

養殖マダイに対する塩酸オキシテトラサイクリンの安全性・ 吸収排泄および残留性試験

安元 進・畑井喜司雄・安永 統男・竹野 登**
今野 俊逸*・中川 敦史*

Studies on Absorption, Excretion, Residue and Safety
of Oxytetracycline Hydrochloride in Red Sea Bream,
Pagrus major

Susumu YASUMOTO, Kishio HATAI, Norio YASUNAGA, Noboru TAKENO,
Shunitsu KONNO and Atsusi NAKAGAWA

近年、養殖マダイでは従来から発生していた
ビブリオ病に加え、エドワルツ病なども蔓延す
る傾向がみられ、それらの細菌性疾病による被
害が増えてきている。各種化学療法剤はこれら
の疾病の治療を目的に使われているが、薬剤の
効果を含めた基礎的知見がないままに使用され
ている例が多い。従って、今後マダイに対して
水産用医薬品が適正に使用されるためには各種
知見の集積が必須と思われる。

本報では養殖マダイで使用頻度の高い塩酸オ
キシテトラサイクリン（以下OTCと略称）の
安全性・吸収排泄および残留性などの基礎的試
験を実施したのでその概要を報告する。

材料および方法

各試験の内容は表1に示したとおりである。
供試薬はK社製のOTC製剤、および従来から
水産用医薬品として市販されているT社製のOTC

製剤（いずれも1g中に100mgのOTCを含
有する10倍散）を用いた。試験は経口投与方法
または薬浴法により行い、試験魚（マダイ0年
魚）は各試験ごとに流水にしたコンクリート水
槽内に設置した網生簀（50×50×50cm）
内に収容し、十分馴致したものをを用いた。経口
投与方法は給餌率（生餌換算）を10%とし、マ
ダイ用クランブルまたはマイワシミンチにOTC
を混入させ、自由摂餌させる方法で実施した。
なお、OTCはクランブルには水に溶かして吸
着させ、またミンチには水産用展着剤（ミンチ
に対して0.5%添加）とともに混入させた。展
着剤はK社製OTC製剤にはK社製展着剤を、
またT社製OTC製剤にT社製展着剤を用いた。
いっぽう、薬浴法は100ℓのパンライト水槽
を用いて行い、薬浴終了後、ただちに前述の網
生簀に供試魚を収容する方法で実施した。

安全性試験 K社製OTC製剤を用い経口投
与方法および薬浴法で実施した。経口投与方法によ

* 協和醗酵工業㈱ 水産開発室

** 現在：同社九州支社特薬課

表1 試験内容

試験項目	投与方法	餌料	塩酸オキシテトラサイクリン (OTC)			供試魚 (マダイ0年魚)		試験期間 (1979年)	試験期間中の水温
			投与量または薬浴濃度 (カ価)	供試* 剤	投与回数または薬浴時間	尾数	平均体重		
安全性試験	経口投与方法	クランブル	400mg/kgB.W.	K社製	7回 (1日1回)	20尾	28.2g	10月15日 ~ 21日	21.5~ 22.0°C
	"	"	"	"	"	"	29.8	"	"
	薬浴法	-	400ppm	"	3時間	"	15.1	10月20日 ~ 26日	21.0~ 22.0
吸収・排泄試験	経口投与方法	ミンチ	50mg/kgB.W.	K社製	1回	50	33.9	10月23日 ~ 25日	20.8~ 22.0
残留性試験	経口投与方法	ミンチ	50mg/kgB.W.	K社製	7回 (1日1回)	40	22.7	10月25日 11月1日	21.5~ 23.3
	"	"	"	T社製	"	"	23.9	"	"
	薬浴法	-	50ppm	K社製	30分	30	34.8	10月29日 ~ 24日	20.8~ 22.0

