食肉中に残留する抗生物質の微生物学的 簡易検査法の検討

神保勝彦^{*1}・平井昭彦^{*2}・仲真晶子^{*2}・小久保彌太郎^{*2}

(^{*1}東京都立衛生研究所・多摩支所, ^{*2}東京都立衛生研究所・生活科学部)

(受付 平成8年 5月16日)

(受理 平成8年11月29日)

Improved Microbiological Simple Examination Method for Detecting Residual Antibiotics in Meat

Katsuhiko JINBO^{*1}, Akihiko HIRAI^{*2}, Masako NAKAMA^{*2} and Yataro KOKUBO^{*2}

(^{*1}Tama Branch Laboratory, The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health,
3-16-25 Shibazakicho, Tachikawa, Tokyo 190)

(^{*2}The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health,
3-24-1 Hyakunincho, Shinjuku-ku, Tokyo 169)

Key words: Residual antibiotics, Simple examination method, Double layer plate, *B. subtilis*,
M. luteus, *B. mycoides*

緒 論

厚生省は平成6年7月、「畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査の実施について」を全国の検疫所および都道府県に通知した⁸⁾。これに付随して、これまでの簡易検査法⁷⁾を改訂した検査法(以下、改訂簡易検査法)が示された。改訂簡易検査法の改良点は、これまでに用いられていた感受性ディスク用培地に *Micrococcus luteus* および *Bacillus subtilis* をそれぞれ混合した2種類の単層平板培地に代えて、Antibiotic Medium 5に *Micrococcus luteus* および *Bacillus subtilis*, Antibiotic Medium 8に *Bacillus mycoides* をそれぞれ混合した3種類の単層平板培地にしたことである。これにより従来法に比べて多種類の抗生物質の検出が容易になった。しかし、動物薬として使用が承認されている薬剤の種類が多ことから、本法でこれらをすべて検出することには無理がある。これまでも、より多種類の薬剤を感度良く低濃度まで検出するための検査法の改良、開発が続けられており^{3, 5, 6, 12)}、著者らも検出感度向上を目的とした検査法について検討し、報告してきた^{1, 4, 10, 11)}。しかし、これらの方法では、家畜に比較的多く使用されているアミノグリコシド系抗生物質およびポリエーテル系抗生物質を低濃度まで検出することは難しい。そこで、改訂簡易検査法の検出感度を向上させ、低濃度のこれら抗生物質

を検出する目的で、試験菌および検査用平板培地について検討し、その中から検出感度の高い方法を見出し、食肉に応用したので報告する。

実験材料および方法

1. 器具

1) ベトリ皿

合成樹脂製で、滅菌した内径86mmの市販品を用いた。

2) ペーパーディスク

直径10mm、厚さ1.2mmのペーパーディスク(東洋ろ紙(株))を、121℃で15分間高圧滅菌し、乾燥してから用いた。

2. 標準抗生物質

実験に供した抗生物質は、アミノグリコシド系(AG系)抗生物質ではデストマイシンA(DM-A)、硫酸ジヒドロストレプトマイシン(DSM)、硫酸フラジオマイシン(FRM)、硫酸ゲンタマイシン(GM)、ハイグロマイシンB(HM-B)、硫酸カナマイシン(KM)、塩酸カスガマイシン(KSM)、硫酸ストレプトマイシン(SM)、ポリエーテル系(PE系)抗生物質ではラサロシドナトリウム(LLC)、モネンシンナトリウム(MNS)、サリノマイシンナトリウム(SNM)、テトラサイクリン系(TC系)抗生物質では塩酸クロルテトラサイクリン(CTC)、塩酸オキシテトラサイクリン(OTC)、マクロライド系(ML系)抗生物質ではエリスロマイシン(EM)、酒石酸タイロシン(TS)、ペニ

