

三重県におけるコイヘルペスウイルス病の発生

中西尚文・古野 優・田中真二

Outbreaks of Koi Herpesvirus Disease in Mie Prefecture

Naofumi NAKANISHI, Masaru FURUNO and Shinji TANAKA

三重県科学技術振興センター
水 産 研 究 部

第 15 号

平成 19 年 12 月

別 冊

三重県におけるコイヘルペスウイルス病の発生

中西尚文・古野 優*¹・田中真二

Outbreaks of Koi Herpesvirus Disease in Mie Prefecture

Naofumi NAKANISHI, Masaru FURUNO and Shinji TANAKA

キーワード：コイヘルペスウイルス, KHV, コイ, 三重県

コイヘルペスウイルス(koi herpesvirus:KHV)病はニシキゴイとマゴイを含むコイ *Cyprinus carpio* に大量斃死を引き起こす疾病として、1998年にイスラエルと米国で発生が初めて報告された (Hedrick *et al.* 2000)。その後ヨーロッパ諸国をはじめインドネシアや台湾、南アフリカにおいても発生し、日本では2003年11月に初めて茨城県霞ヶ浦の死亡魚から確認された (飯田 2005)。その後各地でKHV病の発生報告があり、2005年10月には47都道府県で発生が確認され*²、水生生物にも注意すべき海外由来の伝染病が存在することを社会に印象づけた。三重県では、2003年11月に釣り堀の斃死魚がKHV病と診断されたのが最初である。2004年5月以降には県内の河川においてもKHV病による大量斃死が頻発した。養殖だけでなく天然の水生生物に影響を与えた疾病の知見を整理することは、今後のKHV病対策だけでなく、新疾病の侵入とその防疫体制を検討するうえでも、必要であると考え。そこで三重県におけるKHV病の発生状況をまとめたので報告する。

材料および方法

検体

2003年11月から2006年9月までに斃死等により水産研究部にKHV病の検査依頼があったコイについて、検査を実施するとともに体長、発見された場所および水温を把握した。また、鮮度の状態に応じて、外部の特徴の記録や剖検を行った。水温データの無いものについては、

国土交通省*³の水質観測地点に近い場合のみ前後3日以内の水温をその場所のデータとした。また魚体が無く鰓だけのサンプルが2個体あった。このほか斃死魚の回収尾数については、関係機関に対して聞き取りを行った。

PCR検査

KHVの特異的遺伝子を検出することで診断する polymerase chain reaction (PCR) 検査を実施した。検査部位は鰓とし、-20 以下の冷凍で保存した。水産研究部の一次診断におけるSph I - 5 プライマーセットとPCR反応条件については、2004年10月11日まではGray *et al.* (2002) の手法を、それ以降は改良されたYuasa *et al.* (2005) の手法を用いた。検査の判定は、トランスイルミネーターにより分子量290bpのバンドの有無で行った。一次診断において陽性・擬陽性であったサンプルは、更に独立行政法人水産総合研究センター養殖研究所で確定診断が行われた。

なお、2003年11月のKHV初確認時については、水産研究部で一次診断の技術が無かったため、独立行政法人水産総合研究センター養殖研究所が検査し診断を行った。

結果と考察

KHV病の発生

水産研究部は一次診断のため、74件114尾を検査し、19件26尾が陽性あるいは擬陽性であった。うち16件20尾が確定診断にて陽性と確定された。これらに2003年11月

* 1 現所属 三重県庁 農水商工部 農水産物安全室

* 2 農林水産省 (2006) : コイヘルペスウイルス病に関するPCR検査結果
(http://www.maff.go.jp/koi/pcr_kensa.html)

* 3 国土交通省(2006) : 水文水質データベース (<http://www1.river.go.jp/>)

の初確認の事例を加えると、2006年9月までに三重県内では17件22尾が陽性と確定された（付表1）。サンプリング場所別の検査件数と診断結果、それら検体の鮮度を表1に示す。検査合計75件のうち24件が河川であり、次いで用水路・民家池、公園池の順が多かった。KHV陽性のうち剖検が実施できた2件については、それぞれKHV病の特徴である鰓のびらんと退色が観察できた。

