

## 養殖ブリのノカルジア症に対する エリスロマイシンの効果<sup>\*1</sup>

畠井喜司雄<sup>\*2</sup>・安元 進・安永 統男

Therapeutic Effects of Erythromycin (EM) against Nocardiosis in  
Yellowtails Experimentally Infected with *Nocardia kampachi*

Kishio HATAI, Susumu YASUMOTO, and Norio YASUNAGA

養殖ブリのノカルジア症は1968年8月三重県尾鷲においてはじめて発生した疾病で、体表に膿瘍、鰓に結節、さらには内臓に粟粒結節の形成されるのが特徴で、その原因菌は*Nocardia kampachi*と命名されている<sup>1)</sup>。本症はその後西日本各地のブリ養殖場に広がり、現在では養殖ブリの重要な疾病になっている。本症は長崎県内でも毎年発生して少なからぬ被害を与えているが、その対策法はまだ確立されていない。本症の治療法を確立することは今後のブリ養殖を健全に行うためにも重要な課題の一つである。

本報では人為感染ノカルジア症に対する化学療法剤、とくにエリスロマイシン(EM)の治療効果について検討したのでその概要について述べる。

### 材料および方法

人為感染試験は1981年11月4日に長崎県西彼杵郡大島町の養殖場で、ブリ0才魚の脾臓から分離した*Nocardia kampachi* NA8191を用い、通常プレインハートインヒュージョン寒天培地(ニッスイ)での25℃、4日間培養菌の1mg<sup>\*</sup>(湿菌量)を魚体重100g宛0.2mlの生理食塩水に懸濁させ、MS222で麻酔した各供試魚の背部筋肉内に接種する方法によった。<sup>2)</sup>

本報で述べる実験Ⅰ～Ⅳについて、その実施期間、水温、魚令、接種菌量、供試尾数、魚体重、供試薬剤、投薬量および投薬期間に関しては表1に示した。なお実験Ⅰは2×2×2mの、実験ⅡおよびⅢは1.5×1.5×1.5mの、また実験Ⅳは1×1×1mの網生簀を用いて行った。治療試験はオレゴンペレットに

供試薬剤を混入して自由摂餌させる方法とし、投薬は通常菌接種後1時間後から実施した。また投薬時の給餌量は実験開始前約1週間の馴致期間中に摂餌したオレゴンペレットの量から、その日間平均摂餌量の80%とした。その結果、給餌率は実験Ⅰが3.5～4.6%，実験Ⅱが4.6～5.0%(1回目)および3.2～3.4%(2回目)、実験ⅢおよびⅣが6.5%であった。

実験ⅠはEMの有効治療量を決定するために行い、実験ⅡはEMを5日ずつ計2回投与した場合の治療効果について検討した。実験Ⅲは50mg/kgのEMを3日ずつ1回または2回投与した実験であるが、その際投薬は菌接種後、各々0，4，8日後から開始する群にわけて行った。すなわち、感染段階と治療効果との関係についての検討を試みた。実験ⅣはEMおよび他の水産用医薬品、すなわち、塩酸オキシテトラサイクリン(OTC)、クロラムフェニコール(CP)、オキソリン酸(OX)、スルファモノメトキシン(SMM)、スピラマイシン(SP)を供試し、各薬剤の常用最大投薬量を5日間ずつ2回投与する方法によりその治療効果を検討した。

各実験において試験終了時に生残した供試魚はすべて解剖し、肉眼的に体表、鰓および内臓等における結節形成の有無を観察した。

### 結果および考察

実験Ⅰの結果は図1に示した通りである。すなわち対照群では高い死率が77.8%であったのに対して、他群では30日後まで高い死が認められず、また異常

\*1 養殖ブリのノカルジア症に関する研究—Ⅱ。

Studies on Nocardiosis of Cultured Yellowtail, *Seriola quinqueradiata*—Ⅱ.

