

東水試出版物通刊 No. 284

調査研究要報 No. 137

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53年3月

東京都水産試験場

昭和 52 年度 指定調査研究総合助成事業病害研究 (ニジマス)

目 次

指 定 課 題

I I P N ワクチンに関する研究 2

 A 移行免疫の検討 2

 B 攻撃試験 6

II セっそう病ワクチンに関する研究 11

 A ワクチンの経口投与による免疫賦与試験 11

 B 攻撃試験 14

 C 経皮ワクチン試験 18

 D 攻撃方法の検討 20

関 連 研 究

I I H N に関する研究 25

 A I H N ワクチンに関する研究 25

 B ニジマス親魚の I H N ウイルス汚染状況調査 26

II セっそう病に関する研究 30

 A セっそう病原菌の薬剤感受性試験 30

 B セっそう病治療試験 32

 C 薬剤の毒性試験 36



研究実施機関 東京都水産試験場奥多摩分場

担当者 主任研究員 西村和久

主事 井上 潔

" 斉藤 実

" 加藤 憲司

" 工藤 真弘

指 定 課 題

は じ め に

I P N (伝染性膵臓壊死症)は I H N (伝染性造血器壊死症)とならび我国のマス類増養殖上重要なウイルス性疾病である。これらの疾病は細菌および寄生虫性疾病と異なり、化学療法剤等の効果が期待できず、現在まで種々の対策が検討されたが決定的防除方法とは成り得なかった。一方、高等動物のウイルス性疾病に関しては、ワクチンによる予防法が最も一般的な方法であり、魚類においてもその効果は十分期待が持てるものと考えられる。

当场においては、昭和51年度よりウイルス病としての発病の歴史の長いI P Nについて他県水試との共同研究によるワクチン実用化研究に着手した。初年度は親魚へのI P N不活化ウイルス液(以後ワクチンと言う)接種による血中の中和抗体価の変動を観察し、I P Nウイルスについては不活化したウイルスでも十分な中和抗体価の上昇が起こり、I P Nウイルスは抗原性が高いことを明らかにした。昭和52年度はワクチン接種親魚由来のニジマス稚魚についてI P Nに対する抵抗性を観察し、親魚から稚魚への抗体の移行によるI P N予防の可能性について検討した。また、I H Nのワクチンについても、本年度産卵親魚へワクチンを接種し、接種親魚由来の稚魚におけるI H N予防効果を検討すべく実験に着手した。

ヤマメのせっそう病については昭和43年よりワクチンの実用化研究を行ない、昭和50年に経口ワクチンの場合、餌付け開始と同時に投与を開始し、連続21回ないし14回投与した後に間歇投与する方法で、せっそう病の予防効果が認められるようであった。但し、効果を確認する攻撃試験はニジマスに比べ魚体の取扱が困難なこともあって、有効な技法を見出せないでいる。

本年は供試抗原についての検討として、新・旧2タイプの菌株によるワクチンおよび全菌体ワクチンの投与を行なうと共に、各種の感染方法による攻撃試験を試みた。

I. IPNワクチンに関する研究

A 移行免疫の検討

1. 方法および材料

1) 供試ワクチン

RTG-2 cell line で培養したIPNウイルス ($TCID_{50}/ml = 10^{5.93}$) を0.3% β -プロピオラクトンで不活化して供試ワクチンとした。

2) 供試魚および試験区

供試魚はワクチンを1~3回接種した親魚由来のニジマス稚魚を用いた。親魚および試験区については表1に示すとおりである。

試験区は6区(A~F)設定したがF区は対照区である。

表1 試験区分(一腹仔分別飼育区分)

試験区	親 魚				採卵月日	発眼率(%)	供試尾数(尾)
	個体No	体重(g)	体長(cm)	ワクチン接種回数(回)			
A	V-24	1,183	37.5	3	76.12.24	98.2	1,698
B	V-21	1,122	37.5	3	77.1.14	93.9	2,063
C	V-12	1,008	36.7	2	1.28	87.3	1,441
D	V-16	1,049	38.8	2	2.10	94.6	1,756
E	V-5	1,012	35.6	1	2.10	60.3	1,131
F	C-9	1,356	39.9	0	2.10	94.5	1,989

3) 中和抗体価の測定

ワクチン接種親魚についてはワクチン接種終了後1か月毎、および採卵時に採血を行ない中和抗体価を測定した。資料血清は採血後4℃で一晩放置後分離し、-20℃で凍結保存した。測定に際しては室温にて融解し、56℃で30分の非動化の後Hank's液で10倍希釈して測定資料とした。

測定はマイクロタイター法によった。使用機材はCooke Engineering Co.製である。マイクロプレートへのウイルス接種後20℃で5日間培養し、Reed-Muench法による ND_{50} の算出を行なった。

4) 試験水槽

供試魚は容量90ℓのポリエチレンコンテナ製(自作)の飼育水槽で飼育した。用水は流水式である。給餌は供試魚の大きさにより1日4~8回に分け、オリエンタル酵母KK製の飼料を投与し、朝・夕2回掃除を行なった。斃死尾数は朝の掃除時に記録した。

5) ウイルス検査

日間斃死尾数の増加した時点で病魚の外観所見を観察するとともに、RTG-2 cell lineにより常法に基づいてウイルス検査を実施した。

6) 実施期間

昭和52年4月15日試験を開始し、IPNの自然発病が終息した7月9日に終了した。

7) 試験水温

自動観測装置により水温を測定し、飼育期間中の旬別最高最低水温を示した。

2. 結 果

1) 親魚の中和抗体価

ワクチン接種にともなう中和抗体価(ND₅₀)の変化は表2に示すとおりである。採卵時の親魚の抗体価は、ワクチン3回接種魚Aでは1,700(ワクチン接種終了後3か月目の採卵である。以後()内は採卵日までの期間を示す。)、2回接種魚C・Dではそれぞれ300・80(4か月)、1回接種魚Eでは \leq 30(6か月)となった。

表2 ニジマス親魚におけるワクチン接種後の中和抗体価(ND₅₀)

サンプリング 月日 試験区	9. 14	10.14	11. 5	12.15	採卵時(月日)
A	*	**	390	1,400	1,700(12.24)
B	*	**	180	810	—
C	*	560	1,400	1,100	300(1.28)
D	*	—	—	—	80(1.28)
E	130	<30	53	—	\leq 30(2.10)
F	<30	270	53	63	100(2.10)

* 第2回目のワクチン接種、 ** 第3回目のワクチン接種

なお、第1回目接種は8月4日である。

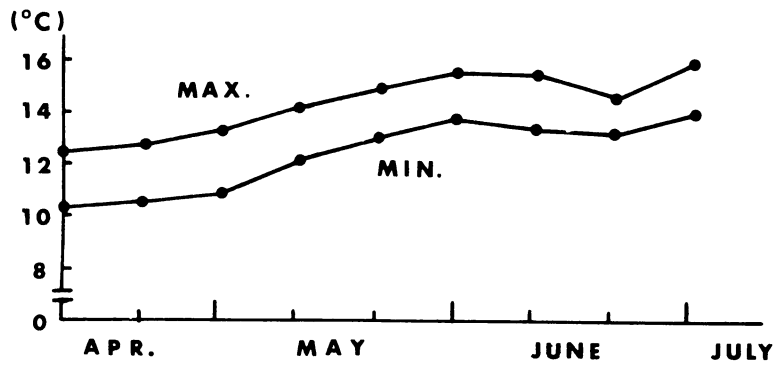


図 1. 試験期間中の旬別最高・最低水温

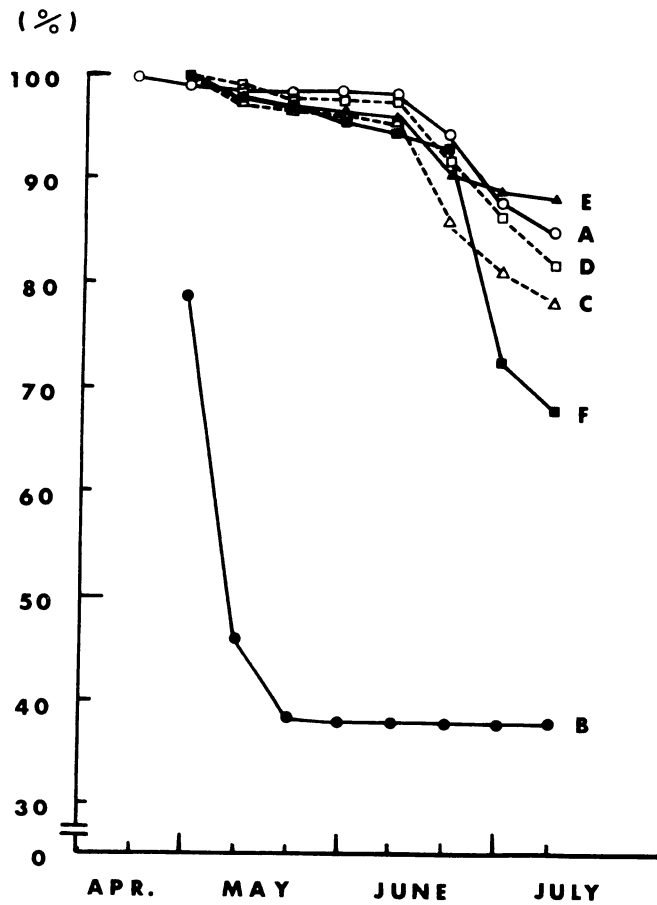


図 2. ニジマス稚魚の生残率の推移

(A~Fは表2参照)

前年度に、血中の中和抗体価はワクチン接種回数により明らかな差がみられることを報告したが、採卵時の親魚についても同様の傾向が確認された。

2) ワクチン接種親魚由来の稚魚の飼育

試験期間中の水温は図 1 に示すとおり 10.3～15.7℃であった。

飼育期間中の生残率の推移を図 2 に示した。また、図 3 に IPN 発生時点からの累積斃死率の変化を示した。(%)

