調 査 資 料

飼料添加物の抗菌性について

(昭和 54 年 12 月 4 日受理)

松本昌雄^{*1} 神崎政子^{*1} 春田三佐夫^{*2}

Bioassay of Antibacterial Agents Used as Feed Additive

Masao MATSUMOTO^{*1}, Masako KANZAKI^{*1} and Misao HARUTA^{*2}

(^{*1} Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health: 24-1, Hyakunincho 3-chome, Shinjuku-ku, Tokyo; ^{*2} College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University: 34-1, Shimouma 3-chome, Setagaya-ku, Tokyo)

はじめに

昭和 50 年の飼料添加物の使用規制¹⁾に伴って、厚生省は畜産食品の安全性確保の見地から「畜産物中の残留物検査法」^{2), 3)}を通知した。これによると、飼料添加物のうち、抗生物質の検出には微生物学的試験法を、そのほかの合成抗菌剤の検出には化学的試験法をそれぞれ採用している。

そこで、今回、飼料添加物として使用許可もしくは禁止された代表的な抗生物質ならびに合成抗菌剤を対象に、その抗菌性について検討した。

実験材料および方法

1. 使用菌株

a) 抗菌パターン測定用菌株：実験に用いた菌株は、*Bacillus stearothermophilus* var. *B. calidolactis* C-953 (以下、C-953), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (以下、ATCC 6633), *Bacillus cereus* var. *mycoides* ATCC 11778 (以下、ATCC 11778), *Sarcina lutea* ATCC 9341 (以下、ATCC 9341), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538p (以下、ATCC 6538p), *Escherichia coli* NIHJ (以下、NIHJ) およびテトラサイクリン耐性の同菌変異株の計 7 株である。

2. 使用培地

a) tryptose agar：菌の継代用斜面寒天、ATCC6633 の芽胞形成用寒天平板および C-953 以外の菌株に用いる抗生物質検出用寒天平板の作成に用いるもので、

Difco 製の次の組成の粉末培地である。培地 1,000 ml 当たり、bacto-tryptose 20 g, bacto-dextrose 1 g, 塩化ナトリウム 5 g, bacto-agar 15 g の組成で pH 7.2, 121°, 15 分間滅菌後使用した。

b) tryptose phosphate broth：C-953 および ATCC 6633 以外の菌株の増殖用液体培地として用いるもので Difco 製の次の組成の粉末培地である。培地 1,000 ml 当たり、bacto-tryptose 20 g, bacto-dextrose 2 g, 塩化ナトリウム 5 g, リン酸二ナトリウム 2.5 g で、pH 7.3, 121°, 15 分間滅菌後使用した。

c) C-953 株用増殖培地：C-953 の増殖用培地は、IDF⁴⁾ によって定められた組成のものを用いた。組成は、培地 1,000 ml あたり、酵母エキス (Difco) 10 g, トリプトン (Difco) 20 g, ブドウ糖 (和光純薬工業(株)製) 0.5 g で、pH 8.0±0.1, 121°, 15 分間滅菌後使用した。

d) C-953 株用平板培地：C-953 を用いる抗生物質検出用寒天平板の作成に用いるもので、培地 1,000 ml 当たり、酵母エキス 2.5 g, トリプトン (Difco) 5 g, ブドウ糖 (和光純薬工業(株)製) 1 g, bacto-agar (Difco) 15 g の組成で pH 7.0±0.1, 121°, 15 分間滅菌後使用した。

3. ATCC 6633 株の芽胞浮遊液の作成：継代保存した種菌を使用に当って角型ペトリーざら中の tryptose agar 平板に移植し、37° で 7 日間培養し芽胞を作らせた後、菌苔をかきとって適当量の蒸留水で 2 回洗浄し、沈でんを蒸留水に再浮遊させ、65°, 20 分間、24 時間間

^{*1} 東京都立衛生研究所：東京都新宿区百人町 3-24-1

^{*2} 日本大学農獣医学部：東京都世田谷区下馬 3-39

Table 1. Growth Inhibition Patterns of Antibiotics (I)

