasaki* ⁷
K-5	"	"
K-7	"	"
V-447	<i>V. alginolyticus</i>	"
IAM 1039	<i>V. metschnikovii</i>	IAM* ⁸
IAM 1080	<i>V. tyrogenes</i>	IAM
ATCC 7744	<i>V. fischeri</i>	ATCC* ⁹
ATCC 25926	<i>Benecke campbelli</i>	ATCC
NCMB 391	<i>Photobacterium mandapamensis</i>	NCMB
NCMB 1280	<i>Lucibacterium harveyi</i>	NCMB
NCMB 1326	<i>Aeromonas proteolytica</i>	NCMB
NCMB 86	<i>Aeromonas hydrophila</i>	NCMB
NCMB 74	<i>Aeromonas punctata</i>	NCMB
Es 1	<i>Escherichia coli</i>	HIPH

*¹ Tokyo University of Fisheries, Tokyo, Japan.

*² National Collection of Marine Bacteria, Aberdeen, Scotland.

*³ Northwest and Alaska Fisheries Center, NOAA, Washington, U. S. A.

*⁴ Oregon State University, Oregon, U. S. A.

*⁵ Tavolek Inc. Washington, U. S. A.

*⁶ National Institute of Health, Tokyo, Japan.

*⁷ The Kitasato Institute, Tokyo, Japan.

*⁸ Institute of Applied Microbiology, Tokyo University, Tokyo, Japan.

*⁹ American Type Culture Collection, Maryland, U. S. A.

*¹⁰ Hiroshima Institute of Public Health, Hiroshima, Japan.

Keyとして重要なものが異なっていた。これは多くの研究者が指摘しているところで、研究者らの検討によっても性状検査の条件によって結果の異なることから、検査条件の統一の必要性が示唆された。

次に *V. anguillarum* とは幾つかの性状が異なるが近似的な種と考えられる国内株 25 株はいずれも淡水飼育サケ科魚類由来のもので大西・室賀 (1977) らのニジマス由来株も含まれ、対照株中米国内において分離報告されている NOAA V-1669 (HARRELL ら, 1976) と MSC-275

の 2 株と性状が良く一致した。HARRELL ら (1976) と SCHIEWE ら (1977) は NOAA V-1669 株を含む菌株をやはり *V. anguillarum* とは性状が異なるが関連性の深い菌群であるとしている。

Table 4 には *Vibrio* 属のいずれの種とも同定されない前述の国内株 24 株の性状を示した。これらの菌株のうちアユ由来の V-12, V-13, V-14 の 3 株は MUROGA ら (1979) の non cholera vibrio と性状が良く一致しまた V-15 も性状が類似していた。また V-129 から

Table 3. Main characteristics of *Vibrio anguillarum* and related *Vibrio* sp.

Characteristics	Strain No.													
	Bergey's manual 8th ed.	NCMB 6	NCMB 828, 829	LS 174	VA-15	TUF	NCMB 571	NCMB 407	NOAA V 775	VA-6	VA-8	VA 28	Present strains	NOAA V-1669
		1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	170	1
Single polar flagellum	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	99 ⁴²	+
Indol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d	+
MR	d ⁴¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d	d
VP	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	97	12
Citrate utilization	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	90	+
Sensitivity to O/129	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	89	+
" novobiocin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	98	+
Gelatin hydrolysis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	98	+
Casein	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	98	+
Tween 80	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	94	+
Hydrogen sulfide	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Acid from arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d
" sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	99	+
" mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" inositol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	8	+
" salicin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d
Starch hydrolysis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	8
0% NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d	d
7% NaCl	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9	+
10% NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth at 5°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	99	+
" at 37°C	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	88	+
" at 42°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arginine alkaline	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	86	+
Lysine decarboxylase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ornithine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hemolysis of horse blood	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4
Luminescence	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

*1 d: different reaction given by different strain.

*2 Percent of strains giving positive reaction.

