

要　　題

せっそう病に関する研究—XIV

スルファジアジン、トリメトプリムおよびA-TPのアマゴ
に対する毒性およびせっそう病に対する治療効果

森川 進・田代文男

Studies on the Furunculosis in Salmonoid Fishes—XIV

On the Chemotherapy and Toxicity of Sulphadiazine, Trimethoprim and A-TP

Susumu MORIKAWA · Fumio TASHIRO

Chemotherapeutic studies on sulphadiazine (SDZ), trimethoprim (TMP) and A-TP (ATP), consisted of 6.7% trimethoprim, 33.3% sulphadiazine and 60.0% ground limestone flour base, were carried out with the following results.

The oral LD₅₀ of SDZ, TMP and ATP on Amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) were estimated as >16000mg/kg·BW, >4000mg/kg·BW, and >6000mg/kg·BW, respectively.

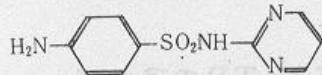
Side effects of these drugs were observed on the fish, which was forced the diet contained SDZ, 1000mg/kg·BW, 5 days, po, TMP, 100mg/kg·BW, 5 days, po and ATP, 300 mg/kg·BW, 5 days, po.

Co-operative chemotherapeutic effect of SDZ and TMP was recognized when the fish got administration (30mg/kg·BW, 5 days, po) of ATP against the artificially infected with *Aeromonas salmonicida*.

¹⁾ 前報に引き続き、スルファジアジン (SDZ), トリメトプリム (TMP) およびA-TP (A

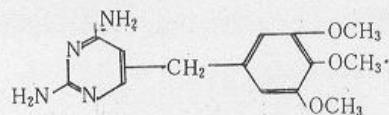
TP)について、アマゴに対する急性毒性試験および亜急性毒性試験、せっそう病に対する実験感染治療試験を行なった。

S D Zは下記の構造を持つサルファ剤で、細



菌の葉酸合成過程において、*p*-アミノ安息香酸と拮抗して、抗菌作用を示すものである。²⁾ T

M Pは下記の構造を持ち、葉酸をフォリン酸に



還元する、ジハイドロ葉酸還元酵素の作用を阻止して、抗菌作用を示すものである。³⁾ A T Pは S D Zを33.3%，T M Pを6.7%含有する合剤で、両剤の作用機序から、相乗効果が期待されるものである。

I 急性毒性試験

試験の方法

供試魚はアマゴ0年魚で、平均体重25g(範囲23~28g), 45g(40~50g)のものを、各区20~30尾ずつ用いた。

供試薬剤は、S D ZおよびT M Pは純末を、A T Pは、S D ZとT M Pの5:1の混合剤を40%含む製剤を用いた。なおA T Pの投薬量は、混合剤(純末)の量として表わした。

調薬方法は、マス用粉末飼料90%、 α -デンプン10%，水60%(外割)に所定量の薬剤を加

えてペレット状に成型し乾燥させた。給餌率は0.5%とした。

投薬方法は、ウレタンで供試魚を麻酔し、ピンセットを用いて、薬剤を含む飼料を胃内に挿入した。投薬量は、S D Zは4,000~16,000mg/kg·BW, T M Pは2,000~8,000mg/kg·BW, A T Pは6,000mg/kg·BWで、1回投与とした。

試験池はコンクリート水槽(長さ85×幅46×深さ46cm)で、流水飼育とした。なお投薬後の薬剤の嘔吐の有無を確認するために、投薬終了24時間は、個体別に網イケスに収容した。

投薬後は無給餌で飼育し、2週間観察を行なった。飼育水温は、15.0~19.0°Cであった。

結果および考察

結果を第1表に示した。前述したように、魚体重の0.5%の飼料に薬剤を添加して投与したために、S D Zは、16,000mg/kg·BW以上、T M Pは、8,000mg/kg·BW以上、A T Pは、6,000mg/kg·BW以上の投与は不可能であった。

S D Zについては、4,000mg/kg·BW投与では、異常は認められなかった。8,000mg/kg·BW投与では、25尾中1尾が嘔吐し、嘔吐しなかった24尾中1尾が投薬5日後に斃死した(斃死率4.2%)。16,000mg/kg·BW投与では、嘔吐する個体は見られなかつたが、20尾中、投薬2日後に3尾、3日後に1尾、合計4尾が斃死した(斃死率20.0%)。

