

# 冷水病菌のFKC と冷水病菌由来コラゲナーゼ混合ワクチンの 高希釈倍率で長時間浸漬したときの効果

金辻宏明

## 1. 目的

冷水病菌のホルマリン不活化菌体(FKC)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。この混合ワクチンが高希釈倍率で使用が可能であれば安価に生産・販売できることから、本研究ではこの混合ワクチンを高希釈倍率で長時間浸漬したときの効果について検討した。

## 2. 方法

供試魚には、2021～2022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(Lot1および2を提供：Lot2の方が不活性コラゲナーゼの含有量が多い)を用いた。ワクチン試験は表に示すとおり4回実施した。試験区には10倍希釈区および1,000倍希釈区を設けた。

ワクチン処理は、10倍希釈区は供試魚500gをそれぞれ30分浸漬して行った。1,000倍希釈区は試験1～2回目または3～4回目でそれぞれ供試魚500gを24時間または2時間浸漬して行った。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。

表 冷水病菌FKCと冷水病由来コラゲナーゼ混合ワクチンの高倍率希釈・長時間浸漬による効果

	ワクチン Lot	供試魚 体重	使用 倍率	浸漬 時間	処理 回数	攻撃濃度 CFU/mL	生残率 (%)	RPS (%)	p値※
試験1	Lot1	2.3g	10倍	30分	2	$1.4 \times 10^9$	57.8	24.6	0.128
	1,000倍		24時間	"	"	58.9	26.7	0.090	
	対照区		—	—	—	"	44.0	—	—
試験2	Lot1	3.3g	10倍	30分	2	$1.2 \times 10^9$	66.0	22.7	0.206
	1,000倍		24時間	"	"	44.0	-27.3	0.158	
	対照区		—	—	—	"	56.0	—	—
試験3	Lot2	3.4g	10倍	30分	2	$3.3 \times 10^9$	62.9	44.7	0.009
	1,000倍		2時間	"	"	51.4	27.7	0.018	
	対照区		—	—	—	"	32.9	—	—
試験4	Lot2	4.1g	10倍	30分	2	$3.8 \times 10^9$	64.3	37.5	0.001
	1,000倍		2時間	"	"	62.0	33.5	0.020	
	対照区		—	—	—	"	42.9	—	—

※ Fisherの直接確立計算法による直接確率p値

## 3. 結果

4回の試験の攻撃菌濃度、攻撃後の生残率、RPSおよびFisherの直接確率計算法による検定結果を表に示す。

ワクチンLot1を用いた試験1～2では10倍希釈区および1,000倍希釈区ともに効果は認められなかった。ワクチンLot2を用いた試験3～4では10倍希釈区および1,000倍希釈区ともに効果はFisherの直接確率計算法で有意に認められたが、RPSはそれぞれ44.7と27.7%および37.5と33.5%とワクチンとしての有効性は不十分であった。

ワクチンLot1を用いた試験はLot2よりコラゲナーゼの含有量が低かったため、効果が認められなかったものと推測されるが、ワクチンLot2を用いた試験では、1,000倍希釈区で10倍希釈区と同程度の効果が認められたことから、1,000倍の高希釈倍率での使用は有効であると考えられる。

しかし、RPSが実用化には不十分であったことから、今後さらに効果を向上させる研究を行って、実用的なワクチンにする必要がある。

※ 本報告は(財)松岡科学研究所による「令和3および4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。