

内閣府 食品安全委員会

平成 17 年度食品安全確保総合調査報告書

畜水産食品における薬剤耐性菌の出現
実態調査(プロトコル作成)報告書

平成 18 年 3 月

財団法人 東京顕微鏡院

目 次

I. 事業概要.....	1
1.調査目的	1
2.調査内容	1
3.調査方法	1
4.調査体制	1
II. 薬剤耐性菌の試験方法及び関連する情報の収集.....	3
1.薬剤耐性菌の試験方法に関する文献の収集.....	3
1)調査対象	3
2)文献の収集	3
3)文献の収集結果	4
2.薬剤耐性菌の試験方法に関する文献の調査結果.....	4
3.対象食品の流通経路、流通形態等に関連する情報の収集.....	5
1)収集文献・資料および実地調査による情報.....	5
①牛および豚肉	5
①-1 牛および豚肉の流通経路、流通形態.....	5
①-2 牛および豚肉の流通過程において想定される細菌汚染.....	7
②食鳥.....	7
②-1 食鳥の流通経路、流通形態	7
②-2 食鳥の流通過程において想定される細菌汚染.....	9
③養殖魚	10
③-1 養殖魚の流通経路、流通形態.....	10
(1)活魚として飲食店に流通する場合.....	11
(2)〆活魚として鮮魚小売商に流通する場合	12
(3)生産現場で〆られて流通する場合.....	13
③-2 養殖魚の流通過程において想定される細菌汚染	14
④鶏卵の流通経路、流通形態	14
⑤大手スーパーにおける食肉および養殖魚の販売形態.....	16
4.国内の食肉(牛肉、豚肉、鶏肉)、鶏卵、養殖魚、牛乳の Food Chain における微生物の規制とその効果.....	17
1)牛、豚、ブロイラーの飼育農場を対象にした微生物に関する規制.....	17
2)と畜場を対象にした微生物に関する規制.....	17
3)食鳥処理場を対象にした微生物に関する規制	18
4)食肉製造業、レストラン、集団給食施設、販売店を対象にした微生物に関する規制	18
5)鶏卵の Food Chain における微生物による規制.....	19

6) 牛乳の Food Chain における微生物に関する規制.....	19
7) 魚市場(養殖魚)を対象にした微生物に関する規制	20
8) 家庭における衛生管理	20
5. 微生物の規制による効果の実際.....	20
1) 微生物による食中毒発生状況からの評価.....	20
2) 微生物検査からの評価	21
III. 試験調査プロトコル.....	23
1. サンプルング方法	23
1) 施設の要件と施設数.....	23
2) 対象食品の種類	23
3) 採材方法	23
4) 試料の輸送方法及び保管方法	23
5) 試料数.....	23
① 対象細菌の検出率と試料総数.....	24
② 対象食品別の試料数	24
6) 大手スーパー以外からのサンプルング	29
2. 試料からの細菌の分離及び同定方法	30
1) 対象菌種	30
2) 分離方法及び同定方法	30
① 検査試料の調整	30
② 細菌の検出法と同定方法.....	31
a 大腸菌.....	31
b 腸球菌およびバンコマイシン耐性腸球菌.....	33
c サルモネラ属菌.....	35
d 腸管出血性大腸菌 O157:H7/-	38
e カンピロバクター属菌 (<i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i>)	40
3) 分離菌株数(MIC 分布を作成するために必要な菌株数).....	42
4) 菌株の保存方法	42
3. 薬剤感受性試験方法.....	42
1) 測定方法	42
2) 対象薬剤	43
3) 抗菌性物質の調整方法	45
① 標準品の保存方法.....	45
② 薬剤の溶解と濃度の調整.....	45
4) 薬剤含有寒天培地の調整.....	47
5) 接種用菌液の調整と接種法および培養	47

6) 薬剤感受性判定方法とブレイクポイント.....	48
7) 成績の記載	49
8) 精度管理	50
4. 薬剤耐性菌株の保存.....	51
5. 施設に関する情報の管理方法	51
IV. 検討会において出された主な意見.....	54
1. 検討会の議事録	54
2. サンプルングについて.....	54
3. プロトコルについて	54
4. 薬剤感受性試験について.....	55

I. 事業概要

1. 調査目的

本調査は、国内の畜水産分野において飼料添加物及び動物用医薬品として抗菌性物質を使用することにより選択される薬剤耐性菌に関する食品健康影響の評価にあたって、国内の食品分野(小売店等で販売される食品)における薬剤耐性菌の出現状況を定量的に把握するための試験調査の Protokol 作成を目的としている。

本調査結果については、食品安全委員会が畜水産食品における薬剤耐性菌の出現状況等を把握し、科学的な薬剤耐性菌の食品健康影響の評価を行うための基礎資料として用いられる。

2. 調査内容

国内外の細菌汚染及び薬剤耐性菌検出のモニタリング又はサーベイランスに関する情報等を収集して、サンプリング方法、試験方法及びデータの解析方法等を取りまとめる。これらを参考に、国内の小売店等で販売される畜水産食品を対象とした薬剤耐性菌による汚染状況の試験調査のサンプリング方法及び試験の Protokol 等を作成する。

3. 調査方法

スーパーマーケット及び小売店等で販売される国産の畜水産食品(牛肉、豚肉、鶏肉、養殖魚肉、鶏卵及び牛乳)を対象にして、薬剤耐性菌による汚染状況を試験するための適切なサンプリング方法、各試料からの細菌(大腸菌、腸球菌、サルモネラ、カンピロバクターを含む4菌種以上)の分離及び同定方法、薬剤感受性試験方法、薬剤耐性菌の保存及び輸送方法等の Protokol を細菌別に作成する。

4. 調査体制

本調査を行うにあたり精度の高い解析及び考察等を行うために、下記の有識者からなる検討会を設置した。また財団法人東京顕微鏡院内に6名の研究員からなるプロジェクトチームを作った。

(1) 委員

池 康嘉	群馬大学大学院医学系研究科教授
甲斐明美	東京都健康安全研究センター微生物部科長
金子精一	神奈川県立保健福祉大学保健福祉学部教授
菊池孝治	全国農業協同組合連合会室長
山口恵三	東邦大学医学部教授

(2)オブザーバー

鮫島俊哉 農林水産省動物医薬品検査所室長

(3)プロジェクトチーム

伊藤武	所長
平井誠	室長
難波豊彦	主任研究員
森哲也	研究員
大山祐佳	研究補助員
星野梓	研究補助員

検討会は、2005年12月27日、2006年1月30日、2006年3月2日、2006年3月23日の合計4回開催した。

II. 薬剤耐性菌の試験方法及び関連する情報の収集

1. 薬剤耐性菌の試験方法に関する文献の収集

1) 調査対象

国内外の細菌汚染及び薬剤耐性菌検出のモニタリング又はサーベイランスに関する文献を収集するにあたり、調査対象を以下のように設定した。

- ①スーパーマーケット及び小売店等で販売される国産の畜水産食品(牛肉、豚肉、鶏肉、養殖魚肉、鶏卵及び牛乳)を対象とする。
- ②薬剤耐性菌による汚染状況を試験するための適切なサンプリング方法
- ③対象食品からの細菌(大腸菌、腸球菌、サルモネラ、カンピロバクター)の分離及び同定方法
- ④薬剤感受性試験方法
- ⑤薬剤耐性菌の保存

2) 文献の収集

文献の収集方法および収集の範囲を次の①～⑤に示す。

- ①検索に用いるデータベースとして、独立行政法人科学技術振興機構のJSTPlusを使用した。検索方法としては、以下に示すキーワードに合致する論文を検索した。

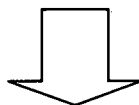
[本調査の対象食品に関する論文]
畜産食品 or 水産食品 or 牛肉 or 豚肉 or 養殖魚 or 鶏卵 or 牛乳

and

[本調査の対象とする細菌に関する論文]
大腸菌 or 腸球菌 or サルモネラ or カンピロバクター

and

[本調査の対象とする試験法に関する論文]
分離 or 同定 or 薬剤感受性 or 保存 or サンプリング



本調査の趣旨に合致する論文

- ②薬剤耐性関係の文献が数多く掲載されている「International Journal of Food Microbiology」、「日本獣医師会雑誌」、「動物用抗菌剤研究会報」、「鶏病研究会報」等を対象雑誌とし、表題から文献を選択した。
- ③検討会委員、検討委員会事務局、当施設等所有の文献も対象とした。
- ④原則として原著論文(短報を含む)及び総説を収集、学会発表の抄録は必要に応じ採用した。
- ⑤国、団体等の公表資料を含めた。

3) 文献の収集結果

JSTPlus で検索した結果、最新 10 年間で 1,097 件がヒットし、文献の表題及び抄録から文献を選択した。収集した文献は対象とする細菌毎に分類し、複数の細菌を対象としている文献は「総合」として分類した。

JSTPlus により収集した文献情報及び所蔵資料の表題等から収集した文献数は、大腸菌関係 81 件、腸球菌関係 56 件、サルモネラ関係 126 件、カンピロバクター関係 49 件、総合 45 件の計 357 件であった。357 件の文献一覧を参照文献として報告書末尾に記載した。

2. 薬剤耐性菌の試験方法に関する文献の調査結果

1.3)において収集した 357 件の文献の中で、試験方法に関する文献は 134 件であった。

なお、これらの論文の内、次の 10 種の文献については、プロトコルの作成にあたり特に十分な検討を要すると判断されたことから、日本語訳を示した(添付資料 1)。

以下、文献名を列記する。

- ①Occurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcus faecium*,
International Journal of Food Microbiology,88:269-290(2003)
- ②Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of *Enterococcus* spp. 1. Media for isolation and enumeration,
International Journal of Food Microbiology,88:147-164(2003)
- ③Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of *Enterococcus* spp. 2. Pheno- and genotypic criteria,
International Journal of Food Microbiology,88:165-188(2003)
- ④EU assessment of enterococci as feed additives,
International Journal of Food Microbiology,88:247-254(2003)
- ⑤Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract,
International Journal of Food Microbiology,88:123-131(2003)

⑥ Comparison of sampling method for the detection of *Salmonella* on whole broiler carcasses purchased from retail outlets,

Journal of Food Protection, 66:1768-1770(2003)

⑦ Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (CIPARS) 2002

⑧ The Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme (DANMAP) 2003

⑨ Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring (SVARM) 2004

⑩ National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS) 2003

3. 対象食品の流通経路、流通形態等に関連する情報の収集

1) 収集文献・資料および実地調査による情報

① 牛および豚肉

牛および豚肉について、全国農業協同組合連合会(JA 全農)中央畜産センターを訪れ、牛および豚肉の流通経路、流通形態、加工工程に関する情報を収集した。

①-1 牛および豚肉の流通経路、流通形態

牛、豚の大動物の生体は、各地域の農家(産地)からと畜場に運ばれ、以下の工程により枝肉に解体される。

1. けい留場で休ませ、体を洗淨する。
2. 頭を取り、皮、内臓を除去する。
3. 内臓検査、BSE 検査を行なう。
4. 背割り作業により、枝肉にする。
5. 枝肉について解体後検査を実施し、異常のないものについて冷蔵庫に保存する。

枝肉は、食肉市場に輸送され、格付けされた後、卸売業者が中卸業者および売買参加者に枝肉を販売。

さらに、枝肉は食肉加工場または大手スーパーへ輸送され、枝肉の種類ごとに精肉、部分肉に加工された後、消費者に販売される。

以上の工程の概略および主要な工程における細菌汚染(想定)について図 1 に示す。

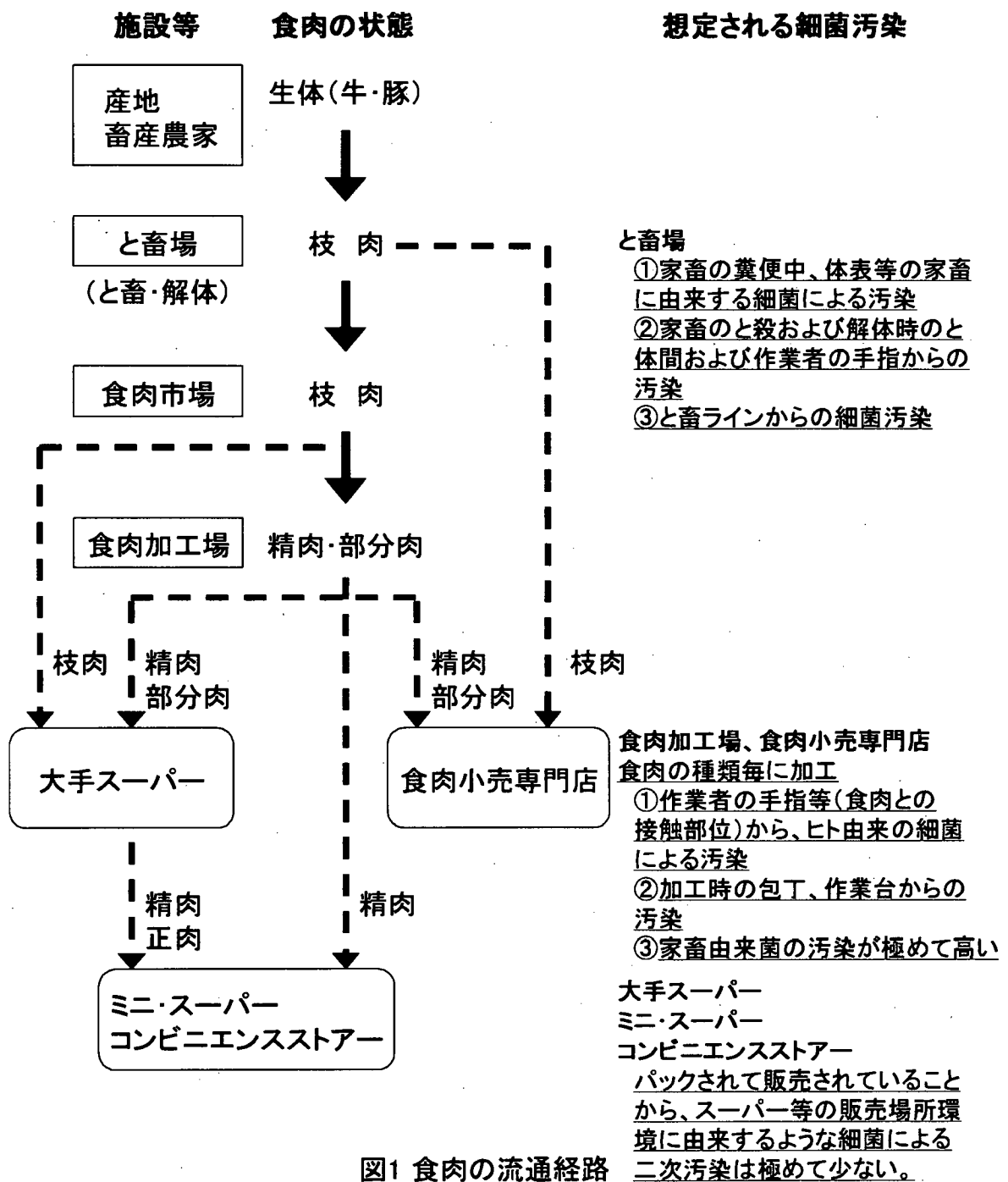


図1 食肉の流通経路

①-2 牛および豚肉の流通過程において想定される細菌汚染

と畜の体表には 1cm^2 当たり 10^4 から 10^{12} の細菌が存在し、その主体は種々の好気性細菌であり、これがと畜の最も重要な汚染源となる。また消化管、特に腸管には多種かつ多数の細菌が存在しており、糞便中には 15 から 30% (w/w) の生菌が検出される。注意してと殺解体すれば、枝肉を汚染することはないが、腸管を破ったりすると枝肉は極端に汚染される。解体処理中の汚染の原因はナイフ、作業者の手や服、ノギリ、骨抜き台やコンベアなどの処理道具および枝肉、手、道具などを洗浄するために使用した水などであると言われる(成 26)。

食肉の流通過程において想定される細菌汚染には、以下の工程が考えられる。但し、家畜由来細菌の汚染が極めて高い。

○と畜場:

家畜の糞便中、体表等の家畜に由来する細菌による汚染。

家畜のと殺および解体時のと体間および作業者の手指からの汚染。

と畜ラインからの細菌汚染。

○食肉加工場、食肉小売専門店:

作業者の手指等(食肉との接触部位)から、ヒト由来の細菌による汚染。

加工時の包丁、作業台からの汚染。

○大手スーパー、ミニ・スーパー、コンビニエンスストア:

パックされて販売されていることから、スーパー等の販売場所環境に由来するような細菌による二次汚染は極めて少ない。

②食鳥

食鳥について、文献、資料より流通経路、流通形態、加工工程に関する情報を収集した。

②-1 食鳥の流通経路、流通形態

食鳥の流通経路の概略および主要な工程における細菌汚染(想定)について図 2 に示す。食鳥(鶏)の生体は、各地域の産地から食鳥処理場に運ばれ、以下の工程により解体される。

