

アユのビブリオ病ワクチンに関する研究

中居 裕

Studies on Immersion Vaccination
against Vibriosis in Ayu (*Plecoglossus altivelis*)

Yutaka NAKAI

1988年8月15日にアユのビブリオ病不活化ワクチンの製造承認がなされ、わが国で初めての水産用ワクチンが使用可能となった。全国湖沼河川養殖研究会アユビブリオ病研究部会は本ワクチンの製造承認に必要な知見の収集に大きな役割を果たした。しかし、用法用量は3g以上のアユに限定されたため、3g未満のアユへの用法用量の拡大が課題とされた。現行の10倍2分（以下標準法）での3g未満のアユへの拡大と、標準法よりも低濃度で長時間のワクチン処理（以下低濃度長時間法）への事項変更の両面から検討されたが、1992年4月4日に低濃度長時間法の事項変更が認められた。この事項変更についても本部会は連絡試験を実施¹⁻³⁾し、必要な知見の収集を行った。本研究は本ワクチン承認後に現場が実施した連絡試験を取りまとめたものである。

材料及び方法

実験1 3g未満のアユにおけるワクチン処理（標準法）の影響について

供試魚（財）岐阜県魚苗センター産アユ（以下人工産アユ）を用いた。供試尾数・平均体重は第1表のとおりである。

ワクチン処理 自家製ワクチン（供試菌株：VM8414）を用いて標準法でワクチン処理後、飼育池に収容したものを実験区とした。対照区は無処理のまま屋外池に収容した。なお実験は2回実施した。

飼育条件 各区は170×46×40（実水深）cmのコンクリート製の池を用いた。用水は地下水である。観察期間は1週間で、その間は1日1回給餌（配合飼料：全農）した。

実験2 アユのビブリオ病不活化ワクチンの

低濃度長時間法における希釈濃度と浸漬時間の

検討－Ⅰ

供試魚 人工産アユを用いた。供試尾数・平均体重は第2表のとおりである。

ワクチン処理 ワクチンはピシバックVAアユ（共立商事製）を用いた。ワクチン液50ℓに供試魚を通気しながら所定の時間を浸漬したものを実験区とした。実験区はワクチン濃度・浸漬時間により次の2区を設定した。

実験区1：500倍・60分

実験区2：2000倍・120分

対照区は飼育水に通気しながら、120分浸漬した。各区とも処理後、飼育池に収容した。

飼育条件 各区には以下の大きさのコンクリート製の池を用いた。

実験区1・2：377×134×40（実水深）cm

対照区：402×141×50（実水深）cm

用水は河川水で、換水率は4～8回/時とした。観察期間は91日とし、期間中は自動給餌器を用いて1日1回配合飼料（全農）を与えた。

有効性の判定 ワクチン処理後61・91日後に *Vibrio anguillarum*（PT479株）を用いて実験感染（1%食塩加菌液中に通気しながら10分間浸漬）を行い、ワクチンの有効性を判定した。感染後は20ℓ水槽に収容し、無給餌で14日間観察した。用水は地下水である。斃死魚がビブリオ病で斃死したかどうかはその症状で判断した。症状で判断できない場合は常法の細菌分離を行い、供試菌の分離の有無で判断した。

実験3 アユのビブリオ病不活化ワクチンの低濃度長時間法における希釈濃度と浸漬時間の

検討－Ⅱ

供試魚 人工産アユを用いた。供試尾数・平均体重は第3表のとおりである。

ワクチン処理 ワクチンはアユ・ビブリオ病不活化ワクチン“日生研”を用いた。ワクチン処理は供試魚を通気しながら所定の時間を浸漬した。実験区はワクチン濃度・浸漬時間により次の3区を設定した。

