

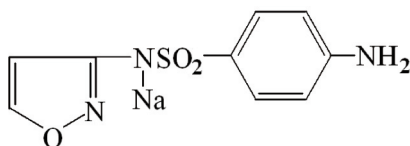
# スルフィソゾール（効能追加）

豊田雅典

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

## 1. はじめに

スルフィソゾール（Sulfisozole, SIZ）は合成のサルファ剤で、そのナトリウム塩であるスルフィソゾールナトリウム（下図の構造式）が水産用医薬品として開発され、昭和47年にイスランソダの製品名で発売された。



分子式：C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>3</sub>S

分子量：261.24

その後、スルフィソゾールナトリウムは動物用医薬品再評価（昭和59年3月31日）を経て、現在では、ブリ：ピブリオ病，類結節症，ノカルジア症，ニジマス：ピブリオ病，冷水病，コイ：カラムナリス病，アユ：ピブリオ病，冷水病に対して効能を有し，使用されている。

本稿では特に，ニジマスの冷水病の効能を追加した際の，背景及び試験成績について述べる。

さて，2003年の薬事法改正では，動物用医薬品等取締規則も一部改正になり，こ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規制対象が拡大された。

このように動物用医薬品の使用規制が整備される中，ニジマスの冷水病に対して効能を持つ許可された薬剤がないことから，全国養鱒技術協議会よりスルフィソゾールの同疾病に対する効能追加申請の要請があり，(社)日本動物薬事協会（現日本動物用医薬品協会）同席の下，本作業を進めることとなった。そこで，平成11年のアユ冷水病を対象とした効能追加の取得に続いて，原因菌を同じくする，ニジマスの同疾病に対する効能追加を，全国養鱒技術協議会を始めとする関係各県の協力の下に実施した。

細菌性冷水病（Bacterial coldwater disease）は，1940年代の米国のニジマス罹病が最初で，北米のサケ・マス孵化場においてよく発生する病気の一つとして知られていた。その後，1984～85年の冬にドイツとフランスのニジマス養殖場で発生して以来，ヨーロッパ諸国で流行して大きな被害を出すようになった。日本では1987年に徳島県の琵琶湖産アユ稚魚から初めて冷水病原因菌が分離された。また，1990年に東北地方のギンザケ孵化場において本病が確認されたが，同症状の病魚は1985年頃から散見されていた [1]。その後，本病は，ニジマス，ヤマメ，イワナなどのマス類にも発生し，現在まで毎年，これらの養殖魚に被害を与えている疾病である。

サケ科魚類における発病の特徴は，稚魚では尾柄部のびらん，潰瘍形成，欠損などが特徴的であるが，体色の黒化と貧血だけを示す場合もある。育成魚では鰓や内臓諸器官の貧血を示すことが多い。鰭の先端の鰭条が裂け擦り切れてゆくのは稚

魚と育成魚に共通する症状である [2]。

本病は、米国の孵化場において10℃以下の水温時に最も流行することから低温病又は冷水病と呼ばれ、あるいは、もう一つの病名の尾柄病とも呼ばれていたが、細菌性冷水病に統一された。なお、本病の原因菌はグラム陰性桿菌の *Flavobacterium psychrophilum* とされている [1]。

本病の対策としては、スルフィゾールがアユの冷水病原因菌に対して優れた抗菌活性を示したことから、まず、アユの冷水病に対する効能が取得された。

ニジマスの冷水病についても同様に、ニジマス野外株での抗菌活性、臨床効果を調べ、その有効性が確認できたことから、本病への効能追加を申請するに至った。

## 2. 試験成績

### (1) 薬剤感受性

2004年から2007年に全国（宮城県、栃木県、群馬県、東京都、山梨県、静岡県、長野県、岐阜県、愛知県及び兵庫県）の冷水病罹患ニジマスから分離された、*F. psychrophilum* 50株に対するスルフィゾールナトリウムの最小発育阻止濃度 (MIC) を、寒天平板希釈法 [3] に従って測定した。