V-145 の 16 株はカツオ釣漁業の生餌用として培養されていたカタクチイワシ由来の菌株であり、V-224 から V-233 の 4 株は楠田ら (1977) のいわゆる濃瘍病原菌を含みハマチ、マダイなど海産魚由来株でその性状はそれぞれ異なり、既存のいずれの種にも同定し得なかった。なお V-25, V-74, V-75 の 3 株はその後の検討で *Aeromonas* 属に包含させるべきものであることが判明した。

以上の国内分離株 219 株の Bergey's manual 8th ed. (1974) による同定結果を由来魚種別に整理したのが Table 5 である。*V. anguillarum* に同定され得る 170 株の由来はギンマス、アユ、ウナギ、ハマチ、モジロコ、カンパチと多くの魚種にわたっていた。また *V. anguillarum* に近似の性状を示す *Vibrio* sp. 25 株はエジマス、ヤマベ、アマゴとすべて淡水飼育のサケ科魚類由来であった。その他の *Vibrio* spp. 21 株中、アユ由来の

Table 4. Main characteristics of *Vibrio* spp. not identified as *V. anguillarum*

Characteristics	Strain No.																
	V-12, 13, 14		V-15		V-129, 132, 133, 134, 135, 136, 137		V-130, 131, 144, 145		V-140, 141		V-224 V-228		V-232	V-233	V-25	V-74	V-75
	3	1	7	4	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Single polar flagellum	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Indol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MR	+	+	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VP	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Citrate utilization	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sensitivity to O/129	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" novobiocin	+	+	d	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gelatin hydrolysis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Casein	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tween 80	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hydrogen sulfid	+	+	+	d	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Acid from arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" inositol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" salicin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Starch hydrolysis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0% NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7% NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10% NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth at 5°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" at 37°C	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" at 42°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arginine alkaline	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lysine decarboxylase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ornithine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hemolysis of horse blood	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Luminescence	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Key, see Table 3.

4 株は MUROGA ら (1979) の non cholera vibrio に一致または近似的性状を示し、他の 17 株はハマチ、モジャコ、カンパチ、マダイ、カタクチイシなどすべて海産魚由来で既存のいずれの種とも同定し得なかった。

このように本研究に供試したビブリオ病原菌として国内で分離された菌株は *V. anguillarum* の他に多くの菌株にまたがっていることが確認された。そこでこれら

のそれぞれの系統関係をより明らかにするために、前述の国内分離株 219 株より代表株 74 株を選び、対照株 29 株を加えた計 103 株を供試菌として、173 項目にわたる性状をより詳細に調べ、数値分類を、SNEATH (1957) の式により S-値 (Similarity value) を求め、成群操作を行なうことにより試みた。その結果を要約して、Fig. 1 に average linkage による樹状図で示した。供試菌 103 株中 88 株は S-値 80% 以上で phenon. I~V の 5 群に

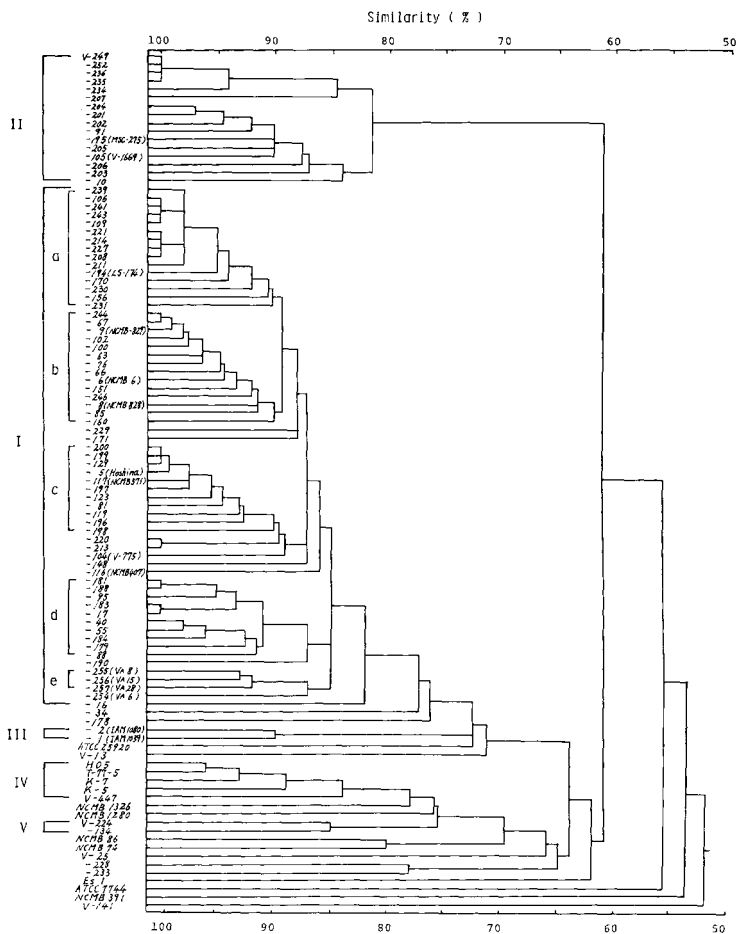


Fig. 1. Dendrogram based on average linkage of 103 strains.

