

農林水産省戦略的プロジェクト研究推進事業

「国内主要養殖魚の重要疾病のリスク管理技術の開発」

成果普及資料

ゾーニングによるマダイイリドウイルス病 の清浄性管理について

水産研究・教育機構 水産技術研究所 養殖部門 病理部

愛媛県農林水産研究所 水産研究センター

令和6年3月

本マニュアルには平成30年度～令和4年度に実施された農林水産研究の推進委託プロジェクト研究「クロマグロ養殖の人工種苗への転換促進のための早期採卵・人工種苗育成技術や低環境負荷養殖技術の開発」JPJ007159により得られた成果も含まれています。

目次

1. はじめに.....	4
1.1 マダイイリドウイルス病.....	4
1.2 清浄性管理の必要性および有効性.....	4
2. ゾーニングによる清浄性管理.....	5
2.1 ゾーニングとは.....	5
2.2 ゾーニングによる清浄性管理のポイント.....	5
3. WOAH の記載に準拠したゾーニングのポイント.....	7
3.1 管理区域の定義 (WOAH Aquatic Code Chapter 4.3.2)	7
3.2 潜在的な感染源からの隔離 (WOAH Aquatic Code Chapter 4.3.3)	7
3.3 文書化 (WOAH Aquatic Code Chapter 4.3.4)	13
3.4 疾病の監視 (WOAH Aquatic Code Chapter 4.3.4)	13
3.5 診断機能と手順 (WOAH Aquatic Code Chapter 4.3.6)	13
3.6 緊急時の対応と通知 (WOAH Aquatic Code Chapter 4.3.7)	13
3.7 管理区域の監視とコントロール (WOAH Aquatic Code Chapter 4.3.8)	14
4. 管理区域の清浄性の確認.....	15
4.1 管理区域の対外的な認知.....	15
4.2 WOAH に準拠した清浄性の自己宣言.....	15
5. 導入種苗の検査.....	17
5.1 検査の特性と限界.....	17
5.2 検査方法の感度・特異度.....	17
5.3 検査尾数.....	18
5.4 導入種苗の RSIV 検査の考え方.....	18
5.5 中間育成場のゾーニングによる清浄性管理.....	19
6. 補足情報.....	20
6.1 RSIV 病の流行要因.....	20
6.2 RSIV 病に対する衛生管理.....	25
7. 参考文献.....	31

【本マニュアルの使い方】

本マニュアルでは RSIV 病のゾーニングによる清浄性管理について、包括的に紹介しています。読者の興味に応じて以下の項目だけを確認していただくことも可能です。

ゾーニングにより清浄性を対外的に宣言したい場合

→全ての項目について順番にご確認ください。

ゾーニングに興味がある場合

→1, 2, 3および5章をご確認ください。

導入種苗の検査について興味がある場合

→1および5章をご確認ください。

マダイイリドウイルス病の衛生管理について興味がある場合

→1および6章をご確認ください。

1. はじめに

1.1 マダイイリドウイルス病

RSIV 病はイリドウイルス科メガロサイチウイルス属に分類されるマダイイリドウイルス (RSIV) が魚に感染し、主に脾臓で異形肥大細胞を形成する致死性の疾病である (Inouye et al. 1992; Kurita and Nakajima 2012)。日本では夏から秋にかけて、マダイ、ブリ類、マグロ、シマアジ、イシダイ等の海面養殖魚で発生し、程度の差はあるものの毎年各地で被害を出している。当歳魚での被害が大きいのが、水温や細菌との混合感染等の条件が重なれば、越年魚での死亡もしばしば発生する。様々な魚種で RSIV 病が報告されているがウイルスとしての差異はなく、同一漁場内で同じウイルスが魚種をまたいで流行している。本病に対しては、マダイおよびブリ類に対する不活化ワクチンが市販されており、ワクチン接種魚における被害軽減効果が認められている。

1.2 清浄性管理の必要性および有効性

RSIV 病は国際獣疫事務局 (WOAH) の指定疾病となっているため、諸外国からの検疫対象となっている場合が多い。しかしながら、国内の養殖出荷魚を PCR 検査すると高頻度で RSIV が検出されている。本マニュアルが発行された令和 6 年 3 月時点では、日本から輸出される活魚に対して RSIV の PCR 検査は課されていないものの、養殖出荷魚が RSIV を保有している状況は我が国の水産物輸出において潜在的なリスクとなっている。一方、RSIV の養殖場における流行を調査した結果、適切な管理を行えば RSIV 病を漁場内から排除できる可能性が示唆されている。そのような背景の元に本マニュアルでは、海面養殖において RSIV を保有しない養殖魚を養成ための清浄性管理手法について紹介する。実際に RSIV が発生しない、あるいは発生しにくい養殖漁場も存在し、結果的に RSIV を保有しない養殖魚が生産できている実態もある。本マニュアルでは、それを偶然ではなく確実に実施できる管理手法についてまとめたが、国内の海面養殖の現状 (海面養殖における養殖生産者の防疫意識、種苗の供給・検査体制、漁場の管理状況) を解決すべき課題も多いかもしれない。一方でマダイイリドウイルス病は適切な管理を行えば、特定の漁場や地域から撲滅できる可能性があり、我が国の将来的な海面養殖を見据えた提言としたい。

第 1 章終わり

2. ゾーニングによる清浄性管理

2.1 ゾーニングとは

本マニュアルで示すゾーニングとは、特定の管理区域（ゾーン; zone）を設定して、ゾーン内で特定の病原体が無い状態の魚を養成する清浄性管理手法である。WOAH でもこのような清浄性管理に関する記載があり、特定の要件を満たすと管理区域内で養成された魚はRSIV 病未発生国と同等の扱い（検疫不要）を受けることができる。なお、WOAH で定義されたゾーンは国単位での管理区域を指しており、本マニュアルで示すゾーンはWOAH で定義するところのコンパートメント（compartment）と同等であると解釈できる。以下、WOAH の原文を示す。

原文：Compartment means one or more aquaculture establishments under a common biosecurity management system containing an aquatic animal population with a distinct health status with respect to a specific disease or diseases for which required surveillance and control measures are applied and basic biosecurity conditions are met for the purpose of international trade. Such must be clearly documented by the Competent Authority(ies).

和訳：コンパートメントとは、国際貿易の目的のために、共通のバイオセキュリティ管理システムのもとで、必要なサーベイランスと管理措置が適用され、基本的なバイオセキュリティ要件が満たされている、特定の疾病に関して明確な健康状態を有する水生動物集団を有している一つ以上の養殖施設をいう。このことは、管轄官庁によって明確に文書化されなければならない。

また、WOAH の Aquatic Animal Health Code (<https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/aquatic-code-online-access/>) の Chapter 4.3.1 では、ゾーニングとコンパートメンタリゼーションの違いについて以下のように記述されている。

原文：The essential difference between zoning and compartmentalisation is that the recognition of zones is based on geographical boundaries whereas the recognition of compartments is based on management and biosecurity practices. However, spatial considerations and good management practices play a role in the application of both concepts.

和訳：ゾーニングとコンパートメンタリゼーションの本質的な違いは、ゾーンは地理的境界に基づいているのに対し、コンパートメンタリゼーションは管理とバイオセキュリティの実践に基づいている。ただし、空間的な配慮と適切な管理慣行が重要な役割を果たすことは両者の概念に共通している。

2.2 ゾーニングによる清浄性管理のポイント

海面を網生簀で仕切っただけの海面養殖では物理的な防壁が存在せず、養殖場間を海水や天然魚が自由に移動できることから、ゾーニングによるバイオセキュリティ管理が難しい

と考えられてきた。しかしながら、近年の研究により海水を介した RSIV の伝播は距離に依存すること、天然魚が養殖魚における RSIV 病の流行要因となっている可能性は低いことが明らかとなっている。さらに、他の流行のリスク要因も検討した結果、①RSIV に感染していない種苗を導入し、②養殖場間あるいは越年魚生簀との距離を 100m 以上確保し、③適切な衛生管理を実施することで、養殖マダイで RSIV 病が発生することなく、出荷魚からも RSIV 遺伝子が検出されないことが確認されている。今後、ゾーニングによる清浄性管理の結果として対外輸出における恩恵を得るためには、上記の管理方法について体系的に整理し、出荷魚が RSIV に感染しない管理方法で養成されてきたことを客観的に示す必要がある。WOAH の Aquatic Animal Health Code (<https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/aquatic-code-online-access/>) Chapter 4.3 では管理区域の適用について体系的に整理されており、次章ではその記載に基づいて、RSIV 病のゾーニングによる清浄性管理についてポイントを整理していく。

第 2 章終わり

3. WOAH の記載に準拠したゾーニングのポイント

3.1 管理区域の定義 (WOAH Aquatic Code Chapter 4.3.2)

- (1) 管理区域内で対象とする疾病を選定する。本マニュアルの場合は RSIV 病となる。
- (2) 管理区域を管理する実施者 (以下、実施者) を定義する。この実施者には、個人・企業の養殖事業者や漁協等が該当する。
- (3) 管理区域の範囲を設定する。海面養殖の場合は、対象となる生産者が保有している養殖生簀群の外縁の生簀から 100m 以上外側の海面の境界線を緯度経度の座標として明示することが望ましい。この範囲内に、実施者の管理下に無い (別の養殖事業者の) 養殖生簀が存在する場合は、物理的に管理区域を設定することは不可能となる。また、関係する陸上施設 (船着き場、飼料保管庫、作業員詰所、出荷場、死亡魚廃棄場等) についても、管理対象として施設の名称と場所を指定する。

