

要 約

アコヤガイの大量へい死に関する病理学的原因究明およびその防除法に関する研究

愛媛県水産試験場

2001年の宇和海における天然採苗貝(1+)の累積死亡率は、全域平均で60%を越え、昨年と比較して、非常に高かった。これは、宇和海全域でアコヤガイ大量死が最初に発生した1996年と同レベルと考えられた。原因として、冬季、夏季を通じて平年に比べ水温が高く推移したためと考えられた。

本症病原体の究明に関しては、Percoll比重分画により、病原性を維持したままで病原体の濃縮・粗精製ができる可能性が示唆された。

被害軽減対策として取り組んだ、低塩分処理による赤変色の抑制に関する試験は、本症病原体の浸透圧感受性ならびに処理条件に関する知見はある程度得られたが、防除効果の確認はできなかった。

トラフグのやせ病の防除・治療法に関する研究

宮城県水産試験場

*Leptotheca fugu*の感染腸管を未感染トラフグに経口投与しても実験感染は成立しなかったことから、*L. fugu*は魚から魚へ直接伝播しないと考えられた。陸上養殖ヒラメの腸管から*Myxidium* sp. TPに似た栄養体を検出した。これが*Myxidium* sp. TPであるかどうかを検討するためにヒラメの感染腸管を用いたトラフグへの実験感染を試みたが、感染は成立しなかった。木炭、キチン、塩化リゾチームの「やせ病」発病抑制効果を検討するために、これらを飼料に添加し*Myxidium*属2種の実験感染魚に給餌する方法で試験を実施したが、すべての区で「やせ病」がほとんど発生しなかったために効果についての検討はできなかった。

トラフグのやせ症の原因生物の解明に関する研究

東京大学大学院農学生命科学研究科

養殖トラフグ「やせ病」原因粘液胞子虫の1種と考えられている*Leptotheca fugu*について、栄養体の経口投与による感染実験が不成功に終わったことから、*L. fugu*は魚から魚へ容易には伝播しないことが示された。*Myxidium* sp. TPの経口投与による人為感染実験系において、15℃では*Myxidium* sp. TPの発育が阻止されたが、投与3週後に15℃から20℃へ昇温すると発育が始まったことから、*Myxidium* sp. TPの感染は15℃で潜伏状態になっていると考えられた。*M. fugu*の栄養体を蛍光色素(DAPIとPI)で生体染色することにより、生の状態でも栄養体と魚の細胞を識別することができ、栄養体の生死の判別も可能であった。

アユの冷水病に対するワクチンの有効性等に関する研究 広島県水産試験場

河川での発生が問題となっているアユ冷水病の有効なワクチンに関しての検討を行った。注射ワクチンの大量処理を行い自然感染により有効性を判定した結果、一回接種より二回接種の有効性が有意に高かった。低濃度長時間浸漬ワクチン(100倍希釈24時間浸漬)の3回および6回の反復処理を行ったが、有効性は得られなかった。アユ輸送時の浸漬ワクチン(100倍希釈3時間浸漬)を試みた結果、有効率は低かったが対照区と比べ死亡率は有意に低下した。高濃度短時間浸漬ワクチンを試みた結果、ワクチン原液浸漬5分間で高い有効性が得られた。新たな試みとして経口ワクチンの投与を2カ月間行った後、攻撃試験を行ったが有効性は認められなかった。

アユ冷水病に対するワクチン開発に関する研究

滋賀県水産試験場

養殖現場において実用性の高いアユ冷水病ワクチンを開発するため、ホルマリン不活化ワクチンを長時間浸漬法、高張浸漬法、免疫賦活剤併用浸漬法および高濃度浸漬法等により、アユに投与し、アジュバント添加注射ワクチンとの有効性の比較を行った。その結果、浸漬法では十分な有効性は認められなかった。その原因には、ワクチンに含まれる感染防御抗原がアユに十分にに取り込まれていなかったことなどの可能性が考えられるが、詳細は不明である。今後は、冷水病菌の免疫原性の獲得および向上、成分ワクチン等の研究を行う必要があるものと考えられる。一方、ホルマリン不活化ワクチンを使用したアジュバント添加注射ワクチンにおいては有効性が認められたが、アジュバントの残留、小型の魚に適用しにくいこと、さらに、一度に大量の魚を処理することが困難であること等、多くの課題を残している。そのため、実用化にあたっては、残留性を改善するとともに投与方法の簡便化を検討する必要がある。

