

## せっそう病に関する研究—V

### アマゴに対する経皮ワクチン接種について (2)

森川 進・熊崎隆夫

<sup>1)</sup> 前報では、アマゴ (*Oncorhynchus rhodurus*) 1年魚に、3種類のホルマリン死菌ワクチンを腹腔に1回接種することによって、年間の生残率を10~25%向上させ得ることを明らかにした。この試験では、分離した場所の異なる抗原（東京分離株・岐阜分離株）を使用して、アジュバント処理をした2種類のワクチンの間に、免疫効果の差が見られ、抗原の違いによって免疫賦与効果に差があることが推察された。

そこで本試験では、東京分離株と岐阜分離株の免疫賦与効果の差を検討し、同時に供試尾数を前回の2倍に増加して、試験規模を事業規模に近づけた。

#### 試験の方法

実施期間は、1970年3月17日~10月5日である。

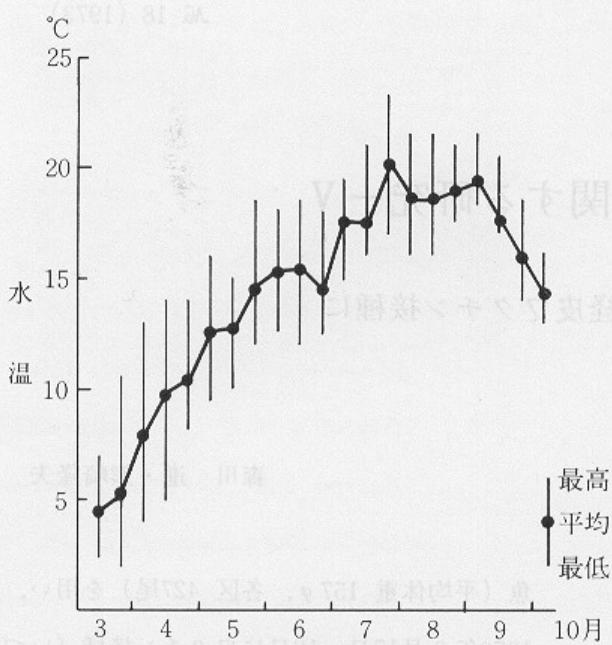
供試魚は、岐阜水試で飼育中のアマゴ1年

魚（平均体重 157 g、各区 427尾）を用い、1970年3月17日・18日にワクチン接種（いづれも腹腔1回接種）を行った。その後、マス用固体飼料（1日数回手まき給餌）で飼育を続け、毎日の死魚を記録した。各区にせっそう病の自然発病が見られたが、投薬処置は一切行なわなかった。

飼育には、長方形コンクリート池（長さ11.4 m×幅 2.3 m×水深 0.5 m）を用い、飼育用水は河川水で、飼育期間中の水温を第1図に示した。

試験区は次の5区を設定した。

- 1区 岐阜分離株G6901 ホルマリンワクチン区
- 2区 岐阜分離株G6901 アジュバントワクチン区
- 3区 東京分離株T69 ホルマリンワクチン区
- 4区 東京分離株T69 アジュバントワクチン区
- 5区 対照区（滅菌生理食塩水接種区）



第1図 旬別飼育水温

岐阜分離株G6901は、1969年12月に、当場において、アマゴより分離したもので、東京分離株T69は、東京水試奥多摩分場より、1968年に分株されたものである。

ホルマリンワクチンは、上記2株の*A.salmonicida*を2回魚体通過させた後、普通寒天培地に25°C・48時間培養したものを、0.5%ホルマリン生理食塩水中に、37°C・48時間保って不活化した後、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て調整した。ワクチン接種時に、100mg/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Aracel83を9:1に混合し、これにワクチン接種時に、菌量が2倍のホルマリンワクチンを等量混合し、注射器を用いてよく攪拌して調整した。ホルマリンワクチン

と同様、スルファモノメトキシンを添加した。

各区とも、接種菌量は、湿菌重量で0.4mg/尾、接種ワクチン量は、0.1ml/尾であった。

対照区には、0.85%滅菌生理食塩水に、各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もの、0.1ml/尾腹腔に接種した。

凝集素価の測定は、ワクチン接種約70日後からほぼ半月毎に行なった。抗原には、岐阜分離株G6901を用い、各区1回4尾づつ個体別に常法に従って測定した。なお血清の非動化は行なわなかった。

