

### 3) アユの冷水病に対するワクチンの予防効果

二宮浩司・山本充孝

【背景】アユ冷水病は、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。

【目的】ワクチン開発の基礎資料を得るため、自家製ワクチン（ホルマリン不活化ワクチン）による冷水病に対する免疫賦与の可能性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（PT87024株）を改変サイトファーガ液体培地で15℃、4日間培養した後、ホルマリンを0.3%添加。次に、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 $2.3 \times 10^9$  CFU/ml。
2. ワクチン試験（有効性の評価）：アユを用いて、表1に示すように注射法によるワクチン試験を2回行った。ワクチン原液を滅菌生理食塩水で100倍に希釈したものを使用ワクチン液とし、供試アユ1魚体当たり0.1mlずつ腹腔内注射した。対照区はワクチン液の代わりに滅菌生理食塩水を使用し、ワクチン投与と同様な方法で処理した。ワクチン投与後、所定期間飼育した後、冷水病菌（PT87024株）の筋肉注射攻撃を行い、次の計算式から有効率を算出するとともに、Fisherの直接確率計算法により、ワクチンの予防効果を評価した。

$$\text{有効率 (\%)} = [1 - (\text{免疫区死亡率} / \text{対照区死亡率})] \times 100$$

#### 2. 結果および考察（図1）

- ①試験1：対照区とワクチン区の死亡率はそれぞれ、40.0、28.6%となり、若干、ワクチン区の方が死亡率は低かった。有効率は28.6%となったが、統計的には有意差がなく、ワクチンの予防効果は確認できなかった。
- ②試験2：対照区とワクチン区の死亡率はそれぞれ、76.6、80.0%となり、ほとんど差がなく、ワクチンの予防効果は確認できなかった。

試験1、2ともに、ワクチンの予防効果は認められなかったが、若干、冷水病の死亡開始時を遅らせるといった遅延効果があるように感じられた。また、今回、十分な予防効果が得られなかった原因の一つとして、ワクチン投与直後の水温条件の変化が考えられた。

【成果の活用】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立する必要がある。そこで、次年度はアジュバント添加注射ワクチンの検討を行う予定である。

表1 ワクチン試験の実施要領

項目	試験1	試験2
ワクチン投与時の供試魚の平均体重(g)	6.2	5.1
ワクチン投与後、攻撃試験までの日数およびその間の飼育水温	14日 0~1日目: 18.7℃ 2~14日目: 22.3~25.4℃	16日 0日目: 19.0℃ 1~16日目: 23.2~27.7℃
供試数(尾)	21	30
攻撃菌量(CFU/魚)	$3.6 \times 10^7$	$1.8 \times 10^7$
攻撃後の経過観察期間およびその間の水温	14日、18.9~19.4℃	11日、14.6~15.0℃

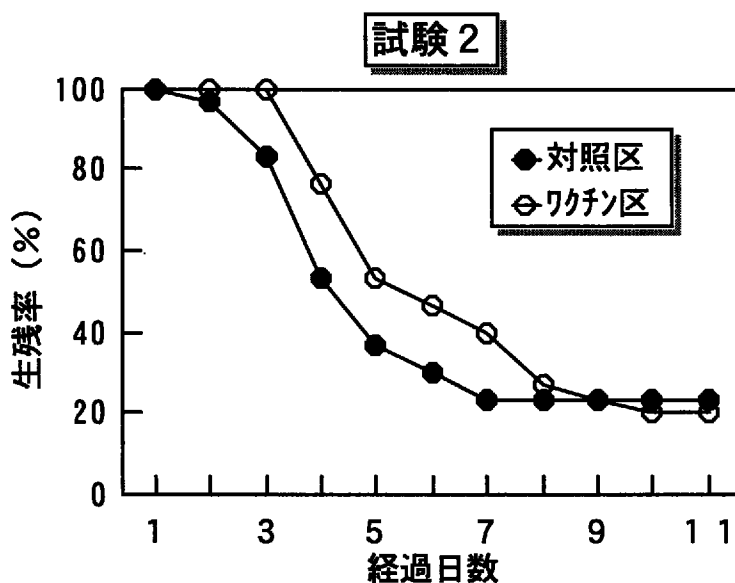
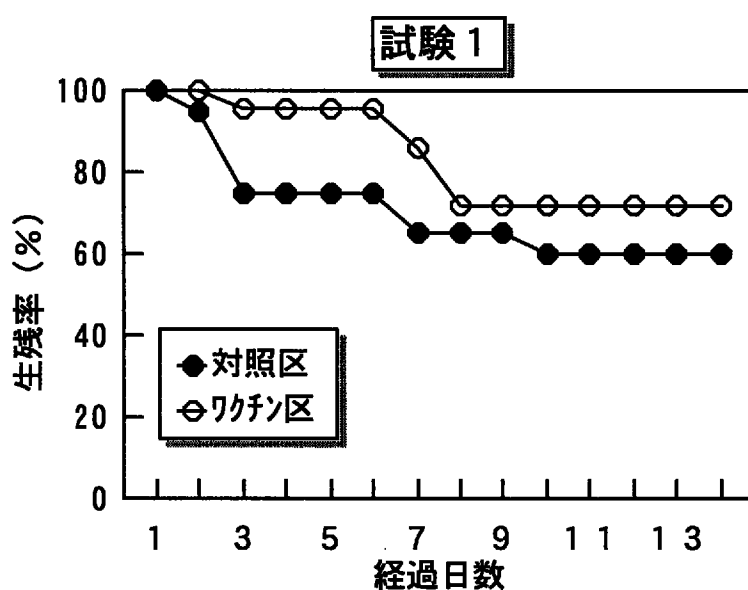


図1 アユの冷水病ワクチン試験における生存率の推移。