BC ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1
C-953	27.8	25.6	21.4	18.7	14.5	12.1	—	—	—
ATCC 6633	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 9341	25.0	23.5	18.6	16.9	12.3	10.5	—	—	—
ATCC 6538p	19.2	18.6	15.4	12.7	—	—	—	—	—
NIHJ	—	—	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 1178	13.5	12.1	—	—	—	—	—	—	—
OTC ($\mu\text{g/ml}$)	100	50	10	5	1	0.5	0.1	0.05	0.01
C-953	36.3	34.5	29.5	26.1	21.4	17.1	12.4	—	—
ATCC 6633	26.7	25.0	21.8	19.1	13.0	11.4	—	—	—
ATCC 9341	23.3	21.6	17.1	14.2	—	—	—	—	—
ATCC 6538p	20.7	18.3	18.1	17.0	12.8	—	—	—	—
NIHJ	19.8	19.0	15.3	12.1	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	19.6	19.0	14.4	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	27.8	26.5	24.8	21.8	19.2	16.5	11.5	—	—
CTC ($\mu\text{g/ml}$)	100	50	10	5	1	0.5	0.1	0.05	0.01
C-953	34.9	33.1	29.0	28.0	22.4	21.4	15.0	12.7	—
ATCC 6633	28.0	27.0	25.1	23.3	16.8	13.9	11.0	—	—
ATCC 9341	26.1	21.9	17.8	16.8	11.9	—	—	—	—
ATCC 6538p	24.0	23.1	16.2	15.0	11.9	—	—	—	—
NIHJ	19.0	18.0	15.8	13.3	11.0	—	—	—	—
NIHJ TC res.	16.1	15.0	12.4	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	28.4	27.2	24.7	23.5	18.9	17.2	11.5	11.0	—
ER ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1
C-953	18.4	17.6	15.8	14.7	13.1	12.1	—	—	—
ATCC 6633	14.8	13.9	12.3	10.7	—	—	—	—	—
ATCC 9341	15.1	14.1	11.9	10.9	—	—	—	—	—
ATCC 6538p	12.4	12.1	11.1	10.2	—	—	—	—	—
NIHJ	—	—	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	13.7	13.0	11.0	—	—	—	—	—	—
OM ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1
C-953	23.0	21.4	16.4	13.2	—	—	—	—	—
ATCC 6633	17.6	16.8	12.8	12.4	—	—	—	—	—
ATCC 9341	33.2	31.8	28.2	24.5	21.4	15.7	15.1	—	—
ATCC 6538p	16.4	14.3	11.7	11.2	—	—	—	—	—
NIHJ	12.4	—	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	20.7	19.3	14.4	11.2	—	—	—	—	—

Table 1. (Continued)

KT ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1
C-953	30.5	28.3	25.6	23.1	20.2	18.0	13.0	—	—
ATCC 6633	20.5	19.3	17.2	15.8	11.9	—	—	—	—
ATCC 9341	36.0	34.8	30.7	29.3	23.0	18.8	16.7	11.2	—
ATCC 6538p	19.2	18.4	14.0	13.0	—	—	—	—	—
NIHJ	13.9	13.2	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	23.7	22.5	19.5	16.9	12.4	—	—	—	—

QM ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1	0.05	0.01
C-953	31.4	30.7	28.1	26.8	23.4	22.1	18.0	16.2	14.2	13.5	12.6
ATCC 6633	21.4	20.4	17.7	16.2	14.2	12.5	—	—	—	—	—
ATCC 9341	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 6538p	17.8	16.6	15.0	13.4	10.8	—	—	—	—	—	—
NIHJ	12.9	11.8	—	—	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	14.2	13.7	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	26.9	26.2	23.0	18.5	16.9	14.5	11.5	—	—	—	—

SP ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1
C-953	25.0	24.0	19.3	16.4	15.3	13.4	11.7	—	—
ATCC 6633	16.9	16.6	13.7	12.9	10.5	—	—	—	—
ATCC 9341	32.0	29.0	26.1	25.0	19.0	16.6	13.1	—	—
ATCC 6538p	14.6	12.9	12.0	11.5	—	—	—	—	—
NIHJ	11.8	11.4	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	19.4	17.8	15.0	11.9	11.4	—	—	—	—

