

# 1. フロルフェニコールについて

植 田 祐 二 (武田薬品工業〔株〕  
アグロカンパニー)

## 1. 開発の経緯

フロルフェニコール (FF) は、米国の Schering-Plough 社においてチアンフェニコール (TP)、クロラムフェニコール (CP) のフッ素化誘導体に関する一連の合成研究により発見された TP の誘導体である<sup>9,13)</sup>。我々は、TP 誘導体の中から FF が魚病由来菌および家畜疾病由来菌に対して、*in vitro* および *in vivo* において優れた抗菌活性を示すことを見出し、畜水産分野における細菌性疾病への応用研究を行ってきた<sup>1,14,15,16,17)</sup>。そして 1990 年にブリの類結節症対策薬剤 (アクアフェン) の承認を、さらに 1992 年に養豚業界で問題となっている胸膜肺炎<sup>18)</sup>対策の飼料添加剤 (フロロコール 5) の承認を取得した。本論では胸膜肺炎に対する有用性について論じる。

## 2. 物理化学的性状

FF の化学構造式を図 1 に示した。FF は TP の  $\alpha$  位のメチル基にある水酸基をフッ素で置換した TP の誘導体であり、分子式は  $C_{12}H_{14}Cl_2FNO_4S$ 、分子量は 358.21 である。原体は白色の結晶性粉末でアセトン、アセトニトリルに溶けやすく、メタノールにやや溶けやすく、水にはほとんど溶けな

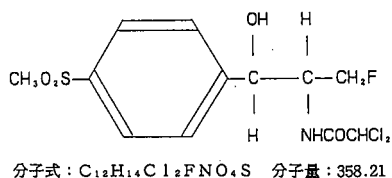


図 1 フロルフェニコール (FF) の化学構造式

い。また、種々の条件下での安定性試験を実施したが、原体、製剤とも極めて安定であることが確認され、飼料中の安定性も良好であった。

## 3. 毒性

### 1) 急性毒性

マウスおよびラットを用いて、投与経路は経口および腹腔内投与とし、FF の急性毒性を検討した。マウスについては、いずれの投与経路においても雌雄とも  $LD_{50}$  値は 2,000 mg/kg 以上であった。ラットについても腹腔内投与の雌では 1,865 mg/kg であったが、それ以外は 2,000 mg/kg 以上であった (表 1)。

### 2) 亜急性毒性

ラットに FF を 20, 65, 200 mg/kg/日、4 週間強制経口投与し、亜急性毒性を検討した結果、中

表 1 FF の急性毒性試験

動物	投与経路	性	$LD_{50}$ 値 mg/kg
マウス	経口	雄	>2,000
		雌	>2,000
	腹腔内	雄	>3,000
		雌	>3,000
ラット	経口	雄	>2,000
		雌	>2,000
	腹腔内	雄	2,047
		雌	1,865

(注) 未発表: 畜生安研

毒量は 200 mg/kg であると推定された (Schering-Plough 社, 1987)。

### 3) 慢性毒性

ラットに FF を 10, 30, 100 mg/kg/日, 13 週間強制経口投与し, 慢性毒性を検討した結果, 中毒量は 100 mg/kg であると推定された (Schering-Plough 社, 1987)。

### 4) 特殊毒性

変異原性 (畜生安研, 1988), 催奇形性 (Schering-Plough 社, 1988) および局所刺激性 (畜生安研, 1988) を検討したが, いずれも FF による影響は認められなかった。

## 4. 安全性

豚に対する安全性を検討するため, 15 週齢の豚を供試し, FF を 40 ppm (承認最高用量), 120 ppm (承認最高用量の 3 倍) および 400 ppm (同 10 倍) の濃度で 10 日間飼料添加投与した。400 ppm 群では, 増体重, 飼料摂取量の低下が認められたが, 40 および 120 ppm 群では安全性試験におけるいずれの検査項目においても特記すべき異常所見は認められなかった (社内資料, 1990)。

## 5. 吸収・分布・排泄

14 週齢の豚に FF 5 mg/kg (体重) を 1 回強制経口投与し, FF の血中濃度の推移を調べた (図 2)。投与後 1 時間に最高値の 2.25  $\mu\text{g/ml}$  に達し, 以後 2 時間で 1.92, 4 時間で 1.63, 8 時間で 0.51  $\mu\text{g/ml}$  に減少し, 24 時間でほぼ消失した。血中からの半減期は 2.39 時間であった。

14 週齢の豚に FF 5 mg/kg (体重) を 1 回強制経口投与し, 投与後 1 および 6 時間の FF の組織内濃度を測定した。投与後 1 時間において (図 3), 腎臓で 8.31  $\mu\text{g/g}$  と最も高濃度に分布し, FF は主として腎臓から排泄されることが示唆された。また, 肺での組織内濃度は 3.34  $\mu\text{g/g}$  であり, 血中とほぼ同等の濃度が得られ, FF は肺への移行が良好な薬剤であることが確認された。投与後 6

