

# アユ冷水病対策協議会取りまとめ

平成20年3月  
アユ冷水病対策協議会

**農林水産省**



# 目 次

	頁
1. はじめに	1
2. アユ冷水病の発生状況等	1-5
(1) 発生の経緯	
(2) アユ冷水病の主な特徴	
(3) アユ冷水病の取り組み体制	
(4) 天然水域におけるアユ冷水病発生状況	
(5) 養殖場におけるアユ冷水病発生状況	
3. アユ冷水病研究の状況	6-8
(1) アユ冷水病菌の性状・特徴等	
① アユ冷水病菌の性状・特徴	
② アユ冷水病菌の検出方法	
③ アユ冷水病菌の病原性	
④ 血清型	
⑤ 遺伝子型	
(2) 感染環の解明等	
4. 防疫対策の取り組み	8-10
(1) 各都道府県における取り組み	
(2) 漁協での取り組み	
(3) 来歴カードの普及状況	
(4) 「アユ冷水病防疫に関する指針」の改訂	
(5) 「釣り人の皆さんへ（リーフレット）」の作成・配布	
5. 予防・治療対策	10-18
(1) 医薬品	
(2) 加温処理	
① 加温処理	
② 加温処理後の免疫獲得	
(3) ワクチン	
① ワクチン製造用株の性状等	
② 注射ワクチン	

- ③経口ワクチン
- ④浸漬ワクチン
- ⑤生ワクチン
- (4)耐病性アユ
- (5)卵消毒

6. 今後の対応 . . . . . 18-21

(1)防疫対策

- ①各都道府県における対策強化
- ②関係者への普及・啓発
  - ア. 来歴カード
  - イ. 釣り人への広報
  - ウ. 冷水病に強いアユ種苗生産の可能性の検討

(2)予防・治療対策

- ①加温処理
- ②ワクチン開発

(3)平成20年度以降の取り組み

7. あゆ種苗来歴カード（例） . . . . . 23

## 1. はじめに

アユ冷水病は、養殖アユ、河川の天然アユ共に発生し、アユ冷水病対策が内水面漁業等において課題となっており、平成19年3月に閣議決定された水産基本計画でも、内水面漁業・養殖業での課題の一つとして位置づけられ、疾病対策の推進によりの確な対応をすることとされている。

アユ冷水病対策については、従来、研究部門を主体とした対応がなされてきたが、平成13年度からは、行政部門も加えた、国、都道府県、全国内水面漁業協同組合連合会等で構成する「アユ冷水病対策協議会」を組織し、アユ冷水病対策に取り組み、平成16年3月にとりまとめを行った。

アユ冷水病対策協議会として2期目となった平成16年度以降は、平成15年の組織改革に伴い、消費・安全局が事務局になるとともに、新たに遊漁関係団体が加わり、引き続きアユ冷水病対策に取り組んできた。

今般、アユ冷水病対策協議会の4年間の成果を取りまとめたので報告する。

## 2. アユ冷水病の発生状況等

### (1) 発生の経緯

冷水病は、もともと北米のマスの病気で、低水温期の稚魚に発生し、死亡率が高いことから、**bacterial coldwater disease** と呼ばれていた。

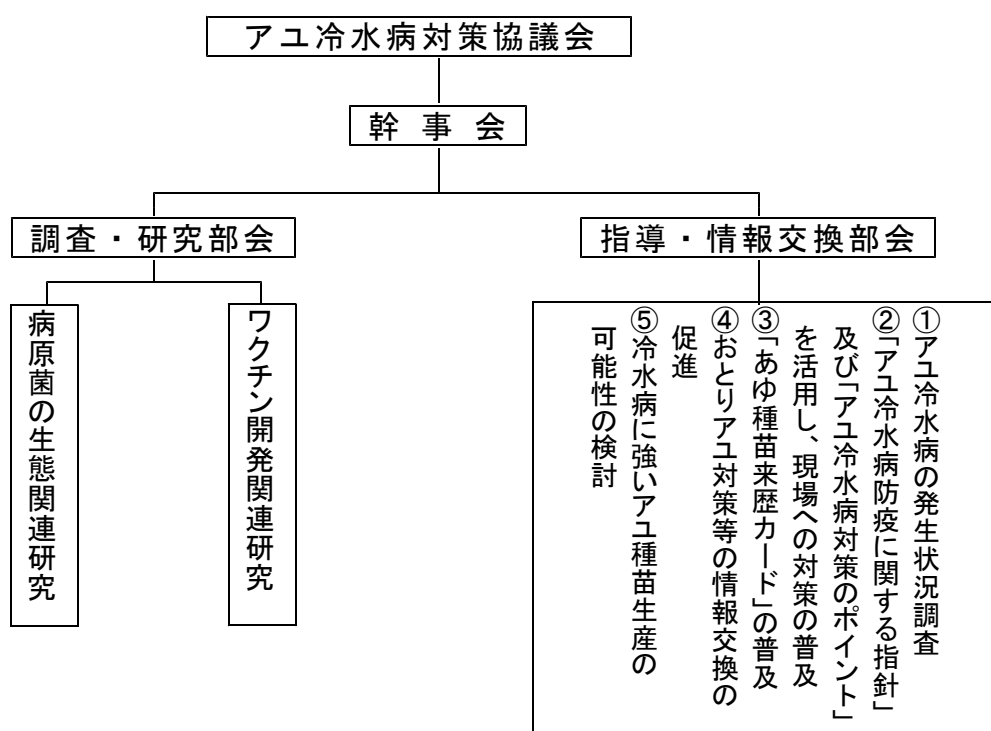
我が国ではギンザケ、ニジマスに昭和60年(1985年)頃からみられるようになったが、アユでは昭和62年(1987年)に徳島県の養殖場で発生したアユの疾病について、平成4年に日本魚病学会において、当該疾病がアユ冷水病である旨の研究報告が発表された。その後、平成8年～9年頃から、河川での発生報告が相次いだ。また、オイカワを始め、アマゴ、ヤマメ、イワナ、コイ、ギンブナ、ウグイ、ウナギなどの淡水魚からの冷水病菌分離が報告されている。ただし、アユ由来株と他魚種由来株とは血清型が異なることが報告されている。

### (2) アユ冷水病の主な特徴

アユ冷水病は、フラボバクテリウム・サイクロフィラム (*Flavobacterium psychrophilum*) という細菌による疾病であり、鰓・肝臓・腎臓の貧血、体表の白濁、鰓蓋下部、下顎の出血の他、体表の潰瘍等の穴あき症状を特徴とするが、症状が認められないこともある。なお、アユにこの病気が確認された当初は、冷水病の発生は稚魚期の低水温期に限定されていたが、最近の傾向では、すべての成長段階で発生しており、発生水温も16～20℃が中心となっている。実験的には飼育水温を8、15、19及び24℃に設定し、自然発病の冷水病の発病状況を観察した結果、24℃では発生はなく、8、15、19℃間では水温の低下で発症は遅延したため、病勢は19℃で最も高くなるのではないかと推察される結果が得られている。

### (3) アユ冷水病の取り組み体制

アユ冷水病については、平成6年度から9年度まで水産庁の指導により関係県によるアユの冷水病関係地域合同検討会を、平成10年度から12年度まで関係都府県の研究機関、全国内水面漁業協同組合連合会等を構成員とするアユ冷水病対策研究会を、平成13年度から15年度までは都道府県の関係部局、全国内水面漁業協同組合連合会等を構成員とするアユ冷水病対策協議会を、16年度からは組織改革により消費・安全局が事務局になり、アユ冷水病対策協議会として継続開催することとし、アユ冷水病に関する共同研究及びまん延防止策を実施してきた。



### (4) 天然水域におけるアユ冷水病発生状況

アユ冷水病対策協議会では、アユの生息状況や冷水病発生状況を把握するため、都道府県の水産部局に対するアンケート調査を平成16年度以降も毎年実施した。なお、回答に際し水域数の集計単位については、河川数を基本としたが、困難な場合には漁協数とした。

平成19年度における全国のアユ生息水域数は680水域であり、平成15年度のそれより11水域減少した。そのうち遡上アユが確認されているのは平成15年度より12水域増加し473水域であり、遡上アユのみが生息しているのが59水域であった。一方、遡上が認められない207水域については種苗放流が行われ、アユ遡上水域も含め621水域（アユ生息水域の91.3%）で放流が行われた（表1）。

