養殖ハマチの連鎖球菌症に対するニフルスチレン酸

ナトリウムの化学療法的研究—I.

連鎖球菌症原因菌に対する試験管内作用

柏木 哲*・杉本 昇*・渡辺 和子*・大田 外之*・楠田 理一**

(昭和 52 年 2 月 5 日受理)

Chemotherapeutical Studies on Sodium Nifurstyrenate against *Streptococcus* Infection in Cultured Yellowtail-I.

In vitro Studies on Sensitivity and Bactericidal Effect

Satoshi KASHIWAGI*, Noboru SUGIMOTO*, Kazuko WATANABE*,
Sotoyuki OHTA* and Riichi KUSUDA**

*Research Lab., Ueno Pharmaceutical Co., Ltd. Higashiarioka, Itami-shi, Hyogo, Japan

**Dept. Fish., Fac. Agric., Kochi University, Nangoku-shi, Kochi, Japan

(Received February 5, 1977)

The antibacterial and bactericidal activity of sodium nifurstyrenate (NFS-Na) and three therapeutic drugs were studied with *Streptococcus* sp.

The minimum inhibitory concentration (MIC) against *Streptococcus* sp. was 0.15 to 0.62 mcg/ml for NFS-Na, 0.31 to 0.62 mcg/ml for aminobenzylpenicillin, 1.2 to 2.5 mcg/ml for chloramphenicol, and 0.075 to 0.15 mcg/ml for tetracycline, respectively.

The bactericidal effect against *Streptococcus* sp. was observed at 5 mcg/ml of NFS-Na for 8 hrs and at 5 mcg/ml of ampicillin for 24 hrs, whereas chloramphenicol and tetracycline revealed no bactericidal effect at 10 mcg/ml for 24 hrs.

養殖ハマチの連鎖球菌症は 1974 年に四国および九州で発生したが、その後は全国的にまんえんし、ハマチ養殖に多大の被害を与えている。

本病の原因菌は *Streptococcus faecaris* および *Streptococcus faecium* に近縁の新しい細菌であることが報告されている(楠田ら, 1976)。本病に関する報告は原因菌や薬剤感受性に関するものが多く(楠田ら, 1974 および 1975, 北尾ら, 1975, 青木ら, 1975), 防除対策についての研究はみられない。

著者らは本病に対するニフルスチレン酸ナトリウムの化学療法的研究の一環として試験管内作用を検討したので報告する。

材 料 と 方 法

1. 試験管内抗菌力

供試薬剤: ニフルスチレン酸ナトリウム(以下 NFS-Na と略記する), ならびに対照としてアンピシリン(AB-PC), クロラムフェニコール(CP), テトラサイクリン(TC)の4薬剤をもちいた。なお, NFS-Na の化学構造は図1に示すとおりである。

供試菌株: 1974 年から 1976 年にかけて, 四国および九州各地の養殖ハマチ病魚から分離された *Streptococcus* sp. 20 株を供試した。供試菌株の性状はいずれも楠田ら(楠田ら, 1975)の記載と一致した。表1にその由来を示す。

薬剤感受性の測定: 感受性ディスク用培地(栄研)をもちい, 平板希釈法により測定した。被検菌のブレインハートインフュージョン(BHI)ブイヨン(栄研)18時

* 上野製薬株式会社研究所

** 高知大学農学部栽培漁業学科

Sodium salt of 5-nitro-(2-p-carboxystyryl)furan

図 1. NFS-Na の構造式

Fig. 1. The structure of NFS-Na.

表 1. 供試菌株の由来

Table 1. Sources of *Streptococcus* sp. isolated from cultured yellowtails

Strain	Date	Source	Organ
ST-1	September 1974	Kagoshima	Kidney
K-1	October 1974	Kagoshima	Kidney
SK-3	August 1974	Kochi	Kidney
Sg-1	November 1974	Kagoshima	Heart
T-2	July 1975	Tokushima	Gill Cover
MY	August 1975	Miyazaki	Kidney
MS	August 1975	Miyazaki	Kidney
M-1	August 1975	Ehime	Heart
M-2	August 1975	Ehime	Heart
A-1	September 1975	Kagoshima	Kidney
A-2	September 1975	Kagoshima	Kidney
KH-1	September 1975	Kagoshima	Heart
KH-2	September 1975	Kagoshima	Heart
N	October 1975	Kagoshima	Kidney
W	October 1975	Kagoshima	Kidney
T	June 1976	Kochi	Kidney
G	September 1976	Nagasaki	Kidney
SS-1	September 1976	Kagoshima	Heart
SS-2	September 1976	Kagoshima	Heart
SS-3	September 1976	Kagoshima	Heart

