

5. スルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤

中 元 弘 次

(塩野義製薬株式会社・動植薬開発部)

Sulfamethoxazole - Trimethoprim Combination

Kozi NAKAMOTO

Plant and Animal Science Development, Shionogi Co., Ltd.

1. 本合剤の開発実用化の経緯

サルファ剤とジアミノピリミジン誘導体を配合することにより、細菌や原虫に対し強い相乗効果が発揮されることは、今日ではよく知られている。

これは1948年 Greenbergら¹⁾が、鶏マラリアに対するサルファジアジンの効果がクロルグアナイドの併用により高められることを見出したのが最初とされている。

ついで1955年 Rolloら⁸⁾が、この2種の薬剤の相乗作用は、サルファ剤が葉酸の合成を阻害し、さらにジアミノピリミジン誘導体が、葉酸還元酵素阻害剤として働くことにより発揮されることを明らかにした。

その後、種々のサルファ剤とジアミノピリミジン誘導体の配合の試みがなされ、その用途もマラリア、トキソプラズマ、コクシジウムなどに対する抗原虫剤として、あるいは広範囲のスペクトラムを有する抗菌剤として広く研究がなされてきた²⁾。

塩野義製薬では、すでに動物用医薬品としてブタの細菌性下痢症への効能が認められているスルファメトキサゾール (SMX) とジアミノピリミジン誘導体の中では最も抗菌作用が優れているとされているトリメトプリム (TMP) の配合について研究をすすめ、ブタに投与時の生体内動態が両薬剤で近似すること、細菌性下痢症の原因菌として重要な大腸菌に対して優れた相乗効果を発揮することより、この組み合わせが適当であることを認めた。

そこで、さらに動物用医薬品としての有用性を確認するための基礎的臨床的研究をすすめ、ブタの細菌性下痢症に対しSMXの使用量を減らして、かつ一層の効果が期待出来る製剤として開発を進め、SMX 5 : TMP 1の配合剤として商品化に至った (表13)。

なお、このSMXとTMPの配合剤はすでに人体用医薬品として、日本、英国、スイス、西独およびフランスなどの諸国で市販されている。

1) 配合意義

SMXとTMPの配合意義は、相乗効果を発揮することにある。表1に示すとおり、SMX、TMPおよびSMX-TMP配合剤 (ST) はグラム陽性菌群、グラム陰性菌群のほとんどの菌種に対して広範囲な抗菌スペクトラムを有し、ST (20 : 1) のMICはSMXおよびTMPのそれぞれのMICの中間に位置するが、ST (20 : 1) 中のSMX、TMPそれぞれのMIC

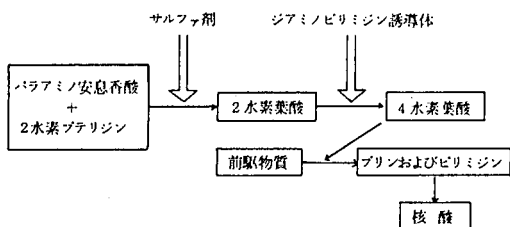


表1 抗菌スペクトラム (中澤ら⁶⁾)

a) グラム陽性菌

菌 株	SMX 単 独	TMP 単 独	ST (20 : 1) (SMX+TMP)
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P JC	25	0.39	0.78 (0.743+0.037)
" SMITH	6.25	0.39	0.78 (0.743+0.037)
" TERAJIMA	12.5	0.78	1.56 (1.486+0.074)
" E-46	50	0.39	1.56 (1.486+0.074)
" No. 50774	12.5	0.20	0.78 (0.743+0.037)
" NEWMANN	>100	0.20	6.25 (5.95+0.300)
<i>S. citreus</i>	3.12	0.78	0.78 (0.743+0.037)
<i>S. epidermidis</i>	12.5	1.56	3.12 (2.97+0.150)
<i>Streptococcus</i> S 23	25	0.39	1.56 (1.486+0.074)
<i>S. viridans</i>	>100	0.78	12.5 (11.9+0.600)
<i>S. faecalis</i>	>100	0.78	6.25 (5.95+0.300)
<i>Diplococcus pneumoniae</i> III	6.25	0.78	3.12 (2.97+0.150)
<i>Bacillus subtilis</i> PCI-219	1.56	0.10	0.39 (0.371+0.019)
<i>B. anthracis</i>	25	100	25 (23.8+1.200)
<i>Sarcina lutea</i> PCI-1001	0.78	0.78	0.39 (0.371+0.019)
<i>Conynebacterium diphtheriae</i>	12.5	0.20	0.78 (0.743+0.037)

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

b) グラム陰性菌

菌 株	SMX 単 独	TMP 単 独	ST (20 : 1) (SMX+TMP)
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	1.56	0.025	0.10 (0.095+0.0048)
" NIHJ JC 1	3.12	0.10	0.39 (0.371+0.019)
" NIHJ JC 2	3.12	0.05	0.39 (0.371+0.019)
" K-12	1.56	0.20	0.39 (0.371+0.019)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3.12	0.78	0.78 (0.743+0.037)
<i>Salmonella enteritidis</i>	12.5	0.10	0.78 (0.743+0.037)
<i>S. paratyphi</i> A	12.5	0.05	0.39 (0.371+0.019)
" B	12.5	0.05	0.39 (0.371+0.019)
<i>S. typhi</i> T-30 Roma	6.25	0.05	0.39 (0.371+0.019)
" T-287	6.25	0.025	0.39 (0.371+0.019)
" O-901	3.12	0.006	0.10 (0.095+0.0048)
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.39	0.006	0.10 (0.095+0.0048)
<i>S. flexneri</i> Komagome	3.12	0.05	0.78 (0.743+0.037)
" 2aEW-10	>100	0.05	1.56 (1.486+0.074)
<i>S. dysenteriae</i> EW-7	3.12	0.05	0.39 (0.371+0.019)
<i>S. boydii</i> EW-28	0.78	0.05	0.10 (0.095+0.0048)
<i>Proteus morgnii</i> KONO	1.56	0.78	0.39 (0.371+0.019)
<i>P. vuigaris</i> OX-19	0.78	0.20	0.39 (0.371+0.019)
<i>P. mirabilis</i> 1287	3.12	0.39	0.39 (0.371+0.019)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3.12	0.20	0.78 (0.743+0.037)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	>100	>100	>100 (>95.2+>4.8)

