エリスロマイシンのすべて ——ブリ連鎖球菌症への応用に関する研究——

片 江 宏 巳*

Erythromycin — The Application to Streptococcal Infections in Yellowtails —

Hiromi KATAE

Dainippon Pharmaceutical Co. Ltd., Research Laboratories

Application of erythromycin (EM) to spontaneous streptococcal infections in cultured yellowtails, *Seriola quinqueradiata*, were reviewed.

In vitro, EM was active against a wide range of bacteria pathogenic for fish. Stock strains and fresh field isolates of *Streptococcus* sp. were susceptible to EM whose MIC values varied from 0.05 to 0.2 $\mu\text{g/ml}$. There were no resistant streptococcal strains so far tested. The MIC of EM was slightly affected by inoculum size and medium pH.

In vivo, orally administered EM was effective against experimental infections with *Streptococcus* sp. in yellowtails. It was easily absorbed by oral administration and distributed to blood and tissues including brain within 1 h after administration. Peak levels were usually attained 1 to 3 h post-administration. Acute toxicity of EM was low in yellowtails, its LD_{50} value being more than 2,000 mg/kg. Abnormality possibly caused by EM was not found in yellowtails receiving the repeated doses of the drug at a dose of 100 mg/kg/day for 10 days.

In the clinical studies, EM was effective against streptococcal infections in cultured yellowtails at doses of 25–50 mg/kg/day for 4–7 days.

エリスロマイシン (Erythromycin; 以下 EM と略記) は, *Streptomyces erythreus* の産生する抗生物質として 1952 年 MCGUIRE らにより発見されたマクロライド系抗生物質である。EM の構造式は図 1 に示す通り, 1 分子の erythronolide, 1 分子の desosamine および 1 分子の cladinose より成る塩基性物質で, 水に溶け難く, 有機溶媒に可溶であり, かつ容易に塩, エステルを形成する。EM は抗微生物スペクトルが広く, グラム陽性菌, 一部のグラム陰性菌, マイコプラズマ, トレポネーマ, リケッチア, クラミジア, 赤痢アメーバ等に作用する (清水, 1980)。また, 経口投与により体内によく吸収され, 組織移行性は良好であり, 各種動物に対する毒性は急性, 慢性ともに弱く種差はほとんど認められない (ANDERSON *et al.*, 1952)。EM はヒト, 家畜および家禽の細菌感染症に対する化学療剤として現在広く用いられている。EM の魚病領域への応用研究は

アメリカでは 1959 年にサケ科魚類の細菌性腎臓病を対象に行われ, 経口投与により有効であったと報告されているが (WOLF *et al.*, 1959), わが国ではこれまでほとんど検討されていなかった。一方, 1974 年わが国で養殖中のブリに連鎖球菌による感染症が発生し (楠田ら, 1976), 大きな被害をもたらして以来, 本症は各地の養殖ブリに多発し, その対策が必要となってきた。青木ら (1976) は本症の起因菌である連鎖球菌が EM に対して高い感受性を示すことを報告した。その後の研究において, EM は連鎖球菌に対して強い抗菌力を有すると共に病魚由来の各種グラム陰性菌に対しても広い抗菌スペクトルを示すこと, ブリを用いた実験的連鎖球菌症に対して経口投与で有効性が認められ, 安全性が高いこと (楠田ら**, 1979), 経口投与により魚体内に薬剤が蓄積しないこと (片江ら, 1980), 野外試験においてブリ連鎖球菌症にすぐれた治療効果を示すこと (塩満ら,

* 大日本製薬株式会社総合研究所

** 昭和 54 年度日本水産学会春季大会口頭発表

分子式および分子量

 $C_{37}H_{67}NO_{13} : 733.94$

図 1. エリスロマイシン塩基の構造式

1980), などが明らかにされ, EM のブリ連鎖球菌症に対する治療剤としての有用性が明らかにされるに至った。

本報告は最近わが国でブリ連鎖球菌症の治療薬として新たに承認された(昭和56年5月11日付, 商品名; ピマリン) EM の化学療法剤としてのプロフィールを記述したものである。

1. 各種魚病菌に対する EM の抗菌作用

抗菌スペクトル: EM の魚病菌に対する抗菌スペクトルを表1に示す。EM は連鎖球菌およびノカルディア・カンパチ等のグラム陽性菌に対する抗菌力が特にすぐれており, その最小発育阻止濃度(MIC)は0.05~0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。また, グラム陰性の各種魚病菌に対して

