

アユビブリオ病ワクチンの再評価試験

沢田健蔵・池脇義弘

県下の3ヶ所のアユ養殖場でアユビブリオ病ワクチンの再評価試験を実施した。

再評価試験 - 1

試験依頼機関 日生研株式会社
試験実施場所 徳島県阿南市柳島
試験実施者 徳島県水産試験場
試験期間
飼育 試験区 平成5年6月18日～8月18日
 対照区 平成5年6月11日～8月18日
攻撃試験 平成5年8月19日～9月2日

材料及び方法

供試魚

魚種 アユ
種苗の産地 琵琶湖産
搬入年月日 試験区 平成5年6月18日
 対照区 平成5年6月11日
病歴 なし
投薬歴 なし

飼育条件

飼育池 試験区 133m²
 対照区 115m²
水源 地下水
換水率 6回/日
曝気 水車
水温 17.0～20.0

飼料及び給餌方法

給餌方法 自動給餌器

給餌回数 4回/日

ワクチンの種類と投与方法

供試ワクチン 日生研

投与年月日 平成5年6月18日

試験区は到着後飼育水で換水し,150kg及び155kgの供試魚の入ったキャンバス水槽2面にそれぞれ,ワクチン原液7.5ℓを加え750ℓの100倍希釈のワクチン液として10分間浸漬した。

使用ワクチン液の水温 17

飼育池の水温 17

通気方法 酸素ガスの通気

対照区は無処理とした。

攻撃の方法

使用菌株 *V. anguillarum* PT84060 (血清型A型)

上記菌株をTSA寒天培地を用いて25℃,24時間培養後,1ml当り 4.0×10^9 cfu/mlの菌液を調整して,これを1%食塩水で10倍希釈し,2段階の菌液10ℓを調整した。このように調整された各菌液に,免疫61日目(試験区,平均体重17.8kg)及び68日目(対照区,平均体重15.8g)の供試魚の25尾を浸漬して攻撃し,14日間観察した。

結 果

自然発病の有無

飼育期間中の自然発病は両区ともなかった。

飼育成績

表1に飼育成績、図1に期間中の死亡尾数の推移を示した。両区の死亡尾数に大きな差はなく、飼育期間中の摂餌状況や行動等に両区とも異常は見られなかった。増量倍率は対照区が上回った。

表 1 飼育成績

項 目	試験区	対照区
開始時尾数	98,000	164,000
平均体重(g)	2.3	1.8
総重量(Kg)	305	295
終了時尾数	55,000	59,000
平均体重(g)	17.8	15.8
総重量(Kg)	979	932
へい死尾数	3,000	4,600
重量(Kg)	27.5	22.2
死亡原因(%)		
ピブリオ病	0	0
その他	100	100
分槽尾数	40,000	100,000
重量(kg)	500	695
生残率(%)	97	97
給餌量(kg)	945	1,046
餌料効率(%)	127.1	129.5
日間給餌率(%)	1.7	1.6
増重量(kg)	1,202	1,354
増重倍率	5.7	8.8
日間成長率(%)	2.9	3.2

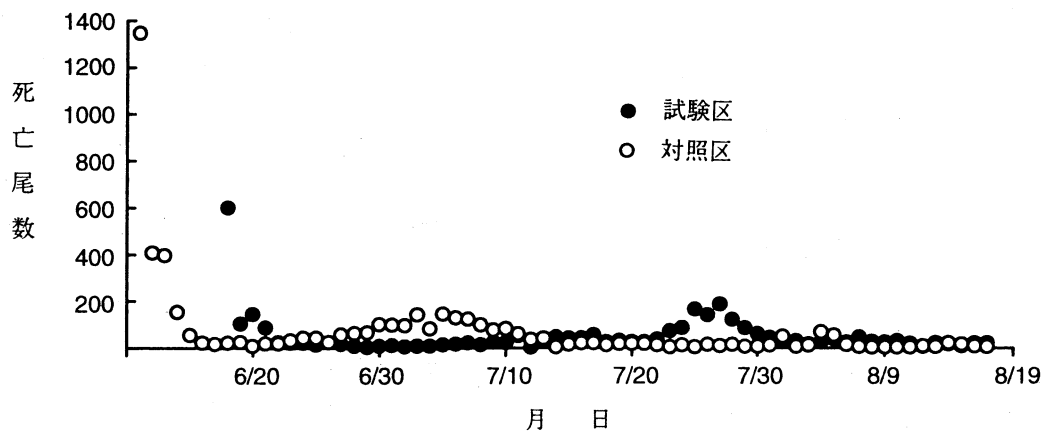


図 1 飼育期間中の死亡尾数の推移

攻撃試験成績

表 2 に示した、 4×10^4 cfu / ml の攻撃菌数において、対照区の死亡率 88.0% に対し試験区では 32.0% の死亡率に止まり、有効率は 63.6% となった。