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

に比べると、多くの菌種において明らかな相乗効果が得られている⁶⁾。

つぎに、*in vivo* におけるSMXとTMPの協力作用を証明するために、マウスを用いて実験的*Escherichia coli*感染症に対する治療効果をみたのが図1である。すなわち、SMX単独投与群では4mg(マウス1頭あたり。以下同じ)で80%、2mgで70%、1mgで60%、0.5mgで10%の治療効果(生存率)が得られた。一方、併用のST(5:1)投与群においては0.5mgおよび0.25mgで100%、0.125mgで90%、0.06mgで80%の治療効果が得られ、ST(5:1)の併用群中に含まれているSMXおよびTMP量の各々単独における治療効果と考えあわせると、併用群において著しい協力作用が認められた⁶⁾。

さらに、SMXとTMPを配合するメリットの一つとして菌の耐性化防止に役立つことがあげられる。図2は増殖的継代法による*E. coli* NIHJ JC-2株のSMX、TMPおよびSMX-TMPに対する耐性獲得

SMXでは、継代12代目までTMPとかなり類似した段階的上昇を示したが、TMPに比べると耐性化はやや起り難く、15代目で200 μ g/ml(原株の128倍)の耐性を示し、以後20代までは横ばいの状態を示した。また、TMPでは最

も耐性が起りやすい傾向を示し、継代4代目以降においてSMXおよびSMX-TMPとの差が認められ、段階的耐性上昇を示し、以後20代まで横ばいの状態を示した。

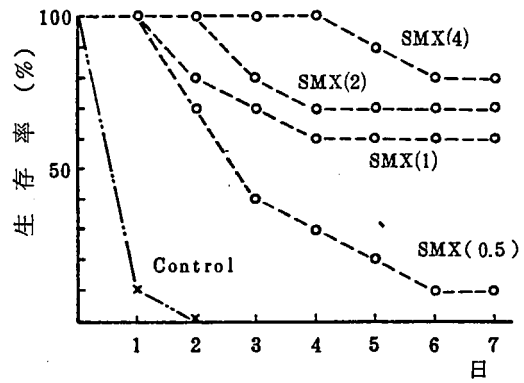
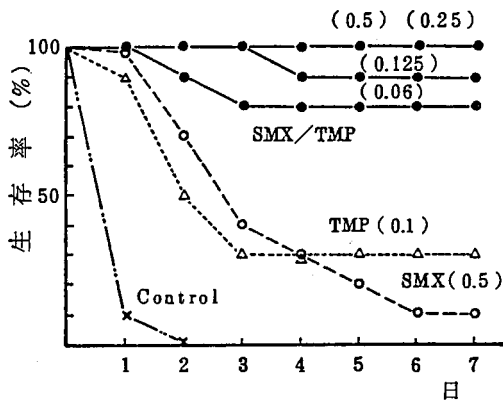
これに対し、SMX-TMPの場合は、3代目以降横ばいの状態が長く続き、両薬剤に比べ明らかに耐性化は起り難い傾向を示し、11代目で0.78/0.05 μ g/ml(原株の8倍)の耐性を示し、以後20代までは横ばいの状態を示した⁵⁾。

以上、SMXとTMPの配合意義を述べてきたが、これらのメリットをより有効に臨床効果に反映させるためには、それぞれの薬剤の生体内動態が互いに類似することが望ましい。

そこで、対象動物であるブタにST(5:1)20mg/kgを経口投与したときのSMX、TMPの血中濃度をみた。その成績は図3のとおりで、SMXおよびTMPとも投与後30分~1時間で最高血中濃度に達し、またその濃度の半減する時間はともに約3時間で類似した動態を示した。すなわち、SMXとTMPの組み合わせは、ブタの細菌感染症薬剤として好ましいといえる。

2) 配合比

SMXとTMPの配合意義は、その相乗効果にあることは、すでに述べたとおりである。したがって、至適配合比としては、最も相乗効果



()内は投与量mg/mouseを示す。

菌株: *E. coli* NIHJ

菌接種: 3 LD₅₀ (1 × 10⁸ cells/mouse) i.p.

マウス: ddys

薬剤投与: 菌接種2時間後経口投与

図1 *E. coli* によるマウス実験的感染に対する効果 (中澤ら⁶⁾)

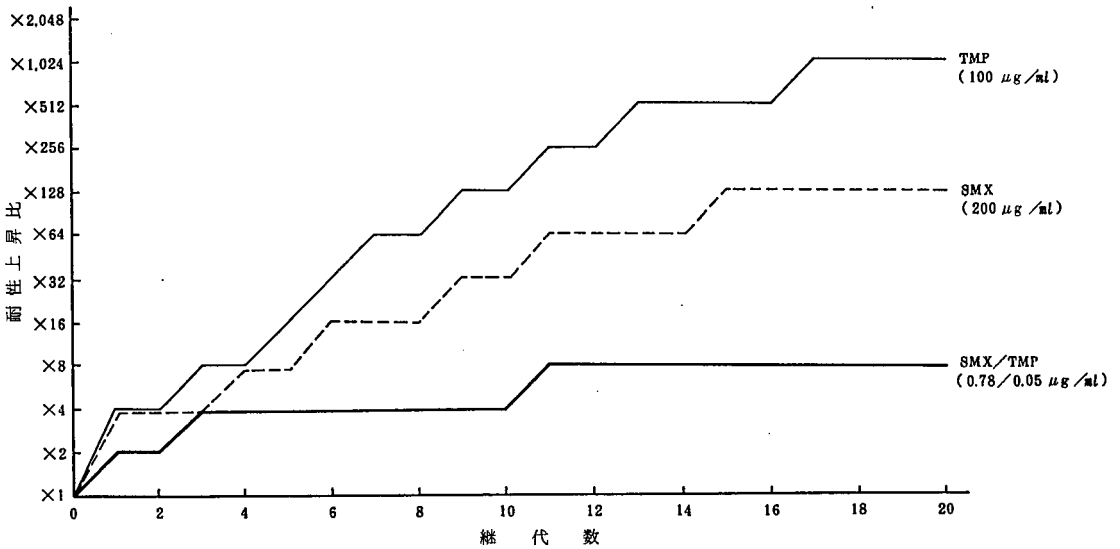


図2 SMX, TMPおよびSMX/TMPに対する *E. coli* NIHJ JC-2の耐性獲得状態 (真山ら⁵⁾)

の大きい配合比を用いるのが適当と考えられる。

そこで, *in vitro*での相乗効果を調べるためにSMXとTMPの各種濃度比の組み合わせを作り, その抗菌力を測定した。なお, 相乗効果の程度を表現する指数としてFIC-index*を用いた。

その結果, *E. coli* NIHJ JC株では, 表2, 表3のとおり, SMX:TMPが16:1付近で最小のFIC-index, すなわち最大の相乗効果が得られることがわかった。

