

## 6) アユの冷水病アジュバント添加注射ワクチンの有効性 および残留性試験

二宮浩司・遠藤 誠・金辻宏明・山本充孝

**【目的】** アジュバントを加えた冷水病不活化菌体による注射ワクチンが、冷水病に対し有効であることは既に認められているが、実用化にあたってはアジュバントの残留期間を正確に把握しておく必要がある。そのため、実用化に適用される可能性のある投与量のワクチンをアユに接種し、魚体内におけるアジュバントの残留について観察を行うとともに、冷水病に対する有効性の評価も併せて行った。

### 【方法】

1. 供試魚および供試ワクチン：冷水病の発病歴のない平均体重6.3 gの琵琶湖産アユを試験に供した。ワクチンには共立製薬株式会社の試作品で、冷水病不活化菌体（不活化前生菌数 $6.0 \times 10^8$  CFU/mL、SG990302株）とオイルアジュバント（MONTANIDE-ISA763A：Sep pic社）を3:7の重量比で乳化させたものを使用した。
2. ワクチンの投与方法：供試魚を0.015%のFA100で麻酔し、ワクチンを10  $\mu$ L/尾または20  $\mu$ L/尾の割合で腹鰭基部前方の腹腔内に接種し、それぞれ10  $\mu$ L区または20  $\mu$ L区とした。対照区には無処理魚を用いた。各試験区の供試魚数は150尾とした。ワクチン投与後は攻撃試験を行うまで各試験区の供試魚を地下水により流水飼育した（水温18.6～19.0℃）。
3. 攻撃試験：ワクチン投与56日後に攻撃試験を行った。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7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26尾とした。攻撃試験中は地下水を用いて流水飼育を行った（水温18.1～18.5℃）。攻撃試験は22日間経過観察し死亡魚を計数するとともに、死亡魚の症状の観察や細菌検査を行い、冷水病による死亡か否かを判定した。
4. ワクチンの有効性の評価：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。
5. ワクチンの残留性：両ワクチン投与区についてワクチン投与25日後、55日後および90日後に供試魚をそれぞれ20尾解剖し、腹腔内におけるアジュバントの残留の有無を肉眼で観察した。

### 【結果】

#### 1. ワクチンの有効性

両ワクチン投与区とも図1に示すように対照区と比べて生残率が向上したが、10  $\mu$ L区のみ統計学的な有意差が認められた（ $P < 0.05$ ）。10  $\mu$ L区および20  $\mu$ L区の有効率は、それぞれ26.1%、8.7%であり、両ワクチンともに冷水病に対して十分な有効性を認めることができなかった。ワクチン投与が7月19日と夏至を過ぎていたこともあり、攻撃試験終了時には全ての供試魚から生殖腺が見られるようになった（生殖腺重量指数の平均値はオスで1.6、メスで3.3であった）。

#### 2. アジュバントの残留性

アジュバントの残留率（腹腔内にアジュバントが残留していた供試アユの割合）は、ワクチン投与25日後において10  $\mu$ L区で0%（0/20）、20  $\mu$ L区で5%（1/20）であった。また、ワクチン投与55および90日後の残留率は両ワクチン投与区とも0%（0/20）であり、今回使用したワクチンは、10  $\mu$ Lの接種量で4週間後には、20  $\mu$ Lの接種量で8週間後にはそれぞれ残留が認められなくなった。

**【成果の活用】** 今回使用したワクチンは魚体内での残留性が比較的弱く、実用的なものであったが、冷水病に対する有効性は不十分であった。ワクチン投与が7月19日と夏至を過ぎていたことから、供試魚の成熟が開始していた可能性があり、今後ワクチン接種時期がワクチン効果に与える影響を検討する必要がある。

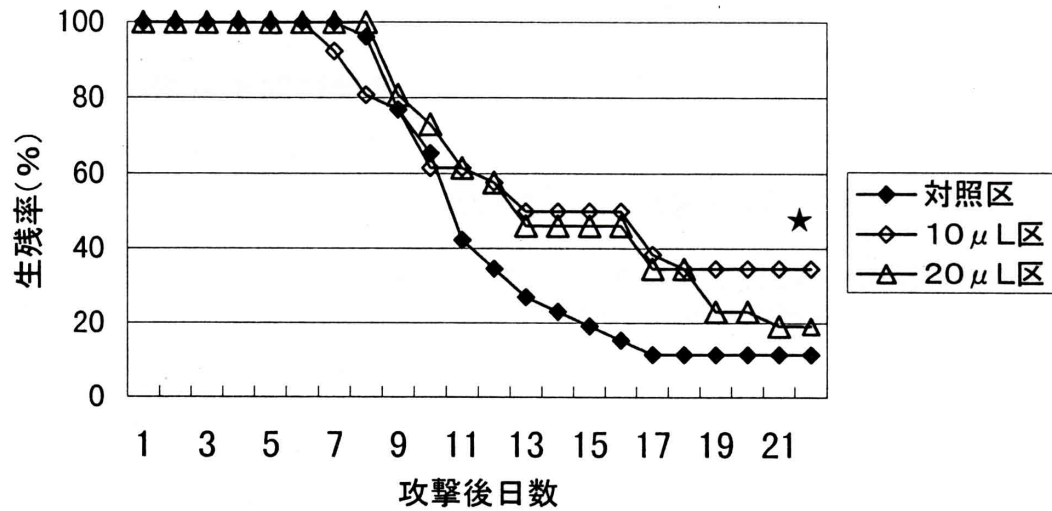


図1. ワクチン接種56日後の冷水病排水感染攻撃における生残率の推移。  
 ★: 対照区とワクチン区で有意差あり(Fisherの直接確率計算法:  $P < 0.05$ )

表1. ワクチン投与25日後および55日後における各ワクチン投与区のアジュバントの残留率

ワクチン接種量 ( $\mu\text{L}$ )	ワクチン投与後の日数	
	25日後	55日後
10	0 (0/20) <sup>※</sup>	0 (0/20)
20	5 (1/20)	0 (0/20)

※カッコ内は、(アジュバント残留個体数/検査個体数)を示す。