

オキシテトラサイクリン（効能追加）

豊田雅典¹⁾・久保埜和成²⁾・渡辺直久³⁾・岡村由紀子⁴⁾・沼田厚子⁵⁾・元木弘昭⁶⁾

¹⁾ 株式会社インターベット（〒300-0134 茨城県かすみがうら市深谷 1103）

²⁾ あすか製薬株式会社（〒810-0001 福岡県福岡市中央区天神 4-1-1）

³⁾ 川崎製薬株式会社（現共立製薬株式会社）（〒210-0818 神奈川県川崎市川崎区中瀬 3-19-11）

⁴⁾ コーキン化学株式会社（〒579-8014 大阪府東大阪市石切町 3 丁目 7 番 49 号）

⁵⁾ 株式会社 トーヨー技術研究所（〒350-1332 埼玉県狭山市下奥富 883）

⁶⁾ バイオ科学株式会社（〒779-1292 徳島県阿南市那賀川町工地 246-1）

1. はじめに

オキシテトラサイクリン（OTC）は 1950 年に発見され、*Streptomyces rimosus* の培養液から分離された抗生物質である。米国では 1951 年に人用医薬品および動物用医薬品として発売されている。

日本では 1961 年に動物用医薬品の飼料添加剤として承認され、その後、1981 年に再評価が終了した。水産用医薬品としては、1971 年にブリなどの数種類を対象魚として承認されている。1984 年の再評価の終了後、8 社共同開発によるギンザケのビブリオ病、9 社によるヒラメの連鎖球菌症に対する適用拡大が行われ、それぞれ 1988 年および 1992 年に承認が取得されている。

また、2003 年の薬事法改正に伴い使用基準の一部が改正され、使用対象動物に関する規定が「種」から「目」単位に変更されたことにより、その当時、すずき目、にしん目（ただし、あゆを除く）、うなぎ目およびかれい目がその使用対象魚種となった。また、同時に動物用医薬品等取締規則も一部改正になり、それまで代表的な養殖魚のみが薬事法の規制対象であったものが、食用に供するために養殖されているすべての水産動物へと拡大された。

そのような状況下で、当時、規制対象外であっ

たふぐ目魚類についても薬事法に基づく規制対象に含まれることとなったが、当時はふぐの細菌感染症に対する有効な抗生物質又は合成抗菌剤は国内で承認されていなかったことから、主要生産県からの塩酸オキシテトラサイクリン製剤の本魚種への効能追加を要望する強い声上がるに至った。

ふぐ目魚類の養殖では寄生虫性疾病による被害が最も大きい、ビブリオ病による被害は細菌性疾病の中では最も被害の大きい疾病である。ビブリオ病は、取扱いによるストレスや擦れ、寄生虫の寄生、栄養障害などが起きたときに発生する傾向があり、*Vibrio anguillarum* は多くの海産魚にとって条件性病原体であるとされている。また、トラフグの *V. anguillarum* に対する感受性はそれ程高くなく、本菌の感染には何らかの要因が作用する必要があることが示唆されていることから、統計上ビブリオ病とされていない魚病被害の中にも、二次的な疾病又は合併症として本病が影響している可能性もあり、その潜在的被害はもっと大きいものであるかもしれない。このようなことから、ふぐ目魚類のビブリオ病対策に使用できる医薬品の開発は養殖業者の強い要望となっていた [1]。

社団法人 日本動物用医薬品協会の協力の下、塩酸オキシテトラサイクリン製剤の製造又は販売会社が参加し、「トラフグのビブリオ病に対する

水産用オキシテトラサイクリン製剤の適応拡大承認申請に関する共同開発」を実施した。すなわち、2003年から2005年にかけて、各県の水産試験場、独立行政法人水産総合研究センターの協力の下、各種試験を実施した。その結果、塩酸オキシテトラサイクリン製剤のトラフグに対する安全性、ビブリオ病による死亡率低下に対する有効性が確認され、またその組織内での残留性が明らかとなったことから、ふぐ目魚類への効能拡大の申請をすするに至った。その後、2006年に承認が取得され、2年後の2008年に再審査期間が終了した。

2. 試験成績

(1) トラフグに対する安全性

臨床適用量 (OTCとして50mg (力価) /kg) の2倍量、5倍量および10倍量を1日1回、7日間連続投与し、その後、8日間の観察期間を設けて、平均体重13.6gのトラフグに対する安全性を1群当たり30尾で確認した。飼育期間中の水温は24.0～25.0℃で、飼育中はEP飼料を給餌した。