また, 家畜症例由来 *E. coli* を用いた例

*FIC-index (fractional inhibitory concentration index) は薬剤の相乗作用を表現する指数として用いられているものである。この指数はA剤とB剤を併用した場合のMIC($a_c + b_c$)のうち, A剤またはB剤が占める濃度 (a_c または b_c)を単独使用時のMIC(a_0 または b_0)で割った指数の和, すなわち $\frac{a_c}{a_0} + \frac{b_c}{b_0}$ のことである。

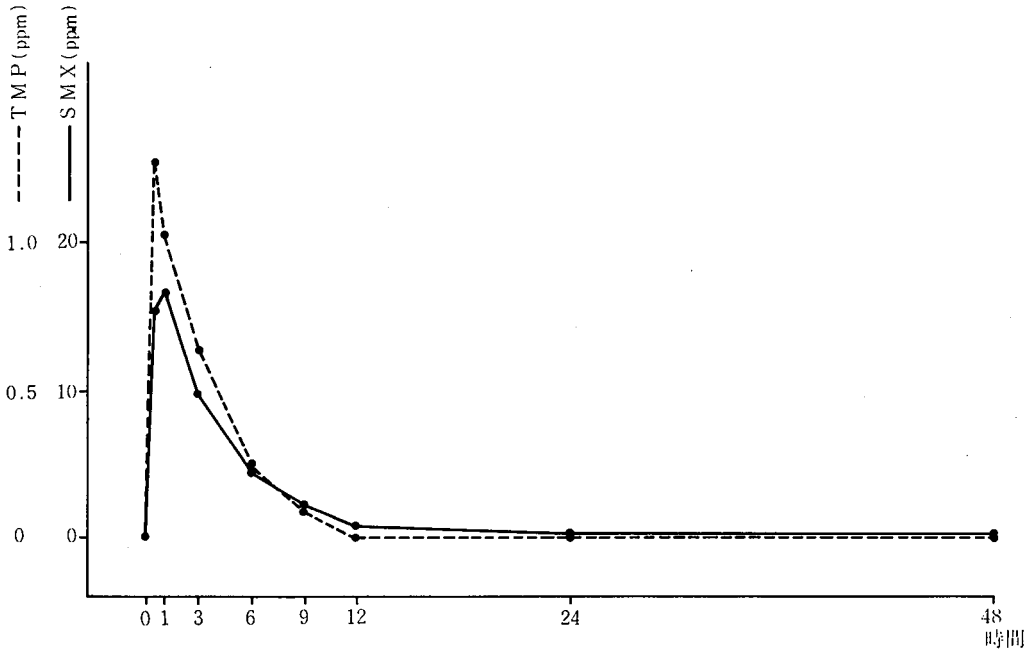
FIC-indexが1の場合は相加作用, 1より小さい場合には相乗作用であり, 1より小さければ小さいほど相乗作用の程度が強いとされる。また, 1より大きい場合には, 拮抗作用があると考えられる。

(表4)からも最大の相乗効果が得られる配合比は, 16:1~32:1付近であった。すなわち, *in vitro*での至適配合比としては, SMX:TMPが16:1~32:1が適当だと判断される。

*in vitro*での抗菌力は, 生体内での薬剤の抗菌力を模したものであり, *in vitro*で16:1~32:1の配合比が至適であれば, 生体内濃度(この場合血中, 組織内, 各種体液内濃度などが考えられるが, 代表的には血中濃度)でもSMX:TMPがこの比率になっていれば最大の相乗効果があげられることが容易に推察される。

医薬分野で用いられているST(5:1)合剤は, 上記の考え方に基づき根拠づけられた配合比であり, 図4に示されるとおり, ST(5:1)合剤をヒトに投与した時にはSMX/TMPの血中濃度比は, ほぼ20:1~30:1の範囲にあり, 生体内において最大の相乗効果が期待できる⁷⁾。

同様に, ST(5:1)合剤をブタに投与したところ, 図5のとおりSMX/TMPの血中濃度比はほぼ20:1で推移し, 医薬分野で用いられていると同様の5:1の配合比が, ブタの場合にも至適配合比となることが確認された。



(注) 未発表：奥村 保 (塩野義製薬)

SMX, TMPとも高速液体クロマトグラフ法で測定

図3 プタにST (5 : 1) 20mg/kg経口投与後の血中濃度

表2 Chequer Board Titration MethodによるSMXおよびTMPの協力作用 (中澤ら⁶⁾)

E. coli NIHJ JC

SMX \ TMP	1.56	0.78	0.39	0.20	0.10	0.05	0.025	0.012	0.006	0.003	SMX 単 独
5.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1.25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.625	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.312	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
0.156	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
0.078	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
0.039	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
0.020	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
0.010	-	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+
TMP 単 独	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

(注) +は接種菌の発育, -は接種菌の発育阻止を示す。

点線内の一は, 各単剤のMICより低い濃度の両薬剤の組み合わせにより菌の発育が阻止されたことを示す。

表3 Chequer Board Titration MethodにおけるFIC-index (中澤ら⁶⁾)

菌株	単剤のMIC		合剤のMIC		FIC		FIC index	配合比
	a ₀	b ₀	a _c	b _c	a _c /a ₀	b _c /b ₀	a _c /a ₀ + b _c /b ₀	a _c :b _c
<i>E. coli</i> NIHJ JC	6.25	0.20	1.56	0.003	0.25	0.016	0.266	512:1
			1.56	0.006	0.25	0.032	0.282	256:1
			1.56	0.012	0.25	0.063	0.313	128:1
			0.78	0.012	0.125	0.063	0.188	64:1
			0.39	0.012	0.063	0.063	0.125	32:1
			0.20	0.012	0.032	0.063	0.095*	16:1
			0.20	0.025	0.032	0.125	0.157	8:1
			0.10	0.025	0.016	0.125	0.141	4:1
0.10	0.05	0.016	0.250	0.266	2:1			

