

カップ法による抗生物質残留  
試験に及ぼすリゾチームの影響

Effect of Lysozyme on Detection of Antibiotics  
by Cylinder Cup Method

岡田 迪徳

Michinori Okada

鶏卵中の抗生物質残留試験において、リゾチームが比較的強い抗菌作用を有し<sup>1)</sup>、抗生物質試験菌の発育に影響を与えることがある<sup>2)</sup>といわれている。リゾチームの抗生物質試験菌に与える影響については、小田<sup>3)</sup>がディスク法で行った報告がある。しかし、著者が通常の検査業務として抗生物質残留試験を行う場合はカップ法によることが多いので、カップ法により抗生物質試験菌に及ぼすリゾチームの影響について試験した。

試験菌は、次の抗生物質試験菌<sup>4)</sup>10種を用いた。

1. *Bacillus cereus* var. *mycoides* ATCC 11778 (以下 ATCC 11778)
2. *Micrococcus flavus* ATCC 10240 (以下 ATCC 10240)
3. *Sarcina lutea* ATCC 9341 (以下 ATCC 9341)

4. *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (以下 ATCC 6633)
5. *Bacillus cereus* ATCC 19637 (以下 ATCC 19637)
6. *Corynebacterium xerosis* NCTC 9755 (以下 NCTC 9755)
7. *Bordetella Bronchiseptica* ATCC 4617 (以下 ATCC 4617)
8. *Bacillus brevis* ATCC 8185 (以下 ATCC 8185)
9. *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 (以下 ATCC 12228)
10. *Escherichia coli* NIHJ (以下 NIHJ)

リゾチーム溶液は、卵白リゾチーム (Boehringer Mannheim 社製) を抗生物質試験抽出用 B-5 緩衝液<sup>4)</sup> を用いて、0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025, 0.01, 0.005, 0.0025 % の10濃度に調製した。

Table 1 Effect of lysozyme concentrations on zones showing inhibition of the test organism

Strains	Lysozyme concentration (%)									
	0.0025	0.005	0.01	0.025	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
ATCC 11778	8.9	10.0	11.0	10.2	10.3	10.2	10.1	10.7	11.3	11.2
ATCC 10240	10.5	11.5	12.8	16.8	19.0	21.3	23.2	24.0	24.1	25.6
ATCC 9341	13.0	13.2	15.2	15.6	16.4	17.1	17.5	17.6	18.2	18.1
ATCC 6633	—	—	+	+	9.0	10.4	10.3	10.4	11.5	11.8
ATCC 19637	+	+	+	+	+	9.4	8.5	10.0	9.8	10.2
NCTC 9755	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 4617	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ATCC 8185	+	+	8.8	9.3	9.7	11.0	12.0	12.4	11.3	11.6
ATCC 12228	8.5	9.9	9.8	10.3	10.8	11.1	10.1	11.3	11.8	12.7
NIHJ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

1) n = 3

2) — : No zone

3) + : Inhibition under the cup but no zone

試験方法は、厚生省の定める畜産物中の残留物質検査法<sup>4)</sup>に準じたが、そのうち使用培地について ATCC 9341 は M-8<sup>4)</sup> (pH 8.5±0.05) 培地、ATCC 6633 は M-3<sup>4)</sup> 培地、NCTC 9755 は M-5<sup>4)</sup> 培地を使用した。培地用試薬は食塩、ブドウ糖、リン酸 2 カリウムは和光純薬製特級試薬を、その他はディフコ社製を使用した。

表 1 に各試験菌について各リゾチーム濃度における阻止円の大きさを示した。

ATCC 10240 は、リゾチーム 0.0025% で阻止円を形成し、リゾチーム濃度が増すにしたがって阻止円が大きくなり、リゾチーム 0.5% で 25.6 mm と最大の阻止円を形成し、発育阻害が最も大きかった。ATCC 9341 も ATCC 10240 と同様の傾向を示したが、リゾチーム濃度の影響は ATCC 10240 よりも少なく、リゾチーム 0.5% で 18.1 mm の阻止円を形成した。ATCC 11778、ATCC 12228 は、リゾチーム 0.0025% で阻止円を形成したが、リゾチーム濃度が増しても阻止円はほとんど大きくなり、リゾチームに発育は阻害されやすいが、濃度の影響が少なかった。ATCC 8185 は 0.01% で阻止円を形成し、リゾチーム 0.1% 以上では阻止円の大きさにほとんど変化がなかった。ATCC 6633 はリゾチーム 0.05% で、ATCC 19637 は 0.1% で阻止円を形成したが、リゾチーム濃度が増しても阻止円の大きさにほとんど差がなかった。一方、NCTC 9755、ATCC 4617、NIHJ の 3 菌は全く発育が阻害されず、菌の種類によってその発育に受ける影響に著しく差のあることが認められた。この成績を小田のディスク法による成績と比較すると、リゾチーム 0.1% で 10 mm 以上の阻止円を形成したものはディスク法では ATCC 10240、ATCC 6633、ATCC 8185 の 3 菌であるが、カップ法では、これら 3 菌に加えて ATCC 11778、ATCC 9341、ATCC 12228 の 6 菌となった。また、阻止円の大きさは、カップ法ではディスク法より ATCC 6633 で 1.6 mm 小さかったが、ATCC 10240 で 3.3 mm、ATCC 8185 で 0.5 mm 大きかった。

以上の結果から抗生物質試験菌には程度の差はあるがリゾチームにより発育を阻害されるものが多いこと、カップ法がディスク法よりもリゾチームの影響を受けやすいことが認められた。

## 文 献

- 1) 佐藤 泰編著：食卵の科学と利用，30，地球社，東京（1980）
- 2) 米沢昭一：モダンメディア，5，237（1971）
- 3) 小田隆弘：食衛誌，24，423（1983）
- 4) 厚生省環境衛生局：畜産物中の残留物質検査法，I，1（1977）