Table 5. Sources of collected strains classified as *V. anguillarum*, *Vibrio* sp., *Vibrio* spp. and *Aeromonas* sp.

	No. of strains	Rainbow trout	Coho salmon	Yamabe	Amago	Ayu	Eel	Yellow tail	Mojako	Amberjack	Red sea bream	Anchovy
<i>V. anguillarum</i>	170		12			124	3	12	18	1		
<i>Vibrio</i> sp.* ¹	25	20		4	1							
<i>Vibrio</i> spp.* ²	21					4		1	1		2	13
<i>Aeromonas</i> sp.	3	1				2						

*¹ See Table 3.
*² See Table 4.

Table 6. Characteristics of Phenon I (*V. anguillarum*) and Phenon II (See Fig. 1)

Characteristics	Phenon	
	Phenon I (<i>V. anguillarum</i>)	Phenon II
Gram	—	—
Single polar flagellum	+	+
Oxidase	+	+
Catalase	+	+
OF	F	F
Gas from glucose	—	—
Sensitivity to O/129	—	+
penicillin	—	d
Acid from fructose	+	+
galactose	+	+
mannose	+	d
maltose	+	+
manitol	+	+
sucrose	+	+
ribose	+	+
lactose	—	—
xylose	—	—
salicin	—	d
Gelatin hydrolysis	+	d
Casein	—	+
Tween 80	+	—
Starch	+	—
Esculin	—	—
NO ₃	+	d
Indol	+	—
VP	+	—
Citrate utilization	+	—
2,3 butandiol	+	—
Arginine alkaline	+	—
Lysine decarboxylase	—	—
Ornithine	—	—
H ₂ S	—	—
MHT type	H	H
Growth in 7% NaCl	—	—
Growth at 42°C	—	—
GC mole %	43-46	43-45

d: different reaction given by different strain.
+ or —: 80% positive or negative.

群別され、phenon I は前述の分類で *V. anguillarum* に同定された 63 株からなり、II は淡水サケ科由来の *Vibrio* sp. を含む 16 株、III は対照菌株中の *V. metchnikovii* 2 株、IV は対照菌株中の *V. parahaemolyticus* 5 株、V はカタクチイソシ、ハマチ由来の 2 株から形成された。群を形成しない 15 株中 7 株はアユおよび海産魚由来のものであり、8 株はビブリオ病以外の対照株であった。ところで HARRELL ら (1976) や SCHIEWE ら (1977) はサケ科病魚由来株を血清学および DNA 相同性 (DNA-DNA homology) の検討から、従来の *V. anguillarum* すなわち著者らの phenon I に相当する菌群ならびにそれと一般性状、DNA 相同性で若干異なるが血清学的には一致する菌群 (著者らの Phenon II に相当する) に 2 分し、前者を *V. anguillarum* biotype 1 とし、後者を biotype 2 とすることを提案している。しかし Fig. 1 にみられるごとく数値分類の結果からは両群は明らかに独立した菌群を形成した。Table 6 に phenon I (63 株) および II (16 株) の主だった性状を示した。さらにこれらの性状に基づき前述の国内分離株 219 株すべてを再整理したところ、先に *V. anguil-*

Table 7. Differential characteristics of phenon I and II (See Fig. 1)

Characteristics	Phenon	
	I (170)	II (25)
Indol	(+)	—
VP	(+)	(—)
Citrate utilization	(+)	—
Starch hydrolysis	+	(—)
Tween 80	(+)	—
Arginine alkaline	(+)	(—)
Growth at 37°C	(+)	(—)

+ or —: all strains positive or negative.
(+) or (—): >80% positive or negative.