現在までに発生が確認された水系は、鍋田川（木曽岬町）、長良川（長島町、現 桑名市）、揖斐川（桑名市）、鹿化川（四日市市）、内部川（四日市市）、木津川（島ヶ原村・上野市、共に現 伊賀市）中村川（松阪市）、雲出川（三雲町・嬉野町、共に現 松阪市）、百々川（松阪市）に加え、長良川に隣接し同時に大量斃死がみられた木曽川（木曽岬町）も発生水系とすると、合計10水系である。現在のところ櫛田川以南の河川での発生はみられていないが、その要因については不明である。河川以外でKHVが検出されたのは、木曽岬町と川越町の用水路、上野市（現 伊賀市）と松阪市の公園池、青山町（現 伊賀市）の民家池と四日市市の釣り堀であった。これらのうち、感染経路が把握できたのは、2003年11月に県内で初確認された茨城県産コイが導入直後に斃死した四日市市の釣り堀の事例だけであった。KHV病の確定後は蔓延防止のため、小規模な池では直ちに生存魚の処分が、河川や用水路では管理者によるパトロールや斃死魚の回収が実施された。2004年に長良川では5月26日から6月2日に49尾、揖斐川では5月27日から6月2日に50尾、雲出川では6月10日から16日にかけて96尾の斃死魚が回収された。一方、コイの生息していない水路やその尾数が急増した公園池からの斃死報告もあり、KHV病を恐れた密放流が行われたと推測される事例がみられた。

月別の検査件数と結果の推移を図1に示す。2004年春から急増し、件数が最も多かったのは6月で26件、次い

で5・7月にそれぞれ7件の検査を実施した。そのうち5月の4件、6月の7件はKHVと確定された。2005年以降も5・6月にはKHVが検出されているが、検査依頼とKHV検出数は減少している。なお2003年11月の初確認以降、秋期にKHVを検出していない。KHVに感染後生存したコイはKHVに対する抗体を獲得するとされている（Ronen *et al.* 2003）。一定期間を経て再び斃死がありKHVが検出されたのは雲出川だけであり、発生水域の生存魚は抗体を獲得していると思われる。このことは2004年の秋期以降、検査依頼が減少していることから裏付けられる。

サンプリング場所の水温と検査結果を図2に示す。陽性は17 から26 の水温上昇期に限られ、Gilad *et al.*

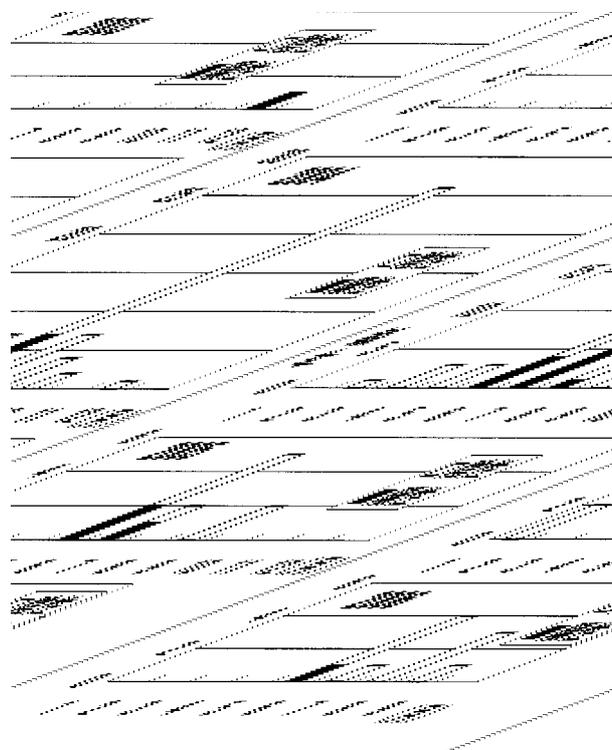


図1. 三重県におけるKHV検査件数と診断結果の年別推移

表1. サンプリング場所別鮮度および検査件数と診断結果

	河川	用水路	池					民家の水槽
			ため池	民家池	釣り堀	公園池*1	公的機関の池*2	
新鮮	1(0)	4(0)	1(0)	8(1)	1(1)	4(0)	4(0)	2(0)
腐敗	22(11)	8(1)	0(0)	2(0)	1(0)	5(2)	4(0)	0(0)
不明	1(0)	1(1)	0(0)	3(0)	0(0)	3(0)	0(0)	0(0)
合計	24(11)	13(2)	1(0)	13(1)	2(1)	12(2)	8(0)	2(0)

