

## Ⅱ. 分担研究報告

### 4. 課題5: 抗生物質の系統的分析法に関する評価研究

研究分担者 菊地博之



食品中残留農薬等の分析法に関する研究  
課題 5. 抗生物質の系統的分析法に関する評価研究

研究分担者 菊地博之 国立医薬品食品衛生研究所 食品部主任研究官

**研究要旨**

畜水産物に残留する抗生物質の検査するバイオアッセイ法として、我が国では「畜水産食品中の残留抗生物質簡易検査法(以下、簡易検査法という。)並びに分別推定法」が通知されており、と畜場などの検査室を中心にスクリーニング検査法として汎用されている。本研究では、簡易検査法による検査の信頼性を評価するために、LC-MS/MS 等を用いる機器分析法との検査結果の比較を行った。牛の筋肉及び肝臓を試料として、基準濃度の抗生物質を添加した試料を作成して、簡易検査法並びに機器分析法により同一試料を検査した。マクロライド系、テトラサイクリン系、ペニシリン系、セファロsporin系、キノロン系抗生物質、サルファ剤、合成抗菌剤など、30 種の抗生物質を検査対象とした。その結果、簡易検査法では、牛の筋肉、肝臓ともに、それぞれ 30 化合物中 25 化合物が陰性と判定された。さらに、抗生物質の標準溶液を用いた陽性対照の試験区においても、阻止円が認められない化合物が多く認められた。このことは、これまでに文献等で既に報告されている通り、簡易検査法においては抗生物質の検出限界濃度が高く、基準値判定には適用が困難であるとする結果と矛盾しなかった。一方で、LC-MS/MS を用いる機器分析法では、牛の筋肉の場合には 4 化合物で、牛の肝臓の場合は、8 化合物が回収率 70~120%の範囲に入らなかった。本検討では、機器分析法として、多成分の一斉分析が可能な一斉試験法を用いたが、個別試験法を適用することで、多くの場合、良好な回収率が得られるものと考えられる。本研究で検討した範囲においては、簡易検査法では偽陰性と判定される抗生物質が多く存在する可能性が高いことが示されたが、簡便で多検体を同時に検査ができるなどの利点も多くあることから、今後は、簡易試験法の高感度化に向けた改良を行うとともに、機器分析法の導入も併せて検討する必要があると考えられた。

**A. 研究目的**

畜水産物に残留する抗生物質の検査は、分析対象化合物を高感度、高精度に分析することが可能な LC-MS/MS 等の分析機器の普及に伴い、従来のバイオアッセイ法から機器分析法への移行が世界的に進んでいる。しかしながら、抗生物質の物理化学的特性により機器分析法では、検査が困難な化合物が存在する一方で、バイオアッセイ法は多数の抗生物質を簡便に検査できることから、と畜場等の検査室を中心に、現在でもスクリーニング法として汎用されている。我が国では、平成 6 年

に示された「畜水産食品中の残留抗生物質簡易検査法(以下、簡易検査法という。)並びに分別推定法」がバイオアッセイ法として通知されている。本法は、試料の前処理が簡便であり、多検体を同時に検査することが可能であるが、抗生物質の種類によっては十分な検出感度が得られないこと、抗生物質の種類を同定することが出来ない等の課題点が指摘されている。

近年では、抗菌性物質の不適切な使用を背景として、薬剤耐性菌が世界的に増加する一方で、新たな抗菌薬の開発は減少傾向にあり、国際社会

でも大きな課題となっている。これら薬剤耐性の問題に適切に対応するためにも、国際的なバイオアッセイ法の整備状況等を把握し、バイオアッセイ法及び機器分析法の特性を踏まえた、新たな試験体系・試験法の提案が必要と考えられる。しかしながら、欧米等で実施されている畜水産物中の残留抗生物質を対象としたバイオアッセイ法について、その詳細を調査した報告は極めて少ない。そこで、昨年度は、欧米等におけるバイオアッセイによる公定試験法の整備状況、試験法の概要及び検査の実施状況等を調査し、多くの国で、現在でも様々なバイオアッセイによる検査がスクリーニング法として用いられていることを明らかにした。しかし、いずれの検査法においても、試料マトリックスの影響による誤判定、検出限界濃度が高く基準値判定には適用できない等の多くの課題点が認められた。

本年度は、以上の調査結果を踏まえて、我が国において、畜水産物に残留する抗生物質のスクリーニング検査法として汎用されている簡易検査法について、LC-MS/MS 等を用いる機器分析法と比較し、本法による検査結果の信頼性を評価するために検討を行った。

## B. 研究方法

### 1) 試料

牛の筋肉、牛の肝臓を用いた。

### 2) 分析対象化合物

表 1 に示す 30 種類の抗生物質を対象とした。マクロライド系抗生物質 4 化合物(エリスロマイシン、オレアンドマイシン、タイロシン、チルミコシン)、テトラサイクリン系抗生物質 3 化合物(オキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリン、テトラサイクリン)、ペニシリン系抗生物質 5 化合物(ベンジルペニシリン、クロキサシン、メシリナム、ナフシリン、オキサシリン)、セファロsporin系抗生物質(セファピリン)、キノロン系抗生物質 4 化合物(フルメキン、エンロ

フロキサシン、ダノフロキサシン、オキシリン酸)、サルファ剤 7 化合物(スルファジメキシム、スルファジアジン、スルファキノサリン、スルファジミジン、スルファメラジン、スルファドキシム、スルファモノメキシム)、合成抗菌剤 6 化合物(オルメトプリム、トリムトプリム、チアンフェニコール、クロピドール、クロラムフェニコール、ニトロフラントイン)。

### 3) 添加濃度

機器分析法は基準値濃度とし、バイオアッセイ法では基準値を超過する最低の濃度を添加濃度とした。(表 1)

### 4) バイオアッセイ法

平成 6 年 7 月 1 日付衛乳第 107 号中の厚生労働省「畜水産食品中の残留抗生物質簡易検査法(改訂)」に準拠した。試料 5 g 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、ろ紙でろ過した。抽出液にペーパーディスクを浸漬した後、これを検査用平板上に置き、ピンセットを用いて平板に固着させた。これを 30 分間冷蔵で放置した後、30℃で 18 時間培養した。培養後の阻止円の直径が 12 mm 以上のものを陽性と判定した。また、添加濃度に調製した抗生物質の標準溶液に浸漬したペーパーディスクを陽性対照、クエン酸・アセトン緩衝液に浸漬したペーパーディスクを陰性対照として、同一の平板で培養した。(スキーム 1)

#### 4-1) 試験菌

*Micrococcus luteus* ATCC9341、*Bacillus subtilis* ATCC 6633、*Bacillus mycoides* ATCC 11778 を用いた。

#### 4-2) 培地

普通寒天培地(日水製薬製)、感受性測定用ブイヨン(日水製薬製)、Antibiotic Medium 5 (Difco 製)、Antibiotic Medium 8 (Difco 製)を用いた。