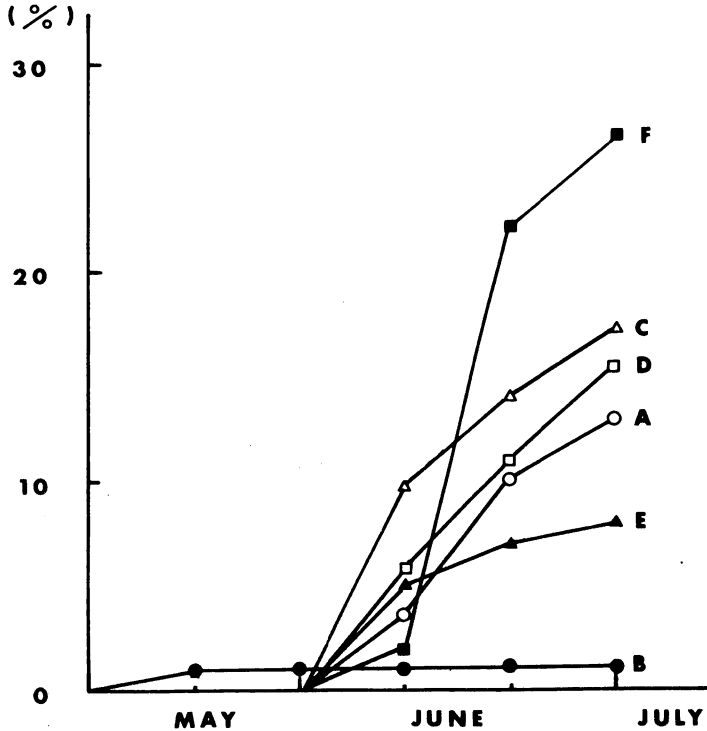


図 3 IPN 発生時からの累積斃死率

(A～Fは表 2 参照)

各区の餌付開始は A 区が 4 月 15 日、B～F 区が 4 月 24 日である。4 月 27 日頃より B 区において斃死魚が増加したが、IPN ウイルスも分離されず、斃死魚の外観症状から餌付不良によるものと考えられた。なお、B 区の斃死は 5 月上旬には終息した。

IPN の発生が認められたのは 6 月中旬頃で、発病の時期は各試験区ともほぼ一致していた。病魚は狂奔遊泳し、外観的に体色黒化・腹部膨出・眼球突出などの症状を呈し、RTG-2 cell line によるウイルス検査で核濃縮を特徴とする CPE の発現が認められたので IPN と診断した。IPN 発生期間中の各区の斃死状況をみると、F 区が最も急激な斃死率の上昇を示し、次いで C・D・A・E 区がほぼ同じ傾向を示し、B 区のそれは緩慢であった。

B 攻撃試験

1. 方法および材料

1) 供試魚

表1に示した試験区より各区150尾のニジマス稚魚を無作為抽出し、総魚体重量を計量したのち攻撃試験用水槽に放養した。

2) 攻撃用水槽

120cm×40cm×20cmの大きさの木製金網張りの生簀を均等に6区分したもので、各区の仕切りには稚魚用モジ網を用いた。各区分の大きさは17.5cm×40cm×20cm、水深は13cmである。

3) 感染方法

昭和52年5月下旬頃より奥多摩分場稚魚飼育池で飼育中のニジマス稚魚（平均体重0.9g前後）にIPNの発生が認められたため、2)の攻撃試験水槽を発病池の排水口側に図4のように設置した。

試験期間中は1日3回の給餌と朝・夕2回の掃除を行ない、朝の掃除時に斃死尾数を記録した。

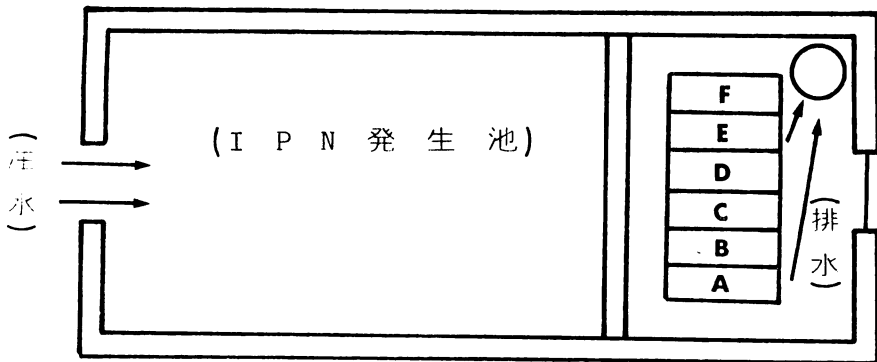


図4 攻撃試験水槽

4) 実施期間

昭和52年6月6日から試験を開始し、試験区における斃死が終息した6月30日までの24日間観察を行なった。

5) 水温

試験期間中の最高・最低水温は14.1～15.8℃であった。

2. 結果

各試験区の試験開始時の平均体重は表3に示すとおりである。

表3 供試魚の平均体重

試験区	供試尾数(尾)	総重量(g)	平均体重(g)
A	150	145	0.97
B	150	120	0.80
C	150	121	0.81
D	150	134	0.89
E	150	117	0.78
F	150	120	0.80

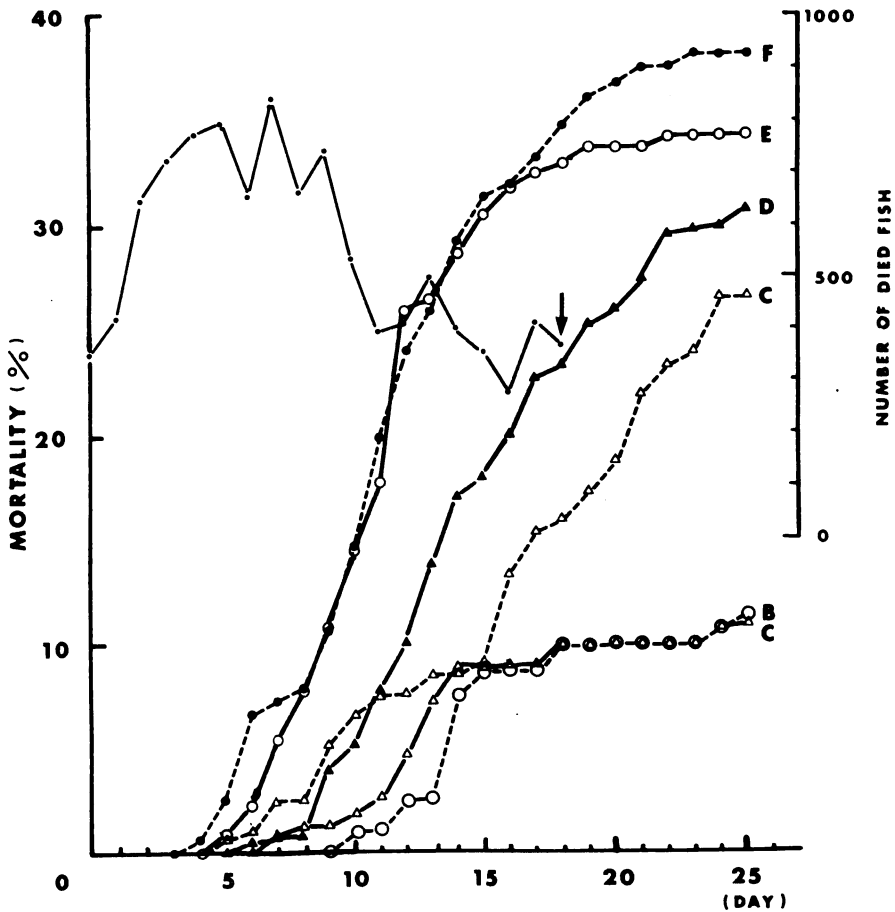


図5 攻撃試験区の累積斃死率の変化

縦軸(右)は発生池における日間斃死尾数、
 (左)は攻撃水槽における累積斃死率を示す。
 ↓印は発生池の稚魚の取り上げ日(6/24)を示す。

供試魚の平均体重は0.80～0.97gで、A区(0.97g)およびD区(0.89g)以外はほぼ0.8g前後の大きさであった。

I PNの発生した稚魚飼育池はニジマス稚魚4万尾を飼育中の池で、5月30日前後から斃死が起り、6月10日～14日には日間斃死尾数は最大(700～800尾/日)となり、その後漸次減少した。同池は6月24日に取り揚げを行なったが、試験開始から取り揚げまでの累積斃死率は約27.5%であった。

各試験区の期間中の累積斃死率を図5に示した。

試験開始後3～4日目頃より供試魚のI PNによる斃死が観察された。斃死魚の出現時期は、B区を除く5区はほぼ同時期であり、B区は若干遅れ試験開始後9日目であった。また、各区の斃死状況はE・F区において斃死率の急激な上昇がみられ、次いでD・C区、A・B区の順となり、斃死の傾向はEF型・CD型・AB型の3型に分けられた。

試験終了時の累積斃死率はA区10.7%・B区11.3%・C区26.7%・D区30.7%・E区34.7%・F区38.0%となり、対照区(F区)に比べA～D区のワクチン区の斃死率が明らかに低くなり、これらの稚魚におけるI PN抵抗性の違いが認められた。

なお、試験期間中の斃死魚のウイルス検査結果は表4のようになり、CPEの形態的特徴からI PNウイルスによる単純感染と考えられる。

表4 攻撃試験区のウイルス検査結果

サンプリング月日 区分	6/11	6/15	6/20	6/29
A	NT	+	+	+
B	NT	NT	+	NT
C	+	NT	+	+
D	NT	-	+	+
E	+	NT	+	+
F	±	NT	+	+

+: ウイルス検出 -: ウイルス検出せず NT: サンプリングせず

3. 考 察

供試魚のI PN自然発病による減耗を観察した結果、ワクチン接種魚由来の稚魚の生残率は対照魚より高くなる傾向であった(図2参照)。しかし、生残率とワクチン接種回数との関連は不明確であった。

攻撃試験結果については、対照区の稚魚に比較して試験区の稚魚の生残率が高くなった(図5参

照)。中和抗体価の上昇については昭和51年度に、ワクチン接種回数が1回より2・3回の方が顕著であることを報告した。今回の結果ではワクチン接種回数の多い親魚由来の稚魚の生残率が高くなり、ワクチン接種回数 — 血中の中和抗体価 — 稚魚の生残率、の間に一連の関係が推定できる。

