

## 養殖ぶりに塩酸テトラサイクリンを経口投与したときの組織内濃度

村田靖彦・岩波重之

### 緒 言

養殖ぶりの細菌性疾病として、ピブリオ病、類結節症、連鎖球菌症などがあり、これらに対して種々の化学療法剤が使用されている。これら細菌性疾病原因菌に抗菌活性があり、治療効果が認められているさまざまな抗生物質<sup>1)~3)</sup>がある。しかし、養殖事業規模で投薬効果を上げるためには種々の注意が必要である。その主なものは環境水中への薬剤の散逸防止と魚体内に取り込まれた薬剤量の把握である。水産薬の適正使用については、水産庁の魚病対策技術開発研究事業の一つとして医薬品の使用に関する研究<sup>4)~5)</sup>が行われてはいるが、さらに実験例の蓄積が必要である。

そこで、適正かつ有効な投薬方法を検討するための一つの試験として養殖ぶりに比較的報告例の少ない塩酸テトラサイクリン(以下TC-Hclとする。)を経口投与し、組織内濃度を経時的に調べ若干の知見を得たので報告する。なお、本試験に協力された勝山漁業協同組合の関係者に感謝の意を表します。

### 材料と方法

#### 1) 実施期間および水温

昭和57年7月12日~7月29日(投薬期間7月12日~7月16日の5日間)で水温は22.2~23.0°Cであった。

#### 2) 供試魚

勝山漁業協同組合の網生す(8×8×6m)で飼育中の養殖ぶり2年魚2,138尾(平均1,270g)を用いた。

#### 3) 供試薬および投薬量

「水産用ジュンマイシン」(田辺)〔TC-Hcl155mg力価/gを含む)を1日にTC-Hclとして165mg力価/kg魚体重を連続5日間投与した。

#### 4) 投薬方法

TC-Hcl所定量を未解凍のままクラッシュしたブツ切りのマイワシ(給餌率4.4%)に展着材〔マイリッチ(田辺,天然糊料)を餌料に対し0.8%を添加]と共に混合

して投与した。

#### 5) 試料の採取

最終投薬日の薬剤投与直前、最終投薬後3時間、6時間、24時間、3日、5日、10日および13日に供試魚を各5尾取り上げ、尾柄部を切断して採血後、筋肉、腎臓、ひ臓、肝臓を採取した。なお腎臓、ひ臓は5尾をまとめて1検体として定量した。試料は定量時まで-20°Cで凍結保存した。

#### 6) 定量方法

定量は*Bacillus subtilis* ATCC 6633を試験菌とする薄層カップ法による微生物学的測定法で行った。

測定用培地 野川他<sup>6)</sup>が鶏卵内TC-Hclの定量に用いた培地(牛肉エキス0.15%,酵母エキス0.3%,ペプトン0.6%,寒天1.7%,リン酸一カリウム0.135%,pH5.7)に*Bacillus subtilis* ATCC 6633芽胞液(10/ml)を0.1%添加し、その5mlをφ50mmプラスチックシャーレに流して固化させた。

試料液の調整 水産用医薬品使用指針<sup>7)</sup>に記載されたOTCの微量定量法に従って試料液を調整した。すなわち組織5gに動抗基1号緩衝液(リン酸一カリウム13.6g/l, pH4.5)20mlを加えて、ポリトロンでホモジナイズした後、遠沈(3,000rpm, 10分)して、上清液を取り、その残渣に同緩衝液を20ml加えて振とうした後、遠沈して得られた上清液を先の上清液と併せた(37~38ml)。この上清液(血清の時はその5mlを上記緩衝液40mlに加えた液)を塩酸(1:1)でpHを約2に調整した後、アンバーライトXAD-2を2ml充填したカラム(内径15mm×高さ150mm)に4ml/分の速度で通塔した。そして純水と5%メタノール各20mlでXAD-2を洗浄した後、吸着したTC-Hclを60%メタノール8mlで溶出(4ml/分)した。さらに、溶出液を40°Cに加熱した濃縮遠心機を用いて濃縮乾固し上記緩衝液2mlで溶解し、クロロホルム5mlを加え5分間振とう後、遠心(3,000rpm, 10分)して、その上清液を定量に供した。試薬は特級を用い、XAD-2は使用に先立ち、ソックス

レー抽出器で、メタノール、アセトニトリル、ジエチルエーテルの順で洗浄して精製し、メタノール中に保存した。

**定量操作** カップ内に試料液を注入し、3時間氷室

(4℃)内で拡散させた後、37℃で18時間培養し形成された阻止円の径を測定した。なお、これらの定量は田辺製薬(株)で行った。

表1 供試魚体重(g)

