

ます類のビブリオ病ワクチンに関する研究 - I

岐阜水試における浸漬ワクチン効果判定試験

森川 進・細江重男^{*}・田代文男

Studies on the Vaccination for the Vibriosis of Salmonids - I

On the Effect of the Immersion Vaccine Tested in the Experimental Station

Susumu MORIKAWA · Shigeo HOSOE · Fumio TASHIRO

ます類のビブリオ病は、ニジマス (*Salmo gairdneri*)、ヤマメ (*Oncorhynchus masou*) およびアマゴ (*O. rhodurus*) 等に見られ、殊にニジマスにおいては、IHN症とならんで最も被害の大きい疾病である。本病の治療対策としては、抗菌剤の経口投与が有効であるが、近年本病原菌の薬剤耐性株が増加しつつあり¹⁾、また、薬事法の改正によって水産用医薬品の使用規制が厳しくなりつつある点を考慮するとワクチンによる予防対策の確立が望まれる。

欧米においては、サケ科魚類のビブリオ病に対してワクチンが市販されており、本試験では新生物学的製剤研究会の共同試験の一環として

米国ビットマン・ムーア社製のサケ科魚類用ビブリオ病バクテリアンについて研究機関内における有効性を検討した。

なお本研究の一部は、近海漁業資源の家魚化システムの開発に関する総合研究として実施された。

試験の方法

試験は新生物学的製剤研究会の取り決めに従い、ワクチン処理時の水温が10℃附近および15℃附近の2回行った。

※現在 益田県事務所農務課

試験-I 1980年9月29日～1981年10月25日

試験区 ワクチン処理区および無処理対照区を設けた。

供試魚 岐阜水試で飼育された、平均体重9.1gのニジマス0年魚を各区500尾ずつ用いた。なお、これらの供試魚は、過去にIHNの発病歴はあるが、ヒブリオ病および抗菌剤の使用歴はないものである。

供試ワクチン 米国ピットマン・ムーア社製 (Lot. 304T) のもので、血清型がJ-O-1型およびJ-O-3型の *Vibrio anguillarum* の培養菌体と培地成分を含むものである。

飼育方法 長さ4.0×巾1.4×水深0.5mの長方形コンクリート池を用い、河川水を使用して、流水飼育とした (換水率3.9回/時)。飼育水温は図に示すとおりである。

ワクチン処理 ワクチン原液1ℓを飼育水で10倍希釈し、使用ワクチン液10ℓを調整して供試魚4,570gを2分間、通気をしながら浸漬した。

使用ワクチン液の液温は17.0℃であった。

飼育試験 飼育は、ワクチン処理後391日間行ったが、ワクチン処理の影響を見るために処理後184日間、飼育試験を行った。

攻撃試験 ワクチン処理後22、130、235および360日に攻撃試験を行った。攻撃試験に用いた菌株は、*Vibrio anguillarum* biotype2, N-7802株で血清型はJ-O-1型である。供試菌株を1%食塩加ブレインハートインフュージョン培地 (栄研) を用いて、20℃・48時間培養し、1%の食塩を加えた飼育水で希釈し、所定の菌数の菌浮遊液を調整した。これらの菌浮遊液に各区25尾の供試魚を通気しながら20分間浸漬した後清水に戻して14～24日間観察した。なお菌浮遊液の量は、供試魚体重の10倍を基準とした。

