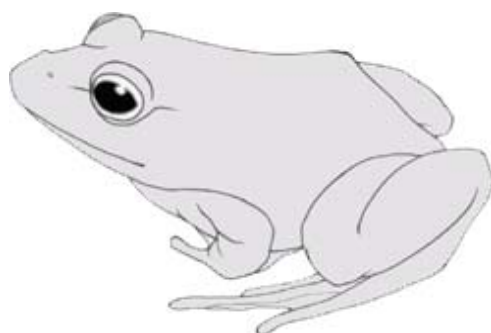


爬虫類と両生類の  
臨床と病理のための研究会

## ツボカビ症に関する解説書(詳解)



January 2007

**SCAPARA**

爬虫類と両生類の  
臨床と病理のための研究会



**無断転載、転用を慎んでください。**

**本解説書の著作権は麻布大学病理学研究室にあります。**

この解説書は、国内のツボカビ症対策のために、爬虫類両生類の臨床と病理の研究会（SCAPARA）発行「両生類テキスト」の内容に、さらに諸外国の情報をとりいれて、作成したものです。国内におけるツボカビ症の拡散防止と根絶のために少しでも役立つことを望みます。（文責：宇根有美、黒木俊郎）

## 1. ツボカビとは、

世界各地で両生類、特に無尾類の個体数の減少、個体群の消滅、さらに種の絶滅が報告されている。この両生類の悲劇の主たる原因のひとつに真菌感染症が挙げられており、この感染症はツボカビ症（chytridiomycosis）と呼ばれている。ツボカビ症は両生類の新興感染症で、*Batrachochytrium dendrobatidis* が原因である。*B. dendrobatidis* は1999年に1属1種の新属、新種として記載された、ツボカビ門、ツボカビ目、ツボカビ科に属する真菌（カビ）である。ツボカビ門に属するほとんどの種は水中や土壌中に生息し、砂漠、北極圏ツンドラ、熱帯雨林を含む極めて広範囲の環境で見つかり、主要かつ重要な生物分解菌であると考えられている。ツボカビ類は一般的に自由生活の腐生菌として土壌や淡水中に生息し、分解菌あるいは腐生菌としてキチン、セルロース、ケラチンといった分解しにくい物質を利用する。したがって、ツボカビ類の真菌は花粉粒、昆虫の外骨格、原生動物や微小無脊椎動物、両生類の皮膚、他種の真菌、草木や果実、水に浸かった枝などの小片に付着あるいは寄生して栄養を吸収する。その生活様式は腐生性と寄生性（条件的寄生性あるいは偏性寄生性）である。脊椎動物に寄生する唯一のツボカビ類が *B. dendrobatidis* である。*B. dendrobatidis* はケラチン好性で、生きたあるいは死んだ両生類の皮膚の角質層や顆粒層に寄生し、そこに含まれているケラチンを利用して発育する。

*B. dendrobatidis* はツボカビ門菌類の中でも独特な寄生形態を有する。この真菌はオタマジャクシを含む両生類の皮膚に侵入し、しばしば散発性の死の原因となり、ある個体群では最大100%の死亡率を示す。ツボカビ症はオーストラリアにおいては国内の40種以上の両生類で発見されている。しかしながら現在のところ、このカビがオーストラリアの風土的感染症なのか外来性であるかは知られていない。

*B. dendrobatidis* の生活環は非常に単純で、遊走子（zoospore）と遊走子嚢（zoosporangium）の2形態からなっている。*B. dendrobatidis* の遊走子嚢は表面が平滑で、球形から長球形であり、乳頭状の放出管あるいは排出管（discharge tube）がある。遊走子嚢は皮膚の表面から放出管だけを突出させ、突起の蓋を外して遊走子を放出する。ツボカビは真菌の中であって、唯一その生活環に鞭毛を有する遊走子の形態があり、遊走子は後方に伸びる鞭毛によって水中を遊

走する。遊走子嚢から泳ぎ出した遊走子が宿主に到達することで伝播する。

## 2. ツボカビが両生類に与える影響

世界の両生類（カエル、サンショウウオ、イモリなど）5,743種のうち、120種が1980年以降に絶滅したと推測され、さらに1,856種（32%）は絶滅のおそれがあるとされている。カエルの減少の潜在的な原因が何であるかということについて多くの提案がなされてきている（例えば、Pechmannら1991；Ferrero, Bergin 1993；Pechmann, Crump 1994；Pounds, Crump 1994；Poundsら1997）。しかしながら、多くの地域で生じている生息数の減少は、おそらく流行性疾患によるものと考えられている（Richardsら1993；Lauranceら1996；Alford, Richards 1997）。このような急激な絶滅を加速させている原因の一つとして、ツボカビ症があげられている。現在、その原因であるツボカビはIUCN（国際自然保護連合）による外来生物ワースト100にもリストされ、世界的な監視が必要とされている感染症である。

両生類のツボカビ症は、致死率が高く（発症すると90%以上が死亡する）伝播力が強いために世界中で猛威をふるい、すでにオーストラリアや中米の両生類が壊滅的な打撃を受けている。パナマでは、2004年9月にツボカビが侵入して、11月に生息群（ある種のコオイガエル）が全滅したという報告もある。毎年28kmの拡散がみられ、ファウナのあるエリアでは、71%にあたる48種の感染が確認されている。

また、野外における防除方法は確立されていないため、野外遺棄が起こった場合、根絶は不可能である。このため、オーストラリアでは輸出入検疫を強化するなど、国をあげて対策に取り組んでいる。ツボカビ症が確認されていないのは、これまでアジア地域のみとされて、日本への侵入も懸念されてきたが、残念ながら2006年12月に飼育中のカエルで確認された。

## 3. カエルのツボカビ症の発生状況と臨床症状

### 1) 発生状況

*B. dendrobatidis* はこれまでのところ、北中南米、アフリカ、オーストラリア、ニュージーランド、欧州に分布している。また、2006年には日本で確認された。ツボカビ症が、世界で初めて確認されたのは1998年のオーストラリアとパナマの雨林における感染事例の報告であったが、その後世界各地で症例探しのための遡及的調査が実施された。ツボカビ検出の最初の記録は、南アフリカ博物館（the South African Museum）に保存されていたアフリカツメガエル（*Xenopus laevis*）（1938年）、次いで南アフリカ国立博物館（the National Museum）に保存されていたケープツメガエル（*Xenopus gilli*）（1943年）から

得られている。アフリカ以外ではカナダの *Rana clamitans* (1961 年)、米国の Yosemite Toads (*Bufo canorus*) (1976 年)、オーストラリアのキアシアメガエル (*Litoria gracilentia*) (1978 年)、中央アメリカ (メキシコ) のタラフマラガエル (*Rana tarahumarae*) (1983 年)、南アメリカ (ベネズエラ) の *Atelopus cruciger* (1986 年)、スペインのサンバガエル (*Alytes obstetricans*) (1997 年)、ニュージーランドの Green and Gold Frog (*Litoria raniformis*) (1999 年)、ドイツのヤドクガエルおよびフキヤガエル (1999 年)、イギリスのウシガエル (*Rana catesbeiana*) (2004 年) などの記録がある。

しかしながら、その起源に関するデータは非常に乏しい。*B. dendrobatidis* の保有記録、保有率の動向などから、南アフリカに *B. dendrobatidis* がもともと分布しており、アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) とその近縁種 (*Xenopus* spp.) が保有動物となって世界中に広がっていったという説が有力となっている。

南アフリカの複数の博物館に保存されているツメガエル *Xenopus* spp. の標本の皮膚を採取し、*B. dendrobatidis* の検出を行って、1871 年から 2001 年における保有率の動向を調査した。その結果、1930 年代から 1940 年代に採取された標本から *B. dendrobatidis* が検出され、その後検出率は 0 ~ 6.3% で推移し、大きな変化や上昇する傾向はみられなかった。アフリカツメガエルが起源として考えられる理由として、アフリカツメガエルにおける保有率が長期間にわたり大きく変化していない、アフリカツメガエルは感染しても顕著な症状が顕れない、最も古い感染の記録がアフリカにある、生息地域でのカエルの個体数の減少はみられない、地理的な分布の拡大がみられない、貿易によるアフリカツメガエルの地球規模の拡散により説明がつく、が挙げられている。

