

薬浴治療剤の毒性に関する研究—II

ニジマスの薬剤感受性に及ぼす水温の影響について（2）

小木曾 卓郎・後藤 勝秋・細江 重男

Studies on the Side Action by the Drugs
of Bath - Therapies in Fishes - II.The Effects of Ambient Water Temperature
upon the Pharmaceutical Sensibility of Rainbow Trout (2).

TAKURO OGISO, KATUAKI GOTO SIGEO HOSOE

魚類の疾病、ことに外部寄生性の疾病的治療、予防には多くの場合、薬浴による治療法が施される。しかしこの方法は、薬浴時の水温、水質、又魚の種類、魚の成育段階等の違いによって、薬理作用、副作用の発現の程度、又薬剤に対する魚の感受性に差異が生ずる。従ってこれらの諸条件について充分な検討がなされた上で、効果的な、各種薬剤の薬浴治療法の処方がされるべきである。

しかしにこれらの点に触れた研究は少く、ほとんどが経験的に薬剤濃度と薬浴時間のみが単純一律に定められているにすぎない。そのため効果の不確実な点や、薬害の発生などに問題点

が多い。

本研究ではこれらの諸問題を明らかとする目的で計画され、前年度は、ニジマスの薬剤感受性と水温との関係を追究し、ホルマリン、マラカイトグリーン、トリクロルホン、について知見を得た。ホルマリンでは、水温10°Cの上昇に対し、1.89倍の薬剤に対する感受性の増加が認められ、従来の処方の250ppm濃度1時間薬浴では、15°C以上に死亡魚が出現し、更に低濃度での処方が望まれる。マラカイトグリーンは、10°C上昇に対し、3.81倍の感受性の増加がみられ、従来の1ppm濃度1時間薬浴では、20°C以上に死亡魚が出現し、0.6ppm以下の処方が望

ましい。又トリクロルホンは、水温10°C上昇に対し、10.23倍の増加を示し、一番大きな感受性の増加指数を示した。特に高水温域よりも低水温域側で、感受性の増加指数が高かった。しかし処方の0.3ppm濃度24時間薬浴では一応問題はなかった。本年度は前年に引き続き、マラカイトグリーン（平均体重2.45kg）、ニフルブランジン、ニフルピリノールについて同様の実験を実施し、その結果を得たので報告する。

なお、本研究は昭和47年度水産庁指定研究「病害研究」として実施した。

実験の方法

使用した薬剤は、マラカイトグリーンについては、試薬特級（merk）、硫酸（ $C_{23}H_{24}N_2$ ） \cdot （ $C_2H_2O_4$ ）を用いた。フラン剤については、ニ

第1表 各飼育水温における各種薬浴治療剤の

TLm 値 及び 回帰式

薬剤名	設定温度	回 帰 式	TLm	信頼区間 ($\rho = 0.05$)
マラカイトグリーン	5	$Y = 3.99X - 1.01$	10.0 ppm	12.98 ~ 7.7 ppm
	10	$Y = 5.5 X - 0.11$	7.75	9.11 ~ 6.6
	15	$Y = 7.51X - 0.61$	3.85	6.42 ~ 3.36
	20	$Y = 4.02X - 4.54$	1.3	1.67 ~ 1.01
ニフルブランジン	5	$Y = 23.25X - 47.45$	185.0	193.35 ~ 167.48
	10	$Y = 7.57X - 12.08$	180.0	205.35 ~ 157.78
	15	$Y = 6.99X - 8.07$	74.0	84.85 ~ 64.57
	20	$Y = 6.88X - 5.49$	37.0	62.42 ~ 42.27
ニフルピリノール	5	$Y = 5.61X + 1.62$	4.0	4.77 ~ 3.35
	10	$Y = 20.36X - 2.56$	2.35	2.48 ~ 2.23
	15	$Y = 16.16X - 0.99$	2.35	2.51 ~ 2.2
	20	$Y = 6.53X + 3.66$	1.6	1.9 ~ 1.34