\*2 現在 日本獣医畜産大学魚病学教室

表1. 実験方法  
Table 1. Summary of the materials and methods used in this study

Experiment	Periods of experiment (1982)			Water temperature (average) °C	Age of fish used	Injection size of <i>Nocardia kampachi</i> NA8191 (mg/1.00 g fish)
	No.	Group	Average weight			
I	31	May to 1, Jul	21.6 to 23.8 (22.6)	EM	1	1
	9	Jun to 2, Aug	21.6 to 26.6 (23.4)	EM	1	2 (5.6 × 10 <sup>6</sup> CFU*)
	11	Aug to 15, Oct	22.0 to 28.0 (24.9)	EM	0	1 (2.4 × 10 <sup>6</sup> CFU)
	17	Sep to 15, Oct	22.0 to 24.9 (23.6)	EM	0	1
* Colony forming unit.						
Experiment	1st treatment			2nd treatment		
	No. of fish	Average weight	Drug *1 (mg/kg/day)	Dose *1 (mg/kg/day)	Drug *1 (mg/kg/day)	Periods of administration
I	G 1	7	795 g	EM	200	5 days
	G 2	10	840	EM	50	5
	G 3	10	835	EM	25	5
	G 4	9	660	EM	0	—
II	G 5	5	640	EM	100	5
	G 6	5	690	EM	50	5
	G 7	5	650	EM	0	—
III	G 8	10	104.8	EM	50	3
	G 9	8	110.5	EM	50	3
	G 10	10	101.0	EM	50	3
	G 11	15	100.7	EM	50	3
	G 12	10	104.0	EM	50	3
	G 13	15	109.1	EM	50	3
	G 14	20	96.0	EM	0	—
IV	G 15	10	125.7	OTC	50	5
	G 16	10	146.0	CP	50	5
	G 17	10	137.6	SMM	200	5
	G 18	10	133.5	OX	30	5
	G 19	10	133.0	EM	50	5
	G 20	10	136.0	SP	40	5
	G 21	10	142.0	—	—	—

\*1 EM: Erythromycin, OTC: oxytetracycline, CP: Chloramphenicol, SMM: Sulphonamethoxine, OX: Oxolinic acid, SP: Spiramycin.

\*2 ( ): The number of fish died with nocardial infection in the course of treatment.

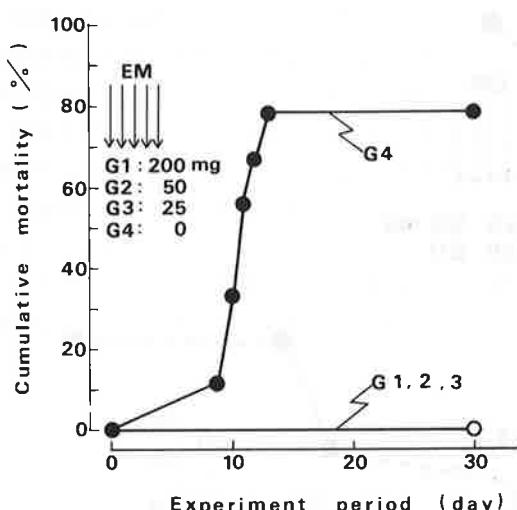


図1. 人為感染ノカルジア症に対するエリスロマイシンの治療効果（実験I）。

Fig. 1. Therapeutic effects of erythromycin (EM) against nocardiosis in yellowtails experimentally infected with *Nocardia kampachi* NA8191 (Experiment I).

表2. 実験Iの終了時に生残した供試魚における結節形成

Table 2. Gross findings for formation of tubercles in some organs of the survived fish sacrificed at the end of experiment I