採材時間	魚 体 番 号					平均
	1	2	3	4	5	
投薬前	1,400	1,200	1,500	1,350	1,150	
	1,300	900	1,200	1,500	1,200	1,270
最終投薬直前	600*	400*	1,150	850	---	1,017
投薬後3時間目	1,300	1,257	1,375	1,325	1,185	1,288
6時間目	1,600	1,205	1,365	1,365	1,225	1,352
1日目	1,380	1,360	1,250	1,420	1,440	1,370
3日目	1,760	1,320	1,290	1,320	1,140	1,366
5日目	1,490	1,360	2,230	1,450	1,160	1,538
10日目	1,850	1,360	1,430	1,510	1,380	1,506
13日目	1,210	1,400	880	1,120	1,150	1,220

※異常魚(骨曲り) ---採取せず

### 結果および考察

供試魚 体重を表1に示した。

#### 微生物学的測定法の検量線および回収率

筋肉5gにTC-Hcl標準液(TC-Hcl 1.28mg力価を動抗基1号緩衝液100mlに溶解)を用いて、TC-Hclを0.05~6.4 $\mu$ g/g添加し、上記定量操作に従って得られた検量線を図1に示した。他の組織における検量線も筋肉と同様であり、本法の定量限界は0.1 $\mu$ g/g (ml)であった。また本法の回収率をTC-Hclの動抗基1号緩衝液

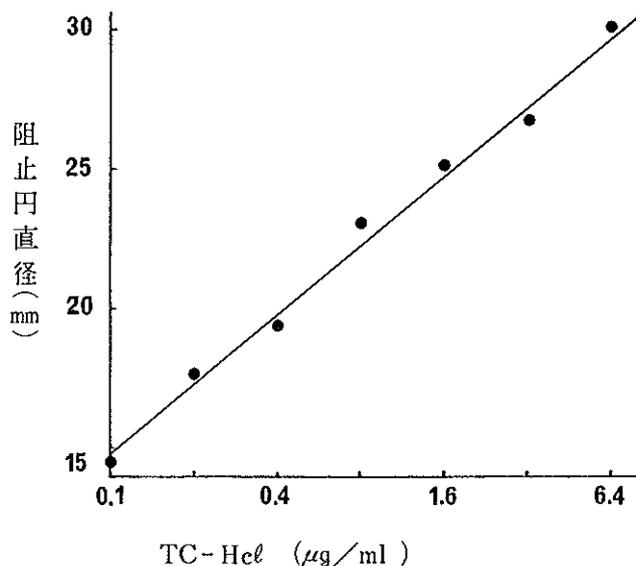


図1 微生物学的測定法でのTC-Hclの検量線(血清)

で得られた阻止円の径を基準として求めたところ、肝臓—18%、腎臓—19%、ひ臓—21%、筋肉—22%、血清—32%であった。この回収率は、魚類筋肉中のTC-Hclの定量に同じくXAD-2を用いた岡<sup>9)</sup>の結果(回収率20—30%)とほぼ同じ範囲にあった。

**組織内のTC-Hcl濃度の消長** TC-Hclの組織内濃度の結果を表2に示した。その消長をみると、投与後3時間に最高値を示し、組織別では腎臓が13.1 $\mu$ g/gと最も高く、次いでひ臓—9.7 $\mu$ g/g、肝臓—9.4 $\mu$ g/g、筋肉—3.5 $\mu$ g/g、そして血清—0.6 $\mu$ g/mlの順であった。その後、いずれの組織においても6時間後に急減し、最終投与72時間後に定量限界以下となった。

尾崎<sup>9)</sup>はTC-Hclの組織内濃度の序列を示しているが、それによると養殖ぶりに165mg力価/kgを12日間投与すると肝臓・腎臓が高いとしている。今回の結果もほぼ同じ傾向を示した。

表2に5検体とも検出限界以上の場合はSD(標準偏差)を示したが、この種のデータとしてはほぼ満足すべきバラツキとみられ、薬剤は供試魚群に比較的均一に取り込まれたと考えられる。

TC-Hclの消化管吸収について、尾崎<sup>9)</sup>はコイに投与した場合、4時間後に、血液で3.2 $\mu$ g/ml、肝臓では2時間後に45 $\mu$ g/gという値から吸収はよいのではないかとしている。また、養殖ぶりでは組織内濃度が非常に低いデータを示し、呼吸が悪いのではなく多分摂餌量が少なかったのだろうと推定している。消失時間について尾崎<sup>9)</sup>は養殖ぶりでは腎臓で長く、他の組織では

表2 TC-Hcl の体内濃度 (微生物学的測定法)

( $\mu\text{g}/\text{ml}$  or g)

