バルネムリンについて

梶原敬太

ノバルティス アニマルヘルス株式会社（〒105-6137　東京都港区浜松町二丁目4番1号　世界貿易センタービル37階）

1．開発の経緯

塩酸バルネムリン（以下，VML）は，ノバルティス社の前身であるサンド社で1989年に創製されたジテルペン系抗生物質で，プレウロムチリン環側鎖のアミノ基にD–バリンを修飾させた構造を有する半合成抗生物質である。本剤は*Mycoplasma hyopneumoniae*，*Brachyspira hyodysenteriae*，*Brachyspira pilosicoli*，*Lawnosia intracellularis*に対して強い抗菌力を有し，豚の呼吸器および腸管疾患治療薬として開発が行われた。現在のところ飼料添加剤以外の剤形は開発されていない。わが国では2003年4月に「エコノア　1%プレミックス」および「エコノア　10%プレミックス」として承認され，その効能は豚マイコプラズマ肺炎（MPS）および豚赤痢である。なお，本剤は動物用専門薬で，人の医療分野では類似した構造を有する抗生物質は存在しない。なお，と畜場法施行規則の一部改正が2004年2月27日に施行され，家畜伝染病予防法に規定されている法定・届出伝染病がすべて検査対象に含まれることになった。したがって，豚赤痢も今後は検査の対象となり，検査時に発症または異常が認められるものについては，と畜・解体禁止または全廃棄となることから，使用禁止期間が短く（2日間），*B. hyodysenteriae*に対する抗菌力に優れる本剤の有用性が期待されるところである。

2．物理化学的性質

VMLの構造は図1に示したとおりである。VMLは白色～淡黄色の非結晶性の粉末で，においはないか又はわずかに特異なにおいがある。また，やや吸湿性がみられる。水，メタノール，エタノールによく溶け，エーテルにはほとんど溶けない（社内資料：未発表）。

一般名：塩酸バルネムリン
（valnemulin hydrochloride）
略　号：VML
化学名：(1S,2R,3S,4S,6R,7R,8R,14R)-4-ethenyl-3-hydroxy-2,4,7,14- tetramethyltricyclo[6.3.0.31,7]tetradecan-9-oxo-6-yl[2-(2R)-2-amino-3-methylbutyrylamino]-1,1-dimethylethylthio]acetate monohydrochloride
分子式：$C_{31}H_{52}N_2O_5S \cdot HCl$
分子量：601.29

3．安定性

VML原体，エコノア　1%プレミックスおよびエコノア　10%プレミックスの安定性に関しては，長期保存試験，苛酷試験および加速試験の結

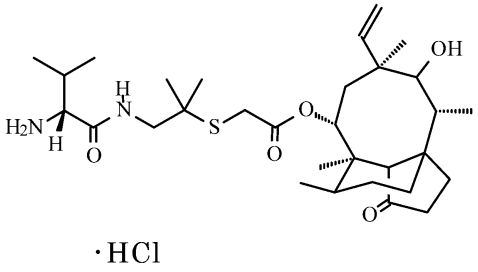

図1　VMLの構造式

果から3年間の安定性が保証されている。但し，光苛酷試験において類縁物質のわずかな増加が認められたため，遮光性の容器に保存することが必要であると判断された（社内資料：未発表）。

4．毒　性

1）単回および反復投与毒性

急性毒性試験では，マウス（雄，雌：経口投与）の50%致死量は雄1,675 mg/kg，雌1,943 mg/kg，ラット（雄，雌：経口投与）では雌雄ともに2,000 mg/kg以上であった。ラットを用いた13週間投与試験（0，8，16，32，64mg/kg/日：混餌投与）の無毒性量（以下，NOAEL）は，雌ラットで8mg/kg/日，雄ラットで16mg/kg/日であった。また，ビーグル犬を用いた13週間投与試験（0，10，30，100mg/kg/日：強制投与）のNOAELは，雌雄ともに30mg/kg/日であった。