## 結果および考察

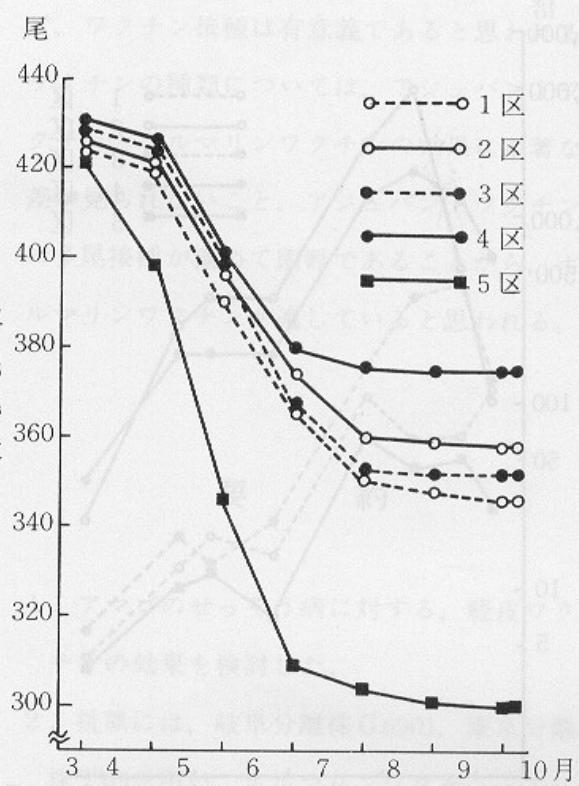
毎月の死亡尾数を第1表に、毎月末の生残尾数を第2図に示した。凝集素価の変動を第2表と第3図に示した。

各区の生残尾数を検討すると、すべてのワクチン接種区に免疫効果が見られ（最も生残率が低い1区： $\chi^2=13.499$  P<0.05），対照区と比較して生残率が、1区10.7%，2区13.5%，3区12.1%，4区17.5%向上した。

これは前報とほぼ一致している。<sup>1)</sup>アマゴの池中養殖における、せっそう病による年間の死亡率は、普通20~30%であり、ワクチン接種によって、十数パーセント生残率を向上させ得ることは、有意義であると言える。しかし、ワクチン有効率（対照区の死亡尾数を100%としたときの、各区の死亡尾数減少率）は、1区36%，2区46%，3区41%，4区59%で

第1表 毎月の死亡尾数

	1区	2区	3区	4区	5区
月	尾	尾	尾	尾	尾
3	1	1	0	1	2
4	6	5	4	3	27
5	24	31	25	24	52
6	30	16	30	19	37
7	15	14	15	4	5
8	3	1	1	1	3
9	2	1	0	0	1
10	0	0	0	0	0
合計	81	69	75	52	127
生残率	81.0	83.8	82.4	87.8	70.3

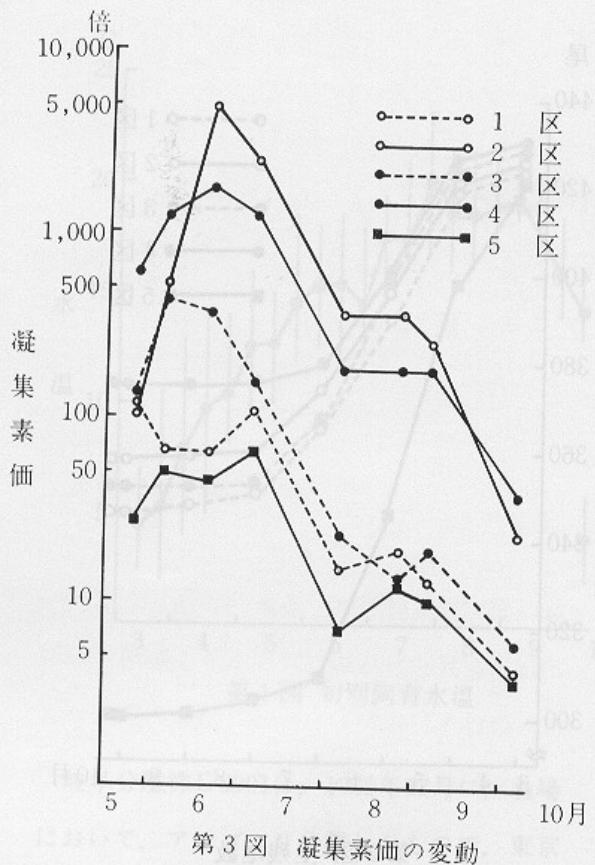


第2図 生残尾数

第2表 凝集素価

採血月日	1区	2区	3区	4区	5区
5.24	128 ( 128 )	108 ( 64-128 )	128 ( 64-256 )	609 ( 128-2,048 )	27 ( 16- 64 )
6.4	76 ( 32-128 )	512 ( 256-1,024 )	431 ( 256-512 )	1,218 ( 1,024-2,048 )	51 ( 16-256 )
6.18	64 ( 32-128 )	4,871 ( 2,048-16,384 )	362 ( 128-512 )	1,722 ( 1,024-4,096 )	45 ( 16-128 )
7.2	108 ( 64-128 )	2,436 ( 2,048-4,096 )	152 ( 128-256 )	1,218 ( 512-2,048 )	64 ( 64 )
8.6	16 ( 16 )	362 ( 256-512 )	23 ( 16- 32 )	181 ( 128-512 )	7 ( 4- 16 )
8.24	19 ( 8- 32 )	362 ( 128-2,048 )	13 ( 8- 16 )	181 ( 64-512 )	13 ( 4- 64 )
9.2	13 ( 8- 32 )	256 ( 32-512 )	19 ( 8- 64 )	181 ( 64-512 )	10 ( 8- 16 )
10.5	4 ( 4 )	23 ( 4-128 )	6 ( 4- 8 )	38 ( 32- 64 )	4 ( 4 )