しかしながら、今回の試験に関しては供試魚の採卵時期・放養密度および供試魚の大きさ（IPNに関しては発病と魚体の大きさとの関係は重要と考えられる）など考慮すべき問題も残されており、今回の結果の追試および多くのデータの蓄積が必要と考えられる。また、作用機作、特に抗体の移行の解明には高度の免疫学的検討が必要と考えられるが、魚の免疫学自体比較的新らしい分野であるため、抗体の経卵移行性に関する知見も皆無の状態であり、今回も作用機作についての検討は実施していない。

魚の免疫に関する報告、特にサケ・マス類の抗体の性状については解明されない部分が多いが、Alexander (1970) はニジマスについて沈降定数7S・19S、つまり高等動物のIgG・IgMに類似する免疫グロブリンの存在を報告したが、最近になってCisar & Fryer(1974) は coho salmon にみられる免疫グロブリンは沈降定数17Sのみであると報告した。現在では、硬骨魚類の免疫グロブリンは macro globulin type とみる考え方が優勢となってきた（Corbel, M. J., 1975）。

高等動物では胎盤通過性を有する免疫グロブリンはIgG(7S)のみであり、魚について17~19Sの macro globulinが親から仔魚への経卵移行性を有するか否かについては疑問が残る。しかし、その解明には知見の集積を待たねばならない。

いずれにしろ、IPNに関しては、自然感染により中和抗体価の上昇がみられること（Wolf et al, 1963）、生ウイルスの接種によって高い抗体価の得られること（Wolf and Quimby 1969; Vestergård Jørgensen 1973）が知られており、また、昭和51年度の奥多摩分場における結果では不活化ウイルスによっても高い抗体価が得られたこと、などから、IPNウイルスは高い抗原性を持つと考えられる。

このことは、VaccinationによるIPN予防の可能性が高いことを示唆している。一方、本年度の当场における結果から、現象という局面的観点ではあるが、親魚へのワクチン接種と稚魚のIPN抵抗性とは相関する傾向であった。したがって、今後追試を行ない、データの蓄積を行なうことが急務であり、更に、経卵移行免疫以外のVaccination技法の検討にも着手し、IPNワクチンの早期実用化を計る必要がある。

4. 参考文献

Corbel, M. J., (1975). The immune response in fish: a review. J. Fish Biol. 7, 539-563

Vestergard Jørgensen, P. E., (1973). The nature and biological activity of IPN virus neutralizing antibodies in normal and immunized rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Archiv für die gesamte Virusforschung 42, 9-20

Wolf, K., M. C. Quimby, and A. D. Bradford. (1963). Egg-associated transmission of IPN virus of trouts. Virology 21, 317-321

Wolf, K., and M. C. Quimby. (1969). Infectious pancreatic necrosis: clinical and immune responses of adult trout to inoculation with live virus. J. Fish. Res. Board Can. 26, 2511-2516

大原達・鈴木鑑・木村義民(1973). 現代免疫学、朝倉書店

東京水試(1976). 指定調査研究総合助成事業 病害研究報告書

II. せつそう病ワクチンに関する研究

A ワクチンの経口投与による免疫賦与試験

1. 方法および材料

1) 供試魚

昭和51年11月に採卵したヤマメ稚魚(平均体重0.14g)を用いた。供試魚群の発眼率は88.7%で、餌付開始は昭和52年3月2日である。供試尾数は1区5,000尾とし7区、合計35,000尾である。

2) 試験区

試験区は表5に示す7区を設定した。

表5 経口ワクチン試験区分

ワクチンの種類	ワクチン投与量	投与回数	備考
Fo-1	—	—	対照区
2 注1 超音波処理菌体 (旧type)	1日1尾あたり 0.15mg	21回	
3 " (新type)	"	14回	
4 "	"	21回	
5 "	"	21回	経皮ワクチン1回接種
6 "	"	21回	" 2回 "
7 ホルマリン死菌(全菌体)	"	21回	

注1) *A. salmonicida* を超音波破壊し、その遠心上清を凍結した、可溶性抗原ワクチンである。

3) 投与方法

経口ワクチン1日量を2mlの0.85%生理食塩水に溶解後、マス稚魚餌付用飼料に混和・浸透させ1日8回に分けて投与した。

4) 投与期間

昭和52年3月2日の餌付開始と同時にワクチンの投与を開始し、所定の投与回数(表5参照)分を毎日連続投与した。投与終了は14回投与区が3月15日、21回投与区が3月22日である。

5) プースターワクチン接種

試験区 Fo-5・6区の供試魚について、Fo-5区は春に1回、Fo-6区は春・秋の2回経皮ワクチンを接種した。春のワクチン接種は5月26～28日に実施し、各区2,500尾宛C社製ワクチンを接種した。秋のワクチン接種は10月22日に実施し、Fo-6区の供試魚（成熟雄個体を除く）1,100尾に同じワクチンを接種した。接種部位はいずれも腹腔内で、接種量は1尾あたり春が0.05ml、秋が0.1mlである。

2. 結 果

試験開始時から4月にかけて各試験区で斃死が観察された。斃死魚は表6に示す症状を呈し、IHNと類似することから、細菌検査およびウイルス検査を実施したが、原因と考えられる病原体は検出されず原因は不明であった。

表6 異常斃死魚の外観所見

症 状	* 発 生 率
鰭のゆ着・変形	83.0 (%)
脂 鰭の欠除	62.2
成長不良（ヤセ）	62.0
体側の出血斑	60.0
眼球突出	25.0
腹部膨出（水腫も含む）	10.0

*……100尾について肉眼観察を行った時の出現率である。

この時期の減耗はFo-1区において著しく、生残率が50%以下となったため、4月10日に対照区（Fo-1）の入れ換えを行なった。なお、この異常斃死は5月上旬にはみられなくなった。

ワクチン投与後の生残率を表7および図6に示した。

試験区においてせっそう病の発生が観察されたのは9月上旬～中旬であったが、発病はFo-5区に限定され他の試験区では自然発病はみられなかった。9月末日までの各区の生残率についてみると、途中で供試魚を入れ換えた対照区が85.9%と最高となり、次いでFo-2区（78.9%）、Fo-7区（68.0%）、Fo-3区（67.9%）、Fo-4区（60.3%）、Fo-5区（59.7%）、Fo-6区（53.5%）の順であった。

表7 経口ワクチン投与魚の月別生残率(%)

区	月	3	4	5	6	7	8	9
FO-1'		72.6	42.4					
1			97.7	93.6	89.4	87.4	85.9	85.9
2		97.3	86.0	83.4	81.9	81.2	78.9	78.9
3		96.3	75.1	73.3	72.5	71.6	68.0	67.9
4		94.2	66.4	64.7	63.0	62.6	60.5	60.3
5		98.2	71.1	69.0	67.9	67.4	63.5	59.7
6		97.5	70.7	68.7	67.2	66.8	53.7	53.5
7		97.9	85.2	74.2	71.5	71.2	68.1	68.0

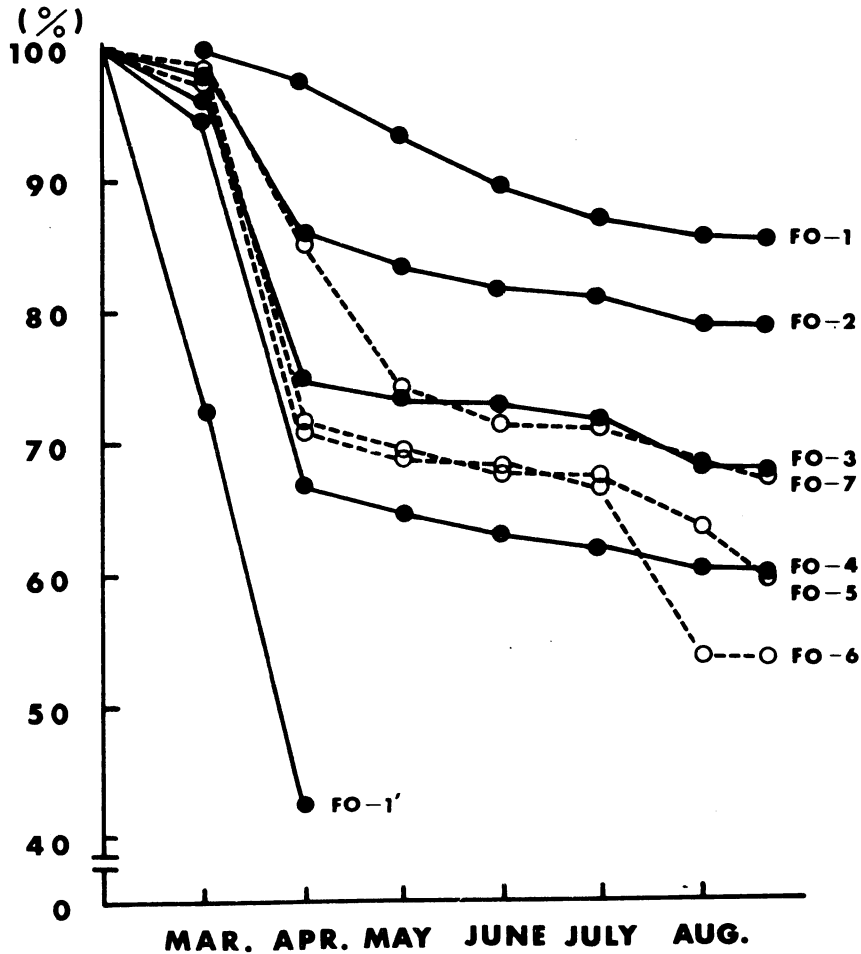


図6 経口ワクチン投与魚の生残率の推移

3. 考 察

初期の異常斃死魚は症状およびウイルス・細菌検査の結果から、感染症とは考えられず、発生過程での異常に起因するものと推定される。

当场における本年度のせっそう病の発生は昨年比べて少なく、試験区においても、せっそう病の流行がみられたのは9月上旬～中旬のF₀-5区のみであった。したがって、経口ワクチン投与効果については、本年度の自然発病状況からは判断することはできなかった。