表1 天然水域におけるアユの生息状況

年度(平成)	19							15	
地域区分	北海道・東北	関東・甲信越	中部・北陸	近畿	中国・四国	九州・沖縄	合計	合計	
生息水域数 (都道府県数)	127 (7)	107 (10)	168 (7)	87 (6)	107 (9)	84 (8)	680 (47)	691 (47)	
種苗の由来									
遡上のみ	4	1	42	1	1	10	59	75	
遡上+放流	94	47	98	42	65	68	414	386	
放流のみ	29	59	28	44	41	6	207	230	
生息湖沼数 (都道府県数)	1 (1)	5 (5)	7 (3)	12 (4)	2 (2)	12 (5)	39 (20)	27 (14)	

平成19年度における全国のアユ冷水病発生状況は、病原体分離、現地調査・症状、漁協からの情報等によると、生息水域全体の21.2%（33県、144水域）で確認された。この発生率と発生水域数は平成15年度（それぞれ27.4%、189水域）をピークに減少傾向である（表2、表3）。

表2 河川におけるアユ冷水病発生水域数の推移

確認方法	年度(平成)	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
a 病原体分離等で確認したもの		1	7	2	16	29	54	36	52	58	97	71	54	81	56	41
b 現地調査・症状から確認したもの		0	0	2	11	11	9	7	13	9	14	18	16	4	9	20
c 漁業協同組合等の情報から確認したもの		8	33	47	50	36	25	35	73	68	76	100	54	64	86	83
発生水域数		9	40	51	77	76	88	78	138	135	187	189	124	149	151	144
発生率(%) = 発生水域数 / 生息水域数 × 100							15.2	13.3	22.2	21.1	26.3	27.4	17.7	21.7	21.5	21.2

表3 河川におけるアユ冷水病発生都道府県数の推移

確認方法	年度(平成)	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
a 病原体分離等で確認したもの		1	6	2	10	18	22	21	23	26	32	27	26	27	24	22
b 現地調査・症状から確認したもの		0	0	1	6	5	5	5	9	6	9	10	8	3	6	9
c 漁業協同組合等の情報から確認したもの		2	4	6	8	7	9	14	23	16	22	23	17	21	19	22
発生都道府県数		1	6	3	16	23	27	26	24	27	34	30	26	33	31	33
発生率(%) = 発生都道府県数 / 全都道府県数 × 100		2.1	12.8	6.4	34.0	48.9	57.4	55.3	51.1	57.4	72.3	63.8	55.3	70.2	66.0	70.2

また、天然遡上の有無や放流種苗の種類と冷水病の発生状況については、天然遡上の認められる水域において人工産種苗を放流した場合や、遡上が認められない水域において人工種苗を放流した場合の発病件数が、調査件数が多いことから多い傾向にあった（表4）。

表4 種苗の種類と冷水病発生件数内訳※

種苗の種類	種苗の組み合わせ																				計			
	天然遡上(海産・湖沼)	人工産	琵琶湖産	海産	不明・その他	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5				
天然遡上(海産・湖沼)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○				
人工産		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○				
琵琶湖産			○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○				
海産				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○				
不明・その他					○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○				
発生件数(平成年度)	0	19	2	1	1	0	12	0	1	0	0	0	20	1	0	0	1	0	0	2	0	1	0	61
	0	23	0	1	0	0	15	0	1	0	0	0	13	1	4	0	4	0	0	2	0	1	0	65
	0	23	3	5	0	0	16	1	1	1	1	0	19	3	5	0	0	0	1	3	0	0	0	82
	0	12	5	5	0	0	12	0	1	0	6	0	14	3	5	1	1	0	0	2	1	1	0	69
	0	27	8	8	0	0	7	3	0	1	1	0	21	6	4	0	1	0	0	2	0	0	0	89
	0	18	10	3	0	0	13	4	0	1	1	0	30	10	7	1	2	0	0	1	1	1	0	103
	0	12	10	9	0	0	6	0	1	0	3	1	6	8	2	0	0	0	0	3	1	2	0	64

※ 漁協の聞き取りによる発病推定を除く

冷水病の発生開始時期については、平成19年度における130例の発生報告では、発生時期が5～11月であり、解禁前の発生が33件、解禁後が97件で、例年同様6～7月に発生がピークとなっていた。平成15年度における171例の報告では、時期が4～10月であり、解禁前が73件、解禁後が98件で、6月が全体の40.9%を占めていた（表5）。

表5 冷水病の発病開始月別件数

発生月	平成19年度			平成15年度		
	解禁前	解禁後	計	解禁前	解禁後	計
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	4	0	4
5	21	2	23	38	1	39
6	10	35	45	27	43	70
7	2	53	55	4	38	42
8	0	4	4	0	9	9
9	0	1	1	0	4	4
10	0	1	1	0	3	3
11	0	1	1	0	0	0
計	33	97	130	73	98	171

表6 開始水温別の冷水病発病件数

水温(°C)	件数	
	平成19年度	平成15年度
9≦～<10	0	0
10≦～<11	1	0
11≦～<12	0	1
12≦～<13	0	3
13≦～<14	4	7
14≦～<15	6	7
15≦～<16	9	11
16≦～<17	9	17
17≦～<18	10	18
18≦～<19	17	14
19≦～<20	6	6
20≦～<21	6	10
21≦～<22	3	0
22≦～<23	1	0
23≦～<24	0	0
24≦～<25	0	2
計	72	96

発生時の水温については、平成19年度では72件のうち、発病開始水温は10～22℃であり、例年どおり18℃をピークとして14～21℃の発生が多く、平均発病水温は17.0℃であった。平成15年度では96件のうち、開始水温は11～25℃の間にあり、17℃前後での発生例が多い傾向にあった（表6）。

#### （5）養殖場におけるアユ冷水病発生状況

平成19年度におけるアユ養殖を行っている都道府県数は41府県で、その養殖場数は325カ所であり、内訳としては大型養成と人工中間飼育が多かった。養殖場数は平成10年度の473カ所をピークに減少している（表7、表8）。

平成19年度における冷水病の発生都道府県数は22県であり、発生養魚場数は10月末時点において109カ所で、内訳としては例年どおり大型養成が最も多かった。平成10年度以降、発生養殖場数は漸増漸減を繰り返しながら減少している（表8）。

平成19年度における発生養魚場数全体の発生率は33.5%で、内訳は例年どおり仕立てと大型養成が高かった。平成13年度以降、仕立ての発生率は高率で推移している（表9）

表7 アユ養殖都道府県数

ブロック／年度(平成)	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
北海道・東北 (7)	6	7	7	7	7	7	6	6	6	6	6	6	6	6	6
関東・甲信越 (10)	9	9	9	9	10	10	10	10	10	9	8	8	8	8	8
中部・北陸 (7)	4	4	5	5	6	6	6	6	6	7	7	7	7	7	7
近畿 (6)	6	6	6	6	6	6	6	6	6	5	5	4	4	5	5
中国・四国 (9)	7	7	8	7	8	9	9	9	9	9	9	9	9	8	9
九州・沖縄 (8)	6	7	7	7	7	7	7	7	7	6	6	5	5	5	6
合計 (47)	38	40	42	41	44	45	44	44	44	42	41	39	39	39	41

表8 アユ養殖場における冷水病発生の推移(養殖場数)

形態別／年度(平成)	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
養殖場数	392	401	402	390	467	473	466	458	435	437	396	374	362	339	325
①人工種苗生産	24	25	28	27	33	40	47	47	46	46	49	46	47	48	46
②人工中間飼育	40	41	47	48	65	74	94	99	99	124	120	118	121	127	123
③仕立て	57	59	53	60	66	69	66	59	59	71	61	61	65	50	48
④大型養成	264	270	257	250	264	267	278	276	311	278	262	249	228	210	199
⑤蓄養	7	6	7	6	15	14	10	12	17	39	17	10	12	16	15
発生養殖場数	114	126	140	138	171	172	133	135	159	149	136	115	112	125	109
①人工種苗生産	6	7	6	9	11	11	9	7	6	7	8	7	5	5	9
②人工中間飼育	9	9	16	18	19	25	20	25	24	30	16	23	29	41	29
③仕立て	5	5	8	16	14	14	13	9	47	56	48	34	35	39	33
④大型養成	86	97	94	97	110	104	90	89	123	116	112	100	96	96	82
⑤蓄養	2	2	2	2	6	4	2	4	5	4	4	2	3	4	3

