

2) アユの冷水病に対するアジュバント添加注射ワクチンの予防効果

二宮浩司・山本充孝

【背景】アユの冷水病は、投薬や加温処理で治療効果のあることが既に確認されているが、治療後しばらくして再発することが多く、ワクチンの開発が望まれている。本疾病に対して、現実的な投与方法である浸漬法では、今のところ十分なワクチンの予防効果を得たという報告はない。

【目的】安定的に高い有効率が得られるワクチンの投与技術を確認するため、最も効果的と考えられるアジュバントを添加した注射法によるワクチンの有効性実証試験を実施した。今回は、フランスの SEPPIC 社が開発したオイルベースのアジュバント2種類 (ISA711、ISA763A) について検討を行った。

【成果概要】

1. ワクチン原液の作成：冷水病菌 (SG990302株) を改変サイトファーガ寒天培地に塗抹し、15℃で2日間培養した。培養した菌を改変サイトファーガ液体培地に懸濁させた後、ホルマリンを0.3%添加し、菌を死滅させた。その後、スターラで5℃、24時間攪拌し、ホルマリン不活化ワクチンとした。不活化前生菌数は 2.8×10^{10} CFU/mlであった。
2. 有効性実証試験：平均体重10.9gの湖産アユを試験に供した。ワクチンの投与については、アジュバント無添加群、ISA711アジュバント添加群、ISA763Aアジュバント添加群の3群を設定した。アジュバント無添加群では、ワクチン原液3mlと生理食塩水7mlを十分混合したものを使用ワクチン液とした。アジュバント添加群では、ワクチン原液3mlとアジュバント (ISA711またはISA763A) 7mlを十分混合したものを使用ワクチン液とした。各ワクチン投与群ともに、使用ワクチン液を供試魚に対して1魚体当たり0.05ml腹腔内に注射した。対照群は無処理とした。各群の供試尾数は155尾であった。ワクチン投与後、攻撃試験までの飼育水温は19.1~19.8℃であった。ワクチン投与後22日目および37日目に冷水病菌 (SG990302株) の皮下注射攻撃 (22日目： 1.2×10^7 CFU/尾、37日目： 1.6×10^7 CFU/尾) を行い、次の計算式から有効率を算出し、ワクチンの予防効果を評価した。

$$\text{有効率 (\%)} = [1 - (\text{ワクチン投与群死亡率} / \text{対照群死亡率})] \times 100$$

攻撃試験の供試尾数は、22日目の場合は各群26尾、37日目の場合は各群28尾とした。

攻撃後の飼育水温は、22日目の場合は15.5~16.2℃、37日目の場合は15.3~15.8℃であった。

3. 結果および考察 (図1、2)

- (1) ワクチン投与後22日目に攻撃試験を行った結果：アジュバント添加の2群のみ死亡率は、対照群のそれと比較して統計的に有意に減少した。各ワクチン投与群の有効率は、アジュバント無添加群で5.5%、ISA711添加群で36.4%、ISA763A添加群で40.9%となった。アジュバント添加の2群でも、有効率はともに40%前後しかなく、十分な予防効果は確認できなかった。
- (2) ワクチン投与後37日目に攻撃試験を行った結果：各ワクチン投与群ともに死亡率は、対照群のそれと比較して減少したものの、統計的に有意差は認められなかった。各ワクチン投与群の有効率は、アジュバント無添加群で23.9%、ISA711添加群で28.9%、ISA763A添加群で23.9%となった。アジュバント添加の2群ともにワクチン投与後22日目に攻撃試験を行った結果と比較すると、有効率は低下する傾向にあった。

【成果の活用】より効果的なアジュバントを使用してワクチンの有効性実証試験を実施する必要がある。

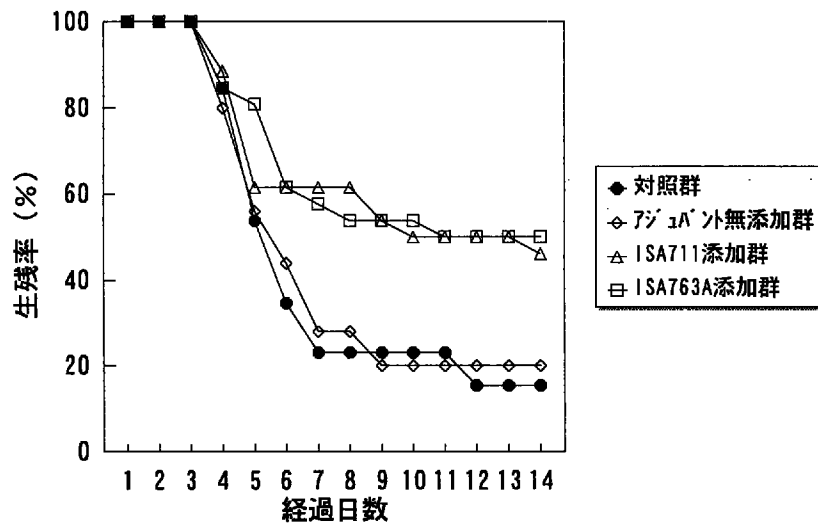


図1 冷水病に対するアジュバント添加注射ワクチンで免疫したアユの生菌攻撃後の生残率の推移。(ワクチン投与22日目に攻撃)

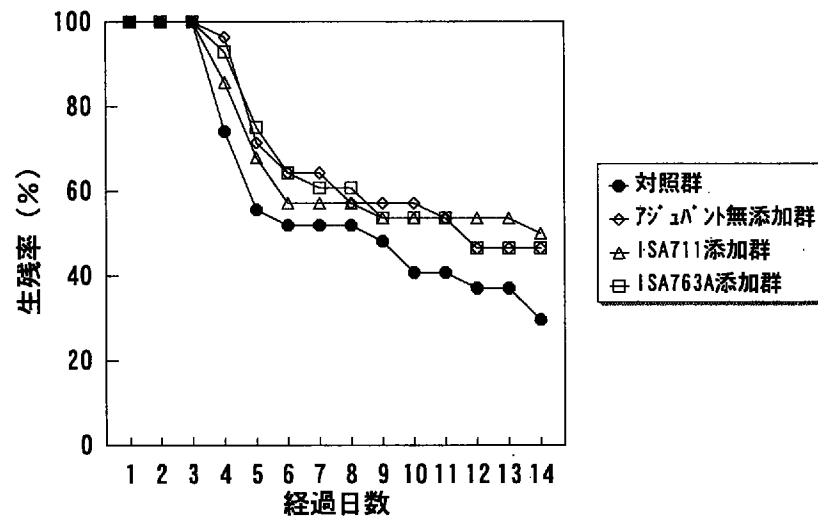


図2 冷水病に対するアジュバント添加注射ワクチンで免疫したアユの生菌攻撃後の生残率の推移。(ワクチン投与37日目に攻撃)