

15) アユのシュードモナス病や冷水病に対する 2種混合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】アユの主要疾病であるシュードモナス病や冷水病に対するワクチンの開発が望まれている。昨年度、シュードモナス病および冷水病に対して、それぞれオイルベースのアジュバントを添加した注射ワクチンを投与することにより、前者では顕著な予防効果が、後者でもある程度の予防効果を確認した。そこで、本年度は1度の処理で両疾病に有効なワクチンを開発するため、シュードモナス病や冷水病に対する2種混合アジュバント添加注射ワクチンによる有効性実証試験を実施した。

【方法】平均体重7.0gの湖産アユを試験に供した。供試ワクチンは共立商事製試作品で、シュードモナス病不活化ワクチン（不活化前生菌数 1.7×10^{10} CFU/ml、FPC941株から作成）と冷水病不活化ワクチン（不活化前生菌数 6.1×10^8 CFU/ml、FPC840株から作成）を等量混合し、さらに、重量比において上記混合液3容とオイルアジュバント（フランスのSEPPIC社製ISA763A）7容を混合したものである。ワクチンの投与については、上記ワクチンを供試魚に対して1魚体当たり0.05ml腹腔内に注射し、混合ワクチン群とした。対照群は無処理とした。両群の供試尾数は420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 $18.5 \sim 19.0^\circ\text{C}$ ）。ワクチン投与後21日目、66日目および94日目に混合ワクチン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（21日目： 4.4×10^3 CFU/尾、66日目： 1.1×10^3 CFU/尾、94日目： 1.2×10^3 CFU/尾）および冷水病菌（SG990302株）の皮下注射攻撃（21日目： 9.5×10^5 CFU/尾、66日目： 2.9×10^5 CFU/尾、94日目は未実施）を行った。攻撃試験の供試尾数は各群30尾とした。そして、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、両疾病に対するワクチンの予防効果を評価した。

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

攻撃後の飼育水温は、21日目の場合は $18.5 \sim 19.2^\circ\text{C}$ 、66日目の場合は $19.1 \sim 19.6^\circ\text{C}$ 、94日目の場合は $18.7 \sim 19.1^\circ\text{C}$ であった。

【結果】

1. シュードモナス病に対する予防効果：3回実施した攻撃試験全てにおいて、混合ワクチン群の死亡率は、対照群のそれと比較して統計学的に有意に減少した（ $P < 0.01$ ）（図1）。有効率はワクチン投与後21日目で59.8%、66日目で71.1%、94日目で43.9%であった。
2. 冷水病に対する予防効果：ワクチン投与後21日目の攻撃試験では、混合ワクチン群は対照群に比べて死亡状況が1～2日遅れる傾向があり、混合ワクチンによる遅延効果が認められ。しかし、攻撃強度が強すぎたためか、試験終了時には両試験群ともに死亡率は90%前後に達し、ワクチンによる予防効果は認められなかった。また、ワクチン投与後66日目の攻撃試験では、ワクチン投与後21日目に実施した攻撃試験とほぼ同じ条件で攻撃を行ったが、両試験群ともにほとんど死亡せず、ワクチンの予防効果を判定することはできなかった。
3. ワクチンの残留性：ワクチン投与後79日目の観察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。しかし、107日目では一部の供試魚においてのみ少量のアジュバントが残留していた。

以上から、今回使用した2種混合アジュバント添加注射ワクチンは、シュードモナス病に対してワクチン投与後21～66日目において有効率が概ね60%以上あったことから、十分な予防効果があるものと考えられる。一方、冷水病に対してはワクチンの予防効果を十分に評価することができなかった。

【成果の活用】冷水病に対する予防効果を評価する必要がある。また、ワクチン量を減らす等、アジュバントの残留期間を短縮するとともに、スタンプ法等、投与方法の簡便化を図る必要がある。

