

コイのアナアキ病に関する研究

熊丸 敦郎・渡辺 直樹

1. はじめに

1996年9月に霞ヶ浦の牛渡地区網生簀養殖ゴイに発生したアナアキ病（通称）は、以来春と秋に高発病率を示しながら、湖内各漁場に伝播し、'98年3月現在までに霞ヶ浦北浦両湖の網生簀全漁場で発病が見られるに至った。本病状は、発病初期においては体表不特定部位に赤点状出血斑が認められ、症状の進行は遅延性ながら真皮、皮下筋肉への潰瘍性患部を形成拡大し、やがて筋肉が脱落して重症の個体においては内蔵や骨組織が露出するようになり、浮腫症を伴って斃死するというもので、外観の症状から通称“アナアキ病”と呼ばれている。なお、アナアキ症状を呈する魚病としてはこれまでに原生動物による*Epistylis*症、水生菌の一種による真菌性肉芽種症、細菌性の潰瘍病等があった。同様のアナアキ症状の病魚は湖内網生簀養殖ゴイにおいても過去に、春先の短期間、ごく低い発病率で認められることがあったが、今回の疾病は発病率が高いこと、患部の治癒が遅く2年間継続して発生したこと等、明らかに以前のアナアキ病とは違う新種の魚病であろうと思われる。

本魚病が養殖業に及ぼす影響は、発病魚の斃死被害もあるが、それ以上に、体表にこうした外部症状が認められる魚については商品価値がなくなり、生産した魚の多くが販売できなくなってしまうことにおいて大きく、販売価格が低迷している今日のコイ養殖業界にとっては非常に大きな打撃となっており、早急な原因究明と有効な対策方法が求められている。ここでは、'96年湖内網生簀でアナアキ病発生以来、本魚病についての発生状況調査、病理学的検査、感染試験並びに、対策試験等を行った結果について以下に報告する。

2. 湖内網生簀漁場における本魚病発生の経緯

1996年9月初旬から、霞ヶ浦の霞ヶ浦町牛渡地区と

玉造町西蓮寺地区の網生簀養殖漁場において、体表に潰瘍性患部のあるコイが目立ち始め、10月に入りさらにその罹病率が急増した。その被害度は網生簀によって差があるが、罹病率が高い網生簀では7割を超えるものもあった。冬期の低水温期に入っても病状は鎮静化せず、病魚は患部症状を徐々に悪化させながら、浮腫症状を伴って少しずつ斃死していった。翌'97年4月～5月初旬の間はいったん収まったかに見えたが、5月中旬以降の水温18℃を超えるあたりから再び活発化し、さらにこの時点まで発症が見られていなかった霞ヶ浦町田伏地区及び玉造町手賀地区他にも同魚病が発生し始めた。6月～7月（水温20～25℃）にこれら漁場での発生率はピークに達し、8月以降に一時小康状態となった。その後、湖内各漁場の中では発病時期が早かった牛渡地区において病患部治癒魚が多く見られるようになり、完全ではないが鎮静化してきている模様である。牛渡地区以外においては同年の9月以降に再び症状が活発化し、平均発病率2割程度のままで'98年3月現在に至っている。さらに、'97年9月には、これまで発生が見られなかった北浦の大洋地区で高い

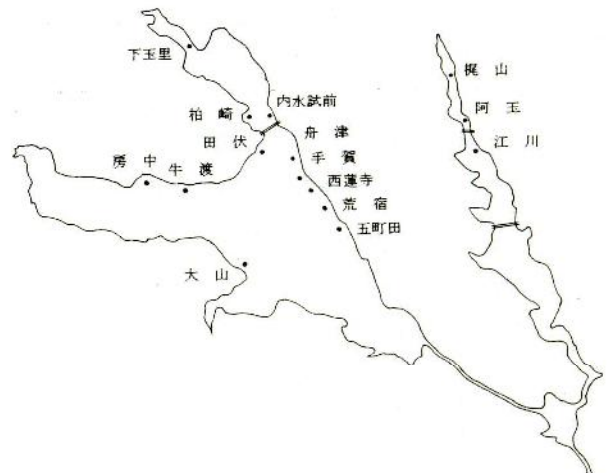


図1 霞ヶ浦北浦におけるコイ網生簀養殖漁場位置図

発病率を見るに至り、霞ヶ浦、北浦全養殖漁場において本魚病が発生したこととなった。

3. アンケート調査の結果

今回発生したアナアキ病の原因を究明するにあたり、現在の状況及び、業者の意見を把握するため、アンケート調査を実施した。以下は1997年6月に霞ヶ浦北浦の網生簀養殖業者にアンケートを配布し、同年8月22日までに回収した回答についてまとめたものである。

(1) 漁場別発生時期

各漁場におけるアナアキ病の発生時期と発生状況について調査した結果を表1に示した。この結果は、先に述べた業者からの聞き取り調査結果に基づくアナアキ病発生の経緯とはほぼ一致した内容であったので、ここでは説明を省略する。

(2) 漁場別罹病率

罹病率の高い漁場では、牛渡地区、田伏地区で70%を超えたところもあったが、罹病率10~30%の漁場が多く全体平均では25.7%となった。

(3) アナアキ病の発生原因と考えられること。

()内は回答数35名中の重複回答を含む意見の数

発生原因として考えられる意見として比較的多かったのは

- ・収容密度の高い網生簀ほど発生率が高い。(17)
- ・給餌量が少なかったものほど発生率が高い。(11)
- ・年齢が高い魚ほど発生率が高い。(10)
- ・選別移動後に発生しやすい。(8)