2）生殖毒性

マウスおよびラットにおける催奇形性試験ならびにラット2世代繁殖毒性試験において生殖能および次世代の発生に影響を認めなかった。

3）その他の毒性

細菌を用いる復帰突然変異試験，哺乳動物の培養細胞を用いる染色体異常試験，マウスを用いる小核試験の結果，VMLは変異原性を有しないことが確認された。ウサギの眼刺激性試験では軽度な刺激性がみられた。ウサギの皮膚刺激性試験およびモルモットの皮膚感作性試験ではいずれも皮膚刺激性および皮膚感作性を認めなかった（社内資料：未発表）。

5．安全性

9～10週齢の豚にVMLをそれぞれ429ppm（15mg/kg），1,286ppm（45mg/kg）および2,143ppm（75mg/kg）を4週間飼料添加投与し安全性を検討した。その結果，1,286ppmおよび2,143ppmを投与した豚には，血液生化学的所見に軽度な変化がみられたが，429ppmを投与した豚では，一般状態，血液および血液生化学的所見ならびに病理所見においてVMLに起因する異常を認めなかった。また，5週齢の子豚を用いた安全性試験（VMLとして10mg/kg，14日間強制経口投与）においてもVMLに起因する異常を認めなかった（社内資料：未発表）。

6．薬理作用

1）作用機序および抗菌スペクトラム

VMLの作用機序は，細菌のタンパク合成阻害作用であり，同系統であるフマル酸チアムリン（TML）と同様にグラム陽性菌，一部のグラム陰性菌，*Brachyspira*属および*Mycoplasma*属に対して抗菌力を有する。VMLの抗菌スペクトラムを表1に示した。

2）*M. hyopneumoniae*および*B. hyodysenteriae*に対する抗菌力

我が国の野外分離株である*B. hyodysenteriae*（40株）および*M. hyopneumoniae*（40株）のVMLおよび対照薬剤（TML，リン酸タイロシン（TS），塩酸リンコマイシン（LCM））に対する感受性分布を表2に示した。測定方法は*B. hyodysenteriae*については動物用抗菌剤研究会報に準ずる寒天培地希釈法〔1－3〕によって，また*M. hyopneumoniae*については同研究会報による試験管ブイヨン希釈法〔4〕によりマイクロプレートを用いて実施した。

i）*B. hyodysenteriae*

VMLのMICは0.0125～0.10 μg/mL，TMLは0.025～0.20 μg/mLに分布した。一方，TSは≧100 μg/mLが24株，LCMは12.5～50 μg/mLが24株あり，薬剤耐性が示唆された菌株が認められた。

ii）*M. hyopneumoniae*

VMLのMICは全株が≦0.00625 μg/mLであり，TMLは0.0125～0.20 μg/mL，TSは0.25～0.39 μg/mL，LCMは0.10～0.78 μg/mLの範囲にあった。

3）豚赤痢菌実験感染豚における治療効果

豚赤痢菌実験感染豚に対するVMLの有効性試験は，欧州で6週齢の豚45頭（5群;無投与対照群，VML投与群（20ppm，30ppm，40ppm），TML30ppm投与群）を用いて実施された。*B. hyodysenteriae* P18A株を全供試豚に経口接種し，その翌日から

表 1　抗菌スペクトラム　(μg/mL)

菌　　株	VML	TML	TS
Mycoplasma hyopneumoniae HL 8/77	0.0078	0.0312	1
Mycoplasma hyopneumoniae HL 55/77	0.0078	0.0312	4
Mycoplasma hyosynoviae AMRC/104	0.0312	0.25	4
Mycoplasma gallisepticum S6 USA	0.0156	0.0156	1
Brachyspira hyodysenteriae 34	0.0625	–	–
Brachyspira hyodysenteriae 65	0.0625	–	–
Escherichia coli 5b/03	8	> 32	> 32
Pasteurella multocida 1297	0.25	0.5	4
Salmonella Cholerasuis 4466	16	> 32	> 32
Salmonella Typhimurium 4465	2	4	2
Salmonella Gallinarum 4462	8	8	16
Mannheimia haemolytica 63/1	0.0312	0.125	1.0
Bordetella bronchiseptica BB1	0.25	0.5	1.0
Actinobacillus pleuropneumoniae 2	0.125	2.0	1.0
Actinobacillus pleuropneumoniae 3	0.25	4.0	1.0
Straphylococcus aureus	0.25	0.25	16.0
Streptococcus agalactiae	0.25	0.5	4.0
Streptococcus disgalactiae	0.0312	0.25	32.0
Streptococcus uberis	0.0312	0.25	1.0
Enterococcus faecalis 2428/1	0.0312	0.25	1.0

