

Table 7 Recoveries and detection limits of tetracyclines in meat

Antibiotics	Spiked (ppm)	Sample	Recovery* ¹ (%)	DL* ² (ppm)	MRL (ppm)
OTC	0.2	Cattle muscle	82.3	0.05	0.2* ³
	0.6	Cattle liver	57.9	0.05	0.6* ³
TC	0.2	Cattle muscle	82.7	0.08	0.2* ³
	0.6	Cattle liver	56.1	0.1	0.6* ³
CTC	0.2	Cattle muscle	62.7	0.02	0.2* ³
	0.6	Cattle liver	48.1	0.02	0.6* ³
DC	0.05	Cattle muscle	69.1	0.04	0.05
	0.05	Cattle liver	46.7	0.04	0.05

*1 N = 3

*2 The concentration of each antibiotic which confirmed that inhibition zone of 12 mm was formed.

*3 MRL is the total value of OTC, TC and CTC.

Table 8 Sensitivity of other type antibiotics in standard solution

Antibiotics	DL *1 ($\mu\text{g/mL}$)
Ampicillin (AMP)	0.08
Erythromycin (EM)	10
Gentamicin (GM)	>10

*1 The concentration of each antibiotic which confirmed that inhibition zone of 12 mm was formed.

平成 17 年度 厚生労働科学研究費補助金
(食品の安心・安全確保推進)研究報告書
食品中に残留する抗生物質の分析法に関する研究

「食肉中残留抗生物質の系統推定微生物学的スクリーニング試験法の開発と
ペニシリン系抗生物質の検討」

主任研究員	堀江 正一	埼玉県衛生研究所
分担研究者	井部 明広	東京都健康安全研究センター
研究協力者	草野 友子	東京都健康安全研究センター
研究協力者	神田 真軌	東京都健康安全研究センター

研究要旨

平成 18 年度のポジティブリスト制施行を控え、畜水産食品中に残留する抗菌性物質を簡易、迅速かつ多検体検査可能なスクリーニング試験法の開発が各方面から求められている。スクリーニング試験法としては現在のところ従来用いられている微生物学的試験法が適当と思われるが、国のモニタリング試験法等で汎用されている「簡易検査法（改訂）」¹⁾は検出感度が悪く、「分別推定法（改訂）」¹⁾は、クロロホルムを大量に使用し、また前処理が煩雑である。そこで、我々は現在の「分別推定法」に変わる試験法として、またポジティブリスト制施行後の残留基準値及び暫定基準値スクリーニング試験としても活用可能な新しい系統推定微生物学的試験法の開発を進めている。

今年度は逆相・カチオン交換ミックスモードカートリッジの単一使用で、食肉中に残留する、系統の異なる各代表的抗生物質のベンジルペニシリン(PCG)、オキシテトラサイクリン(OTC)、スピラマイシン(SPM)、ゲンタマイシン(GM)の残留基準値を一度の前処理で同時に検出可能な微生物学的検査法の基本的骨格を構築した（第 1 法）。本試験法は簡易な前処理法で各抗生物質の残留基準値を一回の操作で検出でき、系統推定も可能であった。次に、上記の試験法を一部改良し、ペニシリン系（PC 系）抗生物質のポジティブリスト制施行後の暫定基準値検出数拡大を試みた。その結果、PCG、アンピシリン(ABPC)、ナフシリン(NFPC)、ジクロキサシリン(MDIPC)、クロキサシリン(MCIPC)の暫定基準値検出がすべて可能であった（第 2 法）。

A. 研究目的

ポジティブリスト制施行後の残留抗菌性物質の公定試験法はそのほとんどが LC/MS/MS 等を使用した系統別もしくは個別試験法になる予定であり、多種類の抗菌

性物質を日常的に検査しなければならない検査所等では、多数の高額機器と人員が必要となる。しかし、国の検疫所、地方衛生検査所等では、限られた予算と人員で日常検査をこなしていかななくてはならない。

