

せっそう病に関する研究 - 2

アマゴに対する経皮ワクチン接種について

森川 進・家坂剛正・熊崎隆夫

せっそう病に対して、現在化学療法が、かなりの効果をあげているが、一方免疫反応による予防に関する検討もなされている。本試験では、アマゴを用いて各種ワクチンを接種して、凝集素価の変動を観察し、生残尾数により、ワクチン効果を検討した。

試験の方法

岐阜水試で飼育中のアマゴ1年魚（平均体重188g、各区200尾）を用い、昭和44年2月18・19日にワクチン接種（いづれも腹腔注射1回）をした。その後、在来マス用固形飼料（1日数回手まき給餌）で飼育を続け、ワクチン接種後半月毎に凝集素価を測定し、毎日の死魚を記録した。採卵は、搾出法で行ない、採卵後の死魚数を別に記録した。

飼育には、長方形コンクリート池（長さ3.9m×巾1.3m×水深0.5m）を用いた。飼育期間中の水温を第1図に示した。

試験区は以下の4区を設定した。

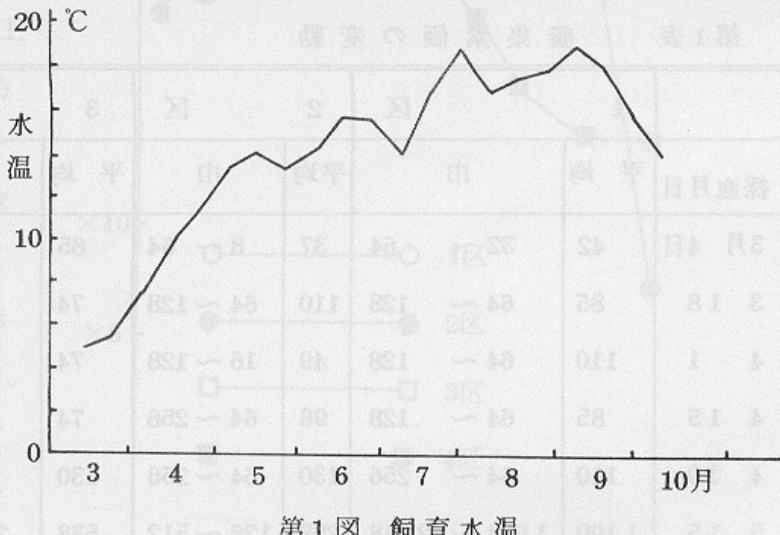
◎1区 岐阜分離株（昭和43年5月アマゴより分離）アジュバントワクチン湿菌0.4mg/0.1ml/尾 接種区

◎2区 岐阜分離株ホルマリンワクチン湿菌1mg/0.1ml/尾 接種区

◎3区 東京分離株（東京都水試奥多摩分場より、昭和43年12月に提供を受けた）アジュバントワクチン湿菌0.4mg/0.1ml/尾接種区

◎4区 対照区 0.85%滅菌生理食塩水0.1ml/尾接種区

ホルマリンワクチンは、*Aeromonas salmonicida* 岐阜分離株、東京分離株を普通寒天培地に、25°C、48時間培養したものを、0.3%ホルマリン生理食塩水に浮遊させ（菌浮游液）



第1図 飼育水温

脱脂綿でろ過して、混入した培地を除き、菌体をホルマリン生理食塩水で一度洗滌した。ワクチン接種時に、 $100\text{mg}/\text{魚体重kg}$ のスルファモノメトキシンソーダを添加した。

アジュバントワクチンは、Klearol White mineral oilとAracel 83を9:1に混合し、それにワクチン接種時に等量の菌浮遊液を混合した。ホルマリンワクチンと同様、スルファモノメトキシンソーダを添加した。対照区には、0.85%滅菌生理食塩水に、スルファモノメトキシンソーダを添加したもの $0.1\text{ml}/\text{尾づつ}$ 接種した。

