

7. 魚病対策事業

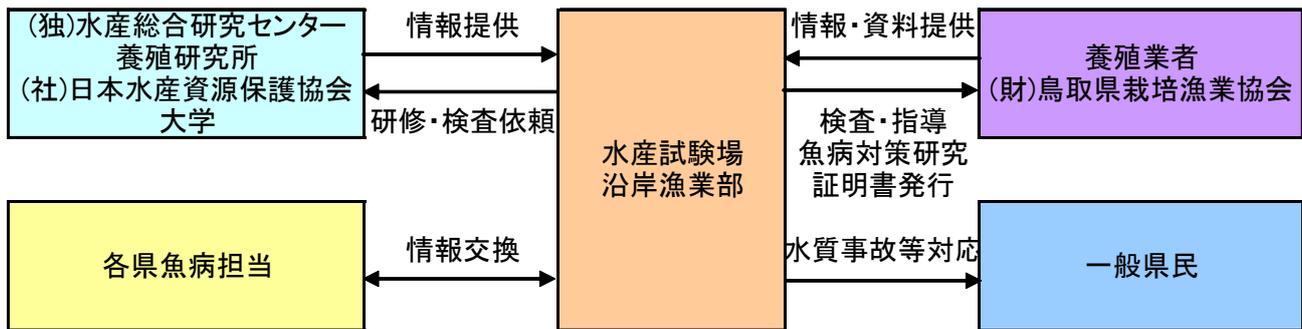
(1) 担 当：丹下菜穂子・松田成史（生産技術室）

(2) 実施期間：H19年度～（平成22年度予算額：魚病対策試験1,549千円）

(3) 目的・意義・目標設定：

- ① 持続的養殖生産確保法，薬事法，食品衛生法などにに基づき検査等行う。
- ② 巡回指導や魚病検査を行い，魚病被害を低減させる。
- ③ 疾病の検査証明書を発行する。
- ④ 水産物の生産過程で問題となっている疾病の対策を行う。

(4) 事業展開フロー



(5) 取り組みの成果

【課題1】：巡回指導・魚病指導・魚病検査・薬剤残留検査・魚病対策

1) 目的

養殖場の巡回指導，魚病検査を行い，魚病の被害を防ぐ。また，天然魚についても必要に応じて検査を行い，被害の蔓延防止対策の基礎とする。養殖生産魚について，薬剤残留検査を行い，食の安全を確保する。種苗生産期の疾病として問題となっているものの解決策を検討する。

2) 方法

- ① 巡回指導・魚病指導：県内養殖業者を巡回，もしくは勉強会を開催し，疾病の発生について注意を促すと同時に，適正な薬剤使用を指導した。
- ② 魚病検査：養殖場や天然域で斃死，衰弱した水産生物の疾病について検査を行い，対処方法を指導した。
- ③ 検査証明書の発行：鳥取県水産試験場手数料条例に従い，活魚取引上必要な検査証明書を発行した。
- ④ 薬剤残留検査：薬剤を使用した養殖業者の出荷予定魚に使用薬剤が残留していないか検査する。検査は畜水産食品中の残留抗生物質簡易診断法（改訂）に従った。
- ⑤ 魚病対策：ヒラメスクーチカ症の対策技術開発として，不活化した原因繊毛虫 (*Miamiensis avi-us*) の注射および浸漬処理による本症発生防除効果を感染実験により検証した。

3) 結果

① 巡回指導・魚病指導

平成22年4月から平成23年3月末日までの指導項目別魚種別延べ指導件数を図1に示した。巡回指導は延べ72件(サケマス類，アユ，アユカケ，ニシキゴイ，ホンモロコ，ドジョウ等)，相談は1件行い，講習会ではアユカケ養殖業者7者に指導した。魚種別延べ指導件数を図2に示した。魚種別ではホンモロコが47件と昨年度と同様に件数が多かった。今年度は，地域養殖特産種創出試験で生産されたアユカケ種苗を用いて養殖業者とともに養殖試験を始めたことから，アユカケの指導件数が21件となり，大幅に増えた。アユカケは，順調に種苗生産出来たものの，出荷先で飼育初期から運動性エロモナス症の発生により半数からほぼ全数が死亡し，養殖場への種苗移入後の飼育管理の指導に課題が残った。

