Studies on Chemotherapy of Animal Diseases with Spectinomycin

Hiromi KATAE, Katsuhisa NAKATA, Yoshiyuki TAKASE
and Masanao SHIMIZU

Research and Development Division, Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd.,
33-94 Enoki, Suita-shi, Osaka 564

(Received for publication February 22, 1974)

Abstract. Spectinomycin (SPE) is an antibiotic isolated from *Streptomyces spectabilis* NRRL 2792 and *S. flavopersicus* sp. n. NRRL-B-2820. It was active against most Gram-positive and Gram-negative bacteria in vitro. *Mycoplasma gallisepticum* was especially sensitive to this antibiotic. Most strains of *Escherichia coli* and the genus *Salmonella* freshly isolated from sick poultry were sensitive to SPE, showing no cross-resistance to other antibacterials. The activity of SPE was hardly affected by the addition of horse serum or sodium cholate, but was weakened by an acidic pH or a large bacterial inoculum.

When 5-day-old chickens were administered subcutaneously with a single dose of 100 mg/kg of SPE, the average plasma level of SPE attained a peak of 121 $\mu\text{g/ml}$ 30 minutes after administration and then descended gradually to attain 9.8 $\mu\text{g/ml}$ 6 hours. When chickens were administered orally with a single dose of 200 mg/kg of SPE, the average plasma level reached a plateau of about 7 $\mu\text{g/ml}$ from 3 to 6 hours after administration. In the systemic infection with *E. coli* or *Salmonella* species in mice and chicken, SPE was effective by parenteral administration. Its efficacy was also observed in the air-sac infections with *M. gallisepticum* in chickens.

From these results obtained, it is concluded that SPE may be worth being applied to the control of some animal diseases.

動物薬としてのスペクチノマイシンに関する化学療法的研究

片江宏巳・中田勝久・高瀬善行・清水当尚
大日本製薬株式会社総合研究所

スペクチノマイシン (Spectinomycin, SPE と略す) は, 1961 年 Mason ら [5] により *Streptomyces spectabilis* NRRL 2792 から, また Oliver ら [6] により *S. flavopersicus* sp. n. NRRL-B-2820 の培養液から得られた抗菌性の抗生物質である。その化学構造は, 1962 年に明らかにされた [1, 8] (Fig. 1)。本剤は抗菌スペクトルが広く [4, 5], 毒性が弱い [2] ことなどが特徴とされている。本報では, その家畜または家禽疾病への応用の可否を調べるため, 化学療法的諸性質の検討を行なった。

Fig. 1. Chemical structure of spectinomycin

実験材料および実験方法

1. 使用薬剤

Spectinomycin dihydrochloride pentahydrate
(SPE; Abbott Laboratories Ltd.)

Chloramphenicol (CP; 三共)

Tetracycline hydrochloride (TC; 武田薬品)
 Dihydrostreptomycin sulfate (DSM; 大日本製薬)
 Furazolidone (Fz; 山之内製薬)
 Erythromycin lactobionate (EM; 大日本製薬)
 Tylosin tartrate (TS; 経口用, 塩野義製薬)
 Tylosin base (TS; 注射用, 武田薬品)

2. 使用菌株

当研究所保存株および野外分離株を用いた。野外分離株としては、農林省家畜衛生試験場および群馬県中央家畜病性鑑定所より分与された新鮮な病鶏分離株を用いた。

3. 使用動物

マウス: 体重 18~20 g の雄の ddy-S マウスを用いた。

雛: 白色レグホン系雄の初生雛を購入し、使用日令に達するまで当研究所で飼育した。感染防御試験には 4 日令 (体重 40 g), 血中濃度および臓器内分布の測定の際には 5 日令 (体重 43 g) のものを用いた。

