

グッピーのカラムナリス病に関する研究(2)

誌名	日本獣医畜産大学研究報告 = The bulletin of the Nippon Veterinary and Zootechnical College
ISSN	03738361
著者名	山崎,芳則 畑井,喜司雄 窪田,三朗
発行元	日本獣医畜産大学
巻/号	39号
掲載ページ	p. 56-59
発行年月	1990年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



グッピーのカラムナリス病に関する研究

II. 治療に関する実験

山崎芳則・畑井喜司雄・窪田三朗

日本獣医畜産大学 魚病学教室

要約 著者らは前報⁷⁾でグッピーの“尾ぐされ病”の原因が *Flexibacter columnaris* に起因する細菌性疾患であることを明らかにした。本報では前報の薬剤感受性試験の結果からオキシリン酸、ホルマリン、塩化ナトリウムの3剤を選択し、それらの *F. columnaris* に対する殺菌力試験、グッピーに対する急性魚毒性試験およびオキシリン酸と塩化ナトリウムを用いた治療実験を行った。

殺菌力試験において、塩化ナトリウムは2.0%、120分で殺菌効果を示したが、20 ppm オキシリン酸と500 ppm ホルマリンの120分浸漬では殺菌効果を示さず、24時間作用させた場合にのみ殺菌効果が認められた。急性魚毒性試験の結果、雄と雌に対する48時間 TL₅₀ 値は各々2.13%および2.16%であった。人為感染魚に対する治療試験では1%塩化ナトリウム浴と20 ppm オキシリン酸浴とを併用する方法が有効であると判断された。

キーワード：グッピー、カラムナリス病、治療。

日獣畜大研報, 39, 56~59, 1990.

著者らはグッピー *Poecilia reticulata* の“尾ぐされ病”が *Flexibacter columnaris* に起因する細菌性疾患、すなわちカラムナリス病であったことを前報⁷⁾で明らかにした。

F. columnaris の *in vitro* での薬剤感受性試験に関する報告は少なくないが^{3,6)}、治療法に関する検討はほとんど行われていない。著者らは前報の薬剤感受性試験の結果よりグッピーのカラムナリス病に有効であると思われるオキシリン酸、ホルマリン、塩化ナトリウムの3剤を選択し、それらの *F. columnaris* に対する殺菌力試験、グッピーに対する急性魚毒性試験および人為感染魚を用いた治療実験を行ったのでその概要を述べる。

材料および方法

1. 殺菌力試験

罹病グッピーの尾部より分離した *Flexibacter columnaris* の NJB 4002, NJB 4003 および NJB 4004 の3株に対する塩化ナトリウム、ホルマリンおよびオキシリン酸の殺菌力試験を以下の方法により実施した。殺菌力試験は、まず試験管に *Cytophaga* 液体培地を9 ml ずつ分注後滅菌し、それらに薬剤希釈液を1 ml および *Cytophaga* 液体培地で25°C、48時間培養した菌液を0.05 ml 添加し、以後5, 15, 30, 60, 120分および24時間後に白金耳で *Cytophaga* 寒天培地に培養液

を画線し、25°Cで48時間培養後の供試菌の発育の有無を肉眼的に確認する方法で実施した。各供試薬剤の試験濃度は塩化ナトリウムでは0.5, 1および2%, ホルマリンでは12.5, 125および500 ppm, オキシリン酸では10および20 ppm とした。

2. 急性魚毒性試験

水温を25°Cに保った水槽に塩化ナトリウムを所定の濃度に溶解し、それらの各水槽に体長3 cm, 体重約0.6 gのグッピーの雄と雌とを各々5尾ずつ収容し、24, 48および72時間後の生存率から、各時間ごとの TL₅₀ 値(半数致死濃度)を算出した。

3. 治療実験

人為感染は *F. columnaris* NJB 4004 を *Cytophaga* 液体培地で48時間培養後、その菌液中に雄のグッピーの尾鰭を無傷のまま浸漬させる方法で行った。次いで尾ぐされ症状が発現されるまで48時間放置し、それらの個体を治療実験の供試魚として用いた。なお、いずれの場合にも浸漬終了後は供試魚を清水に収容してその後の経過を観察した。

実験 I. 人為感染魚10尾中5尾は25°Cに保った2%塩化ナトリウム水溶液中に2時間浸漬させ、残りの5尾は対照魚として無処理とした。

実験 II. 供試魚20尾を5尾ずつ4群に分けて下記の実験を行った。

- A群: 1% 塩化ナトリウム溶液に 24 時間供試魚を浸漬させた。
- B群: 20 ppm オキシリン酸溶液に 30 分間浸漬させ、1 度飼育水中に戻した後、24 時間後に再び同様の処置を施した。
- C群: 1% 塩化ナトリウム溶液に 24 時間浸漬させた後、B 群と同様の処置を施した。
- D群: 無処置の対照魚群。

