

平成 7 年度魚病対策技術開発研究委託事業

類結節症の感染・発病条件に関する研究

沢田健蔵・杉本喜彦

愛媛県水産試験場での開発中のブリ類結節症 LPS ワクチンをブリ稚魚に投与しその有効性の再現性を検討した。

材料及び方法

供試魚

試験開始の翌日、予備飼育していたブリ稚魚を総体重を測定しながら 1.0×0.5×0.5m(実水量 150ℓ)の実験水槽に各区 25 尾ずつ収容した。

FKC + LPS ワクチン投与

10⁹CFU/ml の FKC を FKC 培養上清により希釈し、1g/ml の LPS は蒸留水で希釈し、魚体重 10g 当たり、FKC10⁷CFU/ml、LPS100 μg/ml になるよう調整し、その 0.1ml を腹腔内接種した。対照区は PBS を 0.1ml 接種した。

飼育

ワクチン投与後、イカナゴを 20%/日給餌して有効性の判定まで 2 週間飼育した。

有効性の判定

使用菌株 *P. piscicida* HT94009

上記菌株を 1.5%NaCl 加 BHI 寒天培地を用いて 25 ℃、24 時間培養後、1ml 当り 100mg の菌液を調整して、これを 2%NaCl 加 1%カザミノ酸液で 10 倍希釈し、2 段階の菌液 4ℓ(実験 1)あるいは 5ℓ(実験 2)を調整した。この各菌液に、免疫 15 日目の供試魚 25 尾を浸漬して攻撃した後、また元の飼育槽に戻し、11 日間死亡状況を観察した。

結 果

実験 1

表 1、図 1 及び図 2 に有効性の判定結果を示した。低濃度の攻撃区では同一の攻撃菌濃度区を 2 面設定した。ワクチン区、対照区共二つの区では死亡率のばらつきが大きかった。この二つを合計して有効率を算定した結果、33.3%となったが、対照区の死亡率が 18%と低いために、有効性を判定するには

いたらなかった。高濃度攻撃区では、ワクチン区、対照区とも死亡率が80%となりワクチンの有効性は見られなかった。

実験2

表2及び図3に有効性の判定結果を示した。同一の攻撃菌濃度区を2面設定し、ワクチン区の死亡率は80及び84%、対照区の死亡率は68及び84%となりワクチンの有効性は見られなかった。

表1 実験区及び有効性判定結果(実験1)

実験区	平均体重	ワクチン種類	攻撃濃度	死亡率 (%)	有効率
1	19.6	FKC+LPS	1.3×10^3 /ml	6/25 (24)	33.3%
2	19.6	FKC+LPS	1.3×10^3 /ml	0/25 (0)	
3	18.8	FKC+LPS	1.3×10^4 /ml	20/25 (80)	0
4	19.2	対照区	1.3×10^3 /ml	2/25 (8)	
5	18.8	対照区	1.3×10^3 /ml	7/25 (28)	0
6	20.4	対照区	1.3×10^4 /ml	20/25 (80)	

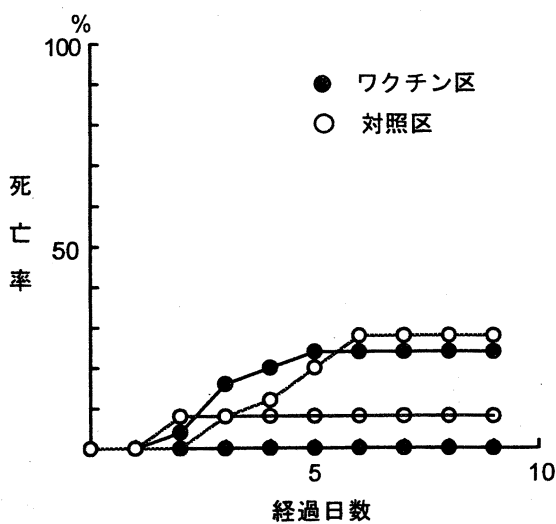


図1 低濃度攻撃(1.3×10^3 /ml)後の死亡率(実験1)

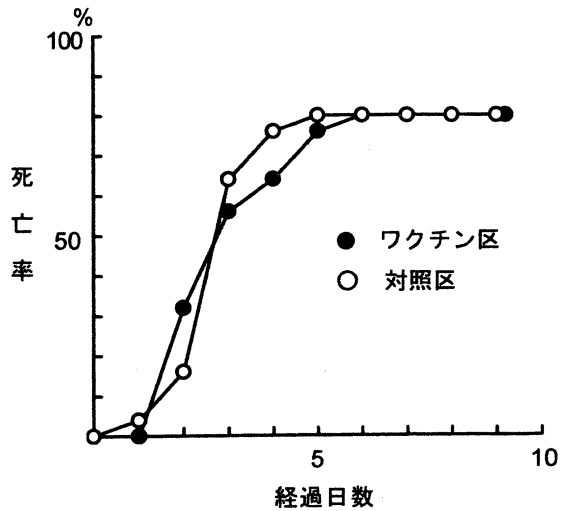


図2 高濃度攻撃(1.3 × 10⁴/ml)後の死亡率(実験1)

表2 実験区及び有効性判定結果(実験2)

実験区	平均体重	ワクチン種類	攻撃濃度	死亡率 (%)	有効率
1	19.6	FKC+LPS	5.6 × 10 ⁴ /ml	20/25 (80)	-5.1%
2	18.8	FKC+LPS	5.6 × 10 ⁴ /ml	21/25 (84)	
3	19.2	対照区	5.6 × 10 ⁴ /ml	17/25 (68)	
4	18.8	対照区	5.6 × 10 ⁴ /ml	21/25 (84)	

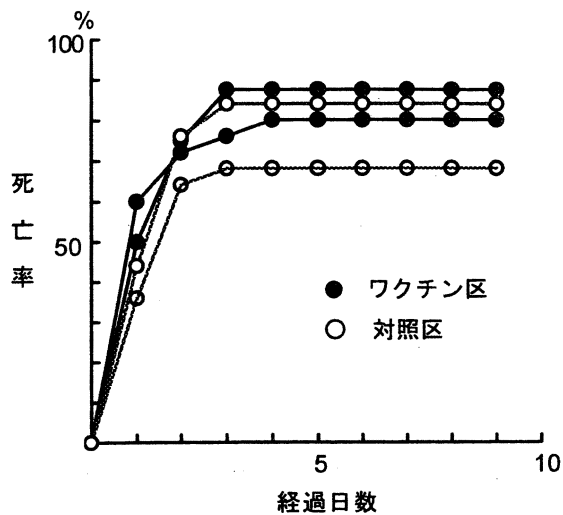


図3 高濃度攻撃(5.6 × 10⁴/ml)後の死亡率(実験2)

考 察

愛媛県及び大分県で同様に LPS ワクチンの有効性の有無を検討した結果では、有効性が認められる結果となった。この事は、実験条件あるいは攻撃菌株の違いが有効性の有無を左右していると考えられ、このことから、今回使用した LPS ワクチンは実験条件の違いを超える程の有効性はなく、十分な再現性は見られなかった。