* 1g中OTCを100mg含有する。

る安全性試験はミンチ投与群およびクランブル投与群の2群に対して400mg/kg体重のOTCを1日1回、7日間連続投与し、その後7日間供試魚の摂餌性、行動および体色などを観察する方法で実施した。なお、投薬群との比較のために無投薬群を1群設置した。また投薬終了後1日後には各群から5尾ずつ取りあげ、肝臓、腎臓および筋肉を採取し、病理組織学的検査に供した。さらに投薬終了後6日後には各群から5尾ずつ取りあげて採血し、常法に従い血液性状(ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数)を検査した。なお、採血は後述の試験をも含め、すべてキュービエ氏管よりおこなった。

薬浴法は400ppmのOTC溶液中にマダイを3時間浸漬した後、ただちに網生簀に収容し、その後7日間供試魚の状態を肉眼的に観察した。

吸収排泄試験 K社製OTC製剤を用い50mg/kg体重投与となるようにミンチに混入した

OTCを経口的に1回投与した後、1、3、6、12、24および48時間後に各々6尾ずつ取りあげ、定量用検体として血液、筋肉および肝臓を採取した。なお、血液は6尾分の複合試料とし、その血清を定量用検体とし、また筋肉および肝臓は各々2尾分の複合試料を定量用検体とした。各検体は定量に供するまで-20°Cのフリーザーで凍結保存した。

残留性試験 経口投与方法による試験はK社製およびT社製のOTC製剤を供試し、各々50mg/kg体重投与となるようにミンチに混入し、1日1回、連続的に7日間投与する方法で実施した。その後1、3、6、24、48、72、120および168時間後に各々3尾ずつ取りあげ、定量用検体として血液、筋肉および肝臓を採取した。なお、筋肉は個別別に採取したが血液(血清)および肝臓は3尾分の複合試料とし、各検体は定量に供するまで-20°Cのフリー

ザーで凍結保存した。

薬浴法による試験はOTC 50 ppmの30分浴を実施し、その後0, 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72および120時間後に経口投与法と同様な検体処理を行う方法で実施した。

OTCの定量 各検体の定量は *Bacillus cereus* var *mycoides* ATCC 11778を用いた平板円筒法で実施した。本報での各検体の検出限界は血清が0.08 μg/ml, 筋肉が0.08 μg/gおよび肝臓が0.16 μg/gであった。

なお、本試験において供試魚の飼育、検体採

取、組織固定および血液検査は長崎県水産試験場増養殖研究所で、また病理組織学的検査およびOTCの分析は協和醸酵工業(株)水産開発室で実施した。

結果および考察

安全性試験 経口投与法および薬浴法のいずれの試験においても供試魚は全尾生存し、しかも遊泳状況など外観的になんらの異常も観察されなかった。また病理組織学的所見からもなん

表2 安全性試験におけるマダイの血液性状*

試験群	魚体 No.	血液性状			
		ヘマトクリット値 (%)	血色素量 (g/dl)	赤血球数 (×10 ⁶ cells/ml)	
クランブル	1	47.0	6.8	3.03	
	2	49.0	8.7	2.46	
	吸着投薬群	3	36.5	6.5	2.97
		4	40.0	8.3	2.99
		5	37.0	8.0	—**
	平均値	41.9	7.7	2.86	
	標準誤差	2.6	0.4	0.11	
マイワシミ	6	39.0	7.3	3.11	
ンチ	7	46.0	9.1	3.82	
混合投薬群	8	40.0	7.9	3.48	
	9	43.0	9.3	3.50	
	10	34.0	7.5	3.16	
		平均値	40.4	8.2	3.41
		標準誤差	2.0	0.4	0.13
対照群	11	32.0	6.5	2.56	
	12	35.5	7.6	3.11	
	13	38.0	9.0	3.63	
	14	41.0	9.2	3.76	
	15	29.0	6.0	2.86	
		平均値	35.1	7.7	3.18
	標準誤差	2.1	0.6	0.21	

