

ミヤイリガイの殺貝剤に対する抵抗性に関する研究

(1) NaPCP に対するそれについて

小宮 義孝 安羅岡 一男
保阪 幸男 小川 清子

国立予防衛生研究所寄生虫部

(昭和 36 年 5 月 12 日受領)

NaPCP (Sodium pentachlorophenate) は現在最もすぐれた殺貝剤として、1954 年以来わが国のミヤイリガイ棲息地において使用されている。このような長期間にわたり連続的にこの薬剤が使用されるにおよんで、最近ミヤイリガイの薬剤に対する抵抗性の発現がようやく問題とされるようになった。

すなわち、岡部ら(1956)および太田ら(1956)は、ミヤイリガイが連続的に Na PCP に接触することによつてその抵抗性が高まることを報告して居り、一方、Gancarz (1958)および Walton *et al.* (1958) は抵抗性は決して高くならないと報告している。

筆者らは (1) 殺貝剤として数年間 NaPCP が撒布された地域のミヤイリガイにおいて、この薬剤に対する抵抗性が高くなっているかどうか、(2) 実験的連続的に NaPCP に感作された貝は、この薬剤に対し後天的に強い抵抗性を獲得するかどうか、(3) NaPCP に対して強い抵抗性を示す strain が存在するかどうか、(4) もし存在するならば、それに NaPCP を強く感作させることによつてさらにその抵抗性が増大するかどうか、などの諸点について検討した。

材料と方法

実験に供したミヤイリガイ：

山梨県甲府盆地の棲息地より採集したミヤイリガイで実験直前に清水中で活潑に運動するものを用いた。

使用した薬剤：

NaPCP (約 94 % Sodium-pentachlorophenate) はミヤイリガイ殺貝用として旭電化工業株式会社で製造されたものを用いた。溶液の調製にあつてはあらかじめ 0.1 g を 100 cc の蒸溜水に溶解せしめ、これを 2.0 ppm, 1.0 ppm, 0.5 ppm, 0.25 ppm, 0.125 ppm, 0.0625 ppm のごとく倍々稀釈にして用いた。

薬剤の作用方法：

直径約 12 cm のシャーレに 100 cc の薬液を入れ、これに 10 コの貝を入れて薬液表面直下まで木枠付ビニール網をかぶせ、貝が薬液上に出ることを防止した。第 1 項の試験を除いては、薬剤作用を全て 25°C の孵卵器内で行い、48 時間作用後に流水で水洗し、清水中にさらに 48 時間放置してその生死の判定を行った。

生死判定の方法：

清水中に移した貝は 24 時間後にその清水を交換し、明らかに死と認めうるものはとり除き、48 時間後に至り運動しているものを生と判定し、運動しないものは圧漬してその反応の有無により生または死と判定した。

なお LD₅₀, LD₉₀ の計算は Behrens または Fisher の方法によつて行つた。

各項目別の詳細な実験方法については成績の項でふれることにする。

成 績

1) NaPCP 撒布地と非撒布地のミヤイリガイの Na PCP に対する抵抗性

4 年間にわたり年間各 2 回 NaPCP を撒布した地域(山梨県八田村および白根町)より採集した貝と、この対照として NaPCP が全く撒布されなかつた地域(山梨県市川町および身延町)より採集した貝の 4 つのグループについて、同時に同様の条件のもとに各々に NaPCP の各種濃度を作用せしめその死亡率を比較した。その成績は Fig. 1 のようであり、同一濃度における貝の死亡率は NaPCP 非撒布地(市川, 身延)のそれに比し、撒布地(八田, 白根)のそれがやや低く現われている。いま各々の LD₅₀ を計算すると次のごとくである。

NaPCP 撒布地	八田村	0.30 ppm
"	白根町	0.32 "
NaPCP 非撒布地	市川町	0.23 "
"	身延町	0.25 "