接種菌量：10^6CFU/mL　　（社内資料：未発表）

表 2　野外分離株の薬剤感受性分布

i）*B. hyodysenteriae*（豚由来 40 株，1988 ～ 1999 年）

	MIC（μg/mL）															
	≦ 0.00625	0.0125	0.025	0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
VML		2	9	22	7											
TML			3	12	11	14										
TS												6	10			24
LCM								5	10	1		6	14	4		

接種菌量：10^6CFU/mL

ii）*M. hyopneumoniae*（豚由来 40 株，1996 ～ 1999 年）

	MIC（μg/mL）															
	≦ 0.00625	0.0125	0.025	0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
VML	40															
TML		1	9	19	7	4										
TS			6	7	11	15	1									
LCM					15	17	7	1								

接種菌量：10^6CFU/mL　　（日本獣医畜産大学：未発表）

所定の薬剤を20日間飼料添加投与し，その間の臨床症状の観察，*B. hyodysenteriae* の糞中への排菌および病理学的検査により治療効果を評価した。無投与対照群では，88%の供試豚に豚赤痢の症状が発現し，全頭に糞便中から *B. hyodysenteriae* が検出され，病理検査でも病変部位が確認された。また，TML30ppm 投与群では22%の供試豚に豚赤痢の症状がみられ，2頭の供試豚の糞中から *B. hyodysenteriae* が確認された。一方，VML30ppm 投与群では供試豚の1頭に豚赤痢の症状がみられたが翌日には正常に復した。それ以外の VML 投与群では，豚赤痢の症状はみられず，また糞便中に *B. hyodysenteriae* は検出されなかった。

以上の結果から，VML を 20ppm 以上飼料添加投与することにより豚赤痢に対して治療効果が認められた。

4）実験的 MPS に対する治療効果

M. hyopneumoniae を離乳子豚25頭に経鼻接種し，実験的に MPS を発症させた。無作為に1群5頭に分け，そのうち3群には菌接種1日目より VML を所定量（25，50，200ppm）7日間飼料添加投与した。他の2群は TML 投与群（300ppm，7日間）および無投与対照群とした。菌接種35日後に剖検に伏して，MPS 肺病変面積率（背側面・腹側面の平均値）を算出した。その結果，表3に示すように，MPS 肺病変面積率では無投与対照群で14.3%，VML25ppm 投与群で8.9%，同50ppm 投与群で3.4%，同200ppm 投与群で2.6%，TML 300ppm 投与群で3.1%であり，無投与対照群を100とした場合の指数は，それぞれ63，23，18，22であり，VML を 50ppm 以上飼料添加投与（7日間）することで MPS に対して治療効果を示すと判断された。

5）豚由来腸内細菌に対する交差耐性確認試験

豚由来の腸内細菌（*Escherichia coli* 2株，*Enterococcus faecalis* 2株および *Enterococcus faecium* 2株）に対する VML，オキシテトラサイクリン（OTC），エンロフロキサシン（ERFX），エリスロマイシン（EM），セファゾリン（CEZ）およびセフトリアキソン（CTRX）の MIC を測定した。次に，当該菌に対する VML の最高耐性濃度を求め，その1段階下の濃度で当該菌株を20代継代して VML 耐性獲得株を作成した。VML の耐性獲得株に対する OTC，ERFX，EM，CEZ および CTRX の MIC を測定し交叉耐性について検討した。

その結果，表4に示したように，わずかに ERFX の *E.coli* 野外分離株 No. 2 に MIC の上昇がみられたが，他薬剤においては，MIC の変動を示さず交差耐性は認められなかった。