その他の意見では、

- ・本病発生時期に選別無症状魚を出荷したところ、出荷先でアナアキ病が発生した。
- ・水温が25℃以上になって、急に症状が回復してきた。

- ・一回の給餌時間が長い網生簀ほど発生率が高い。
- ・自動給餌器の餌の落とし口が狭く、餌が分散されないでまとまって落ちる網生簀で罹病率が高い。
- ・浚渫による底泥の巻き上げが関係しているのではないか。
- ・湖水の水質に問題があるのではないか。
- ・飼料に原因があるのではないか。

以上、回答意見の多くは体表のスレ損傷、飼育魚の生理活性等、魚体側の防御機能に関するものであった。また、本病と湖水の水質及び飼料との関連性については、他県のニシキゴイで3年前から同様の症状の疾病が頻発していること、霞ヶ浦北浦において本病の発生時期に地域差があるものの全漁場で発生したこと、使用飼料メーカー別の発病性に差がないこと等から、本病の一次原因として、水質及び飼料の直接的影響は考えにくく、むしろ感染性病原体が主要因となっている可能性が大きいと考えられる。

4. 病理学的検査の結果

(1) 外部観察及び剖検による病魚の特徴

アナアキ患部の発症部位は体表面の体側部、腹部、各鱗、頭部、鰓蓋部等、各所に見られ、特定されないが、比較的体側部、腹部に多い。患部は症状の進行過程により、出血斑様の初期症状のものから、鱗が脱落して真皮上に充出血が認められるもの、筋肉がえぐり取られたように露出するもの、さらには筋肉が崩壊して内臓が露出する重症のものまでさまざまである。また、過去におけるアナアキ症状では、患部周辺に水生菌の寄生を受けて泥に被われたように見えるものが多かったが、今回の病魚においては剃刃で切り取ったように傷口が比較的きれいなものが多かった。

重症魚について解剖検査を行った結果、鰓の色がやや薄く、貧血症状を呈していたものが多かったが、内臓(肝臓、腎臓、脾臓、胆嚢、消化管)、鰾には特筆すべき異常は認められなかった。

表1 漁場別アナアキ病発生時期

| 漁場名 | 年 月 | 1997 | | | | | | | | | | | | 1998 | | | | | | | |
|------|--------|------|---|---|---|---|---|---|----|----|----|---|---|------|---|---|---|---|---|--|--|
| | | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | | |
| 牛渡 | | | | | | | | ○ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | | |
| | | | | | | | | ○ | ◎ | ◎ | | | | | ○ | ◎ | ◎ | ◎ | | | |
| | | | | | | | | | ○ | ◎ | | | | | ○ | ◎ | ◎ | ◎ | | | |
| 大山 | | | | | | | | | | | | | | | | | | ○ | | | |
| 田伏 | | | ○ | ○ | | | | | | | | | | | ○ | ◎ | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | ○ | ◎ | ◎ | ◎ | | | |
| 舟津 | | | | | | | | | | | | | | | ○ | ◎ | ◎ | ◎ | | | |
| 手賀 | | | ○ | | | | | | | | | | | ○ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | ○ | ◎ | ◎ | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | ○ | ◎ | ◎ | | | |
| 西蓮寺 | | | | | | | | ○ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | | | ○ | ◎ | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | ○ | ◎ | ◎ | | | |
| 荒宿 | | | | | | | | | | | | | | | | ○ | ◎ | | | | |
| 五町田 | | | | | | | | | | | | | | | ○ | ◎ | ◎ | ◎ | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | ○ | ◎ | ◎ | ◎ | | | |
| 柏崎 | | | | | | | | | | | | | | | ○ | ◎ | ◎ | ◎ | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | ○ | ◎ | ◎ | ◎ | | | |
| 内水試前 | | | | | | | | | | | | | | | | ○ | ◎ | ◎ | | | |
| 下玉里 | | | | | | | | | | | | | | | | ○ | ◎ | ◎ | | | |
| 大洋 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

表2 漁場別アナアキ病罹病率

| 漁場名 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | ≥70 |
|------|----|----|----|----|----|----|-----|
| 牛渡 | 2 | 2 | 3 | | 1 | 1 | 1 |
| 大山 | | 1 | | | | | |
| 田伏 | 1 | 1 | | | 1 | | 1 |
| 舟津 | | | 2 | | | | |
| 手賀 | 1 | 5 | 1 | | | | |
| 西蓮寺 | 1 | | | | 1 | | |
| 荒宿 | | | | | 1 | | |
| 五町田 | | | 2 | | 1 | | |
| 柏崎 | 2 | | | | | | |
| 内水試前 | 2 | | | | | | |
| 下玉里 | 1 | | | | | | |
| 大洋 | | | | | | | |

(2) 病原体検査

1) 外部寄生虫検査

鰓葉部表面に *Dactylogyrus sp.*, 体表面に *Trichodina sp.*, *Chilodonella sp.*, *Ichtyobodo sp.* 等一般的に見られる外部寄生虫が通常魚よりやや多めに認められたが、その寄生箇所は患部周辺に局在しているわけではなく、これらが本魚病の主要因であるとは考えにくかった。

2) 細菌検査

重症魚3尾について、体表患部付近の筋肉、肝臓、腎臓、脳各組織からBHI寒天培地への分離培養を行った結果、体表患部付近筋肉組織から2種の細菌が優制的に増殖分離されたが、他の組織からは細菌の増殖が認められなかった。このことと、解剖所見で述べた体表患部以外の臓器に異常が見られなかったことから、本病の病巣は体表面に限定されているものと考えられた。

患部筋肉から分離した細菌について、同定検査を行った結果を表3に、薬剤感受性試験の結果を表4に示した。これらの結果から、2種の分離細菌はそれぞれ *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas sp.* と同定され、コイ用水産医薬品として使用が許可されているオキシリン酸が、これら分離細菌に対して抗菌効果のあることが判明した。