一方、近年、畜水産食品からの抗菌性物質の違反品検出は日常検査では高率ではなく、違反品等の特殊なものを除いて、最初から LC/MS/MS 等を用いた検査を行っていくのはメンテナンス等にも非常に予算がかかり非効率である。そこで、最初に簡易な抗菌性物質に感受性のある細菌培地を用いた微生物学的試験法で抗菌性物質残留の有無をスクリーニングして、確認試験に持っていくのが効率的な検査法と思われる。

そこで今年度は、単一カラムで残留基準値検出及び抗生物質の系統推定も可能な簡易迅速微生物学的試験の基本的骨格を構築し（第1法）、次に構築した試験法を用い PC 系抗生物質の検出数拡大を試みた（第2法）。

B. 研究方法

1. 試験法の概要

試料を緩衝液で抽出し、逆相・カチオン交換の充填剤を使用したミックスモードカートリッジで精製し、2分画の試験溶液（分画1、分画2）を作製する。それぞれの試験溶液を用いて3種類ないし4種類の試験菌株でバイオアッセイを行い残留の有無を判定するとともに感受性パターンにより抗生物質の系統を推定する。

2. 試料

第1法構築のための実験には主に市販豚肉、豚肝臓を使用しその他鶏肉、牛肉でも一部検討を行った。第2法の実験には牛肉を使用した。

3. 供試菌株

Bacillus subtilis ATCC 6633（以下 *B. subtilis* と略）、*Kocuria rhizophila* ATCC

9341(*Micrococcus luteus* ATCC 9341 が名称変更)（以下 *K. rhizophila* と略）、*Bacillus cereus var. mycoides* ATCC 11778（以下 *B. mycoides* と略）、この3試験菌株に加え、PC系抗生物質の検討には *Bacillus stearothermophilus var. calidolactis* C-953（以下 C-953 と略）を加えた。培地の作製法は「簡易検査法（改訂）」等に準拠したが一部変法を使用した。すなわち、PC系抗生物質の検討で使用した C-953 プレートは、以下のように作製した。C-953 の芽胞液を作製し、ブロムクレゾールパープル入りの PM Indicator Agar（フルカ製）と混合した。プレートの力価は IDF 試験用の C-953 プレートと同程度に調製した。

4. 試薬及び標準品

ア. 抗生物質標準品：前処理法の基本的骨格（第1法）を構築するための実験には、力価の明らかなオキシテトラサイクリン塩酸塩(OTC)、ゲンタマイシン硫酸塩(GM)、ベンジルペニシリンカリウム(PCG)(以上和光純薬社製)、スピラマイシン(SPM)(協和発酵工業社製)を使用した。

また、PC系抗生物質の検討（第2法）には PCG、アンピシリン(ABPC)（以上和光純薬工業製）、ナフシリンナトリウム塩一水和物(NFPC)、ジクロキサシリン(MDIPC)（以上林純薬工業製）、クロキサシリン(MCIPC)（シグマ製）の5抗生物質を使用した。また、他の系統の抗生物質として OTC、チルミコシン (TLM)(食品衛生指定検査機関協会の分与品)、GMを使用した。

イ. 抗生物質標準溶液の作製：各抗生物質の 1000 µg/mL の標準原液を作製し、PCG は 1、0.5、0.25、0.1、0.05、0.025 µg/mL に、OTC 及び SPM、TLM、GM は 25、10、5、2.5、1、0.5、0.25 µg/mL に希釈して標準溶液を調製した。PCG 以外の PC 系抗生物質も 1000 µg/mL の標準原液を作製し、適宜希釈して標準溶液を調製した。

