

## マダイのエドワジェラ症に有効なワクチン開発

増養殖環境部 黒原 健朗

マダイは本県の重要な海面養殖魚種であるが、腸内細菌科に属するグラム陰性細菌 *Edwardsiella tarda* の感染によって引き起こされるエドワジェラ症によって毎年大きな被害がもたらされている。本疾病はイリドウィルス症と並んで本魚種における重要な疾病として位置づけられているが、現在のところ効果的な対策がなく、養殖現場では対応に苦慮している状況が長く続いている。また本疾病に感染すると、生残しても外観が醜悪となり商品価値が大きく損なわれることも問題である。

エドワジェラ症に有効なワクチン開発に関する研究はヒラメでは過去に報告例があるが、マダイではこれまでに報告されていない。そこで、本県では大学とワクチンメーカーと連携し、マダイのエドワジェラ症に有効なワクチン開発試験を実施することとした。なお、平成 14～17 年の 4 年間でワクチン候補株の選定、ワクチン投与後の感染方法の検討を実施しており、本年度から 3 年間の期間でより詳細な内容について検討することとした。

### 試験 1 攻撃試験供試株の評価

平成 17 年度にマダイ由来株及びヒラメ由来株を用いてマダイにおける病原性を腹腔内注射感染後の死亡率により比較した結果、マダイ由来の KR-04 及び MR-04 株で他よりも高い累積死亡率がみられ、両菌株で病原性が高いと判断された。そこで、本年度は両菌株に絞り、再現性が高いことに加えて感染後の典型症状の出現頻度が高く、養殖現場での状況をより反映していると考えられる浸漬感染法を用いて再度病原性を評価した。

#### (1) 材料及び方法

本試験には砂濾過と紫外線殺菌した海水で予備飼育し、エドワジェラ症の病歴のない平均体重 13.1 g のマダイを用い、両菌株それぞれについて 2 段階の菌濃度を設定して計 4 区で試験を実施した。供試菌の培養は HI 液体培地で 25℃、24 時間前培養した後、別の HI 液体培地に再度移し替えて 25℃、18 時間本培養したものをを用いた。感染時の菌数は SS 寒天培地を用いて 25℃、48 時間培養の後に平板希釈法で計数し、その結果、MR-04 株では  $1.7 \times 10^6$  (低菌濃度) 及び  $4.3 \times 10^7$  (高菌濃度) CFU/ml、KR-04 株で  $1.5 \times 10^6$  (低菌濃度) 及び  $3.9 \times 10^7$  (高菌濃度) CFU/ml となった。なお、両菌株については本試験と同一条件下で培養して事前に増殖曲線を作成しており、いずれの供試菌も対数増殖期後期から定常期に移行する直前の状態であることを確認している (未報告)。

浸漬感染には 30 L パンライト水槽を用い、菌液注入後の水量を 20 L に統一し、各区 20 尾ずつの供試魚を収容した。浸漬感染は菌液を均一に拡散させるために強めのエアレーション下で 60 分間実施した。浸漬後の魚は順次速やかに流水条件下の 200 L ポリエチレン水槽 (水量 180 L) に移動させ、通常飼育を開始した。

試験期間中は水温を 25℃ に設定し、エアレーション下で 21 日間経過観察した。また、毎日 1 回午前 8 : 00 前後に市販のドライペレットを飽食量給餌し、死魚がみられた場合は直ちに取

り上げて解剖するとともに SS 寒天培地を用いて腎臓より菌分離した。また、試験終了時における生残魚も取り上げて解剖し、発症状況を確認するとともに、死魚と同様にして腎臓から菌分離した。

(2) 結果及び考察

試験期間中の累積死亡率の推移を図 1 に示した。死亡は MR-04 株では感染 2 日目から、KR-04 株でも 3 日目からみられ始めた。低菌濃度では試験期間中、両菌株で累積死亡率の推移に顕著な差はみられなかったが、高菌濃度では試験前半から中期にかけては MR-04 株で高い死亡率を示した。表 1 に生残魚の発症状況を含めて本感染実験結果の詳細を示した。試験終了時における累積死亡率は高菌濃度では MR-04 株で 70.0%、KR-04 株で 60.0%、低菌濃度ではそれぞれ 30.0 及び 25.0% となり、同等の値を示した。また、死魚からの菌分離結果、生残魚における発症状況及び菌分離結果についても両菌株でさほど大きな差は認められなかった。

