

# 魚 病 關 係

# ゲノム解析による養殖魚の感染性疾病预防システムの開発

(農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業)

原川 翔伍\*・川上 秀昌

## 目 的

マダイのエドワジエラ症をモデル疾病として、病原体の動態情報を活用した本疾病に有効な対処法について検討するため、宇和海中部海域の環境水中における病原体の動態および感染魚体内の生理的变化について知見を収集する。また、臨床症状が再現できる実験感染方法を確立し、マダイのエドワジエラ症に対しての早期治療法の検討を行う。

なお、本事業は農林水産省農林水産技術会議委託の平成29年度農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業(発展融合ステージ;重要施策対応型)の「ICTを利用した養殖魚の感染性疾病预防システム構築のための基盤研究(課題番号27016B)」の「2. 感染リスク解析」により実施した。

## 研究成果の概要

### 1 養魚疾病解析

宇和海の中部海域のマダイ養殖場で海水中の*E.tarda* 遺伝子の検出を実施した。養殖場でのエドワジエラ症の流行期間は8~12月であったが、海水中の*E.tarda* 遺伝子は流行前の7月から検出され、流行予測が可能となった。また、宇和海の異なる養殖場でもエドワジエラ症発生前から遺伝子が検出され、本手法は他漁場でも応用可能であることが示された。

本研究の流行予測手法を用い、海水中からの単離培養が困難な*E.tarda*の動態の把握が可能となる。海水

中の*E.tarda*遺伝子が $10^3$ コピー/μL以上検出されると4~8週間以内にエドワジエラ症の流行期となることから(図1)、本症の発生をより早く生産現場に注意喚起を行うことが可能となる。

次に、*E.tarda*感染初期に肝臓中のHepcidin1の発現量が増加することを明らかにした。すなわち、*E.tarda*の同居感染を行い、肝臓、腎臓および脾臓中の発現遺伝子を比較した。感染後、各組織で鉄イオンの吸収調節や病原菌の増殖抑制に関わるHepcidin1の発現が速やかに増加し、肝臓中でより顕著に増加した。排水感染後、肝臓中のHepcidin1の発現量は、魚体臓器中から*E.tarda*遺伝子が検出される以前から増加し、*E.tarda*感染初期の指標として活用可能であることが明らかとなった(図2)。

しかし、Hepcidin1の発現量は他の疾病や水温変動などのストレスにより変動することが考えられるため、図3のように複数の指標を組み合わせるなど、今後さらに検証を重ねる必要がある。

### 2 リスク評価・蔓延防止対策検討

人為感染法の確立では、浸漬感染法では攻撃1日後から死亡が認められ、感染後に急激な感染が生じ、自然感染との死亡状況とは異なった。一方、同居感染では攻撃6日後、排水感染では5~6日後に死亡が発生し自然感染の状況と類似し、感染魚は腹水の貯留や腎臓の腫れ・膿瘍など養殖現場の自然感染と同様の症状を示した(図4)ことから、この2手法が早期治療法の検討

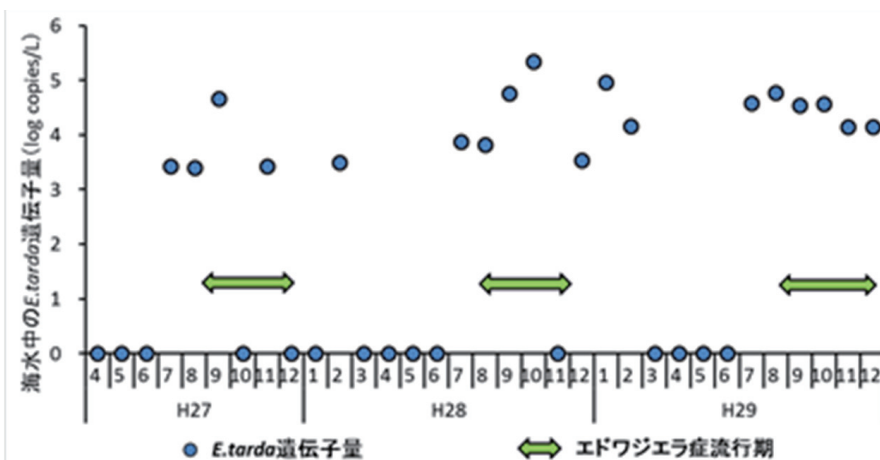


図1 海水中の*E.tarda*遺伝子量とエドワジエラ症の流行期

\* 現 農林水産部水産局漁政課

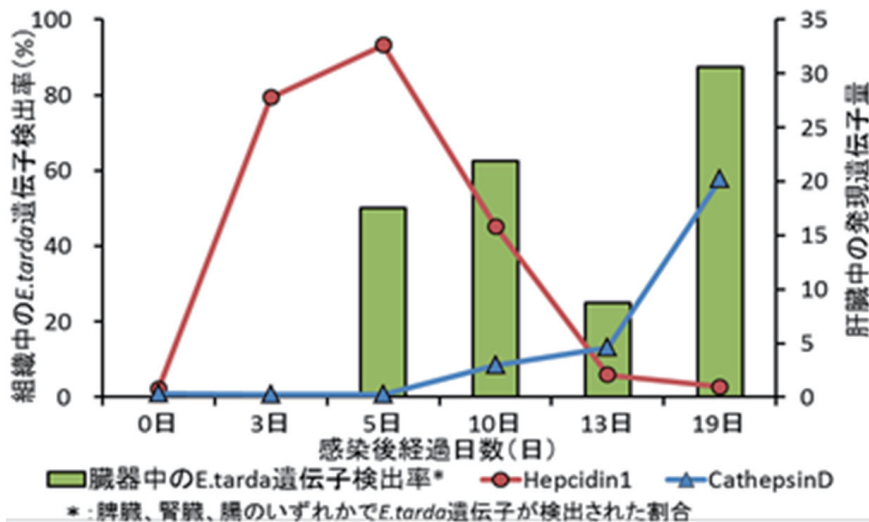


図2 排水感染マダイの組織中のE.tarda遺伝子検出率と肝臓中のHepcidin1およびCathePsinDの発現遺伝子量

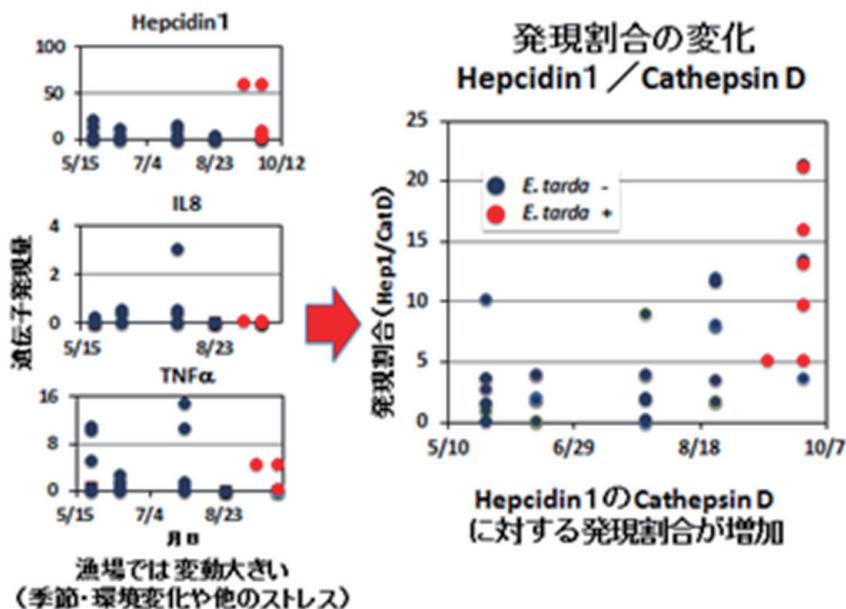


図3 複数の発現遺伝子を用いた感染指標の例

に有用であることが判明した。また、自然感染に近い排水感染では、魚が死亡し始める前に腎臓、脾臓および腸からE.tarda遺伝子を検出することが可能であった。(図5)。これらのことから、排水感染法を用いてエドワジエラ症の早期治療法の検討を実施した結果、無投薬区、死亡率10%の時点で投薬する区、臓器から遺伝子が検出された時点で投薬する区の累積死亡率は、それぞれ35.0%、15.0%、4.0%であり、試験終了時のE.tarda保菌率はそれぞれ90.5%、29.4%、13.0%であった(図6、7)。以上のことから、魚体からE.tarda遺

伝子が検出された時点でのFOM早期投薬により高い治療効果が得られることが明らかとなった。

したがって、養殖場でのマダイのエドワジエラ症の蔓延を防止するためには、同居感染および排水感染によりE.tardaの感染が起こり発症することから、死亡魚が新たな感染源となることが示され、生簀内のエドワジエラ症死亡魚を速やかに取り除くことが重要である。また、腎臓、腸などからE.tarda遺伝子の検出を行い、早期に投薬することで本症の被害拡大を抑えることが可能となると考えられた。