3.2 潜在的な感染源からの隔離 (WOAH Aquatic Code Chapter 4.3.3)

(1) 物理的あるいは空間的要因

管理区域内の清浄性は実施者の管理体制とバイオセキュリティ対策に基づいて担保されているが、周辺環境に応じて適切な管理体制を設定する必要がある。WOAH では、以下のような点について考慮するように記載されており、それぞれの項目について RSIV 病に特化した考え方を紹介する。

a) 隣接するエリアの疾病発生状況：

RSIV の場合は生簀間の距離を 100m 以上離すことで、海水による伝播リスクを大きく下げることができる。しかしながら、RSIV 病は西日本の各地で断続的に発生しているため、管理区域の近隣の養殖場で RSIV 病が発生することは十分に想定される。もし、管理区域外からの RSIV との接点が想定される場合 (例えば、管理区域外の出荷魚が生簀ごと管理区域内を通行して出荷場に運ばれる、管理区域内外で共同の出荷場や死亡魚廃棄処理場を利用している等) には、想定される感染源からの物理的あるいは空間的な隔離が担保できないため管理区域の設定が難しくなる。これは、結果的に RSIV に感染していない魚を生産できたとしても、その生産過程で清浄性が科学的に担保できていることを対外的に示すことが難しいことを意味する。

b) 出荷場や加工場：

外観上健康な出荷魚から RSIV が検出されている例もあるため、管理区域外での養殖魚を扱う出荷場や加工場は、管理区域内の生簀との距離を 100m 以上離す必要がある。上記の要件を満たせない場合は、管理区域を設定することは不可能となる。また、上記の要件を満たしていた場合でも、人の動きを介して管理区域内外間で病原体との接点が想定される場合には、適切なバイオセキュリティ対策 (管理区域内に入る際の長靴や手の消毒等) が必要となる。

c) 魚市場や活魚を扱う飲食店といった水生動物が集まる場所：

b)と同様と扱いとなる。

ここまで挙げた情報を考慮すると、海面養殖においてゾーニングによる清浄性管理の妥当性を、科学的根拠をもって対外的に受け入れてもらうためには、湾や入江全体を管理区域の単位として設定し、他の養殖場と物理的な接点を持たないようにすることが必要である（図1）。なお、広域的にみると海水や天然魚で養殖場間に接点があるように見えるが、RSIV の場合は湾や入江単位の空間的な隔離により、これらが感染源となるリスクはほとんどないことが科学的に確認されている（Kawato et al. 2023; Kawato et al. 2024 (投稿中)）。さらに、餌料保管庫、出荷場、および死亡魚廃棄場等の陸上施設についても、管理区域内で独自に管理する方がRSIV 侵入のリスクは低いと考えられる。しかしながら、そういった管理が現実的に難しい場合は、共同利用する場所についてはリスクに応じて動線上に消毒ポイントを設定し、消毒や長靴等の履き替えにより管理区域内に病原体を持ち込まない管理が必要となる（後述）。また、導入種苗がウイルス感染していた場合の越年魚への感染拡大防止や、逆に管理区域の設定初年度に越年魚から当歳魚への感染を防ぐために、各年級群を100m以上離して管理できると理想的である（図1）。

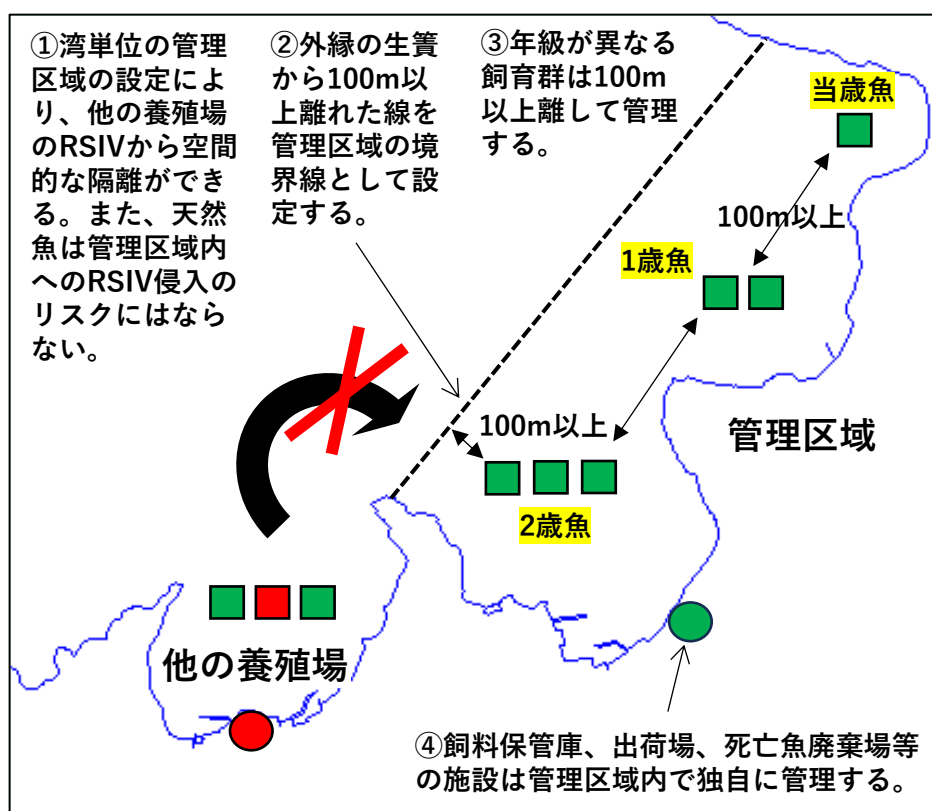


図1. 理想的な管理区域設定のイメージ。

赤色塗りつぶしの四角および丸は、RSIV が存在する生簀および陸上施設（飼料保管庫、出荷場、死亡魚廃棄場等）を模式的に示している。

(2) 設備・施設の要因

前提として、前述のように飼料保管庫、出荷場、死亡魚廃棄場等の陸上施設が管理区域内で独自に管理されていれば、推定される感染源との接点が存在しないため、厳格なバイオセキュリティ対策を設定する必要性は低いと考えられる。一方、それらの施設を管理区域外の養殖事業者と共有している場合には、それぞれのリスクに応じた消毒ポイントを設ける必要がある。そこで、管理区域内の陸上施設をグリーンゾーン（RSIVの存在が想定されない区画）、イエローゾーン（不測のRSIVの持ち込みが想定される区画）、およびレッドゾーン（RSIVの存在が想定される区画）の3つに分類し、各状況における消毒ポイントの設置場所を図2および3にまとめた。これに加えて、WOAHが提案している設備・施設の要因で考慮すべき点 a) ~ k) について整理する。

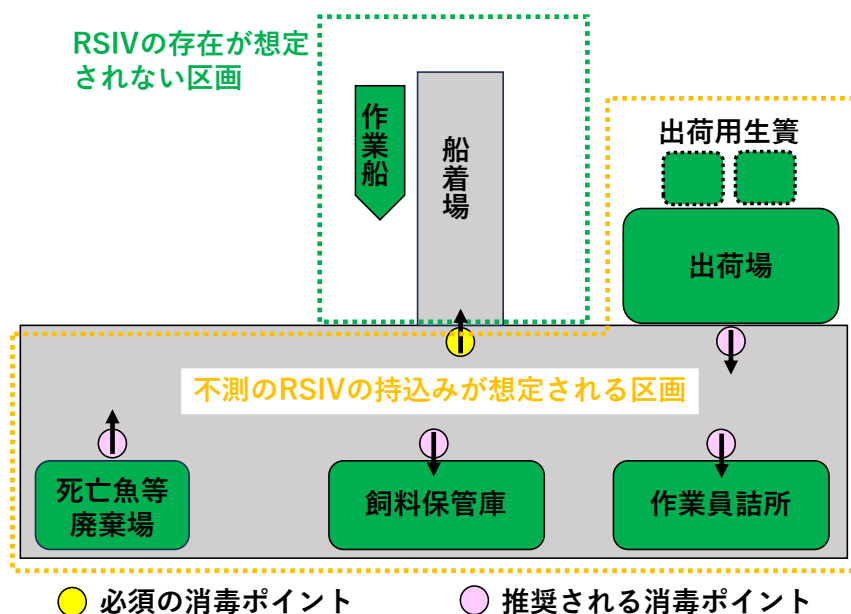


図2. 管理区域の養殖事業者が単独で陸上施設を管理している場合の消毒ポイント。

緑色で塗りつぶされた施設・設備はRSIVが存在しないことを示す。管理区域内はRSIVが存在しない前提となっているので、レッドゾーン（RSIVの存在が想定される区画）はない。イエローゾーン（不測のRSIVの持ち込みが想定される区画）は、作業員が外部から意図せずにRSIVを持ち込んだり、外部の人間（釣り人等）が岸壁に近づくといった可能性のある場所となる。作業船および船着場をグリーンゾーン（RSIVの存在が想定されない区画）とするために、ここへ入る直前に消毒ポイントを設置する。消毒ポイントの矢印の向きは、消毒を実施する方向を示す。例えば、船着場直前の消毒ポイントでは、船着場に入る前に消毒を実施して中に入ることを示している。消毒ポイントに設置する消毒剤の種類・調整方法は6.2 RSIV病に対する衛生管理（表5）に示した。

