

アユのシュードモナス病に対するワクチンの予防効果

宇野悦央

アユのシュードモナス病（細菌性出血性腹水病¹⁾）は1991年頃から発生がみられ、1994年以降は冷水病に次いで発生が多い。²⁾ さらに、本疾病原因菌に対する薬剤感受性が低いことから被害量も多く、ワクチンの開発が求められている。このため、全国湖沼河川養殖研究会アユ冷水病研究部会の連絡試験として、浸漬法（100倍希釈5時間浸漬と10分間浸漬）によるシュードモナス病不活化ワクチンの予防効果について検討した。

材料および方法

試験期間 平成9年6月12日～8月11日

（Ⅰ期：6月12日～7月10日、Ⅱ期：7月11日～8月11日）

供試魚 平成9年3月に搬入した海産稚アユを養成したもので、病歴および投薬歴はなく、Ⅰ期の平均体重は各区5.8g、Ⅱ期は試験区1で12.0g、試験区2で12.2g、対照区で11.8gである。

飼育条件 飼育池は5×2×0.5m（水深0.33m、水量3.3m³）で十分通気を行った。用水は河川伏流水で、換水率はⅠ期で0.3～0.5回/時、Ⅱ期で0.5～0.7回/時とした。水温はⅠ期：15.1～20.8℃（平均17.2℃）、Ⅱ期：16.4～21.0℃（平均18.2℃）であった。飼料は市販のアユ用配合飼料を用い、自動給餌器により4回/日与えた。

ワクチンの種類と投与方法 供試ワクチンは、アユ病魚から分離されたFPC941株を用いて株式会社共立商事中央研究所により作製されたアユシュードモナス病不活化ワクチンで、平成9年6月12日に投与した。不活化ホルマリン濃度は0.8V/V%で、不活化前生菌数は 1.7×10^{10} CFU/mlである。試験区1の投与方法は、ワクチン原液200mlを飼育水で100倍希釈した使用ワクチン液20lを調整し、一度に供試魚1.75kgを通気しながら5時間浸漬した。浸漬約100分間後からワクチン液の濁りが目立つようになったが、供試魚には特に異常はみられなかった。浸漬中の水温は17.1～18.8℃で、氷を入れたビニール袋をワクチン液に浸して水温上昇を抑えた。試験区2も同様のワクチン液を調整し、供試魚1.75kgを通気しながら10分間浸漬した。使用ワクチン液の水温は17.5～17.9℃であった。対照区はワクチン液の代わりに飼育水を用いて5時間同様に処理した。対照区においても浸漬約100分間後から水の濁りが目立つようになったが、供試魚に異常はみられなかった。浸漬中の水温は17.2～18.9℃であった。

人為感染方法 使用菌株はPseudomonas sp. FPC941株で、ハートインヒュージョン寒天培地を用いて25℃で24時間培養し、1ml当り 3.3×10^{10} CFUまたは 3.5×10^{10} CFUの菌液を調整して、これを飼育水で10倍段階希釈し、3段階の菌液を1lずつ調整した。このように調整された各菌液に、免疫後28日目の供試魚25尾（平均体重12g）および免疫後61日目の供試魚25尾（平均体

重 25 g) を 15 分間浸漬後, 21 日間観察した。1 回目浸漬中の水温は 20.7~21.1°C で, 2 回目の水温は 20.3~21.3°C であった。

結果および考察

飼育結果を表 1 に示した。試験期間中にシュードモナス病菌による自然発病は各区共になく, へい死もなかった。

表 1 飼育結果

試験区	I 期			II 期		
	試験区 1	試験区 2	対照区	試験区 1	試験区 2	対照区
開始時総重量 (kg)	1.75	1.75	1.75	2.70	2.75	2.65
" 尾数	300	300	300	225	225	225
" 平均体重 (g)	5.8	5.8	5.8	12.0	12.2	11.8
終了時総重量 (kg)	3.50	3.60	3.50	5.50	5.65	5.55
" 尾数 (g)	300	300	300	225	225	225
" 平均体重 (g)	11.7	12.0	11.7	24.2	25.1	24.7
へい死尾数	0	0	0	0	0	0
生残率 (%)	100	100	100	100	100	100
給飼量 (kg)	1.785	1.785	1.785	3.440	3.440	3.440
増重量 (kg)	1.75	1.85	1.75	2.80	2.90	2.90
飼料効率 (%)	98.0	103.6	98.0	81.4	84.3	84.3
日間給飼率 (%)	2.34	2.30	2.34	2.62	2.56	2.62
日間成長率 (%)	2.30	2.38	2.30	2.13	2.16	2.21
増重倍率	2.0	2.1	2.0	2.0	2.1	2.1
飼育日数	29	29	29	32	32	32

人為感染結果を表 2, 3 に示した。有効性について Fisher の直接確立計算法により検定すると, 免疫後 28 日目に菌浴濃度 3.3×10^6 CFU/ml で有意差が認められ, 対照区のシュードモナス病によるへい死率が 80% であったのに対し, 試験区 1 では 44% ($P < 0.01$, 有効率 45.0), 試験区 2 で 48% ($P < 0.05$, 有効率 40.0) であった。なお, へい死率の推移を図 1 に示した。一方, 免疫後 60 日目ではいずれの菌浴濃度においても有効性は認められず, 効果の持続性についてさらに検討が必要であると考えられる。