4. 最小発育阻止濃度の測定

最小発育阻止濃度 (MIC) の測定は、液体希釈法により行なった。薬剤は蒸留水に溶解し、培地中で段階希釈した。培地は *Streptococci* および *Diplococci* に対して Brain heart infusion broth (Difco), pH 7.4 を, *Pasteurella* に対して Heart infusion broth (栄研), pH 7.2 を, *Haemophilus* に対して 3% 馬血清添加鶏肉ブイヨン [3], pH 7.2 を, *Mycoplasma* に対して 10% 馬血清添加鶏 PPLO 培地 (栄研), pH 7.8 をそれぞれ使用した。その他の菌に対しては、普通ブイヨン (栄研), pH 7.0 を用いた。実験方法の詳細は、清水ら [7] の報告に従ったが、*Mycoplasma* の場合のみ、薬剤を含む 3 ml の培地に 10^7 個の生菌を接種し、37°C で 4 日間培養後に MIC を判定した。

5. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力におよぼす培地の pH, 接種菌量, 血清添加および胆汁酸添加の影響は、*Escherichia coli* 0-2 No. 31 および *Salmonella pullorum* Nakayu 株を試験菌として検討した。なお pH, 接種菌量および血清添加の影響は液体希釈法を用い、胆汁酸添加の影響は寒天平板希釈法 [7] を用いて検討した。

6. 感染防御試験

マウスを用いた感染防御試験は、清水ら [7] の報告に従った。雛の試験の詳細は次の通りである。

大腸菌感染症: *E. coli* 0-2 No. 31 株を Trypto-

soy broth で 37°C 20 時間培養した後、普通ブイヨンに懸濁し、2 LD₅₀ 量を 1 群 10 羽の雛の後胸気嚢内に接種した。投薬は感染直後および 6 時間後に行ない、1 週間後の生存率より効果を判定した。

雛白痢菌感染症: *S. pullorum* Nakayu 株を YCC broth (栄研) で 37°C 24 時間培養した後、普通ブイヨンに懸濁し、50 LD₅₀ 量を 1 群 10 羽の雛の後胸気嚢内に接種した。投薬は感染後 0, 6, 24, 30, 48, 54, 72 および 78 時間目に行ない、1 週間後の生存率より効果を判定した。

マイコプラズマ感染症: *Mycoplasma gallisepticum* 1RF 株または *M. gallisepticum* S-6 V-248 株を、鶏 PPLO 培地で 37°C 48 時間培養した菌液を、0.4 ml (1RF 株の場合) または 0.2 ml (S-6 V-248 株の場合) 1 群 10~16 羽の雛の後胸気嚢内に接種した。投薬は感染 1 時間後に行ない、2 週間観察した。S-6 V-248 株の場合は生存率より、1RF 株の場合は気管および気嚢からの菌分離と抗体陽性率より、効果を判定した。

7. 雛における血中濃度および臓器内分布

SPE を体重 43 g の雛に 100 mg/kg 皮下投与、または 200 mg/kg 経口投与した。

血中濃度: 投与後 1/2, 1, 2, 4 および 6 時間目に、心臓穿刺で 3 羽の雛から個々に採血し、遠心分離した血漿を定量用試料とした。定量には *Brucella suis* USA 株を指示菌とする薄層カップ法を用いた。その詳細は次の通りである。*Brucella suis* USA 株を普通ブイヨンで 37°C 48 時間培養した後、比色計 (Bausch & Lomb) を用いて 530 mμ で吸光度 0.15 に調整した。その 2 ml を 50 ml の Trypto-soy agar (栄研), pH 8.0 に 50°C で混じ、混液を 5 ml ずつ直径 9 cm のシャーレに流し、平板を作成した。平板あたり 4 個のカップ (抗生物質検定用) を立て、その中に pH 8.0 の 1/15 M 磷酸緩衝液で適宜希釈した定量用試料を満たし、37°C で一夜培養した後、阻止円の直径を測定した。検量線は、血漿に SPE を既知量添加し、試料と同様に処理して作成した。本法による血漿中定量限界は 0.8 μg/ml であった。