larum と同定された 170 株はすべて phenon I に、同種と近似の *Vibrio* sp. 25 株はすべて phenon II に含まれた。両菌群の代表的相違性状を Table 7 に示した。両菌群は主にインドール産生、VP 反応、クエン酸塩利用、デンプン分解、フィーン 80 分解、アルギニンアルカリ反応などで相反し、また表には示していないが底質利用性でもかなり異なっていた。なお Table 6 および 7 にみられるごとく両菌群間の相違性状はすべて phenon I が陽性で phenon II が陰性の結果を示すことは注目すべき点であり、両者の関係をより明確にするためにはさらに遺伝学的な検討が必要であることが推察された。

次に各 phenon から計 45 株の代表株を選び、DNA GC モル % を調べた結果を Table 8 に示した。*Vibrio* 属に属する菌株はすべて 43~46 モル % GC の値を示し、いずれも同属に包含せしめることの妥当性が示唆された。これら各 phenon 間の関係については現在 DNA-相同性の検討を進めており後日報告する。

以上の著者らの研究結果からも *V. anguillarum* はほぼ独立した菌種とみなし得ることが明らかであり、HENDRIE ら (1971) が *V. anguillarum*, *V. piscium*, *V. piscium* var *japonicus*, *V. ichthyoderms* の各種を統一して *V. anguillarum* としたこと、および EVELYN (1971) が同種を比較検討して NYBELIN-SMITH (SMITH,

Table 8. DNA GC moles percent of representative strains

Strain No.	GC moles %	Strain No.	GC moles %
Phenon I*		Phenon II*	
V-239	45.0	V-236	43.6
V-243	45.4	V-207	44.1
V-194 (LS-174)	44.6	V-195 (MSC-275)	44.8
V-170	44.5	V-105 (V-1669)	44.5
V-231	43.6		
V-244	44.2	Phenon III*	
V-9 (NCMB 829)	43.5	V-1 (IAM 1039)	42.7
V-66	43.6	Phenon IV*	
V-7 (NCMB 6)	44.0	HO5	45.0
V-8 (NCMB 828)	44.1	T-77-5	44.8
V-229	43.8	V-447	45.3
V-171	45.5		
V-200	45.3	Phenon V*	
V-5 (TUF)	44.8	V-224	45.2
V-117 (NCMB 571)	44.2	V-134	44.9
V-197	44.2		
V-123	44.0	Others	
V-81	44.2	V-34	46.6
V-119	43.5	V-13	46.3
V-196	44.3	V-25	58.1
V-198	43.9	V-233	43.8
V-220	44.4	V-141	46.1
V-213	44.6		
V-104 (V-775)	44.1	Es-1	50.1
V-148	45.6	ATCC 7744	38.0
V-116 (NCMB 407)	46.5		
V-181	44.5		
V-183	44.1		
V-184	43.8		
V-190	45.5		
V-255	44.9		
V-154	45.8		
V-16	45.8		

* See Fig. 1.

1961) の型別法を否定したことなどを肯定し得る結果が得られた。しかしながら著者のらの研究における phenon II を *V. anguillarum* の biotype 2 とする SCHIEWE ら (1977) の提案および BAUMANN ら (1978) の *V. anguillarum* を *Benekeia anguillara* とする提案などの妥当性については今後のさらに詳細な検討が必要であろう。またいづゆる海産魚の漢毒病原菌に関しは本研究に供試した分離菌は菌株も少なく、その分類は完全に整理し得なかった。これは今後の重要研究課題と考えられる。

2. ヒブリオ病原菌の血清学的検討

前述までの一般性状に基づく同定および数値分類などの研究結果および北尾ら (1975), 楠田ら (1975) の報告を参照して, 先ず *V. anguillarum* を中心に代表株を選び常法に従って抗血清を作製して, 代表株相互の O 抗原構造の関連性について検討した。その結果, 3 血清型に整理し得ることが明らかになった。