その結果、10倍量で投与した場合であっても、成長抑制の可能性が示唆された以外は、一般状態、摂餌量、死亡数に違いは認められなかった。

(2) トラフグのビブリオ病に対する有効性

ア. 薬剤感受性

1999年～2004年に長崎県、香川県、愛媛県で養殖トラフグから分離された *V. anguillarum* 5株

とブリ又はカンパチ由来の *V. anguillarum* 13株について、生化学的検査および参照株のアユ由来株で作製した *V. anguillarum* J-O-3型抗血清によるスライド凝集反応を行い、それら菌株に対するOTCの最小発育阻止濃度 (MIC) を「動物由来細菌に対する抗菌性物質の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法 (動物用抗菌剤研究会2003年改定標準法)」に準じて測定した。

ブリおよびカンパチ由来の *V. anguillarum* とトラフグ由来の *V. anguillarum* との生化学的性状および血清学的性状の比較では両者の間の生物学的同等性が示され、OTCのふぐ目魚類のビブリオ病に対する有効性が示唆された。また、トラフグ由来株は、ブリおよびカンパチ由来株と同様にOTCに対して高い感受性を示し (表1)、ふぐ目魚類のビブリオ病に対するOTCの有効性が裏付けられた。

イ. 吸収などの試験

トラフグにおける吸収などを調べるため、OTCとして50mg (力価) /kg魚体重を配合飼料および水とともに練り合わせ、平均体重350gのトラフグ30尾に1回強制経口投与した。投与後0, 1, 3, 6, 24, 48および72時間にそれぞれ3個体を取り上げ、血漿、筋肉、肝臓および腎臓を採取し、HPLC法 [中央法規「食品安全性セミナー4動物用医薬品・飼料添加物」、抗生物質:オキシテトラサイクリン (OTC)、クロルテトラサイクリン (CTC) およびテトラサイクリン (TC) 試験法] により各臓器におけるOTCの組織内濃度を測定

表1 *V. anguillarum* に対するオキシテトラサイクリンの最小発育阻止濃度 (MIC:mg/L)

由来魚種	分離場所	分離年度	菌株数	MIC (mg/L)
トラフグ	香川	1999年	1	1
	長崎	2003年	2	1
	愛媛, 香川	2004年	2	1
ブリ	愛媛	2003年	4	1
カンパチ	鹿児島	1993年	3	1
	香川	1999年	1	1
	香川	2002年	2	1
	愛媛	2003年	3	1
アユ*	長崎	1974年	1	1

* J-O-3型血清作製用日本原株

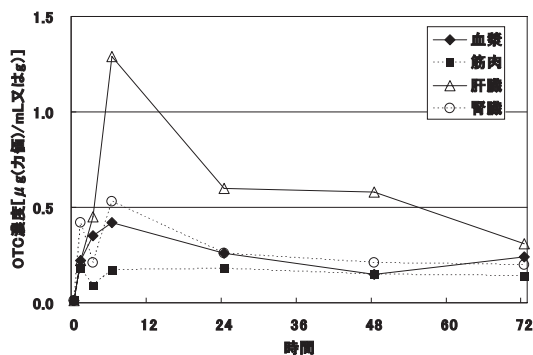


図1 吸収等試験における OTC のトラフグ組織内濃度

した。試験期間中の水温は22.0～23.0℃であった。

試験の結果、トラフグに投与された OTC は、筋肉、肝臓および腎臓に残留すること、筋肉では残留した薬剤の排泄が他の臓器よりも遅いこと、肝臓および腎臓では投与後数時間で最高濃度に達し、その後低下すること、ならびに筋肉よりも肝臓および腎臓の方が高い濃度で残留し、最も高く残留するのは肝臓であることが示唆された。

ウ. 臨床試験

トラフグ養殖現場における OTC 製剤の安全性およびビブリオ病による死亡率低下に対する有効性を評価した。主要生産地の養殖場2ヵ所の海面生簀において、ビブリオ病自然発生群に OTC 製剤の 50mg (力価) /kg 魚体重を、飼料添加により1日1回、7日間連続投与した。そして、投与期間中の7日間および投薬終了後の8日間の計15日間にわたり、一般状態、死亡数より安全性を、また、無投与対照群と投薬群の死亡率を統計学的に比較することにより有効性を評価した。

ビブリオ病の確認は、試験を実施する前の死亡魚の一部について、寒天培地を用いて腎臓又は肝

臓からの菌分離を行い、コロニーを形成した分離菌について抗 *V. anguillarum* J-O-3 型血清によるスライド凝集反応で陽性を示し、他に原因が認められない場合に *V. anguillarum* 感染によるビブリオ病と診断した。