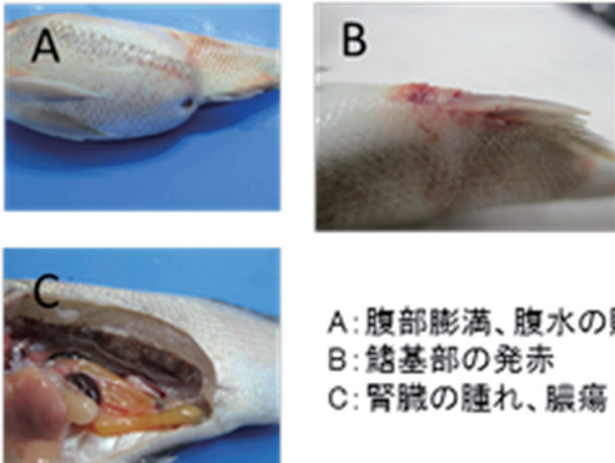


図4 同居感染および排水感染における死亡魚の症状

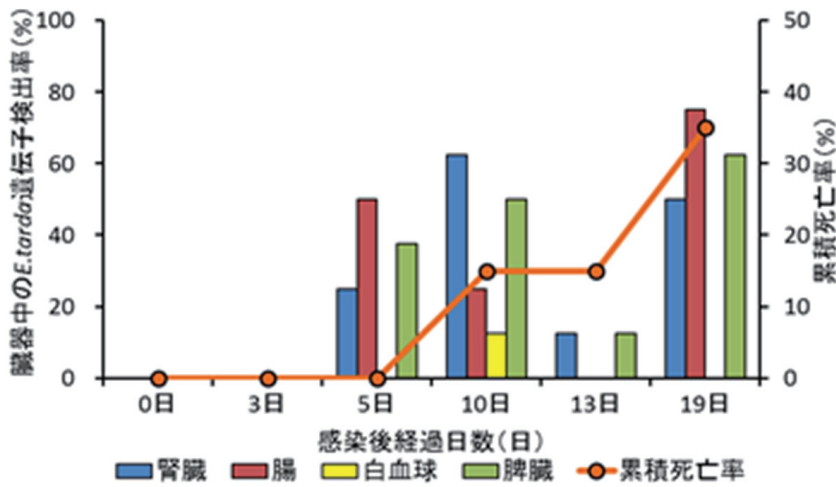


図5 排水感染マダイの臓器中の *E. tarda* 遺伝子検出率と累積死亡率

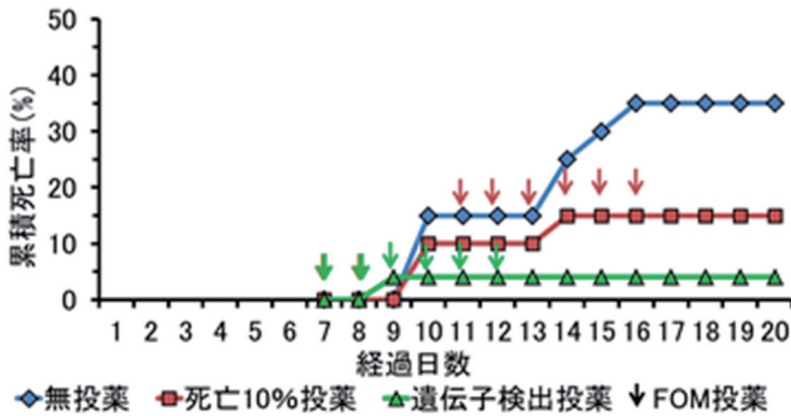


図6 排水感染マダイに対する投薬タイミングと累積死亡率

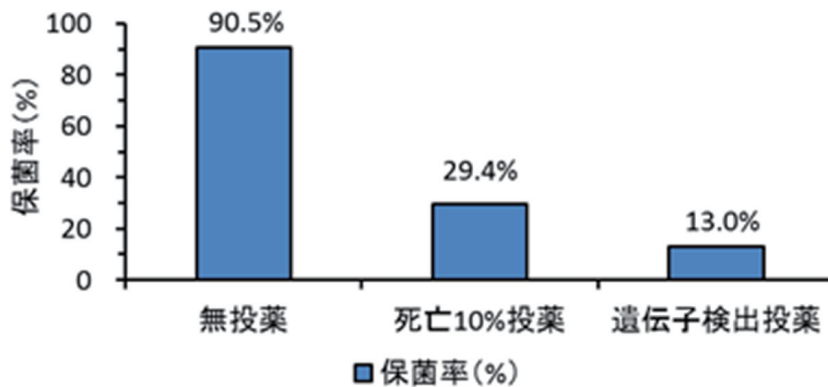


図7 排水感染試験終了時の保菌率

# ICT技術を利用した赤潮・魚病対策技術の開発

(戦略的情報通信研究開発推進事業(SCOPE)地域ICT振興型研究開発)

川上 秀昌・原川 翔伍\*

## 目 的

養殖現場において多発する赤潮と魚病は、計画的な養殖生産を妨げる重要かつ最大の要因である。そこで、ICTを利用して生産者へ注意報や警報として情報発信するとともに、生産者・愛媛大学や愛媛県水産研究センターなどの研究機関・宇和海周辺の自治体が連携した双方向の水産コミュニケーションシステムを構築し、赤潮・魚病被害の予防および早期対策につなげることを目的とし、本事業のうち魚病対策技術の開発について検討した。なお、本事業は総務省の戦略的情報通信研究開発推進事業(SCOPE)地域ICT振興型研究開発の「養殖現場と連携した双方向『水産情報コミュニケーションシステム』による赤潮・魚病対策技術の開発の研究開発(152309003)」により実施した。

## 研究成果の概要

### 1 魚病病原体の科学的情報の取得

平成29年度は、平成28年度に海水からの検出に問題があったマダイ心臓ヘネガヤ症、パスツレラ症およびマダイイリドウイルス病の病原体遺伝子の検出法について検討を行った。平成28年度のヘネガヤ症原因虫遺伝子を検出は、ポアサイズ0.45 $\mu$ mおよび5 $\mu$ mのフィルターで海水をろ過濃縮し、qPCR法を行い原因虫遺伝子の検出を行ったが、ヘネガヤ症原因虫遺伝子は検出できなかった。

そこで、平成29年度は、海水濃縮フィルターポアサイズを1 $\mu$ m、5 $\mu$ m、10 $\mu$ m、20 $\mu$ m、40 $\mu$ m、60 $\mu$ mおよび80 $\mu$ mのフィルターポアサイズを用い検討した結果80 $\mu$ m、10 $\mu$ mおよび20 $\mu$ mサイズのフィルターで検出率が高くなった(表1)。したがって、海水中からのヘネガヤ症原因虫遺伝子は、採取した海水をまず80 $\mu$ mのサイズでろ過し、その後10 $\mu$ mおよび20 $\mu$ mサイズのフィルターでろ過濃縮を行う方法で、ヘネガ

ヤ症原因虫の科学的情報の取得は可能となった。

宇和島湾における*H.pagri* 遺伝子の検出状況を図1に示した。海水からの*H.pagri* 遺伝子は4月～翌年1月に検出され、本症は5月～11月に診断例があった。遺伝子の検出状況から、*H.pagri* 遺伝子はほぼ周年海水中に存在していると推察された。

パスツレラ症の原因細菌(*Photobacterium damsela* subsp.*piscicida*)は、*Ph.damsela* subsp.*damsela*の亜種であり、データベース上で解析を行った結果、この2種については遺伝子配列の差が、ほとんどなく両種を区別するプライマーの設計はできなかった。なお、両種は、ブリ、カンパチ、マダイ、ヒラメ等に病原性を示すことが知られているため、開発した検出系での科学的情報の取得は意義がある。29年度の宇和島湾における両病原体遺伝子の検出状況を図2に示した。昨年と同様に病原体遺伝子は周年検出され、105～107copy/Lと高い値が検出された。しかし、両病原体を原因とする疾病の診断例はなかった。

マダイイリドウイルス病原因遺伝子の検出については、平成28年度は海水に塩化第3鉄を添加しウイルスを凝集させ遠心法で回収する方法で行ったが、マダイイリドウイルス病原因遺伝子を検出することができなかった。

そこで、平成29年度は採取した海水に昨年と同様に塩化第3鉄を1mg/Lとなるように添加し、スタラーを用いて1時間攪拌した後、ポアサイズ0.8 $\mu$ mのフィルターでウイルス凝集塊を回収して、核酸抽出を行う方法を用い、海水中からマダイイリドウイルス病遺伝子の検出を行った。海水の採取は4月～翌年2月まで行い、宇和島湾でのマダイイリドウイルス病は7月～9月に発生し、海水中からの病原体遺伝子の検出は、8月に1.8 $\times$ 10<sup>3</sup>copy/Lが検出された。マダイイリドウイルス病は、5～10月に0才魚に感染する疾病である。今回、

表1 フィルターサイズ別の*H. pagri* 遺伝子の検出

	フィルターポアサイズ( $\mu$ m)						
	1	5	10	20	40	60	80
検出回数	52	37	38	23	18	16	18
検出数	2	1	13	6	1	0	5
検出率(%)	3.8	2.7	34.2	26.1	5.6	0.0	27.8

\* 現 農林水産部水産局漁政課

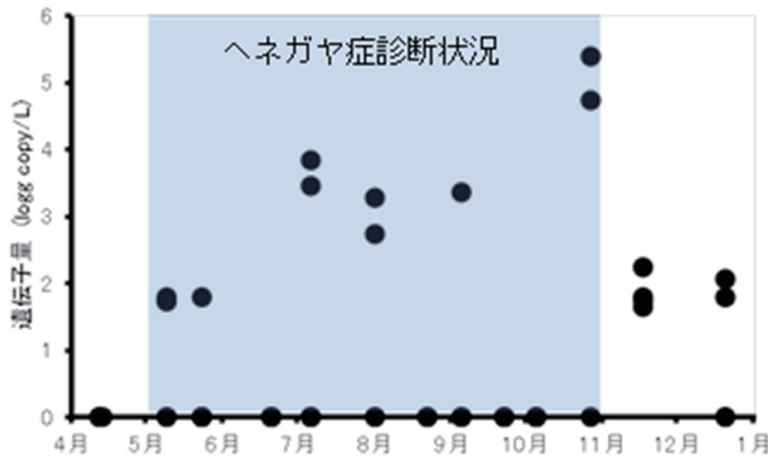


図1 宇和島湾における*H. pagri* 遺伝子の季節変動

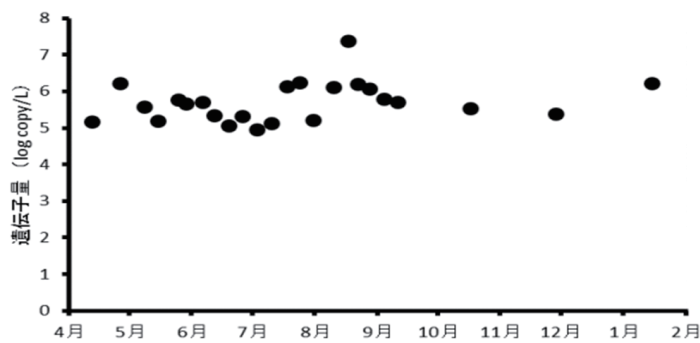


図2 宇和島湾における*Ph. damsela subsp. Piscicida* および*Ph. damsela subsp. damsela* 遺伝子の季節変動

海水を採取した場所は、1才以上のマダイが養殖されている漁場で行ったことから検出率が低くなったと考えられた。したがって、マダイイリドウイルス病原体遺伝子の科学的情報の取得は、5～10月に0才魚の漁場で採水することが必要である。

平成28年度、29年度において*Edwardsiella tarda* (エドワジエラ症)、*Nocardia seriolae* (ノカルジア症)、*Photobacterium damsela subsp. Piscicida* (パスツレラ感染症)、*Cryptocaryon irritans* (白点病)、*Henneguya pagri* (心臓ヘネガヤ症)、Red sea bream iridovirus (RSIV) (イリドウイルス病)について科学的情報の取得するために、リアルタイムPCR法(qPCR法)を用いて海水中からこれら病原体遺伝子の検出を行った結果、全ての病原体について検出可能であった。今後、特に、疾病の発生と海水中の検出遺伝子量に関連性が見られたエドワジエラ症については、宇和海海況情報サービス (<http://akashio.jp/>) で情報発信方法の検討を行う必要がある。

