

# テラピアの*Edwardsiella tarda* 感染症の病理組織学的研究 - 実験感染魚

著者	界外 昇, 宮崎 照雄, 窪田 三朗
雑誌名	魚病研究
巻	21
号	2
ページ	95-99
発行年	1986-06-01
その他のタイトル	A Histopathological Study of Edwardsiellosis in Tilapia-Experimental Infection
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10076/2444">http://hdl.handle.net/10076/2444</a>

## テラピアの *Edwardsiella tarda* 感染症の 病理組織学的研究—実験感染魚

界外 昇\*<sup>1</sup>・宮崎照雄\*<sup>2</sup>・窪田三朗\*<sup>3</sup>

(昭和 61 年 1 月 27 日受理)

### A Histopathological Study of Edwardsiellosis in Tilapia— Experimental Infection

Noboru KAIGE\*<sup>1</sup>, Teruo MIYAZAKI\*<sup>2</sup> and Saburo S. KUBOTA\*<sup>3</sup>

\*<sup>1</sup>Chusei Livestock Hygiene Service Center, Takajaya, Tsu, Mie, Japan

\*<sup>2</sup>Faculty of Fisheries, Mie University, Edobashi, Tsu, Mie, Japan

\*<sup>3</sup>Nippon Veterinary and Zootechnical College, Kyonan-Cho,  
Musashino, Tokyo, Japan

(Received January 27, 1986)

Tilapia, *Tilapia mosambica*, were experimentally infected by intramuscular injection with  $10^8$  CFU/ml of *Edwardsiella tarda* (J3N strain) isolated from diseased tilapia, and examined on 24, 48, 96 and 120 hours after injection. Fish 24 and 48 hours after the injection showed swollen and erosive lesions and muscular necrosis with bacterial multiplication and inflammatory cells at the injected areas, and focal necrosis with bacteria-laden inflammatory cells in the liver, spleen, kidney and heart. Fish 96 and 120 hours after injection were moribund showing swollen and ulcerated lesions at the injected areas, small white nodules in the liver and spleen. The injected lesions showed muscular necrosis with bacterial multiplication and inflammatory cells. The liver, spleen and hematopoietic tissue showed focal accumulation of macrophages and production of granulomas in the infected lesions. The heart showed focal necrosis with bacterial multiplication and inflammatory cells. Gills showed bacterial embolism in lamellae. These histopathological signs of experimentally infected tilapia resembled to those of naturally infected fish.

*Edwardsiella tarda* 感染症はニホンウナギ (*Anguilla japonica*) のバロコ病として古くから知られている (江草, 1981)。近年では, *E. tarda* 感染症は Channel catfish (*Ictalurus punctatus*) (MEYER, 1975), マダイ (*Pagrus major*) (MIYAZAKI *et al.*, 1985), 錦ゴイ (*Crypinus carpio*) (OUI, *et al.*, 1984), テラピア (*Tilapia mosambica*) (窪田ら, 1982, 宮下, 1984, MIYAZAKI, *et al.*, 1985), ヒラメ (*Paralichthys olivaceus*) (MIYAZAKI, *et al.*, 1985) で発生が確認されている。これら自然感染魚の病理組織像は研究されているが, 実験感染についてはニホンウナギ (宮崎, 1980) について記載があ

るのみである。

本報では, テラピア由来の *E. tarda* を用いてテラピアで感染実験を行い, 自然感染魚にみられた主病徴を再現することが出来たので報告する。

#### 材料および方法

供試魚は体重 50~100g のテラピア (*Tilapia mosambica*) で養殖場より譲り受け, 1 週間水槽にて順飼した後, 実験に供した。その間一部を取り上げ, その *E. tarda* 保菌の有無を調べるために, その肝臓および腎臓よりハートインフュージョン寒天平板培地 (日本) を用いて細菌分離を試みたが, *E. tarda* は分離されなかった。

供試菌株は大阪水試宮下氏より分与を受けたテラピア

\*<sup>1</sup> 中勢家保

\*<sup>2</sup> 三重大学水産学部

\*<sup>3</sup> 日本獣医畜産大学

病魚由来の *E. tarda*・J3N 株で、実験前に一度テラピ  
アに注射し、病原性を高めた。その後、ハートインフ  
ェーションブイヨン(日水)で 37°C, 24 時間培養後、遠  
沈集菌し、生理食塩水で 3 回洗浄を行い、 $10^8$  CFU/ml  
に生理食塩水で菌液を調整した。