1. 鶏をシャックルに架ける(懸吊)。
2. 肉に血液が入り込むことを防ぐ為に血液を除去(放血)。
3. お湯の中に漬け、脱羽しやすくする(湯漬)。
4. 脱羽機によって羽毛を取り除く(脱羽)。
5. 頭部と脚部を取り除く。
6. 機械によって内臓を取り除く(内臓摘出)。
7. シャワーによって体に付着した血液等を除去する(洗浄)。
8. 冷却水に漬ける(チラー)。

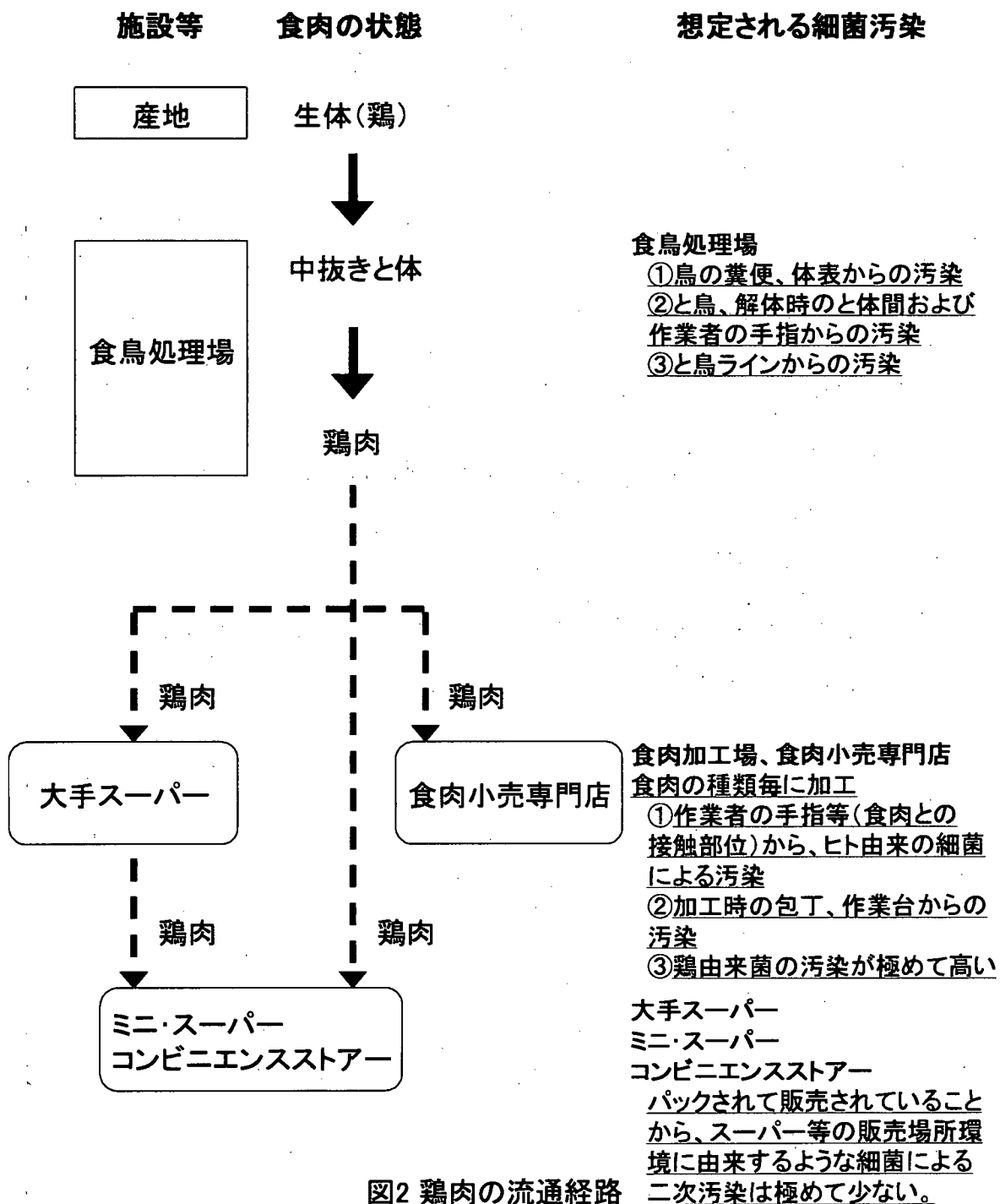


図2 鶏肉の流通経路

②-2 食鳥の流通過程において想定される細菌汚染

生鶏の皮膚には 1cm^2 当たり 10^2 から 10^4 の細菌が付着し、処理中抜き後には、鶏肉表面には 1cm^2 当たり 10^4 から 10^5 の細菌が付着しているとも言われる。また牛、豚肉と同様に、処理道具による汚染もある(成 26)。

食肉の流通過程において想定される細菌汚染には、以下の工程が考えられる。但し、鶏由来細菌の汚染が極めて高い。

○食鳥処理場:

鳥の糞便中、体表等の食鳥に由来する細菌による汚染。

と鳥、解体時のと体間および作業者の手指からの汚染。

と鳥ラインからの汚染。

○食肉加工場、食肉小売専門店:

作業者の手指等(食肉との接触部位)から、ヒト由来の細菌による汚染。

加工時の包丁、作業台からの汚染。

○大手スーパー、ミニ・スーパー、コンビニエンスストア:

パックされて販売されていることから、スーパー等の販売場所環境に由来するような細菌による二次汚染は極めて少ない。

③養殖魚

養殖魚の流通について、東京都中央卸売市場築地市場および東京都市場衛生検査所を訪れ、養殖魚の流通経路、流通形態、加工工程に関する情報を収集した。

③-1 養殖魚の流通経路、流通形態

海面および内水面で養殖されている養殖魚の流通経路は、大きく3つの経路が考えられる。一つ目は生産現場(又は養殖現場)から活魚として飲食店まで流通する経路、二つ目は卸売市場で扱われ鮮魚小売商へと流通する経路、三つ目は生産現場で扱われ、大手スーパー、鮮魚小売商へと流通する経路である。

(1)活魚として飲食店に流通する場合

ハマチやカンパチ、マダイ、ヒラメ等の養殖魚(活魚)は、各産地の漁業協同組合や漁業協同組合連合会が生産者に代って浜仲買商(出荷業者)に販売し、専用の輸送船または水槽を備えた専用トラックにより消費地の卸売市場へと輸送される。卸売市場では、卸商、仲卸商を経て飲食店に販売される。以上の工程の概略および主要な工程における細菌汚染(想定)について図3に示す。

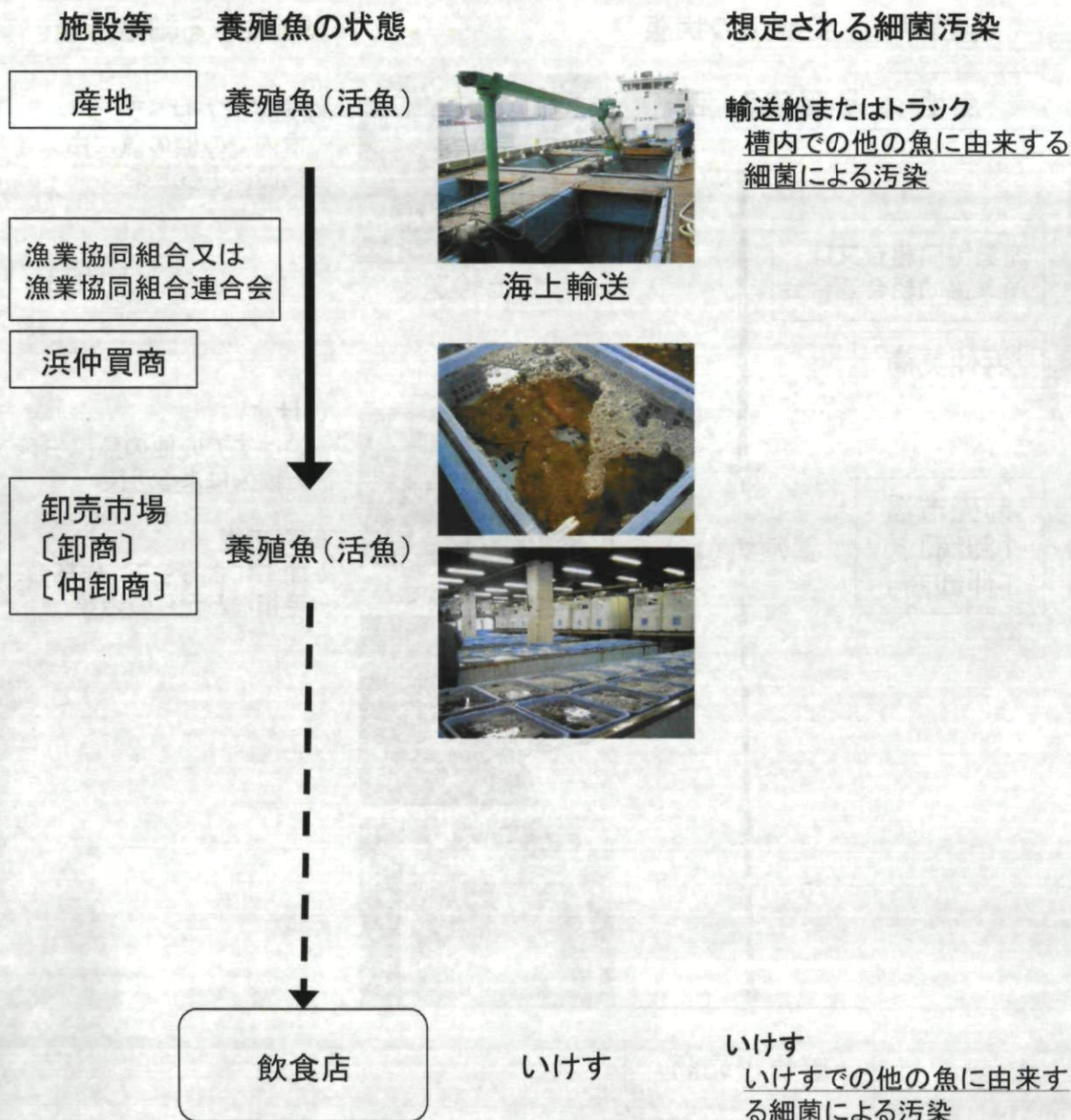


図3 活魚として飲食店に流通する場合

(2) 〆活魚として鮮魚小売商に流通する場合

ハマチやカンパチ、マダイ、ヒラメ等の養殖魚(〆活魚)は、(1)と同様に各産地の漁業協同組合や漁業協同組合連合会が生産者に代って浜仲買商(出荷業者)に販売し、専用の輸送船または水槽を備えた専用トラックにより消費地の卸売市場へ輸送される。卸売市場で〆られ、卸商、仲卸商を経て鮮魚小売店に販売される。以上の工程の概略および主要な工程における細菌汚染(想定)について図4に示す。

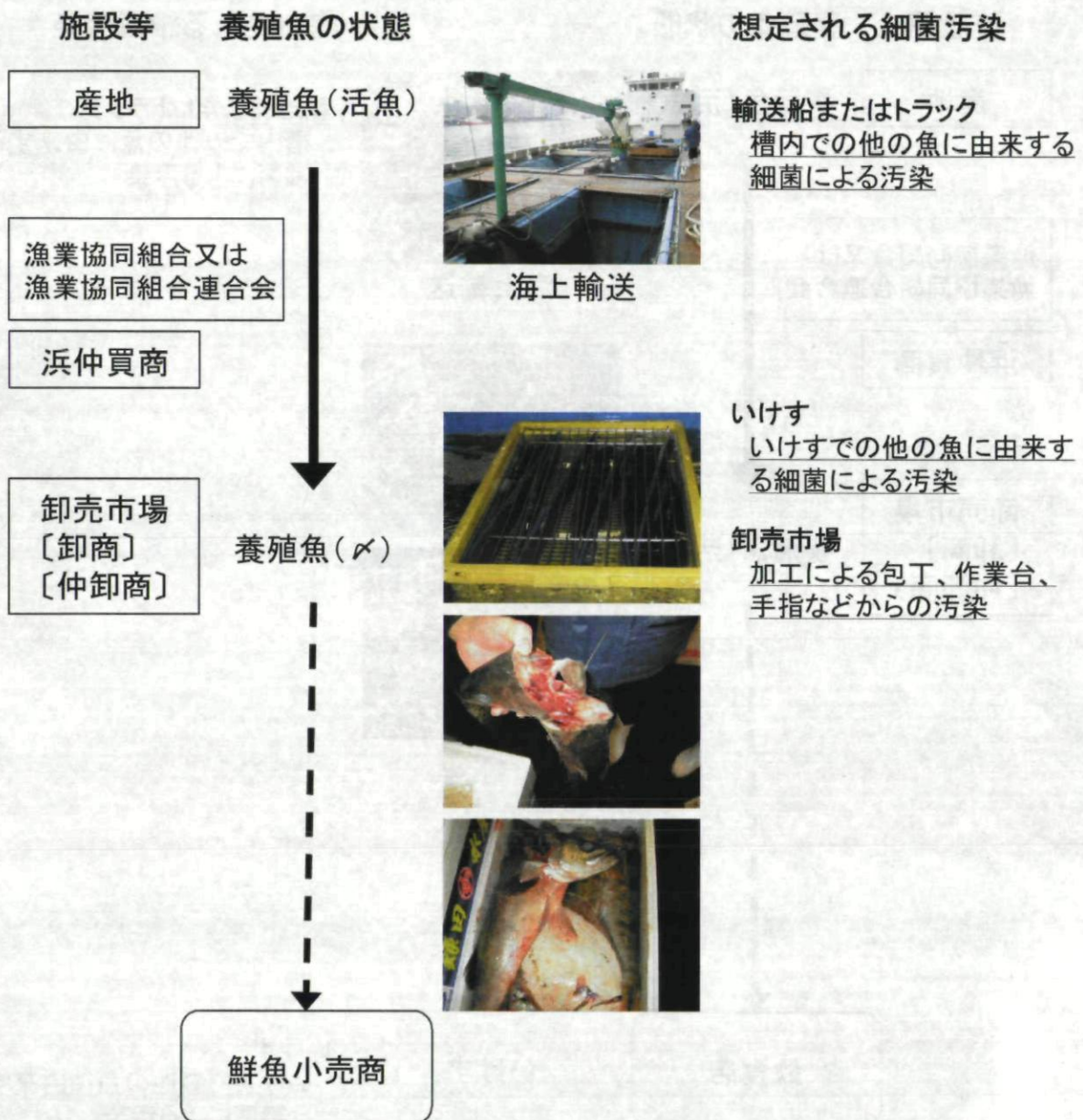


図4 〆活魚として鮮魚小売商に流通する場合

(3) 生産現場で扱われて流通する場合

各地域の産地で扱われたブリ等の養殖魚は、(1)と同様に各産地の漁業協同組合や漁業協同組合連合会が生産者に代って浜仲買商(出荷業者)に販売し、消費地の卸売市場へ保冷車(5℃前後)で輸送される。卸売市場では、卸商、仲卸商を経て大手スーパー、鮮魚小売店へ販売される。以上の工程の概略および主要な工程における細菌汚染(想定)について図5に示す。

