

県内におけるサケ科魚類のウイルス性旋回病様疾病の発生事例について

誌名	埼玉県水産試験場研究報告
ISSN	03889106
著者名	鈴木,邦雄 鈴木,栄 大友,芳成
発行元	埼玉県水産試験場
巻/号	56号
掲載ページ	p. 26-30
発行年月	1998年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



県内におけるサケ科魚類のウィルス性 旋回病様疾病の発生事例について

Examples of Outbreaks of Viral Disease Like Viral Whirling Disease
on cultured Salmonids in Saitama Prefecture

鈴木邦雄・鈴木栄・大友芳成

県内のサケ科魚類のウィルス病は、IPN、IHNの2種のみが確認されており、近年の検査結果では、すべてがIHNである¹⁻³⁾。ウィルス病の診断は、主に株化細胞を用いたCPEの観察による推定診断で行なっているが、抗血清を用いた中和試験による確定診断を併せて実施している。

1996年度、ウィルス病の検査を行ったところ、県内発生⁴⁾の2種類のウィルス病に明瞭に当てはまらない事例が現れた。これらの発生事例・検査事例を報告する。

材料及び方法

調査対象養魚場 1996年4月から県内において、種苗の魚病検査または魚病の発生により診断依頼を受けた養鱒業者とした。

養殖環境等の把握 病魚の検査時に、対象養魚場の池面積、水温、水量等を測定した。

発病状況等の把握 発病の開始から終息までの死亡尾数の把握は、養魚者に依頼した。

病魚の検査 ウィルス病が疑われた魚は、冷蔵して当场へ持ち帰り、平均体重を測定した。その後、5g程度の魚は5尾を1検体として腎臓、脾臓を約1g採取し、1g以下の魚は5尾を1検体として頭部を除いた全身を約1g採取して、市販のMEM培地にFBSを2%添加したtris緩衝系の培養液（以下「MEM2」という）で10倍に希釈して、ガラス製ホモジナイザーで磨砕した。磨砕液は、冷却遠心器（4℃、4000回転/分）で20分間遠心した後、上澄み液を0.45μmのメンブレンフィルターで濾過し、MEM2で5倍に希釈した（採取から50倍希釈）。これをウィルス検査液とし、株化細胞に0.1ml接種した。

株化細胞には、継代数80~90のRTG-2を用いた。株化細胞の培養には、市販のMEM培地にFBSを10%添加したtris緩衝系の培養液（以下「MEM10」という）を用い、容量70mlの密栓容器に細胞液を5ml入れ、15℃で2~2.5週間培養した。検査は、検査液を株化細胞に植え付けた後、15℃で5~10日間培養を行い、細胞のCPEを観察した。CPEの現れたものの中から一部を、濾過せずに再度株化細胞に植え付け、継代した。

中和試験は、日本水産資源保護協会より配布を受けたIHN抗血清（ATCC VR-714抗体価160）をMEM2で10倍に希釈し、96穴のマイクロプレートを用いて、定法に従って行った。

IHNの確定診断ができなかった一部のサンプルは、北海道大学水産学部海洋生物資源化学科（吉水教授）に送付し、検査を依頼した。

鰓や肝臓の貧血、体側に潰瘍が見られ、冷水病が疑われるものについては、腎臓から釣菌し、改変サイトファーガ培地に植えて、15℃で4~5日間培養した後、冷水病抗血清を用いてスライド凝集反応で判定した。抗血清には、全国養鱒技術協議会魚病対策研究部会より配布を受けたものを用いた。

結果

発病状況 1996年8月以降、ウィルス病が10件確認された。魚種はニジマスで、病魚の平均体重は0.4~54.6g、うち20g以下の稚魚は9件であった。死亡率は2.9~93.8%で、発病期間は約2~5週間であった(表1)。発生した飼育池の環境は、水温は11.4~17.0℃、換水率は0.18~0.74回/h、飼育密度は面積比1.1~5.0kg/m²、注水量比28.0~132.9kg/ℓ/secであった(表2)。

冷水病との関連では、5件が混合感染であった。そのうち4件がスルフィソゾール投与を行ったが、死亡魚数の急減が1件、漸減が1件、変わらずが2件であった。ウィルス病単独の感染例では、餌止めで漸減が2件、変わらずが2件、塩浴で変わらずが1件、特に対処せず、自然に無くなった例が1件あった。対処後、死亡数が急減したのが1件あったが(症例7)、これはIHNウィルス汚染水を注水しながら約20℃の加温飼育を行い、常温に戻した直後にウィルス病と冷水病の混合感染により発病した例である。それ以外は、効果的な対処例は特になかった(表3)。