*最小 FIC-index

(注) a₀ : SMX単用時のMIC

b₀ : TMP "

a_c : 両剤併用時のMIC中SMXが占める濃度

b_c : " TMPが占める濃度

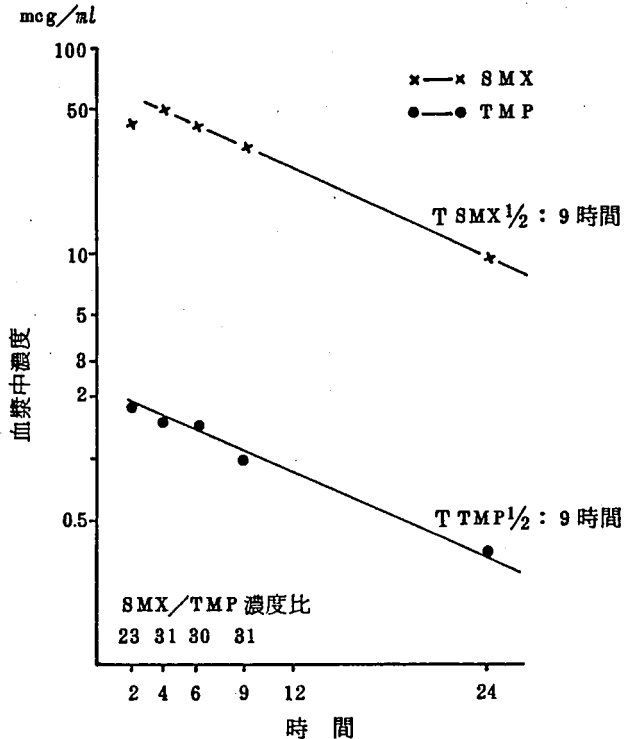
表4 Chequer Board Titration MethodにおけるFIC-index II

菌株	単剤のMIC		合剤のMIC		FIC		FIC-index	配合比
	a ₀	b ₀	a _c	b _c	a _c /a ₀	b _c /b ₀	a _c /a ₀ + b _c /b ₀	a _c :b _c
家畜症例由来 <i>E. coli</i> (No. 846)	12.5	0.4	3.12	0.006	0.250	0.015	0.265	520:1
			1.6	0.012	0.128	0.030	0.158	188:1
			0.8	0.025	0.064	0.063	0.127*	32:1
			0.4	0.05	0.032	0.125	0.157	8:1
			0.2	0.1	0.016	0.250	0.266	2:1
家畜症例由来 <i>E. coli</i> (No. E-3)	6.25	0.2	3.12	0.006	0.499	0.030	0.529	520:1
			1.6	0.006	0.256	0.030	0.286	266:1
			0.8	0.025	0.128	0.125	0.253*	32:1
			0.4	0.05	0.064	0.250	0.314	8:1
			0.2	0.05	0.032	0.250	0.282	4:1
家畜症例由来 <i>E. coli</i> (No. 15)	6.25	0.2	3.12	0.006	0.499	0.030	0.529	520:1
			1.6	0.006	0.256	0.030	0.286	267:1
			0.8	0.012	0.128	0.060	0.188*	67:1
			0.4	0.025	0.064	0.125	0.189*	16:1
			0.2	0.05	0.032	0.250	0.282	4:1

*最小 FIC-index

(注) 未発表: 高橋 勇 (日本獣医畜産大学)

a₀, b₀, a_c, b_c : 表3の注と同じ



(注) SMXはBRATTON-MARSHALL法で、TMPは分光蛍光光度法で測定

図4 ヒトにSMX 800 mg + TMP 160 mg / 人を1回経口投与した時のSMX, TMP血中濃度の推移 (小川ら⁷⁾)

2. 物理的・化学的性状

TMPおよびSMXの理化学的性質は表5に示すとおりである。

3. 吸収・分布・排泄

ST合剤〔組成は150g中にTMP 1gおよびSMX 5gを含有(表13)〕を飼料中に1% (最大常用量)の割合に混合し、子豚に72時間連続投与したときのSMXおよびTMPの血中濃度の推移は前に述べた図5のとおりであり、SMXおよびTMPとも投薬開始後徐々に血中濃度が上昇して6時間目でほぼ最高濃度に達し、以後投薬終了時までの間はほぼ同レベルの濃度を維持した。

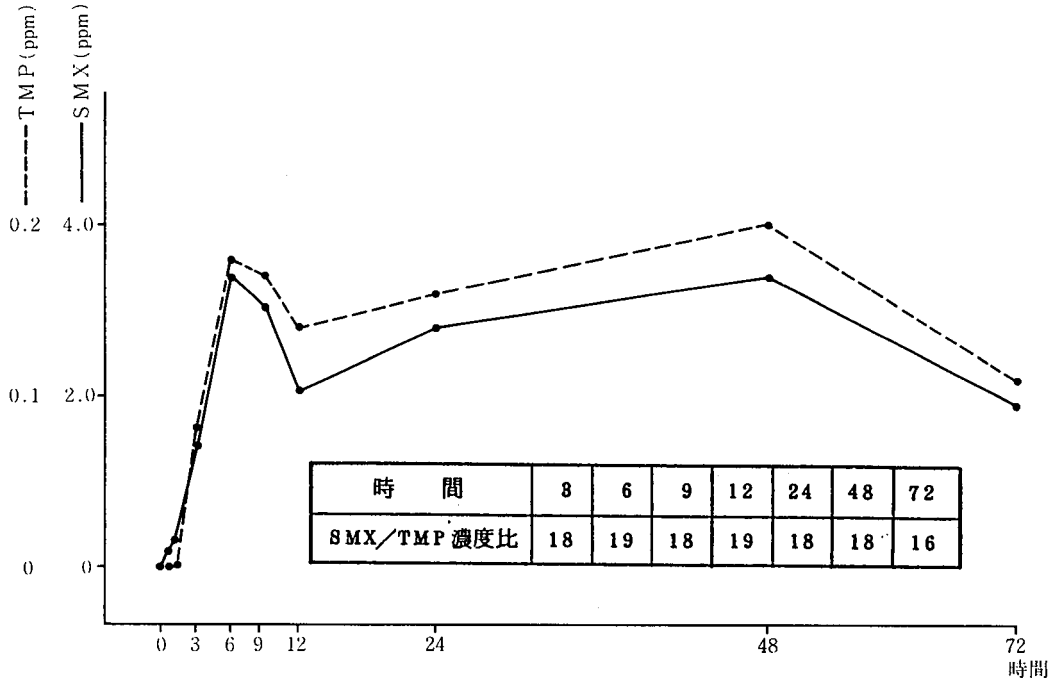
また、本剤を上記と同一の濃度で7日間子豚に連続投与終了直後における組織内濃度分布は、

表6のとおりである。SMX濃度は血漿中で最も高く、ついで腎>胃>筋肉=心>脾=小腸>肝=脂肪の順であった。一方、TMP濃度は腎で最も高く、ついで肝>脾=胃=心>小腸=筋肉>血漿>脂肪の順であった。

排泄については、ラットにST (5:1)を経口投与したとき、SMXは48時間以内に82%が尿中に、TMPは72時間以内に約80%が尿中にそれぞれ排泄された^{7,9)}。

4. 毒性

ST (5:1)の急性毒性を調べた結果は表7のとおりである³⁾。また、ラットにST (5:1)を180, 360, 600, 1800, 2700 mg/kg/日、1カ月間連日強制経口投与した亜急性毒性試験では、1800 mg/kg以上の群で体重の減少、死