#### 4-3) 装置

安全キャビネット:LAL-1300XA2(オリエンタル技研工業製)、オートクレーブ:LSX-500(トミー精工製)、恒温槽:MIR-262(サンヨー製)、遠心分離機:H-201FR(コンサン製)、ペーパーディスク(直径10 mm、厚さ1.1~1.2 mm)を用いた。

#### 4-4) 判定方法

阻止円の直径が12 mm以上のものを陽性と判定した。なお、陽性対照において、阻止円が形成されない平板は、検査が成立していないものとし、3プレートの中で、2枚以上のプレートの阻止円の直径の平均値で判定した。

#### 5) 機器分析法

食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法(平成17年1月24日付け食安発第0124001号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知)HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法I(畜水産物)、HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法II(畜水産物)、HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法III(畜水産物)に準拠した。また、ニトロフラントインは、昭和34年12月厚生省告示第370号「食品、添加物等の規格基準」ニトロフラントイン、フラゾリドン及びフラルタドン試験法(個別試験法)に準拠した。

##### 5-1) 装置

液体クロマトグラフ:Prominence(島津製作所製)、質量分析計:API 4000 QTRAP(SCIEX製)、ホモジナイザー:T25 digital(IKA製)、振とう機:KM Shaker V-DX(IWAKI製)、遠心分離機:HM-5R(コクサン製)。

#### 5-2) LC-MS/MS 測定条件

##### 5-2-1) 一斉試験法 I

分析カラム:Inertsil ODS-4(3.0×150 mm、粒子径3 μm、ジーエルサイエンス製)、移動相:0.1 vol%ギ酸(A液)及びアセトニトリル溶液(B液)、グラジエント(t:時間(分)) t<sub>0</sub>:B=1%、t<sub>1</sub>:B=1%、t<sub>35</sub>

:B=100%、t<sub>40</sub>:B=100%、t<sub>40.1</sub>:B=1%、t<sub>48</sub>:B=1%、流速:0.2 mL/min、カラム温度:40°C、注入量:2 μL。

##### 5-2-2) 一斉試験法 II

分析カラム:Inertsil ODS-4(3.0×150 mm、粒子径3 μm、ジーエルサイエンス製)、移動相:0.1 vol%ギ酸(A液)及びアセトニトリル溶液(B液)、グラジエント(t:時間(分)) t<sub>0</sub>:B=1%、t<sub>1</sub>:B=1%、t<sub>35</sub>:B=100%、t<sub>40</sub>:B=100%、t<sub>40.1</sub>:B=1%、t<sub>48</sub>:B=1%、流速:0.2 mL/min、カラム温度:40°C、注入量:2 μL。

##### 5-2-3) 一斉試験法 III

分析カラム:Inertsil ODS-4(3.0×150 mm、粒子径3 μm、ジーエルサイエンス製)、移動相:0.1 vol%酢酸(A液)及びアセトニトリル溶液(B液)、グラジエント(t:時間(分)) t<sub>0</sub>:B=5%、t<sub>1</sub>:B=5%、t<sub>15</sub>:B=80%、t<sub>20</sub>:B=80%、t<sub>20.1</sub>:B=5%、t<sub>30</sub>:B=5%、流速:0.2 mL/min、カラム温度:40°C、注入量:2 μL。

##### 5-2-4) 個別試験法

分析カラム:Inertsil ODS-4(2.1×150 mm、粒子径3 μm、ジーエルサイエンス製)、移動相:0.1 vol%酢酸(A液)及びアセトニトリル溶液(B液)、グラジエント(t:時間(分)) t<sub>0</sub>:B=80%、t<sub>1</sub>:B=80%、t<sub>15</sub>:B=20%、t<sub>15.1</sub>:B=80%、t<sub>20.1</sub>:B=80%、流速:0.2 mL/min、カラム温度:40°C、注入量:2 μL。

##### 5-2-5) MRM 条件

イオン化法は、ESI法とし、ポジティブモードで測定した。各分析対象化合物のMRM測定において設定した各種パラメータは表2に示した。

## C. 研究結果及び考察

### 1. 簡易検査法による検査結果

牛の筋肉及び肝臓を試料として、簡易検査法により検査した結果を表3、4に纏めた。本法では、3

種の試験菌 (*Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*) を用いて、1 枚の平板に陽性対照 (抗生物質の標準溶液)、陰性対照 (クエン酸・アセトン緩衝液)、添加試料から得られた抽出液を浸漬したペーパーディスク、計 3 枚を培地に静置して培養を行った。各平板の培養後の写真を表 6 に示した。平板上では、上段に陰性対照、下段左に陽性対照、下段右に添加試料に浸潤したペーパーディスクを静置した。牛の筋肉、肝臓ともに、30 化合物中 25 化合物が陰性と判定された。一方で、正しく陽性と判定された検体は 5 化合物 (エリスロマイシン、オキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリン、テトラサイクリン、フルメキン) であり、牛の筋肉と肝臓で同様の結果が得られた。このため、テトラサイクリン系抗生物質は、本法においても高感度に検出することが可能であると考えられた。また、検査したすべての平板において、陰性対照からは、阻止円は認められなかった。一方で、陽性対照とした標準溶液を用いた試験区では、多くの化合物で阻止円は形成されなかった。このことは、これまでに文献等で報告されている通り、簡易検査法における抗生物質の検出限界濃度が高く、基準値の判定には適用が困難であるとする結果と一致した。また、抗生物質の系統別では、特にサルファ剤、セファロスポリン系抗生物質、合成抗菌剤のすべてで、陽性対照からも阻止円は認められず、全て陰性と判定された。以上の結果から、本検討の限りにおいては、現行の公定法である簡易検査法では、テトラサイクリン系抗生物質を除き、偽陰性と判定される可能性が高いものと考えられた。

## 2. 機器分析法の検討結果

一斉試験法 I (畜水産物)、一斉試験法 II (畜水産物)、一斉試験法 III (畜水産物) 及び個別試験法としてニトロフラントイン、フラゾリドン及びフララタド

ン試験法に準拠して試験した。添加回収試験の結果を表 5 に示す。牛の筋肉の場合には、エリスロマイシン、メシリナム、セファピリンの 3 化合物で、回収率 70% を下回り、クロルテトラサイクリンでは、回収率 120% を上回った。一方で、牛の肝臓の場合には、エリスロマイシン、タイロシン、ベンジルペニシリン、クロサキシリン、メシリナム、ナフシリン、オキサシリン、セファピリンの 6 化合物が回収率 70% を下回った。本検討では、機器分析法として、多検体の同時分析が可能な一斉試験法を適用して検討を実施したが、これらの十分な回収率が得られなかった化合物は、個別試験法を適用することで良好な回収率が得られるものと考えられる。