Group	No. of fish	Body weight (g)	Fork length (cm)	Tubercles in				
				Muscle	Gill	Spleen	Kidney	Heart
G 1	1	820	38.0	*	—	—	—	—
	2	980	40.7	—	—	—	—	—
	3	530	33.5	—	—	—	+	—
	4	910	39.0	—	—	—	—	—
	5	730	37.5	—	—	—	—	—
	6	740	36.7	—	—	+	—	—
	7	950	38.7	—	—	+	—	—
G 2	1	990	39.5	—	—	—	—	—
	2	940	40.0	—	—	—	—	—
	3	940	40.2	—	—	+	—	—
	4	860	39.2	—	—	++	—	—
	5	830	37.7	—	—	+	—	—
	6	960	40.2	—	—	+	—	—
	7	920	39.7	—	—	+	—	—
	8	900	38.7	—	—	+	—	—
	9	920	38.7	—	—	+	—	—
	10	900	37.2	—	—	+	—	—
G 3	1	1030	42.0	—	—	++	—	—
	2	1160	42.2	—	+	+	—	—
	3	720	36.2	—	+	+	—	—
	4	900	39.4	—	—	+	—	—
	5	1000	40.0	—	—	—	—	—
	6	1050	40.5	—	—	+	—	—
	7	760	36.5	—	—	—	—	—
	8	960	39.7	—	—	+	—	—
	9	1020	40.0	—	—	+	—	—
	10	880	38.2	—	—	—	—	—
G 4	1	900	39.5	—	+	++	++	—
	2	740	36.7	—	+	++	—	—

\* Symbols: —, no gross tubercle, +, ++, +++, degree of tubercle formation (slight, moderate and extensive)

遊泳を呈することもなかった。しかし生残魚の脾臓には投薬量の少ない群程結節形成を呈する個体が多くみられた(表2)。ただし結節の程度は軽度でありしかも他の部位には結節がほとんど認められなかったことから、投薬の方法によってはEMの治療効果が期待されるものと推察された。しかしながらEMを含むオレゴンペレットの摂餌状況は以下に述べる如く投薬量の多い群ほど悪い傾向を示した。すなわち、200 mg投与群の供試魚は投薬初日にかろうじて全量摂取したものの、2および3日目には調餌量の20%程度しか摂餌せず、4日目にはまったく摂餌しようとなかった。また50 mg投与群では3日目まで良好な摂餌を示したが、4日目は60%程度の摂餌であり、5日目には20%程度に低下した。しかし25 mg投与群は5日目まで良好な摂餌を示した。

以上述べた治療効果および摂餌性から判断すると、連続投薬の場合EMの最大投薬量は50mgが限界であると判断される。しかし50mg投与群の生残魚には

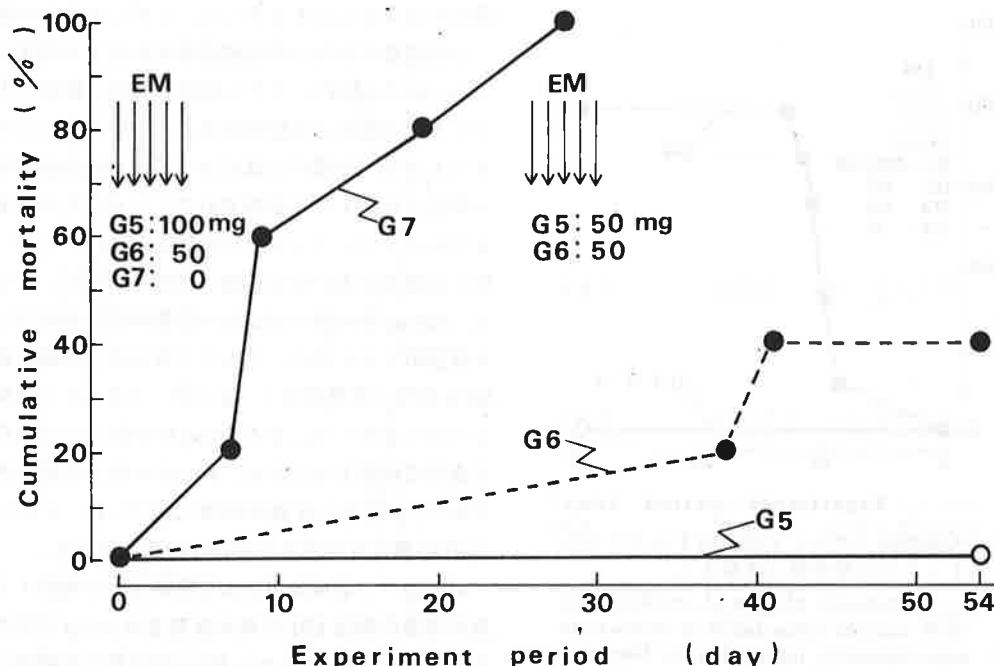


図2. 人為感染ノカルジア症に対するエリスロマイシンの治療効果（実験Ⅱ）。

Fig. 2. Therapeutic effects of erythromycin (EM) against nocardiosis in yellowtails experimentally infected with *Nocardia kampachi* NA8191 (Experiment II).