## 2 魚病情報に関する双方向通信システムの開発

養殖現場から魚病に関する現場情報の取得を目的として、マダイ1才魚の養殖生け簀に水中ドローンを用いて観察した。平成28年度の水の中カメラ観察より明瞭にマダイの遊泳状況、瀕死魚や死亡魚の状況が観察された。マダイのエドワジエラ症は、頭部の潰瘍、腹部の膨満、体表のスレが特徴的の症状である。本年度のドローンによる観察では、このよう症状を示すマダイが見られ、本症による死亡も発生した。このように特徴的な外観症状を示す疾病に対して水中ドローンによる観察が有用であることが明らかとなった。また、海中での観察は、海上からの観察に比べ摂餌状況、痩せた個体の発見など多くの情報が得られ飼育管理に役立つと考えられた。さらに、現場情報取得支援システムのメニュー項目に水中ドローン情報を追加することにより迅速な魚病の診断が可能となり、魚病の早期発見につながると思われた。

# ブリのべこ病感染防除技術開発研究

## (水産防疫対策事業)

原川 翔伍\*・川上 秀昌

### 目 的

近年、微孢子虫 *Microsporidium seriolae* を原因とするブリ類のべこ病が西日本のブリ類養殖場で発生し問題となっており、本症に対する治療対策の開発が望まれている。これまでの研究で、シスト形成前の感染魚にフェバンテル (FBT) を投与することにより、本症の治療が可能であることが明らかになった。本事業では、陸上飼育施設および海面生簀でべこ病の治療試験を実施し、FBTの効果的な投薬方法の検討を行った。

なお、本事業は、公益社団法人日本水産資源保護協会委託の水産防疫対策事業(水産動物疾病の診断・予防・まん延防止に係る技術開発等)の「ブリ類の難治癒疾病の防除技術の開発」により実施した。

### 方 法

#### 1 ベこ病感染方法

##### (1) 試験1：屋内治療試験

当センターで生産された平均体重177.4gのブリ人工種苗250尾を8月9日に海面生簀(3m×3m×3m)に沖出した。定期的に10～15尾ずつ採材し、目視による筋肉中のシストの確認および筋肉中の *M.seriolae* 遺伝子を米加田らの方法を用いリアルタイムPCR(qPCR)により定量した。治療試験開始時の遺伝子検出率は40%、シスト形成率は6.7%であった。なお、試験期間中の水温は23.7～25.8℃で推移した。

##### (2) 試験2：野外治療試験

試験1と同ロットの種苗(平均体重200.5g)180尾を11月1日に海面生簀に沖出しし、試験1と同様に感染魚

を作出し投薬試験に供した。治療試験開始時の遺伝子検出率は20%、シスト形成率は0%であった。なお、試験期間中の水温は12.4～21.9℃で推移した。

#### 2 試験区の設定

##### (1) 試験1：屋内治療試験

陸上飼育施設へ移したブリを400L角型水槽に30尾ずつ収容した。魚体重の2%の量の市販飼料にFBTを15mg/kg/日になるように調整し、3日、5日、10日および20日間連続投与する区を設けた(表1)。対照区は薬剤無添加の飼料を給餌した。なお、試験期間は30日間とした。

##### (2) 試験2：野外治療試験

べこ病の感染を確認した後、海面生簀(3m×3m×3m)に各区45尾ずつ収容した。FBTの投与量を10mg/kg/日とし、投薬期間は、5日間連続投与区(10F)および5日間連続投与5日間休薬を繰り返す区(10F間欠)を設定した(表2)。対照区には薬剤無添加の飼料を給餌し、試験期間は36日間とした。

#### 3 FBTの治療効果判定

試験1の効果判定は、試験終了後全ての試験魚の筋肉半身中のシストの形成状況を目視により確認し、うち無作為に10～11尾を選定して筋肉中の *M.seriolae* 遺伝子をqPCRにより定量した。

試験2の効果判定は、FBT投薬後26日目および36日目に各試験区から10尾採材した。試験1と同様にシストの確認および筋肉中の *M.seriolae* 遺伝子の定量を行った。

表1 屋内治療試験の試験条件

	対照区	F3	F5	F10	F20
薬剤濃度 (mg/kg/日)	0	15	15	15	15
連続投薬日数	0日	3日	5日	10日	20日
供試魚	ブリ人工種苗 (愛媛県水産研究センター生産)				
供試尾数	30尾				
平均体重	117.4 g				
収容水槽	400L角型水槽				
試験開始時の <i>M.seriolae</i> 遺伝子検出率 (%)	40%				
試験開始時のシスト形成率 (%)	6.7%				
水温	23.7～25.8℃				

\* 現 農林水産部水産局漁政課

表2 野外治療試験の試験条件

	対照区	10F間	10F
薬剤濃度 (mg/kg/日)	0	10	10
連続投薬日数	0日	5日投薬 5日休薬	5日
総投薬日数	0日	20日	5日
供試魚	ブリ人工種苗(愛媛県水産研究センター生産)		
供試尾数	45尾		
平均体重	200.5g		
収容生簀サイズ	3m×3m×3m		
試験開始時の <i>M.seriolae</i> 遺伝子検出率(%)	20%		
試験開始時のシスト形成率(%)	0%		
水温(°C)	12.4~21.9		

結 果

1 試験1：屋内治療試験

FBT投与後のシスト形成率は、3日および5日投与区で6.7% (30尾中2尾)、10日および20日投与区は0%であった。対照区におけるシスト形成率は100%であった。いずれの投薬区も対照区と比べシスト形成率は有意に低かった(p<0.01)。また、平均シスト数もいずれの投薬区も対照区と比べ有意に低くなった(p<0.01) (表3)。シストの形成状況を図1に示した。

FBT投与後の筋肉中の*M.seriolae* 遺伝子検出率は3日投与区では72.7%であったが、5日以上投薬した区ではいずれも20%以下となり、対照区(100%)と比べ

有意に低かった(p<0.01)。平均遺伝子量もいずれの投薬区も対照区と比べ有意(p<0.01)に低くなった(表3)。

FBTを20日間連続投与した区では、他の試験区と比べて顕著な体色黒化が確認された(図2)。

2 試験2：野外治療試験

FBT投与後26日目および36日目の10Fおよび10F間欠のシスト形成率および*M.seriolae* 遺伝子量は対照区と比較して有意(p<0.01)に低くなった。(表4)。しかし、FBT投与後36日における10Fの*M.seriolae* 遺伝子検出率、遺伝子量ともに10F間欠と比較して高くなる傾向を示した。

表3 屋内治療試験におけるFBT投与結果

	対照区	3日	5日	10日	20日
シスト形成率 (%)	100	6.7*	6.7*	0*	0*
平均シスト数 (個)	17.6	0.1*	0.1*	0*	0*
遺伝子検出率 (%)	100	72.7	18.2*	10.0*	20.0*
平均遺伝子量 (copies/mg)	1.0×10 <sup>7</sup>	7.4×10 <sup>4**</sup>	1.4×10 <sup>3**</sup>	7.9×10 <sup>1**</sup>	3.0×10 <sup>1**</sup>

検定：シスト数および遺伝子量；Mann-whitney U Test

シスト形成率および遺伝子検出率；Fisher's exact test

※ 対照区との有意差 (p<0.01)

表4 野外治療試験におけるFBT投与結果

	投与後	対照区	10F間欠	10F
シスト形成率 (%)	26日目	100	30**	30**
	36日目	100	0**	0**
平均シスト数	26日目	28.0	0.4**	0.3**
	36日目	16.1	0**	0**
遺伝子検出率 (%)	26日目	100	40*	30**
	36日目	100	30**	70
平均遺伝子量 (copies/mg)	26日目	2.1×10 <sup>8**</sup>	1.1×10 <sup>2**</sup>	4.0×10 <sup>2**</sup>
	36日目	1.0×10 <sup>8**</sup>	2.2×10 <sup>1**</sup>	7.8×10 <sup>3**</sup>

検定：シスト数、遺伝子量；Mann-Whitney U test

シスト形成率、遺伝子検出率；Fisher's exact test

\*；p<0.05、\*\*；p<0.01





図1 FBT投薬後のシスト形成状況  
A：FBT投与魚、B：無投薬魚

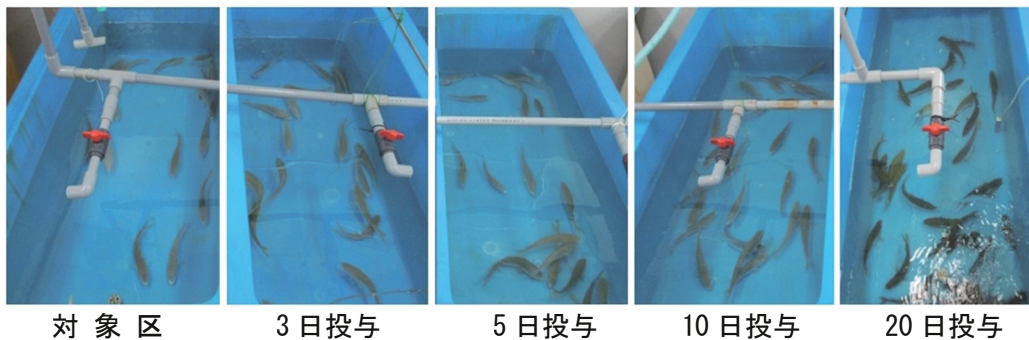


図2 FBT15mg/kg/日 20日投与後の体色異常

### 考 察

屋内治療試験ではFBTの投与濃度を15mg/kg/日に設定し、3～20日間連続投与を行い、適切な投与日数を検討した。全ての投薬区でシスト形成抑制効果が認められた。また、5日以上投薬区で遺伝子検出率は対照区と比べ有意に低くなり、*M.seriolae*の増殖が抑制されていると考えられた。一方、20日間連続投与すると体色が黒化し、投薬による悪影響がみられた。

野外治療試験ではFBTの投与量を10mg/kg/日に設定し、投与期間を5日間連続投与の1回投与区(10F)と5日間連続投与5日間休薬を4回繰り返す区(10F間欠投与区)を設定し治療効果の検証を行った。両区ともシスト形成率および*M.seriolae*遺伝子量は対照区とより有意に減少しておりFBTの投与によりシスト形

成の抑制および*M.seriolae*の増殖が抑制されていると推察された。

10F間欠投与区では*M.seriolae*遺伝子の検出率・検出量が5日間連続1回投与よりも低い傾向を示していることから、投与期間としては間欠投与の方が望ましいと考えられた。

しかし、今回実施した野外試験は、水温下降期に実施しており、通常ブリのべこ病が問題となる水温上昇期とは条件が大きく異なるため、投薬後の再感染が起こる可能性は否定できない。したがって、来年度以降、べこ病が問題となる初夏に再度検証を行い、FBTの適切な投与量、投与期間、投薬後の再感染の可能性について検討する必要がある。