*1 〒190 東京都立川市柴崎町3-16-25

*2 〒169 東京都新宿区百人町3-24-1

Table 1. Sensitivity of test organisms by thin layer plate to antibiotic

Antibiotic	Detection limit ($\mu\text{g/ml}$)			
	<i>B. cereus</i>	<i>B. megaterium</i>	<i>B. mycoides</i>	<i>B. subtilis</i>
	ATCC 2	ATCC 9885	ATCC 11778	ATCC 6633
AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS (AGS)				
Destomycin-A (DM-A)	>100	25	50	25
Dihydrostreptomycin (DSM)	0.78	0.20	1.56	0.20
Fradiomycin (FRM)	6.25	0.39	12.5	0.78
Gentamycin (GM)	1.56	0.20	3.13	0.20
Hygromycin-B (HM-B)	50	12.5	>100	25
Kanamycin (KM)	1.56	0.39	6.25	0.39
Kasugamycin (KSM)	>100	>100	>100	>100
Streptomycin (SM)	0.78	0.20	1.56	0.20
POLYETHER ANTIBIOTICS (PEs)				
Lasalocid (LLC)	6.25	12.5	1.56	3.13
Monensin (MNS)	6.25	50	1.56	3.13
Salinomycin (SNM)	50	100	50	100
TETRACYCLINE ANTIBIOTICS (TCs)				
Oxytetracycline (OTC)	0.78	3.13	0.20	0.78
MACROLIDE ANTIBIOTICS (MLs)				
Tyrosin (TS)	3.13	3.13	3.13	1.56
PENICILLIN ANTIBIOTICS (PCs)				
Ampicillin (ABPC)	3.13	3.13	6.25	0.05

シリン系 (PC 系) 抗生物質ではアンピシリン (ABPC), ベンジルペニシリンカリウム (PCG) の 17 薬剤である。

3. リン酸緩衝液

1) pH 4.5 リン酸緩衝液

TC 系抗生物質標準溶液を調製するのに用いた。その組成はリン酸一カリウム 13.6 g を滅菌精製水に溶解して 1,000 ml にした。

2) pH 6.0 リン酸緩衝液

PC 系抗生物質標準溶液を調製するのに用いた。その組成はリン酸一カリウム 8.0 g およびリン酸二カリウム 2.0 g を滅菌精製水に溶解して 1,000 ml にした。

3) pH 8.0 リン酸緩衝液

AG 系, PE 系および ML 系抗生物質標準溶液を調製するのに用いた。その組成はリン酸一カリウム 0.523 g およびリン酸二カリウム 16.73 g を滅菌精製水に溶解して 1,000 ml にした。

4. 抗生物質標準溶液

抗生物質を原則として滅菌精製水あるいは有機溶媒を適量加えて溶解し, リン酸緩衝液を用いて 1,000 $\mu\text{g/ml}$ (IU/ml) に調整した。以下, 最小発育阻止測定法 (MIC 法)⁹⁾ に準拠して 2 段階希釈し標準溶液を作製した。

5. 試験菌

抗生物質検査に用いられている従来の試験菌の中から, AG 系および PE 系抗生物質に高い感受性を示すと思われる *Bacillus cereus* ATCC 2 (*B. cereus*), *Bacillus megaterium* ATCC 9885 (*B. megaterium*), *Bacillus mycoides* ATCC 11778 (*B. mycoides*), *Bacillus subtilis*

ATCC 6633 (*B. subtilis*), *Escherichia coli* ATCC 27166 (*E. coli*), *Micrococcus luteus* ATCC 9341 (*M. luteus*), *Serratia marcescens* ATCC 14041 (*S. marcescens*), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (*S. aureus*) の 8 試験菌を用いた。

6. 試験菌液および芽胞浮遊液の調製

B. cereus, *B. megaterium*, *B. mycoides*, *B. subtilis* の芽胞浮遊液および *E. coli*, *M. luteus*, *S. marcescens*, *S. aureus* の試験菌液は改訂簡易検査法⁸⁾に準じて調製した。

7. 培地

Antibiotic Medium 5 (Difco), Antibiotic Medium 8 (Difco) を用いた (以下, それぞれ AM5, AM8 と略記)。

8. 寒天

Bacto-Agar (Difco) を用いた。

9. 検査用平板培地

1) 単層平板培地

改訂簡易検査法⁸⁾に従って調製した。すなわち, AM5 および AM8 を 121°C で 15 分間高圧滅菌した後, 約 50°C に保持し, これに各芽胞浮遊液を培地の 1/100 量あるいは試験菌液を培地の 1/5 量加え, 十分混和した後, その 8 ml をペトリ皿に注入し, 水平に静置して凝固させ各平板培地を調製した。ただし, *B. cereus* および *B. mycoides* には AM8, これら以外の試験菌には AM5 を用いた。