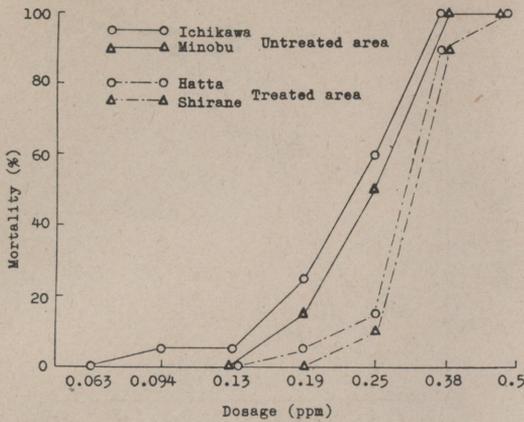


Fig. 1 Comparison of dosage-mortality curve of snails from treated and untreated areas

これらの成績より NaPCP 撒布地のミヤイリガイは、非撒布地の貝に比しやや高い抵抗性をもっているかのごとく見えるが、推計学的には両者間に有意差を認めることはできなかった。

ここで、たとえ有意差はないにせよ、上述のような地域による抵抗性の差が、あるいは棲息地の地理的諸条件に起因するのではなかろうかとの疑問の下に次のような実験を行った。この実験では同様に年間2回7年間にわたり NaPCP が撒布されている水田地帯の、山梨県竜岡町および白根町、そして草原地帯の玉幡町の3地域より同日に採集したミヤイリガイを使用し、同時に同様条件下で NaPCP の各種濃度を作用させてその死亡率を比較した。その成績は Fig. 2 のようであり、またその LD₅₀ は次のようであった。

- 白根地域.....0.20 ppm
- 竜岡地域.....0.32 ppm
- 玉幡地域.....0.28 ppm

これらの成績からして、3地域より採集したミヤイリガイの NaPCP に対する感受性には一見わずかな相違があるように見える。NaPCP が同様に撒布されている地域間で、このような差異が存在する事実は Fig 1 にみられる。NaPCP 撒布地と非撒布地の貝のこの薬剤に対する感受性のわずかな相違が、棲息地の地理的条件またはこれらの実験を行った方法における手技上の誤差に起因するものであろうことを示唆していると思われる。

2) ミヤイリガイは NaPCP に対し後天的に抵抗性を獲得するかどうかに関する実験。

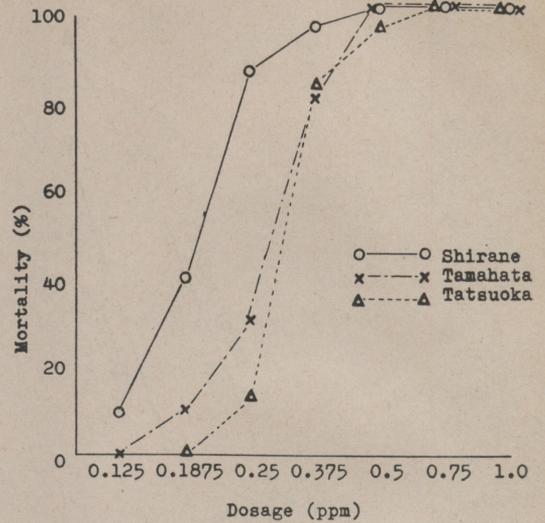


Fig. 2 Comparison of dosage-mortality curve of snails collected from three separate areas which have been treated with NaPCP for 7 years

あらかじめ NaPCP を作用させ、その LD₅₀ が 0.32 ppm であった貝を2つのグループに分け、その1つのグループを 0.0625 ppm (致死以下の薬量) の NaPCP に3週間毎に3回、各48時間作用せしめ、他の1つのグループは対照として同様に蒸留水に浸漬させた。そして両グループとも第4回目には NaPCP の各種濃度を作用せしめその薬量と死亡率の関係を見た。その成績は Fig. 3 のようであり、また各々の LD₅₀ を計算すると次のようであった。