# マダイの心臓ヘネガヤ症に対する感染防除対策研究

水野 かおり・原川 翔伍\*・川上 秀昌

## I 水産防疫対策事業

### 目 的

近年、マダイ養殖では心臓ヘネガヤ症の被害が増加しており、早急に感染防除法を確立することが望まれている。そこで本研究では、感染防除法の確立の第一段階として、宇和海全域での発生状況を調査するとともに、種苗導入時の感染率および*H. pagri* 遺伝子量を調査した。

なお、本事業は、公益社団法人日本水産資源保護協会委託の水産防疫対策事業(水産動物疾病のリスク評価)の「マダイのヘネガヤの疫学調査」により実施した。

### 方 法

#### 1 発生状況調査

本センター魚類検査室の診断結果を整理し、宇和海全域での心臓ヘネガヤ症の発生状況を調査した。

#### 2 種苗導入時の*H. pagri* 遺伝子の保有状況

調査は、平成29年4月11日から6月29日の期間に宇和海各地の12地点、養殖場27か所(図1)に導入されたマダイ種苗を用いておこなった。種苗の由来が異なる7種類の種苗(A～G)のマダイ、合計175個体から心臓を採取した。心臓の動脈球のスタンプ標本をチールネルゼン染色して検鏡し、ヘネガヤ胞子の有無を確認した(検鏡法)。また、*H. pagri* 遺伝子を検出するた

め、心臓からDNA mini Kit(QIAGEN)を用いて核酸を抽出し、増養殖研で開発されたリアルタイムPCR(qPCR)法により*H. pagri* 遺伝子の保有状況を調べた。

### 結 果

#### 1 発生状況調査

本センター魚類検査室では、平成14年にマダイの心臓ヘネガヤ症を初めて診断した。平成14年度以降のヘネガヤ症の診断件数及びマダイの診断件数に占めるヘネガヤ症の診断割合を図2に示す。診断割合は0.2～5.8%程度で推移していたが、平成23年には9.7%を占めた。その後増加傾向となり、平成28年に最多の17.3%となった。

心臓ヘネガヤ症の発生は県内各地の漁場で周年みられ、現在までの心臓ヘネガヤ症診断件数を月別に整理したところ、春から夏にかけて増加傾向にあり、8月が最高の88件であった。1才魚以上でみられる場合もあるが、多くが0才魚であった(図3)。

#### 2 種苗導入時の*H. pagri* 遺伝子の保有状況

各種苗の検体数の内訳は、種苗A：58個体(33%)、種苗B：47個体(27%)、種苗C：30個体(17%)、種苗D：18個体(11%)、種苗E：10個体(5%)、種苗F：7個体(4%)、種苗G：5個体(3%)であった。

検鏡法では全ての個体でヘネガヤ胞子が確認されなかった。一方、qPCR法では14%にあたる25個体で*H. pagri* 遺伝子が検出された。qPCR法による*H. pagri* 遺伝子の種苗別の検出率は、種苗A 29%、種苗B 11%、

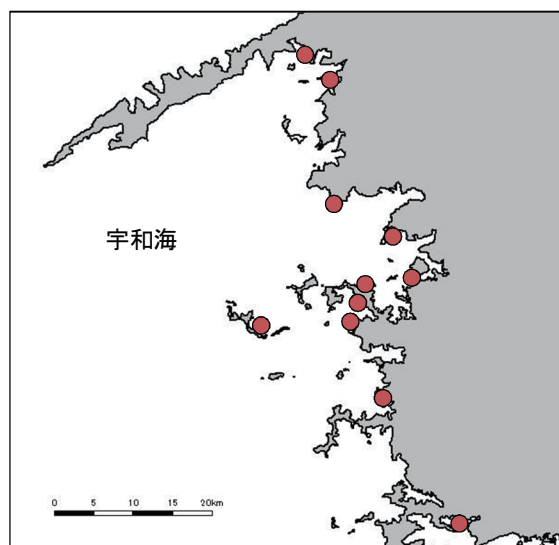


図1 調査場所

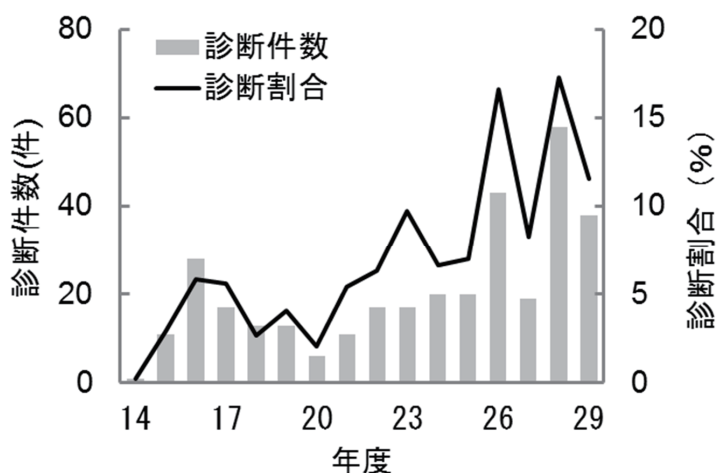


図2 心臓ヘネガヤ症の診断件数・診断割合の推移

\* 現 農林水産部水産局漁政課

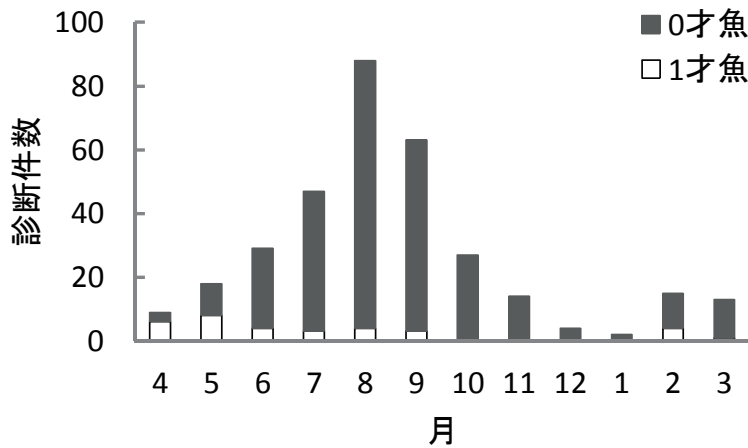


図3 魚令別・月別心臓ヘネガヤ症の診断件数 (H14~29年)

表1 各種苗の検鏡法およびqPCR法における*H.pagri*検出率

種苗の由来	検体数	検出率(%)・(検出数)	
		検鏡法	qPCR法
A	58	0 (0)	29 (17)
B	47	0 (0)	11 (5)
C	30	0 (0)	3 (1)
D	18	0 (0)	11 (2)
E	10	0 (0)	0 (0)
F	7	0 (0)	0 (0)
G	5	0 (0)	0 (0)
計	175	0 (0)	14 (25)

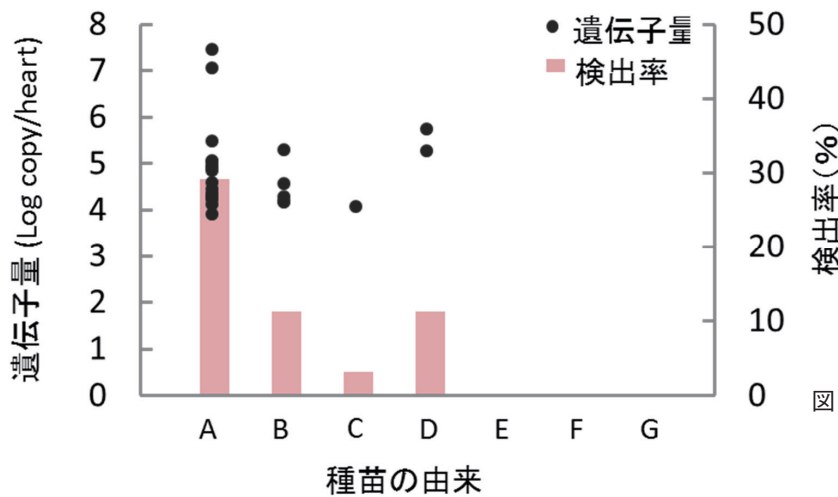


図4 各種苗の心臓中の*H.pagri*遺伝子量と検出率

種苗C 3%、種苗D 11%、種苗E、FおよびG 0%であった(表1)。また、これらの個体から検出された*H.pagri*遺伝子量は、心臓あたり104から107.5copyであった(図4)。

### 考 察

本室で診断した心臓ヘネガヤ症の診断件数は増加傾向にあり、近年の診断割合は15%以上となっている。また、本症は、宇和海の北部海域から南部海域まで全域で発生がみられ、愛媛県のマダイ養殖の重要な疾病のひとつになっている。診断の多くは0才魚で、心臓

ヘネガヤ症による死亡が問題になるのは主に0才魚であると考えられるが、1才魚でも件数は少ないが診断されている。また、診断は夏場に多いものの周年みられ、*H.pagri*が周年漁場に存在している状況にあり、漁場での感染が広がる原因の一つとなっていることが考えられる。

今回由来の異なる7種類のマダイ種苗について導入時の遺伝子量を175個体で調べた結果、検鏡法ではすべての個体で胞子を確認できなかったが、qPCR法では14%にあたる25個体から*H.pagri*の遺伝子が検出された。今回用いたqPCR法は、検鏡法と比べて検出感

度が高く、*H.pagri*の疫学調査法として有用であることが明らかとなった。また、種苗の由来により検出率に違いがみられ、検出率0%の種苗が3種類みられたのに対し、最大では29%の検出率であった。このことから、マダイ種苗の一部が、漁場に*H.pagri*を持ち込んでいると推察された。しかし、種苗の種類によっては得られた検体数が少なかったことから、今後十分な検体数を確保して検討する必要がある。さらに、今回は導入時の*H.pagri*遺伝子の検出率を調べたのみであるが、*H.pagri*の感染経路を明らかにするためには、導入時の検出率とその後の寄生や死亡にどう関係しているのか追跡調査を行う必要がある。

粘液胞子虫の感染には交互宿主(貧毛類等)が関与していると推察されている。来年度以降は、*H.pagri*の交互宿主も貧毛類等の可能性が高いと考えられることから、養殖場から採取した底生生物や生簀網に付着する生物から*H.pagri*の遺伝子を検出し、*H.pagri*の生活環を明らかにすることが必要である。