7．吸収・分布・排泄

1）ラット

放射能標識 VML を静脈内（6mg/kg）および経

表3　実験的豚マイコプラズマ肺炎に対する治療効果
－菌接種後35日目の MPS 肺病変平均面積率－

薬　剤	投与量（ppm）		肺表面積（cm²）	病変面積（cm²）	面積率（%）	指数
無投与対照群	0	平均	361.1	49.3	14.3	
		標準偏差	33.8	37.6	11.7	100
VML	25	平均	376.3	29.6	8.9	
		標準偏差	54.3	34.6	12.0	63
VML	50	平均	440.0	14.8	3.4	
		標準偏差	55.4	9.8	2.2	23
VML	200	平均	326.0	8.4	2.6	
		標準偏差	57.3	6.7	2.2	18
TML	300	平均	3971	12.3	3.1	
		標準偏差	43.4	7.0	1.8	22

（(株) 京動検：未発表）

表 4　豚由来の腸内細菌におけるバルネムリン耐性獲得株の MIC 測定結果　(μg/mL)

菌株名		薬剤名					
		VML	OTC	ERFX	EM	CEZ	CTRX
E. coli 野外分離株 No. 1	耐性獲得前	12.5	>100	0.10	>100	3.13	0.05
	耐性獲得時	100	>100	0.10	>100	3.13	0.05
E. coli 野外分離株 No. 2	耐性獲得前	6.25	>100	0.05	>100	3.13	0.10
	耐性獲得時	50	>100	0.10	>100	3.13	0.10
E. faecalis NVAL-Efs-1	耐性獲得前	12.5	50	0.78	>100	25	>100
	耐性獲得時	200	50	0.78	>100	25	>100
E. faecalis NVAL-Efs-2	耐性獲得前	25	50	0.78	0.78	50	>100
	耐性獲得時	400	50	0.78	0.78	50	>100
E. faecium NVAL-Efm-1	耐性獲得前	6.25	0.78	0.78	0.05	100	6.25
	耐性獲得時	200	0.78	0.78	0.05	100	6.25
E. faecium NVAL-Efm-3	耐性獲得前	0.05	25	0.39	0.05	25	0.78
	耐性獲得時	0.10	25	0.39	0.05	25	0.78

接種菌量：10^6CFU/mL　(日本獣医畜産大学：未発表)

口投与（20mg/kg）した場合の薬物動態パラメータを表 5 に示した。いずれの投与経路においても，VML の吸収および排泄は速やかで，排泄経路は表 6 に示したように大部分が胆汁排泄であり，尿排泄はわずかであった。

2）豚

8 ～ 12 週齢の豚に VML15mg/kg を単回強制投与し，投与後 1，2，4，6，9，12 および 24 時間目に採血し，血清中の VML 濃度を HPLC 法で分析した。投与 4 時間後に最高血中濃度（0.97 μg/mL）に達した後，消失過程に入り，投与後 24 時間では検出限界未満（<0.05 μg/mL）となった。主要排泄経路はラットと同様に胆汁排泄であった。

表 5　ラットにおける ^{3}H-VML の薬物動態

	静脈内投与	経口投与
C_{max}[a] (mg/mL)	3.02	3.47
T_{max}[b]	5 分	3 時間
$T_{1/2}$[c] (h)	2.1	2.1
AUC[d] (mg･h/mL)	6.15	19.6

a) 最高血中濃度
b) 最高血中濃度到達時間
c) 半減期
d) 血中濃度時間曲線下面積

(社内資料：未発表)

表 6　ラットにおける ^{3}H-VML の排泄

	総投与量に対する回収率（%）			
投与経路	尿中	糞中	残留	合計
静脈内投与	2.44	92.9	0.47	96.2
経口投与	1.33	95.0	0.31	100.5

(社内資料：未発表)

8．臨床試験

1）豚赤痢

愛知県内 2 農場において豚赤痢と診断された豚 90 頭を対象に 60 頭には VML を 30ppm，残りの 30 頭には陽性対照薬として TML を 50ppm をそれぞれ 7 日間飼料添加投与した。なお，投与開始前に分離された *B. hyodysenteriae* に対する VML と TML の MIC はそれぞれ 0.0125 ～ 0.20 μg/mL および 0.025 ～ 1.56 μg/mL であり，VML の方が低い値を示した。VML30ppm 試験群は投与開始 4 日目には 60 頭中 49 頭で豚赤痢の臨床症状が消失し，7 日目（投与最終日）には全頭が正常となった。また，投与期間終了後 7 日間に再発はみられなかった。TML50ppm 投与群では，7 日目（投与最終日）までに 30 頭中 27 頭は豚赤痢の臨床症状が消失したが，3 頭は投与期間終了 2 日目に軽度の軟便や泥状便がみられた。投与開始日および投与