表 2 免疫 68 日目の攻撃試験による成績

攻撃 菌濃度	試験 区分	供試 尾数	経 過 日 数														ビブリオ病による		有効率
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	死亡尾数	死亡率	
4×10 ³	試験区	25															0	0.0	100.0
	対照区	25		4	2	1	2	1			1						11	44.0	
4×10 ⁴	試験区	25		4	2	2											8	32.0	63.6
	対照区	25		8	5		3	6									22	88.0	

水温 21.0~21.5℃

ワクチンの有効性

有効率が 63.6%を示し、有効性が認められた。

考 察

今回の試験において、ワクチン処理後の目立った死亡は認められず、安全性に問題はなかった。試験区において増重倍率が劣ったのは初期体重の違いによるためと考えられ、特に飼育成績に問題は認められなかった。有効率が 60%を越えたことから、ワクチンの投与がビブリオ病に対して有効であった。

再評価試験 - 2

試験依頼機関 共立商事株式会社
試験実施場所 徳島県阿南市宝田町
試験実施者 徳島県水産試験場
試験期間
飼育 試験区 平成5年6月11日～8月18日
対照区 平成5年6月15日～8月18日
攻撃試験 平成5年8月19日、9月2日

材料及び方法

供試魚

魚種 アユ
種苗の産地 琵琶湖産
搬入年月日 平成5年6月11日(試験区)
平成5年6月15日(対照区)
病歴 なし
投薬歴 なし

飼育条件

飼育池 試験区 230m²
対照区 230m²
水源 地下水
換水率 6回/日
曝気 水車及びバーチカルポンプ
水温 16.8～18.2

飼料及び給餌方法

給餌方法 自動給餌器
給餌回数 3回/日

ワクチンの種類と投与方法

供試ワクチン 共立商事
投与年月日 平成5年6月11日

試験区は到着後飼育水で換水し,135kg の供試魚の入ったキャンバス水槽 2 面にそれぞれ,ワクチン原液 6.75ℓを加え 675ℓの 100 倍希釈のワクチン液として,また,130kg の供試魚の入ったキャンバス水槽 1 面にはワクチン原液 6.5ℓを加え 650ℓの 100 倍希釈のワクチン液として 10 分間浸漬した。

使用ワクチン液の水溫 17

飼育池の水溫 17

通気方法 酸素ガスの通気

対照区は無処理とした。

攻撃の方法

使用菌株 *V. anguillarum* PT84060 (血清型 A 型)

上記菌株を TSA 寒天培地を用いて 25 ℃,24 時間培養後,1mℓ 当り 4.0×10^9 cfu/ml の菌液を調整して,これを 1%食塩水で 10 倍希釈し,2 段階の菌液 10ℓを調整した。このように調整された各菌液に,免疫 68 日目(試験区,平均体重 20.1g)及び 64 日目(対照区,平均体重 8.4g)の供試魚の 25 尾を浸漬して攻撃し,14 日間観察した。

結 果

自然発病の有無

飼育期間中の自然発病は両区ともなかった。

飼育成績

表 3 に飼育成績、図 2 に期間中の死亡尾数の推移を示した。ワクチン処理後の両区の死亡尾数に大きな差はみられなかった。飼育期間中の摂餌状況や行動等において両区とも異常は見られなかった。試験後半に冷水病が発生し、両区とも同様な死亡状況を呈した。飼育成績には大きな差はみられなかった。

