三重大水産研報
第9号：155—165
1981年10月1日

テラピアのエドワジエラ症の病理組織学的研究—I
自然感染例

窪田三朗・界外　昇*・宮崎照雄・宮下敏夫**
三重大学水産学部

Histopathological Studies on Edwardsiellosis of Tilapia— I
Natural Infection

Saburoh S. KUBOTA, Noboru KAIGE*, Teruo MIYAZAKI and Toshio MIYASHITA**
Fuculty of Fisheries, Mie University

The present authors histopathologically studied on tilapia (*Tilapia nilotica*) infected with *Edwardsiella tarda*. Ten diseased fish exhibiting pale body-color, swollen abdomen due to dropsy, protruded blood-shot anus and cloudy eye, were collected at fish-farm ponds in Nara and Osaka Prefectures in 1981. The fish displayed at autupsy much ascites and the formation of fine white nodules in the liver, spleen, kidney, gills and rarely in the intestine alone. Visceral infected lesions exhibited various histopathological manifestation; 1) focal necrosis with diffuse bacterial multiplication, 2) focal necrosis followed by infiltration of many macrophages, which mostly underwent intracellular multiplication of the bacteria and 3) granulomas, which have not yet been observed in gills and intestine.

Keywords; edwardsiellosis, tilapia, histopathology,

日本における *Edwardsiella tarda* 感染症は，ニホンウナギ（*Anguilla japonica*）（WAKABAYASHI *et al.* 1973），ボラ（*Mugil cephalus*）（楠田ら 1976），マダイ（*Chrysophrys major*）（楠田ら 1977）およびテラピア（*Tilapia nilotica*）（宮下 1981）などから流行的知見が得られている。また，ニホンウナギ（宮崎ら 1976 a, b, c・宮崎 1980）とマダイ（窪田ら 1982）の病

* 三重県北勢家畜保健衛生所 (Hokusei Livestocl Hygiene Service Center, Mie Prefecture)
** 大阪府淡水魚試験場 (Osaka Prefectural Fresh-water Fishes Experimental Station)

魚について病理組織学的検索も行われている。

今回，テラピアの *Edwardsiella tarda* 感染症について，病理組織学的に検索したので，その詳細について述べる。

材料および方法

供試魚はテラピア（*Tilapia nilotica*）で，1981年11月に奈良県下の養殖場より採取した2尾，1981年12月に大阪府下の養殖場より採取した8尾の計10尾を用いた。供試魚は外観観察後に剖検し，10%ホルマリン液にて固定した。標本は常法に従って4～5 μのパラフィン切片を作製した。染色はヘマトキシリン・エオジン染色，ギムザ染色，グッドパスチャー染色，ワイゲルトの線維素染色，アルデヒドフクシン染色，ズダン黒B染色，PAS 反応およびベルリン青染色を行った。細菌検索は供試魚より細菌分離を行い，分離菌は医学細菌同定のてびき第2版（坂崎利一訳 1974）に準じて行った。分離菌の性状はグラム陰性の短桿菌で運動性を有し，カタラーゼ陽性，オキシダーゼ陰性，インドール産生，硫化水素産生，Methyl Red 反応陽性，Voges Proskanen 反応陰性，ブドウ糖分解，乳糖非分解，シモンズのクエン酸塩利用能陰性，尿素非分解，リジン脱炭酸陽性，マロン酸非分解およびニホンウナギより分離した *Edwardsiella tarda* で作製した抗血清に凝集したことより *E. tarda* と固定した。なお細菌学的な詳細は共同研究者の宮下により別途報告される予定である。

結　　果

肉眼的所見

病魚は肉眼的に，体色の褐色，腹部の膨満とそれに伴う肛門の拡張・突出を主病徴としていた。まれに，眼球白濁および突出を呈するものもあった。剖検的には，腹部の膨満しているものでは，大量の腹水が貯溜し，肝臓，脾臓および腎臓に白色微小結節が多発していた（Plate I-1）。臓器の結節の表面は突出し，その割面においても白色微小結節が多数みられた。2例ではあるが腸管にも白色微小結節の多発がみられた。なお鰓にも微小結節のみられるものもまれにみられた。

