

20) アユ冷水病人為感染におけるエロモナス病菌の混合感染の影響

金辻宏明

【目的】 前報では水平感染耐過アユの*Aeromonas*病菌を含む雑菌に対する液性免疫応答を調べたところ、冷水病菌以外に対する抗体産生は認められなかった。しかし、冷水病水平感染攻撃中の死亡魚より分離される*Aeromonas*病菌数が多いことから本菌の影響を調べた。

【方法】 供試魚には11月に琵琶湖で採捕され、冷水病経験のない平均体重3.2gの湖産アユを用いた。供試菌には1999年3月2日に冷水病で死亡したアユの腎臓から分離した*Flavobacterium psychrophilum* SG990302株、2003年5月24日に冷水病で死亡したと診断されたアユの腎臓から分離したSG030524株の*A. sobria*を用いた。冷水病菌の培養は供試菌を200mlの改変サイトファーガ液体培地(MCY)に接種して15℃で振盪しながら24h種培養し、10LのMCYへ接種して攪拌しながら15℃で24h本培養を行った。供試エロモナス病菌の培養は供試菌を50mLのハートインフュージョン液体培地(HI)〔日水〕に接種して25℃で静置培養し、1LのHI培地に接種して25℃で攪拌(100rpm)しながら培養した。攻撃試験は次のようにして行った。菌液希釈には地下水および湖水(未滅菌)を用いた。試験区は湖水または地下水希釈冷水病菌単一浸漬区、地下水希釈冷水病菌*Aeromonas*病菌混合感染浸漬区、地下水または湖水希釈*Aeromonas*病菌単一浸漬区および地下水浸漬区(対照区)を設定した。菌液は冷水病菌濃度で 2.5×10^6 CFU/mL、*Aeromonas*病菌濃度で 1.0×10^6 CFU/mLになるように指定の希釈液で希釈して10Lを調製し、各区30尾を菌液に投入して15分間浸漬して攻撃した。攻撃後は60×30×30cmの亚克力水槽に収容し、地下水(18℃)を通水して飼育した。攻撃期間中は無給餌とし、攻撃後3週間の死亡状況および累積死亡数を計数した。なお、湖水中の*Aeromonas*病菌の有無を調べるため、湖水100 μ Lを10%ヒツジ血液〔ジャパンラム〕、0.85%塩化ナトリウムを含むMCY寒天培地に接種して溶血斑を示す細菌数を測定した。またこの溶菌斑を示すコロニーの簡易同定をAPI-20NE〔BIOMÉRIEUX〕で行った。

【結果】 まず、攻撃に用いた供試湖水中のヒツジ血液に対する溶血性を示す菌数を調べたところ、図1に示すように100 μ L中に10個のコロニー(100CFU/mL)が検出された。このコロニーを簡易判別すると*A. sobria*、*A. hydrophila*または*A. caviae*、同定不能菌と分類された。このことから供試湖水中には僅かに*Aeromonas*病菌が含まれているものと判断された。つぎに、冷水病菌とエロモナス病菌の混合感染攻撃を行った結果を図2に示した。湖水または地下水で希釈した冷水病菌単独攻撃区では生残率はおおよそ50%を示した。湖水希釈*Aeromonas*病菌単一感染区では生残率は約82%、地下水希釈区は図3に示すスレ症死亡が含まれるためデータはとれなかった。混合感染区では生残率は60%と冷水病単一感染区を上回った。このことから冷水病菌で死亡するアユの*Aeromonas*病の影響は低いのではないかと考えられた。今後、病原性の高いまたは血清型の異なる*Aeromonas*病菌を用いて本病の影響を調べる必要性があると考えられる。

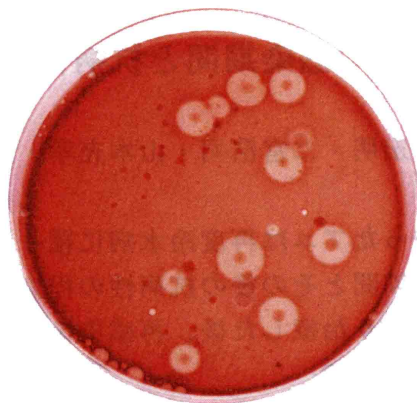


図1. 琵琶湖水中の溶血性細菌の検出における血液寒天平板の溶血像。
溶血性細菌は10%ヒツジ血液および0.85%塩化ナトリウムを含む改変サイトファーガ培地で検出。

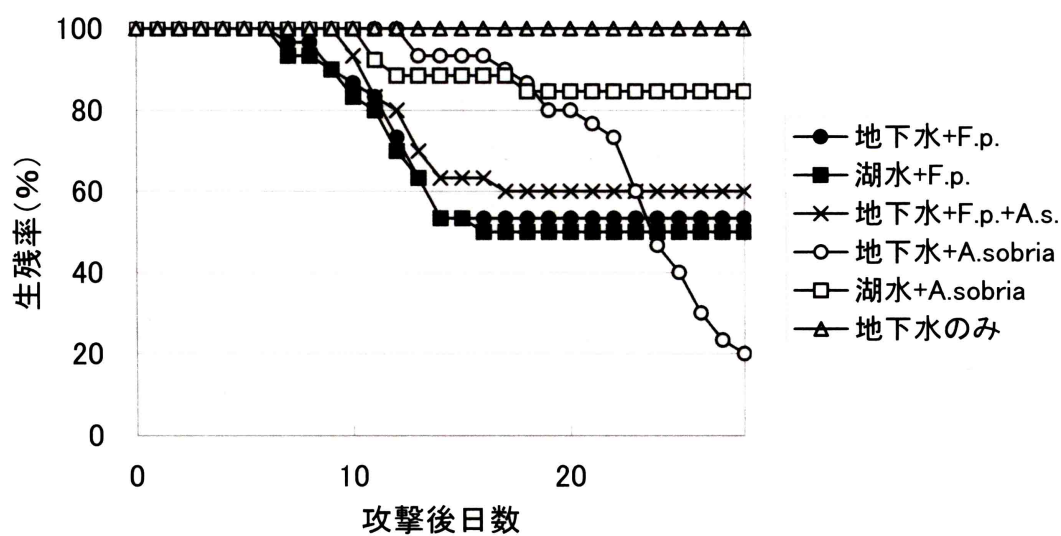


図2. 冷水病菌およびエロモナス病菌の人為混合感染による生残率の推移。

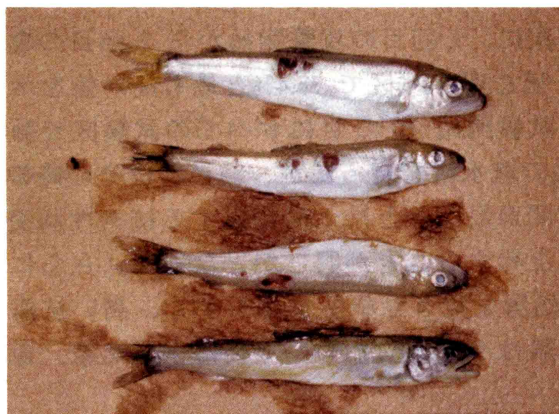


図3. エロモナス病菌単一感染区のスレ症による死亡個体像。