実験区1：200倍・60分

実験区2：400倍・60分

実験区3：10倍・2分

対照区は無処理とした。各区とも処理後、飼育池に収容した。

飼育条件 ワクチン処理後から45日間は岐阜県魚苗センターで飼育した。飼育状況は以下のとおりである。

水槽：100（直径）×63（実水深）cmの
ンライト水槽

用水：地下水

換水率：0.72回/時

給餌方法：配合飼料（オリエンタル）を手撒きで1日3回給餌した。

その後、岐阜県水産試験場に移動し、実験終了まで飼育した。飼育状況は以下のとおりである。

水槽：377×134×40（実水深）cmのコンクリート製の池

用水：河川水

換水率：4～8回/時

給餌方法：配合飼料（全農）を自動給餌器で1日1回給餌した。

有効性の判定 ワクチン処理後64・90日後に感染実験を行い、ワクチンの有効性を判定した。方法は実験2と同じである。

結 果

実験1 結果を第1表に示す。斃死率の χ^2 検定では1回目は1%の水準で有意差が認められたが、2回目では有意差が認められなかった。

実験2 飼育成績を第2表に示す。飼育期間中の斃死はわずかで、ビブリオ病発生はなかった。

実験感染結果を第3・4表に示す。実験区1・2とも61日後の有効率は高かったが、91日後は実験区1では高い有効率であったが、実験区2では有効率はかなり低下した。

実験3 飼育成績を第5表に示す。飼育期間中の斃死はわずかで、ビブリオ病発生はなかった。

実験感染結果を第6・7表に示す。実験区1～2とも64日目の有効率は高く、90日目においても各実験区とも高い有効率を維持していた。

考 察

実験1の斃死率の χ^2 検定によると1回目は1%の水準で有意差が認められたが、2回目では有意差が認められなかった。この実験は同じ

日に2回実施しており、実験条件にほとんど差はなかったと考えられる。それにもかかわらず1回目の実験でワクチン処理区の斃死に有意な差が認められた。このことは少なくとも1.5g位の稚魚では標準法のワクチン処理による斃死が起こり得ることを示しており、標準法での3g未満の魚の使用拡大は困難と考えられた。

実験2からワクチン処理後61日目までは、500倍60分、2000倍120分の処理で有効であった。91日目では2000倍120分の有効率はかなり低下し、500倍60分に比べて持続性が劣るものと考えられた。2000倍ではワクチン液容量の1%のアユ重量（平均体重1g）の処理で1尾当たりの費用が標準法（平均体重3g）とほぼ同様となる。実験2ではワクチン液容量の3%のアユ重量を処理したが、安全性に問題はなかった。したがって、効力の持続性が問題として残った。

実験3から200倍60分、400倍60分ともに90日目まで高い有効率を維持していた。200倍ではワクチン液容量の10%のアユ重量（平均体重1g）の処理で1尾当たりの費用が標準法（平均体重3g）とほぼ同様となる。実験3ではワクチン液の2.75%のアユを処理したが、10%のアユ重量での処理に対する安全性を検討する必要があるが残った。

第1表 実験1の試験結果

	1 回 目		2 回 目	
	実験区	対照区	実験区	対照区
供 試 尾 数	705	718	779	794
平 均 体 重	1.49 g		1.36 g	
斃 死 尾 数	35	15	22	16
累 積 斃 死 率	5.0%	2.1%	2.8%	2.0%

第2表 実験2の飼育成績

飼育期間		0～61日			62～91日		
区分		実験区1	実験区2	対照区	実験区1	実験区2	対照区
項目	開始時尾数	220	220	220	102	105	101
	開始時重量(g)	1500	1500	1500	1591	1397	1959
	平均体重(g)	6.8	6.8	6.8	15.6	13.3	19.4
	終了時尾数	201	206	205	101	104	99
	終了時重量(g)	3136	2740	3977	2200	2450	2700
	平均体重(g)	15.6	13.3	19.4	26.2	22.7	27.8
	成長倍率	229	196	285	168	171	143
	死亡尾数	19	14	15	1	1	2
	不明尾数	0	0	0	-17	+4	-2
	生残率	91.4	93.6	93.2	82.4	102.9	96.0
	供試尾数	99	101	104	77	77	78
	給餌量(g)	1850	1550	3000	1100	1200	1000
	補正増重量(g)	1636	1240	2477	964	981	788
	飼料効率	88.4	80.0	82.6	87.6	81.8	82.6
	給餌率(%/日)	1.37	1.22	1.93	1.22	2.27	1.33
	成長率(%/日)	1.36	1.10	1.72	1.73	1.78	1.20
	水温(平均)[℃]	14.0～18.5 (16.3)			21.8～16.8 (19.3)		

第3表 実験2の攻撃試験結果(61日目)

攻撃菌数 (CFU/ml)	実験区	供試 尾数	ビブリオ病による斃死状況(経過日数)														ビブリオ病による 斃死総数・死亡率(%)	有効率 (%)
1.2×10 ⁵	実験区1	26	1* 4 1														6 23.1	72.7
	実験区2	26	2 2														4 15.4	81.8
	対照区	26	11 4 7														22 84.6	—