病理組織学的所見

感染病巣は主に肝臓，脾臓，腎臓に形成され，まれに小腸や鰓弁にも観察された。そのうち肝臓，脾臓，腎臓に形成された感染病巣の病徴はこれらの諸臓器に共通する点が多かった。白色微小結節として認められた病巣の初期像は巣状壊死(Plate, I-2, 3, 4)を特徴とし，その中で細菌が慢的に増殖する。しかし，壊死巣への炎症性細胞反応は軽微であり，また壊死巣と周囲組織の境界は明瞭であった。時間経過した病巣では巣状壊死周囲にマクロファージの強い浸潤が起こり，壊死層を被包するに至っていた（Plate Ⅱ-1, 2)。この段階の病巣では細菌のマクロファージ内増殖も顕著となり，多数の菌球形成もみられた（Plate Ⅱ-3)。感染病巣は最終的に肉芽腫化していた（Plate Ⅱ-4)。肉芽腫形成に際して，病巣周囲に浸潤したマクロファージはその外層部のものから順次類上皮細胞へと変化していた。また肉芽腫内の壊死巣は吸収されるか，浸潤したマクロファージともども凝固化していた。その凝固巣内では細菌数が減少していた。古くなった肉芽腫は、肉芽腫内部の

* 本研究は大阪府淡水魚試験場の委託研究事業費により行った。

吸収と乾酪化によって縮小し（Plate Ⅲ-1, 2），その乾酪巣中では細菌が生残するものの，その数は激減していた（Plate Ⅲ-3）。上記の感染病巣は，肝臓，腎臓に共通して発現したり，そのうちの二つの臓器に発現する傾向がみられ，病巣の病徴は同時進行的であった。

1. 肝　　臓

肝臓では巣状壊死（Plate I-2）から，マクロファージによる被包を受けた壊死巣に至る感染病巣（Plate Ⅱ-1）の発現が特徴であり，肉芽腫が多発することはまれであった。壊死病巣が多発した肝臓では，類洞内に菌球となったマクロファージによる塞栓や塞栓周囲の実質部に細菌が侵襲してできた微小壊死病巣も観察された。

その他の肝臓の異常として血鉄素，セロイドおよび脂蛋白の微小顆粒の肝細胞内沈着があげられる。色素沈着を呈する肝細胞は一般に萎縮していた。また，セロイド等の色素を貪食したマクロファージの中心動脈周囲への浸潤も併せてみられた。

2. 脾　　臓

細菌の侵襲による感染病巣は脾髄を中心に形成され，巣状壊死（Plate I-3）から肉芽腫（Plate Ⅱ-4,，Ⅲ-1）への進展がみられた。その周囲の脾髄は水腫化して疎開したり、充うっ血を呈していた。その他脾臓には変性赤血球，血鉄素，セロイド，脂蛋白およびメラニンを貪食した細網細胞が散在したり，大小の集簇巣を形成していた（Plate Ⅲ-1）。

3. 腎　　臓

感染病巣は造血組織を中心に形成されており，巣状壊死(Plate I-4)から肉芽腫（Plate Ⅲ-2, 3）への進展がみられた。その巣状壊死巣は糸球体や尿細管を包括し，腎実質も変性壊死に陥っていた。その他，尿細管上皮細胞の硝子滴変性や血鉄素沈着，尿円柱の形成などの腎実質の異常，類洞の細網内皮細胞と造血組織の細網細胞への血鉄素，セロイド，脂蛋白，メラニンの沈着がみられた。

4. 腸　　管

腸管には一般に感染病巣の形成はないが，2例にのみ腸管の粘膜下織に壊死巣が多発していた（Plate Ⅲ-4）。壊死組織中心部は凝固状になり，周囲にはマクロファージの浸潤が起こっていた。壊死が粘膜上皮におよんでいるものでは，粘膜上皮の壊死がみられた。壊死巣内での細菌増殖は軽微であった。