() : 陽性の件数

* 1 : 神社を含む

* 2 : 学校を含む

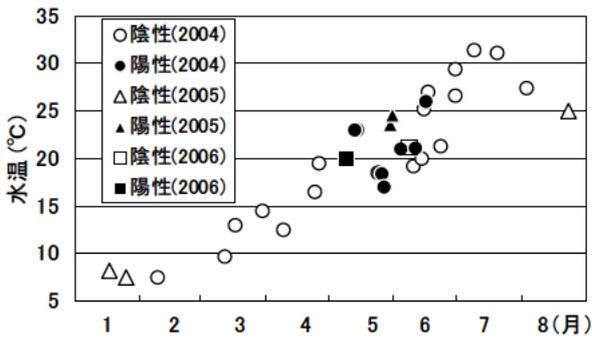


図2. サンプルング場所の水温と検査結果

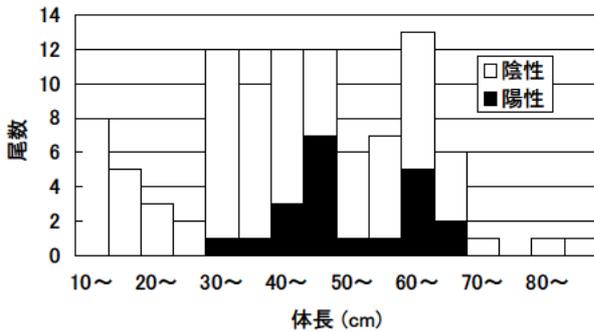


図3. 検体の体長組成と検査結果

(2003) が実験で確認したKHV増殖可能温度や、霞ヶ浦・北浦(荒井ら 2006) や神奈川県河川の河川(原ら 2006) といった自然環境下の斃死事例とほぼ一致した。

検査を行ったうち99尾の体長と結果を図3に示す。対象の78%は30cmから70cm未満で、陽性はすべてこの範囲であった。神奈川県(原ら 2006) や滋賀県(吉岡 私信)の河川では、より幅広いサイズでの感染が確認されているが、本県における陽性サイズの偏りの原因を特定するには至らなかった。

検査技術および防疫体制からみたKHV病

確定診断にてKHV陽性になった17件のうち、一次診断にて同時に複数個体を検査した事例は7件であった。うち5件では一部の個体は陰性を示した(付表1)。斃死の主因がKHV病の可能性が非常に高いにも関わらず、一部の個体では陰性を示す事例は他の公設試による検査でもみられる*2。湯浅(私信)は、現行のPCR法は検出感度が高いことから、KHV病が主因で斃死した個体からKHVが検出できない場合は、DNA抽出など検査過程に技術的問題があるとしている。更に対策として、コンタミネーションの徹底した排除や腐敗している検体の場合は抽出したDNAの希釈率を変える等PCR検査技術の

再確認を指摘している。一次診断を行う公設試は、湯浅の指摘する対策を施す以外に、できる限り複数個体を検査対象とすることも検査結果の信頼性の向上になると考えている。

ところで、本県で依頼のあった検体をみると、瀕死や突然死といった異常を発見しやすい民家の池や水槽からの検体は新鮮であることが多かったものの、河川からの検査依頼のうち92%は腐敗していた(表1)。KHV病は急速に天然水域に広まったことや発生時期がやや高水温期ということもあり、腐敗した検体が検査機関に集中して持ち込まれるという特異な現象が発生した。腐敗していることで、現地での回収が困難になるだけでなく、検査機関に持ち込まれても検査部位が消失して検査ができなかった事例があった。このほかにコイと混同してフナ類の検査依頼も多くあり、回収にかかる負担を増大させることとなった。これらを整理すると、発生前に防疫体制を整えていたにもかかわらず、想定外の問題として、1) 急速な拡散、2) 一時期の一検査機関に検査が集中、3) 対象魚種の混同、4) 損傷の激しい腐敗した検体が多い、5) 検査と検体回収機関および水域管理者の疲弊、が生じた。これらに対し協力機関を増やすことや検査体制を見直すなど柔軟に対応し、KHV病の蔓延防止に努めた。持続的養殖生産確保法の特定疾病には、KHV病を含めコイ春ウイルス血症(SVC)など11疾病が指定されている。その中にはKHV病のように養殖だけでなく天然の水生生物にも、影響を及ぼす可能性があるものが含まれている。今回のKHV病の経験から、疾病に対する効率かつ信頼性の高い検査や防疫技術の一層の開発が必要であると考えられる。さらに、天然水生生物に拡散する大量斃死を伴う疾病の発生が高まった際には、1) 被害を及ぼす種類の整理と発生時期の想定、2) 想定する規模に応じた回収・消毒や処分の方法の分担および整理、3) 検査と検体回収および水域を関するそれぞれの機関がこれら情報を共有すること、が重要である。