表9 発生率から見たアユ養殖場における冷水病発病の推移(養殖場数) (%)

養成別／年度(平成)	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
発生養殖場数	29.1	31.4	34.8	35.4	36.6	36.4	28.5	29.5	36.6	34.1	34.3	30.7	30.9	36.9	33.5
①人工種苗生産	25.0	28.0	21.4	33.3	33.3	27.5	19.1	14.9	13.0	15.2	16.3	15.2	10.6	10.4	19.6
②人工中間飼育	22.5	22.0	34.0	37.5	29.2	33.8	21.3	25.3	24.2	24.2	13.3	19.5	24.0	32.3	23.6
③仕立て	8.8	8.5	15.1	26.7	21.2	20.3	19.7	15.3	79.7	78.9	78.7	55.7	53.8	78.0	68.8
④大型養成	32.6	35.9	36.6	38.8	41.7	39.0	32.4	32.2	39.5	41.7	42.7	34.1	42.1	45.7	41.2
⑤蓄養	28.6	33.3	28.6	33.3	40.0	28.6	20.0	33.3	29.4	10.3	23.5	30.0	25.0	25.0	20.0

### 3. アユ冷水病研究の状況

#### (1) アユ冷水病菌の性状・特徴等

##### ①アユ冷水病菌の性状・特徴

原因菌 *Flavobacterium psychrophilum* はグラム陰性好気性長桿菌（長さ 1.5 ～ 7.5  $\mu\text{m}$ ）であり、寒天平板上に黄色のコロニーを作る。滑走運動能力が極めて弱いため、一つの寒天平板上の同じ菌株のコロニーにも辺縁のスムーズなものといレギュラーなもの（樹根状構造）が混在する。発育は遅く、サイトファーガ寒天培地で 18℃で 5 日間ほどを要する。発育温度は 4 ～ 23℃で、30℃では発育せず、多くの菌株は 25℃でも発育しない。食塩濃度 2%では発育しない。カタラーゼ及びチトクロームオキシダーゼは陽性で、ブドウ糖や他の炭水化物を利用しないが、カゼインやゼラチンを分解する。

##### ② アユ冷水病菌の検出方法

アユ冷水病菌を検出する方法としては、検体から菌の分離後、抗血清または PCR により確認する方法が一般的である。PCR の改良により、環境水や魚体の組織（体表、鰓、腎臓など）から直接冷水病菌を確認できる場合もある。

冷水病菌の分離には、通常、改変サイトファーガ培地を用いて、黄色いコロニーを目安に分離し、抗血清または PCR 等により冷水病菌であることを確認する。しかし、体表や鰓などからの分離では雑菌の繁殖により、冷水病菌の分離が困難になる場合が多い。抗生物質であるトブラマイシンを 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  加えることで、雑菌の発育を抑制することができる。

冷水病菌と思われる菌を分離後、抗血清を用いたスライド凝集反応で、冷水病菌であることを確認することができる。また、病魚のスタンプ標本や病理組織標本（体表、鰓、腎臓など）を用いて、蛍光抗体法や酵素抗体法により直接病魚から冷水病菌を検出することが可能である。しかし、現在利用されている抗血清（診断液）は、水中の雑菌と交差反応することが報告されており、冷水病菌に特異性の高い抗血清を作製することが必要である。

PCR 等によって、冷水病菌と思われる菌を分離後、その菌が冷水病菌であることを確認できる。また、病魚の組織（体表、鰓、腎臓など）から直接冷水病菌を検出することができる。これまで、いくつかの PCR 等が報告されている。しかし、特に魚体から直接冷水病菌を検出する場合には、冷水病菌を見逃したり、冷水病菌以外の菌の遺伝子を増幅する可能性は否定できず、1 つの PCR 等で判定できるように、感度・特異性ともにより高い PCR 等を開発する必要がある。

##### ③アユ冷水病菌の病原性

アユの体表にわずかな擦過傷を作り、冷水病菌に浸漬感染させると、擦過傷を作った部分にのみ、河川で発病したアユにしばしば認められる「穴あき」

症状が形成されることから、冷水病菌は体表に何らかの傷がある部位にのみ感染し、正常な皮膚には感染しないものと考えられる。また、冷水病に感染して瀕死状態のアユは明らかに貧血状態であり、この貧血は病変部からの体外への出血によると判断される。冷水病菌は血液凝固の際形成されるフィブリンを分解する酵素を産生することから病変が治癒しにくく、そのため出血に繋がると考えられる。以上のことから、冷水病は体表のわずかな傷から感染し、最終的には多くの場合、出血によって死に至らしめると思われる。

#### ④血清型

冷水病菌は共通抗原を持つものの、吸収血清による解析で血清型は大きく3つ(O-1型、O-2型及びO-3型)に分けることができる。ギンザケ由来株はO-1型、ニジマス由来株はO-3型に集中し、アユ以外の淡水魚由来株はO-1型またはO-3型になり、O-2型の菌株はアユ由来株のみであると報告されている。アユ由来株とそれ以外の株とは血清型が明らかに異なる。

#### ⑤遺伝子型

冷水病菌の遺伝子を、ジャイレース B 遺伝子を増幅させるユニバーサルプライマーを用いて PCR にかけて、冷水病菌のジャイレース B 遺伝子(1178 bp)に加え、未同定の 290bp の PCR 産物が得られ、制限酵素 *HinfI* による制限酵素断片長多型 (RFLP) 解析をすると、ジャイレース遺伝子の切断パターンには違いは認められないが、未同定の 290 bp 遺伝子の切断パターンには2つのパターン(A型及びB型)が認められる。しかし、この方法では再現性が低いことが問題であった。この 290 bp の対象遺伝子を同定したところ、peptidyl-prolyl cis-trans isomerase (PPIC、ロタマーゼの一種)であることが明らかになり、その塩基配列に基づき、再現性、特異性の優れた新たな PCR 法(ロタマーゼ法)が確立された。これまでの解析の結果、ワカサギ、オイカワ、アカザからの分離例が報告されてはいるものの、A型はほとんどがアユ由来株で構成され、B型にはアユを含むすべての淡水魚由来株が含まれる。しかし、アユからB型が検出された場合はほとんどが鰓など体表からであり、腎臓から検出されるのは常にA型であることから、アユに病原性を有するB型菌が分離された例もあるが、アユに病原性がある冷水病菌はA型に集中していると考えられる。なお、B型には、コイ科魚類由来のグループに加え、ギンザケ由来株を中心とするグループ(サケ科魚類の冷水病原菌標準株を含む)、ニジマス由来株を中心とするグループが存在するが、アユ由来B型の多くはコイ科魚類由来の菌株と同一グループに属する。

これ以外にも、いくつかの冷水病菌の遺伝子型分け法が報告されてはいるが、いずれの方法もアユに病原性を有する冷水病菌を明確に区別することはできない。

## (2) 感染環の解明等

これまでにアユ冷水病菌の保菌が疑われる放流種苗やおとりアユ等を河川へ持ち込むことにより、河川内での感染が広がる実態が多くの水域で確認されている。一方、保菌検査で陰性が確認された種苗やおとりアユを使用することで、河川内での感染を抑制し漁業被害を軽減できることが実証された。

他方、漁場として利用されず、放流も行われていない河川、あるいは、非保菌種苗を放流している河川でも冷水病が発症する事例が報告された。このため、アユが河川にいない時期に冷水病菌が河川に常在する異魚種中に存在し続けて、アユが遡上してきた時の感染源になるのか、また河川底泥や付着藻類などに潜んでいて、同じく感染源になるのかという二つの疑問が残されていた。多くの水域で詳細な調査が実施された結果、アユに対する病原性が確認されている A 型の冷水病菌は極まれにアカザ及びオイカワから検出された。しかし、他魚種から検出された冷水病菌のほとんどが、アユへの病原性の低い B 型であることから、他魚種が感染源になる可能性は極めて低い。同じく、冬季に付着藻類から検出されたアユ冷水病菌は主に B 型の冷水病菌であり、石の付着物（藻類や泥等）が主要な感染源である可能性は低いことが実証された。一方、最近、冬季に河川内で生き残った越年アユが A 型の冷水病菌を保有している事例が発見された。越年アユが翌年のアユ冷水病の感染源となるか否かは現時点では不明であり、越年アユが存在する河川では今後のモニタリング調査が必要である。