5. 鰓

鰓弁に白色結節がみられた例では，鰓弁動脈周辺にマクロファージの集簇がみられた。そこには細菌はごくまれに認められる程度であった。また，病巣部付近の鰓薄板上皮細胞が増生し，鰓の棍棒化しているものもあった（Plate Ⅲ-5）。

6. 眼　　球

肉眼的に角膜白濁および突出しているものでは，角膜の水腫性肥厚と結膜上皮の肥厚がみられた。

その他の器官では著変は認められなかった。

考　　察

魚類のエドワジエラ症のうち，宮崎ら（1976 a, b, c・1980）はニホンウナギで病理組織学的に詳細な検討を行っている。その所見によると，壊死巣に好中球の浸潤，集簇する化膿性炎が主病徴となっており，主として肝臓に化膿病巣を形成する化膿性肝炎型と腎臓に化膿病巣を形成する化膿性造血組織炎型の2つの発現型が認められている。窪田ら（1982）は，マダイにおける *E. tarda*

症の病理組織所見として，皮膚，脾臓および腎臓における肉芽腫性炎の発現をあげている。楠田ら（1976）は肉眼所見のみであるがボラの腹側筋肉組織に膿瘍の形成と腐敗および強い悪臭を放つガスの腹腔内充満を報告している。これに類似したものとして *Meyer*（1975）が Channel catfish で，筋肉組織が悪臭を放ち，腐敗しやすい気腫性の病変（腐敗ガス腫病）を観察している。

今回，剖検したテラピア病魚では主として肝臓，脾臓および腎臓に白色微小結節形成を特徴とし，ボラおよび Channel catfish の所見とは大きく異なっていた。テラピア病魚の感染病巣は，病理組織学的には局所の細菌増殖から巣状壊死に至り，壊死巣を取り囲むマクロファージの浸潤から肉芽腫性炎へ進展していくのが特徴である。この特徴はマダイの感染病巣にみられる組織病変と類似しているが，ニホンウナギにおける好中球浸潤を中心とする化膿性炎とは異っていた。検索したテラピアの例数が少ないこともあって，発現病型を類別することはできなかったが，肝臓で病巣が多発する傾向があった。また，10例中1例ではあるが腸管に壊死巣が多発していたことは他の魚種からは報告されておらず，テラピアの特徴の1つと考えられる。この病変は今後本病の感染経路を究明する上で一助となる知見であろう。

肝臓，脾臓および腎臓において，セロイド，脂蛋白および血鉄素の沈着が顕著にみられた。セロイドおよび脂蛋白については，変敗した冷凍マサバ投与によるブリの栄養性ミオパチー（窪田ら 1980）や，変敗魚油投与のコイ（宮崎ら 1981）にそれぞれ起こることが報告されている。血鉄素の沈着と脾臓の細網細胞の赤血球貪食像は飼育水中の亜硝酸、アンモニア等の増加により発生したニホンウナギのメトヘモグロビン血症の魚に観察されている（窪田ら 1981）。以上のことより，セロイドおよび脂蛋白の沈着原因として，変敗飼料投与，ビタミンE欠乏等が疑われる。血鉄素の沈着はテラピアの過密殖により水質が悪化し亜硝酸態窒素，アンモニア等が増加したことによりメトヘモグロビン血症に陥ったのではないかと考えられる。このようにテラピアの飼育環境はかなり劣悪な状態にあると考えられ，セロイド症およびメトヘモグロビン血症のような慢性的な疾病が生じたものと思われる。そして，このような慢性疾病がエドワジエラ症を引き起こす誘因となったのではないかと考えられるので，本病の防止には飼育環境や飼料上の諸問題の改善が必要といえよう。

文　献

窪田三朗・舟橋紀男・延東 真・宮崎照雄，1980. 養殖魚の栄養性ミオパチー症候群に関する研究—1，魚病研究，15(2)：75-80.

窪田三朗・天野秀臣・一岡 衛・宮崎照雄・丹羽 誠，1981. ニホンウナギのメトヘモグロビン血症，三重大水産研報，8：149-161.