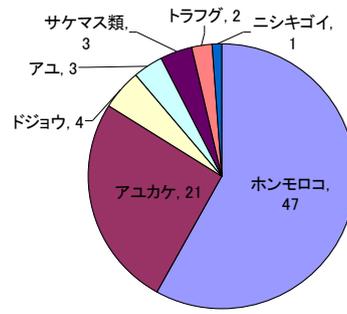
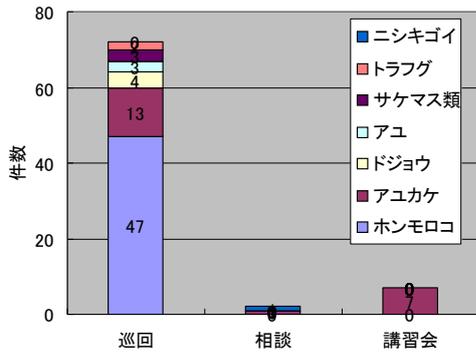


図1 平成22年度指導項目別魚種別延べ指導件数

図2 平成22年度魚種別延べ指導件数

②魚病検査

平成22年度の魚病診断状況を表1に示した。

内水面	魚種	病名	区分	H22												H23			合計	
				4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3					
内水面	ヤマメ	冷水病	養殖	1																
	アユ(淡水飼育)	冷水病	養殖					1												
		冷水病	天然水系				1													
	アユ(海水飼育)	生理障害(淡水馴致時に胃に水貯留)	種苗生産	1																
	フナ	運動性エロモナス症	天然水系	1																
	アユカケ	運動性エロモナス症	養殖			1	1					1								
		腸管白濁症(?)	種苗生産													2				
	ドジョウ	運動性エロモナス症	種苗生産				1													
	ホンモロコ	運動性エロモナス症	親魚養成		1															
		運動性エロモナス症	種苗生産		1															
		不明病(大量斃死、鰓にダメージ)	養殖								1	1								
		運動性エロモナス症	養殖				1													
																				16
	海面				H22												H23			合計
					4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3				
	カサゴ	スクーチカ症	養殖		1															
クロアワビ	腸膨満(配合とガスが詰まる)	種苗生産						1												
クロアワビ	不明病(繊毛虫・細菌感染症?)	天然海域			1															
	メガイアワビ	ビブリオ属細菌を含める不明の短桿菌、球菌の複合感染症	種苗生産				1	1	1											
		不明病(重なる症状)	種苗生産						1			1								
クロアワビ	キセノハリオチス感染症	種苗生産												1						
メガイアワビ	Polydora(ポリドラ)の穿孔	養殖			1			1												
ヒラメ	スクーチカ症	中間育成					1													
	スクーチカ症	養殖						1												
	不明病	養殖												1						
トラフグ	ビブリオ病(V. harveyi)	養殖			1															
キジハタ	VNN	1歳魚								1										
																			16	

表1 平成22年度疾病診断状況

魚病検査は、内水面で15件、海面で16件行った。特記事項は以下のとおりである。

内水面

- i) フナの運動性エロモナス症：平成22年4月に湖山池でフナが運動性エロモナス症により大量斃死した。5月2日および7日にそれぞれ900kgおよび550kgの斃死魚が回収された。
- ii) アユカケの運動性エロモナス症：アユカケの養殖試験においても運動性エロモナス症が発生し、種苗移入後、1-2月の間に累積死亡率が50%以上に達した。水産試験場での中間育成の歩留まりが90%であったのに対し、今年度、養殖試験に取り組んだ8者のうち5者でほぼ全滅し、2者で50%、1者で30%の歩留まりとなった。
- iii) アユの腹部膨満：4月にアユ種苗を海水から淡水へ馴致を開始したところ1日あたり50-100尾が死亡した。淡水の注水量が安定せず、塩分が20-30%で推移していた。胃に大量の水が貯留していたが、塩分濃度が上下したため、浸透圧調節がうまくできなかったと考えられた。