ウ. 緩衝液及び溶媒等：pH4.0 マキルベン緩衝液、0.01 mol/L EDTA・2Na 含有 pH4.0 マキルベン緩衝液、0.1mol/L pH4.5 リン酸緩衝液は「畜水産食品中の残留抗生物質の分別推定法（改訂）」にしたがって調製した。pH7.0 リン酸緩衝液は 0.1mol/L のリン酸一カリウムと 0.1mol/L のリン酸二カリウムを混合して pH7.0 に調整した。試薬は、すべて特級品を使用した。メタノール、アセトニトリル、アンモニア水（28%）は和光純薬工業（株）の特級品を使用した。

エ. カートリッジカラム：逆相およびカチオン交換のミックスモード充填剤を使用した Oasis MCX (150mg LP/6cc) カートリッジ（日本ウォーターズ社製）（以下 MCX カラムと略）を使用した。カラムのコンディショニングはメタノール 10mL、pH4.0 マキルベン緩衝液 10mL で行った。

オ. 分画 2 溶出溶媒：第 1 法では 28%アンモニア水 5%含有アセトニトリルと 0.1mol/L pH4.5 リン酸緩衝液を 9:1(v/v) に混合した上清と、同様にメタノールで作製した上清を 1:1 に混合したものを使用した。第 2 法では 28%アンモニア水 5%含有アセトニトリルと 0.1mol/L pH4.5 リン

酸緩衝液を 9:1(v/v) に混合した上清を使用した。以上使用時調製のこと。

5. 装置・測定条件

ストマッカー 80T（オルガノ製）

遠心機（トミー精工）

ロータリーエバポレーター

遠心濃縮装置（サーヴァント）

インキュベーター

恒温水槽

オートクレーブ等

6. 試験溶液の調製法

第 1 法：試料 10g を細切し pH4.0 マキルベン緩衝液を 40mL 加えホモジナイズした後、3000 回転で 15 分間遠心分離して上清を綿栓ろ過した。ろ液を MCX カラムに流速約 1mL/min で負荷した後、カラムを 0.1mol/L pH4.5 リン酸緩衝液 10mL で洗浄し、3 分間減圧して水分をとばした。次にカラムから 5mL のアセトニトリルで分画 1 を溶出し（PCG が溶出）、40°C で減圧乾固した。残留物を 0.1mol/L pH4.5 リン酸緩衝液 0.5ml で溶解したものを試験溶液 1 とした。分画 1 溶出後のカラムは、0.1mol/L pH4.5 リン酸緩衝液 10ml で洗浄し、3 分間減圧して水分をとばした。次に分画 2 溶出溶媒 5mL で分画 2 を溶出し（OTC、SPM、GM が溶出）、40°C で減圧乾固した。残留物を 0.1mol/L pH7.0 リン酸緩衝液 0.5ml で溶解したものを試験溶液 2 とした。（図 1）

第 2 法：試料 10g を細切し 0.01 mol/L EDTA・2Na 含有 pH4.0 マキルベン緩衝液を 40mL 加えホモジナイズした後 50cc のポリプロピレン製（PP 製）遠心管に入れ、

3000 回転で 15 分間遠心分離し上清を綿栓ろ過した。ろ液を MCX カラムに流速約 1mL/min で負荷した後、カラムを 0.1mol/L pH4.5 リン酸緩衝液 10mL で洗浄し、3 分間減圧して水分をとばした。次にカラムから 5mL のアセトニトリル-0.1 mol/L pH4.5 リン酸緩衝液(9:1 v/v)で分画 1 を PP 製遠心管に溶出し(PC 系抗生物質が溶出)、40°C、窒素ガスで溶媒留去ないし、遠心濃縮装置を使用し 43°C で減圧乾固した。残留物を 0.1mol/L pH 7.0 リン酸緩衝液 0.5ml で溶解したものを試験溶液 1' とした。分画 1 溶出後のカラムは、0.1mol/L pH4.5 リン酸緩衝液 10ml で洗浄し、3 分間減圧して水分をとばした。次に 28%アンモニア水 5%含有アセトニトリル-0.1mol/L pH4.5 リン酸緩衝液(9:1 v/v) 5mL で分画 2 を溶出し(OTC、TLM、GM が溶出)、40°C で減圧乾固した。残留物を 0.1mol/l pH7.0 リン酸緩衝液 0.5ml で溶解したものを試験溶液 2' とした。(図 2)