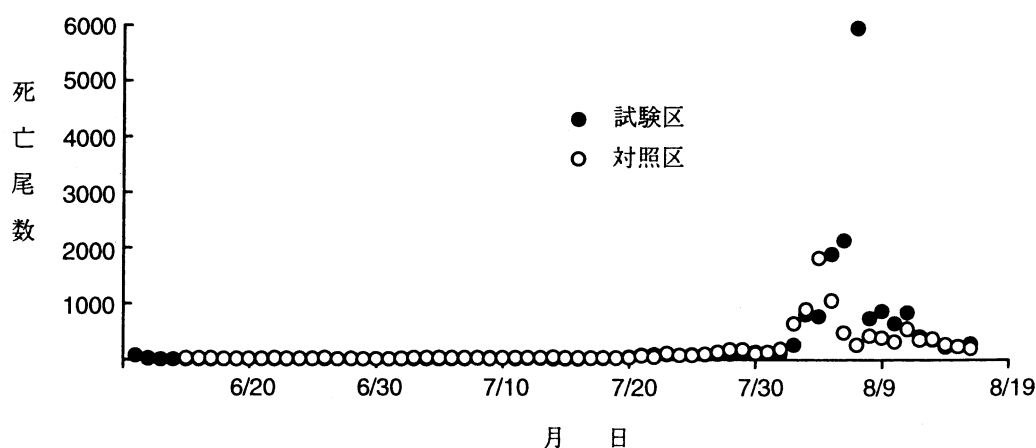


図 2 飼育期間中の死亡尾数の推移

表3 飼育成績

項目	試験区	対照区
開始時尾数	114,000	167,000
平均体重(g)	3.5	1.5
総重量(Kg)	400	250
終了時尾数	96,000	156,000
平均体重(g)	20.1	8.4
総重量(Kg)	1,930	1,310
へい死尾数	18,000	10,300
重量(Kg)	317.0	72.0
死亡原因(%)		
ビブリオ病	0	0
その他	100	100
生残率(%)	84	93
給餌量(kg)	2,348	1,211
餌料効率(%)	78.6	93.5
日間給餌率(%)	2.6	2.4
増重量(kg)	1,847	1,132
増重倍率	5.7	5.6
日間成長率(%)	2.6	2.8

攻撃試験成績

表4に示した。 4×10^3 及び 4×10^4 cfu/mlの攻撃菌数において、有効率は73.9及び68.0%となった。

表4 免疫68日目の攻撃試験による成績

攻撃菌濃度	試験区分	供試尾数	経過日数												ビブリオ病による		有効率		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		死亡尾数	死亡率
4×10^3	試験区	25			1	2	1	1	1								6	24.0	73.9
	対照区	25	1	3	4	10	4	1									23	92.0	
4×10^4	試験区	25		3	3	2											8	32.0	68.0
	対照区	25	2	16	3	3	1										25	100.0	

水温 21.0~21.5℃

ワクチンの有効性

有効率が73.9%を示し、有効性が認められた。

考 察

今回の試験において、ワクチン処理後の目立った死亡は認められず、安全性に問題はなかった。有効率が60%を越えたことから、ワクチンの投与がビブリオ病に対して有効であった。

再評価試験 - 3

試験依頼機関 株式会社微生物科学研究所
試験実施場所 徳島県海部郡日和佐町
試験実施者 徳島県水産試験場
試験期間
飼育 試験区 平成5年6月29日～9月7日
対照区 平成5年6月29日～9月7日
攻撃試験 平成5年9月8日～9月21日

材料及び方法供試魚

供試魚

魚種 アユ
種苗の産地 琵琶湖産
搬入年月日 平成5年6月22,23日
病歴 なし
投薬歴 なし

飼育条件

飼育池 試験区 200m²
対照区 196m²
水源 地下水
換水率 8回/日
曝気 水車,水中ポンプ,及びバッチカル
(対照区のみ)
水温 16.5～19.0

飼料及び給餌方法

給餌方法 自動給餌器
給餌回数 3回/日

ワクチンの種類と投与方法

供試ワクチン 微生物化学研究所
投与年月日 平成5年6月29日

ワクチン原液 2ℓを飼育水で10倍に希釈し,20ℓの使用ワクチン液を調整して,1回に供試魚 10Kg を2

分間浸漬した。同様に 9 回処理した後,ワクチン液を取り替え同様な処理をくり返し,合計 24ℓのワクチン原液を使用して,1,200kg の供試魚を処理した。

使用ワクチン液の水温 16.5

飼育池の水温 16.5

通気方法 酸素ガスの通気

対照区は無処理とした。

攻撃の方法

使用菌株 *V. anguillarum* PT84060 (血清型 A 型)