細菌接種は 9 尾の魚の左体側筋肉内に菌液を 0.1 ml  
ずつ注射して行った。また、対照区の魚(4 尾)には生  
理食塩水を 0.1 ml 左体側筋肉内に注射した。供試魚は  
プラスチック水槽(150 l, 平均水温 27°C)に收容した。  
実験感染魚は 24 および 48 時間後に各 3 尾、96 およ  
び 120 時間後に瀕死状態のものをそれぞれ 2 尾および 1  
尾取り上げた。また、対照区では 24 および 120 時間後  
に各 2 尾ずつ取り上げて材料に供した。

実験感染魚および対照区の魚は剖検後、細菌注射部、  
肝臓および腎臓から DHL 寒天平板培地(日水)で細菌  
分離を行い、細菌注射部と内臓諸器官を 10% ホルマ  
リン水で固定し、常法に従って 3~5 μm の組織切片を作  
製後、H-E 染色、ギムザ染色、ワイゲルトの線維素染  
色、アザン染色を施し、鏡検した。

細菌分離は DHL 寒天平板培地で 37°C, 24~48 時間  
培養を行った後、分離菌を抗 *E. tarda* ウサギ血清を用  
いて凝集反応を行い接種菌であることを確認した。抗  
*E. tarda* ウサギ血清は家兔に供試菌を常法に従って注射  
して自家作製したものである。

## 結 果

### 外見および剖検所見・細菌の再分離

**細菌接種 24 時間後:** 細菌接種部位表面には軽度の腫  
大および立鱗が起り、体側筋肉に大豆大の病巣が形成  
されていた。内臓諸器官には著変はみられなかった。

**細菌接種 48 時間後:** 細菌接種部位表面には腫大、立  
鱗および脱鱗が生じ、糜爛状になっていた。また、体側  
筋肉内の注射部位は壊死に陥っていた。内臓諸器官には異  
常は認められなかった。

**細菌接種 96 および 120 時間後:** 96 および 120 時間  
後の瀕死魚では細菌接種部位は腫大し、糜爛あるいは潰  
瘍に至っていた。体側筋肉内の細菌注射部位では筋組織が  
融解し、膿様物が貯溜していた。96 時間後の瀕死魚の  
肝臓、脾臓および鰓は褪色していた。また、120 時間後  
の瀕死魚の肝臓および脾臓に針頭大の白点が多発して  
いたが、他の器官には著変はみられなかった。

**対照区:** 生理食塩水接種 24 時間後の体側筋内部で小  
出血が認められた以外は 24 および 120 時間ともに著変  
がみられなかった。

**細菌分離:** 全実験感染例の体側筋内細菌接種部位、肝  
臓および腎臓より細菌が分離され、全て抗 *E. tarda* ウ  
サギ血清で凝集を示し、接種菌と判断された。対照区か  
らは細菌は分離されなかった。

### 病理組織所見

**細菌接種 24 時間後:** 筋組織内の細菌接種部位では細  
菌は筋線維間に瀰蔓的に増殖し、筋線維の変性、壊死、  
軽度の炎症性細胞の浸潤および壊死した筋線維の貪食像  
がみられた(Fig. 1)。肝臓では類洞内に線維素の析出と  
細菌を貪食した炎症性細胞の集簇が散見され、その周囲  
の肝細胞は変性、壊死に陥っていた(Fig. 2)。脾臓の脾  
髄・脾洞および腎臓造血組織類洞にも肝臓と同様の線維  
素の析出と炎症性細胞浸潤が認められた。心臓では 1 例  
に細菌を貪食した炎症性細胞が心筋線維間にみられた。

**細菌接種 48 時間後:** 筋組織内細菌接種部位では強い  
細菌増殖と筋線維の変性、壊死および融解が起り、炎  
症性細胞の浸潤が顕著であった。肝臓の類洞では細菌の  
炎症性細胞内および巣状の増殖がみられ、その周囲の肝  
細胞は壊死に陥っていた。脾臓でも脾髄および脾洞に細  
菌増殖を伴う小壊死巣が多発(Fig. 3)していた。腎臓  
造血組織では細菌が瀰蔓的に増殖し、炎症性細胞による  
食菌像と壊死巣が散見された。心臓では心筋線維間に炎  
症性細胞の増生と食菌像がみられ、心内膜内皮細胞が腫  
大していた。鰓では鰓薄板血管内に細菌塞栓がみられた。

