

平成 30 年度水産防疫対策委託事業
「水産動物疾病の診断・予防・まん延防止に係る技術開発等」実施概要

目的：

国内で発生した新疾病、その他の養殖水産動物の伝染性疾病の発生予防及びまん延防止を図るための迅速かつ正確な診断法、予防法等の開発や調査研究を行い、水産防疫体制の維持強化を図ることを目的とする。

(1) 水産動物疾病等緊急対策

都道府県からの依頼に応じ、都道府県が実施した持続的養殖生産確保法に基づく特定疾病及び OIE(国際獣疫事務局)リスト疾病の診断結果の確認並びに都道府県において判断が不可能であった水産動物の疾病の診断又は死因の分析を行うとともに、緊急的に生じた防疫対策の取組を行った。また、都道府県等において疾病の発生時に迅速な診断ができるよう、必要に応じて、抗血清等検査試験材料の作成・保存等を行い、都道府県等の試験研究機関に配布した。不明病診断等については、2月21日までに41件を受付け、23件を回答した。KHVの確定診断では、依頼件数30件(37事例)中、陽性と診断された事例は34に達しており、本疾病は、近年増加傾向にあることが示唆された。ホヤの被囊軟化症では2件の確定診断依頼があり、1件が陽性であった。また、都道府県水産試験研究機関等からの依頼により、陽性対照および診断用抗体55種についてのべ237点を提供した。都道府県担当者を対象にKHVおよびホヤの被囊軟化症について、診断技術認定テストおよび診断技術講習会を3件実施した。

抗血清等検査試験材料の配付では、特定疾病等診断材料の購入・備蓄・配布として「特定疾病診断指針」に準拠したPCRプライマーを都道府県等の研究機関の依頼に応じて4機関へ配布した。抗血清については、都道府県等の依頼に応じて、のべ12機関へ139本の抗血清を配付した。また、残数の少ない *Vibrio anguillarum* (A)、(B)、また新規の抗血清として、都道府県から要望のあった *Vibrio harveyi* (マアジ分離株)の抗血清を作製し、配布体制を整えた。

(2) 水産防疫資材の開発促進のための基礎的な知見の収集

伝染性造血器壊死症ウイルス (IHNV) を対象にしたDNAワクチンについて、海外で実際に使用されているDNAワクチンを輸入した。一方で、国内のIHNV分離株の抗原遺伝子を利用したDNAワクチンも試作した。これらのワクチンをニジマス稚魚に接種したのち、国内のIHNV分離株で攻撃することにより安全性および防御効果を評価した。接種魚に異常はなく、安全であることが確認された。有効性については、攻撃ウイルス株の毒性が弱かった、もしくは使用したニジマスの感受性が低かったために、死亡率による評価はできなかった。しかし、DNAワクチン非接種区にのみ顕著な感染症状を呈する個体が認め

られ、RT-PCRによるウイルスゲノムの検出率からの評価では、輸入DNAワクチンおよび試作DNAワクチンの両者に、国内IHNV分離株に対して高い防除効果が認められた。新規病原体抗原調整法の検討では、ノカルジア不活化ワクチンの改良を試みた。これまで行ってきたホルマリンもしくは加熱による不活化処理に加え、新規菌体処理方法（処理X）により不活化ワクチンを調整し防御効果を確認した。それぞれのワクチン接種魚をノカルジア菌で攻撃した結果、PBS接種区（陰性対照）、加熱処理菌体（HKC）、ホルマリン処理菌体（FKC）、もしくはHKCにアジュバントを添加し腹腔内注射した試験区では、攻撃後39日目までに全数が死亡した。一方、処理Xを施した不活化菌体を腹腔内注射した試験区では観察終了（攻撃後60日）までの累積死亡率が70%であった。処理法X区ではその生存曲線から死亡が遅延する傾向も観察されたため、ノカルジア症感染防御効果をもたらすワクチン抗原処理法として有望であることが分かった。アユの冷水病ワクチンに関する試験では、人工アユと湖産アユを用いてプロテアーゼ事前処理を伴った冷水病浸漬ワクチンの有効性を確認した。本浸漬ワクチンの有効率は人工アユと湖産アユともに30~40%程度であり、異なるアユ種苗間で同程度の有効率が得られた。流行株の調査では、2018年に新たな強毒株が分離されたが、ワクチン株として用いると従来の株より有効性が高い可能性が示唆された。

（3）水産動物疾病検査法開発

本年度は、県から検出が不安定であるという情報を受け、マボヤ被囊軟化症の原因鞭毛虫 *Azumiobodo hoyamushi* のリアルタイムPCR法、LAMP法、nested PCR法による高感度検出法を開発した。また、マボヤ組織からDNA抽出を行う場合、用いるキットによっては抽出物中に通常のPCRを強く阻害する要因があることが判明した。被囊軟化症は特定疾病であるため、すぐに本法を採用できないが、論文として公表し次の病勢鑑定指針の改訂時には反映できるようにする予定。

（4）養殖衛生管理に関する調査・研究

① アユの冷水病に関する効率的な加温処理技術の開発

加温処理、および、冷水病に対する耐病性付与の関連性を検討する際の指標となる抗体価の測定方法を構築し、本病に関する閉鎖循環系を活用した加温処理技術の開発及び検証を行った。本処理を行ったアユは、冷水病に対する特異抗体を産生しており、冷水病の感染試験において耐病性を示した。

② ブリ類の難治癒疾病の防除技術の開発（投薬等による治療技術の開発）

べこ病のシスト形成に抑制効果が認められた候補薬剤を用い、投薬方法の検討を行った。再感染が起こらない屋内投薬試験において、有効最小量を明らかにした。本剤3mg/kg/日の5日間以上の投薬は、シスト形成と原因虫の増殖を有意に低下させ、10日間投与でシストの形成を阻止した。

③ ヒラメ等のアクアレオウイルス感染症の防除技術の開発

電解オキシダントによる卵消毒効果の把握では、アクアレオウイルス感染症が発生した生産場のヒラメ親魚から人工授精及び自然産卵で得た受精卵を用い、2回の消毒試験を行った。卵消毒の有無と生産魚の感染状況を調査した結果、消毒区の稚魚はPCRにより本ウイルス遺伝子が検出されなかったが、未消毒区の稚魚では、いずれの試験においてもウイルス遺伝子が検出され、卵消毒による感染防除効果が明らかとなった。