間培養液を生理的食塩水で 100 倍に希釈し、その 1 白金耳を薬剤含有平板に接種して、30°C で 24 時間培養後の最小発育阻止濃度を求めた。

2. 殺菌作用の検討

供試薬剤： 抗菌力試験と同一の 4 薬剤を使用した。

供試菌株： 試験管内抗菌力試験にもちいた菌株のうちから、W 株と T 株を選んで使用した。

殺菌力の測定： BHI ブイヨン 295 ml に濃度を調整した薬剤溶液 4 ml を加え、10, 5, 1 mcg/ml 溶液をつくった。そして、BHI ブイヨンで 30°C 18 時間培養した供試菌を 100 倍に希釈して、各薬剤溶液に 1 ml ずつ加えた。培養は 30°C で行い、定量培養法により一定時間ごとの培養液の生菌数を求めた。

結 果

抗菌力： 結果は表 2 に示すとおりである。各地のハ

表 2. *Streptococcus* sp. に対する NFS-Na の最小発育阻止濃度Table 2. Minimal inhibitory concentration of NFS-Na against *Streptococcus* sp. in vitro (30°C, 24 hr)

Strain	MIC (mcg/ml)			
	NFS-Na	AB-PC	CP	TC
ST-1	0.62	0.62	1.2	0.15
K-1	0.62	0.62	1.2	0.15
SK-3	0.31	0.62	1.2	0.075
Sg-1	0.62	0.62	1.2	0.15
T-2	0.31	0.62	1.2	0.075
MY	0.31	0.62	1.2	0.075
MS	0.31	0.62	1.2	0.075
M-1	0.31	0.62	1.2	0.15
M-2	0.15	0.31	1.2	0.075
A-1	0.31	0.62	1.2	0.075
A-2	0.31	0.62	1.2	0.075
KH-1	0.15	0.31	1.2	0.075
KH-2	0.15	0.31	1.2	0.075
N	0.31	0.62	1.2	0.15
W	0.31	0.62	2.5	0.15
T	0.31	0.62	1.2	0.075
G	0.62	0.62	2.5	0.15
SS-1	0.62	0.62	2.5	0.15
SS-2	0.62	0.62	2.5	0.15
SS-3	0.62	0.62	2.5	0.15

マチ病魚から分離した連鎖球菌症原因菌 *Streptococcus* sp. に対する NFS-Na の MIC は、0.15 mcg/ml から 0.62 mcg/ml であった。これらに対して、対照薬の MIC は AB-PC が 0.31 mcg/ml から 0.62 mcg/ml, CP が 1.2 mcg/ml から 2.4 mcg/ml, TC が 0.075 mcg/ml から 0.15 mcg/ml であった。

殺菌力： 結果は図 2 と図 3 に示すとおりである。菌数の減少曲線は薬剤により異なるが、菌株による差異はほとんど認められなかった。NFS-Na は 5 mcg/ml 以上の濃度において、8 時間から 24 時間にかけて菌数が初発菌数の $1/10^3$ 以下になった。これに対して、対照薬のうち AB-PC は 5 mcg/ml 以上の濃度において、24 時間後の菌数が初発菌数の $1/10^3$ 以下となった。また、CP および TC は 10 mcg/ml の濃度においても、24 時間後の菌数は初発菌数と変らなかった。

考 察

養殖ハマチの連鎖球菌症原因菌 *Streptococcus* sp. に対する NFS-Na の抗菌力は対照の薬剤のうち AB-PC とは同等か 2 倍、CP とは 2 倍から 4 倍となり、両薬剤

図 2 *Streptococcus sp. T* 株に対する NFS-Na, AB-PC, CP および TC の殺菌作用

Fig. 2. Bactericidal effect of NFS-Na, AB-PC, CP and TC on *Streptococcus sp. T* strain. These chemotherapeutic agents were dissolved in BHI bouillon. The *Streptococcus sp. T* strain was inoculated in this BHI bouillon at 30°C. — control, ---- 1 mcg/ml, - - - 5 mcg/ml, 10 mcg/ml.

