

## 1 4) ビタミンK<sub>3</sub>の投与による冷水病に対する抗病性付与効果

金辻宏明

【目的】 これまでに、冷水病菌のワクチンとしての抗原性向上を目的としてアミノ酸やビタミンを培地に添加し、水平感染耐過アユ血清との反応性を調べてきた。その実験から、ビタミンK<sub>3</sub>に冷水病菌に対する抗菌性があることが解った。本報ではビタミンK<sub>3</sub>の投与によるアユ冷水病に対する抗病性付与効果について検討したので報告する。

【方法】 供試菌には1999年3月2日に冷水病で死亡したアユの腎臓から分離した*Flavobacterium psychrophilum* SG990302株および1995年に冷水病で死亡したアユの腎臓から分離された*F. psychrophilum* CS-1株を用いた。水溶性ビタミンK<sub>3</sub>のメナジオン硫酸ナトリウム〔Sigma, M-5750〕の供試冷水病菌に対する抗菌性はスルフィソゾールナトリウム(SIZ)〔武田薬品, イスラン<sup>®</sup>ソーダ〕を比較対照として前報<sup>\*1)</sup>と同様にして最小阻止濃度(MIC)を調べた。次に、アユのビタミンK<sub>3</sub>の経口接種による冷水病に対する抗病性付与効果について調べた。供試魚には11月に琵琶湖で採捕され、冷水病経験のない平均体重10.0gの湖産アユを用いた。供試ビタミンK<sub>3</sub>には脂溶性のメナジオン〔Sigma, M-5625〕および前述の水溶性のメナジオン硫酸ナトリウムを用いた。K<sub>3</sub>は次に示すように、エサに添着させて経口投与で与えた。すなわち、脂溶性K<sub>3</sub>は10mLのナタネ油に0.5gを溶解(完全には溶けない)し、水溶性K<sub>3</sub>は10mLの0.8%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に0.5gを溶解し、市販アユ飼料(3C)100gに添着させた。この飼料は1日あたり魚体重の2%(1mg K<sub>3</sub>/日・尾)とし、7日間与えて攻撃試験に供した。また、攻撃期間(3週間)中は同様にビタミンK<sub>3</sub>を与える区と、通常エサ区を設けた。攻撃は前報<sup>\*2)</sup>と同様に冷水病を発生させたアユ飼育排水を試験水槽に引き込む水平感染を行った。効果はワクチンの有効率「= {1 - (試験区死亡率/対照区死亡率)} × 100」およびFisherの直接確率計算法で評価した。

【結果】 供試冷水病菌株に対するビタミンK<sub>3</sub>のMICを調べた結果を表1に示した。すなわち、MICはSG990302株およびCS-1株でそれぞれ24未満もしくは390ng/mLとSIZの780ng/mLと同程度を示し、抗菌作用は高かった。つぎに、ビタミンK<sub>3</sub>を経口投与したアユの攻撃中の状況を図1に、有効性評価を表2に示した。すなわち、水性K<sub>3</sub>事前投与区で一番高く、最終生残率で16.7%で、有効率では15.3%、対照区に対して2.1%の危険率で有意と判断された。しかし、最終生残率は前報<sup>\*3)</sup>で調べた感染耐過魚よりも極めて低い水準であった。これらの結果から、ビタミンK<sub>3</sub>は*in vitro*では抗菌活性は高いが、*in vivo*では効果が低く、今後ビタミンK<sub>3</sub>を用いるのであれば投与方法の改良など、詳細な検討を要すると推察され、実用化できるものとはいえないと考えられた。

※ 1) 金辻宏明：リファンピシンの冷水病菌に対する抗菌作用について，平成14年度滋賀水試事報，228-229(2003)。

※ 2) 金辻宏明：ハプテン化および免疫原性強化した冷水病菌体ワクチンの有効性，平成14年度滋賀水試事報，188-189(2003)。

※ 3) 金辻宏明・二宮浩司・山本充孝・遠藤誠：冷水病耐過アユの抗病性，平成14年度滋賀水試事報，204-205(2003)。

表1. 培養冷水病菌に対する水溶性ビタミンK<sub>3</sub>のMIC(ng/mL)

供試菌株	測定薬剤	
	ビタミンK <sub>3</sub>	スルフィゾゾール
SG990302	<24	780
CS-1	390	NT

NT: not tested.

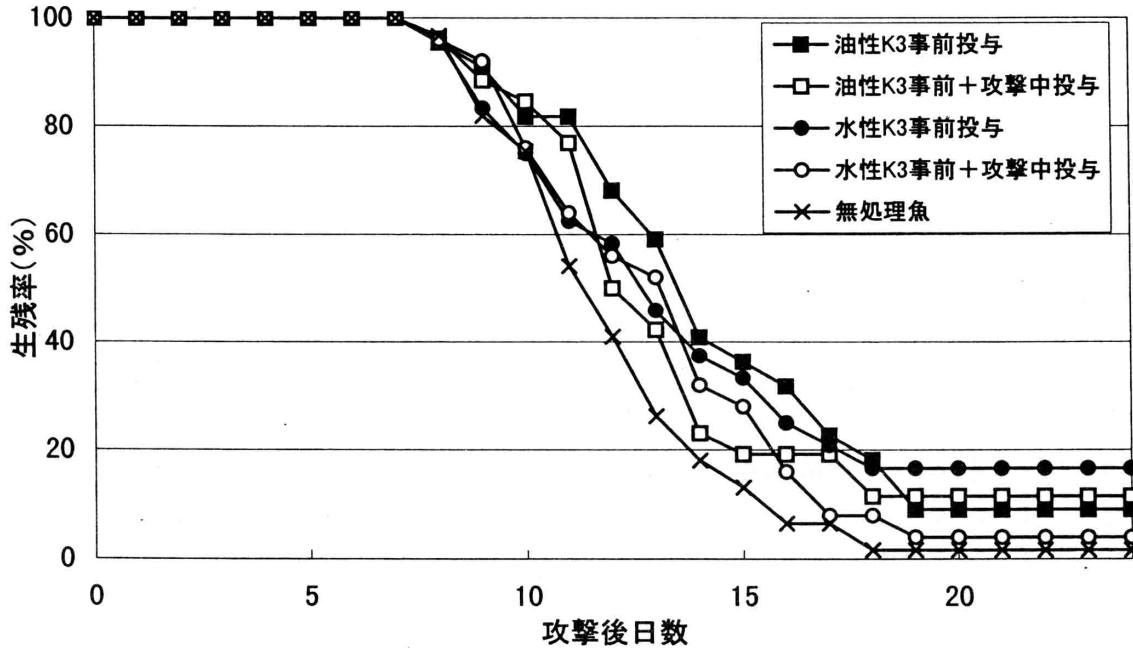


図1. 冷水病水平感染攻撃における脂溶性または水溶性ビタミンK<sub>3</sub>を事前、または事前から攻撃中に投与したアユの生残率の推移。

表2. ビタミンK<sub>3</sub>の投与による冷水病に対する抗病性評価(ワクチンの有効率計算による)

投与ビタミン	投与方法	有効率 <sup>※1</sup>	有意水準 <sup>※2</sup>
		(%)	(P値)
メナジオン(油性)	1週間事前投与	7.6	0.17
	1週間事前投与+攻撃中投与	10.1	0.078
メナジオン硫酸Na(水性)	1週間事前投与	15.3	0.021
	1週間事前投与+攻撃中投与	2.4	0.50

※1: 有効率 =  $\{1 - (\text{試験区死亡率} / \text{対照区死亡率})\} \times 100$ , ※有意水準はFisherの直接確率計算法による。