## II 農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業

### 目 的

近年マダイ養殖では、粘液胞子虫*H.pagri*の寄生が原因の心臓ヘネガヤ症の被害が増加しており、感染防除法を確立することが望まれている。しかし、対策のために重要な情報のひとつとなる感染時期や場所といった疫学情報が明らかになっていない。そこで、本研究では、マダイ養殖場で定期的に魚体組織を採取し、検鏡およびリアルタイムPCR(qPCR法)により*H.pagri*の寄生状況を調べるとともに、海水や底泥からも遺伝子を検出することで、感染時期と場所を推定した。

なお、本事業は、農林水産省農林水産技術会議委託の平成29年度農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業の「養殖業者や流通業者でもできる簡便な魚類寄生粘液胞子虫病の防除法の開発」の1.粘液胞子虫の疫学調査(1)マダイの心臓ヘネガヤ症の調査により実施した。

### 方 法

#### 1 供試魚および採材

供試魚は、宇和海南部海域の養殖場で養殖されている由来が異なるマダイ種苗A(平均体重11.6g)および種苗B(平均体重11.2g)を用いた。それぞれ導入直後である5月12日(種苗A)と5月26日(種苗B)に30尾ずつ採取した。採材臓器は、心臓および鰓とした。心臓の動脈球のスタンプ標本をチールネルゼン染色して検鏡し、ヘネガヤ胞子の有無を確認した。また、*H.pagri*遺伝子を検出するため心臓および鰓から、DNA mini Kit(QIAGEN)を用いて核酸を抽出した。マダイの採取と同時に、生簀横で海水1L(水深3mと7mを等量混

合)および底泥(水深30m)を採取した。海水は1Lをそのまま、底泥は10~30gを0.45μmメンブランフィルターでろ過した海水とよく混合した後に、孔径が80、60、40、20、10、5、1μmのフィルターで吸引ろ過し、ろ過後のフィルターから組織と同様に核酸を抽出した。底泥中の底生生物は、海水をよく拭き取った後に、他の試料と同様に核酸を抽出した。心臓、鰓、海水、底泥および底生生物から抽出した核酸は、qPCR法を用いて*H.pagri*遺伝子を検出した。

その後11月まで、種苗Aについて同様のサンプリングを、1~4週間ごとに12回実施した。

#### 2 検出法の比較

心臓の動脈球のスタンプ標本をチールネルゼン染色して検鏡しヘネガヤ胞子を確認する方法(検鏡法)と心臓を用い*H.pagri*遺伝子をqPCRにより検出する方法(qPCR法)を用い、*H.pagri*の検出率を比較した。

#### 3 種苗導入時の遺伝子保有率

種苗導入直後の種苗Aおよび種苗Bの心臓を用い、*H.pagri*遺伝子の保有状況をqPCR法により調べ、検出率を比較した。

#### 4 マダイの*H.pagri*遺伝子保有状況の推移

種苗Aから定期的に採取した心臓および鰓を用い、検鏡法によるヘネガヤ胞子の有無とqPCR法による*H.pagri*遺伝子の保有状況を調べるとともに、検出率を比較した。

#### 5 環境中の*H.pagri*遺伝子量

マダイ養殖場で採取した海水、底泥および底生生物を用い、それらの試料中の*H.pagri*遺伝子の保有状況をqPCR法により調べた。

## 結 果

#### 1 検出法の比較

合計360個体のマダイの心臓から検鏡法およびqPCR法で*H.pagri*胞子または遺伝子の保有状況を調査した結果4パターンに分類された。パターン割合は、検鏡法とqPCR法共に陽性の個体は25個体(6.9%)、検鏡法で陰性・qPCR法で陽性の個体は130個体(36.1%)、検鏡法で陽性・qPCR法で陰性の個体は1個体(0.3%)、検鏡法とqPCR法共に陰性の個体は204個体(56.7%)であった(表2)。検鏡で陽性・qPCR法で陰性パターンが1例認められたが、検鏡法と比較してqPCR法の方が、検出感度が優れていた。

表2 検鏡法とqPCR法による検出感度の比較

心臓 q PCR	検鏡		合計
	陽性	陰性	
陽性	25	130	155
陰性	1	204	205
合計	26	334	360

## 2 種苗導入時の遺伝子保有率

種苗導入時の *H.pagri* 遺伝子の保有状況は、種苗Aでは33%、種苗Bでは10%で、種苗の由来により検出率に違いがみられた。

## 3 マダイの *H.pagri* 遺伝子保有状況の推移

心臓を用いたqPCR法では、*H.pagri* の遺伝子は、導入直後の5月12日から検出され、検出率は33%であった。その後、検出率、遺伝子量ともに徐々に増加し、7月から10月にかけて高値を維持した(図5)。鰓を

用いたqPCR法では、*H.pagri* の遺伝子は、7月28日に初めて検出され、検出率は27%であった。8月24日には検出率は47%、遺伝子量は102.8copy/mgと、どちらも最大となりその後減少した(図6)。

図7にqPCR法および検鏡法による *H.pagri* 遺伝子の検出率の推移を示す。検鏡法で胞子が初めて確認できたのは、7月13日で、それ以降も少ないものの確認はできたが、その検出率は最大でも27%とqPCR法の半分程度と低かった。

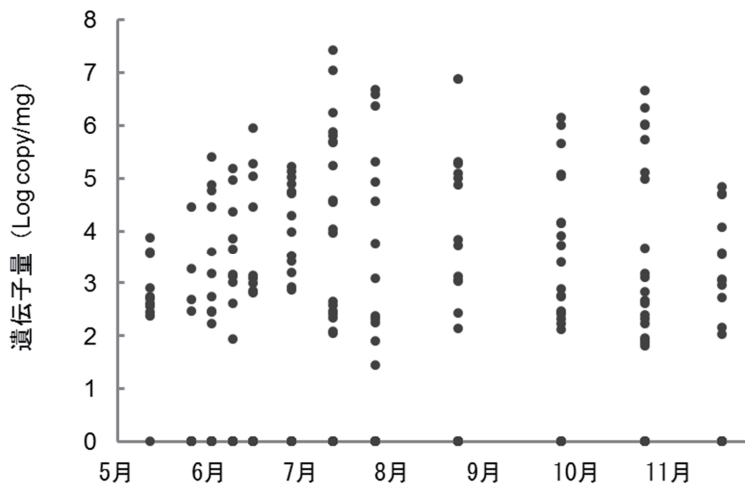


図5 心臓中の *H.pagri* 遺伝子量の推移

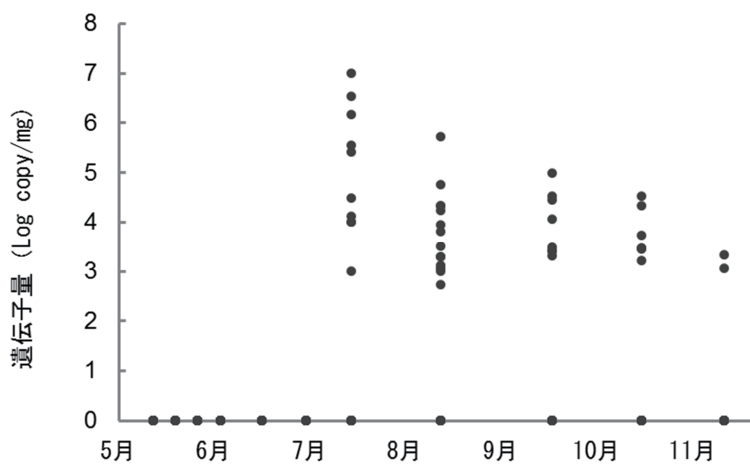


図6 鰓組織中の *H.pagri* 遺伝子量の推移

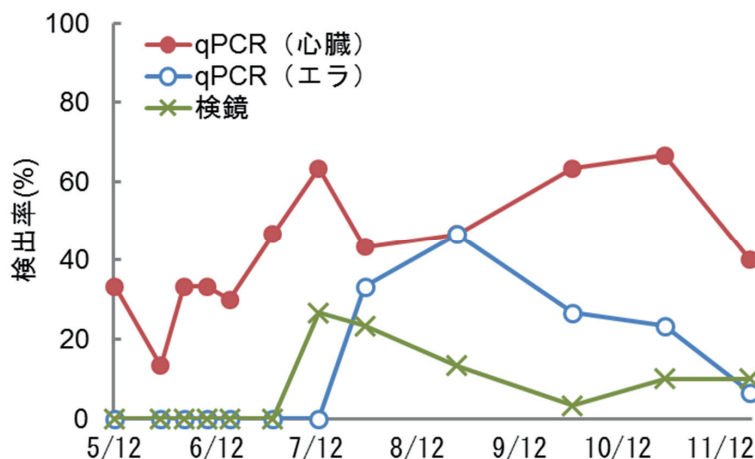


図7 qPCR法および検鏡法による *H.pagri* 遺伝子の検出率の推移

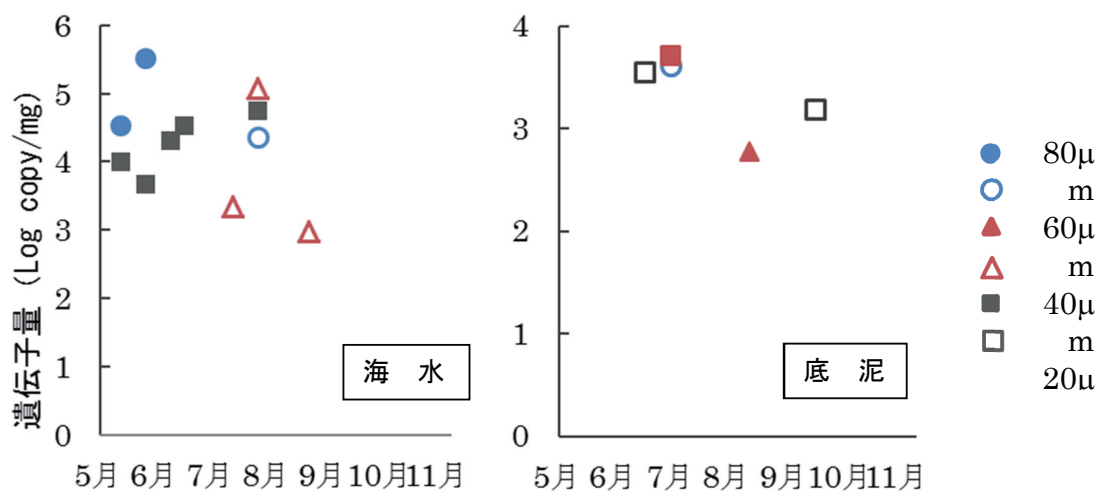


図8 海水中および底泥中の*H.pagri* 遺伝子の検出

#### 4 環境中の*H.pagri* 遺伝子量

海水からは5月から8月にかけて、底泥からは6月から9月にかけて、*H.pagri* 遺伝子が検出された(図8)。5月から9月にかけて採取した57個体の底生生物からは、いずれも遺伝子は検出されなかった。