3) 分離細菌による攻撃試験

a) 菌浮遊液浸漬による攻撃試験

上記分離細菌2種についてそれぞれ、ペプトン水中で3日間増菌培養した後、この培養液10mlを水容積20lのタンクに添加して2種菌浮遊液を作成した。各菌浮遊槽に、当内水試において地下水で飼育した30gサイズ0⁺コイを6尾（この内の3尾は体側部鱗10枚を剥離）ずつ収容、24時間の菌液浸漬を行った後、16℃地下水流水の60l水槽に移し入れて1ヶ月間飼育し、この間におけるアナアキ病の発病状況を調

べた。その結果、いずれの個体においても異常が認められず感染が成立しなかった。

b) 菌液連続滴下による攻撃試験

地下水流水中の60l水槽に上記と同様の30gサイズ0⁺コイ6尾を収容した後、この水槽中にペプトン水培養菌液をマイクロポンプにより連続滴下しながら1ヶ月間飼育したが、この方法によっても感染が成立しなかった。

以上により、今回アナアキ病魚から分離した2種の細菌はアナアキ病の原因菌ではないものと判断された。ただし、今回の分離培養に用いたBHI寒天培地が原因菌の分離用培地として不適切であった可能性も充分にあるため、この結果は本病の原因が細菌性疾患であることを否定するものではなく、分離培地、培養方法等について、今後さらに検討を要するものと思われる。

5. アナアキ病と環境要因との関係について

本病は霞ヶ浦に生息するコイ以外の魚種には発病が認められていない。1997年11月、霞ヶ浦の土浦入り湖奥部においてアナアキ症状のボラが多数見られたが、調査の結果、真菌性肉芽種症と呼ばれる水生菌の一種によるもので、本病とは明らかに原因の異なる病気であった。また、アナアキ病による被害は霞ヶ浦の網生簀養殖ゴイだけでなく、新潟県他各地のニシキゴイにも発生していると言われている。なお、両者における発生時期、症状の進行、患部における症状等の特徴が共通していることから両者の病気の原因は同じものと見られる。これらのことから、本病はコイだけに発病する、いわゆる種特異性の病原体によるものと見られるため、環境要因が直接的な原因となったとは考えにくい。しかしながら、現地聞き取り調査の結果から、本病の発生し始めた時期に地域差があることや、発病時期が秋口と5～6月に集中していることから、環境要因が発病の補助的条件として作用している可能性が

表3 分離細菌の同定検査結果

| 魚体No. 分離No. | I | | II | | III | |
|------------------|-------|-------|--------|--------|---------|---------|
| | I-(1) | I-(2) | II-(1) | II-(2) | III-(1) | III-(2) |
| Gram st. | - | - | - | - | - | - |
| Form | sR | R | sR | R | sR | R |
| Motility | - | ++ | - | + | - | + |
| Catarase | ++ | ++ | ++ | + | ++ | ++ |
| Oxidase | - | + | - | + | - | + |
| O-F test | F | F | F | F | F | F |
| ONPG | + | + | + | + | + | + |
| ADH | - | + | - | + | - | + |
| LDC | + | + | + | + | + | + |
| ODC | + | - | + | - | + | - |
| CIT | + | (+) | + | (+) | + | + |
| H ₂ S | - | - | - | - | - | - |
| Urea | - | - | - | - | - | - |
| TDA | - | (+) | - | (+) | - | (+) |
| Indol | - | + | - | + | - | + |
| VP | + | - | + | + | + | - |
| GEL | + | + | + | + | + | + |
| GLU | + | + | + | + | + | + |
| MAN | + | + | + | + | + | + |
| INO | - | - | - | - | - | - |
| SOL | + | - | + | - | + | - |
| RHA | - | - | - | - | - | - |
| SAC | - | + | - | - | - | + |
| MEL | - | - | - | - | - | - |
| AMY | - | + | - | + | - | + |
| ARA | - | + | - | - | - | + |

表4 分離細菌についての薬剤感受性試験結果

| | I-(1) | I-(2) | II-(1) | II-(2) | III-(1) | III-(2) |
|-------------|-------|-------|--------|--------|---------|---------|
| スルファジメトキシシ | - | - | - | - | - | - |
| スルファイソメゾール | - | - | - | - | - | - |
| スファイソキサゾール | - | - | - | - | - | - |
| オキシテトラサイクリン | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| オキシリン酸 | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |

あるため、ここでは水温とプランクトンについて発病との関連を調べた。

(1) 水温

図2は本病が霞ヶ浦において流行し始めた1996年以降の湖内水温の推移を示したものである。本病の罹病魚は年間を通じて見られるが、発病期及び最盛期は5～6月と9～10月の2回あるようである。また、冬期においても病状の進行は遅いが治癒することではなく、従って本病原体は一般的な病原体よりも比較的低水温期に活性が高く、全体として広水温域に適應しているものと見られる。このことが本病の大流行した理由の一つとしてあげられる。

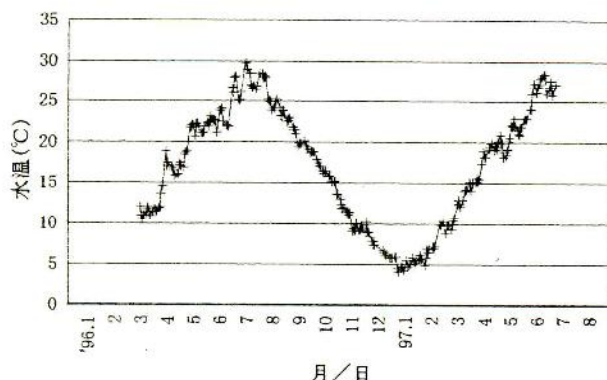


図2 霞ヶ浦における水温の変化

(2) プランクトン

近年の霞ヶ浦におけるプランクトン優占種は藍藻類 *Oscillatoria sp.*, *Phormidium sp.* と珪藻類 *Synedra sp.* である。図3はこれらについて、1996～1997年の湖内発生量の遷移を示したものである。これらの内、*Phormidium* については5月と8月に発生ピークがあり、本病発病との間に何らかの因果関係があるように思われる。しかし、本病の発病を見なかった北浦においても同時期に *Phormidium* が発生ピークとなっており、このものが本病に直接的に係わっているとは考えにくい。