B 攻 撃 試 験

1. 方法および材料

1) 供試魚

経口ワクチンを投与したヤマメ稚魚を供試した。

2) 供試菌株

Aeromonas salmonicida To-7602株を用いた。培養は普通寒天培地(栄研)によった。

3) 感染方法

(1) *A. salmonicida*汚染水による感染、(2)生菌接種魚との混養による感染および(3)生菌の筋肉内接種の3つの方法を検討した。

(1) *A. salmonicida*汚染水による感染

図7に示す試験水槽により実施した。

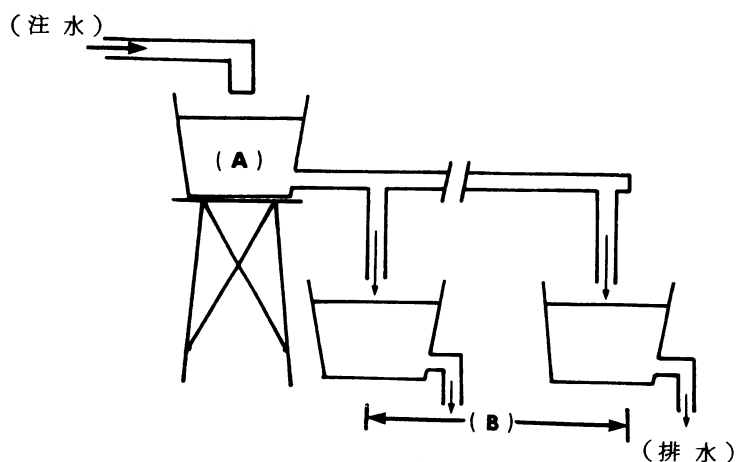


図7 感染試験装置

図中の水槽(A)に0.1mg/mlの菌懸濁液0.05mlを接種したニジマス稚魚40尾を収容し、その下流に6個の水槽(B)(90ℓ容ポリエチレンコンテナ)を設置し供試魚を1槽200尾収容した。水路は開放式とし期間中は適量給餌を行った。ニジマスについては試験開始後20日間、毎日斃死尾数分を追加接種し収容した。水槽(B)1槽あたりの注水量は159ℓ/hrに調整した。

試験期間は昭和52年7月15日から8月24日であり、期間中の斃死魚については外観症状の観察および細菌検査を行ない斃死原因の確認を行なった。

(2) 生菌接種魚との混養(同居)感染

*A. salmonicida*懸濁液(0.1mg/ml)を1尾宛0.1ml接種したニジマス稚魚5尾と供試魚20尾(魚体重5g前後)を20ℓのパンライト水槽に混養し感染させた。菌接種ニジマス稚魚については試験開始後5日目にさらに5尾を追加放養した。期間中は無給餌、無換水とし、通気を行なった。

試験期間は昭和52年7月1日～7月14日である。

(3) 生菌の筋肉内接種

供試魚(1区20尾 魚体重10g前後)に魚体重1kgあたり0.25・0.025・0.0025mgになるように*A. salmonicida*を筋肉内接種し、斃死状況を観察した。供試魚はアトキンス型ふ化槽内に設置した網生簀に放養し、飼育は流水で行なった。

2. 結 果

(1) *A. salmonicida* 汚染水による感染

試験期間中の飼育水温は14.6～19.2℃であった。

各区の斃死率を図8に示した。各区とも試験開始後10日目頃より斃死が始まり漸次増加したが、その傾向をみるとF₀-5・4・7区で急激に増加し、次いでF₀-1・2・3の順で斃死率の増加がみられた。その後、斃死は終息したが、F₀-7区だけは試験終了時まで直線的な斃死率の上昇がみられた。

試験期間中の累積斃死率はF₀-7区(63.5%)・F₀-5区(49.5%)・F₀-1区(35.0%)・F₀-2区(31.5%)・F₀-4区(26.5%)・F₀-3区(19.0%)の順であった。

なお、期間中の斃死魚のほとんどは外観的に典型的なせう病患部が認められ、斃死魚の細菌検査では*A. salmonicida*が分離された。

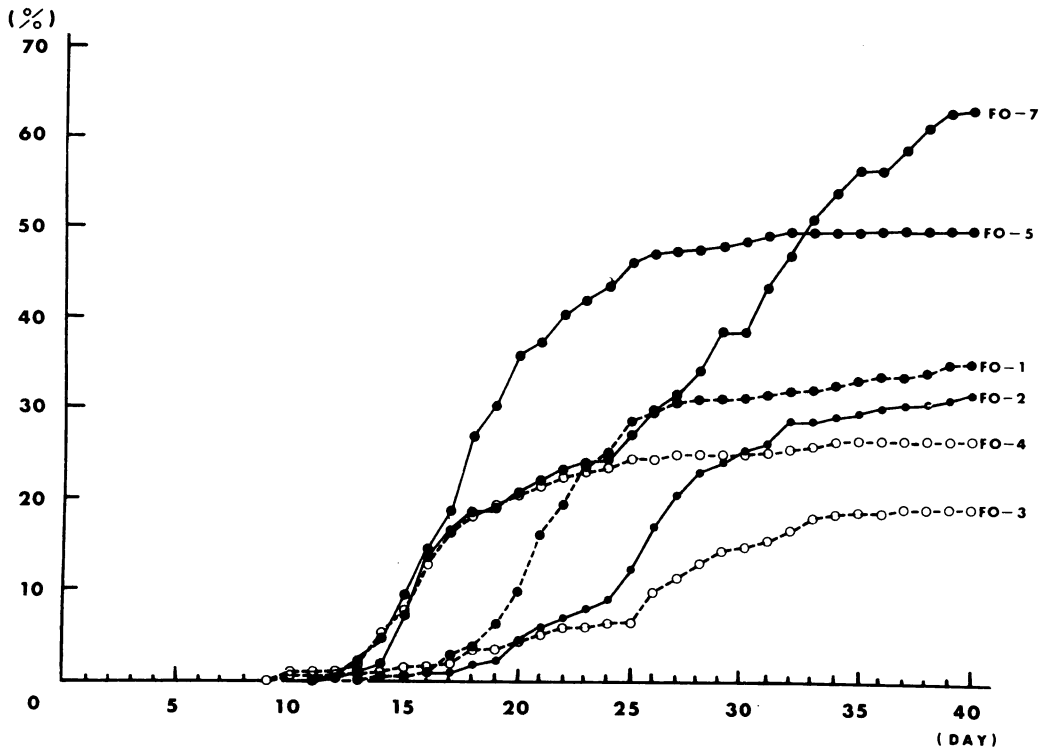


図8 *A. salmonicida* 汚染水感染による斃死率の変化

(2) 生菌接種魚との混養(同居)感染

試験期間中の水温は17.7~23.5℃であり、止水式水槽のため比較的高い水温条件での試験となった。各試験区の観察結果を表8に日間斃死尾数で示した。

表8 同居感染試験結果

試験区	供試尾数	経過日数にともなう日間斃死尾数														斃死率(%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
FO-1	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	14	2	—	—	100
2	20	0	0	0	0	3	0	0	3	0	1	1	4	1	7	100
3	20	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	4	8	3	4	100
4	20	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	11	4	4	100
5	20	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	15	—	—	—	100
7	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	19	—	—	—	100

試験開始後5日目より斃死がみられ、初期の斃死魚では外観的にせう病患部の認められる個体もあったが、11日目以後の斃死魚では必ずしも患部が認められず、細菌検査の結果では *A. salmonicida* は分離されなかった。最終的には試験開始後14日目で各区とも100%斃死した。

(3) 生菌の筋肉内接種

菌接種の結果を表9・10・11に示した。

魚体重1kgあたり0.25mg接種では3日目に斃死が始まり5日目で100%が斃死した。

0.025mg接種でも同様の傾向を示し、0.0025mg接種では4日目より斃死が始まり5日目で100%が斃死する結果であった。

表9 *A. salmonicida* 0.25 mg/kg・BW接種結果

試験区	供試尾数	平均体重	経過日数にもなり累積斃死数					へい死率
			1	2	3	4	5	
Fo-1	20	6.6	0	0	7	11	2	100
3	20	7.0	0	0	6	14	—	100
4	20	6.8	0	0	6	14	—	100
5	20	6.8	0	0	10	10	—	100
7	20	6.7	0	0	9	10	1	100

(実施月日 昭和52年7月15日~7月20日)
水 温 15.6 ~ 17.0℃

表10 *A. salmonicida* 0.025 mg/kg BW接種結果

試験区	供試尾数	平均体重	経過日数にもなり累積斃死数					へい死率
			1	2	3	4	5	
Fo-1	20	6.8	0	0	9	11	—	100
3	20	6.7	0	0	10	10	—	100
4	20	6.8	0	0	7	10	1	100
5	20	6.5	0	0	5	10	—	100
7	20	6.7	0	0	6	13	1	100

(実施月日 昭和52年7月20日~7月25日)
水 温 15.6 ~ 18.4℃

表 1 1 *A. salmonicida* 0.0025 mg/kg BW 接種結果

試験区	供試尾数	平均体重	経過日数にともなう累積斃死数					への死率
			1	2	3	4	5	
Fo-1	20	9.6	0	0	0	6	14	100
3	20	9.8	0	0	0	8	12	100
4	20	9.6	0	0	0	12	8	100
5	20	10.3	0	0	0	13	7	100
7	20	9.8	0	0	0	11	9	100

(実施月日 昭和52年7月26日～7月30日)
水 温 16.8 ~ 18.9℃

3. 考 察

攻撃試験については3つの方法を試みた。*A. salmonicida* 汚染水による感染では自然発病に近いせう病の流行が認められ、各区の斃死傾向については早期発病区 (Fo-4・5・7) と発病の遅れる区 (Fo-1・2・3) に分かれ (図8参照)、累積斃死率にも若干の差が認められたが、ワクチン投与との関連は明確でなく、ワクチンの効果判定までには至らなかった。しかしながら、本法についてはアユのピブリオ病研究で好成績を得ており (徳島水試)、今回の試験結果からも今後有効な攻撃方法と成り得ると考えられる。

