

防疫のためのニジマス病死魚の 処理方法について

佐々木治雄・武居 薫・本西 晃

On Disposal of Fish Carcass for Prevention of Epidemics

Haruo SASAKI , Kaoru TAKEI and Akira MOTONISHI

感染症に罹患した魚は病原体を水中へ排出して伝染源になる（FUJIWARA and NAKATANI 1971, 水産庁1978）ことから水系汚染の軽減のためには養魚池から病魚や死魚を早く取除き、適切な処理をすることが必要とされる。また、近年ニジマス等のサケ科魚類には、治療の困難なウイルス性、細菌性、真菌性の疾病が流行するようになったことから、これらの疾病の発生時にその罹病魚群が他の養魚場に対して伝染源とならないように、生残魚も含めて魚群全体の完全な処置が必要とされることがある。

池から取揚げた病死魚の処分方法としては、付近の土中に埋却することが一般的であるが、一部の養魚主産地では回収業者によって肥料原料として定期的に回収される例もある。このように従来から何らかの処理はなされてきているが、防疫上の観点からは改善検討すべき点が多い。

畜産分野では家畜伝染病予防法の規定に基づき焼却、埋却、および消毒の基準が定められているが、水産分野ではこのような規定はなく、且つ処理方法に関する報告も見当たらない。

そこで、病魚を実際に用いて、埋却、煮沸消毒、薬物消毒の3種類の処理効果について検討を行った。埋却処理ではIHN（伝染性造血器壊死症）病魚の埋却中におけるウイルスの生存期間の検討を行い、煮沸、薬物消毒ではせっそう病病魚中の病原菌の死滅時間について検討した。

本報告は、水産庁委託事業の昭和54, 56年度魚病対策技術開発研究において実施した試験をとりまとめたものである。

材料および方法

1. 埋却処理

供試魚はIHNに罹病している平均体重1.6gのニジマスで、長野県内の養魚場で自然発病していた魚群からひん死魚を採取したものである。実験は素焼の鉢の中へ土を入れ、その中層に供試魚25尾を埋没して行った。装置は、上面径23cm底面径13cm高さ20cmの鉢に、2mm目の金網でふらした表土を15cmの深さに入れもので、鉢の下側には水をふくんだスポンジを敷いて土の乾燥を防いだ。鉢は4個用い、2個を1区とし、インキュベーター内で10℃に保った。

埋没後は24時間毎に魚体のウイルス検査を行った。検体は各区について経過時間毎に鉢を変えて2尾ずつ採取し、土の付着したままの全魚体を乳鉢で摩砕した後、10倍量のHanks' BSSで希釈し、0.45μmのフィルターでろ過して培養細胞への接種液とした。このろ液の細胞への接種方法は、培養液を除いた細胞に1mlのろ液を1時間接触させたのち新しい培養液と交換する方法、およびろ液の10,000倍希釈液0.1mlを直接培養液のある細胞へ接種する方法を併用した。接種後は10日間細胞を観察し、定型的細胞変性(CPE)の有無により結果を判定した。使用した培養細胞はRTG-2およびFHMである。

2. 煮沸消毒

沸騰水中のニジマスの体内温度 煮沸消毒の場合、まず体内温度の変化を知ることが必要であるので、ニジマスの腸管内温度を測定して体内温度とした。実験は、体重40、100、300、1,000gのものについて各々2回行った。供試魚は撲殺後1尾ずつ5lの沸騰水中に入れ煮沸し、経時的に温度の測定を行った。温度計はデジタル温度計（宝工業 D411型）に、カーテル型のサーミスタセンサー（宝工業 XK型）を接続したものをを用いた。温度測定部位は腸管内の幽門に接する部位で、センサーは肛門から挿入し、腸管の最前部で固定した。センサーの挿入の長さは、40gが6.0～6.8cm、100gが7.2～8.8cm、300gが11.6cm、1,000gが13.4～17.0cmであった。

煮沸消毒 まず病魚を得るために平均体重53.0gのニジマスに対し、長野県内で分離したせつそう病原菌の *Aeromonas salmonicida* を背部筋肉内へ接種した。接種から5日後に膨脹患部を形成し患部が開口していない状態の病魚を供試魚として用いた。

供試魚の煮沸時間を1,2,3,4,5分間とし、各時間毎に5lの沸騰水へ3尾入れて煮沸した。3尾のうち1尾は前項と同じ方法で腸管内の温度を測定した。

所定の時間経過後、供試魚を直ちに氷水中へ移し、菌接種部の患部および腎臓から白全耳で釣菌しトリプトソイ寒天平板に塗抹した。消毒効果の判定は平板上の *A. salmonicida* のコロニー形成の有無により行った。