凝集素価測定用の抗原は、ワクチンに使用した岐阜分離株の菌浮遊液を、脱脂綿でろ過し、混入した培地を除いたものを用いた。

凝集素価測定は、1回各区5尾づつ個体別に測定した。尾柄部切断により採血し、 4°C に一夜放置し、翌朝血清を10段階に倍数稀釀した。抗原添加後、 25°C で2時間反応させ、 4°C に一夜置いて翌日判定した。判定は、透明度及び沈殿像により、透明度が対照よりもやうすく、沈殿像も対照とは異なる状態までを(+)とした。

結果及び考察

凝集素価の変動を第1表と第2図に、月別の生残尾数を第2表と第3図に、採卵後の死亡状況を第3表にそれぞれ示した。

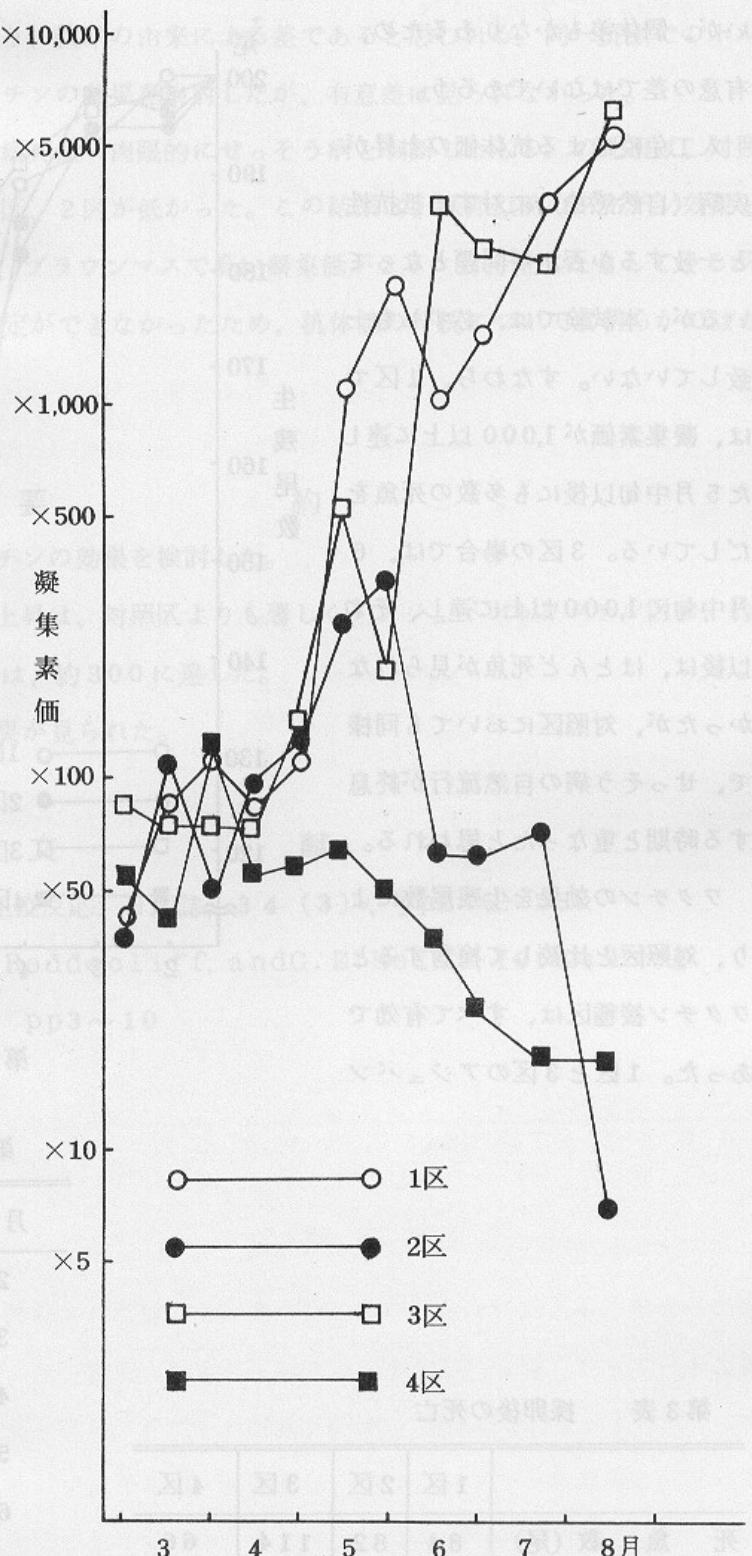
第1表 凝集素価の変動

採血月日	1区		2区		3区		4区	
	平均	巾	平均	巾	平均	巾	平均	巾
3月 4日	42	32～ 64	37	8～ 64	85	64～ 128	54	32～ 64
3 18	85	64～ 128	110	64～ 128	74	32～ 128	42	8～ 64
4 1	110	64～ 128	49	16～ 128	74	32～ 128	110	64～ 128
4 15	85	64～ 128	98	64～ 256	74	16～ 128	56	32～ 64
4 30	110	64～ 256	130	64～ 256	130	64～ 256	56	32～ 64
5 15	1,100	1,024～ 2,048	258	128～ 512	538	256～ 1,024	64	32～ 128
6 4	2,040	256～ 8,192	339	128～ 512	197	128～ 256	49	32～ 64
6 19	1,030	1,024～ 2,048	64	32～ 128	3,530	2,048～ 8,192	37	32～ 64