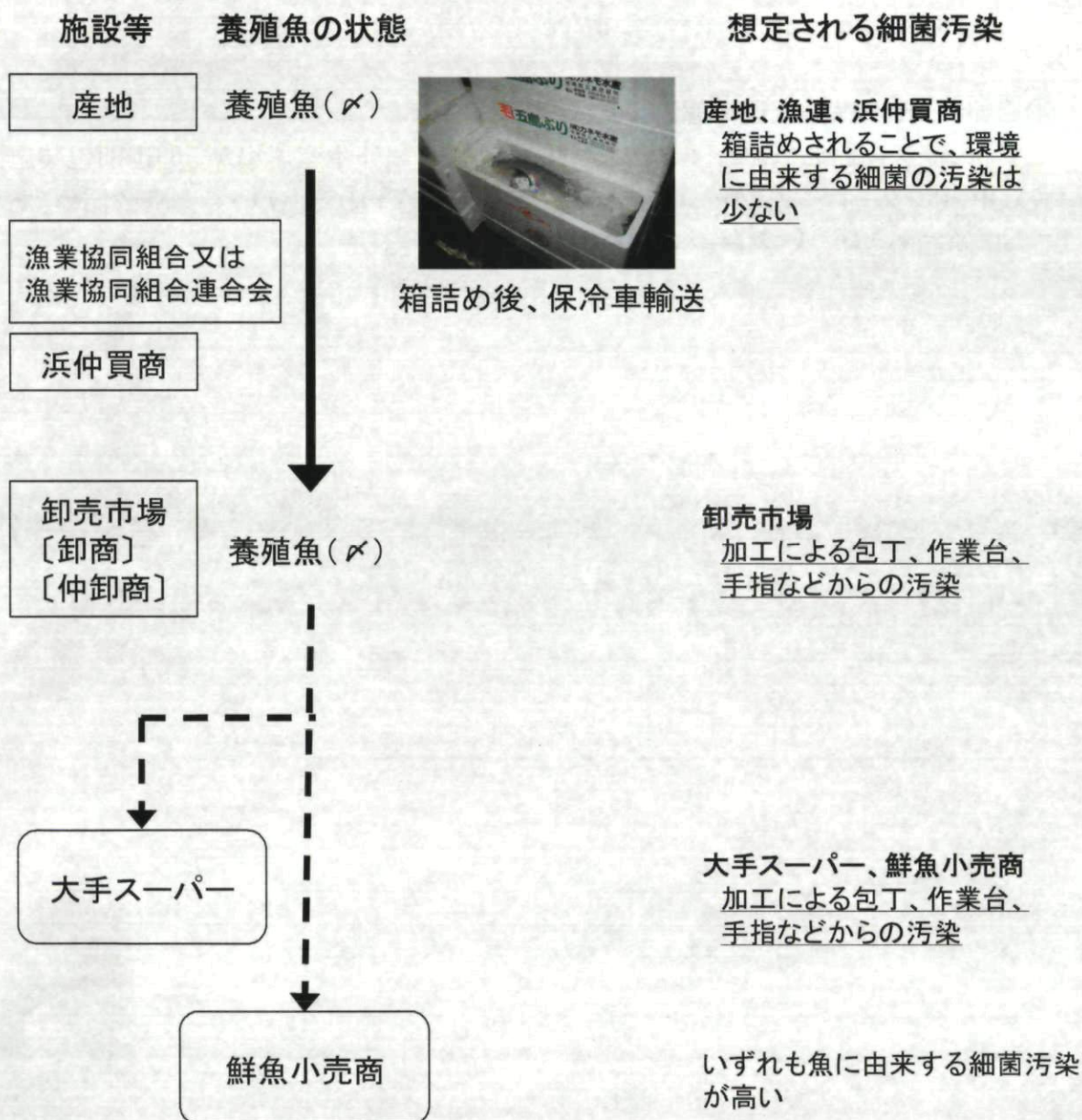


図5 生産現場で扱われて流通する場合

③-2 養殖魚の流通過程において想定される細菌汚染

養殖魚の流通過程において想定される細菌汚染には、以下の工程が考えられる。

○輸送船またはトラック：

槽内での他の魚に由来する細菌による汚染。

○いけす：

他の魚に由来する細菌による汚染。

○卸売市場、大手スーパー・鮮魚小売商：

加工による包丁、作業台、手指などからの汚染。

④鶏卵の流通経路、流通形態

鶏卵の流通経路の概略を図 6 に示す。各地域の鶏卵生産農場から卵選別包装施設 (GP センター) へ運ばれ、殺菌剤による洗浄が行なわれる。次いで、パック詰め、あるいは箱詰めされ、大手スーパー、飲食店等へ販売される。

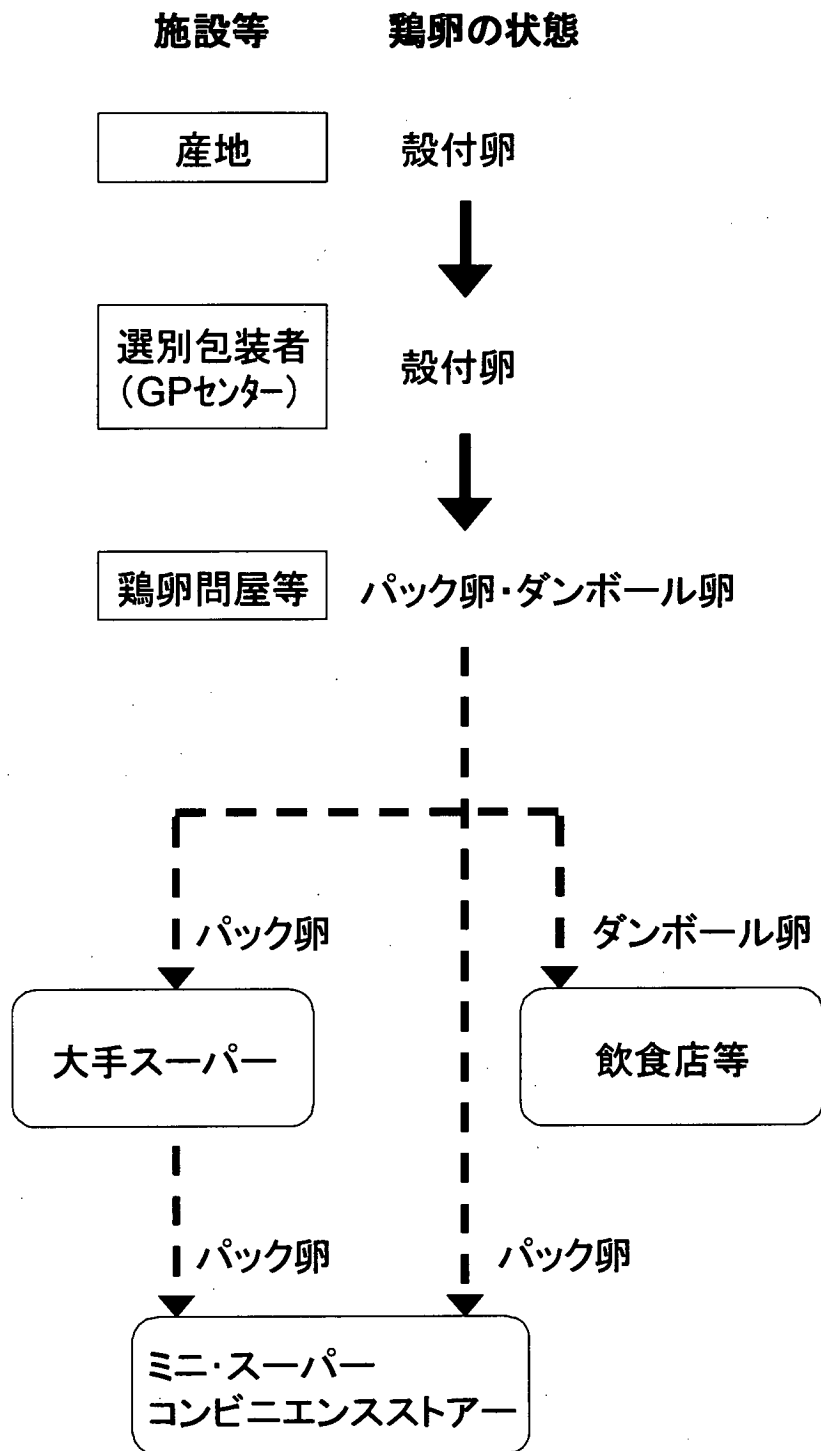


図6 鶏卵の流通経路

⑤大手スーパーにおける食肉および養殖魚の販売形態

4 箇所の大手スーパー店舗において、食肉および養殖魚の販売形態について調査した。市販商品に添付されるラベル一覧を添付資料2として添付した。

4.国内の食肉(牛肉、豚肉、鶏肉)、鶏卵、養殖魚、牛乳の Food Chain における微生物の規制とその効果

1)牛、豚、ブロイラーの飼育農場を対象にした微生物に関する規制

自主衛生管理が主体であり、牛、豚、ブロイラーの飼育農場を対象として微生物に関する法的な規制はない。農林水産省から平成 14 年に「家畜の衛生管理ガイドライン」が示された。本ガイドラインは HACCP に基づいた農場における衛生管理を推進し、家畜の生産段階から発生する可能性のある危害を明らかにして、その発生要因および発生を防止するための措置を行うシステムである。微生物学的危害要因としては家畜および家禽が保有するあらゆる病原微生物が対象となるが、危害の発生による影響が大きい微生物、発生頻度の高い微生物を優先的に対象微生物としている。乳・肉用牛ではサルモネラ、腸管出血性大腸菌 O157、豚ではサルモネラ、ブロイラーではサルモネラ、カンピロバクターある。

その他、生産現場に係わる法律として、「牛の個体識別のための情報の管理及び伝達に関する特別措置法」、「薬事法」、「飼料の安全性の確保及び品質改善に関する法律」、「家畜伝染病予防法」などがある。

2)と畜場を対象にした微生物に関する規制

「と畜場法」に基づきと畜場では獣畜(牛、馬、豚、めん羊、山羊)の適正な処置と必要な措置を行い、食品衛生上の危害発生を防止することとされている。また、と畜場法施行規則では洗浄・消毒、解体時の衛生管理に関する詳細な衛生管理の基準が定められている。本法律や施行規則は、安全性の高い衛生管理を求めて、何度も改正となり、食肉に起因する人への健康障害のリスク低減がはかられてきた。例えば、係留所および生体検査所の衛生管理として、獣畜の糞便などの処理、体表に付着する糞便の除去、病原菌汚染を防止するために腸管を結紮すること、と体に接触するナイフなどは一頭ごとに 83℃以上の温湯で洗浄消毒すること、冷蔵設備は 10℃以下の管理と温度測定記録の保持などの微生物を考慮した対策が定められている。と畜場法に基づいて、生体検査や内臓検査などが実施され、人畜共通感染症や全身性疾患などが疑われたものについては細菌学的な検査などが実施されている。また、食品衛生法に基づいて細菌数、大腸菌数、黄色ブドウ球菌、サルモネラ、O157 などの検査が実施されている。

平成 14 年 6 月には「牛海綿状脳症対策特別措置法」が制定された。この法律は牛海綿状脳症の発生の防止と蔓延の防止をするために特別措置が定められた。微生物対策を目的に制定された法律ではないが、と場内での解体などの規制があり、間接的には微生物制御にも影響する。

3) 食鳥処理場を対象にした微生物に関する規制

平成 2 年に食鳥肉等に起因する衛生上の危害の発生を防止するために、「食鳥処理の事業の規制及び食鳥検査に関する法律」(食鳥検査制度)が施行された。大動物に対しては上記のごとく昭和 28 年にと畜場法が制定されたが、食鳥肉に対する法規制が施行されていなかったが、食鳥肉による人の健康被害防止を目的に制定された。食鳥処理の事業の許可、衛生管理の基準、食鳥検査などが定められ、病鶏の排除、抗菌物質の残留や病原菌汚染の低減化がはかられた。

4) 食肉製造業、レストラン、集団給食施設、販売店を対象にした微生物に関する規制

食肉製造業、レストラン、集団給食施設および販売店における微生物汚染を規制する法令は「食品衛生法」である。本法律は社会的要因により何度も改正がなされてきた。食肉の微生物制御に係わる部分では、平成 5 年に食品衛生法施行規則の一部改正によりハム、ソーセージなど食肉製品に対する規格基準があらたに制定され、細菌数、大腸菌群数、*E.coli*、芽胞数、クロストリジウム属菌、サルモネラ属菌、黄色ブドウ球菌の検査が求められた。平成 8 年の O157 大流行に際して、食品衛生法施行規則の一部改正により食品の加熱条件は中心温度が 75℃、1 分以上あるいはこれと同等の効果が得られる方法とされ、O157 が完全に死滅する加熱条件にされた。平成 10 年には生食用食肉の安全性確保として糞便系大腸菌検査が義務化された。平成 13 年には表面の細菌が肉内部に刺し込まれるテンダライズ処理等を行ったステーキ肉による広域的 O157 食中毒の発生がみられた。肉内部に調味液や脂肪などを注入したものあるいは肉内部の繊維を切断するなどの処置を施した加工肉は、肉内部に細菌の汚染が拡大するおそれがあるために、これらの加工食肉に対して表示が義務化された。乳工場と同様に食肉製造業に対しても総合衛生管理製造過程の承認を得ることも出来る。

「食品衛生法」による法規制以外に、自主管理の基準として弁当や惣菜については昭和 54 年の「弁当及び惣菜の衛生規範」による指導基準がある。集団給食施設には平成 9 年に「大量調理施設衛生管理マニュアル」を策定し、加熱調理の温度管理など HACCP システムを考慮した微生物対策が推進されてきた。

最近では各自治体が集団給食施設、レストラン、仕出し弁当あるいは小規模食品工場を対象として、各種の自主管理認定制度を導入し、衛生管理の向上を図っている。例えば、東京都では平成 15 年に「食品衛生自主管理認定制度」を設立し、集団給食施設、飲食店、寿司店などを対象に認定を行っている。同様に北海道、栃木県、埼玉県、静岡県、兵庫県など各自治体でも独自の認定制度があり、リテールにおける衛生管理の向上を目指している。

5) 鶏卵の Food Chain における微生物による規制

採卵養鶏場を対象にした微生物に関する規制:産卵養鶏場に対する法規制はない。鶏卵を原因食品とするサルモネラ食中毒の増加に伴い、農林水産省から種鶏場、産卵養鶏場に対する衛生管理に関する対策が進められてきたが、平成 14 年には「家畜の衛生管理ガイドライン」が示された。本ガイドラインでは産卵鶏のサルモネラ (*S.Enteritidis*) 制御が重要であることから、サルモネラ対策に重点がおかれている。さらに、平成 17 年 1 月には農林水産省から「鶏卵のサルモネラ総合対策指針」の課長通知が出された。これまでも鶏卵を原因とする *S.Enteritidis* 食中毒の激増に対処するために、農林水産省からは産卵養鶏場の衛生対策指針が示されていたが、このたびの通知では一般的衛生対策の他に HACCP を重視した対策が盛り込まれているし、モニタリングやそれに伴う具体的な検査法が明記されている。

GP センター、液卵工場および鶏卵を対象とした微生物に関する規制:平成 4 年に鶏卵を原因とするサルモネラ食中毒発生の対策として、元厚生省は卵およびその加工品の衛生の向上を図るために、「卵及びその加工品の衛生対策について」を通知した。平成 5 年には「液卵の製造等に係わる衛生確保について」が通知され、原料卵、洗卵工程、殺菌条件、液卵の保存温度などを定め、液卵に係わる衛生上の危害の発生防止対策とした。平成 10 年にはこれまでの対策ではサルモネラ (*S.Enteritidis*) 食中毒が減少していないことから、「食品衛生法施行規則を一部改正」し、鶏卵の表示、食品一般の製造基準に鶏卵の基準を追加、液卵の規格基準を制定した。殻付き卵では消費期限(賞味期限)の表示、生食用の表示、10℃以下の保存などである。

GP センターの衛生管理についても「卵選別包装施設の衛生管理要領」を定め、関係事業者の指導要綱とした。原料卵の受け入れ、保管、洗卵条件、検卵、包装、表示などが定められている。

6) 牛乳の Food Chain における微生物に関する規制

食品衛生法に従い、乳及び乳製品については「乳及び乳製品の成分規格等に関する省令」が昭和 26 年に制定された。社会要望により何度の改訂が繰り返され、現在はより高度な衛生管理が定められている。特に微生物制御としては成分規格や製造基準が制定されている。この法律により市販牛乳及び乳製品はすべて法に基づいて殺菌がなされ、未殺菌牛乳の流通が禁じられている。乳および乳製品はすべて大腸菌群陰性でなければ市場に出荷できないし、また、微生物の増殖防止として 10℃以下の保存とする保存基準が定められている。その他、消費期限(賞味期限)や表示義務がある。

乳工場では、製造又は加工の方法およびその衛生管理の方法につき食品衛生上の危害の発生を防止するための措置が総合的に講じられた製造や加工が構築された施設に対して「食品衛生法」に従い「総合衛生管理製造過程」の承認を得ることが出

来る。本システムは国際的に認められている HACCP に従った衛生管理システムであり、人の健康被害となるサルモネラ、O157 等の病原菌や残留抗生物質などの危害要因の排除である。

7) 魚市場(養殖魚)を対象にした微生物に関する規制

魚市場あるいは養殖魚のみを特定した法的規制はないが、「食品衛生法」の法令に従った衛生管理を推進しなければならない。平成 13 年には腸炎ビブリオ食中毒防止のために食品衛生法施行規則の一部改正がなされ、表示基準、成分規格、加工基準、保存基準が制定された。魚市場で魚体などの洗浄に用いる水は滅菌海水あるいは飲料水適の水を使用し、水からの微生物汚染が防止された。生食用の魚介類は 10℃以下の保存が義務化され、微生物の増殖防止対策がとられた。

8) 家庭における衛生管理

特に家庭における衛生管理に関する法的な規制はない。しかし、消費者としても衛生管理を疎かにすることは出来ない。家庭で行う衛生管理のガイドラインとして、厚生労働省のホームページに「家庭で行う HACCP」がある。食品の購入、家庭での保存、下準備、調理、食事、残った食品などについて分かりやすく解説してある。また、前述の平成 10 年の卵表示等に関する元厚生省通知に家庭における卵の取り扱いが重要であることから「家庭における卵の衛生的な取り扱い」が示された。これに基づき、都道府県等においては消費者への普及啓発活動に活用されている。

5. 微生物の規制による効果の実際

各種の法的規制や自主管理のガイドライン或いは自治体による高度な衛生管理を行っている施設の認定などが施されており、これらに従った微生物制御が実施されている。さらに平成 15 年に制定された「食品安全基本法」の基本理念の一つは農産物の生産から食品の消費までの食品供給工程の各段階における安全性の確保である。そして国・地方自治体の責務の他に、食品関係者は食品の安全性確保が第一義的な責務であることを明確にした。現在はこれらの国や地方自治体の指導により各事業者は自主管理が積極的に推進されてきている。各種の微生物に対する対策の結果、その実際の効果は個々の規制よりもむしろ総合的な取り組みにより効果が現れているものと判断される。