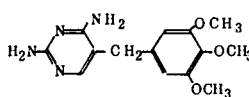
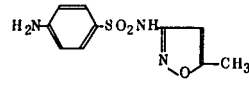


(注) 未発表：奥村 保 (塩野義製薬)

ST合剤の組成：150 g中，TMP 1 g，SMX 5 gを含有

図5 プタにST合剤1.0%飼料添加72時間連続投与時の血中濃度および濃度比

表5 TMP, SMXの理化学的性質

	構造式	分子式・分子量	溶解性	性状
トリメトプリム (TMP)	 2,4-diamino-5-(3,4,5-trimethoxybenzyl)pyrimidine	$C_{14}H_{16}N_4O_3 = 290.38$	メタノール，クロロホルムにやや溶けにくく，エタノールまたはアセトンに溶けにくく，水にきわめて溶けにくく，エーテルにはほとんど溶けない。	白色の結晶又は結晶性粉末で，においはなく，味は苦い。粉末および製剤の状態極めて安定である。 mp. 198~203°C
スルファメトキサゾール (SMX)	 5-methyl-8-sulfanilamidoisoxazole	$C_{10}H_{11}N_3O_3S = 253.28$	アセトンに溶けやすく，エタノールにやや溶けやすく，水にきわめて溶けにくい。	白色の結晶又は結晶性粉末で，においはなく，味はわずかに苦い。粉末および製剤の状態極めて安定であるが光によって淡黄色に着色する。 mp. 168~172°C

(注) 社内資料：高岸 靖ほか

亡例が認められ，360 mg/kg以上9群で，用量依存性に甲状腺に対する影響が認められた。さらに，ラットにST(5:1)を150, 300, 600, 1200 mg/kg/日，6カ月間強制経口投与を

行った慢性毒性試験の結果は，甲状腺に対する影響が特徴的に認められたのみで，最大安全量は，300 mg/kg/日前後と判定された。

表6 子豚にST合剤を投与(7日間飼料添加連続投与)終了直後における組織内分布(ppm)

		SMX	TMP
肝	臓	0.41	0.83
腎	臓	2.89	1.77
心	臓	1.24	0.41
脾	臓	0.64	0.48
筋	肉	1.25	0.33
	胃	1.35	0.44
小	腸	0.63	0.39
脂	肪	0.34	0.15
血	漿	2.92	0.21

(注) 未発表: 早川龍雄, ほか(畜安研)

表7 ST(5:1)のLD₅₀(本多ら³⁾)

マウス (mg/kg)

投与法	雄	雌
経口投与	7200 (5950~8700)	6400 (5420~7550)
腹腔内投与	2010 (1890~2140)	2197 (2000~2420)
皮下投与	3000以上	3000以上

ラット (mg/kg)

投与法	雄	雌
経口投与	7300 (6600~8074)	7200 (6025~8604)
腹腔内投与	2450 (2130~2818)	1840 (1414~2392)
皮下投与	3000以上	3000以上

(注) ST(5:1): SMXとTMPを5:1の割合で配合した合剤

5. 試験管内抗菌力試験

おもなブタ由来細菌に対する抗菌スペクトラムは、表8に示したとおりで、ST(20:1)はサルファ剤耐性菌を含めてグラム陽性菌およびグラム陰性菌に広いスペクトラムを示している。

また、対象疾病である細菌性下痢症の原因菌である*E. coli*(病豚由来48株)に対するST(20:1)のMIC分布は、図6のとおりで、

数種の薬剤に耐性を示す*E. coli*に対しても、STはすべて感受性を示し、そのMIC分布も使用した対照薬剤(TC, SM, KM, CP, APC, FZおよびSDM)のいずれのMIC分布に比べても低いMIC分布を示した。すなわち、ST(20:1)のMICは0.2 μ g/ml~12.5 μ g/mlを示し、80%の株をカバーするMICは3.12 μ g/mlであった。

表8 ブタ由来菌に対する抗菌スペクトラム

菌 種 (由来)	最小発育阻止濃度 (MIC) $\mu\text{g}/\text{ml}$		
	SMX	TMP	ST(20:1)*
<i>Escherichia coli</i> (ブタ大腸菌症)	>200	0.2	1.6
<i>Escherichia coli</i> (")	12.5	0.2	0.4
<i>Escherichia coli</i> (")	>200	0.1	1.6
<i>Salmonella typhimurium</i> (ブタ)	>200	0.2	3.1
<i>Salmonella typhimurium</i> (")	12.5	0.1	0.4
<i>Bordetella bronchiseptica</i> (ブタ萎縮性鼻炎)	>100	1.56	0.1
<i>Bordetella bronchiseptica</i> (")	0.025	0.025	0.025
<i>Pasteurella multocida</i> (ブタ肺炎)	3.13	0.2	0.2
<i>Haemophilus parainfluenzae</i> (ブタ肺炎)	12.5	0.1	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> (ブタ)	25	0.39	0.1
<i>Staphylococcus aureus</i> (")	25	0.1	0.78
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (")	25	0.78	0.39
<i>Streptococcus pyogenes</i> (")	3.13	0.2	0.2

*ST(5:1)を投与すると血中での濃度比が20:1となるので、試験管内感受性試験ではST(20:1)を用いた。(注)未発表: 扇元敬司(東北大学)

6. 残留試験成績

定量法は、血漿および組織の各試料に適した抽出法および測定法を考慮し、各試料に応じて5種類の方法を設定した。すなわち、(i)血漿中のSMXおよびTMPは高速液体クロマトグラフ法(HPLC法)による同時定量法(I)、(ii)腎、肝、心、脾、筋肉、胃および小腸中のSMX(II)ならびに脂肪中のSMX(III)は蛍光測定法、および(iii)腎、脾、胃、小腸および脂肪中のTMP(IV)、ならびに肝、心および筋肉中のTMP(V)については、ジアベリジンを用いた内部標準とするHPLC法によった。

以上の確立された方法による検出限界は0.01~0.02 ppmで、検量線もよい直線性を示した。また、添加回収試験の結果は、いずれの試料についてもほぼ80%以上の良好な結果が得られ

ている。以上をまとめると、表9のとおりである。

つぎに、設定された定量法によりSMXおよびTMPの残留を測定した成績を表10に示す。飼料中1%の割合に混合して7日間連続投与終了後、3日目でSMX、TMPともに各組織中濃度は検出限界以下となっている。

7. 臨床応用試験成績

本剤の対象疾病は、ブタの*E. coli*による細菌性下痢症である。ブタの*E. coli*による下痢症としては、生後間もなく発生する大腸菌性敗血症、2~3週齢に白痢を伴う大腸菌性下痢症が良く知られている。

