

免疫賦活剤等の有効性検証試験

- アスコルビン酸 (AsA) の高濃度投与による IHN 対策試験 -

(平成18~22年度)

石川 孝典

目 的

養殖現場では KHV をはじめ新たに深刻な魚病被害をもたらす感染症が蔓延している。しかし、内水面養殖魚に使用が承認されている治療薬は非常に少なく、各種疾病のワクチンについても産業規模が小さいことから新たな開発の可能性は低いことから、生産者から新たな疾病対策が求められている。一方で、消費者からは安全・安心な内水面養殖魚生産が求められている。今後は、総合的な水産用医薬品の使用量低減対策を目指す必要がある。

本研究では、コスト面や安全性が評価され従来から利用されている飼料添加物等の中から、免疫賦活剤でもあるアスコルビン酸 (ビタミン C) を選び、サケ科魚類へ本剤を大量投与することによる魚体の IHN 抗病性の変化について調査した。

1. ニジマスへのAsA高濃度投与によるIHN対策試験

材料および方法

供試魚 栃木水試黒磯系ニジマス(平均体重 0.87 g)の一腹子を用いた。

試験期間 平成 19 年 6 月から 7 月

設定区 AsA を投与した供試魚を収容した水槽を試験区とし、通常飼料のみで飼育した供試魚を収容した水槽を対照区とした。さらにそれぞれに 2 種類の IHNV を用いて攻撃した攻撃区と非攻撃区の計 3 区を設定し、合計で 6 区を用意した。

飼育条件 水量を 25L としたパンライト水槽 (容量 30L) に、13.0 (± 1.0) に調温されたオゾン殺菌河川水を 0.6L/min の割合で注水し、供試魚を 50 尾/水槽の密度で収容し飼育試験を開始した。

試験飼料 A 社製稚魚用市販飼料を基本飼料とした。AsA 粉末 5000mg/Kg 飼料を基本飼料の外割 5% の市販サラダオイルで添着したものを試験飼料とした。サラダオイルのみ添着させたもの対照飼料とした。

投与期間及び量 投与期間は 7 日間とし、飼育期間中は魚体重の 3.0% の割合で飼料を毎日給与した。

検討項目 AsA 高濃度投与 7 日目 (攻撃試験直前) の肝臓 AsA 蓄積量と鰓、肝臓および腸管の SOD 活性

値を測定した。さらに、IHNV による攻撃試験を行い死亡状況を観察した。

供試ウイルス株 栃木県内養魚場で発生し当场で分離された TV0026 および東京都内養魚場で発生し、東京都水産試験場奥多摩分場 (現東京都農林水産振興財団奥多摩さかな養殖センター) で分離、提供された TK8901 を攻撃試験に供試した。

攻撃試験 15L パケツに供試ウイルス液を攻撃力価がそれぞれ TV0026 で $10^{5.68}$ および TK8901 で $10^{5.80}$ TCID₅₀/ml となるように 10L 作製し、供試魚を 50 尾/区とし、1 時間浸漬した。その後、供試魚は水量を 25L としたパンライト水槽に移し、14 日間の死亡状況を観察した。

結 果

肝臓AsA蓄積量 AsA 高濃度投与区の供試魚では、対照区と比較して 2 倍前後の AsA 蓄積量が確認できた。よって、経口的に体内に入った AsA は速やかに体内に蓄積されたと考えられた (図 1)。

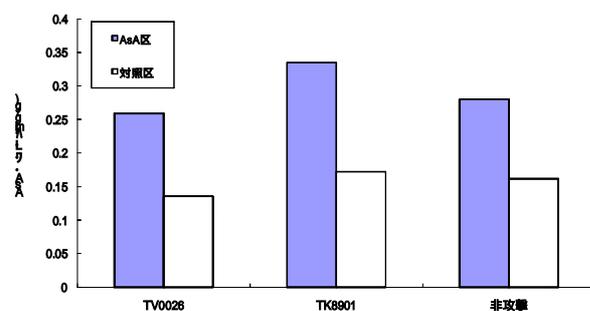


図1 AsA高濃度投与7日目の各区供試魚におけるAsA肝臓含有量

SOD活性値 臓器毎の SOD 活性は肝臓より腸管の活性値がとりわけ高かった。AsA 高濃度投与区と対照区の間で有意差 (マンホイットニーの U 検定、 $P < 0.01$) が認められたのは肝臓のみであった (図 2)。