Table 9 はそれぞれの交叉吸収試験による各抗血清の特異性を示したものであるが, この結果からも上記 3 血清型に型別することの妥当性が示唆される。そこで, それぞれを J-O-1 型, J-O-2 型, J-O-3 型と呼称することとした。なお, 各型別の J は日本を, O は O 血清型を意味するものである。*V. anguillarum* の O 抗原による血清型別に関する報告は北尾ら (1975), 楠田ら (1975), PACHA and KIEN (1969), HARRELL ら (1969), JOHNSEN (1977), STROUT ら (1978) などがある。そこでこれらの報告と著者の設定した J-O-1, J-O-2, J-O-3 の 3 O 血清型との関係をそれぞれの報告で共通する供試菌をもとに整理して Table 10 に示した。この表にみられるように北尾らの A, B, C 型, 楠田らの I, II, III 型はそれ

ぞれ J-O-1, J-O-2, J-O-3 型に相当し, また PACHA and KIEHN の group 2, HARRELL らの type II, JOHNSEN の group I, STROUT らの 569 group は J-O-1 型に相当し, HARRELL らの type I, JOHNSEN の group 2, STROUT らの 775A group は J-O-3 型に相当するものと考えられる。しかしながら J-O-2 型に相当すると考えられるものは国外における報告には見当らなかった。なお国外の報告にみられるその他の group との関係については不明であった。

以上のように *V. anguillarum* またはその類似菌の代表株と, その抗血清による検討の結果, 3 O 血清型に型別されることが明らかになったので, これを基にして前述の全供試菌株の O 血清型別を行なった。Table 11 に示すごとく国内分離株 219 株のうち前述の phenon I すなわち *V. anguillarum* に分類された 170 株は 3 株の型別不能株を除き J-O-1 型に 100 株 (58.8%), J-O-2 型に 11 株 (6.5%), J-O-3 型に 56 株 (32.9%) と型別された。これらを菌株由来魚の飼育環境別に整理すると同じく Table 11 に示すごとくで, J-O-1 型に型別された菌株の 85% は淡水飼育魚由来株であり, J-O-3 型に型別された菌株の 82% は海水飼育魚由来株であった。一方, 前述の分類学的検討で *V. anguillarum* と近似するものの数値分類では異なる菌群であるとした phenon II に分類された 25 株はすべて J-O-1 型に型別され, 血清学的すなわち抗原構造の面からは *V. anguillarum* と交叉することが明らかとなった。前述のようにこれらはすべて淡水飼育サケ科魚類由来である。その他の *Vibrio* spp. および *Aeromonas* 属の 24 株はすべて型別不能であった。さらにこの O 血清型別の結果を由来魚種別に整理して Table 12 に示した。前述の phenon I に包含されたアユ由来の菌株は J-O-1 型に

Table 9. Slide cross-agglutination tests with antisera NCMB 6, PTe-1 and NOAA V-775 after adsorption with heterologous cells

Serum	Adsorbing strain	Antigen					
		J-O-1		J-O-2	J-O-3		
		NCMB 6	NOAA V-1669	V-123	NOAA V-775	V-106	NCMB 571
NCMB 6	V-123 (PTe-1)	—	+	—	—	—	—
	NOAA V-775	+	+	—	—	—	—
PTe-1	NCMB 6	—	—	+	—	—	—
	NOAA V-775	—	—	+	—	—	—
NOAA V-775	NCMB 6	—	—	—	—	+	+
	V-123 (PTe-1)	—	—	—	—	+	—

Table 10. Comparison of serotypes of other workers with author's serotypes

	KITAO <i>et al.</i> (1975)	KUSUDA <i>et al.</i> (1975)	PACHA & KIEHN (1969)	HARREL <i>et al.</i> (1969)	JOHNSEN (1977)	STROUT <i>et al.</i> (1978)
			Group 1 (Northwest salmonids)			
			Group 2 (European)	Type II	Group 1	569 Group (winter flounder)
J-O-1	A	I	NCMB 6 NCMB 829	NOAA V-1669	NCMB 6 NCMB 829	
J-O-2	B	II				
J-O-3	C	III	Group 3 (Pacific herring)	Type I NOAA V-775	Group 2 NCMB 571 Group 3 NCMB 1336	775A Group (coho salmon) 507 Group (coho salmon)

Table 11. Serological typing of collected strains classified as phenon I, II, and others, and relationship between rearing environments of fish and serotypes

