

食品安全確保総合調査

「畜水産食品における薬剤耐性菌の出現実態調査」

平成18年度調査報告

平成 19年 11月 6日

財団法人 日本食品分析センター

I. 検出試験

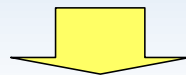
II. 薬剤感受性試験

III. PFGE解析

I. 検出試験

試料のサンプリング

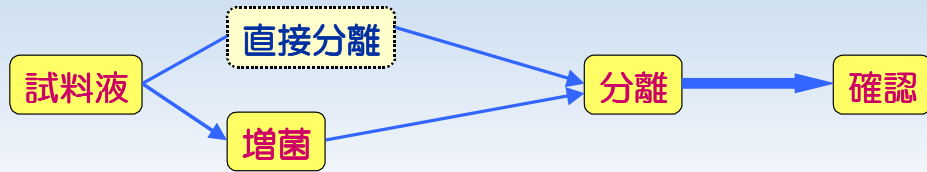
大手量販店から牛肉、豚肉及び鶏肉をサンプリング(購入)



地区ごとのサンプリング数は、
平成17年度プロトコルの都道府県別生産量をもとに算定した

地区	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	合計
牛肉	57	0	18	10	0	21	0	0	11	15	0	10	0	0	0	32	16	14	0	0	204
豚肉	0	0	18	18	18	48	12	19	0	0	10	0	0	0	0	0	15	0	37	8	203
鶏肉	18	23	0	60	0	0	0	0	0	0	0	9	6	14	11	9	74	0	80	0	304

試験方法(検出試験)



対象菌		増菌培地	分離培地	備考
大腸菌	直接分離	****	ESコリマーク寒天培地	プロトコルのDHL寒天培地をクロモアガーに変更
	増菌培養	EC培地	クロモアガー-E.coli	
腸球菌	直接分離	****	Enterococcosel寒天培地	****
	増菌培養	Enterococcoselパイヨン		
VRE *	直接分離	****	Enterococcosel寒天培地	いずれの培地にもバンコマイシンを3ppm添加
	増菌培養	Enterococcoselパイヨン		
サルモネラ	増菌培養	緩衝ペプトン水 ⇒ テトラチオン酸塩培地 リポート・バシリアイ培地	MLCB寒天培地 カモガ-サルチネ寒天培地	対象は鶏肉のみ
カンピロバクター	直接分離	****	Skirrow寒天培地	対象は鶏肉のみ
	増菌培養	Preston培地	mCCDA寒天培地	

* バンコマイシン 3 ppmを添加した培地で選択された腸球菌

各食肉からの対象菌の検出率

	大腸菌	腸球菌	VRE *	サルモネラ	カンピロバクター	
					<i>C.jejuni</i>	<i>C.coli</i>
牛肉	1.0	5.9	0	検出対象とせず		
豚肉	2.5	8.4	1.5			
鶏肉	80.9	60.2	8.2		59.9	47.7
					45.7	3.9

* バンコマイシン 3 ppmを添加した培地で選択された腸球菌

各食肉からの対象菌の分離菌株数

	大腸菌	腸球菌		VRE *		サルモネラ	カンピロバクター	
		<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>		<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>
牛肉	6	11	16	0	0	検出対象とせず		
豚肉	13	37	9	6	3			
鶏肉	695	258	227	31	30	373	338	
							315	23

* バンコマイシン 3 ppmを添加した培地で選択された腸球菌

II. 薬剤感受性試験

試験方法(薬剤感受性試験)