ワクチンを利用したアユ親魚の冷水病防除技術等に関する研究

神奈川県水産総合研究所内水面試験場

アユ冷水病の防除対策として、診断手法の検討、飼育用具等の消毒に使用する薬剤の検討およびワクチン試験を実施した。その結果、冷水病は外部症状のみから判断することは困難であり、菌分離や免疫学的手法等による正確な診断が必要と考えられた。消毒剤として、塩化ベンザルコニウム0.1%溶液、エタノール70%液、次亜塩素酸ナトリウム600ppm溶液は30秒間で効果が認められた。ワクチンの有効性を評価する攻撃条件については、攻撃菌の培養期間は2日間に比べ4日間、試験水槽の水温は20℃に比べ13℃においてそれぞれ攻撃性が高まった。注射ワクチンでは、アジュバント添加により血中凝集抗体価の上昇と有効率の向上が認められ、栄養剤の併用によりさらに効果が高まること示唆された。浸漬ワクチンでは、過酸化水素による浸漬前処理および高張ワクチンによる効果の向上を検討したが、高張ワクチンのみでは効果が認められず、前処理による効果の向上は僅かであった。また、浸漬ワクチンは、攻撃試験結果と血中凝集抗体価の関連が認められないことから、血中凝集抗体以外の免疫機能が関与すると思われた。今後、効果の高いワクチンの開発、成熟時期におけるワクチン効果の検討、浸漬ワクチン等簡易な投与方法の効果の向上およびその評価方法の検討が必要である。

アユの冷水病及びシュードモナス病の防除に関する研究 岐阜県淡水魚研究所

アユ卵の消毒について検討した結果、ポビドンヨード製剤(有効ヨウ素1%)については、湖産系受精卵では、1/2000・5分、海産系受精卵では、1/1500・5分、湖産系発眼卵では、1/1000・15分処理まで安全性が確認された。過酸化水素製剤(過酸化水素濃度30%)については、湖産系受精卵では、12/1000・30分、海産系受精卵では、15/1000・30分、24/1000・15分及び30/1000・5分、湖産系発眼卵では、18/1000・30分及び24/1000・15分処理まで安全性が確認された。

冷水病親魚ワクチンの可能性について検討した結果、卵及び精液共に冷水病原因菌の保菌率は低かったが、統計学的有意差は認められなかった。

ヒラメのウイルス性出血性敗血症 (VHS) に関する研究 大分県海洋水産研究センター

今年度は感染経路の解明に関する研究を主体に試験を実施した。まずイカナゴのVHSV感受性で、イカナゴはヒラメのVHSVに対して感受性があることが判明した。次にヒラメにおけるVHSの経口感染では、感染したイカナゴをヒラメに食べさせることで、VHSに罹り斃死するものもみられた。これらのことから、ヒラメのVHSはイカナゴからの餌由来で感染する可能性が示唆された。愛媛県北条産と佐賀県玄海産の天然イカナゴのVHSVの保有状況を調査し、愛媛県北条産のイカナゴがVHSVを40.0%保有していた。このことから低水温期の瀬戸内海産のイカナゴはVHSVを保有している恐れがあり、養殖ヒラメの餌には使用しない方が無難と思われた。

サケ科魚類のOIE指定伝染病OMVDの撲滅に向けた研究 北海道大学大学院水産科学研究科

OMV感染症 (OMVD) は当初ヒメマスおよびサクラマスで問題となり、1978年のOMV発見後約10年を経過してギンザケにも産業被害が発生した。防疫対策が功を奏して北日本ではほぼ終息したが、ここ2、3年、本州のニジマス養殖場で大きな被害を与え問題になっている (Yoshimizu and Nomura, 2001)。本研究は、ニジマスの産業被害をなくすと共に、わが国におけるOMVの分布実態を把握しOMVDをなくすことを目的に総合的な研究を行うものである。初年度は病魚体内でのOMVの分布および採卵親魚の成熟段階ごとのOMV出現部位の特定を行い、次いで経卵感染の可能性を検討した。さらに効果的な卵消毒を行うに際し、各種消毒薬のOMV不活化効果を検討し、OMVの温度およびpH安定性を検討した。得られた成果は以下のとおりである。

1. OMVは病魚の各組織から検出された。ウイルス分離は排卵期の卵巣腔液以外困難であったが、感染耐過魚では成熟に向け、まず腎臓および脳から検出され、次いで各臓器から40~60%の割合で検出されるようになった。さらに排卵期には卵巣腔液を含め検査した各臓器から40~90%の割合で検出された。
2. OMVはIHNVと同様、未受精卵の卵内容物により不活化され、受精時に精子と共に卵内に侵入しても、死卵を除去し、他の卵の表面を消毒すれば防疫対策上問題はないと考えられる。
3. 市販の消毒薬はいずれも十分なOMV不活化効果を有し、ポピドンヨードは100ppm, 1分で100PFU前後のOMVを不活化した。
4. OMVは温度感受性が高く、40℃以上で1分間保持すれば不活化された。

