

1 2) アユの冷水病に対するアジュバント添加注射ワクチンの予防効果

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。昨年度オイルベースのアジュバントを添加した注射ワクチンで比較的高い有効率が得られたが、アジュバントが魚体内に長期間残留していた。そこで、本年度は安定的に高い有効率が得られ、かつ、残留性の低いワクチンの投与技術を確立するため、水溶性アジュバントを添加した注射ワクチンによる有効性実証試験を実施した。今回は、フランスの SEPPIC 社が開発した3種類の水溶性アジュバント (IMS1311、IMS1312、IMS2212) について検討を行った。なお、陽性対照としては昨年度比較的高い有効率が得られた同社製のオイルアジュバント (ISA763A) を用いた。

【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℃、2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。不活化前生菌数は 2.4×10^8 CFU/mlであった。
2. 有効性実証試験：平均体重7.0gの湖産アユを試験に供した。ワクチンの投与については、アジュバント無添加群、オイルアジュバント添加群、水溶性アジュバント添加群 (IMS1311添加群、IMS1312添加群、IMS2212添加群) の5群を設定した。アジュバント無添加群では、上記ワクチン原液5gと生理食塩水5gを十分混合したものを使用ワクチン液とした。オイルアジュバント添加群では、上記ワクチン原液3gとオイルアジュバント (ISA763A) 7gを十分混合したものを使用ワクチン液とした。水溶性アジュバント添加群では、上記ワクチン原液5gと水溶性アジュバント (IMS1311、IMS1312、IMS2212のいずれか1つ) 5gを十分混合したものを使用ワクチン液とした。各ワクチン投与群ともに、使用ワクチン液を供試魚に対して1魚体当たり0.05ml腹腔内に注射した。対照群は無処理とした。各群の供試尾数は150尾とし、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18.3~18.7℃)。ワクチン投与後29日目に各ワクチン投与群と対照群に対して冷水病菌 (SG990302株) の皮下注射攻撃 (2.8×10^5 CFU/尾) 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26尾とした。攻撃後の飼育水温は18.7~19.3℃であった。

【結果】

1. ワクチンの有効性

アジュバント無添加群、IMS1311添加群およびIMS2212添加群の3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なかった ($P > 0.05$) (図1)。有効率はアジュバント無添加群で41.7%、IMS1311添加群で41.7%、IMS2212で39.3%であった。水溶性アジュバントがワクチンの有効率を高めるような効果は認められなかった。また、オイルアジュバントにおいては対照群より死亡率が高く、昨年度のようにワクチンの有効率を高めるような効果は認められなかった。今回の供試魚はワクチンを投与するまでに2回冷水病を経験していたため、冷水病に対する抵抗力が高まり、その結果、ワクチン効果が明瞭に現れなかった可能性がある。

2. ワクチンの残留性

全ての水溶性アジュバント添加群でワクチン投与後42日目の観察においてアジュバントの残留は認められなかった。一方、オイルアジュバント添加群では内臓諸器官の表面や腹腔内に白色の固形状あるいは油滴状のアジュバントが残留していた。

【成果の活用】引き続き、十分な予防効果が得られ、かつ、残留性が低いアジュバントを使用してワクチンの有効性実証試験を実施する必要がある。

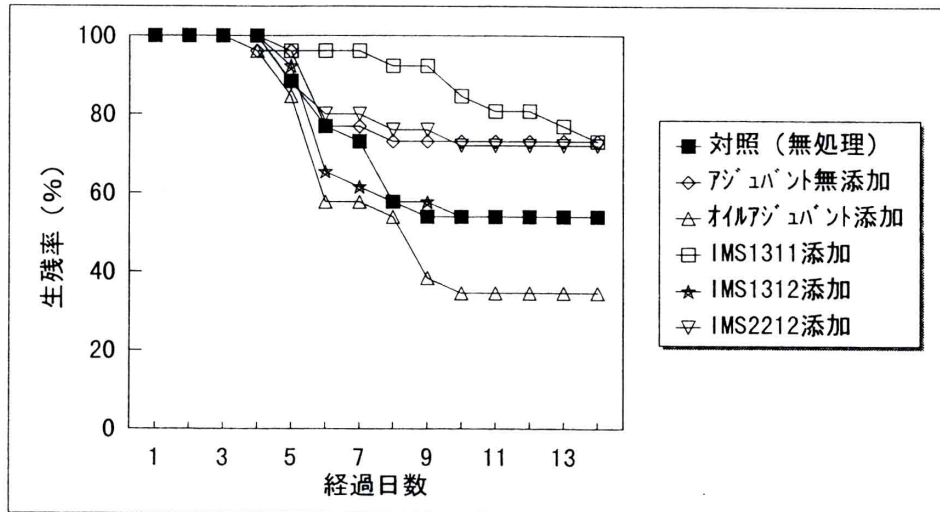


図1. アジュバント添加注射ワクチンで免疫したアユの冷水病菌攻撃後の生残率の推移
(ワクチン投与後29日目に攻撃)