

## せっそう病に関する研究-XV

スルファモノメトキシンとオルメトプリムの合剤の化学療法的研究

森川 進・田代文男

Studies on the Furunculosis in Salmonoid Fishes-XV

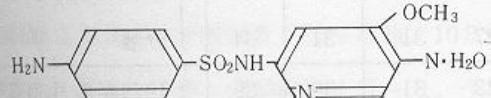
Chemotherapeutic Studies on Sulfamonomethoxine-Ormethoprim Combination Product

Susumu MORIKAWA・Fumio TASHIRO

<sup>1)~4)</sup>  
著者らは前報までに、既販および開発中の21種の薬剤について、化学療法的検討を行なってきた。

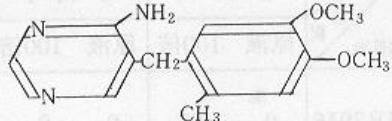
本報では、スルファモノメトキシン（以下 SMM と略記）とオルメトプリム（同 OMP）の合剤（同 DG-5459）について、*A. salmonicida* の薬剤感受性、アマゴに対する安全性、アマゴおよびニジマスにおける残留性、アマゴのせっそう病に対する治療効果を検討した結果を報告する。

SMM 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、 $\rho$ -アミノ安息香酸と拮抗して抗菌作用を示すものである。OMP

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。DG-5459は、1 g 中に SMM を 0.3 g, OMP を 0.1 g 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 *A. salmonicida* の薬剤感受性

## 試験の方法

供試菌株は、第1表に示した11株で、いづれもアマゴのせっそう病自然発病魚から分離されたものである。感受性の測定はディスク法によった。すなわち病魚の腎臓より普通寒天平板培地（ニッスイ）で分離した菌株を、ハートインフェュージョンプロス（栄研）で一夜培養し、その培養液を原液 ( $10^8$ CFU/ml) および滅菌生理食塩水での100倍稀釀液を、感受性測定培地に0.1mlずつ接種しコンラージで塗抹した。感受性測定培地は、直径9cmのプラスチックシャーレに、変法ミューラーヒントン培地（感性ディスク用培地（ニッスイ））を15ml分注したもので、コンラージで接種後、すみやかに菌液が培地に吸収される程度に乾燥した。SMM、ナリジクス酸（NA）、クロラムフェニコール（CP）およびオキシテトラサイクリン（OTC）は、市販の昭和ディスクを、OMPおよびDG-5459は、第一製薬株式会社研究所で調整されたものを用いた。なおOMPは $50\text{mcg}/\text{disk}$ 、DG-5459はSMMが $75\text{mcg}/\text{disk}$ 、OMPが $25\text{mcg}/\text{disk}$ の薬剤含有量であった。各ディスクをピンセットで感受性測定培地に置き、20°C・48時間後に阻止円の直径を測定した。

## 結果および考察

結果は第1表に示すとおりで、各菌株ともほぼ同一の感受性を示し、原液接種の場合は、SMM、OMPとも阻止円は形成されなかったがDG-5459では19~26mmの阻止円形成が認められた。また100倍稀釀液接種の場合は、SMM

第1表 *A. salmonicida* 11株の薬剤感受性

薬剤名 希釈 菌株No.	S M M		O M P		DG-5459		N A		C P		O T C		菌株の由来
	原液	100倍	原液	100倍	原液	100倍	原液	100倍	原液	原液	原液	原液	
HR7916	*	0	27	0	0	22	34	26	30	35	33		1979年6月12日 アマゴ(1+) の 自然発病魚より 分離
HR7917	0	29	0	0	24	32	21	31	32	29			
HR7918	0	30	0	0	22	30	21	30	29	31			
HR7919	0	29	0	0	24	31	20	30	29	30			
HR7920	0	26	0	0	19	30	17	28	29	28			
HR7943	0	35	0	0	(26)	40	26	39	33	32			1979年7月18日 アマゴ(0+) の 自然発病魚より 分離
HR7944	0	33	0	0	(30)	39	29	40	45	42			
HR7945	0	38	0	0	(29)	37	31	46	37	35			
HR7946	0	30	0	0	(24)	30	27	31	31	34			
HR7980	0	(26)	0	0	(23)	33	23	31	30	29			1979年7月30日 同上
HR7981	0	30	0	15	26	34	29	37	35	36			

\*阻止円直径、単位mm、( )は阻止円内に菌の集落が少数認められるものを示す。

が $26\sim38\text{mm}$ , OMPが $0\sim15\text{mm}$ であったが、DG-5459では $30\sim40\text{mm}$ の阻止円形成が認められた。これらの結果と、各ディスクの薬剤含有量が、SMM $400\text{mcg}/\text{disk}$ , OMP $50\text{mcg}/\text{disk}$ に対して、DG-5459は、SMM $75\text{mcg}/\text{disk}$ およびOMP $25\text{mcg}/\text{disk}$ であったことを併せ考えると、両剤の相乗作用が認められると思われた。

## II DG-5459のアマゴに対する安全性

通常投薬量およびその2倍量を、通常投薬期間の2倍連続投与し、アマゴに対する影響を検討した。

### 試験の方法

試験区は、市販配合飼料（以下飼料と略称）のみを投与する無投薬対照区、 $100\text{mg}/\text{kg}\cdot\text{BW}$ （以下/ $\text{kg}\cdot\text{BW}$ を省略）投与区および $200\text{mg}$ 投与区を設けた。岐阜水試で採卵・ふ化、飼育されたアマゴ1年魚のスマルト型を供試魚とし、試験開始時の平均体重が $80.0\text{ g}$ ものを各区130尾ずつ用いた。試験池は長さ $3.8\text{m} \times$ 巾 $1.3\text{m} \times$ 水深 $0.5\text{m}$ の長方形コンクリート池を用い、地下水を一池当り約 $3\ell/\text{sec}$ 通水した。試験期間中の水温は、 $14.5\pm0.8^\circ\text{C}$ であった。

試験は7日間の予備飼育を行った後、10日間投薬し、投薬終了後2週間観察を行った。予備飼育時には、午前中に1回のみ魚体重の0.5%の飼料に養魚用オイル（以下オイルと略称）を

5%外割添加したもの投与した。投薬期間は午前と午後にそれぞれ魚体重の0.25%（オイル5%外割添加）を給餌し、薬剤の添加は午前のみとした。投薬方法は、オイルに所定量の薬剤をよく懸濁させ、飼料に吸着させて自由摂餌を行った。投薬終了後は、1日1回給餌とし、魚体重の0.8%の飼料にオイルを5%外割添加して投与し、薬剤投与の摂餌に及ぼす影響を見るために摂餌に要する時間を計測した。

