

## 1 1) アユの冷水病に対する浸漬ワクチンの予防効果(複数回投与の検討)

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は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、複数回投与の浸漬ワクチンによる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℃、3～4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 $1.3\sim 7.8\times 10^7$ CFU/mlであった。
2. 有効性実証試験：平均体重0.4gの湖産アユを試験に供した。ワクチンの投与については、表1のとおり5つのワクチン投与群を設定した。ワクチン原液を飼育水で所定倍率に希釈したものを使用ワクチン液とし、通気しながら供試魚を所定時間および所定回数浸漬した。対照群は無処理とした。各群の供試尾数は130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（飼育水温は12.0～16.7℃）。ワクチンA、B、D、E群の第1回目のワクチン投与後21日目（ワクチンC群の第1回目のワクチン投与後19日目）に各ワクチン投与群と対照群に対して攻撃試験を行った。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。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。

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

攻撃試験の供試尾数は各群40尾とした。攻撃後の飼育水温は14.6～16.9℃であった。

【結果】ワクチンA、B、D、E群では第1回目のワクチン投与直後にワクチン処理が原因と思われるへい死が発生し、15日間の死亡率は53.1～71.5%であった。攻撃試験における各群の死亡率は、対照群で87.0%、ワクチンA群で80.6%、ワクチンB群で62.8%、ワクチンC群で92.7%、ワクチンD群で80.0%、ワクチンE群で75.0%となった。ワクチンC群を除く4つ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、統計学的に有意差は認められたのは、ワクチンB群（10倍希釈・2～60分間・7回）のみであった（ $P < 0.05$ ）（図1）。しかし、ワクチンB群においても有効率は27.8%と、有効率が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】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。

表1. 各ワクチン投与群におけるワクチンの投与条件

ワクチン投与群名	ワクチンの投与条件 (ワクチンの投与日：ワクチン原液からの希釈倍率・投与時間(水温))
ワクチンA群	第1回目(1日目)：10倍希釈(0.7%塩水状態) ・ 1時間(12.0℃) 第2回目(6日目)：10倍希釈 ・ 2分間(16.8℃) 第3回目(11日目)：10倍希釈 ・ 2分間(16.3℃)
ワクチンB群	第1回目(1日目)：10倍希釈(0.7%塩水状態) ・ 1時間(12.0℃) 第2回目(3日目)：10倍希釈 ・ 2分間(16.7℃) 第3回目(5日目)：10倍希釈 ・ 2分間(16.8℃) 第4回目(6日目)：10倍希釈 ・ 2分間(16.8℃) 第5回目(8日目)：10倍希釈 ・ 2分間(16.8℃) 第6回目(9日目)：10倍希釈 ・ 2分間(16.5℃) 第7回目(11日目)：10倍希釈 ・ 2分間(16.3℃)
ワクチンC群	第1回目(3日目)：10倍希釈 ・ 2分間(16.7℃) 第2回目(10日目)：10倍希釈 ・ 2分間(16.4℃)
ワクチンD群	第1回目(1日目)：50倍希釈(0.7%塩水状態) ・ 24時間(11.2-15.8℃) 第2回目(6日目)：50倍希釈 ・ 10分間(16.9℃)
ワクチンE群	第1回目(1日目)：100倍希釈(0.7%塩水状態) ・ 24時間(11.2-15.8℃) 第2回目(6日目)：100倍希釈 ・ 10分間(16.9℃)

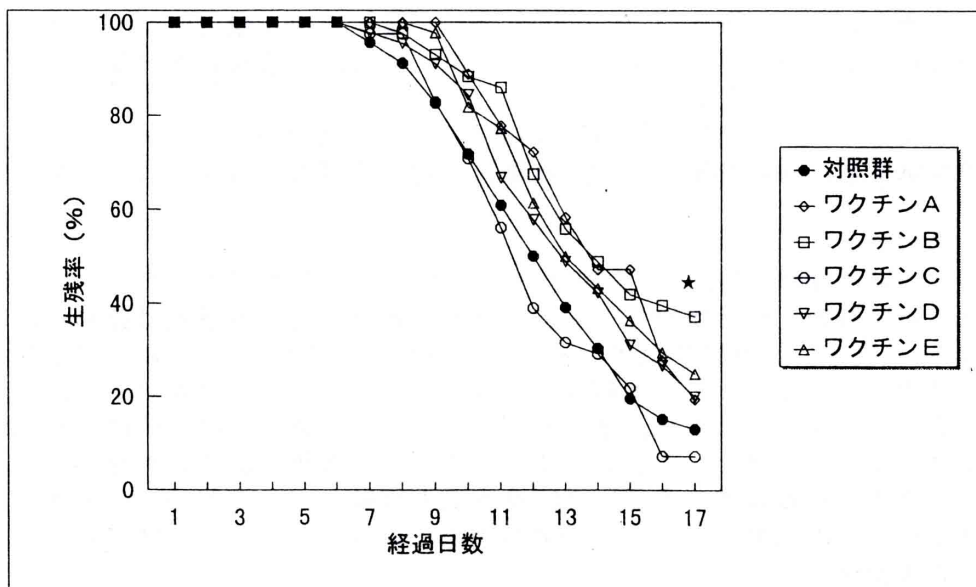


図1. 浸漬ワクチンで免疫したアユの攻撃試験における生残率の推移  
(複数回投与の効果)

★：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)