1) 微生物による食中毒発生状況からの評価

平成元年以降増加をするサルモネラ(*S. Enteritidis*) 食中毒は鶏卵を原因とし、平成 10 年では 314 件(患者 2 名以上の事例)、患者数が 11,028 名となったが、平成 11 年以降減少の傾向が見られ、14 年では 173 件、患者数が 5,541 名である。本食中毒の

減少は生産段階である養鶏場、GP センター、流通、リテールなどに対する鶏卵の衛生管理の推進による行政効果が高いと考えられる(総 40,41,42)。

平成 8 年の全国規模による O157 食中毒もその後の食肉に対する衛生管理の向上により、著しく減少し、年間 20 件以内の発生となってきた。特に、と場の衛生管理の推進、例えば、腸管の結紮により腸内容物のと体への微生物汚染が防止され、以前に増してより安全性が向上している。平成 8 年の全国レベルでの腸管出血性大腸菌 O157 の流行後、と場での O157 検査し、本菌汚染と体の流通制限の措置がとられた。

腸炎ビブリオ食中毒は常に一位の座を占めていたが、平成 12 年以降減少をしてきた。魚獲時や魚市場からの対策、温度管理や腸炎ビブリオの規格基準の設定の効果が現れてきたものと考えられる。

カンピロバクター食中毒に関してはブロイラー飼育場、食鳥処理場などの衛生対策の遅れから、食中毒としては残念ながら増加傾向にある。

乳・乳製品に対しては厳しい法令があり、乳工場では法令が遵守されており、近年では市販牛乳による食品事故は異臭事故例以外ほとんどない。

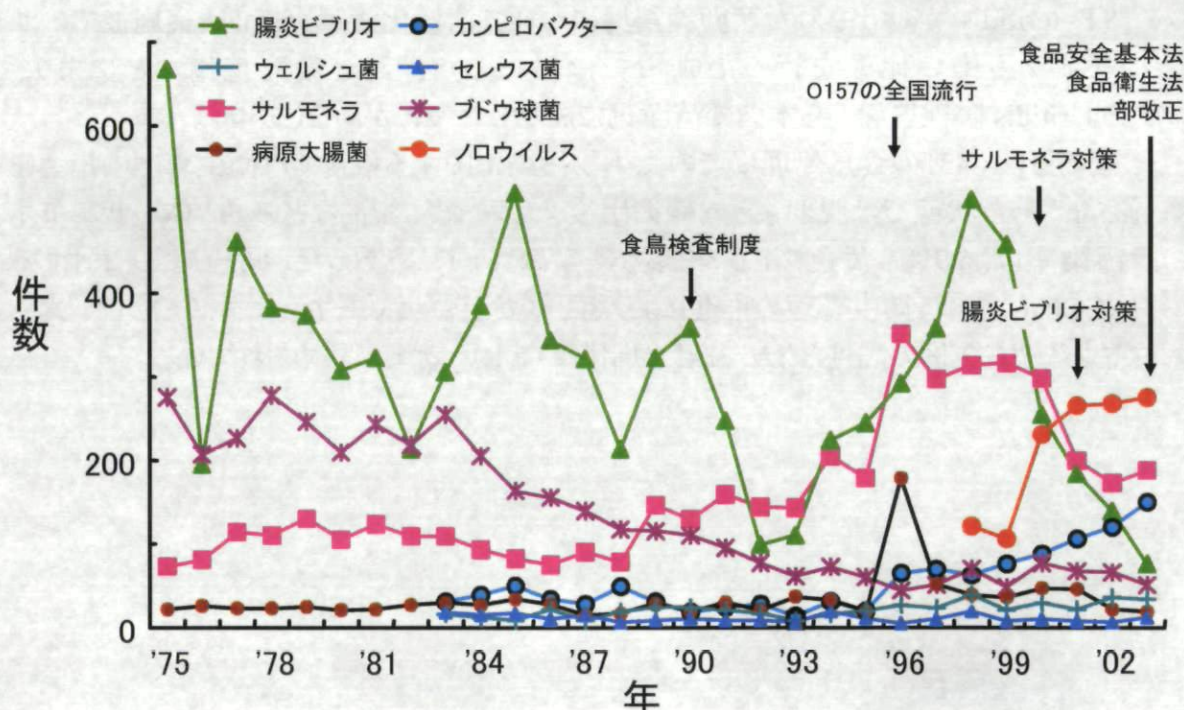


図7 わが国における主な細菌性食中毒の発生状況

厚生労働省食中毒統計より

患者2名以上の事例(1975~2003)

2) 微生物検査からの評価

米国やオーストラリアでは挽肉の O157 汚染の推移に関する政府機関の公式な発表があり、政策の評価がなされている。しかし、我が国では微生物制御に関する法的な制定(指導基準)前後での生産段階や食品工場あるいは製品に対する微生物検査

による科学的な評価はなされていない。

個々の研究者により食品の微生物汚染の実態報告があるが、検査方法が報告者により異なっているし、対象の母集団にも統一性がなく、データを比較することが極めて困難である。また、サルモネラやカンピロバクターなどの病原菌を対象とした調査はあるが、大腸菌や腸球菌の年次別推移に関する調査報告は公表されたものがない。

これまでに報告されたデータの一部を記載する。と畜解体直後の牛豚枝肉の生菌数は、昭和56年の報告では1cm²当たり10⁴から10⁶であったが、平成12年の報告では1cm²当たり10²程度であり、微生物汚染の減少が見られる(成28,資29)。市販鶏肉のカンピロバクター汚染は食鳥検査制度施行前の報告では20-50%と極めて高い成績であったが、食鳥検査制度施行後の平成8-9年の東京都の報告では12-19%とあり、カンピロバクター汚染率の減少が見られる(成6,7)。しかし、養鶏場におけるカンピロバクター汚染は食鳥検査制度前後での比較では特に有意な差がない。昭和45年から平成15年間に実施された調査によるとカンピロバクター陽性養鶏場(戸数)は58-66%である。

S.Enteritidis が検出された産卵養鶏場について清浄化対策実施前と実施後でのサルモネラ汚染の比較を行った成績では徹底した消毒と環境整備などにより、S.Enteritidis 陽性農場から本菌の清浄化に成功した報告がある(総44)。

豊島ら(総43)の食鳥処理場での微生物汚染に関する報告では衛生管理の指導を施さなかった状態では脱羽後、内臓摘出後、チラー後、製品などの鶏と体のサルモネラ汚染率は6.9%、黄色ブドウ球菌汚染率は61.1%であった。同一施設に対するHACCPに基づく衛生管理の推進により鶏と体表面のサルモネラはすべて陰性、黄色ブドウ球菌も2例の陽性となり、微生物制御の著しい効果が認められている。

III. 試験調査プロトコル

1. サンプルング方法

1) 施設の要件と施設数

消費直前の食品を取り扱い、かつ容易に入手が可能であり、トレーサバックが可能な、複数の店舗を有する大手量販店をサンプルングの施設とする。また個々の大手量販店においては、プライベートブランドを含め数種の銘柄しか販売していないことが多いことから、複数の大手量販店の施設を対象とする。

2) 対象食品の種類

国産の畜水産食品の中で、消費直前の食品の牛肉、豚肉、鶏肉、養殖魚肉、鶏卵、牛乳の 6 種を対象食品とする。また牛肉、豚肉、鶏肉、養殖魚肉については加熱調理等がなされていないパック詰めされた商品(最低 300g)を、鶏卵については 10 個入りのパックを、牛乳については 1L のパックを対象とする。原産地(「北海道産」「沖縄県産」など)が記載されて産地が特定できるものを対象とし、単に「国産」と表示されているものは対象としない。

3) 採材方法

対象食品の包装容器及び原産地等が記載されたラベルが破損又は損傷していないことを確認する。異物混入、対象食品が微生物によって汚染されないように採材する。

4) 試料の輸送方法及び保管方法

サンプルングした対象食品(試料)は、サンプルング時の状態を可能な限り維持し、以下の点を注意して運搬し、保管する。

- 試料を入れる容器は、試料の種類、形状等を考慮した形状のもので、運搬、洗浄および滅菌に便利なものを用いる。
- 試料の汚染、破損、損傷および取り違い等が生じないように注意する。
- 8℃以下に保冷し(凍結しない。)、サンプルング後可能な限り速やかに試験に供試する。
- 試料に添付されているラベルを保管すると共に記載事項(「名称」、「原産地」、牛肉においては「個体識別番号」)を記録する。サンプルングの実施日時、対象施設の住所および店舗名を記録する。

5) 試料数

対象食品からの対象細菌の検出率のデータを参考にして試料の総数を算出し、対象食品の都道府県別生産量のデータを参考にして生産量が多い都道府県の食品を優先的にサンプルングする。

①対象細菌の検出率と試料総数

対象食品からの対象細菌の検出率については、当事業の検討会においてこれまで報告されているデータを基に検討し、表 1 に示した。大腸菌の検出率は鶏肉で 35.9%(総 38)、牛肉で 53.7%(資 28)、豚肉で 69.1%(資 28)である。腸球菌の検出率は鶏肉で 100%(腸 56)である。サルモネラの検出率は鶏肉で 11.7%(総 32)、鶏卵では 0.002%(サ 86)、牛肉で 2.5%(資 28)、豚肉で 2.0%(資 28)である。カンピロバクターの検出率は鶏肉で 20%(総 32)、牛肉で 1%(成 27)である。

また第 1 回検討会において、薬剤感受性試験の供試株数は 100 株以上必要であるとした。対象細菌の検出率をもとに 100 株以上の供試株が得られるような試料数を算出した。その結果は表 2 のとおり、大腸菌を 100 株以上得るために必要な牛肉は 187 件、豚肉は 145 件、鶏肉は 279 件以上である。腸球菌を 100 株以上得るために必要な鶏肉は 100 件以上である。サルモネラを 100 株以上得るために必要な牛肉は 4000 件、豚肉は 5000 件、鶏肉は 855 件、鶏卵は 5,000,000 件以上である。カンピロバクターを 100 株以上得るために必要な牛肉は 10,000 件、豚肉は 7,143 件、鶏肉は 500 件以上であった。検出率が低い食品と細菌の組み合わせによっては、非常に多くの採材を必要とした。

表1 食品からの対象細菌検出率

	大腸菌	腸球菌	サルモネラ	カンピロバクター
牛肉	53.7		2.5	1.0
豚肉	69.1		2.0	1.4
鶏肉	35.9	100.0	11.7	20.0
養殖魚				
鶏卵			0.002	0
牛乳	0	0	0	0

(%)

表2 100株以上の供試株を得るために必要な試料数

	大腸菌	腸球菌	サルモネラ	カンピロバクター
牛肉	187		4,000	10,000
豚肉	145		5,000	7,143
鶏肉	279	100	855	500
養殖魚				
鶏卵			5,000,000	0
牛乳	0	0	0	0

(件)

②対象食品別の試料数

各食品について都道府県別の生産量のデータを入手し、生産量を反映して試料

数を平準化した。各食品の都道府県別生産量および各細菌を 100 株以上分離するために必要とされる試料数を表 3 から表 7 および表 9、10 に示した。養殖魚については対象細菌の検出率のデータがないことから、100 株以上の供試株を得るために必要な試料数(件)は空白とした。今後、データの収集が望まれる。

牛肉、豚肉の都道府県別の生産量は、財団法人日本食肉消費総合センターが発行している「銘柄牛肉ハンドブック」(資 7)および「銘柄豚肉ハンドブック」(資 8)、鶏肉については農林水産統計「平成 16 年食鳥流通統計調査結果の概要」(資 2)、養殖魚については農林水産統計「平成 16 年漁業・養殖業生産統計(概数)」(資 1)、鶏卵については農林水産統計「鶏卵流通統計(平成 17 年 10 月～12 月分)」(資 4)、牛乳については農林水産統計「牛乳乳製品統計(平成 18 年 1 月分)」(資 3)を用いて情報を収集、整理し、サンプリング試料数を決定した。

また鶏卵を除く他の対象食品は、上位 10 県で生産量の過半数を占め、一般的に消費量を反映すると考えられる。さらに生産量の低い地域の食品は、サンプリングできない可能性があることから、生産量の高い県を優先的にサンプリングすることとする。

表3 銘柄牛肉の都道府県別割合と試料数

都道府県	比率(%)	100株以上の供試株を得るために必要な試料数(件)			
		大腸菌	腸球菌	サルモネラ	カンピロバクター
北海道	17.2	53		1124	2810
熊本	9.9	30		648	1623
群馬	6.6	20		432	1082
山形	5.4	17		353	885
宮崎	4.9	15		320	803
長野	4.5	14		294	734
長崎	4.1	13		268	667
岩手	3.0	9		196	487
静岡	2.8	9		183	454
兵庫	2.8	9		183	454
試料総数		187		4000	10000

表4 銘柄豚肉の都道府県別割合と試料数

都道府県	比率(%)	100株以上の供試株を得るために必要な試料数(件)			
		大腸菌	腸球菌	サルモネラ	カンピロバクター
群馬	16.8	35		1169	1670
鹿児島	13.1	26		911	1301
神奈川	6.8	14		473	676
山形	6.4	13		445	636
岩手	6.3	13		439	626
栃木	6.2	12		431	616
宮崎	5.0	10		347	497
茨城	4.5	9		313	447
新潟	3.7	7		257	367
沖縄	3.1	6		215	308
試料総数		146		5000	7143

表5 プロイラーの都道府県別割合と試料数

都道府県	比率(%)	100株以上の供試株を得るために必要な試料数(件)			
		大腸菌	腸球菌	サルモネラ	カンピロバクター
鹿児島	18.8	72	26	217	127
宮崎	18.2	69	24	209	123
岩手	15.1	56	20	173	100
青森	5.8	21	8	67	38
北海道	4.5	17	6	51	30
徳島	3.2	12	4	37	21
佐賀	2.6	10	3	29	17
熊本	2.3	8	3	26	15
兵庫	2.1	8	3	24	14
鳥取	2.0	6	2	23	13
試料総数		279	100	855	500

表6 鶏卵都道府県別生産割合と試料数

都道府県	生産量(t)	比率(%)	100株以上の供試株を得るために必要な試料数(件)			
			大腸菌	腸球菌	サルモネラ	カンピロバクター
茨城	172087	7.0			718854	0
鹿児島	162554	6.6			679375	0
千葉	159655	6.5			667259	0
愛知	133821	5.4			559289	0
広島	114035	4.6			476595	0
北海道	105738	4.3			441758	0
岡山	96612	3.9			403278	0
青森	89009	3.6			371502	0
新潟	84726	3.4			353602	0
群馬	78717	3.2			328488	0
試料総数					5000000	0

表7 牛乳都道府県別生産割合と試料数

都道府県	生産量(t)	比率(%)	100株以上の供試株を得るために必要な試料数(件)			
			大腸菌	腸球菌	サルモネラ	カンピロバクター
北海道	327917	46.9	0	0	0	0
栃木	27776	4.0	0	0	0	0
千葉	24639	3.5	0	0	0	0
群馬	23155	3.3	0	0	0	0
熊本	22860	3.3	0	0	0	0
愛知	21644	3.1	0	0	0	0
岩手	21267	3.0	0	0	0	0
茨城	15899	2.3	0	0	0	0
宮城	13122	1.9	0	0	0	0
兵庫	11574	1.7	0	0	0	0
試料総数			0	0	0	0

表8 海面養殖業魚種別収穫量

魚種	漁獲量(1000t)	比率(%)
海面養殖業計	1216	
魚類計	261	100.0
ぶり類	150	57.5
まだい	81	31.0
ぎんざけ	10	3.8
その他の魚類	7	2.7
ひらめ	5	1.9
ふぐ類	4	1.5
まあじ	3	1.1
しまあじ	3	1.1

表9 海面養殖業都道府県主要魚種別収穫量(ぶり類)と試料数

都道府県	ぶり類(100t)	比率(%)	100株以上の供試株を得るために必要な試料数(件)			
			大腸菌	腸球菌	サルモネラ	カンピロバクター
鹿児島	540	36.1				
愛媛	292	19.5				
大分	134	9.0				
長崎	118	7.9				
香川	100	6.7				
高知	83	5.6				
宮崎	83	5.6				
熊本	74	4.9				
徳島	25	1.7				
三重	10	0.7				
試料総数						

表10 海面養殖業都道府県主要魚種別収穫量(まだい)と試料数

都道府県	まだい(100t)	比率(%)	100株以上の供試株を得るために必要な試料数(件)			
			大腸菌	腸球菌	サルモネラ	カンピロバクター
愛媛	378	47.0				
熊本	94	11.7				
三重	82	10.2				
高知	62	7.7				
長崎	59	7.3				
和歌山	45	5.6				
佐賀	18	2.2				
大分	18	2.2				
香川	13	1.6				
静岡	11	1.4				
試料総数						