- a) 飼育水：RSIV の場合は 100m 以上の空間的な隔離により飼育水を介した管理区域内への病原体の侵入リスクは無視できる。
- b) 物理的隔離の効果的な手段：前述の湾単位での管理区域の設定により海水自体が物理的隔離の意味合いを持つ。
- c) 人のアクセス制御：陸上施設のリスクが低い場所はイエローゾーンとし、そこを出入りする人間の制御は現実的な運用（例えば、岸壁に釣り人がいるのは許容する等）で問題ない。逆に魚を飼育している海面生簀へのアクセス（船着場や作業船を含む）に関しては、病原体侵入を防ぐグリーンゾーンとして管理するべきである（例えば、作業員の乗船記録の管理、乗船前の作業員の長靴や手の消毒等）。
- d) 車両・船舶：イエローゾーンへ入る出荷用、資機材搬送用、従業員用の車両の出入りについては特に消毒等の措置を実施せず、作業船から海面生簀へのグリーンゾーンの手前に消毒ポイントを設けるのが現実的である。一方、管理区域内の養殖生簀へのプレジャーボートの接近は管理区域外からの病原体持ち込みのリスクがあるため禁止するように注意喚起した方が良い。
- e) 荷揚げ施設：管理の必要性が低いイエローゾーンである。
- f) 導入種苗の隔離施設：導入種苗のみを約 1 ヶ月程度を目安に隔離飼育する生簀を管理区域内の他の生簀から 100m 以上離れた場所に設置する。しかしながら、現実的に設置は難しいことも想定されるため、導入種苗の検査等、種苗の清浄性を担保するシステムが必要となる（5 章を参照）。
- g) 資材・機器の搬入施設：管理の必要性が低いイエローゾーンである。
- h) 飼餌料等の保管施設：管理の必要性が低いイエローゾーンである。
- i) 廃棄物の処分：RSIV 死亡魚のウイルス保有量は高いため死亡魚の廃棄には注意が必要だが、RSIV が存在しない想定となっている管理区域内だけの死亡魚が集まる場合は、RSIV との接点が想定されないため死亡魚廃棄場のリスクはない（グリーンゾーン）。ただし、その他の病原体の温床になる可能性があるため、死亡魚廃棄場には消毒槽や手の消毒液等を設置することが推奨される。一方、管理区域内外の死亡魚が集まる場合には、レッドゾーンとして管理し、死亡魚廃棄場から出た直後に消毒ポイントを設け、長靴の履き替えや消毒および手の消毒を実施する。
- j) 媒介物からの暴露を防ぐ措置：RSIV の場合は魚以外の媒介生物が存在するような証拠がなく現実的にリスクは低いと考えられる。なお、天然魚に関しても感染源となるリスクはほとんどないことが確認されている。
- k) 飼餌料の供給：エクストルーデッドペレット（EP 飼料）のように、加熱処理されているものは飼料自体からの伝播リスクを考慮する必要はない。ただし、給餌までのプロセスにおいて、病原体との接点が起きないように給餌工程の前には死亡魚を扱わない、また手の消毒を実施する等のバイオセキュリティ計画を設定するべきである。

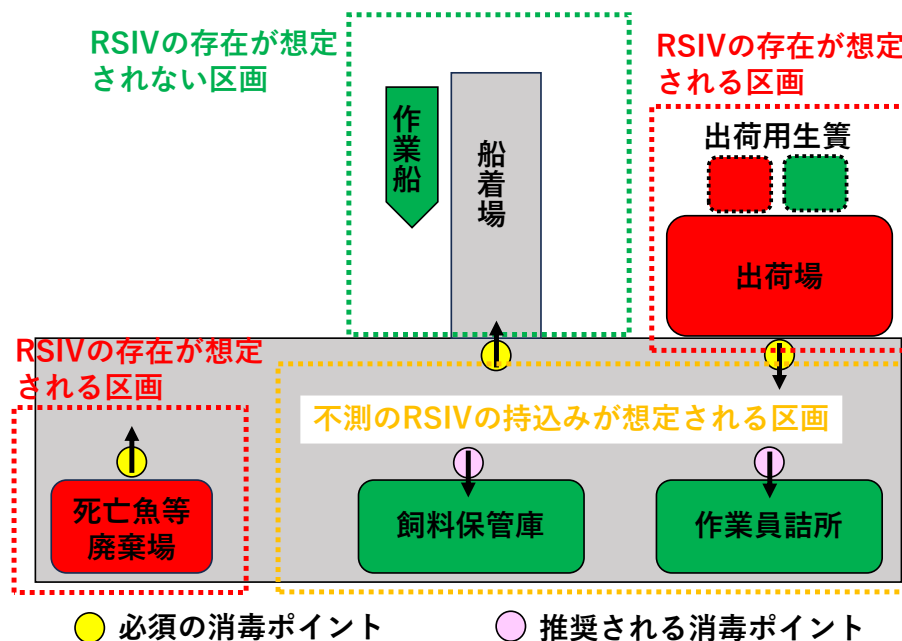


図3. 管理区域外の養殖事業者と陸上施設を供用している場合の消毒ポイント。
 赤色で塗りつぶされた施設・設備は RSIV が存在していることを示す。管理区域外は RSIV の存在が想定されるため、特に死亡魚廃棄場および出荷場はレッドゾーンに分類され、ここから出てくる場所に消毒ポイントを設置する。それ以外は図2と同じ考え方となる。

(3) バイオセキュリティ計画

ゾーニングによる清浄性管理の完全性は、効果的なバイオセキュリティに依存するため、包括的なバイオセキュリティ計画を策定、実施、管理することが重要である。バイオセキュリティ計画において、WOAH の Aquatic Code (2024 年時点) では以下の点 a) ~ h) について詳細を説明することを要求している。なお、ここで示す項目は Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP)と同様の品質管理プロセスとして、管理者によって文書化されることが望ましい (参考資料：<https://www.mhlw.go.jp/content/11130500/000789867.pdf>)。また、既にこういった品質管理システムを導入している養殖事業者は、管理区域の設定による疾病管理システムとして組み込むことで対外的に管理体制の完全性を示すことが容易になる。

- a) 管理区域内への病原体の侵入経路能性のある経路 (水生動物の移動、野生の水生動物、潜在的な媒介動物、車両、人、生物学的製品、機器、媒介物、飼料、海水、排水またはその他を含む)。環境中での病原体の生存期間も考慮する必要がある。

【RSIV 侵入経路】

感染種苗の導入および感染越年魚が挙げられる。100m 以内の範囲に、感染種苗あるいは感染越年魚がいる場合には海水を介して RSIV が伝播する可能性が高い。ま

た、感染魚を扱った人の手やタモ網を介して、100m 以上の範囲に RSIV が伝播する可能性も想定される。なお、天然魚は RSIV の感染源として想定されない。

【病原体の環境中での動態】

RSIV の生存期間として、環境海中では 20～30°C の範囲では約 1 週間で 99% が不活化される。直射日光では 3 時間で 99.9% 以上不活化されるが、日陰（約 25°C）では 6 時間以上感染力価は変化しない。

- b) 各経路の重要な制御点
 - ① 管理区域へ RSIV 感染種苗を絶対に入れない。
 - ② 管理区域内では、他の養殖場から 100m 以上の空間的距離があるため海水や人を介した RSIV の伝播は想定されない。ただし、作業員が管理区域外に出た際に、RSIV との接点が生じる可能性がある。
 - ③ 特に共同の死亡魚廃棄場や出荷場を利用している場合には、当該設備から出た直後に消毒ポイントを設置する。
- c) 各重要管理点の暴露を軽減するための措置
 - ① 導入種苗を事前検査する。
 - ② 作業船に乗る前に消毒ポイントを設け、長靴の履き替えあるいは消毒槽を設置し、手のアルコール消毒等を実施する。
 - ③ 共同の死亡魚廃棄場あるいは出荷場から出た直後に消毒ポイントを設け、長靴の履き替えあるいは消毒槽を設置し、手のアルコール消毒等を実施する。
- d) 以下の標準操作手順
 - ・リスク軽減策の遵守の実施、維持、監視
 - ・是正措置の適用
 - ・プロセスの検証
 - ・記録の保存
- e) 暴露レベルが変化した場合の緊急時対応計画
- f) 管轄当局への報告手順
- g) バイオセキュリティの原則と実践に関する従業員の教育・訓練プログラム
- h) 清浄性確認のための調査が実施されていること

上記の項目 a)～h)に関連するバイオセキュリティ計画が妥当かどうか十分な証拠を提出する必要がある。これらの証拠は、学術論文（Kawato et al. 2021; Kawato et al. 2023; Kawato et al. 2024（投稿中）等）により示すことができる。管理区域内における全ての作業のバイオセキュリティリスクは、少なくとも年に一度再評価され、文書化される必要がある。評価の結果に基づいて、管理区域内への病原体侵入の可能性を減らすために、具体的かつ文書化された軽減措置を講じる。