7. 試験法

第 1 法：試験溶液 1、2 に「枝肉の抗菌物質検査用ろ紙(直径 10mm、厚さ 1.1mm、吸水量 70 ~ 80 μ L、アドバンテック社製)」を浸漬し、*K. rhizophila* プレート、*B. mycooides* プレート、*B. subtilis* プレート上に固着させ 30 分間冷蔵した後 30°C 18 時間培養した。回収率の算出には PCG には *K. rhizophila* プレート、OTC には *B. mycooides* プレート、SPM には、*K. rhizophila* プレート、GM には *B. subtilis* プレートを単独で用いた。

第 2 法：試験溶液 1'、2' に「枝肉の抗菌物質検査用ろ紙(直径 10 mm、厚さ 1.1 mm、吸水量 70 ~ 75 μ L、アドバンテック社製)」を浸漬し、*K. rhizophila* プレート、*B. mycooides* プレート、*B. subtilis* プレート及び C-953 プレート上に固着させ C-953 プレート以外は 30 分間冷蔵した後、30°C 18 時間培養した。

C-953 プレートは 20 分間室温においた後、64°C 正立で、ブランクの pH7.0 リン酸緩衝液を浸漬させたらろ紙が黄色になるまで、約 5 時間培養した。

なお、試験溶液 1' には *K. rhizophila* プレートと C-953 プレートを、試験溶液 2' には *K. rhizophila* プレート、*B. mycooides* プレート、*B. subtilis* プレートを、回収率の算出には PCG には *K. rhizophila* プレート、OTC には *B. mycooides* プレート、TLM には、*K. rhizophila* プレート、GM には *B. subtilis* プレートを単独で用いた

8. 判定及び検量線の作成

判定：培養後のプレート上に形成された阻止円の直径をノギスで測定し、阻止円の直径 12mm 以上を陽性と判定し、感受性パターンから抗生物質の系統推定を行った。また、C-953 プレートの場合は、培養後のプレート上に阻止円が形成されなくても、ろ紙がはっきりと紫色を呈している場合は陽性と判定した。

検量線：既知濃度の各抗生物質標準溶液を用い試験法に従って操作し、得られた阻止円の直径から検量線を作成し、回収率等を算出した。

C. 研究結果

1. 第1法

ア 平成12年に発表した試験法²⁾³⁾ではアミノグリコシド系 (AG系) のGMの回収率が低かったので、抽出溶液の検討をした。その結果、pH4.0 マキルベン緩衝液でGMの保持、回収率が良く、また、同時に抽出するPCG、OTC、SPMも良好な回収が得られた。次に、分画2で新たにGMを同時に溶出するために抽出溶媒の検討をした。その結果、28%アンモニア水 5%含有アセトニトリルと0.1mol/L pH4.5リン酸緩衝液を9:1に混合した上清と、同様にメタノールで作製した上清を1:1に混合したものを使用した場合、分画2に溶出する各抗生物質の回収率が良好だった。

イ 各抗生物質の感受性パターン

本試験法における抗生物質の感受性パターンを表1に示した。PC系抗生物質であるPCGは試験溶液1に分画され、*K. rhizophila*に最大の阻止円を形成した。テトラサイクリンTC系抗生物質のOTC、マクロライド系ML系抗生物質のSPM、AG系抗生物質のGMは試験溶液2に分画され、OTCは*B. mycoides*に、TLMは*K. rhizophila*に、GMは*B. subtilis*に最大の阻止円を形成した。それにより抗生物質の系統推定が可能であった。なお、残留している薬剤の濃度が高い場合には3菌株すべてに阻止円を形成することもある。その場合は試験溶液の希釈等が必要となる。

