

## せつそう病に関する研究—Ⅰ

## アマゴに対するワクチンの投与について

家坂 剛正・岡崎 稔

魚病に対するワクチンの効果については多くの報告がある。せつそう病についてはカワマス、ブラウンマスで試みられ、経口投与ではあまり効果はないが、接種による免疫はかなり有効であることが認められている。<sup>1)</sup>本試験はアマゴについて実施した。

## 1. ホルマリンワクチンについて

## 試 験 の 方 法

供試魚は、平均体重150gのアマゴ1年魚を使用した。飼育水は河川水であり、試験期間中の水温は16~21°Cであつた。

ワクチンの作成：使用菌株は昭和43年5月に発生した病魚より分離したもので、普通寒天培地に25°C、48時間培養したものを集菌し、ホルマリンを1%添加した生理食塩水に浮遊させた後脱脂綿で濾過し、冷蔵庫(4°C)に保存した。

ワクチン投与方法：経口投与及び筋肉接種を行なつた。経口投与は1尾当り4mg(生の菌重量、以下同じ)を餌料(餌付粉末+外割5%の油)に混ぜ、5月27日から6月18日までの23日間投与を続けた。筋肉接種は7日目毎3回背部筋肉に接種し、第1回(5月27日)0.1mg/ml/尾、第2回(6月3日)0.2mg/ml/尾、第3回(6月10日)0.4mg/ml/尾とした。

凝集価測定用の抗原：1%ホルマリン生理食塩水に4mg/mlの濃度に菌を浮遊させた。

採血：*Cuvierian duct*より採血し、血清を分離して5尾分の血清をまぜて1サンプルとし、冷蔵庫に保存して翌日測定に供した。

凝集価測定：ワクチンの筋肉接種及び経口投与終了後1週間目毎に測定した。測定は、採取した血清を生理食塩水で2倍段階に稀釈し、それぞれに一定量の抗原を添加し、37°Cで2時間反応させさらに一夜冷蔵庫に保つた後、凝集の有無を肉眼により観察した。

攻撃試験：ワクチンの効果をみるために凝集素価測定(7週目)終了後11日目(8月9日)に各区4尾に対し、1尾当り0.1mg/0.1mlの生菌を背部筋肉に接種した。使用菌株はワクチン作成時

に分離した菌を普通寒天培地に 25℃ 4.6 時間培養して冷蔵庫に保存し、使用前に一度魚体(アマゴ)を通過させて供試した。

### 結 果 と 考 察

凝集素価測定の結果は第1表の通りである。第7週以後は供試魚が不足したため測定できなかった。経口投与の場合は凝集素の形成はあまり明瞭ではないが、筋肉接種では凝集素価が漸次上昇し

第1表 凝 集 素 価

ワクチン接種終了後	1週目	2	3	4	5	6	7
経口投与区	—	16	8	< 4	< 4	256	< 4
筋肉接種区	128	128	256	256	1024	1024	1024
対 照 区	< 4	4	64	< 4	< 4	< 4	< 4

第5週目には1,024に達し、少なくとも2週間は維持していると考えられる。川津<sup>2)</sup>は自然感染を予防できる凝集素価を320と考えており、その値からみればせつそう病ワクチンの筋肉接種は自然感染を充分予防し得るものと考えられる。なお、試験期間中の水温は10~23℃、平均17℃であつた。その間の死亡は、経口投与区1尾/50尾、筋肉接種区10尾/50尾、対照区1尾/50尾であり、殆んどがせつそう病様の症状を呈するものである。筋肉接種区の死魚が特に多くなっているが、これらは全て凝集素価が1,024に達した5週目以前に死亡したものである。これは、ワクチンの中に生菌が残っていたためか、或いは、接種によつて体表が損傷し、そこから水中の菌が侵入したものか明らかでない。この点については今後検討しなければならない。

攻撃試験の結果は第2表の通りである。経口投与区及び対照区は同様な経過をたどり、生菌接種後2日目に4尾中3尾死亡し、3日目に1尾死亡しているのに対し、筋肉接種区では死亡がやや遅れて現われているが、4日目までには全数死亡している。しかし、自然感染では1尾に対し0.1mgという大量の菌が体内に侵入することは考えられないので、ワクチンの筋肉接種はやや効果があつ

第2表 死 亡 数 (尾)

生菌接種後	2日目	3日目	4日目	計
経口投与区	3	1	—	4
筋肉然種区	1	2	1	4
対 照 区	3	1	—	4

たと考えてもよいと思われる。

## 2. アジュヴァントワクチンについて

カワマス、ブラウンマスに対するアジュヴァントワクチンの効果についてはGeorge B<sup>1)</sup>によつて報告されており、かなり高い凝集素価を得ている。本試験ではアマゴを用いて凝集素の形成過程を調べた。

### 試験の方法

期間：昭和43年9月6日～12月11日。水温：17～10℃。供試魚：平均体重215gのアマゴ1年魚を使用。試験区：1区ホルマリンワクチン、0.4 mg/0.1 ml/尾、腹腔接種。2区アジュヴァントワクチン、0.4 mg/0.1 ml/尾、腹腔接種。3区ホルマリンワクチン、0.4 mg/0.1 ml/尾、背部筋肉接種。4区対照区。尚ワクチンの接種は1回のみである。

アジュヴァントワクチンの製法：Arlacel 83（化学組成はソルビタンセスキオレート）とKlearol White Mineral oilとを1：9の容比でまぜ、これに8 mg/mlのホルマリンワクチンを等量加え、注射器で吸引と圧出を繰り返してよく混合した。凝集価の測定はワクチン接種後1ヶ月毎に行ない、測定方法、採血方法は前記と同様である。ただ3ヶ月目の測定は、産卵期の死亡により供試魚が少なくなつたために測定に供したのは各区とも4尾宛である。

### 結果と考察

第3表にみられるように、アジュヴァントワクチンを接種した2区の凝集素価が2ヶ月目に2,048に達し、他の区に比べて著しく上昇することが認められた。ホルマリンワクチンについては0.4 mg/0.1 ml/尾の1回のみ接種では腹腔接種、筋肉接種、何れにおいても凝集価が低かつた。接種菌量をもつと増量して検討しなければならぬ。

第3表 凝集素価

	0ヶ月目	1ヶ月目	2ヶ月目	3ヶ月目
1区	< 4	64	8	—
2区	< 4	516	2,048	1,024
3区	< 4	32	< 4	4
4区	< 4	< 4	< 4	< 4

### 摘 要

- 1) アマゴにおけるホルマリンワクチン及びアジュヴァントワクチンの効果について試験した。
- 2) ホルマリンワクチンを1週間目毎3回接種することにより、35日目に凝集価1,024に達した。

- 3) ワクチンの経口投与では凝集価の上昇はみられなかった。
- 4) ワクチンを1回のみ接種した場合、ホルマリンワクチンでは凝集価の著しい上昇はみられなかったが、アジュヴァントワクチンではかなりの上昇を示し、2ヶ月目に2,048に達した。

### 文 献

- 1) George E. Krantz 他、1964 : *Progressive Fish Culturist*, Vol 26, No. 2, pp 65~69
- 2) 川津浩嗣、1968 : 日水誌, Vol 34, No. 3, pp 246~249

e 5<sup>1)</sup>によ  
素の形成過

215gの  
種。2区ア  
4mg/0.1

レート)と  
mlのホルマ  
定はワクチ  
測定は、産

目	3ヶ月目
	—
	1,024
	4
	< 4

験した。  
4に達した。