

ブリ類結節症ワクチンの安全性試験*

小 川 健

ブリの類結節症対策の一つとして、水産庁は動物用生物学的製剤協会（以下、動生協という）等にワクチンの開発研究を委託している。しかし、そこで試作されたワクチンについてはブリ稚魚における安全性を確認する必要があるが、動生協では試験可能なフィールドを持たないこと、また効果的な魚病対策として早急な開発が望まれることから、水産庁より養殖ブリ生産県の水産試験場等に対し、海産魚ワクチン開発研究検討会への参加と試験研究の実施要請があった。

このため当场も検討会に参加し、動生協試作ワクチンのブリ稚魚に対する浸漬法による安全性試験を実施したので報告する。

1 平均体重 5 g 以下の供試魚における安全性試験

材料および方法

供試ワクチン：動生協製ホルマリン不活化ワクチン（液体培養培地込み），原液濃度 10^{10} cells/ml

供試魚：1984年6月30日に紀伊水道で採捕され、白浜町細野の種苗配給センターに搬入されたモジャコで、当日陸送し、当场の陸上水槽に収容し飼育していたものから小型個体を選別して用いた供試魚の平均体重は4.48 gで、各区10尾ずつとした。

試験区：浸漬ワクチン液濃度 10^9 、 10^8 、 10^7 cells/ml の3区および対照区。

試験方法：各濃度のワクチン液は、48時間前から通気した水道水（26.8℃）を用いて調整し10ℓとした。対照には同じ水道水10ℓを用いた。

30ℓパンライト水槽に入れたこれらの液に供試魚を5分間浸漬後直ちに流水飼育槽に移し、浸漬中および飼育水槽中の状態を観察した。ワクチン液、対照水道水とも供試魚を浸漬する3～5分前から浸漬終了まで通気を行った。また 10^9 区のワクチン液水温は24.7℃であったため、27℃に上昇するのを待って浸漬に供した。

試験期間：1984年7月20日～7月30日

飼育方法：30ℓパンライト水槽を用い、水容量20ℓとして3ℓ/分の流水飼育とした。各槽には通気を行い、ワクチン液に浸漬した翌日の7月21日からイカナゴミンチを1日2回給餌した。

結果および考察

結果は表1に示すとおりであり、試験中の水温は27.3～28.2℃であった。

各区とも浸漬中は斃死する個体はなかったが、 10^8 、 10^9 区で体色が薄くなり器底で静止するも

* 浅海増養殖試験費による。

表1 平均体重5g以下の供試魚における試験結果

月日	経過時間	10 ⁹ 区	10 ⁸ 区	10 ⁷ 区	対照区	
7.20	ワクチン浸漬中	0~1分	体色が薄くなり器底で静止	動作緩慢 3尾体色薄くなる	動作やや緩慢 体色等変化なし	動作やや緩慢 体色等変化なし
		1~2分	同上	体色の薄い個体が時々器底で静止	同上	同上
		2~3分	数尾とびはねる	同上	同上	同上
		3~4分	数尾器底で静止	同上	同上	同上
		4~5分	3尾, 器底で横転	同上	同上	同上
	海	5分	1尾体色回復せず	2尾体色回復せず (10 ⁹ 区より軽度)	動作正常(流水に逆らって遊泳)	動作正常(流水に逆らって遊泳)
		15分	1尾へい死	体色やや回復	同上	同上
		30分	生残魚動作緩慢	全魚動作緩慢	同上	同上
		24時間	回復, 摂餌良好 へい死 0	回復, 摂餌良好 へい死 0	異常なし, 摂餌良好 へい死 0	異常なし, 摂餌良好 へい死 0
		22	48時間	0	0	0
水中	23	72時間	0	(飛出し, 1尾)*2 0	0	0
	24	96時間	0	0	0	0
	25	120時間	0	0	0	0
	26	144時間	0	0	0	0
	27	168時間	0	0	0	0
	28	192時間	0	0	0	0
	29	216時間	0	0	0	0
	30	240時間	0	0	0	0
へい死尾数計(%)		1(10.0)	0(0)	0(0)	0(0)	

*1: 10⁹, 10⁸区とも浸漬後2時間目には全魚体とも体色, 遊泳状態は回復していた。

*2: へい死尾数より除外。

のがみられ、 10^9 区ではさらに飛び躍ねる個体、器底で横転する個体もみられた。これに対し 10^7 区、対照区では動作がやや暖慢となったが、 10^8 、 10^9 区でみられたような状態は観察されなかった。