期間終了２日目の糞便中の *B. hyodysenteriae* 検査結果は表７に示したとおりであった。

以上のことから，野外における豚赤痢発症症例に対して VML（30ppm，７日間飼料添加投与）は TML（50ppm，７日間飼料添加投与）と同等以上の治療効果を示すことが確認された。

２）MPS

京都府および愛知県内の各１農場において，あらかじめ鑑定殺を行い肺に MPS 病変が確認された豚群を対象に，VML50ppm および 200ppm を７日間飼料添加投与したところ，表８に示したように，出荷時の MPS 肺病変面積および肺病変スコアの改善がみられた。なお，投薬を開始する前に鑑定殺で肺病変部位から分離同定された *M. hyopneumoniae* に対する VML, TML, TS, LCM および ERFX の MIC は表９に示したとおりであった。

９．残留性

国内２試験施設において，８～９週齢の豚における残留性試験を実施した。VML の常用量最高投与量（200ppm）およびその２倍量を投与する群を設定し，VML を７日間飼料添加投与した。被検臓器組織として，血清，脂肪，筋肉，肝臓，腎臓および小腸を採材した。濃度測定は *Micrococcus luteus* ATCC 9341 を試験菌とするマイクロバイオアッセイ法によった。本法による検出限界は 0.05 μg（力価）/g であった。試験の結果，全ての供試動物における被検臓器組織中に VML が検出されなくなった投与終了後の時点は，１日目であった。なお，使用禁止期間は食用に供するためにと殺する前２日間に設定された（（財）畜安研，（株）京

表７　糞便中の *B. hyodysenteriae* 検査結果（陽性率）　（%）

治験群	直接鏡検 a)		菌分離 b)	
	投与開始日	投与終了２日目	投与開始日	投与終了２日目
VML30ppm 投与群	100	0	100	0
TML50ppm 投与群	100	3	100	3

a) 新鮮便 1g に生理食塩水を 9mL を加え 10 倍希釈し，この液 0.03mL をスライドグラスに取り 400 倍で鏡検した。
b) 新鮮便 1g に生理食塩水を 9mL を加えて希釈し，この液 0.1mL を分離培地に塗抹し，42℃ で５日間嫌気培養した。

（（株）京動検：未発表）

表８　MPS の臨床試験成績

試験群	投与終了２日目 a)				出荷時			
	肺病変			*M. hyopneumoniae* の分離率（%）	肺病変			*M. hyopneumoniae* の分離率（%）
	面積率（%）	指数	スコア		面積率（%）	指数	スコア	
無投与対照群	20.8	100	2.8	50	18.4	100	2.2	67
VML50ppm 投与群	8.7	42	1.0*	17	2.0**	11	0.9**	17
VML200ppm 投与群	2.8	13	0.8*	0	1.1*	6	0.8**	0

a) 投与最終日（７日目）からの日数
* P<0.05 で無投与対照群との間に有意差あり
** P<0.01 で無投与対照群との間に有意差あり

（（株）京動検：未発表）

表 9　*M. hyopneumoniae* に対する MIC 測定結果　(μg/mL)

動物番号	VML	TML	TS	LCM	ERFX
A-2	≦ 0.00625	0.10	0.20	0.10	0.025
A-3	≦ 0.00625	0.10	0.10	0.39	0.025
U-1	≦ 0.00625	0.05	0.05	0.10	0.0125
U-3	≦ 0.00625	0.05	0.05	0.39	0.025

((株) 京動検：未発表)

表 10　製剤名，成分・分量，効能・効果および使用禁止期間

製剤名	エコノア 1%　プレミックス
成分・分量	本剤 100g 中にバルネムリン 1g（力価）含有する
効能・効果	有効菌種：本剤感受性のブラキスピラ ハイオディセンテリー，マイコプラズマ ハイオニューモニエ 適 応 症：豚；豚赤痢，豚マイコプラズマ肺炎
使用禁止期間	豚：食用に供するためにと殺する前 2 日間