6) 大手スーパー以外からのサンプリング

なお、消費者が直接購入する店舗でのサンプリングを主体とするが、と畜場から出荷されて食肉工場、販売店などを經由することにより、加工工程、輸送時、包装時などの環境、器具、機材あるいはヒトからの細菌汚染を完全には無視することができない。検討委員会の見解から、販売店からのサンプリングの他に、トレースバックが可能なサンプリングも導入する。牛肉、豚肉については協力が可能なと場や食肉工場、あるいは食肉センター協議会等と連携し、と体表面、カット肉、小売肉についてトレースバック可能な方法で材料をサンプリングする。と体表面のふき取り部位は各々20検体とする。さらに同一と場から出荷されたカット肉表面のふき取り、ならびに同一ルートの販売店の肉各々20検体とする。

2. 試料からの細菌の分離及び同定方法

1) 対象菌種

- a 大腸菌
- b 腸球菌およびバンコマイシン耐性腸球菌
- c サルモネラ属菌
- d 腸管出血性大腸菌 O157:H7/-
- e カンピロバクター属菌 (*C. jejuni*, *C. coli*)

ただし、腸管出血性大腸菌 O157 は豚肉、鶏肉、養殖魚、卵、牛乳からの検出がこれまでのところ殆ど報告されていないので、牛肉からの分離方法を示した。

2) 分離方法及び同定方法

食品からの細菌及び病原菌の検査法に関しては国内の検査指針である食品衛生検査指針微生物編(2003年)(成1)、腸管系病原菌検査法(善養寺浩、坂井千三、寺山武、工藤泰雄、伊藤武ら、医学書院、1985)(成2)、米国の Bacteriological Analytical Manual(FDA, 2005)(資 23-27)、Culture Media for Food Microbiology (Coorry, J.E.L., Curtis, G.D.W. and Baird, R.M.: Elsevier, 1995)(成9)などの成書を参考とした。また、米国、カナダ、デンマーク、スウェーデンから報告されている食品由来細菌の薬剤耐性モニタリング(成 17-19, 23)に記載されている方法、あるいは各研究者により論文として報告されている食品からの細菌の分離方法を参考とした。

① 検査試料の調整

- a 牛肉、豚肉、鶏肉、養殖魚

それぞれ 200g を秤量し、リン酸緩衝液 200ml を加え、ストマッカーで1分間リンスした液を検査用試料とする。

と体表面のふき取り検査では拭き取った綿棒を 20ml のリン酸緩衝液に浮遊させ、試料とする。

- b 鶏卵

1パック10個入り鶏卵から無作為に5個を選び、卵殻表面を消毒用アルコールで消毒し、35℃、18-24時間保管し、再度卵殻を消毒用アルコールで消毒し、滅菌容器に割卵してよく混和後、本液卵を検査用試料とする。

- c 市販牛乳

1L入りパック牛乳を検査用試料とする。

②細菌の検出法と同定方法

a 大腸菌

食品衛生検査指針や米国 FDA マニュアルでは汚染指標菌としての大腸菌群の検査法が主体であり、食品からの大腸菌検査に関しては満足できる方法でないことから、本調査では米国の食品由来細菌の薬剤感受性モニタリング試験法を基に、国内で広く使用されている培地などに変更した。

食品からの大腸菌検出法を図 8 に示した。すなわち、各試料を直接分離培養として大腸菌の選択分離培地である DHL 寒天と大腸菌検索の酵素基質培地である ES コリーマーク寒天に塗抹し、35℃、18-24 時間培養する。一方、試料の 1ml を EC 培地 (10ml 分注) に接種し、大腸菌の培養温度である 44.5℃、22-24 時間培養後 DHL 寒天および ES コリーマーク寒天で、分離培養を行い、35℃、18-24 時間培養する。分離寒天培地上で大腸菌を疑う集落について図 8 に示す各種の生化学的性状試験を実施し、下記の性状を示したものを大腸菌とする。

TSI 培地 斜面:分解/非分解、高層:分解、硫化水素非産生、ガス産生/非産生	
LIM 培地 リジン脱炭酸試験陽性、インドール試験陽性あるいは陰性、運動性陽性	
シモンズのクエン酸塩培地	陰性
SIM 培地	IPA 反応陰性
VP 半流動培地	VP 反応陰性
チトクロムオキシダーゼ	陰性

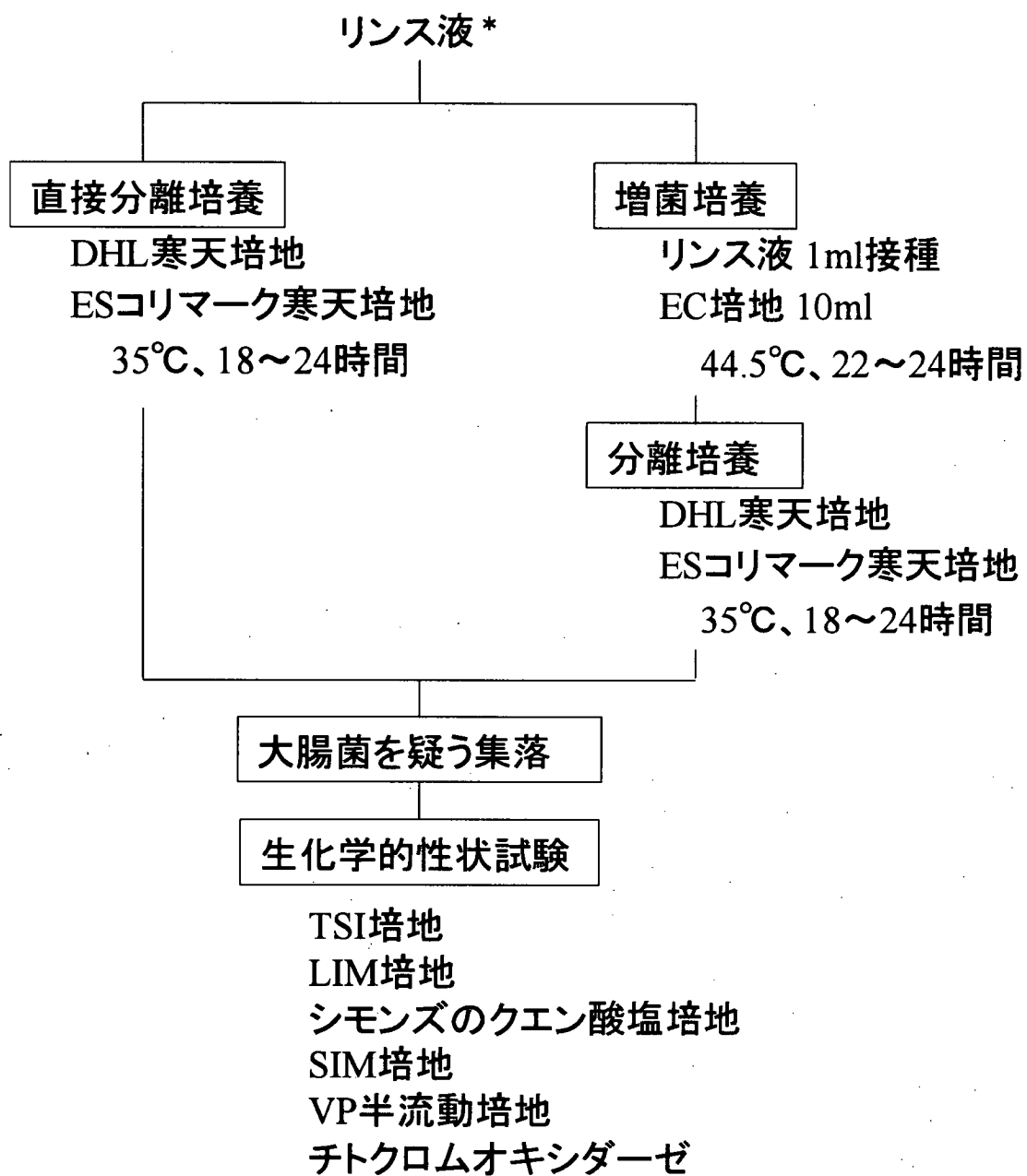


図8 大腸菌の検査方法

* 卵についてはサルモネラ用に割卵混合試料を用いる
 牛乳については、そのまま試料とする

b 腸球菌およびバンコマイシン耐性腸球菌

本調査においては国内の家畜からのモニタリング試験、あるいは自然界(家畜、家禽、食品)での分布状況、あるいは諸外国の報告に従い、対象とする腸球菌は *E.faecalis* および *E.faecium* の2菌種とする。

食品からの腸球菌検出法については諸外国のモニタリング調査法と併せて報告書末尾に示した藤瀬ら(腸56)、土肥ら(腸53)、石崎ら(腸51)、Rizzotti *et al.*(腸44)、Gambarotto *et al.*(腸40)、Pavia *et al.*(腸49)、Klein(腸34)の論文、さらに、池康嘉先生から提供された資料(添付資料8)を参考とした。

試料を Enterococcosel 培地およびバンコマイシンを 3 μ g/ml 添加した Enterococcosel 培地に塗抹し、35 $^{\circ}$ C、48 時間培養する。一方、試料 1ml を Enterococcosel ブイヨン(10ml 分注)に接種し、35 $^{\circ}$ C、18-24 時間培養後 Enterococcosel 培地およびバンコマイシンを 3 μ g/ml 添加した Enterococcosel 培地に塗抹し、35 $^{\circ}$ C 48 時間培養する。疑わしい集落については図 9 に示す各種の生化学的性状により腸球菌の同定を行う。

グラム染色	陽性	球菌
45 $^{\circ}$ C 発育試験	発育	
6.5%食塩発育試験	発育	
Pyrrolidonyl arylamidase 試験	陽性	
カタラーゼ試験	陰性	

腸球菌と同定された菌株については Klein が報告したマンニトール、ソルビトール、アラビノースおよび 50 $^{\circ}$ C の発育試験を実施し、菌種同定を行なう。

	<i>E.faecalis</i>	<i>E.faecium</i>
マンニトール	+	+
ソルビトール	+	+/-
アラビノース	-	+
50 $^{\circ}$ C 発育	-	+

ただし、これらの性状試験により明確な菌種同定は困難であるが、スクリーニング試験として実施する。ただし、薬剤感受性試験により耐性菌と認められた菌株については遺伝子学的な試験により正確な菌種同定を行う。

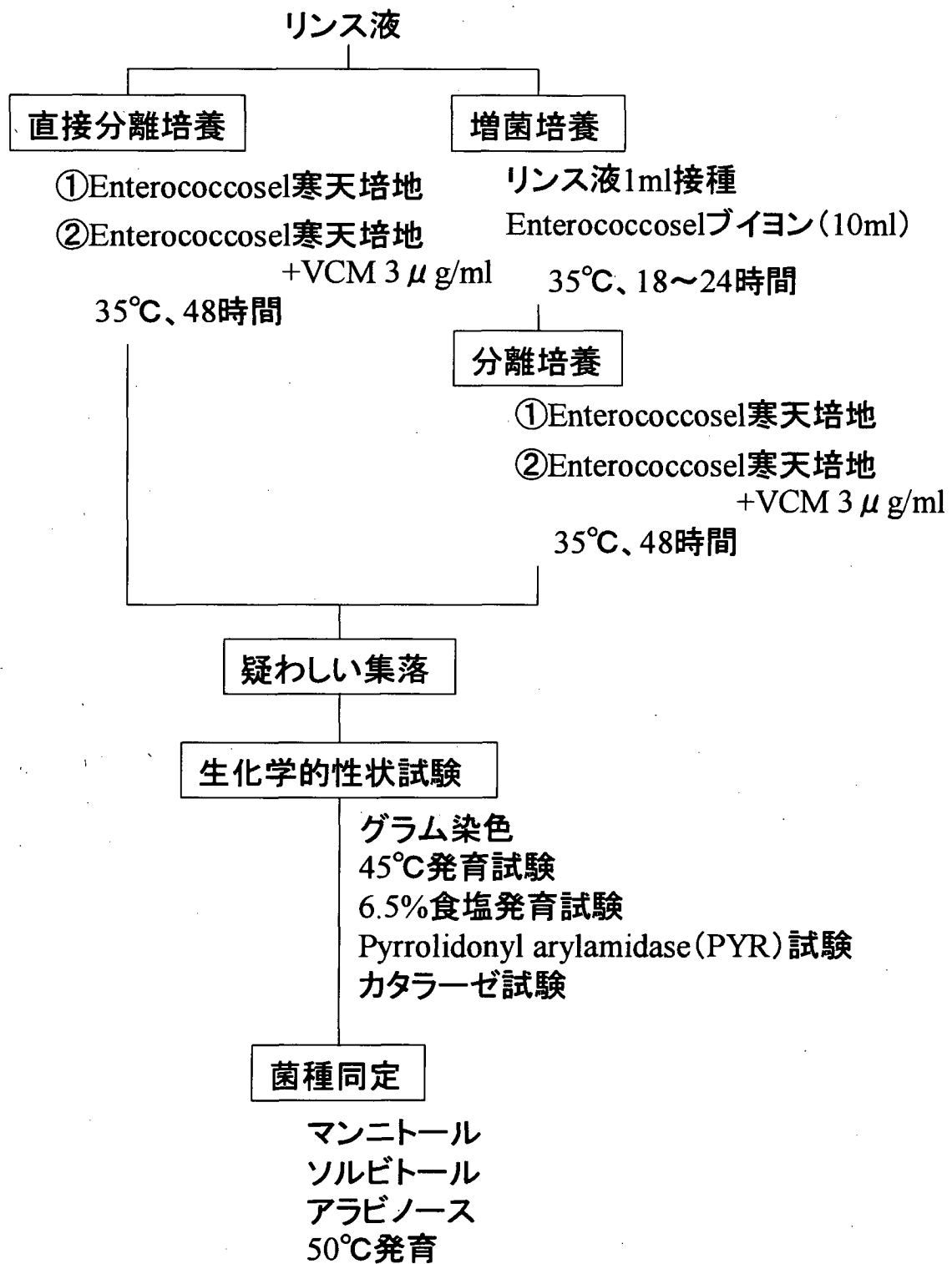


図9 腸球菌の検査方法

c サルモネラ属菌

食品からのサルモネラの検査法については食品衛生検査指針に示された方法が国際的な標準法に準じているのでこれに従った。また、鶏卵についても食品衛生検査指針に従う。食肉および養殖魚のリンズ液 80ml に 2 倍濃度の緩衝ペプトン水 80ml を加え、さらに緩衝ペプトン水を 40ml 加えて全量 200ml とする。本培地を 35°C、18-22 時間前培養を行い、本培養液 0.5ml をテトラチオン酸塩培地(10ml 分注)およびラパポート・バシリアデイス培地(10ml 分注)に接種し、43°C、18-22 時間選択増菌培養を行う。分離用培地としてはMLCB 寒天培地とES サルモネラ寒天培地を併用する。両平板で疑わしい集落については生化学的性状試験によりサルモネラを同定する。下記の性状を示したものをサルモネラとする(図 10)。

TSI 培地 斜面:非分解、高層:分解、ガス 産生/非産生、硫化水素産生

LIM 培地 リジン脱炭酸塩反応陽性、インドール反応陰性、運動性陽性

SIM 培地 IPA 反応陰性

シモンズのクエン酸塩培地 クエン酸塩利用陽性

VP 半流動培地 VP 反応陰性

サルモネラと同定された菌株についてはO 抗原、H 抗原を決定し、血清型別を実施する。

と体のふき取り液については 8ml に等量の 2 倍濃度の緩衝ペプトン水を加え、上述に従って培養する。

鶏卵からのサルモネラの検査は図 11 に示すごとく前培養として $\text{FeSO}_4/7\text{H}_2\text{O}$ 64mg/L 添加緩衝ペプトン水 250ml に試料 50ml を接種し、35°C、18-22 時間培養する。選択増菌培地、生化学的性状検査は前記の食肉等のサルモネラの検査に準じる。

