

アユ冷水病試作ワクチンの接種法別の抗体価と有効率との関係

岡村 貴司

1. 目的

アユ冷水病を予防するため、ワクチン開発が行われてきた。そのうち、ホルマリン不活化ワクチン（FKC ワクチン）は、アジュバントを添加して注射法により接種すれば高い効果が得られるが、浸漬法では効果が安定せず、実用化に至っていない。注射法と浸漬法による免疫応答の違いを検討する知見を得るため、FKC ワクチンを注射法および浸漬法により接種した場合の抗体価を測定した。

また、抗体価の測定がワクチン効果の判定手法となり得るかを検討した。

2. 方法

(1) ワクチン処理

FKC ワクチンを地下水で 2 倍希釈し、エアレーションしながら免疫を獲得していないアユ（平均体重：9.0 g）を 5 分間浸漬させた区（浸漬区）と、FKC ワクチン 3 容に対してアジュバント（MONTANIDE ISA760 VG、SEPPIC 社）を 7 容の割合で乳化させた液を腹腔内に 50 μ L/fish 注射した区（注射区）を設けた。ワクチン処理後は地下水で飼育し、水温は 18.2~18.5 $^{\circ}$ C であった。

FKC ワクチンは、1/2 CGY 液体培地で培養した冷水病菌液（菌株：PH0424、24 時間の培養後、同じ組成の新たな培地で 40 時間の培養）に 0.1% となるようにホルマリンを添加し、攪拌後に一晩静置して作製した（O. D.₆₆₀: 0.207）。

(2) 人為感染によるワクチンの効果確認

ワクチン処理の 21 日後に人為的に冷水病に感染させ、地下水（17.9~19.4 $^{\circ}$ C）で 21 日間の経過観察を行い、有効率（RPS: 1 - (試験区の死亡率) / (対照区の死亡率)）を求めた。

冷水病への人為感染は、1/2 CGY 液体培地で培養した冷水病菌液（菌株：PH0424、24 時間の培養後、同じ組成の新たな培地で 16 時間の培養）を地下水で 4 倍希釈し（菌濃度：1.3 $\times 10^6$ CFU/mL）、その液にエアレーションしながら各区 40 尾（20 尾 \times 2 連）のアユを 30 分間浸漬して行った。

(3) 抗体価の測定

ワクチン処理の 21 日後のアユから採血し、一晩静置後に遠心分離（1,500G、4 $^{\circ}$ C、10min）をして血清を採取した。

得られた血清中の冷水病菌に対する抗体価を ELISA（A₄₀₅: 抗体価）により測定した¹⁾。

3. 結果

ワクチン処理時およびその後にアユの死亡はみられなかった。人為感染による浸漬区および注射区の RPS は、16.4% および 72.1%（図 1、対照区の死亡率 53.8%）であった。

各区の抗体価（A₄₀₅、ロット平均）はワクチンを接種していない対照区（Cont.）が 0.025、浸漬区が 0.055、注射区が 0.542 となり（図 2）、RPS および抗体価ともに注射区が高い値を示した。

RPS と抗体価のピアソンの積率相関係数は $r=0.98$ となり高い相関関係にあった。しかし、個体別に抗体価をみるとロット内で変動しており、今後、ワクチン効果の判定に用いるためには更なる検討が必要である。

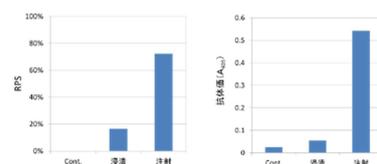
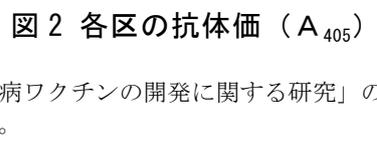


図 1 人為感染における RPS（左図）

図 2 各区の抗体価（A₄₀₅）（右図）

本報告は（財）松岡科学研究所による「平成 25 年度アユ冷水病ワクチンの開発に関する研究」の成果の一部である。これらの結果を平成 26 年度日本魚病学会春季大会で発表した。

引用文献 1)平成 23 年度滋賀県水産試験場事業報告