## 3. 機器分析法による簡易検査法の評価

牛の筋肉を試料とした場合には、簡易検査法では 5 化合物、機器分析法では 26 化合物が正しく判定された。また、牛の肝臓の場合には、簡易検査法では 5 化合物、機器分析法では 22 化合物が正しく判定された。上記に通り、簡易検査法による検査結果と、LC-MS/MS を用いる機器分析法による検査結果を比較すると、簡易検査法では、多くの抗生物質で偽陰性と判定される可能性が極めて高いことが示された。

## D. 結論

本研究において検討した 30 種の抗生物質を検査対象とした限りでは、簡易検査法においては、偽陰性と判定される可能性が極めて高いことが示された。しかし、テトラサイクリン系抗生物質については、基準値濃度を正しく判定することが出来た。本法は、簡便で多数の抗生物質を検査することが可能な方法であるため、本法をスクリーニング検査法として用いる場合には、抗生物質の検出感度等の確認を十分に行った上で、運用すべきであると

考えられた。今後は、簡易検査法の高感度化に向けた改良を行うとともに、機器分析法の導入も併せて検討する必要があると考えられた。

## **E. 研究発表**

### **1. 論文発表**

なし

### **2. 学会発表**

なし

## **F. 知的財産権の出願・登録状況**

なし

表 1 分析対象化合物及び添加濃度

抗生物質の系統	分析対象化合物	牛の筋肉への添加濃度		牛の肝臓への添加濃度	
		機器分析法	バイオアッセイ法	機器分析法	バイオアッセイ法
マクロライド系抗生物質	エリスロマイシン	0.2	0.25	0.2	0.25
	オレアンドマイシン	0.05	0.055	0.05	0.55
	タイロシン	0.1	0.15	0.1	0.15
	チルミコシン	0.1	0.15	1	1.5
テトラサイクリン系抗生物質	オキシテトラサイクリン	0.2	0.25	0.6	0.65
	クロルテトラサイクリン	0.2	0.25	0.6	0.65
	テトラサイクリン	0.2	0.25	0.6	0.65
ペニシリン系抗生物質	ベンジルペニシリン	0.05	0.055	0.05	0.055
	クロキサシリン	0.04	0.045	0.04	0.045
	メシリナム	0.05	0.055	0.05	0.055
	ナフシリン	0.005	0.0055	0.005	0.0055
	オキサシリン	0.3	0.35	0.3	0.35
セファロスポリン系抗生物質	セファピリン	0.03	0.035	0.03	0.035
キノロン系抗生物質	フルメキン	0.5	0.55	0.5	0.55
	エンロフロキサシン	0.05	0.055	0.1	0.15
	ダノフロキサシン	0.2	0.25	0.4	0.45
	オキシソリン酸	0.1	0.15	0.1	0.15
サルファ剤	スルファジメトキシシ	0.05	0.055	0.05	0.055
	スルファジアジン	0.1	0.15	0.1	0.15
	スルファキノサリン	0.1	0.15	0.1	0.15
	スルファジミジン	0.1	0.15	0.1	0.15
	スルファメラジン	0.1	0.15	0.1	0.15
	スルファドキシシ	0.1	0.15	0.1	0.15
	スルファモノメトキシシ	0.01	0.055	0.05	0.055
合成抗菌剤	オルメトブリム	0.02	0.025	0.02	0.025
	トリムトブリム	0.05	0.055	0.05	0.055
	チアンフェニコール	0.02	0.025	0.02	0.025
	クロビドール	0.2	0.25	2	2.5
	クロラムフェニコール	0.0005	0.00055	0.0005	0.00055
	ニトロフラントイン	0.001	0.0015	0.001	0.0015