ウ 添加回収試験

豚筋肉にPCG、OTC、SPM、GMの残

留基準値を添加した場合の回収率を調べた結果を表2に示した。PCGは0.05 µg/g添加で70.5%、OTCは0.2 µg/g添加で57.2%、SPMは0.2 µg/gで78.8%、GMは0.1 µg/gで74.6%であった。標準偏差はPCG、OTC、SPMは5以下で良好であった。GMは検量線の傾きが大であり回収率のばらつきが出やすく、14.7であった。

豚肝臓にPCG、OTC、SPM、GMの残留基準値を添加した場合の回収率を調べた。PCGは0.05 µg/g添加で58.9%、OTCは0.6 µg/g添加で28%、SPMは0.6 µg/g添加で33.1%、GMは残留基準値の2.0 µg/gの回収率を確認するあたりの検量線は直線性を示さず、回収率は定量不可であった。標準偏差はPCG、OTC、SPMともに5以下であった。

エ 検出限界

検出限界は豚筋肉でPCG 0.0025 µg/g、OTC 0.05 µg/g、SPM 0.1 µg/g、GM 0.05 µg/gであり、各薬剤の残留基準値の検出が可能であった(表3)。

2. 第2法

ア 各抗生物質の感受性パターン

本検査法における抗生物質の感受性パターンを表4に示した。PC系抗生物質であるPCG、NFPC、MDIPC、MCIPCは試験溶液1'に分画され、C-953プレートに最大の阻止円を形成した。両性抗生物質のABPCは一部試験溶液2'に溶出され完全に分画はできなかった*。TC系抗生物質のOTC、ML系抗生物質のTLM、AG系抗生物質のGMは、試験溶液2'に分画され、OTCは*B. mycoides*プレートに、

TLM は *K. rhizophila* プレート に、GM は *B. subtilis* プレートに最大の阻止円を形成した。以上のことから抗生物質の系統推定が可能であった。

* 試験溶液 2' を用いたバイオアッセイには C-953 プレートを使用しないので、残留濃度が低い場合は試験溶液 1' の C-953 プレートのみで阻止円を形成する。残留濃度が高い場合は、試験溶液 1' と試験溶液 2' の *K. rhizophila* プレートの両方に阻止円を形成する。

イ PC 系抗生物質の添加回収試験及び検出限界

牛筋肉に PCG の残留基準値を添加した場合の回収率を *K. rhizophila* プレートをを用い、試験法に従って調べた。PCG の回収率は、残留基準値の 0.05 $\mu\text{g/g}$ 添加で 70.7 %、標準偏差は 3.9 であり、回収率は良好であった。

また、PCG を含む 5 種類の PC 系抗生物質の検出限界を *K. rhizophila* プレート、C-953 プレートをを用いて調べた。その結果を表 5 に示した。PCG は、*K. rhizophila* プレートに感受性も高いので、*K. rhizophila* プレートのみで残留基準値の 1/20 である 0.0025 $\mu\text{g/g}$ まで検出可能であった。ABPC は *K. rhizophila* プレートに感受性は高いものの、今回の検査法では牛筋肉の残留基準値である 0.03 $\mu\text{g/g}$ が検出限界であった。しかし、PC 系抗生物質に、より感受性の高い C-953 プレートをを用いることによって基準値の約 1/10 の 0.0025 $\mu\text{g/g}$ まで検出が可能であった。NFPC は、*K. rhizophila* プレートに感

受性が低いために本プレートでは牛筋肉の残留基準値である 0.005 $\mu\text{g/g}$ が検出限界であった。しかし、C-953 プレートをを用いることによって基準値の約 1/5 の 0.001 $\mu\text{g/g}$ まで検出が可能であった。MDIPC、MCIPC は今回の検査法では C-953 プレートをを用いることで暫定予定基準値の検出が可能であり、MDIPC が 0.001 $\mu\text{g/g}$ 、MCIPC が 0.0025 $\mu\text{g/g}$ まで検出可能であった。

