

超音波破碎した冷水病菌FKC または通常FKC と 冷水病菌由来コラゲナーゼを併用したワクチンの効果の比較

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、WCS混合ワクチン)を開発した。しかし、WCSは市販するには作製工程で時間と費用がかかるため、通常FKCとの混合ワクチン(以下、FKC混合ワクチン)であっても効果があるかどうか検討した。

2. 方法

供試魚には、2020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。WCS混合ワクチンまたはFKC混合ワクチンは、松岡科学研究所提供のものを用いた。ワクチン試験は2回実施した。ワクチン処理は、WCSまたはFKC混合ワクチンをそれぞれ地下水で2Lになるよう10倍希釈したものに供試魚500g(1回目平均体重2.6g、2回目3.4g)をそれぞれ30分間浸漬して行った。ワクチン処理は2週間後に再度、それぞれ同様にして2回目の処理を行った。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 1.0×10^9 、2回目 1.0×10^9 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示す。

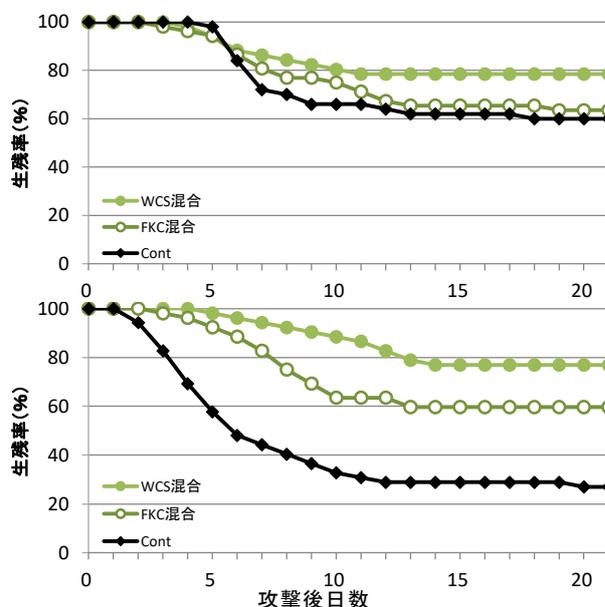


図. ワクチン接種アユの攻撃後の生残率の推移.

1および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66.0および26.9%であったのに対し、WCS混合ワクチンおよびFKC混合ワクチンの生残率はそれぞれ78.4と63.5%および76.9と26.9%で、RPSに換算するとそれぞれ46.1と8.7%および67.6と43.2%で、FKC混合ワクチンの効果はWCS混合ワクチンより低かった。

Fisherの直接確率計算法による検定では、WCS混合ワクチンでは2回の試験ともに $p < 0.05$ と有意で、FKC混合ワクチンは1回目では $p = 0.43$ と有意差はなく、2回目は $p < 0.002$ と有意であった。

これらの結果から、FKC混合ワクチンはWCS混合ワクチンの有効性より低い効果が認められたため、今後は市販できる価格で製造可能なFKC混合ワクチンを用いて効果を向上させる改良試験を行う必要がある。

※ 本報告は(財)松岡科学研究所による「令和2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。