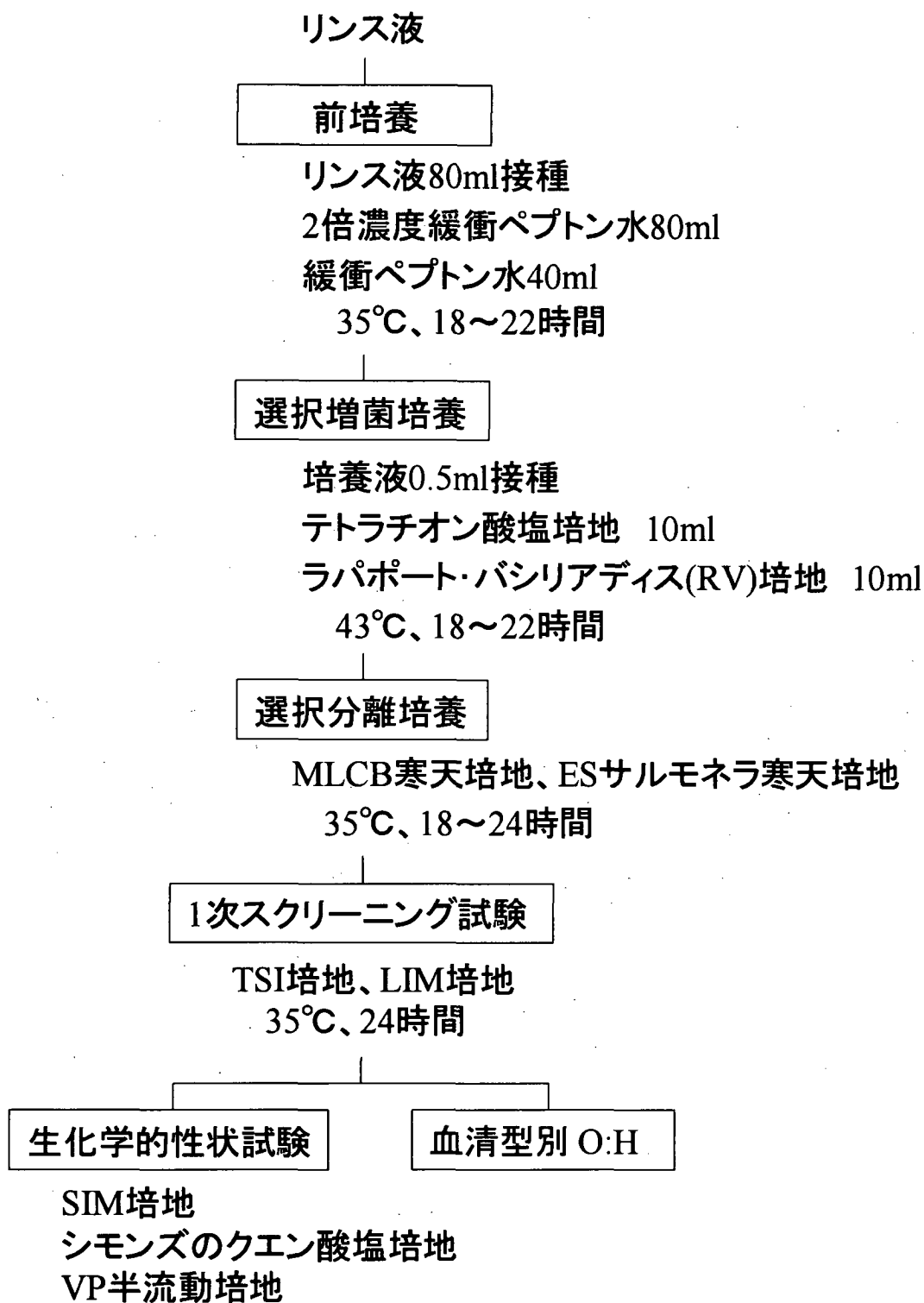


図10 食肉・養殖魚からのサルモネラ属菌の検査方法

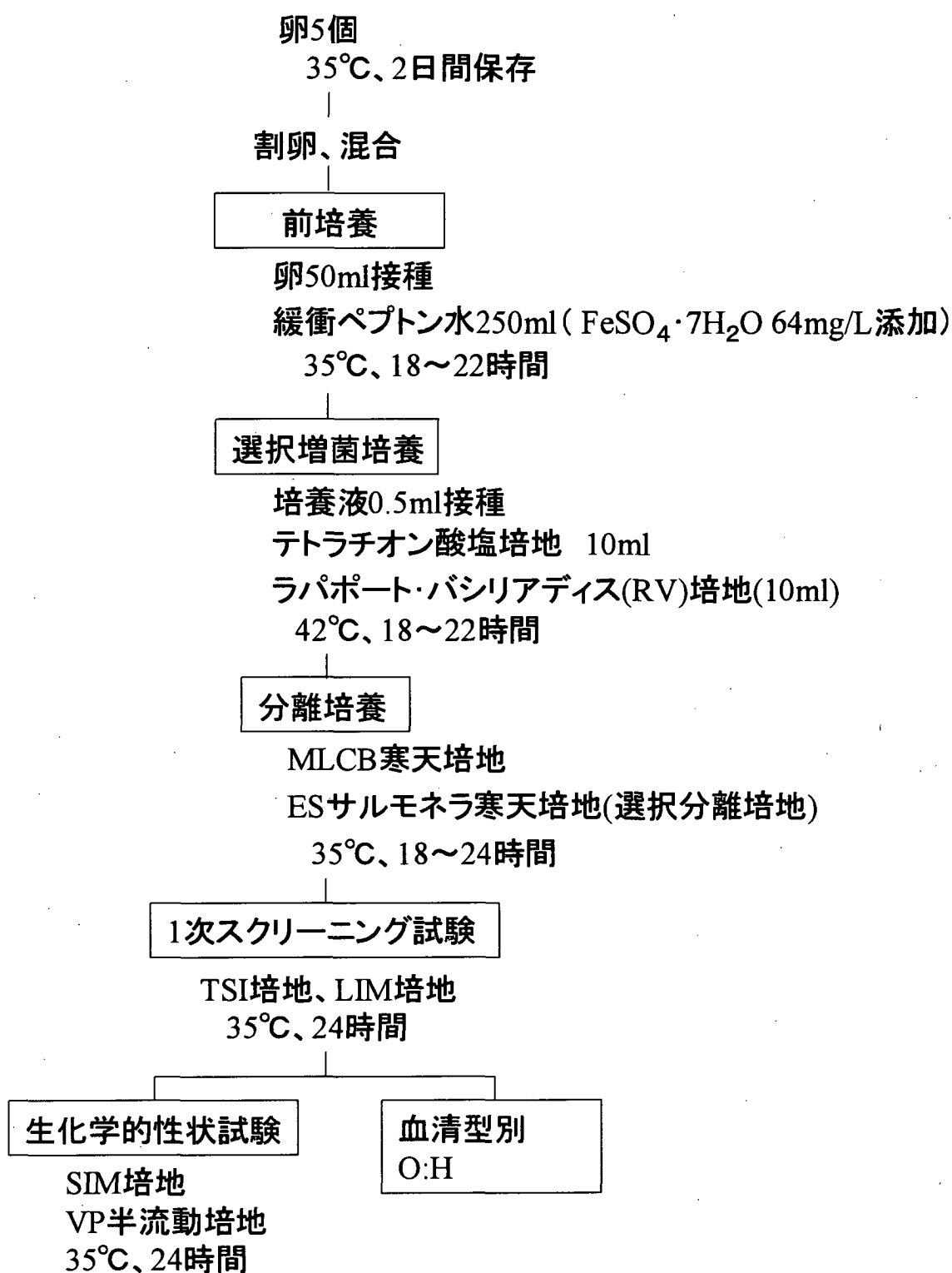


図11 卵からのサルモネラ属菌の検査方法

d 腸管出血性大腸菌 O157:H7/-

牛肉からの腸管出血性大腸菌 O157 検査法は食品衛生検査指針に示された方法が国際的にも認められている方法に準拠していることからこの方法に従う。

牛肉のリンス液 80ml に 2 倍濃度のノボビオシン加 mEC ブロス 80ml を加え、さらにノボビオシン加 mEC ブロス 40ml を加え、42°C、18-24 時間培養する。培養後 ELISA 法或いはこれに類似する免疫学的方法により O157 のスクリーニング試験を実施し、陽性検体について免疫磁気ビーズ法により O157 菌体を濃縮する。分離培地としては CT-SMAC 寒天培地とクロモアガー-O157TAM 寒天培地を用いる。疑わしい集落については 1%セロビオース添加 LIG 寒天培地でスクリーニングする。O157 を疑う菌株については図 12 に示す生化学的性状試験を行う。また、O 抗原と H 抗原について検査を実施し、血清型を決定する。ベロ毒素の検査はラテックス凝集反応あるいは毒素遺伝子の検査を実施し、毒素型を決定する(図 12)。

と体のふき取り液については 8ml を 2 倍濃度のノボビオシン加 mEC ブロスを加え、上述のごとく培養する。

O157 の生化学的性状は下記のごとくである。

1%セロビオース添加 LIG 寒天培地 斜面:非分解、高層:分解、MUG 反応陰性

TSI 培地 斜面、高層:分解、ガス産生、硫化水素非産生

LIM 培地 リジン脱炭酸塩反応陽性、インドール反応陽性、運動性陽性/陰性

シモンズのクエン酸塩培地 クエン酸塩の利用性陰性

SIM 培地 IPA 反応陰性

VP 半流動培地 VP 反応陰性

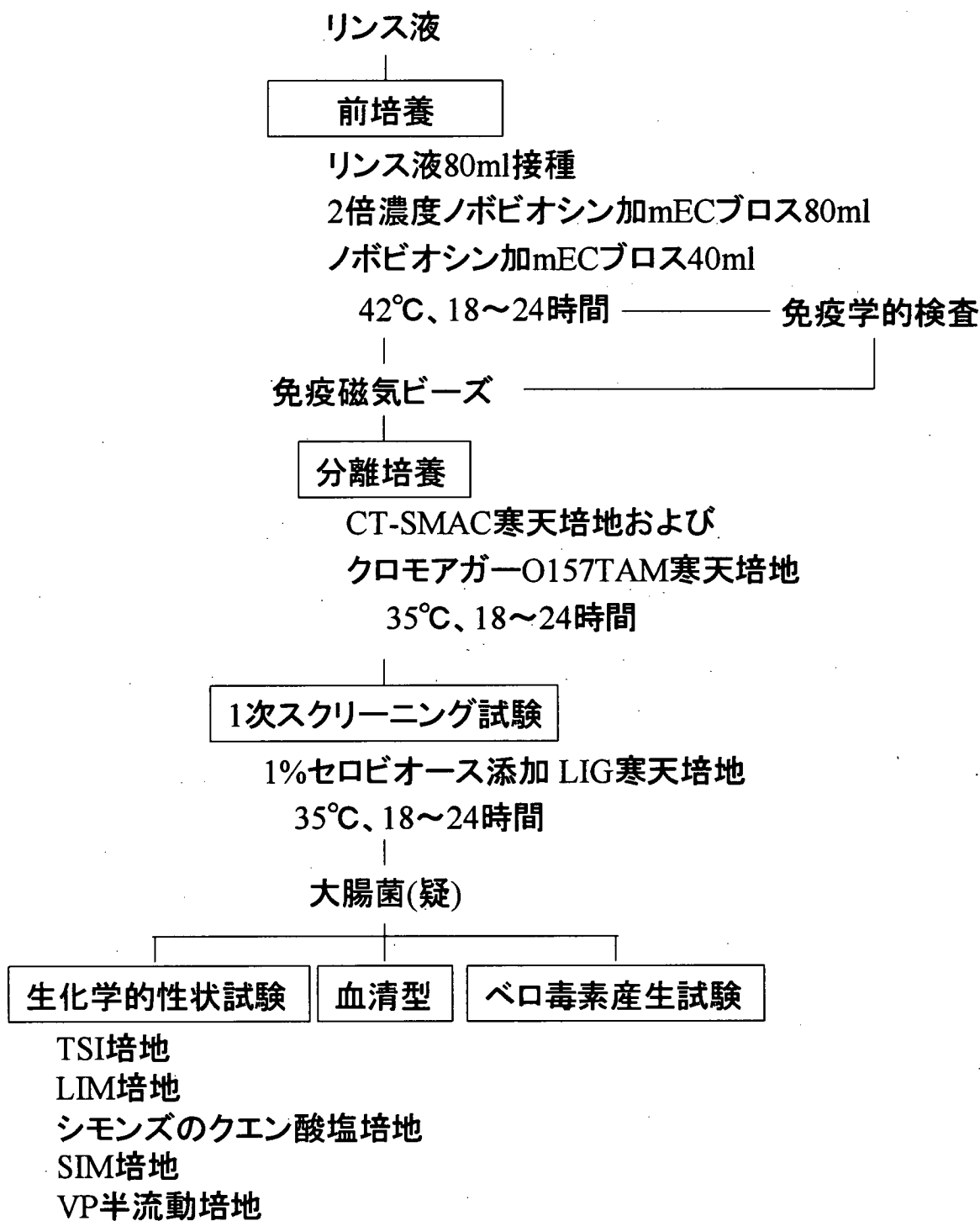


図12 牛肉からの腸管出血性大腸菌O157の検査方法

e カンピロバクター属菌 (*C. jejuni*, *C. coli*)

食品からのカンピロバクター検査は直接分離培養と増菌培養を併用する。直接分離培養は mCCDA 培地および Skirrow 培地あるいはキャンピフード ID 培地を使用する。増菌培養はリンス液 1ml を Preston 培地(10ml)に接種し 42℃で 18-22 時間微好気培養を行う。増菌培養液からの分離培養は直接分離培養と同一の培地を使用し、42℃、48 時間、微好気培養する。疑わしい集落については図 13 に示す検査を実施し菌種の同定を行う。

C.jejuni および *C.coli* の生化学的性状は下記のとおり。

	<i>C.jejuni</i>	<i>C.coli</i>
グラム染色	陰性 S 字状の螺旋	陰性 S 字状の螺旋
運動性	コルクスクリュ様	コルクスクリュ様
オキシダーゼ試験	陽性	陽性
カタラーゼ試験	陽性	陽性
25℃の発育	陰性	陰性
42℃の発育	陽性	陽性
馬尿酸塩加水分解	陽性	陰性
酢酸インドキシル加水分解	陽性	陽性

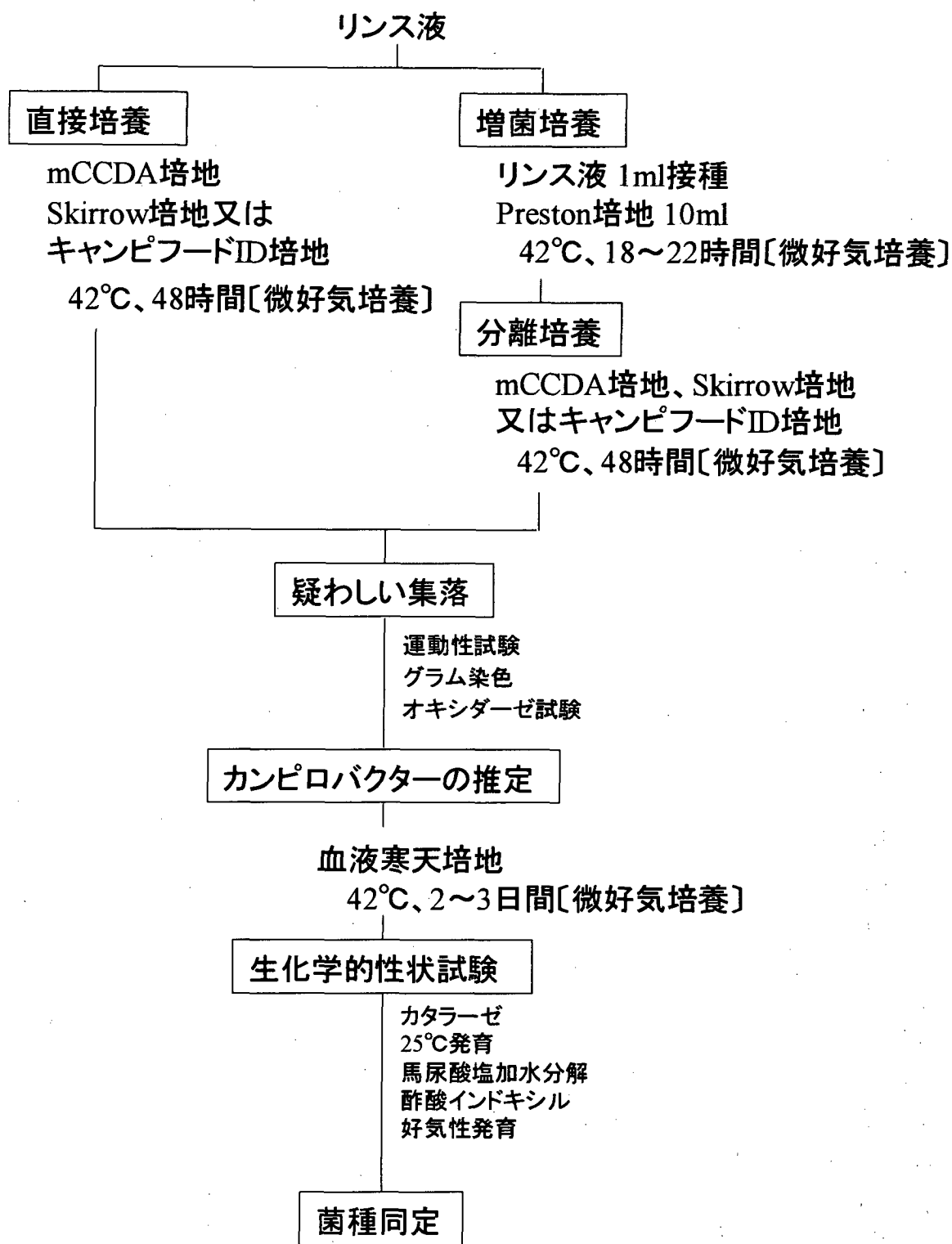


図13 食品からの*Campylobacter jejuni*および*C. coli*の検査方法

3) 分離菌株数 (MIC 分布を作成するために必要な菌株数)

薬剤感受性試験に供する菌株は原則として同一サンプルから検出された 3 菌株とする。ただし、検査法として直接分離培養と増菌培養を併用しており、各々の細菌や病原菌により供試すべき菌株の選択には考慮が必要である。