結果を表1及び表2に示したが、スルフィゾールナトリウムの MIC は 0.25～64mg/L の範囲 (MIC<sub>50</sub>:2mg/L, MIC<sub>90</sub>:16mg/L) に分布した。このうち、MIC が 8mg/L 以上の株は 7株 (14%) あった。これらの菌株に分離地域・年度に偏りは

表1 ニジマス由来 *F. psychrophilum* に対するスルフィゾールナトリウムの MIC 分布 (都道府県別)

分離場所	(MIC : mg/L)											計
	≤ 0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	
宮城県				4	1							5
栃木県				3	2	1	1					7
群馬県		1										1
東京都				3	1							4
山梨県				9	2	3		1		3		18
静岡県						1						1
長野県				1	6							7
岐阜県									1			1
愛知県				2								2
兵庫県					3				1			4
計		1		22	15	5	1	1	2	3		50

表2 ニジマス由来 *F. psychrophilum* に対するスルフィゾールナトリウムの MIC 分布 (年度別)

分離年度	(MIC : mg/L)											計
	≤ 0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	
2004		1		12	2	3		1	1	1		21
2005				2	2	1						5
2006				4	7					2		13
2007				4	4	1	1		1			11
計		1		22	15	5	1	1	2	3		50

見られなかった。

以上のことから、野外の *F. psychrophilum* はスルフィソゾールナトリウムに概ね高い感受性を有するものと判定されたが、すでにアユの冷水病への使用が認められていることが原因しているためか、やや低感受性の株も散見された。

(2) 血中濃度

血中濃度については、過去に実施された試験成績について参考のため記載する。

体重約 340g のニジマスに、ナトリウム塩ではないスルフィソゾールを 200mg/kg 魚体重、配合飼料に混合後、給餌した。投与後 3, 6, 9, 12, 24, 30, 36, 48 及び 72 時間に各 10 尾から採血し、血中のスルフィソゾール量を Bratton-Marshall の変法で測定した。なお、飼育期間中の水温は 4 ~ 6.8℃であった。

結果を表 3 に示したが、スルフィソゾールの血中濃度は、時間の経過とともに増加する傾向が見られ、48 時間で最高血中濃度を示した。すなわち、投与後 3, 6, 9, 12, 24, 30, 36, 48 及び 72 時間において、それぞれ 4.1, 7.2, 24.7, 23.7, 76.9, 66.3, 71.8, 97.9 及び 63.2 μg/mL を示した。

また、体重約 70g のニジマスに、スルフィソゾールナトリウムを 200mg/kg 魚体重、配合飼料に混

合後、単回強制経口投与した。投与後 1, 2, 4, 6, 9, 12 及び 24 時間に各 4 ~ 10 尾を採血し、血中のスルフィソゾール量を Bratton-Marshall の変法で測定した。なお、飼育期間中の水温は 18 ~ 20℃であった。

結果を表 4 に示したが、スルフィソゾールナトリウムの血中濃度は、時間の経過とともに増加する傾向が見られ、投与後 1, 2, 4, 6, 9, 12 及び 24 時間において、それぞれ 10.2, 50.8, 75.8, 116.0, 166.7, 210.5 及び 241.8 μg/mL を示した。

なお、上記の試験結果と比較して血中濃度が高い傾向を示したが、これは水温が比較的高いことにより代謝が高まるためであると考えられた。

参考まで、スルフィソゾールと、その塩であるスルフィソゾールナトリウムは、ニジマスにおいて同等性が確認されている。

(3) 臨床試験

ニジマスの冷水病に対するスルフィソゾールナトリウムの有効性を検討するため、国内 2 ヶ所で臨床試験を実施した。

すなわち、死亡した魚から PCR [4, 5] の検査により *F. psychrophilum* が検出された群について、体重 1kg 当たり 100mg 及び 200mg のスルフィソ

