

東水試出版物通刊 No.299

調査研究要報 No.148

昭和55年度 魚病対策技術開発研究報告書

マス類の伝染性病原体の消毒法に
関する研究

昭和56年3月

東京都水産試験場

I はじめに

サケ・マス類の養殖においては、ウイルス性疾病による被害の増加を契機として器具・機材および魚卵等を消毒するために各種の消毒剤が使用されるようになったが、これらの薬剤のなかで水産用医薬品として扱われている消毒薬はポビドンヨード¹⁾剤ただ一種という現状が示すとおり、消毒薬を使用する場合に参考と成り得る資料や知見は少ない。したがって、魚病病原体に対する消毒薬の効力評価に関する資料を蓄積し水産養殖における使用基準を明らかにする必要が生じている。

消毒薬の効力評価法には実験室試験と実際使用時の試験 (in-use test) があり、人畜の保健・衛生の分野では公的な試験法が定められている。ここでとりあげる石炭酸係数 (Phenol coefficient) 試験も効力評価に関する公的試験法として古くから知られているもので、1952年の消毒薬検査指針 (厚生省²⁾)、AOAC (Association of Official Agricultural Chemists, U.S.A)³⁾ 法、FDA (Food and Drug Administration, U.S.A 1931)⁴⁾ 法などがある。

このような公的な試験法を応用して魚病病原体に対する消毒薬の効力を評価する目的で、昭和54年度は、魚病細菌の場合の実施法の検討を行い、結果を「昭和54年度魚病対策技術開発報告書」として取りまとめた。本年度は引きつづいて実施法の検討を行い、サケ、マス類の代表的な病原菌であり、また、サケ科魚類以外にも比較的宿主範囲の広い、*A. salmonicida* に関する石炭酸係数測定手順を明らかにするとともに、水産の分野において器具・機材の消毒に用いられている界面活性剤 (逆性石けん、両性石ケン) 系の消毒薬の *A. salmonicida* に対する効力の評価を行った。

(注) 1) 水産用イソジン液

2) 厚生省 (1952) : 消毒薬検査指針、衛生検査指針、共同医書出版、東京。

3) Bass, G.K. and L.S. Stuart : Methods of testing disinfectants, in disinfection, sterilization, and preservation. ed. C.A. Lawrence and S.S. Block, Lea & Febiger, Philadelphia, Chapter, 9.

4) Kelsey, J.C. (1969) : Disinfectants and methods of testing, J. Med. Lab. Technol, 26, 79~89.

II 魚病細菌の石炭酸係数について

1. 石炭酸係数測定用標準株の検討

せつそう病菌石炭酸係数測定の場合の*A. salmonicida*標準株について選定を行った。

a 材料および方法

1) 供試菌株

ATCC14174株とNCMB2020株の他に表1に示す野性株98株を供試した。

表1 供試菌株

分離場所	分離年度	菌株数	菌株記号	分離機関名
東京	1980	49	TO-8001~TO-8031 TO-8056~TO-8077	東京都水試 奥多摩分場
	1979	5	TO-7901 TO-7904~TO-7907	
	1978	20	TO-7801~TO-7809 TO-7811~TO-7819 TO-7821, TO-7824, TO-7825	
岐阜	1980	15	G-8001~G-8010 YZ-8001, YZ-8002 WB-8001~WB-8003	岐阜県水産試験場
山梨	1980	5	TO-8032~TO-8037	奥多摩分場
熊本	1978	2	AYS-2 AYS-7813	熊本水試阿蘇分場
長野	1979	1	N-7911	長野県水産指導所
新潟	1979	1	AS-1	新潟水試小出支場

なお、NCMB2020株、ATCC14174株についてはそれぞれ北海道大学木村高久教授および第一製薬株式会社研究所 井上進一氏の御厚意により分与いただいたものである。

2) 供試薬剤

石炭酸係数による消毒薬の効力評価法は石炭酸の効力を標準としその何倍の効力を有するかを表わす方法である。

すなわち、試薬石炭酸を供試し*A. salmonicida*の石炭酸感受性を殺菌濃度で求め、石炭酸係数測定用標準株を選定した。実験に際しては試薬石炭酸5.0gを蒸留水に溶解して20倍溶液としたのち、これより所定濃度の希釈液を調製した。石炭酸の濃度は130, 140, 150, 160, 170, 180倍の6濃とした。