大腸菌: 直接分離培地検出株 2 菌株、増菌培養からの検出株 1 菌株とするが、直接分離菌株が陰性で、増菌培養のみ陽性の場合には増菌培養由来菌株 3 菌株とする。

腸球菌: 直接培養の Enterococccsel 培地およびバンコマイシン添加 Enterococccsel 培地それぞれ直接分離菌株 3 菌株。直接分離培養が陰性の場合には増菌培養後 Enterococccsel 培地検出 3 菌株、バンコマイシン添加 Enterococccsel 培地検出 3 菌株とする。

サルモネラ: O 血清型が異なるサルモネラ菌株 3 株とするが、同一 O 血清型の場合には 2 菌株とする。

カンピロバクター: 直接分離培養で検出された菌株 2 菌株、増菌培養検出菌株 1 菌株とする。直接分離培養陰性の場合には、増菌培養検出の 2 菌株とする。

腸管出血性大腸菌 O157: 検出菌株 2 菌株を試験菌とする。

4) 菌株の保存方法

薬剤感受性試験用菌株はプラスミドなどが脱落しない方法で保存しなければならない。大腸菌、サルモネラ、腸管出血性大腸菌 O157、腸球菌の各菌株についてはカントン半流動培地に保存する。乾燥を防ぐためにゴム栓とし、冷暗所に保存する。

カンピロバクターについては寒天培地による保存では死滅が早いので、寒天培地による保存は避ける。BHI ブイヨンに被検菌を接種し、試験管内に微好気混合ガス (酸素ガス 5%、炭酸ガス 10%、窒素ガス 85%) を噴入し、ブチル栓で密封後、35°C、18-24 時間、振とう培養する。培養後滅菌グリセリンを 15% になるように添加し、-80°C に保存する。保存菌株は 1 年以内に薬剤感受性試験を実施すること。

3. 薬剤感受性試験方法

1) 測定方法

薬剤耐性サーベイランス事業が世界各国で注目され、MIC (最小発育阻止濃度) の相互比較が極めて重要であることから MIC の測定法の統一化が求められている。わが国ではヒト由来細菌の検査法として米国臨床検査標準委員会 (CLSI/NCCLS) が制

定した方法が導入されているし、2003年には CLSI/NCCLS 法に準拠して動物由来細菌の MIC 測定法ガイドラインが示された。また、国内の家畜由来細菌の抗菌性物質感受性実態調査で実施している方法は上記の動物由来細菌の MIC 測定ガイドラインに沿っていることから、MIC 測定法はこれらのガイドラインに準拠し、寒天平板希釈法を採用する。

2) 対象薬剤

薬剤感受性試験に供試する薬剤は家畜、家禽および養殖魚に動物用医薬品又は飼料添加物として使用されている抗菌性物質を対象とし、国内の家畜衛生分野におけるモニタリング調査において実施されている薬剤、諸外国で実施されているモニタリング調査の対象薬剤及び抗菌性物質の系統等を参考として、対象抗菌性物質をしぼり込んだ。従来からの家畜衛生分野でのモニタリング調査での対象薬剤にセデカマイシン(マクロライド系)、チルミコシン(マクロライド系)、ホスホマイシンを新たに追加した。オラキンドックスは飼料添加物としての指定が取り消され、使用禁止となっているので、対象としなかった。

表 11 に示すようにサルモネラに対しては 18 薬剤、大腸菌(腸管出血性大腸菌 O157 を含む)はサルモネラと同様な薬剤を対象とする。カンピロバクターは 12 薬剤、腸球菌は 18 薬剤である。

表11 調査対象薬剤および菌種

薬剤感受性 検査の対象抗菌性物質	略号	対象菌種			
		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	○	○	○	○
セファゾリン	CEZ	○	×	○	×
セフチオフル	CTF	○	×	○	×
アブラマイシン	APM	○	×	○	×
ジヒドロストレプトマイシン	DSM	○	○	○	○
ゲンタマイシン	GM	○	○	○	○
カナマイシン	KM	○	○	○	×
エリスロマイシン	EM	×	○	×	○
リンコマイシン	LCM	×	○	×	×
コリスチン	CL	○	×	○	×
ノシヘプタイド	NHT	×	○	×	×
バンコマイシン	VCM	×	○	×	×
バージニアマイシン	VGM	×	○	×	×
サリノマイシン	SLM	×	○	×	×
オキシテトラサイクリン	OTC	○	○	○	○
アピラマイシン	AVM	×	○	×	×
バシトラシン	BC	×	○	×	×
ピコザマイシン	BCM	○	×	○	×
クロラムフェニコール	CP	○	○	○	○
ナリジクス酸	NA	○	×	○	○
エンロフロキサシン	ERFX	○	○	○	○
スルファジメトキシ	SDMX	○	×	○	○
トリメプリム	TMP	○	×	○	×
セデカマイシン	SCM	○	○	○	○
ホスホマイシン	FOM	○	○	○	○
チルミコシン		○	○	○	○

3) 抗菌性物質の調整方法

① 標準品の保存方法

薬剤は吸湿を防止するためにデシケーターに入れ-20 以下で保存する。秤量時も吸湿を避けるために相対湿度が 45%以下の環境で行う。

② 薬剤の溶解と濃度の調整

滅菌蒸留水を用いて溶解するが、水に不溶性の薬剤は表 12 のごとく少量のエタノールや水酸化ナトリウムに溶解後滅菌蒸留水で希釈する。溶解に必要な溶媒の量は下記の計算式により計算する。

$$\text{溶媒量(ml)} = \text{薬剤の力価}(\mu\text{g/mg}) \times \text{秤量(mg)} \div \text{原液の濃度}(\mu\text{g/ml})$$

薬剤の希釈は滅菌蒸留水により表 13 に示すマスター希釈液を作成する。次いで表 13 に示すごとく 2 段階希釈液を調整する。調整した薬剤は当日に使用すること。

表12 試験薬剤の溶解に使用する溶媒と希釈液

薬剤	略号	溶媒	希釈液
アンピシリン	ABPC	緩衝液-2 ²⁾	緩衝液-1 ¹⁾
セファゾリン	CEZ	緩衝液-1	蒸留水
セフチオフル	CTF	蒸留水	蒸留水
アブラマイシン	APM	蒸留水	蒸留水
ジヒドロストレプトマイシン	DSM	蒸留水	蒸留水
ゲンタマイシン	GM	蒸留水	蒸留水
カナマイシン	KM	蒸留水	蒸留水
エリスロマイシン	EM	95%エタノール	蒸留水
リンコマイシン	LCM	蒸留水	蒸留水
コリスチン	CL	蒸留水	蒸留水
ノシヘブタイド	NHT	ジメチルホルムアミド	蒸留水
バンコマイシン	VCM	蒸留水	蒸留水
バージニアマイシン	VGM	少量のメタノール+蒸留水	蒸留水
サリノマイシン	SLM	メタノール	蒸留水
オキシテトラサイクリン	OTC	少量の0.1N HCl+蒸留水	蒸留水
アピラマイシン	AVM	アセトン	蒸留水
バシラシン	BC	蒸留水	蒸留水
ピコザマイシン	BCM	蒸留水	蒸留水
クロラムフェニコール	CP	95%エタノール	蒸留水
ナリジクス酸	NA	下記 ³⁾ 参照	蒸留水
エンロフロキサシン	ERFX	下記 ³⁾ 参照	蒸留水
スルファジメトキシシン	SDMX	下記 ⁴⁾ 参照	蒸留水
トリメプリム	TMP	1/10量 0.05N HCl+蒸留水	温かい蒸留水
セデカマイシン	SCM	メタノール	蒸留水
ホスホマイシン	FOM	蒸留水	蒸留水
チルミコシン		蒸留水 ⁵⁾	蒸留水

1) 0.1Mリン酸塩緩衝液(pH6.0)の調製法

リン酸二水素カリウム(KH₂PO₄) 7.0g、リン酸一水素ナトリウム(Na₂HPO₄) 6.0gに蒸留水約750mlを加え、1分間以上煮沸して溶かす。必要があれば、1N NaOHまたはリン酸を用いてpHを5.9-6.1に調整した後、更に蒸留水を加えて1000mlとする。

2) 0.1Mリン酸塩緩衝液(pH8.0)の調製法

(1)リン酸一水素カリウム(16.73g)/リン酸二水素カリウム(0.523g)

(2)リン酸一水素カリウム(無水)(13.2g)/リン酸二水素カリウム(0.91g)

(1)または(2)の処方による。いずれも上記分量をとり、蒸留水約750mlを加えて溶かし、必要があれば、リン酸を用いてpHを7.9-8.1に調整した後、更に蒸留水を加えて1000mlとする。

3) 蒸留水1/2容量を加えた後、1N NaOHを溶解するまで滴下し、蒸留水でメスアップする。

4) 熱い蒸留水1/2容量を加えた後、2.5N NaOHを溶解するまで滴下し、蒸留水でメスアップする。

5) チルミコシンについては蒸留水で溶解するとしたが、試験時溶媒を検討すること。

表13 寒天平板希釈法のための薬剤希釈調製例
マスター希釈

5,120 $\mu\text{g/ml}$ ····· A液	
1,280 $\mu\text{g/ml}$ ····· B液	A液1容+蒸留水3容
160 $\mu\text{g/ml}$ ····· C液	B液1容+蒸留水7容
20 $\mu\text{g/ml}$ ····· D液	C液1容+蒸留水7容
2.5 $\mu\text{g/ml}$ ····· E液	D液1容+蒸留水7容

薬剤の溶液

段階	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	容量 (ml)	+蒸留水*(ml)	中間濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	寒天での1:10希釈における最終濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	\log_2
1	5,120 (A液)	-	-	5120	512	9
2	5,120 (A液)	1.0	1.0	2560	256	8
3	5,120 (A液)	1.0	3.0	1280	128	7
4	1,280 (B液)	1.0	1.0	640	64	6
5	1,280 (B液)	1.0	3.0	320	32	5
6	1,280 (B液)	1.0	7.0	160	16	4
7	160 (C液)	1.0	1.0	80	8	3
8	160 (C液)	1.0	3.0	40	4	2
9	160 (C液)	1.0	7.0	20	2	1
10	20 (D液)	1.0	1.0	10	1	0
11	20 (D液)	1.0	3.0	5	0.5	-1
12	20 (D液)	1.0	7.0	2.5	0.25	-2
13	2.5 (E液)	1.0	1.0	1.25	0.125	-3

*: ABPCの場合は0.1Mリン酸塩緩衝液、pH6.0を用いる。

4) 薬剤含有寒天培地の調整

使用培地はミューラーヒントン寒天培地(報告書には製造所、ロット No を記載する)を用いる。ただし、カンピロバクターについては5%の割合に羊脱線維素血液を添加したミューラーヒントン寒天培地(報告書には製造所、ロット No を記載する)を用いる。

前項で調整した2段階希釈した薬剤液1:培地9の割合で混合し、シャーレに分注して固まらせる。通常直径90mmのシャーレであれば、希釈液2mlと48-50°Cに保持した滅菌寒天培地18mlを混合する。対照として薬剤無添加の寒天培地を作成する。使用前に約30分間ふ卵器内で寒天表面を乾燥させる。

5) 接種用菌液の調整と接種法および培養

サルモネラ、大腸菌、腸球菌については普通寒天培地、カンピロバクターについては血液寒天培地で純培養した被検菌株の3-5集落を鉤菌し、トリプチックブローズ(報告書には製造所、ロット No を記載)で、35°C、18-24時間培養する。カンピロバクターについてはトリプチックブローズに被検菌を接種後試験管内に微好気混合ガス(酸素ガス5%、炭酸ガス10%、窒素ガス85%)を噴入し、ブチル栓で密封後、35°C、18-24

時間、振とう培養する。

それぞれの培養液を約 $1-2 \times 10^8$ cfu/m (McFarland 標準液 No.0.5) となるように調整する。

マイクロプランターの金属製ピンが直径 1mm (0.5μ l/spot) を使用する場合には上記で調整した培養液をそのまま使用する。マイクロプランターで接種用菌液をとり、薬剤含有培地に接種する。この場合、薬剤を含まない対照培地から接種し、次いで低濃度の薬剤含有培地から高濃度培地へと接種していく。平板培地の菌液が乾燥した後、 35°C 、16-20 時間培養してから判定する。

カンピロバクターの場合は菌接種後、微好気ガス発生袋を使用して 35°C 、45-48 時間微好気培養後に判定する。

6) 薬剤感受性判定方法とブレイクポイント

薬剤含有培地で被検菌の発育が完全に阻止された薬剤の最小濃度をエンドポイントとして判定する。その値が最小発育阻止濃度 (Minimum Inhibitory Concentration: MIC) とする。なお、単一集落あるいは微少な発育は CLSI/NCCLS に従い発育阻止と見なす。薬剤不含培地では被検菌の発育を確認する。

ブレイクポイント (耐性限界値) は国内の家畜衛生分野におけるモニタリング調査で示されている値を基本とする (表 14)。ただし、CLSI/NCCLS や諸外国でのモニタリング調査で提唱されている値を参考にする。ブレイクポイントが示されていないアブラマイシン、ノイヘプタイド、バージニアマイシンなどの薬剤については供試菌株の MIC 分布が二峰性を示した場合、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て設定する。なおブレイクポイントは今後の研究の進展により明確となったものは、それらの報告に従う。

表14 各薬剤に対するブレイクポイント

薬剤感受性 検査の対象抗菌性物質	略号	対象菌種とブレイクポイント(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⁾	×	
アプラマイシン	APM	○		×		○		×	
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⁾	○	
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⁾	×	
ノシヘプタイド	NHT	×		○		×		×	
バンコマイシン	VCM	×		○	32	×		×	
バージニアマイシン	VGM	×		○		×		×	
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
スルファジメキシシン	SDMX	○		×		○		○	
トリメトプリム	TMP	○	16	×		○	16	×	
セデカマイシン		○		○		○		○	
ホスホマイシン	FOM	○		○		○		○	
チルミコシン		○		○		○		○	

1) CLSI/NCCLS2006による

2) DANMAP2003による

7) 成績の記載

得られた成績から、食品ごとに各抗菌性物質に対する MIC(μg/ml)分布、Range、ブレイクポイント、耐性菌株数(耐性率)、MIC50、MIC90 を記載する。成績記載例を表15、表16に示す。

表15 サルモネラの薬剤感受性試験(試験結果記載例)

薬剤	MIC(μg/ml)													MICブレイクポイント	耐性菌株数	(%)
	≤0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	≥100				
ABPC			2	13	40	6	7						25	12.5	25	(26.9)
CEZ				2	19	44	26					2		12.5	2	(2.2)
CTF			4	22	56	9	1	1								
KM				1	1	18	35	9			2		27	25	29	(31.2)
GM			1	4	31	29	25	3								
OTC			4	6	15	14	1					53		12.5	53	(57.0)
APM					8	27	48	10								
CP				2	6	27	23	15					20	25	20	(21.5)
NA					15	36	30	5					7	50	7	(7.5)
ERFX	12	46	26	5	4											
SDMX													93			
TMP				9	33	24	10	1		1	1	14	12.5	16	(17.2)	

表16 サルモネラの薬剤感受性試験(結果記載例)

薬剤	Range (mg/ml)	MIC50 (mg/ml)	MIC90 (mg/ml)	ブレークポイント(mg/ml)	耐性菌株数	耐性率(%)
ABPC	0.25-64 \leq	0.5	64 \leq	16	6	12.0
CEZ	0.5-4	1	2			
CTF	0.25-2	0.5	1			
DSM	2-128 \leq	16	128 \leq	32	14	28.0
KM	16-128 \leq	32	128 \leq	64	20	40.0
GM	0.5-4	1	2			
APM	0.5-4	2	4			
OTC	0.5-32 \leq	32 \leq	32 \leq	16	38	76.0
CL	32-64	64	64			
BCM	16-128 \leq	32	64	64	13	26.0
CP	0.5-128 \leq	1	128 \leq	32	6	12.0
NA	1-128 \leq	2	128 \leq	64	7	14.0
ERFX	\leq 0.06-0.5	\leq 0.06	0.25			
SDMX	128 \leq	128 \leq	128 \leq			
TMP	0.5-128 \leq	1	128 \leq	32	15	30.0

8) 精度管理

薬剤感受性試験は使用培地、培地の量、接種菌量、菌の培養状態、培養時間および培養温度によって影響されるので、常に一定条件を守らなければならない。さらに、薬剤含有培地は自家調製であることから、精度管理用菌株により、その精度と正確性を確保しなければならない。精度管理用菌株は CLSI/NCCLS ガイドラインで示された下記の菌株とする。

Staphylococcus aureus ATCC 29213(JCM 2874)

Enterococcus faecalis ATCC 29212(JCM 7783)

Escherichia coli ATCC 25922(JCM 5491)

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853(JCM 6119)

カンピロバクターの精度管理用菌株

Campylobacter jejuni ATCC 33560

MIC の精度管理限界値(MIC 範囲)は CLSI/NCCLS の規定に準拠する(表 17)。CLSI/NCCLS が規定していない薬剤については農林水産省動物医薬品検査所で実施された成績に基づき暫定的に制定された精度管理限界値を参考とする(表 18)。

