

# 養殖ハマチの類結節症に対するアンピシリンの水産薬としての応用に関する研究

## II. 経口投与によるハマチへの吸収, 排泄, 残留および安全性

楠田 理一\* ・ 井上喜久治\*\*

(\*農学部水族生理生態学研究室・\*\*藤沢薬品工業中央研究所)

## Studies on the Application of Ampicillin for Pseudotuberculosis in Cultured Yellowtails

### II. Absorption, Excretion and Tissue Residue and Safety of Ampicillin Following Oral Administration

Riichi KUSUDA\* and Kikuji INOUE\*\*

\* Fish Disease Laboratory, Faculty of Agriculture

\*\* Research Laboratories, Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.

**Abstract** : Absorption, excretion and tissue residue and safety of ampicillin were studied in yellowtails.

1. Concentration of ampicillin in serum of yellowtails was 7.1 mcg/ml one hour after oral administration at 100 mg/kg·b. w.
2. Concentration of ampicillin in tissues and serum were examined in yellowtails given oral administration of ampicillin at 40 mg/kg·b. w./day for 5 consecutive days. The highest concentration of ampicillin, 9.4 mcg/ml or g, was detected in serum and spleen one hour after the final administration. Ampicillin was detected in liver, 0.013 mcg/g, 72 hours after the final administration, but not detected in the sample taken 96 hours.
3. Safety of ampicillin was studied in yellowtails after oral administration at 100 mg/kg·b. w./day for 5 consecutive days. No abnormal findings attributable to ampicillin medication were noticed upon clinical and macroscopical observations.

前報において、アンピシリンのハマチ類結節症菌に対する *in vitro* での抗菌力、耐性獲得および耐性消失について報告した<sup>1)</sup>。本報ではアンピシリンのハマチ類結節症治療薬としての応用に関する研究の一環として、ハマチ魚体内でのアンピシリンの吸収・排泄・残留および安全性について検討したので報告する。

### 実験方法

供試薬剤 供試薬剤としてアンピシリンを使用した。

試験方法 1) 吸収・排泄試験 平均体重 190 g のハマチ稚魚に 0.5% アラビアゴム水溶液に懸濁したアンピシリンを、100 mg/kg·b. w. になるように強制経口投与した。そして、水温 27.5~29.2°C の水槽内で飼育し、アンピシリン投薬後 1, 2, 3, 6, 12, 18, 24, 48 および 72 時間ごとに、5 尾ずつとりあげ、尾柄部を切断して採血した。血清を分離したのち Bioassay により、アンピシリンを定量した。2) 残留試験 平均体重 781 g のハマチ 100 尾にアンピシリンを、40 mg/kg·b. w./day になるように飼料に混合し、5 日間連続して自由摂餌による経口投与をおこなった。そして、5 日

目の最終投薬の直前と最終投薬後 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96および120時間後ごとに10尾ずつのハマチをとりあげ、尾柄部を切断して採血したのち充分に放血した。そして、各臓器を摘出し血清、肝臓、腎臓、脾臓、筋肉、胃および小腸のアンピシリン含量を Bioassay により定量した。なお、実験期間中のハマチ飼育水温は 22.4~22.7°Cであった。3) 安全性試験 平均体重85gのハマチを60尾選び、実験水槽に30尾ずつ分養して1週間順化させた。そして、1つの区のハマチには 100 mg/kg·b.w./day になるように、アンピシリンを餌に混入して、5日間連続で経口自由摂餌させた。ほかの区のハマチは対照として使用し、薬剤の混入していない餌料を与え、試験区と同様に飼育した。試験期間中の水温は 27.5~29.2°Cであった。試験開始後10日間観察して、外見的臨床所見および剖検所見についてしらべた。外見的臨床所見は投薬開始から5日間、給餌直後および4時間後の2回観察をおこない、対照区との比較で、斃死魚数、行動、呼吸および体色について異常の有無をしらべた。剖検所見は投薬開始後5日目と10日目の2回、供試魚のなかから無差別に3尾ずつとりあげ観察した。