#### 考 察

qPCR法と検鏡法で検出法の比較を行った結果、qPCR法の方が検出感度が高く、qPCR法は*H.pagri*の疫学調査法として有用であることが明らかとなった。また、マダイから*H.pagri* 遺伝子を早期に検出する臓器として心臓が適していると考えられたが、今回検討したのは心臓と鰓のみであることから、腸、脾臓、血液等からの検出を行い、早期検出に適した臓器の検討を行う必要がある。

今回の調査では、導入直後から心臓中の*H.pagri* 遺伝子が検出されたことから、マダイ種苗が*H.pagri*を漁場に持ち込んでいることが推察された。その後の定期的な調査では、検出率および遺伝子量が徐々に増加していくことから、最初に持ち込まれた*H.pagri*に加えて漁場でも感染が起こっていることが示唆される。漁場での感染があることを明らかにするためには、未

感染魚を飼育し、感染の状況を確認する必要があると考えられた。

また、心臓の遺伝子が導入直後の5月12日から検出されたのに対し、鰓の遺伝子は7月26日に初めて検出され、8月にピークに達した後、急激に減少していた。これは、ヘネガヤが心臓で胞子を形成し、その後鰓弁に流入するとされる虫体の生活環に合致したものと考えられる。しかし、環境中の遺伝子は一部で検出されたものの、遺伝子量の季節変動はとらえられなかった。環境中の遺伝子量には、近隣の生簀の魚の状況も関係してくるため、変動をとらえることは難しいかもしれないが、今回の調査が5月から11月の7カ月のみであったことから、周年にわたる調査をする必要があると考えられた。

また、感染には交互宿主となる生物が関係していると考えられるが、今回採取した底生生物からは遺伝子は検出されなかった。これは、関与する交互宿主を採取できていない可能性が考えられるほか、底生生物の核酸抽出が阻害物質等の影響によりできていない可能性もあるため、適した抽出方法についても検討する必要があると考えられた。

# 予防業務

高木 修作・川上 秀昌・水野 かおり・原川 翔伍\*・石井 佑治

## I 防疫会議

養殖魚類の防疫対策の推進体制を確立するため、2カ所で防疫会議を開催し、防疫推進対策等について検討した。

## II 巡回指導

養殖魚介類における疾病の予防と被害の減少を図るため、魚介類養殖業者を対象に延べ204カ所で巡回指導を実施した。

## III 水産用ワクチンの指導

平成30年3月末には、養殖魚に使用できる水産用ワクチンは18種類(29製剤)が承認されている。

水産用ワクチンの使用にあたっては、指導機関が発行する「水産用ワクチン使用指導書」(以下、指導書という)の交付を受ける必要があることから、養殖業者から申請書の提出があり、内容を検討した結果、水産用ワクチンを適正に使用しうるための指導を受け、水産用医薬品の使用について(農林水産省消費・安全局発行)に定められた基準に従ったと確認されたものに指導書を交付した。平成29年度のワクチン指導書交付数は264件であった。

### 1 ワクチンの使用状況

水産用ワクチンの使用状況を、表3～11に示す。本年度の投与尾数は、ブリ(ブリ属魚類)の $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症不活化注射ワクチン(多価ワクチンを含む)

で442.1万尾、 $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症および抗原変異型 $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症不活化注射ワクチンで128.6万尾、ヒラメのレンサ球菌症不活化ワクチン(多価ワクチン)で10.8万尾、イリドウイルス病不活化ワクチンでは、マダイで258.1万尾、ブリ属魚類で267.6万尾、シマアジで6.0万尾、ブリ属魚類の類結節症不活化ワクチン(多価ワクチン)では120.0万尾、マハタのウイルス性神経壊死症不活化ワクチンでは6.1万尾であった。

なお、ヒラメのエドワジエラ症不活化ワクチンに係る使用指導書の交付申請はなかった。

## 2 アンケート調査の結果

水産用ワクチンを使用した養殖業者に対して、ワクチンの有効性および安全性のアンケート調査をおこなった。回答数は256件、回答率は96.9%であった。

### (1) ワクチンの安全性

ワクチン投与後、14日以内における魚の異常の有無を表12に示す。 $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症不活化注射ワクチンに異常ありの回答が多かった。異常の内訳は、摂餌悪化であった。

### (2) ワクチンの有効性

ワクチンの有効性を表13に示す。著効および有効の回答がほとんどであったが、ブリ属魚類で無効が合計14件、不明が7件あった。

表1 防疫対策会議開催状況

開催場所	開催時期	参加者	人数	議題
宇和島市	H29.4.22	県市町担当職員	82名	平成28年度の魚病診断状況
		県漁連職員		水産用医薬品の適正使用
		漁協職員		水産用ワクチンの使用状況
		養殖業者		低水温期におけるマダイの大量死亡例 マダイ心臓ヘネガヤ症に関する話題提供
松前町	H29.6.30	県内水面漁連役員	11名	本年度放流アユの診断結果について
		内水面漁協役員		冷水病及びエドワジエラ・イクタルリ感染症の発生状況
		県市町担当職員		愛媛県アユ疾病防疫指針について コイヘルペスウイルス病について 水産用医薬品の適正な使用について

\* 現 農林水産部水産局漁政課

表2 巡回指導実施状況

時期	実施場所	指導内容
4月	宇和島市下波等	14 力所
5月	宇和島市遊子等	17 力所
6月	宇和島市蔦淵等	20 力所
7月	宇和島市吉田町等	18 力所
8月	南宇和郡愛南町等	18 力所
9月	宇和島市下灘等	18 力所
10月	宇和島市小池等	17 力所
11月	西予市明浜町等	18 力所
12月	宇和島市石応等	18 力所
1月	西予市三瓶町等	15 力所
2月	宇和島市坂下津等	15 力所
3月	宇和島市北灘等	16 力所
計		204 力所

表3 ブリ属魚類の $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症不活化経口ワクチンの使用状況

年	使用業者数	投与小割数	投与尾数
1997	24	67	1,003,368
1998	66	193	2,905,404
1999	98	272	4,016,658
2000	148	340	5,805,209
2001	123	247	3,836,502
2002	58	90	1,078,434
2003	12	14	211,790
2004	9	11	125,200
2005	2	2	18,000
2006	4	7	128,000
2007	1	1	12,000
2008	3	3	23,000
2009	3	3	10,000
2010	6	8	92,000
2011	2	3	40,000
2012	3	4	36,600
2013	2	3	28,000
2014	1	2	20,000
2015	1	1	2,500
2016	1	2	20,000
2017	0	0	0

表4 ブリ属魚類の $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症不活化注射ワクチンの使用状況

年	使用業者数	投与小割数	投与尾数
2001	66	121	2,345,220
2002	148	369	5,278,293
2003	234	409	7,823,109
2004	226	408	7,104,420
2005	211	390	7,162,931
2006	220	384	6,797,002
2007	189	375	5,683,169
2008	186	355	5,640,978
2009	153	337	5,071,672
2010	185	363	6,331,424
2011	134	295	4,581,582
2012	132	307	4,285,750
2013	105	254	3,756,767
2014	124	239	3,890,908
2015	103	238	3,362,760
2016	100	255	3,313,089
2017	104	280	4,421,627

表5 ブリ属魚類の $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症および抗原変異型 $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症不活化注射ワクチンの使用状況

年	使用業者数	投与小割数	投与尾数
2016	4	27	382,500
2017	30	81	1,286,100



表6 ヒラメのレンサ球菌症不活化注射ワクチンの使用状況

年	使用業者数	投与小割数	投与尾数
2006	5	27	114,900
2007	7	53	226,700
2008	3	18	62,200
2009	1	4	21,200
2010	2	3	9,500
2011	2	4	27,000
2012	1	1	2,000
2013	3	44	147,500
2014	2	4	65,000
2015	4	15	106,000
2016	3	8	68,000
2017	4	15	108,500

2012年10月までは抗β溶血性連鎖球菌のみ販売で、その後、抗ストレプトコッカス・パラウベリス混合ワクチンが加わった

表7 マダイのイリドウイルス病不活化ワクチンの使用状況

年	使用業者数	投与小割数	投与尾数
1999	2	5	475,000
2000	7	47	1,345,000
2001	9	42	2,118,000
2002	8	18	890,000
2003	5	12	595,000
2004	3	5	235,000
2005	0	0	0
2006	1	1	30,000
2007	6	16	666,000
2008	6	10	520,000
2009	3	23	1,855,000
2010	3	23	1,430,000
2011	2	22	1,675,000
2012	4	31	1,615,000
2013	3	26	1,305,000
2014	4	24	1,330,000
2015	4	26	1,470,000
2016	3	26	1,180,000
2017	7	40	2,581,000

表8 ブリ属魚類のイリドウイルス病不活化ワクチンの使用状況

年	使用業者数	投与小割数	投与尾数
2000	7	13	413,000
2001	27	46	1,157,550
2002	36	78	1,414,431
2003	9	17	366,428
2004	4	10	160,000
2005	1	1	4,000
2006	2	2	33,000
2007	135	274	3,999,764
2008	134	264	4,116,678
2009	117	274	4,263,923
2010	100	234	4,247,255
2011	101	200	3,200,280
2012	83	173	2,435,540
2013	59	138	2,224,707
2014	181	240	3,367,760
2015	85	192	2,716,008
2016	70	193	2,514,689
2017	67	159	2,676,427

表9 シマアジのイリドウイルス病不活化ワクチンの使用状況

年	使用業者数	投与小割数	投与尾数
2002	5	5	140,000
2003	22	25	521,000
2004	20	23	501,500
2005	4	4	95,000
2006	10	10	149,000
2007	15	18	321,000
2008	6	8	135,500
2009	5	5	101,600
2010	4	4	60,000
2011	5	5	71,500
2012	4	5	87,000
2013	2	2	40,000
2014	3	4	49,000
2015	3	5	68,000
2016	2	4	60,000
2017	2	3	60,000

表10 ブリ属魚類の類結節症不活化ワクチンの使用状況

年	使用業者数	投与小割数	投与尾数
2009	13	21	466,500
2010	22	32	671,680
2011	29	44	683,702
2012	35	73	1,005,110
2013	29	55	829,300
2014	166	270	1,601,500
2015	102	140	1,963,868
2016	75	172	2,158,189
2017	48	75	1,200,832

表11 マハタのウイルス性神経壊死症不活化ワクチンの使用状況

年	使用業者数	投与小割数	投与尾数
2013	2	8	127,000
2014	1	12	142,000
2015	2	5	69,000
2016	2	8	89,000
2016	3	7	61,000

