

## V イリドウィルス様感染症に関する研究

### 人工感染方法の検討

小 川 健

#### 目 的

和歌山県では、イリドウィルス様感染症は1991年に発生が確認され、中部海域の漁場では'92年もマダイ稚魚で約30万尾の被害を蒙っている。本症の防疫対策としては、理想的には発病魚群の廃棄と陸上処分ではあるが、斃死がそれほど多くないときや、漁場がウィルスに汚染され、稚魚における発病が防げないような場合には、発病群に対しては斃死を押し、生残率を高める対策つまり対症療法を考えてゆく必要がある。

そこで本研究では、マダイ0年魚における対症療法剤を検討し、効果的な投与方法を確立することを目的としたが、本年度はその療法剤の有効性を確認する方法としての人工感染方法の検討を行なうこととし、マダイ0年魚に対する攻撃方法とストレスの影響について試験を実施した。

#### 材 料 お よ び 方 法

供試魚：平均体重 63.6 g，平均全長 14.3 cm の人工種苗0年魚。

供試ウィルス液：イリドウィルス様感染症による斃死マダイ0年魚（平均全長 2.7～14.3 cm）から脾臓、腎臓を無菌的に採取し、4倍量の滅菌PBSを加えて氷冷しながらガラスホモジナイザーで磨砕したのち、冷却遠心機で2,000回転5分間遠心し、その上清を0.45 μ のメンブランフィルターで濾過して供試ウィルス液とする。

病死魚内臓モイストペレット：イリドウィルス様感染症による斃死マダイの腹腔内臓器を採取し、その約1.2倍の配合飼料粉末を加えて混和し、モイストペレット（MP）に成形する。作成後は-80 °Cで保存。

ストレスの付与：常時作用するストレスとして尾鰭上下端を約1cm切断。

スタンプ標本：サンプリングしたマダイから無菌的に脾臓を取り出し、割面を清浄なスライドグラスに数回スタンプし、ギムザ染色を施す。

試験区および内容：攻撃方法は、接種法、経口投与方法および浸漬法の3法とし、それぞれの試験区および内容は表1, 2, 3に示す。

感染の有無の検討：区ごとの斃死率および脾臓のスタンプ標本における異形肥大細胞の出現状況による。

異形肥大細胞は、赤血球の数倍以上の大きさで、かつギムザ染色で青ないし青紫色に濃染され、明らかにそれと判る細胞のみに限り、多少ともに判断に迷う細胞は全て除外する。

試験期間：1992年10月16日から11月13日。

表1 接種法試験区および内容

区	尾数	接種液	接種部位	内容
1	20	ウィルス液 0.1ml/尾	背部筋肉	接種後3日目に半数の尾鰭上下端切断
2	20	〃	腹腔内	〃
3	24	〃	背部筋肉	接種後隔日に3尾ずつ脾臓のスタンプ標本作成
4	24	〃	腹腔内	〃
5	10	滅菌PBS 0.1ml/尾	背部筋肉	対照

表2 経口投与方法試験区および内容

区	尾数	投与方法	内容
1	12	ウィルス液 0.1ml/尾 1回強制投与	投与後3日目に半数の尾鰭上下端切断
2	12	病死魚内臓混和モイストペレット 1日1回飽食量14日間連続投与	〃
3	24	ウィルス液 0.1ml/尾 1回強制投与	投与後隔日に3尾ずつ脾臓のスタンプ標本作成
4	24	病死魚内臓混和モイストペレット 1日1回飽食量14日間連続投与	〃
5	10	滅菌PBS 0.1ml/尾 1回強制投与	対照

表3 浸漬法試験区および内容

区	尾数	浸漬方法	内容
1	20	10 <sup>-3</sup> 濃度のウィルス液に20%の浸漬率で10分間浸漬	浸漬後3日目に半数の尾鰭上下端切断
2	20	10 <sup>-5</sup> 濃度のウィルス液50ℓに24時間浸漬	〃
3	24	10 <sup>-3</sup> 濃度のウィルス液に20%の浸漬率で10分間浸漬	浸漬後隔日に3尾ずつ脾臓のスタンプ標本作成
4	24	10 <sup>-5</sup> 濃度のウィルス液50ℓに24時間浸漬	〃
5	10	飼育海水に20%の浸漬率で10分間収容	対照

## 結果および考察

試験期間中の飼育水温を図1に、各攻撃方法による斃死状況を表4, 5, 6に示した。

接種法では、4区（腹腔内接種区）で7日目に1尾斃死があったが、腎臓から *Vibrio* spp. が分離されたこと、異形肥大細胞もなかったことから、イリドウィルス様感染症による斃死ではないと思われた。また経口投与方法では全区とも全く斃死はみられなかった。

浸漬法では、1区(10<sup>-3</sup>液10分浸漬)の尾鰭切断しない魚で17日目に1尾、尾鰭切断魚で4日目に1尾、3区(10<sup>-3</sup>液10分浸漬)で7日目に2尾斃死が出現した。しかし異形肥大細胞がみられ、イリ