3) 実験手順

所定濃度の石炭酸溶液を10mlずつ調製し、この溶液にハートインフュージョンブイヨン

(ニッスイ)で20℃24時間培養した供試菌液を1ml加え、20℃の恒温水槽に置き、菌液混和後2.5・5・10・15分後に石炭酸と菌の混合液一白金耳を後培養試験管に接種した。後培養試験管は20℃で48・72時間培養後の菌の発育状況を観察し殺菌濃度を求めた。なお、後培養試験管にはハートインフュージョンブイオンを10mlずつ分注し使用した。

b 結果と考察

ATCC1474株、NCMB2020株および当场においてヤマメより分離したTO-7804株に対する石炭酸の殺菌効果を表2に示した。

表2 *A. salmonicida*に対する石炭酸の殺菌効果

菌 株	希釈倍数 作用時間(分)	1 3 0	1 4 0	1 5 0	1 6 0	1 7 0	1 8 0
* TO-7804	2.5	+	+	+	+	+	+
	5.0	-	+	+	+	+	+
	10.0	-	-	-	-	-	+
	15.0	-	-	-	-	-	-
* ATCC-14174	2.5	-	-	+	+	+	+
	5.0	-	-	-	+	+	+
	10.0	-	-	-	-	+	+
	15.0	-	-	-	-	-	+
** NCMB-2020	2.5	+	+	+	+	+	+
	5.0	-	+	+	+	+	+
	10.0	-	-	+	+	+	+
	15.0	-	-	-	-	-	+

+……発育、 -……発育せず

*……*A. salmonicida* sub sp *salmonicida*

**……*A. salmonicida* sub sp *masoucida*

この結果から*A. salmonicida* 3株に対する石炭酸の殺菌濃度を求めるとTO-7804株は170倍、ATCC14174株は160倍、NCMB2020株は140倍である。同様にして残り9株について殺菌濃度を求め、その分布を図1に示した。

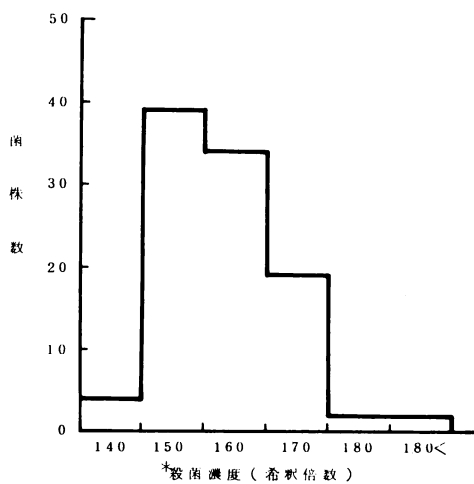


図1 *A. salmonicida*に対する石炭酸の殺菌濃度の分布
 (* 5分では死滅せず10分処理で死滅する最大希釈倍数)

菌株の保存期間別の殺菌濃度について東京株の結果を図2に示した。

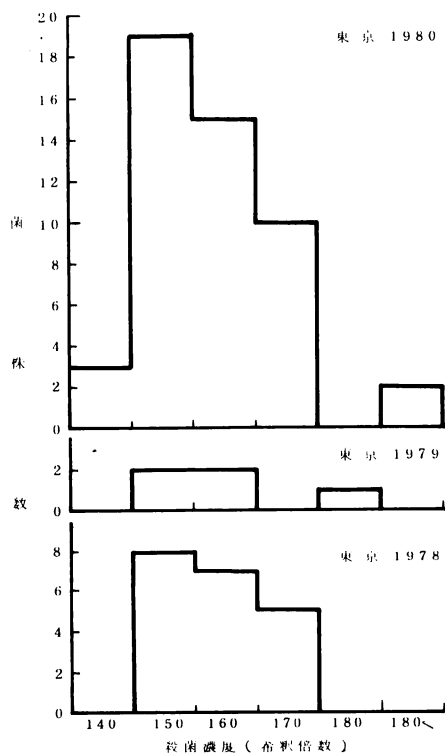


図2 菌株の保存期間別の石炭酸の殺菌濃度

また、分離場所別の殺菌濃度を図3に示した。

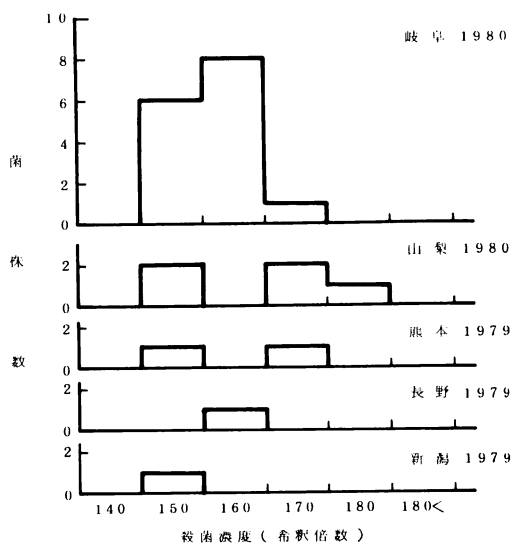


図3 菌株の分離場所別の石炭酸の殺菌濃度

図1, 2, 3から明らかなように供試菌株の88%が150倍から170倍の値を示し、また保存期間・分離場所による差は認められず、*A. salmonicida*の場合は石炭酸に対する感受性に関する菌株間の相異は少ないと考えられる。