表2 人為感染による成績 (免疫後28日目)

菌浴濃度 (CFU/ml)	試験 区分	供試 尾数	経過日数																												シュードモナス病 によるへい死尾数	シュードモナス病 によるへい死亡率(%)	有効率
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21										
3.3×10 ⁸	試験区1	25				5	6	5	5	2		1																24	96	4.0			
	試験区2	"			1	6	11	5		1	1																	25	100	0.0			
	対照区	"			2	6	7	9	1																			25	100				
3.3×10 ⁷	試験区1	25				3	3	5	4	2	2			1	1													21	84	0.0			
	試験区2	"				2	6	6	4	2	1	2	1															25	100	-19.0			
	対照区	"				3	8	5	3	1			1															21	84				
3.3×10 ⁶	試験区1	25				1	1	2	4	1	1																	11	44	45.0			
	試験区2	"				1	1	2	3	2	1	1																12	48	40.0			
	対照区	"				1	3	6	4	2	1	2	1															20	80				

水温: 16.7~17.6°C 有効率 = (1 - 試験区のシュードモナス病によるへい死亡率 / 対照区のシュードモナス病によるへい死亡率) × 100

表3 人為感染による成績 (免疫後60日目)

菌浴濃度 (CFU/ml)	試験 区分	供試 尾数	経過日数																												シュードモナス病 によるへい死尾数	シュードモナス病 によるへい死亡率(%)	有効率
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21										
3.5×10 ⁷	試験区1	25				3	14	3	2	1		1																	24	96	-14.3		
	試験区2	"				2	8	4	1	4	1				2														22	88	-4.8		
	対照区	"				2	2	5	6	2	2	1	1																21	84			
3.5×10 ⁶	試験区1	25				1	3	2	4	3	2			2															18	72	0.0		
	試験区2	"				1	4	4	6	1	1			1															20	80	-11.1		
	対照区	"				1	2	3	2	4	2	2																	18	72			
3.5×10 ⁵	試験区1	25				2	3	2	2	1	1	2																	14	56	-100.0		
	試験区2	"				1	1	1	2	1	1	1																	9	36	-28.6		
	対照区	"				1	1	1	2	1	1	1																	7	28			

水温: 17.4~18.1°C

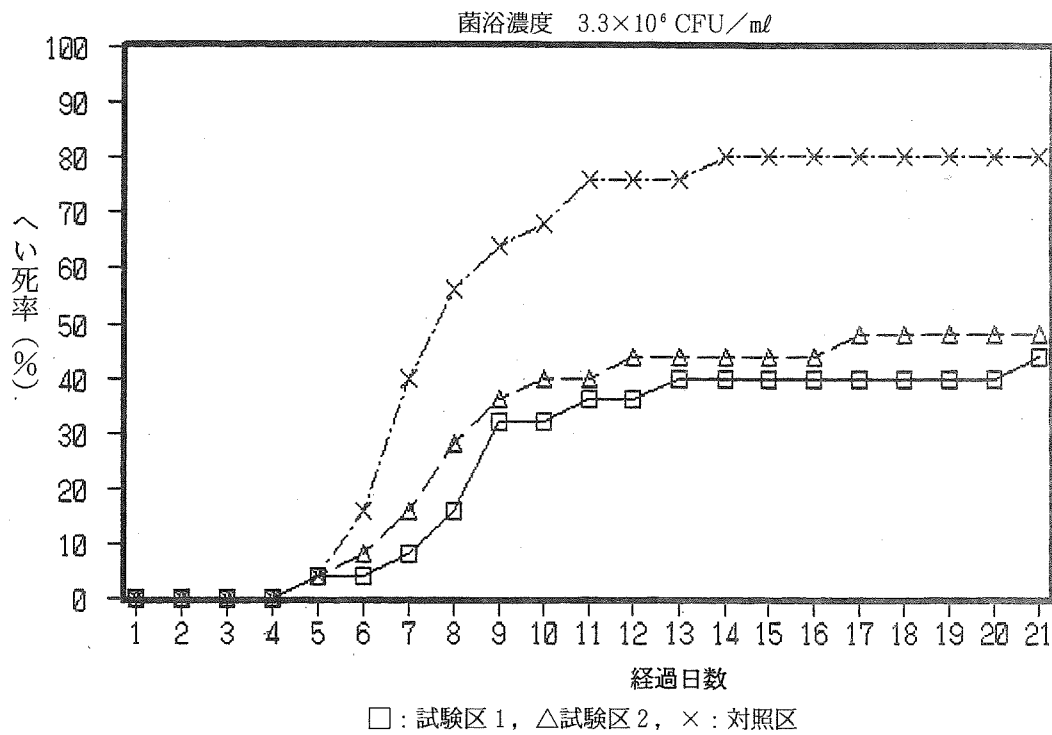


図1 人為感染によるへい死率の推移 (免疫後28日目)

文 献

- 1) 若林久嗣, 沢田健蔵, 二宮浩司, 西森栄太: シュードモナス属細菌によるアユの細菌性出血性腹水病. 魚病研究, 31(4), 239-240 (1996)
- 2) 宇野悦央, 辻村明夫, 見奈美輝彦: 養殖アユの1985~1994年における疾病発生状況. 平成7年度和歌山県内水面漁業センター事業報告, 21, 19-24 (1996)