- NaPCP を3回作用させたグループ.....0.463 ppm
- 対照グループ.....0.716 ppm

この成績をみれば低濃度の NaPCP を連続的に作用させられたミヤイリガイはその抵抗性を増大することなくむしろその感受性が高まる傾向が見られた。

3) 殺貝剤に対する高度の抵抗性をもった貝の strain が存在するかどうかについての実験。

同一棲息地より同時に採集したミヤイリガイを3つのグループに分け、その1つのグループにそれらの貝の LD₅₀ に相当する NaPCP を、他の1つのグループに同様 LD₅₀ に相当する濃度を作用せしめ、なお生存する貝をそれぞれ室内で飼育した。残りの1つのグループは対照として蒸留水のみ浸漬させた後同様に室内で飼育した。3週間後これらの各グループに NaPCP の各種濃度を

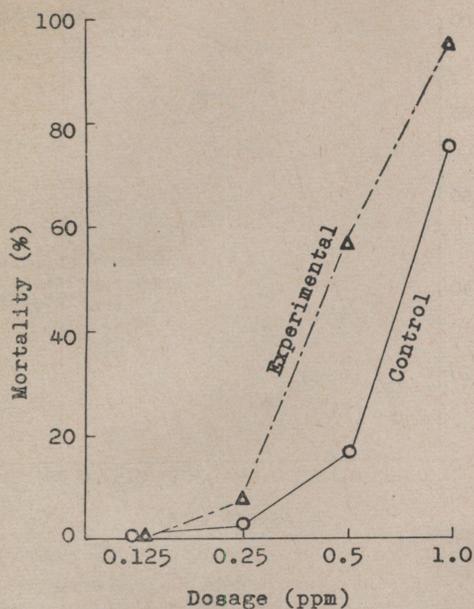


Fig. 3 Dosage-mortality curve of snails given sublethal dose of NaPCP three times on every third week

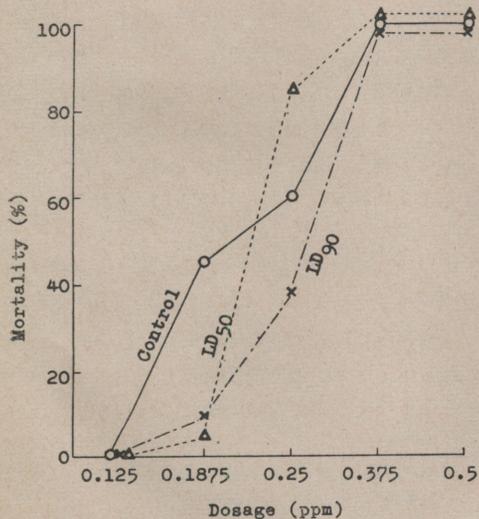


Fig. 4 Dosage-mortality curves of snails selected with LD₅₀ and LD₉₀ levels of NaPCP

作用せしめその薬量と死亡率の関係をみた。その成績は Fig. 4 のようであり、またこれらの LD₅₀ は次のようであった。

LD₅₀ 作用でなお生存したグループ……0.224 ppm

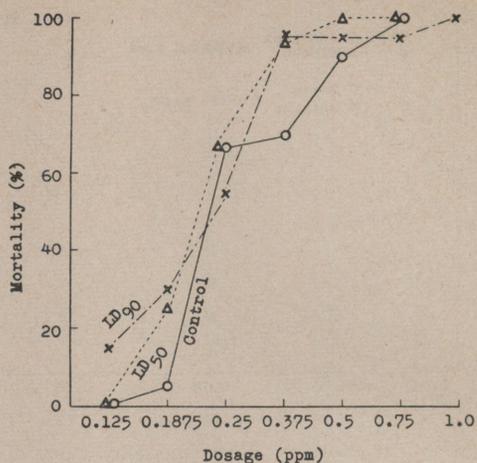


Fig. 5 Dosage-mortality curves of offspring of snails selected with LD₅₀ and LD₉₀ levels of NaPCP