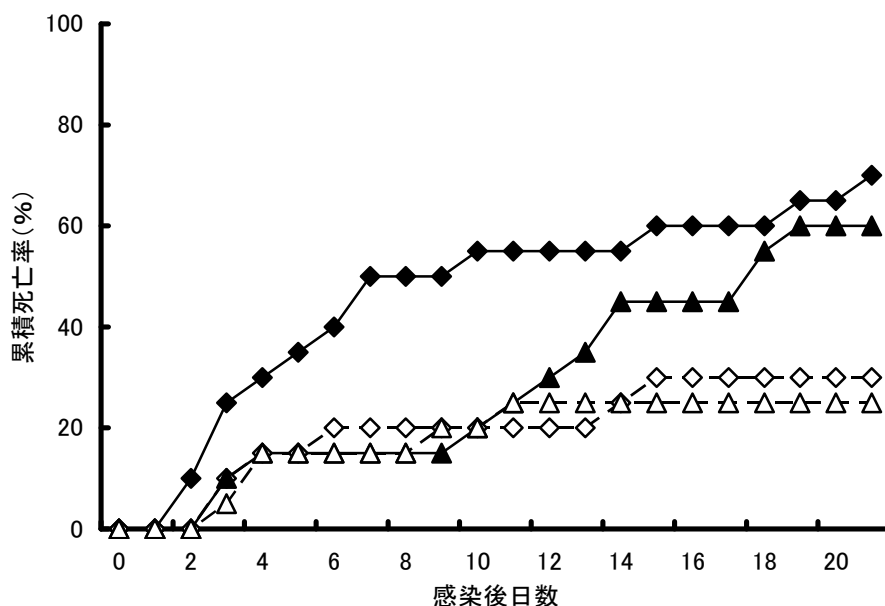


図 1 試験期間中の累積死亡率の推移

◆:MR-04,  $4.3 \times 10^7$ CFU/ml, ◇:MR-04,  $1.7 \times 10^6$ CFU/ml  
 ▲:KR-04,  $3.9 \times 10^7$ CFU/ml, △:KR-04,  $1.5 \times 10^6$ CFU/ml

表 1 死魚及び生残魚における菌分離結果と生残魚における発症状況

試験区		累積死亡率 (%)	死魚		生残魚		
菌株	菌数(CFU/ml)		菌分離	頭部膿瘍	腎臓結節	脾臓結節	菌分離
MR-04	$4.3 \times 10^7$	70.0	9/14	3/6	3/6	2/6	1/6
	$1.7 \times 10^6$	30.0	4/6	1/14	5/14	0/14	2/14
KR-04	$3.9 \times 10^7$	60.0	7/12	1/8	5/8	4/8	2/8
	$1.5 \times 10^6$	25.0	3/5	2/15	4/15	1/15	5/15

以上の結果から、感染時の生菌数が同一ではなかったものの MR-04 株および KR-04 株を用い

た 21 日間の浸漬感染実験では死亡率に顕著な差はなく、病原性は同等と判断されたが、高菌濃度感染における累積死亡率の推移から、両株にはマダイにおける感染の進行にはそれぞれ特徴があることが示唆された。

## 試験 2 浸漬感染時間の検討

本試験ではワクチンの有効性判定のための知見を得ることを目的として浸漬感染時間が死亡率や発症に及ぼす影響について検討した。

### (1) 材料及び方法

本試験にはエドワジェラ症の病歴のない平均体重 30.6 g のマダイを供試し、菌株にはマダイ由来の MR-04 株を用いた。そして、試験 1 と同様の方法で培養した。感染時の菌数は  $3.6 \times 10^7$  CFU/ml (A) 及び  $1.8 \times 10^7$  (B) CFU/ml の 2 段階に設定し、それぞれ浸漬時間を 10、30 及び 60 分間として計 6 区で試験を実施した。感染には 30 L パンライト水槽を用い、菌液注入後の水量を 25 L で統一した後に各区に 18 尾ずつ供試魚を収容した。また、試験 1 と同様の理由から感染は強めのエアレーション下で実施し、浸漬時間終了後にはそれぞれの魚を速やかに流水条件下にある 200 L (水量 180 L) ポリエチレン水槽に移動させた。

試験期間中は水温を 25°C に設定し、エアレーション下で 21 日間経過観察した。また、毎日 1 回午前 8 : 00 前後に市販のドライペレットを飽食量給餌し、試験期間中にみられた死魚は取り上げて SS 寒天培地を用いて腎臓から菌分離した。また試験終了時における生残魚については試験 1 と同様にしてエドワジェラ症の発症状況を調べた。

### (2) 結果及び考察

試験期間中の累積死亡率の推移を図 2 に示した。死亡は 3 日目からみられ始め、いずれの試験区でも試験期間中緩やかに累積死亡率が増加し続けた。試験終了時における累積死亡率と死魚ならびに生残魚からの菌分離結果及び生残魚における発症状況を表 2 に示した。累積死亡率は A の 60 分間浸漬した区で 55.6% と最も高く、また B で感染させた試験区においても 60 分の浸漬時間で 44.4% と累積死亡率が最も高かった。A においては 60 分浸漬と 30 分浸漬と間で、また B についても 60 分浸漬と 10 分浸漬との間でそれぞれ有意差が認められた (F 検定、 $p < 0.05$ )。死魚における菌分離率は 57.1~80.0% となり、菌濃度の高低による顕著な差は認められなかった。また、生残魚における菌分離率においても菌濃度の差による目立った傾向はみられず、いずれの試験区でも低かったが、本疾病で特徴的にみられる腎臓における結節や頭部膿瘍個体は 30 分及び 10 分浸漬の試験区で多く認められ、特に B において顕著であった。

本試験において、60 分の長い浸漬時間によって累積死亡率の有意な上昇がみられたが、10 分間の浸漬時間でも菌の回収率は低いものの比較的多くの発症魚が認められた。筆者は死亡率を基に算出する一般的なワクチン有効率に限定せず、生残魚における発症状況もワクチン効果を判定する重要な指標であると考えているが、本試験では設定したそれぞれの時間について死亡と発症の傾向が特徴的にみられたことから、ワクチンの有効性判定で用いるために最適な浸漬時間を決定することはできなかった。今後は浸漬時の温度、溶存酸素濃度等を考慮したより詳細な条件検討が必要であると思われる。