**細菌接種 96 時間および 120 時間後の瀕死魚:** 全ての  
瀕死魚の筋組織内細菌接種部位は広範囲にわたり細菌の  
増殖、筋線維の変性、壊死、融解および炎症性細胞の浸  
潤を示していた。それらの肝臓では細菌を含む壊死巣に  
マクロファージが浸潤し、さらにその外側には 2~3 層  
の類上皮細胞層が被包している肉芽腫(Figs. 4, 5)が多  
発していた。脾臓および腎臓造血組織においても肝臓と  
同様の肉芽腫および壊死残渣を貪食したマクロファージ  
の集簇巣(Fig. 6)が多数認められた。心臓では細菌増  
殖および炎症性細胞浸潤を伴う筋線維の壊死像(Fig. 7)  
が散見され、鰓の鰓薄板では鰓薄板血管内で細菌増殖に  
よる塞栓および鰓薄板の壊死がみられた。なお 96 時間  
後の瀕死魚の腎臓造血組織では細菌の瀰蔓的増殖を伴う  
壊死、糸球体および尿管の萎縮もみられ、眼球脈絡膜  
には肉芽腫の形成が認められた。

**対照区:** 生理食塩水接種 24 時間後の筋組織におい  
て、接種部位に小出血と軽度の筋線維の変性がみられた  
のみで、他の諸器官では 24 および 120 時間後共に著変  
は観察されなかった。

## 考 察

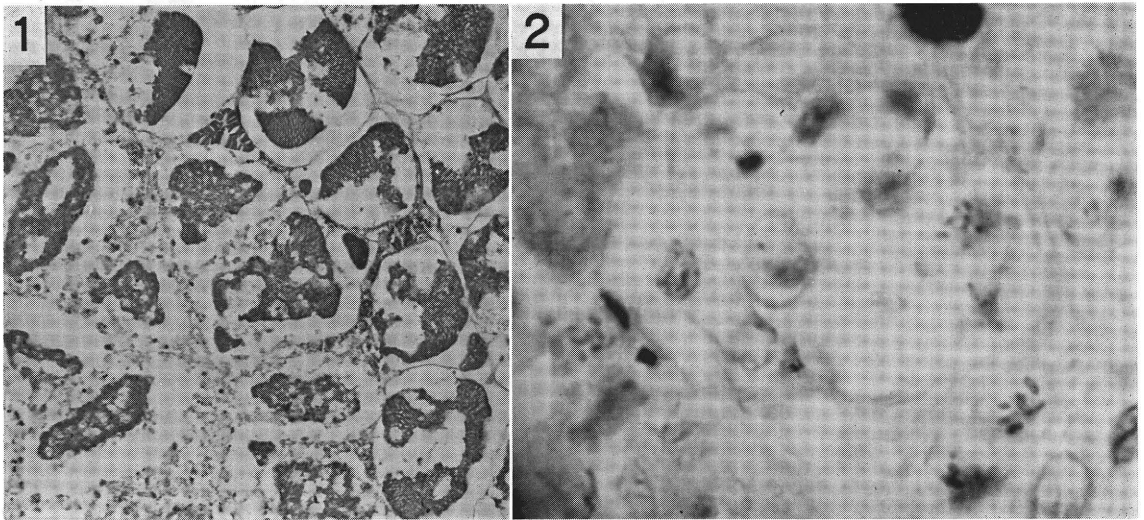
テラピアの *E. tarda* 感染症の自然感染例は窪田ら (1982), 宮下 (1984), MIYAZAKI *et al.*, (1985) によって報告された。それらによると, 肉眼的には, 肝臓, 脾臓, 腎臓および腸管での白色小結節の形成であり, 病理組織学的には肝臓, 脾臓および腎臓に巣状壊死から肉芽腫形成に至る病巣が特徴とされている。また, 肝臓では *E. tarda* 感染症の初期病巣として, 類洞内でのマクロファージによる食菌とその周囲の肝細胞の壊死を伴う小病巣の形成が認められている。

今回の感染実験では, 病理組織学的に細菌接種 24 時間後に肝臓類洞内に細菌を貪食した炎症性細胞の出現, その周囲での線維素析出および肝細胞壊死が起こっていた。この病変は上記の自然感染魚の初期病変と一致する