TP ($\mu\text{g/ml}$)	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1	0.05
C-953	29.6	27.5	26.3	22.1	21.2	16.7	15.0	11.5	10.9
ATCC 6633	21.6	19.6	18.5	14.8	12.4	—	—	—	—
ATCC 9431	22.7	19.2	17.3	13.5	12.1	11.2	—	—	—
ATCC 6538p	22.6	19.0	17.1	15.1	13.1	11.2	—	—	—
NIHJ	—	—	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	21.8	20.1	18.7	14.1	13.0	11.1	—	—	—

DM ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1
C-953	20.9	18.4	13.8	12.0	—	—	—	—	—
ATCC 6633	17.8	15.2	11.9	—	—	—	—	—	—
ATCC 9341	15.3	13.9	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 6538p	—	—	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ	16.4	15.1	11.2	—	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	19.2	17.1	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	17.8	14.1	—	—	—	—	—	—	—

Table 1. (Continued)

VM ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1
C-953	31.5	30.1	26.5	25.5	21.6	20.4	15.9	13.1	—
ATCC 6633	27.9	26.1	20.8	18.6	13.6	—	—	—	—
ATCC 9341	36.3	34.2	30.0	28.1	23.2	21.3	16.2	13.1	—
ATCC 6538p	26.1	23.9	21.9	20.1	18.0	16.2	11.4	—	—
NIHJ	25.2	23.1	20.3	17.5	13.4	11.2	—	—	—
NIHJ TC res.	12.9	11.9	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	29.2	28.2	22.9	21.7	17.0	12.2	—	—	—
FV ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1
C-953	31.8	30.8	28.1	27.1	25.9	25.3	19.4	16.6	—
ATCC 6633	17.0	16.5	15.7	15.3	13.6	13.2	10.6	—	—
ATCC 9341	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 6538p	17.4	16.8	15.8	15.0	13.5	12.4	10.6	—	—
NIHJ	22.2	20.6	16.2	13.1	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	15.7	13.7	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	17.4	16.7	15.8	14.9	12.5	11.2	—	—	—
MC ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1
C-953	28.0	26.8	23.3	22.2	20.6	19.6	16.9	15.5	—
ATCC 6633	14.3	13.3	12.4	11.8	12.6	11.4	—	—	—
ATCC 9341	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 6538p	24.2	23.4	21.8	20.2	16.2	13.7	10.8	—	—
NIHJ	14.1	13.8	11.4	—	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	15.1	14.0	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	22.1	21.1	20.1	18.8	16.0	14.9	11.1	—	—
KM ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1
C-953	23.3	20.8	17.1	15.2	11.1	—	—	—	—
ATCC 6633	26.0	24.3	20.0	18.8	14.1	12.0	—	—	—
ATCC 9341	19.5	17.6	12.1	—	—	—	—	—	—
ATCC 6538p	22.5	20.0	17.0	15.0	11.4	—	—	—	—
NIHJ	20.0	18.5	13.9	12.0	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	25.5	23.3	13.7	15.5	—	—	—	—	—
ATCC 11778	25.7	23.8	19.2	16.7	12.4	—	—	—	—
CL (U/ml)	100,000	50,000	10,000	5,000	1,000	500	100	50	10
C-953	17.3	15.5	13.4	12.4	10.5	—	—	—	—
ATCC 6633	19.6	14.8	11.0	—	—	—	—	—	—
ATCC 9341	15.3	12.2	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 6538p	14.5	13.0	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ	16.9	15.4	13.7	12.8	10.7	—	—	—	—
NIHJ TC res.	16.4	14.9	13.2	12.1	10.2	—	—	—	—
ATCC 11778	14.3	12.7	—	—	—	—	—	—	—

Table 1. (Continued)

FM ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1
C-953	16.1	15.0	12.5	11.9	11.0	—	—	—	—
ATCC 6633	19.6	18.9	16.5	14.3	12.6	—	—	—	—
ATCC 9341	19.3	17.3	14.2	13.0	—	—	—	—	—
ATCC 6538p	14.9	13.9	13.3	12.4	10.5	—	—	—	—
NIHJ	13.2	11.8	10.5	—	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	12.2	11.4	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	20.4	18.0	14.3	12.6	—	—	—	—	—
TS ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1
C-953	25.1	24.2	21.2	19.5	17.7	16.2	13.3	12.5	—
ATCC 6633	24.1	23.1	21.0	19.4	16.0	13.7	—	—	—
ATCC 9341	35.7	32.7	30.1	28.2	22.6	20.7	14.7	11.2	—
ATCC 6538p	20.3	18.4	16.0	14.0	11.5	—	—	—	—
NIHJ	11.6	—	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	21.1	20.4	17.7	16.0	12.4	—	—	—	—

Note: Stated in figures are indicating the diameter of inhibition zone (in mm).