窪田三朗・宮崎照雄・江草周三，1982. 魚病アトラス，新水産新聞社，東京，日本，

楠田理一・豊島利雄・岩村善利・佐古 浩，1976. 高知県興津湾のボラ病魚から分離された *Edwardsiella tarda* について，日水誌 42：271-275.

楠田理一・伊丹利明・宗清正広・中島博士，1977. 養殖チダイから分離された病原性 *Edwardsiella* の性状について，日水誌. 43：129-134.

Meyer P. F., 1975. The pathology of the major diseases of catfish. 275-286. *Pathology* of *Fishes* edited by Ribelin E. W. and G. Migaki, The University of Wisconsin Press, U. S. A., 1,004 pp.

宮下敏夫，1981. テラピアの越冬飼育中のへい死因について，日本水産学会講演要旨，

宮崎照雄・江草周三，1976 a ニホンウナギの *Edwardsiella tarda* 感染症の病理組織学的研究—1，自然感染—化膿性造血組織炎型—1，魚病研究11：33-43.

宮崎照雄・江草周三，1976 b. ニホンウナギの *Edwardsiella tarda* 感染症の病理組織学的研究—Ⅱ. 自然感染—化膿性肝炎型，同誌，11：67-76.

宮崎照雄・江草周三，1976 c. ニホンウナギの *Edwardsiella tarda* 感染症の病理組織学的研究—Ⅲ，自然感染—稚ウナギ，同誌，11：127-132.

宮崎照雄，1980．魚類の細菌感染症の病理組織学的研究，三重大水産研報．7：63-149．
宮崎照雄・窪田三朗，1981．養殖魚の栄養性ミオパチー症候群に関する研究—Ⅵコイに対する蚕蛹油と魚油の投与実験—i，脱脂北洋ミール基本ビタミンE欠乏飼料，三重大水産研報，8：131-147．
坂崎利一訳，1974．医学細菌同定のてびき，近代出版，東京，日本，
WAKABAYASHI. H., and S. EGUSA, 1973. *Edwardsiella tarda* (*Paracolobactrum anguillimortiferum*) associated with pond-cultured eel disease *Bull. Jap. Soc. Fish.* 39：577-587.