実験は2回実施した。

3. 薬物消毒

供試魚は平均体重438gのニジマスで、煮沸消毒試験と同じ方法で作ったせつそう病罹病魚を消毒経過時間毎に2尾用いた。

供試薬剤と実験濃度は次のとおりで、実験濃度は家畜伝染病予防法施行規則の薬物消毒基準によった。なお、サラシ粉は有効塩素が低下していないとみられる新しい製品を用いた。

クレゾール石けん液（吉田製薬、クレゾール42.0～52.0 V/V%）3%水

サラシ粉（日本曹達、高度サラシ粉、有効塩素60%）5%水

薬剤の希釈には地下水を用い、対照区は地下水のみとした。実験用の薬液は2ℓずつ7槽作成し、これらに供試魚を2尾ずつ入れ、前項煮沸消毒試験と同様に所定時間経過毎に菌の分離および消毒効果の判定を行った。なお、菌の分離の時は予め体表を水洗し、薬剤を洗い流した。

実験は直射日光が当らず、やや暗い室内で行い、実験中の薬液の温度は8.2～10.5℃であった。

結果および考察

1. 埋却処理

土中埋没後の供試魚のウイルス検査結果を表1に示した。平均体重1.6g、地温10℃の実験では、埋没後6日間は魚体中からIHNVウイルスが検出された。埋没中の魚体の状態は、1日後ではまだ表皮はしっかりしていたが、3日後には腐敗臭がするようになり、5日後には消化管以外の臓器は織別できなくなり、7日後には内臓は完全に融解状態となっていた。

このように、魚体がすでに腐敗した6日後でもIHNVウイルスが検出されることから、病原体の種類によってはさらに長期にわたり生存することが考えられる。この場合、当然腐敗した魚体から融出してくる病原体が問題となる。家畜伝染病予防法においては埋却処理は死体上に生石灰を散布して行われている。魚類においても、体外へ出た病原体の拡散汚染を防ぐために、サラシ粉等による薬物消毒を併用することが望ましく、さらに埋却場所についても他への汚染影響を考慮して選定すべきである。

表1. 埋却処理を行ったIHN罹病ニジマスのウイルス検査結果

埋却日数	検査結果		魚体の状態
	1	2	
開始時	+	+	
1日	+	+	表皮はしっかりしており、弾力がある。
2	+	+	臓器はくずれかけている。
3	+	+	腹壁が破れる。腐敗臭、発生。
4	+	+	臓器はかろうじて区分できる。
5	+	+	臓器は識別できない。
6	-	+	消化管のみが残っている。
7	-	-	臓器はすべて融解している。
8	-	-	

平均体重 1.6 g, 処理温度 10°C
 +はIHNウイルス検出され、-は検出されない。

2. 煮沸消毒

沸騰水中のニジマスの体内（腸管内）温度は図1に示したが、魚体が大きくなるに従い、温度上昇に要する時間は長くなり、一般的に殺菌効果のある60°Cを超えるまでの時間は40gで2分、100gで4分、300gで7分、1,000gで14分であった。なお、本試験で用いた1000gのニジマスは2尾とも成熟雌親魚であって、雄魚または卵巣の小さい雌魚では昇温時間が短くなると思われる。