$Y \cdots$ Bliss の probit unit (死亡率), $X \cdots \log x$, $x \cdots$

薬剤濃度 ppm, TLm … マラカイトグリーン ; 1

時間薬浴その後5日間清水中観察による1時間

TLm, ニフルブランジン ; 30分間薬浴その後5日

間清水中観察による30分間 TLm, ニフルピリノ

ール ; 24時間薬浴その後5日間清水中観察によ

る24時間 TLm 値を示した。

フルプラジン (HB-115), (アイベット15倍散), 及びニフルピリノール (P-7138), (フレーネース10倍顆粒) を用いた。

供試魚はニジマス (*Salmo gairdnerii*) の0年魚を用い, マラカイトグリーンについては, 平均体重2.45gの魚を各区10尾づつ放養した。

ニフルプラジン, 及びニフルピリノールについては, 平均体重 14.23g の魚を各区 7 尾づつ放養し実験に供した。

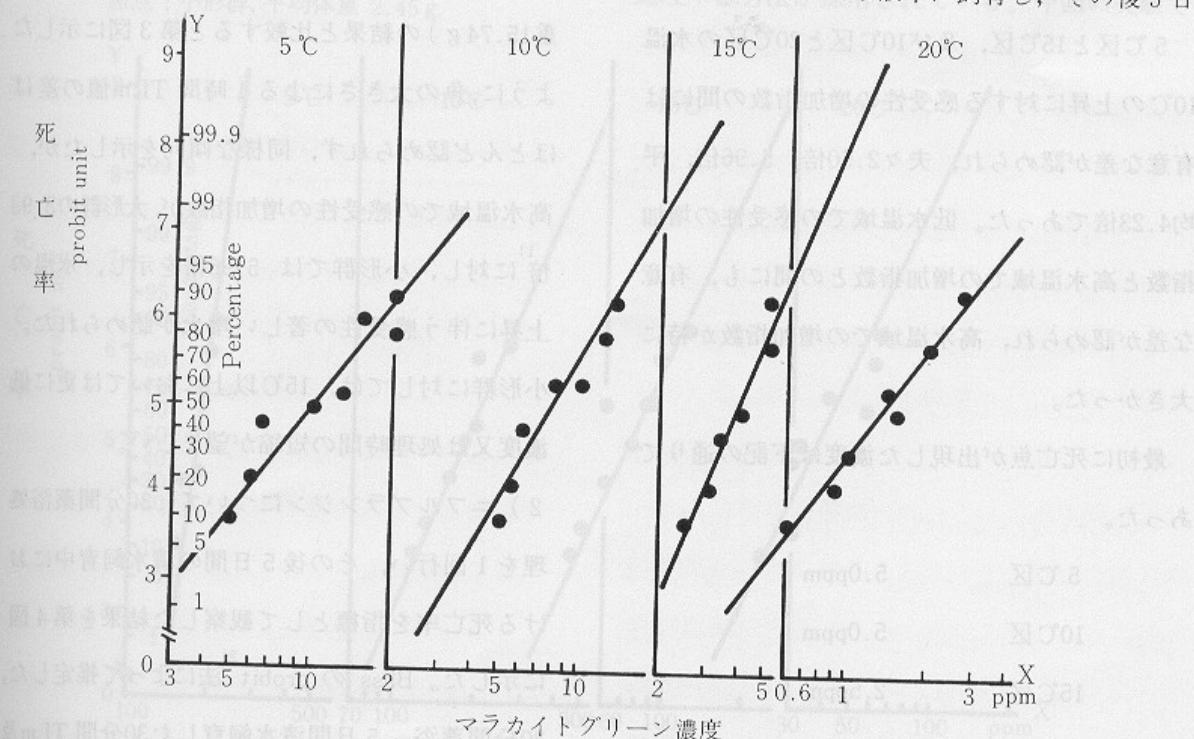
飼育水槽は, 15ℓ容量のガラス水槽を用い, 飼育水容量は10ℓとした。なお, このガラス水槽は, 木製の恒温水槽内に設置し, 所定の設定水温を維持した。水温の変動は各設定温度±0.5℃以内であった。設定水温は各薬剤について, 5℃, 10℃, 15℃, 20℃の4段階を設けた。