2) 二層平板培地

AM5 および AM8 を 121°C で 15 分間高圧滅菌した後, 約 50°C に保持し, 各々ペトリ皿に 8 ml 注入し凝固

Table 1. Continued

Antibiotic	Detection limit ($\mu\text{g/ml}$)			
	<i>E. coli</i>	<i>M. luteus</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>S. aureus</i>
	ATCC 27166	ATCC 9341	ATCC 14041	ATCC 6538
AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS (AGs)				
Destomycin-A (DM-A)	>100	>100	>100	>100
Dihydrostreptomycin (DSM)	1.56	6.25	12.5	3.13
Fradiomycin (FRM)	12.5	12.5	50	12.5
Gentamycin (GM)	1.56	6.25	3.13	1.56
Hygromycin-B (HM-B)	>100	>100	>100	>100
Kanamycin (KM)	1.56	25	12.5	3.13
Kasugamycin (KSM)	>100	>100	>100	>100
Streptomycin (SM)	1.56	3.13	12.5	3.13
POLYETHER ANTIBIOTICS (PEs)				
Lasalocid (LLC)	12.5	25	>100	3.13
Monensin (MNS)	100	25	>100	3.13
Salinomycin (SNM)	>100	>100	>100	12.5
TETRACYCLINE ANTIBIOTICS (TCs)				
Oxytetracycline (OTC)	3.13	3.13	>100	0.78
MACROLIDE ANTIBIOTICS (MLs)				
Tyrosin (TS)	25	0.20	>100	3.13
PENICILLIN ANTIBIOTICS (PCs)				
Ampicillin (ABPC)	12.5	0.025	>100	0.78

させ基層とした。次に、0.5% 寒天に芽胞浮遊液を寒天の 1/100 量あるいは試験菌液を 1/5 量加え、十分混合した後、その 2 ml を基層上に重層（種層）し、凝固させ二層平板培地を調製した。ただし、*B. subtilis* および *M. luteus* には AM5、*B. mycoides* には AM8 を用いた。

10. 食肉中の抗生物質の抽出

豚挽肉に抗生物質標準溶液を一定濃度になるように添加し、これを試料とした。試料中からの抗生物質の抽出は改訂簡易検査法⁹⁾にしたがって行った。すなわち、試料を 5 g 秤量し、これにクエン酸・アセトン緩衝液 20 ml を加えて、ホモジナイズした後、3,000 rpm で 15 分間遠心分離し、この上澄液を試験溶液とした。

11. 試験法

抗生物質標準溶液あるいは試験溶液中に浸漬したペーパーディスク 4 枚を、各検査用平板培地上に正方形の各頂点になるように置いた。ペーパーディスクをピンセットで軽く押し固着させ、4℃で 30 分間放置した後、35℃で 24 時間培養した。ペーパーディスク周縁に形成した阻止円直径をノギスで測定し、12 mm 以上の阻止円を形成した場合を陽性とした。

実験結果

1. 抗生物質に対する試験菌の感受性

8 試験菌について、単層平板培地を用いて各抗生物質に対する感受性を調べた成績を Table 1 に示した。

AG 系抗生物質の DSM, FRM, GM, KM, SM に対しては *B. megaterium* と *B. subtilis* が高い感受性を示し、その値は 0.20~0.78 $\mu\text{g/ml}$ であった。しかし、DM-A,

HM-B, KSM に対する感受性はいずれの試験菌も低かった。PE 系抗生物質の LLC, MNS に対しては *B. mycoides* が 1.56 $\mu\text{g/ml}$ の感受性を示したが、SNM に対する感受性はいずれの試験菌も低かった。TC 系抗生物質の OTC に対しては *B. mycoides* が高い感受性を示し、その値は 0.20 $\mu\text{g/ml}$ であった。ML 系抗生物質の TS に対しては *M. luteus* が高い感受性を示し、その値は 0.20 $\mu\text{g/ml}$ であった。PC 系抗生物質の ABPC に対しては *M. luteus* が高い感受性を示し、その値は 0.025 $\mu\text{g/ml}$ であった。

この実験結果から、改訂簡易検査法に用いられている試験菌、すなわち *B. subtilis*, *M. luteus*, *B. mycoides* の 3 試験菌のいずれかが高い感受性を示すことがわかったので、以下の実験はこれら 3 試験菌を用いて行った。