海面

i) アワビ類の異常斃死

1) 天然海域

平成22年6月に県東部岩美地区で漁獲されたクロアワビが畜養中に1-2日のうちに衰弱，死亡する事例があった．衰弱貝は身やせを呈しており，鰓に大きな核を1つ持つ長径約40 μ mの繊毛虫(図3)が多数観察された．この繊毛虫は同時期に天然海域で衰弱，死亡が見られた石川県のクロアワビでも観察されたが，この繊毛虫のクロアワビに対する病原性は不明である．

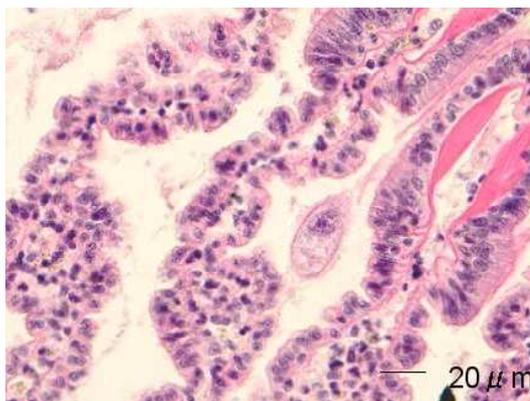


図3 クロアワビの鰓に付着していた繊毛虫 (HE染色)

2) 養殖場・種苗生産場

平成22年6-7月に養殖場で育成中のメガイアワビでビブリオ属細菌感染症が発生し，鰓に上述の繊毛虫も確認された．また，7-9月に栽培漁業センター施設で育成中のクロアワビおよびメガイアワビのビブリオ属細菌を含む不明の短桿菌，球菌の複合感染症と思われる事例が発生した．種苗生産場ではその他に養殖用のメガイアワビの真珠層に穿孔性多毛類 *Polydora uncinata*(図4)が大量に穿孔している事例が2件見られた．メガイアワビ一個体中に小型から大型の *P. uncinata*が見つかり個体中で再生産が行われていると考えられた．



図4 メガイアワビの真珠層に穿孔していた *Polydora uncinata*

ii) アワビ類のキセノハリオチス感染症

平成22年9月から平成23年1月にかけて栽培漁業センターのクロアワビ(1+群)の1水槽で餌食いが悪くなり，個体同士が重なる症状を呈し，水面に粘液が多量に浮遊するといった状態で衰弱死する事例が見られていた．通常の魚病検査では原因が判明しなかったため，(独)水産総合研究センター養殖研究所に診断を依頼したところ，3月2日にクロアワビのキセノハリオチス感染症と診断された．本症はOIE(国際獣疫事務局)リスト疾病であり，国内初の発生確認となった．本症の感染経路は不明であるが蔓延防止の観点から，感染が確認された水槽の稚貝は即日焼却処分し，その後の検査で同年級群(クロアワビおよびメガイアワビ)の他の水槽でも全て感染が確認されたため，4月1日に全数処分を行った．一方，飼育排水の影響が懸念されるセンター周辺海域の天然クロアワビについて3月25日に検査を行ったところ，陰性を確認した．

③検査証明書の発行

表2に平成22年度の検査証明書の発行状況を示した．コイヘルペスウイルス病 (KHVD) 1件について検査証明書を発行した．

表2 検査証明書発行実績

魚種	疾病	件数	証明書発行枚数
ニシキゴイ	KHDV	1	3
合計		1	3

④薬剤残留検査

薬剤残留検査は，出荷魚に対する薬剤使用事例がなかったため，実施しなかった．

⑤魚病対策—ヒラメスクーチカ症の対策技術開発

—不活化した原因繊毛虫の腹腔注射および浸漬処理による本症防除効果の検証

i) 背景

ヒラメをはじめ様々な海産魚種で発生するスクーチカ症の主要な原因が *Miamiensis avidus* であることが判明している．しかし，本症の対策として現在，使用できる化学療法剤やワクチン