表3. 実験Ⅱの終了時に生残した供試魚における結節形成

Table 3. Gross findings for formation of tubercles in some organs of the survived fish sacrificed at the end of experiment II

Group	No. of fish	Body weight (g)	Fork length (cm)	Tubercles in					
				Muscle	Gill	Spleen	Kidney	Heart	Liver
G 5	1	1000	41.4	—*	—	—	—	—	—
	2	870	39.5	—	—	—	—	—	—
	3	460	34.0	—	—	—	—	—	—
	4	—	—	—	—	—	—	—	—
	5	—	—	—	—	—	—	—	—
G 6	1	940	40.5	—	—	+	—	—	—
	2	1020	41.5	—	—	+	—	—	—
	3	850	41.3	—	—	+	—	—	—

\* See Table 2.

結節が形成されていることから、その完治の為にはさらに間隔をあけて再度投薬する方法を検討する必要があると思われた。

実験Ⅱの結果、対照魚は顕著な病徵を発現して100%へい死したのに対して、100mg投与後、50mgをさらに投与した群（G 5）にはへい死がみられず（図2）、またその生残魚に結節は認められなかった（表

3）。しかし50mg投与後、さらに50mgを投与した群（G 6）ではへい死率が40%に達し、しかもその生残魚には結節が明瞭に認められた。本実験における1回目の投薬時に、100mg投与群は2日目から摂飢性が低下し、4日目以後50%程度の餌を摂取するにとどまつた。また50mg投与群は2日目以後摂飢性が低下する傾向を示した。しかし一定期間休薬した後

に実施した2回目の投薬時に、前者は2日間ほぼ全量を摂餌したが、3日目以後は5~10%程度しか摂餌しなかった。これは明らかにEMに忌避性を示した結果と思われる。また後者への2回目の投薬では最初から摂餌不良であった。この場合の摂餌性の低下は薬剤の影響よりも病状の悪化に原因したものであると思われる。

以上述べたことから判断すると、100mgの5日間投薬はかなりの治療効果を有するといえる。しかし

100mgの投薬は摂餌性が低下すること、また経済的負担が大きいことなどから、できれば50mg投薬で治療する方法を見出しが望ましいと思われる。本実験は2回目の投薬が1回目の投薬終了後22日後であったことから、その間隔をさらに短縮する方法により治療効果を高めることができるのでないかと判断した。