表12 ワクチン接種後の異常の有無

魚種	対象疾病*1	異常（小割数）		異常の内訳*2			
		なし	あり	原因不明死1	病死	摂餌悪化	その他
ブリ属	イリド・レンサ・ビブリオ・類結	84	11	3	3	4	3
	イリド・レンサ・ビブリオ	20	5	4	1	0	0
	類結・レンサ・ビブリオ	15	1	0	0	1	0
	レンサ・ビブリオ	21	0	0	0	0	0
	類結・レンサ	22	1	0	0	1	0
	レンサ	1	0	0	0	0	0
	抗原変異型レンサ	44	0	0	0	0	0
マダイ	イリド	26	0	0	0	0	0
シマアジ	イリド	2	0	0	0	0	0
ヒラメ	レンサ	7	0	0	0	0	0
マハタ	VNN	5	0	0	0	0	0

\*1 イリド；イリドウイルス病  
 レンサ； $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症  
 ビブリオ；ビブリオ病  
 類結；類結節症  
 抗原変異型レンサ；抗原変異型 $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症  
 VNN；ウイルス性神経壊死症  
 ヒラメのレンサ； $\beta$ 溶血性レンサ球菌症およびストレプトコッカス・パラウベリス感染症

\*2 複数回答。

表13 ワクチンの効果

魚種	対象疾病	効果の程度（小割数）			
		著効	有効	無効	不明
ブリ属	イリド・レンサ・ビブリオ・類結	19	75	1	2
	イリド・レンサ・ビブリオ	10	14	0	2
	類結・レンサ・ビブリオ	3	13	0	0
	レンサ・ビブリオ	4	15	0	3
	類結・レンサ	0	21	0	0
	レンサ	1	0	0	0
	抗原変異型レンサ	9	21	13	0
マダイ	イリド	6	19	1	0
シマアジ	イリド	0	2	0	0
ヒラメ	レンサ	0	7	0	0
マハタ	VNN	4	0	0	1

# 診断業務

高木 修作・川上 秀昌・水野 かおり・原川 翔伍\*・石井 佑治

## I 魚病診断状況

本年度の診断件数は725件で、前年度よりも30件増加した(表19)。主な魚種別の診断割合は、マダイ(45%)、シマアジ(14%)、ブリ(9%)、ヒラメ(5%)、カンパチ(2%)、トラフグ(4%)であった。

過去10年間のブリ、マダイ、ヒラメの診断件数の推移を図1に、カンパチ、トラフグ、シマアジの診断件数の推移を図2に示す。シマアジの診断件数は、平成25年度以降、やや増加傾向にあるが、その他の主要魚種の診断件数は、近年、横ばいあるいは漸減傾向にある。

### 1 ブリ

ブリ0才魚の魚病診断件数を表15に示す。マダイイリドウイルス病の診断件数が全体の15%と最も多かった。例年診断件数の多い類結節症の診断は、昨年度に

引き続きなかった。

ブリ1才魚以上の魚病別診断件数を表16に示す。レンサ球菌症の診断件数が40%と最も多く、次いで細菌性溶血性黄疸、ノカルジア症と続いた。

### 2 マダイ

マダイの魚病別診断件数を表17に示す。主な疾病は心臓ヘネガヤ症、マダイイリドウイルス病およびピバギナ症であった。また、平成29年2月以降の低水温期に、種未同定のウイルス感染症が発生した。

マダイにおける主な疾病の診断件数の推移を表18に示す。近年、イリドウイルス病の診断件数が減少していたが、今年度は34件と前年度(45件)に比べて若干減少した。近年、心臓ヘネガヤ症の診断件数が多く推移している。

表14 月別診断状況

魚種/月	H29												H30			合計	割合	H28	前年比
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3							
ブリ		2	16	19	7	6	9	5	1		2		67	9%	74	91%			
マダイ	14	33	62	37	32	25	15	15	6	14	49	25	327	45%	317	103%			
ヒラメ	2	5	9	3		1	6	1	3	3		3	36	5%	38	95%			
カンパチ	1	1	2	4	1	2	3	1			3		18	2%	25	72%			
トラフグ	2	2	4	3	1	7	3	1	3	3	1	2	32	4%	24	133%			
シマアジ	1	4	11	14	13	14	20	13	2	3	9		104	14%	89	117%			
その他	4	6	12	12	16	27	9	11	10	5	6	6	124	17%	117	106%			
淡水魚	5	7	2							1		2	17	2%	11	155%			
合計	29	60	118	92	70	82	65	47	25	29	70	38	725	100%	695	104%			

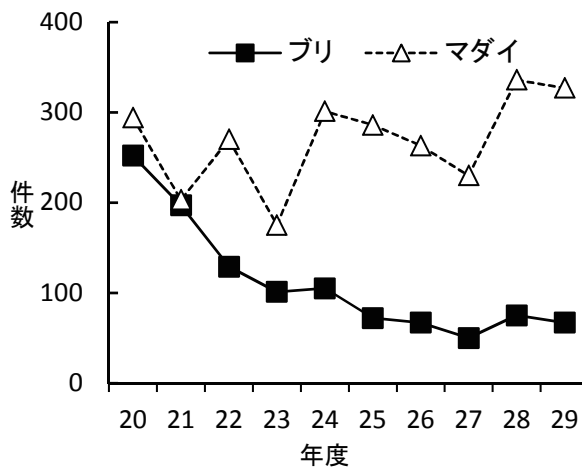


図1 過去10年間のブリ・マダイ・ヒラメの診断件数の推移

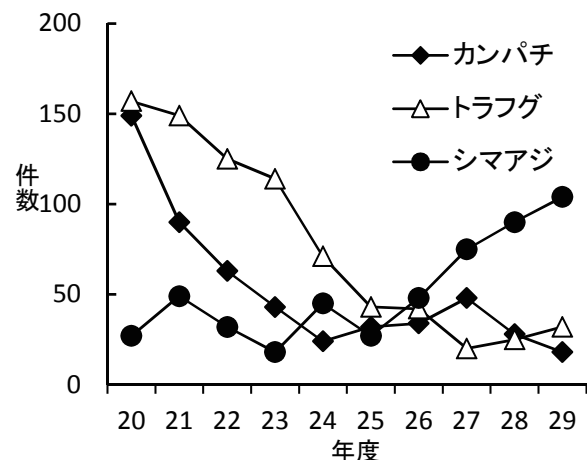


図2 過去10年間のカンパチ・トラフグ・シマアジの診断件数の推移

\* 現 農林水産部水産局漁政課

### 3 ヒラメ

ヒラメの魚病別診断件数を表19に示す。エドワジエラ症の診断件数が最も多かった。この他、食中毒の原因虫であるクドア セプテンペンクタータの検査及び寄生虫の感染状況を確認するための健康診断が多く、全体の39%を占めた。

ヒラメにおける診断件数の推移を表20に示す。近年、エドワジエラ症の診断件数が多く推移している。

### 4 カンパチ

カンパチの魚病別診断件数を表21に示す。ノカルジ

ア症の診断件数が多かった。

### 5 トラフグ

トラフグの魚病別診断件数を表22に示す。イリドウイルス症および抗酸菌症の診断件数が多く、またヘテロボツリウムの寄生状況を確認するための健康診断が38%あった。

### 6 その他の魚種

その他の魚種の魚病別診断件数を表23に示す。

### 7 淡水魚

淡水魚の魚病別診断件数を表24に示す。

表15 魚種別魚病別診断件数【ブリ0才魚】

	H. 29							H. 30					計	割合	H28	前年差
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3				
ウイルス性腹水症			3	1									4	9%	1	3
マダイイリドウイルス病				5		2							7	15%	0	7
レンサ球菌症(計)	0	0	2	2	0	0	1	1	0	0	0	0	6	13%	5	1
レンサ球菌症(ガルビエⅠ型)			2	2									4	-	5	-
レンサ球菌症(ガルビエⅡ型)							1						1	-	0	-
レンサ球菌症(型不明)								1					1	-	0	1
ノカルジア症						1	1	1					3	6%	0	3
ビブリオ病		2	1	1									4	9%	2	2
滑走細菌症			2										2	4%	3	-1
細菌性溶血性黄疸								1					1	2%	2	-1
スクーチカ症													0	0%	3	-3
ヘテラキシネ症													0	0%	3	-3
べこ病			3	1									4	9%	0	4
住血吸虫症													0	0%	3	-3
シュドカリグス症													0	0%	0	0
腎腫大症													0	0%	7	-7
粘液胞子虫性脳脊髄炎			1	1									2	4%	1	1
その他						1		1					2	4%	1	1
健康診断			1										1	2%	3	-2
不明			1	5	2			2				1	11	23%	16	-5
計	0	2	14	16	2	4	3	5	0	0	1	0	47	100%		-3

表16 魚種別魚病別診断件数【ブリ1才魚以上】

	H. 29							H. 30					計	割合	H28	前年差
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3				
ウイルス性腹水症													0	0%	0	0
マダイイリドウイルス病													0	0%	0	0
レンサ球菌症(計)	0	0	2	1	1	1	2	1	0	0	0	0	8	40%	4	4
レンサ球菌症(ガルビエⅠ型)				1									1	5%	1	0
レンサ球菌症(ガルビエⅡ型)			2		1	1	1	1					6	30%	3	3
レンサ球菌症(型不明)								1					1	5%	0	1
ノカルジア症								1	1				2	10%	0	2
ビブリオ病													0	0%	0	0
滑走細菌症													0	0%	1	-1
細菌性溶血性黄疸					3	1							4	20%	7	-3
腎腫大症													0	0%	0	0
粘液胞子虫性脳脊髄炎													0	0%	4	-4
その他													0	0%	7	-7
健康診断													0	0%	2	-2
不明				2		1	2					1	6	30%	0	6
計	0	0	4	4	5	4	7	2	1	0	1	0	20	100%	25	-5

表17 魚種別魚病別診断件数【マダイ】

	H. 29										H. 30			計	割合	H28	前年差
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3					
マダイイリドウイルス病				9	14	10	1							34	10%	45	-11
VHS		1									3	4	8	2%	2	6	
エドワジエラ症			2	4	2	3	9							20	6%	24	-4
エピテリオシスチス症			1		1				1		1	2	6	2%	40	-34	
パスツレラ症													0	0%	7	-7	
滑走細菌症	2	1	7	1					2	1			14	4%	19	-5	
レンサ球菌症(計)	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0			2	1%	0	2	
レンサ球菌症(ガルビエ I 型)				1									1	-	0	1	
レンサ球菌症(型未同定)					1								1	-	0	1	
ビブリオ病													0	0%	1	-1	
スクーチカ症													0	0%	2	-2	
ビバギナ症	4	4					2	4	1	6	5	2	28	9%	30	-2	
心臓ヘネガヤ症		4	7	4	9	8	2	3			1		38	12%	55	-17	
その他		4	12	2								1	19	6%	2	17	
健康診断	5	13	22	5	1	1		5	1	1	1	1	56	17%	41	15	
不明	3	6	11	11	4	3	1	3	1	6	38	15	102	31%	49	53	
計	14	33	62	37	32	25	15	15	6	14	49	25	327	100%	317	10	