安全性の評価：死亡魚の外観は体表の擦れを中心に、ビブリオ病の主症状である尾鱗の欠損が観察された。剖検では、ほとんどの個体にこれらの貧血症状が観察される一方、死亡原因がビブリオ病であることを裏付ける肝臓の発赤が散見された。これらの症状は、投薬群のみならず無投与対照群の死亡魚にも共通して認められていることから OTC による特異的な反応でないと考えられた。また、両群の摂餌状態、遊泳状態および体色変化にも差が認められなかったことから、OTC のトラフグに対する安全性が確認された。

有効性の評価：いずれの施設においても、無投与対照群と投薬群の死亡率には統計学的な有意差が認められたことから、ビブリオ病によるトラフグの死亡率の低下に対する OTC 製剤の有効性が確認された (表2)。

(3) トラフグに対する残留性

トラフグに対する OTC 製剤の残留性を明らかにし、休薬期間を設定するため、国内2ヵ所において、トラフグ臨床適用量の2倍である 100mg (力価) /kg 体重の製剤を1日1回、7日間経口投与した後、9、18、27、36および45日目に筋肉および肝臓の OTC 濃度を HPLC 分析法により測定した。

試験の結果、飼料の種類や水温の違いによって OTC の組織内濃度が異なり、施設3は36日まで残留が認められたが、施設4では18日までしか認められなかった。より長い残留が認められた施

表2 トラフグのビブリオ病に対する OTC の臨床試験

施設	試験群	平均体重 (g)	供試尾数 (尾)	水温	累積死亡数	死亡率 (%)
施設1	無投薬対照	8	1,100	22.1～	34	3.1
	投薬		1,100	23.2℃	9	0.8*
施設2	無投薬対照	5	1,000	22.2～	189	18.9
	投薬		1,000	23.4℃	131	13.1*

* 無投薬対照群との間に p<0.01 で有意差あり (カイ二乗検定)

表 3 残留試験におけるオキシテトラサイクリンの組織内濃度 (μg (力価) /g, 5尾/時点)

施設	飼料	平均体重 (g)	供試尾数 (尾)	水温	臓器・ 組織	投薬後日数				
						9	18	27	36	45
施設 3	EP	93	50	21.4 ~ 22.5°C	筋肉	0.29 ~ 0.62	0.05 ~ 0.17	<0.01 ~ 0.04	<0.01 ~ 0.05	<0.01
					肝臓	0.49 ~ 0.93	0.12 ~ 0.28	0.01 ~ 0.05	<0.01 ~ 0.06	<0.01
施設 4	モイスト	238	50	22.2 ~ 24.6°C	筋肉	0.04 ~ 0.07	0.01 ~ 0.05	<0.01	<0.01	<0.01
					肝臓	0.05 ~ 0.08	<0.01 ~ 0.03	<0.01	<0.01	<0.01

施設 3 での投与後 9, 18, 36 日の肝臓での各個体濃度より, 統計学的解析の結果, OTC の残留基準値 (0.2ppm) を考慮した日数は 35 日と算出されたが, 他の魚類での休薬期間 (30 日又は 40 日) を考慮し, ふぐ目魚類の休薬期間を 40 日間と設定した。

3. 謝 辞

本試験を実施するにあたり多大なご協力を頂き

ました, 福井県, 愛媛県, 長崎県および熊本県の各水産試験場, 独立行政法人水産総合研究センター, 社団法人日本動物用医薬品協会の関係各位の皆様へ感謝の意を表します。

4. 参 考

OTC の各社製剤名と承認事項および使用上の注意は表 4 の通りである。

表 4 製剤名と承認事項および使用上の注意

剤名	水産用 OTC20% 「あすか」	水産用 OTC 散 10% 「KSK」 水産用 OTC 散 20% 「KSK」 水産用 OTC 散 50% 「KSK」	水産用 OTC 散 「コーキン」 水産用 OTC 散 「コーキン」 200 水産用 OTC 散 100W 水産用 OTC 散 200W 水産用テラマイシン散 水産用テラマイシン散-200	水産用 OTC 散 20% 「SP」	水産用 OTC 散 「TG」 10% 水産用 OTC 散 「TG」 20% 水産用 OTC 散 「TG」 40%	水産用 OTC20% 「バイオ」 NC
製造販売元	あすか製薬株式会社	川崎製薬株式会社	コーキン化学株式会社	セラケム株式会社	株式会社 トーヨー技術研究所	バイオ科学株式会社
販売	あすか製薬株式会社	川崎製薬株式会社	コーキン化学株式会社	株式会社 インターベット	株式会社 トーヨー技術研究所	バイオ科学株式会社
成分・分量	本剤 1g 中, 塩酸オキシテトラサイクリン 100 ~ 500mg (力価) を含有する。					
用法・用量	魚体重 1kg 当たり 1 日量オキシテトラサイクリンとして下記の量を飼料に添加し投与する。 すずき目魚類 : 50mg (力価) にしん目魚類 (淡水中で養殖されているもの。ただし, あゆを除く。) : 50mg (力価) にしん目魚類 (海水中で養殖されているもの) : 50mg (力価) うなぎ目魚類 : 50mg (力価) かれい目魚類 : 50mg (力価) ふぐ目魚類 : 50mg (力価)					