また、生菌接種魚との混養 (同居) による感染法については上記の方法に比べ定量的かつ簡易な方法と考えられるが、今回の試験に関しては試験設備等に問題があり、ワクチンの効果判定および攻撃方法としての有効性の検討はできなかった。

A. salmonicida の筋肉内接種法については、本法は最も定量的かつ一般的方法と考えられるが、今回の結果では供試魚に急激な斃死が生じワクチンの効果は認められなかった。今回の接種量は菌数に換算するとほぼ $10^3 \sim 10^5$ cells/kg・BW となり、*A. salmonicida* の Virulence が極めて高いと考えられることから今後接種菌量をより少なくする必要がある。

C 経皮ワクチン試験

本年度はヤマメ親魚 4,400尾についてC社製多価ワクチンおよび自家製単価ワクチン接種区を設定した。

1. 方法および材料

1) 供試魚

ヤマメ1年魚各区1,100尾、合計4区4,400尾を用いた。

2) 試験区

試験区は表12に示す4区を設定した。

表12 経皮ワクチン試験区

試験区	ワクチンの種類	供試魚
I 区	C社製多価ワクチン	ヤマメ 1,100尾
II 区	対照区	" "
III 区	自家製単価ワクチン	" "
IV 区	C社製多価ワクチン	" "

3) 接種月日

昭和52年3月16日

4) 水温

せっそう病研究部会の申し合せに準じ、試験期間中の飼育水温を測定した。測定は自動観測装置によった。

5) 斃死魚の細菌検査

試験期間中の斃死魚については外部所見を記録するとともに、腎臓より細菌の分離を行ない斃死原因の確認を行なった。

2. 結果

試験期間中の旬別最高・最低水温を図9に示す。

ワクチン接種後の月別生残率を表13に、また、せっそう病とそれ以外の原因別斃死率を表14に示した。

表13 経皮ワクチン接種魚の月別生残率(%)

試験区 \ 月	3	4	5	6	7	8	9
I 区	99.8	98.3	96.2	93.8	92.8	92.4	91.5
II 区	99.9	98.2	97.4	95.9	94.8	93.8	92.0
III 区	99.6	98.3	97.0	95.7	95.1	94.7	93.8
IV 区	99.9	99.4	97.6	94.7	92.8	92.5	89.4

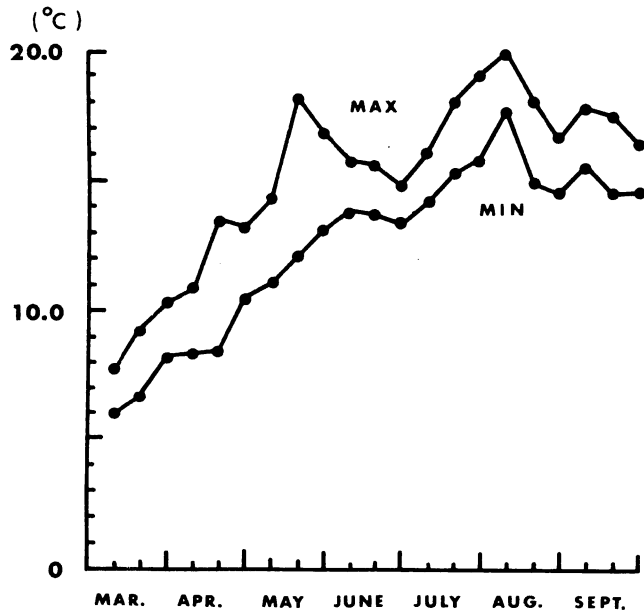


図9 経皮ワクチン接種魚の飼育水温

表14 経皮ワクチン試験区のせつそう病斃死率(%)

区 \ 月	3	4	5	6	7	8	9
I	0 (0.2)	0.1 (1.6)	0.7 (3.1)	1.5 (4.7)	2.1 (5.1)	2.2 (5.4)	2.5 (6.0)
II	0 (0.1)	0 (1.8)	0.1 (2.5)	0.7 (3.4)	1.5 (3.7)	2.1 (4.1)	2.5 (5.5)
III	0 (0.4)	0 (1.7)	0 (3.0)	0.3 (4.0)	0.4 (4.5)	0.5 (4.8)	0.7 (5.5)
IV	0 (0.1)	0.1 (0.5)	0.2 (2.2)	0.6 (4.7)	1.5 (5.7)	1.6 (5.9)	2.1 (8.5)

()内はせつそう病以外の斃死率

各区の試験終了時の生残率はI区91.5%・II区92.0%・III区93.8%・IV区89.4%となりいずれも高い値を示した。また、せつそう病による斃死率はI区・2.5%、II区・2.5%、III区・0.7%、IV区・2.1%と低く、本年のせつそう病魚の出現は散発的であった。

D 攻撃試験方法の検討

我国における魚病ワクチンの実用化研究のなかでせつそう病ワクチンに関する研究の歴史は比較的長い。その間、せつそう病のVaccinationによる予防の有望性は明らかにされながら、いまだ

に実用化にほど遠い現状である。その原因は様々で一概に言うことはできないが、ワクチン効果の定量的判定基準、いわゆる攻撃方法が確立されていないことも一つにあげられよう。したがって、本年度はせっそう病菌の確実かつ迅速な感染方法として、Vaccination 技法の1つとして知られる高張液利用の二浴法による *A. salmonicida* 感染実験を行なった。

1. 方法および材料

1) 供試魚

ヤマメ 0年魚(体重 12~14g)を1区20尾宛、6区、合計120尾を用いた。

2) 供試菌株

A. salmonicida TO-7602株を用いた。

3) 菌液の濃度

浸漬液の菌の濃度は $10^7 \cdot 10^6 \cdot 10^5 \cdot 10^4 \cdot 10^3$ cell/ml 5段階を設定した。

TO-7602株を普通寒天培地(栄研)で20℃・24時間培養後、0.85%生理食塩水で $10^9 \sim 10^5$ cells/ml になるように10倍段階希釈し供試原液とした。浸漬に際しては飼育用水1ℓに対し上記原液をそれぞれ10mlづつ加え浸漬液とした。

4) 感染方法

5.32% NaCl溶液1ℓ中に供試魚を2分間浸漬後、ただちに菌懸濁液へ移し、さらに2分間浸漬した後ちガラス水槽に放養した。

5) 試験水温

試験は水温 13.5~16.2℃の条件下で実施した。

2. 結 果

試験の結果を日間斃死尾数および累積斃死数で示すと、表15・図10のとおりである。

浸漬後5日目に $10^6 \cdot 10^7$ cells/ml区で斃死魚が出現し、以後、 10^5 cells/ml区で7日目、 10^4 cells/ml区で8日目に最初の斃死魚がみられた。15日間の試験期間中の累積斃死尾数は 10^7 cells/ml区・15尾、 10^6 cells/ml区・11尾、 10^5 cells/ml区・9尾、 10^4 cells/ml区・1尾となり 10^3 cells/ml以下の濃度では斃死はみられなかった。

図10から明らかなように、斃死魚の出現時期および累積斃死尾数と浸漬液の菌の濃度との間に相関関係(Dose effect)がみられた。また、斃死魚では外観的に自然発病によく似たせっそう患部が観察された。

表 15 日間斃死尾数の推移

No	菌液の濃度 (cells/ml)	供試 尾数	日間斃死尾数															合計
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
1	2.2×10^7	20	0	0	0	0	4	5	2	1	1	2	0	0	0	0	0	15
2	" $\times 10^6$	20	0	0	0	0	2	6	1	1	0	0	0	0	0	1	0	11
3	" $\times 10^5$	20	0	0	0	0	0	0	1	3	3	0	0	1	1	0	0	9
4	" $\times 10^4$	20	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
5	" $\times 10^3$	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

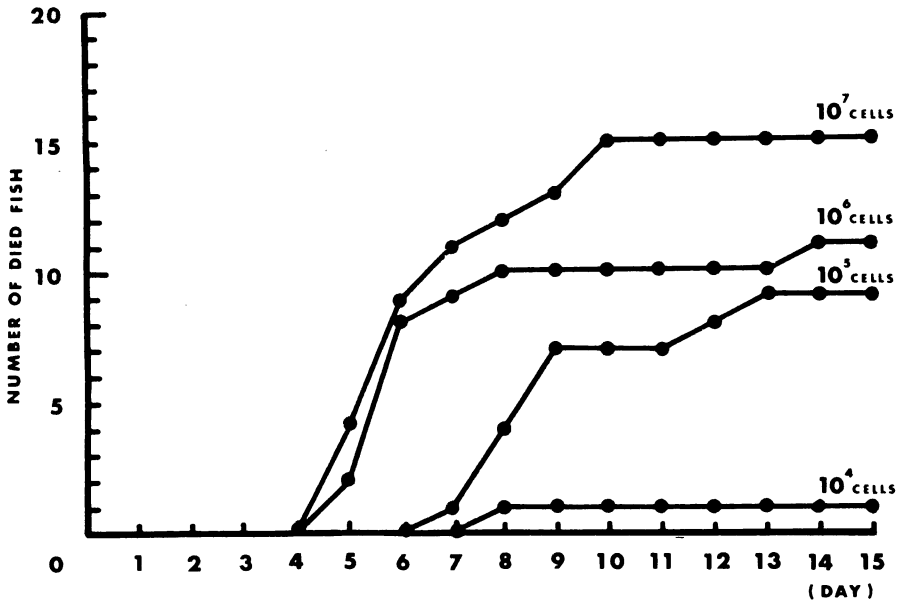


図 10 累積斃死尾数の変化

3. 考 察

せつそう病の攻撃方法に関しては、*Asalmonicida* のヤマメに対する毒性が高く、生菌接種法では接種菌量の選択に問題がある。*Asalmonicida* 汚染水および生菌接種魚との混養による感染法については試験施設等に検討すべき点を残している。これに対し二浴法は操作が簡単で試験期間が短く、また、菌の濃度と斃死との関係が明確であり、今後ワクチンの効果判定法として期待できる方法と考えられるので更に検討する必要がある。