LD₉₀ 作用でなお生存したグループ……0.243 ppm

対照グループ……0.216 ppm

すなわち前述のごとく3つに分けられた各グループの NaPCP に対する感受性において、各々の間に有意差を認めることはできなかった。

4) 高濃度 NaPCP 作用後生き残った貝の子孫の同剤に対する抵抗性は増大されているか否かについての実験前項と同様に NaPCP の LD₅₀ および LD₉₀ に相当する濃度を作用せしめ、なお生存する貝をそれぞれ同一条件下で飼育した。これらの貝より得た第1代の子孫が殻長 6.0 mm 以上に成長したとき、それぞれに各種濃度の NaPCP を作用せしめ、その死亡率を比較した。その成績は Fig. 5 のようであり、またこれらの LD₅₀ は次のようであった。

LD₅₀ により選択されたグループの第1代子孫

……0.23 ppm

LD₉₀ により選択されたグループの第1代子孫

……0.22 ppm

対照グループの第1代子孫……0.26 ppm

これらの成績もまた前項と同様に3つのグループの貝の NaPCP に対する感受性にはその各々の間にほとんど差がみられなかった。

論 議

ミヤイリガイの NaPCP に対する抵抗性に関し、すでに報告されているものについてみれば、岡部ら(1956)は

NaPCP を殺貝剤として使用した地域と、これを使用しない地域の貝にこの薬剤を作用せしめその LD_{50} を比較し、NaPCP 撒布地の貝の抵抗性は非撒布地のそれより高いと報告した。また太田ら (1956) は 2 週目毎に 1~6 時間づつ 順次高濃度 (10 万分の 1 より 1 万分の 1 まで) の NaPCP 溶液に連続的に作用させ、ミヤイリガイの NaPCP に対する抵抗性が高くなることを報告した。しかしその後 Gancarz (1958) は *O. hupensis* において太田らとほとんど同様な方法、すなわち、 LD_{50} 、 LD_{90} 、 LD_{70} および LD_{90} に相当する薬量を LD_{50} より順次 1 週または 1 カ月おきに作用させ、その対照貝と死亡率を比較し、その結果より薬剤を作用させたグループはその対照グループに比しその死亡率においてやや低い場合もあるが、その差は貝の抵抗性発現に起因するものではないだろうと報告した。また、Walton *et al.* (1958) も数年間にわたり NaPCP を撒布した地域と、撒布しない地域より採集したミヤイリガイにそれぞれ同一濃度の NaPCP 溶液を作用せしめ、その死亡率を比較し、その結果より数年にわたり NaPCP を撒布した地域の貝でもこの薬剤に対する抵抗性は決して高くなっていないと報告した。

以上のようにミヤイリガイの NaPCP に対する抵抗性に関しては、岡部らおよび太田らのように抵抗性が高くなることを認めたものと、Walton らおよび Gancarz のように抵抗性は高くないとする異なった 2 つの見解がある。

ここで筆者らの実験成績を総合してみれば、(1) 殺貝剤として NaPCP を数年間にわたり撒布した地域のミヤイリガイにおいてこの薬剤に対する抵抗性の増大は認められない。(2) 低濃度の NaPCP を作用させたミヤイリガイはむしろこの薬剤に対する感受性が高まるような傾向が認められる。(3) NaPCP に対し高度の抵抗性を持ったミヤイリガイの strain は存在しない。このことは上述のごとく高濃度の NaPCP 作用後残存せる貝の子孫が、同剤に対する高度の抵抗性を示していない事実によって明らかである。

これらのうち第 1 および第 2 項は Walton らおよび Gancarz の成績とほとんど一致していると考えてよいが岡部らの成績との間には大きな相違がみとめられる。このような相違の原因について考察するに、岡部らの実験では薬剤作用は plate method (McMullen, 1949) によって行われていること、また比較しようとする貝の 2 つのグループの試験がそれぞれ異なった年あるいは異なった