本試験も含めた筆者らのこれまでの実験結果をみるに、浸漬感染では腹腔内注射感染と異なって外観症状を伴いながら累積死亡率が緩やかに上昇していることから、本感染方法は比較的養殖現場での発生状況に近いと考えられる。また、10 分間という浸漬時間でも発症魚が比較的

多くみられていることから、本疾病の感染は菌とマダイが接触後、比較的早い段階で体内に菌が取り込まれて成立している可能性が示唆される。よって、今後は病理組織学的あるいは細胞免疫学的手法等を用い、浸漬感染後の体表を介した菌の侵襲性について経時的に検証する必要もあろう。

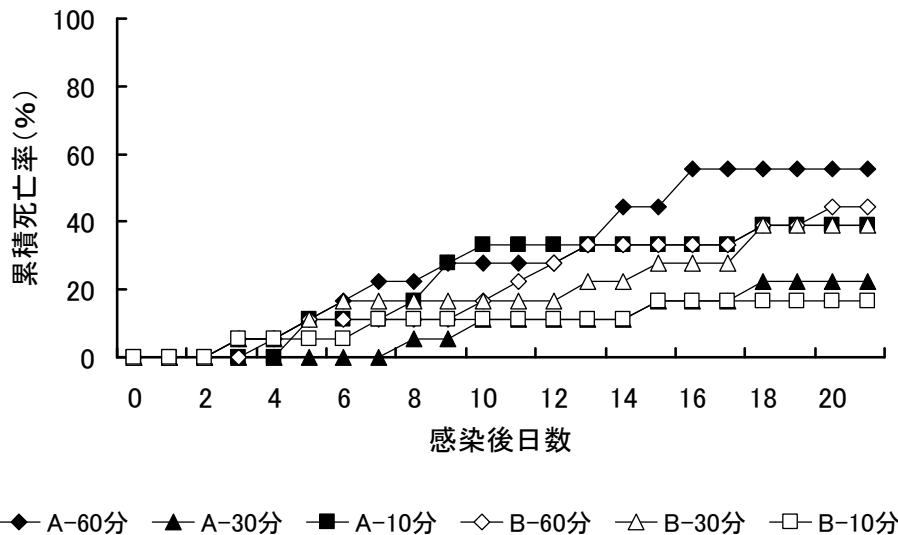


図2 試験期間中の累積死亡率の推移  
(A :  $3.6 \times 10^7$ CFU/ml、B :  $1.8 \times 10^7$ CFU/ml)

表2 死魚及び生残魚における菌分離結果と生残魚における発症状況

菌濃度	浸漬時間 (分)	累積死亡率 <sup>※3</sup> (%)	死魚		生残魚		
			菌分離	頭部膿瘍	腎臓結節	脾臓結節	菌分離
A <sup>※1</sup>	60	55.6 ★	8/10	0/8	0/8	0/8	0/8
	30	22.2 ★	3/4	0/14	6/14	1/14	0/14
	10	38.8	4/7	2/11	5/11	0/11	0/11
B <sup>※2</sup>	60	44.4 ☆	5/8	2/10	2/10	0/10	1/10
	30	38.8	4/7	3/11	6/11	0/11	0/11
	10	16.7 ☆	2/3	6/15	8/15	0/15	2/15

※1  $3.6 \times 10^7$ CFU/ml

※2  $1.8 \times 10^7$ CFU/ml

※3  $p < 0.05$

### 試験3 ホルマリン死菌ワクチンの調製法の検討

本試験は平成17年度に実施した免疫原性比較試験で有効性の高かったマダイ由来の041221株及びヒラメ由来のM-1株について実施した。一般的にはワクチンはホルマリン死菌ワクチン(FKC)を指し、培養菌液にホルマリンを添加して不活化し、遠心分離・集菌してPBS等で洗浄・希釈することによって調製するが、その過程において菌体外成分等の免疫上の有用な成分の喪失も考えられる。そこで、本試験では上記2株についてホルマリンで不活化後に通常の方法で

処理したワクチンと、不活化後に処理しないワクチンで免疫原性を評価した。

### (1) 材料及び方法

試験には陸上水槽で予備飼育した病歴のない平均体重 25.3 g のマダイを用い、041221 株及び M-1 株それぞれについて通常の FKC とホルマリン未除去ワクチン (FKC+培養液) の試験区を設けた。なお、供試ワクチンの抗原量は 041221 株で  $1.6 \times 10^9$  CFU/ml、M-1 株で  $1.3 \times 10^9$  CFU/ml とした。免疫は腹腔内注射法により行い、各ワクチンを 1 尾あたり 0.1ml ずつ 35 尾に投与するとともに対照区の魚には滅菌 PBS を 0.1ml ずつ投与した。免疫期間中は市販ドライペレットを 1 日 1 回午前 8:00 前後に飽食量を投与し (免疫当日とその前後 1 日は無給餌)、エアレーションしながら紫外線殺菌海水を用いて通常の飼育を行った。なお、試験期間中の水温は 25°C に維持した。