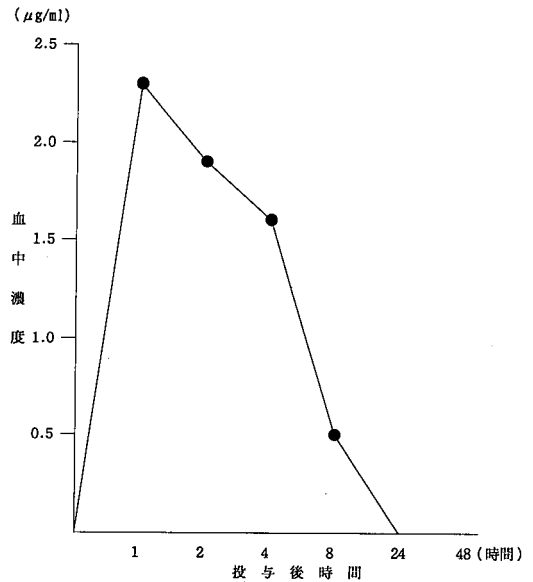


図 2 豚に FF を 1 回経口投与 (5 mg/kg 体重) した後の血中濃度の推移  
(注) 社内成績: 山口良宣ら (1991)

時間では, いずれの組織においても組織内濃度は 1/3~1/4 に減少した (社内資料, 1991)。

## 6. 抗菌活性

### 1) 抗菌スペクトル

FF および TP の好気性一般細菌に対する MIC 値を表 2 に示した。FF の抗菌スペクトルは TP のそれに類似していたが, 抗菌活性は TP の 2~16 倍であった。*Actinobacillus pleuropneumoniae* とともに豚の呼吸器病起因菌として問題となっている *Pasteurella multocida* に対する FF の MIC 値は 0.78  $\mu\text{g/ml}$  であった。なお, 表には示していないが, *Mycoplasma hyopneumoniae* に対する FF の MIC 値も 0.78  $\mu\text{g/ml}$  であった。

### 2) *A. pleuropneumoniae* の参照株に対する抗菌活性

血清型 1~12 型の *A. pleuropneumoniae* 参照株に対する FF および数種抗菌剤の MIC 値を表 3 に示した。FF の MIC 値は 0.19 または 0.39  $\mu\text{g/ml}$  であり, 強い抗菌活性が認められた。TP については, FF と同じか 2 倍の値であった。な

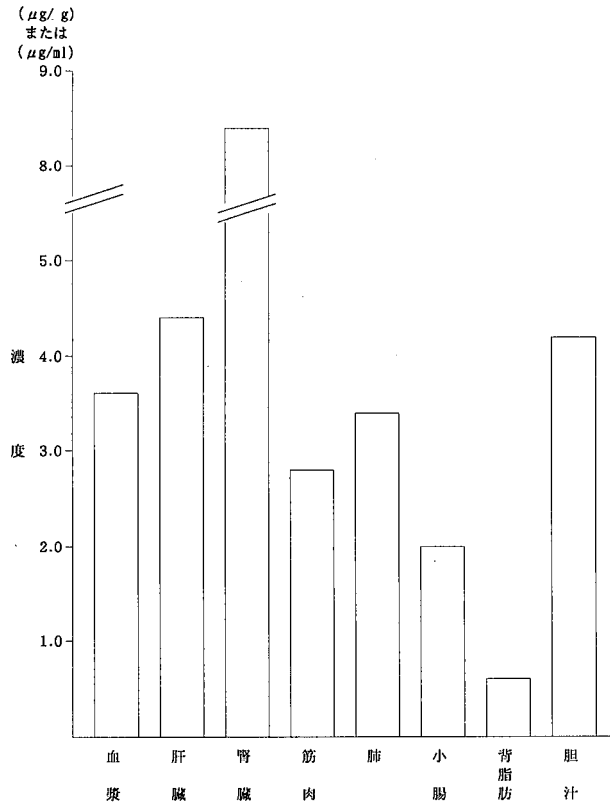


図 3 豚に FF を 1 回経口投与 (5 mg/kg 体重) した後 1 時間の組織内濃度 (注) 社内成績：山口良宣ら (1991)

表 2 FF および TP の好気性菌に対する抗菌活性

菌 種	菌 株	MIC (μg/ml)	
		FF	TP
<i>Staphylococcus aureus</i>	FDA 209P	3.13	12.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	IFO 3762	1.56	6.25
<i>Bacillus subtilis</i>	PCI 219	1.56	6.25
<i>Enterococcus faecium</i>	IFO 3128	3.13	6.25
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 19433	3.13	3.13
<i>Actinomyces pyogenes</i>	267	0.78	1.56
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	A	6.25	12.5
<i>Escherichia coli</i>	NIHJ JC-2	12.5	>100
<i>Escherichia coli</i>	No. 22	12.5	100
<i>Proteus vulgaris</i>	IFO 3988	6.25	25
<i>Salmonella</i> Typhimurium	6466	6.25	25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B 175	6.25	50
<i>Serratia marcescens</i>	IFO 12648	25	>100
<i>Enterobacter cloacae</i>	B 176	25	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Kanagawa	>100	>100
<i>Citrobacter freundii</i>	TN 518	12.5	100
<i>Pasteurella multocida</i>	380	0.78	0.78
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	S-4651	12.5	100

(注) 社内成績：松原幸雄ら (1988)

表 3 *A. pleuropneumoniae* 参照株に対する FF および数種抗菌剤の抗菌活性 (MIC:  $\mu\text{g/ml}$ )