T M Pについては、30尾中、2,000mg/kg·BW投与では14尾(46.7%), 4,000mg/kg·BW投与では11

第1表 SDZ, TMPおよびATPのアマゴに対する急性毒性試験結果

薬剤	投薬量	供試尾数	平均体重	嘔吐尾数	斃死尾数	斃死率*
	mg/kg·BW	尾	g	尾	尾	%
SDZ	4,000	25	45	0	0	0
	8,000	25	45	1	1	4.2
	16,000	20	45	0	4	20.0
TMP	2,000	30	25	14	0	0
	4,000	30	25	11	0	0
	8,000	30	25	29	0	0
ATP	6,000	20	45	0	8	40.0

※嘔吐しなかった供試尾数に対して

尾(36.7%), 8,000mg/kg·BW投与では29尾(96.7%)と、多くの供試魚が嘔吐した。嘔吐しなかった個体には異常は認められなかった。

ATPについては、6,000mg/kg·BW投与で嘔吐は見られなかつたが、20尾中、投薬2日後に4尾、3日後に3尾、4日後に1尾、合計8尾が斃死した(斃死率40.0%)。

以上の結果から、各薬剤のLD₅₀は、SDZ:>16,000mg/kg·BW, TMP:>4,000mg/kg·BW, ATP:>6,000mg/kg·BWであることが明かになった。

II 亜急性毒性試験

試験の方法

供試魚は、アマゴ0年魚で、平均体重45g(範囲40~50g)のものを、各区20尾ずつ用いた。

投薬量は、SDZは500~2,000mg/kg·BW, TMPは50~200mg/kg·BW, ATPは300~1,200mg/kg·BWを、1日1回、5日間連続投与を行なった。

供試薬剤、調薬方法、投薬方法、試験池および観察期間は、前項と同様である。飼育水温は13.0~14.0°Cであった。

結果および考察

結果を第2表に示した。

SDZについては、500mg/kg·BW区で3日目に1尾、1,000mg/kg·BW投与区で8日目に1尾の斃死魚が見られたが、これらの斃死魚は「スレ」症状を呈し、その原因は取り扱いによるものであると思われた。1,000mg/kg·BW区では上記の他に9日目に水カビが着生した斃死魚が1尾、2,000mg/kg·BW区では、13日目に肉眼的には異常の認められない斃死魚が1尾出現し、これらは本剤投与の影響であると思われた。

TMPについては、50mg/kg·BW区は異常は認められなかつたが、100mg/kg·BW区では、2日目から5日目にかけて、2~9尾、200mg/kg·BWでは、1日目から5日目にかけて、3~16尾の供

第2表 SDZ, TMPおよびATPのアマゴに対する亜急性毒性試験結果

経過日数	投薬量*	S D Z			T M P			A T P		
		500	1,000	2,000	50	100	200	300	600	1,200
投 薬	1					(3)		(1)	(1)	
	2					(2)	(11)	(8)	(11)	
	3	1尾斃死(スレ)				(4)	(16)	(1)	(5)	(11)
	4					(7)	(13)	1尾体色黒化	(5)	(11)
	5					(9)	(15)	(1)	(4)	(15)
	6									
	7									
	8	1尾斃死(スレ)								
	9	" (水カビ)						1尾斃死(水カビ)		
	10									
	11									
	12									
	13			1尾斃死		1尾斃死(水カビ)				
	14									

※mg/kg·BW () 内数字は、薬剤を嘔吐した尾数

試魚が薬剤を嘔吐した。この嘔吐現象は、本剤の影響であると考えられるが、このために亜急性毒性は明らかにならなかった。

ATPについては、300mg/kg·BW区で4日目に体色黒化魚が1尾出現したが、翌日には回復した。また9日目に水カビが着生した斃死魚が1尾出現し、これらは本剤の影響であると思われた。またTMPと同様、薬剤を嘔吐する供試魚が、300mg/kg·BW区で3日目および5日目に1尾、600mg/kg·BW区で1日目から5日目にかけて、1

