

## アユのビブリオ病ワクチンの効果—II 浸漬による免疫方法の改良

植木 範行

Efficacy of Immersion Vaccination against Vibriosis  
in Cultured Ayu Fish *Plecoglossus altivelis* — II

Improvement of Immersion Methods

Noriyuki UEKI

前報で、ワクチン原液を10倍に希釈し、希釈液量の約半量に相当するアユ *Plecoglossus altivelis* を2分間浸漬する免疫方法が、きわめて有効であることを報告した<sup>1)</sup>。しかし、希釈液を10回反復使用することの用法ではアユを一部ずつ取り上げて高密度で浸漬する必要があり、特に小型のアユに対してストレスが大きいと推測された。そこで、この用法を省力化し、ストレスを小さく出来ると考えられる低密度、低濃度で長時間浸漬する方法について検討した。

本試験は、社団法人、動物用生物学的製剤協会からの依頼により、全国湖沼河川養殖研究会、アユのビブリオ病研究部会の連絡試験として実施した。

### 材料と方法

**供試魚** 岡山県水産試験場栽培漁業センターで人工生産した種苗を淡水馴致後、1985年4月2日に試験池に移し飼育したもので、病歴、投薬歴はない。試験開始時(ワクチン処理時)の平均体重は3.6~3.9gであった。

**飼育条件** 飼育池は1.0×2.5×0.7m(水深0.4m)水量約1m<sup>3</sup>である。用水は伏流水で、排水は再利用した。換水率は1.5~2回/時、再利用水の割合は約9割である。またブローによる通気を行った。試験期間中の給餌は、1日3回、日間給餌率で3%を目安とし、手撒きで与えた。餌の種類は市販の配合飼料(オリエンタルC-2、日配アルファC-3)である。

**供試ワクチンと投与方法** 供試ワクチンは前報<sup>1)</sup>と同ロットで、微生物化学研究所が作製したBVK-2(Lot No.19)である。投与は'85年5月29日、投与方法は以下の方法である。

試験区-①は、ワクチン原液30mlを飼育水で500倍に希釈し、使用ワクチン液15lを調整して、1回に供試魚1.47kgを60分間浸漬した。使用ワクチン液の水温は14.6~17.6℃、飼育池の水温は16.8℃であった。

試験区-②は、同様の使用ワクチン液に、供試魚1.42kgを30分間浸漬した。使用ワクチン液の水温は14.5~16.0℃であった。

対照区はワクチンを除き、試験区-①と同様に処理した。浸漬中の通気はブローにより行った。

**攻撃試験** 使用した菌株は、*Vibrio anguillarum* PT-479 と PG-8310 で、血清型はJO-I型(A型)である。これらの菌株を1%食塩加ハートインヒュージョン・ブイヨン培地(栄研)を用いて、25℃、24時間培養し、1ml当たり $1 \times 10^{10}$ 個の菌液を調整して、これを1%食塩水で10倍段階希釈し、2~3段階の菌液15lを調整した。この各菌液に、免疫30日後の供試魚75尾(25尾×3区)、免疫61日後の供試魚90尾(30尾×3区)を10分間浸漬して攻撃し、14日間観察した。

PT-479 株で攻撃後の飼育水槽は長方形、黒色のFRP製水槽で、底面積は0.45m<sup>2</sup>、水量は90l、換水率は約0.6回/時である。PG-8310 株で攻撃後の飼育水槽は、円形、黒色のFRP製水槽で底面積は0.47m<sup>2</sup>、水量は140l、換水率は0.4回/時である。

### 結果と考察

ワクチン投与後飼育期間中、ビブリオ病の自然病はなかった。

飼育成績は表1のとおりである。攻撃試験時に一部を取り上げて供試魚としたため、飼育期間を2期に分けて

表1 飼育成績

飼育期間 試験区分	'85年5月29日～6月28日(30日間)			'85年6月28日～7月29日(31日間)		
	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)	1.47	1.42	1.38	(1.55)	(1.55)	(1.45)
〃尾数	379	383	381	(272)	(282)	(279)
〃平均体重(g)	3.9	3.7	3.6	5.7	5.5	5.2
終了時総重量(kg)	(2.11)* <sup>1</sup>	(2.10)	(1.97)	2.46	2.46	2.35
〃尾数	(371)	(382)	(379)	264	280	273
〃平均体重(g)* <sup>2</sup>	5.7	5.5	5.2	9.3	8.8	8.6
へい死尾数	0	0	0	0	1* <sup>3</sup>	3* <sup>3</sup>
不明尾数	(8)	(1)	(2)	(8)	(1)	(3)
生残率(%)	97.9	99.7	99.5	97.1	99.3	97.8
給餌量(kg)	0.778	0.778	0.778	1.220	1.220	1.220
増重量(kg)	0.64	0.68	0.59	0.91	0.91	0.90
飼料効率(%)	82.3	87.4	75.8	74.6	74.6	73.8
増重倍率	1.44	1.48	1.43	1.59	1.59	1.62

\*1 ( )は推定値

\*2 平均体重は5月29日開始時を除いて、攻撃試験のへい死魚を計測した。

\*3 へい死原因不明

表2 攻撃試験による成績(免疫30日後)