		投 与 後 経 過 時 間 (時間または日*)							
組 織	No	0	3	6	24	72	5*	10*	13*
肝 臓	1	0.1	1.4	1.7	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	2	<0.1	12.8	0.2	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	3	<0.1	9.8	0.9	0.2	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	4	<0.1	9.6	0.7	0.2	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	5	---	13.2	0.1	0.7	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	$\bar{X}$	<0.1	9.4	0.7	0.2	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	SD		4.7	0.6	0.3				
腎 臓	※※	<0.1	13.1	0.3	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
ひ 臓	※※	0.4	9.7	0.4	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
血 清	1	<0.1	0.3	0.6	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	2	<0.1	0.4	0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	3	<0.1	0.6	0.3	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	4	<0.1	0.8	0.5	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	5	---	0.7	0.2	0.2	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	$\bar{X}$	<0.1	0.6	0.3	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	SD		0.2	0.2					
筋 肉	1	<0.1	0.4	1.6	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	2	0.1	5.9	0.4	0.2	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	3	<0.1	1.8	0.3	0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	4	<0.1	5.7	0.6	0.2	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	5	---	3.5	0.5	0.4	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	$\bar{X}$	<0.1	3.5	0.7	0.2	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	SD		2.4	0.5	0.1				

※※ 5尾まとめて定量 ---欠測

短かい、これはTC-Hclの腎親和性を示すのかもしれないとしている。

今回の測定値からみると腸管からの吸収はよく、消失時間は5日間程度と考えられる。一方、薬剤の効果を考える場合には、腸管からの吸収がよく、一定時間有効濃度を保っている必要がある。千葉県下で発生した連鎖球菌症の原因菌 (*Streptococcus* sp.) を例にとるとTC-Hclの最少阻止濃度は $0.4\mu\text{g}/\text{ml}^{10}$ であることから組織内濃度は十分有効濃度に達していると思われる。しかし、投薬効果をさらに良くするためには、組織内濃度が6時間後に減少することから、投薬回数、投薬量、魚体重別の摂取量などを合せて検討する必要があるだろう。

### 要 約

1) 養殖ぶりに対する適正かつ有効な投薬方法を検討するために勝山漁業協同組合の養殖ぶり2年魚を用いて、塩酸テトラサイクリンを経口投与したときの

組織内濃度を定量した。

2) 投薬は塩酸テトラサイクリン $165\text{mg}$ 力価/kgを1日量とし5日間餌料に添加して経口投与した。定量は微生物学的測定法によった。

3) 供試組織は血清、筋肉、腎臓、ひ臓、肝臓とし、採取時間は、最終投薬直前、最終投薬後3時間、6時間、24時間、72時間、5日、10日、13日とした。

4) その結果、検出限界は $0.1\mu\text{g}/\text{ml}$  (g)で、組織内濃度はいずれも投薬3時間後に最高値を示し6時間後に急減した。また、その濃度序列は腎臓>ひ臓>肝臓>筋肉>血清の順であった。

5) このことから腸内吸収はよく、消失時間は5日程度と考えられた。また、投薬効果を考えるためには、投薬回数、投薬量、魚体重別の摂取量などを検討する必要があると思われた。

### 文 献

1) 窪田三朗・宮崎照雄(1980):スピラマイシンに対

- する魚病療法的研究—Ⅱ，ブリの連鎖球菌に対する治療効果，三重大学水産学部研究報告，7，167～172.
- 2) 塩満捷夫・楠田理一・大須賀穂作・宋清正広(1980)：エリスロマイシンに対する魚病化学療法的研究—Ⅱ，養殖ハマチの連鎖球菌に対する野外治療効果，魚病研究 15 (1)，17～23.
  - 3) 日本水産資源保護協会(1980)：水産用医薬品使用指針2，117～128.
  - 4) 長崎県水産試験場増養殖研究所(1982)：医薬品の使用に関する研究，魚病対策技術開発委託事業，1～21.
  - 5) 広島県水産試験場(1982)：医薬品の使用に関する研究，魚病対策技術開発研究委託事業，1～12.
  - 6) 野川浩正・名倉清一・土屋桃子・米沢昭一(1981)：テトラサイクリン系抗生物質の鶏卵中への移行および残留，動薬年報 第18号，25～30.
  - 7) 日本水産資源保護協会(1980)：水産用医薬品使用指針1，72～73.
  - 8) 岡 尚男(1982)：プレパックカートリッジによる畜水産食品中テトラサイクリンの分析法，BMS談話会 第9回講演会講演要旨，54～55.
  - 9) 尾崎久雄(1980)：魚類薬理学3，緑書房，1～57.
  - 10) 村田靖彦(1978)：富浦湾養殖ハマチより分離された *Streptococcus* 属について，千葉県水産試験場研究報告，37，49～56.