表 1. 魚病菌に対する抗菌スペクトル

Organism	MIC*: $\mu\text{g}/\text{ml}$
	EM
<i>Streptococcus</i> sp. KG-1	0.1
<i>Streptococcus</i> sp. KG-2	0.1
<i>Streptococcus</i> sp. YT-3	0.1
<i>Aeromonas hydrophila</i> 6721	3.13
<i>Aeromonas hydrophila</i> G-T-3	1.56
<i>Aeromonas hydrophila</i> Y62	12.5
<i>Aeromonas salmonicida</i> H-2	3.13
<i>Aeromonas salmonicida</i> Ka	3.13
<i>Aeromonas salmonicida</i> Ku	1.56
<i>Vibrio anguillarum</i> A-8	12.5
<i>Vibrio anguillarum</i> K-3	25
<i>Vibrio anguillarum</i> Km-30	12.5
<i>Edwardsiella tarda</i> 1	25
<i>Edwardsiella tarda</i> BL-1	12.5
<i>Pasteurella piscicida</i> AI-3	3.13
<i>Pasteurella piscicida</i> K-1	1.56
<i>Pasteurella piscicida</i> KO-1	3.13
<i>Pseudomonas anguilliseptica</i> S-1	3.13
<i>Pseudomonas anguilliseptica</i> T-2	6.25
<i>Flexibacter columnaris</i> K-1**	0.39
<i>Flexibacter columnaris</i> K-2**	0.39
<i>Nocardia kampfachi</i> N-3**	0.05
<i>Nocardia kampfachi</i> N-5**	0.05
<i>Nocardia kampfachi</i> S-1**	0.05

* By the agar-dilution method.

** By the broth-dilution method.

も 0.39~25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の MIC を示し, 抗菌スペクトルはかなり広い。

抗菌力におよぼす諸因子の影響: ブリ連鎖球菌症の起

図 2. 抗菌力におよぼす諸因子の影響

表 2. 供試菌 *Streptococcus* sp. の由来

県 名	1974	1975	1976	1977	1978	1979	1980	1981年	計
静 岡		1							1
三 重		1	1						2
和歌山		4				16			20
兵 庫		2							2
広 島		1		2					3
山 口						4			4
愛 媛	1	1			2				4
徳 島		4							4
高 知	2		1	3	5	2	5		18
長 崎		2	4	2		1			9
大 分		1							1
熊 本		2			7				9
宮 崎	1	3						20	24
鹿児島		4						8	12
計	4	26	6	7	14	23	5	28	113

因菌である *Streptococcus* sp. KG-1 および YT-3 を用いて検討した成績を図 2 に示す。EM の抗菌力は培地の pH がアルカリ側で強まり、酸性側で弱まる傾向がみられたが、馬血清、胆汁酸の添加および接種菌量による影響はわずかであった (楠田ら*, 1979)。

野外分離株の感受性: 1974 年から 1981 年に各地の養殖ブリから分離された連鎖球菌 113 株 (表 2) の EM に対する感受性を表 3 に示す。野外分離株はいずれも EM に高い感受性を示し、その MIC 値は 0.05~0.2 $\mu\text{g/ml}$ であった。また、分離年度による感受性の変化はほとんど認められなかった。

2. ブリの実験的連鎖球菌症に対する in vivo 効果

Streptococcus sp. SK-16 を感染菌として、ブリ (体重 80~130 g) の背部筋肉内に大量 (1.2×10^7 個) 接種することによりほとんどのブリは菌接種後 72 時間以内に眼球の突出や白濁、鰓蓋内側の出血、尾鰭や胸鰭基部の発赤を起し、連鎖球菌症の症状を呈する (楠田, 1980)。また、*Streptococcus* sp. SK-16 を同じくブリ (体重 38 g) の背部筋肉内に少量 (1.15×10^4 個) 接種すると菌は接種部位で増殖する (楠田, 1980)。これらの実験的感染モデルを用いて EM の経口投与による in vivo 効果の検討成績が、魚体内生菌数の消長ならびに bioautography により調べられ報告されている。

(1) 魚体内生菌数の消長

EM 6.25 mg/kg を 1 日 1 回 5 日間連続投与することにより肝、腎、脾、腸管および血液中の生菌数は経時的

* 昭和 54 年度日本水産学会春季大会口頭発表

表 3. *Streptococcus* sp. 野外分離株の感受性

Date of isolation	No. of strain	MIC: $\mu\text{g/ml}$							
		0	05	0	1	0	2	0	39
1974	4				3		1		
1975	26				19		7		
1976	6				2		4		
1977	7		1		5		1		
1978	14		9		5				
1979	23		13		10				
1980	5				5				
1981	28				28				
1974-81	113		23		77		13		

