

- | | | |
|--------------------------------|-------|-------------------|
| 1. 事業細目：増養殖技術試験研究費（魚病対策研究） | 予 算 額 | 1,182千円 |
| 2. 研 究 名：アユピリオ病ワクチン低濃度長時間法の有効性 | 予算区分 | 県 単(B) |
| 3. 研究期間：平成2年度～ | 年 度 | 4. 担 当 者：遠藤・太田（豊） |

5. 目的

市販されているアユのピリオ病不活化ワクチンについて低濃度長時間浸漬法の有効性を検討し、用法・用量拡大の為の治験を得る。

6. 方法

琵琶湖産アユ（平均体重1.57g、平均体長46.6mm）を各実験区2kgずつ表1のとおりにワクチンを希釈し、漬浸して免疫を付与後、屋外コンクリート製8トン池に収容し90日間飼育した。その間にワクチンの安全性およびピリオ病の自然発病の有無を観察した。

ワクチンの有効性の確認については、ピリオ病の自然発病がなかった場合に、免疫付与後70日目と90日目にピリオ・アンギュイラルムA型（PT-87050）を用いて人為感染

実験を行い、ピリオ病によるへい死率の比較により行った。

使用したワクチンは市販の日生研製アユのピリオ病不活化ワクチンで、免疫付与時の水温は19.6～19.7℃であった。

なおこの実験は、全国湖沼河川養殖研究会アユ・ピリオ病研究部会の連絡試験の一環として行った。

7. 結果の概要

90日間の飼育期間において生残率・飼料効率・日間成長率等の飼育成績は、対照区実験区とも大きな差は認められず、ワクチン投与操作による飼育への影響は全く無く、ワクチン自身の安全性は問題がない。

また、飼育期間中実験区1～4に弱いピリオ病の発生が見られたが、分離したピリオ菌はいずれもA型抗血清に凝集せずピリオ・アンギュイラルムA型ではなかった。従ってワクチンの有効性については、ピリオ・アンギュイラルムA型の人為感染による攻撃試験によった。

この結果低濃度長時間法（実験区2～4）はどの実験区でも従来の標準法（実験区1）を上回ることはできなかった。特に90日目の攻撃試験では低濃度長時間法の実験区は有効率50%を下回り、ワクチンの効果はなくなっており、ワクチンの効果は70日程度と考えられる。

また、70日目の有効率にしても低濃度長時間法は70%前後と標準法の85%に比べてかなり低く同等の有効性があるとは考えにくい。

従って本実験の400倍希釈の低濃度では浸漬

時間が10分でも20分でも60分でも有効性は認められるが、標準法より低く、効果のある期間も標準法より短く70日程度である。

8. 主要成果の具体的データー

表1 実験設定

実験区	希釈倍率	浸漬時間
対照区	—	—
実験区-1	10倍	2分
実験区-2	400倍	10分
実験区-3	400倍	20分
実験区-4	400倍	60分

表2 攻撃試験1 (ワクチン投与後70日目)

攻撃菌数 (CFU/ml)	実験区	供試 尾数	経過日数														総へい 死尾数	総へい 死率(%)	ピブリオ病による		有効率 (%)
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			へい死数	へい死率	
3.0×10 ⁶	対照区	27			6	19	2										27	100	27	100	
	実験区-1	21			1	2	1										4	19.0	4	19.0	(81.0)
	実験区-2	29				5	6										11	37.9	11	37.9	(62.1)
	実験区-3	25			1	10	4	1		1							17	68.0	17	68.0	(32.0)
3.0×10 ⁴	対照区	29				8	6	2	6								22	75.9	22	75.9	
	実験区-1	27					3										3	11.1	3	11.1	85.4
	実験区-2	21				3	1		1								5	23.8	5	23.8	68.6
	実験区-3	22				2	3										5	22.7	5	22.7	70.1
3.0×10 ³	対照区	30				1	2	1	1		1	(1)	1	1	(1)		10	33.3	8	26.7	
	実験区-1	28															0	0.0	0	0.0	—
	実験区-2	22															0	0.0	0	0.0	—
	実験区-3	21															0	0.0	0	0.0	—

攻撃時の水温：21.5→22.0℃
 観察飼育期間中の水温：19.5→21.0℃
 () 内の数字はピブリオ病以外の死亡

表3 攻撃試験2 (ワクチン投与後90日目)

攻撃菌数 (CFU/ml)	実験区	供試 尾数	経過日数														総へい 死尾数	総へい 死率(%)	ピブリオ病による		有効率 (%)
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			へい死数	へい死率	
7.4×10 ⁶	対照区	29			24	4	1										29	100	29	100	
	実験区-1	30			4	12	4	1									21	70.0	21	70.0	(30.0)
	実験区-2	28			9	14	3	1									27	96.4	27	96.4	(3.6)
	実験区-3	30			9	9	2	2									22	73.3	22	73.3	(26.7)
	実験区-4	30			7	12	4	3									26	86.7	26	86.7	(13.3)
7.4×10 ⁴	対照区	30			10	11	5	1	2								29	96.7	29	96.7	
	実験区-1	30				3	3	1	1						(1)		9	30.0	8	26.7	72.4
	実験区-2	32			1	8	3	2	1	1	2						18	56.3	18	56.3	41.8
	実験区-3	30			4	4	5		2	1							16	53.3	16	53.3	44.9
	実験区-4	31				6	8				1						15	48.4	15	48.4	49.9
7.4×10 ³	対照区	31			1	3	3	3	2	2	1	1					16	51.6	16	51.6	
	実験区-1	30				3	(4)	(2)				(1)					10	33.3	3	10.0	(80.6)
	実験区-2	30			1	3				2							9	10.0	6	20.0	(61.2)
	実験区-3	30							(3)	(2)	(1)	(1)	(1)		(2)	(1)	8	26.7	0	0.0	(100.0)
	実験区-4	30				1	(1)			1						1	4	13.3	3	10.0	(80.6)

攻撃時の水温：20.2→20.5℃
 観察飼育期間中の水温：19.6→20.3℃
 () 内の数字はピブリオ病以外の死亡

9. 今後の問題点

400倍の希釈では、標準法に比べ成績が良くないので希釈倍率を小さくする必要がある。今後ともワクチンの改良には、アユのサイズ・希釈倍率・浸漬時間等コストも考えに入れた総合的な検討が必要。

10. 次年度の具体的計画

動生協として、低濃度長時間法は100倍希釈10分浸漬を採用し申請することになったので、養殖業者の池で野外臨床試験を行い申請用の治験データを取る。