(4) トレーサビリティシステム

RSIV の場合は、種苗を介した管理区域内への病原体の侵入リスクが高いため、種苗の由来と移動履歴について文書化し、それが管轄当局により監査できる状況が望ましい。種苗生産場および中間育成場やその周辺の状況に関する情報も、導入種苗の健苗性を把握する上で重要である。種苗導入後の成長段階に応じた管理区域内での飼育群の移動については、管轄当局による監視は必要ないが、その移動履歴については記録しておく。

3.3 文書化 (WOAH Aquatic Code Chapter 4.3.4)

管理区域が適切に管理されていること (完全性) を示すために、管理区域内で設定したバイオセキュリティ、トレーサビリティ、管理慣行について文書化しておく必要がある。これには、飼育群の移動情報に加えて、生簀での飼育尾数、給餌量、斃死数、他の疾病の罹患歴、投薬とワクチン接種、作業員の訓練の記録等が含まれる。記録の保管期間は 3～5 年程度が目安となる。

3.4 疾病の監視 (WOAH Aquatic Code Chapter 4.3.4)

内部監視として、管理区域内に RSIV が侵入したことを早期に発見できる仕組みが必要となる。これは、日常の斃死数の管理および斃死数が増加した際に速やかに地方公設試の魚病診断を受けることにより対応する。

外部監視として、管理区域外の RSIV 病の流行状況の把握が重要となる。管理区域外で RSIV 病が流行している場合には、管理区域内外での人や器具の移動による RSIV 侵入のリスクが高まっていると認識し、バイオセキュリティ対策のレベルを引き上げるが必要である。例えば、作業員への注意喚起と消毒操作の徹底が挙げられる。

3.5 診断機能と手順 (WOAH Aquatic Code Chapter 4.3.6)

管理区域内で RSIV 病と疑わしい事例が発生した場合は、各地方公設試験場の魚病担当者あるいは獣医師が WOA の Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animal (https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/aahm/current/2.3.07_RSIVD.pdf) に記載された PCR 法により診断を行う。必要に応じて、WOAH のリファレンスラボラトリー (現在は国立研究開発法人 水産研究・教育機構 水産技術研究所) による確定診断を実施する。

3.6 緊急時の対応と通知 (WOAH Aquatic Code Chapter 4.3.7)

管理区域内で RSIV 病の発生が疑われる場合、3.5.の手順で RSIV 病の診断を行う。結果が出るまでの間は、管理区域内の清浄性は停止され、診断が確定された後に清浄性が取り消しの状態となり、輸出相手国に通知される。

3.7 管理区域の監視とコントロール (WOAH Aquatic Code Chapter 4.3.8)

RSIV を検査する機関の権限、組織、および施設は、管理区域の完全性に対する信頼を提供するために、Aquatic Code Chapter 3.1 に従って明確に文書化される必要がある。

管轄当局は、管理区域のステータスを付与、一時停止、あるいは取り消しの最終権限を持つ。管轄当局は、本章に記載されている管理区域ステータスの維持に重要なすべての要件の遵守を継続的に監督し、輸出相手国がすべての情報に容易にアクセスできるようにし、重大な変更がある場合は輸出相手国に通知する必要がある。

第 3 章終わり

4. 管理区域の清浄性の確認

4.1 管理区域の対外的な認知

管理区域で清浄性が担保されたことを対外的に認知されるためには、前述の管理区域の設定と管理に加え、WOAH Aquatic Code Chapter 1.4.および 10.8.に記載された要件に準拠した調査を実施し、清浄性の自己宣言をする必要がある。本章では、それらの要件の一部について WOA Aquatic Code の当該部分を引用しながら、RSIV 病の特徴に合わせて紹介する。

4.2 WOAH に準拠した清浄性の自己宣言

(1) 事前準備 (WOAH Aquatic Code Chapter 1.4.5.~1.4.9.等)

前章 (WOAH の記載に準拠したゾーニングのポイント) の 3.1~3.7 を管理区域内で整備し、管理が有効な状態を 1 年以上継続する。この段階で、管理区域内の養殖魚種に対して、RSIV 病に対する「ワクチン接種をしない」ことが要件として挙げられている。

(2) 調査 (WOAH Aquatic Code Chapter 1.4.10., 1.4.13., 10.8.7.等)

a) 調査の概要

上記の事前準備後に、管理区域内の飼育群が RSIV 感染していないことを外観上健康魚の破壊検査により示す必要がある。この調査では、最も RSIV が検出される可能性が高い飼育群、時期や検査方法によっても RSIV が検出されないことにより、管理区域内の清浄性を確認するという考え方をしている。

b) 調査対象および時期

飼育群が RSIV に感染して 1 年間以上飼育された場合は、飼育群が RSIV の流行期である夏~秋を経験しているため、飼育群の有病率が比較的上がっている可能性が高い。そのため、事前準備の間に飼育管理された 1 歳魚あるいは 2 歳魚について、7 月と 11 月に検査を実施する。加えて、その年の導入種苗に関しても、導入種苗により管理区域内に RSIV が侵入していないことを確認するために 7 月と 11 月に検査を実施する。調査時期に関しては、これまでの疫学情報から、7 月は水温上昇期のために RSIV 病が発生しやすい時期であり、11 月は夏~秋にかけて RSIV 病が発生していた結果を捉えやすい時期であることから、本マニュアルにおいて提案するものである。

c) 検査尾数

上記の時期に 2 回の検査を実施する場合には、有病率が 10%を超える可能性が高いため、各年級群につき 30~60 尾を検査する。なお、各年級群について複数のロットがある場合には、管理区域内ではロット間で RSIV が伝播しやすい環境であることから、特に 11 月の検査では、どれか一つのロットを選定することで各年級群全体を評価できると考えられる。

d) 検査方法

脾臓から市販の DNA 抽出キットを用いて個体別に核酸抽出を行い、個体別に PCR あるい

は定量 PCR 検査を実施する。詳細な検査方法は水産研究・教育機構 水産技術研究所 病理部に相談いただきたい。

(3) 清浄性の自己宣言 (WOAH Aquatic Code Chapter 1.4.4.)

上記の1年間の調査で検査魚からRSIVが検出されなかった場合に、当該管理区域内にRSIVが存在しないと判断できる。清浄性の自己宣言にあたり、WOAHに定められた要件に従って資料を作成し、国内のWOAHデリゲート(代表者)からWOAHに提出する。提出された資料をWOAHが審査し、要件を満たしている場合には清浄性の自己宣言の情報がWOAHから公開される。

(4) 管理区域の清浄性の維持 (WOAH Aquatic Code Chapter 1.4.15.)

前章3.7で示した管理区域内での疾病の監視システムにおいて、RSIV病の発生が確認されない限りは基本的に清浄性が維持されていると判断する。一方、管理区域の周辺で重大なRSIV病の流行が認められる場合には、本章4.2(2)調査で示した方法で検査を実施することにより管理区域内での清浄性を確認する。

第4章終わり

5. 導入種苗の検査

5.1 検査の特性と限界

ゾーニングによる清浄性管理を実施するためには、RSIV 感染していない種苗を管理区域内に導入することが必須となる。RSIV 感染していない種苗を導入する方法として事前検査が考えられるが、例えば 30 尾を検査して陰性だった場合にその飼育群は RSIV に感染していないと言い切れるだろうか？答えは「No」である。そもそも「検査して陰性」と表現した場合でも、どんな検査方法を用いたかによって意味は大きく異なってくる。本章では RSIV 感染していない種苗を導入するために重要だと考えられる検査の特性と限界について紹介する。

5.2 検査方法の感度・特異度

RSIV 検査の方法は、目視による健康状態の観察、RSIV 感染の目安とされている鰓の黒点の観察、脾臓のスタンプ標本の観察、PCR 検査、リアルタイム PCR 検査等が挙げられる。各検査方法には感度と特異度が存在し、感度は陽性検体を正しく陽性と判定できる（偽陰性を出さない）確率を、特異度は陰性検体を正しく陰性と判定できる（偽陽性を出さない）確率を示す。表 1 に感度 70%・特異度 90%の検査方法で、各感染率の飼育群から 100 尾を抽出して検査した場合の期待値（結果例）を示す。感度が低い検査法だと、RSIV 感染している飼育群でも検出できない可能性が高くなり、逆に特異度が低い検査法だと RSIV 感染していない飼育群でも陽性と判定される恐れがある。検査法の感度と特異度はこのような関係性を持っており、RSIV 病の各検査方法についても、数値は明らかとなっていないが表 2 のような感度と特異度が想定される。

表 1. 感度 70%・特異度 90%の検査法で各感染率の飼育群から 100 尾を検査した期待値

検査対象 (検査数=100 尾)	検査結果としての陽性数	検査結果としての陰性数
ロット 1 (感染率 100%)	70 真の陽性：70、偽陽性：0	30 真の陰性：0、偽陰性：30
ロット 2 (感染率 10%)	16 真の陽性：7、偽陽性：9	84 真の陰性：81、偽陰性：3
ロット 3 (感染率 1%)	10.6 真の陽性：0.7、偽陽性：9.9	89.4 真の陰性：89.1、偽陰性：0.3
ロット 4 (感染率 0%)	10 真の陽性：0、偽陽性：10	90 真の陰性：90、偽陰性：0