以上のように石炭酸の殺菌濃度に関してATCC14174株の値は他の野性株との間に大きな差が無いことから石炭酸係数測定用標準株としてATCC14174株を選定しても問題は無いと考えられ、また各種消毒薬のせつそう病石炭酸係数測定を行う場合の対照に使う石炭酸の濃度は150, 160, 170倍の3濃度を設定する必要がある。

2. せつそう病石炭酸係数測定手順

消毒薬検査指針やAOAC法、FDA法などの石炭酸係数法と昭和54, 55年度の当場における検討結果に基づき、せつそう病菌石炭酸係数測定の手順について記すと、つぎのとおりである。

a 準備

1) 培地

消毒薬検査指針AOACは、検査用培地として所定の普通ブイオンを指定しているが、

使用する培地については供試する菌種により栄養要求等が異なる場合があるため、その都度検討する必要がある。当场における実験では魚病細菌 (*A. salmonicida*, *V. anguillarum*) の場合ハートインフュージョンブイオン培地での菌の発育が上記培地よりも優れ、また飯塚ら (1977) も市販のハートインフュージョンブイオン (粉抹培地) を使用している点を考慮すると、*A. salmonicida*, (*V. anguillarum*) に関してハートインフュージョンブイオン培地が適しており、市販の粉抹培地を使用すれば十分であろう。

2) 標準石炭酸溶液

純粋な試薬石炭酸 5.0 g を 100 ml のメスフラスコに取り蒸留水を加え 100 ml とし、正確に 5.0 % (20 倍溶液) を作り密栓保存する。

実験に際しては標準石炭酸溶液を滅菌蒸留水で希釈し所定の希釈液をつくる。*A. salmonicida* ATCC 14174 株を使用する場合は 150, 160, 170 倍の希釈液を調製すればよいと考えられるので、表 3 に示す要領で調製すると便利である。

表 3 石炭酸溶液の希釈方法

希 釈 倍 数	標準石炭酸液量 (ml)	滅菌蒸留水量 (ml)
140	2	12
150	2	13
160	2	14
170	2	15
180	2	16

3) 供試消毒薬溶液

供試消毒薬 5.0 g をメスフラスコにとり蒸留水を加え 100 ml にし 20 倍溶液をつくる。消毒剤の殺菌力の強弱によってはさらに希釈し、100 倍、1000 倍希釈液を供試原液とする。実験に際しては最初希釈倍数を粗くとして見当を付けたのち、しだいに細かい希釈で行う。最終的な実験の場合にはその間隔を大体 10 % 程度になるようにする。そのためは表 4 に示す基準によると便利である。

4) 使用器具

(1) 試験管

消毒薬と細菌培養液を作用させる試験管は比較的口径の太いものを使用した方が内容物の混合や白金耳による釣菌に便利である。当场ではモルトンキャップ付の内径 2.2mm×190mm の大きさの試験管を使用した。

表 4 消毒薬希釈倍数基準

希 釈 倍 数	間 隔
基礎液 ~ 70	5
70 ~ 160	10
160 ~ 200	20
200 ~ 400	25
400 ~ 900	50
900 ~ 1,800	100
1,800 ~ 3,200	200

(2) 移植用白金耳

太さ 0.6 mm のニクロム線を使用して内径 4 mm の白金耳をつくり実験に用いる。白金耳は 5 ～ 6 本を用意しておくことと便利であるが、この場合は内径がすべて等しいことが必要である。

b 実施方法

- 1) 被検消毒薬の希釈液および石炭酸の希釈液 10 ml を試験管に分注し、 $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に調節した恒温水槽に 5 分間静置する。同時に $20^\circ\text{C} \cdot 24$ 時間培養した培養液も水槽内に静置する。
- 2) 培養液 1 ml を駒込ピペットにとり、薬剤のはいた試験管の壁に付着しない様に注意しながら一度に注入する。それと同時にストップウォッチを作動させ、一定時間毎に同様の手順をくりかえす。この際の間隔は 15 ～ 30 秒とすれば良い。15 秒間隔の場合には作用試験管は、10 本、30 秒では 5 本の処理が可能である。
- 3) 培養液を作用試験管に加え 2.5 分経過直前に薬剤と菌液の混合液を一白金耳とり、正確に 2.5 分後、培養試験管に移植する。同様の操作を 5 分、10 分、15 分後にくりかえす。
- 4) 移植した後、培養試験管は 20°C で培養、48 時間および 72 時間後に菌の発育状況を観察する。

c 石炭酸係数算出法

作用時間 5 分では菌は死滅せず、10 分では死滅する消毒薬の最大希釈倍数と同じ結果を得る石炭酸の最大希釈倍数との比を石炭酸係数とする（医科学研究所学友会編：細菌学実習提要）。したがって、ATCC14174 株を供試した場合に表 5 のような結果になったときは石炭酸係数 $= \frac{1,600}{160} = 10$ である。ここで、単に石炭酸はチフス菌を使用したものであるため、表 5 の場合にはせつそう病菌石炭酸係数という具合にその菌種を明記する必要がある。