一方で、*B. dendrobatidis* が世界各地で突然出現し、多くの両生類が死に至ったのは、*B. dendrobatidis* にとっての新天地に到達し、そこで新しい宿主に感染したためではないかと推察されている。オーストラリアと中央アメリカでの *B. dendrobatidis* 保有調査では、複数種のカエルの個体数の劇的な減少や絶滅が起きる 10 年前までの標本からは *B. dendrobatidis* は検出されなかった。このことはオーストラリアや中央アメリカにはもともと分布していなかったことを示している。

## 2) 臨床症状

- ・ 通常、食欲不振、沈鬱などの非特異的症状で発症し、症状は進行して縮腫、筋協調不能、縮こまった独特な姿勢、立ち直り反射の消失、開口、広範な皮膚の脱落などが現れ、発症してから 2 ~ 5 週で死亡する。これらの症状の要約を下記に示した。なお、今回の国内例では、皮膚呼吸の阻害による苦悶と考えられる様な症状がみられた。すなわち、日頃佇んでいるカエルが不安げ

に歩きまわり、暴れた。その他、吐き戻し、異常な粘液分泌が観察されたり、急死もあった。その経過は、急性で、暴露から3～4日で死亡したと考えられる症例もあった。

また、無尾類のオタマジャクシでは、ケラチン性の口器（クチバシ）が感染によって変形することもあるが、一般的にオタマジャクシでは無症状である。このため、オタマジャクシが保菌動物として重要である。しかし、まれに重度の感染によって角化亢進や細菌感染がみられる。

皮膚呼吸や浸透圧調節とそれ以外の皮膚の生物学的機能の崩壊が、主たる臨床症状の原因となっているようである。他の病原体の二次感染が生じる可能性もある。何らかの異常を発現している、いかなるカエルでも、最初に *B. dendrobatidis* 感染の可能性を考えるべきであろう。

さらに詳細な情報が Berger ら（1999）、または、James Cook University Amphibian Disease Web site にある。  
<http://www/jcu.edu.au/school/phtm/PHTM/frogs/ampdis.htm>. その他の役に立つウェブサイトの一覧が National Parks and Wildlife Service（NPWS）内に掲示されている。

#### 外観（1つまたはそれ以上の症状を呈す）

- ・ 体色の異常（暗調）
- ・ 発疹だらけの背部皮膚表面
- ・ 体躯下部（腹部）、脚、水かきまたは指端の微紅
- ・ 後肢の腫脹
- ・ 体躯の硬直
- ・ 高度の削瘦と衰弱
- ・ 皮膚病変（潰瘍、しこり(lumps)）
- ・ 感染した眼
- ・ 明らかに非対称的な外観
- ・ 粘液分泌亢進

全く肉眼的変化に気がつかない場合もある

#### 行動（1つまたはそれ以上の症状を呈す）

- ・ 無気力に足を動かす、特に後肢
- ・ 異常行動（例えば、夜行性で穴を掘るまたは樹上性のカエルが誰にでも見られるような場所で一日中座っていたり、近づいても逃げようとする気力がないう。）(国内事例では、日頃佇んでいるカエルが不安げに歩きまわり、暴れる。)
- ・ 触ってもわずかに動く程度か、動かない。

- ・ 急死。

#### 診断的行動テスト

試験	健康	病気
優しく指で触る	目をぱちぱちさせる	目をぱちぱちしない
ひっくり返す	もとに反転する	ひっくり返ったまま
口を優しく握る	前足を使って、握られた状態から逃げようとする	反応なし

#### 4. 病理学的所見

肉眼的には、広範に異常な脱皮(皮膚の脱落)が、しばしば、*B. dendrobatidis* に暴露されて 14 日以内に生じる。この皮膚病変は表皮における角質増殖症と過形成によって特徴付けられる。角質層は不規則に肥厚し、表皮の表面直下にある細胞が消失し、遊走子嚢と表皮細胞の残骸を含む裂隙ができる。その結果として、皮膚の表層が剥がれ落ちる。このような広範な皮膚病変の他、背部が暗色を呈し、腹部および大腿部内側が赤色調を示す。また、重度の削瘦、二次感染に起因する皮膚病変(潰瘍など)などがみられる。その他、内臓諸臓器に鬱血がみられる。しかし、集団発生および急性感染では、これらの所見が得られないこともある。

無尾類のオタマジャクシでは、ケラチン性の口器(クチバシ)が感染によって変形することもあるが、一般的にオタマジャクシでは無症状である。*B. dendrobatidis* はケラチンを増殖の際の基質(栄養素)として利用するために、表皮表層(有棘細胞層、顆粒細胞層)あるいは、ケラチンを多く含む構造でのみ感染・増殖する。通常、カエルでは表皮にケラチンが存在するが、オタマジャクシでは、表皮にケラチンがないため、ケラチンを含む口器部分に遊走子嚢が観察される。病原体は、光学顕微鏡で観察可能で、3つのステージがある。(1)中心部に好塩基性で球形から楕円形の大きな構造物を有する。これは *B. dendrobatidis* の未熟なタイプで、滑らかな壁に覆われた遊走子嚢(直径 10~40 μm)を形成する。(2)やがてそれは分裂を始め切片上では4から10個の好塩基性で細長いか、円形の遊走子(直径 0.7~6 μm)が見られる(実際には最大で300個もの遊走子が形成される)。(3)遊走子嚢に形成された放出管あるいは排出管(皮膚を貫通して、もしくは皮膚に突き出る形で形成される)を通して遊走子が外界へ放出される。この時、各遊走子の後部に1本の鞭毛があり、水中を動き回る。遊走子が放出された後の遊走子嚢は空胞として観察される。いくつかの空になった遊走子嚢には隔壁が形成され、有隔葉状体として観察される。そして最終的には遊走子嚢は潰れていくが、稀に嚢内に細菌が増殖するこ

ともある。病原体は過ヨウ素酸シッフ反応及びゴモリ染色陽性であるが、抗酸菌染色では染まらない。透過型顕微鏡で観察すると孢子に鞭毛が観察される。最近では *B. dendrobatidis* に対するポリクローナル抗体を用いた免疫染色も報告されている。

感染に引き続いて生じる組織学的変化として、ほとんどのカエルに、病原体に隣接する表皮角化層部分に限局性の表皮の過形成、角化亢進や糜爛がみられる。表皮の不規則な肥厚および表皮細胞の軽度の限局性壊死も認められることがある。角質層の標準の厚さは 2 ~ 5  $\mu\text{m}$  であるが、*B. dendrobatidis* による重度の感染では、厚さが最大 60  $\mu\text{m}$  にまでなる。病巣部下層に炎症細胞浸潤がみられるが概して軽く、取るに足りない。

Chytridiomycosis による死の機序として、(1)表皮の過形成による不可欠な皮膚呼吸または浸透圧調整の阻害、(2)真菌の毒素の吸収(感染した幼生に何らの臨床症状がないのは他に機序が考えられるが)、(3)これらの要因の複合、の3つが考えられている。

## 5. 伝播様式

*B. dendrobatidis* の感染ステージは遊走子嚢から泳ぎ出た遊走子が水を介して伝播する。感染した両生類から離れた遊走子は同じ水の中にいる他の両生類に感染することができる。感染は 100 個程度の遊走子により成立し、致死的となる。両生類の皮膚の表面に達すると、角質層を貫通し、徐々に径が大きくなり、遊走子嚢を形成する。*B. dendrobatidis* の遊走子は鞭毛で遊泳して宿主に到達することから、発育や感染には水が必須であり、したがって淡水中や水分の多い土壤中に生息している。遊走子は水道水では3週間、精製水では4週間、湖水ではさらに長い期間生存することができる。遊走子は乾燥により死滅してしまう。発育の至適温度は 17~25 で、23 が最も適しているとされている。高温には弱く、28 で発育が止まり、30 以上になると死滅する。野生下での感染の動態についてさらなる調査が必要とされている。*B. dendrobatidis* は、季節性の気候の変化、脱水症、塩分、水の pH、光、栄養素、溶存酸素に対して影響を受けやすいということが知られている。