6. 再現試験

(1) 同居感染試験

1996年10月に牛渡漁場より採取した重症魚1.5kgサイズ3尾を1ton止水タンクに収容した後、当内水試において地下水流水飼育した1+コイ3尾を、体側部体表の鱗を10枚程度剥離して同タンクに収容した。その後、発魚との同居による1+コイの感染状況をおよそ1週間間隔で調べた結果、感染発病が起こらず、4週間後には剥離部の鱗は再生された。

(2) 複合条件における感染試験

1) 試験装置及び方法

現場聞き取り調査及びアンケート調査の結果から、本病が感染症である疑いが強いと思われるものの、病原体の同定が行われていないため、条件性疾患すなわち、病原体と他の要因（環境、飼料等）との複合作用による疾病の可能性も否定できない。このため、本病を再現する一つの方法として、図4に示した感染試験装置を用い、要因として考えられる条件についての試験区を設けて感染試験を行った。装置は上段に感染源として湖水及び地下水注水のアナアキ病重症魚収容タンクを置き、このタンクからのオーバーフローが下段の各種条件設定試験用タンク（5槽）に均等配分されて注水されるものとした。これにより、上段タンクからの病原体が一定環境条件下で連続的に下段の各タンクに均等供給される仕組みとし、下段における各条件を与えた試験区と条件を与えない対照区との発病率を比較することにより、病原体と各条件の関わりを調べることとした。

本病の主要因である不明病原体を以降、感染源と言いつぶすこととする。この感染源に複合する条件として、①感染源とVirusとの混合感染、②感染源と分離細菌との混合感染、③スレ損傷等による体表の傷害と感染源、④体表粘液分泌阻害と感染源、⑤湖底泥の影響と感染源等の各組み合わせを想定した。それぞれの条件設定の方法については