したことから一括して Table. 1 に示した。

0.5% および 1% 塩化ナトリウム溶液での殺菌効果は 24 時間連続して浸漬した場合には有効であったが、120 分以内の浸漬では全ての菌が生存したことから無効であると判断された。2% の濃度では 120 分以上作用させた場合にのみ殺菌効果が認められ、60 分以内の作用時間では殺菌効果が認められなかった。

ホルマリンとオキシリン酸の場合には 24 時間浸漬に全ての濃度で殺菌効果が認められたが、120 分以内の浸漬時間では殺菌効果が認められなかった。

結 果

1. 殺菌力試験

供試 3 株は各薬剤からの各濃度に対して同一成績を示

2. 急性魚毒性試験

塩化ナトリウムのグッピーに対する毒性は Table. 2

Table 1. Bactericidal effects of NaCl, formalin and oxolinic acid for the 3 strains of *Flexibacter columnaris* isolated from guppies (*Poecilia reticulata*)

Chemical agents & Concentrations	Exposure time						
	5	15	30	60	120(mins.)	24(hrs.)	
NaCl	0.5%	+*	+	+	+	+	--**
	1.0%	+	+	+	+	+	--
	2.0	+	+	+	+	--	--
Formalin	12.5 ppm	+	+	+	+	+	--
	125	+	+	+	+	+	--
	500	+	+	+	+	+	--
Oxolinic acid	10 ppm	+	+	+	+	+	--
	20	+	+	+	+	+	--

* Growth ** No growth

Table 2. Survival rate of guppy exposed to NaCl solution

Guppy*	NaCl concentrations	Exposure time(hrs.)			TLm** after 48 hrs (%)
		24	48	72	
Male	1.0%	100%	100%	100%	2.13
	2.0	100	100	100	
	2.2	20	20	20	
	2.4	0	0	0	
	2.8	0	0	0	
	3.0	0	0	0	
Female	1.0	100	100	100	2.16
	2.0	100	100	100	
	2.2	60	40	40	
	2.4	20	20	20	
	2.8	0	0	0	
	3.0	0	0	0	

* 5 guppies were used for each test ** Median tolerance limit (TLm)

にしたように雌雄ともに 2% までは認められなかった。48 時間での TLm 値は雄で 2.13%, 雌で 2.16% であった。

3. 治療実験

実験 I. 2% 塩化ナトリウム溶液による治療成績を Fig. 1 に示した。本図から明らかなように、無処置の対照群は人工感染後 5 日目に全尾が斃死したのに対して、2 時間浸漬させた場合には対照群と比較して 2-4 日の延命効果が認められた。すなわち、人為感染魚は 7 日目に 2 尾、8 日目に 1 尾、9 日目に 2 尾がそれぞれ斃死した。

実験 II. 各群の結果を Fig. 2 に示した。

A 群: 人工感染後 5 日目に 2 尾、6 日目に 3 尾が斃死した。

B 群: 人工感染後 6 日目に 3 尾、7 日目に 2 尾が斃死した。

C 群: 人工感染後 7 日目に 2 尾が斃死したが残りの 3 尾は生残し、やがて尾鰭の再生が認められた。

D 群: 人工感染後 3 日目に 1 尾が、また 4 日目に 4 尾が斃死した。

なお、上述の実験における斃死魚には全て自然発症魚と同一な尾ぐされ症状が認められた。

考 察

温水性淡水魚のカラムナリス病の治療には各種薬剤が薬浴法や経口投与方法などにより経験的に使用されているが¹⁾、治療試験についての学術的報告は少ない。石田ら^{4,5)}はドジョウのカラムナリス病に対してテトラサイクリンでは 10 ppm の 24 時間浴が、またスルファモノ

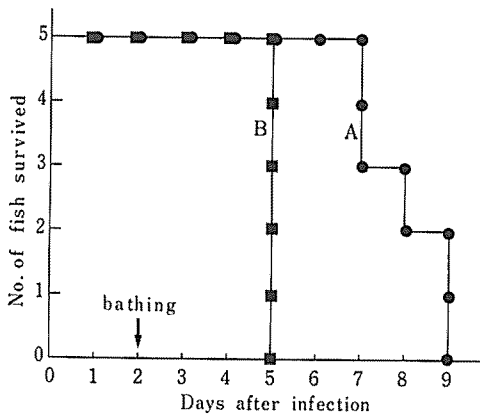


Fig. 1. Effects of NaCl against guppies artificially infected with *F. columnaris* NJB 4004
A: 2-hour bath in 2% NaCl, once.
B: Control

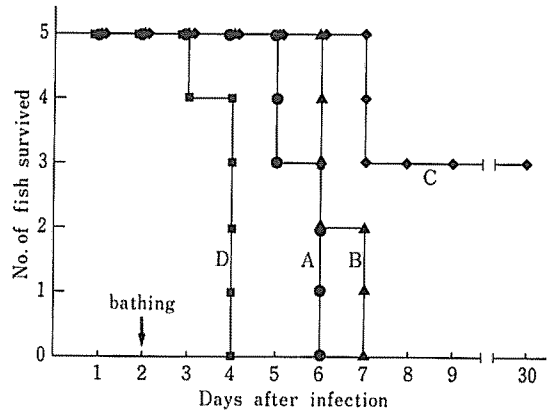


Fig. 2. Effects of NaCl and oxolinic acid against guppies artificially infected with *F. columnaris* NJB 4004