免疫期間中、いずれの試験区でも死亡はみられなかった。そして免疫 21 日後にマダイ由来の強毒株 MR-04 株を用いた攻撃試験を開始した。攻撃試験で用いる菌液は TPB (Tryptose Phosphate Broth) にスキムミルクを加えて凍結保存しておいた菌液を HI 液体培地に 1:100 となるように添加し、25°C・24 時間前培養した後に、その 100 倍量の HI 液体培地に全量を添加して 25°C・18 時間本培養することで調製した。攻撃試験には滅菌 PBS で濃度調節した 2 段階の菌液を用い、各区の免疫魚からそれぞれ 15 尾ずつを取り出して腹腔内注射法により実施した。なお、1 尾あたりの菌液接種量は 0.1ml とし、SS 寒天培地を用いた平板希釈法により菌数測定した結果、生菌数は  $3.9 \times 10^7$  (低菌濃度) CFU/ml 及び  $1.9 \times 10^8$  (高菌濃度) CFU/ml であった。攻撃試験期間は 21 日間とし、期間中の生残率の推移からワクチン有効率 (RPS) を算出した。また、攻撃試験終了における生残魚については SS 寒天培地を用いて腎臓から菌分離するとともに、解剖して発症状況等を確認した。

### (2) 結果及び考察

攻撃試験期間中の生残率の推移を図 3 に示した。死亡は低菌濃度では開始 2 日目から、高菌濃度では開始 1 日目からみられ始めた。低菌濃度では試験期間中緩やかに生残率が低下したが、高菌濃度では 3 日目までに急激な生残率の低下が認められ、その後は緩やかな低下へと変わった。試験終了時における生残率と生残魚でみられた症状と菌分離結果を表 3 に示した。低菌濃度においては 041221 株の FKC 区において 93.3% の高い生残率がみられ、対照区との間に有意差 (F 検定、 $p < 0.05$ ) が認められた。しかし、同株の FKC+培養液では FKC 区と比較して生残率の向上はみられず、73.3% の値を示した。一方、M-1 株では FKC 区で対照区よりも生残率がやや低かったが、FKC+培養液では 80.0% と向上した。高菌濃度でも低菌濃度と同様の傾向が認められたが、FKC+培養液でも生残率は極めて低かった。

生残魚における発症状況をみると、低菌濃度において本疾病の特徴でもある脾臓の結節形成が認められた個体がやや多く、頭部膿瘍症状を呈した個体も認められた。しかし、高菌濃度・低菌濃度ともに生残魚からエドワジェラ症原因菌が分離された個体は少なかった。対照区とワクチン区の死亡率からワクチン有効率 (RPS) を算出し、その結果を図 4 に示した。なお、M-1 株の FKC 区についてはいずれの菌濃度でも生残率が対照区以下であったが、RPS は便宜上 0 として表示している。M-1 株については FKC+培養液区の方がいずれの菌濃度でも FKC に比べて有