表1 ウィルス病の発生状況

症例No.	養魚場	魚種	平均体重(g)	発生日(月/日)	終息日(月/日)	飼育尾数(尾)	死亡尾数(尾)	死亡率(%)
1	C	ニジマス	15.3	8/13	9/10	16000	4670	29.2
2	T	ニジマス	5.0	8/17	9/26	16000	4121	25.8
3	T	ニジマス	8.5	8/29	9/10	13000	409	3.2
4	T	ニジマス	6.3	10/8	10/20	9800	535	5.5
5	C	ニジマス	7.1	1/12	1/31	6000	3600	60.0
6	C	ニジマス	7.0	1/16	2/10	6000	3000	50.0
7	T	ニジマス	5.5	1/9	2/15	14000	401	2.9
8	C	ニジマス	54.6	1/21	2/25	7300	1100	15.1
9	T	ニジマス	0.5	2/3	2/23	80000	75000	93.8
10	T	ニジマス	0.4	2/11	2/25	70000	43000	61.4

表2 ウィルス病の発生環境

症例No.	養魚場	魚種	平均体重(g)	発生水温(℃)	注水量(ℓ/sec)	池面積(m ²)	池水深(m)	換水率(回/h)	飼育密度(kg/m ²)	飼育密度(kg/ℓ/sec)
1	C	ニジマス	15.3	17.0	6.0	176.0	0.7	0.18	1.4	40.8
2	T	ニジマス	5.0	11.8	2.0	20.0	0.7	0.51	4.0	40.0
3	T	ニジマス	8.5	13.5	2.0	40.0	0.7	0.26	2.8	55.3
4	T	ニジマス	6.3	12.0	2.0	16.2	0.8	0.56	3.8	30.7
5	C	ニジマス	7.1	14.0	1.5	39.0	0.5	0.28	1.1	28.4
6	C	ニジマス	7.0	14.0	1.5	39.0	0.5	0.28	1.1	28.0
7	T	ニジマス	5.5	11.4	2.0	20.0	0.7	0.51	3.9	38.5
8	C	ニジマス	54.6	14.0	3.0	80.0	0.8	0.17	5.0	132.9
9	T	ニジマス	0.5	14.0	1.0	9.7	0.5	0.74	3.7	36.0
10	T	ニジマス	0.4	14.0	1.0	9.7	0.5	0.74	2.9	28.0

表3 冷水病との混合感染及び対処

症例No.	養魚場	魚種	平均体重(g)	冷水病との混合感染	対処	対処後の死亡状況	死亡率(%)	備考
1	C	ニジマス	15.3	-	餌止め	漸減	29.2	
2	T	ニジマス	5.0	-	餌止め	漸減	25.8	
3	T	ニジマス	8.5	+	特に無し		3.2	
4	T	ニジマス	6.3	+	*SI投与	漸減	5.5	
5	C	ニジマス	7.1	+	SI投与	変わらず	60.0	ビブリオワクチン済
6	C	ニジマス	7.0	-	餌止め	変わらず	50.0	ビブリオワクチン済
7	T	ニジマス	5.5	+	SI投与	急減	2.9	加温飼育後
8	C	ニジマス	54.6	-	1%塩浴2h	変わらず	15.1	
9	T	ニジマス	0.5	+	SI投与	変わらず	93.8	
10	T	ニジマス	0.4	-	餌止め	変わらず	61.4	

病魚の症状は、ほとんどが鰓に貧血が見られ、眼球突出や体色黒化、各部位の出血を伴っていた。解剖所見では、肝臓・腎臓の貧血、消化管の炎症が見られていた(表4)。また、症例NO.2~4のT養魚場のものは、横泳ぎなどの異常遊泳が見られた。

CPEの観察結果 症例NO.1~7は、細胞がばらけず、楕円形もしくは不定型に剝離した。IHN特有のブドウ状の細胞の塊は見られず、核は明瞭で大型化していた。症例NO.8~10は、細胞がばらけて球形化し、いたるところでブドウの房状の細胞の塊もみられた。核は、明瞭には見られなかった。これらのCPEの観察では、症例NO.1~7はIHNと診断することに疑問が残った(図1、2)。症例NO.8~10は、CPEが顕著にIHN様であった(表5)。