スキーム1 畜水産食品中の残留抗生物質簡易検査法(改訂)のフローチャート

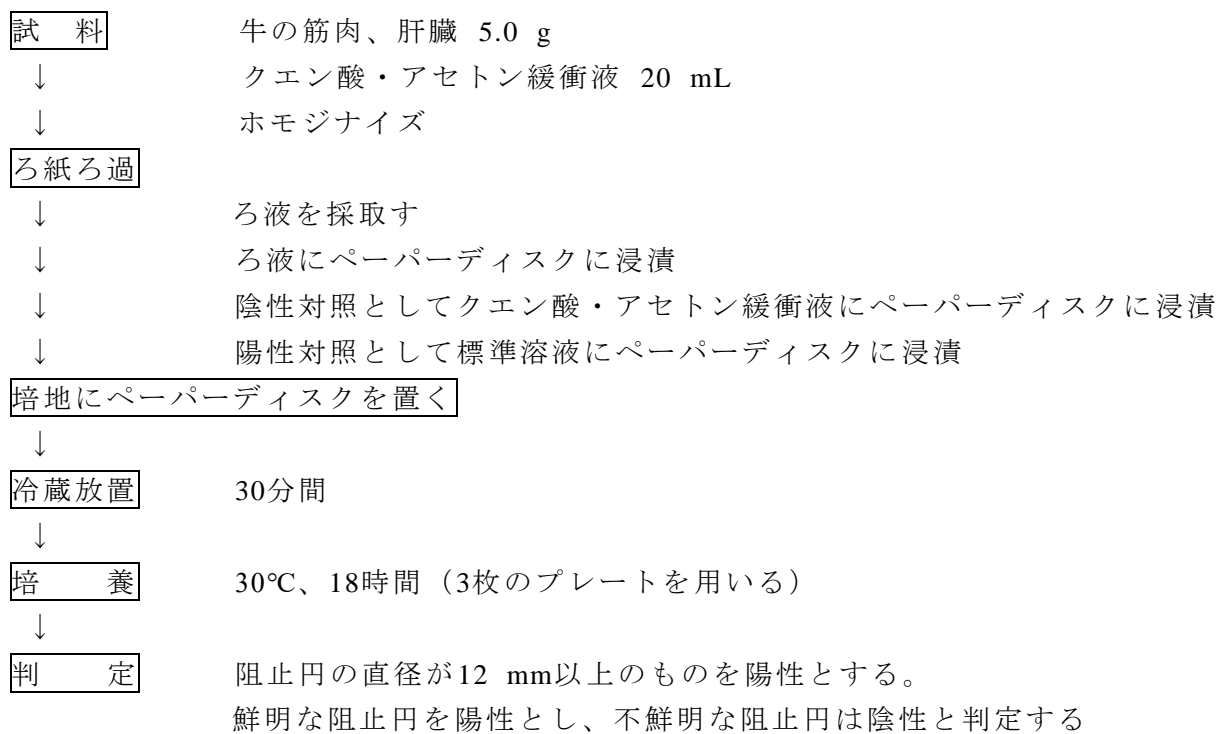


表2 分析対象化合物のMRM条件

分析対象化合物	デクラスタリング電位 (DP)	定量イオン			確認イオン		
		MRMトランジション	コリジョンエネルギー (CE)	コリジョンセルイグジット電位 (CXP)	MRMトランジション	コリジョンエネルギー (CE)	コリジョンセルイグジット電位 (CXP)
エリスロマイシン	86	$m/z$ 734.4 → 158.2	43	18	$m/z$ 734.4 → 576.2	29	12
オレアンドマイシン	96	$m/z$ 688.4 → 544.2	25	14	$m/z$ 688.4 → 158.2	41	12
タイロシン	106	$m/z$ 917.4 → 174.2	57	10	$m/z$ 917.4 → 773.4	43	14
チルミコシン	116	$m/z$ 870.5 → 174.1	57	18	$m/z$ 870.5 → 697.4	63	16
オキシテトラサイクリン	71	$m/z$ 461.2 → 426.1	27	4	$m/z$ 461.2 → 443.0	19	4
クロルテトラサイクリン	76	$m/z$ 479.2 → 440.0	31	4	$m/z$ 479.2 → 462.1	25	4
テトラサイクリン	76	$m/z$ 445.2 → 410.1	29	4	$m/z$ 445.2 → 154.1	39	4
ベンジルペニシリン	61	$m/z$ 335.0 → 160.0	15	4	$m/z$ 335.0 → 176.0	17	4
クロキサシリン	96	$m/z$ 436.0 → 277.0	19	21	$m/z$ 436.0 → 160.1	21	16
メシリナム	110	$m/z$ 326.1 → 167.3	31	12	$m/z$ 326.1 → 139.2	45	14
ナフシリン	110	$m/z$ 415 → 199.0	19	4	$m/z$ 415.0 → 177.0	33	16
オキサシリン	71	$m/z$ 402.1 → 160.1	21	14	$m/z$ 402.1 → 243.2	19	16
セファピリン	61	$m/z$ 424.0 → 292.1	23	24	$m/z$ 424.0 → 152.1	35	12
フルメキン	56	$m/z$ 262.0 → 244.0	27	20	$m/z$ 262.0 → 202.0	47	16
エンロフロキサシン	91	$m/z$ 360.3 → 316.2	27	8	$m/z$ 360.3 → 245.1	39	14
スルファジアジン	56	$m/z$ 251.1 → 156.2	21	4	$m/z$ 251.1 → 92.2	35	4
スルファキノサリン	51	$m/z$ 301.0 → 156.2	23	4	$m/z$ 301.0 → 92.3	39	4
スルファジミジン	46	$m/z$ 279.0 → 186.0	25	4	$m/z$ 279.0 → 92.0	45	4
スルファメラジン	46	$m/z$ 265.1 → 92.2	41	4	$m/z$ 265.1 → 108.0	33	4
スルファドキシシン	61	$m/z$ 311.1 → 156.1	23	4	$m/z$ 311.1 → 92.1	43	4
オルメトプリム	81	$m/z$ 275.2 → 123.1	33	4	$m/z$ 275.2 → 81.1	53	4
ニトロフラントイン	70	$m/z$ 249.1 → 134.0	19	8	$m/z$ 249.1 → 178.0	25	14

表3 簡易検査法による牛の筋肉の検査結果

	添加試料	陽性対照	添加試料	陽性対照	添加試料	陽性対照	判定
試験菌	<i>Micrococcus luteus</i>		<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Bacillus mycoides</i>		
品目	阻止円の直径 (mm)						
エリスロマイシン	24	17	13.5	12	15	11	陽性
オレアンドマイシン	0	0	0	0	0	0	陰性
タイロシン	13	0	0	0	0	0	陰性
チルミコシン	13	0	0	0	0	0	陰性
オキシテトラサイクリン	14	11	17	13	23	16	陽性
クロルテトラサイクリン	18	12	20	17	28	22	陽性
テトラサイクリン	13	11	18	12	23	16	陽性
ベンジルペニシリン	30	20	0	0	0	0	陰性
クロキサシリン	0	0	0	0	0	0	陰性
メシリナム	0	0	0	0	0	0	陰性
ナフシリン	11	0	0	0	0	0	陰性
オキサシリン	27	21	11	0	14	0	陰性
セファピリン	0	0	11	0	11	0	陰性
フルメキン	0	0	20	18	25	16	陽性
エンロフロキサシン	0	0	12	0	0	0	陰性
ダノフロキサシン	0	0	16	0	0	0	陰性
オキシリン酸	0	0	11	0	0	0	陰性
スルファジメトキシ	0	0	0	0	0	0	陰性
スルファジアジン	0	0	0	0	0	0	陰性
スルファキノサリン	0	0	0	0	0	0	陰性
スルファジミジン	0	0	0	0	0	0	陰性
スルファメラジン	0	0	0	0	0	0	陰性
スルファドキシ	0	0	0	0	0	0	陰性
スルファモノメトキシ	0	0	0	0	0	0	陰性
オルメトプリム	0	0	0	0	0	0	陰性
トリムトプリム	0	0	0	0	0	0	陰性
チアンフェニコール	0	0	0	0	0	0	陰性
クロピドール	0	0	0	0	0	0	陰性
クロラムフェニコール	0	0	0	0	0	0	陰性
ニトロフラントイン	0	0	0	0	0	0	陰性

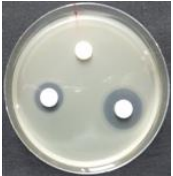
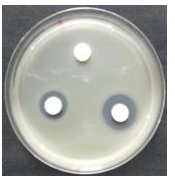
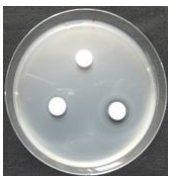
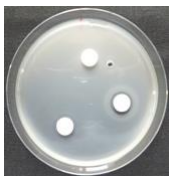
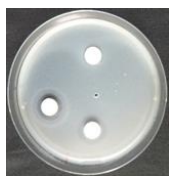
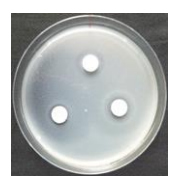
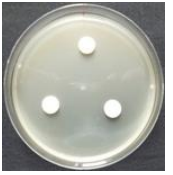
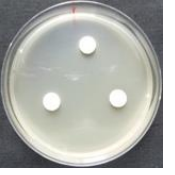
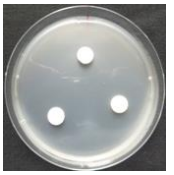
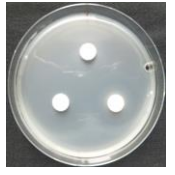
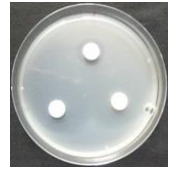
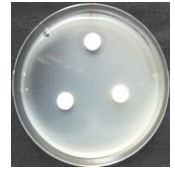
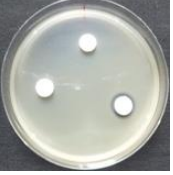
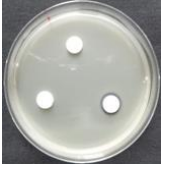
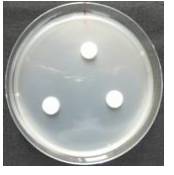
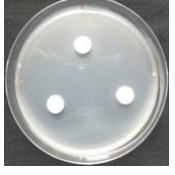
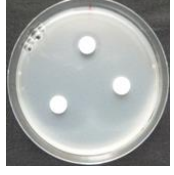
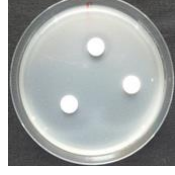
表4 簡易検査法による牛の肝臓の検査結果