効能・効果	オキシテトラサイクリン感受性菌に起因する下記疾病魚類の死亡率の低下 すずき目魚類 : ビブリオ病 にしん目魚類（淡水中で養殖されているもの。ただし、あゆを除く） : セッそう病, ビブリオ病, 連鎖球菌症 にしん目魚類（海水中で養殖されているもの） : ビブリオ病 うなぎ目魚類 : パラコロ病 かれい目魚類 : 連鎖球菌症 ふぐ目魚類 : ビブリオ病														
使用上の注意 *1	（特に今回の追加適応症に関係して重要な項目のみ記載する。） 【一般的注意】 1. 本剤は下表に掲げる対象魚種の対象疾病を治療するために使用し、下表に掲げる対象魚種以外の魚又は動物には使用しないこと。 <table border="1" data-bbox="310 523 1146 803"> <thead> <tr> <th>対象魚種</th> <th>対象疾病</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>すずき目魚類</td> <td>ビブリオ病</td> </tr> <tr> <td>にしん目魚類（淡水中で養殖されているもの。ただし、あゆを除く。）</td> <td>ビブリオ病, セッそう病, 連鎖球菌症</td> </tr> <tr> <td>にしん目魚類（海水中で養殖されているもの）</td> <td>ビブリオ病</td> </tr> <tr> <td>うなぎ目魚類</td> <td>パラコロ病</td> </tr> <tr> <td>かれい目魚類</td> <td>連鎖球菌症</td> </tr> <tr> <td>ふぐ目魚類</td> <td>ビブリオ病</td> </tr> </tbody> </table> 2. 本剤は、適切な量で使用しないと期待される治療効果が得られず、これを超えて使用した場合には、思わぬ副作用が発生するおそれがあることから、本使用説明書の【用法及び用量】に従って正しく使用すること。 3. 本剤は、病気の治療に必要な最小限の期間の使用に止めることとし、病気が治まった後は使用しないこと。また、治療の効果の有無にかかわらず、8日間以上の連続投与は避け、繰り返し使用しないこと。 4. 本剤は「使用基準」の定めるところにより使用すること。 5. 本剤は指導機関（家畜保健衛生所、魚病診断総合センター、水産試験場等）に相談の上使用すること。	対象魚種	対象疾病	すずき目魚類	ビブリオ病	にしん目魚類（淡水中で養殖されているもの。ただし、あゆを除く。）	ビブリオ病, セッそう病, 連鎖球菌症	にしん目魚類（海水中で養殖されているもの）	ビブリオ病	うなぎ目魚類	パラコロ病	かれい目魚類	連鎖球菌症	ふぐ目魚類	ビブリオ病
対象魚種	対象疾病														
すずき目魚類	ビブリオ病														
にしん目魚類（淡水中で養殖されているもの。ただし、あゆを除く。）	ビブリオ病, セッそう病, 連鎖球菌症														
にしん目魚類（海水中で養殖されているもの）	ビブリオ病														
うなぎ目魚類	パラコロ病														
かれい目魚類	連鎖球菌症														
ふぐ目魚類	ビブリオ病														
その他	注意：本剤は薬事法第83条の4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ため、次の使用禁止期間を遵守すること。 本剤投与後、下記の期間は食用に供する目的で水揚げを行わないこと。 すずき目魚類 : 30日間 にしん目魚類（淡水中で養殖されているもの。但し、あゆを除く。） : 30日間 にしん目魚類（海水中で養殖されているもの） : 30日間 うなぎ目魚類 : 30日間 かれい目魚類 : 40日間 ふぐ目魚類 : 40日間 うなぎ目魚類（うなぎにあっては、体重100g以下のもの及び食用に供するために水揚げする前30日間は飼育水の交換率が1日平均40%以上の条件におかれる体重100gを超えるもの）														
包装	10kg (1kg × 10)														
貯法	室温保存														