2. 単層平板培地と二層平板培地の比較試験成績

抗生物質標準溶液に対する単層平板培地と二層平板培地の感受性を比較して Table 2 に示した。*B. subtilis* の二層平板培地はその単層平板培地に比べて AG 系、PE 系、TC 系および ML 系抗生物質に対して約 2 倍高い感受性を示し、PC 系抗生物質に対しては同じ感受性を示した。*M. luteus* および *B. mycoides* の二層平板培地はそれらの単層平板培地に比べて同等または約 2 倍高い感受性を示した。また、AG 系抗生物質に対しては *B. subtilis* の二層平板培地、PE 系および TC 系抗生物質に対しては *B. mycoides* の二層平板培地、ML 系および PC 系抗生物質に対しては *M. luteus* の二層平板培地が最も高い感受性を示した。

このように、二層平板培地は単層平板培地に比べて感

Table 2. Sensitivity of thin layer plate and double layer plate to antibiotic

Antibiotic	Detection limit ($\mu\text{g/ml}$)					
	<i>B. subtilis</i>		<i>M. luteus</i>		<i>B. mycoides</i>	
	Thin layer plate	Double layer plate	Thin layer plate	Double layer plate	Thin layer plate	Double layer plate
AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS (AGs)						
Destomycin-A (DM-A)	25	12.5	>100	>100	50	50
Dihydrostreptomycin (DSM)	0.20	0.20	6.25	3.13	1.56	1.56
Fradiomycin (FRM)	0.78	0.39	12.5	12.5	12.5	6.25
Gentamycin (GM)	0.20	0.10	6.25	6.25	3.13	1.56
Hygromycin-B (HM-B)	25	6.25	>100	100	>100	50
Kanamycin (KM)	0.39	0.20	25	12.5	6.25	3.13
Kasugamycin (KSM)	>100	50	>100	>100	>100	>100
Streptomycin (SM)	0.20	0.10	3.13	3.13	1.56	0.78
POLYETHER ANTIBIOTICS (PEs)						
Lasalocid (LLC)	3.13	1.56	25	25	1.56	0.78
Monensin (MNS)	3.13	1.56	25	25	1.56	0.78
Salinomycin (SNM)	100	100	>100	>100	50	50
TETRACYCLINE ANTIBIOTICS (TCs)						
Oxytetracycline (OTC)	0.78	0.39	3.13	3.13	0.20	0.20
MACROLIDE ANTIBIOTICS (MLs)						
Tyrosin (TS)	1.56	0.78	0.20	0.10	3.13	3.13
PENICILLIN ANTIBIOTICS (PCs)						
Ampicillin (ABPC)	0.05	0.05	0.025	0.025	6.25	3.13

受性が高く、検出感度が2倍向上した。これらの3種類の二層平板培地 (*B. subtilis*, *M. luteus* および *B. mycoides* の二層平板培地) を用いる方法が簡易検査法としてよいことがわかった (以下、この方法を新簡易検査法と略記)。

3. 抗生物質添加食肉からの検出成績

抗生物質を添加した豚挽肉を対象に新簡易検査法と改訂簡易検査法を比較した試験成績を Table 3 に示した。

AG系抗生物質の DSM, GM, KM, SM に対しては、新簡易検査法が改訂簡易検査法に比べて2~4倍高い検出感度を示し、その値は1.56~3.13 $\mu\text{g/g}$ であった。しかし、DM-A, FRM および HM-B は12.5 $\mu\text{g/g}$, KSM は50 $\mu\text{g/g}$ 添加試料から検出できなかった。PE系抗生物質の LLC, MNS に対しては、新簡易検査法が改訂簡易検査法よりも2倍以上高い6.25 $\mu\text{g/g}$ の検出感度を示したが、SNM は50 $\mu\text{g/g}$ 添加試料から検出できなかった。TC系抗生物質の CTC, OTC および ML系抗生物質の EM, TS に対しては、新簡易検査法と改訂簡易検査法の検出感度に差は認められなかった。PC系抗生物質の ABPC, PCG に対しては、新簡易検査法は改訂簡易検査法よりも約2倍高い検出感度を示し、その値はそれぞれ0.10 $\mu\text{g/g}$, 0.20 IU/g であった。