血清型	菌 株	FF	TP	CP	ABPC	OTC	TML
1型	Shope4074	0.39	0.78	0.39	0.19	0.78	25
2型	S1536	0.19	0.39	0.39	0.19	0.39	12.5
3型	S1421	0.19	0.39	0.39	0.19	0.39	12.5
4型	M62	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	12.5
5型	K17 (subtype a)	0.39	0.39	0.39	0.19	0.39	12.5
5型	L20 (subtype b)	0.19	0.39	0.39	0.09	0.39	12.5
6型	Fem $\phi$	0.19	0.39	0.19	0.19	0.39	25
7型	WF83	0.39	0.39	0.19	0.19	0.39	12.5
8型	CCM3803	0.19	0.19	0.19	0.09	0.78	12.5
9型	CVJ13261	0.39	0.39	0.39	0.19	0.78	25
10型	D13039	0.39	0.78	0.39	0.19	0.78	25
11型	56153	0.39	0.39	0.39	0.19	0.78	25
12型	8329	0.39	0.39	0.19	0.09	0.39	12.5

略号: FF フロルフェニコール, TP チアンフェニコール, CP クロラムフェニコール, ABPC アンピシリン, OTC オキシテトラサイクリン, TML チアムリン

(注) 未発表: 福安嗣昭 (麻布大学)

お, FF および他の薬剤とも血清型により MIC 値に大きな変動はなかった。

### 3) *A. pleuropneumoniae* の野外分離株に対する抗菌活性

1976~1990年に分離された全国各地の呼吸器症状を呈した豚の鼻腔スワブ由来株ならびにへい死豚あるいは剖検豚の肺材料由来株合計 94 株を供試し, 薬剤感受性分布を調べた (表 4)。供試菌

株の血清型は, 94 株中 1 型 14 株, 2 型 30 株, 3 型 3 株, 5 型 3 株, 7 型 3 株, 8 型 2 株, 12 型 1 株, 未確認 38 株であった。MIC 値の範囲は FF が 0.05~0.78  $\mu\text{g/ml}$ , TP が 0.2~>100  $\mu\text{g/ml}$  であった。分布の型については, FF は一峰性分布であり, TML も MIC 値は高いものの一峰性分布であった。しかし, 他の抗菌剤は二~三峰性分布を示し, 野外においてこれら抗菌剤に対する低感受性化または耐性化が起こっていることが示唆され

表 4 野外分離 *A. pleuropneumoniae* 94 株の薬剤感受性分布

薬剤	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )												
	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
FF	1	3	35	54	1								
TP			8	61	6			1		4		7	6
CP		1	1	22	11	5		1	1	1	1	2	
ABPC	8	38	31	8		1	1		2	3			1
OTC				8	38	10		4	11	4			1
TML							6	11	43	15	1		
CTC				3	9	1		3		1			

1976~1990年に分離された株で, 血清型は, 94 株中 1 型 14 株, 2 型 30 株, 3 型 3 株, 5 型 3 株, 7 型 3 株, 8 型 2 株, 12 型 1 株, 未確認 38 株

略号: FF フロルフェニコール, TP チアンフェニコール, CP クロラムフェニコール, ABPC アンピシリン, OTC オキシテトラサイクリン, TML チアムリン, CTC クロルテトラサイクリン

(注) 社内成績: 林 俊克ら (1991)

た。

## 7. 生体内効力試験

### 1) 実験感染試験の方法

5～7週齢（ランドレース）豚を供試した。感染は、チョコレート寒天培地に発育した *A. pleuropneumoniae* のコロニーを滅菌生理食塩水に浮遊させ、3 ml 当たりで必要とする菌量に調整した後、調整菌液の 3 ml/頭をネブライザーで鼻腔内に噴霧して実施した。投薬は感染前 5 日から感染後 7 日の剖検時までの計 12 日間とし、投薬方法は自由摂取による飼料添加とした。臨床症状の観察は毎日定時に実施し、体重は感染前 5 日、感染日および感染後 7 日（剖検日）に、飼料摂取量は毎日測定した。 *A. pleuropneumoniae* については、感染前 7 日に鼻腔スワブを採取して *A. pleuropneumoniae* 陰性であることを確認し、剖検時に肺からの *A. pleuropneumoniae* の検索を実施した。剖検時には肺病変を観察するとともに、肺の

上にポリフィルムを載せて肺全体および肺病変部を横写し、肺病変面積率<sup>12)</sup>を算出した。

実験感染試験に用いた菌株に対する FF および TP の MIC 値を表 5 に示した。Shope 4074, S1536 および K17 株は血清型参照株である<sup>10)</sup>。供試した 8 株のうち 6 株は両薬剤に対して感受性であり、2 型の 8541 および 8543 株については、FF に対しては感受性であったものの、TP に対しては MIC 値が 100  $\mu\text{g/ml}$  と耐性であった。

### 2) *A. pleuropneumoniae* 菌株の病原性

非投薬豚への 10<sup>6</sup>CFU/頭接種における菌株の病原性を比較検討した（表 6）。血清型は Shope 4074 株のみ 1 型で、その他の株は 2 型である。各株ともほとんどの豚で臨床症状、肺病変および *A. pleuropneumoniae* 分離が陽性であった。死亡頭数は Shope 4074 株が 5 頭、福島株が 6 頭、肺病変面積率は、Shope 4074 株が 38.5%，福島株が 47.8% と高く、この 2 株は病原性が強いことが示唆された。日本では依然として 2 型株が流行の主体であることから、最初は 2 型の福島株を供試することとした。

