

# 超音波破碎した冷水病菌FKC および冷水病菌由来コラゲナーゼ

## 併用ワクチンの高倍率希釈時の効果

金辻宏明

### 1. 目的

冷水病菌のホルマリン不活化菌体(FKC)を超音波破碎した菌体(WCS)と冷水病菌由来コラゲナーゼ(特許第6709395号)の酵素活性部位を除いたものを混合し、1回の浸漬で済むワクチン(以下、混合ワクチン)を開発した。本研究ではこの混合ワクチンを前報よりさらに高希釈した場合に効果を示すかどうかについて検討した。

### 2. 方法

供試魚には、2019年に琵琶湖で採捕され、28℃で加温処理した無病歴アユを用いた。供試菌には冷水病菌 SG150804株を用いた。混合ワクチンは、松岡科学研究所提供のものを用い、効果が認められる10倍希釈区と高希釈倍率区として50倍希釈区を設けた。ワクチン試験は2回実施した。ワクチン処理は、混合ワクチン原液を地下水で2Lになるよう10倍および50倍希釈したものに供試魚500g(1回目平均体重3.5g、2回目2.4g)をそれぞれ30分間浸漬して行った。各ワクチン区のワクチン処理は2週間後に再度、同様にして2回目のワクチン処理を行った。ワクチンの効果は、初回免疫28日後のアユを、攻撃用菌液を2Lになるよう地下水で4倍希釈(1回目 $2.1 \times 10^9$ 、2回目 $1.6 \times 10^9$  CFU/mL)した液に30分間浸漬して攻撃を行って評価した。攻撃用菌液は前報と同様の方法で培養したものを用いた。また、攻撃後は前報と同様にして飼育・死亡魚を計数し、ワクチンの有効性をRPS および Fisher の直接確率計算法で評価した。

### 3. 結果

2回の試験の攻撃後の生残率の推移を図に

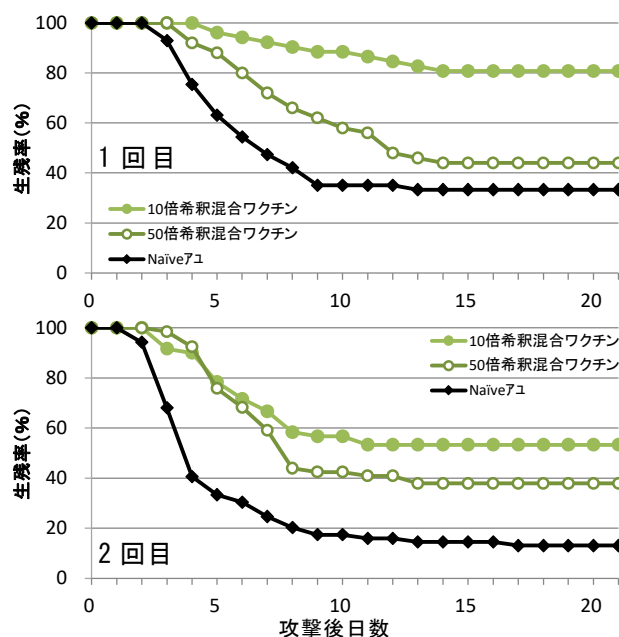


図. ワクチン接種アユの攻撃後の生残率の推移.

示す。2回の試験の対照区はそれぞれ3日後から死亡しはじめ、最終生残率はそれぞれ33.3 および13.0%であったのに対し、10倍および50倍希釈区の1回目の最終生残率はそれぞれ80.8および44.0%で、2回目は53.3および37.9%で、RPSに換算すると1回目はそれぞれ71.2および16.0%で、2回目はそれぞれ46.3および28.6%で、1、2回目ともに50倍希釈区の効果は10倍希釈区より低かった。Fisherの直接確率計算法による検定では10倍希釈区では1、2回目ともに $p < 0.001$ と有意で、50倍希釈区では1回目は $p = 0.18$ と有意差はなく、2回目は $p < 0.001$ と有意であった。これらの結果から、本ワクチンは10倍希釈で使用すると効果は認められが、希釈倍率を50倍に希釈して使用すると10倍希釈と同等の効果を示さないことが明らかとなった。

※ 本報告は(財)松岡科学研究所による「令和元年度アユ冷水病ワクチンの開発に関する研究」の成果の一部である。