

excess and deficiency of vitamin A concentration, respectively. We also conducted the experimental larviculture using L-rotifer enriched by *Nannochloropsis* and *Artemia* enriched by experimental enrichment agents with gradient of vitamin A concentration, such as 150IU/g, 750IU/g, 1500IU/g, and 7500IU/g, respectively. There were no significant differences of the performance of larviculture in the course of rotifer feeding period. In the course of *Artemia* feeding period, highest growth rate and lowest malpigmentation achieved in the case of feeding *Artemia* with 325IU/g vitamin A concentration reflected 750IU/g vitamin A concentration of enrichment agent. Skeletal abnormality occurrence rate was lowest in the same case, also. Excess and deficiency of vitamin A of live feed affected the health of hatchery-raised juveniles of *P. olivaceus*, *I. japonicus* and *P. major*. In the case of *P. olivaceus*, vitamin A concentration of rotifer should be most important key issue for occurrence of skeletal deformity. Rotifer with Vitamin A concentration of 212IU/g reflected 750IU/g of enrichment agent was recommended for improvement of the health of hatchery-raised juveniles. Vitamin A concentration of *Artemia* (50-2831IU/g) did not cause skeletal deformity of hatchery-raised *P. olivaceus* juveniles raised by rotifer with Vitamin A of 212IU/g. Safety level of Vitamin A concentration of *Artemia* for *P. olivaceus* should be higher than reported level of 50 IU/g *Artemia* on a dry matter basis.

2005年 日本魚病学会大会

### トラフグ口白症に対する注射ワクチンの有効性

○ 福岡利広・河原栄二郎・楠田理一（福山大生命工）

【目的】 これまでに、本症病魚磨碎濾液を不活化してトラフグに接種すると、本症に対して感染防御効果が得られることを明らかにした。そこで、クサフグ脳由来の初代培養細胞に病魚磨碎濾液を接種して培養後、上清を不活化し、その感染防御効果について調べた。

【方法】 供試魚には体重約21 gのクサフグを用い、25℃で飼育した。初代培養細胞は供試魚の脳を0.2 %トリプシン処理後、FBS 5 %を含むL-15培地とMEM培地の混合培地を用い、 $1 \times 10^6$  cells/ml に調整した。調整後、25℃で72 h培養し、病魚磨碎濾液を接種した。接種後、25℃で1 w培養後の上清をメンブレンフィルターで濾過してウイルス液とした。ウイルス液の病原性は、供試魚にウイルス液0.1 mlを筋肉内接種し、斃死の有無を観察して調べた。ワクチンはウイルス液にホルマリン0.2 %を添加し、4℃で30 h静置して作製した。ワクチ

ンの有効性は、供試魚にワクチン0.1 mlを腹腔内接種して免疫し、3 w後にウイルス液0.1 mlを筋肉内接種し、斃死の有無を観察して検討した。また、免疫後に頭腎の抗体産生細胞数を測定した。さらに、中和抗体価は段階希釈した血清とウイルス液を等量混合し、25℃で2 hおよび4℃で一晩静置後、培養細胞に接種して測定した。

【結果】ウイルス液を接種した供試魚はすべて斃死し、またホルマリン処理したウイルス液を接種した供試魚はすべて生存した。したがって、クサフグ脳由来の初代培養細胞でウイルスの増殖が可能で、ウイルスはホルマリンで不活化されると考えられる。ウイルス液接種で攻撃後の生存率はワクチン接種区のほうが対照区と比べて高い値となった。また、ワクチン接種区では頭腎の抗体産生細胞数は増加し、血中抗体価は上昇した。以上のことから、クサフグ脳由来の初代培養細胞で培養したウイルスを不活化して腹腔内接種すると、本症に対して感染防御効果が認められ、これをワクチンとして応用できると推察される。

2005年度 日本水産学会中国・四国支部大会

## ブリおよびヒラメに対するアジュバント添加ノカルジアワクチンの 有効性

。河原栄二郎・楠田理一（福山大生命工）・川上秀昌（愛媛魚病セ）

【目的】ノカルジア症は*Nocardia seriolae*を原因とする細菌性疾病で、近年ブリ、カンパチ、ヒラメなどで発生し、養殖業に大きな被害を与えている。しかし、有効な対策法は確立されていない。そこで、本研究ではアジュバント添加ワクチンの有効性について検討した。

【方法】供試魚には体重約72 gのブリおよび約120 gのヒラメを用いて、それぞれ水温21-24℃および20-22℃で飼育した。ワクチンは*N. seriolae* 16株をBHI液体培地で培養後、ホルマリンで不活化し、アジュバントにMontanide 763A (Seppic) を添加して作製した。免疫はワクチンを供試魚の腹腔内に接種して行った。実験的感染は、ブリでは免疫後15日に生菌懸濁液に浸漬して、ヒラメでは4週後に生菌を腹腔内に接種して行い、へい死の有無を観察した。また、供試魚の血中抗体価および頭腎の抗体産生細胞数を測定するとともに、頭腎白血球の生菌と不活化菌に対する殺菌能をフローサイトメーターで測定した。

【結果】実験的感染後の試験区および対照区の生残率はブリではそれぞれ 60