隔で2回加熱し、1,000 r.p.m で5分間遠心しその上清を所定濃度に希釈調製²⁾した。

4. パルプディスク: 東洋濾紙製の直径10 mmの厚手 No. 27 のパルプディスクを121°, 15分間高圧蒸気滅菌した後、乾燥器中で十分乾燥させたものを用いた。

5. 使用抗生物質および合成抗菌剤: 実験に用いた抗生物質は、飼料添加物として許可された亜鉛バントランソ (BC), 塩酸オキシテトラサイクリン (OTC), 塩酸クロルテトラサイクリン (CTC), エンラマイシン (ER), オレアンドマイシン (OM), キタサマイシン (KT), ケベマイシンナトリウム (QM), スピラマイシンエンボネート (SP), チオペプチン (TP), デストマイシン (DM), バージニアマイシン (VM), フラボフォスフォルボール (FV), マカルボマイシン (MC), 硫酸カナマイシン (KM), 硫酸コリスチン (CL), 硫酸フラジオマイシン (FM) およびリン酸タイロシン (TS) の計17種類である。一方、使用した合成抗菌剤は、抗コクシジウム剤飼料添加物として許可された Zoalene, Clopidol, Amprolium, Ethopabate, Decoquinate, Robenidine, Sulfaminoxaline と、それに使用禁止された Nicarbazine, Furazolidone, Furamizole, Panazonum 計11種類並びに家畜の細菌性下痢症予防剤として許可された Carbadox, カビロヒドロキサム酸の計2種類で、いずれも標準品である。

6. 検査法

IDF⁴⁾ 提案の牛乳中のペニシリン検出法 (ペーパーディスク法) の試験操作に準拠して行った。すなわち、あ

らかじめ加熱溶解後55°程度に冷却保持した所定平板寒天用培地に、16~18時間培養菌液を寒天量の1/5量加え、十分かく拌した後、内径9 cmの滅菌ペトリーさらに8 mlずつ分注し、水平に保って放冷し凝固させた。ただし、ATCC 6633株の平板は、溶解した寒天100 mlに対して芽胞浮遊液1 mlを加えて調製した。一方、供試抗生物質ならびに合成抗菌剤の適当な希釈標準液をそれぞれ調製し、各標準液中に浸漬させたパルプディスクを寒天平板上に水平に置き、ピンセットの先で軽くおさえて固着した後、倒置してそれぞれの菌の至適温度で培養した。すなわち、C-953株は55°, ATCC 9341株およびATCC 11778株は30°, その他の菌株は35°で、それぞれ18時間培養した後、出現したパルプディスク周辺の阻止円の大きさをノギスを用いて測定した。

実験成績

前記の使用菌株の中から、異なった抗菌スペクトルを示すと期待された7株の標準株、すなわち、C-953, ATCC 6633, ATCC 9341, ATCC 6538p, ATCC 11778, NIHJ, NIHJ TC res. 株を選んで、前記抗生物質ならびに合成抗菌剤の抗菌パターンを調べて、Table 1および2に示した。抗生物質は、いずれも特徴ある抗菌パターンを示した。これに対して抗コクシジウム剤の Zoalene, Clopidol, Amprolium, Ethopabate, Decoquinate などは、1,000 $\mu\text{g/ml}$ でもいずれの菌株に対しても抗菌力を示さなかったが、Nicarbazine, Robenidine, Furazolidone, Furamizole, Panazonum および Sulfaminoxaline などは特徴ある抗菌パターンを示し、特に

Table 2. Growth Inhibition Patterns of Synthetic Antibacterials (I)