投薬開始前、終了後および終了後14日目に全区の魚体重を測定し、また各区5個体について、体長、体重、ヘモグロビン量（アメリカンオブティカル社、Hbメーター）、ヘマトクリット値（ミクロヘマトクリット、 $11,000\text{ rpm}$ 、5分間）、血漿たん白量（日立、屈折たん白計）および肝臓重量を測定した。

なお供試魚の病理組織学的検討が第一製薬株式会社研究所で行われ、別に報告される予定である。

### 結 果

**飼育経過** 予備飼育期間および投薬期間と、投薬終了後14日間のそれぞれの飼育経過を第2表に示した。供試魚は異常死が見られず、健康と思われるものを用いたにもかかわらず、7日間の予備飼育時の5日目より、せっそう病の自然発生が認められ、試験期間中に、対照区で18尾（せっそう病によるもの11尾、IHNによるもの5尾、不明2尾）、 $100\text{mg}$ 区で6尾（せっ

第2表 DG-5459のアマゴに対する安全性試験の飼育経過

期 間	予備飼育および投薬期間 (7日間) (10日間)			投 薬 後 (13日間)		
	mg/kg・BW 0	100	200	0	100	200
試 験 区						
期首尾数尾	130	130	130	60	60	60
"重量kg	10.3	10.4	10.5	5.0	5.0	5.0
"平均体重g	79.2	80.0	80.8	83.3	83.3	83.3
期末尾数尾	116	126	128	50	58	60
"重量kg	9.9	10.5	10.5	4.7	5.4	5.4
"平均体重g	85.3	83.3	82.0	94.0	93.1	90.0
斃死尾数尾	8	4	2	10	2	0
"重量※g	658	327	163	887	176	0
処理尾数尾	6	0	0	0	0	0
"重量g	472	0	0	0	0	0
総給餌量g	1491	1348	1121	546	509	492
内訳 { ペレット g	1420	1284	1068	520	485	469
オイル g	71	64	53	26	24	23
増重量kg	-0.4	0.1	0	-0.3	0.4	0.4
補正増重量g	730	427	163	587	576	400
斃死率%	6.5	3.1	1.5	16.7	3.3	0
補正飼料効率%	49.0	31.7	14.5	107.5	113.2	81.3

※推定値

そう病1尾、水カビ病1尾、不明2尾、とび出し2尾)、200mg区で2尾(せっそう病1尾、不明1尾)の斃死が見られた。

飼料効率は、予備飼育および投薬期間中は、対照区、100mg区、200mg区がそれぞれ、49.0%，31.7%，14.5%，投薬終了後13日間は、それぞれ107.5%，113.2%，81.3%であった。

**摂餌状況** 各区の摂餌状況を第3表に示した。対照区は投薬終了時の取上げ翌日にやや不良になったのみで、試験期間中終始良好な摂餌状況であった。

100mg区は予備飼育期間は良好であったが、投薬4日目から摂餌が悪くなり、7日目から9日目までは途中で給餌を中止せざるを得なかった。また投薬終了後も、2日間は予定量の給餌が不可能で、4日目から良好な摂餌に回復した。

200mg区も同様に、投薬3日目から摂餌が悪くなり、5日目から投薬終了まで、給餌を途中で終えざるを得なかった。投薬終了後も2日間は予定量の給餌が不可能で、6日目から良好な摂餌を示した。

これらの給餌未了により、実際の投薬量は、

第3表 DG-5459のアマゴに対する安全性試験の摂餌状況

試験区		0 mg/kg·BW		100		200	
		摂餌状況(分)	*摂餌率投薬量	摂餌状況(分)	*摂餌率投薬量	摂餌状況(分)	*摂餌率投薬量
予備飼育	11/3～11/9	良好	% mg/kg 100 —	良好	% mg/kg 100 —	良好	% mg/kg 100 —
投薬期間	11/10	"	" 0	"	" 100	"	" 200
	11	"	" "	"	" "	"	" "
	12	"	" "	"	" "	稍不良	" "
	13	"	" "	稍不良	" "	"	" "
	14	"	" "	不良	" "	不良	17.6 56.2
	15	"	" "	"	" "	"	41.8 133.3
	16	"	" "	"	39.6 63.2	"	7.7 24.6
	17	"	" "	"	40.7 64.9	"	58.2 186.0
	18	"	" "	"	62.6 100	"	47.3 150.9
	19	"	" "	"	100 "	"	20.9 66.7
投薬後	20	稍不良(4)	" —	" (8)	50.0 —	" (7)	23.8 —
	21	良好(3)	" —	" (6)	61.9 —	" (7)	47.6 —
	22	" (3)	" —	稍不良(6)	100 —	" (11)	100 —
	23	" (2)	" —	良好(3)	" —	稍不良(8)	" —
	24	" (2)	" —	" (3)	" —	" (5)	" —
	25	" (2)	" —	" (2)	" —	良好(3)	" —
	26	" (2)	" —	" (2)	" —	" (3)	" —
	27	" (2)	" —	" (3)	" —	稍不良(5)	" —
	28	" (2)	" —	" (3)	" —	良好(3)	" —
	11/29～12/2	" (2)	" —	" (3)	" —	" (2)	" —

\*給餌予定量に対する

100mg区で7日目63.2mg, 8日目64.9mg, 9日目100mg, 200mg区で5日目56.2mg, 6日目133.3mg, 7日目24.6mg, 8日目186.0mg, 9日目150.9mg, 10日目66.7mgと推定された。

**供試魚の所見** 対照区は試験期間を通じて前記の斃死以外異常は認められなかった。しかし投薬区では、投薬2日目より体色が青緑色に変化した個体が数多く見られ、その変化の度合は200mg区の方が100mg区より大きかった。両区と

も体色変化は2日目が最も強く、3日目からは2日目に比較してやや弱くなったが、投薬終了4日目まで続いた。また200mg区では、投薬5日に体色が青緑色の個体が一尾斃死した。