* 投薬終了後6日後の性状

** 測定せず

表3 マダイに50mg(力価)/kg体重のK社製OTCを経口的に1回投与した後の組織中OTC濃度の消長

投与後の経過時間 (時間)	魚体 No.*	組織中のOTC濃度		
		血清** (μg/ml)	肝臓** (μg/g)	筋肉** (μg/g)
1	1-2	< 0.08	< 0.16	0.08
	3-4			0.24
	5-6			0.12
	平均値			0.13
3	7-8	0.24	1.96	0.27
	9-10			0.19
	11-12			0.24
	平均値			0.23
6	13-14	0.80	1.20	0.34
	15-16			0.15
	17-18			0.28
	平均値			0.26
12	19-20	0.31	1.64	0.15
	21-22			0.35
	23-24			0.20
	平均値			0.23
	24			0.21
24	25-26	0.21	1.96	0.21
	27-28			0.09
	29-30			0.15
	平均値			0.15
	48			0.15
48	31-32	< 0.08	< 0.16	0.20
	33-34			0.13
	35-36			0.12
	平均値			0.15
				0.15

* 血清は6尾分の、肝臓および筋肉は2尾分の複合検体として定量

** 検出限界以下の値は検出限界値の2分の1として平均値を求めた。ただし、すべての個体で検出限界以下の場合には平均値も検出限界以下とした。

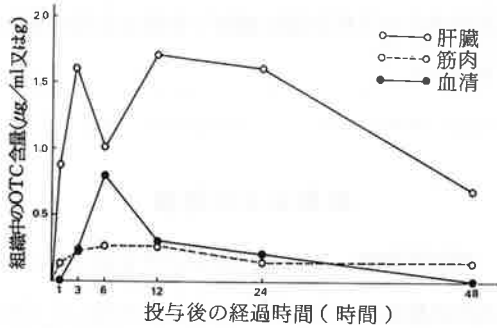


図1 50mg(カ価)/kg体重のOTCを1回投与した後の組織内OTC含量の消長

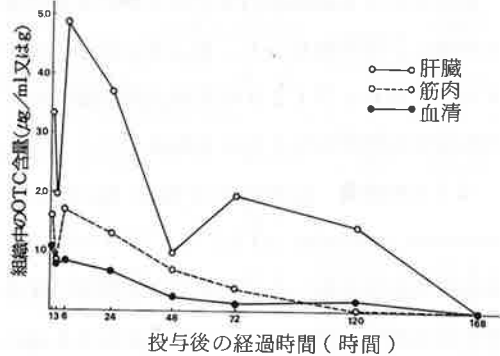


図2 50mg(カ価)/kg体重のOTC製剤(K社製)を連続7日間投与した後の魚体内OTC含量

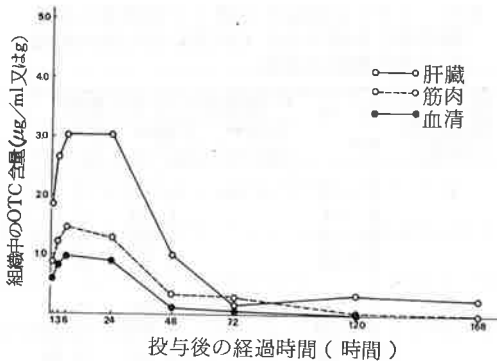


図3 50mg(カ価)kg体重のOTC製剤(T社製)を連続7日間投与した後の魚体内OTCの含量

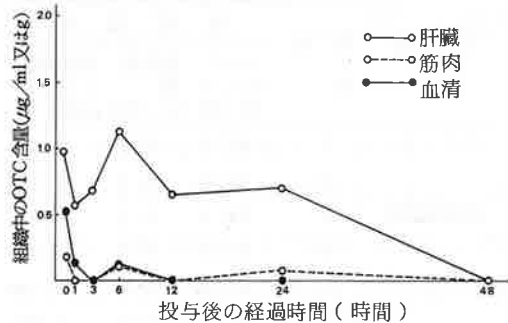


図4 50ppmのOTC濃度で80分間薬浴した後の魚体内OTC含量

ら異常を認めることができず、さらに血液の性状についても無投薬群との間に有意差を認めることができなかつた(表2)。従つて、本剤は経口投与法および薬浴法のいずれの方法においてもマダイに対して安全であると判断された。

