

35) アユのシュードモナス病・冷水病2種混合アジュバント添加 注射ワクチンの有効性試験

二宮浩司・金辻宏明・山本充孝・菅原和宏

【目的】1度の処理でアユのシュードモナス病と冷水病に有効なワクチンを開発するため、シュードモナス病不活化ワクチンと冷水病不活化ワクチンを異なる比率で混合した数種のワクチンを用いて、両疾病に対する有効性を比較した。

【方法】

1. 供試魚および供試ワクチン：シュードモナス病や冷水病の発病歴のない平均体重2.2gの琵琶湖産アユを試験に供した。共立製薬株式会社が作製したシュードモナス病不活化ワクチン(不活化前生菌数 1.5×10^{10} CFU/mL、FPC941株)と冷水病不活化ワクチン(不活化前生菌数 6.0×10^8 CFU/mL、SG990302株)を表1に示すように水産試験場で混合し、さらに、前述の混合液とオイルアジュバント(MONTANIDE-ISA763A：Seppic社)を3:7の重量比で乳化させたものを、それぞれ1:9ワクチン、1:19ワクチンおよび濃縮1:9ワクチンとした。
2. ワクチンの投与方法：前述の3種類のワクチンをそれぞれ50 μ L/尾の割合で供試魚の腹鰭基部前方の腹腔内に接種し、それぞれ1:9ワクチン区、1:19ワクチン区および濃縮1:9ワクチン区とした。対照区には無処理魚を用いた。
3. 攻撃試験：ワクチン投与21日後に両疾病に対する攻撃試験を、43日後に冷水病のみの攻撃試験を行った。シュードモナス病攻撃試験はシュードモナス病菌(FPC941株)を各試験区の供試魚の腹腔内に注射した(5.6×10^2 および 2.8×10^3 CFU/尾)。冷水病攻撃試験は事前に用意した冷水病発病群の飼育排水を各試験区に5~6日間導入することにより行った。攻撃試験における各試験区の供試魚数は22~30尾とした。シュードモナス病攻撃試験ではシュードモナス病以外の死亡数を、冷水病攻撃試験では冷水病以外による死亡数を除き、Fisherの直接確率計算法により統計処理を行うとともに、有効率(有効率(%)) = $[1 - (\text{ワクチン投与区死亡率} / \text{対照区死亡率})] \times 100$ を算出した。

【結果】3種の混合ワクチン投与区は何れも、図1に示すようにシュードモナス病攻撃試験において対照区と比べて統計学的に有意に生残率が向上するとともに($P < 0.01$)、有効率が70%以上あったため、今回使用した3種の混合ワクチンは、アユにシュードモナス病に対する高い感染防御能を付与するものと考えられる。一方、3種の混合ワクチン投与区は図2に示すように何れも、ワクチン投与21日後の冷水病攻撃試験において、対照区と比べて生残率はほとんど向上しなかった。しかし、ワクチン投与43日後の攻撃では何れも対照区と比べて統計学的に有意に生残率し($P < 0.01$)、有効率は40~50%程度であった。そのため、今回使用した3種の混合ワクチンは、冷水病に対し有効性はあるものの、シュードモナス病に対するほどの効果はなかった。また、冷水病に対する免疫発現の時期は、シュードモナス病よりも遅れる傾向にあるものと考えられる。以上、今回使用した3種の混合ワクチンは何れも、両疾病に対し有効性が認められたが、冷水病に対する効果はシュードモナス病と比較して低い傾向にあった。今後実用化を進めるにあたっては冷水病に対する有効性を高めるとともに、アジュバントの残留性の改善および接種法の簡便化等を検討する必要がある。

表1. 試験に用いた混合ワクチンのシュードモナス病不活化ワクチンと冷水病不活化ワクチンの混合比率およびアユ1尾当たりに接種されたシュードモナス病菌と冷水病菌の不活化前生菌数

| ワクチン | シュードモナス病不活化ワクチン : 冷水病不活化ワクチン | シュードモナス病菌の接種量 不活化前生菌数 (CFU/尾) | 冷水病菌の接種量 不活化前生菌数 (CFU/尾) |
|-----------|---------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|
| 1:9ワクチン | 1:9* | 2.3×10^7 | 8.1×10^6 |
| 1:19ワクチン | 1:19* | 1.1×10^7 | 8.6×10^6 |
| 濃縮1:9ワクチン | 1:9** | 2.3×10^7 | 8.1×10^7 |

