

# オイルアジュバント添加ワクチンの残留性試験

谷本 剛・湯浅明彦

近年養殖アユはシュードモナス病と冷水病の2つの病害による被害が大きく、この2つの疾病を効果的に予防することは、アユ養殖業の経営改善にとって喫緊の課題である。このことから、予防対策としてこれら疾病に対するワクチンの開発研究に取り組んできた。その結果、注射法によるワクチン投与において、ワクチンの免疫効果を高める働きのあるオイルアジュバントを添加することにより有効性が向上することが確認され、効果的には実用化が可能な段階に至っている。しかしながら、その効果の反面オイルアジュバントが魚体内に長期間残留するという問題点が明らかになった。実用化にあたり、オイルアジュバントが魚体内に残留する期間を正確に把握しておくことは不可欠である。そのため、本試験は各種容量のオイルアジュバント添加ワクチンをアユに接種し、その残留性について検討した。

なお、本試験は(社)日本水産資源保護協会の委託事業である水産用医薬品調査事業に基づき実施した。

## 材料と方法

### 1. 供試魚

徳島県栽培漁業センターで生産された海産系継代13代目の人工産アユを用いた。供試魚の平均体重は4.9 gであった。

### 2. 供試ワクチン

共立商事株式会社により作製された冷水病ホルマリン不活化抗原(不活化前生菌数 $6.0 \times 10^8$  CFU/ml, SG990302株)とオイルアジュバント(MONTANIDO-ISA763A:Seppic社製)を重量比3対7で混合したオイルアジュバント添加冷水病ホルマリン不活化ワクチンを使用した。

### 3. 試験区の設定

供試魚を0.015 %麻酔薬(FA100)で麻酔した後、供試ワクチンを1尾あたり20  $\mu$ lおよび30  $\mu$ lの割合で腹鰭基部後方の腹腔内に注射接種したものを、それぞれ20  $\mu$ l区および30  $\mu$ l区とした。ワクチンの接種尾数は各区150尾とした。

### 4. ワクチンの残留性の観察

ワクチンを接種した後、水温20 (19.7 ~ 20.6 )に設定した700 Lの循環ろ過水槽において給餌率約2 %で飼育を開始した。その後、12週目、14週目および16週目に両試験区からそれぞれ30尾を解剖し、腹腔内におけるアジュ

バンドの残留の有無を肉眼で確認した。なお、不明瞭な場合はスライドガラスに取って顕微鏡で確認した。

## 結果と考察

各試験区におけるアジュバントの残留率を表1に示した。20  $\mu$ l区および30  $\mu$ l区のアジュバントの残留率は、それぞれワクチン接種後12週目で36.7%、43.3%、14週目で30.0%、43.3%、16週目で26.7%、36.7%であった。残留は幽門垂、食道入口、肝臓および腸の周辺で観察され、特に幽門垂および食道入口周辺の残留が顕著に観察された。なお、アジュバント添加ワクチンの投与に起因すると思われる死亡は見られず、また内臓臓器の癒着等の副作用も見られなかった。

本試験の結果、概ねワクチン接種から時間が経過するにつれて残留率が低下し、かつワクチンの残留量も少なくなっていく傾向が観察されたものの、ワクチン接種後16週目においても30%を超える残留が観察された。通常養殖アユは、稚魚を池入れしてから早いものでは3ヶ月で出荷または放流されることから、アユ1尾あたり20  $\mu$ l以上のオイルアジュバントを添加したワクチンの接種は、食品衛生上の観点からみて実用的ではないと考えられた。今後、注射法によるワクチン開発をおこなうにあたっては、より残留性が少なくかつ高い効果が期待できるアジュバントの探索や残留期間を短縮するため、少ない抗原量でも高い効果が得られるように、抗原を濃縮することによりアジュバントの投与量を少なくする等の投与法の検討が必要であろう。

表1 アジュバントの残留状況

ワクチン接種後(週目)	残留率(%)	
	20 $\mu$ l区	30 $\mu$ l区
12	36.7	43.3
14	30.0	43.3
16	26.7	36.7