海から遡上した直後のアユから冷水病菌が発見された事例は発見されていない。また、冷水病菌は海水中では生存できない。したがって、野外ではアユ冷水病菌が親から子へ受け継がれる垂直感染の可能性は低く、これが感染源である可能性はほとんどないと考えられた。なお、現行の検査方法で検出できない程度の低い濃度の冷水病菌（感染している個体比率または個体当たりの冷水病菌数）を保有したアユが河川に持ち込まれている可能性も考えられることから、種苗生産の現場では卵消毒等のさらなる防除対策の徹底が必須である。

また、人工種苗の中には、地場の天然アユと比べて冷水病への耐病性が極めて低い場合があった。冷水病に対する耐病性は遺伝的にも決定されることが確認されており、地場産天然アユを親魚として活用することで人工種苗の耐病性及び放流効果が向上する事例が確認された。

## 4. 防疫対策の取り組み

### (1) 各都道府県における取り組み

都道府県においては、平成 16 年 3 月作成の「アユ冷水病防疫に関する指針」及び「アユ冷水病対策のポイント」を活用し、漁協ごとに具体的な対策を作成・実施するよう指導を行った。

また、人工種苗については、継代アユに海産アユを交配した場合に冷水病

に強いアユ種苗が作出されるとの知見が得られたことから、各都道府県の種苗生産現場において活用の可能性を検討することとした。

その結果、18年育成開始人工種苗では、回答のあった32県38施設のうち、22施設で継代アユと海産アユの交配、又は海産アユどおしでの交配が行われるとともに、他の施設でも、継代数が少ないアユを親魚として使用した取り組みが行われ、「海産アユと交配すると耐病性が強まる。これより海産アユどおしの交配の方が強い耐性がある。」といった評価が得られる一方、「明らかな傾向はない。」との評価もあり、評価が分かれた。

## (2) 漁協での取り組み

平成19年度において、漁協での取り組み状況についてアンケートを実施し、487漁協から回答を得た。

それによると、現場での対応状況では、「種苗アユの購入」、「輸送」、「放流時期の決定・放流時の注意」や「放流後の監視」については、概ね指針等に沿って実施されているが、「おとりアユ対策」や「釣り人の釣り用具の消毒対策」、「放流時の漁協間の連携」については、過半数の漁協が未実施と回答があった。

また、上記対応に対する評価としては、80%の漁協で「対策の効果有り」と回答あり、効果があった対策としては、「無病アユの確保と放流」(34%の漁協が選択)、「放流時期の決定」(同33%)の2つが最も高かった。一方、20%の漁協が「対策の効果なかった」とし、その理由としては、「無病アユの確保が困難」、「上流からの影響」、「釣り人が持ち込む」、「河川に冷水病菌が常在している」等の回答があった。

さらに、今後必要と考える対策としては、「無病アユの確保と放流」(同73%)、「放流時期の決定」(同56%)の2つが過半数の漁協から回答があり、効果があった対策と同様の回答であった。また、「おとりアユ対策」(同22%)や「釣り人の釣り用具の消毒対策」(同11%)等の遊漁対策関係では回答率が低かった。

## (3) 来歴カードの普及状況

アユ冷水病対策協議会では、種苗の生産、輸送、放流、養殖などの各段階における防疫対策の徹底を図る目的で来歴カードの普及を推進してきた。

平成19年度において、種苗放流が行われた625水域のカード回収状況については、全部238、一部97、無し290水域であった(表10)。来歴カードへの取り組みが認められる水域は全体の53.6%であり、平成15年度(55.4%)より若干低下した(表11)。地域別では北海道・東北地区が73.4%と他の地域より高い普及率となっている。一方、関東・甲信越地区は48.7%で、平成15年度(78.3%)に比べ低下した。

表10 平成19年度来歴カード普及状況

地域 (都道府県数)	対象 水域数	カード有無別の普及状況(水域数、%)							
		有+		有		一部有		無し	
北海道・東北 (7)	124	91	73.4	78	62.9	13	10.5	33	26.6
関東・甲信越 (10)	113	55	48.7	34	30.1	21	18.6	58	51.3
中部・北陸 (7)	126	71	56.3	38	30.2	33	26.2	55	43.7
近畿 (6)	83	55	66.3	41	49.4	14	16.9	28	33.7
中国・四国 (9)	103	43	41.7	29	28.2	14	13.6	60	58.3
九州・沖縄 (8)	76	20	26.3	18	23.7	2	2.6	56	73.7
全国 (47)	625	335	53.6	238	38.1	97	15.5	290	46.4

表11 平成15年度来歴カード普及状況

地域 (都道府県数)	対象 水域数	カード有無別の普及状況(水域数、%)							
		有+		有		一部有		無し	
北海道・東北 (7)	125	75	60.0	60	48.0	15	12.0	50	40.0
関東・甲信越 (10)	115	90	78.3	51	44.3	39	33.9	25	21.7
中部・北陸 (7)	128	62	48.4	29	22.7	33	25.8	66	51.6
近畿 (6)	88	32	36.4	22	25.0	10	11.4	56	63.6
中国・四国 (9)	99	49	49.5	33	33.3	16	16.2	50	50.5
九州 (7)	84	46	54.8	30	35.7	16	19.0	38	45.2
全国 (46)	639	354	55.4	225	35.2	129	20.2	285	44.6

## (4) 「アユ冷水病防疫に関する指針」の改訂

平成16年3月に作成された「アユ冷水病防疫に関する指針」については、その後の研究の進展により、新たな知見が得られたほか、診断方法が改良されたことを踏まえ、19年度においては、「アユ冷水病防疫に関する指針」の一部を改訂した。

## (5) 「釣り人の皆さんへ(リーフレット)」の作成・配布

釣り人への冷水病対策の普及・啓発のため、平成19年度において、釣り人向けのアユ冷水病対策リーフレット「釣り人のみなさんへ」を作成し、都道府県、漁協、遊漁関係団体等を通じ遊漁者等に配布した。

## 5. 予防・治療対策

## (1) 医薬品

アユ冷水病の治療薬として、スルフィソゾールナトリウムが承認されている(表12)。

表12 アユ冷水病に使用できる医薬品

効能	有効成分	用法	用量	使用禁止期間
冷水病による死亡率の低下	スルフィソゾールナトリウム	経口投与	100~200 mg/kg・日	15日間

## (2) 加温処理

### ①加温処理

飼育水温を一時的に上昇させる加温処理は、冷水病の治療に高い効果がある。方法は2回加温で、以下のように行う。加温水を徐々に注水して飼育水温を23℃で3日間維持し、通常水温に数日間戻した後に再度28℃で3日間維持する。昇温スピードは概ね1～2℃/時で行う。1回目と2回目の加温の間にスルフィソゾールナトリウムの投薬を併用する場合もあり、これは冷水病の治療に加えて他の疾病の発生を予防する効果も期待できる。23℃の加温処理は温度上昇にアユを馴致するためのものであり、高い治療効果は28℃の加温処理にある。そのため、一度加温処理を経験した群に対しては、23℃の加温処理は必ずしも行う必要はない。

加温処理では温度を上昇させることによって生じる温度ストレス、酸欠、水質悪化、他の疾病の発生（運動性エロモナス症、細菌性鰓病、細菌性出血性腹水病等）によりアユが死亡する可能性もあるため、注意が必要である。これらの対策としては、十分な注水や曝気を行うこと、給餌量を減らすこと、冷水病以外の疾病が併発している際や、池入れ・選別の直後には加温処理を行わないことなどが考えられる。養殖場によって飼育水温、池の規模、加温機の性能などが異なるため、それぞれの養殖場に合った昇温方法を検討する必要がある。

加温処理の治療メカニズムを調べるため、以下の実験を行った。まず冷水病菌を種々の温度で培養した結果、22～23℃では温度が高いほど冷水病菌の増殖速度は遅くなった。24～26℃では増殖せず菌数は減少したが、死滅しなかった。それに対して27℃では3日間、28℃では1日間で冷水病菌は死滅した。次に冷水病に感染させたアユに対して加温処理を行った結果、23℃で3日間の加温処理でも治療効果は認められたが、魚体及び飼育水中から冷水病菌が検出された。それに対して28℃で3日間の加温処理では、魚体及び飼育水中ともに冷水病菌は検出されなかった。これらの結果から、23℃の加温処理は冷水病菌の増殖を抑制する効果はあるが、魚体や飼育水中に冷水病菌が残るため、冷水病が再発する可能性があると考えられた。28℃の加温処理は冷水病菌を死滅させることから、高い治療効果に加えて再発も防止できると考えられる。