供試魚は実験開始24時間前より, 除々に設定水温まで馴致し供試した。

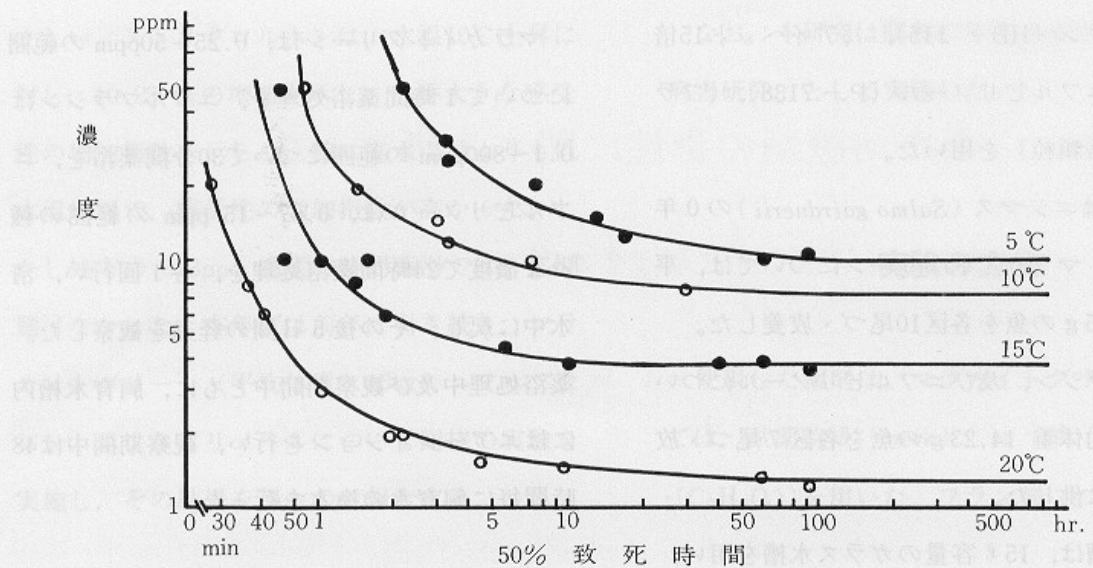
マラカイトグリーンは, 0.25~50ppm の範囲について1時間薬浴処理を, ニフルプラジンは0.1~800ppm の範囲について30分間薬浴を, ニフルピリノールは, 0.67~15 ppm の範囲の種々な濃度で24時間薬浴処理を, 各1回行い, 清水中に戻し, その後5日間の経過を観察した。薬浴処理中及び観察期間中ともに, 飼育水槽内にはエアーレイションを行い, 観察期間中は48時間毎に飼育水の換水を行った。

結果及び考察

1) マラカイトグリーンについて; 1時間薬浴処理を1回施こし, その後5日間の清水中における死亡率を指標として観察した結果を第1図に示した。1時間薬液中に飼育し, その後5日



第1図 各水温におけるマラカイトグリーン薬浴がニジマス0年魚に対して及ぼす毒性の変化



第2図 ニジマス0年魚の50%致死時間とマラカイグリーンの濃度との関係

間清水中で飼育した1時間TL_m及びその信頼区間($\rho=0.05$)、回帰式をBlissのprobit法によって推定し、第1表に示した。なお、各設定水温における50%のニジマスが致死する濃度と時間の関係を第2図に示した。

5°C区と15°C区、及び10°C区と20°C区の水温10°Cの上昇に対する感受性の増加指数の間には有意な差が認められ、夫々2.50倍、5.96倍、平均4.23倍であった。低水温域での感受性の増加指数と高水温域での増加指数との間にも、有意な差が認められ、高水温域での増加指数が特に大きかった。