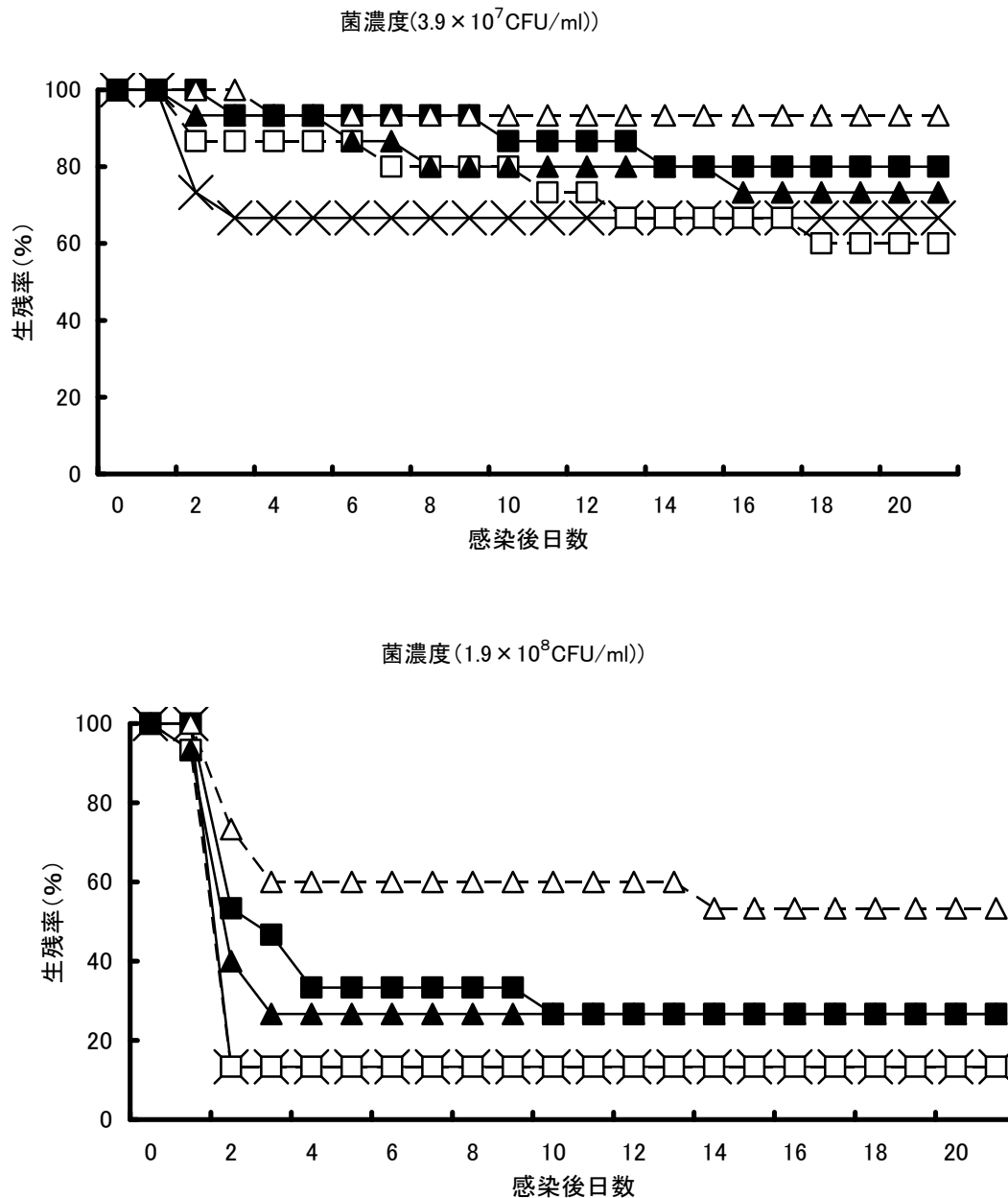


図3 試験期間中の生存率の推移

× : 対照区、□ : M-1 (FKC)、■ : M-1 (FKC+培養液)、  
 △ : 041221 (FKC)、▲ : 041221 (FKC+培養液)

効率が高くなったが、ワクチン効果は著しく低かった。

一方の041221株については、 $3.9 \times 10^7$ CFU/mlの感染においてFKC区で80%近い高い値がみられたものの、FKC+培養液区においてはそれが大きく低下した。

以上より、M-1株についてはFKC+培養液を投与することによってわずかながら有効率の向上はみられたものの、本試験で行ったワクチンの調製法では生存率を根拠とした有効性を改善することはできなかった。菌体外成分を除去しないという調製過程を考慮してもFKC+培養液区においてFKCよりも有効率が劣った原因は不明であるが、表3に示した生存魚の剖検結果をみると、両菌株ともにFKC+培養液区における発症はFKC区と同等もしくはやや軽減されてい

る傾向もみられることから、改良を加えることによって有効性の向上が図れる可能性はあると考えられる。

表3 試験終了時における生残率及び生残魚でみられた症状と菌分離状況

試験区	尾数		生残率 (%) <sup>※</sup>	生残魚の剖検結果			
	開始時	終了時		頭部膿瘍	腎臓結節	脾臓結節	菌分離
$3.9 \times 10^7$ CFU/ml							
対照区	15	10	66.7	0/10	0/10	3/10	0/10
M-1 (FKC)	15	9	60.0	1/9	0/9	4/9	3/9
M-1 (FKC+培養液)	15	12	80.0	1/12	0/12	3/12	1/12
041221(FKC)	15	14	93.3 <sup>☆</sup>	2/14	0/14	1/14	0/14
041221(FKC+培養液)	15	11	73.3	1/11	0/11	4/11	0/11
$1.9 \times 10^8$ CFU/ml							
対照区	15	2	13.3	0/10	0/10	0/10	0/10
M-1 (FKC)	15	2	13.3	0/2	0/2	0/2	0/2
M-1 (FKC+培養液)	15	4	26.6	0/4	0/4	0/4	1/4
041221(FKC)	15	8	53.3	0/8	0/8	3/8	0/8
041221(FKC+培養液)	15	4	26.6	0/4	0/4	1/4	0/4

※  $p < 0.05$

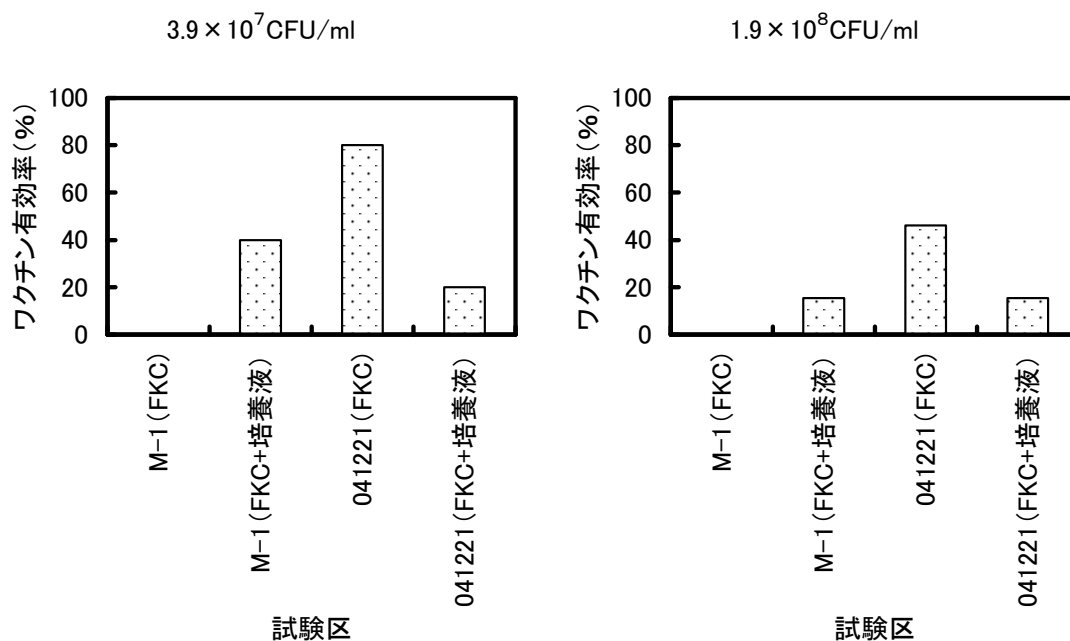


図4 ワクチン有効率 (RPS)