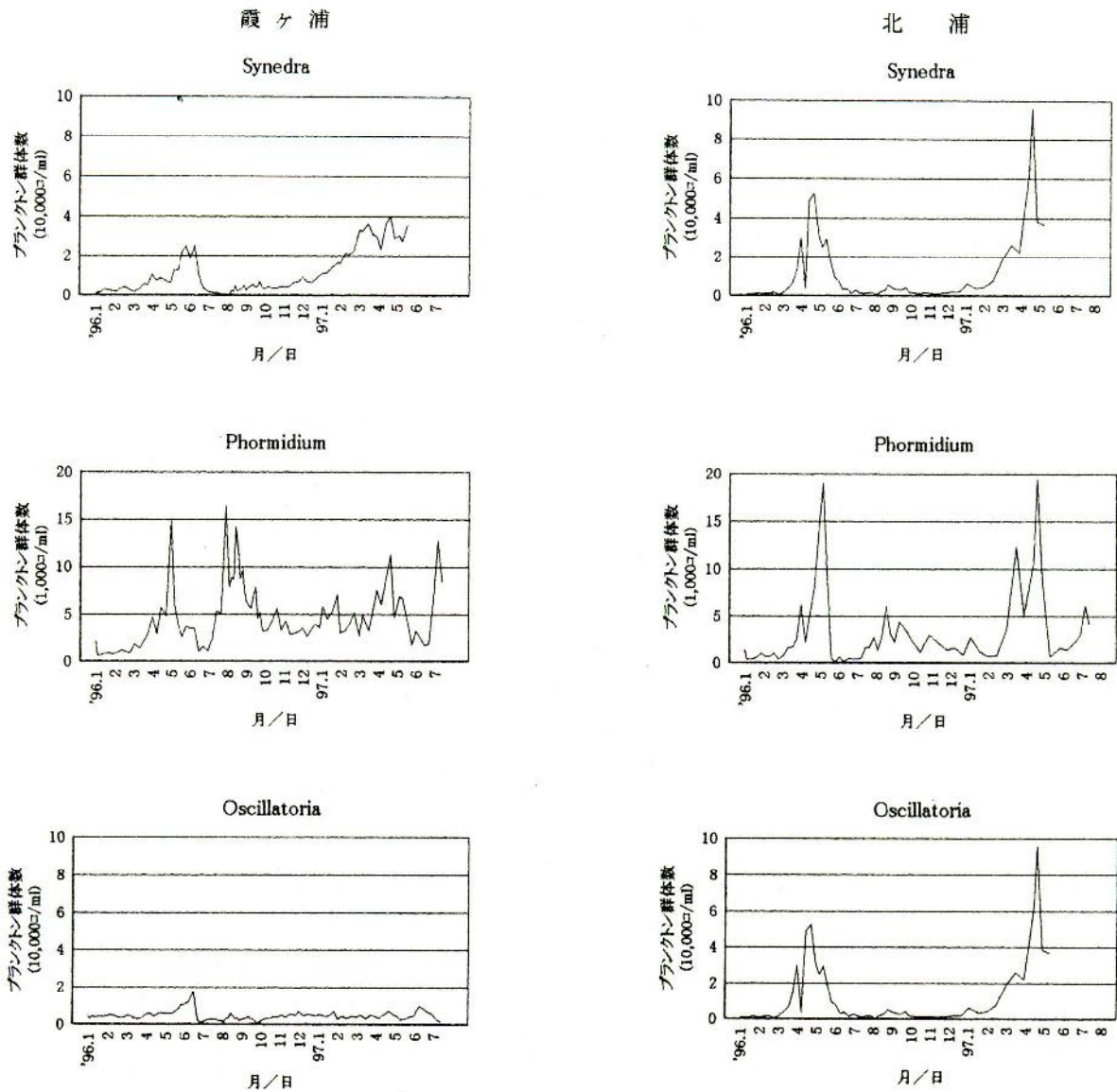


図3 霞ヶ浦北浦におけるプランクトン優占種の遷移

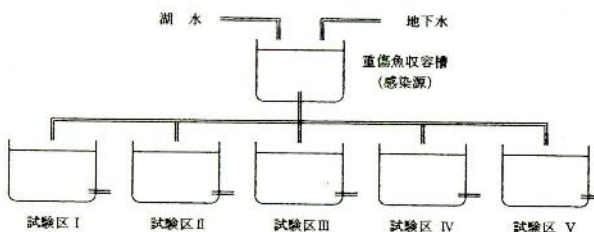


図4 アナアキ病感染試験に用いた飼育装置

次のとおりである。

①Virusの介在する可能性を調べるため、病魚患部筋肉1.1gにMEM10液10mlを加えてホモジナイ

ズし、その上澄み液のHA45フィルター濾液0.2mlを各供試魚(50gサイズ)に筋注する簡易法を用いた。

②先に病魚患部から分離した*A. hydrophila*を等張液浮遊液とし、その0.2mlを各供試魚に筋注した。

③スレ損傷を与える方法として、体側部の鱗を10枚剥離した。

④体表粘液分泌阻害剤としてピューロマイシン5mg/10mlを用い、各供試魚腹腔内に0.5mlを注

射した。

⑤湖心部において採取した湖底泥20ℓを500ℓタンクに投入，底面からのエアレーションによって常時泥の巻き上げが起きている状態にした。

下段5個の500ℓタンクにおける上記複合条件での試験区設定は，表5に示したとおりである。なお，上段タンクには感染源として牛渡漁場において採取した重症2+コイ500gサイズ7尾を収容，下段タンクの供試魚には当内水試の地下水流水池飼育の50サイズ1+コイを使用し，各試験群当たりの使用尾数を10尾とした。また，同一試験区内の対照群，鱗剥離群，患部磨細液筋注群等の識別は背鰭，尾鰭の一部を切除することにより行った。試験期間中の各供試魚（魚体重：W=50g）への給餌は期間中の飼育水温：T（℃）における飽食量：R（g/day）を次式により求め，各タンク収容尾数分量を毎日与えた。なお，試験期間中の水温は図2に示したとおりである。

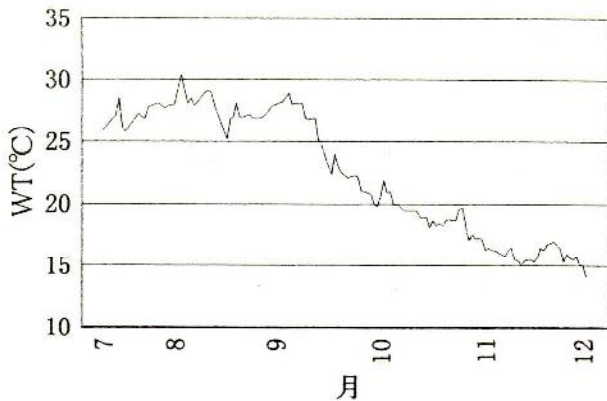


図5 試験期間中の飼育水温変化

$$R \text{ (g/day)} = 0.0191 * \text{EXP} (0.103 * T) * W^{2/3} \dots\dots\dots(1)$$

$$= 3.41$$

以上の試験設定による再現試験を1979年7月19日より開始し，その後7～10日おきに取り上げて病状別に尾数を調べた。病状の識別は外観体表患部の大きさにより，次のような判定基準で行った。

- ・正常魚：体表に異常が認められないもの。
- ・初期症状魚：赤斑状の充出血が認められるもの。
- ・中期症状魚：潰瘍性患部の大きさが10～20mmの範囲にあるもの。
- ・重症魚：潰瘍性患部がさらに進行拡大し，部分的に崩壊脱落しているもの。
- ・回復魚：患部周辺部真皮が修復され始め，黒色化が認められるもの。

2) 再現試験の結果

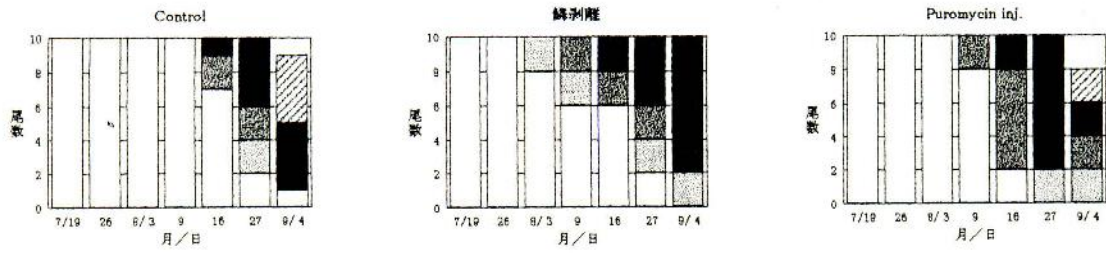
再現試験の結果は図6に示したとおりで，これから次のことが言える。

対照試験区については，何も傷害を与えなかった対照群においても感染が成立し，水温25～31℃において，試験開始から4週間後に初期症状が見られるようになり，7週間後には自然治癒し始めた。このことは本疾病が感染性のものであること，症状の進行がきわめて遅延性であること，さらには免疫獲得の可能性を示すものである。