表 5 石炭酸算出法

	希 釈 倍 数	2.5 分	5 分	10 分	15 分
被 検 消 毒 剤	1 : 1500	+	-	-	-
	1 : 1600	+	+	-	-
	1 : 1700	+	+	+	-
標 準 石 炭 酸	1 : 160	+	+	-	-

(+ 発育 - 発育せず)

d 石炭酸係数の問題点

本法が Ridal and Walker (1903) によって提唱されてからすでに久しく、さらに

消毒薬検査指針が出されてから28年が経過し、その間には種々の消毒薬の開発がすすみ現在ではこれらの消毒薬の評価法として、本法が必ずしも適した方法とはいえないという指摘もなされている。

その論拠として、“本法はクレゾール等のフェノール系消毒薬の検定法としてはすぐれているが、その他の消毒薬についての意義が低い場合があること”“ハロゲン系消毒薬（特にヨード剤）の出現により短時間に薬効の得られる消毒薬の使用頻度が高まり、これらの消毒薬に対して本法の感作時間等が適切ではなく、2.5分よりも短時間に感作する効果を検討する必要があること”さらに、“本法は消毒薬の効力に及ぼすいろいろな因子を除外した条件下の実験であるため、検定結果と実際使用する場合の効果が一致しないことも考えられる”などの点があげられよう。

したがって、消毒薬の効果を石炭酸係数だけで評価することは適当ではなく、養殖の現場で消毒薬を使用するためには in-use test などを実施する必要がある。

III 主として界面活性剤系消毒薬の *A. salmonicida* に対する効果

水産養殖分野で使用される消毒薬のうち伝染病の予防、防疫を目的として使用される代表的なものは塩素やヨード化合物などのハロゲン系消毒薬と、界面活性剤系消毒薬である。このなかでハロゲン系消毒薬についてはその薬理作用上の特性から、いわゆる石炭酸係数測定法を応用するには一考を要する。

したがって、ハロゲン系消毒薬の効力評価については今後の研究課題とし、本年度は界面活性剤系の消毒薬を主体にして *A. salmonicida* に対する効力の評価を実施した。

1. 材料および方法

a 供試消毒薬

界面活性剤のうち作用力の点で最も優れる陽イオン界面活性剤の、第四級アンモニウム塩4剤（塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、塩化セチルピリジニウム、塩化メチルベンゼトニウム）とこれらを主成分とする市販の消毒薬（表6）7剤を供試した。

表6 供試消毒薬

消毒剤	成分及び含量
オスバン液 [®] 「ダイゴ」	塩化ベンザルコニウム 10%
ハイアミン液	塩化ベンゼトニウム 10 W/V%
ハイアミンT液	塩化ベンゼトニウム 10 W/V%
	アルキルアリルポリエーテルアルコール 10 W/V%
テレメス [®]	アルキルポリアミノエチルグリシン塩酸塩50%液 20 g/dl
	ポリオキシエチレンアルキルフェノールエーテル 3 g/dl
テゴ-51 [®]	ドデシル(アミノエチル)グリシン塩酸塩 6%
	テトラデシルジ(アミノエチル)グリシン塩酸塩 4%
「北研」ゼット [®]	塩化ベンザルコニウム 80 g/l
	ポリオクチルポリアミノエチルグリシン 18 g/l
	ポリオキシエチレンアルキルフェノールエーテル 12 g/l
5%ヒビテン液 [®]	グルコン酸クロルヘキシジン 5 W/V%

b 効力評価法

前項に示したせつそう病菌石炭酸係数測定法に基づいて、感作温度20℃における殺菌濃

度を求め石炭酸係数を算出するとともに、感作温度を10℃、5℃と低くした時の効果についても検討した。

2. 結 果

a 石炭酸係数

供試消毒薬の*A. salmonicida* ATCC 14174株および*Staph aureus* ATCC 6538p (FDA209P)株に対する効果を表7に殺菌濃度と石炭酸係数で示した。