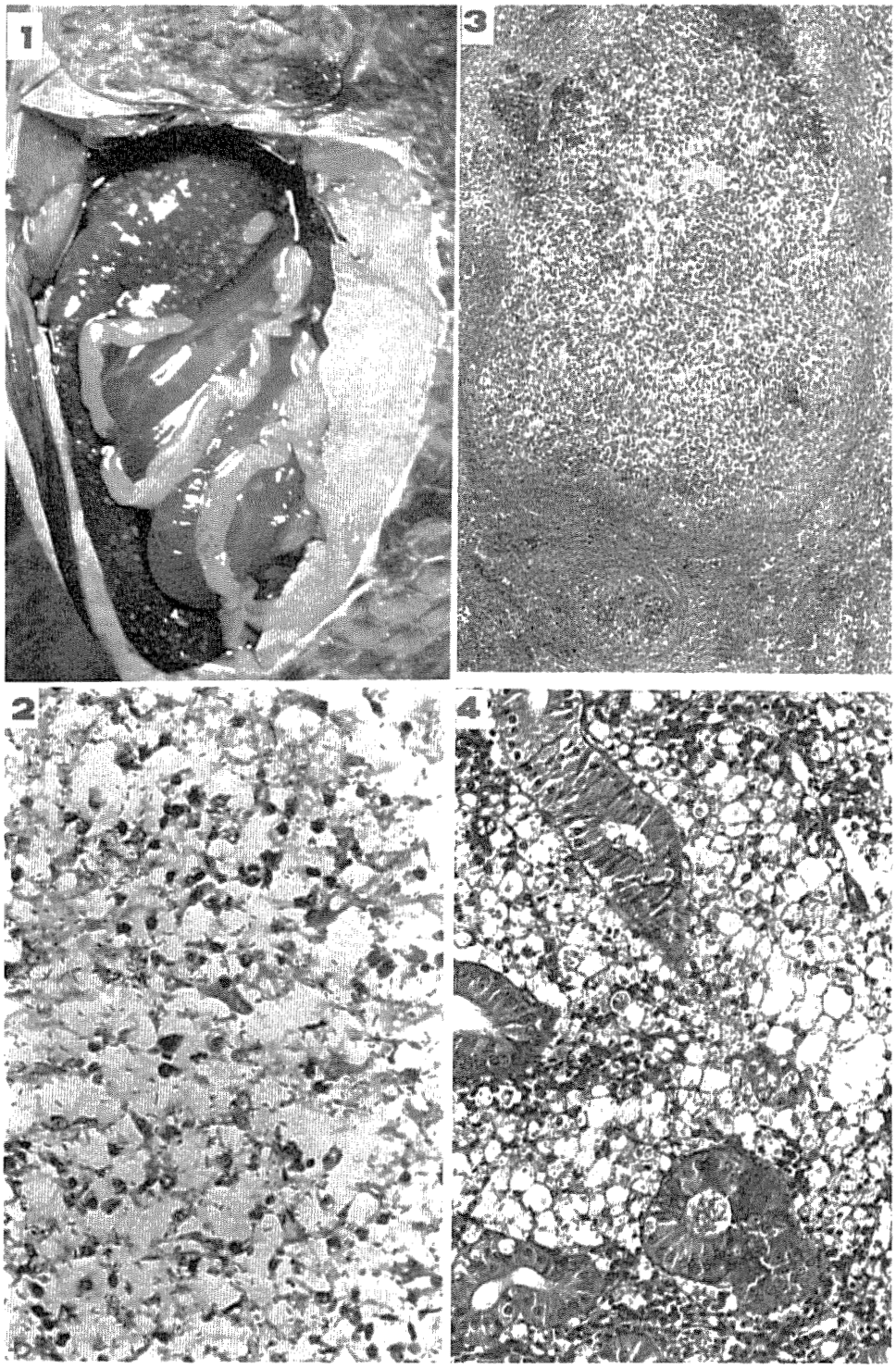
Explanation of Plate I

Fig. 1. A dissected view of a tilapia infected with *Edwardsiella tarda*. Many white nodules are formed in the liver. Dropsy is also accompanied.

Fig. 2. Infected lesion on the liver. Many bacteria with a rod-shape multiply necrotizing hepatocytes. Giemsa, ×320

Fig. 3. Infected lesion in the spleen. The lesion undergoes focal necrosis. H-E, ×50

Fig. 4. Infected lesion in the kidney. The hematopoietic tissue is invaded and necrotized by bacteria. Renal epithelia are slightly affected. H-E, ×200