ウ 他系統の抗生物質の添加回収

今回の検査法で他系統の抗生物質の添加回収を行った。牛筋肉に OTC、TLM、GM の残留基準値を添加した場合の回収率を試験法に従って調べた。その結果、OTC は 0.2 $\mu\text{g/g}$ 添加で 52.1 %、TLM は 0.1 $\mu\text{g/g}$ 添加で 75.0%、GM は 0.1 $\mu\text{g/g}$ 添加で 26.6 %であった。相対標準偏差は 3 剤ともに 5 %以下であった。3 剤の残留基準値濃度はすべて阻止円として検出可能であった。

D. 考察

残留抗生物質の微生物学的スクリーニング試験法は、回収率よりも検出限界を優先すべきであると考えられる。基準値及び暫定基準値検出薬剤が増える試験法になるに従い、どうしてもすべての回収率を 70%程度まで確保することは困難である。たとえ回収率が 30%程度であっても基準値及び暫定基準値濃度を確実に阻止円として検出できれば微生物学的スクリーニングの意義は十分であろう。

第 1 法では、検出限界を下げる目的で、

バイオアッセイに使用する最終的な試験溶液濃度を高くするためにサンプル量を 10g にした。そのため、今回の試験法では回収率が 60 から 70%程度と、理化学試験の回収率より若干低くなっているがバイオアッセイの回収率としては十分な値である。また、食肉の残留基準値は筋肉部位に定められており、脂肪が多く混入している試料は用いないこと。また、第 1 法に用いた分画 2 溶出溶媒について肉種別に検討したところ、試料に牛肉を用いた場合に溶出溶媒中に含まれるメタノールが牛筋肉血液成分中に存在すると思われる抗菌活性物質（今のところ不明）を溶出し、*B. subtilis* プレートに微少な阻止円を形成することが判明した。この現象は豚肉や鶏肉では見られなかった。

そこで、第 2 法では牛肉を使用し、分画 2 の溶出溶媒をアセトニトリルのみで作製した 28 %アンモニア水 5 %含有アセトニトリル-0.1 mol/L pH 4.5 リン酸緩衝液(9:1 v/v)に変更した。そのため、GM の回収率が第 1 法より低下している。回収率が低下しているが GM の残留基準値濃度の検出は可能でありスクリーニング検査としては問題ないと考えられた。また、OTC、TLM とともに本検査法で残留基準値濃度の検出が可能であった。本法で他の PC 系抗生物質のスクリーニングも可能であると示唆された。現在開発中の試験法は今後さらに抗生物質及び合成抗菌剤を系統別に検討し、最終的に基準値及び暫定基準値濃度をスクリーニング可能な薬剤数を拡大する予定である。そのた

め、今後さらに検査法を改良していくと同時に食品別に前処理法等を確認し、検査法を確立していく予定である。

E. 結論

逆相・カチオン交換ミックスモードカートリッジの単一使用で、食肉中に残留する、系統の異なる各代表的抗生物質の PCG、OTC、SPM、GM の残留基準値を一度の前処理で同時に検出可能な微生物学的検査法の基本的な骨格を構築した。本試験法は簡易な前処理法で各抗生物質の残留基準値及び暫定基準値濃度を一回の操作で検出でき、系統推定も可能であった（第 1 法）。次に、上記の試験法を一部改良し、PC 系抗生物質のポジティブリスト制施行後の暫定基準値検出数の拡大を試みた。その結果、PCG、ABPC、NFPC、MDIPC、MCIPC の暫定基準値の検出がすべて可能であった。また、同時に OTC、TLM、GM の残留基準値濃度の検出も可能であった。本試験法は非常に簡易な前処理法で多数の検体を同時に検査することが可能であり現在のところ 4 系統 8 抗生物質の残留基準値及び暫定基準値濃度の検出が可能となった（第 2 法）。検出可能抗菌性物質数は今後確実に増加させることが可能と思われる。ポジティブリスト施行後にはスクリーニング試験法として有用であると思われた（第 2 法）。

文献

- 1) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課長通知、衛乳第 107 号(1994)。

2) 「逆相・カチオン交換のミックスマードカートリッジを用いた食肉中残留抗生物質の微生物学的検査法」草野友子、神田真軌、鎌田国広、宮崎奉之：第80回日本食品衛生学会学術講演会講演要旨集、p59、(2000).