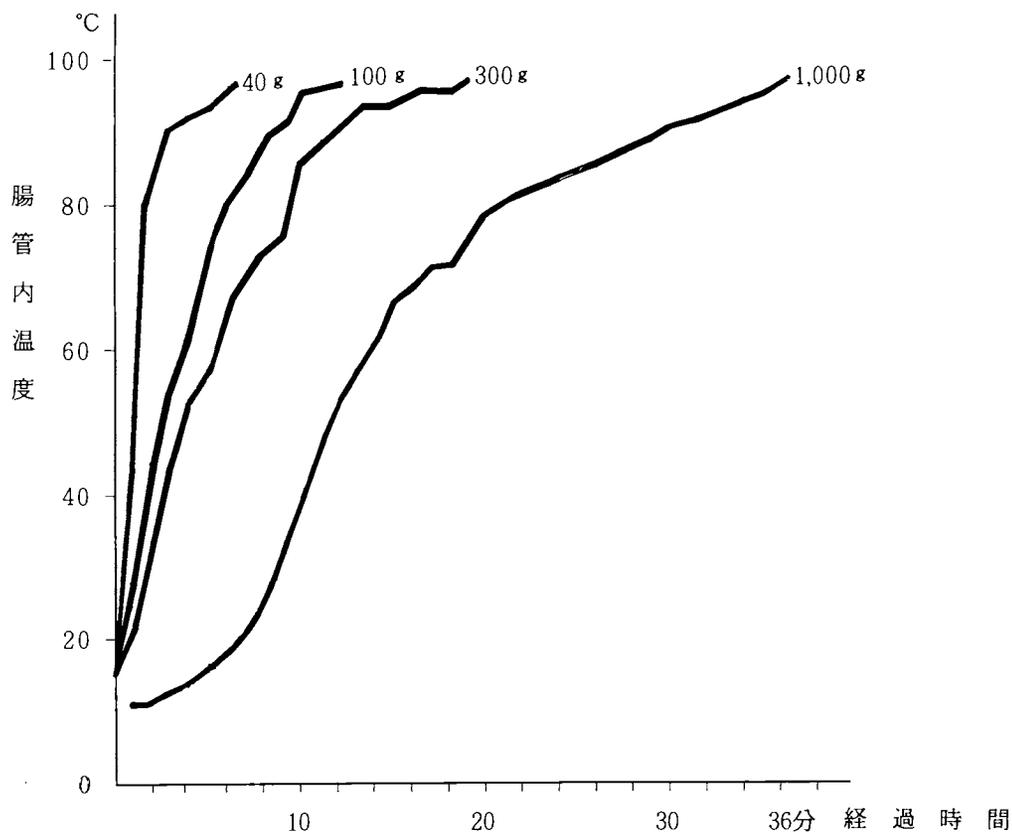


図1. 沸騰水中のニジマス腸管内温度の変化
 (図中重量は供試魚体重)

表 2. せっそう病罹病ニジマスの煮沸消毒効果

煮沸時間 (分)	試験 No.	体重 (g)	菌分離		腸管内温度 (°C)						
			筋肉 患部	腎臓	経過時間 (分)						
					0	1	2	3	4	5	
1	1	59.2 57.5 55.9.	+	+	16.4	42.2					
	2	55.5 53.3 48.8	+	+	13.6	51.6					
2	1	50.7 62.1 49.3	-	-	14.9	40.3	63.5				
	2	53.6 52.3 47.4	-	-	11.4	19.6	49.9				
3	1	47.5 51.7 54.6	-	-	17.1	25.3	51.2	70.3			
	2	50.4 48.7 53.4	-	-	11.2	42.8	64.7	76.2			
4	1	55.5 48.6 44.6	-	-	14.0	18.4	39.6	59.4	69.9		
	2	56.6 46.2 49.6	-	-	10.8	19.6	50.6	68.9	75.9		
5	1	58.5 60.2 45.6	-	-	14.8	33.8	60.2	70.5	88.4	96.1	
	2	51.0 46.3 45.1	-	-	11.3	21.9	44.8	60.2	72.0	84.1	
無処理	1	55.8 37.9 38.0	+	+							

煮沸用沸騰水の温度は 9 8.0 ~ 9 8.9 °C + は菌分離され、- は菌分離されない。

せっそう病罹病ニジマスの煮沸消毒効果は表 2 に示した。平均体重 53 g の供試魚 6 尾のすべての患部および腎臓から菌が分離されなくなった煮沸時間は 3 分間であった。この時の腸管内温度は 1 回目 が 70.3 °C 2 回目 が 76.2 °C であった。なお、2 分間の煮沸では 6 尾中 1 尾の腎臓から菌が分離された。

腸管内温度については、煮沸の所定時間終了後直ちに供試魚を氷冷したが、別に行った実験 (表 3) からみると、氷冷水に入れた後 1 ~ 2 分間は煮沸終了時の温度を維持するので、実際には所定の煮沸時間より長く熱処理がなされたことになる。

A. salmonicida の耐熱性については、50 °C または 60 °C 2 分間の加熱で死滅すると報告されおり (田代、1975)、この *in vitro* の結果と病魚を用いた本試験の結果とはほぼ一致した。

各種病原体の耐熱性については、IPN ウイルスが 60 °C 1 時間で不活化されず (AMEND and CHAMBER, 1970; 山崎ら、1976)、*Nocardia kampachi* が 50 °C 10 時間でも死滅しない (楠田・滝、1973) と報告されている。しかし、IHN ウイルス (AMEND and CHAMBER, 1970; 佐

々木ら、1976)、VHSウイルス (AMEND and CHAMBER, 1970)、ニジマスのピブリオ病原菌 (大西・室賀, 1977)、*Myxosoma cerebralis* (HOFFMAN and PUTZ, 1969)、*Glugea takedai* (粟倉, 1974)、*Glugea sp.* (中島・江草, 1975) *Philometroides carassii* (中島・江草, 1977) は、いずれも60°C15分以内の加熱で死滅する。