Nicarbazine ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1
C-953	11.4	11.0	10.9	10.7	—	—	—	—	—
ATCC 6633	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 9341	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 6538p	—	—	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ	—	—	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Robenidine ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1
C-953	12.7	12.2	11.7	11.0	—	—	—	—	—
ATCC 6633	12.2	10.7	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 9341	13.0	12.5	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 6538p	10.9	10.5	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ	10.4	10.2	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	11.6	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	11.6	—	—	—	—	—	—	—	—
Furazolidone ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1
C-953	28.6	27.8	23.7	20.0	12.4	—	—	—	—
ATCC 6633	37.1	35.9	33.9	31.1	27.3	24.1	15.1	11.4	—
ATCC 9341	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 6538p	—	—	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ	13.5	11.9	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	13.9	12.3	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	22.4	21.1	19.2	16.8	12.5	—	—	—	—
Furamizole ($\mu\text{g/ml}$)	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1	0.05
C-953	36.0	32.0	27.4	22.0	18.3	13.0	10.9	—	—
ATCC 6633	44.5	40.4	38.6	33.3	32.2	28.4	24.6	21.0	18.7
ATCC 9341	18.9	14.5	12.0	—	—	—	—	—	—
ATCC 6538p	10.9	—	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ	15.4	13.7	12.7	11.1	10.6	—	—	—	—
NIHJ TC res.	17.9	15.1	14.1	10.2	—	—	—	—	—
ATCC 11778	22.7	21.0	19.5	16.2	13.6	10.8	10.2	—	—
Panazonum ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1
C-953	21.9	21.1	19.3	17.7	13.9	11.4	—	—	—
ATCC 6633	33.1	31.9	29.8	27.8	24.2	20.9	16.4	11.6	—
ATCC 9341	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 6538p	—	—	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ	11.0	10.7	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	17.8	16.1	14.8	14.5	13.6	12.8	—	—	—

Table 2. (Continued)

Carbadox ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1
C-953	49.2	46.5	38.0	32.6	17.6	11.6	—	—	—
ATCC 6633	30.3	29.1	25.3	21.9	—	—	—	—	—
ATCC 9341	22.2	20.5	15.7	12.2	—	—	—	—	—
ATCC 6538p	—	—	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ	20.7	18.7	16.9	13.9	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	13.8	13.2	12.0	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	20.2	19.5	15.6	12.8	—	—	—	—	—
Caprylohyoxy acid ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1
C-953	12.0	10.5	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 6633	14.9	12.1	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 9341	14.7	11.3	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 6538p	—	—	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ	13.5	10.9	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	11.2	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Sulfaquinoxaline ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	100	50	10	5	1	0.5	0.1
C-953	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 6633	26.0	22.0	16.7	13.2	—	—	—	—	—
ATCC 9341	31.2	28.1	27.1	24.8	14.7	13.0	—	—	—
ATCC 6538p	—	—	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ	—	—	—	—	—	—	—	—	—
NIHJ TC res.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 11778	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Furazolidone, Furamizole, Panazonum のニトロフラン誘導体は ATCC 6633 に対して, Sulfaquinoxaline は ATCC 9341 に対してそれぞれ強い抗菌力を示した。

家畜の細菌性下痢症予防剤のうち, カプリロヒドロキサム酸は, C-953, ATCC 6633, ATCC 9341, NIHJ 株に対して 500 $\mu\text{g/ml}$ で発育を抑制したが, そのほかの菌株に対して 1,000 $\mu\text{g/ml}$ でも発育の抑制はできなかった。これに対して, Carbadox は, C-953 を 5 $\mu\text{g/ml}$ で, ATCC 6633, ATCC 9341, NIHJ 株および ATCC 11778 をともに 50 $\mu\text{g/ml}$ で, NIHJ TC res. 株を 1,000 $\mu\text{g/ml}$ でそれぞれ発育を抑制したけれども, そのほかの菌株に対して 1,000 $\mu\text{g/ml}$ でも発育の抑制はできなかった。