上記菌株を TSA 寒天培地を用いて 25 ℃,24 時間培養後,1ml 当り 7.1×10^9 cfu/ml の菌液を調整して,これを 1%食塩水で 10 倍希釈し,2 段階の菌液 10ℓを調整した。このように調整された各菌液に,免疫 72 日目 (平均体重 試験区,36.8g 対照区,26.6g) の供試魚の 25 尾を浸漬して攻撃し,14 日間観察した。

結 果

自然発病の有無

飼育期間中の自然発病は両区ともなかった。

飼育成績

表 5 に飼育成績、図 3 に期間中の死亡尾数の推移を示した。ワクチン処理後の両区の死亡尾数に大きな差はみられなかった。飼育期間中の摂餌状況や行動等に両区とも異常は見られず,飼育成績は試験区が良かった。

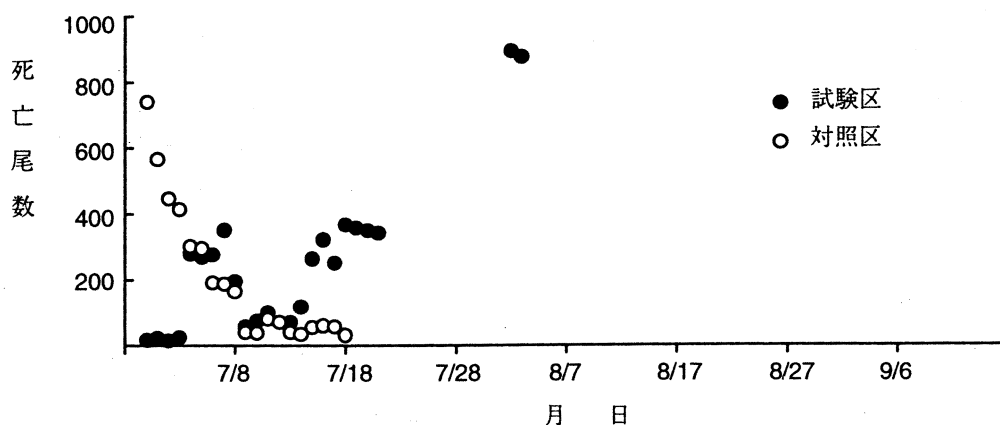


図 3 飼育期間中の死亡尾数の推移

表5 飼育成績

項目	試験区	対照区
開始時尾数	143,000	200,000
平均体重(g)	8.4	8.4
総重量(Kg)	1,200	1,680
終了時尾数	104,000	153,000
平均体重(g)	36.8	26.6
総重量(Kg)	3,827	4,070
へい死尾数	3,000	1,900
重量(Kg)	50.2	19.0
死亡原因(%)		
ビブリオ病	0	0
その他	100	100
分槽尾数	36,000	45,000
重量(kg)	825	725
生残率(%)	98	99
給餌量(kg)	5,596	6,433
餌料効率(%)	62.6	48.7
日間給餌率(%)	2.6	2.8
増重量(kg)	3,502	3,134
増重倍率	4.4	3.2
日間成長率(%)	2.1	1.6

攻撃試験成績

表6に示した、 7.1×10^3 cfu/mlの攻撃菌数において、対照区では全数が死亡し、試験区の死亡率は52%、有効率は48.0%となった。

5-2-4 ワクチンの有効性

有効率が60%を越えなかったものの、²検定では有効性が認められた。

表6 免疫68日目の攻撃試験による成績

攻撃菌濃度	試験区分	供試尾数	経過日数												ビブリオ病による		有効率		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		死亡尾数	死亡率
7.1×10^3	試験区	25		2	2	3		3	1	1	1						13	52.0	48.0
	対照区	25	5	15	5												25	100.0	
7.1×10^4	試験区	25		8	10												18	72.0	28.0
	対照区	25	2	18	5												25	100.0	

水温 20.8~21.5℃

考 察

今回の試験において、ワクチン処理後の目立った死亡は認められず、安全性に問題はなかった。攻撃菌数が多く対照区の死亡率が100%となしたが、 χ^2 検定で有効性が認められたことからワクチンの投与がビブリオ病に対して有効であった。