がないため、本症の発生を防除する飼育方法を検討する必要がある。

本症の発生防除対策としてUV処理海水による飼育が挙げられるが、その有効性は実証されていない。それを判断するためには、飼育水のUV照射に期待される水中の*M. avidus*の不活化によってヒラメ稚魚がどのような作用を受けるのかを検証する必要がある。今回はヒラメ稚魚に不活化した*M. avidus*の腹腔注射および浸漬処理を施し試験群を作成し、各試験群の*M. avidus*感染性が無処理群と異なるかどうかを感染実験により調べた。

ii) 材料および方法

1) 供試絨毛虫株

平成22年10月に県内の養殖ヒラメから分離した*M. avidus*株 (JF10T0A) を用いた。分離および継代はYEHS液体培地 (ラブレコパウダー2%, Yeast ex. 0.5%, ブドウ糖0.5%, 食塩0.8%, 馬血清5%) で行い、18-25°Cで培養した。

2) 試験群の作成

供試魚としてヒラメ稚魚 (導入時平均全長90.4mm, 平均体重5.4g) を用いた。供試魚は、180L容直方体アクリル製水槽に100-200尾ずつ4水槽に收容し、濾過海水 (ϕ : 1 μ m) を用い、換水、通気し、自然水温 (9.3-18.6°C) で飼育した。餌は配合餌料を用いた。なお、各群とも滑走細菌症対策として必要に応じてニフルスチレン酸による薬浴を行った。

ヒラメ稚魚に不活化*M. avidus*を異なる方法で作用させ、*M. avidus*感染魚と同居感染させてその抵抗性を評価するため、不活化*M. avidus*注射群 (Injection-M. a群) および不活化*M. avidus*浸漬処理群 (Immersion-M. a群) を作成した。*M. avidus*の不活化は、*M. avidus*が 10^5 cells/mLに増殖したYEHS液体培地にホルマリンを100ppmの濃度になるように添加し穏やかに混合し、48°Cで1時間インキュベートした後、室温に3時間静置することにより行った。不活化した*M. avidus*の培養液を1,880G, 2分で遠心分離した後、上清を除去し、 10^6 cells/mLになるようにMEM培地に懸濁し、注射液および浸漬液とした。Injection-M. a群にはFA100 ((株)田辺製薬) で麻酔したヒラメ1尾あたり100 μ Lの注射液をツベルクリン用注射器 (29G) (テルモ) を用いて腹腔に注射した。注射の影響を見るために無添加のMEM培地100 μ Lを腹腔注射した対照群 (Injection-MEM群) も作成した。Immersion-M. a群は、通気したまま注水を止め、飼育水を90L排水し、不活化*M. avidus*培養液を100 cells/mLになるように飼育水に添加した。自然水温 (1回目: 17.0°C, 2回目: 13.9°C) で通気、止水飼育を24時間施した後、満水まで注水し、再び通気、止水飼育を24時間施した後換水飼育に切り替えた。浸漬処理は4週間間隔で2回行った。腹腔注射は、不活化*M. avidus*注射群 (Injection-M. a群) は4週間、対照群 (Injection-MEM群) は2週間の間隔でともに2回行った。

3) 感染実験

感染源として*M. avidus*注射感染魚を作成した。*M. avidus*が 10^5 cells/mLに増殖したYEHS液体培地を1,200rpm, 5分で遠心分離した後、上清を除去し、 10^6 cells/mLになるように濾過海水 (ϕ : 1 μ m) に懸濁し濃縮したものを無処理群のヒラメ1尾につき100 μ L注射した。注射感染魚と供試魚を区別するために背鰭の一部を彫刻刀で切除した。2回目の腹腔注射および浸漬処理から1ヶ月以上経過した試験群を*M. avidus*感染魚と同居飼育させ感染実験を行った。陽性対照 (Posi-con) および陰性対照 (Nega-con) 区には無処理群を用いた。