**肝臓重量および血液性状** 投薬直前、終了直後および終了14日後の肝臓重量および血液性状を第4表に示した。肝臓の体重比は、投薬終了直後に両投薬区が対照区に比べてやや低い傾向が認められ、また両投薬区は、投薬終了14日後

第4表 DG-5459のアマゴに対する安全性試験の供試魚の肝臓重量および血液性状

試験区	項目	投薬直前(11/9)	投薬終了直後(11/20)	投薬終了14日後(12/3)
mg/kg・BW 0	被鱗体長 cm	18.0±1.1*	18.3±0.8	19.4±0.7
	体重 g	77.9±8.7	80.4±11.4	98.4±10.6
	肝臓重量 g	0.94±0.23	1.00±0.08	1.46±0.43
	肝臓体重比 %	1.19±0.23	1.25±0.10	1.47±0.37
	ヘモグロビン量 g/dl	8.8±0.46	8.1±0.73	6.6±0.90
	ヘマトクリット値 %	44.8±2.7	38.5±3.3	28.7±4.5
	血漿たん白量 g/dl	4.6±0.9	4.4±0.4	3.6±0.4
100	被鱗体長 cm		18.3±0.2	19.0±0.5
	体重 g		77.5±6.1	91.1±8.9
	肝臓重量 g		0.86±0.13	1.33±0.18
	肝臓体重比 %		1.10±0.11	1.46±0.13
	ヘモグロビン量 g/dl		8.6±0.37	8.0±0.7
	ヘマトクリット値 %		35.9±3.3	36.7±5.9
	血漿たん白量 g/dl		4.3±0.3	4.0±0.4
200	被鱗体長 cm		18.5±0.6	18.7±0.6
	体重 g		81.5±6.2	92.8±13.3
	肝臓重量 g		0.89±0.16	1.53±0.48
	肝臓体重比 %		1.08±0.13	1.62±0.41
	ヘモグロビン量 g/dl		8.2±0.7	7.4±1.0
	ヘマトクリット値 %		33.6±3.8	32.1±4.7
	血漿たん白量 g/dl		4.4±0.5	3.9±0.4

※ 5尾の平均値±標準偏差

には投薬終了直後に比べて高かった。血液性状については、投薬終了14日後に、対照区のヘモグロビン量、ヘマトクリット値および血漿たん白量が、両投薬区に比較してやや低い傾向が認められた。

### 考 察

**飼育経過** 予備飼育および投薬期間中では、対照区に比べて投薬区の飼料効率が低く、200mg区で特に著しかった。投薬終了後14日間では、対照区と100mg区に比較して200mg区の飼料効率が低かった。このように投薬区、殊に200mg区の飼料効率が低かったことは、本剤投与の影響であると思われた。

対照区では、せっそう病による斃死魚が11尾認められたが、投薬区では投薬2日目以降はせ

っそう病による斃死が認められず、本剤の投与によって治療効果があったと思われた。

本試験においては、供試魚にせっそう病、IHN、水カビ病が認められたので、病理組織学的検討においてはこの点を考慮すべきであろう。

**摂餌状況** 投薬期間中および投薬終了後数日間、投薬区の摂餌が対照区に比較して悪化したことは本剤投与の影響であると思われたが、投薬終了数日後に回復し、供試魚に重大な影響を与えたものとは思われなかった。従来からサルファ剤をアマゴに経口投与した場合に摂餌が悪化することが経験的に知られており、また本剤の成分であるSMMをアマゴに投与した場合に摂餌低下が観察されているが<sup>2)</sup>、OMPの類似化合物であるトリメトブリムを投与した場合は摂餌低下は認められなかったことから、摂餌低下はSMMの影響であると思われた。

**供試魚の所見** 投薬区において投薬2日目より供試魚の体色が青緑色に変化し、その度合が200mg区の方が強かったことは、本剤投与の影響であると思われた。これらの体色変化も摂餌の悪化と同様、投薬数日後に回復しており、本剤投与が供試魚に重大な影響を与えていないようと思われたが、病理組織学的な検討の結果も考慮して判断されるべきであろう。本剤の成分であるSMMをアマゴに投与した場合にも同様な体色変化があり<sup>2)</sup>、TMP投与の場合は認められなかったことから、この体色変化は摂餌低下と同様SMMによるものと思われた。200mg区で体色が青緑色に変化した個体が1尾斃死し、せっそう病等の症状が見られなかったので本剤投与

の影響による斃死かとも思われたがニジマスでの自由摂餌、1回投与の場合、3,200mg/kg・BWでも異常が認められていない点を考慮すると、本剤投与の影響か否か明らかではない。<sup>7)</sup>

**肝臓重量および血液性状** 投薬終了直後の両投薬区の肝臓の体重比が、対照区に比べてやや低かったことは、投薬期間中の摂餌量および飼料効率が低かったこと、また両投薬区は投薬終了14日後には投薬終了直後に比較して高かったことは、投薬終了直後に摂餌および飼料効率が回復したことと関連しているのかも知れないが詳細は明らかでない。投薬終了14日後の対照区のヘモグロビン量、ヘマトクリット値が低かったことは、前述したように投薬終了11日目より本区のみにIHNによる斃死魚が認められ、IHN罹病魚のヘモグロビン量、ヘマトクリット値が低下することが報告されていることから<sup>8)</sup>、本病の影響であると思われた。

以上のように、本剤投与の影響が飼料効率、摂餌状況、体色変化、肝臓の体重比などに認められ、殊に通常投薬量の2倍である200mg/kg・BWの10日間投与は供試魚にかなりの影響を与えた。

### III DG-5459のアマゴおよびニジマスにおける残留性

通常投薬量およびその2倍量を通常投薬期間の2倍連續投与し、魚体内への残留性を検討した。

## 試験の方法

アマゴについては、前項の安全性試験終了の供試魚を用いた。従って投薬方法等は前項と同様である。ニジマスについては、200 mg区のみを設けた。ニジマスの試験開始時の平均体重は109.2gで、投薬方法等はアマゴと同様である。

投薬終了後、1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 17, 21, 25および30日目に、個体別に皮つき筋肉(7尾について)および全内臓(3尾について)における、SMMおよびOMPの濃度を測定した。なお魚体内の薬剤濃度の定量は、SMMについてはBratton-Marshall、津田変法( $2 \text{ mcg/g}$ まで)、Tishler変法( $0.1 \text{ mcg/g}$ )、OMPについてはFelling変法( $0.1 \text{ mcg/g}$ )により第一製薬株式会社、研究所で行われた。

## 結果

前項で述べたように各区とも投薬開始3~4日目から摂餌が悪化した。アマゴについては所定投薬総量に対する実際の投薬総量の割合は、100mg区92.8%、200mg区70.9%となったので、200mg区は試験を中止した。ニジマス(200mg区)は所定量を投薬することができた。

