

## 14) アユのシュードモナス病に対する 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】シュードモナス病の原因細菌である *Pseudomonas plecoglossicida* (シュードモナス病菌) は薬剤に対する感受性が低く、治療が困難なため、本疾病に対して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、陽性対照として昨年度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】平均体重7.6g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、ホルマリン不活化ワクチン原液 (共立商事製試作品、不活化前生菌数 $1.5 \times 10^{10}$  CFU/ml、FPC941株から作成) 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100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18.5~19.5℃)。ワクチン投与後14日目、44日目および75日目に各ワクチン投与群と対照群に対してシュードモナス病菌 (FPC941株) の腹腔内注射攻撃 (14日目:  $4.4 \times 10^3$  CFU/尾、44日目:  $1.5 \times 10^4$  CFU/尾、75日目:  $1.1 \times 10^3$  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。なお、75日目の攻撃試験のみオイルアジュバント添加群、水溶性アジュバントのIMS1311添加群および対照群の3つの実験群で試験を実施した。

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、14日目の場合は18.3~18.6℃、44日目の場合は18.8~19.2℃、75日目の場合は18.9~19.3℃であった。

【結果】1. ワクチンの有効性: ワクチン投与後14日目の攻撃試験では、IMS2212添加群を除く4つのワクチン投与群で死亡率は、対照群のそれと比較して統計学的に有意に減少した ( $P < 0.05$ ) (図1)。各ワクチン投与群の有効率は、アジュバント無添加群で35.9%、オイルアジュバント添加群で63.4%、IMS1311添加群で45.1%、IMS1312添加群で45.1%、IMS2212添加群で10.7%であった。IMS1311添加群とIMS1312添加群ではアジュバント無添加群より幾分有効率は上昇したが、オイルアジュバントほどの効果は認められなかった。ワクチン投与後44日目の攻撃試験では、オイルアジュバント添加群とIMS1311添加群でのみ死亡率は、対照群のそれと比較して減少したが、有意差は認められなかった ( $P > 0.05$ ) (図2)。ワクチン投与後75日目の攻撃試験では、オイルアジュバント添加群のみ死亡率は、対照群のそれと比較して有意に減少した ( $P < 0.05$ ) (図3)。有効率はオイルアジュバント添加群で68.8%、IMS1311添加群で25.0%であった。

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は、ワクチン投与後27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、ワクチン投与後57日目の観察においても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】水溶性アジュバントを添加した注射ワクチンではワクチンの残留性が低かったが、オイルアジュバントほどのワクチン効果は認められなかった。

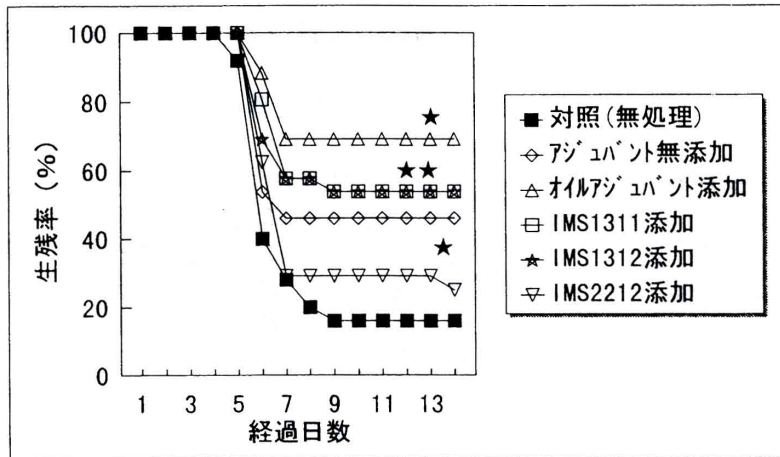


図1. アジュバント添加注射ワクチンで免疫したアユのシュードモナス病菌攻撃後の生残率の推移 (ワクチン投与後14日目に攻撃)  
★: 対照群とワクチン群で有意差あり (Fisherの直接確率計算:  $P < 0.05$ )

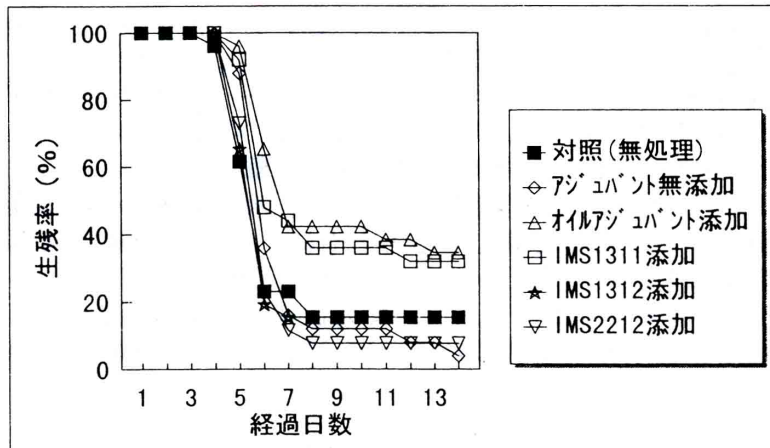


図2. アジュバント添加注射ワクチンで免疫したアユのシュードモナス病菌攻撃後の生残率の推移 (ワクチン投与後44日目に攻撃)

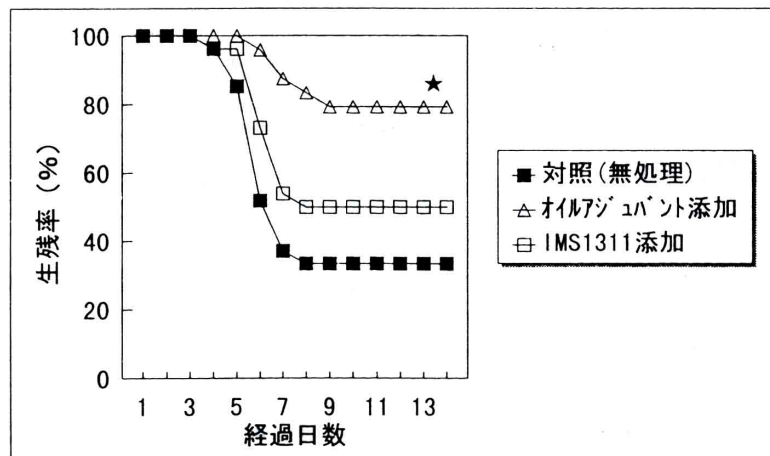


図3. アジュバント添加注射ワクチンで免疫したアユのシュードモナス病菌攻撃後の生残率の推移 (ワクチン投与後75日目に攻撃)  
★: 対照群とワクチン群で有意差あり (Fisherの直接確率計算:  $P < 0.01$ )