要 約

2003年11月から2006年9月までの三重県におけるKHV病の発生状況をとりとまとめた。

1. 75件の斃死事例があり、そのうち17件でKHVが検出された。河川由来の検出が最も多く、10水系で確認された。
2. 同水域で再発生することはほとんどなく、一度発生した水域では抗体を得ていると考えられる。
3. 急速に天然水域に拡散したために、腐敗した個体の

検査依頼が多く、検査に支障をきたした。また、水域管理機関などが処分・回収に追われる事態が起きた。

文 献

- 荒井将人・野内孝則・高島葉二 (2006) : 霞ヶ浦・北浦における天然コイのコイヘルペスウイルス病の感染状況. 茨城県内水試研報, 40, 37-40.
- Gilad, O., S. Yun, M. A. Adskin, K. Way, N. H. Willits, H. Bercovier and R. P. Hedrick (2003) :Molecular comparison of isolates of an emerging fish pathogen, koi herpesvirus, and the effect of water temperature on mortality of experimentally infected koi. *J. Gen. Virol.* 84, 2661-2668.
- Gray, W. L., L. Mullis, S. E. Lapatra, J. M. Groff, and A. Goodwin (2002) :Detection of koi herpesvirus DNA in tissues of infected fish. *J. fish dis.* 25(3), 171-178.
- 原日出男・相川英明・臼井一茂・中西照幸 (2006) : 神奈川県河川におけるコイヘルペスウイルス病の発生. 魚病研究, 41(2) 81-83.
- Hedrick, R. P., O. Gilad, S. Yun, and J. V. Spangenberg, G. D. Marty, R. W. Nordhausen, M. J. Kebus, H. Bercovier, A. Eldar (2000) :A Herpesvirus Associated with Mass Mortality of Juvenile and Adult Koi, a Strain of Common Carp. *J. Aquat. Animal Health.* 12, 44-57.
- 飯田貴次 (2005) : コイヘルペスウイルス病. 日本水産学会誌. 71(4), 632-635.
- Ronen, A., A. Perelberg, J. Abramowitz, M. Hutoran, S. Tinman, I. Bejerano, M. Steinitz and M. Kotler (2003) :Efficient vaccine against the virus causing a lethal disease in cultured *Cyprinus carpio*. *Vaccine.* 21, 4677-4684.
- Yuasa, k., M.Sano, J.Kurita, T.Ito and T.Iida (2005) :Improvement of a PCR Method with the SphI-5 Primer Set for the Detection of Koi Herpesvirus (KHV). *Fish Pathol.* 40, 37-39.

三重県におけるコイヘルペスウイルス病の発生

付表1. 三重県におけるKHVのPCR検査結果 (2003年11月～2006年9月)