伝播の役割を果たした動物として、いずれも種々の目的で世界中に移入されているアフリカツメガエルおよび近縁種(*Xenopus* spp.)およびウシガエル(*Rana catesbeiana*)が疑われている。これらのカエルは *B. dendrobatidis* に感染してもほとんど症状が顕れないか無症状でありながら、体表からは病原体が検出される状態で経過する。以下のような段階を経て世界中に拡大したのではないかと推定されている。南アフリカに生息するアフリカツメガエルはツボカビに対して抵抗性を示す(ツボカビの固有宿主の可能性はある)。このアフリ

カツメガエルが妊娠診断用の実験動物として 1935 年から世界中で使用されるようになり、その後アフリカから大量に輸出されるようになった。ツボカビがアフリカツメガエルを介して新しい生息地に移動。ツボカビがベクターとなる別の両生類を獲得。アフリカツメガエル以外の両生類(たとえばアメリカウシガエル)を介してさらに新しい生息地(国)移動。移動した先の国々の在来の両生類に感染していったと考えられている。

ウシガエルは食用として養殖用に世界各地に移入された。ウシガエル以外にペットとして、あるいは展示動物として種々の両生類が国際的に取引されている。これらの両生類が伝播の役割を果たしている可能性も否定できない。また、観賞魚や養殖魚は必ず水とともに輸送される。この水の中に遊走子が存在していれば、そこで数週間以上生存することができることから、これまでに証明されてはいないが、水とともに世界中に輸送されていることも十分推測することができる。

オタマジャクシの口器に *B. dendrobatidis* が寄生し、症状は顕れないか顕れても軽微であることから、オタマジャクシも *B. dendrobatidis* の分布の拡大に重要な役割を担っていると推測されている。

*B. dendrobatidis* が淡水性のエビに寄生できることが明らかになっている。このことは、*B. dendrobatidis* の培養が可能であることとともに、*B. dendrobatidis* が偏性寄生性ではなく、幅広い宿主域を持った条件的寄生性であり、腐生性の性質も有していることを示している。したがって、*B. dendrobatidis* は、たとえカエルが絶滅しても種を維持することができることと、*B. dendrobatidis* の伝播はカエルの成体やオタマジャクシのみならず、淡水性エビもその役割を果たすことが推測されている。この他にも、例えば、ウシの蹄に付いた土壤に遊走子が含まれている場合や水禽類に付着していることが想定されている。当然、ヒトの種々の活動において、遊走子を含む土壤や水を運ぶ可能性もある。カエルの観察者の靴などに付着した土壤などや、自動車やオートバイといった車両を介して伝播される可能性があることも指摘されている。

## 6. 診断

*B. dendrobatidis* の診断は組織学的に行われ、経験を積めば容易である。組織学的診断には、感染皮膚の湿潤押捺標本や皮膚の病理組織標本が必要で、かつ、カエルの皮膚の正常構造と病原体に対する知識が重要である。迅速診断法としては、皮膚を搔爬し、塗抹後、無染色で鏡検する方法があるが、診断には経験と専門的技術が必要である。生きているカエルでは、先述の皮膚搔爬あるいは肢端(爪先)を摘み(Toe clips) 組織学的に診断する。新鮮材料からの培養には、特殊な方法が必要で大変困難なため、専ら組織学的診断法が用いら



れている。オタマジャクシの Chytridiomycosis の診断のためには、鑑定殺が必須である。前述したように、オタマジャクシでは、*B. dendrobatidis* は口器にのみ感染するため、小型のオタマジャクシは切断せずに Whole で、口器を温存したまま、大型のオタマジャクシでは、口器を含む頭部を縦断して組織標本を作製する。その際に、濃い茶色を呈するケラチン質の歯が含まれていることが診断に欠かせない。

組織学的検査の他に、診断法として培養法があるが、検出感度が低い、操作が煩雑、日数がかかるなどの問題がある。研究レベルでは遺伝学的手法（PCR、リアルタイム PCR）が用いられている。

## 7. 検査法

迅速検査としては体表を綿棒でなでて、染色せずに、顕微鏡で、遊走子嚢や遊走子を確認する方法がある（染色すと観察しにくい）。病理組織検査では、10%中性緩衝ホルマリンで固定した皮膚を切片にして、顕微鏡で遊走子嚢を確認する。PCR などの遺伝学的手法を用いた方法では、肢端、皮膚を冷凍保存して、検査に用いる#1。また、皮膚搔爬材料からの培養法もあるが、操作が煩雑で培養に時間を要し、検出感度が低いため一般的ではない。（#1 Annis, S. L., Dastoor, F. P., Ziel, H., Daszak, P. and Longcore, J. E. (2004) J.Wildl. Dis. 40(3);420-428)

発症したあるいは死亡したカエルを検査する際の手順および注意点について以下に示す。この手順を順守することは、病理検査に適した状態を保ち、研究者または調査員が病気の拡大や感染した種の数を決める助けとなる。

- ・ 病気または死亡したカエルを保定するときは、ディスポーザブルの手袋を着用する。病原体の伝播と数種のカエルからの毒性のある皮膚分泌物が付かないように、食べ物や自分の口、目に触れないようにする。
- ・ 二次汚染を防ぐためにそれぞれのカエルの標本を扱う際には、新しい手袋、きれいなポリ袋を使用すべきである。手袋を使えない場合は、素手では扱わず、カエルを容器に移すための道具を使うべきである。
- ・ もしカエルが死亡していたら、標本はできる限り速やかに冷蔵保存する（カエルは死後すぐに腐敗して検査が難しくなる）。そして、目的に応じた処理を行う。なお、冷凍すると病理検査には不適となる。
- ・ 病理検査用材料：10%中性緩衝ホルマリンで固定、保存する。腹部を切開し、腸管を注入固定してカエルを約 10 倍量の保存液の中に入れる。
- ・ PCR などの分子生物学的検査材料：冷凍保存する。
- ・ もし、多くのカエルが採取できたら、いくつかは固定・保存し、いくつかは冷凍する。死亡したカエルの場合は、各種の検査のために、各部を検査に適

した方法で保存する。たとえば、ホルマリン固定は病理検査用に、冷凍材料は分子生物学的検査に保存する。

- ・ 容器には少なくともカエル種、日付、場所が分かるようにラベルしておく。
- ・ 生きてはいるが、移動しても生存できそうにない場合は（死ぬ間近）、安楽死させ、標本を冷蔵して送付する。もし、すぐに送付できない場合は、冷凍材料とホルマリン固定材料として保存する。ホルマリン固定液がない場合には冷凍する。
- ・ もしカエルが生きていて輸送にも耐えられそうな場合、湿った葉を散らした湿った布袋に入れるか、または湿った葉を入れたポリ袋に入れ、密閉する前に部分的に膨らませておく。輸送の間、全てのカエルは別々にしておくことを忘れてはならない。
- ・ 保存された標本は瓶に入れるかまたは湿った布でくるみ、袋に入れて密閉し、詰め物をした箱の中に入れて送ることができる。
- ・ 冷凍材料はドライアイスと一緒にアイスボックスに入れて送る。
- ・ 生きているまたは冷凍した標本は小さな発泡スチロール製アイスボックスに入れておく。

## 8. 消毒法

手や備品の消毒薬は細菌、発育中および孢子の状態の両方の真菌類に効果的でなくてはならない。以下の薬剤が推奨される。

- ・ クロラミンとクロルヘキシジンをベースとした製品が細菌と真菌の両方に対して有効である。これらの製品は手、靴、道具その他の備品に使用するのに適している。これらの溶液を用意する時は製品の使用説明書に従うべきである。
- ・ 適切な濃度に希釈された漂白剤やアルコール（エタノールかメタノール）は細菌や真菌に対して有効である。しかしながら、これらの消毒薬には腐食性や危険性があるため、消毒の対象によっては実用的ではない。

メタノールを使うときはどちらかを行う

- ・ 70%のメタノールに30分漬ける。
- ・ 100%のメタノールにさっと浸けた後、10秒間炎に当てるか、水中で10分間沸騰させる。

新鮮な漂白剤（濃度5%）はRanaウイルスのようなカエルの他の病原体に対しても有効である。

これらの方法で簡単に消毒できない備品は、医療用標準70%イソプロピルアルコールを染み込ませた布巾またはウェットティッシュ（イソプロピルアルコール）を使うことによって効果的に清掃することができる。

