

経口ワクチンの実用化技術開発試験*

堅田昌英・竹内照文

目 的

近年、海産魚養殖においてウイルス性疾病の発生件数が著しく増大しており、中でもイリドウイルス病は感染魚種が多く、対策に苦慮している。イリドウイルス病に対しては注射ワクチンが開発・市販され、高い防御効果が確認されている¹⁾が、コスト的に高く多大な労力を必要とする。こうした背景から、海産魚の養殖現場では、配合飼料に混合して投与することのできる経口ワクチンの開発が期待されている。

そこで本研究では、注射用ワクチンとして市販されているイリドウイルス病不活化ワクチンをマダイ稚魚に経口投与した場合の防除効果について検討した。

材料および方法

供試魚：和歌山県内の養殖業者から購入したマダイ（平均体長7.1 cm，平均体重7.0 g）を用いた。

ワクチン投与時の飼育方法と試験区の設定：ワクチン投与は1トンコンクリート水槽4面にそれぞれ250尾ずつのマダイを収容して行った。1区には、イリド不活化ワクチン「ビケン」（以下「ビケン」

と略す）を1尾当たり0.1ml筋肉注射した。2区には、「ビケン」を吸着させた配合飼料（EP）を1尾当たり1mlのワクチンが投与されたことになるように3週間かけて経口投与した。3区には、ゾンデを用いて「ビケン」を1尾当たり0.2 mlずつ経口投与した。4区はワクチンを非投与とした（表1）。ワクチンを投与して魚体内の抗体価を高めるため、11月10日～12月7日の4週間マダイを飼育した。この間、10回転/日の換水率で流水飼育し、EP飼料を朝と夕方の2回飽食給餌した。

ウイルス液の調整：ウイルス源は、2003年夏季～秋季にかけて和歌山県内の養殖場で発生したマダイのイリドウイルス病の脾臓を用いた。脾臓は9倍量の滅菌PBS(-)に混合・磨砕した後12,000 rpm, 4℃で5分間遠心分離し、その上清を 10^{-1} のウイルス液とした。

攻撃試験：12月8日に各区から30尾ずつマダイを取り上げ、浸漬法と注射法で攻撃を行った。なお、3区はワクチン投与期間中の斃死が多く（図2）、攻撃試験に用いるマダイを充分確保することができなかったため、浸漬感染しか行わなかった（表1）。攻撃終了後は100 lパンライト水槽（水量100 l）に入れ、加温しながら換水率16.8回転/日で17日

表1 ワクチネーションおよび攻撃試験

試験区	平均魚体長(cm)	平均魚体重(g)	ワクチネーション	攻撃試験
1区	7.3	7.2	筋肉内注射接種	浸漬感染 注射感染
2区	7.3	6.9	経口投与	浸漬感染 注射感染
3区	6.8	7.3	強制経口投与	浸漬感染
4区	7.0	6.7	非投与 (コントロール区)	浸漬感染 注射感染

*経口ワクチンの実用化技術開発試験事業費による

間飼育した。

1) 浸漬感染：100 l パンライト水槽にろ過海水 100 l と 10^{-1} のウイルス液10 mlを混合し，1時間浸漬（水温19.9～20.3℃）した。

2) 注射感染： 10^{-1} のウイルス液を100倍希釈して1尾当たり0.1 mlずつ筋肉注射した。

結果および考察

ワクチン投与期間中の水温変化を図1に示す。当初は水温25℃前後を保持していたが，11月17日から下降して20℃前後で推移した。これは，イリドウイルス病が発生し，その蔓延を防ぐためにヒーターによる加温を止め，自然水温にしたためである。

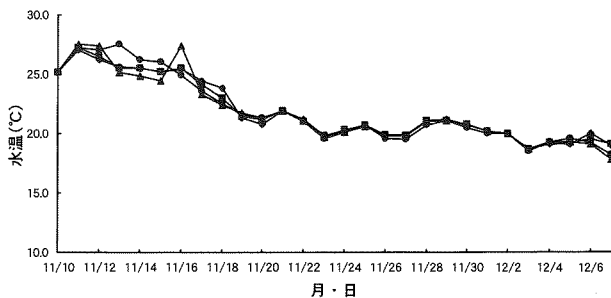


図1 ワクチン投与期間中の水温変化

→ 1区 ■ 2区 ▲ 3区 ● 4区

ワクチン投与期間中の累積斃死率を図2に示す。11月16日からイリドウイルス病と白点病の発生があり，急激な斃死が生じた。1区は11月20日から大量斃死がおさまリ，累積斃死率は最終的には48.4%になった。しかし，2区及び4区は12月3日まで，3区は11月29日までそれぞれ断続的に斃死が見られ，最終的な累積斃死率は2区72.4%，3区88.4%，4区72.0%であった。この期間にイリドウイルス病が発生したのは，購入した段階で供試マダイが不顕性感染の状態になっており，輸送時のハンドリングがストレスになって魚体内で抗体価が上昇する前に水温を25℃前後に加温したためと考えられる。また白点病が発生したのは，ろ過槽を通過した白点虫のシストが水槽内に侵入し，生活環を形成したためと思われる。