1
3
2
4

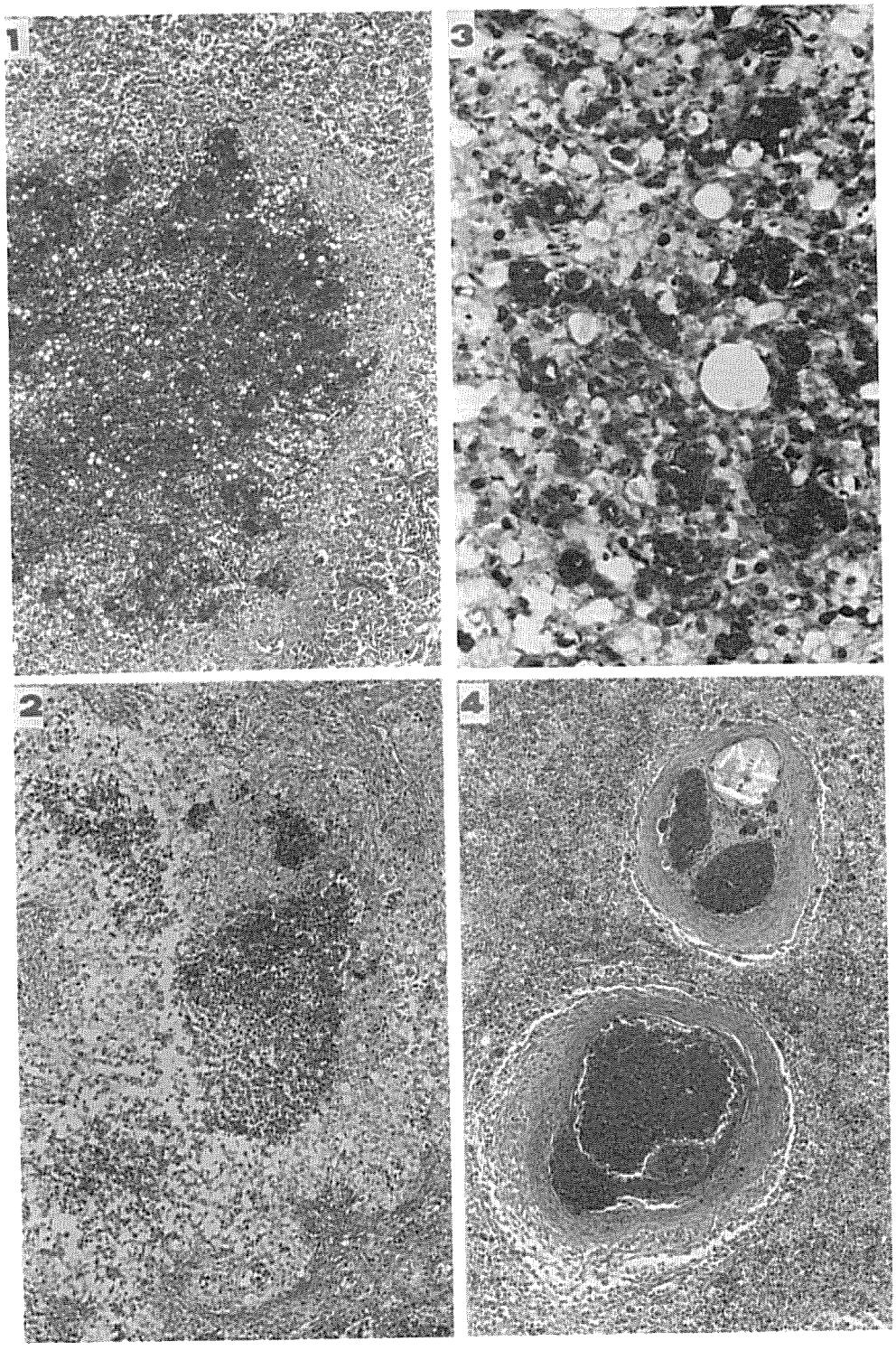
Explanation of Plate Ⅱ

Fig. 1. Hepatic lesion followed by marked macrophage infiltration. Many macrophages thickly wall off the infected lesion and the inside macrophages undergo intracellular multiplication of bacteria, which detailed view is shown at Fig. 3. H-E, ×80

Fig. 2. Splenic lesion followed by marked macrophage infiltration. Many macrophages thickly wall off the necrotic lesion. H-E, ×80

Fig. 3. A detailed view of the hepatic lesion with marked macrophage infiltration. Bacteria intensively multiply within macrophages in the necrotic lesion. Giemsa, ×480

Fig. 4. Granulomas in the spleen. Epithelioid cells thickly wall off infected lesions to form granulomas. The inside necrotized tissues and inflammatory cells undergo coagulation. H-E, ×80


