

3)アユのシュードモナス病に対するワクチンの予防効果

二宮浩司・酒井明久

【背景】近年、アユ種苗の歩留まりの低下が大きな問題となっており、その原因の一つとして、冷水病とともにシュードモナス病が関与していることがわかっている。

【目的】シュードモナス病の原因細菌である *Pseudomonas* sp. (シュードモナス病菌) は薬剤に対する感受性が低く、治療が困難なため、ワクチン(ホルマリン不活化抗原)による予防免疫の効果を検討した。

【成果概要】

1. ワクチン原液の作成：シュードモナス病菌 (SG960118B株) をハートインヒュージョン寒天培地に塗抹し、25℃で24時間培養。培養した菌をハートインヒュージョン液体培地に懸濁させた後、ホルマリンを0.3%添加し、菌を死滅させ、その後24時間攪拌しワクチン原液とした。(懸濁液中の生菌数 2.7×10^9 CFU/ml)
2. ワクチンの接種：平均体重12.4gのアユを供試魚とし、浸漬法および注射法の2通りのワクチン接種を行った。浸漬法では、ワクチン原液を飼育水で100倍希釈したものを使用ワクチン液とし、通気しながらアユを10分間浸漬した。ワクチン接種後、29日目に試験に供した。注射法では、ワクチン原液を生理食塩水で100倍希釈したものを使用ワクチン液とし、アユ1尾あたり0.1mlを腹腔内に注射した。ワクチン接種後、19日目に試験に供した。なお、対照区は無処理とした。
3. 攻撃試験：対照区、浸漬区、注射区の3区を設定。各試験区の供試魚(約20尾)にシュードモナス病菌 (SG960118B株) を腹腔内注射した。(2.5×10^2 CFU/魚) 14日間飼育し、へい死魚を計数するとともに、へい死魚の細菌検査を行い、シュードモナス病によるへい死か否かを判定した。
4. 予防免疫の評価：シュードモナス病以外によるへい死尾数を除き、次の計算式から14日目における有効率を算出するとともに、Fisherの直接確率計算法により予防効果を評価した。(図1、表1)

$$\text{有効率(\%)} = [1 - (\text{免疫区へい死率} / \text{対照区へい死率})] \times 100$$

5. 結果：対照区では攻撃後4日目からへい死が始まり、3日間で55.6%がシュードモナス病によりへい死した。免疫区でのへい死は対照区よりも少なく、浸漬区の有効率は52.7%、注射区では68.3%であった。また、Fisherの直接確率計算法によると、浸漬区では有意水準が0.0696以上で、注射区では有意水準が0.0233以上で、それぞれ効果があることになり、ワクチンによる有効性が認められた。

【成果の活用】アユのシュードモナス病に対してワクチンによる予防免疫の効果が確認された。実用化に向けてさらに詳細な試験を行う必要がある。

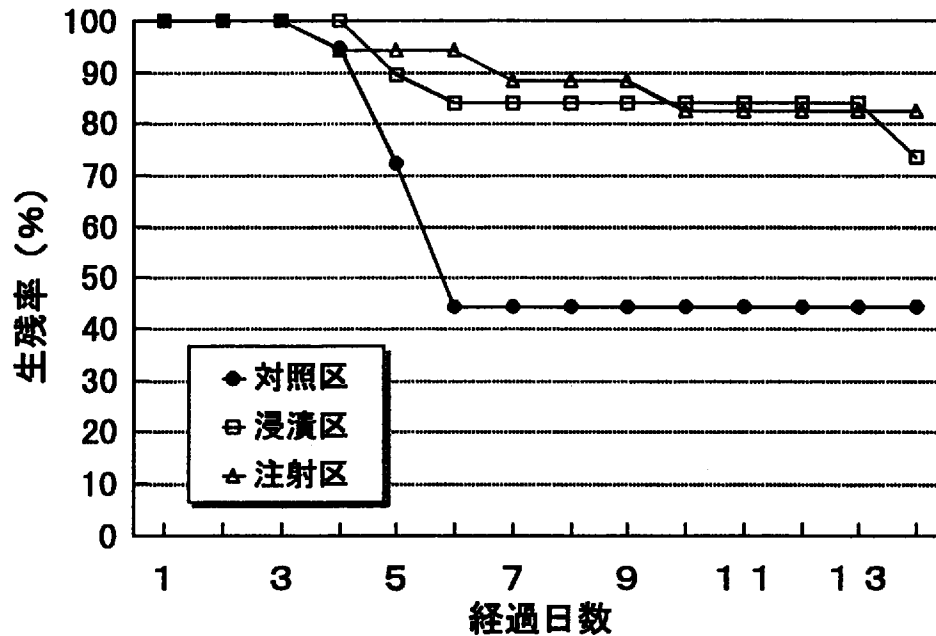


図1. シュードモナス病に対するワクチン接種試験 (腹腔内注射攻撃 2.5×10^2 CFU/魚)

表1. シュードモナス病に対するワクチンの評価

試験区名	攻撃菌数	供試尾数	7日目				14日目			
			へい死尾数	へい死率	へい死率の差	有効率	へい死尾数	へい死率	へい死率の差	有効率
対照区	2.5×10^2	18	10	55.6	—	—	10	55.6	—	—
浸漬区	2.5×10^2	19	3	15.8	39.8	71.6	5	26.3	29.3	52.7
注射区	2.5×10^2	17	2	11.8	43.8	78.8	3	17.6	38.0	68.3

※有効率 (%) = [1 - (免疫区へい死率 / 対照区へい死率)] × 100

浸漬区14日目 P=0.0696 (Fisherの直接確率計算法)

注射区14日目 P=0.0233 (")