実験Ⅲの結果は図3に示した通りである。図3から明らかなように、対照群（G14）では菌接種後27

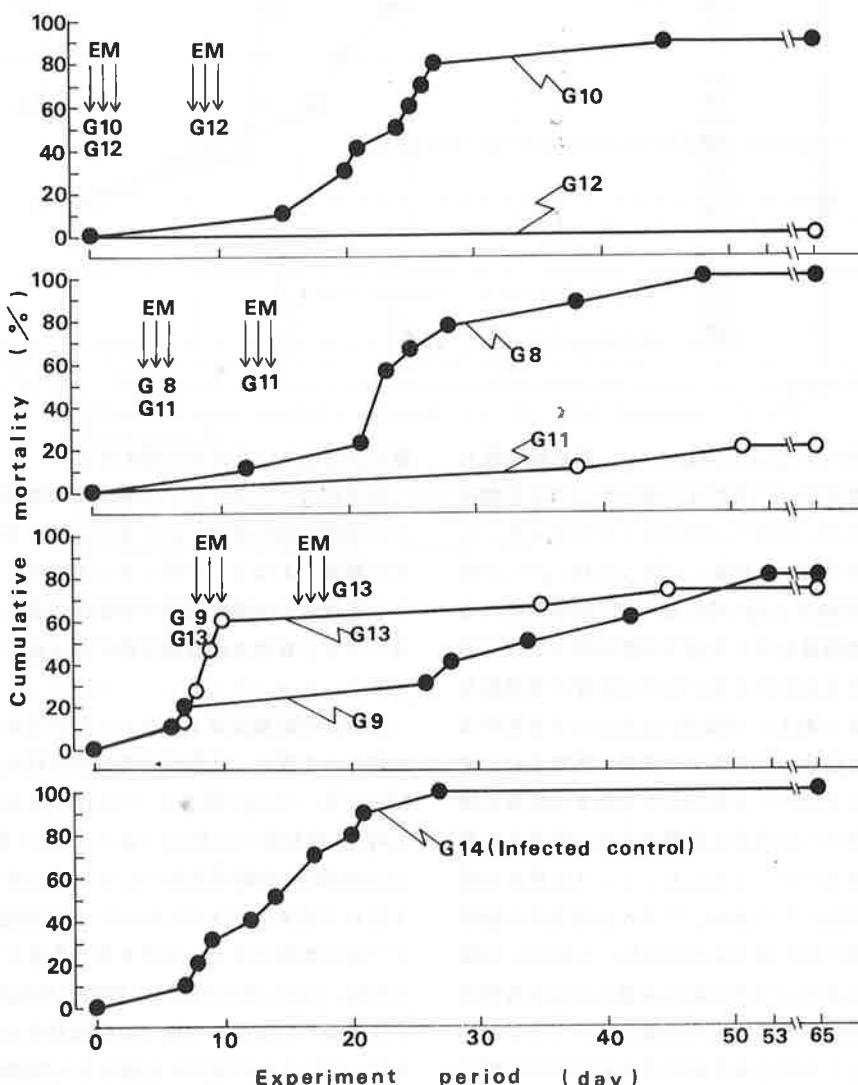


図3. 人為感染ノカルジア症に対するエリスロマイシンの治療効果（実験Ⅲ）。

Fig. 3. Therapeutic effects of erythromycin (EM) against nocardiosis in yellowtails experimentally infected with *Nocardia kampachi* NA8191 (Experiment III). Dose : 50 mg/kg/day.

表4. 実験Ⅲの終了時に生残した供試魚における結節形成

Table 4. Gross findings for formation of tubercles in some organs of the survived fish sacrificed at the end of experiment III

Group	No. of fish	Body weight (g)	Tubercles in					
			Muscle	Gill	Spleen	Kidney	Heart	Liver
G 9	1	175	—*	—	—	—	—	—
	2	265	—	—	+	+	—	—
G 10	1	195	—	++	+	+	—	—
G 11	1	285	—	—	+	—	—	—
	2	255	—	—	—	—	—	—
	3	150	+	—	+++	—	—	—
	4	255	—	—	—	—	—	—
	5	250	—	—	—	—	—	—
	6	280	—	—	—	—	—	—
	7	205	—	—	—	—	—	—
	8	—	—	—	—	—	—	—
G 12	1	350	—	—	—	—	—	—
	2	335	—	—	—	—	—	—
	3	270	—	—	—	—	—	—
	4	320	—	—	—	—	—	—
	5	215	—	—	+	+	—	—
	6	305	—	—	+	+	—	—
	7	173	—	—	—	—	—	—
	8	245	—	—	—	—	—	—
	9	—	—	—	—	—	—	—
	10	—	—	—	—	—	—	—
G 13	1	270	—	—	—	+	—	—
	2	225	—	—	++	++	+	—
	3	230	—	—	++	++	+	—
	4	—	—	—	—	—	—	—

\* See Table 2.

