

オイルアジュバントワクチン投与による安全性及び残留性について

加藤邦彰, 堀木暢人

目 的

アユの冷水病は全国的に蔓延し、アユ漁業に大きな影響を与えており、その抜本的な対策として、アユ冷水病ワクチンの開発が急務となっている。冷水病の予防効果が認められているワクチンとしては、植物性オイルアジュバントを添加した冷水病ワクチンによる腹腔内接種法があるが、アジュバントの魚体に対する安全性及び残留性について検討した。なお、本試験は、社団法人日本水産資源保護協会の委託事業である水産用医薬品調査事業として実施したものである。

材料及び方法

安全性試験 各種用量を安全に接種できる魚体を明らかにするため、接種後の影響等について検討した。

試験期間 平成15年6月2日～7月4日

供試魚 当所で種苗生産したアユ人工種苗海産系継代6代目を7日間予備飼育し、平均1.6 g サイズ及び2.4 g サイズを各200尾ずつ選別し、供試魚とした。

試験区及び試験期間

試験区	供試魚	試験開始日及び終了日
1区：生理食塩水 30ul 接種区	1.6 g 100尾	6月2日～7月1日
2区：オイルアジュバント 30ul 接種区	1.6 g 100尾	6月2日～7月1日
3区：生理食塩水 30ul 接種区	2.4 g 100尾	6月5日～7月4日
4区：オイルアジュバント 30ul 接種区	2.4 g 100尾	6月5日～7月4日

飼育条件 飼育池は野外コンクリート池 3×2×0.45mで、十分通気を行い、用水は河川伏流水で、換水率は約1回/時とした。飼料は市販のアユ用配合飼料を自動給餌器により、魚体重の2%程度を1日当たり4回に分けて与えた。

ワクチンの種類及び接種方法 株式会社共立製薬つくば中央研究所により作成されたオイルアジュバントISA763A) 添加ホルマリン不活化ワクチンを使用し、0.02%のFA100で麻酔した供試魚にエップンドルフ連続分注器4780+コンビチップ500ulを使用し、供試魚の腹部基部前方の腹腔内にワクチンを各30ulを接種した。なお、対照区には生理食塩水を同様に接種した。

結果及び考察

飼育状況を表1に示した。1ヶ月目の生存率は、1区95.0%、2区88.0%、3区94.0%、4区91.0%であり、1区の斃死は接種後3日目から10日目にかけてのもので、7日目の1尾と10日目の2尾は水カビによる斃死と思われる。なお、2週間経過後30日目までの斃死は見られなかった。2区のオイルアジュバント接種区は、接種当日に7尾の斃死があり、その後5日目、7日目、8日目、9日目及び14日目に各1尾ずつの斃死が見られたが、5日目以降の斃死は水カビによるものと思われる。なお、2週間経過後30日目までの斃死は見られなかった。3区は接種後2日目に1尾、3日目に1尾、5日目に1尾、8日目に3尾の斃死が見られたが、5日目以降の斃死は水カビによるものと思われる。なお、2週間経過後30日目までの斃死は見られなかった。4区のオイルアジュバント接種区は、接種当日に1尾、5日目に1尾、7日目に1尾、9日目に2尾、12日目に4尾の斃死が見られ、5日目以降の斃死は水カビによるものと思われる。なお、2週間経過後30日目までの斃死は見られなかった。

表1 飼育状況

期間	水温 (°C)	試験区分	開始時 尾数	平均体 (g)		成長 倍率	斃死 尾数	生存率 (%)
				開始時	終了時			
1～ 30日	14.8～16.3 (* 15.6)	1区：生理食塩	100	1.6	4.62	2.89	5	95.0
		2区：アジュバント	100	1.6	4.60	2.88	12	88.0
		3区：生理食塩	100	2.4	6.10	2.54	6	94.0
		4区：アジュバント	100	2.4	5.81	2.42	9	91.0

* 平均値

試験期間中の飼育水温は、14.8～16.3℃で平均15.6℃であり、当初計画であった水温15.0～20.0℃のほぼ範囲であった。

2区の1.6gサイズにアジュバント接種当日に7尾の斃死以外は、あまり大きな差は見られなかったが、小さなサイズに接種する場合は接種作業にかなりの時間と、テクニックが必要と思われる。また、各試験区共に接種後5日目以降2週間の間に水カビによると思われる斃死が見られたことから、接種後の水カビ対策を考慮する必要があると思われる。なお、今回の試験では水カビ予防対策は行わなかった。

材料及び方法

残留性試験 各種用量のオイルアジュバントを接種した際の残留期間を明らかにするため、魚体サイズの影響について比較試験を実施した。

試験期間 平成15年7月2日～12月1日

供試魚 当所で種苗生産したアユ人工種苗海産系継代6代目を7日間予備飼育し、平均体重3.7gサイズ及び10.6gサイズを各200尾ずつ選別し、供試魚とした。

試験区及び試験期間

試験区	供試魚	残留調査	試験開始日及び終了日
1区：アジュバント30ul接種	3.7 g 200尾	1ヶ月毎	7月2日～12月1日
2区：アジュバント30ul接種	10.6 g 200尾	1ヶ月毎	7月2日～12月1日