臓器内分布: 臓器への SPE の移行を Bioautography により観察した。皮下投与の場合は投与後 1/2, 1 および 2 時間目に、経口投与の場合は投与後 1 および 2 時間目に、雛を 2 羽ずつ心臓採血により屠殺し、心、気管、肺、肝、脾、腎、小腸、大腸およ

Table 1. In vitro antibacterial activity of spectinomycin
Gram-positive bacteria

Strain	MIC : $\mu\text{g/ml}$ Spectinomycin
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	30
<i>Staphylococcus aureus</i> 10	30
<i>Staphylococcus aureus</i> 16	30
<i>Staphylococcus aureus</i> S-21	30
<i>Staphylococcus aureus</i> S-23	10
<i>Streptococcus hemolyticus</i> A-65	30
<i>Diplococcus pneumoniae</i> I	10
<i>Diplococcus pneumoniae</i> II	10
<i>Diplococcus pneumoniae</i> III	30
<i>Listeria monocytogenes</i> LI-2402	10
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	3
<i>Mycobacterium avium</i> IFO 3082	100

Table 2. In vitro antibacterial activity of spectinomycin
Gram-negative bacteria

Strain	MIC : $\mu\text{g/ml}$ Spectinomycin
<i>Escherichia coli</i> K-12	10
<i>Escherichia coli</i> 101	10
<i>Escherichia coli</i> 102	10
<i>Escherichia coli</i> 0-2	10
<i>Escherichia coli</i> P-57-0-83	10
<i>Escherichia coli</i> E-4	10
<i>Salmonella typhi</i> H901W	30
<i>Salmonella paratyphi</i> A	10
<i>Salmonella paratyphi</i> B	30
<i>Salmonella enteritidis</i> No. 1891	10
<i>Salmonella typhimurium</i> S-9	100
<i>Salmonella pullorum</i> 971	30
<i>Salmonella pullorum</i> Nakayu	30
<i>Salmonella gallinarum</i> 416	30
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	10
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	30
<i>Pasteurella multocida</i> P-1059	10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> No. 13	>100
<i>Proteus vulgaris</i> OX19	30
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> S-1	100
<i>Vibrio alginolyticus</i> S-12	100
<i>Vibrio anguillarum</i> K-3	100
<i>Brucella abortus</i> Kusayanagi	30
<i>Brucella melitensis</i> 1004	1
<i>Brucella suis</i> USA	1
<i>Bordetella bronchiseptica</i> A-19	>100
<i>Haemophilus gallinarum</i> No. 227	30
<i>Haemophilus gallinarum</i> No. 260	30
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> Kp-13	3
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> S-6	3
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> S-6 V-248	1
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> 1RF	3

Table 3. In vitro antibacterial activity of spectinomycin and other antibiotics against field isolates

Escherichia coli

Strain	SPE	CP	TC	MIC: $\mu\text{g/ml}$ DSM	Fz	EM
<i>E. coli</i> 11-1	10	3	300	300	30	10
<i>E. coli</i> 11-2	10	3	300	300	30	10
<i>E. coli</i> 11-3	10	3	300	300	30	10
<i>E. coli</i> 11-4	10	3	300	3	30	10
<i>E. coli</i> 11-5	10	3	300	300	30	10
<i>E. coli</i> 11-6	10	10	300	3	3	30
<i>E. coli</i> 16-3	10	3	300	10	30	30
<i>E. coli</i> 71-1	10	3	300	300	30	30
<i>E. coli</i> 75-5	10	3	300	300	30	30
<i>E. coli</i> 75-6	10	3	300	10	30	30
<i>E. coli</i> 87-1	10	10	300	30	100	30
<i>E. coli</i> 103-1	10	10	100	1000	30	30
<i>E. coli</i> 163-6	10	10	100	3	10	30
<i>E. coli</i> 164-1	10	3	300	100	10	10
<i>E. coli</i> 164-2	10	10	300	100	10	30
<i>E. coli</i> 164-3	10	3	300	100	10	10
<i>E. coli</i> 164-4	10	3	300	100	10	30
<i>E. coli</i> 189-1	10	3	300	100	100	30
<i>E. coli</i> 189-2	10	10	300	30	100	30
<i>E. coli</i> 192-2	10	10	300	100	100	30
<i>E. coli</i> 192-4	10	10	300	100	30	30
<i>E. coli</i> 192-6	10	10	300	100	30	30
<i>E. coli</i> 192-7	10	3	300	100	30	30
<i>E. coli</i> 192-8	10	10	300	300	30	30
<i>E. coli</i> 192-9	10	10	300	3	100	30
<i>E. coli</i> 192-10	10	10	300	100	100	30
<i>E. coli</i> K-12*	10	3	10	3	1	10