に減少し、感染対照の魚群と異なり、発症魚は認められず有効であった (図 3)。

(2) Bioautography

菌接種 1 時間後に EM 6.25 mg/kg 以上を 1 回投与することにより感染菌の増殖は阻止され、有効性が認められた (表 4)。

3. ブリにおける吸収、分布および排泄

ブリにおける EM の生体内動態に関する報告 (片江ら, 1980) によると、EM は混餌投与により速やかに吸収され、臓器および組織に広く分布する (図 4)。EM 投与後の血液および各組織中濃度は 1 ないし 3 時間で最高値となり、肝、腎および脾は血液の約 4 倍の値を示すが、筋肉は血液とほぼ同程度であった。また、各組織中の EM 濃度は時間の経過と共に低下するが、投与後 24 時間においても連鎖球菌に対する MIC 値 (0.05~0.2

図 3. *Streptococcus* sp. SK-16 感染ブリに対する効果

表 4. *Streptococcus* sp. SK-16 感染ブリに対する効果—Bioautographic method—

Dose (mg/kg)	No. fish tested	Inhibition of bacterial growth	Efficacy
12 5	3	3*	+
6 25	3	3	+
3.13	3	1	—
1 56	3	0	—
Untreated control	3	0	—

* Number of fish with unstained or less stained sections.

μg/ml) 以上の濃度を持続していた。

脳への移行性：鹿児島県 M 養殖場において養殖中のブリに EM 25 mg/kg/日を1日1回，5日間混餌投与を行い，脳への移行性が検討された（塩満ら^{*}，1981）。図5に示すごとく，EM投与1および3時間後には脳への移行が認められ，その濃度は連鎖球菌に対するMICを上まわる値であった。また，投与期間が長くなるにつれて脳中濃度もわずかず上昇する傾向がみられた。

* 未発表

図 4. ブリにおける血液および組織中濃度の推移

図 5. エリスロマイシン連続投与によるブリの血液、肝および脳中濃度

4. ブリに対する安全性

EM の経口投与による急性毒性は 2,000 mg/kg 以上と報告されているが、経口投与後 1 時間以内に一部の個体に吐戻しが観察されている (楠田ら*, 1979)。

EM を 1 日 1 回、10 日間混餌投与を行った成績によると、EM 100 mg/kg/日 投与群では全く異常が認められなかった。EM 200 mg/kg/日 投与群では薬物による

と考えられる斃死魚は認められなかったが投与 5 日目より摂餌量の減少が認められた (表 5)。しかしながら、10 日間の投与を終了後、翌日より EM を含まれない餌料を与えることにより 3 日目には通常の摂餌量に回復する (図 6)。また、投与終了後の肝、腎、脾、心、鰓および胃における病理組織学的観察では EM によると考えられる異常は認められなかった (窪田ら**, 1980)。

* 昭和 55 年度日本水産学会春季大会口頭発表

** 未発表

5. ブリにおける残留性

EMの残留試験は飼育形態の異なる2カ所で行われているが、いずれも混餌により1日1回、50 mg/kg/日を

図 6. ブリに対する安全性—ブリの摂餌量におよぼす影響—

10日間連続投与した成績である。これらの試験は給与餌料、給餌率、魚体重および水温などもわずかず異なっていたが、得られた成績は近似したものであった(図7)。EMは経口投与により速やかに魚体内に吸収され、各組織中のEM濃度は投与後1ないし3時間で最高値に達した。また、肝、腎および脾はいずれも血液よりも高いEM濃度を示し、1回投与における魚体内分布のパターンと類似した結果が得られたことから、EMは連続投与を行っても特定の臓器または組織に蓄積されることなく、魚体から排泄されるものと考えられる。EMの生物学的半減期は各組織により異なるが、短い順に並べると血液、筋肉、肝、脾そして腎となり、最も半減期の長い腎では約15時間であったが、投与後168時間目には定量限界以下となった。胆汁中濃度は臓器および組織に比べ著しく高い濃度に達し、最高濃度は肝の約10倍の値を示したが、その後徐々に低下し144時間後には定量限界以下となった(図8)。

図 7. ブリにおけるエリスロマイシンの残留性

表 5. プリに対する安全性

Dose (mg/kg)	Experimental period (day)										Mortality (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
200	100*	100	100	99	99	99	99	99	99	99	10
100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0
50	100	100	100	100	100	98	98	98	98	98	2.0
Control	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0

*: No. of survivals.

—: Significant decrease in feed-intake was observed.

Water temp.: 26.8–29.4°C.