関 連 研 究

I. IHN に関する研究

A IHN ワクチンに関する研究

1. 親魚への IHN 不活化ワクチン接種

1) 供試ワクチン

IHN ウイルス長野株のホルマリン不活化ワクチンを供試した。ワクチンは北里研究所にて調整されたアジュバンド添加ワクチンである。

2) 供試魚

奥多摩分場産 3 年初産親魚 30 尾にワクチンを接種した。なお、供試魚は IHN 非汚染魚と考えられる群より選別した。

3) 接種時期および回数

ワクチンの接種は 3 回行ない、接種時期は採卵予定時期の 6・5・3 週間前を予定し、1 回目を昭和 52 年 1 月 2 日、2 回目を 1 月 1 日、3 回目を 1 月 16 日に接種した。

4) ワクチンの接種量および接種部位

供試魚の腹腔内に魚体重 1 kg あたり 1 回目 1 ml、2 回目 2 ml、3 回目 5 ml ずつ接種した。ワクチン接種に先立ち、供試魚の個体別計測を行ない所定量のワクチン接種を行なうとともに Tagging による個体標識を行なった。

5) 血清採取

供試魚の中和抗体価を測定するため、ワクチン接種前および採卵時に供試魚尾柄部より採血し、血清分離を行ない -20℃ に凍結保存した。

6) 採卵結果

ワクチン接種親魚からの採卵は昭和 53 年 1 月 10 日に実施した。同一日に採卵可能であった個体は表 16 に示す 9 尾であった。

供試魚は採卵後、個体別に媒精し収容した。媒精には雄親魚 5 尾分の混合精液を未受精卵一腹分に対し 1.5 ml ずつ使用した。

昭和 53 年度実施予定の稚魚におけるワクチン効果の検討には、今回採卵した個体のうち、ワクチン接種にともなう中和抗体価の高い 5 尾からの採卵稚魚を供試する予定である。

表 1 6 IHNワクチン接種親魚採卵結果

№	体 重 (g)	* 体 長 (cm)	採卵重量 (g)	5 ♀ 卵数 (粒)	備 考
1	1,400	40.1	192	57	
2	1,083	36.8	190	65	
3	1,045	36.7	162	56	
4	930	34.2	137	70	
5	679	31.2	100	79	
6	1,282	39.0	234	50	
7	1,204	38.3	197	58	
8	1,018	37.8	81	68	
9	880	33.8	102	63	
10	1,436	40.0	244	66	Control
11	1,218	37.1	202	67	"
12	1,170	38.6	164	59	"

* 被鱗体長

B ニジマス親魚のIHNウイルス汚染状況調査

昭和52年度、奥多摩分場海沢試験地で飼育中のニジマス稚魚にIHNの発生がみられたので、IHN発病魚群をはじめ総てのニジマス稚魚の殺処分を行なった。しかし、ニジマス親魚の処分は行なわなかった。そこで、飼育池全体のIHN汚染も考えられるため、汚染状況の把握とニジマス親魚の保菌検査を行なった。

1. ニジマス親魚のIHNウイルス保菌検査

1) 方法

(1) 供試魚

海沢試験地の全飼育親魚尾数4,201尾より60尾を無作為抽出し、そのうちの5尾づつを1サンプルとした。

(2) ウイルスの分離

供試魚の腎臓および脾臓を乳鉢で混合・摩砕し、その一部を図11に示す手順でRTG-2 cell lineに接種した。

(3) 実施月日

1回目は昭和52年7月11日、2回目は10月9日に実施した。

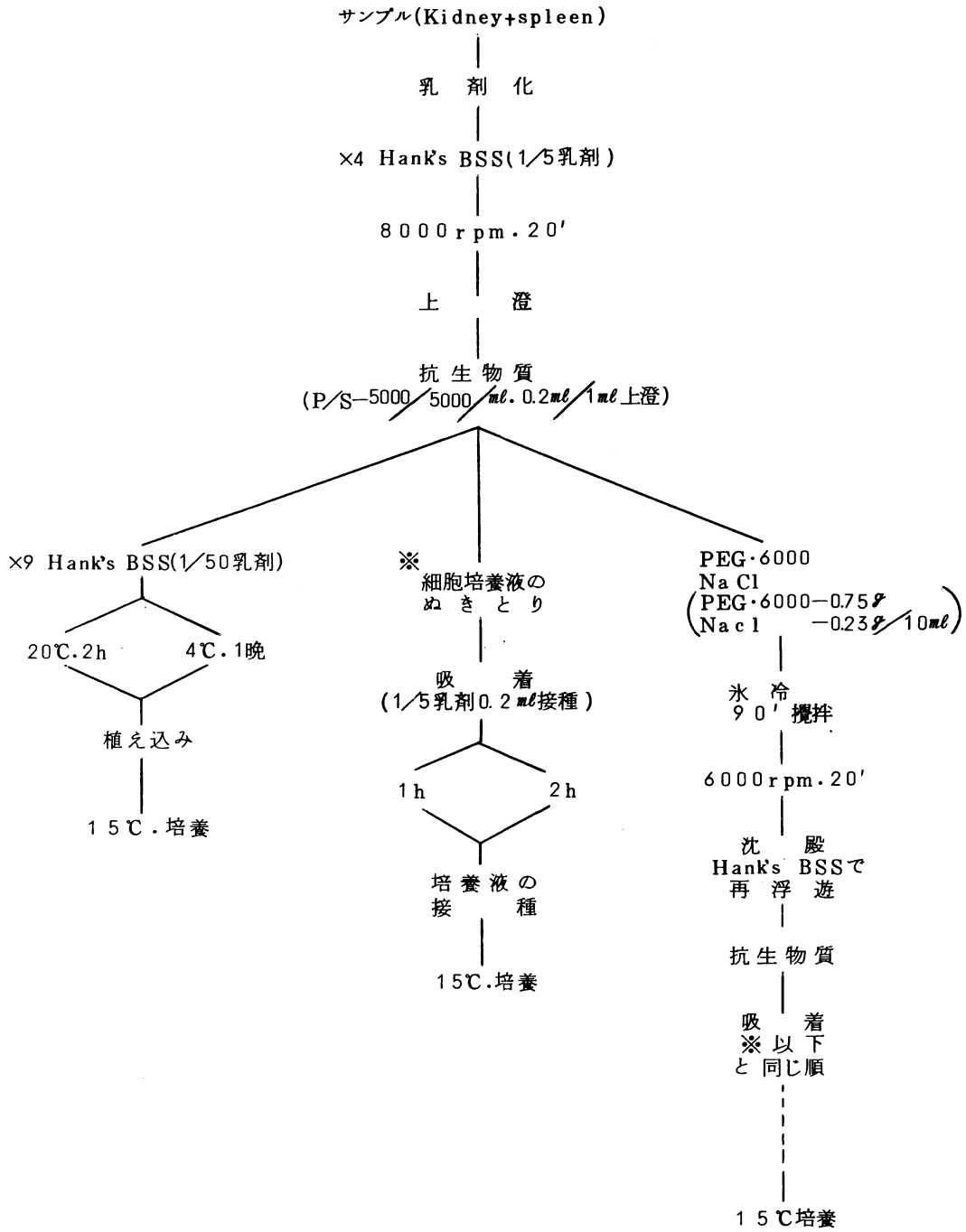


図 11 IHNウイルス検査手順

2) 結果

昭和53年1月までに2回の保菌検査を実施したが、いずれの場合もIHNウィルスは分離されなかった。今後、IHNの発病時期の4～5月にかけて再度保菌検査を実施する予定である。

2. 汚染親魚飼育水によるニジマス稚魚の感染試験

1) 方法および材料

(1) 供試魚

供試魚はIHNの非汚染地である奥多摩分場入川試験地のニジマス稚魚を1区1,500尾として2区、合計3,000尾(平均体重0.65g)を用いた。

(2) 感染方法

海沢試験地の取水口および最下流の飼育池付近にポリエチレンコンテナ製の水槽(90ℓ容)を設置し、供試魚を収容した。

(3) 試験期間

昭和52年5月18日から6月26日までの40日間観察した。

(4) 水温

各水槽について午前9時および午後2時に水温測定を行った。

2) 結果

試験期間中の累積斃死尾数および水温の変化を図12に示した。

親魚の飼育池を通過した用水で飼育したニジマス稚魚では、試験開始後23日目より斃死魚が出現し、斃死魚について実施したウイルス検査の結果、RTG-2 call lineでのCPEの形態的特徴からIHNと診断した。一方、取水口の水による飼育群では試験期間中IHNの発生はみられなかった。

3. 総合考察

ニジマス親魚の保菌検査ではIHNウィルスは検出されなかったが、稚魚への感染試験の結果から海沢試験地の飼育水のIHN汚染が明らかとなった。

IHNの保菌検査については、静岡・長野水試(昭和52年度)よりの報告があり、静岡水試によれば、魚体が不健康な状態にある時にはウイルス検出率が高くなるという。また、長野水試は発病期および採卵期以外のニジマス1・2年魚ではウイルスの検出率が低いことを報告しており、今回の当场における結果は、両水試の報告を裏づけるものと考えられ、今後、保菌検査の時期・条件についても検討する必要がある。