表 3 ニジマスのスルフィソゾール血中濃度の推移

投与後 (時間)	採材数 (尾)	平均血中濃度 (μg/mL)
3	10	4.1
6	10	7.2
9	10	24.7
12	10	23.7
24	10	76.9
30	10	66.3
36	10	71.8
48	10	97.9
72	10	63.2

\* 体重約 340g, スルフィソゾールを 200mg/kg 魚体重で飼料に混合後、投与。

水温 4 ~ 6.8℃

(原 和夫, 志野利一, 福井晴朗, 社内資料, 1969)

表 4 ニジマスのスルフィソゾールナトリウム血中濃度の推移

投与後 (時間)	採材数 (尾)	平均血中濃度 ± 標準偏差 (μg/mL)
1	10	10.2 ± 14.7
2	10	50.8 ± 15.8
4	10	75.8 ± 19.6
6	10	116.0 ± 36.7
9	10	166.7 ± 42.8
12	5	210.5 ± 34.1
24	4	241.8 ± 20.2

\* 体重約 70g, スルフィソゾールナトリウムを 200mg/kg 魚体重で単回強制経口投与。水温 18 ~ 20℃

(内藤謙一, 板垣 明, 加納照正, 社内資料, 1981)

ゾールナトリウムを各1日1回、7日間連続で投与し、投与終了後8日間の観察を行った。試験期間中、魚の遊泳・摂餌状態及び体色の変化等の一般状態について毎日観察するとともに、死亡数を調べて累積死亡率を算出した。

有効性の判定は、試験群と対照群の日間死亡率に差がない場合、累積死亡率を $\chi^2$ 検定で有意差を調べ、 $p < 0.05$ を有効と判断した。

安全性の判定は、一般状態の観察で、スルフィソゾールナトリウムの投与による異常が観察されないとき安全と判断した。

試験結果を表5に示した。いずれの施設においても、投薬群のニジマスは無投薬対照群と比較して、有意に累積死亡率を減少させたことから、有効と判断された。また、一般状態については、試験期間中にいずれの施設においてもスルフィソ

ゾールナトリウムによる異常は認められなかったことから、ニジマスに対する安全性が確認された。

### 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。全国養鱒技術協議会、社団法人日本動物用医薬品協会、岐阜県、山梨県、長野県の各水産試験場の関係各位の皆様へ感謝の意を表す。

### 4. 参考

スルフィソゾールナトリウムの製剤名と承認事項および使用上の注意は表6のとおりである。

表5 ニジマスの冷水病に対するスルフィソゾールナトリウムの臨床試験

施設	試験群	平均体重 (g)	供試尾数 (尾)	水温 (°C)	累積死亡数	累積死亡率 (%)
施設1	無投薬対照	5.1	48,900	11.0 ~ 11.5	1,619	3.3
	100mg/kg 投薬	4.8	51,800	11.0 ~ 11.3	1,407	2.7*
施設2	無投薬対照		7,000		542	7.7
	100mg/kg 投薬	1.27	7,000	12.5 ~ 12.8	296	4.2*
	200mg/kg 投薬		7,000		290	4.1*

\*無投薬対照群との間に  $p < 0.05$  で有意差あり ( $\chi^2$  検定)

表6 製剤名と承認事項および使用上の注意

製剤名	イスランソーダ
製造販売元	セラケム株式会社
販売	株式会社インターベツト
成分・分量	スルフィソゾールナトリウム原末
用法・用量	魚体重1kg 当たり1日量スルフィソゾールナトリウムとして下記の量を飼料に添加し投与する。 ぶり：100～200mg (ピブリオ病, 類結節症) 25～50mg (ノカルジア症) にじます：100～200mg こい：100～200mg あゆ：100～200mg
効能・効果	スルフィソゾール感受性菌に起因する下記疾病魚類の死亡率の低下 ぶり：ピブリオ病, 類結節症, ノカルジア症 にじます：ピブリオ病, 冷水病 こい：カラムナリス病 あゆ：ピブリオ病, 冷水病