A: 24-hour bath in 1% NaCl, once
B: 30-minute bath in 20 ppm oxolinic acid, repeat daily, 2 times

C: 24-hour bath in 1% NaCl, once, followed 30-minute bath in 20 ppm oxolinic acid, repeat daily, 2 times

D: Control

メトキシナトリウムでは 0.1% の 48 時間および 1% の 10 分浴が有効であったと報告している。しかし、グッピーのカラムナリス病に対しては前報⁷⁾で述べたテトラサイクリンおよびスルファモノメトキシンの最小発育阻止濃度の値は高く、治療剤として不適であると推察された。今回行った治療試験の実験 I と II の結果より、1% と 2% 塩化ナトリウム浴による治療、および 20 ppm オキソリン酸浴による治療は尾ぐされ症状の進行を若干抑制する効果を有することが明らかとなった。しかしながら、何れの場合にも最終的には全供試魚が尾ぐされ症状を呈して斃死したことから、これらの治療法はさらに検討する必要があるものと思われた。

治療試験の実験 II の 1% 塩化ナトリウムと 20 ppm オキソリン酸を併用した C 群では 5 尾中 3 尾が生残し、しかも尾鰭の再生が認められたことから、この治療法はグッピーのカラムナリス病に有効であると思われた。

しかしながらグッピーのカラムナリス病の治療法は以下に述べる理由からまだ問題点が残されていると考えられる。すなわち、本病は症状の進行が早く、しかも感染力が強いのが特徴である。従って、本病の対策は他の疾病以上に早期発見および予防が重要であり、これを怠った場合には治療を施す前に斃死してしまう例が多い。一

方, FUJIHARA and NAKATANI²⁾ は加熱処理菌体あるいは超音波処理菌体をベレットに混ぜ、ニジマス稚魚に7週間連日投与した後に感染試験を行った結果、カラムナリス病に対する防御効果が認められたと報告している。これらのことから今後は薬浴による有効な治療法の確立と共に免疫学的予防法の研究が必要であると思われる。

文 献

- 1) AUSTIN, A. and AUSTIN, D.A. (1987). Bacterial Fish Pathogens. Ellis Horwood Limited, pp. 225-249.
- 2) FUJIHARA, M.P. and NAKATANI, R.E. (1971). Antibody production and immune responses of rainbow trout and coho salmon to *Chondrococcus columnaris*. J. Fish. Res. Bd. Canada, 28, 1253-1258.
- 3) 畑井喜司雄・保科利一 (1973). 病原性粘液細菌に関する研究 III. 魚病研究, 8, 78-82.
- 4) 石田 修 (1969). ドジョウのカラムナリス病に対する各種薬剤の治療試験. 千葉内水面研究報告, 2, 40-43.
- 5) 石田 修・石井重之 (1969). ドジョウのカラムナリス病に対するテトラサイクリンの治療試験. 千葉内水面研究報告, 2, 44-45.
- 6) 若林久嗣・江草周三 (1966). ドジョウから分離された病原性粘液細菌 *Chondrococcus columnaris* の性状: 水産学会誌, 32, 1015-1022.
- 7) 山崎芳則・畑井喜司雄・窪田三朗 (1989). グッピーのカラムナリス病に関する研究 I. 尾鰭から分離された *Flexibacter columnaris* の性状および病理組織. 日獣畜大研報, 38, 60-65.

Studies on Columnaris Disease in Guppy (*Poecilia reticulata*)

II. Therapeutic effects of some drugs against *Flexibacter columnaris*

Yoshinori YAMAZAKI, Kishio HATAI and Saburoh S. KUBOTA

Department of Fish Diseases, Nippon Veterinary
and Zootechnical College

ABSTRACT

Studies were made of both the bactericidal effects of oxolinic acid, formalin and sodium chloride on *Flexibacter columnaris*, and the acute toxicity to the guppies of the sodium chloride. The pathogen was isolated from the caudal fin of guppy (*Poecilia reticulata*) with fin rot. The bacterium was killed within 24 hours in concentration of 10 ppm, 12.5 ppm and 0.5% for oxolinic acid, formalin and sodium chloride, respectively. The sodium chloride only could kill the bacterium within 2 hours in a concentration of 2%. The value of median tolerance limit (TLM) of the sodium chloride solution against guppies was 2.13% and 2.16% for male and female, respectively.

Therapeutic effects of oxolinic acid and sodium chloride against the guppies artificially infected with *F. columnaris* were also studied. The 24-hour bath of 1% sodium chloride and the 30-minute bath of 20 ppm oxolinic acid were more effective than the results in the other experiments.

Key words: guppy, columnaris disease, treatment.

Bull. Nippon Vet. Zotech. Coll., No. 39, 56-59, 1990.