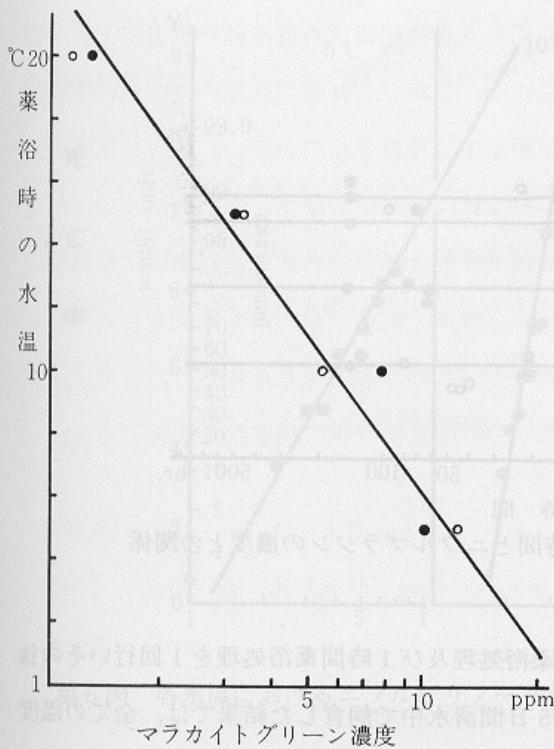
最初に死亡魚が出現した濃度は下記の通りであつた。

5°C区	5.0ppm
10°C区	5.0ppm
15°C区	2.5ppm
20°C区	0.6ppm

マラカイトグリーンの一般的な使用方法は、

1/20万(5 ppm)から1/100万(1 ppm)60分から90分処理する方法が広く用いられている。本実験で得られた結果から、この処方は危険な処方である。特に高温時には極めて危険な処方ある。前報の大形群での試験¹⁾(供試魚の平均体重15.74g)の結果と比較すると第3図に示したように、魚の大きさによる1時間TL_m値の差はほとんど認められず、同様な傾向を示したが、高水温域での感受性の増加指数が、大形群の3.93倍に対し、小形群では5.96倍を示し、水温の上昇に伴う感受性の著しい増大が認められた。小形群に対しては、15°C以上においては更に低濃度又は処理時間の短縮が望ましい。

2) ニフルプランジンについて；30分間薬浴処理を1回行い、その後5日間の清水飼育中における死亡率を指標として観察した結果を第4図に示した。Blissのprobit²⁾法によって推定した、30分間薬浴、5日間清水飼育した30分間TL_m及びその信頼区間($\rho=0.05$)、回帰式は第1表に



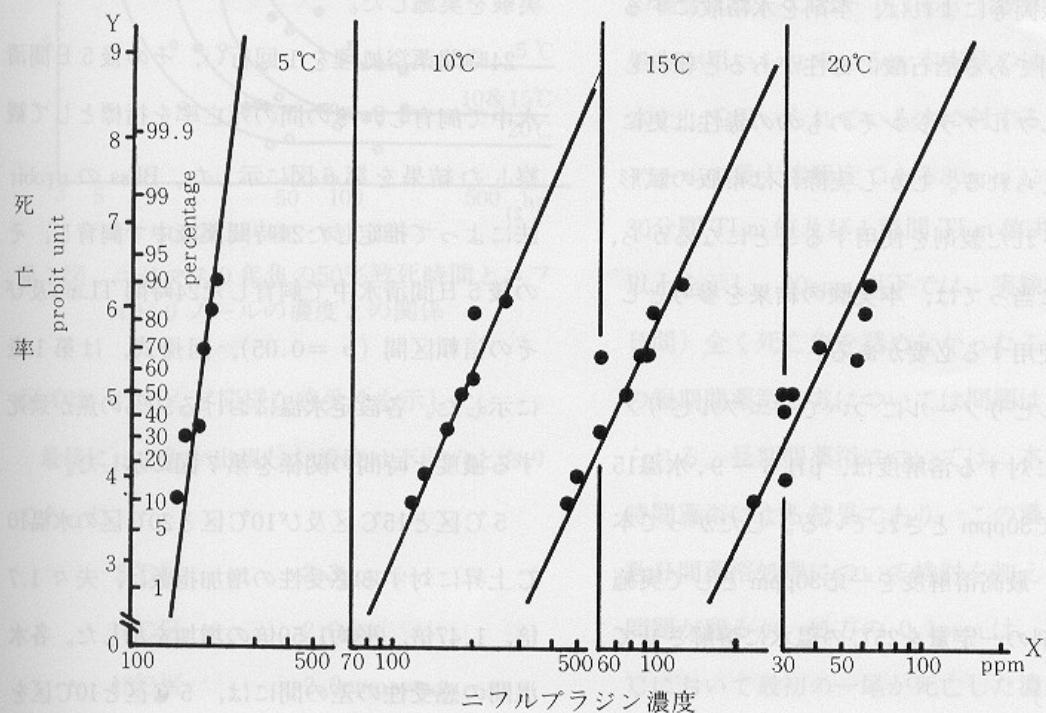
第3図 ニジマス0年魚の大形群と小形群に対するマラカイトグリーンの1時間TL_m値と飼育水温との関係
白点；大形群、平均体重15.7g
黒点；小形群、平均体重2.45g