このような熱感受性の高い病原体については煮沸消毒が効果的といえよう。

表3. 煮沸及び氷水冷却によるニジマス腸管内温度 (°C)

魚体 No	経過時間 (分) 体重(g)	煮 沸				氷 水 冷 却							
		0	1	2	3	0.5	1	2	3	4	5	7	10
1	75.1	16.8	43.7	59.9	—	63.3	58.7	42.3	29.8	21.6	16.8	—	—
2	81.0	15.3	29.6	49.6	62.0	64.5	65.3	59.4	51.4	43.5	36.3	25.0	14.3

ニジマスを沸騰水 (温度98.5°C) に2分または3分入れた後、直ちに氷水 (温度0.8°C) に移した。

表4. せっそう病 病ニジマスの薬物消毒試験結果

消 毒 液	魚 体 No	検 査 部 位	経 過 時 間 (時 間)						
			24	48	72	96	120	144	168
クレゾール 石けん液 3%水	1	筋肉 腎臓	+	-	-	-	-	-	-
	2	筋肉 腎臓	+	-	-	-	-	-	-
サラシ粉 5%水	1	筋肉 腎臓	+	+	+	-	-	-	-
	2	筋肉 腎臓	+	+	+	-	+	-	-
対 照 (地下水)	1	筋肉 腎臓	+	+	+	+	-	-	-
	2	筋肉 腎臓	+	+	+	+	+	+	+

平均魚体重43.8g、薬液の温度8.2~10.5°C、筋肉は潰瘍患部の部位を検査。

+は菌分離され、-は菌分離されない。

3. 薬物消毒

消毒試験の結果を表4に示した。クレゾール石けん液3%水では筋肉患部が48時間、腎臓が72時間で、それぞれ病原菌は分離されなくなり消毒効果が認められた。しかし、サラシ粉5%水では、筋肉患部から144時間で菌は分離されなくなったものの腎臓では168時間後でも菌が分離され、消毒効果が認められなかった。

薬液へ浸漬したニジマスは時間経過とともに変化したが、その状況は表5に示した。サラシ粉5%水区は漂白作用により筋肉の白化および剥離が著しかった。一方、クレゾール石けん液3%水は外観上の大きな変化はなかったものの筋肉部がサラシ粉区より早く深部まで白化変色し、薬剤の浸

透性が強いことが推測された。

表5. 薬物消毒した時のニジマス魚体の変化

経過時間 (時間) 薬液	24	72	120	168
クレゾール 石けん液 3%水	体表は白化した 粘液でおおわれ ている。 眼球は白化。 臓器に変化ない。	腹部筋肉は腹膜 まで白化変色。 臓器は柔らかく なっている。	体表は白い粘液 でおおわれてい る。 筋肉部はすべて 白化変色。	臓器は形を残し ている。
サラン粉 5%水	体表は漂白され、 すべてのヒレと 下顎部は欠落。 体表は0.5mmの 深さまで白化。 臓器に変化ない。	全体に漂白が進行。 頭部の筋肉は脱落 し骨格露出。 体表から1mmの深 さまで筋肉白化。 臓器はやや柔らか くなっている。	表皮はすべて漂 白作用により脱 落。腹部筋肉は 腹膜まで白化。 臓器は融解気味。	漂白作用により 筋肉はほとんど 欠落。 臓器はかなり融 解しているが、 漂白されていない。
対 照 (地下水)	変化ない。	筋肉は弾力を失 い、臓器は柔ら かくなっている。	臓器は融解気味。	臓器はかなり融 解。

平均魚体重43.8g, 薬液の温度8.2~10.5℃

本実験の薬剤濃度は、*A. salmonicida* を短時間で殺菌する濃度(佐々木, 1976, WEDEMEYER and NELSON, 1977)であるにもかかわらず、病魚の腎臓を消毒できた時間は、クレゾール石けん液区が72時間であり、サラン粉区では168時間でも消毒できなかった。このことは魚体組織への薬剤の浸透性が魚体内部の消毒時間に影響を与えているといえよう。

また、消毒効果に影響を及ぼす要因として有機物の存在がある。塩素系消毒剤、逆性石けん液は有機物の存在により有効成分が中和され消毒効果の低下が著しいのに対し、クレゾール石けん液はその影響が少ないといわれる(古橋, 1976, 古泉・村上, 1977)。このような薬剤の特性からみると、サラン粉区では魚体の存在によって有効成分がある程度減少したことが考えられるが、上述したように魚体の著しい漂白作用の進行からみると、消毒効果に影響を与える程の大きな減少はなかったものと考えられる。