Phenon*	Serotype	No. of strains (%)	Rearing environments of fish			
			Fresh water	Sea water	Sea water ~ Fresh water	Unknown
I	J-O-1	100 (58.8)	85 (85.0)	9 (9.0)	6 (6.0)	0
	J-O-2	11 (6.5)	2 (18.2)	4 (36.4)	4 (36.4)	1 (9.1)
	J-O-3	56 (32.9)	6 (10.7)	46 (82.1)	4 (7.1)	0
	Unknown	3 (1.8)	2 (66.7)	1 (33.3)	0	0
	J-O-1	25 (100)	25 (100)	0	0	0
II	J-O-2	0	0	0	0	0
	J-O-3	0	0	0	0	0
	Unknown	0	0	0	0	0
	J-O-1	0	0	0	0	0
others	J-O-2	0	0	0	0	0
	J-O-3	0	0	0	0	0
	Unknown	24 (100)	7 (29.2)	17 (70.8)	0	0

* See Fig. 1.

型別されるものが多数を占めたが他の血清型に型別されるものも少数ずつみられた。菌株数が少数ながらウナギ由来の菌株は J-O-1, J-O-2 型ならびに型別不能株に分かれた。一方海水飼育のギンマス、ハマチ、カンパチ由来の菌株は型別不能であったハマチ由来の 1 株を除き、

すべて J-O-3 型であった。phenon II に包含される淡水飼育のニジマス、アマゴ、ヤマベ由来の菌株は、すべて J-O-1 型であった。なお phenon II に包含された対照 2 株は米国において海水飼育サケ類から分離されたものであり、一方我國の海水飼育ギンマスからは phenon

Table 12. Sources and serotypes of collected strains classified as phenon I, II and others

Phenon*	Source (No. of strains)	Serotype	No. of strains	Rearing environments of fish			
				Fresh water	Sea water	Sea water~ Fresh water	Unknown
I	ayu (124)	J-O-1	99	84	9	6	0
		J-O-2	10	1	4	4	1
		J-O-3	14	6	4	4	0
		Unknown	1	1	0	0	0
	eel (3)	J-O-1	1	1	0	0	0
		J-O-2	1	1	0	0	0
		J-O-3	0	0	0	0	0
		Unknown	1	1	0	0	0
	coho salmon (12)	J-O-1	0	0	0	0	0
		J-O-2	0	0	0	0	0
		J-O-3	12	0	12	0	0
		Unknown	0	0	0	0	0
	yellow tail (30)	J-O-1	0	0	0	0	0
		J-O-2	0	0	0	0	0
		J-O-3	29	0	29	0	0
		Unknown	1	0	1	0	0
	amberjack (1)	J-O-1	0	0	0	0	0
		J-O-2	0	0	0	0	0
		J-O-3	1	0	1	0	0
		Unknown	0	0	0	0	0
II	rainbow	J-O-1	25	25	0	0	0
	trout (19)	J-O-2	0	0	0	0	0
	amago (2)	J-O-3	0	0	0	0	0
	yamabe (4)	Unknown	0	0	0	0	0
	ayu (6)						
	rainbow						
	trout (1)	J-O-1	0	0	0	0	0
	anchovy (13)	J-O-2	0	0	0	0	0
	yellow	J-O-3	0	0	0	0	0
	tail (3)	Unknown	24	7	17	0	0
others	red sea bream (1)						

* See Fig. 1.

I に包含されかつ J-O-3 型に型別される菌株のみが分離されていることは興味深い。将来本病の予防免疫を考える場合、菌株の選定に充分考慮せねばならないことを示唆するものと考えられる。

次に対照株として用いた *V. anguillarum* 標準菌株または国外由来の菌株 14 株は Table 13 にみられるごとく 5 株が J-O-1 型に、8 株は J-O-3 型に型別されたが、*V. ichthyoderms* NCMB 407 のみは型別不能であり、また J-O-2 型に型別されるものはなかった。なおジブリオ病魚由来以外の対照株 15 株はすべて型別不能であった。

以上の O 血清型別の結果から、淡水飼育のサケ科魚由来株は J-O-1 型であり淡水・海水両環境水にまたがって飼育されたアユ、ウナギ由来株は J-O-1、J-O-2、J-O-3 の 3 型にまたがり、海水飼育のギンマスあるいはハマチ、カンパチなどの海産魚由来株のすべては J-O-3 型である傾向が認められ、飼育環境との深い関係がうかがわれることから、今後疫学的な面からさらに詳細な検討を要する問題と考えられる。そのためには著者らの研究で型別不能となったいくつかの菌株についての検討や O 抗原のみならず K もしくは H 抗原をも加味したより詳細な血清学的検討が望まれる。