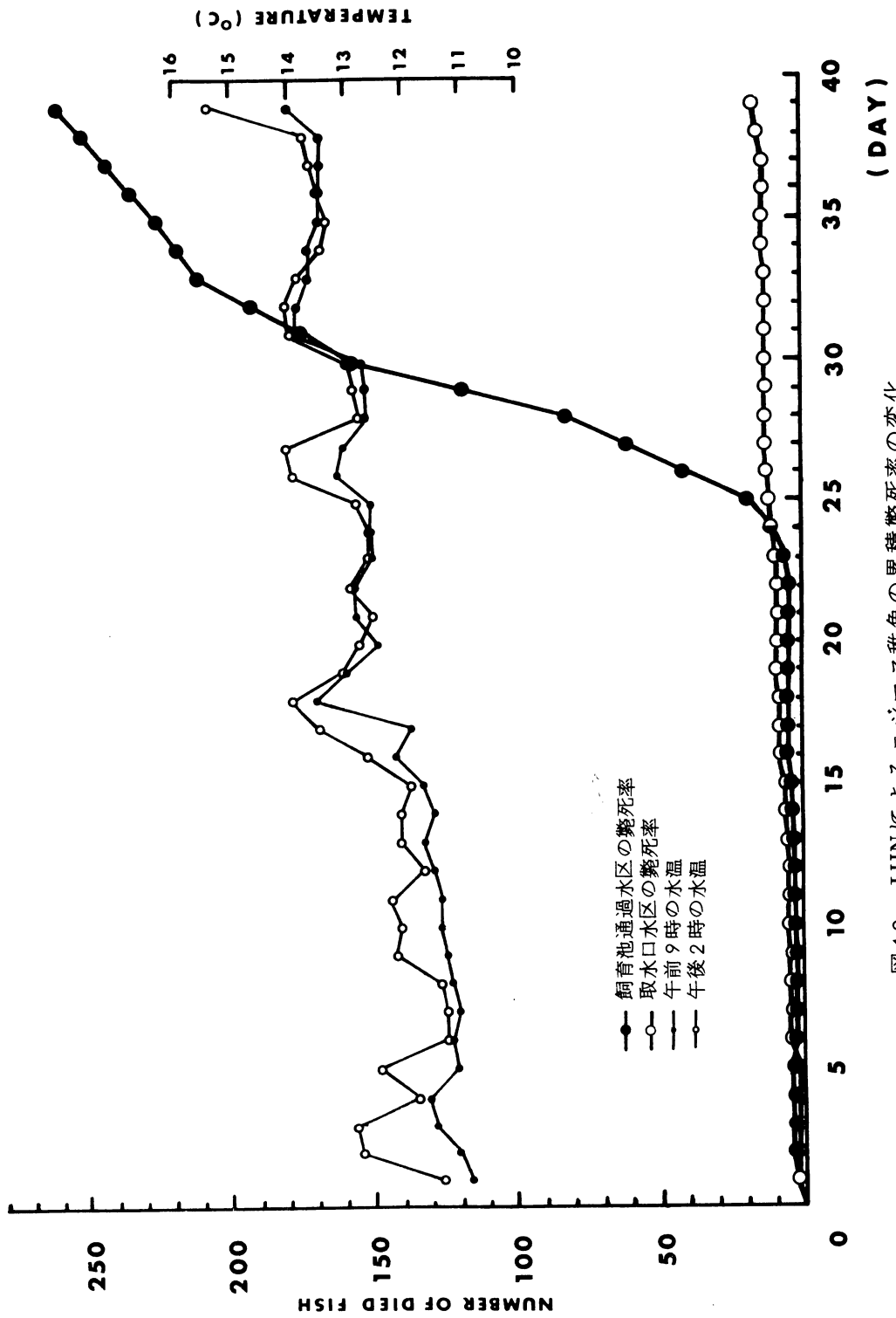


図12 IHNによるニジマス稚魚の累積斃死率の変化

Ⅱ. せつそう病の治療に関する研究

A せつそう病原菌の薬剤感受性試験

昭和52年度、都下においてせつそう病罹病魚より分離した *Aeromonas Salmonicida* について、せつそう病研究部会の申し合わせ法にしたがい薬剤感受性試験を実施した。

1. 方法

1) 使用培地

病魚からの菌の分離には普通寒天培地（栄研）を使用し、平板培地で20℃・48～96時間培養した後、釣菌し保存菌株とした。保存菌株は同培地による高層穿刺培養で15℃に放置した。

検査に際してはトリプトソイブイオン（ニッスイ）で20℃・24時間の前培養後、ハートインフュージョンブイオン（ニッスイ）で22℃・24時間増菌培養を行ない、培養液を接種菌液とした。

感受性検査用培地には、感性ディスク用培地（ニッサン）を予研B型シャーレに20mlづつ分注して使用した。

2) 感受性ディスク

市販の一濃度ディスク（商品名：昭和ディスク）を使用した。検査した薬剤はスルファモメトキシシ（mp）・スルファジメトキシシ（x）・スルフィソメゾール（z）・クロラムフェニコール（c）・ストレプトマイシン（S）・テトラサイクリン（T）・オキシテトラサイクリン（o）・フラゾリドン（f）・ナリジクス酸（Nd）の9種類である。

3) 供試菌株

供試菌株は昭和52年3月～6月に在来マスのせつそう病罹病魚の腎臓から分離した株である。分離菌は寒天平板上でのコロニーの形態、色素産生能を基準に選択し単離・保存した。なお、保存株は総べてSmooth株である。

4) 検査手順

増菌用培地で20℃・24時間培養し、培養液0.01mlを感受性検査用培地に接種した。接種菌液をコンラージ棒で培地上に塗布のち薬剤ディスクを置き20℃で培養した。培養後24・48時間目に阻止円の径を測定した。

2. 結果

分離菌株の薬剤感受性検査結果を表17に示す。本年度は検査菌株19株中4株がサルファ剤耐性であった。

表 1 7 藥劑感受性試驗判定結果

Strain	Drugs									
	x	mp	z	c	o	f	s	T	Nd	
TO-7701	##(53)	##(41)	##(41)	##(67)	##(47)	##(31)	##(39)	##(58)	##(63)	
7702	##(39)	##(38)	##(37)	##(52)	##(58)	##(25)	##(30)	##(50)	##(57)	
7703	##(34)	##(36)	##(38)	##(48)	##(48)	##(29)	##(33)	##(61)	##(60)	
7704	##(53)	##(44)	##(46)	##(59)	##(62)	##(34)	##(33)	##(58)	##(62)	
7705	##(31)	##(31)	##(33)	##(51)	##(54)	##(29)	##(35)	##(55)	##(60)	
7706	-(0)	-(0)	-(0)	##(55)	##(51)	##(29)	##(32)	##(48)	##(60)	
7709	##(40)	##(35)	##(38)	##(52)	##(47)	##(27)	##(31)	##(56)	##(57)	
7710	-(0)	-(0)	-(0)	##(43)	##(48)	##(18)	##(32)	##(54)	##(55)	
7711	##(27)	##(33)	##(37)	##(59)	##(53)	##(26)	##(25)	##(57)	##(48)	
7712	##(30)	##(43)	##(40)	##(56)	##(60)	##(31)	##(33)	##(59)	##(60)	
7713	##(31)	##(39)	##(41)	##(54)	##(54)	##(29)	##(35)	##(68)	##(70)	
7714	##(31)	##(31)	##(35)	##(58)	##(64)	##(30)	##(30)	##(63)	##(58)	
7715	##(45)	##(45)	##(45)	##(46)	##(58)	##(36)	##(40)	##(68)	##(66)	
7716	##(38)	##(43)	##(38)	##(64)	##(60)	##(38)	##(42)	##(68)	##(66)	
7717	##(31)	##(32)	##(41)	##(39)	##(36)	##(33)	##(33)	##(60)	##(63)	
7718	-(0)	-(0)	-(0)	##(37)	##(41)	##(16)	##(24)	##(41)	##(52)	
7719	##(19)	+(17)	+(16)	##(43)	##(40)	##(18)	##(25)	##(49)	##(49)	
7720	—	##(38)	##(42)	##(49)	##(39)	##(19)	##(33)	##(57)	##(63)	
7721	—	##(31)	##(31)	##(52)	##(49)	##(20)	##(23)	##(50)	##(53)	

()内は阻止円直径^{mm}

B せつそう病治療効果試験

1. アンピシリンおよびDG-5459によるせつそう病治療試験

1) 方法と材料

(1) 供試薬剤

アンピシリン (20倍散)

DG-5459 (オルメトプリムとスルファモノメトキシンの合剤で、配合比は1:3である)

(2) 供試魚

一実験あたりニジマス0年魚を1区50尾として6区、合計300尾使用した。

(3) 供試菌株

A. salmonicida To-7703株 (昭和52年3月13日に奥多摩分場のヤマメより分離した株で、薬剤感受性株である (表17参照))

(4) 菌の接種

普通寒天培地 (栄研) で20℃・48時間培養した*A. salmonicida*を魚体重1kgあたり0.25mgになるよう0.85%生理食塩水に懸濁し、供試魚の背部筋肉に接種した。

(5) 薬剤の投与

菌接種後4時間目より投薬を開始し、以後1日1回、10日間連続投与を行なった。

(6) 実施期間

アンピシリン 昭和52年7月22日～7月26日

“ 8月 5日～8月22日

DG-5459 “ 9月10日～9月27日

2) 結果と考察

結果は表18・19・20に示すとおりである。

DG-5459およびアンピシリン第2回試験については投薬終了後さらに1週間観察を行なった。アンピシリンの第1回試験では薬剤濃度が低く早期斃死がみられたので、追加試験として第2回試験を実施した。

試験終了時の生残尾数をみると、DG-5459では200mg/kg・BW投与区が50尾、100mg/kg・BW投与区が41尾であったが、50mg/kg・BW以下の投与区では半数以上が斃死した。また、アンピシリンについては200mg/kg・BWで34尾が生残したが、100mg/kg・BW以下では半数以上が斃死する結果であった。したがって、DG-5459については100mg/kg・BW以上で治療効果があると考えられる。DG-5459はオルメトプリム (OMP)

表 18 DG-5459 のせつそう病治療効果

Exp. No.	Dose (mg/kg)	Day after infection														Mortality (%)
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	16	
1	200	*50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	0
2	100	50	50	50	49	48	43	43	43	41	41	41	41	41	18.0	
3	50	50	50	50	49	47	39	33	25	21	19	19	19	19	62.0	
4	25	50	50	49	35	18	6	3	2	2	2	2	2	2	96.0	
5	12.5	50	50	49	31	16	6	2	2	2	1	1	1	1	98.0	
6	0	50	50	49	38	4	1	0	0	0	0	0	0	0	100.0	

* No. of survivals

(WT 14.3~17.0°C)