#### 試験4 ホルマリン死菌ワクチンの投与方法の検討

魚類におけるワクチンの投与方法は腹腔内注射法と経口法、浸漬法が一般的である。本試験

では、これらのうち腹腔内注射法と経口法を組み合わせ、追加免疫効果と両免疫法の相乗効果によって有効性の向上がみられるか否かを調べることを目的とした。

(1) 材料及び方法

本試験では陸上水槽で予備飼育した病歴のない平均体重 21.0 g のマダイを用い、ワクチンには試験 3 と同じ M-1 株及び 041221 株を用いた。いずれのワクチンについてもそれぞれに腹腔内注射免疫区（以下、注射区）と腹腔内注射免疫＋経口免疫区（以下、注射＋経口区）を設け、PBS を 1 回腹腔内接種する対照区を加えた計 5 試験区で試験を実施した。飼育水槽には 500L ダイライト水槽を用い、供試尾数は各試験区 45 尾とした。本試験で設定した免疫プログラムは図 5 に示したとおりである。腹腔内注射による免疫期間は 21 日間とし、注射＋経口区では注射免疫後、引き続いて隔日で 10 日間ワクチンを投与した。経口ワクチンは湿重量で 50mg/100 g 体重/日となるように濃度調節した後に市販のドライペレットに吸着させ、滅菌シャーレ中で攪拌・乾燥させてから供試魚に投与した。なお給餌は 1 日 1 回午前 8:00 前後に実施し、飽食量を投与した。ワクチンを投与しない日は市販のドライペレットをそのまま与え、設定したワクチン量を投与した後は市販のドライペレットを飽食量まで投与した。試験中の水温は 25℃で維持した、砂濾過と紫外線濾過を施した海水を用いてエアレーションを行いながら供試魚を飼育した。

免疫期間終了後、マダイ由来の強毒株 MR-04 株及び KR-04 株を用いて 21 日間の攻撃試験を実施した。攻撃方法は腹腔内注射法と浸漬法を用い、腹腔内注射法には MR-04 及び KR-04 株、浸漬法には KR-04 株を用いた。なお、攻撃試験における供試尾数は各 14 尾ずつとし、免疫魚をランダムに 3 分割して用いた。また、浸漬法は 30L パンライト水槽（水量 25L）を用いて強めのエアレーション下で 60 分間実施し、浸漬後は速やかに飼育水槽に魚を移動させた。なお、飼育には 200L ポリエチレン水槽を用いた。SS 寒天培地を用いた平板希釈法により、攻撃試験で用いた菌数を測定した結果、MR-04 株注射法で  $8.0 \times 10^7$ 、KR-04 株注射法で  $4.0 \times 10^7$ 、KR-04 株浸漬感染法で  $5.5 \times 10^8$  CFU/ml となった。攻撃試験期間中にみられた死魚は適宜取り上げ、試験終了時における対照区とワクチン区の生残率からワクチン有効率（RPS）を算出した。また、攻撃試験終了における生残魚については試験 3 と同様に発症状況等を確認した。

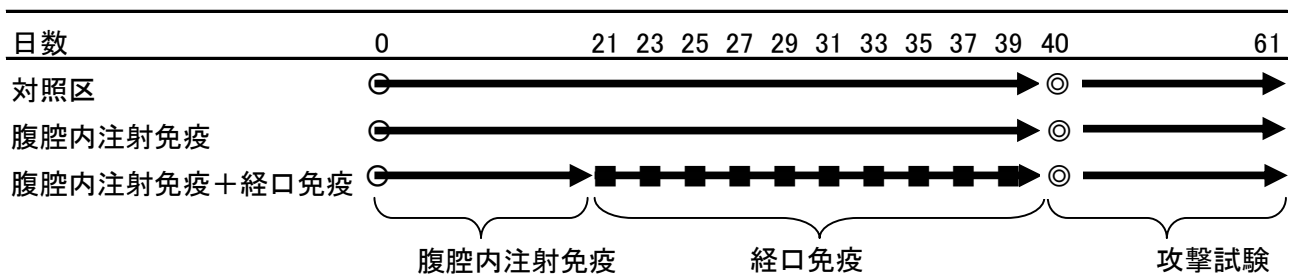


図 5 免疫プログラム

(2) 結果及び考察

試験期間中の生残率の推移を図 6 に示した。いずれの攻撃方法についても、死亡は試験開始 2 日目からみられ始めた。腹腔内注射感染についてみると、KR-04・MR-04 いずれの株についても開始 5～6 日目までに対照区・ワクチン区ともに生残率が低下し、その後は落ち着く傾向が



みられた。一方、KR-04 株を用いた浸漬感染では、開始 2 日目に急激に生残率が低下したが、それ以降も対照区・ワクチン区ともに死亡がみられ、緩やかな生残率の低下が認められた。