表2. 各検査方法の感度と特異度の概要

検査方法	感度	特異度
目視による健康観察	低い (発症前は検出できない)	中程度 (他の疾病でも類似症状)
鰓の黒点	低い (発症前は検出できない)	中程度 (他の疾病でも類似症状)
脾臓のスタンプ標本	低い (発症前は検出できない)	高い
PCR 検査	高い	比較的高い (非特異反応が稀に発生)
リアルタイム PCR 検査 (プローブ法)	非常に高い	非常に高い

5.3 検査尾数

飼育群の検査を行うにあたり、飼育群の何パーセントが感染しているか(有病率)を想定し、それを95パーセントの信頼性(危険率5パーセント)をもって検出できる尾数を検査数(サンプルサイズ)として設定する方法がWOAH等で提示されている。この際に、前述の感度が低いほど多くの検体数を検査する必要がある、特異度が低いほど検査結果で陽性が出たとしても偽陽性と判断し、検査対象群が陰性と判定される。これらの数値の一覧表がWOAH Aquatic Code 1.4.16.に記載されている。また、サンプルサイズ計算用のウェブサイト <https://epitools.ausvet.com.au/freedomss> を用いて計算することもできる(表3)。

5.4 導入種苗のRSIV検査の考え方

導入種苗のRSIV検査を実施する際には、感度および特異度の高いリアルタイムPCRによる検査が望ましい。この検査法を用いた場合、検討の余地はあるものの、差し当たり感度99%・特異度100%を想定する。しかしながら、どんなに感度が高い検査法を用いたとしても、検査対象群の感染率が2%未満場合は、150尾を検査しても陰性を証明することはできない(表3)。また、検査対象群が感染初期の段階では数十万尾うち数百尾しか感染していない場合(感染率=0.1%程度)も十分に想定される。養殖場に導入される種苗の多くは、陸上で種苗生産されたマダイ、あるいは天然で採捕されたモジャコを中間育成場で一定のサイズまで育成したものであり、この時に種苗がRSIVへの感染を受けていると考えられる。一方、中間育成場での飼育期間は数カ月間しかないため、仮に飼育群がRSIV感染したとしても30-60尾の検査で検出できるような有病率に到達していない場合もある。実際に

導入種苗を 30～60 尾検査して陰性だったにも関わらず、導入後 1 ヶ月も経たずに疾病が発生するという事例も確認されている。そのため、事前検査に加えて、中間育成場での疾病の発生状況はもちろんのこと、中間育成場付近での越年魚の飼育や衛生管理等の状況も考慮して、種苗の導入を総合的に判断する必要がある。もし、中間育成場で RSIV が発生しているという情報があれば、感染魚からウイルスが完全に除去されることはないので、ゾーニングによる清浄性管理を実施する場合には当該種苗の導入を見送るべきである。

表 3. 想定される有病率の飼育群を危険率 5%で陰性と判断するために必要な検体数

想定有病率 (%)	必要な検体数
10	29
5	60
2	150
0.1	3025

* 上記のデータは <https://epitools.ausvet.com.au/freedomss> により、検査法の感度を 99%、集団サイズが無限大とした場合の計算結果を示す。

* 危険率 5%：5%の確率で陰性の判定を誤るリスクがあることを意味する。

5.5 中間育成場のゾーニングによる清浄性管理

以上に示したように、導入種苗の検査によるリスク管理には限界がある。さらに、導入種苗の検査で RSIV が検出された場合に、魚の廃棄処分や代金の補償等、販売者と購入者間での利害も状況を複雑にすることが想定される。そのため、種苗の中間育成場でこそゾーニングによる清浄性管理を実施し、RSIV に感染していない種苗の供給体制を構築していくことが望まれる。さらに、種苗販売者側で種苗の検査を実施することで、ゾーニングによる清浄性管理の実施と合わせて販売種苗の安全性を提示することができ、付加価値の創出にもつながるとも考えられる。

第 5 章終わり

6. 補足情報

6.1 RSIV 病の流行要因

これまでの研究から明らかになっている RSIV 病の流行要因についてまとめた。

(1) 感染源

魚体サイズの大きなマダイやブリは RSIV に感染しても死亡しないが、ウイルスを体内に保持・排出する不顕性感染魚となっている (図 4)。この不顕性感染魚が RSIV 病の感染源である可能性が高く、前年の RSIV 病流行時に不顕性感染魚となって越年した魚から排出されたウイルスが、漁場に新規導入された当歳魚に伝播して RSIV 病のアウトブレイクを引き起こすと考えられる (Kawato et al. 2021)。また、不顕性感染魚から排出されたウイルスが中間育成中の当歳魚に伝播し、他の漁場に種苗として出荷された場合は、この感染種苗が漁場における感染源となる場合もある。

(2) 伝播経路

不顕性感染魚から排出された RSIV が当歳魚へ伝播した場合や感染種苗を導入した場合は、養殖生簀における感染魚の死亡という形で RSIV 病のアウトブレイクが顕在化する。この当歳魚におけるアウトブレイクが起点となり、漁場内で感染が拡大していく状況がしばしばみられる。漁場内で感染が拡大していく際のウイルスの伝播経路は以下のように整理される。

a) 死亡魚

RSIV で死亡したマダイのドリップでは 1mL 中に約 10 億コピー*、クロマグロの死亡魚では約 100 億コピーのウイルスが確認されている。RSIV 病が発生している養殖場においてふき取り調査を実施したところ、想像をはるかに超える大量のウイルスが死亡魚から養殖場内にまき散らされていることがデータとしても確認されている (表 4)。ウイルスは視認できないため気が付きにくい、死亡魚から大量に排出されたウイルスが、漁場内における RSIV 病蔓延の温床となっている可能性がある。

*コピー：リアルタイム PCR により測定されたウイルスゲノム数の単位でウイルス粒子数と近似して考えることができる。

b) 海水

養殖生簀内や隣接した生簀間では海水による伝播は防ぎようがない。一方、数百メートル離れた養殖生簀間では、海水の希釈により感染リスクが大幅に低減することが判明している。マダイの場合、海水 1 リットルあたり 1000 コピーまでウイルス濃度が低下すると、3 日間連続暴露時の感染リスクが 0.0001% 以下になることが判明している (Kawato et al. 2023)。また、疾病発生生簀から 100 メートル程度離れると、海水中のウイルス濃度が 1000 コピー程度まで低減することも確認されている (図 4)。つまり、漁場内で RSIV 病が発生したとしても、生簀が

隣接していない場合は海水を介して RSIV 病が伝播する可能性は低い。

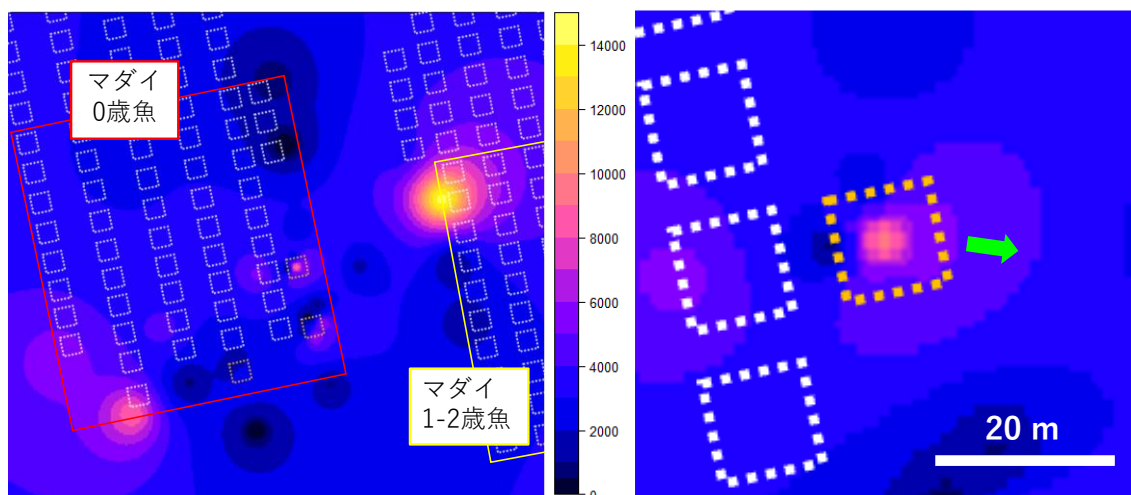


図4. RSIV 発生生簀におけるウイルスの拡散状況。RSIV 病発生生簀を中心に 30 地点以上を採水し、IDW 法による補間を行った。左図は広域図。マダイの 1-2 歳魚生簀でウイルス排出量の多いホットスポットが確認された（感染越年魚）。右図は疾病発生生簀の拡大図。矢印は潮流方向を模式的に示している。サンプリング時の平均水温は $24.1 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ 、平均流速は $4.0 \pm 1.0 \text{ cm/m}$ 、天候晴れ、中潮（潮位差 190cm）

c) 養殖関連の資機材や作業者の手・長靴

死亡魚の回収に用いたタモ網や死亡魚を入れておく箱など、死亡魚を取り扱う資機材には大量のウイルスが付着している（表4）。また、海水等の自然環境によるウイルスの拡散に比べ、長靴裏や手に付着したウイルスは広範囲に漁場内に拡散していく可能性がデータとして確認されている（表4）。図5には死亡魚から手に付着したウイルスが、海水により伝播する状況と餌を介して経口的に伝播する状況の例を示した。現時点では想像の域を出ないが、死亡魚からの排出されるウイルス量や海水によるウイルスの伝播状況を鑑みると、養殖関連の資機材や作業者を介したウイルスの伝播リスクは比較的高いと考えられる。

d) 漁場内の共同の死亡魚廃棄場

漁協等が管理する共同の死亡魚廃棄場からも RSIV が検出されている（表4）。図6に例を示したように、共同の死亡魚廃棄場がハブとなって各自の養殖場に病原体を持ち帰っている可能性がある。また、消毒等の防疫対策が実施されていない海面養殖では、養殖生産者の集まる場所が異なる種類の病原体を伝播させるハブとなっている可能性がある。

e) 漁場内の天然魚

天然魚は漁場内を自由に動き回れるため、RSIV の広範囲な伝播に関与している可能性が疑われてきた。2019 年～2022 年にわたって、養殖海域において採捕された天然魚（8 目 29 科 44 種、合計 1102 尾）の RSIV 保有状況を検査したとこ