( )は幅を示す。



第3図 凝集素価の変動

あり、この数字を100に近づけること、すなわちワクチンの有効性を高めることが今後の課題であろう。

岐阜分離株と東京分離株との、抗原の違いによる効果の差は、ホルマリンワクチン区、アジュバントワクチン区共、東京分離株の方が有効性が高い傾向を示したが、有意差は無かった（ホルマリンワクチン区： $\chi^2 = 0.283$   $P < 0.05$ 、アジュバントワクチン区： $\chi^2 = 2.782$  <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ）。なお前報では、アジュバントワクチン区で東京分離株の方が有効性が高かった。

ホルマリンワクチンとアジュバントワクチンとの、種類による効果の差は、岐阜分離株では、アジュバントワクチン区の方が、やや高い有効性を示したが、有意差はなかった。

( $\chi^2 = 1.165$   $P < 0.05$ )。東京分離株では、アジュバントワクチン区の方が、高い有効性を示した ( $\chi^2 = 4.893$   $P < 0.05$ )。なお前報では、岐阜分離株で差が見られなかった。

凝集素価は、第1回測定を5月下旬に行なったが、接種後約70日経過していること、飼育水温が接種約1ヶ月後より、10°C以上に上昇していたことのために、1区×128、2区×108、3区×128、4区×609と、各ワクチン接種区ともかなりの上昇を示していた。全般的には、接種約90日後に最高に達し、接種約110日後より低下していった。

ホルマリンワクチン区について見ると、岐阜分離株区（1区）では、最高が接種約70日後に×128であり、顕著な上昇は見られなかった。東京分離株区（3区）では、接種約80日後に最高×431に達し、岐阜分離株区に比して、高い上昇が見られた。

アジュバントワクチン区について見ると、岐阜分離株区（2区）では、接種約90日後に最高×4,871を示し、その後低下したが、接種約170日後でも×256を示した。東京分離株区（4区）は、接種約90日後に最高×1,722に達し、その後は岐阜分離株区と同様な変動を示した。

対照区は、7月初旬に最高×64を示したのみで全般に低い値であった。

以上の事から、各ワクチン接種区は、対照区に比較して、凝集素価の上昇が見られ、上昇の度合は、抗原の種類にかかわらず、ワクチンの種類によって大きな差があり、アジュ

バントワクチン区の方が、ホルマリンワクチン区に比較して高い値を示し、その持続性も良かったと言える。

前報と比較すると、対照区、ホルマリンワクチン区は、ほぼ同様の傾向を示したが、アジュバントワクチン区で、高い凝集素価の持続性に差が見られた。すなわち、前報では、接種3～4ヶ月後に×1,000以上に達し、2～3ヶ月以上その値を持続していたが、本試験では、その値は約1ヶ月間しか持続しなかった。

ワクチンの効果と、凝集素価の相関について見ると、免疫効果の見られた各ワクチン接種区は、対照区に比して全般的にかなり高い値を示したので、凝集素価の上昇と免疫効果とは関連があると思われる。しかし、アジュバントワクチン区の凝集素価の上昇は、ホルマリンワクチン区に比して著しいが、免疫効果には顕著な差が認められなかった。前報も同様な傾向であり、凝集素価の上昇、すなわち抗体形成がある一定以上のレベルに達すれば免疫効果があがるものと思われる。このレベルを凝集素価の絶対的な数字で表わすことは各研究者によって手技の違いもあり困難であるが、1969年、1970年の結果から推察すると×300程度であると思われる。なお本試験の岐阜分離株ホルマリンワクチン区は、最高×128にしか達しなかったが、免疫効果が見られた。

実用化については、前述したように、年間の生残率を、十数パーセント向上させ得るの

で、ワクチン接種は有意義であると思われる。ワクチンの種類については、アジュバントワクチンとホルマリンワクチンの効果に顕著な差が見られないこと、アジュバントワクチンの多尾接種が極めて困難であることから、ホルマリンワクチンが適していると思われる。

## 要 約

1. アマゴのせっそう病に対する、経皮ワクチンの効果を検討した。
2. 抗原には、岐阜分離株G6901、東京分離株T69を用い、ホルマリンワクチン、アジュバントワクチンとした。
3. すべてのワクチン接種区に免疫効果が見られ、その有効率は、36～59%であった。
4. 抗原、ワクチンの種類による明確な差は見られなかった。
5. 各ワクチン接種区の凝集素価は、対照区よりも高く、ホルマリンワクチン区で×431、アジュバントワクチン区で×4,871に達した。

## 文 献

- 1) 森川進・家坂剛正・熊崎隆夫、1971；せっそう病に関する研究-II、アマゴに対する経皮ワクチン接種について、岐水試研報No16, pp73～77。