示した。なお、各設定水温における50%のニジマスが致死する濃度と時間の関係を第5図に示した。

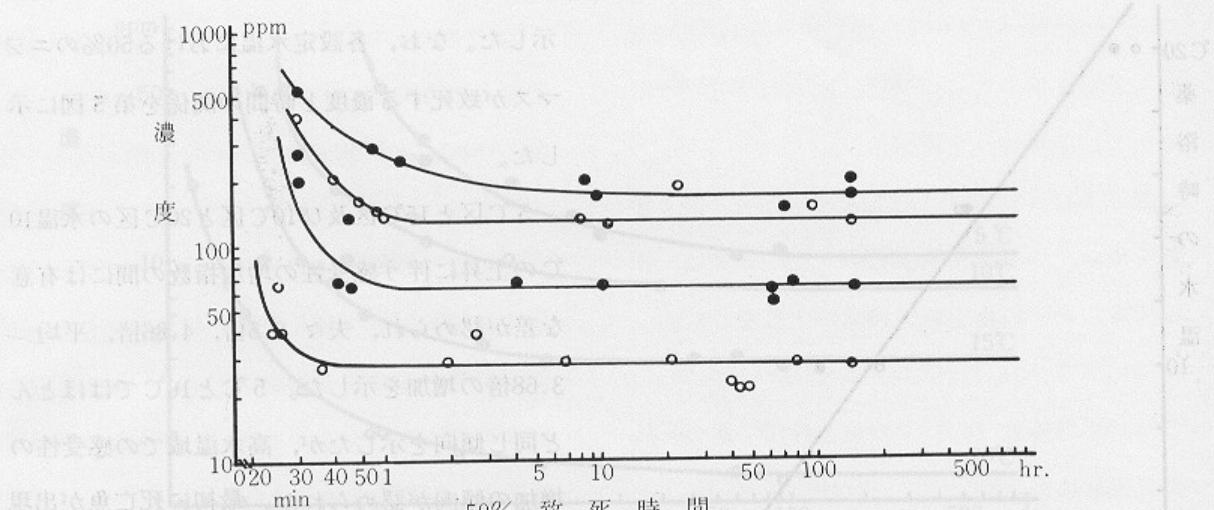
5°C区と15°C区及び10°C区と20°C区の水温10°Cの上昇に伴う感受性の増加指数の間には有意な差が認められ、夫々2.5倍、4.86倍、平均3.68倍の増加を示した。5°Cと10°Cではほとんど同じ傾向を示したが、高水温域での感受性の増加の傾向が認められた。最初に死亡魚が出現した濃度は下記のとおりであった。