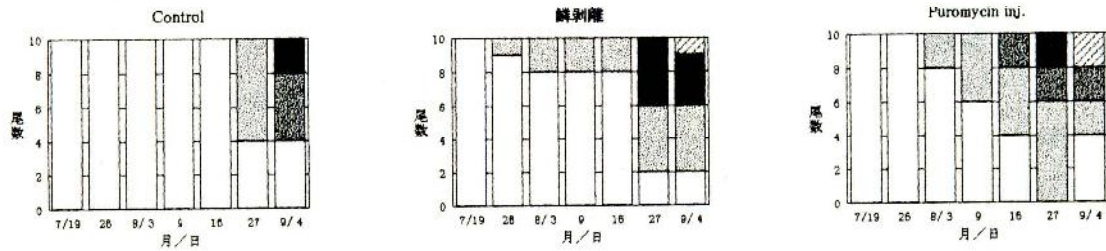
対照群と鱗剥離群を比較すると，後者の発病時期がやや早くなり，日数経過とともに重症魚の割

表5 アナアキ病再現試験における試験設定

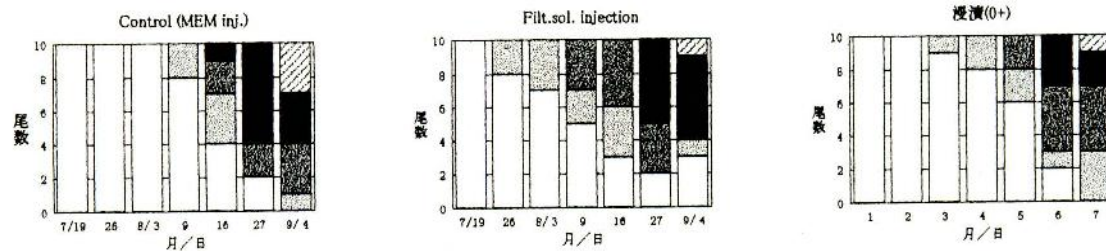
| タンクNo. | I | II | III | IV | V |
|------------|------------------------|------------------------|----------------|----------|--------|
| 試験区 | 対照区 | 湖底泥投入区 | Virus試験区 | 細菌試験区 | 高密度収容区 |
| 試験内容 | Cont(10) | Cont(10) | Cont(10) | Cont(10) | (80) |
| ()内は尾数 | 鱗剥離(10) Pm inj.(10) | 鱗剥離(10) Pm inj.(10) | Virus inj.(10) | 鱗剥離(10) | |
| 供試魚Av.W(g) | 51.5 | 49.1 | 48.4 | 50.2 | 48.3 |



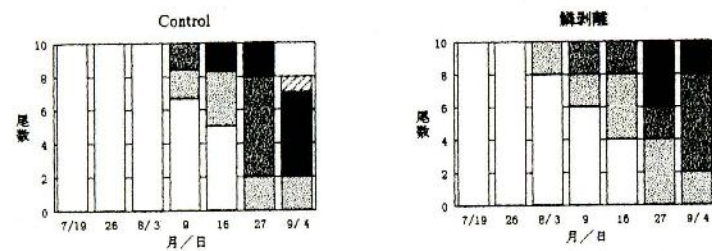
II 底泥懸濁の影響試験区



III Virus感染試験区



IV 分離菌による感染試験区



正 常
 初期症状
 中期症状
 後期症状
 回復期

図6 アナアキ病再現試験の結果

合が増加した。ただし、この場合患部形成は鱗を剥離した箇所以外の部位で発現した。これらのことから、傷害部が病原体の侵入門戸となるのではなく、傷害によるストレスが魚体のアナキ病病原体に対する防御機能を低下させたものと考えらるべきであろう。

対照群とピューロマイシン注射群との比較では後者の発病が1週間程度早く始まったが、その後の経過においては明確な差が見られなかった。

次に、湖底泥懸濁区については、対照群、鱗剥離群、ピューロマイシン注射群の全群について上記対照試験区と比較すると、いずれにおいても底泥懸濁区のほうが発病はやや早い、病状の進行は遅く、重症魚の出現割合が低かった。このことから、湖底泥の巻き上げは本病発病の要因とはなっておらず、むしろ本病に対する抑制効果があるものと思われた。湖底泥懸濁区における対照群と鱗剥離群、ピューロマイシン注射群の両群を比べると、後者における発病期は早く、発病率もいくぶん高めに推移した。このことは、対照試験区と同様に、鱗剥離や注射による傷害が魚体の防御機能低下に関与しているものと思われた。

Virus感染試験区については、無菌MEM液を注射した対照群と患部筋肉から抽出した無菌濾液を注射した群を比較すると、両者に明確な差が認められず、従って、本病にVirusは関与していないものと見なすことができる。

分離細菌浮遊液浸漬による感染試験区については、対照群と上記対照試験区対照群と比較すると、発病期は前者がやや早い、病状の進行、発病率については差が見られなかった。

7. 対策試験

(1) 試験装置及び方法

再現試験において用いた試験装置と同じものを使用し、その下段において、水産用医薬品投与及び薬浴、ビタミンの飼料添加等、養殖現場において実用

的と思われる予防対策法について、対照区と各試験区の発病率を比較することにより、抑制効果を調べた。さらに、発病後に自然治癒した個体における獲得免疫の可能性についても調べた。各試験区の試験設定方法については次のとおりである。

1) 対策試験-I ビタミンの飼料への添加効果

添加ビタミンについては、体表粘液の分泌活性に関係すると見られているV.C (APM:アスコルビン酸2リン酸マグネシウム、商品名:ホスピタンC)及びV.E(酢酸 α トコフェロール50%)を用い、それぞれ添加量の異なる2種飼料を作成した。なお、本飼料作成にあたっては、富士製粉(株)の協力を得た。