～8尾、1,200mg/kg·BW区で1日目から5日にかけて、11～15尾みられた。

以上の結果から、SDZは1,000mg/kg·BW以上、TMPは100mg/kg·BW以上、ATPは300mg/kg·BW以上の5日間連続投与で、アマゴ0年魚に対して影響が出ることが明らかになった。

III 実験感染治療試験

試験の方法

供試魚はアマゴ0年魚で、平均体重55g（範囲50~60g）のものを、各区20尾ずつ用いた。

実験感染に使用した菌株は、1972年6月に岐阜水試で飼育中の自然発病アマゴより分離した*A. salmonicida* G 7202で、数回の魚体通過の後用いた。薬剤感受性をディスク法(昭和)によって測定したところ、本株は、スルファモノメトキシン、クロラムフェニコール、オキシテトラサイクリンおよびナリジクス酸に高い感受性を持つものであった。接種菌液は、ハートインフェュージョンブイヨン（栄研）で、20°C・一夜培養したもの、1万倍に稀釀したもの用いた。接種菌量は、 6.7×10^3 CFU/fishであった。菌液接種量は、0.1ml/fishで、接種部位は背鰭下筋肉とした。

投薬量は、SDZは50~400mg/kg·BW、TMPは1.25~10mg/kg·BW、ATPは7.5~60mg/kg·BWを、1日1回、5日間連続投与を行い、初回投薬は菌接種24時間後に行なった。なお、無接種対照区の他に、クロラムフェニコール(CP)の50mg/kg·BW区を設定した。この理由はCPは、湿菌重量20mg/kg·BWで攻撃された実験感染アマゴに対して、上記投与量で100%の治療効果を示しており、本試験における攻撃の強度が適当であるか否かを判断するために設けた。

供試薬剤、調薬方法、投薬方法および試験池は、前項と同様である。

接種後22日間観察を行なって毎日の斃死魚数を記録し、それらの斃死魚と試験終了時の生残

魚について菌分離を行ない治療効果を判定した。

試験水温は、16.1~21.2°Cであった。

結果および考察

結果を第3表に示した。

試験中、供試魚に水カビ病が見られ、試験の障害となつたので、斃死魚より細菌分離を行ない、死因判定の一助とした。すなわち、水カビの着生が見られた斃死魚より、*A. salmonicida*が再分離された場合は、その死因を実験感染によるせっそう病、*A. salmonicida*が再分離されない場合は水カビ病と推定し、せっそう病によると思われる斃死魚数からの生残率を補正生残率とした。なお水カビの着生が見られない斃死魚からは、すべて*A. salmonicida*が再分離された。

対照の無投薬区では、種々4日後にすべての供試魚が斃死したが、CP 50mg/kg·BWでは、せっそう病による斃死魚は見られなかった。

SDZについての試験終了時の補正生残率は、50mg/kg·BW区40%，100mg/kg·BW区70%，200mg/kg·BW区85%，400mg/kg·BW区75%で、これらの投薬量では著明な効果は認められなかった。

TMPについての同上生残率も、1.25mg/kg·BW区0%，2.5mg/kg·BW区35%，5mg/kg·BW区65%，10mg/kg·BW区45%で、SDZと同様これらの投薬量では著明な効果は認められなかった。

ATPについての同上生残率は、7.5mg/kg·BW区80%，15mg/kg·BW区85%，30mg/kg·BW区95%，60mg/kg·BW区100%と、30mg/kg·BW以上の投与で

第3表 *A. salmonicida* 実験感染魚に対する、 SDZ, TMP および ATP の治療効果
(生残尾数)