吸収排泄試験 組織中OTC濃度は肝臓において最も高く、それに対して血清および筋肉中では概して低い値を示した(図1, 表3)。肝臓中のOTC濃度は投与後12時間後に1.72 μg/gのピーク値を示し、その後、徐々に低下したが48時間後でも0.69 μg/gのOTCが

検出された。血清中のOTC含量は6時間後に0.80 μg/mlのピーク値を示し、その後徐々に減少して48時間後には検出限界以下となつた。いっぽう、筋肉中のOTC濃度は6時間後に0.26 μg/gの値を示した後、12時間後まではほぼ一定濃度が維持され、その後若干の減少が認められたが48時間後にも0.15 μg/gのOTCが検出された。以上述べたことからOTCはマダイの各臓器に速やかに吸収され、しかも24時間後までは一定濃度を維持し、48時間後にはマダイ体内から減少することが明らかと

表4 マダイに50mg(カ価)/kg体重のOTCを連続7日間経口投与した後の魚体内OTC含量

投薬終了 後の 経過時間 (時間)	K社製 OTC 投与群				T社製 OTC 投与群			
	魚体 No.	血清* ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	肝臓* ($\mu\text{g}/\text{g}$)	筋肉 ($\mu\text{g}/\text{g}$)	魚体 No.	血清* ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	肝臓* ($\mu\text{g}/\text{g}$)	筋肉 ($\mu\text{g}/\text{g}$)
1	1(時間)	1.08	3.32	1.35	25	0.60	1.88	0.90
	2			2.00	26			1.03
	3			1.42	27			0.75
	平均値			1.59	平均値			0.89
3	4	0.78	1.95	1.08	28	0.82	2.64	1.25
	5			0.25	29			1.35
	6			1.20	30			1.10
	平均値			0.84	平均値			1.23
6	7	0.82	4.88	3.20	31	0.98	3.04	1.90
	8			0.37	32			1.45
	9			1.52	33			1.08
	平均値			1.70	平均値			1.48
24	10	0.68	3.72	1.50	34	0.90	3.04	2.15
	11			1.40	35			1.03
	12			1.03	36			0.73
	平均値			1.31	平均値			1.30
48	13	0.24	1.00	0.32	37	0.13	1.00	0.20
	14			1.00	38			0.47
	15			0.75	39			0.38
	平均値			0.69	平均値			0.35
72	16	0.13	1.96	0.45	40	0.08	0.17	0.36
	17			0.50	41			0.30
	18			0.27	42			0.25
	平均値			0.41	平均値			0.30
120	19	0.19	1.44	0.09	43	< 0.08	0.34	< 0.08
	20			< 0.08	44			0.11
	21			< 0.08**	45			< 0.08**
	平均値			0.06	平均値			0.06
168	22	< 0.08	< 0.16	< 0.08	46	< 0.08	0.26	< 0.08
	23			< 0.08	47			< 0.08
	24			< 0.08	48			< 0.08
	平均値			< 0.08	平均値			< 0.08

* 血清および肝臓は3尾分をプールにして定量

** 検出限界以下の値は検出限界値の1/2として平均値を求めた

なった。

残留性試験 経口投与法によりK社製OTC製剤をマダイに投与した結果、各組織中のOTC濃度は肝臓および筋肉では6時間後に各々4.88 $\mu\text{g}/\text{g}$ および1.70 $\mu\text{g}/\text{g}$ の、また血清では1時間後に1.08 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のピーク値を示し、その後筋肉および血清中のOTC値は徐々に低下し、168時間後には検出限界以下となった(図2、表4)。しかし、肝臓中のOTC含量は6時間後にピーク値を示した後、48時間後には1.00 $\mu\text{g}/\text{g}$ の値まで減少を示したものの、72時間後には再び1.96 $\mu\text{g}/\text{g}$ と増加を示した。しかし、その後再び減少を示し、168時間後には他の組織と同様に検出限界以下となった。