動検：未発表)。

10. 参　考

「エコノア　1%プレミックス」の成分・分量，効能・効果および使用禁止期間を表 10 に示した。

参考文献

1）内田幸治，原田良昭，杉村雄二：抗菌性物質に対する *Treponema hyodysenteriae* の試験管内感受性試験方法についての若干の検討．家畜抗菌剤研究会報，6，24-28（1985）

2）山崎俊幸：*Treponema hyodysenteriae* に対する抗菌剤の MIC 測定法に関する検討－特に接種菌液調整における考察－．家畜抗菌剤研究会報，6，29-33（1985）

3）足立吉数：*Treponema hyodysenteriae* の薬剤感受性試験方法の検討（追加発言）．家畜抗菌剤研究会報，6，34-35（1985）

4）山本孝史，跡部ヒサエ：豚由来マイコプラズマの MIC 測定法に関する検討．家畜抗菌剤研究会報，6，9-13（1985）

Valnemulin

Keita KAJIWARA

Novartis Animal Health K.K., World Trade Center Bldg. 37F, 2-4-1, Hamamatsu-cho, Minato-ku, Tokyo 105-6137, Japan

Valnemulin is a new active substance for exclusive use in veterinary medicine. This is an antibiotic belonging to the pleuromutilin group,which acts by inhibition of initiation of protein synthesis at the level of the bacterial ribosome. Valnemulin has activity against a wide range of bacteria including those responsible for enteric and respiratory diseases in pigs. It shows high activity particularly against *Mycoplasma hyoneumoniae, Brachyspira hyodysenteriae, Brachyspira pilosicoli* and *Lawnosia intracellularis*. The MIC (range) data for the organism *M. hyoneumoniae* and *B. hyodysenteriae* isolated in Japan were <0.00625 μg/mL and 0.0125-0.10 μg/mL, respectively. In pigs, after oral single dose of radio-labeled valnemulin, >90% absorption was demonstrated. After repeated dosing, slight accumulation occurred and a steady state was achieved within 5 days. It was also demonstrated in pigs that valnemulin was extensively metabolized, and excretion of parent molecule and metabolites occurred mainly via bile.

ECONOR® 1% and 10% premix, antibiotic premix presented in microgranules containing 1 g and 10 g valnemulin respectively per 100 g as the active ingredient for oral administration to pigs, were registered in Japan on April 28th, 2003 for the treatment of swine mycoplasma pneumonia and swine dysentery.

A local clinical trial against pigs affected with swine dysentery has confirmed that ECONOR® 1% premix at a level of 3 kg/tone feed almost improved clinical signs within 4 days of treatment, and all pigs returned normal after 7 days of treatment. Similarly, the trial feeding of ECONOR® 1% premix at a level of 5 kg/tone feed for 7 days demonstrated remarkable reductions of clinical signs for the pigs affected with swine mycoplasmal pneumonia. No additional medication was required afterwards with the significantly low lung lesions area at the slaughter when compared to the placebo group. A withdrawal period of 2 days was justified based on the residue trials conducted in Japan.

討　論（座長：澤田拓士，日獣大）

質問（渡辺典夫，三鷹製薬）

ポリエーテル系薬剤との併用は。

答（梶原敬太）

チアムリンと同様にポリエーテル系薬剤との相互作用による副作用がでることがある。

質問（中村　修，日本配合飼料）

国内でローソニアの試験を実施されているか。海外での成績があれば提示願いたい。

答（梶原敬太）

ローソニアの国内試験の実施はこれから検討する。欧米ではなされている。

質問（佐藤静夫，全農家衛研）

豚のマイコプラズマには極めて有効とのことであるが，MG についてどうか。

答（梶原敬太）

鶏由来株についての薬剤感受性試験は実施しているが，本剤の鶏への適用は現在検討していない。

発言（金井　久，群馬県）

全ての演者へのお願いであるが，フィルドでの指導の参考にしたいので，開発時のみでなく，使用 3 年，5 年後と経時的に感受性の状況を示していただきたい。

答（梶原敬太）

発売後の再審査用としても調査を行うので活用したい。