表7 *A. salmonicida*と*Staph aureus*に対する消毒薬の殺菌効果

供試菌株 化合物又は消毒剤名	ATCC 14174		FDA 209P	
	フェノール係数	殺菌濃度*	フェノール係数	殺菌濃度
塩化ベンザルコニウム	375	1: 60000	200	1: 15000
塩化ベンゼトニウム	344	1: 55000	267	1: 20000
塩化セチルピリジニウム	875	1:140000	1000	1: 75000
塩化メチルベンゼトニウム	438	1: 70000	467	1: 35000
石 炭 酸	—	1 : 160	—	1 : 75
クレゾール石ケン液	2	1 : 325	5	1 : 363
「北研」ゼット	63	1: 10000	33	1: 2500
ハイアミン液	53	1: 8500	33	1: 2500
ハイアミンT液	63	1: 10000	47	1: 3500
オスバン液「ダイゴ」	94	1: 15000	47	1: 3500
5%ヒビテン液	28	1: 4500	13	1: 1000
テゴ-51	19	1: 3000	3	1 : 225
テレメス	18	1: 2800	2	1 : 140

* 5分では死滅せず、10分処理で死滅する消毒薬の最大希釈倍数

表7から*A. salmonicida*と*Staph aureus*についての各消毒薬の石炭酸係数の関係は図4のとおりである。

石炭酸係数については、第四級アンモニウム塩(以下Quat.と略記する)4剤が高い値を示し、なかでも塩化セチルピリジニウムがATCC 14174株の場合875, ATCC 6538p株の場合1000と最も高く、ついで塩化メチルベンゼトニウム(ATCC 14174株438, ATCC 6538p株467), 塩化ベンザルコニウムの順で

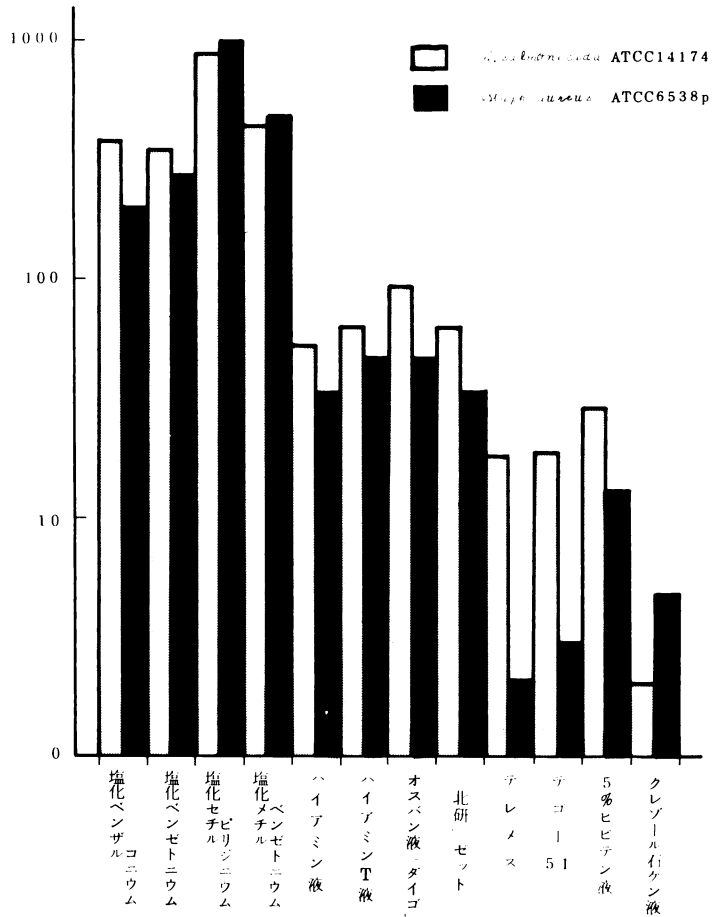


図4 *A. salmonicida*と*Staph aureus*に対する消毒薬の石炭酸係数

あり、石炭酸係数に関して両菌種間に類似する傾向が認められた。

市販の消毒薬についてはQuatを主成分とする逆性石ケン製剤およびその複合製剤がATCC14174株の場合、53~94、ATCC6538p株の場合33~47と石炭酸係数は高く、クロルヘキシジン製剤のヒピテン5%液がATCC14174株で28、ATCC6538p株で13、グリシン系両性界面活性剤を成分とするテゴ51、テレメスでは前者の場合ATCC14174株で19、ATCC6538p株で3、後者ではそれぞれ18、2となった。