ろ 11 検体 (1.0%) で陽性が確認された。しかしながら、天然魚で検出された RSIV の保有量は平均して脾臓 1mg あたり約 10 コピーであり、養殖生簀で RSIV 病が発生中の外観上健康魚よりも平均値で 100 倍以上低かった。また、天然魚から RSIV が検出される時期は、全ての検出例において養殖海域で RSIV 病が発生してから 1 ヶ月以上遅れていた。これらの結果から、天然魚で検出された RSIV は養殖場で発生した疾病に由来するものであり、養殖海域における天然魚が RSIV 流行の感染源となっている可能性は低いと考えられた (Kawato et al. 2024 (投稿中))。

(3) RSIV 病発生リスク評価のためのフローチャート

推定された RSIV 病の伝播経路を元に、養殖場で RSIV 病が発生するリスクが高いかどうかを評価するためのフローチャートを図 5 に示した。なお、このフローチャートにワクチン接種の項目は入っていない。これは、ワクチンを接種していても RSIV 病は発生を完全に防ぐことはできないためであり、ワクチン接種はあくまで RSIV 病発生時の被害を軽減するための措置であることに留意されたい。

(4) RSIV 病発生時の被害軽減チェックリスト

養殖場での RSIV 病発生時に、被害を軽減するためのチェックリストを表 4 に示した。

「1. ワクチン接種を行った」以外の項目は生簀間でのウイルス伝播を抑制することを目的としている。この表では実施項目を、疫学情報を参考に執筆者の主観で点数化しており、合計点数が 6 点以上の場合には RSIV 病の被害軽減につながる可能性が高いとしている。すなわち、ワクチン接種が最も有効な被害軽減策である一方で、「2. ～ 8.」の衛生管理をどれか一つだけ実施しても大きな効果はなく、複合的に実施することで被害軽減効果が得られることを示している。例えば、死魚を毎日回収して、密閉容器で輸送処理し、生簀ごとに手とたも網の消毒を行っている場合は、「3. ～ 6.」が該当しているため、合計 6 点という計算になる。この場合は、漁場内の海水中のウイルス濃度を下げることによって「3. および 4.」が貢献し、人の手を介した生簀間での水平伝播を「5. および 6.」によって防ぐことができる。一方で、生簀ごとの消毒が難しい場合は、「5. および 6.」の作業を「2. 7. および 8.」に置き換えても同等の効果が期待され、合計点数も 6 点となるような関係性となっている。後述の「6.2 RSIV 病に対する衛生管理」の項目と合わせて、各養殖場での状況に応じて RSIV 病発生時の被害軽減策を検討いただきたい。

なお、この表では触れていないが、10 日間以上無給餌で飼育を行うことで RSIV 感染魚の死亡抑制効果が確認されている (Tanaka et al. 2003)。しかしながら、魚体重の 1% 重量に給餌量を抑えただけでは RSIV 感染魚の死亡抑制効果が無いことも示されており、給餌制限による RSIV 病の制御方法は未だに確立されているとは言い難い状況のため、本チェックリストの実施項目には挙げていない。

表4. RSIV 病発生時の被害軽減チェックリスト

実施項目	点数*
1. ワクチン接種を行った	5
2. RSIV 病が発生している生簀を最後に回っている	2
3. 死魚を毎日回収している	1
4. 回収した死魚を密閉容器で輸送・処理している	1
5. 死魚を触った手を生簀ごとに消毒している	2
6. 死魚を扱ったたも網を生簀ごとに消毒している	2
7. 一日の作業終了後に死魚を扱ったたも網を消毒している	1
8. 一日の作業終了後に長靴裏を消毒している	1

*各実施項目について、疫学情報を元に執筆者の主観により点数化している。合計点数が6点以上の場合は、RSIV 発生時の被害を軽減できる可能性が高い。

*この点数は今後変動する可能性がある。

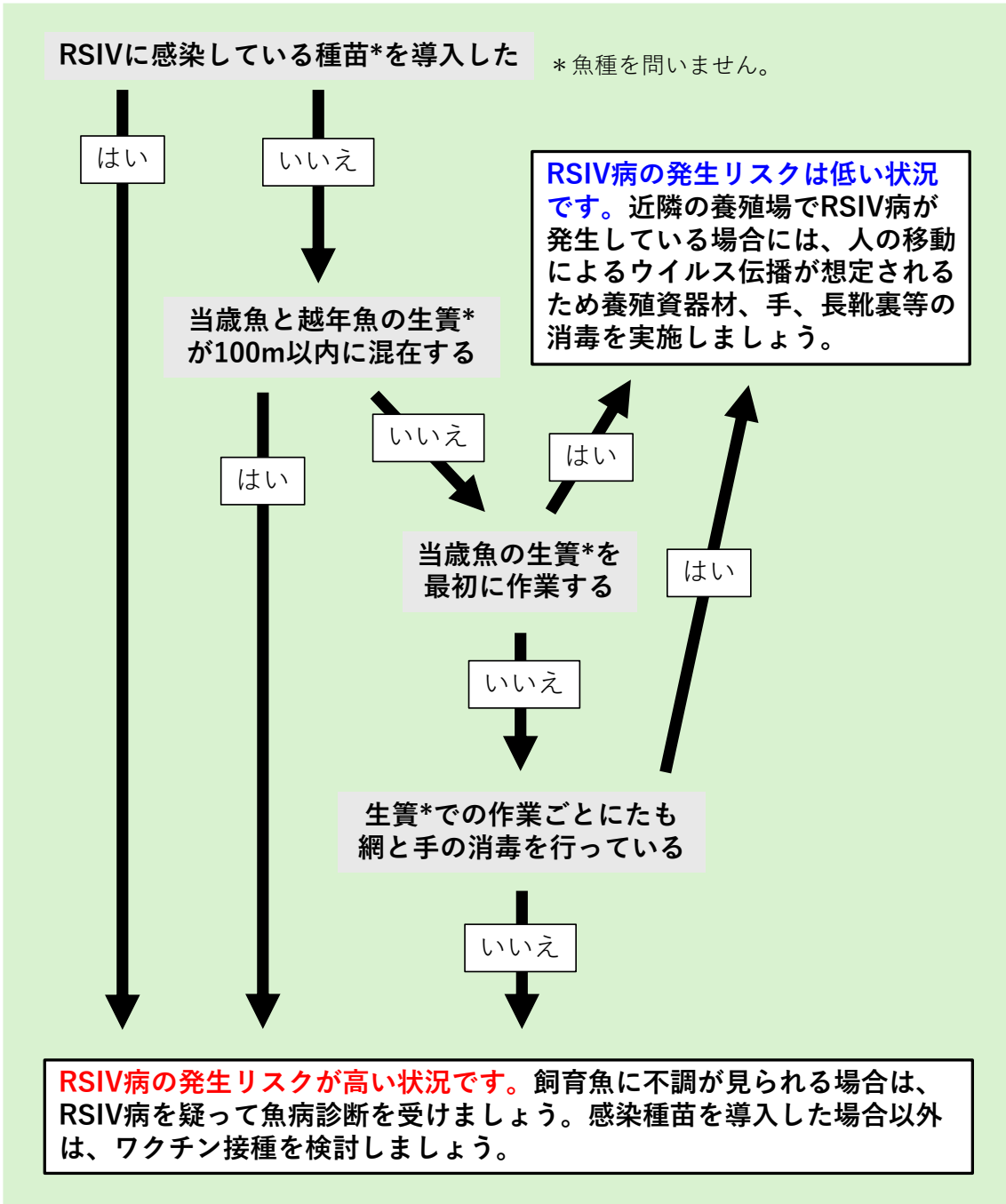


図5. RSIV 病発生リスク評価のためのフローチャート

6.2 RSIV 病に対する衛生管理

RSIV の伝播経路として、6.1 で紹介したように人の手を介している可能性がある。人の手を介した RSIV の伝播経路を遮断するための衛生管理についてまとめた。