図 3 *Streptococcus sp. W* 株に対する NFS-Na, AB-PC, CP および TC の殺菌作用

Fig. 3. Bactericidal effect of NFS-Na, AB-PC, CP and TC on *Streptococcus sp. W* strain. These chemotherapeutic agents were dissolved in BHI bouillon. The *Streptococcus sp. W* strain was inoculated in this BHI bouillon at 30°C. — control, ---- 1 mcg/ml, - - - 5 mcg/ml, 10 mcg/ml.

よりも優れている。しかし、TC に対しては $1/2$ から $1/4$ と劣っている。対照薬剤の抗菌剤については青木ら (1976) の記載があるが、TC に多少の違いがあるほかはよく一致している。一方、NFS-Na の殺菌力はどちらの供試菌株に対しても、供試 4 薬剤のなかで最もすぐれている。対照薬の AB-PC と比較すると NFS-Na が 5 mcg/ml で 8 時間後に $1/10^3$ 以下の菌数になるのに対して、AB-PC は同濃度で 24 時間後に菌数が $1/10^3$ になり、殺菌に要する時間に差異が認められる。これらに対して、CP と TC は静菌作用を示すに過ぎない。したがって、NFS-Na は *Streptococcus sp.* に対する抗菌力および殺菌力の面から、対照薬剤よりも、すぐれた作用をもつものと考えられる。

著者らは *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas anguilliseptica*, *Vibrio anguillarum*, *Pasteurella*

piscicida に対しても、NFS-Na は 5 mcg/ml で 3 時間以内に初発菌数の $1/10^3$ 以下になることを確認している。本試験に供試した *Streptococcus sp.* の両菌株は同条件で殺菌に 8 時間を要しており、薬剤に対する抵抗性が強い菌株であると考えられる。これらの結果が、すべての連鎖球菌症原因菌に適合するかどうかは不明であるが、薬剤に対する本菌の抵抗性は強いものと推察される。

野外における投薬効果は種々の要因により左右されるので、抗菌力ならびに殺菌力をもってその効果を推定することには無理がある。しかし、基礎的評価に抗菌力、殺菌力は欠かせないものであり、この点から NFS-Na は連鎖球菌症に充分使用できる可能性があると考えられる。

要 約

養殖ハマチの連鎖球菌症原因菌 *Streptococcus* sp. に対する NFS-Na の抗菌力および殺菌力を検討し次の結果を得た。

1. NFS-Na の *Streptococcus* sp. に対する MIC は 0.15 mcg/ml から 0.62 mcg/ml であった。また, 5 mcg/ml 以上の濃度で殺菌作用が認められた。

2. これに対して, 対照薬剤の AB-PC, CP, TC の MIC はそれぞれ 0.31 mcg/ml から 0.62 mcg/ml, 1.2 mcg/ml から 2.5 mcg/ml, 0.075 mcg/ml から 0.15 mcg/ml であった。また, AB-PC は 5 mcg/ml 以上の濃度で殺菌作用が認められたが, CP および TC は 10 mcg/ml の濃度でも, 殺菌作用が認められなかった。

文 献

青木 宙・北尾忠利 (1976): ハマチ連鎖球菌感染症

より分離された *Streptococcus* D 群の薬剤感受性について, 日本細菌学雑誌, 31 (1), 225.

北尾忠利・木村正雄・安田公昭・森 真郎・上田忠男・岩田一夫: ハマチ・レンサ球菌感染症原因菌の分類学的考察について。昭和 50 年度日本水産学会春季大会講演要旨, P. 57.

楠田理一・川合研児・豊嶋利雄・小松 巧: 養殖ハマチから分離された *Streptococcus* 属の新魚病細菌について。日水誌, 42 (12), 1345-1352.

楠田理一・川合研児・豊嶋利雄: 養殖ハマチの細菌性眼球突出症 (仮称) に関する研究-I. 病原菌の性状について。昭和 49 年度日本水産学会秋季大会講演要旨, P. 7.

楠田理一・小松 巧・豊嶋利雄: 魚類の病原性連鎖球菌に関する研究-I. 各種病魚から分離された *Streptococcus* 属細菌の同定。昭和 50 年度日本水産学会春季大会講演要旨, P. 56.