供試消毒薬中クレゾール石ケン液は石炭酸係数が最も低くATCC14174株で2、ATCC6538pで4.8という結果である。

b 20℃における殺菌濃度

20℃における殺菌濃度について図5、6に示した。

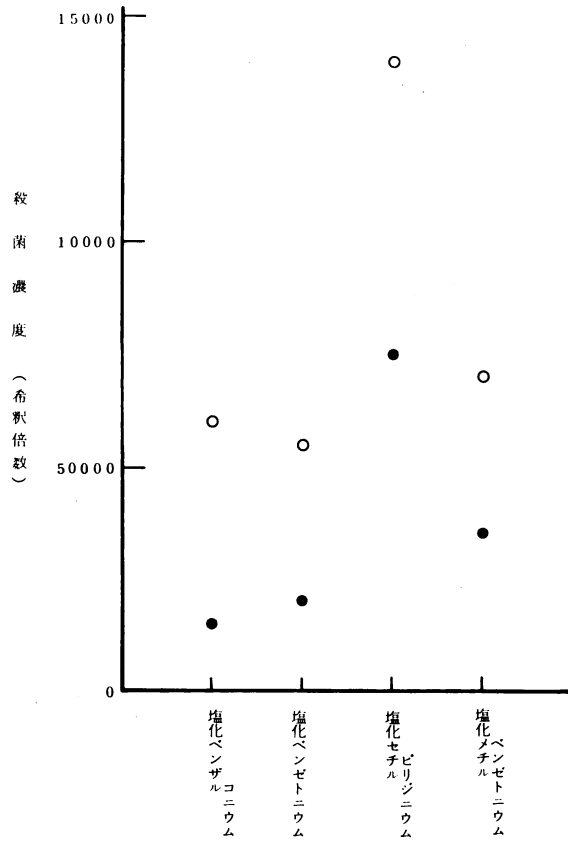


図5 界面活性剤の*A. salmonicida*および
*Staph aureus*に対する殺菌効果

- *A. salmonicida*. ATCC14174
- *Staph aureus* ATCC6538p

ATCC14174株に対するQuatの殺菌濃度はおのおの塩化セチルピリジニウム14000倍，塩化メチルベンゼトニウム70000倍，塩化ベンザルコニウム60000倍，塩化ベンゼトニウム55000倍である。

また、ATCC6538p株の場合は塩化セチルピリジニウム75000倍，塩化メチルベンゼトニウム35000倍，塩化ベンザルコニウム15000倍，塩化ベンゼトニウム20000倍となり、これらの化合物はATCC6538p株に比べATCC14174株に対し2～4倍の殺菌効果を示した(図6)。

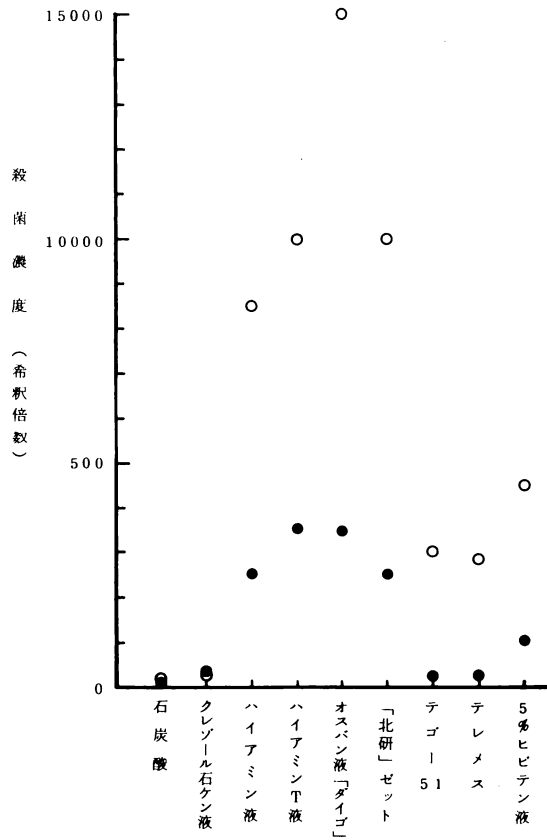


図6 市販消毒薬の*A. salmonicida*および
*Staph aureus*に対する殺菌効果

○ *A. salmonicida* ATCC 14174
● *Staph aureus* ATCC 6538p

Quat を主成分とする市販の消毒薬についても同様に ATCC 14174 株 に対しては ATCC 6538p の 3~4 倍高い効果が得られた (図6)。

クレゾール、逆性石ケンを除いた消毒薬についても ATCC 6538p に対して ATCC 14174 株に対する殺菌効果が高い傾向にあり、とくに両性石ケン製剤についてはその傾向が著しく、テゴ-51 では 13.3 倍、テレメスでは 20 倍高い値を示した。

