

10) 魚病対策技術開発研究—IV (アユの冷水病に対する浸漬ワクチンの予防効果—高張浸漬法の検討—)

二宮浩司・山本充孝

【目的】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。魚類ワクチンの投与方法には注射法、浸漬法、経口投与方法などがあるが、本県アユ漁業の場合一度に大量かつ小型サイズの魚に適用可能な浸漬ワクチンの開発が特に重要である。そこで、安定的に高い有効率が得られる浸漬ワクチンの投与技術を確立するため、高張浸漬法によるワクチンの有効性実証試験を実施した。

【方法】

1. ワクチン原液の作製：冷水病菌（SG990302株）を改変サイトファーガ液体培地で15℃、7日間培養した後、培養液にホルマリンを0.3%添加し、菌を死滅させた。その後、スターラで1時間攪拌（室温）した後、5℃で保存し、ホルマリン不活化ワクチンとした。不活化前生菌数は 4.7×10^8 CFU/mlであった。
2. 有効性実証試験：平均体重2.5gの湖産アユを試験に供した。ワクチンの投与については、地下水群、0.7%食塩水群、高張浸漬1群および高張浸漬2群の4つのワクチン投与群を設定した。地下水群では、ワクチン原液を地下水で10倍希釈し、その中で供試魚を通気しながら1時間浸漬した（水温15.3～15.7℃）。0.7%食塩水群では、希釈後の濃度が0.7%となるように食塩を添加した地下水でワクチン原液を10倍希釈し、その中で1時間浸漬した（水温13.2～15.0℃）。高張浸漬1群では5.32%食塩水に供試魚を2分間浸漬し（水温15.1℃）、次いで、ワクチン原液を地下水で10倍希釈し、その中で2分間浸漬した（水温16.0℃）。高張浸漬2群では希釈後の濃度が5.32%となるように食塩を添加した地下水でワクチン原液を10倍希釈し、その中で2分間浸漬した（水温14.5℃）。対照群は無処理とした。各群の供試尾数は100尾とした。ワクチン投与後、攻撃試験を行うまで地下水による流水飼育を行った（水温16.6～17.0℃）。ワクチン投与後14日目に各ワクチン投与群と対照群に対して攻撃試験を2反復で行った（試験1および2）。攻撃は自然感染によるアユ冷水病発病群の飼育排水を各実験群に導入することにより行った。試験1では冷水病の発病直後の群を、一方、試験2では発病中期の群を用いた。攻撃試験の供試尾数は各群36尾とした。攻撃試験の期間は14日間とし、その間の飼育水温は15.5～16.6℃であった。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統計処理を行い、ワクチンの予防効果を評価した。

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

【結果】試験1における各群の死亡率は、対照群で63.9%、地下水群で55.6%、0.7%食塩水群で58.3%、高張浸漬1群で41.7%、高張浸漬2群で34.3であった。試験2も同様な結果となり、各群の死亡率は、対照群で60.0%、地下水群で55.3%、0.7%食塩水群で55.6%、高張浸漬1群で45.7%、高張浸漬2群で36.1%であった。全てのワクチン投与群の死亡率は対照群のそれと比較して減少したが、統計学的に有意差が認められたのは、試験1においては両高張浸漬群、試験2においては高張浸漬2群のみであった（ $P < 0.05$ ）（図1）。両高張浸漬群ともに地下水群や0.7%食塩水群と比べて浸漬時間が短かったにもかかわらず、死亡率は低下したことから、高張処理を行うことによりワクチン効果が高まるものと考えられる。しかし、有効率は高張浸漬1群で23.8～34.8%、高張浸漬2群で39.8～46.3%となり、有効率はともに60%を下回っており、十分な予防効果は確認できなかった。

【成果の活用】高張浸漬法によりワクチン効果が高まることが示唆されたが、引き続き、十分な予防効果が得られる浸漬ワクチンを開発するため、ワクチンの作製法等の検討を行う必要がある。

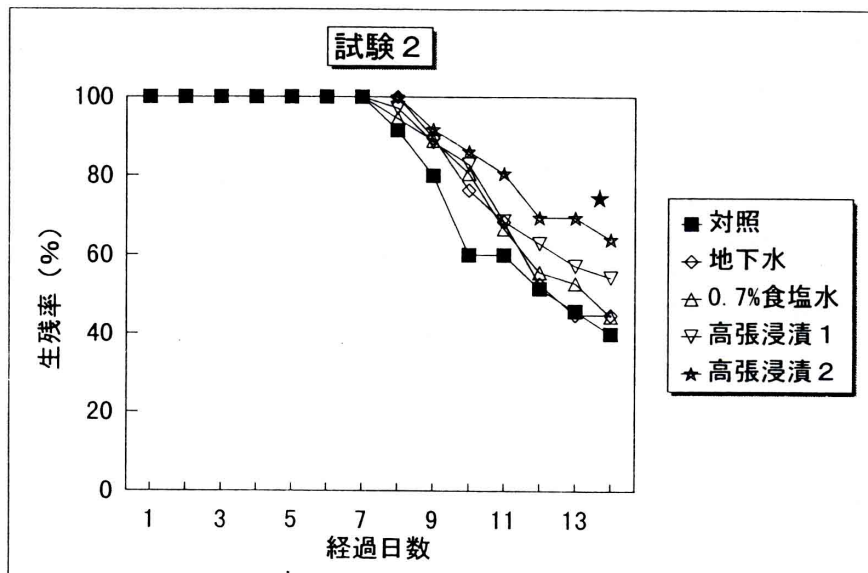
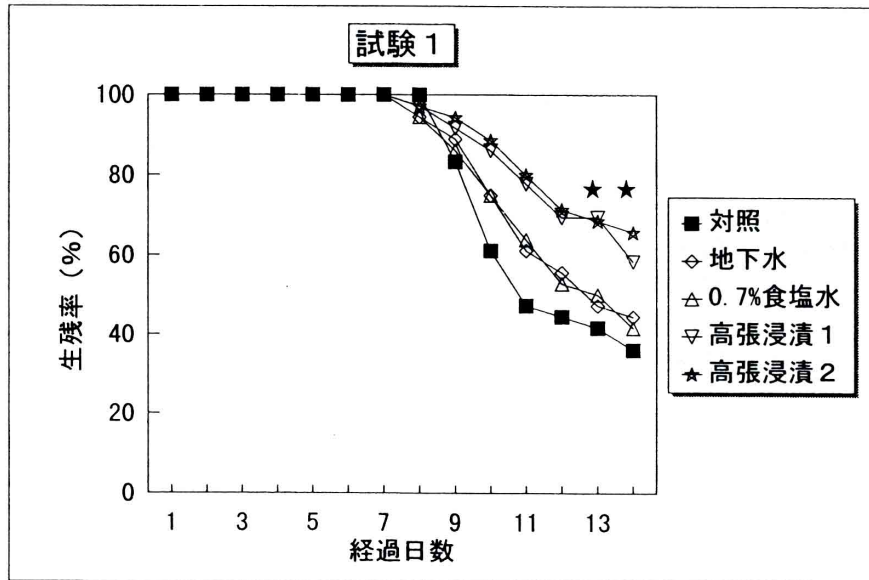


図 1. 浸漬ワクチンで免疫したアユの攻撃試験における生存率の推移
 (高張浸漬法の効果)
 ★: 対照群とワクチン群で有意差あり (Fisherの直接確率計算: $P < 0.05$)