試験-II 1981年5月29日～1981年10月14日

試験区 試験-Iと同様である。

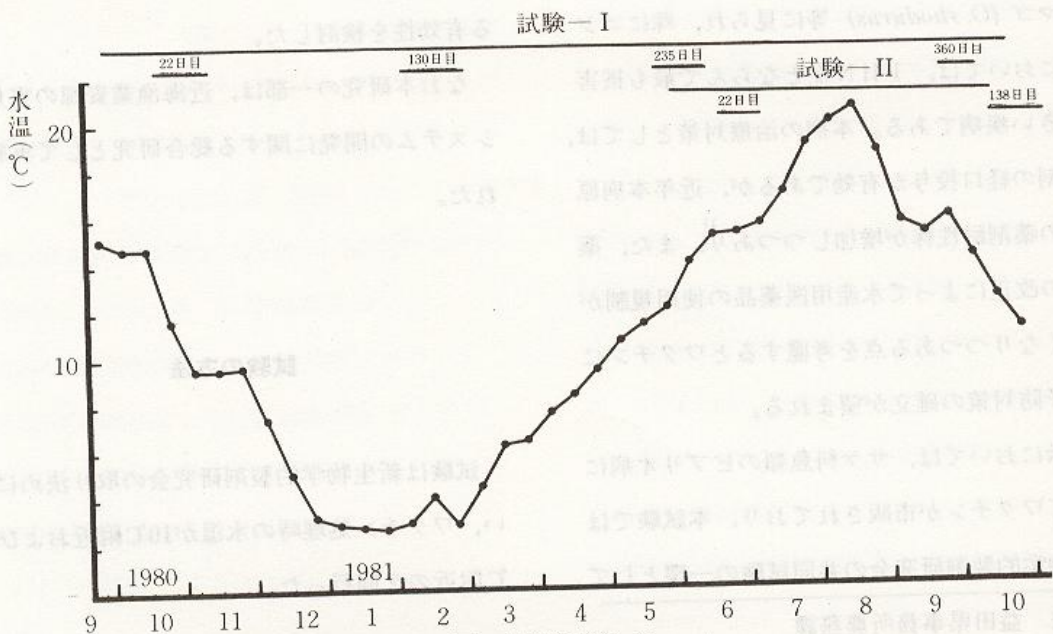


図 旬別飼育水温

供試魚 岐阜水試で飼育されたニジマス1年魚(平均体重、無処理対照区12.6g、ワクチン処理区11.9g)を各区500尾ずつ用いた。供試魚の病歴等は試験-Iと同様である。

供試ワクチン飼育方法 試験-Iと同様である。

ワクチン処理 ワクチン原液0.5ℓを飼育水で10倍希釈し、使用ワクチン液5ℓを調整して、供試魚5,950gを2回に分けて2分間ずつ、通気をしながら浸漬した。使用ワクチン液の液温は10.3℃であった。

攻撃試験 ワクチン処理後22および138日目に攻撃試験を行った。攻撃試験に用いた菌株は試験-Iで使用したN-7802株および1981年7月30日に県内の養鱒場のニジマス1+から分離された*Vibrio anguillarum* biotype 2のVMG8102株(血清型:J-O-1型)で、方法は実験-Iと同様である。

結果

ワクチン処理の影響 試験-IおよびIIともワクチン処理後に供試魚の異常は認められなかった。

試験-Iの飼育試験結果を第1表に示した。両区ともピブリオ病の自然発病は見られず、各項目ともほぼ同様の値であり、ワクチン処理による影響は認められなかった。試験-IIでは特に飼育試験は行わなかったが、供試魚にワクチン処理の影響は認められなかった。

第1表 試験-Iの飼育試験結果

	ワクチン区	無処理対照区
放養尾数(尾)	500	500
放養重量(g)	4,570	4,570
放養平均体重(g)	9.1	9.1
取上尾数(尾)	306	305
取上重量(g)	9,670	9,790
取上平均体重(g)	31.6	32.1
斃死尾数(尾)	18	18
※斃死重量(g)	370	370
処理尾数(尾)	175	175
処理重量(g)	3,800	3,870
不明尾数(尾)	-1	-2
※不明重量(g)	20	40
※※斃死率(%)	5.5	5.5
※※生残率(%)	94.2	93.8
給餌量(g)	11,000	11,200
増重量(g)	8,900	9,090
補正増重量(g)	9,290	9,500
飼料効率(%)	80.9	81.2
補正飼料効率(%)	84.5	84.8
日間給餌率(%)	0.73	0.74
日間成長率(%)	0.68	0.69
成長倍率	3.47	3.53

※推定値 ※※放養尾数より処理尾数を減じたものを分母とした。

ワクチン効果 試験-IおよびIIとも、ピブリオ病の自然発病はまったく見られず、自然発病によってワクチン効果を判定することはできなかった。そこで試験-Iではワクチン処理後22、130、235および360日目に、試験-IIでは22

および138日目に攻撃試験を行い、その結果を第2表および第3表に示した。いずれの攻撃試験においても、ワクチン処理区と無処理対照区のピブリオ病による斃死率には有意差 ($P < 0.01$) があり、ワクチン効果が認められた。

考 察

ワクチン処理の影響 ワクチン処理後に供試魚に異常が認められなかったこと、および処理後184間の飼育試験においてもワクチン処理の悪影響が認められなかったことから、本ワクチンの10倍希釈・2分間浸漬処理は、養殖ニジマスに対して安全であると思われる。