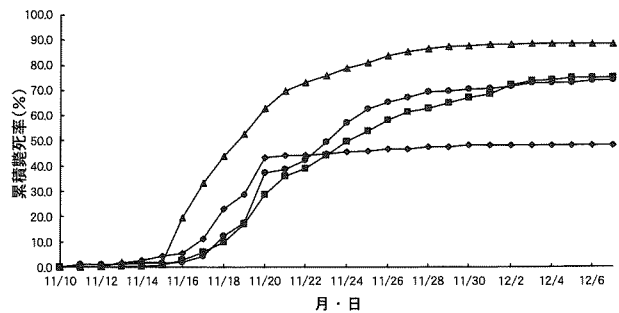
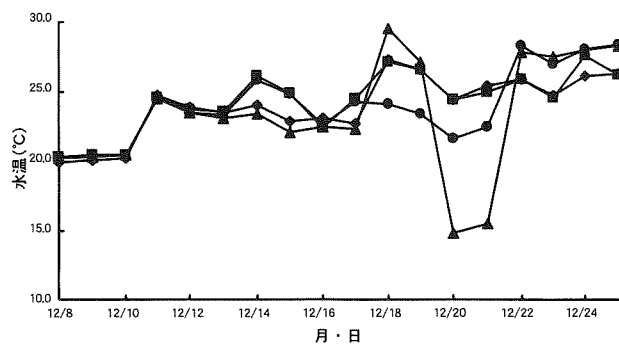


図2 ワクチン投与期間中の累積斃死率

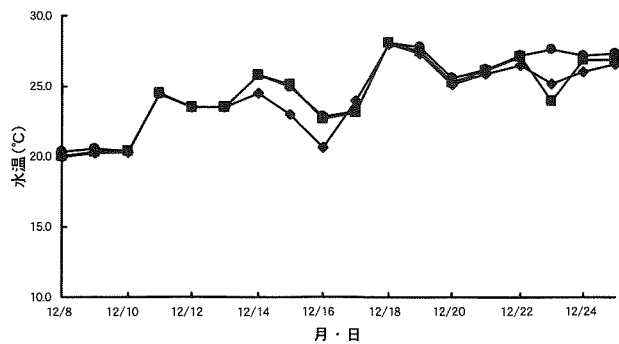
→ 1区 ■ 2区 ▲ 3区 ● 4区

浸漬感染及び注射感染実験期間中の水温変化を図3に示す。水温は当初，20～25℃の間で推移したが，期間の後半はヒーターによる加温が安定し，概ね25℃前後になった。なお，浸漬感染実験の12月20～21日にかけて15℃前後まで低下したのは，ヒーターが故障したためである。

浸漬感染及び注射感染における累積斃死率の推移を図4に示す。両者ともコントロール区（4区）の累積斃死率が低く（浸漬感染3.3%，注射感染5.9%），ワクチンの効果を検討することができなかった。攻撃試験に用いたマダイはワクチン投与期間中に発生



→ 1区 ■ 2区 ▲ 3区 ● 4区



→ 1区 ■ 2区 ▲ 3区 ● 4区

図3 感染実験期間中の水温変化
上段：浸漬感染 下段：注射感染

したイリドウイルス病を耐過した個体であり、魚体内でイリドウイルスに対する抗体が形成されていたと推定できるため、ワクチンの効果を検討できる結果を得るに至らなかったと考えられる。特に、浸漬感染、注射感染ともに1区の累積斃死率が0%だったのは、ワクチンの注射接種に加え、飼育期間中に発生したイリドウイルス病の感染・耐過がブースターのような役割を果たしたものと推察できる。また、攻撃試験初期段階の水温が20℃前後であったため、イリドウイルス病を発病させるには低すぎたことも原因であると考察される。

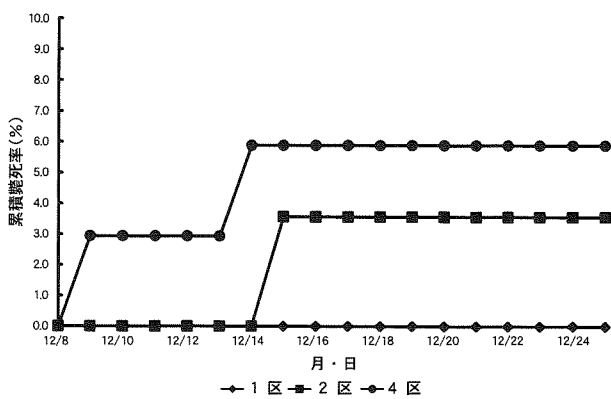
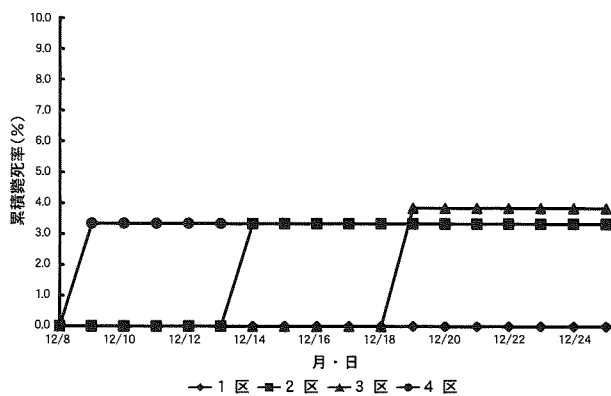


図4 感染実験期間中の累積斃死率
上段：浸漬感染 下段：注射感染

文 献

1) Nakajima, K., Y. Maeno, J. Kurita and Y. Inui (1997): Vaccination against red sea bream iridoviral disease in red sea bream. *Fish Pathol.*, 32, 205-209.