Remarks.

SPE: Spectinomycin, CP: Chloramphenicol, TC: Tetracycline, DSM: Dihydrostreptomycin, Fz: Furazolidone, EM: Erythromycin.

*: Sensitive laboratory strain.

び盲腸を取り、ドライアイスで凍結した後、厚さ 300~500 μ の凍結切片を作成した。凍結切片は、*E. coli* E-4 株を指示菌とする薄層寒天平板上に貼付し、37°C で一夜培養した後、各組織切片の周囲に阻止帯が見られるか否かを観察した。

結 果

1. 抗菌スペクトル

SPE の抗菌スペクトルは、Table 1~2 に示すとおりである。SPE は *Klebsiella pneumoniae* No. 13 および *Bordetella bronchiseptica* A-19 を除くグラム陰性菌およびグラム陽性菌に対し、抗菌作用を有していた。*M. gallisepticum* に関しては 4 株について検

討したが、いずれも 1~3 $\mu\text{g/ml}$ の MIC を示した。

2. 野外分離株の感受性

病鶏から分離された大腸菌およびサルモネラ菌の感受性は、Table 3~4 に示すとおりである。大腸菌 26 株に対する SPE の MIC は、当研究所保存の標準株と同様 10 $\mu\text{g/ml}$ であった。TC, DSM および Fz では、大部分の株が、感受性株に対する MIC の 10~100 倍であり、感受性の低下を示したが、CP および EM の感受性はほとんど低下していなかった。サルモネラ菌 28 株に対する SPE の MIC は、1 株以外はすべて 10~30 $\mu\text{g/ml}$ で、当研究所保存株と同様の感受性を示した。TC, DSM および Fz の MIC は、大部分の株が感受性株と同程度であったが、感受性株の

Table 4. In vitro antibacterial activity of spectinomycin and other antibiotics against field isolates

Salmonella spp.

Strain	SPE	CP	TC	MIC: $\mu\text{g/ml}$ DSM	Fz	EM
<i>Sal. livingstone</i> Y-1	30	10	3	10	10	100
<i>Sal. livingstone</i> Y-2	30	10	3	10	10	100
<i>Sal. thompson</i> Y-3	30	10	3	10	10	100
<i>Sal. livingstone</i> Y-4	30	10	3	10	3	100
<i>Sal. senftenberg</i> Y-5	30	10	3	10	3	100
<i>Sal. thompson</i> Y-6	30	10	3	10	10	100
<i>Sal. thompson</i> Y-9	30	10	3	10	10	100
<i>Sal. senftenberg</i> Y-11	30	10	3	10	3	30
<i>Sal. pullorum</i> C-1	10	10	3	30	3	30
<i>Sal. pullorum</i> C-2	10	10	3	30	3	30
<i>Sal. pullorum</i> C-3	10	10	3	30	3	30
<i>Sal. pullorum</i> C-4	10	10	3	30	3	30
<i>Sal. pullorum</i> C-5	30	10	3	30	3	30
<i>Sal. infantis</i> A-5	30	10	3	30	10	100
<i>Sal. B group rough type</i>	30	30	3	30	10	100
<i>Sal. heidelberg</i> A-26	30	10	3	30	10	100
<i>Sal. C₁ group rough type</i>	30	10	3	30	3	100
<i>Sal. heidelberg</i> A-49	30	10	3	30	10	100
<i>Sal. sofia</i> A-87	30	10	3	30	100	100
<i>Sal. sofia</i> A-88	10	10	3	30	100	100
<i>Sal. typhimurium</i> H-1	30	10	3	1000	10	100
<i>Sal. thompson</i> H-2	100	10	3	300	3	30
<i>Sal. blockley</i> H-3	30	10	3	10	30	100
<i>Sal. infantis</i> H-4	30	10	3	30	3	100
<i>Sal. give</i> H-5	10	10	3	10	3	100
<i>Sal. senftenberg</i> H-6	30	10	3	10	3	30
<i>Sal. livingstone</i> H-7	30	10	3	30	3	100
<i>Sal. typhimurium</i> UK1	30	3	300	30	10	100
<i>Sal. pullorum</i> 971*	30	3	10	30	0.3	30