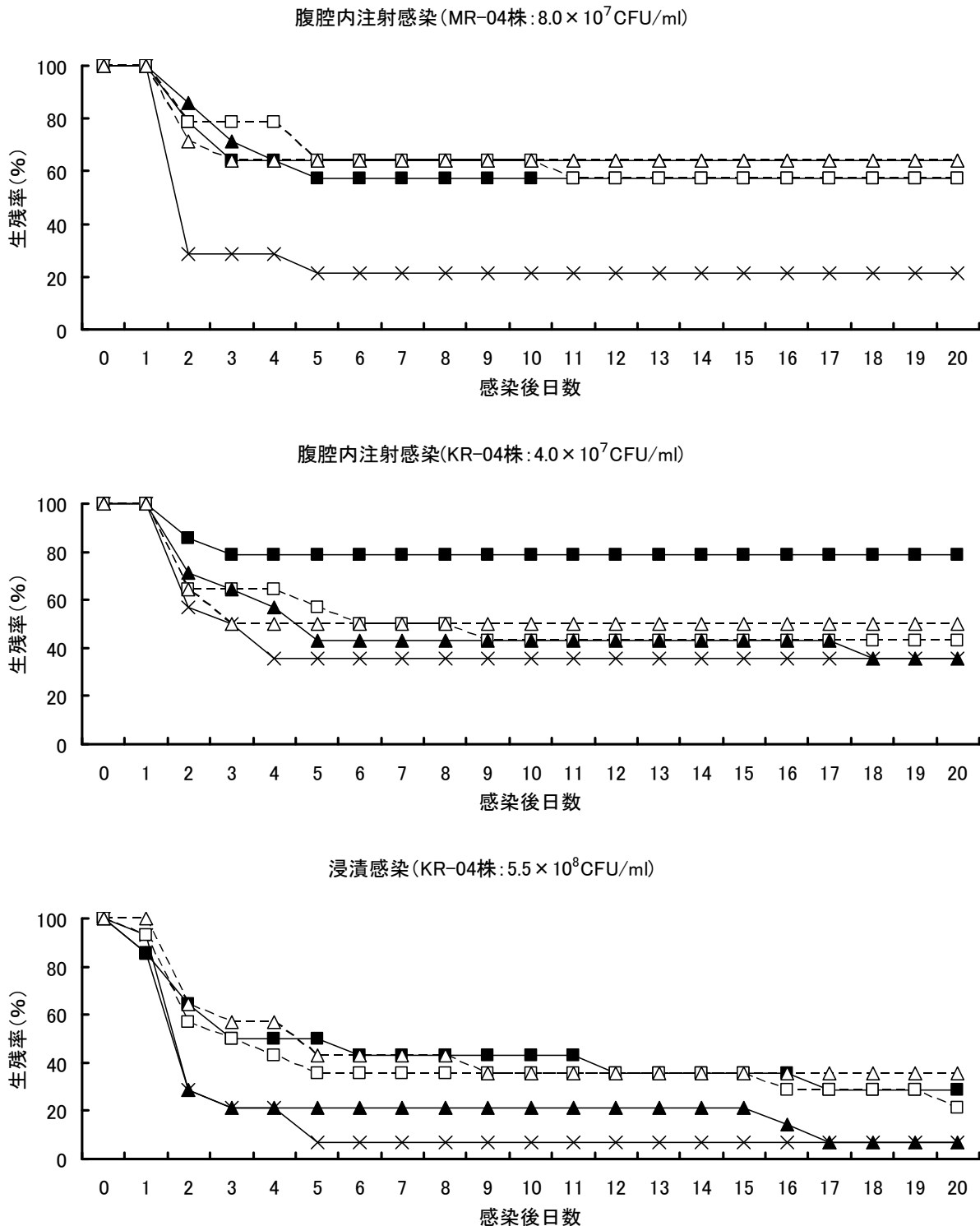


図6 攻撃試験期間中の生残率の推移  
 × : 対照区、■ : M-1 (注射+経口)、□ : M-1 (注射)、  
 ▲ : 041221 (注射+経口)、△ : 041221 (注射)

マダイのエドワジェラ症に有効なワクチン開発

試験終了時における生残率、攻撃試験で生残した魚の剖検結果を表4に示した。まず KR-04株を用いた腹腔内注射感染についてみると、注射+経口区・注射ともに M-1株及び 041221株における生残率は 57.1及び 64.3%と同一の値を示すとともに対照区の 21.4%を上回っていた。次に MR-04株を用いた腹腔内注射感染をみると、M-1株の注射+経口区において 78.6%の生残率を示し、対照区との間に有意差が認められた (F検定、 $p < 0.05$ ) が、041221株については注射+経口による生残率の向上は認められなかった。KR-04株を用いた浸漬感染においても MR-04株を用いた腹腔内注射感染と同様の傾向が認められ、M-1株においてのみ注射+経口による生残率が向上した。生残魚における発症状況をみると、生残率が比較的高かった腹腔内注射感染区において典型症状を呈した個体がやや多くみられ、生残率の高かった試験区ほどその割合が高い傾向がうかがわれた。図7に対照区とワクチン区の死亡率から算出したワクチン有効率(RPS)を示した。MR-04株を用いた腹腔内注射感染では 45.5及び 54.6%と株間で近似しており、同一の株間では注射区、注射+経口区ともに同じ値を示した。KR-04株を用いた腹腔内注射では M-1株の注射+経口区で 66.7%の高い値がみられたものの、その他の試験区における有効率は極めて低く、いずれでも MR-04株での腹腔内注射感染との差が大きかった。KR-04株を用いた浸漬感染においてはいずれのワクチン区でも有効性は低く、いずれも 30%を下回っていた。