米国臨床検査標準委員会(CLSI/NCCLS)の試験法に準拠した寒天平板培養法により、最小発育阻止濃度を測定した

正確で精度の良い結果のために

CLSI/NCCLS
ガイドラインで
示されている
標準菌株を用いた
精度管理

マイクロプランター
を用いた定量的
な接種による
正確さの追求



マイクロプランターによる菌液の接種

分離菌株の選定

1. 牛肉及び豚肉由来の菌株は、すべて薬剤感受性試験に供試
2. 鶏肉由来のVRE菌株もすべて薬剤感受性試験に供試

	大腸菌	腸球菌	VRE*	サルモネラ	カンピロバクター
牛肉	6	27	0		
豚肉	13	46	9		
鶏肉	100	100	61	100	100

* バンコマイシン 3 ppmを添加した培地で選択された腸球菌

鶏肉の大腸菌、腸球菌、サルモネラ及びカンピロバクターについては、分離菌株の血清型、菌種地域ごとの検出率等を考慮して100株を選定した。

各菌種における感受性試験対象薬剤数

	大腸菌	腸球菌	VRE*	サルモネラ	カンピロバクター
プロトコルにおける調査対象薬剤数	18	18	18	18	12
調査実施薬剤数	17	17	17	17	11

* バンコマイシン 3 ppmを添加した培地で選択された腸球菌

ただし、セデカマイシンについては、平成17年以降日本での使用実績が無く、製造も中止されていることから、除外することとした。

各薬剤に対する分離株の耐性化率

		牛肉			豚肉			鶏肉				
		大腸菌 6株	腸球菌 27株	VRE* 0株	大腸菌 13株	腸球菌 46株	VRE* 9株	大腸菌 100株	腸球菌 100株	VRE* 61株	サルモ ネラ 100株	カンピロ 100株
アンピシリン	ABPC	0	0		53.8	0	0	53.0	0	0	8.0	3.0
セフトリアキソン	CEZ	0			0			26.0			7.0	
セフトキシム	CTF	0			0			25.0			4.0	
アピシリン	APM	33.3			0			3.0				
ジヒドロステロイドマイシン	DSM	50.0	0		38.5	41.3	55.6	45.0	17.0	29.5	81.0	6.0
ゲンタマイシン	GM	0	0		0	0	0	4.0	3.0	4.9	1.0	1.0
カナマイシン	KM	0	0		7.7	6.5	22.2	19.0	17.0	23.0	39.0	
エリスロマイシン	EM		0			4.3	22.2		35.0	42.6		4.0
リンコマイシン	LCM		0			4.3	22.2		36.0	35.7		
コロスチン	CL	33.3			0			2.0			1.0	
ノシバブタイト	NHT											
バンコマイシン	VCM		0			0	0		0	3.3		
バネジニアマイシン	VGM		59.3			58.7	66.7		86.0	60.7		
サリナマイシン	SLM		0			0	0		0	1.6		
オキシテトラサイクリン	OTC	66.7	22.2		38.5	41.3	55.6	62.0	56.0	54.1	83.0	34.0
アピシリン	AVM		0			0	0		5.0	6.6		
バシトラシン	BC		18.5			10.9	55.6		22.0	42.6		
ヒコサマイシン	BCM	0			0			0			11.0	
クロラムフェニコール	CP	0	11.1		23.1	4.3	22.2	12.0	17.4	0	0	3.0
ナリジクサン酸	NA	0			7.7			36.0			12.0	42.0
エンロフロキサシン	ERFX	0	0		0	4.3	22.2	11.0	4.0	21.3		41.0
スルファジメトキシム	SDMX											
トリメトプリム	TMP	0			46.2			20.0			59.0	
ホスホマイシン	FOM											
チルミコシン	TMS											