Remarks.

*: Sensitive laboratory strain.

For the abbreviations see Table 3.

30~300 倍を示す耐性株も認められた。

3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力におよぼす培地の pH, 接種菌量, 血清添加および胆汁酸添加の影響は, Fig. 2 に示した通りである。培地の pH を 7.0 から 6.0 に変えると, SPE の MIC は 10 倍に上昇し, 酸性側で抗菌力の低下が認められた。また, 接種菌量を $10^1/\text{ml}$ から $10^8/\text{ml}$ に増加させると, MIC は 10 倍に上昇した。胆汁酸を 1% または 5% 添加した場合, あるいは馬血清を 40% 添加した場合, いずれも SPE の抗菌力はほとんど影響を受けなかった。

4. 感染防御効果

マウスの実験的感染症に対する SPE の効果を Fig. 3 に示す。SPE は, 大腸菌およびネズミチフス菌の感染症に対して, 腹腔内投与および皮下投与で, ともに有効性を示した。SPE の大腸菌感染症に対する ED_{50} は, 腹腔内および皮下投与で, それぞれ 5 および 13 mg/kg/dose であった。また, ネズミチフス菌感染症に対する ED_{50} は, 腹腔内および皮下投与でそれぞれ 77 および 82 mg/kg/dose であった。

雛の実験的感染症に対する SPE の効果を Fig. 4 に示す。SPE は皮下投与により, 大腸菌および雛白痢菌の感染症に有効性を示した。SPE の大腸菌感染症に対する ED_{50} は 10 mg/kg/dose であり, CP とほぼ同

Fig. 2. Influence of medium pH, inoculum size, sodium cholate and serum on the MIC of spectinomycin

Fig. 3. Effect of spectinomycin against systemic infection in mice

程度の効果を示した。また、鶏白痢菌感染症に対する ED₅₀ は 102 mg/kg/dose であった。Fig. 5 は鶏の実験的マイコプラズマ (IRF 株) 感染症に対する SPE の効果を示したものである。SPE は 50 mg/kg の皮下投与で、気管または気嚢内の菌の出現を阻止し、抗体陽性率を 50% 以下に抑制し、有効であった。

Table 5 は *M. gallisepticum* S-6 V-248 株感染症に対する SPE の効果を示す。SPE は 2.5 mg/chick の皮下投与で 50% 以上の生存率を示し、TS と同様有効であった。また、飲水投与では 0.025% 3 日間の

Fig. 4. Effect of spectinomycin against systemic infection in chicken

Fig. 5. Effect of spectinomycin against air-sac infection with *M. gallisepticum* IRF in chicken

投与で有効性を示し、TS より優れた効果を示した。

5. 鶏における血中濃度および臓器内分布

鶏に SPE を 100 mg/kg 皮下投与または 200 mg/kg 経口投与し、血中濃度の推移を調べた。Fig. 6 に示したように、皮下投与では SPE の平均血中濃度は投与 30 分後に 121 $\mu\text{g/ml}$ の最高濃度を示し、6 時間後では 10 $\mu\text{g/ml}$ に低下した。経口投与では SPE の平均血中濃度は、投与 3~4 時間後に 7 $\mu\text{g/ml}$ を示し、6 時間後においても、なお 6 $\mu\text{g/ml}$ を維持した。

