

4 0) 細菌性出血性腹水病実験感染罹病アユにおける個体別排出菌量

山本充孝

【目的】

病魚が病原体を環境水中へ排出することは一般的に知られているが、感染から発病、死亡、腐敗に至る過程での病原体の排出菌量についてはあまり知られていない。

そこで、本試験では細菌性出血性腹水病菌を特異的に検出できる選択培地を用いて本病に感染させたアユの排出菌量を経時的に測定した。

【方法】

供試魚：供試魚には 2002 年 11 月に琵琶湖エリで採捕され滋賀県水産試験場で飼育された平均体重 9.2g のアユを用いた。

供試菌株：アユ病魚由来の *Pseudomonas plecoglossicida* FPC941 株を予めアユに腹腔内接種後、再分離したものをを用いた。保存菌株をハートインフュージョン(HI)寒天培地で 25℃・24 時間培養後、滅菌生理食塩水に懸濁し、感染実験のための菌液を調製した。

個体毎の排出菌量の測定：

感染実験は 1.0×10^6 CFU/mL の濃度の菌液 5L にアユを 10 尾を通気しながら 15 分間浸漬して行った。浸漬攻撃したアユは 1 尾ずつ水量 3.2L の水槽に収容して、水温約 18℃の地下水を用いて毎分 120mL 注水量で飼育した。

魚体から水中への排出菌量を測定するために、感染後 18 日間 24 時間毎 (12 日後からは 48 時間毎) に供試魚を取り上げて、1 尾ずつ 200mL の滅菌地下水を入れた水槽に移し、10 分後の水中の本菌生菌数を測定した。測定終了後の供試魚は元の飼育水槽に戻した。

被検水はよく攪拌して 50mL 採取し、適宜希釈や濃縮 (4000×g、4℃、20 分遠心後上清を 45mL 除き、10 倍濃縮) を行った。生菌数の測定は 0.1mL ずつ 2 枚の OC-HI 選択培地に塗抹し、25℃で 48~72 時間培養後、生じたコロニーの色調・大きさ、抗 FPC941 家兔血清に対する凝集性から *Pseudomonas plecoglossicida* と判断された菌数を計数した。

【結果】

浸漬感染を行ったアユからの 10 分間の個体別排出菌量を試験終了時の生残魚と死亡魚に分けて図 1 および図 2 にそれぞれ示した。死亡魚から得られた排出菌量は黒印で示した。なお、2 枚の平板に検水を 0.1mL ずつ塗抹したので検出限界は 5CFU/mL であり、また、アユ 1 尾を 200mL の滅菌地下水に 10 分間収容したことから、アユ 1 尾あたりの排菌量の検出限界は 1.0×10^3 CFU/fish・10min となる。本試験においてはその被検水を 10 倍に濃縮したため、アユ 1 尾あたりの排菌量の検出限界は 1.0×10^2 CFU /fish・10min となった。

生残魚は 1 日後にはすべての個体から $10^2 \sim 10^3$ CFU /fish・10min の排菌が認められたが、その後は検出限界以下 $\sim 10^4$ CFU の範囲で試験終了まで変動した。

死亡魚は 1 日後には生残魚と同程度の排菌量であったが、2 日後からは $10^2 \sim 10^6$ CFU の範囲で変動しつつも増加した。死亡時の排菌量は $10^6 \sim 10^7$ CFU のオーダーであったが、すべての個体で死後さらに増加し、最大 10^9 CFU 前後となった。その後も死亡魚からの排菌量は試験終了までほとんど減少せず、最長で 12 日間 $10^7 \sim 10^9$ CFU の菌を排菌し続けた。