5°C区	160ppm
10°C区	130ppm
15°C区	49ppm
20°C区	30ppm

ニフルプラジン（アイベット15倍散）の一般的な処方は、1ppm～10ppmで5～30分間、薬浴処理する方法が採用されている。今回の実験で



第4図 各水温におけるニフルプラジン薬浴がニジマス0年魚に対して及ぼす毒性の変化



第5図 ニジマス0年魚の50%致死時間とニフルピラジンの濃度との関係

は、ニジマス（平均体重14.23g）に対しては、この処方の範囲内で問題点はなかった。しかし実際の使用に当っては、往々にして、有効成分濃度と製剤濃度（15倍散）とを間違える場合があり、このような場合には、薬害の発現が可能な濃度となるので注意が肝要である。

なお、森岡等によれば、本剤を水浴散にする為の賦形剤である酒石酸に毒性があると報告しており、ニフルピラジンそのものの毒性は更に低いと考えられる。しかし実際には市販の賦形剤が添加された製剤を使用することになるから、本剤使用に当っては、本実験の結果を参考とし注意して使用する必要がある。

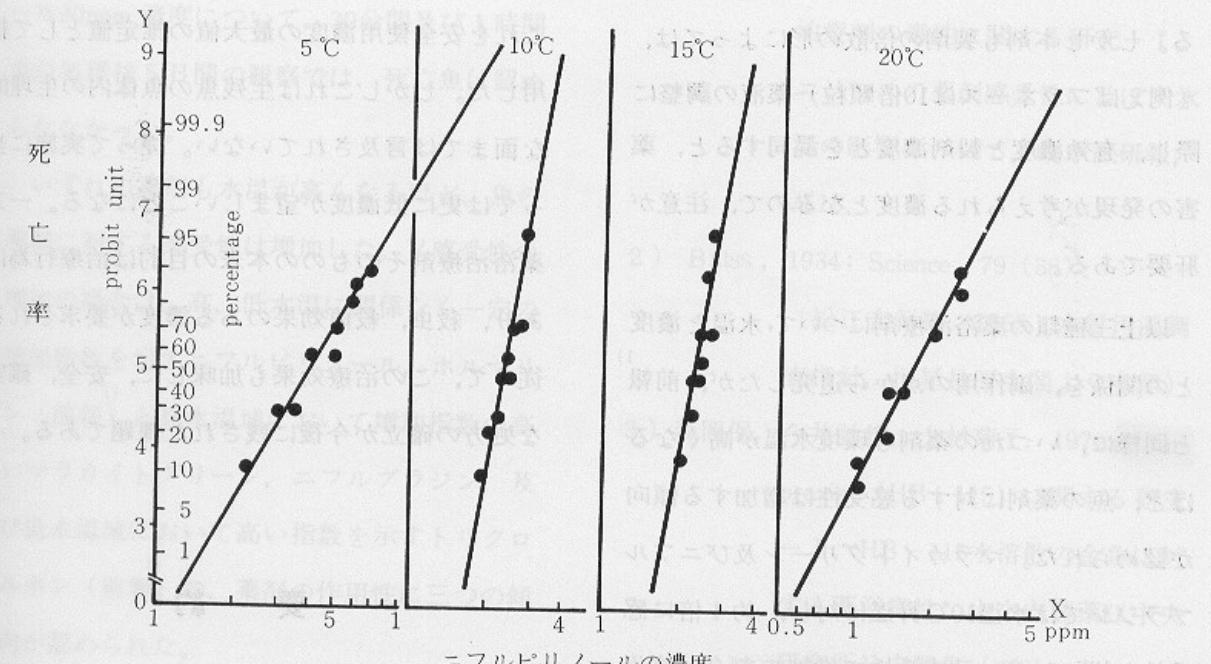
3) ニフルピリノールについて；ニフルピリノールの水に対する溶解度は、pH 6～9、水温15℃において30ppmとされている。⁴⁾したがって本実験では、最高溶解度を一応30ppmとして実施した。（本剤の一定量を25℃の温水に溶解させて使用した。）