- ・対照飼料:V.C, V.E無添加
- ・飼料A:V.C0.03%, V.E0.015%
- ・飼料B:V.C0.04%, V.E0.02%

2) 対策試験-II オキシリン酸の薬治効果

水産用医薬品としてコイに使用が許可されているオキシリン酸を用いて経口投与及び薬浴の効果について調べた。

- ・経口投与:市販飼料(P-5)1kgにオキシリン酸(10%)1.6gを吸着させた飼料を作成し、この飼料を試験期間中毎日飽食量に与えた。
- ・薬浴:地下水20ℓにオキシリン酸(10%)0.2g、食塩200gを溶解した薬浴液を作成した。薬浴は1回につき40分間の浸漬時間とし、10日に1回の間隔で、病状観察の後に行い、試験期間を通じては計4回行った。

3) 対策試験-III 塩化リゾチームの経口投与効果

体表粘液の分泌を促し、白点病の治療効果があるとされる塩化リゾチーム(商品名:水産用ポトチーム)を用い、次に示す3種の混合比吸着飼料を作成し、毎日飽食量給餌とした。

- ・対照飼料:塩化リゾチーム無添加

- ・ 飼料C：塩化リゾチーム8.44g/kg
- ・ 飼料D： 〃 16.88g/kg
- ・ 飼料E： 〃 33.76g/kg

試験については170gサイズ自然治癒魚20尾を収容), 9月19日から試験を開始した。その後の病状の観察は10日間隔で行い, 10月31日に試験を終了した。

4) 対策試験-IV 獲得免疫による発病抑制効果

先に行った感染試験において感染発病し, その後患部が自然治癒したコイ20尾を再収容し, 対照区(新規収容コイ)との発病状況を比較した。給餌は対照区と同じく市販飼料を毎日飽食量与えた。

以上の対策試験における試験区設定を表6に示した。

各試験区内に内水試地下水流水飼育の60gサイズ2⁺コイを10~20尾収容(対策試験-IVの免疫効果

(2) 対策試験の結果

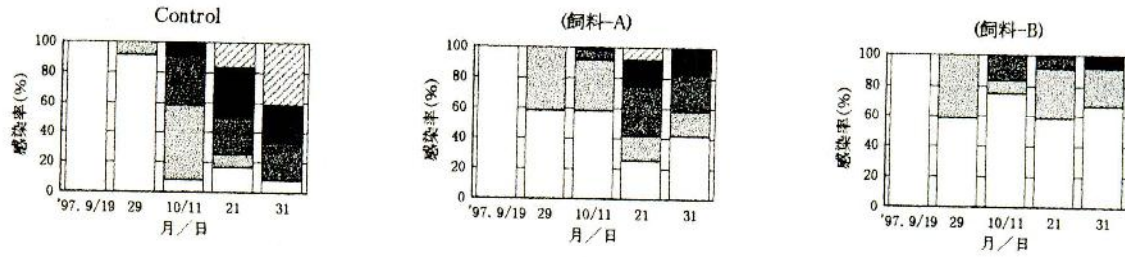
対策試験の各結果については図7に示した。

対策試験-I ビタミンの飼料への添加は発病抑制に効果が認められ, 特にビタミン添加量が多い区ではその効果は顕著であった。このことは本病に条件病的性格があり, コイ体内における対本病防御機能の低下が発病の一次要因となっている可能性を示唆するものである。また, この結果により, 市販飼料にビタミンC及びビタミンEを強化することはアナア

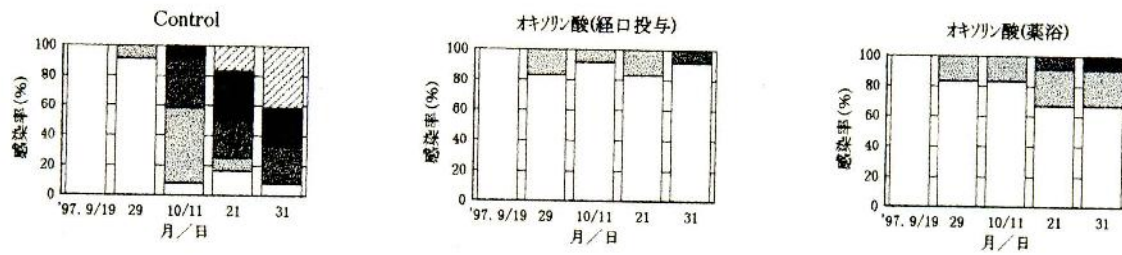
表6 アナアキ病対策試験における試験設定

| 対策試験(1) ('97.9/19~10/31) | | | | | |
|--------------------------|---------|-------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------|--|
| タンクNo. | I | II | III | IV | V |
| 試験区 | 対照区 | VitaminC,E 強化飼料(A) | VitaminA,C 強化飼料(B) | オキソリン酸 経口投与区 | オキソリン酸 薬浴区 |
| 給餌飼料 | 富士(5P) | 富士(5P-A) V.C:0.03% V.E:0.015% | 富士(5P-B) V.C:0.04% V.E:0.02% | 富士(5P)+Ox Oxo(10%):0.16% | 富士(5P) |
| 薬浴法 | | | | | 地下水:20(l) 食塩:200g Oxo(10%):0.2g 40min |
| 供試魚Av.W(g) | 54.0 | 57.0 | 61.0 | 53.0 | 63.0 |
| 収容尾数 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 対策試験(2) ('97.11/1~12/12) | | | | | |
| タンクNo. | I | II | III | IV | V |
| 試験区 | 対照区 | リゾチーム(1) 経口投与区 | リゾチーム(2) 経口投与区 | リゾチーム(3) 経口投与区 | 獲得免疫試験 |
| 給餌飼料 | 坂本(P-5) | 坂本(P-5) RhZ:0.844% | 坂本(P-5) RhZ:1.69% | 坂本(P-5) RhZ:3.38% | 坂本(P-5) |
| 供試魚Av.W(g) | 125.4 | 144.4 | 138.7 | 146.8 | 169.7 |
| 収容尾数 | 20 | 13 | 13 | 13 | 20 |