日以内に全尾へい死したのに対して、菌接種後直ちに3日間投薬を行い、その5日後にさらに3日間投薬した群（G 12）にはへい死がみられなかった。しかし最初の3日間だけ投薬した群（G 10）のへい死率は最終的に90%に達した。従って、感染初期に3日間ずつ2回投薬を行う方法は治療効果を著しく高めることができるといえる。しかしG 12の生残魚を解剖した結果（表4）、供試魚10尾のうち8尾中2尾（2尾は試験途中に逃走）に結節が観察され、本法が完全ではないことを示した。なお2回投薬の場合、各試験群のへい死率は投薬直後から投薬した群（G 12）が0%であったのに対して、4日後から投薬した群（G 11）では20%，さらに8日後から投薬した群（G 13）では73.3%であった。すなわち、EMの治療効果はたとえ2回投薬を実施しても菌接種後投薬までの時間が長くなる程急速に低下することは明白である。このことからEMによる本症の治療は感染初期にのみ有効なのではないかと推察された。なお本実験では各群とも摂餌は良好であったが、これは投薬期間が3日間であったためか、又は飼育状

態が良好であったためと思われる。

以上述べたことから、治療成績は菌接種後投薬までの時間の短い方が、また1回よりも2回投薬した方が顕著であることが明らかにされたといえる。しかし生残魚の一部に結節の形成が認められたことから、さらに有効な治療法を検討する必要があると思われた。

実験IVの結果は図4に示した通りである。図4から明らかな様に、人為感染魚のへい死率は対照群が90%であったのに対して、OX投与群では90%，またOTC投与群では80%であり、CP, SMM, EMおよびSPの各薬剤を投与した群では0%であった。すなわち図4からはOXおよびOTCの2剤がノカルジア症に無効であり、他の4剤は有効であると判断される。しかしその生残魚を剖検すると（表5）、EMおよびSPを投与した魚には結節がまったく認められず、CPおよびSMMを投与した魚にのみ結節が認められる成績であった。すなわちCPおよびSMM投与魚はやがてへい死する運命にあったものと推察される。この事実は本症の治療試験を行う際にはか

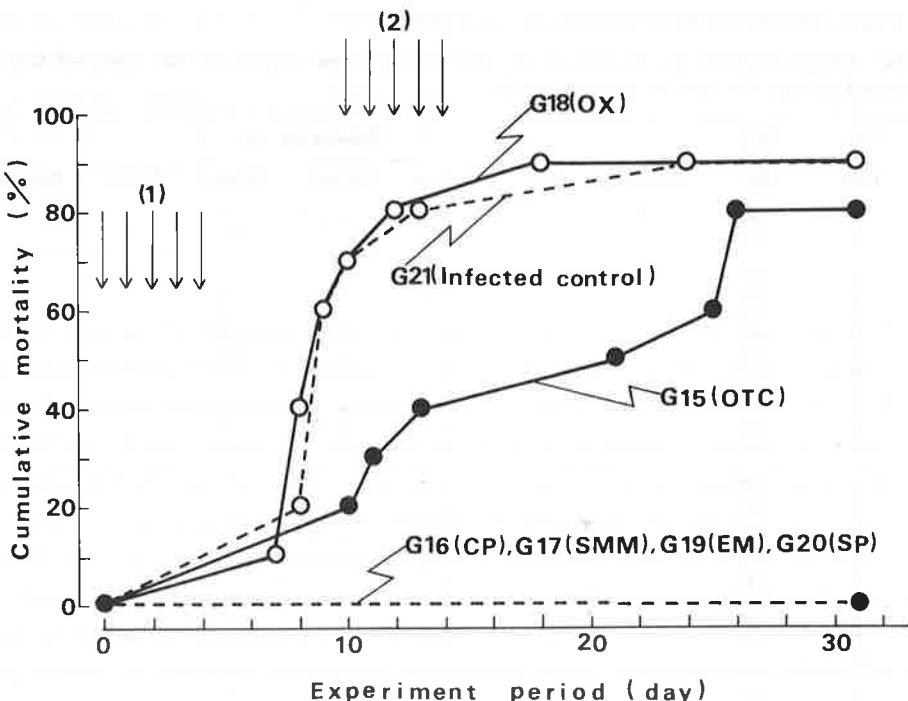


図4. 人為感染ノカルジア症に対する各種化学療法剤の治療効果（実験IV）。

Fig. 4. Therapeutic effects of various chemotherapeutics against nocardiosis in yellowtails experimentally infected with *Nocardia kampachi* NA8191 (Experiment IV).

