

学位論文題名

養殖サケ科魚類の伝染性造血器壊死症（IHN）

防疫技術開発に関する研究

学位論文内容の要旨

サケ科魚類の伝染性造血器壊死症（Infectious Hematopoietic Necrosis; IHN）はサケ科魚類の稚魚期に大きな被害をおよぼす疾病で、世界的に問題となり、その対策が検討されている。長野県では 1974 年に初めて、養殖ニジマスに確認され、翌年には県内の飼育稚魚の 42% が被害を受けた。長野県はニジマスの種苗供給地として、対全国比で発眼卵は約 30%、稚魚は 25% を生産しており、本県産に依存していた県外養魚者にも打撃を与えた。種苗の不足分は来歴不明の県外産に頼らざるを得ず、導入に伴い、BKD など県内未発生魚病の侵入も懸念され、IHN の対策と同時に種苗の安定供給が緊急の課題となった。本研究では IHN の防疫技術として、ウイルスの動向を調査するとともに、発眼卵、器具類の消毒方法、飼育環境の改善および紫外線殺菌技術の開発を行い、養殖現場で必要な防疫対策を示し、さらに、将来の新たな疾病の侵入に備えるためのリスク評価法の基礎としてのシミュレーションモデルの構築を試みた。

第一章では長野県に発病した IHN の概要を知るため、疫学調査による伝染経路の推定と防疫対策の検討、21 年間の発病事例の解析と症状の出現頻度からの推定診断の可能性を検討した。疫学調査により初発生後 3 年間で県内の主要養鱒地区で発病が確認された。伝播の要因として感染源・経路対策の不備が指摘され、対策として「発眼卵の PVP ヨード消毒、IHNV 非汚染水でのふ化飼育、専任者による管理」の実施により発病の抑止が可能であった。IHN による死亡率は、ふ化仔魚 1g で 77.2%、1~2g では 39.1%、2g 以上では 36.8% となり小型魚ほど高くなった。当初、発病時期は種苗生産期の 11~2 月であったが、種苗の周年生産が進み、さらに大型魚の発病も見られ、周年観察されるようになった。養殖現場では迅速診断が求められることから、248 症例の症状を分類し、2g 未満魚では鰓の褪色、筋肉の線状出欠および V 字状出血が、2g 以上では鰓の褪色、筋肉の

線状出血および肝臓・腎臓の褪色が特徴的で、これらから推定診断が可能と考えられた。

第二章では IHN の発病と環境要因について検討した。発病時の水温は 4~20°C の範囲であり、10°C 以上 14°C 未満が 75.6% を占めた。また 7~14°C の範囲では水温と死亡率の間に相関は認められなかった。次に年間約 100t を生産する中規模養魚場の 1 年間の魚病発生状況、飼育管理状況を調査し IHN に関して次の結果を得た。稚魚期に IHN を耐過した 20~100g の養成魚に IHN は 4 回、異なる群で発病した。発病前にはビブリオ病または鰓病に罹病していた。また、サルファ剤投与後に顕著に現れた事例もあった。この養魚場の水系は周年にわたり IHNV 汚染と高密度飼育が常態化しており、ビブリオ病の発病中でも選別作業が実施されるなど飼育環境は悪く、これらにより大型魚でも IHN が惹起されるものと考えられた。導入した種苗はいずれも稚魚期に IHN が発病し、死亡率は 10~30% であった。餌付け時のニジマスの密度を変えて IHNV 汚染水で飼育したところ、全試験区で IHN と細菌性鰓病が発病したが、高密度区ほど歩留りが低下し、成長が劣った。

第三章では IHNV の動向に関する調査を行った。ニジマスの卵から稚魚までの各発生段階で IHNV の感染操作を行った。未受精卵、受精卵、発眼卵およびウイルス添加精液での受精卵からはウイルスは分離されず、餌付け 1 ヶ月まで発病は見られなかった。稚魚は $10^{2.3}$ TCID₅₀/ml 以上のウイルス量で発病し、ウイルス量が多くなるほど発病までの日数が短く、日間死亡率は高くなる傾向がみられた。また、IHNV 汚染水と非汚染水を用いて発眼卵のふ化飼育を行ったところ、14 事例すべて汚染水では稚魚期に発病し、非汚染水では発病しなかった。

稚魚期に IHN を耐過したニジマス 0、1、2 年及び親魚のウイルス保有状況を調査したところ、ウイルスが分離されたのは耐過直後(終息期)の稚魚と産卵期の親魚だけであった。検出率は雌親魚群の体腔液から 3~10%、雄親魚群の精液からは 0~11.1% であった。また、IHNV が分離された親魚から得られた卵およびふ化仔魚からウイルスは検出されず、ふ化後 3 ヶ月間の飼育中に IHN の発病は観察されなかった。