**【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、同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。

対象魚種	対象疾病
ぶ り	ビブリオ病, 類結節症, ノカルジア症
にじます	ビブリオ病, 冷水病
こ い	カラムナリス病
あ ゆ	ビブリオ病, 冷水病

- (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) 本剤を放流用のアユに使用する場合、放流河川の鮎釣り解禁前15日間は使用しないこと。放流河川の鮎釣り解禁後に放流する場合には本剤使用後15日間は放流しないこと。
- (6) 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。

**【使用者に対する注意】**

使用上の注意

- (1) 誤って本剤を飲み込んだ場合は、直ちに医師の診察を受けること。
- (2) 餌等に混合する際は、マスク等を着用し、粉じん等を吸い込まないように注意すること。
- (3) 本剤が眼に入った場合には、直ちに水でよく洗い流し、医師の診察を受けること。
- (4) 本剤の取扱い時には、防護メガネ、マスク、手袋、作業着等を着用すること。

**【魚に対する注意】**

**1. 副作用**

本剤を大型のぶりで使用した場合、食欲低下が認められることがある。そのような場合には投薬を中止すること。

**【取扱い上の注意】**

- (1) 本剤は、よく振り混ぜてから使用すること。
- (2) ペレット飼料等に吸着して投与する場合は、あらかじめ少量の水に溶解すること。
- (3) 本剤には吸湿性があるので、開封後は湿気を避けて保存すること。
- (4) 使用期限を過ぎたものは使用しないこと。
- (5) 使用済みの空容器等は地方公共団体の条例等に従い適切に処分し、他に流用又は転用しないこと。
- (6) 本剤を数回に分けて使用する場合、すみやかに使用すること。
- (7) 本剤の色に異常が認められた場合には使用しないこと。
- (8) 本剤を廃棄する場合には、環境や水系を汚染しないように注意し、地方公共団体の条例等に従い適切に処分すること。

**【保管上の注意】**

- (1) 本剤は、小児の手の届かないところに保管すること。
- (2) 本剤は、直射日光、高温及び多湿を避けて保管すること。
- (3) 誤用を避け、品質を保持するため、本剤を他の容器に入れかえないこと。

包装 5kg (1kg × 5 分包)

## 要 約

スルフィソゾールナトリウム (SIZ) は水産用医薬品として承認・販売されている合成サルファ剤である。ニジマスの細菌性冷水病（冷水病）には、これまで有効な薬剤が承認されていなかったが、SIZに新たに効能が追加され、ニジマスの冷水病に対する初めての治療薬として承認された。

冷水病は1940年代の米国のニジマス罹病が最初で、北米のサケ・マス孵化場においてよく発生する病気の一つとして知られていた。日本では1987年に琵琶湖産アユ稚魚から初めて発生が確認され、現在ではサケ科魚類やアユにおける重要な疾病の一つとされている。冷水病の原因菌は、グラム陰性桿菌の *Flavobacterium psychrophilum* であり、ニジマスでは、尾柄部のびらん・潰瘍形成・欠損、体色の黒化、鰓や内臓諸器官の貧血などの症状が観察されている。

2004～2007年に全国の冷水病の罹患ニジマスから分離された *F. psychrophilum* 50株に対するSIZの最小発育阻止濃度（MIC）を測定したところ、0.25～64 $\mu$ g/mLに分布し、50株中43株（86%）のMICは0.25～4 $\mu$ g/mLを示し、SIZに対して感受性が認められた。

また、野外での有効性を確認するため、国内2ヵ所において臨床試験を実施した。すなわち、冷水病罹患ニジマスに対し魚体重1kgあたりSIZを100～200mg、連続7日間投与してその治療効果

