

ブリ実験感染ミコバクテリウム症に対するリファンピシン, ストレプトマイシンならびにエリスロマイシンの有効性

誌名	日本水産学会誌
ISSN	00215392
著者	川上, 宏一 楠田, 理一
巻/号	56巻1号
掲載ページ	p. 51-53
発行年月	1990年1月

ブリ実験感染ミコバクテリウム症に対するリファンピシン、 ストレプトマイシンならびにエリスロマイシンの有効性^{*1}

川上 宏一, 楠田 理一

(1989年9月21日受付)

Efficacy of Rifampicin, Streptomycin and Erythromycin against Experimental Mycobacterium Infection in Cultured Yellowtail

Koichi Kawakami^{*2} and Riichi Kusuda^{*2}

As it has been shown that rifampicin (RFP), streptomycin (SM) and erythromycin (EM) show high antibacterial activity against *Mycobacterium* sp. *in vitro*. The *in vivo* efficacies of these drugs were evaluated in experimental infection of yellowtail *Seriola quinqueradiata*. Fish of 100 g body weight were infected by intraperitoneal injection with 1.6×10^6 bacteria/fish. Immediately and 24 h after infection, the fish were orally administered with 0.25–25 μg RFP, 1–100 μg SM or 2–200 μg EM mixed with minced fish meat. Survival rates higher than the control group were shown in the groups of 0.25, 2.5 and 25 μg RFP, 100 μg SM and 200 μg EM 49 days after injection. However, *Mycobacterium* sp. was reisolated from sampled survivors of these groups. Although the results suggest that it is not possible to fully control natural mycobacterium infections in cultured yellowtail by using these drugs, RFP is possibly an effective therapeutic agent against mycobacterium infection, in that, the minimum dose of RFP gave a high survival rate.

1986年以來、西日本各地の養殖場のブリ *Seriola quinqueradiata* にミコバクテリウム症¹⁾ による被害が発生するようになり、その早急な対策が望まれている。

そこで、著者ら²⁾は本症の原因菌 *Mycobacterium* sp. に対する各種化学療法剤の試験管内作用を検討したところ、リファンピシン (RFP)、ストレプトマイシン (SM) およびエリスロマイシン (EM) の最小発育阻止濃度 (MIC) は低く、殺菌性も強いことから、これらの薬剤が本症の治療に有効ではないかと考えられる結果が得られた。

本報では、ブリ実験感染魚にこれらの3薬剤を投与して、本症の治療に対する有効性を検討した。

材料および方法

供試菌株 1986年9月に愛媛県のブリ病魚から分離され、1%小川培地(日水)で継代保存されていた *Mycobacterium* sp. YM 2766 株を、ブリの魚体内通過を2回行ったのちに使用した。なお、本菌株のブリ(体重約100g)に対する LD₅₀ は 3.7×10^5 cells/fish を示した。

供試薬剤 アンサマイシン系のリファンピシン (RFP)、アミノ配糖体系のストレプトマイシン (SM)、マクロラ

イド系のエリスロマイシン (EM) の3薬剤を使用した。なお、供試菌株に対する MIC は、RFP が 0.025 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、SM が 0.10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、EM が 0.20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を示した。

実験感染魚 供試菌株を1%小川培地で25°C、2週間培養し、発育した菌体をガラスビーズ数粒と生理食塩水の入った試験管の中に入れ、ミキサー (Vortex) を用いて激しく振盪した。そして、数分間静置して試験管内にできた上清を生理食塩水で希釈して、 1.6×10^7 cells/ml に調製した。実験直前にこの菌液を、平均体重100gのブリ幼魚の腹腔内に0.1mlずつ接種して実験感染魚とした。

薬剤の投与方法 最適な溶媒に供試薬剤を溶解したのち、滅菌蒸留水を用いてそれぞれの供試薬剤の100, 1,000ならびに10,000 MIC溶液を作製した。すなわち、RFPでは2.5, 25および250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、SMでは10, 100および1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、EMでは20, 200および2,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とした。これらの溶液1mlに、それぞれイカナゴペースト9mlを混ぜ合わせ、菌接種直後と24時間後の実験感染魚の1群7尾に、ゾンデを用いて1mlずつ強制的に2回の経口投与を行った。なお、各供試薬剤の投与区は、低い濃度順に10, 100, 1,000 MIC投与区とした。また、

*1 本研究は1989年4月、日本水産学会春季大会において発表した。

*2 高知大学農学部水族病理学講座 (Fish Disease Laboratory, Faculty of Agriculture, Kochi University, Nankoku, Kochi 783, Japan).