* バンコマイシン 3 ppmを添加した培地で選択された腸球菌

各薬剤に対する菌種ごとの耐性化率

	大腸菌	腸球菌	VRE*	サルモネラ	カンピロ
アンピシリン	50.4	0.0	0.0	8.0	3.0
セファゾリン	21.8	0.0	0.0	7.0	0.0
セフトオフル	21.0	0.0	0.0	4.0	0.0
アブラマイシン	4.2	0.0	0.0	0.0	0.0
ジヒドロストレプトマイシン	44.5	20.8	32.9	81.0	6.0
ゲンタマイシン	3.4	1.7	4.3	1.0	1.0
カナマイシン	16.8	11.6	22.9	39.0	0.0
エリスロマイシン	0.0	21.4	40.0	0.0	4.0
リンコマイシン	0.0	22.0	34.0	0.0	0.0
コリスチン	3.4	0.0	0.0	1.0	0.0
ノシヘプタイト	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
バンコマイシン	0.0	0.0	2.9	0.0	0.0
バージニアマイシン	0.0	74.6	61.5	0.0	0.0
サリノマイシン	0.0	0.0	1.4	0.0	0.0
オキシテトラサイクリン	59.7	46.8	54.3	83.0	34.0
アピラマイシン	0.0	2.9	5.8	0.0	0.0
バシトラシン	0.0	18.5	44.3	0.0	0.0
ピコザマイシン	0.0	0.0	0.0	11.0	0.0
クロラムフェニコール	12.6	12.9	2.9	0.0	3.0
ナリジクス酸	31.1	0.0	0.0	12.0	42.0
エンロフロキサシン	9.2	3.5	21.4	0.0	41.0
スルファジメトキシシン	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
トリメトプリム	21.9	0.0	0.0	59.0	0.0
ホスホマイシン	***	***	***	***	***
チルミコシン	***	***	***	***	***

* バンコマイシン 3 ppmを添加した培地で選択された腸球菌

各薬剤に対するブレイクポイント

薬剤	略号	ブレイクポイント (μg/ml)			
		大腸菌	腸球菌	サルモネラ	カンピロバクター
アンピシリン	ABPC	32	16	32	32
セファゾリン	CEZ	32	—	32 ¹⁾	—
セフトオフル	CTF	8	—	8 ²⁾	—
アブラマイシン	APM	16 ²⁾	—	***	—
ジヒドロストレプトマイシン	DSM	32	128	32	32
ゲンタマイシン	GM	16	32	16 ¹⁾	16 ²⁾
カナマイシン	KM	64	128	64	—
エリスロマイシン	EM	—	8	—	32
リンコマイシン	LCM	—	128	—	—
コリスチン	CL	16	—	16 ²⁾	—
ノシヘプタイト	NHT	—	***	—	—
バンコマイシン	VCM	—	32	—	—
バージニアマイシン	VGM	—	1.56 ³⁾	—	—
サリノマイシン	SLM	—	16 ²⁾	—	—
オキシテトラサイクリン	OTC	16	16	16	16
アピラマイシン	AVM	—	16	—	—
バシトラシン	BC	—	128 ²⁾	—	—
ピコザマイシン	BCM	128	—	64	—
クロラムフェニコール	CP	32	32	32	16
ナリジクス酸	NA	32	—	32	32
エンロフロキサシン	ERFX	2	4	***	2
スルファジメトキシシン	SDMX	***	—	***	***
トリメトプリム	TMP	16	—	16	—
ホスホマイシン	FOM	***	***	***	***
チルミコシン	TMS	***	***	***	***

1) CLSI/NCCLS2006に準拠 2) DANMAP2003に準拠
 3) 二峰性を示したため、感受性菌と耐性菌のピークの間接値をブレイクポイントとした。
 —：測定対象外 ***：ブレイクポイント不明

Ⅲ. PFGE解析

カンピロバクター のPFGE解析で判明したこと

- ① 原産地及び地域によるクラスターの形成は認められず、様々な菌株が各地に散在していた。
- ② ある地域では、15組が同じ菌株と判定されたが、その内3組は原産地が異なっていた。
しかし、サンプリング日時と店舗の関係から、同一店舗内あるいは同一加工処理施設内での汚染も考えられた。
- ③ 同一のPFGEパターンを示した菌株は薬剤耐性の傾向もほとんど同じであった。
しかし、顕著な相違を示した菌株も存在した。

生物性状と遺伝子解析

特異的PCRを行って見ると...