G15(OTC) : Oxytetracycline; 50 mg/kg, G16(CP) : Chloramphenicol; 50 mg/kg, G17(SMM) : Sulfamonomethoxine; 200 mg/kg, G18(OX) : Oxalic acid; 30 mg/kg, G19(EM) : Erythromycin; 50 mg/kg, G20(SP) : Spiramycin; 40 mg/kg, G21(Infected control).

なり長期間にわたってその経過を観察する必要があり、その上ではじめて薬剤の有効性を論じることが可能であることを示唆していると思われる。

なお、感染試験に用いた *N. kampachi* NA8191 に対する各供試薬剤の最小発育阻止濃度 (MIC) は OTC が  $1.56 \mu\text{g}/\text{ml}$ , CP が  $3.13 \mu\text{g}/\text{ml}$ , OX が  $25 \mu\text{g}/\text{ml}$ , EM が  $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ , SMM が  $0.38 \mu\text{g}/\text{ml}$  および SP が  $1.56 \mu\text{g}/\text{ml}$  であったが<sup>3)</sup>、本実験結果は *in vitro* での MIC 値と *in vivo* での治療成績とが必ずしも一致していないことを示しており興味深い。すなわち有効薬剤を選択する際には単に MIC 値の低い薬剤を選択するのではなく、*in vitro* と *in vivo* との成績の相関を十分に検討し、把握しておくことが重要と思われる。

本実験では各試験群とも摂餌は良好であり、EM 投与群においても特に問題がみられなかった。これ

までの実験 I ~ IV の各摂餌状況から判断すると、摂餌不良であったのは 1 年魚に投与した時であり、これに対して 0 年魚に投与した時にはあまり問題がなかったことになる。すなわち 1 年魚は 0 年魚よりも EM に敏感であることを示している。従って、今後ブリに EM を投与する際にはこの点を十分に考慮し、1 年魚への投薬には何らかの配慮が必要なのではなかいかと思われた。

本治療試験はオレゴンペレットに EM を混入して投与した場合の成績であったが、他の餌料形状、たとえば展着剤 0.5% 加ミンチ肉に EM を混入して投与する方法はオレゴンペレットでの投与と比較してブリ組織内への薬剤の吸収量が著しく低下することが明らかにされている。<sup>4)</sup> これが単にミンチ肉に EM を混入して投与したならばさらに低い組織内濃度しか得られないことは明白である。<sup>5)</sup> 従って同じ 50 mg/kg

表5. 実験IVの終了時に生残した供試魚における結節形成

Table 5. Gross findings for formation of tubercles in some organs of the survived fish sacrificed at the end of experiment IV

Group	No. of fish	Body weight (g)	Tubercles in					
			Muscle	Gill	Spleen	Kidney	Heart	Liver
G 15	1	187	—*	—	+++	+++	++	—
	2	113	—	+	+	+	+	—
G 16	1	230	—	—	—	—	—	—
	2	250	—	+	++	+	++	—
	3	210	—	—	+	++	++	—
	4	265	—	—	+	+	++	—
	5	210	—	—	+	+	++	—
	6	250	—	—	+	+	++	—
	7	195	—	—	+	+	+	—
	8	210	—	—	+	+	+	—
	9	195	—	—	++	++	++	—
	10	210	—	—	+	+	+	—
G 17	1	133	—	—	—	—	—	—
	2	190	—	—	—	—	—	—
	3	180	—	—	+	—	+	—
	4	162	—	—	+	+	+	—
	5	212	—	—	+	+	—	—
	6	145	—	—	+	—	—	—
	7	275	—	—	+	+	—	—
	8	205	—	—	+	+	+	—
	9	195	—	—	+	+	—	—
	10	—	—	—	—	—	—	—
G 18	1	215	—	—	+	+	+	—
G 19	1	227	—	—	—	—	—	—
	2	130	—	—	—	—	—	—
	3	195	—	—	—	—	—	—
	4	190	—	—	—	—	—	—
	5	185	—	—	—	—	—	—
	6	242	—	—	—	—	—	—
	7	210	—	—	—	—	—	—
	8	240	—	—	—	—	—	—
	9	185	—	—	—	—	—	—
	10	240	—	—	—	—	—	—
G 20	1	205	—	—	—	—	—	—
	2	152	—	—	—	—	—	—
	3	220	—	—	—	—	—	—
	4	250	—	—	—	—	—	—
	5	250	—	—	—	—	—	—
	6	232	—	—	—	—	—	—
	7	185	—	—	—	—	—	—
	8	225	—	—	—	—	—	—
	9	220	—	—	—	—	—	—
	10	210	—	—	—	—	—	—
G 21	1	250	—	—	+	+	+	—

\* See Table 2.