※ シュードモナス病不活化ワクチン(1.5×10^{10} CFU/mL)と冷水病不活化ワクチン(6.0×10^8 CFU/mL)の混合比率
 ※※ シュードモナス病不活化ワクチン(1.5×10^{10} CFU/mL)と抗原量を10倍濃縮した冷水病不活化ワクチン(6.0×10^9 CFU/mL)の混合比率

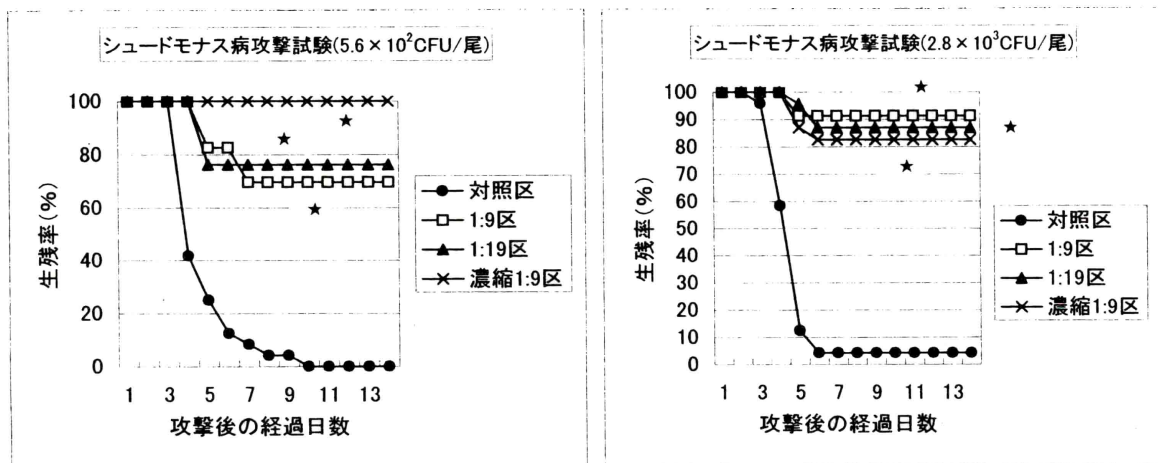


図1. 2価ワクチンで免疫したアユのワクチン投与21日後におけるシュードモナス病菌攻撃後の生残率の推移。
 ★: 対照区とワクチン区で有意差あり (Fisherの直接確率計算法: $P < 0.01$)

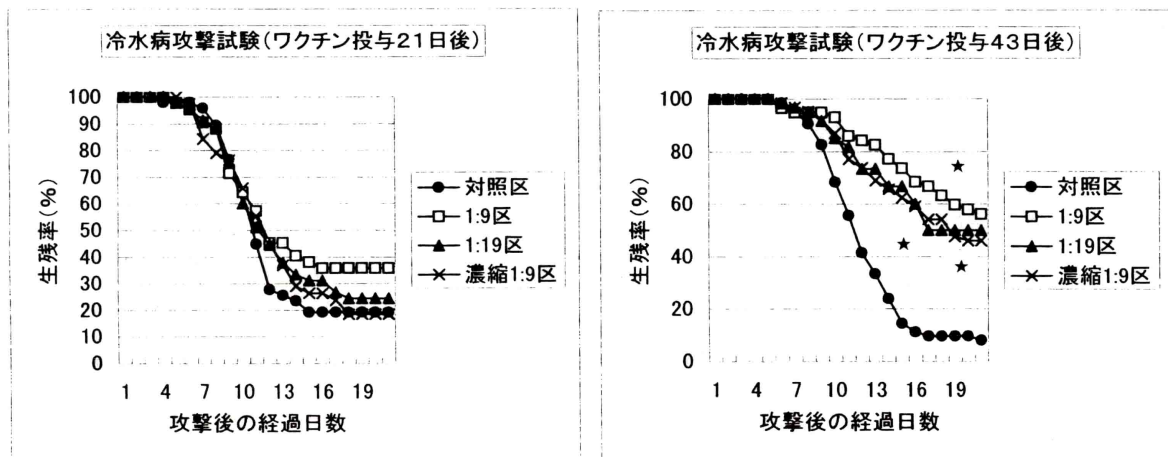


図2. 2価ワクチンで免疫したアユのワクチン投与21日後および43日後における冷水病排水感染攻撃後の生残率の推移。
 ★: 対照区とワクチン区で有意差あり (Fisherの直接確率計算法: $P < 0.01$)