(1) RSIV の消毒・不活化条件

水道水に含まれる残留塩素 (0.1-0.2ppm) では、有機物を含んだ消毒対象を考慮するとほとんど消毒効果は期待できない。そのため、水道水による洗浄だけでは器具にウイルスが付着したままとなっている (表4)。アルコール系消毒剤、次亜塩素酸ナトリウム、塩化ベンザルコニウム等の一般的な市販の消毒剤が RSIV にも有効である (表5)。この消毒条件が、海面養殖において衛生管理を実施するための基本情報となる。船上で消毒液を調整する際には、海水を用いて消毒液を希釈することが想定されるが、海水で希釈した次亜塩素酸ナトリウムあるいは塩化ベンザルコニウムのいずれも十分な消毒効果があることを確認している。消毒剤を含まない海水中において 90%以上の RSIV が不活化されるためには、20°Cおよび 25°Cでは 1 週間、30°Cでは 2 日間の期間を要することから、RSIV の不活化には消毒剤の使用が重要である。なお、直射日光では 3 時間程度の照射で 99.9%以上が不活化するが、日陰では 6 時間経過してもほとんど不活化しない。

(2) 海面養殖における衛生管理

海面養殖ではこれまで消毒等の衛生管理が浸透しておらず、急な体制変更は難しいと考えられる。また、揺れる船上での作業も考慮すると、陸上の養殖施設で実施しているような厳格で恒常的な衛生管理は、労務負担が大きくなりすぎるためにあまり現実的ではない。そこで、以下に RSIV の伝播経路を考慮した上で、有事と平時で衛生管理に差を設けた例を紹介する。下記の考え方を基本として、養殖場の規模や同一湾内に存在する経営体数、死亡魚の廃棄方法といった状況に応じて、現場に応じた衛生管理を実施する。

a) 有事の衛生管理-1 (養殖場での RSIV 病発生前)

同一湾内や同一漁協内での RSIV の発生情報があった時点から、養殖場内の衛生管理の体制を強化する。この時点では、自分の養殖場では RSIV 病が発生していないが、漁場内のどこかにウイルスが存在している状況であり、衛生管理の実施が最も効果を発揮するタイミングである。対策の具体例を以下の①～⑤に示したが、養殖場での RSIV 病発生前には特に①に重点を置く。また、RSIV が養殖生簀に侵入したとしても、アウトブレイク (感染魚の死亡) として顕在化するには数日間のタイムラグがある。その間にも感染魚からウイルスは排出され、他の養殖生簀にも RSIV が伝播し、被害が拡大していると想定される。そのため、②～⑤は、仮に一部の養殖生簀にウイルスが侵入したとしても、養殖場全体への伝播を抑えるという理由で実施を推奨するものである。

- ① 共同の死亡魚廃棄場や複数の養殖業者が集まる場所を利用した後は、可能な限り速やかに手および長靴裏の消毒を実施する。踏込槽による長靴の消毒は、1 秒程度足につけるだけではあまり効果がないこともあるので、数秒間

はバシャバシャと洗うようにする。作業ごと（例えば、死亡魚を扱う場合とそれ以外）に長靴を分ける方が、踏込槽による消毒よりも効果は高いと言われている。

- ② 1日の作業後には、手、手袋および長靴裏の消毒を実施する。これは、翌日にウイルスを持ち越さないために実施する。また、作業前に作業者の手を消毒することも、不意に外部から養殖場へのウイルスの持ち込みを防ぐためには有効である。
- ③ 可能であれば、死亡魚の回収は死亡数の少ない生簀から回る。
- ④ 餌やりと死亡魚回収のタイミングや作業者をずらす。
- ⑤ 死亡魚回収に用いた器具類（タモ網、回収箱、手袋等）は、1日の作業終了後に消毒を実施する。養殖生簀単位で消毒するのが理想だが、作業効率を考えると現実的ではないため、③で示したように死亡魚の少ない生簀から巡回することで生簀間の水平感染リスクを可能な限り下げる。

b) 有事の衛生管理-2（養殖場での RSIV 病発生後）

不幸にして自分の養殖場で RSIV 病が発生した場合でも、生簀間で死亡数に差がある場合には養殖生簀間の水平伝播を抑えるために、上記①～⑤の対策を継続する。この時は、特に②～⑤の対策が養殖生簀間での水平伝播を抑えるために有効となる。しかしながら、全ての生簀で死亡数が増えてきた場合には、衛生管理による被害軽減効果はないため、作業効率を重視した体制に切り替える。ただし、②については、他の養殖場を汚染しないという観点から推奨されるものである。

c) 平時の衛生管理

同一湾内で RSIV 病が発生していない時期については、作業効率を重視しながら上記①～⑤の対策を調整する。ただし、6～11月是不顕性感染魚からのウイルスの排出があることや、例えば RSIV に不顕性感染したマダイがエドワジエラ症で死亡した場合にも、RSIV が死亡魚から排出される可能性がある。そのため、上記①については RSIV の増殖がほとんど見られない冬季以外は継続して実施することが望ましいと考えられる。

RSIVで死亡した魚の体液には1mL中に100億個のウイルスがいる



1μL分のウイルスが手のひらに付着(1000万個のウイルス)



全て生簀の海水100トンで希釈されると・・・

海水1リットルあたりのウイルス濃度は100個となる

海水を介した感染は成立しない
*マダイ感染試験による感染率は0.0001%以下と推定

海水伝播 = リスク低い

飼料ペレットに1/100でも付着すると・・・

ペレット1個に10万個のウイルスが付着する

経口感染が成立する可能性が高い
*Matsuura et al. (2021)

手・長靴への付着 + 経口伝播 = リスク高い

図6. 死亡魚を介したウイルス伝播の例

ここでは、RSIV ゲノム 1 コピーをウイルス 1 個と表現した。手や長靴に付着したウイルスも、海水に希釈されると感染源としての脅威にはならないが、餌に混入すると経口的に伝播する可能性が高い。生簀の中で 1 尾でも感染魚が発生すると、養殖環境下においてはかなり高い確率で生簀内での感染が蔓延していく。

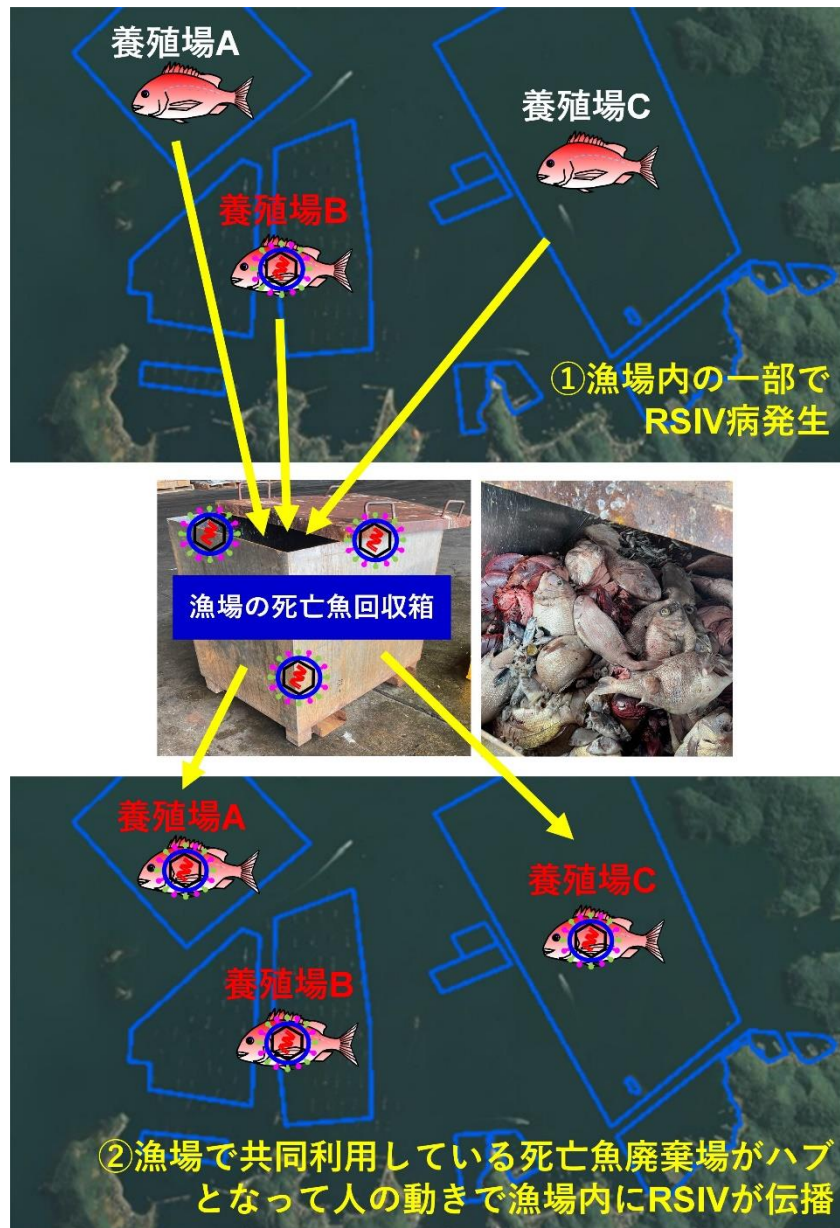


図7. 共同の死亡魚回収箱を起点とした漁場内でのRSIV伝播の模式図

漁協等が管理する共同の死亡魚廃棄場の取っ手や地面からRSIVが検出されている。例えば、養殖場BでRSIV病が発生して、漁場の死亡魚回収箱に感染死亡魚を廃棄すると、その回収箱付近がウイルスで汚染される。一方、養殖場AやCで他の疾病で死亡した魚をこの回収箱に持ち込むと、手や長靴裏にウイルスが付着して各自の養殖場にウイルスを持ち帰る可能性がある。つまり、漁場で共同利用している死亡魚の廃棄場がハブとなり、人の動きに起因して海水による伝播の範囲外にある養殖場にもRSIVが伝播している可能性がある。消毒等の防疫対策が実施されていない海面養殖では、養殖生産者が集まる場所が病原体を交換するハブとなる可能性がある。