Fig. 7~10 は SPE を 100 mg/kg 皮下投与、または 200 mg/kg 経口投与した後の鶏における主要臓器の Bioautogram を示す。皮下投与 30 分後の心、気管、腎および大腸切片のまわりに、明瞭な阻止帯がみられ、SPE が活性型で臓器に分布することが示された。投与 1 時間後でもほぼ同様の結果が得られたが、2 時間後の阻止帯はやや縮少した。経口投与では、投与 2 時間後の小腸、大腸および盲腸のまわりに阻止帯

Table 5. Effect of spectinomycin and tylosin against systemic infection with *M. gallisepticum* S-6 V-248 in chicken

Drug	Route	Dose (mg/chick)	Survival/ Total	Survival rate (%)	Efficacy
SPE	sc injection	5	26/32	81.3	+
		2.5	18/32	56.3	+
		1.25	11/32	34.4	—
TS	sc injection	2.5	8/16	50	+
		1.25	9/32	28.1	—
Infected untreated control			3/30	9.4	—

Drug	Route	Dose (% in water)	Survival/ Total	Survival rate (%)	Efficacy
SPE	Medicated in drinking water	0.1×3 day	15/16	93.8	+
		0.05×3 day	15/16	93.8	+
		0.025×3 day	12/16	75	+
TS	Medicated in drinking water	0.05×3 day	10/16	62.5	+
Infected untreated control			4/16	25	—

Remarks.

SPE: Spectinomycin, TS: Tylosin.

Fig. 6. Plasma level of spectinomycin in chicken

がみられ, SPE の存在が示唆された。

考察および総括

スペクチノマイシン (SPE と略す) はグラム陰性・陽性の両菌に抗菌作用を示し, 抗菌スペクトルは広い。その最小発育阻止濃度 (MIC 値と略す) は, 多くの菌で 10~30 $\mu\text{g/ml}$ である。 *Mycoplasma gallisepticum* に対しては, 1~3 $\mu\text{g/ml}$ の比較的良好な MIC

値を示す。野外分離株に対しては, 標準株と同程度の抗菌作用を示し, 他剤との間に交差耐性は認められない。これは SPE の化学構造が, 従来の抗生物質や化学療法剤とは異なっていることから, 予想される結果である。おそらく作用機作が異なっているためであろうと思われる。SPE の抗菌力は, 培地 pH が酸性の場合, または接種菌量が多い場合に減弱される。馬血清や胆汁酸を添加しても, その抗菌力はほとんど変化しない。

実験的感染防御試験では, SPE はマウスの大腸菌およびネズミチフス菌感染症, 雛の大腸菌および雛白痢菌感染症に, 皮下または腹腔内投与の場合有効であった。雛の大腸菌感染症においては, その効果はクロラムフェニコールとはほぼ同程度であった。雛のマイコプラズマ感染症に対しては, SPE は皮下投与でタイロシン (TS) と同程度の, また飲水投与で TS より優れた効果を示した。このように SPE は, *in vitro* の MIC 値から予期されるよりも, さらに優れた効果を *in vivo* で示した。同様の傾向は, Lewis ら [4] によっても報告されている。

雛に SPE を 100 mg/kg 皮下投与すると, 血中では 30 分後に 121 $\mu\text{g/ml}$ の最高濃度に達した。また 200 mg/kg 経口投与すると, 3~6 時間後に 6~7 $\mu\text{g/ml}$ の血中濃度に達し, 気管, 腎, 消化管などに抗菌活性物質の分布が認められた。このように吸収および分布の良好なことが, SPE が優れた *in vivo* 効果を示す