いっぽう、T社製OTC製剤をマダイに投与した結果、各組織中のOTC濃度はK社製投与群と同様に肝臓において最も高く、ついで筋肉、血清の順に高い値を示した(図3、表4)。肝臓中のOTC含量は6時間後に3.04 $\mu\text{g}/\text{g}$ のピーク値に達した後、12時間後まで同一濃度を維持したが、その後減少を示した。しかし、168時間後にも0.26 $\mu\text{g}/\text{g}$ のOTCが検出された。筋肉および血清中のOTC濃度は6時間後にピークに達し、その値は各々1.48 $\mu\text{g}/\text{g}$ および0.98 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。その後両組織中のOTCは徐々に減少を示し、血清中では120時間後に、また筋肉中では168時間後に検出限界以下となった。

以上述べた各OTC製剤のマダイでの吸排および残留パターンを比較すると、各検体数が3尾と少なかったこと、およびその3尾を複合試料として定量したことなどを考慮した場合、両製剤は同一な吸排および残留パターンを示すものと判断された。

薬浴法により試験した結果、肝臓中のOTC含量は6時間後に1.13 $\mu\text{g}/\text{g}$ のピーク値を示し、その後24時間後には0.71 $\mu\text{g}/\text{g}$ の値を

示した後、48時間後には検出限界以下となった。筋肉および血清中のOTC含量は肝臓中のOTC含量と比較して極めて低い値で推移し、ほとんど吸収されないとみなされた。なお、血清中では12時間以後に、また筋肉中では48時間以後に検出限界以下となった。

以上述べたことからOTCを薬浴法によりマダイ体内に吸収させることは極めて困難なことであると判断された。

表5 50ppmのOTC濃度で30分間薬浴した後
の魚体内OTC量

薬浴後の 経過時間 (時間)	魚体 No.	組織中のOTC濃度		
		血清* ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	肝臓* ($\mu\text{g}/\text{g}$)	筋肉 ($\mu\text{g}/\text{g}$)
0	1	0.54	0.99	0.14
	2			0.15
	3			0.27
	平均値			0.19
1	4	0.14	0.57	< 0.08
	5			< 0.08
	6			< 0.08
	平均値			< 0.08
3	7	< 0.08	0.69	< 0.08
	8			< 0.08
	9			< 0.08
	平均値			< 0.08
6	10	0.13	1.13	< 0.08**
	11			0.20
	12			0.15
	平均値			0.13
12	13	< 0.08	0.65	< 0.08
	14			0.18
	15			< 0.08
	平均値			0.09
24	16	< 0.08	0.71	< 0.08
	17			< 0.08
	18			< 0.08
	平均値			< 0.08
48	19	< 0.08	< 0.16	< 0.08
	20			< 0.08
	21			< 0.08
	平均値			< 0.08
72	22	< 0.08	< 0.16	< 0.08
	23			< 0.08
	24			< 0.08
	平均値			< 0.08

* 血清および肝臓は3尾分の複合試料として定量

** 検出限界以下の値は検出限界値の1/2として平均値を求めた。

要 約

1. マダイ0年魚に対するK社製OTC製剤の安全性・吸収排泄および残留性試験を、またT社製OTC製剤の残留性試験を行った。
2. 安全性試験は400mg/kg体重のOTCを経口的に7日間連続投与する方法、および400ppmの濃度に3時間浸漬する方法で検討したが、いずれの方法においても供試魚にはなんらの異常もみられず、マダイに対するOTCの安全性が確認された。
3. 吸収排泄試験は50mg/kg体重となるようにOTCを経口的に1回投与し、その後の組織内OTC濃度を測定する方法で検討した結果、OTCはマダイの各組織に速やかに吸収され、しかも24時間後まで高い濃度を維持し、48時間後にはマダイ体内から減少することを明らかにした。
4. 残留性試験は2社のOTC製剤を各々50mg/kg体重となるように連続7日間経口投与し、その後の魚体内OTC濃度を比較する方法で、また薬浴法では50ppmの濃度に30分間浸漬する方法により検討した。その結果、前者では両製剤がマダイ体内ではほぼ同一な吸収、排泄および残留パターンを示すことを明らかにした。また後者では薬浴法によりOTCをマダイ体内に吸収させることは極めて困難なことであることが分った。