次に福島株の接種菌量による起病性の差異を検討した（表 7）。10<sup>7</sup>CFU 以上の接種菌量では、全頭とも臨床症状、肺病変および *A. pleuropneumoniae* 分離が陽性であり、10<sup>8</sup> および 10<sup>9</sup>CFU 接種では半数以上の豚が死亡した。また肺病変面積率は菌量に比例して高くなる傾向にあった。以上の結果をもとに薬剤の評価をよりきびしくする目的で、重度の感染系として接種菌量を 10<sup>6</sup>CFU に設定した。

表 5 豚への実験感染試験に用いた菌株に対する FF および TP の抗菌活性

菌株	血清型	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	
		FF	TP
Shope4074	1 型	0.39	0.78
S1536	2 型	0.2	0.2
福島	2 型	0.39	0.78
SHP-17	2 型	0.2	0.39
CH-1	2 型	0.2	0.39
8541	2 型	0.39	100
8543	2 型	0.2	100
K17 (subtype a)	5 型	0.39	0.39

(注) 社内成績：植田祐二ら (1991)

表 6 豚への実験感染試験における菌株の病原性の比較

菌株	供試頭数	死亡頭数	臨床症状陽性頭数	肺病変		App <sup>1)</sup> 分離頭数
				陽性頭数	面積率 (%)	
Shope4074	6	5	6	5	38.5	5
S1536	6	1	6	6	26.0	6
福島	6	6	6	6	47.8	6
SHP-17	4	2	4	4	36.0	4
CH-1	2	0	2	1	29.6	1

1) *A. pleuropneumoniae* (注) 社内成績：植田祐二ら (1991)

表 7 豚への実験感染試験における福島株の接種菌量と起病性

接種菌量 (1頭当たり)	供試 頭数	死亡 頭数	臨床症状 陽性頭数	肺病変		App <sup>1)</sup> 分離 頭数
				陽性頭数	面積率(%)	
10 <sup>6</sup> CFU	2	0	2	1	2.0	1
10 <sup>6</sup> CFU	5	0	2	2	3.9	2
10 <sup>7</sup> CFU	6	0	6	6	32.3	6
10 <sup>8</sup> CFU	7	4	7	7	36.9	7
10 <sup>9</sup> CFU	6	3	6	6	44.3	6

1) *A. pleuropneumoniae* (注) 社内成績: 植田祐二ら (1991)

## 3) TP 感受性株の実験感染試験における FF の効果

まず、2型の福島株を 10<sup>9</sup>CFU 接種し、FF の用量反応を検討した。FF の用量は飼料中 25, 50, 100 ppm, TP の用量は承認最高用量である飼料中 200 ppm とした。感染対照群では 7 頭中 5 頭が死亡し、全頭とも臨床症状、肺病変および *A. pleuropneumoniae* 分離が陽性であり、肺病変面積率は 51.9% と非常に高い値であった。感染投薬群では死亡例はなく、FF 25 ppm 群では全頭で肺病変が認められたが、肺病変面積率は対照群に比較すると低い値であった。FF 50 および 100 ppm 群では、全頭とも臨床症状、肺病変および菌分離が陰性であった。一方、TP 200 ppm 群では 7 頭中 6 頭でこれらの調査項目が陽性であった。このように FF は 25 ppm 以上の投与で効果が認められたが、以後の試験での FF の用量は、確実な有効量である 50 ppm に設定した。

*A. pleuropneumoniae* の血清型は、現在 1~12 型が報告されている<sup>5)</sup>。日本では 2 型株が最も高頻度に分離されているが、1 および 5 型株による胸膜肺炎が増加してきている<sup>3,4,6,7,8,11)</sup>。そこで次に 1 型の Shope 4074 株を 10<sup>8</sup>CFU 接種した。感染対照群では全頭が、TP 200 ppm 群では 1 頭が死亡し、両群とも全頭で臨床症状、肺病変および *A. pleuropneumoniae* 分離が陽性であった。しかし、FF 50 ppm 群では死亡豚は出現せず、全頭とも各調査項目が陰性であった。

5 型の K 17 株を 10<sup>9</sup>CFU 接種した場合、対照群では 6 頭中 5 頭が死亡した。しかし、FF 50 ppm および TP 200 ppm 群では死亡豚は出現せず、それぞれ 6 頭中 3 頭で肺病変が認められたが、肺病変面積率は低い値であった。なお FF 100 ppm 群では全頭とも肺病変は認められなかった。

以上のように FF は接種菌株の血清型にかかわらず顕著な効果を示した (表 8)。

表 8 TP 感受性株の豚への実験感染試験における FF の効果 (植田ら<sup>15)</sup>)

接種菌株 (血清型)	区 分	供試 頭数	死亡 頭数	臨床症状 陽性頭数	肺病変		App <sup>1)</sup> 分離 頭数
					陽性頭数	面積率(%)	
福島 (2型)	感染対照	7	5	7	7	51.9	7
	FF 25 ppm	4	0	4	4	18.6	3
	FF 50 ppm	7	0	0	0	0	0
	FF 100 ppm	4	0	0	0	0	0
	TP 200 ppm	7	0	6	6	17.8	6
Shope4074 (1型)	感染対照	3	3	3	3	48.3	3
	FF 50 ppm	3	0	0	0	0	0
	TP 200 ppm	3	1	3	3	19.3	3
K17 (5型)	感染対照	6	5	6	6	56.0	6
	FF 50 ppm	6	0	6	3	8.5	3
	FF 100 ppm	3	0	3	0	0	0
	TP 200 ppm	6	0	6	3	12.2	2