6. 養殖プリの連鎖球菌症に対する野外治療効果

野外治療試験としては高知県および鹿児島県で養殖中のプリを対象として行った塩満ら (1980) の報告がある。彼等の報告によると、EM は連鎖球菌症の発症がみられた魚群に対して 25~50 mg/kg/日、4~7 日間の混餌投与により、本症による死亡を抑制し、病魚の治療に有効

であった (図 9~12)。また、EM 投薬中および休薬後の観察において何ら副作用は認められていない。

7. 製 品

エリスロマイシン製剤として、現在、水産用ピマリンが市販されている。

(1) 主成分含有量

本品 1 g 中に日局エリスロマイシン 100 mg (力価) を含有する、いわゆる 10% 散剤である。

(2) 用法・用量

魚体重 1 kg あたり 1 日量として本剤 0.25~0.5 g [エリスロマイシンとして 25~50 mg (力価)] を配合飼料等に混合した後、餌料に均一に混ぜて 5 日間投与する。

(3) 使用上の注意

- ・本剤投与後 30 日間は食用に供する目的で水あげ等

図 8. 網生質飼育のプリにおける胆汁中濃度の推移

図 9. 野外治療試験 (1 年魚)

図 10. 野外治療試験 (1 年魚)

をおこなわないこと。

- ・本剤は定められた用法・用量を厳守すること。
- ・本剤は5日を越える連続投与をきけること。
- ・本剤は適応症に記載された水産動物の疾病に使用すること。
- ・水産試験場などの指導機関の指導を受けて使用する

こと。

- ・使用に際して、ゴム手袋、マスク等を着用すること。

総括および結論

EMはブリ連鎖球菌症の原因菌に対して特にすぐれた抗菌力を有しているが、その他の魚病菌に対する抗菌スペクトルもかなり広い。また、連鎖球菌に対するEMの抗菌力は培地のpHがアルカリ側で強まり、酸性側で弱まる傾向が観察されているが、馬血清、胆汁酸の添加および接種菌量による影響はわずかである。1974年から現在までに各地の養殖ブリから分離された野外分離株はいずれも高い感受性を示し、耐性株は認められていない。また、分離年度による薬剤感受性の変化はほとんどみられない。

In vivo 試験では、ブリの実験的連鎖球菌感染モデルを用いた薬効試験により、EMは全身感染症および局所感染症のいずれに対しても有効性が認められている。ブリにおけるEMの生体内動態は哺乳動物で得られている成績とはやや異なっており、各組織中のEM濃度が哺乳動物に比べ持続的であること、脳への移行が良好であること、などが主な相違点と考えられる。EMのブリに対する安全性は高く、連続投与を行っても特定の臓器または組織に蓄積する傾向は認められない。EMは肝排泄型の薬剤であると考えられ、ピーク時の胆汁中濃度は

図 11. 野外治療試験 (2 年魚)

図 12. 野外治療試験 (2 年魚)

肝の約 10 倍に達するが、その後の消失は比較的速やかであり、腎および脾より短時間で定量限界以下となる。

EM による連鎖球菌症の治療に関する報告では、いずれも 25~60 mg/kg/日、5 日間前後の投薬により有効であり、治療後の再発が認められないのが特徴である。

文 献

- 青木 宙・北尾忠利 (1976): ハマチ連鎖球菌症より分離された *Streptococcus D* 株の薬剤感受性について。日本細菌学雑誌, 31, 225.
- ANDERSON, R. C., P. N. HARRIS and K. K. CHEN (1952): The toxicity and distribution of "Flo-tycin". *J. Amer. Pharm. Sci.*, 41, 555-559.
- 片江宏巳・河野 薫・清水当尚・楠田理一・谷口道子・塩満徳夫・長谷川仁 (1980): エリスロマイシンに関する魚病化学療法的研究—I. 養殖ハマチにおける吸収、分布、排泄および残留性。魚病研究, 15(1), 7-16.
- 楠田理一・川合研児・豊崎利雄・小松 功 (1976):

- 養殖ハマチから分離された *Streptococcus* 属の新魚病菌について。日本水産学会誌, 42, 1345-1352.
- 楠田理一 (1980): 養殖ハマチ連鎖球菌症の感染機構および防御機構に関する研究。昭和 54 年度魚病対策技術開発研究委託研究報告書, 社団法人日本水産資源保護協会。
- McGURK, J. M., R. L. BUNCH, R. C. ANDERSON, H. E. BOAZ, E. H. FLYNN, H. M. POWELL and J. W. SMITH (1952): "Flo-tycin", a new antibiotic. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2, 281-283.
- 塩満徳夫・楠田理一・大須賀徳作・宗清正廣 (1980): エリスロマイシンに関する魚病化学療法的研究—II. 養殖ハマチの連鎖球菌症に対する野外治療効果。魚病研究, 15(1), 17-23.
- 清水喜八郎 (1980): マクロライド系抗生物質とリンコマイシン系抗生物質, 上田 泰, 清水喜八郎編, 新化学療法ハンドブック, 永井書店, 大阪, p. 239-250.
- WOLF, K. and C. E. DUMBER (1959): Test of 84 therapeutic agents for control of kidney disease in trout. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 88, 117-124.