対照区の実験感染魚には無添加のイカナゴペースト 1 ml を投与した。なお, 2 回目の投薬後は, 全区ともにイカナゴ切身を自由摂餌によって 1 日 1 回投与し, 49 日間飼育した。

投薬効果の判定法 飼育期間中の累積死亡尾数の推移, 死亡魚および生残魚の細菌検査および臨床症状の成績から判定した。なお, 細菌検査は 1% 小川培地を用いて腎臓ならびに脾臓から菌分離を行い, 25°C で 2~3 週間培養して行った。分離した菌が本菌であることを確認するために, スライドガラス上に分離菌の塗抹標本を作製し, Ziehl-Neelsen 染色をして検鏡した。そして, 分離菌が接種菌と同様に抗酸性を示す短桿菌であることを確認した。臨床症状は本菌感染症の特有な症状である腹水の貯留, 腎臓および脾臓の肥大と結節の形成について観察した。

なお, 本試験期間中の平均水温は 22°C であった。

結 果

各投薬区の実験感染魚の生残率の推移は Fig. 1 に示すとおりである。菌接種 49 日後の各投薬区の 10, 100 および 1,000 MIC 投与区の生残率は, RFP 投薬区で 28.4, 57.1 および 71.4%, SM 投薬区で 0, 14.3 および 57.1%, EM 投薬区で 0, 0 および 57.1% となった。これらに対して, 無投薬の対照区では生残率は 14.3% となった。

各投薬区の最終生存尾数, 細菌検査ならびに臨床症状の結果は Table 1 に示すとおりである。実験感染魚の死亡魚ならびに生残魚の腎臓ならびに脾臓からの本菌の分離率は, RFP 投薬区では 10 MIC 区が両臓器とも 100%, 100 MIC 区が腎臓で 57.1%, 脾臓で 85.7%, 1,000 MIC 区が腎臓で 42.9%, 脾臓で 85.7% となった。SM 投薬

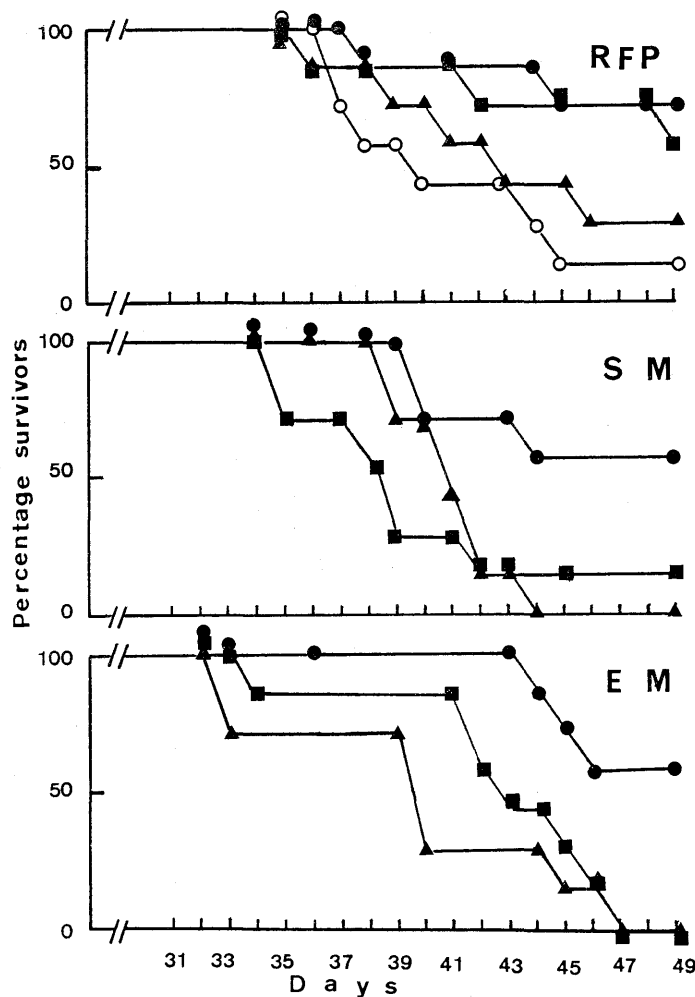


Fig. 1. Effect of administration of different doses of rifampicin (RFP), streptomycin (SM) and erythromycin (EM) on survival rate of yellowtail infected with *Mycobacterium* sp. YM-2766. ●—●, 1,000 MIC; ■—■, 100 MIC; ▲—▲, 10 MIC; ○—○, control.