一連の実験により、卵がウイルスに汚染されても汚染は卵表面に限られ、たとえ卵内に侵入しても、失活するか、発病させる力はないものと推定された。一方、卵表面のウイルスは周囲を汚染し、これが発病に重要な役割を果たすものと考えられた。

第四章では防疫対策に必要な IHNV の性質や消毒薬等の使用方法

に関する検討を行った。各種環境条件下で IHNV の生存性は、高圧蒸気滅菌水中で 15 週間、乾燥状態では 6 週間活性を保ったが、晴天の太陽光下に置かれた乾燥状態のウイルスは 40 分間で、さらに加熱下では 60°C 1 分間で失活した。消毒薬の IHNV 不活化効果を検討したところ、塩化ベンザルコニウム 250 ppm 30 秒、クレゾール石けん液 250 ppm 30 秒、PVP ヨード剤 50 ppm 30 秒、次亜塩素酸ソーダ 50 ppm 1 分間の作用で不活化した。これら消毒剤は有機物の存在下で効果は低下した。次に PVP ヨード剤の卵消毒剤としての利用を検討した。ニジマス卵に対する影響では、発眼卵は 100 ppm 30 分および 50 ppm 15 分共に 2 回の反復使用でもふ化率への影響はなかったが、未受精卵では 50 ppm 15 分の処理で発眼率の低下が認められた。また IHNV を感染操作したこれらの卵は、PVP ヨード剤 50 ppm 15 分の消毒によりウイルスは検出されなくなり、消毒効果が確認された。IHNV 不活化に必要な UV 照射量は $10^3 \mu\text{w}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ であった。外照式 15 W UV 殺菌灯 1 灯で毎秒 1L の用水中の IHNV を不活化することができた。

第五章ではこれまでに得られた成果を、事業規模で応用した防疫事例の有効性を示し、さらに将来、新しいウイルスが侵入した時のリスク評価を行うために、IHNV を用いたシミュレーションを実施した。長野水試内に毎秒 30L の用水を処理する外照式 UV 照射装置を設置したところ、養魚場排水が流入する用水でも IHN、ビブリオ病、せつそう病の発病を抑えることが可能となった。また、一般飼育池と隔離した種苗生産施設では、発眼卵のヨード剤消毒など衛生管理を徹底したところ、IHN 等の疾病をほぼ抑え、発病しても隣接池への伝染を防止することができた。次に、民間のアマゴ生産施設では施設全体を防疫対象とし、現在まで、IHN のほか BKD、せつそう病など魚病の侵入をほぼ完全に防いでいる。ニジマス種苗生産施設では、卵から 5g までの稚魚生産を対象とし、隣接池への伝染を防ぐことが可能となり、歩留りが向上した。リスク評価では延べ 52 回の IHN の同居感染実験を行ったところ、SIR モデルと適合する事例は 3 例と少なく、実験水槽内の流行、伝播にも SIR モデルで仮定される以外の要因が存在することが明らかとなり、防疫体制整備の必要性が示唆された。

現在、サケ科魚類の養殖では、IHN を防ぎ安定した種苗生産を行うことが重要な課題である。本研究の結果を現場へ応用し、その成果として、種苗の安定生産が可能となっているが、そのために遵守すべき事項は以下のとおりである。

- 1 発眼卵は PVP ヨード剤で消毒する。

- 2 ふ化用水は IHNV 非汚染水を用い、用水の再使用をしない。
- 3 ふ化飼育管理者は専任とし、成魚・親魚の管理を同時に行わない。
- 4 日常の管理に使用する器具・機材は作業ごとに消毒して用いる。
- 5 IHNV を媒介する恐れのある鳥獣の侵入を防止する。
- 6 飼育環境を良好に保ち、魚に与えるストレスを少なくする。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 吉 水 守
副 査 教 授 田 島 研 一
副 査 助 教 授 澤 辺 智 雄

学 位 論 文 題 名

養殖サケ科魚類の伝染性造血器壊死症 (IHN)

防疫技術開発に関する研究

サケ科魚類の伝染性造血器壊死症 (Infectious Hematopoietic Necrosis; IHN) はサケ科魚類の稚魚期に大きな被害をおよぼす疾病として世界的に問題となっている。本研究では IHN ウイルスの疫学調査を行うと共に、発眼卵および器具・機材の消毒方法、飼育環境の改善および飼育用水の殺菌技法の開発を行い、養殖現場で必要な防疫対策を検討した。

第一章では疫学調査による IHN の伝染経路の推定と防疫対策の検討を行った。初発生後 3 年間で長野県内の主要養鱒地区で発病が確認され、伝播の要因として種卵および飼育用水が考えられた。発眼卵の PVP ヨード消毒、紫外線殺菌用水でのふ化飼育および専任者による管理の実施により発病の抑止が可能となった。IHN による死亡率は、ふ化仔魚~1g が最も高く 77.2%であった。当初発病時期は種苗生産期の 11~2 月であったが、種苗の周年生産が進み、さらに大型魚の発病も見られ、周年観察されるようになった。248 症例の症状から 2g 未満魚では鰓の褪色および筋肉の線状・V 字状出血が特徴的であり、これらから推定診断が可能となった。