アンピシリンの定量方法 1) 吸収・排泄試験 *Bacillus subtilis* ATCC-6633を検定菌として、Plate Disc 法 (Disc は東洋濾紙  $\phi$  8 mm thick) でおこなった。検定培地は寒天1%, クエン酸ソーダ1%, ペプトンおよび肉エキス0.3%を蒸留水に溶解して使用した。検定菌の殖菌量は  $10^8$  cells/ml の孢子液を培地の2%量とした。そして、37°Cで18時間培養後、阻止円径をノギスで測定してアンピシリン含量を定量した。標準曲線の作成は、ハマチの血清にアンピシリンを一定量添加し、ハマチ血清で2倍稀釈したのち、検体と同一条件で操作をおこない作成した。なお、検出感度は 0.03~0.06 mcg/ml であった。2) 残留試験 検定菌として *Bacillus subtilis* ATCC-6633 と定量感度の高い *B. stearothermophilus* var. *B. calidolatis* C-953 を使用した Plate Disc 法 (Disc は東洋濾紙  $\phi$  8 mm thick) でおこなった。検体は血清以外の臓器では、2倍量の66%エタノールを加え、ホモジナイズしたのち遠心分離をおこない、その上澄みを測定に使用した。アンピシリン含量の多い検体の測定には *B. subtilis* ATCC-6633 を使用した。検定培地として寒天1%, クエン酸ソーダ1%, ペプトン0.5%および肉エキス0.3%の組成の培地を使用し、 $10^8$  cells/ml の孢子液を培地の2%になるように混入した。そして、37°Cで18時間培養後に阻止円径をノギスで測定して、アンピシリン含量を定量した。アンピシリン含量が微量の検体には *B. stearothermophilus* var. *B. calidolatis* C-953 を検定菌として使用した。検定培養地は Heart Infusion agar (栄研) を用いた。BC 増菌用培地 (日水) で、55°Cで20時間前培養した菌を検定培地の5%になるように混入し、55°Cで18時間培養後に阻止円径を測定してアンピシリン含量を定量した。標準曲線の作成は、血清以外の各臓器では66%エタノールにアンピシリンを溶解し、66%エタノールで2倍稀釈したのち、検体と同一条件で測定して作成した。血清中のアンピシリンの定量では、ハマチ血清にアンピシリンを一定量添加し、血清で2倍稀釈して、血清以外の検体の定量と同一条件で標準曲線を作成した。*B. subtilis* を検定菌として使用した場合の検出感度は 0.062 mcg/ml であり、*B. stearothermophilus* を使用した場合は 0.004 mcg/ml であった。

## 結 果

吸収・排泄試験 ハマチにアンピシリンを 100 mg/kg·b.w. になるように、1回強制経口投与をおこなったときの、経時的な血清中のアンピシリン含量の変化は Table 1 および Fig. 1 に示すとおりである。なお、標準曲線は Fig. 2 に示すとおりである。

残留試験 ハマチにアンピシリンを 40 mg/kg·b.w./day で5日間連続経口投与をおこなったときの経時的な血中ならびに各臓器への移行量は Table 2 に示すとおりである。なお、標準曲線は

Table 1. Concentration of ampicillin in serum as mcg/ml following oral administration at 100 mg/kg·b.w.

	Hours after oral administration								
	1	2	3	6	12	18	24	48	72
Concentration of ampicillin (mcg/ml)	7.1	0.54	0.42	0.38	0.07	0.03	—	—	—

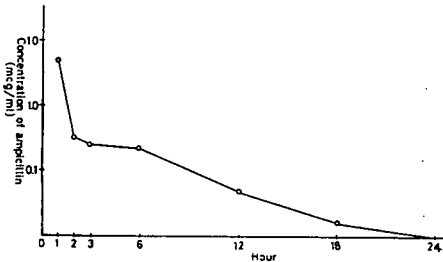


Fig. 1. Concentration of ampicillin in serum as mcg/ml following oral administration at 100 mg/kg·b.w.

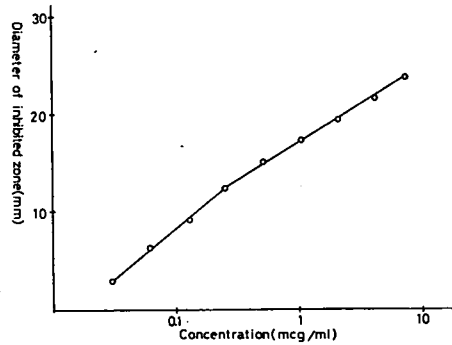


Fig. 2. Standard curve for bioassay.

Table 2. Concentration of ampicillin in tissues of yellowtails as mcg/ml or g by oral administration at 40 mg/kg·b.w./day for five days.