自動車の車輪やタイヤを消毒するには、塩化ベンザルコニウムを有効成分とする消毒薬の噴霧が推奨される。

文献によると遊走子は、30 で死滅すると記載されているが、検証されていないため、この記載を過信してはならない。「30 で、XX 日間飼育したため、ツボカビの感染はない」として、販売している小売店があるとされているが、これをツボカビフリー個体として扱ってはならない。

詳細については、下記を参照。

### 消毒方法一覧表（詳細は後述）

消毒対象	消毒薬	使用方法
手指	塩化ベンザルコニウム （オスバン S など）	石鹼で手洗い、温水で洗い流したあと、適切に希釈した消毒液に浸して消毒する。
	グルコン酸クロルヘキシジン （5%ヒビテン液など）	
飼育容器、 器具、備品等	塩素系消毒薬 （キッチンハイター、 ピューラックス）	塩素濃度 200ppm 以上になるように希釈し、15 分間浸漬した後、水洗いする。
	塩化ベンザルコニウム （オスバン S など）	200～500 倍液に 5 分間浸漬した後、水洗いする。
	熱湯消毒	50 以上の熱湯で 5 分以上。
	ビルコン S （輸入・販売元：バイエル）	120 倍希釈して使用。浸漬、拭き取り、スプレーとしても使用できる。
水槽、飼育水	塩素系消毒薬 （キッチンハイター、 ピューラックス）	塩素濃度が 200ppm 以上になるように希釈して、15 分間以上浸漬した後、水洗いする。
車両のタイヤ等	塩化ベンザルコニウム （オスバン 10%消毒剤など）	100 倍希釈液を噴霧。 池や川に流れないように注意。

	ビルコン S	100 倍希釈して使用。
--	--------	--------------

使用の際は製品の添付文書を熟読し、適切に使用して下さい。

#### 手指の消毒

手指消毒剤の使用時には、消毒前に爪は短く切り、時計・指輪等は外す。また、指先、指間、手首、親指の付け根等、特に洗い残しに注意して消毒することが重要。消毒剤を用いて手指消毒する場合は、石鹼と流水で汚れを十分に落とすうえで消毒剤を用いる(有機物、石鹼成分が付着していると消毒効果が低下するため)。手指の消毒に用いる消毒剤として、グルコン酸クロルヘキシジンや塩化ベンザルコニウムを有効成分とする消毒薬がある。なお、これらの消毒薬には極めて多くの製品が市販されているため、使用には各々の添付文書を熟読すること。下記に、具体例として市販されている手指消毒剤の例を示した。

##### 1) オスバン S(日本製薬)

塩化ベンザルコニウム 0.05～0.1%溶液となるように、原液を 100～200 倍(水 1L に、本剤キャップ 1～2 杯)に薄めて使用する。

##### 2) 5%ヒピテン液(大日本住友製薬)

0.1～0.5%に希釈した水溶液として使用する。

#### 飼育容器、器具・備品の消毒

##### 1) 塩素系消毒薬

後述。金属腐食性や漂白作用があるため、消毒の対象物によっては実用的ではない。

##### 2) 塩化ベンザルコニウム: オスバン 10%消毒剤(日本製薬)、オスバン S(日本製薬)など。

200～500 倍に希釈した溶液に 5 分間以上浸漬した後、水洗いする。

#### オスバン S の例

200 倍希釈液: 水 1L に対し本剤キャップ 1 杯(約 5ml)

500 倍希釈液: 水 5L に対し本剤キャップ 2 杯(約 10ml)

##### 3) 熱湯消毒

使用時の温度を 50 以上に調整し、飼育容器や器具、備品を 5 分間以上漬け込む。

##### 4) ビルコン S(アンテック)

付属のスプーンを使用して温水(40 以下)で 120 倍に希釈して使用する。浸漬だけでなく、スプレーで噴霧しても使用可能。なお、通常の消毒液は毎日交換することが推奨されているが、ビルコン S の場合、1 週間は効果が持続する。ただし、溶液のピンク色がなくなってきたら 1 週間以内であっても交換する必要がある。

#### 車両のタイヤ・車輪の消毒

##### 1) 塩化ベンザルコニウム

オスバン 10%消毒剤(日本製薬)を 100 倍に希釈、噴霧して使用する。タイヤの裏側、泥除け、

車体下部まで、噴霧すること。池や川などに消毒薬が流れ込まないように注意が必要。

## 2) ビルコン S(アンテック)

温水(40 以下)で 100 倍に希釈して噴霧する。

### 水槽、飼育水の消毒

#### 塩素系消毒薬

#### 塩素系消毒薬使用上の注意

- ・腐食作用があるため金属類への使用は避ける。
- ・漂白効果があるため衣服への使用、または飛び散りに注意する。
- ・高温で有効成分が分解するので、熱湯ではなく水を使用する。
- ・塩素ガスが発生するため酸性の製品との混合は避けてください。
- ・有機物(汚れ、糞など)によって効果が低下するため、使用には注意する。
- ・殺菌効果の低下が早い場合、希釈液は使用時調整とし、作り置きはしない。
- ・開栓後日数が経過しているものは効果が低下している可能性があるため注意する。  
光によって分解されるため冷暗所に保管する。
- ・素手で触れないようゴム手袋を着用し、原液または希釈液が目や手にかかった場合は速やかに 15 分以上流水でこすらず洗浄し、眼科や皮膚科に受診する。
- ・その他、詳細は製品の添付文書を熟読すること。

#### 1) キッチンハイター(花王)

水槽、飼育水とも、塩素濃度が 200ppm 以上(水 5L に本剤 50ml)になるように希釈し、15 分間以上浸漬した後、水洗いする。水槽に水を張るか、大きなポリバケツに水槽を入れ、消毒する。

表. キッチンハイター希釈液作成早見表

水槽の種類	幅×奥行×高さ[cm]	容量(満水時)[L]	ハイターの量[ml]
30cm 規格水槽	30×19×25	13	130 (キャップ 5.2 杯)
30cm キューブ水槽	30×30×30	26	260 (キャップ 10.4 杯)
45cm 規格水槽	45×30×30	39	390 (キャップ 15.6 杯)
45cm ハイ水槽	45×30×36	47	470 (キャップ 18.8 杯)
45cm キューブ水槽	45×45×45	89	890 (キャップ 35.6 杯)
60cm 規格水槽	60×30×36	63	630 (キャップ 25.2 杯)
60cm ハイ水槽	60×45×45	118	1180(キャップ 47.2 杯)

#### 2) ピューラックス(オーヤラックス)

水槽、飼育水とも、塩素濃度 200ppm 以上(水 5L に本剤 16.7ml)になるように 300 倍希釈し、15 分間以上浸漬した後、水洗いする。水槽に水を張るか、ポリバケツに水槽を入れ、消毒する。

表. ピューラックス(6%)希釈液作成早見表

水槽の種類	幅×奥行×高さ[cm]	容量(満水時)[L]	ピューラックスの量 [ml]
-------	-------------	------------	----------------

30cm 規格水槽	30 × 19 × 25	13	43.5
30cm キューブ水槽	30 × 30 × 30	26	86.9
45cm 規格水槽	45 × 30 × 30	39	130.3
45cm ハイ水槽	45 × 30 × 36	47	157.0
45cm キューブ水槽	45 × 45 × 45	89	297.3
60cm 規格水槽	60 × 30 × 36	63	210.4
60cm ハイ水槽	60 × 45 × 45	118	394.1

ビューラックス 600ml ボトルのキャップ1杯は、約6ml、

1800ml ボトルのキャップ1杯は約10ml、

水槽の消毒には塩化ベンザルコニウムや熱湯消毒も有効。

## 9. 治療法

確実な治療法は確立していないが、効果があるとされている薬剤、治療法が報告されている。根気よく、治療する必要があり、中途半端な治療は保菌動物の増加、対策の遅れを招くので、避けた方が良い。

現状で使用可能な治療方法を挙げる。

感染している可能性があるカエルの治療法としては、

塩化ベンザルコニウム溶液 1mg/L 中に、1匹ずつ1日1時間浸漬する。これを1日おきに(1,3,5,9,11,13日)行う。その間、2ヶ月間はカエルを隔離しておく必要がある。