Table 1. Comparison of survival rate, recover of the pathogen and development between groups of yellowtail administered with rifampicin (RFP), streptomycin (SM) and erythromycin (EM)

Drug	Dose	Survival rate*1	Recovery of bacteria		Hypertrophy		Tubercules		Haemorrhagic ascites
			Kidney	Spleen	Kidney	Spleen	Kidney	Spleen	
RFP	10 MIC	2/7	7 (2)*2	7 (2)	5 (1)	5 (1)	5 (1)	4 (1)	4 (0)
	100 MIC	4/7	4 (1)	6 (3)	6 (4)	5 (3)	7 (4)	4 (3)	3 (1)
	1000 MIC	5/7	3 (1)	6 (4)	6 (4)	7 (5)	6 (4)	4 (2)	2 (0)
SM	10 MIC	0/7	6 (0)	7 (0)	3 (0)	4 (0)	7 (0)	7 (0)	5 (0)
	100 MIC	1/7	7 (1)	7 (1)	3 (0)	4 (0)	4 (1)	4 (1)	5 (0)
	1000 MIC	4/7	5 (3)	4 (3)	3 (2)	4 (2)	3 (2)	4 (2)	0 (0)
EM	10 MIC	0/7	6 (0)	5 (0)	6 (0)	7 (0)	6 (0)	4 (0)	5 (0)
	100 MIC	0/7	7 (0)	7 (0)	5 (0)	4 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)
	1000 MIC	4/7	6 (3)	6 (3)	4 (3)	5 (3)	4 (3)	5 (4)	0 (0)
Control		1/7	7 (1)	7 (1)	6 (1)	2 (0)	6 (1)	7 (1)	6 (0)

*1 Number of survivors/Number of experimental fish.

*2 Figures in parentheses indicate number of survivors.

区では 10 MIC が腎臓で 85.7%, 脾臓で 100%, 100 MIC 区が両臓器とも 100%, 1,000 MIC 区が腎臓で 71.4%, 脾臓で 57.1% となった。EM 投与区では 10 MIC 区が腎臓で 85.7%, 脾臓で 71.4%, 100 MIC 区が両臓器とも 100%, 1,000 MIC 区が両臓器とも 85.7% となった。これに対して、無投薬の対照区では両臓器とも 100% となった。各投与区の臨床症状の結果は、腎臓および脾臓の肥大と結節の形成は、供試薬剤の種類、投薬量および生死に関係なく、すべての投薬区で認められた。腹水の貯留については、RFP 100 MIC 投与区の生残魚 1 尾を除いてすべての投薬区の生存魚で認められなかった。

考 察

すべての RFP 投薬区、SM の 1,000 MIC 区および EM の 1,000 MIC 区においては、最終生存率が対照区より高かったことから、これらの投与区では有効性が一応認められた。また、RFP は試験管内での抗菌作用と魚体内での有効性の実験結果が、供試薬剤の中で最も近い値を示した。したがって、供試した 3 薬剤のなかでは RFP が本症の治療に対して最もすぐれているのではないかと考えられる。

RFP はヒトの病巣内の結核菌に対してすぐれた抗菌作用を示すとされている。⁵⁾ また、RFP は病巣内の分裂増殖結核菌に対して、抗結核剤の中で最も高い抗菌力を示すイソニアジド (INH) に匹敵する強い抗菌力を示し、感染慢性期の病巣内に存在する分裂静止結核菌に対しても、強い抗菌力を示すことが知られている。⁴⁾ そして、RFP が結核菌体内の代謝の強弱に関係なく、高い抗菌

力を示すことができるのは、細菌の DNA 依存性ポリメラーゼの合成を阻害する特殊な作用機序が大きく関与していると考えられている。⁵⁾ 吸収性についても、RFP をヒトに経口投与したときには、投薬量の 98% が消化管から速やかに吸収され、2~3 時間で最高血中濃度に達するとされることから、⁶⁾ 経口投与された RFP の結核病巣内への移行は良好であると考えられる。これらのことから、ヒトの結核菌に対してすぐれた抗菌作用を示す RFP は、魚体内の本菌に対してもすぐれた抗菌力を示すのではないかと考えられる。

しかし、最も高い生存率を示した RFP 1,000 MIC 投薬区においても、生残魚の脾臓ならびに腎臓からの本菌の分離される個体が認められたことから、今回の実験における投薬回数ならびに投与量では本症実験感染魚の治療には不十分であったとも考えられる。

以上のことから、今回の実験で最もすぐれた化学療法剤であると考えられた RFP は適切な投与量と投与回数をさらに検討すれば、本症の治療薬として有効ではないかと思われる。

文 献

- 1) 楠田理一, 川上宏一, 川合研児: 日水誌, **53**, 1797-1804 (1987).
- 2) 川上宏一, 楠田理一: 日水誌, **55**, 2111-2114 (1989).
- 3) 尾崎久雄: 魚類薬理学 V, 緑書房, 東京, 1984, pp. 1-418.
- 4) 亀田和彦: 結核, **58**, 73-80 (1983).
- 5) 金井興美: 結核, **53**, 557-567 (1978).