

[3] 病原性試験

目 的

これまでに罹病スッポンより分離した菌株の病原性を確認する。

試験1

材料及び方法

- ① 供試スッポン：試験には水産用クロロマイセンチン散（クロラムフェニコール10%）を100 mg/kg づつ1日2回、3日間経口投与したスッポン（平均体重143.7g）を用いた。

その中から1頭取り出し、肝臓より細菌分離を行ったが、細菌は分離できなかった。

- ② 供試菌株：表4に記した。

表4 試験1の供試菌株

No	株 No	菌 株	分離 年 月 日
1	2	<i>Citrobacter</i> SP.	1975. 4. 18
2	13	<i>Pseudomonas</i> SP.	" 8. 2
3	20	グラム陽性球菌	1976. 5. 15
4	30	<i>Flavobacterium</i> SP.	" 6. 3
5	32	<i>Moraxella</i> SP.	" " "
6	33	<i>Proteus mirabilis</i>	" " "
7	41	<i>Aeromonas hydrophila</i>	" " "
8	45	<i>Edwardsiella tarda</i>	" " "
9	69	<i>Bordetella</i> SP.	" 7. 7
10	77	<i>Pseudomonas</i> SP.	" 7. 22

- ③ 方法：上記の菌株を1度生体通過させた後、再分離した菌株を液体培地で4日間培養（30℃菌数 10^4 ）した。それらの培養液を各区4頭の方法に2 ml/kg 接種し、その後1週間（11月9日～16日）へい死の動向を観察し、菌株の再分離、確認を行った。

分離培地は栄研のドリガル改良BTB寒天培地を用い、確認試験はグラム染色法、チトクローム・オキシダーゼ試験、OF試験、TSI培地、SIM培地による試験を行った。

試験時の水温はブラボード・ヒーターとサーモスタットで26℃以上に保った。

結果及び考察

11菌株中、生体通過できたのは *Flavobacterium* SP., *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda* の3株であった。

その他の菌株が再分離できなかったことは菌株の古さから活力が低下していたか、環境条件が悪かったものと考えられる。

分離された3株と *A. hydrophila*:*E. tarda* を1:1に混合したもの4種を2ml/kg接種し、1週間の累積へい死数を示したものが表5である。

表5 試験1の累積へい死数

株 No.	経過日数							へい死率 (%)
	1	2	3	4	5	6	7	
30	0	0	0	0	0	0	0	0
41	0	0	0	0	0	0	0	0
45	0	0	0	0	0	0	0	0
41+45	0	0	0	0	0	0	0	0
Cont.	0	0	0	0	0	0	0	0
水温 (°C)	29.0	27.0	28.0	28.0	28.2	26.0	26.0	27.5 (平均水温)

※ 株Noは表4と同じ

各区ともへい死はみられなかった。生残ったものより各区2頭ずつ肝臓と接種部位より細菌分離を行ったが、菌は検出できなかった。

外・内部所見も異状は認められず、これは菌株が古いため、菌の増殖よりスッポンの抵抗力の方が強かったためと思われる。

試験2

材料及び方法

① 供試スッポン：試験には平均体重161.7gのスッポンを用いた。その中から1頭取り出し、細菌の有無を調べるため肝臓より細菌分離を行ったが菌は分離できなかった。なお、抗生物質の投与は行わなかった。

② 供試菌株：表6に記した。

表6 試験2の供試菌株

No.	株 No.	菌 株	分離年月日
1	41	<i>Aeromonas hydrophila</i>	1976. 6. 3
2	45	<i>Edwardsiella tarda</i>	" " "
3	119	<i>Aeromonas</i> SP.	" 11. 20

⑩ 方法：上記の菌株を一度生体通過させた後、再分離した菌株を液体培地で4日間培養（25℃菌数 10^8 ）した。

それらの培養液を各区2頭の材料に2ml/kg接種した。その後1週間（12月1日～7日）へい死の動向を観察した。菌株の分離・確認法は試験1に準ずる。

水温は試験1と同様の装置で25℃以下に保った。

結果及び考察

試験1においてはへい死がなかったが、その原因として、菌株の古さ、抗生物質の使用、水温が適当でなかったことなどが考えられる。今回は *Aeromonas* の新しい株を使い、さらに抗生物質の使用をさげ、水温も25℃以下に設定した。

生体通過の段階で *E. tarda* は再分離できず、結果的に *Aeromonas* の古いもの（41）と新しいもの（119）の比較になってしまった。（41）と（119）の接種亀の異積へい死数は表7に示した。

表7 試験2の異積へい死数

株 No	経過日数								へい死率 (%)
		1	2	3	4	5	6	7	
41		0	0	0	0	0	0	0	0
119		0	0	0	0	0	0	0	50
Cont.		0	0	0	0	0	0	0	0
水温 (°C)		24.0	23.5	23.5	24.0	-	25.0	24.5	24.0 (平均水温)

※ 株Noは表6と同じ

（41）区はへい死がなかったが、（119）区は1頭へい死した。（119）区のへい死個体1頭と、（41）区・（119）区の生残りを各1頭づつ解剖し、外・内部所見及び細菌の分離を行った。結果は表8に示した。

表8 試験2の菌接種亀の生残個体とへい死個体の病徴

株 No	外部所見	内部所見	<i>Aeromonas</i> 分離	
			肝臓	接種部位
41	異常なし	肝臓白っぽい、もろくなっている 貧血をおとしている。	+	+
119	異常なし 下肢にやや赤み	異常なし	++	++
119 (へい死個体)	腹甲に小さな潰瘍2ヶ その他異常なし	肝臓白っぽい、もろくなっている 腸充血、脂肪黄色	+++	+++

（119）区の新しい *Aeromonas* SP. を接種したスッポンが7日目に1頭へい死したことにより、毒性は弱い、一応 *Aeromonas* SP. はスッポンに対して病原性があると思われる。また、菌株の新しい方が古い方より活性が高いと思われる。

A. hydrophila では試験1・2とも死亡亀が出ず、菌株の古いこともあるが、菌の活性を高めるような条件を調べ再度検討する必要がある。