その他可能性のある治療法として、Berger と Speare (1998) が報告している。

- ・ *Betadine* C (10%ポピドンヨード液) と *Bactone* C (塩酸アミナクリンとメチレンブルーを含む) による治療も成体のカエルで数例成功している (M Mahony, Newcastle University 私信)。
- ・ *Itraconazole* C は有効である (Lee Berger CSIRO Australian Animal Health Laboratory 私信)。この方法は以下のウェブサイトの情報がある。  
<http://www.jcu.edu.au/school/PHTM/frogs/adms/attach6.pdf>。

: 0.01% itraconazole 液で薬浴、1日1回5分、10日間

粉末の itraconazole を 1% methyl cellulose 液に溶かし、0.6%生理食塩水で薄めて 0.01%液にする。

## 10. 検疫プロトコール (展示施設と研究施設)

下記に検疫プロトコールの要約を示す。このプロトコールを順守することで、ツボカビによる施設内外の汚染を最小限に留めることができる。

- ・ 導入する全ての両生類は獣医師が検査を行なう。
- ・ 検疫期間は 60 日以上。

- ・適切な温度範囲は 17～23 。
- ・ツボカビ感染のリスクのある数頭のオタマジャクシは安楽死させ、検査する。
- ・ツボカビ感染のリスクのあるカエルは、イトラコナゾールで浸漬する。
- ・検疫はオールインオールアウトが原則である。
- ・まず、放野する可能性のある動物から世話をする。
- ・検疫動物は、他の飼育動物の後に世話をする。
- ・手袋着用が原則。
- ・検疫エリアの踏み込み消毒槽は、ビルコン（Antec 社）が最も適している。
- ・備品とケージは次亜塩素酸ナトリウム 200mg/L で最低 15 分間消毒する。
- ・検疫エリアと通常の飼育エリアの移動は一方通行が原則である。
- ・オタマジャクシまたはカエルが死亡したら、病理検査を必ず実施する。
- ・放野予定の個体は全くの別の部屋か建物で飼育する。
- ・水は、流す前に必ず次亜塩素酸ナトリウム 200mg/L で最低 15 分間消毒する。

**上記の項目に加えて、カエルを野外から移動させる必要があるとき、以下の事項が適用されるべきである。**

- ・何らかの病気や感染の可能性がある場合は、カエルを野外に放すべきではない。
- ・何らかの疾病に罹患している可能性がある場合、その原因を明らかにするために、できる限り早期に指定されたカエルの受け入れ先および研究機関からアドバイスを得る。
- ・治療を受けているカエルは個別に飼育し、非感染個体とは隔離する。  
(個人の飼育者は、上記の方法に準じて対策をとる)

## 11. 各施設および調査における対策

### その1 家庭内での発生(愛好家)

ツボカビは一度野外で蔓延すると取り返しがつかなくなる。しかし、飼育下で発生がみられた場合には様々な対応手段がある。適切な対処を行なって飼育動物の命を守ると同時に、当該飼育施設から外部へのツボカビの拡散を防止することが最も重要である。

#### 1) 飼育における基本原則

- ・新しく動物を購入する場合、ツボカビ感染の疑いのない動物を購入する。
- ・飼育水は必ず消毒してから排水として流す。
- ・廃棄物（植栽や床敷、食べ残しの餌）は必ず焼却処分する。
- ・死体の取扱いや処分に際しては、むやみに移動せず、密封する。処分する際は焼却処理（ゴミ回収後焼却される地方自治体であれば、間違っても死

体が出てしまわないようにきっちり梱包してゴミとして出す)。決して庭など土中に埋めない。ツボカビ症と確定診断されていない原因不明の死体も同様に処理する。

## 2) ツボカビ症を疑うまたは発症したカエルへの対策

- ・ 検査によってツボカビ感染が確認された場合には、コア獣医師の指導に従って、緊急対応を取る必要がある。
- ・ 生きた動物：ツボカビ症が1匹でも確認されたら、外に動物を持ち出さない。譲渡、分与など厳禁。オークションなどへの出品ももちろん厳禁。
- ・ 治療も可能であるが、多頭飼いをしていたり、徹底的な消毒作業を実践できない場合は、感染動物の殺処分をすすめる。確実な治療法は確立していないが、効果があるとされている薬剤、治療法が報告されている。根気よく、治療する必要があり、中途半端な治療は保菌動物の増加、対策の遅れを招くので、避けた方が良い。
- ・ 治療はコア獣医師と最寄りの獣医師との連携によって受けるようにする。観賞魚の治療薬などでは完全な効果が得られないため、事態の悪化を招く恐れのある独自の治療はしない。
- ・ 飼育容器、器具および飼育水は徹底的に消毒する(10ページ参照)。間違っても野外に野ざらしにしたりせず、飼育容器等のリサイクルショップやオークションへの売買は厳禁。

## 3) ツボカビの拡散の防止

- ・ さらなるツボカビ症患者の出現は、ヒトの行動により伝播している可能性が大きい。未消毒の器具の使いまわし、残り餌の使いまわしおよび給餌器具の使いまわしは厳禁。
- ・ 具合の悪い動物は隔離して、より慎重に取り扱う。
- ・ 野外に出かけて両生類の観察をする際、自宅からツボカビを持ち出すことがないように装備や手指の消毒を心がける。

## 4) 検疫

新しい動物を購入する場合、ツボカビ感染の疑いのない動物を選んで購入することが大前提である。同時に、検疫期間を設けることが重要である。

- ・ 購入した動物は必ずツボカビ検査を行なう。検査のタイミングは検疫の最終日近くが良い。
- ・ 検疫期間は60日で、その間は隔離飼育を行なう。隔離飼育中の取扱いは、感染動物と同様の消毒作業を伴う。
- ・ 飼育温度は17～23℃が望ましい(特殊な選好温度を要する種はこの限りではない)。
- ・ 検疫中の動物を世話は、全ての飼育動物の中で、必ず一番最後に行なう。



- ・世話をする際には使い捨てのゴム手袋の使用が望ましいが、検疫動物を置く部屋の出入り口に置いた消毒薬入り洗面器に手指はたは手袋を漬け込んで消毒することでも対応可能。

#### 5) ツボカビ検査

一般飼育家からの依頼は無料で検査できる。ただし、現在、検査依頼数の予想が立たないため、疑似患畜のみを受け付けている。

検査・診療を希望する飼育者は、各都道府県の獣医師(コア獣医師)に相談かつ検査・診療を依頼することができる。これらの獣医師はツボカビ症に関する知識を十分にもっており、拡散防止に適切な対処ができる獣医師である。疑いのある個体は必ず取扱いのできる獣医師のもとに持ち込む必要がある。なお、持ち込む前に必ず予約をとり、受け入れ準備をする猶予を獣医師に与えるようにする。検査を希望する飼育者は、疫学調査に協力する必要がある(例：発症に至るまでの経緯、飼育状況、動物の移動など)。なお、近くにコア獣医師がない場合、最寄りの動物病院に相談し、コア獣医師のリストを示して、連絡を取り合うようにする。

疑わしい動物を不適切な方法で移動したり、治療することによって、急速な事態の悪化を招く恐れがあるため、獣医師に受診する際には、必ずコア獣医師に直接か、コア獣医師と連絡の取れる最寄りの獣医師に対応してもらう。

**その2** 臨床の現場で(愛好家などからの検査依頼を受けるあるいはペット両生類を診療する臨床獣医師へ)

臨床現場では、何らかの異常に気がついてツボカビ症を疑って飼い主が検査を依頼する場合と、異常はないが、ツボカビが心配として受診する場合がある。ツボカビ症には、3つのタイプがあると考えられるが、臨床および肉眼的病変のみでの診断は非常に困難である。(皮膚スワブの直接鏡検で遊走嚢が見える場合があるが、現状では参考所見にしかならない)

1：急性ツボカビ症、2：慢性ツボカビ症、3：不顕性感染

臨床獣医師はいずれのケースでも、症例の取扱いに注意し、飼育水・床敷・残餌などの完全消毒後の廃棄を心がけ、下水下流域へのツボカビ拡散を防止しなければならない。また、院内感染が生じないように細心の注意が必要である。上記3パターンのツボカビ症を意識して、検査手順マニュアルを参考に、サンプルを採り、疫学調査のための調査票に必要事項を記入してサンプルとともに、所定の方法で検査機関に送付する。