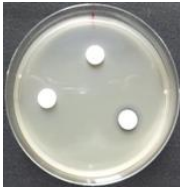
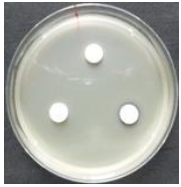
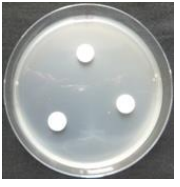
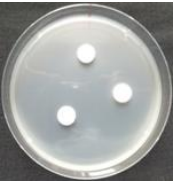
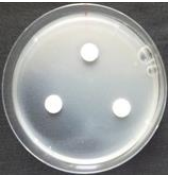
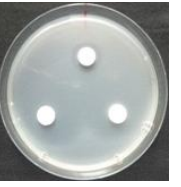
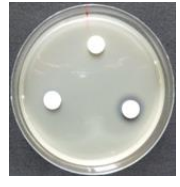
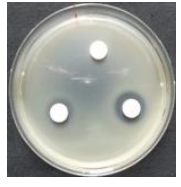
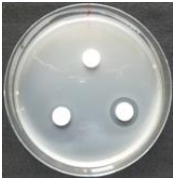
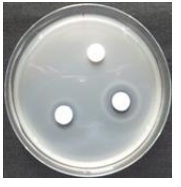

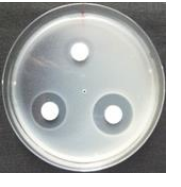
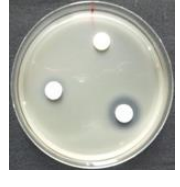
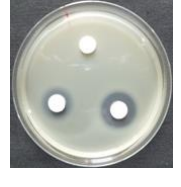
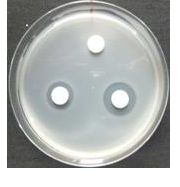
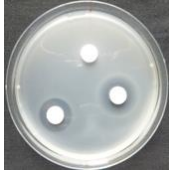
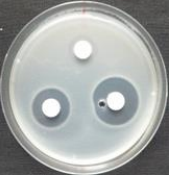
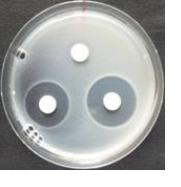
	添加試料	陽性対照	添加試料	陽性対照	添加試料	陽性対照	判定
試験菌	<i>Micrococcus luteus</i>		<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Bacillus mycoides</i>		
品目	阻止円の直径 (mm)						
エリスロマイシン	21	17	14	11	12	12	陽性
オレアンドマイシン	0	0	0	0	0	0	陰性
タイロシン	13	0	0	0	0	0	陰性
チルミコシン	12	0	0	0	0	0	陰性
オキシテトラサイクリン	18	13	13	13	24	21	陽性
クロルテトラサイクリン	21	17	17	20	30	27	陽性
テトラサイクリン	19	11	14	16	27	20	陽性
ベンジルペニシリン	29	20	0	0	0	0	陰性
クロキサシリン	0	0	0	0	0	0	陰性
メシリナム	0	0	0	0	0	0	陰性
ナフシリン	0	0	0	0	0	0	陰性
オキサシリン	29	22	13	0	13	0	陰性
セファピリン	11	0	0	13	0	0	陰性
フルメキン	0	0	19.5	16.5	25	16	陽性
エンロフロキサシン	0	0	16	11	0	0	陰性
ダノフロキサシン	0	0	19.5	0	0	0	陰性
オキシリン酸	0	0	11	0	0	0	陰性
スルファジメトキシシン	0	0	0	0	0	0	陰性
スルファジアジン	0	0	0	0	0	0	陰性
スルファキノサリン	0	0	0	0	0	0	陰性
スルファジミジン	0	0	0	0	0	0	陰性
スルファメラジン	0	0	0	0	0	0	陰性
スルファドキシシン	0	0	0	0	0	0	陰性
スルファモノメトキシシン	0	0	0	0	0	0	陰性
オルメトブリム	0	0	0	0	0	0	陰性
トリムトブリム	0	0	0	0	0	0	陰性
チアンフェニコール	0	0	0	0	0	0	陰性
クロピドール	0	0	0	0	0	0	陰性
クロラムフェニコール	0	0	0	0	0	0	陰性
ニトロフラントイン	0	0	0	0	0	0	陰性

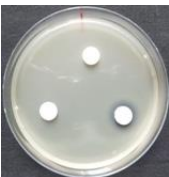
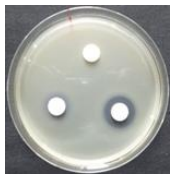
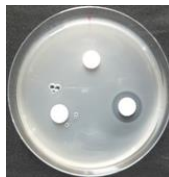
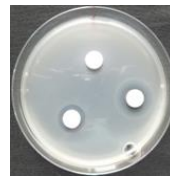
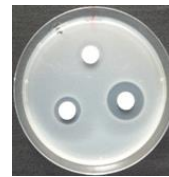
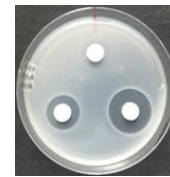
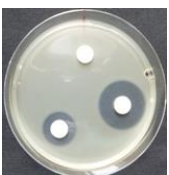
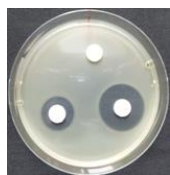
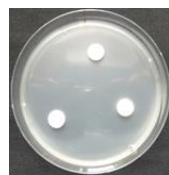
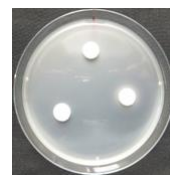
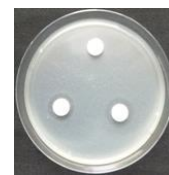
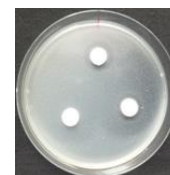
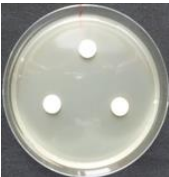
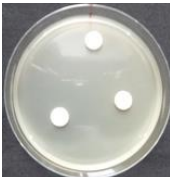
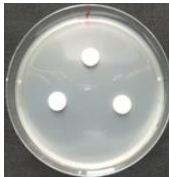
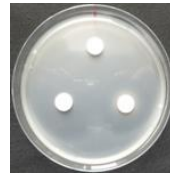
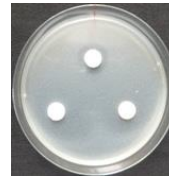
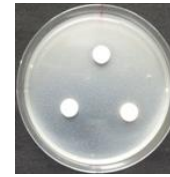
表 5 機器分析法による検査結果