以上のことから、瀕死魚、死亡魚は多数の菌を水中に排出するため、早期除去が必要である。

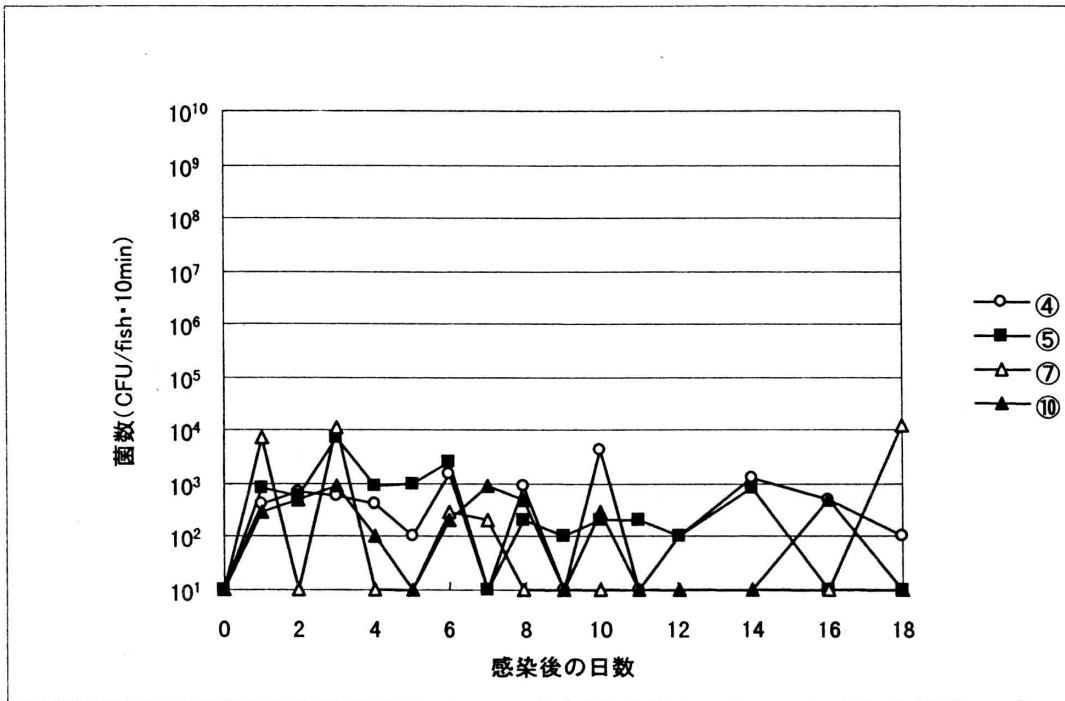


図1. *Pseudomonas plecoglossicida*を実験感染させたアユのうち実験終了時に生残していた個体の排菌量の経時変化

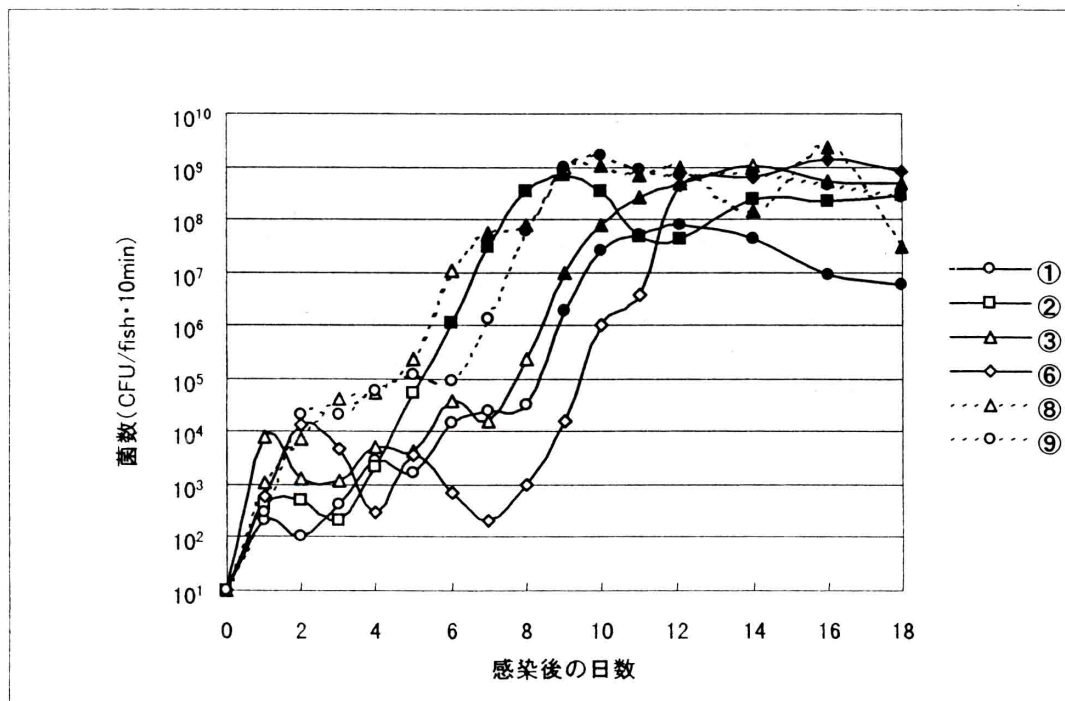


図2. *Pseudomonas plecoglossicida*を実験感染させたアユのうち死亡した個体の排菌量の経時変化

白印: 生残魚における*Pseudomonas plecoglossicida*菌数
 黒印: 死亡魚における*Pseudomonas plecoglossicida*菌数