### ②加温処理後の免疫獲得

冷水病に感染して生き残ったアユや、何度も冷水病の再発を経験したアユは冷水病に対する免疫を獲得することが知られている。免疫獲得機構を明らかにすることは、ワクチン開発など冷水病対策につながると考えられる。そこで、この現象を人為的に再現するために、浸漬感染と加温処理を用いて検討した。

冷水病菌液にアユを30分間浸漬して冷水病に感染させた。その後に28℃で3日間の加温処理で治療し、感染2週間後に同様の方法で再感染させて生

残率を比較した。その結果、感染から加温処理までの期間が長い試験区ほど再感染に対して高い生残率を示し、血中抗体価も高かった。感染から加温処理までの期間が長くなると冷水病で死ぬ個体が現れることから、効率よく高い免疫を獲得させるためには、感染 1 日後に加温処理を行うことが最適であると考えられた。次に、用いる菌株について検討した結果、アユに対する病原性が認められなかった他魚種由来株では、わずかに効果を示す株があったものの、ほとんどは効果を示さなかった。それに対してアユに病原性が認められたアユ由来株では、病原性が高ければ高いほど効果は高かった。次に浸漬濃度について  $10^3 \sim 10^7$  CFU/mL の範囲で検討した結果、濃度が高ければ高いほど効果は高かった。また、菌をホルマリンで不活化させて作製した浸漬ワクチン ( $10^7$  CFU/mL) では、効果は低かったことから、菌の生死は免疫獲得に重要であると考えられた。これらの結果から、病原性が高い株を高濃度 ( $10^7$  CFU/mL) で感染させて、1 日後から 28 °C で 3 日間の加温処理を行えば、高い免疫を持ち、冷水病菌を保菌しないアユを効率よく作れることが明らかとなった。これまでに、この最適と思われる条件で行った試験の有効率は、79 ± 8 % (無処理対照区の死亡率は 81 ± 12%) であった。

この方法は、生菌を人為的にアユに感染させることから、養殖現場で使用することはできない。今後は自然に発生した冷水病に対してこの技術を応用する方法を検討する必要がある。

### (3) ワクチン

前期に効果が認められた注射ワクチン、経口ワクチン及び浸漬ワクチン、並びに、新たな試みとして生ワクチンについて研究を進めた。このうち、ホルマリン不活化浸漬ワクチンについては、実用化研究により安全性、安定性、有効性が確認され、用法・用量が提案された。今後の手続きは、共同研究を行ってきた、承認申請を希望している製薬メーカーに委ねられる。

#### ①ワクチン製造用株の性状等

製造用株を選定するため、アユ人工種苗を用いて、アユ及びワカサギから分離された冷水病菌 11 株の病原性を調べた。その結果、2004 年に広島県で分離された PH-0424 株が最も強毒であった。注射ワクチンの有効性についても、本株は他の株と同等あるいはそれ以上の有効性を示したので、本株を製造用株及び有効性評価のための攻撃株の第一候補として以下の試験に用いた。本株を含む冷水病原因菌 64 株の生化学的性状を下 (表 1 3) に示す。本株の遺伝子型はアユ標準株 (FPC840) と同一の A 型であった。

表13 アユ由来の冷水病菌株の生化学的性状

標準菌株、試験菌株 (63株) とともに陽性	滑走性、黄色色素、カタラーゼ、ゼラチン分解、カゼイン分解
標準株で陽性、試験 菌株で差異あり	チトクロームオキシターゼ (1株で陰性)
標準菌株、試験菌株 (63株) とともに陰性	グラム染色、硫化水素産生、インドール産生、亜硝酸への還元、窒素への還元、ブドウ糖からの酸産生、アルギニン加水分解、尿素分解、炭水化物分解 (ブドウ糖、アラビノース、マンノース、マンニトール、N-アセチル-D-グルコサミン、マルトース、グルコン酸カリウム、カプリン酸、アジピン、リンゴ酸、クエン酸ナトリウム、酢酸フェニル)
標準株で陰性、試験 菌株で差異あり	トリプシン (5株が陽性)

製造用培地は、BSE 対策への適合等を考えて肉エキスを含まない培地の利用を検討し、2 倍に希釈した CGY 培地 (バクトカシトン 2.5 g、ゼラチン 1.5 g、酵母エキス 0.5g を蒸留水に溶かして 1 L とする) を使用することにした。本培地は従来の改変サイトファーガ培地より増殖性において優れている。200 mL の培地を入れた 500 mL 三角フラスコに PH-0424 凍結保存菌株を接種し、15 °C、150 rpm で 24 時間前培養した後、1,200 mL の培地を入れた 2L 三角フラスコに、前培養した菌液を 25 mL 接種し 15 °C 150 rpm で 24 時間本培養した。培養菌液の不活化については、15 °C においてホルマリンを培養菌液に 0.3 % 添加した場合には 1 時間、0.2 % 添加では 1.5 時間、0.1 % 添加では 3 時間、0.05 % 添加では 4 時間後に完全に殺菌された。そこで本ワクチンの不活化条件をホルマリン 0.1% 添加後 15 °C で 12 時間静置と決定した。

ワクチンの有効性は免疫後の攻撃試験により評価した。ワクチン製造と同様 (ただし、本培養の時間は 16 時間) に PH-0424 株を培養し、飼育水で 10 ~ 1,000 倍に希釈して攻撃用菌液とした。ワクチン免疫 2 週間後のアユを攻撃用菌液に 30 分間浸漬し、その後 2 週間観察して累積死亡率を求めた。多くの場合、死亡は攻撃 3 日後以降に始まり、攻撃 10 日以内に治まった。

## ②注射ワクチン

15 年度までの研究により、市販のオイルアジュバント (セピック社製 ISA-763A VG) を添加した注射ワクチンが実用的な有効率を示すことがわかった。さらに、本ワクチンに 5 ~ 10% の割合で細菌性出血性腹水病不活化ワクチンを混合することにより、両疾病の予防が可能であることがわかった。しかし、アユ稚魚の腹腔内に 20 µL 投与されたオイルアジュバント添加ワク

チンは、投与 3 ヶ月後においても数～10%程度の魚に残留していたことから、実用的な残留期間（最長 2 ヶ月間）を満足するためには、1 尾あたり 10  $\mu$ L 以下に投与量を制限することが必要と判断された。さらに、アユに安全に注射投与できる最大量は、最も多量の投与が可能な腹腔内投与でも、体重の約 1 %であることが明らかとなった。2 ヶ月間の休薬期間を確保するためには、体重 1 g の稚アユに注射することが必要であり、このためにも、1 g の 1 %である 10  $\mu$ L を注射できる注射器が必要となった。そこで、微量注射器の開発を進め、17 年度には 1 mL シリンジを使用して 10  $\mu$ L ずつ 100 尾の個体へワクチン接種ができる試作 1 号機及び改良機が作られたが、全体の重量や注射量の精度の問題を技術的に解決することができなかった。そのため 18 年度からは、残留しにくいオイルアジュバントの探索を行った。その結果、ISA-763A や 811A の様に water in oil 型の乳化相を示すアジュバントに比較して、ISA-25 や 26 の様に oil in water 型の乳化相を示すアジュバントでは残留期間が短いことがわかり、投与 10 日後には消失する製品も見つかった。しかし、これらのアジュバントは有効性や安全性の点では ISA-763A より明らかに劣り、有用性は認められなかった。なお、アジュバントを添加しない不活化注射ワクチンについては、有効率は 20 ～ 40% と低い安定した効果が認められ、残留性も低かった。

垂直感染を防止するため、親魚にオイルアジュバント添加ワクチンを投与したが、ワクチン投与により卵及び精子を完全に無菌化することは難しいと考えられた。これは、アユでは成熟に伴い免疫機構が衰えるためと考えられた。

