

# ワクチンの実用化に関する研究 -

## ビブリオ病ワクチンの海産魚への効能拡大（抄録）

沢田健蔵・池脇義弘

ビブリオ病（*Vibrio anguillarum* 感染症）は、海産魚類では主に稚魚期に発生し、養殖魚だけでなく近年盛んになってきた放流用海産魚類種苗の中間育成時にも発生し、時には大きな被害を与えている。本研究は、海産魚類稚魚の本疾病に対する防疫対策として、現在市販されているアユビブリオ病不活化ワクチンの効果を調べることを目的としておこなった。

本研究では、ワクチンの安全性試験をヒラメ稚魚で、室内飼育によるワクチンの効果判定試験（薬理試験）をヒラメ、マダイ、トラフグの稚魚で、野外（中間育成場）でのワクチン効果判定試験（臨床試験）をヒラメ稚魚でそれぞれおこなった。なお、試験結果の詳細については、平成4年度魚病対策技術開発研究成果報告書を参照されたい。

### 安全性試験

平均体重 0.27g のヒラメ稚魚各 20 尾を、ワクチン原液、ワクチン 10 倍希釈液、海水の各溶液（水温 15.6℃）に浸漬率 20% で 10 分間浸漬し、その後 2 週間斃死の有無等を観察した。

各区共に供試魚に処理後の異常はみられず、また、観察期間中の斃死もなかったことより、アユビブリオ病ワクチンはヒラメ稚魚に対して安全であると判断された。

### 薬理試験

各魚種でワクチン処理（100 倍希釈・10 分浸漬）をした実験区（免疫区）と、無処理の実験区（対照区）を設定し、2 ヶ月間の飼育期間中の Atype ビブリオ病による斃死状況を比較した。

ワクチン処理時の平均体重はヒラメ、マダイ、トラフグがそれぞれ 0.82, 0.37, 0.46g でその後 2 ヶ月間順調に成長した。トラフグの試験区のみイクチオポド症、Ctype ビブリオ病および滑走細菌症によるまとまった斃死がみられたが、免疫区と対照区との間に明確な斃死尾数の差はみられなかった。

全ての魚種で Atype ビブリオ病の発生はなかったため、試験開始後 1 ヶ月および 2 ヶ月後に供試魚の一部を実験感染させてワクチンの効果を判定した。1 ヶ月後の実験感染では、ヒラメは不明魚数が多かったため明確な判定はできなかったが、免疫区の生残率が対照区を下回ることにはなかった。マダイでは、免疫区の生残率が対照区に比べ最大 40% 上回りワクチンの効果が確認された。トラフグは感染がほとんど成立せず効果判定はできなかった。2 ヶ月後の実験感染では全魚種で感染が成立せず、ワク

チンの効果判定はできなかった。

## 臨床試験

徳島県内の漁業協同組合の中間育成場（32m<sup>2</sup>の循環水槽 2 面）で中間育成するヒラメ種苗を用い、ワクチンの野外試験を実施した。

ワクチン処理法は薬理試験と同じワクチン液希釈倍率 100 倍、浸漬時間 10 分で、片方の水槽について収容する前に全数（およそ 17,500 尾、平均体重 0.43g）ワクチン処理を施した。このワクチン処理した実験区（免疫区）に対し、ワクチン処理をしなかった実験区（対照区）も収容尾数を同じにして設定し、2 ヶ月間の Atype ビブリオ病による斃死尾数を比較した。

2 ヶ月間の総斃死尾数は、免疫区が 1,409 尾、対照区が 4,449 尾で、そのうち Atype のビブリオ病で斃死したのはそれぞれ 700 尾および 4,000 尾程度であった。対照区でビブリオ病の大量斃死がみられたのは、試験開始後 30～37 日目の期間に限られており、斃死尾数のピークは 32 日目（1,373 尾/日）であった。一方、免疫区では、試験開始後 36～50 日目の間に Atype ビブリオ病によるまとまった斃死がみられたが、明確な斃死のピークはなく、最大でも 100 尾/日程度の斃死であった。

免疫区の Atype ビブリオ病による斃死尾数が、対照区と比較して明らかに少なかったことより、ワクチンの効果があったものと推察されたが、この差が 32 日目から 5 日間両区でおこなった投薬の影響で広がった可能性も残されている。

また、免疫区でもワクチン処理後 1 ヶ月以上経過するとビブリオ病が発生したことより、ワクチンの効果の持続期間はアユと比較して短いと推察され、今後、希釈倍率や浸漬時間を変えたり、追加免疫をおこなうなどのワクチンの用法の改良が必要であろう。

今回の試験では、対照区のビブリオ病耐過魚は実験的にビブリオ病に感染させても全く斃死しないことも確認しており、薬理試験のマダイと同様にヒラメ稚魚でも Atype ビブリオ病病原菌に対する免疫応答があるものと考えられた。このことは、マダイ、トラフグ等に発生する Ctype ビブリオ病のワクチンの開発が可能であることを示唆しており、今後の課題として残されている。