第二章では IHN の発病と環境要因について検討した。発病時の水温は 4~20°C、10°C以上 14°C未満が 75.6%を占めた。またこの範囲では水温と死亡率の間に相関は見られなかった。代表的な養魚場の 1 年間の魚病発生状況を調査したところ、稚魚期に IHN を耐過した養成魚にも IHN が発病した。当養魚場の水系は周年にわたり IHNV に汚染され、高密度飼育が常態化し、ビブリオ病の発病中でも選別作業が実施されるなど飼育環境が悪く、これらにより大型魚でも

IHN が惹起されるようになったものと考えられた。餌付け時のニジマスの密度を変え、IHNV 汚染水で飼育したところ、IHN と細菌性鰓病が発病し、高密度区ほど歩留りが低く成長も劣っていた。

第三章では IHNV の動向に関する調査を行った。ニジマスの卵から稚魚までの各発生段階において IHNV の感染試験を行ったが、いずれの群からも IHNV は検出されず、発病も認められなかった。稚魚は $10^{2.3}$ TCID₅₀/ml 以上のウイルス量で発病し、ウイルス量が多くなるほど発病までの日数が短く、日間死亡率が高くなる傾向がみられた。IHNV 汚染水と非汚染水を用いて発眼卵のふ化飼育を行ったところ、汚染水では 14 事例すべての稚魚が発病し、非汚染水では発病は見られなかった。稚魚期に IHN を耐過したニジマスのウイルス保有状況調査では、IHNV が分離されたのは感染耐過直後の稚魚と産卵期の親魚のみであった。検出率は体腔液で 3~10%、精液では 0~11.1%であった。これらの試験から、卵がウイルスに汚染されても汚染は卵表面に限られ、たとえ IHNV が卵内に侵入しても失活するか発病させる力はないものと推定された。

第四章では防疫対策に必要な IHNV の性質や消毒薬等の使用方法に関する検討を行った。各種環境条件下での IHNV の生存性は、滅菌水中で 15 週間、乾燥状態で 6 週間、晴天の太陽光下・乾燥状態で 40 分間、60℃加熱下では 1 分間で失活した。消毒薬の IHNV 不活化効果は塩化ベンザルコニウム 250 ppm・30 秒、クレゾール石けん 250 ppm・30 秒、PVP ヨード剤 50 ppm・30 秒、次亜塩素酸ソーダ 50 ppm・1 分間の感作で不活化された。ニジマスの発眼卵では PVP ヨード剤 100 ppm・30 分および 50 ppm・15 分 2 回の反復でもふ化率への影響は認められず、50 ppm・15 分間の消毒により IHNV 汚染卵からもウイルスは分離されなくなり、消毒効果が確認された。IHNV を不活化するに必要な UV 照射量は $10^3 \mu w \cdot sec/cm^2$ であり、外照式 15 wUV 殺菌灯 1 灯で毎秒 1L の用水中の IHNV が不活化された。

第五章ではこれまでに得られた成果を事業規模で検証し、将来新しいウイルスが侵入した際のリスク評価を行うために、IHNV の感染モデルの検討を行った。水試構内に設置した毎秒 30L の用水を処理する外照式 UV 照射装置は、養魚場排水が流入する用水でも IHN、ビブリオ病、せつそう病の発病を抑えることができた。また一般飼育池と隔離した種苗生産施設では、発眼卵のヨード剤消毒など衛生管理の徹底により、IHN 等の疾病をほぼ抑え、発病しても隣接池への伝染を防止できるようになった。民間のアマゴ生産施設では施設全体を防疫対象とし、これまで IHN のほか BKD、せつそう病など

魚病の侵入をほぼ完全に防止している。感染モデルの構築では延べ52回のIHNの同居感染実験を行ったところ、SIRモデルと適合する事例は3例と少なかったが、潜伏期間を考慮するとSIRモデルに合致した。

本研究の成果から得られた養殖現場で遵守すべき防疫対策項目として以下の6項目が上げられる。1. 発眼卵をPVPヨード剤で消毒する。2. ふ化飼育用水はIHNV非汚染水あるいは紫外線殺菌水を用いる。3. ふ化飼育管理者は専任とし親魚の管理を同時に行わない。4. 日常の管理に使用する器具・機材は作業ごとに消毒して用いる。5. HNVを媒介する恐れのある鳥獣の侵入を防止する。6. 飼育環境を良好に保ち魚に与えるストレスを少なくする。