各区の定量結果を、第5、6表、第1~4図に示した。

### SMM

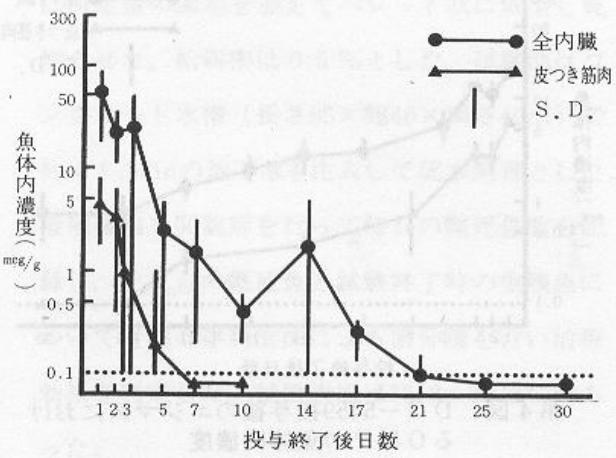
**アマゴ** 皮つき筋肉では投薬終了1日目に $4.4 \text{ mcg/g}$ (以下単位省略)で日数経過と共に減少

第5表 DG-5459投与後のアマゴの組織内濃度

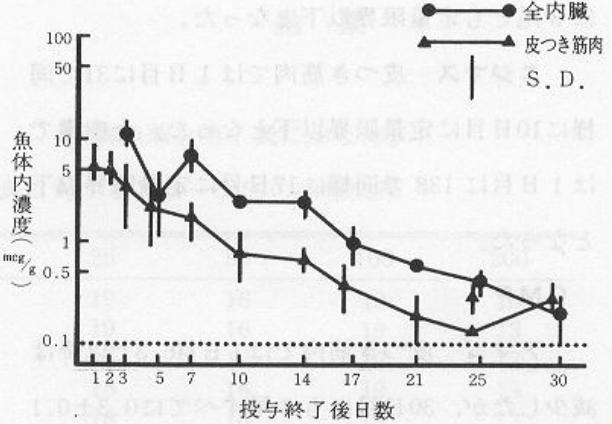
投薬 終了 後日数	No.	100mg/kg·BW/H			
		S M M		O M P	
		筋肉+皮	全内臓	筋肉+皮	全内臓
1	1	3.3	89	5.5	
	2	0.4	18.6	3.5	
	3	3	52	5.6	
	4	5		10.7	
	5	3.3		4.9	
	6	4		7.5	
	7	7		6.5	
mean±SD		4.4±2.6	53±35	6.3±2.3	
2	1	0.2	12.9	6.4	
	2	3	18	4.1	
	3	7	39	7.1	
	4	1.4		4.2	
	5	5		7.5	
	6	<0.1		2.1	
	7	7		7.3	
mean±SD		3.4±3.0	23±11	5.5±2.1	
3	1	0.1	2.9	7.0	
	2	0.2	21.1	1.1	
	3	0.7	52.3	3.3	
	4	0.2		1.5	10.7
	5	0.2		1.6	9.1
	6	0.5		5.1	15.3
	7	5		4.7	
mean±SD		1.0±1.8	25±25	3.5±2.2	11.7±3.2
5	1	<0.1	4.9	4.5	
	2	<0.1	0.9	1.5	
	3	<0.1	1.4	1.5	
	4	<0.1		2.0	4.0
	5	<0.1		1.4	3.9
	6	<0.1		—	0.8
	7	0.4		1.6	
mean±SD		0.1±0.1	2.4±2.2	2.1±1.2	2.9±1.8
7	1	<0.1	0.4	1.1	
	2	<0.1	1.3	1.5	
	3	<0.1	3.4	1.8	
	4	<0.1		1.8	9.4
	5	<0.1		1.5	8.1
	6	<0.1		3.1	4.5
	7	<0.1		1.0	
mean±SD		<0.1	1.7±1.5	1.7±0.7	7.3±2.5
10	1	<0.1	0.5	1.1	
	2	<0.1	0.5	1.1	
	3	<0.1	0.1	<0.1	
	4	<0.1		0.7	2.6
	5	<0.1		—	—
	6	<0.1		1.0	2.6
	7	<0.1		0.6	
mean±SD		<0.1	0.4±0.2	0.8±0.4	2.6±0
14	1	<0.1	<0.1	0.9	
	2	<0.1	0.2	0.8	
	3	<0.1	5.2	0.7	
	4	<0.1		0.6	2.8
	5	<0.1		0.8	3.2
	6	<0.1		0.5	1.6
	7	<0.1		0.4	
mean±SD		1.8±2.9	0.7±0.2	2.5±0.8	
17	1	<0.1	<0.1	0.5	
	2	<0.1	0.2	0.4	
	3	<0.1	0.2	0.5	
	4	<0.1		0.2	0.6
	5	<0.1		0.5	1.1
	6	<0.1		0.6	1.4
	7	<0.1		0.2	
mean±SD		0.2±0.06	0.4±0.2	1.0±0.4	
21	1	<0.1	0.1	0.3	
	2	<0.1	0.2	0.3	
	3	<0.1	0.2	0.3	
	4	<0.1		0.1	0.5
	5	<0.1		0.2	0.6
	6	<0.1		0.4	0.6
	7	<0.1		<0.1	
mean±SD		0.1±0.06	0.2±0.1	0.6±0.06	
25	1	<0.1	0.1	0.4	
	2	<0.1	0.2	0.2	
	3	<0.1	0.2	0.3	
	4	<0.1		0.2	0.5
	5	<0.1		0.4	0.4
	6	<0.1		0.3	0.3
	7	<0.1		0.3	
mean±SD		<0.1	0.3±0.1	0.4±0.1	
30	1	<0.1	<0.1	0.3	
	2	<0.1	<0.1	0.4	
	3	<0.1	<0.1	0.3	
	4	<0.1		0.3	0.3
	5	<0.1		0.3	<0.1
	6	<0.1		0.3	0.2
	7	<0.1		0.2	
mean±SD		<0.1	0.3±0.1	0.2±0.1	