*1 使用上の注意については各社異なる部分があるため、代表として本申請の幹事役であった株式会社インターベット（製造販売元：セラケム株式会社）の内容を記載した。

要 約

オキシテトラサイクリンは、現在、動物用医薬品として多くの動物種で承認・販売されているテトラサイクリン系の抗生物質である。ふぐ目魚類

ではこれまで細菌感染症に対する有効な薬剤の承認が国内でなかったが、2006年に新たにビブリオ病に対する効能が追加された。

申請の際に実施された試験結果のうち、まず、トラフグに対する安全性では、臨床適用量（50mg（力価）/kg）の2倍、5倍および10倍のオキシ

テトラサイクリン量を1日1回, 7日間連続投与し, その後, 8日間の観察を行った。その結果, 成長抑制の可能性が示唆された以外は, 一般状態, 摂餌量, 死亡数に違いは認められなかった。次に, トラフグを含むビブリオ病罹患の各魚種から分離された *Vibrio anguillarum* 18株に対する薬剤感受性を調べた結果, いずれの菌株も最小発育阻止濃度(MIC)は1 μ g/mLであった。吸収等試験では, 臨床適用量を1回, トラフグに経口投与したとき, 肝臓中で最も高い濃度が確認され, 6時間後で1.29 μ g(力価)/gが検出された。野外2ヵ所の臨床試験では, いずれの施設での投薬群も, 無投薬対照群と比較してビブリオ病による死亡率を有意に低下させた。魚体内の残留は, 投与後36

日でも肝臓において0.06 μ g(力価)/gの残留が認められ, 統計学的解析の結果も考慮し休薬期間を40日に設定した。

以上, ビブリオ病に罹患したトラフグに, 魚体重1kgあたり1日量オキシテトラサイクリンとして50mg(力価)を投与するときの安全性および有効性が確認された。

引用文献

- 1) 室賀清邦, Varin Tanasomwang, 桃山和夫: トラフグ稚魚に発生した *Vibrio anguillarum* 感染症, 魚病研究, 22, 29-30 (1987)

Oxytetracycline

Masanori TOYOTA¹⁾, Kazushige KUBONO²⁾, Naohisa WATANABE³⁾,
Yukiko OKAMURA⁴⁾, Atsuko NUMATA⁵⁾ and Hiroaki MOTOKI⁶⁾

¹⁾ Intervet K.K. 1103 Fukaya, kasumigaura-shi, Ibaraki 300-0134, Japan

²⁾ ASKA Pharmaceutical Co., Ltd., 4-1-1, Tenjin, Chuo-ku, Fukuoka-shi, Fukuoka, 810-0001, Japan

³⁾ Kawasaki Seiyaku K.K., 3-19-11, Nakaze, Kawasaki-ku, Kawasaki kanagawa 210-0818, Japan

⁴⁾ Kohkin Chemical Co., Ltd., 7-49, 3chome, Nakaishikiricho, higashiosaka-shi, Osaka 579-8014, Japan

⁵⁾ TOYO R&D Co., Ltd., 883 Shimookudomi, Sayama-shi, Saitama 350-1332, Japan

⁶⁾ BIO SCIENCE Co., Ltd., 246-1, Takumuji, Nakagawa-cho, Anan-shi, Tokushima 779-1292, Japan

Oxytetracycline (OTC) is an antibiotic of the tetracyclines, that is currently approved and marketed as a veterinary pharmaceutical for use in many species. For the Fugu (tetradontiformes) puffer fish order, no drugs efficacious against bacterial infections were approved before a new claim for OTC against vibriosis in Fugu was approved in 2006.

Among the studies in the submission dossier, 2 times, 5 times and 10 times the recommended dose of OTC were administered orally once a day for 7 consecutive days in a safety study on Tora Fugu, and fish was observed for 8 days. Except for the possibility of delayed growth, no differences in general condition, feed consumption and death between the different groups were observed. The MICs of OTC were 1mg/mL for 18 strains of *Vibrio anguillarum* isolated from several fish species including Tora Fugu. Absorption studies on OTC in Tora Fugu showed that the highest tissue concentration - 1.29 mcg (titer)/kg, was detected in the liver 6 hours after the clinical dose had been administered. In the residue study, 0.06 μ g (titer)/g was detected in the liver 36 days after administration. The withdrawal period was therefore established as 40 days in consideration of the results of statistical analysis.

In conclusion, safety and efficacy were confirmed for the administration of OTC, 50 mg (titer)/kg/day against vibriosis in Tora Fugu.