

9) 長時間浸漬法によるアユ冷水病人為感染試験

山本充孝・二宮浩司

【目的】 アユ冷水病の試作ワクチンの効果は感染試験によって評価されている。その評価手法として、これまでに浸漬法が試みられているが、菌液に短時間浸漬しても感染強度が低いため死亡せず、評価手法としては問題がある。そこで、本試験では菌液浸漬時間を 9 日間とする感染試験を行い、長時間浸漬法で感染強度が増加し、ワクチンの評価に利用できるかどうかについて検討した。

【方法】

供試魚：1999 年 11 月にエリで漁獲され、当场で飼育した冷水病発病歴がない平均体重 5.8g のアユを用いた。

供試菌：*Flavobacterium psychrophilum* A-1P3 (東水大株)、SG990302 (滋賀株)
試験区の設定：対照区、上記の 2 菌株についてそれぞれ低濃度浸漬区(低)、高濃度浸漬区(高)を設け、5 つの試験区を設定した。

菌液の調製：肉エキスの代わりにカツオ肉エキスを使用した改変 *Cytophaga* 寒天培地で 15℃、72 時間培養した菌を滅菌地下水で希釈して調製した。

攻撃方法：浸漬感染は各試験区 20 尾のアユに対して、45cm アクリル水槽を用いて、飼育水中の菌濃度が $10^3 \sim 10^5$ CFU/ml になるように調整した菌液に 3 日間浸漬して全換水し、再び菌液に浸漬する操作を 3 回行い、計 9 日間行った。その後は 6 日間流水で飼育した。なお、対照区は感染区と同様の方法により地下水に浸漬した。また、試験期間中の水温は 15.4~17.3℃であった。

給餌：浸漬攻撃中は無給餌とし、その後の流水飼育時は適量を給餌した。

なお、試験は 2000 年 7 月 7 日~7 月 20 日に行った。

【結果】

冷水病原菌の長時間浸漬感染試験における攻撃菌数を表 1 に、死亡状況および生存率を表 2、図 1 に示した。

試験終了時の死亡率は浸漬した菌濃度によって違いはなく、A-1P3 株では 20%前後、SG990302 株では 80%前後となり、菌株間の病原性に違いが認められた。また、長時間浸漬感染法では冷水病魚に特徴的な鰓および内臓の貧血、穴あき症状がみられ、自然発病と同様の病徴が再現された。

【考察】

本試験による浸漬感染では、SG990302 株では高い死亡率となり、また、冷水病特有の症状も再現されことから、本方法を用いて試作ワクチンの効果判定が可能であると思われた。しかし、この感染方法は試験に手間がかかる他、止水で長期間飼育するために水質が悪くなることや他の疾病が発生する危険性が高くなる等の様々な弊害が起こる可能性がある。

表 1 冷水病原菌の長時間浸漬感染試験における攻撃菌数

試験区	飼育水中の冷水病菌数 (CFU/ml)		
	浸漬 0~3 日	浸漬 4~6 日	浸漬 7~9 日
対照区	0	0	0
A-1P3 低	3.4×10^3	ND*	3.9×10^4
A-1P3 高	3.4×10^4	ND	3.9×10^5
SG990302 低	9.8×10^3	ND	1.2×10^4
SG990302 高	9.8×10^4	ND	1.2×10^5

* ND：測定不能（雑菌混入のため正確に計数出来なかった）

表 2 冷水病による死亡状況

試験区	経過日数																死亡 率 (%)	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		計
対照区	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A-1P3 低	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	2	10
A-1P3 高	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	2	1	0	0	0	6	30
SG990302 低	0	0	0	0	0	0	1	4	3	2	4	2	1	0	0	0	17	85
SG990302 高	0	0	0	0	0	0	3	0	4	2	2	0	2	1	1	0	15	75

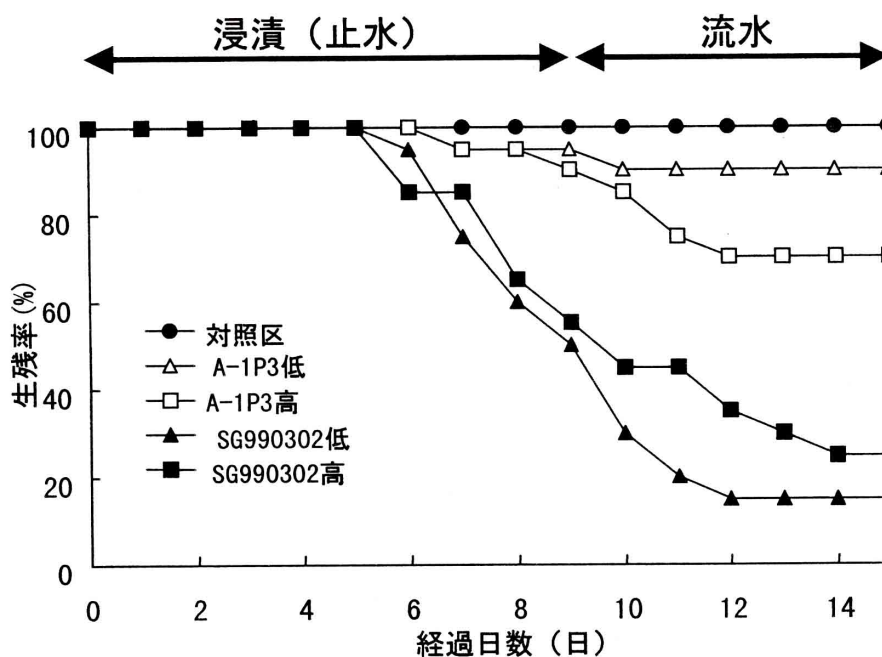


図1. 長時間浸漬法における冷水病によるアユの生残率 (%)