クレゾール石ケンの場合は両菌種間における殺菌効果の差は顕著ではなかった。

c. 低温条件下における殺菌効果

感作温度を 10℃, 5℃ と低くしたときの ATCC 14174 株に対する消毒薬の効果を表8に殺菌濃度で示した。

表8 低温条件下での*A. salmonicida* に対する消毒薬の殺菌効果

化合物および消毒剤名	殺菌濃度		石炭酸係数	
	10℃	5℃	10℃	5℃
塩化ベザルコニウム	1:60000	—	413	—
塩化ベンゼトニウム	1:55000	—	379	—
塩化セチルピリジニウム	1:90000	—	621	—
塩化メチルベンゼトニウム	1:50000	—	345	—
石炭酸	1:145	1:135	—	—
クレゾール石ケン液	1:275	1:225	2	2
オスバン液「ダイゴ」	1:8000	1:6000	55	44
ハイアミン液	1:5500	1:2000	38	15
ハイアミンT液	1:5500	1:4000	38	30
テゴ-51	1:1100	1:550	8	4
北研ゼット	1:6000	1:4500	41	33
5%ヒピテン液	1:3000	1:2000	21	15

低温条件下での殺菌効果の低下傾向を図7, 8, 9に示した。

界面活性剤4剤については20℃と10℃の場合の効果を比較した。これら4剤とも極端な効果の低下は認められなかったが、塩化セチルピリジニウムと塩化メチルベンゼトニウムでは殺菌効果としての低下が認められた。さらに、塩化ベンザルコニウムと塩化ベンゼトニウムでは両温度条件下において殺菌濃度の変化は認められなかった。

