

55) アユのシュードモナス病に対する薬剤による治療試験③

山本充孝

【目的】

アユ養殖においては細菌性出血性腹水病（シュードモナス病）が冷水病とともに大きな問題となっている。しかし、本病原菌は既存の水産用医薬品に対しては感受性がないため、有効な治療法が全くないのが現状であることから治療技術の開発が切望されている。そこで、前報で動物用医薬品 Y-1 を用いた治療の可能性について検討したが、一定濃度以上でアユに対する毒性が認められたため、魚毒性の低いとされる Y-1 と同系統の薬剤 Y-2 を用いて治療の可能性について検討した。なお、本試験で用いた Y-2 は、現在のところ実際にアユ養殖現場で使用することはできないため、具体的な薬剤名を示さないこととした。

【方法】

①Y-1 およびY-2 のアユに対する毒性の比較

供試魚：2001年11月に琵琶湖エリで採捕され滋賀県水産試験場で飼育されたアユを用いた。また、供試魚の大きさは Y-1 の浸漬投与が 12.2g、経口投与が 11.8g、Y-2 の浸漬投与が 20.3g、経口投与が 9.3g とした。

薬剤投与：Y-1 および Y-2 を用いて、表 1 に示す濃度で 2 時間浴(19°C)を 1 回行う浸漬法、表 2 に示す濃度で胃内に 1 回強制経口投与する経口投与法で急性毒性試験を実施した。なお、投与後 4 日間供試魚の遊泳状況を観察するとともに死亡魚数の計数を行い薬剤の影響を評価した。

②実験感染魚に対する薬剤 Y-2 の投与効果

供試魚：上記と同様のアユを用いた。各試験で用いた供試尾数、供試魚の大きさ、感染後の経過観察日数は表 3 の通りとした。

供試菌株：アユ病魚由来の *Pseudomonas plecoglossicida* FPC941 凍結保存菌株をハートインフュージョン寒天培地で 25°C・24 時間培養後、滅菌生理食塩水に懸濁して菌液を調製した。

感染試験：感染実験は調製した菌液を飼育水で希釈し、 $10^6 \sim 10^7$ cfu/ml (表 3) の濃度で通気しながら、水温 19°C で 15 分間浸漬した。その後は毎日実験魚の観察と水温の測定を行った。なお、試験期間中はアユ用配合飼料を適量投与した。

薬剤投与：浸漬投与は実験感染 1 時間後に薬剤 Y-2 を 0.316, 1, 3.16, 10 および 31.6 μ g/ml の濃度で 2 時間浸漬する操作(水温 19°C)を 1 日 1 回、3 日間行った。なお、対照区は飼育水に浸漬した。経口投与は薬剤 Y-2 を 31.6, 100, 316 および 1000mg/kg・魚体重になるように実験感染 1 時間後、1 日後の 2 回強制経口投与を 1 回ずつ行った。投与法は CMC (ナトリウム塩) を添加してゲル状化後、連続分注器にカテーテルを装着し、0.1ml を胃内に強制的に投与した。なお、対照区は無処理とした。

【結果および考察】

①Y-1 およびY-2 のアユに対する毒性の比較

Y-1 は経口投与法では 50mg/kg 以上で、浸漬法では 10 μ g/ml 以上で死亡する個体が認められた(表 1)。Y-2 は浸漬では 100 μ g/ml までは死亡は認められず、経口では 50mg/kg 区および 1000mg/kg 区で 1 尾ずつ死亡が認められたが、薬剤によるものではないと判断した(表 2)。このことから Y-2 は Y-1 と比較してアユに対する毒性は低いと考えられた。

②実験感染魚に対する薬剤 Y-2 の投与効果 経口投与では 316 および 1000mg/kg で試験開始 3 日までにそれぞれ死亡が認められた。これらの死亡魚からシュードモナス病菌は分離されなかった。これは急性毒性試験では死亡が認められない濃度であっても、実験感染魚に対しては毒性があると考え、薬剤投与による死亡と判断した。投薬の効果は薬剤の影響による死亡と原因菌による死亡を含めて評価した(表 4,5)。投与効果は、経口投与の 31.6 および 100mg/kg ではそれぞれ生残率は向上したが、統計的に有意とはならず、投与効果は認められなかった。これらの結果から、薬剤 Y-2 は Y-1 と比較してアユに対する毒性は低い、その投与効果も低いと考えられた。