第6表 DG-5459投与後のニジマスの組織内濃度

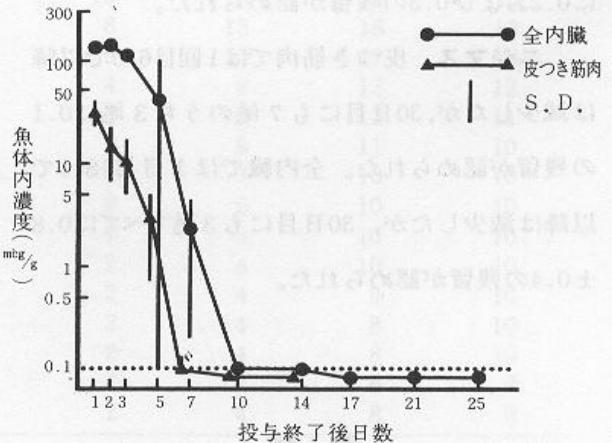
投与終了後日数	No.	200mg/kg・BW/日			
		S M M		O M P	
		筋肉+皮	全内臓	筋肉+皮	全内臓
1	1	47.7	119	7.3	
	2	23	142	5.2	
	3	28	152	6.1	
	4	31		5.5	17.3
	5	25		5.7	16.6
	6	25		6.1	20.4
	7	35		5.9	
mean±SD		31±8	138±17	6.0±0.7	18.1±2.0
2	1	10	136	2.0	
	2	18	140	1.9	
	3	14	157	2.5	
	4	3		3.2	8.5
	5	28		3.2	11.0
	6	18		4.3	15.1
	7	14		3.2	
mean±SD		15±8	144±11	2.9±0.8	11.5±3.3
3	1	4	97	3.4	
	2	1.3	121	3.1	
	3	13	113	1.9	
	4	18		2.3	12.2
	5	9		2.4	12.4
	6	16		4.2	16.7
	7	13		3.4	
mean±SD		11±6	110±12	3.0±0.8	13.8±2.3
5	1	4	113		
	2	0.4	9.7		
	3	0.1	5.5		
	4	6			4.8
	5	4			8.0
	6	4			4.7
	7	2			
mean±SD		2.9±2.2	42.7±60.9		5.8±1.9
7	1	<0.1	4.9	1.2	
	2	<0.1	0.6	1.7	
	3	<0.1	1.7	0.9	
	4	<0.1		0.7	
	5	<0.1		0.4	
	6	<0.1		0.2	
	7	0.2		0.6	
mean±SD		0.1±0.04	2.4±2.2	0.8±0.5	
10	1	<0.1	<0.1		
	2	<0.1	<0.1		
	3	<0.1	0.1		
	4	<0.1			4.2
	5	<0.1			2.6
	6	<0.1			3.2
	7	<0.1			
mean±SD		<0.1	0.1		3.3±0.8
14	1	<0.1	<0.1	0.4	
	2	<0.1	0.1	0.4	
	3	<0.1	<0.1	0.3	
	4	<0.1		0.3	3.9
	5	<0.1		0.4	3.2
	6	<0.1		0.6	1.7
	7	<0.1		0.3	
mean±SD		<0.1	0.1	0.4±0.1	2.9±1.1
17	1		<0.1		
	2		<0.1		
	3		<0.1		
	4				1.6
	5				2.3
	6				2.8
	7				
mean±SD			<0.1		2.2±0.6
21	1		<0.1	0.4	
	2		<0.1	0.3	
	3		<0.1	0.3	
	4			0.2	1.0
	5			0.2	1.6
	6			0.3	1.5
	7			0.2	
mean±SD			<0.1	0.3±0.1	1.4±0.3
25	1		<0.1	0.1	
	2		<0.1	0.1	
	3		<0.1	0.1	
	4			0.1	0.6
	5			0.2	1.2
	6			0.2	0.7
	7			<0.1	
mean±SD			<0.1	0.1±0.05	0.8±0.3
30	1			<0.1	
	2			0.1	
	3			<0.1	
	4			0.1	0.4
	5			0.1	0.8
	6			<0.1	1.1
	7			<0.1	
mean±SD				0.1	0.8±0.4



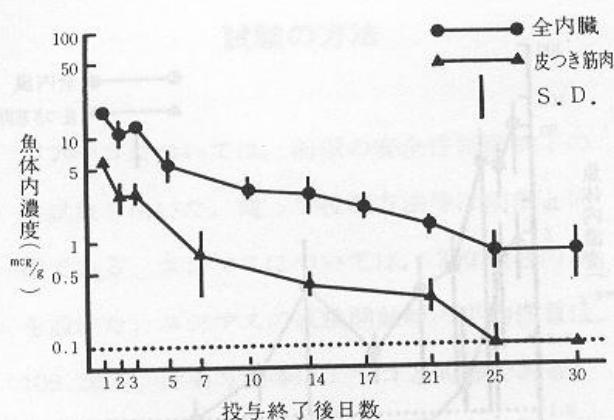
第1図 DG-5459投与後のアマゴにおけるSMMの魚体内濃度



第2図 DG-5459投与後のアマゴにおけるOMPの魚体内濃度



第3図 DG-5459投与後のニジマスにおけるSMMの魚体内濃度



第4図 DG-5459投与後のニジマスにおけるOMPの魚体内濃度

し、7日目には7尾とも定量限界(0.1)以下となつた。全内臓では1日目に53で同様に25日目に3尾とも定量限界以下となつた。

**ニジマス** 皮つき筋肉では1日目に31で同様に10日目に定量限界以下となつた。全内臓では1日目に138で同様に17日目に定量限界以下となつた。

#### OMP

**アマゴ** 皮つき筋肉では1日目6.3で以降は減少したが、30日目にも3尾すべてに $0.3 \pm 0.1$ の残留が認められた。全内臓では3日目11.7で以降は減少したが、30日目にも3尾のうち2尾に0.2および0.3の残留が認められた。

**ニジマス** 皮つき筋肉では1回目6.0で以降は減少したが、30日目にも7尾のうち3尾に0.1の残留が認められた。全内臓では1日目18.1で以降は減少したが、30日目にも3尾すべてに $0.8 \pm 0.4$ の残留が認められた。

#### 考 察

S MMについては、ニジマスが $200\text{mg/kg} \cdot \text{BW}$ 、アマゴが $100\text{mg/kg} \cdot \text{BW}$ と投薬量が異っていた点を考慮しても、投薬終了後数日間は、ニジマスの方が高く、ニジマスの方が本剤の吸収が良く、排泄が遅いものと思われた。皮つき筋肉では両魚種とも7-10日で排泄されたが、全内臓ではニジマスが17日目、アマゴが25日目とニジマスの方がやや排泄が早いと思われた。

OMPについては、両魚種の投薬量が異っていたにもかかわらず、ほぼ同様の推移を示した。両剤の排泄の早さを比較すると、両魚種ともOMPの方が遅く、30日後にも残留が認められた。今後更に長期間の試験が必要であると思われるが、本剤投与後の休薬期間は30日以上必要となり、このように長期の休薬期間を設定しなければならないことは、実用上大きな障害になると思われる。

#### IV A. salmonicida を実験感染させたアマゴに対する治療効果

実験感染させたアマゴに対するDG-5459の臨床的治療効果を斃死率によって判定した。

#### 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13-19尾づつ用いた。供試菌株はA. salmonicida AYS-2で、前述

したディスク法による薬剤感受性調査によれば、DG-5459に高い感受性を持つものである。接種菌液は、ハートインフュージョンブイヨン（栄研）で、20°C、一夜培養したものを、一万倍に稀釀したものを用いた。接種菌量は $5.0 \times 10^3$  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。試験区は第7表に示したように、無投薬対照区と、DG-5459の12.5, 25, 50, 100および200mg/kg・BW投与区を設定した。投薬は1日1回、5日間連続で、MS-222の100 ppm溶液で約2分間麻酔した供試魚に対して強制経口投与を行い、初回投薬は菌接種24時間後に行った。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。試験池はコンクリート水槽（長さ85×幅46×深さ46cm）で約4 l/minの地下水を注入して流水飼育とした。接種後24日間観察を行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腎臓の穿刺塗抹による菌分離を行い治療効果を判定した。試験水温は15.8~19.3°Cであった。