飼育条件 飼育池は野外コンクリート池5×2×0.45mで、十分通気を行い、用水は河川伏流水で、換水率は約1回/時とした。飼料は市販のアユ用配合飼料を自動給餌器により、魚体重の2%程度を1日当たり4回に分けて与えた。

ワクチンの種類及び接種方法 株式会社共立製薬つくば中央研究所により作成されたオイルアジュバント (ISA763A) 添加ホルマリン不活化ワクチンを使用し、0.02%のFA100で麻酔した供試魚にエッペンドルフ連続分注器4780+コンビチップ500ulを使用し、供試魚の腹部基部前方の腹腔内にワクチンを各30ul接種した。

結果及び考察

飼育状況を表1に示した。接種当日に1区で3尾、2区で2尾の斃死が見られ、その後5ヶ月目(12月1日)までの間に2区で1尾の斃死が確認されたが、魚病の発生によるものではなかった。接種当日の斃死は接種時の事故死によるものと思われる。

表1 飼育状況

期間	水温 (°C)	試験区分	開始時 尾数	平均体重 (g)		成長 倍率	斃死 尾数	生存率 (%)
				開始時	終了時			
0～ 1ヶ月目	15.2～16.5 (* 15.6)	1区：3.7 g	200	3.7	8.9	2.41	3	98.5
		2区：10.6 g	200	10.6	24.6	2.32	2	99.0
1～ 2ヶ月目	15.2～16.7 (15.7)	1区	177	8.9	17.7	1.99	0	100.0
		2区	178	24.6	43.3	1.76	1	99.4
2～ 3ヶ月目	15.7～16.3 (16.0)	1区	157	17.7	34.4	1.94	0	100.0
		2区	157	43.3	67.7	1.56	0	100.0
3～ 4ヶ月目	16.0～17.0 (16.3)	1区	137	34.4	54.9	1.60	0	100.0
		2区	137	67.7	87.2	1.29	0	100.0
4～ 5ヶ月目	17.3～18.1 (17.7)	1区	117	54.9	72.2	1.32	0	100.0
		2区	117	87.2	113.5	1.30	0	100.0

* 平均値

試験期間中の飼育水温は7月2日から8月1日の期間は、15.2～16.5°Cで平均15.6°C、8月2日から9月1日の期間は、15.2～16.7°Cで平均15.7°C、9月2日から10月1日の期間は、15.7～16.3°Cで平均16.0°C、10月2日から11月1日の期間は、16.0～17.0°Cで平均16.3°C、11月2日から12月1日までの期間は、17.3～18.1°Cで平均17.7°Cで、伏流水の関係で水温は徐々に上昇したが、当初計画の15.0～20.0°Cの範囲であった。

飼育期間中の成長については、両区に顕著な差は見られずアジュバントの接種による成長への影響はないものと推察される。

なお、飼育期間が5ヶ月と長期であったため、8月13日から両区とも成熟抑制のため、日没30分前から午前0時まで電照を行った。

オイルアジュバント残留調査結果については表2に示した。1ヶ月毎に各試験区からランダムに20尾ずつ取り上げ、肝臓、腸管、腹腔内等について、アジュバントの残留を剖検により目視観察を行った。

表2 残留調査

試験区	1ヶ月目 残留率 (%)	2ヶ月目 残留率 (%)	3ヶ月目 残留率 (%)	4ヶ月目 残留率 (%)	5ヶ月目 残留率 (%)
1区: 3.7 g	2/20 10.0	2/20 10.0	1/20 5.0	0/20 0.0	0/20 0.0
2区: 10.6 g	3/20 15.0	3/20 15.0	1/20 5.0	0/20 0.0	0/20 0.0

試験開始1ヶ月目の調査では、1区の2尾は肝臓の表面と肝臓の裏側からそれぞれアジュバントの残留が見られ、2区については、1尾の肝臓の表面と2尾の肝臓の裏側からアジュバントの残留が見られた。

2ヶ月目については、1区は2尾肝臓の表面から、2区は2尾の肝臓表面と1尾の腸管表面からアジュバントの残留が見られた。

3ヶ月目については、1区の1尾は肝臓表面から、2区の1尾は肝臓表面からアジュバントの残留が確認された。なお、4ヶ月目及び5ヶ月目については、両区ともアジュバントの残留が見られなかったことから、アユの体内からアジュバントが排泄されるのに4ヶ月程度の期間がかかるものと推察される。

文 献

- 1) 宇野悦央, 奥山芳生, 加藤邦彰 (2000) : 養殖水産動物保健安全対策, 平成10年度和歌山県内水面漁業センター事業報告24 ; 21-27
- 2) 宇野悦央 (2001) : アユの疾病対策事業, 平成11年度和歌山県農林水産総合技術センター内水面漁業センター事業報告25 ; 37-40
- 3) 宇野悦央 (2002) : アユの疾病対策事業, 平成12年度和歌山県農林水産総合技術センター内水面漁業センター事業報告26 ; 18-20