考 察

今回, 厚生省が通知した公定法によると, 抗生物質の検査は, 簡易検査と標準検査法とに大別され, 前者が, と畜場の日常検査の一環として採用されているが, 後者

は, 試験操作が煩雑で, しかも高度の技術と設備資材などを要することから特定の検査機関でしか採用されていないようである。簡易検査法は, ATCC 6633 株と ATCC 9341 株の 2 種を試験菌とした微生物学的試験法であって, 一応, 各種抗生物質の残留が検出できる方法と考えられている。事実, 飼料添加物としての抗生物質は, ことごとく検出できることが今回の実験から明らかとなった。

これに対して, 合成抗菌剤は, 化学的に検査を行うように定められ, しかもその試験操作はきわめて煩雑なので, もしも, 微生物学的に検出可能ならば, その試験操作は著しく迅速簡易化されるものと考えられる。そこで, 飼料添加物として許可された合成抗菌剤 9 種類と, 禁止された合成抗菌剤 4 種類についてそれぞれの抗菌性を調査したところ, ニトロフラン誘導体 (Furazolidone, Furamizole, Panazonum) と Sulfaquinoxaline が強い抗菌力を示し, とくに前者は ATCC 6633 株に, 後者は ATCC 9341 株にそれが顕著であった。

以上のことから、公定法の簡易検査法は、飼料添加物としての抗生物質のみならず、ニトロフラン誘導体および Sulfaquinoxaline までも検出可能なスクリーニングテストであることが判明した。これに対して、Nicarbazine, Robenidine および Carbadox は、いずれも ATCC 6633 株と ATCC 9341 株に対する抗菌力が弱いことから、これらの菌株を試験菌とする公定簡易検査法でこれらの薬剤の残留を検査することは困難である。もしも微生物学的試験法によってこれらを検出しようとするならば、試験菌株として C-953 株が適当と考えられる。一方、Zoalene, Clopidol, Amprolium, Ethopabate, Decoquinat など、微生物学的に検出不能であることが判明した。

抗生物質の同定法は、いろいろあるけれども、いずれも微量の抗生物質の検出同定法としては不十分である。しかし、その中でも、抗菌パターンを利用する方法が最も簡単で、しかも微量の抗生物質を検出同定できると考えられる。この方法も、検査の対象となる残留抗菌性物質の種類が多くなり、類似の抗菌パターンが増加すると、その同定がきわめて困難となるものと予想される。そこで、今後、この点について検討を行って畜産物中の残留微量抗菌性物質の同定法を開発する必要がある。

結 論

飼料添加物として使用許可された代表的な抗生物質17種類 (BC, OTC, CTC, ER, OM, KT, QM, SP, TP, DM, VM, FV, MC, KM, CL, FM, TS), 抗コクシジ

ウム剤 7 種類 (Zoalene, Clopidol, Amprolium, Ethopabate, Decoquinat, Robenidine, Sulfaquinoxaline), 細菌性下痢症予防剤 2 種類 (Carbadox, カプリロヒドロキサム酸) ならびに使用禁止された抗コクシジウム剤 4 種類 (Nicarbazine, Furazolidone, Furamizole, Panazonium) 計 30 種類を対象に抗菌性を調べたところ、Zoalene, Clopidol, Amprolium, Ethopabate, Decoquinat およびカプリロヒドロキサム酸以外のものは、いずれも特徴ある抗菌パターンを示した。

ATCC 6633 株と ATCC 9341 株を試験菌とする公定簡易検査法は、前記 17 種の抗生物質ならびにニトロフラン誘導体や Sulfaquinoxaline などの検出が可能であるが、Nicarbazine, Robenidine, Carbadox, Zoalene, Clopidol, Amprolium, Ethopabate, Decoquinat などの検出に不適であることが明らかとなった。

なお、本研究は昭和 52 年度厚生省食品衛生調査研究費の補助のもとに行われたものである。

文 献

- 1) 農林省令第 35 号、飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令、昭和 51 年 7 月 24 日。
- 2) 厚生省環境衛生局乳肉衛生課：畜産物中の残留物検査法、第 1 集 (1977)。
- 3) 厚生省環境衛生局乳肉衛生課：畜産物中の残留物検査法、第 2 集 (1977)。
- 4) I. D. F.: IDF Sessions in Moscow. V-DOC 86 (1968)。