表1. アユに対するY-1 およびY-2による浸漬投与毒性試験結果

| 供試薬剤 | Y-1 | | | | | | | Y-2 | | | |
|----------|--------------------------|----|------|-----|----|----|----|-----|----|----|-----|
| | 試験区 ($\mu\text{g/ml}$) | 0 | 1.25 | 2.5 | 5 | 10 | 20 | 40 | 0 | 10 | 100 |
| 供試尾数 (尾) | 15 | 15 | 15 | 14 | 15 | 15 | 15 | 15 | 20 | 20 | 20 |
| 死亡数 (尾) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| 死亡率 (%) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 20 | 20 | 0 | 0 | 0 |

表2. アユに対するY-1 およびY-2による経口投与毒性試験結果

| 供試薬剤 | Y-1 | | | | | Y-2 | | | | | |
|----------|--------------------------------------|----|------|------|------|------|----|----|-----|-----|------|
| | 試験区 ($\text{mg/kg}\cdot\text{体重}$) | 0 | 25 | 50 | 100 | 200 | 0 | 50 | 100 | 500 | 1000 |
| 供試尾数 (尾) | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| 死亡数 (尾) | 0 | 0 | 1 | 2 | 10 | 10 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| 死亡率 (%) | 0 | 0 | 6.67 | 13.3 | 66.7 | 66.7 | 0 | 5 | 0 | 0 | 5 |

表3. 薬剤Y-2を用いた治療試験における試験区の設定

| | 浸漬投与 | 経口投与 |
|-------------------|-------------------|-------------------|
| 供試魚の大きさ (g) | 15.3 | 15.3 |
| 各試験区の供試尾数 (尾) | 30 | 30 |
| 実験感染接種菌量 (CFU/ml) | 9.3×10^6 | 7.1×10^6 |
| 経過観察日数 (日) | 17 | 20 |

表4. シュードモナス病菌実験感染魚に対する薬剤Y-2の浸漬投与結果

| 試験区 ($\mu\text{g/ml}$) | 0(対照区) | 0.316 | 1 | 3.16 | 10 | 31.6 |
|--------------------------|--------|-------|------|------|-----|------|
| 供試尾数 (尾) | 30 | 30 | 30 | 29 | 30 | 30 |
| 生残尾数 (尾) | 3 | 3 | 1 | 2 | 3 | 2 |
| 総死亡数 (尾) | 27 | 27 | 29 | 27 | 27 | 28 |
| 薬剤による死亡数 (尾) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 原因菌死亡数 (尾) | 27 | 27 | 29 | 27 | 27 | 28 |
| 薬剤による死亡率 (%) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 生残率 (%) | 10 | 10 | 3.3 | 6.9 | 10 | 6.7 |
| 有効率 (%) | — | 0.0 | -7.4 | -3.4 | 0.0 | -3.7 |
| Fisherの直接確立計算 | — | × | × | × | × | × |

表5. シュードモナス病菌実験感染魚に対する薬剤Y-2の経口投与結果

| 試験区 ($\text{mg/kg}\cdot\text{体重}$) | 0(対照区) | 31.6 | 100 | 316 | 1000 |
|--------------------------------------|--------|------|-----|------|------|
| 供試尾数 (尾) | 28 | 28 | 30 | 30 | 30 |
| 生残尾数 (尾) | 1 | 4 | 3 | 0 | 1 |
| 総死亡数 (尾) | 27 | 24 | 27 | 30 | 29 |
| 薬剤による死亡数 (尾) | 0 | 0 | 0 | 5 | 7 |
| 原因菌死亡数 (尾) | 27 | 24 | 27 | 25 | 22 |
| 薬剤による死亡率 (%) | 0 | 0 | 0 | 16.7 | 23.3 |
| 生残率 (%) | 3.6 | 14.3 | 10 | 0 | 3.3 |
| 有効率 (%) | — | 11.1 | 6.7 | -3.6 | -0.2 |
| Fisherの直接確立計算 | — | × | × | × | × |