## 結 果

試験結果を第7表に示した。

第7表 *A. salmonicida* 実験感染魚に対する DG-5459 の治療効果

経過日数	試験区	無投薬対照区	12.5mg/kg・BW	25	50	100	200
1		19※	17	19	16	19	13
2		19	17	19	16	19	13
3		19	17	19	16	19	13
4		6	9	18	16	19	13
5		0	6	18	16	19	13
6			4	17	16	19	13
7			1	16	16	19	13
8			1	16	16	19	13
9			1	15	14	19	13
10			1	10	13	19	13
11			1	8	13	18	13
12		0	6	10	17	13	13
13			4	8	13	12	12
14			2	8	12	11	11
15			2	8	11	10	10
16			2	7	10	10	10
17			2	6	10	10	10
18			2	5	10	10	10
19			2	4	10	10	10
20			2	4	9	10	10
21			2	4	8	10	10
22			2	4	8	10	10
23		0.01	2	4	8	9	9
24			2	4	8	9	9
生 残 率		0 %	0	10.5	25.0	42.1	69.2

※ 生残尾数

無投薬対照区では、接種5日後にしてすべての供試魚が斃死した。これらの斃死魚および以下の投薬区の斃死魚もすべて接種部筋肉にいわゆる「せっそう」が形成されたものであった。各投薬区の生残率は、12.5mg区が0%，25mg区10.5%，50mg区が25.0%，100mg区が42.1%，200mg区が69.2%であった。

試験終了時における生残魚からは、25mg区は2尾中1尾、50mg区は4尾中1尾、100mg区は5尾中1尾、200mg区は5尾中2尾から、*A. salmonicida*が検出された。

## 考 察

無投薬対照区が全数斃死したのに対し、各投薬区の生残率は投薬量の増加につれて上昇し、一応の治療効果は認められたが、生残魚の一部に保菌魚が見られたこと、また本試験と同様な試験において、本剤の類似化合物であるA-T P（スルファジアジンを33.3%，トリメトプリムを6.7%含有）を、30および60mg/kg·BW投与した時の生残率が95および100%であり、<sup>4)</sup>またA MF-16（スルフィソゾールを83.3%，トリメ

トブリムを16.7%含有）を15mg/kg·BW投与した時の生残率が95%であった点を考慮すると、本剤の有効性はあまり高くないと思われた。

## V 自然発病アマゴに対する野外治療効果

岐阜県内の養魚場において、アマゴの自然発病魚群について、D G-5459の混餌経口投与による治療効果を検討した。

## 試験の方法

供試魚群、飼育条件および投薬の概況を第8表に示した。

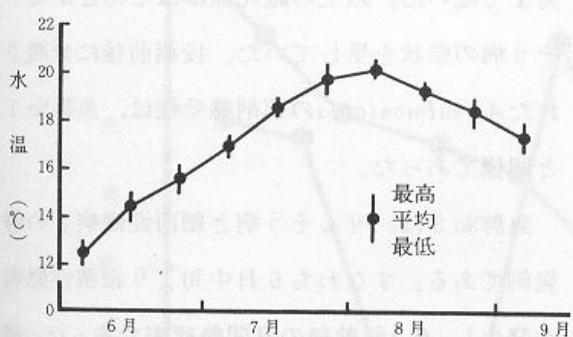
投薬は飼料重量の約6%の養魚用オイルまたは大豆油によく懸濁させ、市販のマス用クランブルまたはペレットに吸着させ、手まき自由摂餌によって行った。給餌率は投薬前後および投薬時とも2.3~2.5%であった。

毎日の斃死尾数および外観症状を観察し、投薬の前後に数尾の斃死魚より*A. salmonicida*を分離し、その薬剤感受性をディスク法によって

第8表 野外治療試験の供試魚群、飼育条件および投薬の概況

魚群No.	年令	尾 数	平均体重	池面積	水 深	注水量	飼育密度	投 薬 期 間	投 薬 量
1	1 <sup>+</sup>	尾 約 1,700	g 118	m <sup>2</sup> 40	cm 50	ℓ/sec 20	kg/m <sup>2</sup> 5.0	6月10日~6月14日	mg/kg·BW 100
2	0 <sup>+</sup>	約40,000	10	40	50	25	10.0	7月7日~7月11日	100
3	0 <sup>+</sup>	約10,000	13	8	40	3	16.3	8月3日~8月9日 7月21日~7月27日	150 100

調べた。飼育水温を第5図に示した。



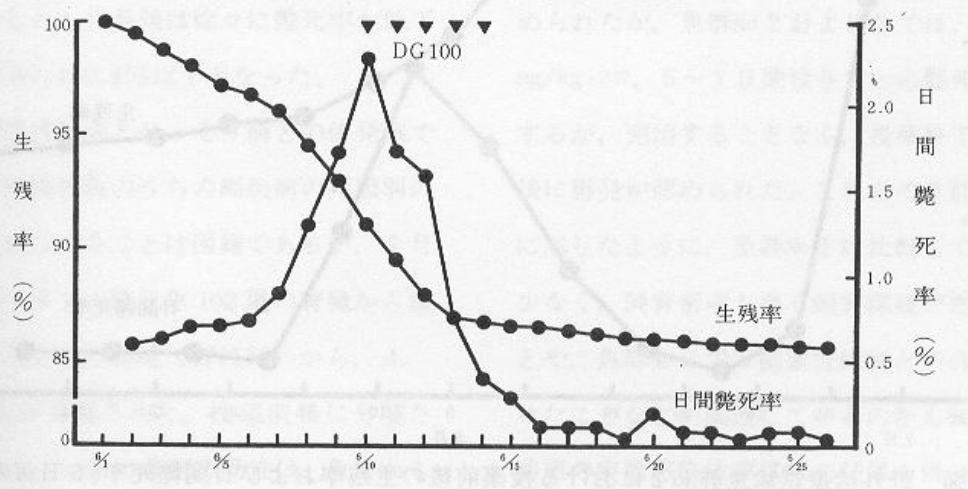
第5図 野外治療試験の旬別水温

## 結果

魚群No.1は、5月上旬よりせっそう病の自然発病が認められ、5月上旬および下旬に、オキソリン酸（25mg/kg・BW, 7日間）が投与された。上旬の投薬後は斃死尾数が減少し投薬の効果が一応認められたが、下旬には再び斃死数が増加し、下旬の投薬後も斃死数が減少せず効果は認められなかった。6月初旬に徐々に斃死数が増