分析対象化合物	試験法	添加濃度 (mg/kg)	牛の筋肉			牛の肝臓		
			回収率 (%)			回収率 (%)		
			n = 1	n = 2	平均値	n = 1	n = 2	平均値
エリスロマイシン	一斉I法	0.2	66	58	<u>62</u>	36	31	<u>34</u>
オレアンドマイシン	一斉I法	0.05	120	106	113	96	82	89
タイロシン	一斉I法	0.1	94	80	87	27	23	<u>25</u>
チルミコシン	一斉I法	0.1	115	98	106	88	88	88
オキシテトラサイクリン	一斉III法	0.2	83	79	81	85	87	86
クロルテトラサイクリン	一斉III法	0.2	125	123	<u>124</u>	87	86	86
テトラサイクリン	一斉III法	0.2	114	107	111	77	79	78
ベンジルペニシリン	一斉II法	0.05	98	98	98	80	52	<u>66</u>
クロキサシリン	一斉II法	0.04	83	68	76	78	52	<u>65</u>
メシリナム	一斉I法	0.05	55	49	<u>52</u>	21	18	<u>19</u>
ナフシリン	一斉I法	0.005	89	91	90	52	73	<u>63</u>
オキサシリン	一斉II法	0.3	95	85	90	82	57	<u>69</u>
セファピリン	一斉II法	0.03	56	64	<u>60</u>	17	16	<u>16</u>
フルメキン	一斉I法	0.5	103	98	101	89	84	87
エンロフロキサシン	一斉I法	0.05	97	91	94	78	81	80
スルファジアジン	一斉I法	0.1	96	91	93	90	84	87
スルファキノサリン	一斉I法	0.1	98	89	93	82	76	79
スルファジミジン	一斉I法	0.1	98	90	94	83	81	82
スルファメラジン	一斉I法	0.1	105	96	100	90	80	85
スルファドキシシン	一斉I法	0.1	104	98	101	88	85	86
オルメトプリム	一斉I法	0.02	98	92	95	82	72	77
ニトロフラントイン	個別試験法	0.001	76	-	76	90	-	90

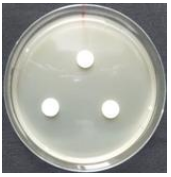
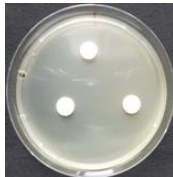
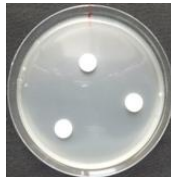
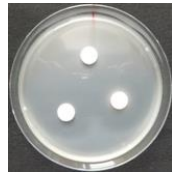
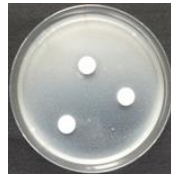
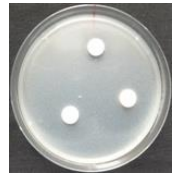
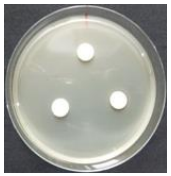
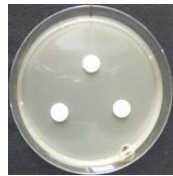
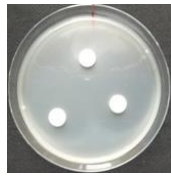
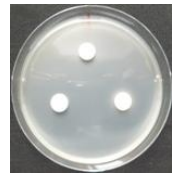
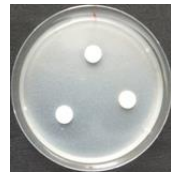
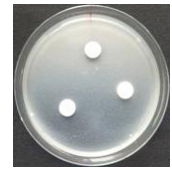
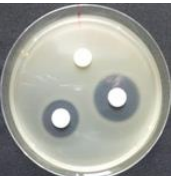
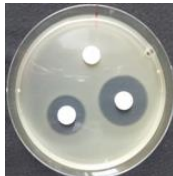
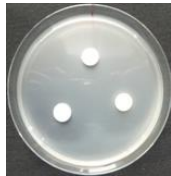
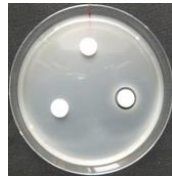
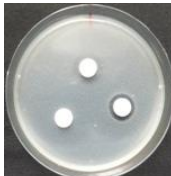
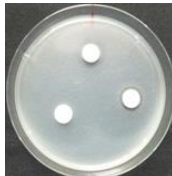
表 6 簡易検査法による牛の筋肉及び肝臓の検査結果(平板の写真)

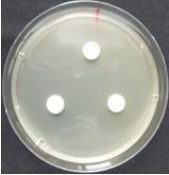
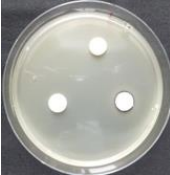
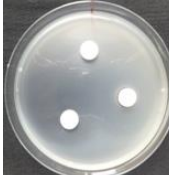
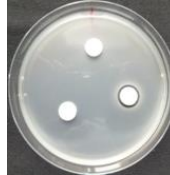
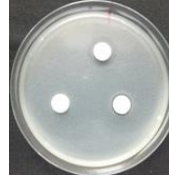
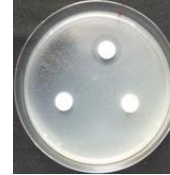
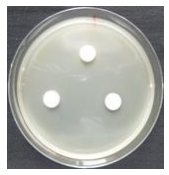
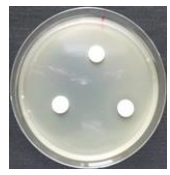
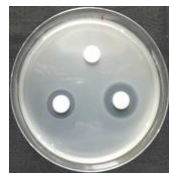
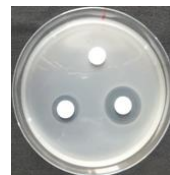
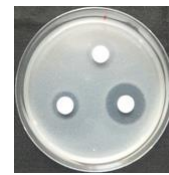
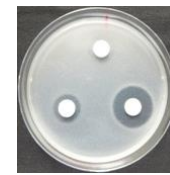
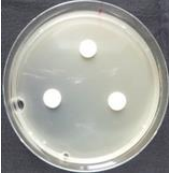
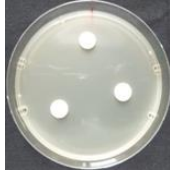
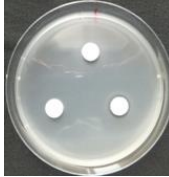
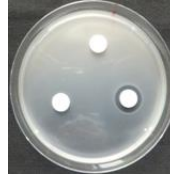
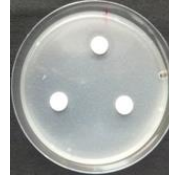
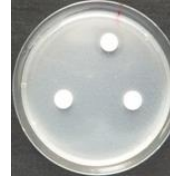
	物質名		<i>Micrococcus luteus</i>		<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Bacillus mycoides</i>	
			牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓
マクロライド系抗生物質	エリスロマイシン	標準	17 mm	17 mm	12 mm	11 mm	11 mm	12 mm
		添加	24 mm	21 mm	13.5 mm	14 mm	15 mm	12 mm
		写真						
	オレアンドマイシン	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真						
	タイロシン	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	13 mm	13 mm	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真						