表18 マダイにおける主な疾病の年次変化

年度	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	H18~H28平均
イリドウイルス病	132	51	72	2	9	4	7	3	3	3	45	34	30
エドワジエラ症	44	38	37	28	34	19	24	19	24	21	24	20	28
ビバギナ症	9	19	31	37	30	28	28	46	23	41	32	28	29
滑走細菌症	32	57	13	14	11	3	16	15	5	16	19	14	18
エピテリオシスチス症	19	19	11	5	10	16	42	21	28	23	40	6	21
心臓ヘネガヤ症	13	13	6	11	10	16	20	20	43	18	58	38	21
パスツレラ症	0	0	0	5	0	0	15	9	0	0	2	0	3
ビブリオ病	1	0	0	0	0	0	6	6	2	2	1	0	2
VHS	8	0	0	4	2	2	5	6	18	12	2	8	5

表19 魚種別魚病別診断件数【ヒラメ】

	H. 29										H. 30			計	割合	H28	前年差
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3					
VHS													0	0%	1	-1	
VNN													0	0%	1	-1	
エドワジエラ症	1	2	6	1		1	1	1		1		2	14	39%	11	3	
レンサ球菌症(計)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0			1	0%	1	0	
レンサ球菌症(ガルビエ I 型)													0	0%	1	-1	
レンサ球菌症(型不明)				1									1	3%	0	1	
ビブリオ病													0	0%	3	-3	
滑走細菌症													0	0%	2	-2	
シュードモナス症			1										1	3%	0	1	
スクーチカ症			1										1	3%	2	-1	
ダクチロギルス症													0	0%	0	0	
健康診断(クドア検査)	1	1	2	1			4		3	2		1	14	39%	14	0	
その他	0												0	0%	0	0	
不明				1				1					2	6%	3	-1	
計	2	5	9	3	0	1	6	1	3	3	0	3	36	100%	38	-2	

表20 ヒラメにおける主な疾病の年次変化

年度	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	H18~H28平均
エドワジエラ症	43	43	48	21	7	8	5	12	18	13	11	14	19
スクーチカ症	3	3	11	11	9	15	2	2	9	6	3	1	7
レンサ球菌症(PS)	14	14	23	19	12	5	2	0	0	2	0	0	8
滑走細菌症	3	3	13	5	6	4	3	2	3	4	2	0	5
VHS	7	7	4	0	1	2	1	1	0	2	1	0	2
白点病	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

表21 魚種別魚病別診断件数【カンパチ】

	H. 29				H. 30				計	割合	H28	前年差				
	4	5	6	7	8	9	10	11					12	1	2	3
類結節症													0%	0	0	
レンサ球菌症(計)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	2	7%	2	0	
レンサ球菌症(ガルビエI型)													-	1	-	
レンサ球菌症(ガルビエII型)				1							1	2	-	1	-	
レンサ球菌症(型不明)													0%	0	0	
エピテリオシスチス症				1								1	7%	2	-1	
ノカルジア症						2	2					4	27%	3	1	
ビブリオ病													0%	4	-4	
滑走細菌症													0%	1	-1	
ゼウクサプタ症													0%	2	-2	
住血吸虫症					1							1	7%	3	-2	
粘液胞子虫性脳脊髄炎													0%	2	-2	
その他								1			1	2	7%	0	2	
健康診断													0%	1	-1	
不明	1	1	2	2			1				1	8	47%	5	3	
計	1	1	2	4	1	2	3	1	0	0	3	0	18	100%	25	-7

表22 魚種別魚病別診断件数【トラフグ】

	H. 29				H. 30				計	割合	H28	前年差				
	4	5	6	7	8	9	10	11					12	1	2	3
マダイイリドウイルス病						2							2	7%	0	2
滑走細菌症													0	0%	0	0
ビブリオ病													0	0%	2	-2
抗酸菌症	2											2	2	7%	0	2
シュドカリグス症		1		1									2	7%	0	2
ヘテロボツリウム症													0	0%	4	-4
粘液胞子虫性やせ病													0	0%	2	-2
その他													0	0%	2	-2
健康診断			4	1		4	1		1		1		11	38%	4	7
不明		1		1	1	1	2	1	2	3			12	41%	10	2
計	2	2	4	3	1	7	3	1	3	3	1	2	32	100%	24	8



表24 魚種別魚病別診断件数【淡水魚】

		H28										H29			計	割合	H27	前年差
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3					
アユ	冷水病	2		2										4	36%	0	4	
	健康診断	3	4											7	64%	10	-3	
	計	5	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	100%	10	1	
アマゴ	IPN												2	2	100%	0	2	
	計	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	100%	0	2	
ニジマス	ヘルペスウイルス病												1	0	100%	0	1	
	計	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	100%	0	1	
ニシキゴイ	KHV		2											2	67%	0	2	
	不明		1											1	33%	1	0	
	計	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	100%	1	2	



# 検査業務

高木 修作・川上 秀昌・水野 かおり・原川 翔伍\*・石井 佑治

## I 薬剤感受性検査

病魚から検出した病原菌に対する有効な治療薬を選択するため、最小発育阻止濃度法(MIC法)により薬剤感受性検査を行った。検査に用いた薬剤の名称と略号、菌の種類と株数を表25に、菌株の由来を表26に示す。

### 1 $\alpha$ 溶血性レンサ球菌の薬剤感受性

$\alpha$  溶血性レンサ球菌53株の各種薬剤に対するMICの分布を表27に示す。本年度は、OTCとEMに対し、昨年度と同様に全株感受性であった(OTC： $<0.125\sim 2\mu\text{g/mL}$ 、EM： $<0.125\sim 0.5\mu\text{g/mL}$ )。また、LMに対し、32株は感受性( $<0.125\sim 0.5\mu\text{g/mL}$ )、11株は耐性( $64\mu\text{g/mL}$ )であった。

### 2 ビブリオ菌の薬剤感受性

ビブリオ菌3株の各種薬剤に対するMICを表28に示す。全ての株はOTCに感受性であった(OTC： $0.5\mu\text{g/mL}$ )。

表26 薬剤感受性検査実施件数

魚種	$\alpha$ 溶血性レンサ球菌	ビブリオ菌	エドワジエラ菌
ブリ	12	3	
カンパチ	2		
ヒラマサ	2		
マダイ	1		21
ヒラメ			8
シマアジ	22		
マアジ	3		
マサバ	1		
マグロ	8		
カワハギ	1		
ウマヅラハギ	1		
計	53	3	29

表25 薬剤感受性検査実施件数

薬剤名	略号	$\alpha$ 溶血性レンサ球菌	ビブリオ菌	エドワジエラ菌
アンピシリン	ABPC	53	3	29
塩酸オキシテトラサイクリン	OTC	53	3	29
チアンフェニコール	TP	53	3	29
フロルフェニコール	FF	53	3	29
オキシリン酸	OA			29
エリスロマイシン	EM	53	3	
安息香酸ビコザマイシン	BCM			29
ホスホマイシンカルシウム	FOM			29
塩酸リンコマイシン	LCM	53	3	
計		318	18	203

$\alpha$  溶血性レンサ球菌: *Lactococcus garvieae*

$\beta$  溶血性レンサ球菌: *Streptococcus iniae*

ビブリオ菌: *Vibrio anguillarum*

エドワジエラ菌: *Edwardsiella tarda*

表27 *Lactococcus garvieae* 分離株の各種薬剤に対するMIC値( $\mu\text{g/mL}$ )の分布

薬剤名	$<0.125$	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	256 $<$	計
ABPC		15	38											53
OTC	9	8	21	15										53
TP	3	3			10	17	20							53
FF	9	2	4	9	29									53
LCM	15		17	9	1					11				53
EM	43	10												53

\* 現 農林水産部水産局漁政課

### 3 エドワジエラ菌の薬剤感受性

エドワジエラ菌29株の各種薬剤に対するMICを表29に示す。OTCに対し、17株は感受性(0.5~1 $\mu$ g/mL)、11株は耐性(4~128 $\mu$ g/mL)、OAに対し、10株は中度の感受性(1 $\mu$ g/mL)、FOMに対し、検査した25株が中度の感受性(1~4 $\mu$ g/mL)であった。

#### II 医薬品残留検査

出荷前のブリ、マダイおよびヒラメについて、簡易キット(プレミテスト、DSM社)を用いて魚体内の医

薬品残留検査を行った。検査内容を表30に示す。検査の結果、すべての検体から残留薬剤は検出されなかった。

#### III 輸出水産物放射性物質検査

輸出相手国から求められる放射性物質検査およびVHSに対する健康証明書の発行を行った。放射性物質検査は、ブリ、マダイ等22魚種を対象に計1182検体で実施した(表31)。健康証明書は、マダイおよびブリを対象に計294件の発行を行った(表32)。

表28 *Vibrio anguillarum*分離株の各種薬剤に対するMIC値( $\mu$ g/mL)の分布

薬剤名	<0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	256<	計
ABPC									3					3
OTC			3											3
TP					3									3
FF		2	1											3
EM								3						3
LCM										3				3

表29 *Edwardsiella tarda*分離株の各薬剤に対するMIC値( $\mu$ g/mL)の分布

薬剤名	<0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	256<	計
ABPC		5	19						1	3	1			29
OTC			1	16	1				4	4	3			29
TP			20		1	1	2	1			1	2	1	29
FF			23	2			3	1						29
OA	23				3	3								29
BCM							1	24	4					29
FOM				10	12	3	4							29

表30 医薬品残留検査状況

対象魚種	採取年月日	対象地域	平均体重(g)	対象医薬品の名称	検査部位	検体数	結果
ブリ	H30.2.7	宇和島	6,270	アルキルトリメチルアンモニウムカルシウムオキシテトラサイクリン アンピシリン	筋肉	5	陰性
マダイ	H30.2.2	愛南	1,231	塩酸オキシテトラサイクリン	筋肉	5	陰性
ヒラメ	H30.1.10	宇和島	900	塩酸オキシテトラサイクリン	筋肉	5	陰性

表31 輸出水産物放射性物質検査状況

月	検体数
4月	127
5月	136
6月	110
7月	93
8月	76
9月	86
10月	115
11月	93
12月	101
1月	86
2月	61
3月	98
計	1182

表32 韓国輸出に伴う健康証明書発行実績

月	健康証明書発行数
4月	21
5月	23
6月	21
7月	15
8月	10
9月	5
10月	10
11月	25
12月	54
1月	42
2月	38
3月	30
計	294