表4 試験終了時における生残率及び生残魚でみられた症状と菌分離状況

試験区	尾数		生残率 (%) <sup>※1</sup>	生残魚の剖検結果			
	開始時	終了時		頭部膿瘍	腎臓結節	脾臓結節	菌分離 <sup>※2</sup>
KR-04、腹腔内注射 ( $4.0 \times 10^7$ CFU/ml)							
対照区	14	3	21.4	0/3	2/3	2/3	1/3
M-1(注射+経口)	14	8	57.1	2/8	2/8	5/8	2/8
M-1(注射)	14	8	57.1	1/8	1/8	3/8	1/8
041221(注射+経口)	14	9	64.3	4/9	3/9	3/9	2/9
041221(注射)	14	9	64.3	2/9	4/9	4/9	1/9
MR-04、腹腔内注射 ( $8.0 \times 10^7$ CFU/ml)							
対照区	14	5	35.7	1/5	3/5	3/5	0/5
M-1(注射+経口)	14	11	78.6 <sup>*</sup>	5/11	3/11	9/11	3/11
M-1(注射)	14	6	42.9	1/6	0/6	2/6	0/6
041221(注射+経口)	14	5	35.7	3/5	2/5	2/5	1/5
041221(注射)	14	7	50.0	2/7	0/7	1/7	0/7
KR-04、浸漬感染 ( $5.5 \times 10^8$ CFU/ml)							
対照区	14	1	7.1	0/1	0/1	0/1	0/1
M-1(注射+経口)	14	4	28.6	1/4	2/4	2/4	1/4
M-1(注射)	14	3	21.4	0/3	0/3	0/3	0/3
041221(注射+経口)	14	1	7.1	0/1	0/1	1/1	1/1
041221(注射)	14	5	35.7	4/5	4/5	2/5	2/5

※1  $p < 0.05$

※2 SS寒天培地を用いて腎臓より菌分離

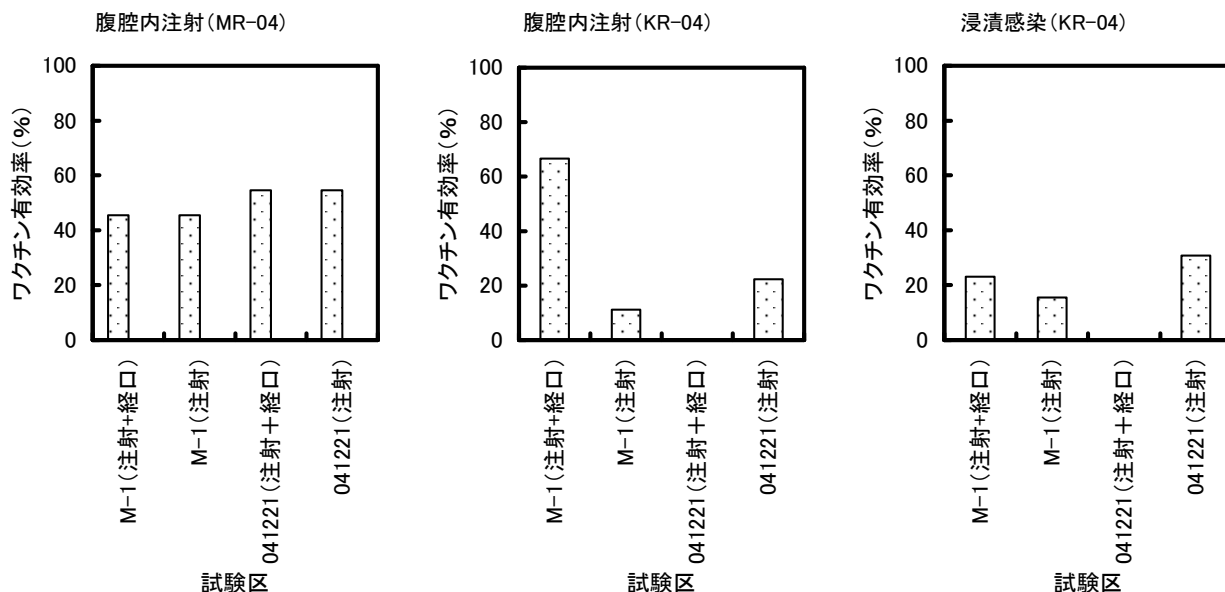


図7 ワクチン有効率 (RPS)

以上の結果から、腹腔内注射感染では用いた菌株ごとに生残率とワクチンの有効性に大きな差がみられた。試験1において両マダイ由来株の病原性を比較し、それぞれにマダイに対する感染の進行に特徴がみられることを示唆したが、本試験における株間での差もこれに起因するものかもしれない。また、今回は腹腔内注射法と経口法を組み合わせた免疫で有効性を比較したが、浸漬感染が現場での状況をより反映しているという観点に立てば、今後は浸漬免疫も視野に入れた検討も必要と考えられる。また、今回行った浸漬感染において生残率が低かったのは設定した菌数が高かったことも考えられ、これについても今後の検討課題である。

## 5. 引用文献

- ・高知県水産試験場(2006)平成16年度高知県水産試験場事業報告. 137-143.
- ・高知県水産試験場(2007)平成17年度高知県水産試験場事業報告. 118-122.
- ・馬久地隆行・清川智之・本多数充・中井敏博・室賀清邦(1995)ヒラメのエドワジェラ症に対する予防免疫の試み. 魚病研究. 30. 251-256.
- ・緑書房(2006)新魚病図鑑. 177