*: 斃死尾数

試験期間中の水温: 19.0～20.5℃

第4表 実験2の攻撃試験結果(91日目)

攻撃菌数 (CFU/ml)	実験区	供試 尾数	ビブリオ病による斃死状況（経過日数）														ビブリオ病による 斃死総数・死亡率(%)		有効率 (%)
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			
4.7×10 ⁴	実験区 1	24	2* 1														3	12.5	83.6
	実験区 2	25	5 6 1														12	48.0	37.0
	対 照 区	21	1 10 3 1 1														16	76.2	—

* : 斃死尾数

試験期間中の水温 : 19.0~20.5℃

第5表 実験3の飼育成績

飼 育 期 間		0 ~ 61 日				65 ~ 90 日			
区 分		実験区1	実験区2	実験区3	対 照 区	実験区2	実験区2	実験区3	対 照 区
項 目	開始時尾数	786	786	786	1000	589	591	603	638
	開始時重量(g)	550	550	550	700	942.4	1004.7	964.8	1339.8
	平均体重(g)	0.7	0.7	0.7	0.7	1.6	1.7	1.6	2.1
	終了時尾数	589	591	603	638	504	646	506	456
	終了時重量(g)	942.4	1004.7	964.8	1339.8	1455	1775	1395	1395
	平均体重(g)	1.6	1.7	1.6	2.1	2.9	2.7	2.8	2.8
	成長倍率	228.6	242.9	228.6	300.0	181.3	158.8	175.0	142.9
	死亡尾数	42	29	24	32	1	1	3	23
	不明尾数	0	0	0	0	-19	-161	-4	-49
	生 残 率	94.7	96.3	96.9	96.8	103.1	127.1	100.2	104.1
	供試尾数	167	166	159	330	103	105	208	98
	給 餌 量(g)	1550	1550	1550	1550	1025	1025	1025	1025
	補正増重量(g)	707.9	771.7	696.8	1377.6	813.6	1056.3	711.2	702.9
	飼料効率	45.7	49.8	45.0	88.9	79.4	103.0	69.4	68.6
	給餌率(%/日)	1.27	1.25	1.08	1.27	1.32	1.27	1.35	1.32
	成長率(%/日)	0.91	0.94	0.91	1.03	1.20	1.15	1.19	1.10
	水温(平均)[℃]	10.6~17.9 (14.3)				13.3~20.1 (16.7)			

第6表 実験3の攻撃試験結果(64日目)

攻撃菌数 (CFU/ml)	実験区	供試 尾数	ビブリオ病による斃死状況（経過日数）														ビブリオ病による 斃死総数・死亡率(%)		有効率 (%)
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			
2.01×10 ⁶	実験区 1	31					1	*	1								2	6.5	93.2
	実験区 2	32															0	0.0	100.0
	実験区 3	26															0	0.0	100.0
	対 照 区	25			14	7		2	1								24	96.0	—

* : 斃死尾数

試験期間中の水温 : 16.6~18.5°C

第7表 実験3の攻撃試験結果(90日目)

攻撃菌数 (CFU/ml)	実験区	供試 尾数	ビブリオ病による斃死状況（経過日数）														ビブリオ病による 斃死総数・死亡率(%)	有効率 (%)	
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			
1.62×10 ⁵	実験区 1	30				1*	2	1									4	13.3	84.4
	実験区 2	32				1	2		2								5	15.6	81.3
	実験区 3	30					1										1	3.3	96.0
	対 照 区	30				13	5	3	2	1	1						25	83.3	—

* : 斃死尾数

試験期間中の水温 : 16.8~19.5°C

要 約

文 献

1. 3g未満のアユにおけるワクチン処理(標準法)の影響について検討した結果, ワクチン処理の影響と考えられる斃死が認められた。
2. アユのビブリオ病不活化ワクチンの低濃度長時間法における希釈濃度と浸漬時間を検討した。平均体重6.8gのアユではワクチン処理後61日目までは500倍60分, 2000倍120分の処理で有効であった。91日目では2000倍120分の有効率はかなり低下した。平均体重0.7gのアユではワクチン処理後90日目まで200倍60分, 400倍60分の処理で有効であった。

- 1) 全国湖沼河川養殖研究会アユビブリオ病研究部会 1988 ; 1988年度研究部会資料。
- 2) ————— 1989 ; 1989年度研究部会資料。
- 3) ————— 1990 ; 1990年度研究部会資料。