

バクテリオファージを用いた魚類細菌感染症の防除技術の開発

羽生和弘・田中真二・西川久代・津本欣吾

目的

本研究は、農林水産研究高度化事業の中で、広島大学、宮崎大学、愛媛県、徳島県および日本全薬工業株式会社とともに共同で実施し、細菌の天敵ウイルスであるバクテリオファージ(=ファージ)を利用して、魚類細菌感染症に対する新しい治療および予防技術(ファージ療法)を開発することを目的とする。研究課題は、1. 主要魚類病原細菌ファージ株の選定、2. ファージの有効投与技術の開発、3. ファージの大量培養および保存技術の開発、の3つであり、本県は、マダイのエドワジエラ症を対象に、共同研究機関が試験管内で溶菌活性を確認したファージを用いて、人為感染試験及び野外試験を行い、有効性を評価するとともに用法と用量を決定する。

方法

Edwardsiella tarda について、養殖漁場と病魚からファージ株を採取した。また、*E. tarda* を人為感染させたマダイに、*E. tarda* を溶菌するファージを投与し、ファージの投与技術を検討した。人為感染試験は、平均体重 25-26g のマダイを使用し、水温 26-28℃ で 3 回試験を行ない、投与ファージには、マダイの *E. tarda* に対して強い溶菌活性を示す MHF-6、MSW-3、MSF-6 の 3 株を混合したものをを用いた。試験 1 では、試験区はファージ区と対照区の 2 試験区とし、49 尾と 50 尾のマダイを各試験区に収容した。これらのマダイを *E. tarda* MEE0309 で浸漬攻撃し (5.2×10^7 CFU/ml)、40 分後および 5 時間後にファージを吸着させた配合飼料を与え(自然摂餌 4.0×10^9 PFU/尾)、10 日間、累積死亡率を観察した。試験 2 では、試験区はファージ区と対照区の 2 試験区とし、26 尾と 29 尾のマダイを各試験区に収容した。これらのマダ

イを *E. tarda* MEE0301 で経肛門攻撃し (1.1×10^9 CFU/尾)、1、5 および 24 時間後にファージを吸着させた配合飼料を与え(自然摂餌 1.4×10^9 PFU/尾)、16 日間、累積死亡率を観察した。試験 3 では、試験区はファージ区と対照区の 2 試験区とし、22 尾と 25 尾のマダイを各試験区に収容した。これらのマダイを *E. tarda* MEE0301 で経肛門攻撃し (1.5×10^8 CFU/尾)、0.5 および 5 時間後、さらにその翌日から 4 日間連続で 1 日 1 回、ファージを吸着させた配合飼料を与え(自然摂餌 2.1×10^9 PFU/尾)、20 日間、累積死亡率を観察した。

結果と考察

1. ファージ株の採取・保存

E. tarda に溶菌活性を示すファージを 90 株採取し保存した。

2. 人為感染試験

試験 1 では、いずれの試験区でも、1 日後から死亡がみられた。10 日間の観察期間中における累積死亡率は、ファージ区が 68%、対照区が 72% と両者で差がなかった。試験 2 では、いずれの試験区でも、1 日後から死亡がみられた。16 日間の観察期間中における累積死亡率は、ファージ区が 46%、対照区が 31% となった。試験 3 では、いずれの試験区でも、4 日後から死亡がみられた。20 日間の観察期間中における累積死亡率は、ファージ区 (23%) が対照区 (44%) より有意に低かった。このように、マダイのエドワジエラ症に対するファージ経口投与の有効性は試験 3 で確認されたが、その再現性を確認し、投与方法および投与回数について、さらに検討する必要がある。