Table 13. Serological typing of reference strains

Strain	Phenon	Species name	Serotype
NCMB 6	I	<i>V. anguillarum</i>	J-O-1
NCMB 828	I	"	"
NCMB 829	I	"	"
NOAA V-1669	II	"	"
MSC-275	II	"	"
NCMB 407	I	<i>V. ichthyoderms</i>	Unkown
NCMB 571	I	<i>V. piscium</i> var. <i>japonicus</i>	J-O-3
TUF	I	"	"
NOAA V-775	I	<i>V. anguillarum</i>	"
LS-174	I	"	"
VA 6	I	"	"
VA-8	I	"	"
VA-15	I	"	"
VA-25	I	"	"

終りに、本研究の一部は文部省科学研究費補助金によって行なわれたことを記して謝意を表します。また貴重な菌株や抗血清の分与をいただいたカリフォルニア大学 J. L. FRYER 教授, NOAA M. H. SCHIEWE 博士, タボレッタ McCARTHY 博士, 宮崎大学北尾忠利教授, 高知大学楠田理一教授, 広島大学室賀清邦助教授をはじめ北海道, 東京, 栃木, 群馬, 長野, 山梨, 静岡, 岐阜, 滋賀, 三重, 徳島各都道府県水産関係機関の各位に深甚なる謝意を表するとともに菌株蒐集に御助力いただいた第一製薬片上進一氏に深謝します。

文 献

- BAUMANN, P., S. S. BANG and L. BAUMANN (1978): Phenotypic characterization of *Beneckeanguillara* biotype I and II. *Current Microbiology*, 1, 85-88.
- BUCHANAN, R. E. and N. E. GIBBONS, eds. (1974): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 8th ed. Williams and Wilkins, Baltimore, pp. 340-345.
- CISAR, J. O. and J. L. FRYER (1969): An epizootic of vibriosis in chinook salmon. *Bull. Wildl. Dis. Assoc.*, 5, 73-76.
- EGIDIUS, E. and K. ANDERSEN (1977): Norwegian reference strains of *Vibrio anguillarum*. *Aquaculture*, 10, 215-219.
- 江草周二 (1978): 「魚の感染症」恒星社厚生閣, 東京, pp. 101-128.
- EVELYN, T. P. T. (1971): First records of vibriosis in pacific salmon cultured in Canada, and taxonomic status of the responsible bacteria, *Vibrio anguillarum*. *J. Fish. Res. Board Can.*, 28, 517-525.
- 絵面良男・田島研一・木村喬久 (1979): 魚類病原菌としての *Vibrio* 属の分類学および血清学的研究 II. 代表株の数値分類について. 昭和 54 年日本水産学会秋季大会講演要旨集, p. 55.
- HARRELL, L. W., A. J. NOVOTNY, M. H. SCHIEWE and H. O. HODGINS (1976): Isolation and description of two vibrios pathogenic to Pacific salmon in Puget Sound, Washington. *Fish. Bull. (U. S.)*, 74, 447-449.
- 細井喜司雄・岩橋義人・江草周二 (1975): 養殖ハナナチ病魚より分離した腸炎ダブリアンについて. 魚病研究, 10, 31-37.
- HENDRIE, M. S., W. HODGKISS and J. W. SHEWAN (1971): Proposal that the species *Vibrio anguillarum* Bergman 1909, *Vibrio piscium* David 1927 and *Vibrio ichthyoderms* (Wells and ZoBell) Shewan, Hobbs and Hodgkiss 1960 be combined as a single species, *Vibrio anguillarum*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 21, 64-68.
- HOSHINA, T. (1957): Further observation on the causative bacteria of the epidemic disease like furunculosis of rainbow-trout. *J. Tokyo Univ. Fish.*, 43, 59-66.
- JOHNSEN, G. S. (1977): Immunological studies on *Vibrio anguillarum*. *Aquaculture*, 10, 221-230.
- 城 泰彦・室賀清邦 (1972): 淡水養殖ウナギから分離された *Vibrio anguillarum* について. 魚病研究, 6, 117-119.
- 北尾忠利・吉木 宙・佐々木武二・合田 朗 (1975): *Vibrio anguillarum* の抗原分析. 昭和 50 年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, p. 72.
- 楠田理一 (1965): 海産魚の潰瘍病に関する研究. 京都水試業績, 25, 1-116.
- 楠田理一・川合研一・佐古 浩 (1975): 魚類の病原性 *Vibrio* の分類学的研究—II. 血清学的性状によ