考 察

畜水産食品中の残留抗生物質検査法には厚生省が通知した個別検査法、分別推定法、分別同定法、改訂簡易検査法⁸⁾がある。その中で改訂簡易検査法は試験操作の簡

易性、多種類の抗生物質を同時に検出できることなどから、多くの検査機関で採用されており、特に食肉衛生検査所などの現場の検査機関で多用され、抗生物質の残留する食肉を排除するのに成果をあげている。しかし、本検査法はTC系、ML系およびPC系抗生物質に対する検出感度は高くなるように改良されているが、AG系およびPE系抗生物質についてはほとんど考慮されていない。そこで、改訂簡易検査法の検出感度、特にAG系およびPE系抗生物質の検出感度を向上させる目的で、これら抗生物質に高い感受性を示すと思われる試験菌8菌種を用いて、これら抗生物質に対する感受性を調べた。その結果、AG系抗生物質には *B. subtilis* と *B. megaterium*, PE系およびTC系抗生物質には *B. mycoides*, PC系およびML系抗生物質には *M. luteus* が各々高い感受性を示した。このことから、残留抗生物質検査に用いる試験菌は、改訂簡易検査法⁸⁾で採用されている3試験菌 (*B. subtilis*, *M. luteus*, *B. mycoides*) で、かなり目的が達せられると考える。なお、今回の実験では *B. megaterium* がAG系抗生物質に対して高い感受性を示したが、*B. subtilis* と同じ感受性であることから、現在多くの検査室で使用している *B. subtilis* でよいと考える。

これら3試験菌が、現在、わが国で家畜および養殖魚に使用されている多くの抗生物質に対して高い感受性を示すことについては著者らがすでに報告^{2, 4, 11)}しており、今回の実験でもこのことが確認された。しかし、これら3試験菌と現在使用されている AM5, AM8 および感受

Table 3. Sensitivity of method of MHW*¹ and new method to experimentally added antibiotic in meat

Antibiotic	Detection limit ($\mu\text{g/g}$)	
	Method of MHW* ¹	New method
AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS (AGs)		
Destomycin-A (DM-A)	>12.5	>12.5
Dihydrostreptomycin (DSM)	6.25	1.56
Fradiomycin (FRM)	>12.5	>12.5
Gentamycin (GM)	12.5	3.13
Hygromycin-B (HM-B)	>12.5	>12.5
Kanamycin (KM)	12.5	3.13
Kasugamycin (KSM)	>50	>50
Streptomycin (SM)	3.13	1.56
POLYETHER ANTIBIOTICS (PEs)		
Lasalocid (LLC)	>12.5	6.25
Monensin (MNS)	>12.5	6.25
Salinomycin (SNM)	>50	>50
TETRACYCLINE ANTIBIOTICS (TCs)		
Chlortetracycline (CTC)	0.10	0.10
Oxytetracycline (OTC)	0.78	0.78
MACROLIDE ANTIBIOTICS (MLs)		
Erythromycin (EM)	0.78	0.78
Tyrosin (TS)	3.13	3.13
PENICILLIN ANTIBIOTICS (PCs)		
Ampicillin (ABPC)	0.20	0.10
Benzylpenicillin (PCG)* ²	0.39	0.20

*¹: Revised simple examination method of Minister of Health and Welfare*²: IU/g

性ディスク用培地などの抗生物質検査用培地を組合せたとしても、培地組成、pH などから推察して、大幅に検出感度が向上するとは考えられない。改訂簡易検査法の検出感度を高くする方法としては試料を濃縮する方法などが考えられるが、試験操作の簡易迅速性、同時に多種類の抗生物質を検出できるなどの点から、最も良い方法は感受性の高い新しい試験菌を見出し、それを使用した簡易な検査法を作ることであろう。しかし、今のところそのような試験菌は発見されていないので、試験方法あるいは検査用平板培地などを改良して検出感度を高くするための検討がなされている。近藤ら⁶⁾は通常の検査用培地とは全く異なるペプトン無添加の Minimum medium は、薬剤と培地中の蛋白質との結合が少ないので検出感度は高くなると報告している。また、著者ら¹⁾は検査用平板培地の厚さは薄く、寒天濃度は低いほど抗生物質の拡散、浸透が良くなり、阻止円は大きくなることを確認している。今回、これらの要素を取り入れて採用した二層平板培地が単層平板培地に比べて高い検出感度を示したのは、試験菌の増殖に必要な栄養源を基層にしたことにより抗生物質と培地中の蛋白質の結合が少なかったこと、直接抗生物質と接触する部分の寒天濃度を0.5% にし、薄くしたことで抗生物質の拡散、浸透が良くなり、検出感度が高くなったものと考えられる。