検査依頼 年月日	市町村*1	場所	一次診断*2		確定診断*3	
			検体数	陽性および 擬陽性数	検体数	陽性数
2003/11/4	四日市市	釣ヶ堀	-	-	9	2
2004/2/9	亀山市	公園池	1	0	-	-
2004/3/12	嬉野町	用水路	1	0	-	-
2004/3/17	津市	用水路	1	0	-	-
2004/3/30	津市	民家池	1	0	-	-
2004/4/9	津市	民家池	1	0	-	-
2004/4/24	名張市	名張川	2	0	-	-
2004/4/26	津市	用水路	2	2	2	0
2004/5/13	上野市	公園池	1	1	1	1
2004/5/14	上野市	公園池	1	0	-	-
2004/5/24	桶町	用水路	2	0	-	-
2004/5/25	桶町	用水路	2	0	-	-
2004/5/26	長島町	長良川	1	1	1	1
2004/5/27	桑名市	揖斐川	1	1	1	1
2004/5/31	木曽岬町	用水路	2	2	2	2
2004/6/1	名張市	民家池	1	0	-	-
2004/6/3	四日市市	内家川	2	2	2	2
2004/6/4	島ヶ原村	木津川	2	1	1	1
2004/6/9	嬉野町	泉施設池	3	0	-	-
2004/6/9	上野市	ため池	1	0	-	-
2004/6/10	三雲町、嬉野町	雲出川	3	2	2	2
2004/6/10	津市	市施設池	2	0	-	-
2004/6/11	青山町	用水路	1	0	-	-
2004/6/11	青山町	民家池	1	1	1	1
2004/6/14	名張市	民家池	2	0	-	-
2004/6/15	四日市市	学校池	3	0	-	-
2004/6/15	川越町	用水路	1	0	-	-
2004/6/16	津市	市施設池	1	0	-	-
2004/6/16	木曽岬町	鍋田川	2	1	1	1
2004/6/17	川越町	朝明川	1	0	-	-
2004/6/17	青山町	用水路	2	0	-	-
2004/6/18	四日市市	鹿化川	1	1	1	1
2004/6/18	青山町	木津川	1	0	-	-
2004/6/18	上野市	木津川	1	1	1	1
2004/6/22	多気町	佐奈川	1	0	-	-
2004/6/23	四日市市	民家池	1	0	-	-
2004/6/23	伊勢市	神社池	1	0	-	-
2004/6/24	四日市市	用水路	1	0	-	-
2004/6/29	伊勢市	民家池	1	0	-	-
2004/6/30	亀山市	市施設池	2	0	-	-
2004/6/30	関町	民家池	2	0	-	-
2004/7/9	多気町	公園池	2	0	-	-
2004/7/14	志摩町	民家池	4	0	-	-
2004/7/14	松阪市	百々川	2	1	1	1
2004/7/16	名張市	市施設池	1	0	-	-
2004/7/20	小俣町	公園池	1	0	-	-
2004/7/26	鈴鹿市	用水路	2	0	-	-
2004/7/27	津市	天神川	1	0	-	-
2004/8/3	美杉村	泉施設池	1	0	-	-
2004/8/5	伊勢市	神社池	3	0	-	-
2004/8/9	大山田村	民家池	1	0	-	-
2004/8/20	松阪市	柳田川	1	0	-	-
2004/9/9	松阪市	柳田川	1	0	-	-
2004/9/16	津市	用水路	1	0	-	-
2004/11/26	東員町	山神川	1	0	-	-
2005/1/17	桑名市	公園堀	1	0	-	-
2005/1/25	桑名市	公園堀	1	0	-	-
2005/5/9	玉城町	民家水槽	2	2	2	0
2005/5/10	玉城町	店水槽	3	0	-	-
2005/5/26	伊賀市	久米川	1	0	-	-
2005/5/30	松阪市	中村川	2	1	1	1
2005/5/31	久居市	雲出川	1	1	1	1
2005/6/9	川越町	用水路	1	1	1	1
2005/6/17	伊賀市	民家池	2	2	2	0
2005/8/3	四日市市	民家池	2	0	-	-
2005/8/23	四日市市	市施設池	1	0	-	-
2006/5/1	鈴鹿市	釣ヶ堀	2	0	-	-
2006/5/9	松阪市	公園池	2	2	2	2
2006/5/19	松阪市	柳田川	1	0	-	-
2006/5/29	松阪市	柳田川	2	0	-	-
2006/6/8	伊勢市	柳田川	4	0	-	-
2006/7/3	松阪市	公園池	1	0	-	-
2006/7/3	四日市市	民家池	2	0	-	-
2006/7/20	伊勢市	勢田川	1	0	-	-
2006/8/3	南伊勢町	神社池	1	0	-	-
	合計		114	26	26	20

*1 : 市町名は検査時

*2 : 三重県科学技術振興センター水産研究部が実施

*3 : 独立行政法人 水産総合研究センター養殖研究所が実施