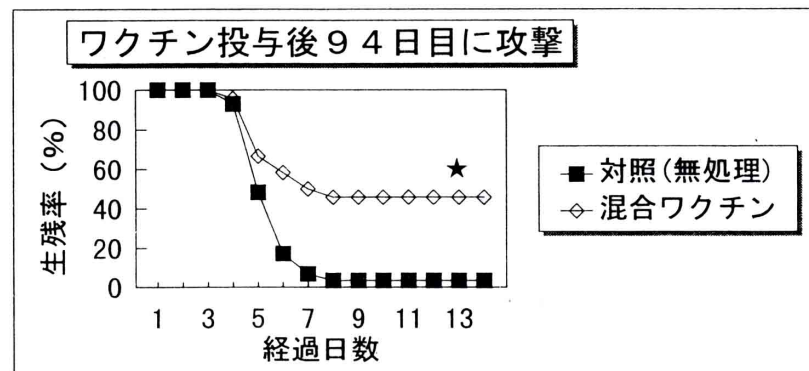
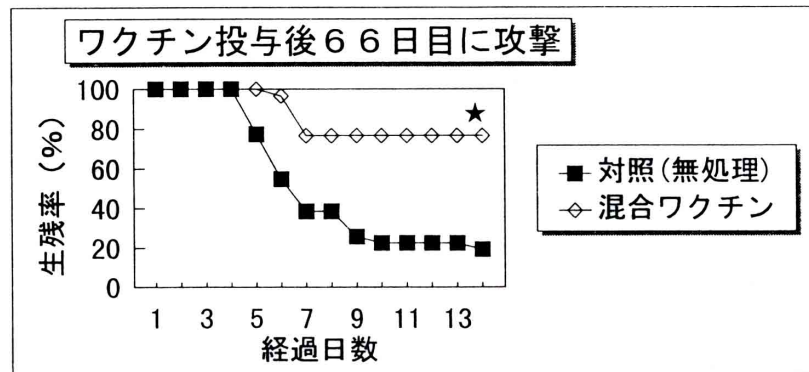
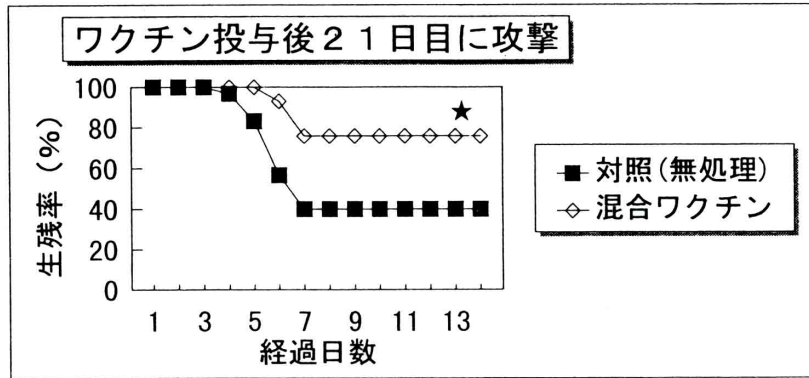


図1. 混合ワクチンで免疫したアユのシュードモナス病菌攻撃後の生残率の推移
★: 対照群とワクチン群で有意差あり (Fisherの直接確率計算: $P < 0.01$)

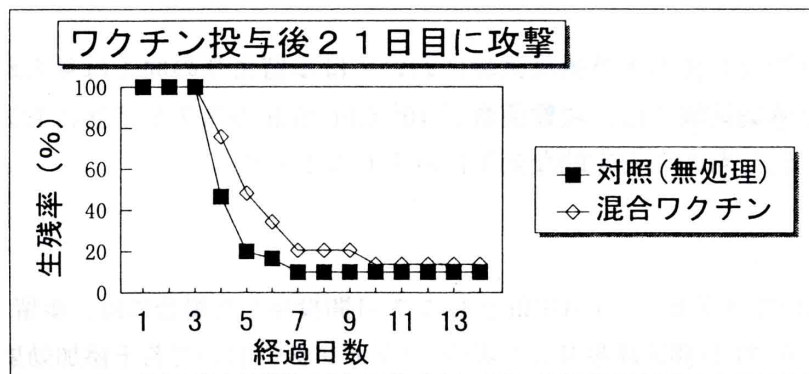


図2. 混合ワクチンで免疫したアユの冷水病菌攻撃後の生残率の推移