1試験群につき2試験区を設け、27L容アクリル製キューブ水槽に濾過海水 (ϕ : 1 μ m) を27L給水して供試魚を10尾ずつ收容した。翌日から濾過海水を注水し15L/日ずつ換水し、水温はウォーターバスで17~18°Cに調温し、微量通気、無給餌で飼育した。感染試験区すなわちInjection-M. a区、Immersion-M. a区および陽性対照区には感染初日 (0日目) および5日目に*M. avidus*注射感染魚を1尾ずつ收容した。水槽で死亡があるたびに死亡魚を取り上げ、MA-PCR¹⁾用に脳を採取し、必要に応じて頭部、筋肉、内臓等の組織を採取し病理組織観察用に固定した。また、観察により体表や鰭の白化、擦れといったスクーチカ症感染の兆候を示す個体数も記録し累積感染率を算出した。

iii) 結果

感染実験前の飼育期間中、いずれの区の魚も病気発生等の異常は見られず、活発に摂餌した。各区の魚の感染実験時の平均サイズを表3に示したが、試験群により成長差が最大平均全長で11.1mm、平均体重で1.4g見られた。また、Injection-M. a群の対照群のInjection-MEM区では、死亡がみられず、供試魚の健康に注射の影響はなかった。

表3 各試験群の平均サイズ

平均サイズ	試験群			
	Injection-M. a	Injection-MEM	Immersion-M. a	無処理
全長(mm)	98.4	109.5	104.4	108.3
体重(g)	7.8	9.2	8.3	8.5

感染源の*M. avidus*注射感染魚は、注射後7~23日目の間に全て死亡した。注射感染魚の症状は、供試魚の自然感染魚と様相が大きく異なっていた。表4にヒラメ組織への*M. avidus*感染実態を示した。腎臓および脾臓への感染は双方で見られなかった。注射感染では内臓器官への強い感染が特徴的で肝臓では胆管および洞様血管周辺、消化管および胃の粘膜下組織に夥しい量の繊毛虫の感染が見られ、上皮組織を破っているケースもあった。一方、浸漬感染実験後の生残魚群や感染実験前の免疫処理群で見られた自然感染では患部(体表白化部、筋肉および鰭)には強い感染が見られたものの、注射感染群に見られた内臓への感染実態はなく、一部で神経組織、心臓や筋肉への感染が見られた。

表4 ヒラメ組織への*M. avidus*感染実態 (*M. avidus*感染個体数/観察個体数)

組織	注射感染魚	自然感染魚	
神経	2/2	1/2	
脳内	2/2	1/2	
粘膜下組織	2/2	0/2	
心臓	N. D	1/1	
肝臓	2/2	0/2	
腎臓	0/2	0/2	
脾臓	0/2	0/2	
消化管	2/2	0/2	
胃	2/2	0/2	
筋肉	2/2	0/2	
体表	1/1	0/2	
鰭周辺	2/2	1/4	
鰭内部	1/2	0/4	
病変部	体表/筋肉/鰭	N. D	3/3
	下顎	N. D	1/1

N. D: no data

感染実験は27日間行った。同居感染開始後の試験区別累積死亡率を図5に試験区別*M. avidus*累積感染率を図6に示した。累積死亡率は陽性対照区が35%であったのに対し、Injection-M. a区