表4 病魚の症状

症例No.	養魚場	魚種	池での状況	外部観察	解剖所見
1	C	ニジマス	排水部へよる	鰓貧血、眼球突出、体色黒化	肝・腎貧血、消化管炎症
2	T	ニジマス	池底静止	鰓貧血、眼球突出、体色黒化	肝・腎貧血、消化管炎症
3	T	ニジマス	池底静止	鰓貧血、眼球突出、体色黒化	腎貧血、消化管炎症
4	T	ニジマス	水面浮上	鰓貧血、眼球突出、体色黒化	肝・腎貧血
5	C	ニジマス	排水部へよる	鰓貧血、眼球突出、体色黒化	肝・腎貧血、消化管炎症
6	C	ニジマス	排水部へよる	鰓貧血、眼球脱落	肝貧血、消化管炎症
7	T	ニジマス	水面浮上	鰓基部・口蓋出血、体色黒化	肝貧血
8	C	ニジマス	注水部へよる	鰓貧血・鰓点状出血、体側出血	肝貧血
9	T	ニジマス	排水部へよる	鰓貧血、鰓基部出血	肝・腎貧血
10	T	ニジマス	排水部へよる	鰓貧血、眼球出血	肝・腎貧血、消化管炎症

表5 CPEの観察とIHN診断

症例No.	養魚場	魚種	細胞の形	CPE ブドウ状化	核	* IHN診断
1	C	ニジマス	非球形・楕円形	—	大型、明瞭	△
2	T	ニジマス	非球形・楕円形	—	大型、明瞭	△
3	T	ニジマス	非球形・楕円形	—	大型、明瞭	△
4	T	ニジマス	非球形・楕円形	—	大型、明瞭	△
5	C	ニジマス	非球形・楕円形	—	大型、明瞭	△
6	C	ニジマス	非球形・楕円形	—	大型、明瞭	△
7	T	ニジマス	非球形・楕円形	—	大型、明瞭	△
8	C	ニジマス	球形	+	不鮮明	○
9	T	ニジマス	球形	+	不鮮明	○
10	T	ニジマス	球形	+	不鮮明	○

*○は顕著にIHN様、△は顕著ではない。

そこで、診断が明瞭でなかった症例3の継代株の検査を、北海道大学水産学部に依頼したところ、IHNウイルスとレトロウイルス科のウイルスの混合感染であることが確認された。

IHN抗血清による中和試験の結果 7件の症例で中和試験を実施したところ、陽性となったのは、症例NO.2, 3, 5, 7, 8の5件であった。ただし、症例NO.8では、原検体と継代株(1代)で実施したが、結果が一致しなかった(表6)。CPEと中和試験の双方でIHN陽性となったのは、8検体中(件数は7件)で症例NO.8の1検体のみであった(表7)。

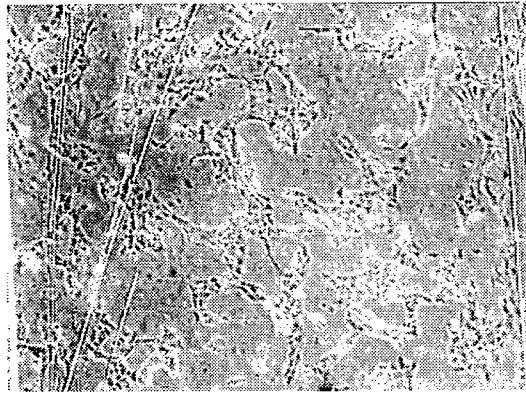


図1 IHN様ではないCPE (症例No.3)

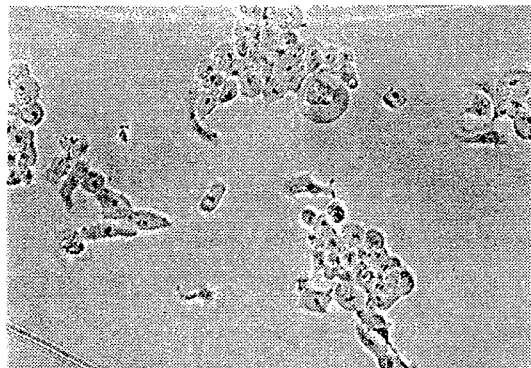


図2 楕円形、不定形で剥離するCPE (症例No.4)