しかし、最近、これら哺乳中の下痢に加えて、離乳後10日以内に集中してみられるいわゆる離乳後下痢(Weanling Diarrhea:WD)が目

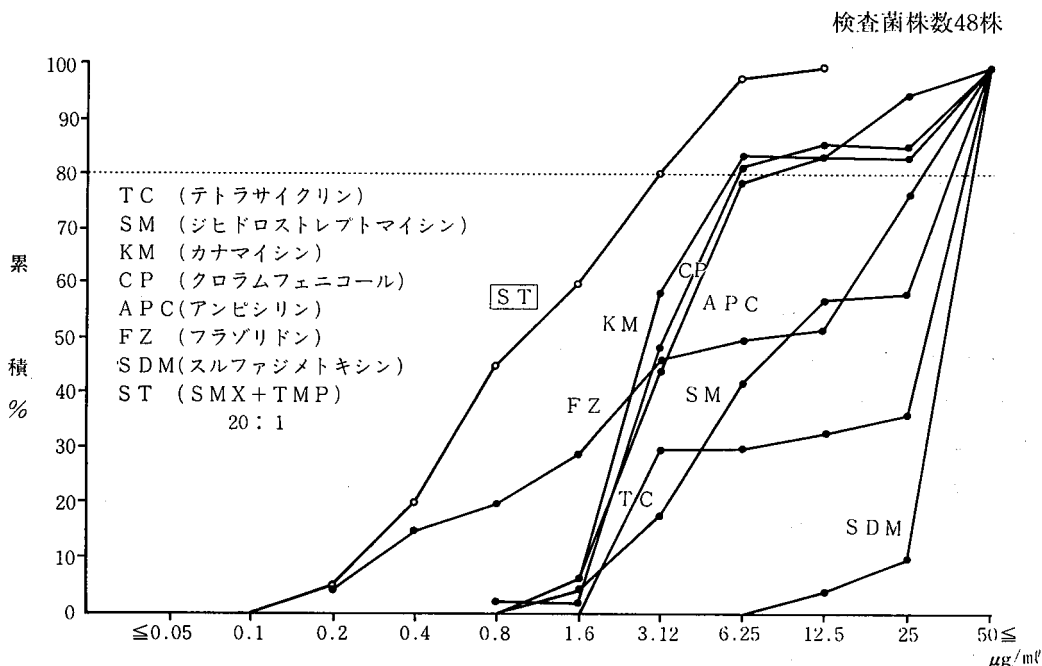


図6 各種抗菌物質の病豚由来 *E. coli* に対するMIC分布

表9 添加回収試験総括表 (添加量0.04-10ppm)

試料	S M X				T M P			
	回収率 (%)	変動係数 (%)	検出限界 (ppm)	定量法 ^{b)}	回収率 (%)	変動係数 (%)	検出限界 (ppm)	定量法 ^{b)}
血漿	81.8	7.9	0.02	I	89.1	10.7	0.02	I
腎臓	75.1 ^{a)}	8.5	0.02	II	84.4	5.0	0.02	IV
肝臓	83.2 ^{a)}	3.9	0.02	II	91.8	6.1	0.01	V
心臓	70.8 ^{a)}	8.6	0.02	II	95.9	2.7	0.01	V
脾臓	83.9 ^{a)}	6.2	0.02	II	78.6	4.5	0.02	IV
筋肉	86.4 ^{a)}	3.8	0.02	II	95.8	3.6	0.01	V
胃	70.6 ^{a)}	3.9	0.02	II	83.5	12.9	0.01	IV
小腸	88.4 ^{a)}	5.5	0.02	II	83.1	10.3	0.02	IV
脂肪	87.2	7.9	0.01	III	97.0	3.3	0.02	IV

a) 添加量、0.04-0.1ppm

b) I, IV, VはHPLC法、II, IIIは蛍光法。

(注) 未発表: 早川龍雄ほか (畜安研)

されてきている。その発生原因については未だ不明の部分が多いが、その主体は大腸菌性下痢であることが確認されている。

ST合剤(D-ST)については、開発当初よりこの離乳後下痢に的をしぼり、その有効性

について臨床試験を実施した。

試験成績の1例を表IIに示す。この表から明らかのように、治療の対象としたのは離乳後10日以内の下痢発生豚で、区分け後5日間の投薬を行い、毎日の下痢の消長を観察して投薬5日

表10 プタ組織内残留

組 織	投与終了後のSMX残留濃度(ppm)				投与終了後のTMP残留濃度(ppm)			
	0日	1日	3日	5日	0日	1日	3日	5日
肝 臓	0.41	0.03	<0.02	<0.02	0.83	0.01 }<0.01	<0.01	<0.01
腎 臓	2.89	0.03	"	"	1.77	0.04 }<0.02	<0.02	<0.02
心 臓	1.24	0.03 }<0.02	"	"	0.41	0.01 }<0.01	<0.01	<0.01
脾 臓	0.64	0.03 }<0.02	"	"	0.48	<0.02	<0.02	<0.02
筋 肉	1.25	0.03 }<0.02	"	"	0.33	<0.01	<0.01	<0.01
胃	1.35	0.03 }<0.02	"	"	0.44	"	"	"
小 腸	0.63	0.03 }<0.02	"	"	0.39	<0.02	<0.02	<0.02
脂 肪	0.34	<0.01	<0.01	<0.01	0.15	"	"	"
血 漿	2.92	<0.02	<0.02	<0.02	0.21	"	"	"

(注) 未発表：早川龍雄ほか(畜安研)

1. ST合剤を飼料中1.0%の割合に混じて7日間連続投与。
2. 定量法は高速液体クロマトグラフ法および蛍光定量法。
3. 各数値は3頭の平均値。

目の治癒率、投薬期間中の下痢日数、増体重などで、有効性が証明された。すなわち、飼料中2%添加区で治癒率100%および平均下痢日数0.67日間、また飼料中1%添加区ではそれぞれ100%および0.56日間であった。これに対し、無投薬対照区では20%および4.3日間であり、投薬区で明らかな効果がみられている。

また増体重においても投薬区の1.4kg、1.7kgに対し、無投薬区は0.5kgと明らかな差がみられた。上記の試験を投与量を変えて繰り返し実施し至適投与量の設定を行った。

表12のとおり、D-STは飼料中0.5%以上の添加で有効性を示し、また飼料中1%⇒飼料中2%であったところから至適投与量として飼料中0.5~1%を設定した。

つぎに、設定した飼料中0.5~1%の投与量で、野外で拡大して臨床試験を実施した。その結果は、飼料中1%群(供試58頭)で95%、飼料中0.5%群(供試60頭)で88%の治癒率を示し、有効性が確認された。さらに、増体重(投薬5日間中の1頭当り平均増体重)の面から効果をみた場合も、無投薬群の0.6kgに対し、飼料中0.5%群1.2kg、飼料中1%群1.7kgと著しい差がみられた。