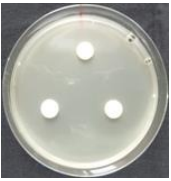
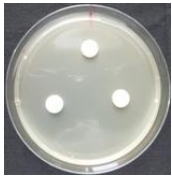
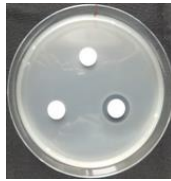
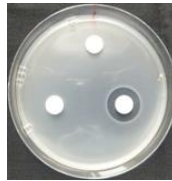
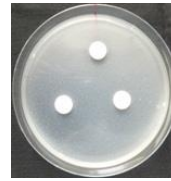
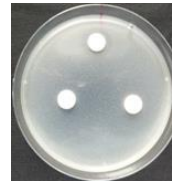
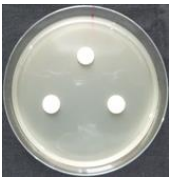
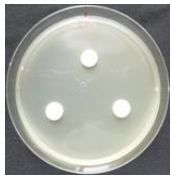
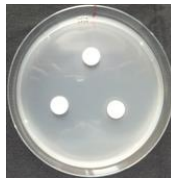
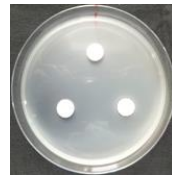
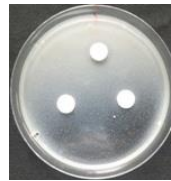
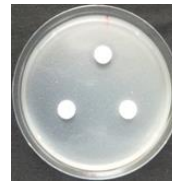

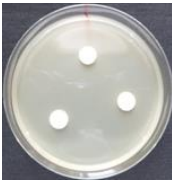
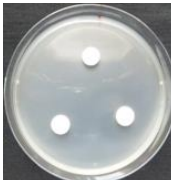
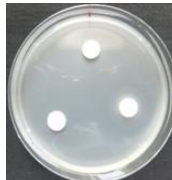
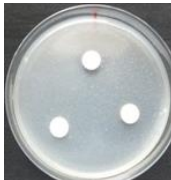
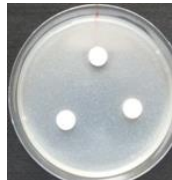
	物質名		<i>Micrococcus luteus</i>		<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Bacillus mycoides</i>	
			牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓
マクロライド系抗生物質	チルミコン	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	13 mm	12 mm	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真						
テトラサイクリン系抗生物質	キシテトラサイクリン	標準	11 mm	13 mm	13 mm	13 mm	16 mm	21 mm
		添加	14 mm	18 mm	17 mm	13 mm	23 mm	24 mm
		写真						
	コルテトラサイクリン	標準	12 mm	17 mm	17 mm	20 mm	22 mm	27 mm
		添加	18 mm	21 mm	20 mm	17 mm	28 mm	30 mm
		写真						

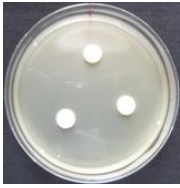
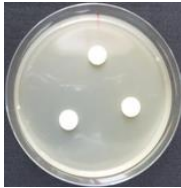
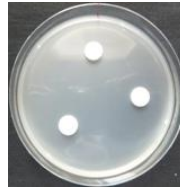
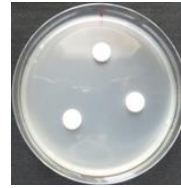
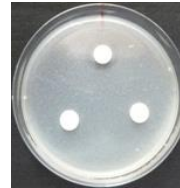
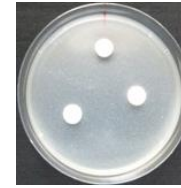
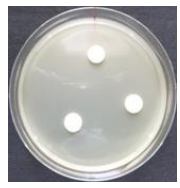
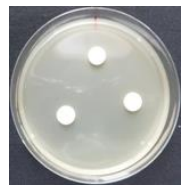
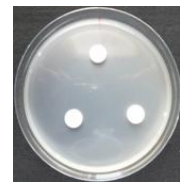
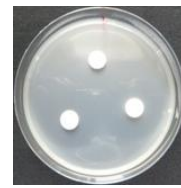
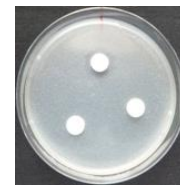
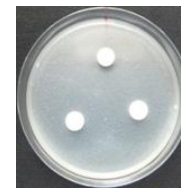
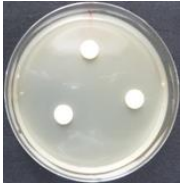
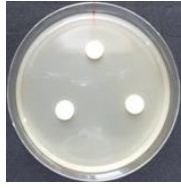
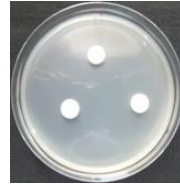
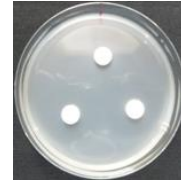
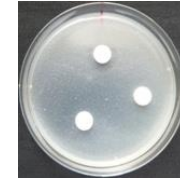
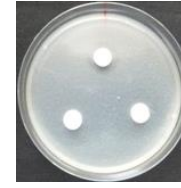
	物質名		<i>Micrococcus luteus</i>		<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Bacillus mycoides</i>	
			牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓
テトラサイクリン系抗生物質	テトラサイクリン	標準	11 mm	11 mm	12 mm	16 mm	16 mm	20 mm
		添加	13 mm	19 mm	18 mm	14 mm	23 mm	27 mm
		写真						
ペニシリン系	ベンゾルペンシリン	標準	20 mm	20 mm	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	30 mm	28.5 mm	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真						
	クロキサリン	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真						

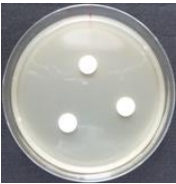
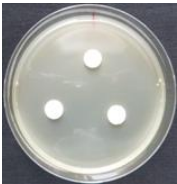