なお、各都道府県に、ツボカビ症対策に関してコア獣医師(両生類・爬虫類の診療経験を持つ獣医師、両生類・爬虫類医療の知識を有する獣医師、最新のツボカビ情報を有する獣医師)を配置するための準備をしている。この体制が

整備されたのちは、飼育者（患畜）をコア獣医師に紹介することができる。

### その3 飼育施設内での発生（ブリーダー・業者）

ツボカビは一度野外で蔓延すると取り返しがつかなくなる。しかし、飼育下あるいは流通途中で発生がみられた場合には様々な対応手段がある。当該飼育施設から外部へのツボカビの拡散を防止することが最も重要である。

#### 1) 飼育における基本原則

- ・ 繁殖施設内へのツボカビ侵入を防止を心がけ、ツボカビに感染していない個体の維持に努める。
- ・ 飼育水は必ず消毒してから排水として流す。
- ・ 廃棄物（植栽や床敷、食べ残しの餌）は必ず焼却処分する。
- ・ 死体の取扱いや処分に際しては、むやみに移動せず、密封する。処分する際は焼却処理（ゴミ回収後焼却される地方自治体であれば、間違っても死体が出てしまわないようにきっちり梱包してゴミとして出す）。決して土中に埋めない。ツボカビ症と確定診断されていない原因不明の死体も同様に処理する。
- ・ ツボカビ対策に関する資料の全文に目を通し、十分に理解を深める。

#### 2) ツボカビ症を疑うまたは発症したカエルへの対策

- ・ 検査の結果、ツボカビ感染が確認された場合には、動物の殺処分と施設の完全消毒が必要となる。決して施設外に動物を持ち出さない。
- ・ 理想的にはオールイン・オールアウト（動物の総入れ替え）が原則。
- ・ 治療も可能であるが、多頭飼いをしている施設、とくに販売目的に飼育している施設では淘汰が望ましい。確実な治療法は確立していないが、効果があるとされている薬剤、治療法が報告されている。根気よく、治療する必要があり、中途半端な治療は保菌動物の増加、対策の遅れを招くので、避けた方がよい。
- ・ 特殊な品種など生存を強く希望する種親の場合は、消毒管理を徹底した隔離環境下で治療を行ない、生き延びた後も定期的に検査を継続して安全を確認する。
- ・ ツボカビ対策、治療は必ずコア獣医師の指導のもと実施する。観賞魚の治療薬などでは完全な効果が得られないため、事態の悪化を招く恐れのある独自の治療はしない。
- ・ 治療した動物を種親として繁殖した場合、販売前の動物の検査もより厳密に行なう必要がある。

#### 3) 施設内でのツボカビの拡散の防止

- ・ さらなるツボカビ症患者の出現は、ヒトの行動により伝播している可能性が大きい。未消毒飼育器具の使いまわし、残り餌の使いまわしおよび給餌器具の使いまわし厳禁。
- ・ 具合の悪い動物は隔離して、より慎重に取り扱う。

#### 4) 検疫

新しい動物を導入する場合、ツボカビ感染の疑いのない動物を選んで購入することが大前提である。同時に、検疫期間を設けることが重要である。

- ・ 購入した動物は必ずツボカビ検査を行なう。検査のタイミングは検疫の最終日近くが良い。
- ・ 検疫期間は60日で、その間は隔離飼育を行なう。隔離飼育中の取扱いは、感染動物と同様の消毒作業を伴う。
- ・ 飼育温度は17～23℃が望ましい(特殊な選好温度を要する種はこの限りではない)。
- ・ 検疫中の動物を世話は、全ての飼育動物の中で、必ず一番最後に行なう。
- ・ 世話をする手は使い捨てのゴム手袋の使用が望ましいが、検疫動物を置く部屋の出入り口に置いた消毒薬入り洗面器に漬け込んで消毒することでも対応可能。

#### 5) ツボカビ検査

種親の全頭検査を勧める。この検査は種親を傷つけたり弱らせたりする恐れのない安全な検査である。種親が全頭ともツボカビに汚染されていないことが証明できれば、安心して販売でき、購入者からの信頼が厚くなりニーズが高まる。なお、さらに慎重を期すため、繁殖した販売用の動物は、ランダムに抜き取り検査を行ない、安全を確認してから出荷するようにする。現在のところ、ツボカビの侵入経路は不明のため、一度の検査で安心せず、定期的な検査を行ない、繁殖施設の恒久的な安全を確保することが重要である。

なお、検査は種親ならびに販売用動物にダメージを与えないため、抜き取り検査をした動物も結果が陰性であれば、そのまま販売できる。

現在、検査体制が整備され、2月から検査受付が開始される。検査費用は、疫学調査の対象個体と疑似個体についても無料となるが、営利活動での検査依頼は実費請求となる。営利活動における検査依頼の受付は別途、案内する予定で、現在は受け付けていない。なお、ツボカビ検査はツボカビ感染状況を把握することを目的とする調査活動として行っている。そのため、検査結果を目的外に使用して生じた損害について検査機関はその責任を負わない。検査結果は、あくまで、その時点で、検査材料からツボカビが検出されたかっことを意味しており、ツボカビフリーを意味しているものではない。

## その4 展示施設での発生

### 1) 基本姿勢

- ・ 園館内にツボカビを侵入させない。ツボカビは一度野外で蔓延すると根絶不可能となるため、万一、ツボカビが侵入した場合には決して園館外に持ち出さない。
- ・ 両生類の移動、特に外国や外部からの導入を出来る限り自粛する。飼育中の個体を、生体、死体に係わらず、野外に放ったり、野外遺棄は決してしない。

### 2) 園館内への侵入防止対策

- ・ 対策の第一は、特に外国種の両生類の新規導入を可能な限り制限（できれば中止）する。
- ・ 国内産であっても外国から輸入された両生類や水棲動物と接触があった個体は特に注意する。

### 3) 検疫

- ・ 外部から両生類を導入する場合、飼育個体、野生個体を問わず、導入後少なくとも 60 日以上は一個体ずつ完全に隔離飼育して、健康状態をチェックする。
- ・ 適切な温度範囲は 17～23（特殊な選好温度を要する種はこの限りではない）。
- ・ 単に飼育容器を別にするだけでなく、飼育室（検疫室）、飼育担当者、作業動線、飼育器具、飼料等も他の個体とは分けて管理し、作業後の消毒を徹底する。踏み込み槽を設置し、隔離室専用の履物に履き替える。飼育水も完全に消毒してから排水する。
- ・ ツボカビ感染のリスクが大きいと考えられる個体（群）は、導入後直ちにイトラコナゾールまたはオスバン（塩化ベンザルコニウム）薬浴を行なう。

**完全な検疫条件を満たせない施設では、両生類の新規導入を見合わせる。**

### 4) 飼育・展示中の両生類に対する注意点

- ・ バックヤードガイドなど、一般人を飼育管理区域に立ち入らせるような行事は中止する。
- ・ 両生類の飼育担当者は、個人で飼育している両生類の飼育管理にも、職場同様の方法で対処する。

### 5) 両生類以外に注意して検疫すべき動物

- ・ 淡水棲の爬虫類、魚類などで、飼育水とともに輸入されたものは、飼育水をそのまま排水せず、消毒してから排水する。
- ・ 上記の動物は、導入後、2 ヶ月以上、両生類と接触させないこと。飼育担

当者、飼育器材、飼料なども共用しない。

#### 6) 園館内でツボカビ症が発生または疑わしい事例を認めた場合の対応

- ・ 検疫、飼育中の両生類に疑わしい症例を発見した場合は、岐阜大学で検査を受け付けている。検査依頼はホームページを参照し、事前に連絡をした上で検体を送付する。また、検体とともに検査依頼書および疫学調査表に必要事項を記入し、送付する。同時に、園担当の感染症対策委員にも連絡する。
- ・ 検査結果を待つ間も、「ツボカビに感染している」との前提で、飼育管理を行なう。
- ・ 生体、死体に限らず、野外に放ち、遺棄することは絶対にしない。
- ・ ツボカビ感染が疑われる症状を認めた時は、最寄りの感染症対策委員まで連絡するとともに、疑わしい動物の世話は選任の飼育担当者を定め、獣医師による緊密な指導の下、完全な隔離飼育、消毒を実施すること。
- ・ PCR 検査用試料を採取する前には、検査結果に影響を及ぼす可能性があるため、治療しないこと。
- ・ 的確に採材すること。検査試料の採取や保存、送付方法については「検査手順マニュアル」を参照のこと。
- ・ 自分の関係する施設でツボカビ症が疑われる事例がある場合は、関係者はフィールドへの立ち入りを控えること。少なくとも飼育場で使用した靴、車で野外に出ない。