離乳後下痢については、従来、大腸菌による敗血症や大腸菌性下痢症ほどその被害については注目されていないが、今回の試験成績からその後の発育に重大な障害となることは明らかであり、その対策についてはもっと見なおしをされるべきであると考えられる。

表11 細菌性下痢症に対する臨床試験

区	ブタ No	(前)体重 (kg)	(後)体重 (kg)	増体重 (kg)	性	下痢症状の推移					下痢日 数(日)	飼料(薬剤) 摂取量
						投薬前日	第1日	第2日	第3日	第4日		
D-ST 飼料 中 2% 区	1	6.5	7.0	0.5	♂	+	+	+	-	-	2	飼料摂取量 56g/kg/日 D-ST摂取量 1120mg/kg/日
	2	6.4	8.4	2.0	♂	+++	+	-	-	-	1	
	3	5.5	7.1	1.6	♂	+	-	-	-	-	0	
	4	5.8	7.3	1.5	♀	+	-	-	-	-	0	
	5	5.9	7.5	1.6	♂	+	-	-	-	-	0	
	6	5.1	5.9	0.8	♀	+	+	+	+	-	3	
	7	4.8	5.9	1.1	♀	+++	+	-	-	-	1	
	8	6.7	7.9	1.2	♂	+	-	-	-	-	0	
	9	6.8	8.5	1.7	♂	+	-	-	-	-	0	
	10	5.4	7.4	2.0	♀	+	-	-	-	-	0	
	11	5.5	7.5	2.0	♀	+	-	-	-	-	0	
	12	5.6	6.5	0.9	♀	+	-	+	-	-	1	
	\bar{x}	5.8	7.2	1.4	治癒率 12/12 (100%)					0.67		
D-ST 飼料 中 1% 区	1	6.1	7.6	1.5	♂	+	+	-	-	-	1	飼料摂取量 59g/kg/日 D-ST摂取量 590mg/kg/日
	2	5.5	7.0	1.5	♀	+++	+	-	-	-	1	
	3	6.2	8.0	1.8	♂	+	-	-	-	-	0	
	4	6.8	8.5	1.7	♂	+	-	+	-	-	2	
	5	5.4	7.0	1.6	♂	+	-	-	-	-	0	
	6	5.9	7.0	1.1	♂	+	-	-	-	-	0	
	7	5.8	7.8	2.0	♀	+	-	-	-	-	0	
	8	5.0	6.6	1.6	♀	+	+	-	-	-	1	
	9	4.9	6.5	1.6	♀	+	-	-	-	-	0	
	\bar{x}	5.6	7.3	1.7	治癒率 9/9 (100%)					0.56		
無投薬 対照 区	1	5.8	5.6	-0.2	♂	+	+	+	+	+	5	飼料摂取量 50g/kg/日
	2	5.9	6.3	0.4	♂	+	+	-	+	+	4	
	3	6.0	6.9	0.9	♀	+	-	-	-	-	0	
	4	5.4	6.8	1.4	♀	+	+	+	-	-	2	
	5	5.5	6.4	0.9	♀	+	+	+	+	+	5	
	6	4.9	5.5	0.6	♀	+++	+++	+++	+	+++	5	
	7	5.9	5.3	-0.6	♂	+++	+++	+++	+	+	5	
	8	6.0	6.6	0.6	♂	+	+	+	+	+	5	
	9	7.6	8.2	0.6	♂	+	+	+	+	+	5	
	10	7.0	7.2	0.2	♂	+	+++	+	+	+	5	
	\bar{x}	6.0	6.5	0.5	治癒率 2/10 (20%)					4.3		

- : 正常便 + : 軟便 ++ : 泥状便 +++ : 水様性便
 (注) 未発表 : 三船亮介ほか (京都府南丹家保)

表12 細菌性下痢症に対する臨床試験 (至適投与量の設定)

下痢発症日数のまとめ

区	第1回	第2回	第3回	合計
D-ST 飼料中 2.0 % 区	12/12 ¹⁾ (100) ²⁾			12/12 (100)
" 飼料中 1.0 % 区	9/9 (100)	14/15 (93)		23/24 (96)
" 飼料中 0.5 % 区		9/12 (75)	8/10 (80)	17/22 (77)
" 飼料中 0.25 % 区			3/10 (30)	3/10 (30)
無投薬対照区	2/10 (20)	3/10 (30)	2/10 (20)	7/30 (23)

1) 下痢治癒頭数 / 供試頭数 2) 治癒率 (%)

2.0 % 区

NS	1.0 % 区		
NS	NS	0.5 % 区	
**	**	*	0.25 % 区
**	**	**	NS 無投薬区

NS : 有意差なし
* : P < 0.05 で有意差あり
** : P < 0.01 "

下痢治癒率のまとめ

区	第1回	第2回	第3回	平均
D-ST 飼料中 2.0 % 区	0.67 ¹⁾			0.67
" 飼料中 1.0 % 区	0.56	1.07		0.82
" 飼料中 0.5 % 区		1.30	1.0	1.15
" 飼料中 0.25 % 区			3.3	3.3
無投薬対照区	4.30	3.40	4.0	3.9

1) 一頭当たり平均下痢発症日数

(注) 未発表 : 三船亮介ほか (京都府南丹家保),
渡辺光雄ほか (藤沢市種豚センター)

2.0 % 区

NS	1.0 % 区		
NS	NS	0.5 % 区	
**	**	**	0.25 % 区
**	**	**	NS 無投薬区

NS : 有意差なし
* : P < 0.05 で有意差あり
** : P < 0.01 "

8. 安全性・副作用

S T 合剤 (表13) を 1, 5 および 10 % の濃度に添加した飼料を子豚に連続 7 日間投与して、子豚におよぼす影響を調べた。その結果、いずれの投薬群においても増体重、飼料摂取量、飼料要求率は対照群との間に差はなく、一般症状、尿検査、血液及び生化学的検査でも異常は認められなかった。

[参考]

S T 合剤の製剤名と承認事項および使用上の注意は表13のとおりである。

文 献

- Greenberg, J., Boyd, B. L., and Josephson, E. S.: Synergic effect of chlorguanide and sulfadiazine against *Plasmodium gallinaceum* in the chick. J. Pharmacol. exp. Ther., 94: 60-64 (1948)
- Havas, L., Hamza, B., Fernex, M. and Rehm, W.: Combination of folic acid and folinic acid antagonists in human and veterinary medicine. Brit. J. Pharmac. Chemother., 19: 179-195 (1973)