第2表 試験Ⅰにおける攻撃試験結果

ワクチン処理後日数	攻撃菌濃度 (CFU/ml)	ワクチン処理区			無処理対照区			有意差検定	攻撃菌液温 (°C)	観察期間中飼育水温(°C)
		供試尾数	平均体重g	斃死尾数	供試尾数	平均体重g	斃死尾数			
22	7.4×10^5	25	15.8	0	24	15.8	22	P < 0.01	13.0	8.7~13.8
	7.4×10^4	25		0(1)*	25		22			
130	2.4×10^5	25	30.1	2(3)*	25	30.1	16(2)*	P < 0.01	12.0	11.2~13.8
	2.4×10^4	25		0(5)*	25		12(5)*			
235	1.1×10^6	25	89.0	2	25	89.0	20	P < 0.01	10.5	10.0~12.0
	1.1×10^5	23		0	25		17			
360	2.2×10^5	25	255.0	4	23	255.0	18	P < 0.01	15.0	14.7~16.6
	2.2×10^4	24		3	25		14			

※ピブリオ病以外の斃死尾数

第3表 試験Ⅱにおける攻撃試験結果

ワクチン処理後日数	攻撃菌株	攻撃菌濃度 (CFU/ml)	ワクチン処理区			無処理対照区			有意差検定	攻撃菌液温(°C)	観察期間中飼育水温(°C)
			供試尾数	平均体重g	斃死尾数	供試尾数	平均体重g	斃死尾数			
22	N-7802	1.7×10^6	25	27.3	0	25	27.3	25	P < 0.01	14.1	14.1~15.7
		1.7×10^4	25		0	25		17			
138	N-7802	6.0×10^3	24	162.0	4	24	171.6	24	P < 0.01	12.2	11.0~13.1
		6.0×10^2	24		5	24		22			
	VMG8102	7.9×10^5	25	162.0	10	24	171.6	20	P < 0.01	12.2	11.0~13.1
		7.9×10^4	25		5	24		17			

ワクチン効果 いずれの試験においても、ビブリオ病の自然発病がなく、ワクチン効果の判定を攻撃試験によって行ったが、ワクチン処理後22日目から360日目までのいずれの攻撃試験においても、ワクチンの高い有効性が認められた。

本試験では、ニジマスの養殖が種々の条件下で行われていることを考慮して、ワクチン処理時の水温が10.3℃と17.0℃の場合の比較を試みたが、いずれの場合も高い有効性が認められた。今後は更に低水温での検討が必要であると思われる。

ワクチン効果の持続性については、Evelyn & Ketcheson³⁾は、sockeye salmonで7ヵ月間、Amend & Johnson⁴⁾は、coho salmonで300日間と報告しており、本試験(試験-I)でも360日間以上の持続が認められた。しかし群馬水試⁵⁾は、処理後200日目に効果が低下している例を報告している。これらの相違は、本試験ではワクチン処理後約2ヵ月半以降に飼育水温が5℃以下の期間が約3ヵ月間あったのに対し、群馬の例では飼育水温が15℃前後で一定していたことと関連していると思われ、免疫獲得後に低い飼育水温で飼育されることがワクチン効果の持続性を高めるという知見を裏づけるものと思われた⁴⁾。

試験-IIのワクチン処理後138日目の攻撃試験において、新鮮分離株のVMG 8102株を使用したところ、N-7802株と同様、ワクチンの有効性が認められたことから、本ワクチンは野外におけるビブリオ病の自然感染に対しても、

防御能を持つことが示唆された。

以上のように、本ワクチンは安全性および有効性が高いことが明らかになった。今後は野外における自然発病魚群での安全性および有効性を確認する必要があると思われる。

文 献

- 1) 森川 進, 未発表
- 2) 絵面良男・田島研一・吉水 守・木村喬久, 1980; 魚類 *Vibrio* 属病原菌の分類学的ならびに血清学的検討, 魚病研究, 14(4), pp167~179
- 3) Evelyn, T.P.T. and J.E.Ketcheson, 1980; Laboratory and field observations on anti vibriosis vaccines. Fish Disease. IIIrd COPRAQ-Session in W. Ahne(ed), Springer - Verlag, Berlin, 60-68
- 4) Amend, D.F. and K.A.Johnson, 1981; Current status and future needs of *Vibrio anguillarum* bacterins, International Symposium on fish biologics: Serodiagnostics and Vaccines, Leetown, W.Va., U.S.A., Develop. biol. Standard. 49, 403-417
- 5) 群馬県水産試験場, 1981; 第3回新生物学的製剤研究会資料