#### 7) 市民からの相談に対する対応

- ・ 園館内に病原体を持ち込ませないを基本とする。
- ・ HP に掲載されているツボカビ症解説書と Q&A を熟読しておく。
- ・ 市民からの問い合わせがあった場合、HP の資料等を参考にして誠意を持って相談に応える。

##### (1) 飼育している(ペットの)両生類に関する相談

- ・ 飼育中の個体を、生体、死体に係わらず野外に放ち、遺棄することは絶対にしないように注意する。
- ・ 検査希望者には近隣のコア獣医師を紹介する。自園館に動物を持ち込んで相談や検査はしないこと。

##### (2) 野生個体に関する相談

- ・ 野外での集団死亡の通報があった場合、マニュアル等に照らして、交通事故や集団繁殖による死亡との区別を充分にする。
- ・ ツボカビが疑われる事例の場合は、決してそれらに触れないことと、都道府県の野生動物所管課に通報するように助言する。園館への持込は厳禁。通報者の氏名、連絡先を必ず記録に残す。

## その5 野外での発生（野外活動に際して）

野外での活動については、1．カエルの観察や生息調査の場合と、2．ツボカビの汚染調査の場合に分けて考える必要がある。

### 1．カエルの観察や生息調査を行なう場合

カエルの観察や生息調査を行なう場合、ツボカビ症を疑うような事象が見られなくても、ツボカビを含む多くの感染症の拡大を予防するために、下記の通り、拡大の防止やカエルの取扱いについて留意する。

#### 1) 現場から現場、現場から施設へのツボカビの拡散の防止

野外調査において現場から移動するときは、靴、備品、自動車を通して病原体が拡散することをなくすために、以下の予防衛生措置を推奨する。

##### (1) 靴

靴は野外調査を開始する際やそれぞれの現場間で徹底的に清掃し、消毒する。靴の泥を削り落とし、塩化ベンザルコニウムを有効成分とする消毒液ですすぐか、噴霧する。この時、消毒液が河川や池に流れないように注意する。清掃と消毒の容易さから、ゴム製のブーツなどを着用することが望ましい。

##### (2) 備品

現場で使用した備品は、他の現場で使う前に清掃、消毒する。できる限りディスプレイの製品を使用した方が良いが、そうでない備品はその場で徹底的に消毒し、次の現場でそのまま同じ備品を使用しないことが望ましい。

##### (3) 車両

自動車の車輪やタイヤの消毒には、塩化ベンザルコニウムを有効成分とする消毒薬の噴霧が推奨される。タイヤの裏側、泥除け、車体下部まで噴霧すること。消毒液が水環境中に流出せず、土壤に吸収されるように、清掃や消毒は水環境から安全な距離を置いた場所で行なわれるべきである。

消毒法の詳細については10ページ参照

### 2) 記録の保存

調査に関する記録をとり、保存する。感染症を疑う事象の有無に関わらず、いつ、どこで調査を行ない、どのような状況であったかという詳細な記録を残すようにする。将来的な疫学調査に有効に利用できるデータとなる。疫学調査表(野外調査用)に記入する。

### 3) 野外におけるカエルの取扱い

ツボカビの拡散を最小限に抑えるため、カエルは必要な時を除いてむやみにハンドリングしないようにする。カエルを取扱う際は、病原体の移動の危険性を、以下のようにして最小限にする必要がある。

・サンプリングとサンプリングの間に消毒、手洗い、再度消毒をするか、ディ

- スポーザブルの新しい手袋をサンプル毎に使用する。
- ・カエルおよびオタマジャクシのサンプリングにおいて袋の再利用はしない。
  - ・必要に迫られた時を除いて、生息地から移動させない。
  - ・野外で使用した消毒液、手袋、その他のディスポーザブル品は適切に保管し、野外調査の終了時には必ず滅菌し、適切に処分する。消毒液をカエルと接触させないように注意し、また河川や池へ流れ込まないように注意する。
- カエルおよびオタマジャクシを一時的に集めて飼育する必要があるときは、下記の対応を取る必要がある。

- ・異なる地域から捕獲した動物はそれぞれの捕獲場所別に隔離する。
- ・飼育容器をそろえる場合に、水、装置、濾過器を他個体と共有しない。
- ・隣接した飼育装置からの水しぶきや捕獲ネットの滴は、病原体を飼育容器間で伝播させる可能性があるため注意する。
- ・カエルおよびオタマジャクシの飼育に先立って、水槽、その他の装置を確実に消毒する。飼育水は水道水を中和処理して用いる。自然水を使うときには一旦、煮沸して使うか、カエルに無害の方法で消毒してから用いる。

## 2. ツボカビの汚染調査

野外においてツボカビの発生が疑われるような事象が発生した場合には、組織的な対応を行なう必要がある。この項目については別項で新たに作成する。なお、カエルの不審死については、下記の「カエル不審死判定法」を参照。

## 野外でカエルのツボカビ症を発見する方法(案)

(カエル探偵団 世話人 福山欣司先生の許可を得て転載)

カエルツボカビに感染したカエルは早ければ3, 4日、おそくとも1か月以内に発病します。ツボカビ症の症状は様々で、外見だけで診断できる特有の症状はありません。しかし、発病するとほぼ死亡します。したがって、疑わしい死体の発見がカエルツボカビ症の早期発見に繋がります。

どういう死体が疑わしいか

### 1. 目立った外傷がなく、同じ場所でたくさん死んでいる

カエルツボカビはカエルの皮膚に感染するため、なんらかの皮膚症状を伴うことがありますが、ひどい出血や大きな炎症などはないと言われています。したがって、カエルツボカビ症で死んだカエルは、目立った外傷がない可能性が高いと言えます。ただし、死んだ

後に他の生物に食べられることもありますので、外傷がないことが絶対条件ではありません。

カエルツボカビは感染力が強いので、同じ水辺に棲むカエルの多くが感染します。同じ時期に感染したカエルはやはり同じ時期に発病して死に至るため、カエルツボカビが広がった場所ではたくさんのカエルの死体が同時に見つかることになります。

## 2. 何日も連続して死体が見つかる

カエルツボカビに感染して死亡したカエルが汚染源となって、次々に他のカエルに感染が広がっていきます。最初に感染しなかったカエルもやがては感染して死んでしまうため、カエルの死体が毎日のように増え続けることになります。

## 3. 死体の発見場所が広がっていく

カエルツボカビは水の流れによって移動します。また、感染したカエル、人間、その他の動物によって汚染された水辺から別の水辺へとカエルツボカビが拡散していきます。そのため、カエルツボカビが侵入した地域では、複数のカエル生息地で死体が発見される可能性が高くなり、しかもその範囲は急速に広がって行くことが予想されます。

以上の条件に当てはまる数が多いほどカエルツボカビ症である可能性が高くなります。

ただし・・・

こんな場合はカエルツボカビ症ではありません

## 1 死体が1つしかない場合はあまり心配する必要はありません。

多数の死体があると疑いが出てきます。しかし、野外でも条件によっては同時に多数の死体が見つかる場合があります。以下におもな事例を紹介しておきます。多数の死体を発見したらこれらの事例に当てはまらないかチェックして下さい。また、オタマジャクシはカエルツボカビ症に感染しても死なないと言われています。