季節に行われていることなどが問題点としてあげられる。

まず薬剤作用方法についてみれば、筆者らの実験はこの種の水溶性殺貝剤の *in vitro* 効果判定に最も適していると思われる上述の直接浸漬法で行ったのであるが、岡部らの用いた、いわゆる plate method は、非水溶性殺貝剤の試験には適した方法であるが、NaPCP のような水溶性薬剤のそれにはかならずしも好適な方法とは考えられない (保阪, 1959)。次に試験に供したミヤイリガイの採集時期にも問題が有りうる。岡部らの試験では比較した 2 つのグループの貝は異なった季節に採集され、試験されているが、筆者らは比較試験に用いる貝はすべて同時期に採集し同時期に試験した。一方ミヤイリガイの殺貝剤に対する感受性には季節的な変動が認められるという報告 (津田, 1952) もあるので、岡部らの成績にはあるいはそのようなことも影響しているのではないかとと思われる。

なお筆者らの成績と太田らのそれが異なる理由については不明である。

要 約

NaPCP に対するミヤイリガイの抵抗性について実験的に検討し、次のような結果を得た。

(1) 殺貝剤として NaPCP が撒布された地域のミヤイリガイのこの薬剤に対する抵抗性は高くないことを認めた。

(2) ミヤイリガイは NaPCP に対し後天的に高度の抵抗性を獲得することはなく、低濃度のこの薬剤を作用させた貝はむしろそれに対する感受性が高まる傾向が認められる。

(3) NaPCP に対し高度の抵抗性をもったミヤイリガイの strain が存在するとは認められない。

文 献

- 1) Gancarz, Z. (1958): Studies on schistosomiasis III. Resistance of *Oncomelania* snails to sodium pentachlorophenate. *Chinese Med. J.*, 77, 236-243.
- 2) Komiya, Y., Hosaka, Y. & Yasuraoka, K. (1961): Study on the standardized technic for testing quantitatively the susceptibility of *Oncomelania* snail to sodium pentachlorophenate, *Jap. J. Med. Sci. & Biol.*, (in press)
- 3) 保阪幸男 (1959): ミヤイリガイ殺貝剤の実験室内効果判定法の検討 (1). *寄生虫学雑誌*, 8(1), 102-107.
- 4) 保阪幸男 (1959): ミヤイリガイ殺貝剤の実験室

- 内効果判定法の検討(2). 寄生虫学雑誌, 8(6), 935-942.
- 5) 岡部浩洋・岡原哲爾・小野典雄(1956): 宮入貝の PCP-Na に対する耐性, 日本住血吸虫症の予防に関する研究, 第XII報. 久留米医学雑誌, 19(10), 1609-1613.
- 6) 太田秀浄・佐藤重房(1956): 宮入貝の薬剤に対する耐性について. 北関東医学, 6(4), 287-291.
- 7) 津田栄造(1952): 日本住血吸虫中間宿主宮入貝の撲滅に関する研究(三), 宮入貝の薬剤に対する抵抗性と季節との関係. 東京医事新誌, 69(1), 48-49.
- 8) Walton, B. C., Winn, M. M. & Williams, J. E. (1958): Development of resistance to molluscicides in *Oncomelania nosophora*, Amer. J. Trop. Med. Hyg., 7, 618-619.

THE RESISTANCE OF ONCOMELANIA SNAIL TO MOLLUSCICIDES I. SODIUM PENTACHLOROPHENATE

YOSHITAKA KOMIYA, KAZUO YASURAOKA, YUKIO HOSAKA
&
KIYOKO OGAWA

(Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo)

An experimental study on the resistance of *Oncomelania nosophora* to sodium pentachlorophenate has been made and the following conclusions reached:

- 1) No PCP-resistance has been developed in the treated snail population.
- 2) No snails acquire resistance to NaPCP during their life time; exposure to small amounts of NaPCP appears rather to make them more susceptible.
- 3) No snail-strain of higher resistance to NaPCP was found.
- 4) No resistance develops with higher selection pressure of NaPCP.