加したので、6月10日から14日まで5日間、本剤を100mg/kg・BW投与した。その経過は第6図に示すように、日間斃死率は、投薬前日が1.74%, 初日が2.28%とかなり高かったが、2日目より減少し、5日目には0.41%と激減した。その後も斃死数は減少の一途をたどり、投薬終了5日目には斃死魚が見られなくなった。以後は2～3日に1尾が斃死する程度で9月初旬まで再発は認められなかった。以上の斃死魚はほとんどがせっそう病の症状を呈していた。なお6月10日を100%として、発病が終息した6月19日までの生残率は93.7%であった。投薬前後に分離された*A. salmonicida*の薬剤感受性については、投薬の前後による相違は認められず、いずれもDG-5459に感受性であった。

魚群No.2は、6月中旬よりせっそう病の自然発病が見られ、6月中旬および下旬にオキソリン酸（20mg/kg・BW, 5日間）が投与されたが、顕著な効果は認められなかった。7月初旬より斃死魚が増加したので、7月7日よりDG-5459

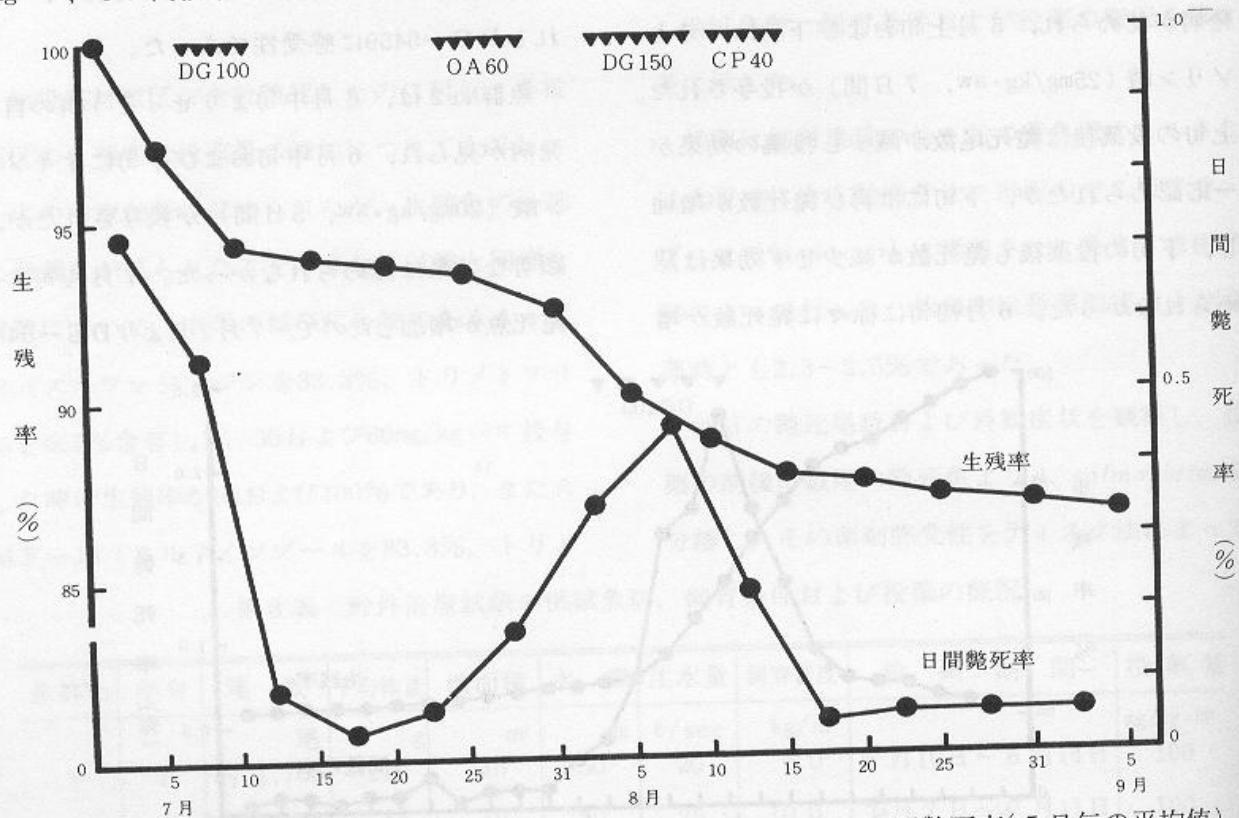


第6図 野外治療試験魚群No.1における投薬前後の生残率および日間斃死率  
▼投薬日  
DG : DG-5459  
数字は投薬量(mg/kg・BW/day)

を $100\text{mg/kg} \cdot \text{BW}$ , 5日間投与した。その経過は第7図に示すとおりで、日間斃死率について見ると投薬前は0.8%前後であったが、投薬3日目より0.39%と低下はじめ、投薬終了8日目の0.03%まで低下した。しかし斃死魚が見られなくなることはなく、投薬終了11日目より再び斃死率が増加した。そこで7月24日からオキソリン酸を $60\text{mg/kg} \cdot \text{BW}$ , 6日間投与したが効果は認められなかった。再度8月3日より、DG-5459を $150\text{mg/kg} \cdot \text{BW}$ , 7日間投与したところ、日間斃死率は投薬4日目が0.73%とピークで、その後はやや低下したが0.3%前後の斃死率が続いたので、8月11日からクロラムフェニコールを $40\text{mg/kg} \cdot \text{BW}$ , 5日間投与した。投与後は斃死率の低