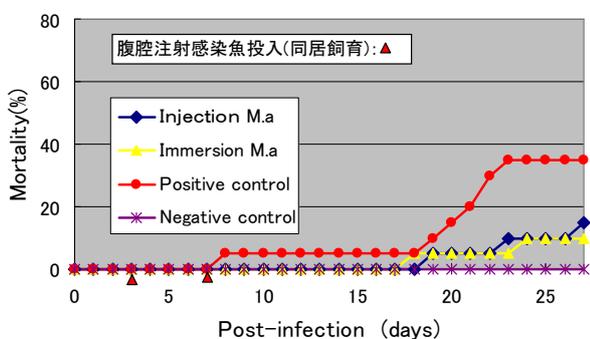


図5 試験区別累積死亡率

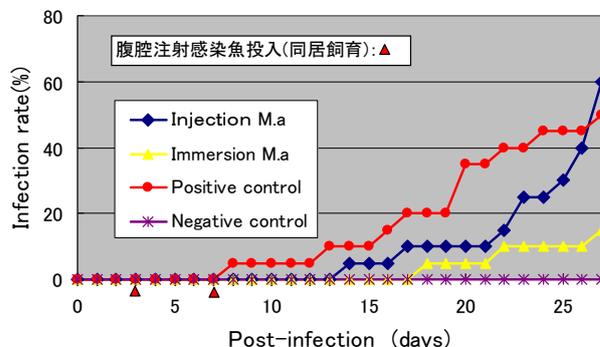


図6 試験区別累積感染率

が15%、Immersion-M. a区は10%であった。また、体表に擦れや潰瘍等の本症感染・発症の兆候を示した個体数で累積感染率を調べたところ、Posi-con区が50%であったのに対し、Injection-M. a区が60%、Immersion-M. a区で15%であった。なお、Nega-con区は累積死亡率および感染率ともに0%であった。実験中に供試魚群に急激な死亡は見られず、累積死亡率はInjection-M. a区とImmersion

-M. a区で有意差はなかった ($P>0.05$) (図5). 一方, *M. avidus*の感染は, 18日目以降, 急速に進行し (図6), 累積感染率はInjection-M. a区とImmersion-M. a区で有意差を見た ($P<0.05$). これらのことより, Immersion-M. a区が無処理区 (Posi-con区) に比べて累積死亡率および感染率が低かったことから, 不活化*M. avidus*の浸漬処理には本症感染 (発生) 防除効果が示唆された. Injection-M. a区は累積死亡率は低かったものの累積感染率ではPosi-con区以上の感染率を示したことから, 不活化*M. avidus*の腹腔注射処理には同様の効果はないと考えられた. これらの違いが免疫効果の違いによるものなのかどうかは, 今後の検討課題である.

5) 残された問題点及び課題

近年, サケ・マスやコイ等の以前から行われている養殖業は, 生産および販売が順調な業者とそうでない業者の生産規模 (量, 額) に大きな差があり, 抱えている問題も個々の事情で異なるため, 同様に指導することが困難であるため講習会は行っていない. しかし両魚種とも使用可能な薬剤が多く, 問題となる疾病が多発する魚なので, その都度指導を徹底する必要がある. ホンモロコ生産業者に対する指導の機会が増えているが, 採算に見合う生産業として成立させていくためには, 引き続き, 基本的な飼育管理技術に重点を置いた密な指導が必要である.

本県でのアワビのキセノハリオチス感染症の発生を機に, 全国的な防疫対策の動きが出てくると考えられるが, 全国的な浸潤調査や発生状況を分析し, 本症の在来アワビ類に対するインパクトを見極めて柔軟に対応していく必要があると思われる.

スクーチカ症の防除策の一つとして紫外線処理海水の使用の有効性を検証する意味で不活化した*M. avidus*の浸漬および腹腔注射処理の効果を感染実験により検証したところ, 浸漬処理による効果が期待できるとされる結果であった. しかし, 紫外線処理海水の使用の有効性を実証するために引き続き, 実験を繰り返して再現性を確認する必要がある. 今回, 不活化*M. avidus*の腹腔注射処理にはスクーチカ症を防除する効果が見られなかったが, *M. avidus*の腹腔注射感染の結果から, 自然感染で見られたような炎症反応が感染した内臓組織では見られなかったことから, ワクチネーションの効果が見られなかったと考えられる. 今後は感染後, 炎症反応が見られた筋肉に対する注射処理で効果があるか検討したい.