クルマエビPAVの予防免疫に関する研究 広島大学生物生産学部

PAV (急性ウイルス血症) 耐過クルマエビに認められる免疫様現象を予防免疫に応用することを目的に、PAV耐過エビの抵抗性発現時期および血リンパ液のPRDV (PAV原因ウイルス) 中和活性の動態、さらに実験的PAVの死亡率に及ぼすエビ飼育密度の影響について検討した。PAV耐過エビの抵抗性はPRDV接種3週間後から発現し4週間後の抵抗性はRPSで58%に達した。またPAV耐過エビ血リンパのPRDV中和活性もクルマエビの抵抗性と平行して上昇した。クルマエビの飼育密度の上昇に伴いPAVによる累積死亡率が高くなり、共食い等による経口感染の連鎖的発生により本病が伝播・拡大することが明らかになった。

ワクチン普及に伴うブリ養殖の再興疾病対策に関する研究 大分県海洋水産研究センター

ブリ類養殖において発生が増加している抗酸菌症 (ノカルジア症、ミコバクテリア症) と細菌性溶血性黄疸の原因細菌のPCR法を用いた検出、ならびに抗酸菌症原因細菌の薬剤感受性の簡易測定法について検討を行った。抗酸菌培養菌体および細菌性溶血性黄疸病魚血液については加熱抽出試料で、ノカルジア症病魚組織についてはISOPLANT抽出試料を用いて、PCR法により原因細菌の遺伝子を検出することができた。PCR法は分離菌の同定や病魚の診断における補助検査として有用であると思われる。また、Middlebrook 7H11 Agarを用いたディスク法で、抗酸菌の薬剤感受性の簡易測定が可能であることが確認された。

養殖ブリにおけるワクチンの効果を抑制する要因に関する研究 大分県海洋水産研究センター

ワクチンの有効な利用方法を普及することを目的に、その効果を抑制する要因について飼料のタンパク質品質の影響について検討した。

ヒスタミン (Hm) 量が500, 2500および5000ppmの魚粉を用いたEP飼料、Hm量100および4000ppmの魚粉を用いたSMP飼料を作製しブリ当歳魚の飼育を行い、飼育魚にイリドおよびレンサワクチンを接種しその効果に及ぼす飼料Hmの影響を自然発病および人為感染から検討した。その結果、レンサ経口ワクチン投与群において、無接種群の生残率が30~40%であったのに対して、Hm100ppm飼料のそれは有意 ($P < 0.05$) に高い85%で明らかなワクチン効果が認められたが、Hm4000ppm飼料の生残率は60%で無接種群のそれと有意な違いが認められなかった。

以上のことから、タンパク質の鮮度品質の低下した飼料がワクチンの効果を抑制する可能性があることが解った。

種々の魚病の伝播等のシミュレーションモデル構築に関する研究 東京水産大学

養殖魚の流通や海外からの輸入により伝染病が流行する危険性がある。そこで、養殖魚の移動と防疫対策の効果を評価するための基礎的なシミュレーションモデルを作成し、伝播の予測とリスク評価を行った。養殖場が1次元に配置される場合を想定し、養殖場内と養殖場間を組み合わせた伝染病の伝播過程を再現した。各養殖場内においては基礎的な伝播モデルから推定した感染と本事業で実施してきた水槽内の感染実験で得られた結果を用いて再現した。養殖場間については、3つの種苗移動 (流通) パターンを設定し、それぞれ移動パターンに対してさらに3つの防疫対策を設定して、その伝播過程をシミュレーションした。次に、感染割合に不確実性を与えたモデルを作成し、モンテカルロシミュレーションにより感染リスク確率分布を推定した。伝播シミュレーションの結果では、養殖用の種苗を無作為に他の養殖場から入手する場合は入手先が固定され方向性のある場合と比較してリスクは高くなったが、感染が回避される養殖場が見られた。防疫対策の効果については、種苗の移動に方向性がある場合の方が有効であった。またリスク確率分布の推定結果では、方向性のある移動は任意な種苗の移動と比較して全体的な感染リスクが高くなる傾向が見られた。本事業において養殖場での伝染病のリスク評価について基礎的な方法論について開発することが出来た。今後、各魚種の種苗移動状況および実際の感染事例に当てはめることにより魚病の流行予測およびリスク評価が可能になるとと思われる。