1) *A. pleuropneumoniae*

#### 4) TP 耐性株の実験感染試験における FF の効果

最近、日本において *A. pleuropneumoniae* の TP 耐性株が増加してきている<sup>2)</sup>ことから、2 型の TP 耐性である 8541 および 8543 株を 10<sup>9</sup>CFU 接種して薬効評価を実施した (表 9)。両株とも対照および TP 200 ppm 群では、ほとんどの豚が死亡したが、FF 50 ppm 群では死亡豚は出現しなかった。また 8541 株では全頭で、8543 株では 1 頭で肺病変が認められたが、肺病変面積率はそれぞれ 4.6 および 0.8 % と非常に低い値であった。このように FF は TP 耐性株を接種した場合においても顕著な効果を示した。

### 8. 臨床応用

実験感染試験において効果が認められたため、臨床における効果を確認するために、4 回の臨床

試験を実施した。なお実験感染試験は重度の感染条件下で実施したため、臨床有効用量は 50 ppm 以下と推察し、臨床試験を実施した。

#### 1) 用量設定試験

肺炎症状陽性の 100~120 日齢の豚を供試し、薬剤を治療的に投与した用量設定試験を実施した (表 10)。投薬は飼料添加で 7 日間連用とし、剖検は投薬終了時に実施した。臨床症状については、食欲、発熱、咳、異常呼吸などの症状を毎日観察し、それぞれ正常を 0、軽度を 1、重度を 2 とスコア化し、毎日の合計スコアを算出し、さらに総合スコア (毎日の合計スコアの 7 日間の合計) を算出した。剖検は、試験期間中の死亡豚および試験終了時の各群の 5 頭を対象に実施し、胸膜癒着、線維性硬結、気管支リンパ節腫大および心嚢水・胸水の増量の程度をそれぞれ正常を 0、軽度を 1、中等度を 2、重度を 3 とスコア化し、

表 9 TP 耐性株の豚への実験感染試験における FF の効果 (植田ら<sup>15)</sup>)

接種菌株 (血清型)	区 分	供試 頭数	死亡 頭数	臨床症状 陽性頭数	肺病変		App <sup>1)</sup> 分離 頭数
					陽性頭数	面積率 (%)	
8541 (2型)	感染対照	3	2	3	3	50.1	3
	FF 50 ppm	3	0	3	3	4.6	2
	TP 200 ppm	3	2	3	3	35.8	3
8543 (2型)	感染対照	3	3	3	3	35.0	3
	FF 50 ppm	3	0	3	1	0.8	1
	TP 200 ppm	3	3	3	3	44.4	3

1) *A. pleuropneumoniae*

表 10 臨床試験 1—治療的に投薬した用量設定試験

区 分	供試 頭数	臨床症状 総合 スコア	死亡 頭数 <sup>1)</sup>	剖 検 スコア	菌分離 <sup>2)</sup>		増体重 (kg)	飼 料 要求率
					肺	リンパ		
無投薬対照	5	31.8	1/5	7.6	5/5	5/5	-1.1	—
FF 5 ppm	15	25.3	1/15	8.3	6/6	6/6	0.5	9.9
FF 10 ppm	15	21.4	2/15	5.6	6/7	5/7	1.0	5.1
FF 20 ppm	15	11.3	1/15	4.3	3/6	1/6	3.2	2.1
FF 40 ppm	15	5.7*	0/15	2.0*	1/5	0/5	4.3	1.7
TP 200 ppm	15	24.2	2/15	6.6	7/7	5/7	1.8	3.0

1) 死亡頭数/供試頭数

2) 菌分離陽性頭数/剖検頭数

肺炎症状陽性の 100~120 日齢の豚を供試し、7 日間の投薬後剖検

臨床症状総合スコアおよび剖検スコアの基準は本文 8 の 1) を参照

\*:  $p < 0.05$  で無投薬対照との間に有意差あり

(注) 未発表: 京都動物検査センター

合計スコアを算出した。*A. pleuropneumoniae* 分離は剖検豚の肺および気管支リンパ節を材料として実施し、増体重および飼料要求率は投薬期間の7日間の値とした。FF 5 ppm 群ではその効果は不十分であったが、10 ppm 以上の投与群では各試験項目は用量相関的に改善され、FF 10 ppm 群の効果は TP 200 ppm 群の効果を上回っていた。

次に薬剤を発症好発期に投与した用量設定試験を実施した(表 11)。本試験を実施した養豚場では、肥育舎に移動した後(約3カ月齢)に肺炎が多発する傾向にあり、病勢鑑定の結果、胸膜肺炎と診断された。そこでこの時期の豚を供試し、投薬は飼料添加で7日間連用として剖検は投薬終了後3日目に実施した。薬剤を治療的に投与した試験と同様、FF 5 ppm 群では十分な効果は認められなかったが、10 ppm 以上の投与群では各項目は用量相関的に改善された。

以上2回の用量設定試験の結果から、FF は 10 ppm 以上の投与で用量相関的な効果を示し、20~40 ppm 投与は十分有効な用量であると判断された。したがって、以後の臨床試験では FF の用量は飼料中 20 または 40 ppm とした。