ドウィルス様感染症による斃死と判断されたのは1区の17日目の斃死魚だけであった。

いずれの攻撃方法でもイリドウィルス様感染症による斃死がこれのように少なかったのは、供試ウイルス液等の作成のための適当な斃死魚を収集するのに時間を要し、実験開始時期が10月中旬と遅くなり、水温が低下してきたことと、供試魚がやや大型の稚魚であり、本症に対する抵抗力が強かったことが原因と考えられる。

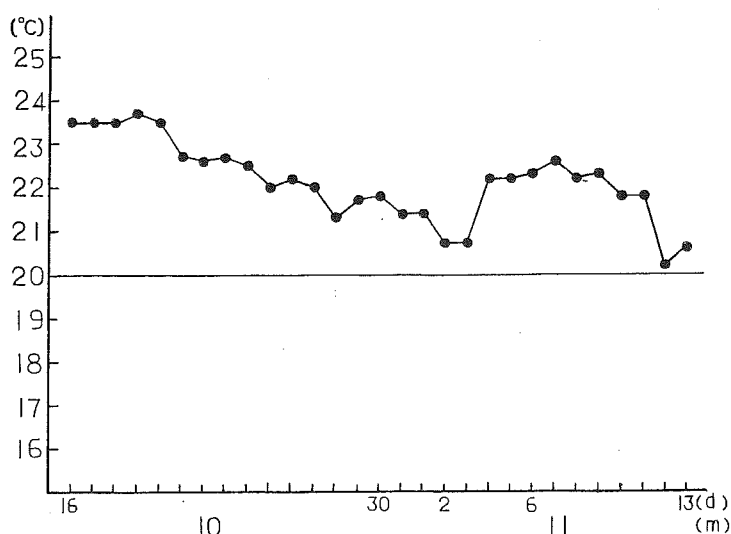


表6 浸漬法による斃死状況

区	内 容	経 過 日 数																												斃死率 計 (%)		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28			
1	10 <sup>-3</sup> 液10分	-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	10
	-2*		0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	10
2	10 <sup>-5</sup> 液24時間	-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	-2*		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	10 <sup>-3</sup> 液10分		0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0																2	8.4	
4	10 <sup>-5</sup> 液24時間		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																0	0	
5	対 照		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

\*: 1区-2, 2区-2は尾鰭切断 ①: 異形肥大細胞のみられた斃死魚

表7 接種法による, 異形肥大細胞出現状況

区	内 容	経 過 日 数												出現率 計 (%)
		2	4	6	7	8	10	12	14	17	21	28		
1, 3	背部筋肉	0/3	0/3	0/3		0/3	3/3	1/3	2/3	1/6	0/6	2/11	9/44	20.5
2, 4	腹腔内	0/3	0/3	0/3	0/1*	0/3	2/3	0/3	3/3	2/6	1/6	2/8	10/44	22.7
5	対 照									0/3	0/3	0/4	0/10	0

\*: 斃死魚

表8 経口投与法による, 異形肥大細胞出現状況

区	内 容	経 過 日 数											出現率 計 (%)	
		2	4	6	8	10	12	14	17	21	28			
1, 3	ウィルス液1回投与	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	1/6	0/6	0/3	1/36	2.8
2, 4	内臓モイスト連続投与	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/6	0/6	0/3	0/36	0
5	対 照									0/3	0/3	0/4	0/10	0

表9 浸漬法による, 異形肥大細胞出現状況

区	内 容	経 過 日 数												出現率 計 (%)
		2	4	6	7	8	10	12	14	17	21	28		
1, 3	10 <sup>-3</sup> 液10分	0/3	0/3	0/3	0/2*1	0/3	0/3	0/3	0/3	4/7*2	1/6	0/4	5/40	12.5
2, 4	10 <sup>-5</sup> 液24時間	0/3	0/4*2	0/3		0/3	0/3	0/3	0/3	0/6	0/6	0/10	0/44	0
5	対 照									0/3	0/3	0/4	0/10	0

\*1: 斃死魚 \*2: うち1尾斃死魚(異形肥大細胞あり)

対照区の0%に対しそれぞれ20.5%, 22.7%であった。これに対し, 経口投与法ではウィルス液の1回投与区で17日目に1尾みられたのみで, その出現率は2.8%であった。

浸漬法では10<sup>-3</sup>液10分浸漬区で17日目に出現がみられ, 出現率は12.5%となった。

また, 各方法とも尾鰭切断のストレスによる異形肥大細胞の出現状況の違いは認められなかった。

以上のように, イリドウィルス様感染症は, 接種法, 経口投与法および浸漬法いずれの方法でも感染が認められた。しかし, 脾臓における異形肥大細胞の出現状況からみると, 接種法が最も確実であり, また作業能率からみると浸漬法が優れていることから, 本症の感染実験には筋肉内接種または10<sup>-3</sup>

ウィルス液10分間浸漬が適当と考えられた。

さらに、斃死率についても、小型の供試魚を用いて高水温時に試験を行なうことで、本試験よりもかなり高い斃死率が得られるものと思われる。

おわりに本研究を進めるにあたり、多大な指導・助言を頂いた養殖研究所 井上 潔 病理研究室長に深謝する。

### 調査結果登載印刷物

平成4年度魚病対策技術開発研究成果報告書<sup>1</sup> 平成5年9月(予定) (社)日本水産資源保護協会