アユ冷水病菌は、遺伝子型により A 型、B 型に分かれるが、A 型菌で作成した不活化ワクチンは、B 型菌に対しても有効性を持つことが示された。

### ③ 経口ワクチン

三重大学作成の油球ワクチンとリポソームワクチン、及び神奈川県で開発された腸溶性ワクチンについて参加県で試験が行われた。油球ワクチンについては、水溶性アジュバント (IMS) 添加によりやや有効性は高まったが、それでも有効性は 20% 程度であり、実用化はまだ難しいと考えられた。この有効性は、少なくとも投与 3 ヶ月後までは持続した。また、リポソームワクチンの有効性と安定性は、油球ワクチンと同じか、それ以下であった。どちらのワクチンも安全性や残留性に問題はなかった。

腸溶性ワクチンについては、マイクロカプセルワクチン（直径 0.1 mm 以下）に水溶性アジュバント (IMS-1312) の添加により有効性が 50  $\pm$  20 % まで高まることがわかり、平成 17 年度から実用化研究を開始した。しかし、アジュバントと抗原液の混合物を油相中に乳化してマイクロカプセルを作成する本ワクチンは量産化が難しく、5 倍以上の規模で作成したものは有効性が劣り、副作用（クロロホルムによると思われる毒性）も認められた。なお、量産化により、製造コストは約 60% に圧縮することができた。

また、従来の規模で作られた人工種苗には有効なワクチンが、湖産種苗では有効でないことがわかった。これは、両種苗の摂餌特性の違いによるものと考えられた。すなわち、サラダオイルにより人工飼料に展着したワクチンは、投与直後には水面上に浮かび、人工飼料が吸水後に底に沈んでいく。そして、沈むまでの間に多くのワクチンが人工飼料から分離し、ワクチンのみ水面に浮遊する。警戒心が弱く食欲に富む人工種苗は、ワクチンを投与直後に水面で十分な量を摂餌するのに対して、警戒心の強い湖産種苗は、沈み始めてから摂餌が開始される。そのため、水面に浮遊して摂餌されないうちに溶けてしまうワクチンが多くなり、湖産種苗には十分量のワクチンが投与できないと考えられた。

このため、平成 18 年度には、量産化が可能で、湖産種苗にも容易に摂餌される沈降性の経口ワクチンとして、ゼラチンコートにより腸溶性を付与した新型ワクチン（直径  $1.2 \pm 0.1$  mm、1 g あたり約  $10^8$  個の菌を含む）を試作し、人工種苗への有効性及び湖産種苗が摂餌することを確認した。しかし、19 年度に再度作成した新型ワクチンは人工種苗においても有効性を再現することはできず、19 年度までの 3 年間に有効性のある量産可能な経口ワクチンの製造方法を確立することはできなかった。19 年度に効果が認められなかった理由は、腸溶性の不足によりワクチンが胃で溶けてしまい、失活した可能性が高いと考えられた。

なお、いずれの経口ワクチンも投与後 2 日間以内に排泄され、残留の問題はなかった。また、ワクチンを肛門から投与すれば、湖産種苗であってもオイルアジュバント添加注射ワクチンに匹敵する高い有効性を示すことがわかり、十分な量の経口ワクチンを失活することなく腸まで届けることができれば、人工種苗、湖産種苗を問わず、稚アユに有効なワクチンが開発できると考えられた。その他、酵母 RNA を同時に経口投与することにより有効性が高まることがわかった。

#### ④浸漬ワクチン

ホルマリン不活化ワクチン及び福山大学作製のウサギ赤血球膜を添加したワクチンを中心に参加県で試験が行われた。ウサギ赤血球膜の添加は、効果が認められる場合もあったが、17、18 年度には複数県で調べられたが有効性が認められないなど、結果のばらつきが大きかった（有効率  $20 \pm 40\%$ ）ことから、研究は 18 年度で中止した。

ホルマリン不活化ワクチンについては、17-19 年度に実用化研究が行われた。はじめに製造用株として、SG990302（滋賀株）、PH-0215（広島株）及び PH-0424（広島強毒株）の 3 株の中からワクチンの有効性が高い PH-0424 株が選択された。次に、本株のホルマリン不活化ワクチンの最小有効抗原量が検討された。浸漬時間が 5 分間の場合、希釈せずに用いる試験区、飼育水で 2 倍に希釈した試験区及び 10 倍に希釈した試験区の有効率 (RPS) は、順に 46 %、42 %、27 % となり、最小有効抗原量（濃度）を 2 倍希釈と決定した。2 倍

希釈では、保管や輸送時にかさばるため、ホルマリン不活化原液を凍結乾燥により濃縮して利便性を高めた。凍結乾燥ワクチン 6 g を復水すると、約 3 L のワクチン液となる。また、投与回数は 1 回では有効性が不十分であり、初回投与 2 週間後に再度の浸漬処理を行う必要があった。なお、3 回投与しても有効性や持続性に改善は認められなかった。ワクチン液 1 L は、凍結乾燥ワクチン 3.2 g に相当し、 $2.9 \times 10^{11}$  個の菌を含む。この中に総体重 250 g 以下のアユを 5 分間浸漬して免疫することが提案された。

本凍結乾燥ワクチンの安全性と有効性は、人工種苗と湖産種苗を用いて調べられた。安全性については、無希釈（使用予定濃度の 2 倍）のワクチン液に 60 分間（使用予定時間の 12 倍）浸漬した場合には 48 時間以内に 0 ~ 76% の魚が死亡したが、無希釈（使用予定濃度の 2 倍）のワクチン液に 10 分間（使用予定時間の 2 倍）あるいは 25 分間（使用予定時間の 5 倍）浸漬した場合には、いずれの場合にも死亡は認められず、本ワクチンの安全性が確認された。

有効性は、ワクチン投与 7 日後から認められるようになり、投与 2 週間後には有効率 30 ~ 60% を示したが、その後低下した。低下の速度は大きい個体で速い傾向があり、1 ~ 3 g の魚では投与 4 週間後には有意な効果が認められたのに対して、体重 3 g 以上で免疫した場合には、投与 4 週間後には有効性が認められなかった。本ワクチンは、魚体重 0.74 g 以上、水温 15 ~ 25 °C の範囲で有効であった。また、本ワクチンは製造後少なくとも凍結乾燥処理により、有効性はやや低下したが、安全性は高まったと考えられた。

その他、酵母 RNA の事前経口投与によりホルマリン不活化ワクチンの有効性が高まること、漁獲直後の湖産アユ仔魚（ヒウオ、3 月漁獲された平均体重 0.96 g）に対してもホルマリン不活化ワクチンの効果があること、水溶性アジュバント IMS-1312、1112、2212 の安全性について濃度 1% では浸漬時間 1 分間でいずれにも毒性が認められるが、0.5 % 1 分間以内なら IMS-2212 には毒性は認められないこと、0.5 % IMS-2212 添加 FKB 1 分間浸漬処理の有効性は FKB 5 分間浸漬処理には及ばないこと、が明らかとなった。

## ⑤ 生ワクチン

はじめに、アユ及びワカサギから分離された冷水病菌 11 株の中から、遺伝子型 A 型の弱毒株として FPC840 と SG040302 株を選択した。次に、この 2 株の培養菌液を飼育水で 200 倍に希釈して、人工種苗を 15 分間浸漬し免疫した。SG040302 株浸漬区で 1 尾が死亡したが、それ以外の 119 尾は投与後 2 週間生存したことから、両ワクチンの安全性は高いと考えられた。免疫 2 週間後に生残魚を約 20 尾ずつ分け、強毒株 PH-0424 株で浸漬攻撃して有効性を評価した。その結果、生ワクチン免疫区は免疫していない対照区と比べるといずれの試験区も死亡の開始が遅れ、2 週間後の累積死亡率もやや低かったことから、これらの生ワクチンに弱い効果があることが示唆された。同一菌株で免疫した 3 水槽を合計すると、FPC840 生菌液に浸漬した区の累積死

亡率は対照区に比べて有意に低く（Fishe の直接確立推定法、危険率 3.9%）、有効率は SG040302 の RPS が 19 %、FPC840 の RPS が 24%となった。しかし、これらの弱毒 A 型株を用いた浸漬生ワクチンの有効性は、上述の浸漬不活化ワクチン以下であることから、これらの株によるこのままの用法・用量での実用化は難しいと考えられた。また、両株を用いた注射生ワクチンは、安全性、有効性ともに浸漬生ワクチンに比べ劣っていた。

#### （４）耐病性アユ

飼育継代されているアユ系統間には、アユ冷水病に対する耐病性形質が異なることが報告されている（Nagai ら 2004, 水戸ら（印刷中））。また、耐病性形質が異なる系統同士を交配することにより、耐病性形質が次世代に遺伝することも報告されている（Nagai and Sakamoto 2006, 水戸ら（印刷中））。また、分子遺伝学的な解析から、耐病性形質に関連する遺伝子座が特定され、耐病性形質が遺伝的に支配されていることが明らかとなった（Sakamoto ら 投稿準備中）。養殖アユを目的として、耐病性形質を保持するアユ系統の効率的な育種技術研究も進められているが、耐病性形質を保持するアユの放流に関しては、地域集団の遺伝的多様性の保全の観点から、放流地域を限定するなど天然アユとの交雑に配慮する必要がある。

-参考文献-

Nagai ら（2004）Fish Pathology, 39（3）, 159-164.