## 2) 効果確認試験

14~15 週齢の豚を供試し、薬剤を治療的に投与した効果確認試験を実施した(表 12)。投薬は飼料添加で7日間連用とし、臨床症状発現の推移から

効果の確認を行った。各群の供試頭数は 12 または 13 頭としたが、No. 1 の試験の TP 200 ppm 群の 1 頭が試験終了日に、No. 4 の試験の無投薬対照群の 1 頭が試験開始後 3 日に、1 頭が終了日に死亡した。No. 1 および 2 の試験では、各群とも試験開始時の発症豚はほとんどの例で症状が好転し、効果が認められた。No. 3 および 4 の試験では、各投薬群とも無投薬対照群と比較して明らかに臨床症状の発現が少なく、効果が認められた。

次に薬剤を発症好発期に投与した効果確認試験を実施した。本試験を実施した養豚場で肺炎が多発する約3カ月齢の豚を供試し、5日間の投薬を3日間の休薬を挟んで3回実施した(表 13)。したがって観察期間は21日間とした。供試頭数は FF 20 ppm 群が 257 頭、TP 200 ppm 群が 254 頭とし、臨床症状については、観察期間である 21 日間の延べ陽性頭数とし、それをもとに出現率を算出した。呼吸器症状出現率については、TP 200 ppm 群の方が低い値であったが、元気消失および食欲低下については FF 20 ppm 群の方が低い値であった。また TP 200 ppm 群では 3 頭が死亡し、それらの豚から *A. pleuropneumoniae* または *P. multocida* が分離されたが、FF 20 ppm 群では死亡例はなかった。これらのことから FF の 20 ppm 投与効果は TP の 200 ppm 投与効果と比較して同等以上であると判断された。

以上、各 2 通りの投薬条件で実施した用量設定

表 11 臨床試験 2—発症好発期に投薬した用量設定試験

区 分	供試 頭数	臨床症状 総合 スコア	死亡 頭数 <sup>1)</sup>	剖 検 スコア	菌分離 <sup>2)</sup>		増体重 (kg)	飼 料 要求率
					肺	リンパ		
無投薬対照	15	29.5	1/15	5.5	6/6	5/6	5.0	2.8
FF 5 ppm	15	19.3	0/15	7.0	4/5	3/5	6.1	2.6
FF 10 ppm	15	5.0*	0/15	0.6	0/5	0/5	7.5	2.3
FF 20 ppm	15	1.1**	0/15	0.2*	0/5	0/5	8.9	2.4
FF 40 ppm	15	0.7**	0/15	0 **	0/5	0/5	9.9	2.0
TP 200 ppm	15	12.7	0/15	0.8	0/5	0/5	7.2	2.4

1) 死亡頭数/供試頭数

2) 菌分離陽性頭数/剖検頭数

約3カ月齢の豚を供試し、7日間の投薬終了後3日目に剖検臨床症状総合スコアおよび剖検スコアの基準は本文8の1)を参照

\* :  $p < 0.05$  で無投薬対照との間に有意差あり

\*\* :  $p < 0.01$  で無投薬対照との間に有意差あり

(注) 未発表: 京都動物検査センター



表 12 臨床試験 3—治療的に投薬した効果確認試験

試験 No.	区 分	試験開始時 (1日目)	投薬終了時 (7日目)	試験終了時 (9日目)
1	FF 20 ppm	2/12 <sup>1)</sup>	1/12	0/12
	FF 40 ppm	3/13	0/13	0/13
	TP 200 ppm	2/13	1/13	0/12
2	FF 20 ppm	3/13	0/13	0/13
	FF 40 ppm	3/13	2/13	1/13
	TP 200 ppm	3/13	2/13	1/13
3	無投薬対照	3/13	5/13	4/13
	FF 20 ppm	2/13	1/13	0/13
	FF 40 ppm	4/13	1/13	0/13
	TP 200 ppm	2/13	2/13	0/13
4	無投薬対照	3/13	5/12	1/11
	FF 20 ppm	2/13	1/13	0/13
	FF 40 ppm	3/13	2/13	0/13
	TP 200 ppm	2/13	0/13	0/13

1) 発症頭数/1群の全頭数

14～15週齢の豚を供試し、7日間投薬

(注) 未発表：中西哲史ら (株) ジャパンファーム

表 13 臨床試験 4—発症好発期に投薬した効果確認試験

観 察 項 目	FF 20ppm 投与区	TP 200ppm 投与区
抗体上昇率 <sup>1)</sup>	0/5 (0%)	3/5 (60%)
臨床症状出現率 <sup>2)</sup>	呼吸器症状	51/5397 (0.94%)
	元気消失	30/5397 (0.56%)
	食欲低下	11/5397 (0.20%)
へい死豚出現率 <sup>3)</sup>	0/257 (0%)	3/254 (1.18%)
菌分離成績	へい死豚なく実施せず 3/3	

1) 抗体上昇頭数/検査頭数

2) 21日間の延べ陽性頭数/21日間の延べ観察頭数

3) へい死頭数/供試頭数

約3カ月齢の豚を供試して5日間の投薬を3日間の休薬期間を挟んで3回実施し、観察期間は21日間

(注) 未発表：山本一郎 (富山県 永見獣医科病院)

試験および効果確認試験，すなわち4種の臨床試験の結果より，FFの臨床有効用量は20～40 ppmに決定された。

## 9. 残 留

国内2カ所の試験施設においてFFを40 ppm (承認最高用量) および120 ppm (承認最高用量の3倍) で7日間飼料添加投与し，残留性試験を実施した(表14)。表では，2カ所の成績を合わせ，残留陽性検体数/検体数で表現した。その結果，休