残留抗生物質検査におけるスクリーニング法の基本は、試験操作が簡易迅速でしかも幅広く抗生物質を低濃

度まで検出できるかにある。その点、二層平板培地による新簡易検査法の検出感度は、単層平板培地による改訂簡易検査法に比べて高く、特に AG 系抗生物質に対しては2~4 倍高い検出感度を有することがわかった。また、二層平板培地は市販品を用いて、比較的簡単に調製できることから、それほど多くの時間と労力は費やさないと思われる。したがって、二層平板培地を用いる方法は実用価値が高いと考えられる。しかし、一部の AG 系抗生物質および PE 系抗生物質に対する検出感度は低かったので、今後はこれら抗生物質を低濃度まで検出できる検出感度の高い検査法を開発する必要があると考える。

要 約

畜水産食品中の残留抗生物質改訂簡易検査法の検出感度、特に AG 系と PE 系抗生物質に対する検出感度を高くする目的で、試験菌および検査用平板培地について検討した。

1) 試験菌の感受性は、AG 系抗生物質に対しては *B. megaterium* と *B. subtilis*, PE 系および TC 系抗生物質に対しては *B. mycoides*, ML 系および PC 系抗生物質に対しては *M. luteus* が高い感受性を示した。

2) AG 系抗生物質に対しては *B. subtilis* の二層平板培地、PE 系および TC 系抗生物質に対しては *B. mycoides* の二層平板培地、ML 系および PC 系抗生物質に対しては *M. luteus* の二層平板培地がそれらの単層平板培

地より高い感受性を示した。

3) 抗生物質を添加した食肉からの検出は、AG 系、PE 系および PC 系抗生物質では二層平板培地による新簡易検査法が改訂簡易検査法に比べて約 2 倍高い検出感度を示した。しかし、TC 系および ML 系抗生物質に対しては両者の差は認められなかった。

文 献

- 1) 神保勝彦, 松本昌雄: 畜・水産食品中に残留する抗菌性物質の微生物学検査法の基礎的検討: 日本食品微生物学会雑誌, **8**, 227-232 (1992).
- 2) 神保勝彦, 片岡 潤, 小久保彌太郎, 小沼博隆, 近藤房生: 畜水産食品中の残留抗菌性物質検査における微生物学的簡易検査法の検出感度. 食衛誌, **36**, 525-531 (1995).
- 3) Johnston, R. W., Reamer, R. H., Harris, E. W., Fugate, H. G. and Schwab, B.: A new screening method for the detection of antibiotic residues in meat and poultry tissues: J. Food Prot., **44**, 828-831 (1981).
- 4) 桐谷令子, 神保勝彦, 松本昌雄: 残留抗生物質の微生物学的検査法の基礎的検討. 東京衛研年報, **38**, 177-181

(1987).

- 5) 近藤房生, 松本和之, 永田祥代: わが国と欧米における畜産物中の残留抗菌性物質検査法の比較. 畜産の研究, **43**, 353-356 (1989).
- 6) 近藤房生, 浜田江梨子, 林士鈺: 畜産物中の残留抗菌性物質の新しい検出・抽出・同定試験法. 畜産の研究, **44**, 1239-1243 (1990).
- 7) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課: 畜水産食品中の残留物質検査法 第 1 集の 5 (1983).
- 8) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課: 「平成 6 年度畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査の実施について」, 平成 6 年 7 月 1 日 (1994).
- 9) 三橋 進: 最小発育阻止 (MIC) 測定法再改訂について. CHEMOTHERAPY, **29**, 76-79 (1981).
- 10) 門間千枝, 神保勝彦, 伊藤 武: 市販キットによる残留抗菌性物質の微生物学的スクリーニング検査法の検討. 東京衛研年報, **43**, 92-97 (1992).
- 11) 門間千枝, 神保勝彦, 丸山 務, 松本昌雄: バイオアッセイによる食肉中のアミノグリコシド系抗生物質検査法の検討. 東京衛研年報, **42**, 112-117 (1991).
- 12) 吉田健一, 近藤房生: 薬剤耐性菌を用いる残留抗生物質の微生物学的簡易同定法. 食衛誌, **35**, 543-547 (1994).