ニフルピリノール30ppm濃度について30分間

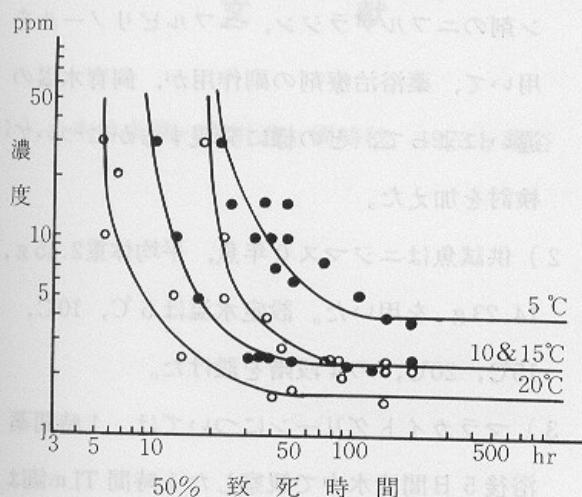
薬浴処理及び1時間薬浴処理を1回行いその後5日間清水中で飼育した結果では、全ての温度について異常は認められなかった。しかし24時間薬浴処理し、同様5日間観察した結果は、全ての供試魚が死亡した。従ってニフルピリノールについては、24時間薬浴処方にについてのみ本実験を実施した。

24時間薬浴処理を1回行い、その後5日間清水中で飼育し、その間の死亡率を指標として観察した結果を第6図に示した。Blissのprobit法によって推定した24時間薬液中で飼育し、その後5日間清水中で飼育した24時間TL_m及びその信頼区間（ $\rho = 0.05$ ）、回帰式、は第1表に示した。各設定水温における50%の魚が致死する濃度と時間の関係を第7図に示した。

5℃区と15℃区及び10℃区と20℃区の水温10℃上昇に対する感受性の増加指数は、夫々1.7倍、1.47倍、平均1.59倍の増加を示した。各水温間の感受性の差の間には、5℃区と10℃区を除いて、有意な差が認められた。5℃区と10℃



第6図 各水温におけるニフルピリノール薬浴がニジマス0年魚に対して及ぼす毒性の変化



第7図 ニジマス0年魚の50%致死時間とニフルピリノールの濃度との関係

区では、ほとんど同様な感受性を示した。

最後に死亡魚が出現した濃度は下記のとおりであった。

5°C区 2.3ppm

10°C区 2.0ppm

15°C区 2.0ppm

20°C区 1.0ppm

ニフルピリノールの一般的な処方は、短期間浴の場合には1ppm～2ppmで5～10分間処理、特に細菌性鰓病に対しては、1ppmで1時間処理する方法が用いられている。一方長時間薬浴の場合には、0.05～0.1ppmで数日間処理する処方が用いられている。本実験では普通に飼育水として用いられている水に対するニフルピリノールの最大溶解度である30ppmに対しては、30分間TL_m値及び1時間TL_m値共に30ppm以上を示し、30ppm以下では、実験期間中(5日間)全く死亡魚を認めなかったことから、この短期間薬浴処方については問題はないと考えられる。長期間薬浴については、本実験では24時間薬浴による結果であり、この濃度で処方の数日間薬浴処理について検討を加えることは、問題が残るが、処方の0.1ppmは、本実験の20°Cにおいて最初の一尾が死亡した濃度1.0ppmの1/10濃度に相当し、ほぼ安全な処方と推定され

る。しかし本剤も製剤の倍散の形によっては、(例えはフラネースは10倍顆粒)薬液の調整に際し、有効濃度と製剤濃度とを混同すると、薬害の発現が考えられる濃度となるので、注意が肝要である。

以上三種類の薬浴治療剤について、水温と濃度との関係を、副作用の点から追究したが、前報¹⁾と同様に、いづれの薬剤も環境水温が高くなるほど、魚の薬剤に対する感受性は増加する傾向が認められた。マラカイトグリーン及びニフルプラジンでは水温10°C昇温に対し、約4倍に感受性が増加した。又感受性の増加の割合は高温域、低温域での水温による影響が少なく、増加指数が、ほぼ一定の割合を示す、ニフルピリノール、ホルマリン(前報)¹⁾、と高水温域において感受性の増加の大きいマラカイトグリーン(本報告及び前報)¹⁾及びニフルプラジン、そして低温域において感受性の増加指数の大きいトリクロルホン(前報)¹⁾の三つの傾向の薬剤の作用性が認められた。尚フラン剤についてみると、高温域で特に感受性の増大するニフルプラジンと、水温域に関係なくほぼ一定の増加指数を示すニフルピリノールの二つの傾向が認められた。