薬物消毒実験の結果から、せつそう病罹病ニジマスの薬物消毒には、サラン粉よりクレゾール石けん液が消毒効果があることが判明したが、今後、病魚の消毒剤の選定にあたっては、対象病原体に対する殺滅効果の検討とともに、さらに魚体組織への薬剤の浸透性についても検討されねばならないと考えられる。

以上、3種類の処理方法について述べたが、今回試験をしなかつた焼却処理を含めて、いずれの方法にも長所・短所があるので、地域や養殖場の現場毎に、あるいは時期、病原体の種類等によって適切な処理方法が採用されることが必要である。

要 約

1. 防疫上の観点から、病死魚の処理方法のうち埋却、煮沸消毒、薬物消毒について検討を行った。
2. 埋却処理について平均体重1.6gのIHN罹病ニジマスを用い、10℃の土中におけるIH

Nウイルスの生存期間を検討した結果、魚体の腐敗が始まった5～6日後でもウイルスが検出された。

3. 沸騰水中のニジマスの体内温度は、一般的に殺菌効果のある60°Cを越えるまでに、体重40gで2分、100gで4分、300gで7分、1,000gで14分を要した。

煮沸消毒では、平均体重53gのせつそう病罹病ニジマスは沸騰水中3分間で患部、腎臓中の菌が死滅した。

4. 薬物消毒では、平均体重438gのせつそう病罹病ニジマスを用いたが、クレゾール石けん液3%水では筋肉患部が48時間、腎臓が72時間、サラン粉5%水では筋肉患部が144時間でそれぞれ菌が分離されなくなった。しかし、サラン粉5%水では168時間でも腎臓に菌が生存しており、サラン粉5%水に比べクレゾール石けん液3%水の方が魚体組織への浸透性が強いと推測された。

文 献

- AMEND, D. F., and V. C. CHAMBER (1970): Morphology of certain viruses of salmonid fishes. I. In vitro studies of some viruses causing hematopoietic necrosis. Jour. Fish. Res. Board Can., 27, 1385—1388.
- 粟倉輝彦 (1974): サケ科魚類の微孢子虫病に関する研究. 水産孵化場研報, 29, 1—95.
- FUJIHARA, M. P., and R. E. NAKATANI (1971): Antibody production and immune responses of rainbow trout and coho salmon to *Chondrococcus columnalis*. J. Fish. Res. Bd. Canada, 28, 1253—1258.
- HOFFMAN G. L. and R. E. PUTZ (1969): Host susceptibility and the effect of aging, freezing, heat, and chemicals on spores of *Myxosoma cerebralis*. Progressive Fish Culturist, 31, 35—37.
- 古泉秀夫・村上正子 (1977): 消毒法の実際. 薬事新法 No 932, 980—987.
- 古橋正吉 (1976): 消毒薬の種類と評価. 実験治療 No 519, 35—37.
- 楠田理一・滝秀雄 (1973): 養殖ハマチの「カルディア症」に関する研究— I. 病原菌の形態学的ならびに生化学的性状について. 日水誌, 39, 937—943.
- 中島健次・江草周三 (1975): 養殖アユの微孢子虫対策に関する予備実験— III. 胞子の性状(2) 特に胞子の殺滅に関して. 魚病研究, 9, 151—161.
- 中島健次・江草周三 (1977): 鮎糸状虫症に関する研究— III. 第1期仔虫の性状、特にその抵抗性. 魚病研究, 12, 185—189.
- 大西圭二・室賀清邦 (1977): 養殖ニジマスのピブリオ病の一原因菌— II. 生理学的性状および病原性. 魚病研究, 12, 51—55.
- 佐々木治雄 (1976): せつそう病菌に対する各種薬剤の殺菌効果について. 長野水指研報 魚病1976, 81.
- 佐々木治雄・本西 晃・三城 勇・山崎隆義 (1976): ニジマスの IHN について. 長野水指研報 魚病 1976, 45—58.
- 水産庁編 (1978): 魚類等防疫指針 2 細菌病. 1—7.
- 田代文男 (1975): せつそう病に関する研究— X, *A. salmonicida* の疫学的性状について(1). 岐阜水試研報, 21, 119—123.

WEDEMEYER , G. A. and N. C. NELSON (1977) : Survival of two bacterial fish pathogens *A. salmonicida* and the enteric redmouth bacterium in ozonated, chlorinated, and untreated water. J. Fish. Res. Board Can., 34, 429-432.

山崎隆義・佐々木治雄・田代文男 (1976) : ニジマスの IPN について. 長野水指研報 魚病 1976, 28-44.