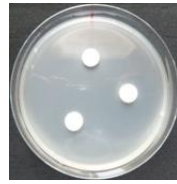
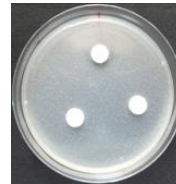
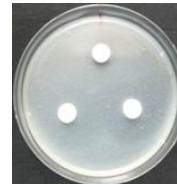
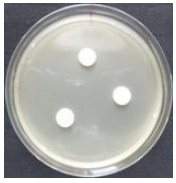
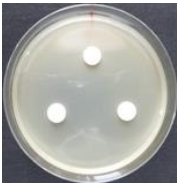
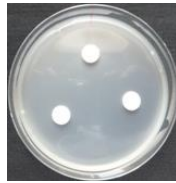
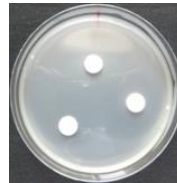
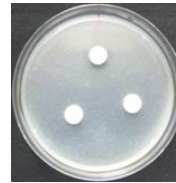
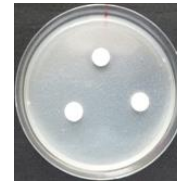
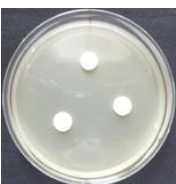
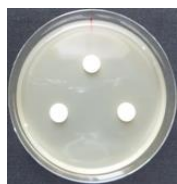
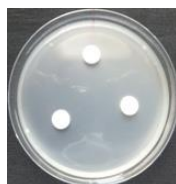
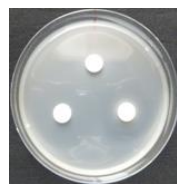

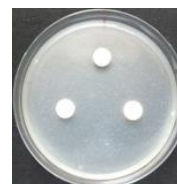


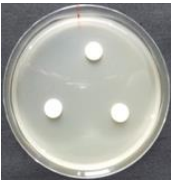
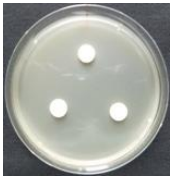
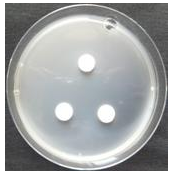
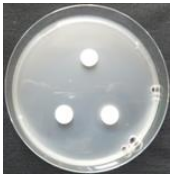
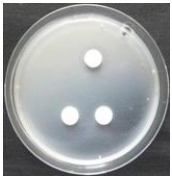

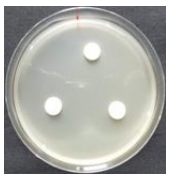
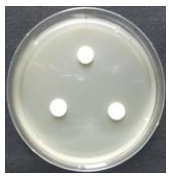
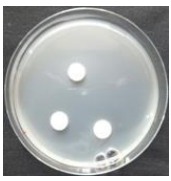

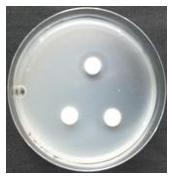
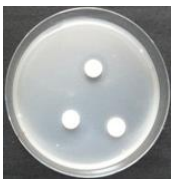
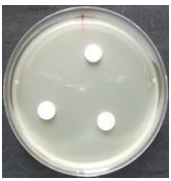
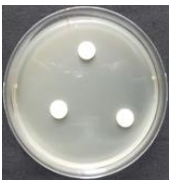
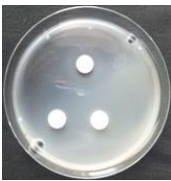
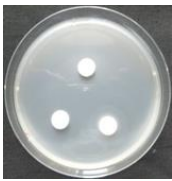
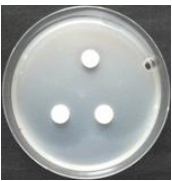
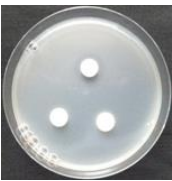
	物質名		<i>Micrococcus luteus</i>		<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Bacillus mycoides</i>	
			牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓
ペニシリン系	メシナム	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真						
	ナフシリン	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	11 mm	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真						
	オキサリシリン	標準	21 mm	22 mm	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	27 mm	29 mm	11 mm	13 mm	14 mm	13 mm
		写真						

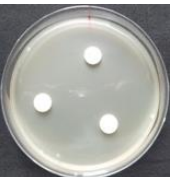
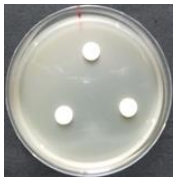
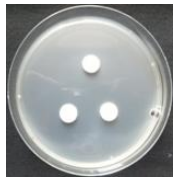
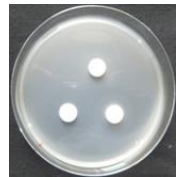
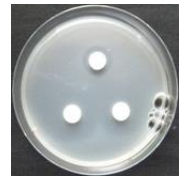
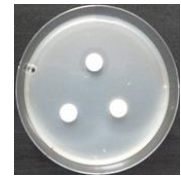
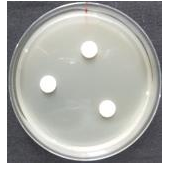
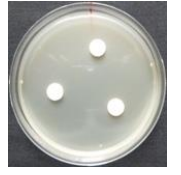
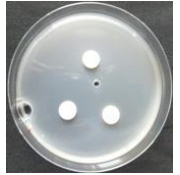
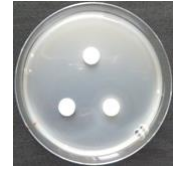

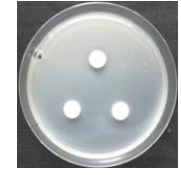
	物質名		<i>Micrococcus luteus</i>		<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Bacillus mycoides</i>	
			牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓
セファロスポリン系抗生物質	セファピリン	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	陰性	11mm	11mm	13mm	11mm	陰性
		写真						
キノロン剤	フルメキン	標準	陰性	陰性	18 mm	16.5 mm	16 mm	16 mm
		添加	陰性	陰性	20 mm	19.5 mm	25 mm	25 mm
		写真						
	エンロフロキサシン	標準	陰性	陰性	陰性	11 mm	陰性	陰性
		添加	陰性	陰性	12 mm	16 mm	陰性	陰性
		写真						

	物質名		<i>Micrococcus luteus</i>		<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Bacillus mycoides</i>	
			牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓
キノロン剤	ダノフロキサシ	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	陰性	陰性	16 mm	19.5 mm	陰性	陰性
		写真						
	オキソリン酸	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	陰性	陰性	11 mm	11 mm	陰性	陰性
		写真						
サルファ剤	スルファンメトキシ	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真						

	物質名		<i>Micrococcus luteus</i>		<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Bacillus mycoides</i>	
			牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓
サルファ剤	スルファジニジン	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真						
	スルファキノサリン	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真						
	スルファジニジン	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真						

	物質名		<i>Micrococcus luteus</i>		<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Bacillus mycoides</i>	
			牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓
サルファ剤	スルファメジン	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真						
	スルファトキシシン	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真						
	スルファモノトキシシン	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真						

	物質名		<i>Micrococcus luteus</i>		<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Bacillus mycoides</i>	
			牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓
合成抗菌剤	オルメプロリム	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真						
	トリムプロリム	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真						
	チアンフェニコール	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真						

	物質名		<i>Micrococcus luteus</i>		<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Bacillus mycoides</i>	
			牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓	牛の筋肉	牛の肝臓
合成抗菌剤	クロピトニール	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真						
	クロラムフェニコール	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真						
	ニトロフラントイン	標準	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		添加	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
		写真	