3) 「逆相・カチオン交換のミックスマードカートリッジを用いた食肉中残留抗生物質の微生物学的検査法」草野友子、神田真軌、鎌田国広、宮崎奉之：日本食品

衛生学雑誌第45巻第4号, p191-196, 2004.

G. 学会発表

1. 学会発表

1) 「逆相・カチオン交換ミックスマードカートリッジを用いた食肉中残留抗生物質の微生物学的系統推定スクリーニング試験法(第3報) 草野友子、神田真軌、井部明広ら：日本食品衛生学雑誌第89回学術講演会講演要旨集。P41、(2005).

表1 第1法における抗生物質の感受性パターン

試験溶液	試験菌			抗生物質
	<i>K.rhizophila</i>	<i>B.mycoides</i>	<i>B.subtilis</i>	
1	+	-	-	PCG(PC系)
	++	-	+	
2	-	+	-	OTC(TC系)
	-	++	+	
	+	-	-	SPM(ML系)
	++	-	+	
	-	-	+	GM(AG系)
	-	+	++	

+: 阻止円直径12mm以上 -: 阻止円直径12mm未満

表2 第1法における各抗生物質の回収率

抗生物質	試料	添加量 ($\mu\text{g/g}$)	回収率 (%)	標準偏差
PCG	豚肉	0.05	70.5	0.9
	豚肝臓	0.05	58.9	3.4
OTC	豚肉	0.2	57.2	3.7
	豚肝臓	0.6	28.0	4.3
SPM	豚肉	0.2	78.8	1.8
	豚肝臓	0.6	33.1	1.6
GM	豚肉	0.1	74.6	14.7
	豚肝臓	2.0	*	*

*: 定量不可 n=3

表3 第1法における検出限界と公定法との比較

抗生物質	本試験法	現公定法	
PCG	0.0025	0.005	(微生物試験)
OTC	0.05	0.02	(HPLC)
SPM	0.1	0.1豚	(HPLC)(一部微生物)
GM	0.05	0.02	(LC-MS)

単位: $\mu\text{g/g}$

表4 第2法における抗生物質の感受性パターン

試験溶液	試験菌				抗生物質
	<i>K.rhizophila</i>	<i>B.mycoides</i>	<i>B.subtilis</i>	C-953	
1'	-			+	PCG, ABPC, MCIPC
	+			+	MDIPC, NFPC (PC系)
2'	-	+	-		OTC (TC系)
	+	-	-		TLM (ML系)
	-	-	+		GM (AG系)

+: 阻止円直径12mm以上 -: 阻止円直径12mm未満

表5 各PC系抗生物質の検出限界

抗生物質	暫定基準値 牛(μ g/g)	試験菌株	検出限界 (μ g/g)
PCG	0.05	<i>K.rhizophila</i>	0.0025
		C-953	0.00025
ABPC	0.03	<i>K.rhizophila</i>	0.03
		C-953	0.0025
MCIPC	0.04	C-953	0.0025
MDIPC	0.03	C-953	0.001
NFPC	0.005	<i>K.rhizophila</i>	0.005
		C-953	0.001