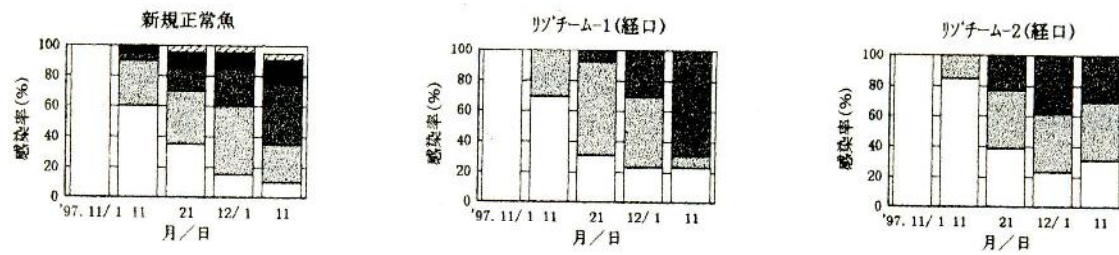
対策試験-I ビタミン添加効果



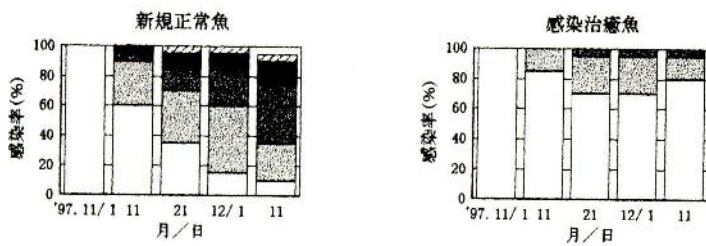
対策試験-II オキソリン酸薬治効果



対策試験-III 塩化リゾチーム投与効果



対策試験-IV 獲得免疫効果



正常
 初期症状
 中期症状
 後期症状
 回復期

図7 アナアキ病対策試験の結果

キ病予防対策として有効であると言えるが、これらビタミン剤は効果であるため有効量に添加することは現在のコイ養殖経営上かなり厳しく、実用に際しては、養殖業者の経営判断に委ねることになろう。

対策試験一II 水産医薬品オキシリン酸の薬治効果についても、経口投与区、薬浴区とも顕著な発病抑制効果が認められた。オキシリン酸についてもビタミン添加と同様に経費がかかるということと、食品の安全性から見て、使用の機会が限られてしまうことが難点である。網生簀養殖形態で実用するとすれば、陸上池での種苗生産過程と種苗輸送中の水槽における薬浴法による使用となる。

なお、抗菌剤であるオキシリン酸がアナアキ病の発病防止に有効であったということは、本病が細菌性疾病であることを裏付けるものである。

対策試験一III 塩化リゾチームの投与結果については、重症魚になる割合が低く、病状の進行を抑制する効果があると言えるものの、発病予防効果としては不十分であり、経費が3者の中でもっとも高くなるため、本病対策としては適当ではない。

対策試験一IV 自然治癒魚における再発病率は、新規収容ゴイの発病率に比べて明らかに低く、免疫を獲得したものと判断される。このことから、対策としてワクチンの有効性が示唆されるが、原因菌の同定が行われていない現段階においては、その開発実用化は当分先のことになりそうである。また、現在実用化されているワクチンの価格からみて、経営が困難な現在のコイ養殖業界において使用するには現実的ではないように思われる。コイ養殖に適用できそうな免疫付与方法として、陸上池種苗生産の場において行う次のような方法を今後検討する予定である。その一つは、アナアキ病魚を加熱滅菌した魚粉に加工し、稚魚に投与方法である。魚類では経口ワクチンによる効果は得られにくいものとされているため、可能性は低いが試験を行ってみる必要がある。第2の方法として、稚魚に人為的に感染発病

させ、斃死が起きない内に上記のビタミン強化飼料及び、オキシリン酸投与によって治癒回復させ、免疫獲得種苗とした上で網生簀に収容飼育するというもので、ある程度のリスクは避けられないが、感染試験の結果から可能性のある方法と考えられる。いずれの方法についても、効果が実証されれば、対策にかかる経費はかなり軽減できるものと言える。

8. 要 約

湖内の各網生簀コイ養殖漁場において、1996年の秋期からアナアキ病が流行し、1997年8月に実施アンケート調査の結果では、霞ヶ浦における平均被害率が25%以上にのぼり、網生簀養殖における魚病被害としては過去最大規模のものとなった。その後1998年3月現在もなおその被害は続発しており、有効な対策方法の解明が急がれている。このため、本病について感染試験及び対策試験を行った結果、次のことが判明した。

- ・感染試験用飼育装置において、アナアキ病魚から正常魚への本病感染が成立し、本病が感染性疾病であることが確認された。
- ・抗菌剤オキシリン酸の経口投与並びに薬浴による発病抑制効果が認められたことから細菌性の魚病であることが裏付けられた。
- ・ビタミンC、Eの経口投与によって病状の進行を抑制する効果が認められたことから、魚体の防御機能を低下させる要因は罹病被害率を高める原因となることが示唆された。
- ・一度感染発病した個体は、新規正常魚より明らかに発病率が低く、病気の再発が起りにくいことから、免疫を獲得したものと考えられた。

これらの結果から、本病の予防策としてワクチネーションによる効果が期待され、今後、コイ養殖業に適用できるワクチネーションの方法について検討する必要がある。