水戸ら（印刷中）岡山県水産試験場報告

Nagai and Sakamoto（2006）Fish Pathology, 41（3）, 99-104.

坂本ら（平成 19 年度環境調和型アユ増殖手法開発事業報告書）

#### （５）卵消毒

河川での冷水病の発生は、保菌したアユ種苗の放流が原因であることが多く、健康な種苗の放流が必要である。サケ科魚類の冷水病では、菌の卵内感染が報告されており、卵を消毒しても垂直感染を防除できない。一方、アユ卵では冷水病菌の卵内感染は起こらないと考えられている。保菌親魚から得られたアユ卵の表面は高率に冷水病菌に汚染されているが、消毒した卵を、水平感染が起こらない条件で飼育することにより、冷水病菌フリーの種苗を作ることが可能と考えられる。

サケマス類の卵消毒剤として承認されているポピドンヨード製剤（ポピドンヨード 10 % 製剤：有効ヨウ素 1 %）、及び海産魚の寄生虫の駆虫剤として承認されている過酸化水素製剤（過酸化水素溶液 30 %）をアユ卵の消毒剤の候補として、平成 16 年まで冷水病菌の殺菌効果とアユ卵に対する安全性を検討した。その結果、冷水病菌の殺菌可能な濃度・時間は有効ヨウ素が 1ppm・5 分、過酸化水素が 150ppm・30 分であった。これに対し、アユ卵に影響を与えない濃度・時間は、有効ヨウ素が 10ppm・5 分、過酸化水素が 3,600ppm・30 分であることから、冷水病菌に対する両剤によるアユ卵の消毒は十分

に可能であることが明らかとなった。しかしながら、水産用医薬品の実用化には医薬品メーカーの承認申請が必要であるが、現時点では採算性の理由により承認申請の動きはない。

平成 17 年にアユ卵のミズカビ病の防除剤として承認されたブロンポールは、細菌類に対しても抗菌活性を有することが知られており、同年度から冷水病菌を対象としたアユ卵の消毒剤としての有効性について検討した。宮城県が冷水病菌 6 株に対するブロンポールの MIC(最小発育阻止濃度)を測定した結果、全て 1.6ppm 前後と小さい値を示した。さらに、同じ菌を使って *in vitro* で菌濃度別に殺菌に必要な薬剤濃度と時間を検討した結果、 $10^5$ CFU/mL の菌液が 50ppm・30～60 分、 $10^4$ CFU/mL の菌液が 50ppm・15～60 分、 $10^3$ CFU/mL の菌液では 50ppm・15 分の作用で、それぞれ完全に殺菌された。アユ卵のミズカビ病に対するブロンポールの用法及び用量は、発眼期まで毎日あるいは数回 50ppm・30 分薬浴する方法であり、上記の結果から、50ppm・30 分の一回処理で冷水病菌を完全に殺菌することは困難なものの、発眼期まで反復処理することにより冷水病菌を消毒できる可能性が示唆された。

さらに、山形県ではアユ卵を冷水病菌液( $10^4$ CFU/mL)で吸水させる方法により卵表面を汚染し、この卵に対しブロンポール(50ppm)の 30 分薬浴を 7 日間毎日実施し、消毒の有効性を検討した。その結果、消毒 3 回目までは冷水病菌の生残が確認されたが、4 回目以降は冷水病菌がみられず、消毒の有効性が確認された。すでにブロンポールはアユ種苗生産現場において卵の水カビ病対策の薬剤として使用されている。今後は効能拡大のための試験として、ブロンポール使用群を水平感染が起こらない条件で放流サイズまで飼育して消毒の有効性を確認することが必要である。

## 6 今後の対応

### (1) 防疫対策

#### ①各都道府県における対策強化

対策のポイントは、我々人間が制御できること、制御し易いことから始め、冷水病菌の保菌が疑われる魚を河川に入れないことにある。アユ冷水病の防疫にあたり関係者が取るべき対策は、「アユ冷水病防疫に関する指針(平成 20 年改訂)」及び「アユ冷水病対策のポイント(平成 16 年)」にとりまとめた。多くの事項についてはすでに現場での取り組みが進められているが、対策をより実効あるものとするためには、以下の点で取り組みの強化が必要である。

放流直前の検査により冷水病菌の保有が認められた場合、野外に放流してはならない。しかし、冷水病菌を持たないことが確認されていない種苗が、依然として流通し放流されている事もある。アユ種苗の保菌検査については、自県産種苗ではほとんどのところで事前に検査する体制が整えられているが、他県産種苗については放流前に検査を実施していない事例もあり検査の

強化が必要である。生産者と購入者が、出荷直前と放流前にそれぞれ保菌検査を実施することが望ましい。生産池からの移送中に種苗に加わるストレスが冷水病発症の引き金となることは十分に考えられるからである。なお、現在採用されている検査方法で検出できない低濃度の冷水病菌を保有した放流種苗やおとりアユを河川に持ち込むことにより、感染が広がる可能性が示唆されているが、当面は種苗放流の数日前に現行法で検査し、冷水病菌の保有が認められない場合は放流やおとりアユの使用を認めることでよい。

冷水病菌が付着した漁具により感染が拡大する可能性は依然としてある。使用した漁具の洗浄・乾燥、アルコール消毒等を励行することが必須である。また、非保菌種苗を放流しているにもかかわらず冷水病の発生があり対策に苦慮している漁場も存在する。この場合にも、無保菌魚の放流やおとりアユ活用を徹底して他の水域から冷水病菌の持ち込みを避けることが必須である。他方、このような水域では他魚種、藻類、越年アユなどが、冬季の河川に冷水病菌を存続させ、冷水病感染源となる可能性は皆無ではない。この場合、アユ冷水病の発生には、様々な要因が絡んでおり特定の対策のみで発生を防止するのは困難であることから、感染源や発病のきっかけになるおそれのある要因をひとつひとつ取り除いていく地道な取り組みが必要である。

冷水病防疫に関する啓発については、放流に関係する漁協役員や生産者、一般組合員及び遊漁者等アユ漁に係わる関係者全てを対象に進めることが必須である。

## ②関係者への普及・啓発

### ア．来歴カード

来歴カードの取り組みが見られる水域は全体の53.6%であり、40%の漁協が種苗の購入時の注意点として「来歴カードの確認」を掲げている。

来歴カードにより、種苗の由来や入手するまでの管理状態がチェックできるとともに、種苗の入手後には自らの管理状況を把握して記載することとなる。来歴カードの普及により、防疫に対する意識の底上げが図られる効果も期待できることから、引き続き、来歴カードの普及を継続する必要がある。

### イ．釣り人への広報

アユ冷水病発生の75%はアユ漁の解禁日以降に発生していることから、アユ冷水病対策には釣り人の協力が不可欠と考えられる。釣り人にも実行可能な防疫対策を普及・広報していくことが重要である。

### ウ．冷水病に強いアユ種苗生産の可能性の検討

効果については評価が分かれているところであるが、アユ冷水病対策の選択肢として引き続き各都道府県の種苗生産現場において活用の可能性を検討していくことが重要である。

## (2) 予防・治療対策

### ①加温処理

加温処理が治療に有効であることは確実であるが、その効果を正確に示し、さらに、処理後の免疫獲得を期待するためには、処理後の魚に生菌が存在しないことを示す必要がある。しかし上述の通り、現在の PCR 検査で陰性であった群を成熟期まで飼育すると発病する例があり、現在の PCR 検査は稚アユが完全に無菌であることを証明するには感度不足である可能性がある。今後、キャリアを確実に検出できる、より感度の高い検査方法の開発が必要である。現状では長期間を要するが、現在最も高感度と思われる検査方法、すなわち、試験群を成熟期まで隔離飼育する方法により、処理後の魚がキャリアでないことを証明する必要がある。また、そのためにも処理後の魚を清浄に保つ工夫も必要である。さらに、人為的な感染・加温処理を実施するには、使用する菌株は病原性を有するため、使用菌株が生きたまま処理施設外に出ないように、完全に封じ込めることが必要である。施設外への菌の流出は、排水、排気、道具、人間などを介して行われる可能性があるが、量的には排水中の菌を完全に殺菌する排水処理が重要と考えられる。