7 2	1,520	1,024～ 2,048	64	32～ 128	2,660	2,048～ 4,096	24	16～ 32
7 24	3,530	1,024～ 8,192	74	16～ 512	2,310	1,024～ 8,192	18	4～ 64
8 14	5,380	4,096～ 16,384	7	4～ 32	6,210	4,096～ 8,192	18	16～ 32

抗体形成に及ぼす温度条件について、従来多くの実験が試みられており、川津¹⁾は、抗体形成の見られない温度は、温水性魚類は比較的高く、冷水魚ではかなり低いと予想され、抗体形成速度は、低温下ではおそらく、一定の抗体価に到達するまでに長時間を要するが、温度が高くなるにつれて速度が早くなり、短時間で一定の抗体価に到達すると考えられると述べている。また文献上から抗体形成の適温を求めるとき、マス類では10～15°Cと結論できるとしている。本試験では、その事を裏づける結果が得られ、4月下旬よりワクチン接種区は、凝集素価が100以上に上昇しはじめているが、その時の水温は、11°C前後であり、その後も水温の上昇と共に、凝集素価も上昇している。

ワクチンの種類による、凝集素価上昇の相違は、明らかであった。すなわち、アジュバントワクチン区（1区・3区）は、接種後3～4ヶ月後に、1,000以上に上昇した後、8月中旬までそれ以上の価を維持している。ホルマリンワクチン区（2区）は、接種3ヶ月半後に最高値の339に達し、その後は逐次低下していった。

アジュバントワクチン区内での、抗原の由来による差は、凝集素価が1,000以上に達した時期を見ると、岐阜分離株を使用した区（1区）が、東京分離株を使用した区（3区）よりも約1ヶ月早