多数死体でも、下記2～3のような事例はツボカビ症ではありません

## 2 外傷を伴う多数死体 = 怪我をしている死体です

### 事例1 一部の哺乳類による捕食跡

アライグマやイタチなどの一部の哺乳類は、カエルを食べるときに丸飲みしないで噛んで、引きちぎるようにして食べます。カエルがたくさんいると、美味しいところだけを食



べて、足や卵などを食べ残すことがあります。繁殖に集まっているところを狙われると、たくさんのカエルの死体が残ることがあります。この場合の特徴は、

- (1) 激しく損傷している死体が多い。
- (2) 水の中より外の方に死体が多い。
- (3) 水辺に足跡が残されることが多い。

## 事例2 自動車による轢死

普段は林や草地などに生息しているカエルでも繁殖期になる水辺に集まってきます。もし、生息地と繁殖地の間に道路があれば、そこを渡る必要があります。雨の降った夜などは道路を渡るカエルが増えるために自動車で轢死する個体も多くなります。この場合の特徴は、どの死体もどこかに轢かれた痕跡があります。

## 事例3 農作業に伴う事故死

農作業中に農機具が当たってカエルが死ぬことがあります。例えば、田おこしの際に冬眠中のカエルが耕耘機に巻き込まれる場合、地面に隠れていたカエルが草刈機で切られる場合、代掻きや田植えの時に水中のカエルが耕耘機や田植機に巻き込まれる場合などです。生息数の多い場所では、農作業終了後に複数の死体が見つかるケースが考えられます。この場合の特徴は、農作業の直後であることと、死体が損傷していることです。

## 3 目立った外傷のない多数死体で怪我のない場合

### 事例1 アカガエルやヒキガエルの繁殖期に起こる圧迫死

早春に繁殖するアカガエルやヒキガエルでは、繁殖の終わった水辺に多数の死体が残されることがあります。それらは複数の雄にしがみつかれて圧迫死してしまった個体です。蛙合戦という言葉は、カエルたちがもみ合う状態と供に繁殖後にたくさんの死体が残されることが名前の由来という説もあります。

一昔前なら、常識として知っていることでしょうが、今はご存じない方も多いかも知れません。これらの死体は外傷がありませんし、それこそ仰向けになって死んでいる個体も多数いますので、カエルツボカビ症と誤解されるかも知れません。この場合の特徴は、

- (1) 死んでいる場所は繁殖場所で必ず卵塊が近くにある。
- (2) 前足で何かを抱くような格好で死んでいる個体が含まれている。
- (3) 以下に挙げる種類のカエルのみで観察される。

圧迫死の予想されるカエル。

ニホンヒキガエル、アズマヒキガエル、ナガレヒキガエル、ニホンアカガエル、ヤマアカガエル、エゾアカガエル、ナガレタゴガエル

なお、田んぼの始まるころに出てくるカエル（例えばアマガエルやトノサマガエル）では、圧迫死した多数の死体というのはまずないと考えて良いと思います。逆にこれらのカエルで外傷のない死体が多数見つければ危険信号となります。

## 事例2 農薬を含む毒物の流失による中毒死。

事故などにより水辺に有毒物質が流入してたくさんのカエルが死ぬことがあります。実際、昔は水田に撒かれた農薬によってたくさんのカエルが死にましたが、現在は比較的少なくなっています。この場合、外傷がなく、たくさんのカエルが一度に死にますので、カエルツボカビ症と間違いやすくなります。しかし、有毒物質はカエルだけに作用する訳ではありません。魚なども被害を受けるはずですが、したがって、他の生物もいっしょに死んでいないかチェックして下さい。ツボカビ症であれば、カエルだけが死んでいるはずです。

一人ひとりがカエルを守ろう！自然を守ろう！

一般に自然観察などで水辺を散策していてもカエルの死体を見かけることは少ないと思います。ヘビやサギなどの天敵はカエルを丸飲みにしてしまいますから、殺されても死体は残りません。また、普通の病気で死ぬ場合も大抵は草陰や土の中などの人から見えない場所で死ぬことの方が多いと言えます。さらに死体は有機物質の塊ですから、すぐに小さな動物に食べられて分解されてしまいます。したがって、野外で1, 2匹ではなく何匹かのカエルの死体を同時に発見した場合は、その時点で何らかの異常なことが起こった可能性があります。また、日本のカエルがカエルツボカビ症に感染するとどうなるかはまだ分かっていません。これまでとは違う症状が出るかも知れません。カエルツボカビ症を発見するためには、日頃からカエルに異常がないか気を配っておく必要があります。カエルを守ることは、他の生き物を含めた自然を守り、日本の風土を維持することに繋がります。私たちは子どもたちにカエルのいる自然を引き渡す義務があります。皆様のご協力をお願い申し上げます。

\* 「カエル探偵団」資料を改変

カエル探偵団 世話人 福山欣司

<http://web.hc.keio.ac.jp/~fukuyama/frogs/index.html>

疫学調査表(野外調査用)		送付日:
1) 調査者、依頼者の情報		
名前:		
住所: 〒		
電話番号 tel: fax:		
email:		
2) 調査に関する情報		
調査日時: 年 月 日		
調査の目的:		
場所:		
具体的な状況:		
3) 個体情報		
個体1	種類:	性別: ♂・♀
	採取場所:	
	発見時の状態: health/sick*/dead*	
個体2	種類:	性別: ♂・♀
	採取場所:	
	発見時の状態: health/sick*/dead*	
個体3	種類:	性別: ♂・♀
	採取場所:	
	発見時の状態: health/sick*/dead*	
個体4	種類:	性別: ♂・♀
	採取場所:	
	発見時の状態: health/sick*/dead*	
個体5	種類:	性別: ♂・♀
	採取場所:	
	発見時の状態: health/sick*/dead*	

個体情報-2							
個体6	種類:				性別:	♂・♀	
	採取場所:						
	発見時の状態:	health/sick*/dead*					
個体7	種類:				性別:	♂・♀	
	採取場所:						
	発見時の状態:	health/sick*/dead*					
個体8	種類:				性別:	♂・♀	
	採取場所:						
	発見時の状態:	health/sick*/dead*					
個体9	種類:				性別:	♂・♀	
	採取場所:						
	発見時の状態:	health/sick*/dead*					
個体10	種類:				性別:	♂・♀	
	採取場所:						
	発見時の状態:	health/sick*/dead*					
個体11	種類:				性別:	♂・♀	
	採取場所:						
	発見時の状態:	health/sick*/dead*					
個体12	種類:				性別:	♂・♀	
	採取場所:						
	発見時の状態:	health/sick*/dead*					
個体13	種類:				性別:	♂・♀	
	採取場所:						
	発見時の状態:	health/sick*/dead*					
個体14	種類:				性別:	♂・♀	
	採取場所:						
	発見時の状態:	health/sick*/dead*					

## 12. コア獣医師制度（ツボカビに関する一般獣医師支援制度）

一般獣医師の相談役と同時に一般飼育者向けの相談窓口、動物の引き取り、検体採取。疫学調査をおこなう。コア獣医師は獣医師会からの情報以外に、研究機関からの詳細・最新の情報を配信される。各都道府県に1名以上を配置する準備をしている。

## 13. 最後に

より詳細な解説は、WWF ジャパンのホームページに、以下にツボカビに関する情報サイトがあるので、参考にして下さい。

より詳細な解説は、以下のサイトをご参照ください。

麻布大学 <http://www.azabu-u.ac.jp/>

日本獣医病理学会、日本獣医病理学専門家協会

<http://www.vm.a.u-tokyo.ac.jp/byouri/JSVPJCVF/index.html>

日本獣医学会 <http://wwwsoc.nii.ac.jp/jsvs/index.html>

世界自然保護基金ジャパン <http://www.wwf.or.jp/chyt2007/>

日本動物園水族館協会 <http://www.jazga.or.jp/>

日本爬虫両棲類学会 <http://zoo.zool.kyoto-u.ac.jp/herp/indexj.html>

日本野鳥の会 <http://www.wbsj.org/> <http://www.wbsj.org/info/press/070112.html>

野生生物保全繁殖専門家グループ日本委員会

<http://home.t01.itscom.net/hori/CBSG-J/>

生物多様性 JAPAN <http://www.bdnj.org/index.html>

日本自然保護協会 <http://www.nacsj.or.jp/>

[http://www.nacsj.or.jp/old\\_database/gairai-shu/gairai-shu-070113-appeal.html](http://www.nacsj.or.jp/old_database/gairai-shu/gairai-shu-070113-appeal.html)

*Vet. Pathol., Azabu Univ.*