薬浴治療剤の安全使用濃度については、前報においても論議したところであるが、その算出が困難であること、又これに関する資料に乏しいことから、この推定には色々問題が残る。一般には、48時間TLm値の1%濃度、又は96時間TLm濃度を推定値として用いる場合が多い。本実験では、一定時間の薬浴後5日間清水中で観察し、最初の死亡魚の出現した濃度を示し、

これを安全使用濃度の最大値の推定値として採用した。しかしこれは生残魚の魚体内の生理的な面までは言及されていない。従って実施に当っては更に低濃度が望ましいことになる。一方薬浴治療剤そのものの本来の目的は治療行為にあり、殺虫、殺菌効果のある濃度が要求される。従って、この治療効果も加味した、安全、確実な処方の確立が今後に残された課題である。

要 約

- 1) 有機色素剤のマラカイトグリーン及びフラン剤のニフルプラジン、ニフルピリノールを用いて、薬浴治療剤の副作用が、飼育水温の違いによって、どの様に発現するかについて検討を加えた。
- 2) 供試魚はニジマス0年魚、平均体重2.45g、14.23g、を用いた。設定水温は5°C、10°C、15°C、20°C、の4段階を設けた。
- 3) マラカイトグリーンについては、1時間薬浴後5日間清水中で観察した1時間TLm値は5°C, 10.0ppm, 10°C 7.75ppm, 15°C, 3.85ppm, 20°C 1.3ppmであった。
- 4) ニフルプラジンについては、同1時間TLm値は、5°C, 185.0 ppm, 10°C, 180.0 ppm, 15°C, 74.0 ppm, 20°C, 37.0 ppm、であった。
- 5) ニフルピリノールについては、24時間薬浴後5日間観察によるTLm値は、5°C, 4.0 ppm, 10°C, 2.35 ppm, 15°C, 2.35 ppm, 20°C, 1.6 ppm、であった。なお、ニフルピリノ

ール30ppm 濃度について、30分間及び1時間薬浴処理後5日間の観察では、死亡魚は認められなかった。

6) いずれの薬剤も水温が高くなるほど、魚の薬剤に対する感受性は増加した。又感受性の増加の場合は、高、低水温に関係なく一定の増加指数を示すニフルピリノール、ホルマリン¹⁾（前報）と高水温域において増加指数の高いマラカイトグリーン、ニフルプラジン、及び低水温域において高い指数を示すトリクロルホン¹⁾（前報）の、薬剤の作用性に三つの傾向が認められた。

文 献

治療剤の毒性に関する研究—I,
ニジマスの薬剤感受性に及ぼす水
温の影響について、岐水試研報,
A618.

- 2) BLISS, 1934; Science, 79 (38)
(松江吉行編, 1965; 水質汚濁調
査指針, 恒星社厚生閣より参照)
- 3) 森岡保, 今井計雄, 上村菊子, 1970; Nifur-
pazine (HB-115) に関する研究
—I, HB-115水溶散の金魚に対
する薬浴毒性, 山之内製薬KK中央
研究所社内報告 (プリント),
- 5) 水産用水基準専門委員会, 1965; 水産用水
基準, 日本水産資源保護協会.

1) 小木曾卓郎, 森川進, 岡崎稔, 1973; 薬浴 (Culturing in Ponds),

説の一部をクロレラに適用した飼料を子の飼
育を試み、成長、飼料効率等についての結果を得たので報告する。

なお、本試験は水産繁殖クローラ研究会の連
絡試験として実施したものである。

試験の方法

1) ニジマスの飼育用飼料としての
クロレラの適性について、クロレラ
添加量による成長促進効果を認めておる。そし
て、クロレラの飼育用飼料としての
適性について検討するために、鳥