薬1日ですぐの組織からもFFは検出されず，FFは生体内からの消失が極めて速く，組織残留性の低い抗菌剤であることが確認された。この試験成績をもとにしてFFの使用禁止期間は極めて短い3日間に設定された。

## 10. 参 考

FFの製剤名と承認事項および使用上の注意は表15のとおりである。

表 14 豚における FF の残留性試験

区分	組織	休薬日数		
		0	1	3
40 ppm 投与区	血液	4/6 <sup>1)</sup>	0/6	0/6
	腎臓	6/6	0/6	0/6
	肝臓	5/6	0/6	0/6
	筋肉	4/6	0/6	0/6
	小腸	4/6	0/6	0/6
	脂肪	1/6	0/6	0/6
120 ppm 投与区	血液	6/6	0/6	0/6
	腎臓	6/6	0/6	0/6
	肝臓	6/6	0/6	0/6
	筋肉	6/6	0/6	0/6
	小腸	5/6	0/6	0/6
	脂肪	3/6	0/6	0/6

1) 残留陽性体数/検体数

検出限界：0.05 µg/g または ml

(注) 未発表：畜生安研，武田薬品

表 15 製剤名と承認事項および使用上の注意

製剤名：フロロコール5
製造所名：武田薬品工業株式会社
成分・分量：本剤 1 kg 中にフロルフェニコール 5 g を含有する。
効能・効果：[有効菌種] アクチノバシラス・ブルコニューモニエ [適応症] 豚：胸膜肺炎
用法・用量：通常飼料 1 t 当たり，フロルフェニコールとして下記の量を均一に混じて経口投与する。 豚：20~40 g (1~2 mg/kg 体重)
使用上の注意：本剤は，週余にわたる連続投与を避けること。
その他の注意：1. 獣医師の処方せん・指示により使用すること。 2. 使用基準の定めるところにより使用すること。 3. 本剤は薬事法第83条の2の規定に基づき使用者が遵守すべき基準が定められた動物用医薬品である。 下記の使用禁止期間を遵守すること。 豚：食用に供するためにと殺する前3日間。

## 参考文献

- 1) Fukui, H., Fujihara, Y. and Kano, T.: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of florfenicol, a new fluorinated analog of thiamphenicol, against fish pathogens. *Fish Pathology*, 22, 201-207 (1987)
- 2) Fukuyasu, T., Sakpuaram, T., Saito, K. et al.: Serotyping and drug susceptibility of strains of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* isolated from pneumonic lungs of pigs. *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 44, 11-16 (1991)
- 3) Inoue, A., Yamamoto, K., Hirano, N. et al.: Drug susceptibility of *Haemophilus pleuropneumoniae* strains isolated from pigs. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 46, 175-180 (1984)
- 4) Ishii, H., Nakasone, Y., Shigehara, S. et al.: Drug-susceptibility and isolation of a plasmid in *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae*. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 52, 1-9 (1990)
- 5) Komal, J. P. S. and Mittal, K. R.: Grouping of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains of serotypes 1 through 12 on the basis of their virulence in mice. *Vet. Microbiol.*, 25, 229-240 (1990)

- 6) Kume, K., Nakai, T. and Sawata, A.: Isolation of *Haemophilus pleuropneumoniae* from the nasal cavities of healthy pigs. Jpn. J. Vet. Sci., 46, 641-647 (1984)
- 7) Kume, K. and Nakai, T.: Isolation of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* serovar 1, 6 or 7 from pigs. Jpn. J. Vet. Sci., 50, 589-591 (1988)
- 8) Nakai, T. and Kume, K.: Serological and bacteriological survey of *Haemophilus pleuropneumoniae* serovar 5. Jpn. J. Vet. Sci., 49, 1141-1144 (1987)
- 9) Neu, H. C. and Fu, K. P.: *In vitro* activity of chloramphenicol and thiamphenicol analogs. Antimicrob. Agents Chemother., 18, 311-316 (1980)
- 10) Rosendal, S. and Boyd, D. A.: *Haemophilus pleuropneumoniae* serotyping. J. Clin. Microbiol., 16, 840-843 (1982)
- 11) Sakpuaram, T., Fukuyasu, T. and Ashida, K.: Isolation of *Actinobacillus pleuropneumoniae* from pneumonic lungs of slaughtered pigs. Jpn. J. Vet. Sci., 51, 1279-1281 (1989)
- 12) Schultz, R. A., Cue, T. and Anderson, M. D.: Evaluation of tiamulin water medication in treatment for *Haemophilus pleuropneumoniae* in swine. Vet. Med. Small Anim. Clin., 78, 1625-1627 (1983)
- 13) Syriopoulou, V. P., Harding, A. L., Goldmann, D. A. et al.: *In vitro* antibacterial activity of fluorinated analogs of chloramphenicol and thiamphenicol. Antimicrob. Agents Chemother., 19, 294-297 (1981)
- 14) 植田祐二, 林 俊克, 生川憲明ほか: 豚の実験的 *Actinobacillus pleuropneumoniae* 性肺炎に対する Florfenicol の予防効果。第 111 回日本獣医学会講演要旨集, 180 (1991)
- 15) Ueda, Y., Ohtsuki, S. and Narukawa, N.: Efficacy of florfenicol on experimental *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pigs. J. Vet. Med. Sci., 57, 261-265 (1995)
- 16) Ueda, Y., Ohtsuki, S. and Narukawa, N.: Effect of florfenicol on experimentally induced *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection in pigs. Int. Pig Vet. Soc. 13th Cong. (Thailand) Abst., 337 (1994)
- 17) Ueda, Y. and Suenaga, I.: *In vitro* antibacterial activity of florfenicol against *Actinobacillus pleuropneumoniae*. J. Vet. Med. Sci., 57, 363-364 (1995)
- 18) 山本孝史: 豚の胸膜肺炎について。家畜診療, No. 327, 5-11 (1990)

