

アユ冷水病ワクチン試験

嶋村 一郎・萩平 将

近年、アユ養殖業において被害量が増加している冷水病に対して、使用が承認されている水産用医薬品は1種類しかない。また、最近では天然河川のアユでも冷水病の発生が報告されており、予防対策としてワクチンの開発が急がれている。

そこで今回は、オイルアジュバントを用いた試作ワクチンによる免疫付与の可能性について検討した。

材料と方法

試験には徳島県栽培漁業センター産人工生産アユ（平均魚体重 3.3g）を用いた。不活化ワクチンは、冷凍保存していた PT98099 株（平成 10 年徳島県内で分離）を 24 時間、2 回継代した後、改変サイトファーガ液体培地 30ml に接種し 15 で 24 時間培養後にホルマリンを 0.3% 添加して作成した。アジュバント添加ワクチンは不活化ワクチンにオイルアジュバント（Montanide711 または 763A）を体積比で 3 : 7 の割合で十分に混合し、エマルジョンにしたものを使用した。

効果判定のためにワクチン接種 2 週間後に、皮下注射法による攻撃試験をおこなった。2 週間観察しその間の対照区、ワクチン接種区の死亡率から有効率を求め効果を判定した。

有効率は次の式により求めた。

$$\text{有効率} = (1 - \text{ワクチン区の死亡率} / \text{対照区の死亡率}) \times 100$$

なお、攻撃試験時の水温は 19 ~ 20 ，ワクチン接種時の水温は 20 であった。

アジュバントワクチンの残留性検査として、ワクチン接種後 2 週間後から 4 週間後にかけて試験魚の剖検を行い、肉眼によりアジュバントの残留を確認した。また、アジュバントワクチンの安全性を確認するために、ワクチン接種後の死亡、遊泳状況、摂餌状況等を観察した。

結 果

結果は表のとおりである。

今回の試験では、注射法により攻撃試験を実施したが、攻撃力が強すぎたためか、すべての試験区で 60% 以上の死亡率となった。不活化ワクチンのみ接種した試験区と 711 オイルアジュバント添加ワクチン区では有効率が共に 3.3% にとどまり、効果は認められなかった。一方、763A アジュバントワクチン区は有効率 33.3% を示し、わずかではあるが有効性が確認された。また、すべての試験区で死亡率が高

く、従来の有効率による効果の判定が難しかったことから今回は RPS60 による効果判定を併用した。RPS60 は対照区の死亡率が 60% 以上になった時の有効率であり、今回のようにすべての試験区で最終死亡率が高くなった場合の効果判定に有効な方法である。

表 冷水病ワクチン試験結果

試験区	攻撃菌量 (CFU/尾)	供試 尾数	経過日数														計	死亡率	有効率	RPS60
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14				
無処理 対照群	6.0×10^7	30	20	9	1												30	100	—	—
不活化ワ クチン群	6.0×10^7	30	14	13	2												29	96.7	3.3	30.3
711ア ジュバン ト添加群	6.0×10^7	30	19	8	2												29	96.7	3.3	4.5
763Aア ジュバン ト添加群	6.0×10^7	30	4	13	2	1			1								21	66.6	33.4	80.3

RPS60 は次の式から求められる。

$$RPS60 = (1 - \text{対照区が 60\% 以上の死亡率の時点でのワクチン区の死亡率} / \text{対照区の死亡率}) \times 100$$

各試験区の RPS60 は、不活化ワクチン注射区で 30.3%、711 アジュバント添加ワクチン区で 4.5%、763A アジュバントワクチン区では 80.3% となった。RPS60 によると不活化ワクチン区、763A アジュバントワクチン区で比較的高い有効率を示した。特に 763A アジュバントワクチンでは 80% 以上の有効率を示し、ワクチンとして有効である可能性が示唆された。

また、アジュバントの魚体内残留はワクチン接種 4 週後でも認められたが、ワクチン接種に伴う死亡は接種直後に数尾認められたものの、その後は認められなかった。なお、接種直後の死亡では病原菌が検出されなかったことから、接種時の取り扱いおよび術者の技量不足による事故によるものと考えられた。

注射ワクチンにアジュバントを添加することにより、不活化ワクチンに比べ有効性が高まることが確認された。同様にアジュバント添加により有効性が高まったシュードモナス病ワクチンと併せ、今後は冷水病とシュードモナス病のアジュバント添加 2 価ワクチンの開発と残留の少ない水溶性アジュバントの検討を行う必要がある。また、ワクチンの効果判定を行うために、安定的な人為感染法の開発を進める必要があると考えられる。