IHN攻撃試験 非攻撃区では供試魚の死亡はなかった。栃木分離株の TV0026 攻撃区では最終累積死亡率が AsA 投与区で 72%、非投与区で 84% となり有意に死亡低減効果が認められた (Two-way ANOVA、 $P < 0.01$)。

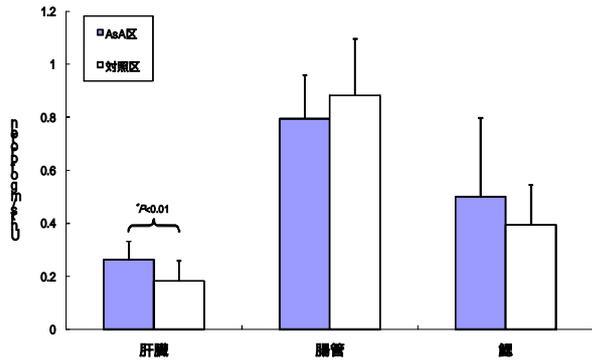


図2 AsA高濃度投与7日目の各臓器におけるSOD活性値(±SD)

しかしながら、東京分離株の TK8901 攻撃区では両区とも累積死亡率で 30%後半の値を示し、効果は認められなかった(図3)。本結果から IHNV の毒性が弱い場合には AsA の死亡低減効果が発揮されないことが示唆された。

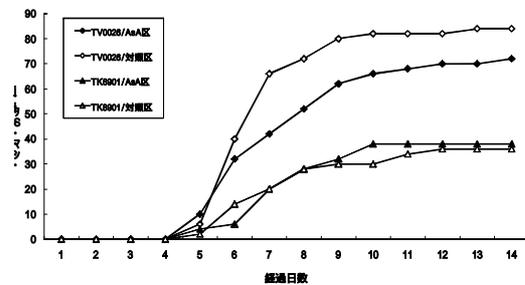


図3 AsA高濃度投与とニジマスのIHN攻撃による累積死亡率の変化

結 果

非攻撃区では供試魚の死亡はなかった。攻撃区では前記のニジマスに対する試験とほぼ同じ傾向が示された。特に栃木分離株の TV0026 攻撃区では有意に AsA の死亡率低減効果が認められた (Two-way ANOVA、 $P < 0.01$)。しかし、東京分離株の TK8901 攻撃区では有意差が認められず、ほぼニジマスと同様の結果となった。このことから、前記試験同様に IHNV の毒性が弱い場合には AsA の死亡低減効果が発揮されない場合が存在することが強く示唆された。

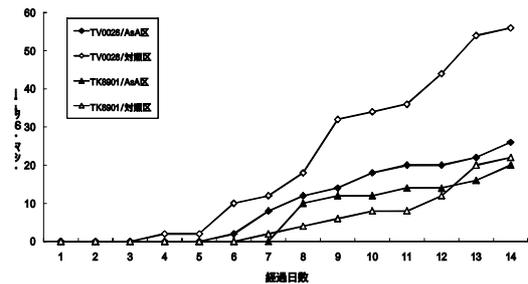


図4 AsA高濃度投与とヒメマスのIHN攻撃時の累積死亡率の変化

(水産技術部)

2. ヒメマスへのAsA高濃度投与によるIHN対策試験

材料および方法

供試魚 中禅寺湖漁協で採卵され、当场で育成した平均体重 1.6 g のヒメマスを用いた。

試験期間 平成 20 年 3 月

設定区 前記試験に同じ。

飼育条件 水量を約 250L とした長方形 FRP 水槽 (140 × 60 × 50) に、13.0 (± 1.0) に調温されたオゾン殺菌河川水を約 3.0L/min の割合で注水し、供試魚を 300 尾/水槽の密度で収容し飼育試験を開始した。

試験飼料 前記試験に同じ。

投与期間及び量 前記試験に同じ。

検討項目 IHNV による攻撃試験を行い死亡状況を観察した。

供試ウイルス株 前記試験に同じ。

攻撃試験 前記試験に同じ。