表 19 アンピシリンのせつそう病治療効果 - 1

Exp. No.	Dose (mg/kg)	Day after infection					Mortality (%)
		0	1	2	3	4	
1	100	50	50	13	3	0	100
2	50	50	50	7	0	0	100
3	25	50	50	3	0	0	100
4	12.5	50	50	4	0	0	100
5	6.25	50	50	5	0	0	100
6	0	50	50	1	0	0	100

(WT 15.6~18.5°C)

表 20 アンピシリンのせつそう病治療効果 - 2

Exp. No.	Dose (mg/kg)	Day after infection												Mortality (%)
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	17	
1	200	50	50	50	50	47	43	39	35	34	34	34	34	32.0
2	100	50	50	50	45	23	17	16	15	15	15	15	12	76.0
3	50	50	50	50	40	13	9	7	6	6	6	6	5	90.0
4	25	50	50	48	34	5	2	1	1	1	1	1	1	98.0
5	0	50	50	47	22	3	1	0	0	0	0	0	0	100.0

(WT 14.5~19.2°C)

とスルファモノメトキシシ(SMM) の分散の 2.5 倍散であり、今回の結果では OMP 10 mg · SMM 30 mg で効果がみられることから、SMM の単独投与よりも OMP とともに投与することにより SMM の効果が高められると考えられる。

アンピシリンは水産用としてはハマチ養殖等で使用されている、本剤は in vitro において *A. salmonicida* に対して効果がみられることから、ニジマスによる治療試験を行なったが、効果のみられる投与量は 200 mg/kg · BW 以上となった。in vitro の結果と in vivo での結果とにかなりの差がみられ点で薬剤の吸収、排泄等に問題があることも考えられる。

2. せつそう病に対するピロミド酸の野外治療試験

1) 方法と材料

(1) 供試魚

カワマス (*Salvelinus fontinalis*) 0 年魚、平均体重 13.9 g

(2) 供試薬剤

ピロミド酸 (Piromidic acid)

(3) 薬剤投与量

魚体重 1 kg あたり 1 日量として 10 · 20 mg を 7 日間投与した。薬剤は給餌量 (給餌率 1.5%) の外割 7% のスケソウ肝油に懸濁後飼料に混合して投与した。

(4) 試験方法

罹病魚群 900 尾を 300 尾ずつ 3 区分し、金網で区分した試験池に上流より 20 mg 投与区 · 10 mg 投与区 · 対照区の順で放養した。投薬は放養後 6 日目より 7 日間行ない、投薬終了後 8 日間観察した。なお、試験期間中の斃死個体については外観的にせつそう病患部の有無を調べるとともに、体表患部の不明瞭な個体については細菌検査を行ない、死亡原因の確認を行なった。

(5) 試験期間

昭和 52 年 9 月 18 日 ~ 10 月 7 日

(6) 水温

試験は水温 15.5 ~ 16.7 °C で実施した。

2. 結果および考察

ピロミド酸の投与結果は図 13 に示す。

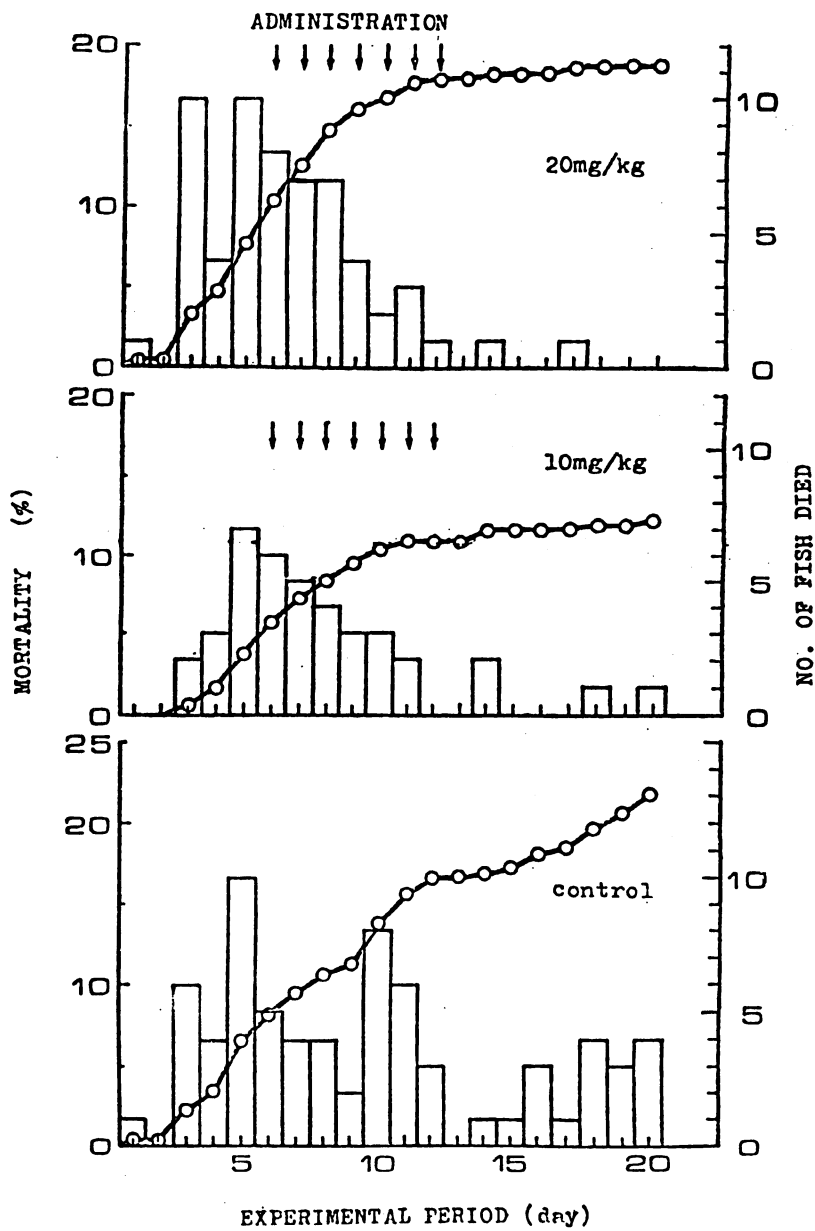


図13 カワマスのせつそう病に対するピロミド酸の治療効果

試験開始から薬剤投与開始までの5日間に各区とも急激な斃死魚の増加を示し、投薬開始時の累積斃死尾数は20mg投与区25尾・10mg投与区12尾・対照区で21尾と差がみられた。投薬区では投与開始後2日目より漸次斃死尾数が減少し、投薬終了後はほとんど終息した。一方、対照区では試験開始後9日目までは投薬区と同様の推移を示したが、10日目以後再び斃死魚の増加が認められ、試験終了時まで直線的に増加した。

今回の試験区分の設定に際しては、せっそう病が確認された時点で罹病魚群を3分割したため、その後の斃死尾数に人為的影響が顕著となり、選別放養後3～5日にかけて急激な斃死魚の増加がみられた。したがって、ピロミド酸の投与開始時には試験区による斃死尾数の差が生じ、このことが結果の解析を不明確にしているようであるが、累積斃死尾数曲線のパターンや日間斃死尾数の推移からピロミド酸は20mg・10mg投与によりせっそう病の治療効果が認められる。

C 薬剤の毒性試験

1. 方法と材料

1) 供試薬剤

トリメトプリム(トリメトプリム<TMP>の単剤、スルファダイアジン<SDZ>の単剤およびTMPとSDZの1:5の合剤)

オルメトプリム(オルメトプリム<OMP>の単剤およびOMPとスルファモノメトキシ<SMM>の1:3の合剤)

2) 供試魚

奥多摩分場産ニジマス0年魚を用いた。

3) 薬剤の投与

供試魚を試験水槽に放養し10日間馴致した後、飼料と所定濃度の薬剤を混合し、自由摂餌による投与を行った。

4) 実施期間

トリメトプリムに関しては昭和52年9月8日に薬剤を投与し、以後9月18日までの10日間観察した。

オルメトプリムについては昭和52年5月30日に薬剤を投与し、以後6月7日までの7日間観察した。

2. 結果および考察

各薬剤の試験結果を表21・22に示した。

Publication of The Tokyo Metropolitan

Fisheries Experiment Station №284

Memoir of Tokyo Metropolitan

Fisheries Experiment Station №137

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)

印刷物規格表第2類
印刷番号(52)1697
刊行物番号(K)76

昭和53年3月1日発行

編集・発行 東京都水産試験場 技術管理部
〒125 東京都葛飾区水元小合町3374番地
電話 03(600)2873

印刷所 株式会社 東 邦

表 2 1 トリメトプリム毒性試験結果

Exp. group	Drugs	Dose (mg/kg)	No. of fish	Ave. BW	No. of fish died										Mortality (%)	
					(days)											
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Total	
1	SDZ	8,000	50	14.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	SDZ	16,000	50	13.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	TMP	2,000	50	13.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	TMP	4,000	50	14.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	SDZ/TMP	3,000	50	13.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	SDZ/TMP	6,000	50	13.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	control	0	50	13.9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(WT 14.3~17.2°C)

表 2 2 オルメトプリム毒性試験結果

Exp. group	Drugs	Dose (mg/kg)	No. of fish	Ave. BW	No. of fish disd							Mortality (%)
					(days)							
					1	2	3	4	5	6	7	
1	Ormethoprim	1,600	30	7.4	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Ormethoprim	3,200	30	7.4	0	0	0	0	0	0	0	0
3	*DG-5459	1,600	30	7.2	0	0	0	0	0	0	0	0
4	DG-5459	3,200	30	7.0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	control	0	30	7.5	0	0	0	0	0	0	0	0

* オルメトプリムとスルファメノメトキシ1:3の合剤

(WT 13.8~15.2°C)

トリメトプリムに関してはTMP単剤で4,000mg/kg.BW. SDZ区の合剤で6,000mg/kg.BWでも毒性は認められなかった。また、オルメトプリムに関してはOMP単剤で3,200mg/kg.BW SMMとの合剤で3,200mg/kg.BWでも毒性はみられず、両薬剤はニジマスに対して急性毒性は極めて低いと考えられる。