ものであった。また, 96 および 120 時間後では肝臓, 脾臓および腎臓造血組織の壊死巣にマクロファージが集簇し, 肉芽腫を形成するに至っていた。こうした肉芽腫形成も自然感染魚の病変と同様であった。以上のことから, テラピアでは *E. tarda* の実験感染に際し, 自然感染の病魚にみられた主病徴が再現されることがわかった。

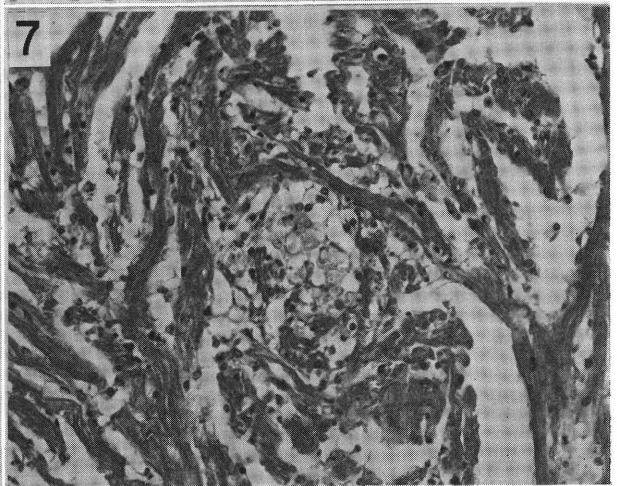
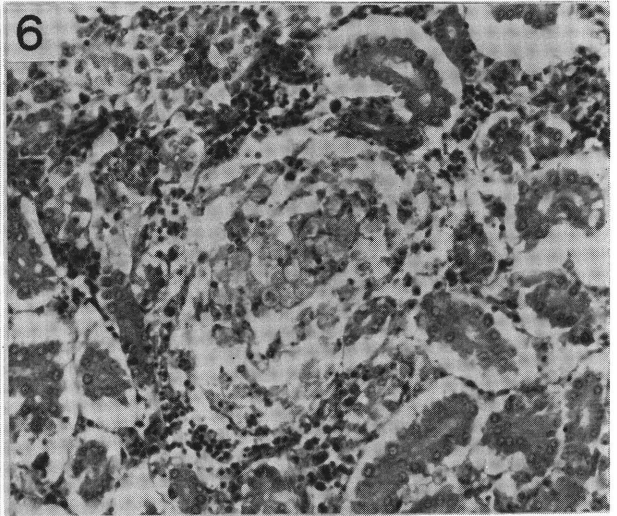
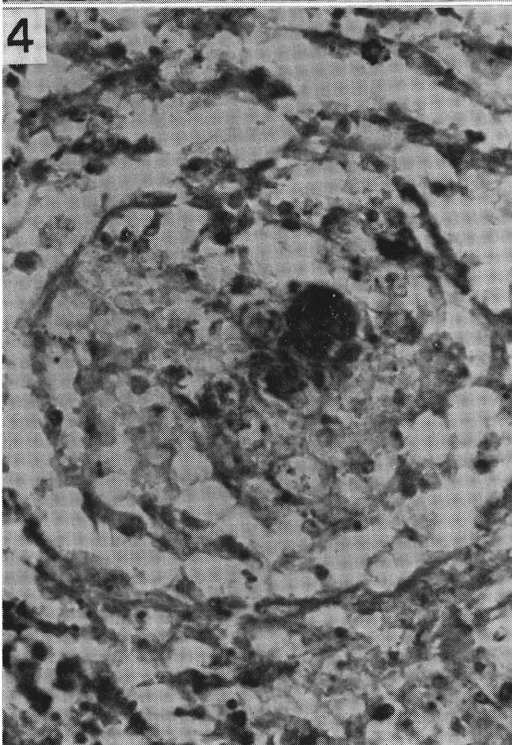
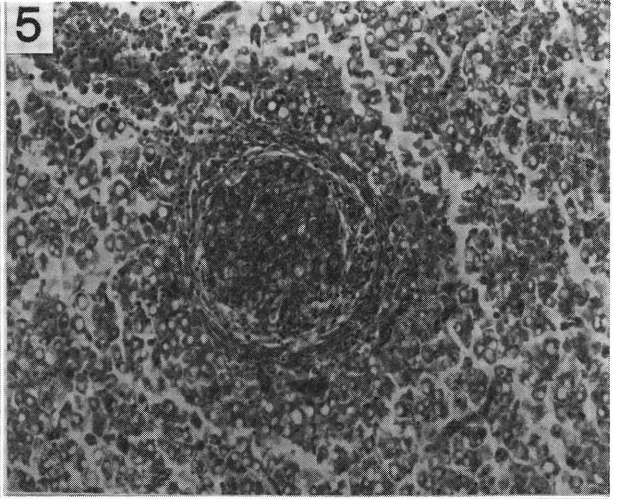
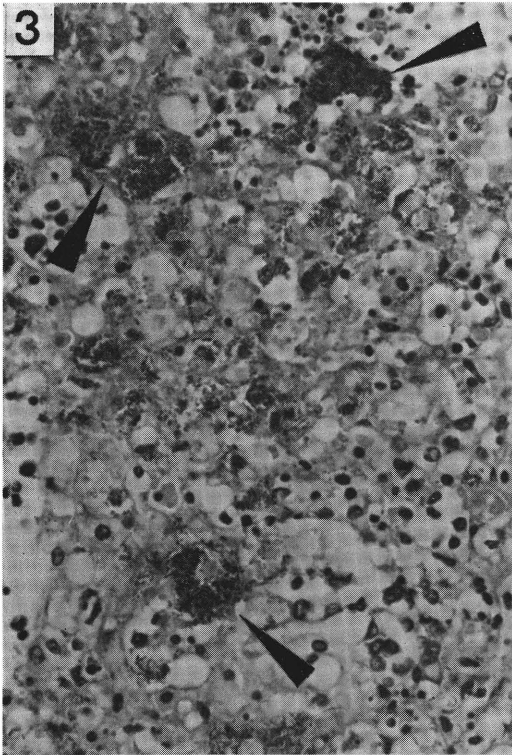
## 要 約