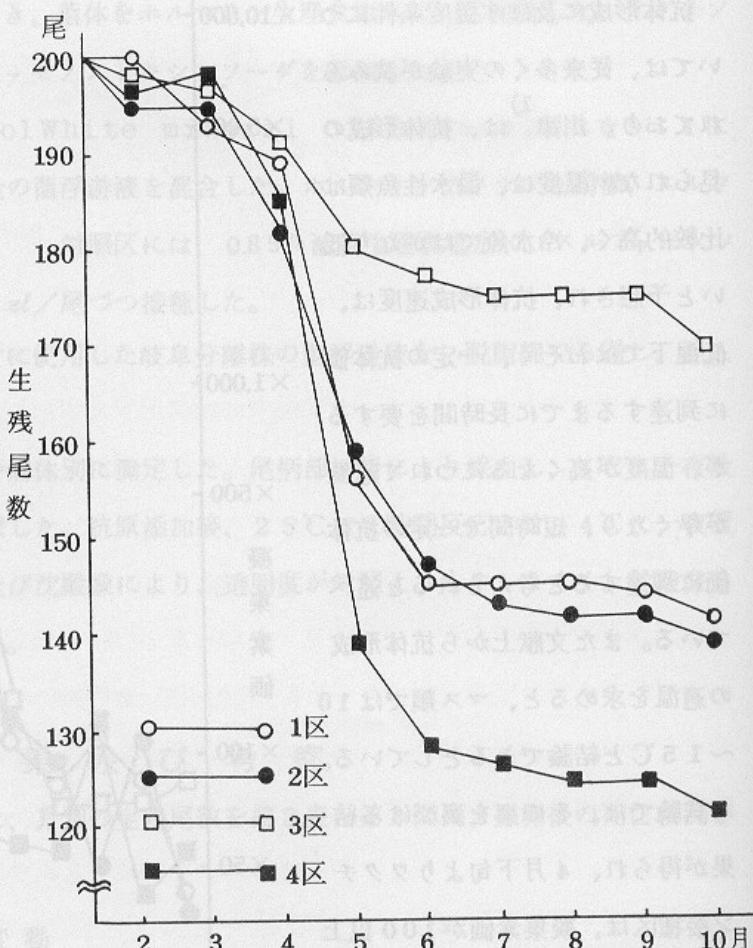


第2図 凝集価の変動

いが、個体差もかなりあるため、有意の差ではないであろう。

人工免疫による抗体価の上昇が疾病（自然感染）に対する抵抗性と一致するか否かが問題となっているが、本試験では、必ずしも一致していない。すなわち、1区では、凝集素価が1,000以上に達した5月中旬以後にも多数の死魚をだしている。3区の場合では、6月中旬に1,000以上に達し、それ以後は、ほとんど死魚が見られなかったが、対照区においても同様で、せっそう病の自然流行が終息する時期と重なったと思われる。

ワクチンの効果を生残尾数により、対照区と比較して検討するとワクチン接種区は、すべて有効であった。1区と3区のアジュバン



第3図 生 残 尾 数

第2表 月別生残尾数(尾)

月	1区	2区	3区	4区
2	199	197	198	198
3	194	196	196	198
4	189	182	191	185
5	156	159	180	139
6	145	147	177	128
7	145	143	175	126
8	145	142	175	124
9	144	142	175	124
10	141	139	170	121

第3表 採卵後の死亡

	1区	2区	3区	4区
死 魚 数(尾)	84	82	114	66
病 死 魚 数(尾)	6	5	20	16
病死魚の割合(%)	7.1	6.1	17.5	24.2

トワクチンの効果にも、有意差があり、抗原の由来による差であると思われる。同一抗原でのホルマリンワクチンとアジュバントワクチンの効果を検討したが、有意差は見られなかった。

採卵後は、全個体が死亡したが、病死魚（肉眼的にせっそう病と判断したもの）の比率は、対照区が最も高く、3区がやゝ高く、1区、2区が低かった。この結果は、採卵以前のワクチン効果と一致しない。Krantz等によると、ブラウンマスで高い凝集価が24ヶ月持続したとしているが、本試験では、採卵期に凝集素価の測定ができなかつたため、抗体価の持続については明らかではない。

要 約

1. アマゴの経皮せっそう病ワクチンの効果を検討した。
2. ワクチン接種区の凝集素価の上昇は、対照区よりも著しく、アジュバントワクチン区は、約5,000、ホルマリンワクチン区は、約300に達した。
3. すべてのワクチン接種区に効果が見られた。

文 献

- 1) 川津浩嗣, 1967; 魚類の免疫反応、日本誌、34(3), pp246~250
- 2) G. E. Krantz, J. M. Reddecliff, and C. E. Heist, 1964; Prog Fish-Cult. 26 pp3~10