表13 製剤名と承認事項および使用上の注意

製 剤 名：動物用シノラル散

製 造 所 名：塩野義製薬株式会社

成 分 含 量：150g 中，トリメトプリム 1g，スルファメトキサゾール 5g を含有する。

用 法 用 量：通常飼料 1t 当たり本剤を 5kg～10kg の割合に均一に混じて 5 日間経口投与する。

効 能 効 果：適応症 豚：大腸菌による細菌性下痢症

使用上の注意：・本剤は 4 カ月齢を超える豚には使用しないこと。

・本剤の有効成分であるトリメトプリムは、実験動物で催奇形作用が認められているので、使用にあたっては慎重を期すこと。

・本剤投与後 5 日間は食用に供する目的で出荷等を行わないこと。

注意 — 獣医師の処方せん、指示により使用すること。

3) 本多一裕ほか：Sulfamethoxazole-Trimethoprim 合剤の急性および亜急性毒性試験. *Chemotherapy*, 21 : 175-186 (1973)

4) 伊藤隆太ほか：Sulfamethoxazole-Trimethoprim 配合物の慢性毒性試験. *東邦医学会誌*, 19 : 673 (1972)

5) 真山三賀雄ほか：Sulfamethoxazole と Trimethoprim の研究. *Chemotherapy*, 21 : 154-162 (1973)

6) 中澤昭三ほか：Sulfamethoxazole-Trimethoprim 合剤に関する細菌学的評価. *Chemo-*

therapy, 21 : 88-103 (1973)

7) 小川保直ほか：Sulfamethoxazole と Trimethoprim の研究. *Chemotherapy*, 21 : 241-245 (1973)

8) Rollo, J. M.: The mode of action of sulphonamides, proguanil and pyrimethamine on *Plasmodium gallinaceum*. *Brit. J. Pharmac. Chemother.*, 10 : 208-214 (1955)

9) 佐藤善重ほか：Sulfamethoxazole と Trimethoprim の研究. *Chemotherapy*, 21 : 229-231 (1973)

<追 加 発 言>

子豚の離乳後下痢由来大腸菌の薬剤感受性

赤 塚 巧 (昭和産業)

子豚の離乳後下痢由来 *Escherichia coli* (105 株) の抗菌剤 (12 剤) に対する MIC 分布域を表 1 に示した。この表から明らかなように供試株すべてが APM, GM, CL, NA および TMP に対して感受性を示し、それらの MIC はすべて 0.78~12.5 $\mu\text{g/ml}$ の範囲であっ

た。特に CL および TMP では、MIC 域が 0.20~0.78 $\mu\text{g/ml}$ と高い感受性を示した。しかし、ABPC, TC, CP, SM および KM の MIC₉₀ は 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上であり、特に TC, SM および KM では、MIC₅₀ においても 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上と耐性化の傾向を示していた。また、SA

表1 Minimal inhibitory concentrations (MICs) of antimicrobial agents against 50 and 90% of 105 strains of *E. coli*

Antimicrobial agents	Range (/ml)	For % of strains	
		50	90
ABPC	0.78 ~ >100	6.25	>100
TC	3.13 ~ >100	>100	>100
CP	3.13 ~ >100	12.5	>100
SM	1.56 ~ >100	>100	>100
KM	3.13 ~ >100	>100	>100
APM	3.13 ~ 12.5	3.13	12.5
GM	0.39 ~ 3.13	0.78	1.56
CL	0.20 ~ 0.78	0.39	0.78
BCM	25 ~ 100	25	56
NA	3.13 ~ 12.5	3.13	6.25
TMP	0.20 ~ 0.78	0.39	0.78
SA	6.25 ~ 800	>800	>800

TC : Oxytetracycline, SM : Dihydrostreptomycin

においてもMIC₅₀およびMIC₉₀において80 $\mu\text{g/ml}$ 以上と高く、高度耐性株の出現の多いことが示された。表2に薬剤耐性型の検出率を示した。4剤耐性を示すものが最も多く、TC・

表2 Resistance patterns to major antimicrobial agents of 105 strains of *E. coli*

Resistance pattern	NO. of strains(%)
6	5 (4.8)
TC SA SM KM ABPC CP	5
5	31 (29.5)
TC SA SM KM ABPC	20
TC SA SM KM CP	9
others	2
4	46 (43.8)
TC SA SM KM	45
TC SA SM CP	1
3	14 (13.3)
TC SA SM	11
TC SA KM	1
others	2
1	3 (2.9)
sensitive strains	6 (5.7)
Total	105

SA・SM・KM耐性のものが45株(42.9%)あり、これにABPCやCP耐性が付加された5剤、6剤耐性も多く、このTC・SA・SM・KMを基幹とした4~6剤耐性型が全体の75%にもおよんでいた。

討 論 (座長：柏崎 守・家衛誠)

質問 (福安嗣昭・麻布大) : FIC index 値において、血清、腸管内溶液などが存在する場合FIC indexはどうか。

答 : 本件に関するデータは持ち合わせていない。

質問 (平井輝生・台糖ファイザー) (演題5の追加発言者赤塚氏へ) : 供試されました大腸菌は特定の病原性大腸菌ですか。または単に病豚の糞便から分離されたものですか。

答 : 供試株は離乳後3~10日の期間に下痢子豚から分離したものです。

毒素原性

ST+LT+	29	} うちK99+ 20株
ST+LT-	28	
ST-LT+	22	
ST-LT-	26	

105株

です。

質問 (佐藤静夫・全農家衛研) : 赤塚さんのデータで、離乳後下痢から分離される株の75%以上がTC、

SA、SM、KMを基幹とする4剤以上の多剤耐性であるとのことですが、これらに対してもトリメトプリムは有効であると考えてよろしいのでしょうか。

答 : 今回我々が調査した範囲では、TMPのMIC域は0.20~0.78 $\mu\text{g/ml}$ にあり、このデータから推測する限り有効と考えられました。

質問 (橋本和典・家衛誠) (座長の柏崎氏へ) : 遅発性大腸菌症と離乳後下痢とのかかわりをお教え下さい。

答 : 両病型における関与大腸菌の差異はあきらかでない。後者はロタウイルスとの混合感染が多い。

質問 (中根淑夫・全農家衛研) : 1. 離乳後の大腸菌症の診断基準を教えてください。2. 出生直後の大腸菌症に対して実験室内または野外試験成績はあるか、教えてください。

答 : 1. もっぱら文献的考察により離乳後の下痢については大腸菌によるものが多いとの推察で判断した。2. 早発性大腸菌症、遅発性大腸菌症に関する野外試験成績はない。今後、強制経口投与方法等で検討したい。