表6 IHN中和試験の結果

症例No.	養魚場	魚種	試験株	力価 (TCID ₅₀)		logA - logB値	判定
				正常血清値(A)	希釈抗血清値(B)		
1	C	ニジマス	継代株	10 ^{7.0}	10 ^{7.0}	0	-
2	T	ニジマス	継代株	10 ^{6.5}	10 ^{4.5}	2.0	+
3	T	ニジマス	原検体	10 ^{6.0}	10 ^{2.0}	4.0	+
4	T	ニジマス	原検体	10 ^{6.5}	10 ^{7.0}	-0.5	-
5	C	ニジマス	継代株	10 ^{7.0}	10 ^{6.0}	1.0	+
7	T	ニジマス	継代株	10 ^{7.0}	10 ^{2.5}	4.5	+
8	C	ニジマス	原検体	10 ^{4.9}	10 ^{2.1}	2.8	+
8	C	ニジマス	継代株	10 ^{7.0}	10 ^{7.0}	0	-

表7 CPEと中和試験でのIHN診断の比較

症例No.	養魚場	魚種	CPEによる診断	中和試験による診断
1	C	ニジマス	△	- (継代株)
2	T	ニジマス	△	+ (継代株)
3	T	ニジマス	△	+ (原検体)
4	T	ニジマス	△	- (原検体)
5	C	ニジマス	△	+ (継代株)
6	C	ニジマス	△	NT
7	T	ニジマス	△	+ (継代株)
8	C	ニジマス	○	± (原検体、継代株)
9	T	ニジマス	○	NT
10	T	ニジマス	○	NT

考 察

ウィルス病による魚病被害10件の検査で、CPEの観察では7件がIHN様でないか顕著でなかった。CPEの観察と中和試験で、一致した例が症例NO. 8の原検体1件しかなかったことから、IHN単独のウィルス感染症でない可能性が出てきた。死亡率も、症例NO. 3, 4, 7の3件が10%にまで達せず、通常のIHNの死亡状況と若干異なっている。ただし、症例NO. 7は、IHNウィルス汚染水を入れて加温飼育した後に感染したもので、IHNの被害は軽く、併発した冷水病が投薬で完治したため、死亡率が低かったものと思われる。

症例NO. 1～8のCPEは、1995年に異常遊泳をしているギンザケ、ニジマス、イワナ、アユの脳及びサクラマスの体腔液から分離されたウィルスのCPE⁴⁾と著しく似ており、特に症例NO. 2～4のニジマスではこの異常遊泳が見られた。症例NO. 3では、IHNの他にこのウィルス(レトロウィルス)の関与が確認されたが、本県では初めてである。IHNの抗血清による中和試験陰性で、CPEが疑わしい症例NO. 1と4はこのウィルスによる単独感染症(ウィルス性施回病)と考えられる。同ウィルスについては、浸漬感染試験で60日間の死亡率6～34%と病原性が見られるため⁵⁾、感染症例も出てくるはずである。一方、中和試験陽性でCPEが疑わしい症例NO. 2, 3, 5, 7は、IHNとこのウィルスの混合感染とも考えられる。いずれにしても、このウィルスがCPEの観察や中和試験による診断を困難にさせているとすると、今後のIHNの診断にも注意が必要である。

さらに、このウィルスは5～25℃で増殖するため⁴⁾、県内でIHN対策として実施している加温循環飼育(20℃)にも影響がでてくる。今回は、加温循環飼育中にウィルス病の発生は見られなかったが、今後、この加温循環飼育時のウィルス病の防疫対策を講じなければならない。

要 約

- 1 1996年8月から1997年2月にかけて、2業者でウィルス病が10件発生した。
- 2 魚種はニジマスで、サイズは0.4～54.6gで、稚魚がほとんどであった。
- 3 被害状況は、死亡率で2.9～93.8%と範囲が広がった。
- 4 IHNと診断できたのは、CPEの観察では10件中3件、中和試験では8検体中(7件)5検体(5件)であった。中和試験陽性中、CPEもIHN様であったのは、1件のみであった。
- 5 一部の検体の検査を大学へ依頼したところ、本県で初めてレトロウィルス科のウィルスが確認された。

文 献

- 1) 埼玉県水産試験場：平成7年度業務報告、55～57 (1995)
- 2) 埼玉県水産試験場：平成8年度業務報告、61～63 (1996)
- 3) 鈴木邦雄・鈴木栄・大友芳成：本誌、55、14～25 (1996)
- 4) 呉 明柱・吉水 守・木村嵩久・絵面良男：魚病研究、30(1)、23～32 (1995)
- 5) 呉 明柱・吉水 守・木村嵩久・絵面良男：魚病研究、30(1)、33～38 (1995)