表5. RSIV 病発生中の養殖場におけるふき取り調査の結果

No.	区分	場所	ふき取り範囲	RSIV コピー数/ ふき取り範囲全体	コメント
1	死亡魚回収	死亡魚回収船：甲板 作業前	10cm×10cm	1.0E+04	前日作業した際に残っていたウイルス
2	死亡魚回収	死亡魚回収船：甲板 作業後	10cm×10cm	4.2E+05	死亡魚の体液から流出したウイルス
3	死亡魚回収	死亡魚回収船：たも網持ち手 作業前	5cm×20cm	4.0E+04	前日作業した際に残っていたウイルス
4	死亡魚回収	死亡魚回収船：たも網持ち手 作業後	5cm×20cm	5.4E+05	作業後にはウイルスの付着量が増える
5	死亡魚回収	ダイバーA手袋 作業前	右掌全体	<1.0E+03	
6	死亡魚回収	ダイバーA手袋 作業後	右掌全体	6.0E+04	作業後にはウイルスの付着量が増える
7	死亡魚回収	ダイバーB手袋 作業前	右掌全体	1.7E+03	
8	死亡魚回収	ダイバーB手袋 作業後	右掌全体	6.8E+05	作業後にはウイルスの付着量が増える
9	死亡魚回収	船の死亡魚回収箱 作業前	10cm×10cm	<1.0E+03	
10	死亡魚回収	船の死亡魚回収箱 作業終了後	10cm×10cm	2.2E+08	死亡魚の体液から流出したウイルス
11	死亡魚回収	船の死亡魚回収箱 水道水洗浄後	10cm×10cm	3.2E+05	水道水洗浄後もウイルスは付着
12	死亡魚回収	漁協の死亡魚回収箱 付近の地面	10cm×10cm	<1.0E+03	
13	死亡魚回収	漁協の死亡魚回収箱 取っ手	取っ手全体	3.9E+04	手で触るところにはウイルスが残る
14	死亡魚回収	漁協の死亡魚回収箱 水道付近の地面1	10cm×10cm	5.9E+03	
15	死亡魚回収	漁協の死亡魚回収箱 水道付近の地面2	10cm×10cm	<1.0E+03	
16	死亡魚回収	漁協の死亡魚回収箱 水道蛇口	取っ手全体	3.8E+03	手で触るところにはウイルスが残る
18	作業船	船着き場の地面	10cm×10cm	1.1E+03	
19	作業船	作業船2：スロットル	ハンドル全体	3.4E+04	手で触るところにはウイルスが残る
20	作業船	作業船2：前甲板	10cm×10cm	2.0E+04	この船で死亡魚を回収することもある
21	作業船	作業船2：たも網持ち手	5cm×20cm	1.1E+04	手で触るところにはウイルスが残る
22	作業船	作業船3：スロットル	ハンドル全体	6.4E+03	手で触るところにはウイルスが残る
23	作業船	作業船3：前甲板	10cm×10cm	<1.0E+03	
24	作業船	作業船3：たも網持ち手	5cm×20cm	<1.0E+03	
25	施設	作業員詰所入り口の地面	10cm×10cm	6.3E+03	
26	施設	作業員詰所のドアノブ	ドアノブ全体	<1.0E+03	
27	施設	長靴置き場 地面	10cm×10cm	3.0E+03	
28	施設	死亡魚回収船以外の作業員長靴裏1	右足裏面全体	3.5E+04	長靴裏にもウイルスが付着
29	施設	死亡魚回収船以外の作業員長靴裏2	右足裏面全体	2.2E+05	長靴裏にもウイルスが付着
30	施設	養殖場門の地面	10cm×10cm	<1.0E+03	
31	施設	餌保管庫1 取っ手	ドアノブ全体	<1.0E+03	
32	施設	餌保管庫1 床	10cm×10cm	<1.0E+03	
33	施設	餌保管庫2 取っ手	全体	<1.0E+03	
34	施設	餌保管庫2 床	10cm×10cm	<1.0E+03	
35	施設	フォークリフトハンドル	ハンドル全体	2.4E+03	手で触るところにはウイルスが残る
36	施設	フォークリフトツメ	10cm×10cm	<1.0E+03	
37	施設	フォークリフトタイヤ	10cm×10cm	<1.0E+03	
38	その他	検査者1の作業後の手	右掌全体	4.4E+05	検査者の手にもウイルスが付着
39	その他	検査者1の長靴 作業前	右足裏面全体	<1.0E+03	
40	その他	検査者2の長靴 作業前	右足裏面全体	<1.0E+03	
41	その他	検査者1の長靴 作業後	右足裏面全体	1.5E+05	検査者の長靴にもウイルスが付着
42	その他	検査者2の長靴 作業後	右足裏面全体	4.0E+03	検査者の長靴にもウイルスが付着

表 6. RSIV の消毒例

消毒剤	用途・注意点 * 使用例
エタノール	<p>手や器具の消毒。市販のアルコール系消毒剤が半分ぐらいの濃度にまで希釈されると効果がなくなるため、濡れた手や器具の消毒は注意が必要。</p> <p>* 市販のエタノール系消毒剤をそのまま使用する。あるいは、エタノールを水道水で 70%程度に希釈する。</p>
次亜塩素酸ナトリウム	<p>器具の消毒。有機物存在下で消毒効果が減衰するが、遊離塩素濃度が 100ppm 以上で有機物存在下でも消毒効果が期待できる。日光照射等により減衰していくため、数日間で消毒液を交換する。海水で希釈した次亜塩素酸ナトリウムでも消毒効果がある。廃液はハイポで中和する。木製・金属製のものに使用した場合には、消毒後にすぐに水道水あるいは海水ですすぐ。酸性の物質を混ぜると有毒な塩素ガスが発生するので注意が必要。</p> <p>* 100ppm 以上の消毒液を調整する場合には、海水 1L に対して市販の食品添加用次亜塩素酸ナトリウム水溶液 (12%) を 1mL 添加する (理論値で 120 ppm)。市販の塩素系漂白剤 (6%) では、海水 1L に対して原液を 2mL 添加する。原液を希釈する際には、換気の良い場所で保護メガネ・手袋を使用する。原液を開封後に半年間程度経過すると、有効塩素濃度が半減しているため上記の倍量で調整する方が良い。</p>
塩化ベンザルコニウム (逆性石けん液)	<p>手や器具の消毒。ある程度の有機物存在下でも有効。調整後の消毒液の効果が 1 週間程度は持続するため、長靴の踏込槽等で使用しやすい。なお、RSIV に対しては消毒効果があるが、エンベロープのないウイルス (海産魚ではウイルス性神経壊死症の原因ウイルス NNV、ブリの腹水症 YAV 等) には効果がない。</p> <p>* 水道水 1L に対して、市販の逆性石けん (塩化ベンザルコニウム 10%) を 10mL 添加する (0.1%溶液)。</p>

第 6 章 終わり

7. 参考文献

- Inouye K, Yamano K, Maeno Y, Nakajima K, Matsuoka M, Wada Y, Sorimachi M. 1992. Iridovirus infection of cultured red sea bream, *Pagrus major*. *Fish Pathol* 27:19 – 27.
- Kawato Y, Mekata T, Inada M, Ito T. 2021. Application of environmental DNA for monitoring red sea bream iridovirus at a fish farm. *Microbiol Spectr* 9:e0079621.
- Kawato Y, Takada Y, Mizuno K, Harakawa S, Yoshihara Y, Nakagawa Y, Kurobe T, Kawakami H, Ito T. 2023. Assessing the transmission risk of red sea bream iridovirus (RSIV) in environmental water: insights from fish farms and experimental settings. *Microbiol Spectr*. 11:e0156723.
- Kurita J, Nakajima K. 2012. Megalocytiviruses. *Viruses* 4:521 – 538.
- Matsuura Y, Nishioka T, Satoh J, Shimahara Y, Matsuyama T, Takano T, Kiryu I, Kawato Y, Terashima S, Masuma S, Nakayasu C. 2021. Development of a method for experimental infection of Pacific bluefin tuna with red seabream iridoviral disease. *Aquaculture* 539:736627.
- Tanaka S, Aoki H, Inoue M, Kuriyama I. 2003. Effectiveness of fasting against red sea bream iridoviral disease in red sea bream. *Fish Pathol*. 38:67 – 69.

第7章終わり