経過日数	薬剤投薬量	対照	CP	S	D	Z	T	M	P	A	T	P		
		0	50	50	100	200	400	1.25	2.5	5.0	10.0	7.5	15	30
投薬	1	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	2	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	3	9+	20	20	20	20	20	18+	18+	18+	20	20	20	20
	4	0+	20	20	19+	20	20	12+	14+	17+	17+	20	20	20
	5		20	19+	19	20	20	7+	9+	16+	17	20	20	20
	6		20	19	19	20	20	3+	8+	16	17	20	20	20
	7		20	18+	19	19+	20	1+	8	16	16+	20	20	20
	8		20	15+	19	19	20	1	8	15+	14+	20	20	20
	9		20	10+	19	19	18+	1	8	15	13+	20	20	20
	10		20	9+	17+	19	17+	1	8	15	13	19+	20	20
回収	11		20	9	15+	17+	17	0+	7+	14+	12+	18+	19+	19+
	12	18-	9	15	17	16-		7	14	10+	17+	19	19	20
	13	18	8+	14+	17	16		7	14	10	17	18+	19	20
	14	17-	8	14	15-	14-		7	14	10	17	17+	19	20
	15	17	8	14	15	14		7	13+	10	16+	17	19	20
	16	17	7-	14	15	12+		7	12-	9+	16	17	19	20
	17	17	7	14	13-	12		6-	11-	9	16	17	19	20
	18	17	7	14	13	12		5-	11	9	15-	16-	19	20
	19	17	6-	13-	12-	12		5	11	9	15	16	19	20
	20	17	6	13	12	12		5	11	9	15	16	18-	20
	21	17	6	13	12	11-		5	11	8-	15	16	18	20
	22	17	6	13	12	11		5	11	8	15	16	18	20
補正生残率	0%	100%	40%	70%	85%	75%	0%	35%	65%	45%	80%	85%	95%	100%

*mg/kg·BW + : *A. salmonicida* 検出 - : *A. salmonicida* 不検出 。: 水カビ病

著効が見られた。

なお、試験終了時における生残魚からは、いずれの区においても、*A. salmonicida* は再分離されなかった。

ATP は前述したように SDZ と TMP の合剤であり、著効の見られた 30mg/kg·BW 区の SD

Z 量は 25mg/kg·BW、TMP 量は 5 mg/kg·BW となり、両剤の単独投与における結果と比較して、両剤の協同作用が認められた。

なお、水カビ病は、SDZ の多量投与区 (200, 400mg/kg·BW) に多発傾向がうかがわれた。

以上の結果から、A T Pの30mg/kg・BW投与では、せっそう病の実験感染魚に対して著効が認められ、この投与量では、急性および亜急性毒性に問題が認められないことから、せっそう病の治療薬剤として使用し得る可能性が示されたが、更にアマゴにおける吸収、排泄および残留性、アマゴに対する安全性の検討が必要であろう。

3. 実験感染治療試験においては、SDZは400mg/kg・BW以下、TMPは10mg/kg・BW以下の投与では著効は得られなかったが、A T Pは30mg/kg・BW以上の投与で著効がみられ、両剤の協同作用が認められた。

4. A T Pはせっそう病の治療薬として使用し得る可能性が示された。

要 約

文 献

スルファジアジン、トリメトプリムおよび両剤の合剤であるA-T Pについて、アマゴにおける急性および亜急性毒性試験、せっそう病の実験感染治療試験を行ない、次の結果を得た。

1. 各薬剤のLD₅₀は、SDZ:>16,000mg/kg・BW、TMP:>4,000mg/kg・BW、A T P:>6,000mg/kg・BWであった。

2. 亜急性毒性試験においては、SDZは1,000mg/kg・BW以上、TMPは100mg/kg・BW以上、A T Pは300mg/kg・BW以上の5日間連続投与で、アマゴ0年魚に対して影響が出た。

- 1) 森川 進・田代文男・河野 薫, 1979; せっそう病に関する研究—XI, ピロミド酸の化学療法的研究, 岐水試研報, No.24, pp33~49.
- 2) 僕士和彦, 1971; サルファ剤の基礎知識, 日本動物薬事協会, 東京, 171pp.
- 3) 五島瑳智子・金子康子・原田公子・桑原章吾, 1973; サルファ剤とTrime-thoprimの協力作用—— *in vitro* 抗菌作用について——, Chemotherapy, 21 (2).

本県内水路漁業の主導産業である相模川、木曽川等の水系における底水の悪化と廃物化は、有用水生生物の生育に重大な影響を及ぼすと考へられ実施されている。

著者は、底水の悪化に伴う魚類の死滅を防ぐため、エビサス、アコヤガイ等の底生魚類を対象に、その成長、生殖能率等の調査的