## Florfenicol

Yuji UEDA

*Marketing Department, Agro Company, Takeda Chemical Industries, Ltd.,  
12-10 Nihonbashi 2-chome, Chuo-ku, Tokyo 103, Japan*

Florfenicol (FF) is a novel synthetic antibacterial compound, selected from a series of fluorinated analogs of thiamphenicol (TP) and chloramphenicol at Schering-Plough Corporation. The fluorine at the  $\alpha$ -methyl position in place of the hydroxyl group differentiates FF from TP. FF showed a broad activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria and mycoplasmas, and was more active than TP against various species of bacteria. FF has been sold as an antibacterial agent against pseudotuberculosis and streptococcosis in yellowtail since 1990.

Furthermore, the development of FF as a veterinary drug to control swine *Actinobacillus pleuropneumoniae* was performed by Takeda Chem. Ind., Ltd. The approvals for veterinary use by MAFF of Japan was obtained in June of 1992.

The MIC values of FF against serotypes 1 to 12 reference strains of *Actinobacillus pleuropneumoniae* were 0.19 or 0.39  $\mu\text{g/ml}$ , and those against 94 field isolates of *A. pleuro-*

*pneumoniae* including TP-resistant strains ranged from 0.05 to 0.78  $\mu\text{g}/\text{ml}$  with a peak at 0.39  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

When FF was administered orally in pigs, the compound was rapidly absorbed and distributed in tissues, especially in the lung, and reached a peak concentration at 1 hour after dosing.

The development of pleuropneumonia was remarkably prevented by medication with feed containing FF at a dosage of 50 ppm when the pigs were experimentally inoculated with serotypes 1, 2, 5 strains and TP-resistant strains of *A. pleuropneumoniae*, respectively. In the field trials, FF provides a remarkable effect against swine pleuropneumonia at a dosage of 20-40 ppm.

When FF was administered in pigs at 40 or 120 ppm in feed for 7 consecutive days to determine residues, concentration of the drug in all tissues became lower than the assay limit ( $<0.05 \mu\text{g}/\text{g}$  or  $\text{ml}$ ) at 1 day after ceasing medication. No substantial toxicological effects were seen in pigs overdosed with regimens.

### 討 論 (座長: 阪野哲也, 全農家衛研)

質問 (小野浩臣, 日獣畜大)

- 1) FF は動物専用の合成抗菌剤と考えてよいか。
- 2) CP, TP との間に交叉耐性はないか。
- 3) 腸内細菌の耐性 (R 因子を含め) に影響はないか。

答 (植田祐二)

- 1) FF は動物専用の合成抗菌剤である。
- 2) CP, TP との間に交差耐性はない。なぜなら CP, TP に対する主要耐性機構は、細菌がフェネチル基の  $\alpha$  位メチル基における水酸基をアセチル化するアセチルトランスフェラーゼ産生能力を持つこと (伝達性耐性) にあるが、FF では水産基がフッ素で置換されているため、酵素的不活化を受けない。
- 3) 腸内細菌の耐性に影響はないと考える。2) で述べた耐性機構は、*E. coli* においても報告されている。

質問 (佐藤静夫, 全農家衛研)

豚胸膜肺炎の発生例では慢性病変として癒着などもみられるので、薬の応用としては予防的使用が望ましいと思われる。野外での応用例を示して頂きたい。

答 (植田祐二)

1. 群内に数頭の発症豚を認める肺炎発症初期において、豚房毎に、あるいは重度汚染農場では豚舎内の全頭に、FF として 20~40 ppm を飼料添加で 7 日間を 1 ク

ールとして投与し、状況に応じては繰り返し投与する予防・治療的投与が一般的である。

2. 農場によっては肺炎が多発する時期が決まっている場合があり、このような農場では多発する時期に FF として 20~40 ppm の 7 日間投与を 1 クールとし、状況に応じて反復する。

質問・意見 (阪野哲也)

1. 体内からの排泄が TP より優れているのは、フッ素置換されているためか。
2. App の実験感染ルートは鼻腔内接種よりも気管内接種の方が菌量が少なく確実であり、薬効評価に適しているため、今後の参考にしていただきたい。

答 (植田祐二)

1. FF と TP の体内からの排泄速度を比較した成績はない。しかし、FF は TP に比べ、投与後の組織内濃度が高く、組織移行性が良好である。これは、FF がフッ素置換されていることによるものと考えられる。
2. 急性経過で死亡する重度の肺炎は鼻腔内接種によっても引き起こすことができるため鼻腔内接種とした。生存耐過し、慢性経過をとる肺炎を引き起こすため今後は気管内接種も検討してみたい。