- る検討。昭和 50 年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, p. 71.
- 楠田豊一・佐古 浩・川合研児 (1979): 病魚から分離された *Vibrio* 属細菌の分類学的研究—I. 形態学的, 生物学的ならびに生化学的性状による検討。魚病研究, 13, 123-137.
- MCCARTHY, D. H., J. P. STEVENSON and M. S. ROBERTS (1974): Vibriosis in rainbow trout. *J. Wildl. Dis.*, 10, 2-7.
- MCCARTHY, D. H. (1976): Vibriosis in eels. *J. Fish. Biol.*, 8, 317-320.
- 室賀清邦・江草周三 (1970): 淡水養殖アユ病魚より分離した *V. anguillarum* について。魚病研究, 5, 16-20.
- 室賀清邦・城 泰彦・西岡光昭 (1976): 養殖ウナギから分離された病原性 *Vibrio*—I. 性状と分類学的地位。魚病研究, 11, 141-145.
- MUROGA, K., S. TAKAHASHI, H. YAMANOI and M. NISHIBUCHI (1979): Non-cholera vibrio isolated from diseased ayu. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.*, 45, 829-834.
- 大西圭二・室賀清邦 (1976): 養殖ニジマス の ビブリオ病の一原因菌—I. 生化学的性状。魚病研究, 11, 159-165.
- PACHA, R. E. and E. D. KIEHN (1969): Characterization and relatedness of marine vibrios pathogenic to fish: physiology, serology, and epidemiology. *J. Bacteriol.*, 100, 1242-1247.
- SAITO, Y., M. OTSUKU, T. FURUKAWA, K. KANDA and A. SATO (1964): Studies on an infectious disease of rainbow-trouts. *Acta Medica et Biologica*, 11, 267-275.
- SCHIEWE, M. H., J. H. CROSA and E. J. ORDAL (1977): Deoxyribonucleic acid relationships among marine vibrios pathogenic to fish. *Can. J. Microbiol.*, 23, 954-958.
- SMITH, I. W. (1961): A disease of finnoek due to *Vibrio anguillarum*. *J. gen. Microbiol.*, 24, 247-252.
- SNEATH, P. H. A. (1957): The application of computers to taxonomy. *J. gen. Microbiol.*, 17, 201-226.
- STROUT, R. G., E. S. SAWYER and B. A. COUTERMARSH (1978): Pathogenic vibrios in confinement-reared and feral fishes of the Maine-New Hampshire coast. *J. Fish. Res. Board Can.*, 35, 403-408.
- 田島研一・絵面良男・木村喬久 (1979): 魚類病原菌としての *Vibrio* 属の分類学および血清学的研究—I. 種々の病魚由来供試菌の形態学, 生物学および生化学的性状について。昭和 54 年度日本水産学会春季大会講演要旨集, p. 55.
- 田島研一・三戸秀敏・絵面良男・木村喬久・吉水 守 (1979): 魚類病原菌としての *Vibrio* 属の分類学および血清学的研究—III. O 血清型の検討。昭和 54 年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, p. 100.
- 安永純男・山元宣征 (1977): 1977 年冬期養殖マダイのいおゆるビブリオ病から分離された菌株の性状。魚病研究, 12, 209-214.
- 若林久嗣・塩瀬淳也・江草周三・宮永正雄 (1975): アユに発生した非運動性ビブリオ菌による流行病について。魚病研究, 9, 199-203.

質疑応答

【問】 小松: 外周, 特に米国ではビブリオ病は海洋魚類が殆んどで, 淡水の魚類では殆んど発生が見られないようですが, 日本では淡水魚においても多くの報告があります。この違いについて先生のお考えを教えてください。

【答】 絵面: 私も, 大変興味を持っている問題です。しかし, この問題を解くためには現場での調査が必要であり, 我々は現在そこまで充分行っていないので, 明確なお答えはできません。