投与であっても、その餌料形状によって常に同一の治療成績が得られるとは限らないことに十分留意すべきである。

以上述べた実験I～IVの結果から、ノカルジア症は感染初期にEMまたはSPを5日間投与し、5日間休薬した後に再び5日間投薬する方法により治療可能であると判断されたが、今後野外での治療試験を行い、本治療法が自然発症ノカルジア症に対して最も有効であるか否かの知見を集積する必要があると

思われる。

## 要 約

- 人為感染ノカルジア症に対する化学療法剤、とくにエリスロマイシン(EM)の治療効果について検討した。
- ノカルジア症はブリへのEM投与量が、1日当たり50mg/kgとなるようにオレゴンペレットに混入し、まず感染初期に5日間投与し、5日間休薬し

た後に再び5日間投与する方法により治療可能であることを明らかにした。

3. EMの50mg/kgの連続投与はブリ1年魚では摂餌拒否反応を示すようになるが、ブリ0年魚では摂餌にはほとんど影響を及ぼさなかった。

4. 治療試験に用いた他の薬剤のうち、スピラマイシンはEMと同様にノカルジア症に有効であると判断されたが、オキソリン酸、塩酸オキシテトラサイクリン、クロラムフェニコール、スルファモノメトキシンは無効と判断された。

### Abstract

Studies were on the therapeutic effects of erythromycin (EM), oxytetracycline (OTC), oxolinic acid (OX), chloramphenicol (CP), sulphamonomethoxine (SMM), and spiramycin (SP) against nocardiosis in yellowtails (*Seriola quinqueradiata*) experimentally infected with *Nocardia kampachi* NA8191.

The efficacy of the therapeutic drugs was evaluated in two ways: counting the number of experimentally infected fish that died; and by the gross findings of tubercle formations in some organs of the survivors. These formations were observed by dissecting the survivors.

Initially the fish were administered 50 mg/kg of EM once a day for a five day period. For the next five days no drugs of any kind were given. For the final five days of the test, the same drug and dosage of the initial five days period was administered.

As a result, no tubercles were found and no fish died. Therefore we judged that the above method was effective in treating nocardiosis.

When 40 mg/kg of SP was administered to fish in a similar fifteen day test, the therapeutic effect was the same as the EM.

OTC, OX, CP, and SMM were not effective against nocardiosis.

### 文 献

- 1) 犬谷貞二・窪田三朗・中村恵江・吉良桂子 1968 : 養殖ハマチ・カンパチにおけるノカルジア症について—I. 細菌学的研究, 魚病研究, 3, 16-23.
- 2) 畠井喜司雄・安元進 1983 : 養殖ブリから分離された *Nocardia kampachi* の病原性 (養殖ブリのノカルジア症に関する研究—I), 長崎水試研報, 9, 25-30.
- 3) 畠井喜司雄・安元進・塚原淳一郎・平川栄一・安永統男・市来忠彦 1983 : 1982年に長崎県内の

養殖魚から分離された各種魚病細菌の薬剤感受性, 長崎水試研報, 9, 13-23.

- 4) 畠井喜司雄・安元進・安永統男 1984 : ブリ幼魚の組織内エリスロマイシン濃度に及ぼす投与法の影響 (養殖ブリ幼魚における薬剤の吸収および排泄—I), 長崎水試研報, 10, 79-83.
- 5) 安元進・畠井喜司雄・安永統男 1983 : ブリ幼魚の組織内クロラムフェニコール濃度に及ぼす投与法の影響 (養殖ブリ幼魚における薬剤の吸収および排泄—I), 長崎水試研報, 9, 37-45.