理由の一つではないかと考えられる。

本論文の要旨は第 76 回日本獣医学会で発表した。

文 献

- [1] Hoeksema, H., Argoudelis, A. D., and Wiley, P. F. (1962). Chemistry of actinospectacin. II. The structure of actinospectacin. *J. Amer. chem. Soc.*, **84**, 3212-3213.
- [2] Hwang, K., Coen, L., Johnson, H. E., Hunter, W. W., and Cugier, P. (1962). M-141, a new antibiotic. III. Pharmacology. *Antimicrob. Ag. Chemother.* 1961, 507-515.
- [3] 加藤和好 (1968). 鶏の伝染性コリーザ. VII. 実験感染例に対するスルファモノメトキシンの治療効果. *日獣会誌*, **21**, 349-352.
- [4] Lewis, C., and Clapp, H. W. (1961). Actinospectacin, a new antibiotic. III. In vitro and in vivo evaluation. *Antibiot. Chemother.*, **11**, 127-133.
- [5] Mason, D. J., Dietz, A., and Smith, R. M. (1961). Actinospectacin, a new antibiotic. I. Discovery and biological properties. *Antibiot. Chemother.*, **11**, 118-122.
- [6] Oliver, T. J., Goldstein, A., Bowen, R. R., Holper, J. C., and Otto, R. H. (1962). M-141, a new antibiotic. I. Antimicrobial properties, identity with actinospectacin, and production by *Streptomyces flavopersicus*, sp. n. *Antimicrob. Ag. Chemother.* 1961, 495-502.
- [7] 清水当尚・中村信一・高瀬善行 (1971). 新抗菌剤 piromidic acid の研究. I. 抗菌作用. *Chemotherapy*, **19**, 379-386.
- [8] Sinclair, A. C., and Winfield, A. F. (1962). M-141, a new antibiotic. II. Isolation and characterization and identity with actinospectacin. *Antimicrob. Ag. Chemother.* 1961, 503-506.

Explanation of Figures

Fig. 7. Bioautogram of heart, trachea and lung of chickens having received a single subcutaneous (sc) injection of 100 mg/kg of spectinomycin (SPE).

- a) Before injection (normal control). No inhibitory zone is observed around these organs.
- b) 1/2 hour after injection. Inhibitory zone is observed around heart and trachea. Diffuse inhibitory zone is observed around lung.
- c) 1 hour after injection. Almost the same as in (b).
- d) 2 hours after injection. Small-sized inhibitory zone is observed.

Fig. 8. Bioautogram of liver, spleen and kidney of chickens having received a single sc injection of 100 mg/kg of SPE.

- a) Before injection (normal control).
- b) 1/2 hour after injection. Inhibitory zone is observed around kidney, but not around liver and spleen.
- c) 1 hour after injection. Inhibitory zone is observed around kidney and spleen.

- d) 2 hours after injection. Almost the same as in (c).

Fig. 9. Bioautogram of small intestine, large intestine and cecum of chickens having received a single sc injection of 100 mg/kg of SPE.

- a) Before injection (normal control).
- b) 1/2 hour after injection. Inhibitory zone is observed around large intestine, but not around small intestine. Diffuse inhibitory zone is observed around cecum.
- c) 1 hour after injection. Almost the same as in (b).
- d) 2 hours after injection. Diffuse inhibitory zone is observed around cecum.

Fig. 10. Bioautogram of small intestine, large intestine and cecum of chickens having received a single oral dose of 200 mg/kg of SPE.

- a) Before administration (normal control).
- b) 1 hour after administration. Inhibitory zone is observed around large intestine.
- c) 2 hours after administration. Inhibitory zone is observed around small intestine, large intestine and cecum.

Abbreviations

He: Heart
Tr: Trachea
Lu: Lung
Li: Liver
Sp: Spleen

Ki: Kidney
SI: Small intestine
LI: Large intestine
Ce: Cecum

Fig. 7

Fig. 8

Fig. 9

Fig. 10