- ① テラピアを用いて *E. tarda* の実験感染を行った。
- ② 実験感染魚について, 24, 48, 96 および 120 時間と経時的に肉眼的, 解剖学的および病理組織学的観察を行った。
- ③ その結果, 実験感染魚において自然感染魚にみられたいくつかの病徴が再現されることがわかった。



## Explanation of Figures

- Fig. 1.** Injected lesion after 24 hours showed muscular necrosis, bacterial multiplication and infiltration of inflammatory cells. Giemsa stain,  $\times 200$ .
- Fig. 2.** Liver after 24 hours showed focal accumulation of bacteria-laden inflammatory cells, fibrin precipitation and necrosis of the surrounding hepatocytes. Giemsa stain,  $\times 1000$ .
- Fig. 3.** Spleen after 48 hours showed focal necrosis of the pulp with marked bacterial multiplication (arrow). Giemsa stain,  $\times 320$ .
- Fig. 4.** Liver after 96 hours showed focal necrosis lesions including bacteria-laden inflammatory cells. Giemsa stain,  $\times 320$ .
- Fig. 5.** Liver after 120 hours showed production of small granulomas at the infected lesion. H-E stain,  $\times 100$ .
- Fig. 6.** Kidney after 120 hours showed focal necrosis lesions including bacteria-laden inflammatory cells in the hematopoietic tissue. H-E stain,  $\times 200$ .
- Fig. 7.** Heart after 120 hours showed focal necrotic lesions including bacteria-laden inflammatory cells. H-E stain,  $\times 200$ .



## 文 献

- 江草周三 (1978): 魚の感染症. 恒星社厚生閣, 東京, 554 pp.
- 窪田三朗・界外 昇・宮崎照雄・宮下敏夫 (1982): 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. 三重大水産研報, 9, 155-165.
- MEYER, P. F. (1975): The pathology of the major diseases of catfish. 275-286. *In Pathology of Fishes* edited by RIBELIN, E. W. and G. MUGAKI, The University of Wisconsin Press, U. S. A., 1004 pp.
- 宮下敏夫 (1984): テラピア病魚から分離された *Pseudomonas fluorescens* および *Edwardsiella tarda*. 魚病研究, 19(1), 45-50.
- 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.
- MIYAZAKI, T and N. KAIGE (1985): Comparative histopathology of edwardsiellosis in fishes. *Fish Pathol.*, 20(2/3), 219-227.
- OUI, S. D., K. MUROGA and T. NAKAI (1984): A case of *Edwardsiella tarda* infection in cultured colored carp *Crypinus carpio*. *Fish Pathol.*, 19(3), 197-199.