1
3
2
4

Explanation of Plate Ⅲ

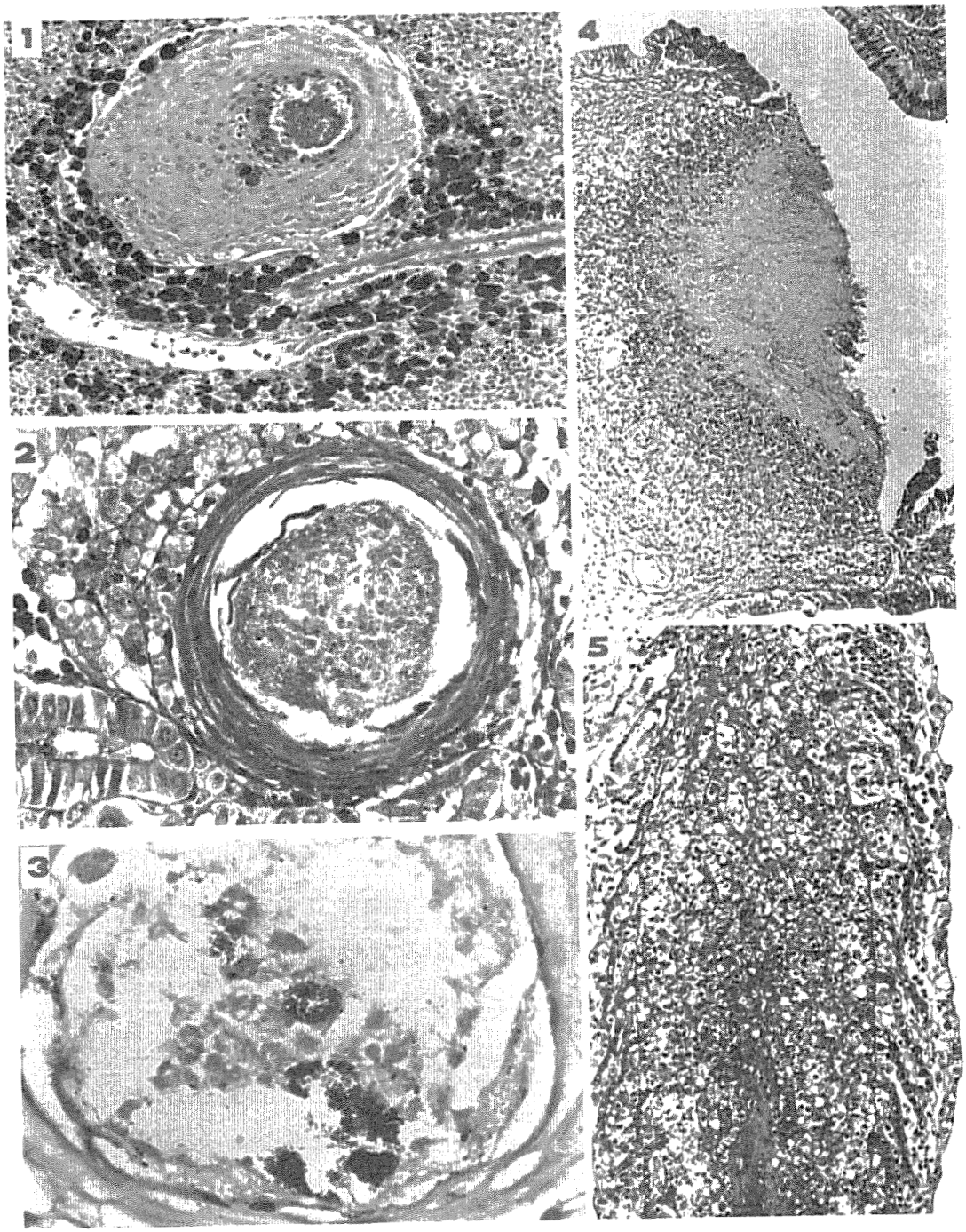
Fig. 1. Granuloma formatiom and hemosiderosis in the spleen. Adding to the granuloma formation, Berlin blue stain reveals extensive hemosiderosis in the spleen, Hemosiderosis occurring also in the liver and kidney, is assumed to be caused by methemoglobinemia due to a high level of nitrite in the pond water. Berlin blue, ×160

Fig. 2. Old granuloma in the kidney. The old granuloma has flattened epithelioid cells and inside caseous mass. H-E, ×320

Fig. 3. A detailed view of an old granuloma in the kidney. Bacteria survive decreasing intensively in the number within caseous mass of the granuloma. Giemsa, ×600

Fig. 4. Infected lesion in the intestine. The lesion involves the tunica propria and epithelium followed by necrosis and ulceration. Giemsa, ×100

Fig. 5. Infected lesion in gill filament. The infected lesion involves the connective tissues around filamental artery accompanying macrophage infiltration and fusion of lamellae. H-E, ×160


1
2
3
4
5