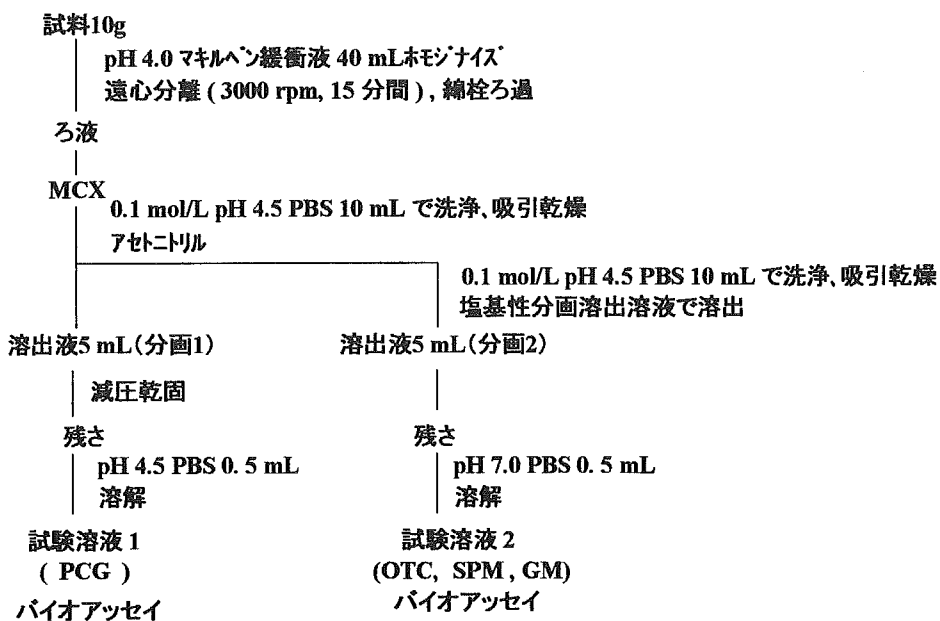


図1 第1法: 4系統抗生物質の微生物学的一斉検出法(食肉)

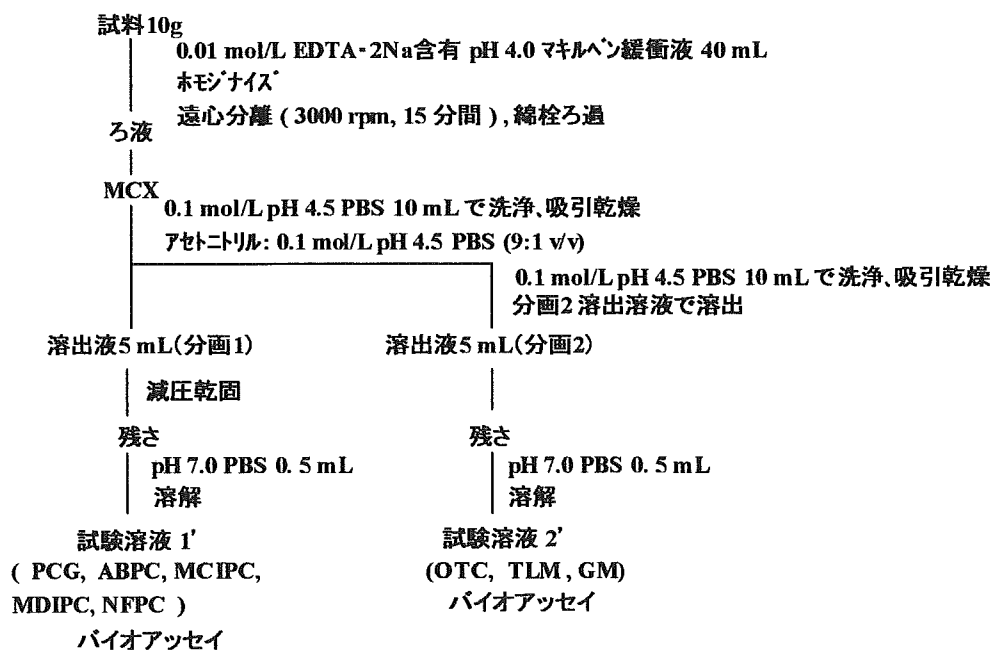


図2 第2法: PC系抗生物質の検出拡大(食肉)