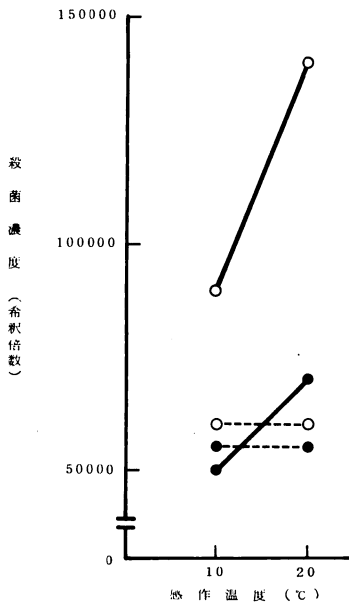


図7 温度低下に伴う界面活性剤の殺菌効果の変化

- 塩化セチルピリジニウム
- 塩化メチルベンゼトニウム
- ...○ 塩化ベンザルコニウム
- ...● 塩化ベンゼトニウム

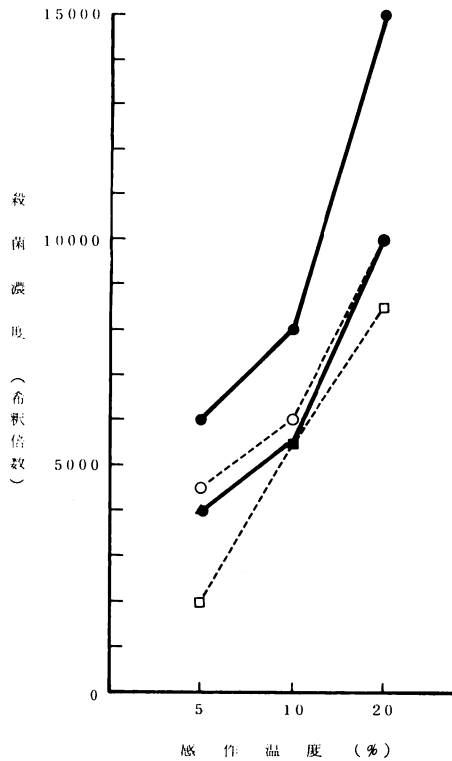


図8 温度低下に伴う逆性石ケン製剤の殺菌効果の変化

- オスバン
- …○ 北研ゼット
- ▲—▲ ハイアミンT液
- …□ ハイアミン液

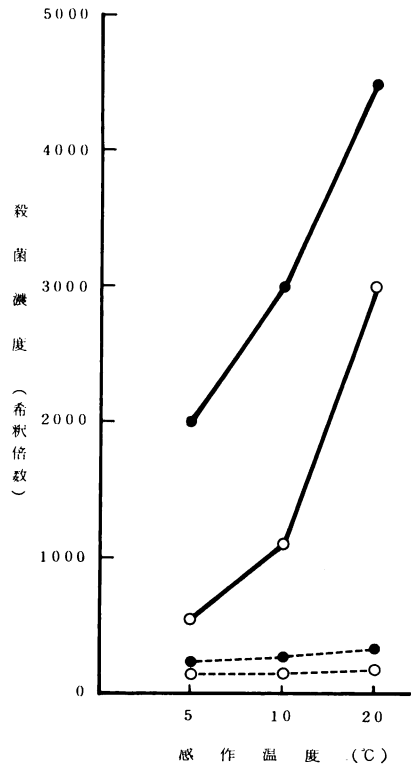


図9 温度低下に伴う市販消毒薬 (図7, 8以外) の殺菌効果の変化

- ヒビテン
- テゴ-51
- …● クレゾール石ケン液
- …○ 石炭酸

市販の消毒薬については逆性石ケンとその他の消毒薬に分けて図示した。各薬剤とも感作温度の低下に伴い殺菌効果も低下したが、逆性石ケンでは5℃の場合でも殺菌濃度は2000から6000倍であるのに対し(図8)、テゴ-51では5℃における殺菌濃度が550倍となり殺菌効果の低下が顕著であった(図9)。

石炭酸とクレゾールでは温度低下に伴う殺菌効果の変化は少なかった。

3. 考 察

実験の結果から *Staph aureus* に比べ *A. salmonicida* に対する供試消毒剤の殺菌効果が明らかとなり、とくに Quat は *A. salmonicida* に対して高い殺菌効果を示した。

一般に Quat の殺菌効果はグラム陽性菌が中心であり、グラム陰性菌に対する効果は劣る

とされる。表9にはQuat.の代表的な塩化ベンザルコニウムの微生物に対する効果を芝崎(1974)より引用したが、この値に比べ、*A. salmonicida*はグラム陰性菌であるにもかかわらずQuat.の殺菌力は極めて強い。また、低温条件下でも殺菌力の低下は比較的少な

表9 塩化ベンザルコニウムの殺菌作用力(芝崎:1974)

微 生 物	石炭酸係数	殺菌濃度
Staph. aureus	279	1:20000
Eb. typhosa	250	:20000
E. coli	160	:12000
St. hemolyticus	435	:40000
St. viridans	384	:35000
Cryptococcus hominis	214	:2400

く、サケ・マスなどの冷水魚養殖場のように低温条件下での消毒操作の機会が多い場合にも有利であり、Quat.およびその製剤は*A. salmonicida*に対して優れた消毒剤と成り得るものと考えられる。

一方、Quat.は普通石ケンや陰イオン界面活性剤、リン脂質、パイン油の存在により不活化され殺菌作用力がなくなり、また有機物の共存により殺菌効果が低下することや、作用環境であるpHの影響を受けると言われている。Babcock(1961)に硬水によって希釈した場合にはCa, Mg, Feイオンの影響を受け作用力が低下すると報告しており、Kundsin等(1958), Myers等(1961)によればQuat.は線維類に吸収される性質を有しており、このため作用力が低下するという。

これらの性質は、養殖池等の現場において、養魚機材(タモ、アミ)の消毒に応用する場合には重要な検討事項となるであろう。このようにQuat.の殺菌力に関しては二三の阻害要因が知られており、今後、Quat.系消毒薬の応用に際しては養魚形態を考慮したin-use test等による阻害要因の検討が必要である。

さらに、Quat.を水産用消毒薬として応用する場合は*A. salmonicida*以外の魚病細菌についても殺菌効果の検討を行い、魚病細菌全般に対するQuat.の消毒薬としての意義を明らかにする必要があると考える。

N 参 考 文 献

- Babcock, K.B.(1961): Maintaining standards and quality care in the operating room. OR Nursing, 2, 44-86
- 飯塚三喜・伊藤 治(1977): 消毒薬効力試験法, P236~264, 小華和忠・吐山豊秋・米村寿男編 動物用医薬品・飼料添付物・新飼料の有用性評価法, フジ・テクノシステム, 東京 500 pp
- Kundsin, R.B., and C.W. Walter, (1958): Investigation of adsorption of Benzalkonium chloride USP by skin.gloves and sponges. Hospital Topics, 36, 108-113
- Myers, G.E.and C. Lefebvre, (1961): Antibacterial activity of Benzalkonium chloride in the presence of cotton and nylon fibers. Canad. Pharmaceut.J., 94, 55-57
- 芝崎 勲(1974): 薬剤による殺菌, P131~210, 綿貫喆 實川佐太郎・榊原欣作編 滅菌法・消毒法第1集, 文光堂, 東京 238 pp

Publication of The Tokyo Metropolitan

Fisheries Experiment Station №299

Memoir of The Tokyo Metropolitan

Fisheries Experiment Station №148

昭和55年度

魚病対策技術開発研究報告書

マス類の伝染性病体の消毒法に関する研究

昭和56年3月 発行

編集・発行 東京都水産試験場 技術管理部

〒125 東京都葛飾区水元小合町3374番地

電話 03(600)2373

印刷所 原口印刷株式会社

印刷物規格表第2類
印刷番号(55)1914
刊行番号(I)137