飼育水槽に収容した後も 10^9 区では1尾の体色が回復せずやがて斃死した。 10^8 区では30分後には体色も回復したが、 10^9 区の生残魚とともに動作は暖慢であった。対照区、 10^7 区では5分後には正常な遊泳状態にもどった。しかし、浸漬後2時間目には 10^9 、 10^8 区とも体色、遊泳状態は正常に回復しており、以後ワクチン液の影響と考えられる斃死はなく、翌日からの摂餌状態も良好であった。

10^9 区の斃死魚は鰓蓋を大きく広げ、急性の酸素欠乏症と極めてよく似た症状を示した。その鰓葉には点状、線状の出血様症状がみられた。腎血により菌分離を行ったが細菌は検出されず、鰓を除く各臓器の異常も肉眼的には観察されなかった。この斃死は明らかにワクチン液への浸漬によって生じたものであるが、 10^9 cells/ml のワクチン液は水道水9 lにワクチン原液1 lを混入して作成するため、培地成分も高濃度となり浸漬した供試魚も非常に観察しにくい状態であり、その培地成分の影響によるものか、あるいは培養菌の産生した何らかの毒素によるものか、詳しい原因は不明である。

これらの結果から、培地成分込みの供試ワクチンは 10^9 cells/ml 液5分間浸漬（水道水調整）では毒性が現われ、安全とはいえないが、 10^8 cells/ml 以下の濃度であれば、多少の影響はあるものの斃死に至ることもなく、安全であると判断される。

2 平均体重約10 gの供試魚における安全性試験

材料および方法

供試ワクチン： 試験1に同じ。

供試魚： 由来は試験1に同じ。平均体重10.8 g、各区30尾。

試験区： 試験1と同様とした。

試験方法： 各濃度のワクチン液は試験1で使用したあとのものを用い、対象区のみ新たに試験1と同じ水道水で用意した。

浸漬方法は試験1と同じであるが、ワクチン液水温は27.5～27.8℃であった。

試験期間： 試験1と同じ。

飼育方法： 飼育水槽は100 lパンライト水槽を用いて水容量60 lとし、3 l/分の流水飼育とした。他は試験1と同じ。

結果および考察

試験中の水温は試験1と同じである。

結果は表2に示すとおりで、試験1とほとんど同じ傾向を示し、 10^8 、 10^9 区で異常が観察され飼育水槽に収容した後に 10^9 区で3尾斃死した。浸漬後2時間目には 10^8 、 10^9 区ともに回復がみられたのも試験1と同様であった。

表2 平均体重約10gの供試魚における試験結果

月日	経過時間	10^9 区	10^8 区	10^7 区	対照区	
7.20	ワクチン 浸漬中	0~1分	浸漬直後とびはねる	動作緩慢 体色やや薄くなる	動作やや緩慢 体色等変化なし	動作やや緩慢 体色等変化なし
		1~2分	体色が薄くなり殆どの魚が横転	器底で静止している魚が多い	同 上	同 上
		2~3分	多少回復し遊泳する魚がみえる	同 上	同 上	同 上
		3~4分	数尾とびはねる	同 上	同 上	同 上
		4~5分	とびはねはしないが横転している魚が多い	同 上	同 上	同 上
7.21	海 22 23 24 25 26 27 28 29 30 中	5分	2尾横転のまま、他は体色回復、動作緩慢	体色は回復、動作緩慢	動作正常(流水に逆らって遊泳)	動作正常(流水に逆らって遊泳)
		15分	2尾へい死、1尾横転他は動作緩慢	同 上	同 上	同 上
		30分	1尾へい死、生残魚の動作緩慢	同 上	同 上	同 上
		24時間	回復、摂餌良好 へい死 0	回復、摂餌良好 へい死 0	異常なし、摂餌良好 へい死 0	異常なし、摂餌良好 へい死 0
		48時間	0	0	0	0
		72時間	0	0	0	0
		96時間	0	0	0	0
		120時間	0	0	0	0
		144時間	0	(飛出し、1尾)*2 0	0	0
		168時間	0	0	0	0
192時間	0	0	0	0		
216時間	0	0	0	0		
240時間	0	0	0	0		
へい死尾数計(%)		3(10.0)	0(0)	0(0)	0(0)	

*1: 10^9 、 10^8 区とも浸漬後2時間目には全魚体とも体色、遊泳状態は回復していた。

*2: へい死尾数より除外。

斃死魚は3尾ともに前試験と同じく急性酸素欠乏症によく似た症状であり、その鰓葉の状態、腎血からの菌分離状況、他の臓器の所見等も全く同じであった。

以上の結果により、魚体重10g前後の魚でも、5g以下のものと同じく、 10^8 cells/ml のワクチン液では毒性があらわれて安全とはいえず、 10^8 cells/ml 以下であれば、多少の影響は認められるものの一応安全と判断された。