Organ	Hours shortly before and after final administration (hour)									
	s. b.	1	3	6	12	24	48	72	96	120
Serum	—	9.4	0.36	0.12	0.077	—	—	—	—	—
Liver	0.018	8.0	0.095	0.067	0.019	0.016	0.015	0.013	—	—
Kidney	0.030	8.6	0.15	0.11	0.090	0.034	0.013	—	—	—
Spleen	0.048	9.4	0.23	0.19	0.064	0.062	—	—	—	—
Muscle	—	0.20	0.048	0.021	0.018	—	—	—	—	—
Stomach	—	8.0	0.16	0.11	0.021	0.018	—	—	—	—
Intestine	0.054	8.0	0.50	0.16	0.13	0.067	0.013	—	—	—

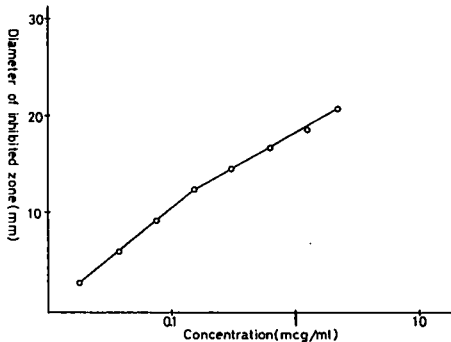


Fig. 3. Standard curve for bioassay by *Bacillus subtilis* ATCC-6633.

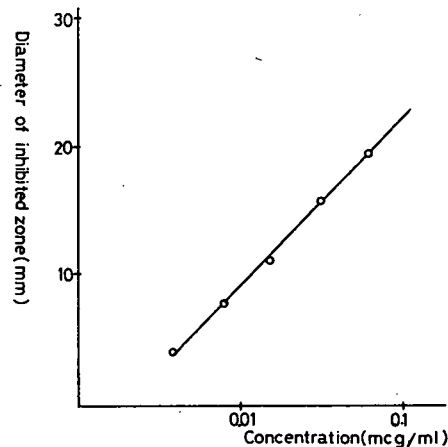


Fig. 4. Standard curve for bioassay by *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* C-953.

Fig. 3 および Fig. 4 に示すとおりである。

**安全性試験** アンピシリンをハマチに 100 mg/kg·b.w./day で 5 日間連続経口投与した安全性試験では、試験期間中に斃死魚はみられなかった。

また、行動、呼吸および体色にも異常は全くみられなかった。剖検所見は投薬開始後 5 日目と 10 日目の 2 回おこなったが、肝臓、腎臓、脾臓、腸管および筋肉に異常は全くみられなかった。

## 考 察

ハマチにアンピシリンを 100 mg/kg·b.w. になるように強制的に経口投与した場合、投与 1 時間後で血清中に最大値 7.1 mcg/ml のアンピシリンが移行した。*in vitro* での類結節症菌に対するアンピシリンの MIC は 0.04~0.08 mcg/ml であり、約 90~180 倍量のアンピシリンが血清中へ移行している。また、24 時間後には定量感度以下に減少し、排泄も速やかにおこなわれた。また、アンピシリンを 40 mg/kg·b.w./day で 5 日間連続して経口投与した場合、血清中に最終投薬 1 時間後で 9.4 mcg/ml の吸収がみられた。ROLINSON ら<sup>2)</sup> は、*Salmonella typhimurium* に対してアンピシリンは、その MIC よりやや高い濃度で殺菌的に作用することを報告している。このことから、アンピシリンは 40 mg/kg·b.w./day で 5 日間連続投与により、類結節症菌に対して殺菌的に作用することが予想される。また、安全性においても異常は認められず、ハマチに対する使用は可能と思われる。

## 要 約

アンピシリンのハマチ類結節症治療薬としての応用に関する研究の一環として、ハマチ魚体内でのアンピシリンの吸収・排泄・残留および安全性について実験をおこない、次の結果を得た。

1. ハマチに 100 mg/kg·b.w. のアンピシリンを強制的に 1 回経口投与すると、投与 1 時間後には血清中に 7.1 mcg/ml のアンピシリンが検出された。24 時間後には検出感度以下であった。

2. ハマチに 40 mg/kg·b.w./day のアンピシリンを 5 日間連続して経口投与すると、最終投与 1 時間後に、血清と脾臓中で 9.4 mcg/ml or g のアンピシリンが検出された。最も長時間アンピシリンが残留した肝臓中では、96 時間後には検出感度以下であった。

3. アンピシリンを 100 mg/kg·b.w./day で 5 日間連続して経口投与したハマチには、臨床所見および剖検所見で異常は認められなかった。

## 文 献

- 1) 楠田理一・井上喜久治：日水誌，42，969~973（1976）
- 2) G. N. ROLINSON and S. STEVENS：Brit. Med. J. 2，191~196（1961）

（昭和51年12月10日受理）

（昭和52年10月5日分冊発行）