を調べた。その結果、いずれの施設での投薬群においても、無投薬対照群と比較して冷水病による死亡率を有意に低下させた。

以上の試験結果より、冷水病に罹患したニジマスに、魚体重1kgあたりSIZとして100～200mg/日を投与するときの有効性が示された。

## 引用文献

- 1) 若林久嗣：10. 細菌性冷水病（Bacterial cold-water disease）. 魚介類の感染症・寄生虫病，江草周三監修，若林久嗣・室賀清邦編集，177-183，恒星社厚生閣（2004）
- 2) 山本淳：サケ科魚 細菌性冷水病（BCWD）. 新魚病図鑑，畑井喜司雄・小川和夫監修，25，緑書房（2006）
- 3) 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）. 動物抗菌会報，26，52-61（2004）
- 4) Toyama T, Kita-Tsukamoto K and Wakabayashi H : Identification of *Cytophaga psychrophila* by PCR targeted 16S ribosomal RNA. Fish Pathol, 29, 271-275 (1994)
- 5) Izumi S and Wakabayashi H : Sequencing of *gyrB* and their application in the identification of *Flavobacterium psychrophilum* by PCR. Fish pathol, 35, 93-94 (2000)

Sulfisozole

Masanori TOYOTA

*Intervet K.K., 1103 Fukaya, Kasumigaura-shi, Ibaraki 300-0134, Japan*

Sulfisozole sodium (SIZ) is a synthetic sulphha drug, which is currently registered and marketed as a pharmaceutical for fish. No drugs efficacious for bacterial coldwater disease of rainbow trout had been registered until a new claim for sulfisozole against the infection in rainbow trout was approved.

Coldwater disease was first identified in the US in the 1940s and was known to occur frequently. In Japan, this disease was confirmed in Ayu juveniles from Lake Biwa in 1987 and is currently considered to be one of the most important diseases of salmonids and Ayu. The bacterial species causing coldwater disease is a gram-negative rod, *Flavobacterium psychrophilum*, which induces symptoms of erosion, ulcer formation, deficit of tails, a blackened body, anemia of the gills or internal organs, etc.

The MICs of SIZ ranged from 0.25 to 64  $\mu\text{g}/\text{mL}$  for 50 strains of *Flavobacterium psychrophilum* isolated from prefectures around Japan. Forty-three of the 50 strains (86%) indicated MICs of 0.25 to 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , and susceptibility to SIZ.

Clinical studies were conducted at two domestic sites to confirm the efficacy of SIZ in the field. SIZ, 100mg to 200mg/kg bodyweight was administered orally once a day for 7 consecutive days to rainbow trout with symptoms of coldwater disease and the effect of treatment was evaluated. As a result, the treated groups at both sites showed a significantly reduced mortality compared to the respective control untreated groups.

In conclusion, efficacy was confirmed for the administration of SIZ, 100 to 200mg/kg/day against coldwater disease in rainbow trout.

討 論 (座長：片岡 康，日本獣医生命科学大学)

質問 (浅井鉄夫，動物医薬品検査所)

フラボバクテリウムは常在菌ですか、温度低下と発病に関係はありますか？貧血症状，体表の糜爛・潰瘍との関係は？

答 (片岡 康，日獣大)

水温が 18°C 以上で発育抑制，20°C 以上で発育しない。稚魚の低水温期に発病しやすい。

細菌学的な検査の時も 16°C で長期間培養する。

質問 (片岡 康，日獣大)

ニジマスで承認時に MIC が高いものが見られたが、市販後調査はしていますか？

答 (豊田雅典)

実施している。ただし，1999 年のアユの冷水病，

アユ効能追加で市販後調査を行い，ニジマスでは実施していない。

質問 (原田和記，日獣大)

*Flavobacterium* の MIC 測定はどのように実施しましたか？

答 (豊田雅典)

抗菌剤研究会ガイドラインに準じて実施した。

質問 (坂下満明，Meiji Seika フェルマ)

病魚の診断が PCR であるのは，菌分離が難しいからですか？

質問 (片岡 康，日獣大)

菌分離だと培養に 5 日間以上かかり同定に時間がかかるが，PCR なら 1 日でできるからです。