菌株	攻撃菌数 (個/ml)	試験区分	供試 尾数	経過日数とへい死尾数														日	ビブリオ 病による へい死尾数	ビブリオ病 によるへい 死率(%)	有効率
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14				
PT-479	$3.9 \times 10^7$	試験区-①	24		2	11	6	2	1									22	92	8	
		〃-②	25		5	18	1		1									25	100	0	
		対照区	25		11	14												25	100		
PG-8310	$5.8 \times 10^5$	試験区-①	25		2	3	1	2										8	32	68	
		〃-②	25		8	11	4											23	92	8	
		対照区	25		12	12	1											25	100		
PG-8310	$5.8 \times 10^4$	試験区-①	25															0	0	100	
		〃-②	25					1										1	4	95	
		対照区	25		6	7	3	1	1	1								19	76		

水温17.1～19.0℃

示した。各試験区、対照区での飼育成績の差は認められなかった。

攻撃試験の成績は表2及び表3のとおりである。免疫30日後、PG-8310株を用い、 $5.8 \times 10^4$ 個/mlの菌数で攻撃した場合、対照区のへい死率が76%であったのに対し、試験区-①が0%、試験区-②が4%であり、有効率\*はそれぞれ100、95で、有効性が認められた。また、60分間浸漬して免疫したものは、30分間浸漬したものに

$$* \text{有効率} = \left( 1 - \frac{\text{試験区のへい死率}}{\text{対照区のへい死率}} \right) \times 100$$

比べて、明らかに有効率が高かった。免疫61日後、PT-479株を用い、 $1.3 \times 10^6$ 個/mlの菌数で攻撃した場合、対照区のへい死率が90%であったのに対し、試験区-①が73%、試験区-②が63%となり、有効率はそれぞれ19.30と低かった。しかし、PG-8310株を用い、 $3.8 \times 10^4$ 個/mlの菌数で攻撃した場合、対照区のへい死率が45%であったのに対し、試験区-①が0%、試験区-②が7%となり、有効率はそれぞれ100、84と有効性が認められた。また、免疫30日後の結果とは逆に、30分間浸漬した区より60分間浸漬した区の方が低い有効率となる

表3 攻撃試験による成績 (免疫61日後)

菌株	攻撃菌数 (個/ml)	試験区分	供試 尾数	経過日数とへい死尾数														ビブリオ 病による へい死尾数	ビブリオ病 によるへい 死率(%)	有効率
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			
PT-479	$1.3 \times 10^6$	試験区-①	30			3	13	4	2									22	73	19
		" -②	30			2	11	5	1									19	63	30
		対照区	30			11	13	2		1								27	90	
	$1.3 \times 10^5$	試験区-①	30			1	1			(1)*		(1)	(1)					2	23	
		" -②	28															0	0	
		対照区	30			3	6											9	30	
$1.3 \times 10^4$	試験区-①	27															0	0		
	" -②	30															0	0		
	対照区	30															0	0		
PG-8310	$3.8 \times 10^5$	試験区-①	30			10	8	4	3								25	83	17	
		" -②	30			1	9	8	1	1	1						21	70	30	
		対照区	29			22	6	1									29	100		
	$3.8 \times 10^4$	試験区-①	30															0	0	100
		" -②	30			1		1										2	7	84
		対照区	31			3	5	4	2									14	45	
$3.8 \times 10^3$	試験区-①	30															0	0		
	" -②	30								1							1	3		
	対照区	30			1						1						2	7		

水温19.7~21.1℃

\* ビブリオ病以外の原因による斃死

例が多かった。この原因については不明であるが、免疫61日後の試験区-①のアユは、他区よりやや大小差が大きく、落ち着きがないように観察された。

以上の結果をアユのビブリオ病研究部会の判定基準である対照区のへい死率が60%以上であって、有効率が60%以上であるものを有効とした場合、免疫30日後では有効であるが、61日後では有効でない判定となる。ただ、免疫61日後でも対照区のへい死率が低い区では前述のように明らかに有効性は認められることなどから、今回の用量・用法では、有効性は認められるものの、前報の例より免疫性がかなり低いものと推測された。

### 要 約

1. 前年度有効性の認められたアユのビブリオ病ワクチンと同一ロットを用い、用法の省力化を図るため、ワクチン原液を飼育水で500倍に希釈し、アユを通気した

がら30分間と60分間浸漬する免疫方法について検討した。

2. 免疫30日後の攻撃試験では、対照区のへい死率が76%の時、30分間浸漬区が4% (有効率95)、60分間浸漬区が0% (有効率100) となり、有効性が認められた。

3. 免疫61日後の攻撃試験では、対照区のへい死率が90%のとき、30分間浸漬区が63% (有効率30)、60分間浸漬区が73% (有効率19) となり、有効性は認められなかったが、対照区のへい死率が45%の場合は有効性が認められた。

4. 免疫30日後での有効率は30分間浸漬より60分間浸漬区の方が明らかに高かったが、61日後では判然としなかった。

### 文 献

- 1) 植木範行, 1985: アユのビブリオ病ワクチンの効果, 岡山水試事報昭和59年度, 97-100