一般的に、生ワクチンで最も問題となるのは、弱毒株の毒性の回復により投与されたヒトあるいは動物が発症し感染が広まることである。本加温処理による免疫付与は、病原性を有する株を投与して感染させたアユを加温治療により完全に無菌化して防御力のみを付与することを狙ったものであり、従来の生ワクチンとは危険性が異なる。処理中の菌の封じ込め及び処理後の魚の無菌化が達成されれば、一般的な生ワクチンに比べて安全性は高いと思われる。

### ②ワクチン開発

これまでのワクチン開発・実用化研究の結果を受けて、ホルマリン不活化浸漬ワクチンについては、製造承認申請に向けた製薬メーカー主導の研究に移行する予定である。室内試験ではワクチンの持続性が短いことが示されている。感染（再感作）の機会がある野外において十分な持続性があるのかどうかを調べる必要がある。

注射ワクチンの実用化には、残留期間の短いアジュバントの探索とともに、全自動連続注射機のような処理能力の高い装置の開発が必須と考えられる。放流対象魚であり、年魚でもあるアユでは、短期間に多量の魚にワクチンを投与しなければならない。

経口ワクチンについては、より強い腸溶性（酸性では溶解せず、弱アルカリ性では溶解する性質）を持つカプセルの開発が必要である。湖産アユの摂餌特性、投与対象となるアユの大きさを考慮すると、1 mm 以内の沈降性のカプセルであることが望ましい。量産化や製造コストの観点からは、すでにヒトや家畜で用いられているコーティング技術を用いることが最適と考えられる。腸溶性物質によるコーティングは、作製温度が高いほど有利と考えら

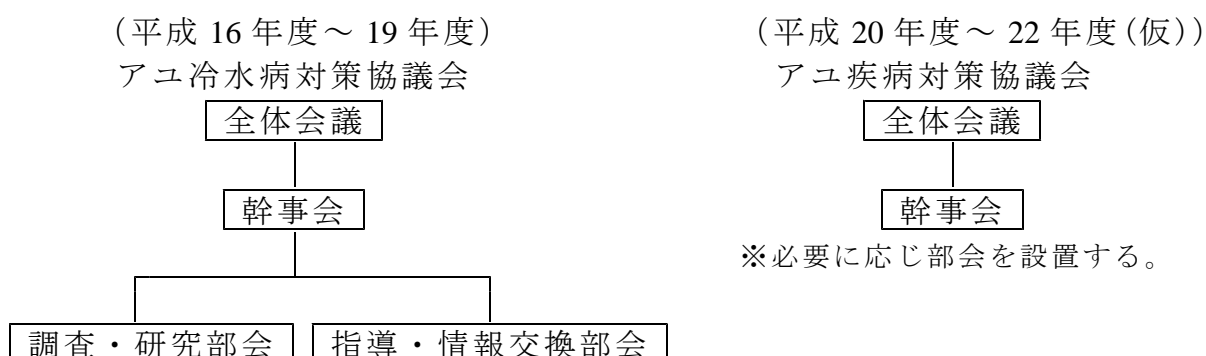
れる一方で、本ワクチンは 80℃の熱処理により効果がなくなることがわかっている。本ワクチン（抗原）の熱安定性についてより詳細に調べる必要がある。

経口ワクチンは、注射ワクチンに比べて著しく省力的で安全な投与方法であり、魚へのストレスも小さい。アジュバントを含有できる腸溶性カプセル作製技術（油球ワクチンも含む）は、ブリ等の他の養殖魚種にも応用できる可能性が高く、開発する意義は大きい。

### （3）平成20年度以降の取り組み

#### ①取り組み体制

引き続き、関係者の情報の交換、来歴カードの普及、冷水病に強いアユ種苗生産の可能性検討等によりアユ冷水病対策の普及・啓発等に重点的に取り組むこととするが、これまでの知見の共有化により適切な指導が行えるよう、行政機関、研究機関、アユ漁業・養殖業関係者、遊漁関係者が一体となってアユ冷水病を始めとするアユ関連疾病対策に取り組むこととし、アユ疾病対策協議会と名称を変更する。



#### ②取り組み内容

##### ア アユ冷水病関係

- 1) アユ冷水病の指導・情報交換
  - ・発生状況調査
  - ・アユ冷水病防疫に関する指針等の普及
  - ・情報交換の促進
  - ・冷水病に強いアユ種苗生産可能性の検討
- 2) アユ冷水病の調査・研究

##### イ その他の疾病関係

- 1) アユ関連疾病の情報交換
  - ・発生状況等の調査
- 2) アユ関連疾病の調査・研究
  - ・診断方法等の研究



# あゆ種苗来歴カード(例)

このカードは、アユ冷水病対策を目的に実施している  
ものです。正確な記入にご協力ください。

## 記載要領

○このカードは出荷種苗のロットごとに作成し、出荷種苗に  
添付して下さい。

○出荷種苗の種類や採捕・受入時期等が複数にわたっている  
ものについても、該当する事項を全てチェックしてください。

○蓄養・育成期間については、そのロットの中で最も長い種  
苗のものを記入してください。

○このカードは、各段階において写しを保存し、放流者にお  
いて水産試験場等に送付してください。

## 1 生産(生産者記入)

### ①種苗の種類

人工産(経代飼育した親から採卵)

親の由来 \_\_\_\_\_

人工産(採捕した親から採卵)

親の採捕場所 \_\_\_\_\_

琵琶湖産 海から遡上 ダム・湖沼産

種苗の採捕場所 \_\_\_\_\_

その他 \_\_\_\_\_

### ②採捕・受入・採卵の時期及びサイズ

\_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日 ~ \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

\_\_\_\_\_ g/尾

### ③蓄養育成時の魚の状態

冷水病 発生しなかった 発生した

他の魚病 発生しなかった 発生した

### ④種苗の冷水病の処置

投薬(\_\_\_\_\_回) 加温処理 無処理

### ⑤出荷時の状況

出荷月日 \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

出荷量 \_\_\_\_\_ kg (\_\_\_\_\_尾)

出荷サイズ 平均 \_\_\_\_\_ g/尾

### ⑥その他(種苗の移動等があればわかる範囲で記入する)

記入者 住 所  
生産者名  
電 話

## 2 中間育成生産(生産者記入)

### ①中間育成開始時期の密度・水温

\_\_\_\_\_ kg/m<sup>3</sup> \_\_\_\_\_ °C

### ②中間育成時の魚の状態

冷水病 発生しなかった 発生した

他の魚病 発生しなかった 発生した

### ③種苗の冷水病の処置

投薬(\_\_\_\_\_回) 加温処理 無処理

### ④出荷時の状況

出荷月日 \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

出荷量 \_\_\_\_\_ kg (\_\_\_\_\_尾)

出荷サイズ 平均 \_\_\_\_\_ g/尾

### ⑤その他(種苗の移動等があればわかる範囲で記入する)

記入者 住 所  
生産者名  
電 話

## 3 種苗を放流又は養殖するための輸送(輸送者記入)

### ①輸送密度・輸送時間(放流終了まで)

\_\_\_\_\_ kg/m<sup>3</sup>

\_\_\_\_\_ 時間 \_\_\_\_\_ 分

### ②輸送水温

出発時 \_\_\_\_\_ °C 到着時 \_\_\_\_\_ °C

### ③その他

記入者 輸送者名

## 4 放流(放流者記入)

### ①放流場所 \_\_\_\_\_ 川

(\_\_\_\_\_ 地区 ~ \_\_\_\_\_ 地区)

### ②到着後から放流までの期間

すぐ放流した  \_\_\_\_\_ 日間蓄養後放流

### ③河川の状態

河川水温 \_\_\_\_\_ °C

水 量 多い 通常 少ない

濁 り ある 少しある ない

### ④その他(魚の状況等)

記入者 漁協名  
立会代表者