

長期継代した冷水病菌の病原性の確認

岡村 貴司

1. 目的

病原菌を分離培養することや長期継代することで病原性が低下することは一般的に知られており、そのことを利用してワクチンが作製されている事例がある。

魚類のワクチンでは生ワクチンの作製は認められていないが、アユ養殖に大きな被害を与える冷水病におけるホルマリン不活化ワクチン（試作）は効果が不安定であり実用化の目途が立っていない。このため、今後の参考のため、病原菌を長期継代することで大幅に病原性が低下するかを確認した。

2. 方法

人為攻撃試験で死亡したアユの腎臓から冷水病菌を MCY 平板培地に単離した。単離した冷水病菌のうち 1~2 コロニーを新たな MCY 平板培地に継代する作業を 5~7 日間隔で 97 回繰り返し行った。

98 回目の継代させた冷水病菌を 5mM の Ca を添加した 1/2 濃度の CGY 液体培地で培養後（24 時間培養後、新たな培地で 16 時間培養）、PBS(-) で 5 倍希釈した培養菌液（希釈後の菌濃度： 4.6×10^7 CFU/mL）を作製してアユ 30 尾（15 尾×2 連、平均体重 25.4 g/尾）の腹腔内に 100 μ L を注射して、21 日間の死亡率を確認した。

対照区には MCY 平板培地に単離後、1/2 濃度の CGY 液体培地で 2 回継代した後、-80℃ で保存した培養液を用いた。保存していた菌液を上記と同様に 5mM の Ca を添加した 1/2 濃度の CGY 液体培地で培養し（希釈後の菌濃度： 1.1×10^8 CFU/mL）、アユ 30 尾（15 尾×2 連、平均体重 26.9 g/尾）の腹腔内に 100 μ L を注射して 21 日間の死亡率を確認した。

3. 結果

対照区の死亡率は 52%、長期継代した冷水病菌を注射した区の死亡率は 40%であり、有意差はみられなかった（図 1）。

本試験では長期継代によって冷水病菌の病原性を大きく低下させることはできなかった。

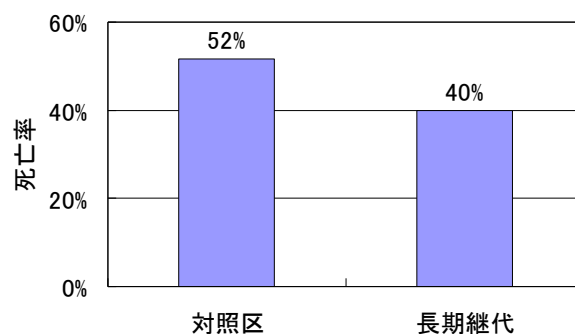


図 1 人為感染試験における各区の死亡率