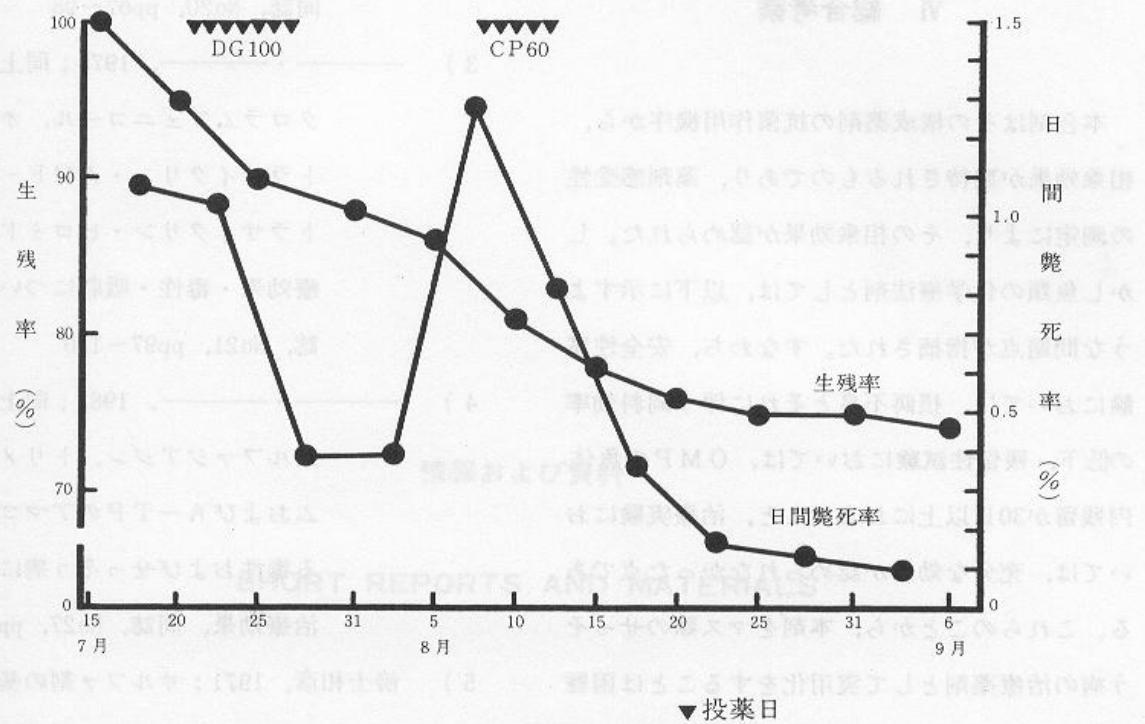
下が見られたが、0.06%前後の斃死率が9月上旬まで続いた。以上の斃死魚はほとんどがせっそう病の症状を呈していた。投薬前後に分離された*A. salmonicida*の薬剤感受性は、魚群No.1と同様であった。

魚群No.3は、せっそう病と細菌性鰓病との併発例である。すなわち6月中旬より細菌性鰓病が発生し、0.1%前後の日間斃死率であった。細菌性鰓病による斃死が続いていた7月上旬にせっそう病が併発し、中旬に斃死率が高くなつたので、7月21日よりDG-5459を $100\text{mg/kg} \cdot \text{BW}$ , 7日間投与した。その経過は第8図に示すとおりで、日間斃死率は投薬前は1%前後であったが投薬5日目より低下はじめ、投薬終了4日目



第7図 野外治療試験魚群No.2における投薬前後の生残率および日間斃死率(5日毎の平均値)

▼投薬日  
DG: DG5459      CP: クロラムフェニコール  
OA: オキソリン酸    数字は投薬量( $\text{mg/kg} \cdot \text{BW/day}$ )



第8図 野外治療試験魚群No.3における投薬前後の生残率および日間斃死率(5日毎の平均値)

▼投薬日  
D G : D G - 5459  
C P : クロラムフェニコール  
数字は投薬量(mg/kg・BW/day)

には、0.13%まで低下した。しかし投薬終了6日目には再び斃死率が増加しはじめ、投薬終了10日目には1%以上となったので、8月8日よりクロラムフェニコールを60mg(力価)/kg・BW、5日間投与した。投与後は徐々に斃死率が低下し、9月上旬には0.1%以下となった。

本群は細菌性鰓病とせっそう病との併発例であり、以上の斃死魚のうちの両疾病の死因別の内訳を明らかにすることは困難であるが、7月18日から30日までの斃死魚102尾の腎臓から菌分離を行ったところ48尾(47.1%)から、*A. salmonicida*が分離された。投薬前後に分離された*A. salmonicida*の薬剤感受性は、魚群No.1と同様であった。

## 考 察

魚群No.1の例では、DG-5459の100mg/kg・BW、5日間の投与で再発も見られず顕著な効果が認められたが、魚群No.2および3では、100~150mg/kg・BW、5~7日間投与で一応斃死率は低下するが、完治することなく、投薬終了10日目前後に再発が認められた。これらの魚群は第8表に示したように、魚群No.1に比較して注水量が少なく、飼育密度も高く飼育環境が悪かったことや、魚群No.3では細菌性鰓病との合併症であったことなどが関連しているのかも知れないが、前項の実験感染治療試験の結果を併せ考えると本剤の治療効果が不充分であると思われた。

## VI 総合考察

本合剤はその構成薬剤の抗菌作用機序から、相乗効果が期待されるものであり、薬剤感受性の測定により、その相乗効果が認められた。しかし魚類の化学療法剤としては、以下に示すような問題点が指摘された。すなわち、安全性試験においては、摂餌不良とそれに伴う飼料効率の低下、残留性試験においては、OMPの魚体内残留が30日以上におよぶこと、治療実験においては、充分な効果が認められなかつた点である。これらのことから、本剤をマス類のせっそう病の治療薬剤として実用化をすることは困難であると思われた。

本研究の遂行にあたり、供試薬剤およびディスクの提供、魚体内濃度の定量等の御援助をいたいた第一製薬K.K井上進一氏に御礼申し上げます。また、本研究の一部は、マリーンランチング計画として実施された。

## VII 文 献

- 1) 森川 進・立川 瓦・熊崎隆夫, 1971; せっそう病に関する研究-III, 薬剤効果試験, 岐水試研報, No.16, pp79~82.
- 2) ———・田代文男・谷口朝臣, 1975; 同上-VI, 薬剤に関する試験(1),

同誌, No.20, pp67~98

- 3) ———・——, 1975; 同上-VIII, クロラムフェニコール, オキシテトラサイクリン・AMF-16・テトラサイクリン・ピロミド酸の治療効果・毒性・吸収について, 同誌, No.21, pp97~110
- 4) ———・——, 1982; 同上-XIV, スルファジアシン, 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, 同誌, No.27, pp49~55
- 5) 傍士和彦, 1971; サルファ剤の基礎知識, 日本動物薬事協会, 東京, 171pp
- 6) 森川 進; 未発表
- 7) 東京都水産試験場, 1978; 昭和52年度指定調査研究総合助成事業病害研究報告書(ニジマス), 昭和55年3月
- 8) AMEND, D. F., and L. SMITH, 1974; Pathophysiology of infectious hematopoietic necrosis virus disease in rainbow trout (*Salmo gairdneri*): Early changes in blood and aspects of immune response after injection of IHN virus. J. Fish Res. Board Can. 31, pp 1371-1378.