表17 CLSIが規定する薬剤におけるMIC ($\mu\text{g/ml}$)の精度管理限界値
一般細菌の精度管理限界値

精度管理用菌株		薬剤	ABPC	CEZ	CTF	APM	GM	KM	EM	VCM	CP	NA	ERFX	TMP
<i>S. aureus</i>	ATCC29213		0.5-2	0.25-1	0.25-1	2-8	0.12-1	1-4	0.25-1	2-8	-	0.03-0.12	1-4	0.5-4
<i>E. faecalis</i>	ATCC29212		0.5-2	-	-	-	4-16	16-64	1-4	4-16	-	0.12-1	≤ 1	0.5-4
<i>E. coli</i>	ATCC25922		2-8	1-4	0.25-1	2-16	0.25-1	1-4	-	2-8	1-4	0.008-0.03	0.5-2	>32
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC27853		-	-	16-64	2-16	0.5-2	-	-	-	-	1-4	>64	>32

Campylobacter spp.の精度管理限界値

精度管理用菌株		薬剤	EM	GM	NA
<i>C. jejuni</i>	ATCC33560		1-8	0.5-4	8-32

表18 CLSIが規定していない薬剤の寒天平板希釈法によるMIC ($\mu\text{g/ml}$)の精度管理限界値(参考値)

精度管理用菌株		薬剤	DSM	LCM	CL	BC	NHT	VGM	OTC	AVM	BCM	SDMX
<i>S. aureus</i>	ATCC29213		1-8	0.25-2	64-128	32-128	≤ 0.008	0.25-1	≤ 1	0.5-2	≥ 512	-
<i>E. faecalis</i>	ATCC29212		16-64	8-32	≥ 256	32-128	≤ 0.015	1-4	4-16	0.25-2	≥ 512	≥ 256
<i>E. coli</i>	ATCC25922		1-4	≥ 256	0.5-2	≥ 256	-	-	0.25-2	-	16-64	≥ 256
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC27853		4-32	≥ 256	0.5-2	≥ 256	-	-	2-16	-	≥ 512	≥ 512

4. 薬剤耐性菌株の保存

分離菌株の保存方法に従う。ただし、大腸菌、腸球菌、サルモネラ、腸管出血性大腸菌 O157 の耐性菌株については後日に分子遺伝学的検討に使用されることを考慮して寒天培地による保存以外に、 -80°C に保存する。すなわち、各菌株のトリプトソイブイオン培養液 1 に対しグリセリン 1 を加え -80°C に保存する。

5. 施設に関する情報の管理方法

検査物の購入先、名称、数量、検査成績などを電子媒体(パソコン)あるいはプリントアウトした書類で保存する場合、情報管理規定を制定し、情報の機密保持と漏洩を防止する。表 19 に管理規定のモデルを示したので、参考とする。

規定番号	表 19 情報管理規定モデル	
<p>第1条（目的）</p> <p>本規定は、「畜水産物における薬剤耐性菌の出現実態調査」（以下実態調査）における情報管理に関する事項を定める。</p> <p>第2条（定義）</p> <p>(1)〇〇情報とは、〇〇〇の所有する情報であって、経営情報、顧客情報、営業関連情報、情報システム情報、及びその他財団経営上の必要な全ての情報をいう。</p> <p>(2)機密情報とは、企業の財産、営業、業務執行に重大な影響を及ぼす、機密性の高い文書をいう。</p> <p>(3)〇〇〇ネットワークとは、LAN 及び電話回線で結ばれたサーバーとパソコンの集合体をいう。</p> <p>第3条（情報の漏洩禁止）</p> <p>職員は、財団の情報セキュリティを確保するため、〇〇〇情報を業務以外の目的で使用したり、第三者に漏洩したり、無断で使用または院外に持ち出したりしてはならない。</p> <p>2 退職後も、在職中に知り得た社内情報を第三者に漏洩したり、無断で使用したりしてはならない。</p> <p>3 また、次の事項を守らなければならない。</p> <p>(1)〇〇〇情報を複製する場合は、複製の目的などを申告し管理責任者の許可を得て、機密保護に注意して実施すること。許可なく院外に持ち出さないこと。</p> <p>(2)プリントアウトした〇〇情報については、機密保護に注意し、定められた方法により保管すること。</p> <p>第4条（機密情報の管理）</p> <p>機密情報の院外漏洩などによる、企業経営に与える影響が甚大であることから、機密情報の不正利用、外部漏洩、及びプライバシー侵害などを防止するため、特に厳重な管理を行わなければならない。</p> <p>(1)機密文書の機密度に応じて、発送、受付、整理、保管、保存及び廃棄の作業に、管理者が立ち会うなど、機密保持に特別に注意しなければならない。</p> <p>(2)機密情報を削除する場合、または社内情報が含まれる帳票等を廃棄する場合は、作業担当者及び処理内容を記録し、記録媒体の初期化など情報を復元できないような処理を実施し、不正防止及び機密保護の対策を講じた上で、削除または廃棄しなければならない。</p>		
制定：平成 年 月 日		見直期限：平成 年 月 日

規定番号	情報管理規定モデル続き	
<p>第5条（ネットワークの安全性確保）</p> <p>職員は、所内ネットワークの安全性確保のため、次の事項を守らなければならない。</p> <p>(1)〇〇〇所有の機器を使い、許可なく業務以外の目的で、電子メールなどの通信を送受信しないこと。</p> <p>(2)〇〇〇所有の機器を使い、許可なく業務以外の目的で、インターネットのアクセス、ダウンロード、取引などを行なわないこと。</p> <p>(3)各自に供用されているパソコンに対して、情報システム部の許可なくソフトウェアを導入しないこと。</p> <p>(4)各自に供用されているパソコンに対して、違法コピーのソフトウェアを導入しないこと。</p> <p>(5)各自に供用されているパソコンに対して、〇〇〇の許可なくモデムなど増設してインターネットへの接続を行ったり、外部からのアクセスを可能とする仕組みを構築するなど、機器の増設や改造を行なわないこと。</p> <p>(6)不正アクセスを防止するため厳格にパスワードの管理を行なうこと。</p> <p>(7)コンピュータウイルスに感染することを防止するために、常に必要な対策を実施すること。</p> <p>(8)突発的な停電及び情報セキュリティが侵害された場合、連絡体制、証拠保全、被害拡大の防止、復旧などの必要な措置を規定した緊急時対応計画に沿って、対応すること。</p> <p>(9)情報セキュリティに関する事故や、情報システム上の欠陥、所内ネットワークの安全性を阻害する恐れのある状況などを発見した場合は、独自にその事故または欠陥などの解決を図らずに、速やかに管理責任者に報告し、処理方法などについてその判断・指示を仰ぐこと。</p> <p>付 則</p> <p>1. 本規定の改正は、 が立案し、所長が承認・決裁をもって確定する。</p> <p>2. 本規定は、平成 年 月 日より実施する。</p>		
制定：平成 年 月 日		見直期限：平成 年 月 日

IV. 検討会において出された主な意見

本調査は、調査の方法、収集したデータの解析及び考察等を有識者からなる検討会に諮りながら実施した。4 回開催した検討会において、本報告書を取りまとめるための指導及び助言に留まらず、薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価に役立たせるために今後充実すべき事項として貴重な意見が出された。

1. 検討会の議事録

2005 年 12 月 27 日、2006 年 1 月 30 日、2006 年 3 月 2 日、2006 年 3 月 23 日の合計 4 回開催した検討会の議事録を、検討会議事録として報告書末尾に記載した。

2. サンプルングについて

本調査のプロトコル作成および実態調査でのサンプルングに関する注意点として、検討会において出された主な意見を以下に列記する。

- 市中の小売店ではなく、複数店舗を有する大手のチェーンストア店舗の方が、トレースバックしやすい。
- 汚染の高い部位は、ネック肉、肩肉が考えられる。内蔵は通常、市販されていることが少ないことから、今回の対象としない。
- 対象食品のサンプルング時期を考慮することも必要と考えられる。
- サンプルング箇所については、リスク評価およびデータ解析の点から、処理場、店頭を分けて考える必要があるが、本事業の調査目的を考慮すると、サンプルング箇所は店頭でも良い。
- 鶏卵、牛乳については、流通過程におけるコンタミネーションは考え難いため、小売店でのサンプルングでも問題ない。
- 東京、名古屋、大阪、福岡の 4 都市でサンプルングを行えば、主要な銘柄はカバーでき、かつコストに入手可能である。

3. プロトコルについて

本調査のプロトコル作成および実態調査での注意点として、検討会において出された主な意見を以下に列記する。

- 牛乳は乳等省令において大腸菌群陰性と定められており、対象とする菌株を収集することは困難である。
- 鶏卵は、大手養鶏場 GP センターでは殺菌剤による洗浄が行なわれていること、in egg においては対象とする菌株を収集することは極めて難しいと考えられる。
- O157 は大腸菌として、VRE は腸球菌として考慮する。
- 大腸菌の検査に酵素基質培地を使用するのであれば、リンス液を Buffered peptone water よりもリン酸緩衝液や生理食塩水を用いた方が良い。

- 今回作成した検査法において検出できない対象菌に関しては、他の検査法にてアプローチする必要がある。
- サルモネラの検査法について、EEM プイオンより緩衝ペプトン水を用いる方が良い。
- O157 の検査法について、クロモアガーO157TAMを用いるほうが良い。
- 菌株の保存方法について、一時的な保存であればドルセット培地ではなく、カシトン半流動培地の使用で保存可能である。

4.薬剤感受性試験について

本調査の薬剤感受性試験における注意点として、検討会において出された主な意見を以下に列記する。

- MIC に供試する菌株として、100 株以上が必要である。
- 微好気培養を必要とするカンピロバクターの判断が、寒天平板希釈法では難しいことを考慮する。
- 各種薬剤の中で代表的なものを対象薬剤として挙げる。
- オラキンドックスは平成 13 年 4 月 1 日より飼料添加物としての使用が出来なくなっているため、対象薬剤としない。
- アンピシリンについて、平成 15 年度より動薬研のモニタリング調査でカンピロバクターでも対象としているため、本調査においても対象とする。
- MIC 分布を作成するために必要な菌株数として、一つの対象食品から 3 株とするのが良い。
- 薬剤感受性菌株の保存法について、Skim milk ではなく、培養液 1:グリセリン 1 とし、-80℃保存が良い。
- 家畜衛生分野では薬剤耐性モニタリング体制を構築して、平成 11 年から健康家畜由来細菌の薬剤耐性調査が開始されてきた。薬剤耐性菌出現は経時的な変動があることから、食品分野でも継続的な調査が必要である。

第1回 畜水産食品における薬剤耐性菌の出現実態調査に関する検討会議事録

記録:財団法人東京顕微鏡院 森

1. 目的

適切な科学文献及び情報を検討して、科学的かつ国際的に調和したプロトコルを作成するために、調査内容及びその方法について決定する。

2. 日時・場所

2005年12月27日(火曜日)10:00-12:30

財団法人東京顕微鏡院 食と環境の科学センター5F 会議室

3. 内容と決定事項

(1) 内閣府食品安全委員会事務局からの事業説明

- 昨年度、国内の薬剤耐性菌の出現状況および薬剤の使用状況(畜産分野、医療分野)の文献調査を実施した。しかし食品に関する全国的な情報は極めて少ない。
- 本調査では市販食品に関する情報を収集、検討し、今年度は実態調査のためのプロトコルを作成する。次年度以降で実態調査を実施する。
- 仕様書(資料3)に従い、細菌別にプロトコルを作成する。
- 担当者としては、サンプリング方法、感受性試験に供試する菌株数、ブレイクポイントの3点がプロトコル作成において重要項目と考える。
- 今回の結果は、平成16年9月30日に食品安全委員会決定として出された評価指針『家畜等への抗菌性物質の使用により選択される薬剤耐性菌の食品健康影響に関する評価指針』(資料10)の「2 暴露評価(3) 畜水産食品に関する情報 ②調理前の畜水産食品がハザードに汚染される可能性又は汚染状況」のデータとして利用することを目標としている。

(2) プロトコルに関する検討項目

1) 対象食品を何にするか。

- 小売店で市販されている国産の食品を対象にする。これは平成15年12月8日に農林水産大臣より食品安全委員会に出された諮問書、「食品健康影響評価について」に基づく。
- 今年度は方法論のみを考え、実際の調査の必要性については、検討委員会の意見として報告書に記載する。
- 大手量販店であれば、産地、屠場、小売店の流れをつかむ事は可能である。これは食品衛生法第3条②に、食品等事業者の責務として記載されている事項に因る。
- 牛乳は乳等省令において大腸菌群陰性と定められており、対象とする菌株を収集することは困難である。
- 鶏卵は、大手養鶏場 GP センターでは殺菌剤による洗浄が行なわれていること、in egg においては対象とする菌株を収集することは難しいことから、今回の実態調査のプロトコルを作成することは極めて難しい。この旨を報告書に提言として付記する。

決定事項

仕様書に基づいて、市販されている国産の牛肉、豚肉、鶏肉、養殖魚、牛乳、卵を対象食品とする。

2) 対象病原菌を何にするか。

- 牛、豚、鶏の糞便中に存在する薬剤耐性菌については調査されてきているが、分離された菌

の諸性質を調べる中での調査である。なお、これら食肉中の菌については調査されていない。

- 食品を対象にする場合は膨大な作業量となることが懸念されるため、ターゲットとする菌を決めておく必要がある。
- 大腸菌と腸球菌は、薬剤の影響を受けやすいので最低限実施すべきである。
- O157は大腸菌として、VREは腸球菌として考慮する。

決定事項

仕様書に基づいて、大腸菌、腸球菌、サルモネラ、カンピロバクターを対象病原菌とする。

3) サンプルングについて(施設数、地域差)

- 市中の小売店ではなく、複数店舗を有する大手のチェーンストア店舗の方が、資料9に記載される内容についてトレースバックしやすい。
- 卵に関しては、ブランド名、養鶏場の記載のあるものであればよい。
- ある程度の地域性も考慮したほうがよい。都道府県ごとの生産量(『銘柄ハンドブック』を参考に)に応じてサンプル数を調整すれば、地域差も見ることができるとは限らない。
- 屠場でサンプルング出来ることが望ましい。スーパーマーケット(量販店)のバックヤードでは、加工包装時、環境と人からの汚染がある。
- 汚染の高い部位は、ネック肉、肩肉が考えられる。内臓肉は通常、市販されていることが少ないことから、今回の対象としない。

決定事項

内臓は今回の調査対象からは外す。

養殖魚に関しては東京都築地市場の協力を得て、検討会事務局で調査し、次回報告する。

4) 菌株数

- MICに供する菌株数として100株以上あればよい。
- 検体数は、100株以上の陽性株が得られるよう逆算する。
- ひとつのサンプルから、各菌株を分離する方法が効率的である。

5) 薬剤感受性試験方法

- 国際的にCLSI/NCCLSの寒天平板希釈法に従っているし、動物用抗菌剤研究会MIC測定法標準化委員会でも、寒天平板希釈法を奨励している。
- 微好気培養を必要とするカンピロバクターの判断が、寒天平板希釈法では難しいことを考慮する。

決定事項

寒天平板希釈法とする。

6) 対象とする薬剤

- 次回での検討課題とする。
- 対象菌ごとに対象薬剤が異なる。

(3) 第2回検討会について

- 検討委員の予定を確認、調整した上で決定する。

以上

1. 目的

適切な科学文献及び情報を検討して、科学的かつ国際的に調和したプロトコルを作成するために、調査内容及びその方法について決定する。

2. 日時・場所

2006年1月30日(月曜日)16:00-18:30

財団法人東京顕微鏡院 食と環境の科学センター5F 会議室

3. 内容と決定事項

(1) 第1回検討会議事内容の確認

- 第1回検討会議事内容について決定事項の確認を行ない、修正事項について意見はなかった。

(2) プロトコル作成における検討項目

1) 牛肉、豚肉の都道府県・エリア別生産量と割合

- 国産の牛肉、豚肉の都道府県・エリア別生産割合について、検討会事務局にて「銘柄牛(豚)肉ハンドブック」(財団法人 日本食肉消費総合センター)を元に調査した結果を報告した。
- 出荷量ベースで算出した各都道府県の実生産割合に基づき、対象とする食品の検体数を割り振るのが良い。
- 牛肉については、銘柄(ブランド名、固体識別番号)から農場までトレーサック可能である。サンプリングする検体については、銘柄等が記載されたラベルのコピーを残し、単に『国産』と標記のあるものは避ける。
- 各銘柄には必ず実在する銘柄協議会(団体)が存在するため、情報収集が可能である。
- 牛肉・豚肉については、関東にて多くの銘柄が入手可能である。
- 全農の菊池先生より食鳥の生産に関するデータを提供して頂く。
- 食鳥処理場にてサンプリング出来れば、流通過程におけるコンタミネーションを最小限に出来る。
- 鶏について食鳥処理場でサンプリングした場合、牛肉、豚肉はどうするのか。食品安全委員会としては、サンプリング箇所を統一したプロトコルを望んでいる。
- サンプリング箇所については、リスク評価およびデータ解析の点から処理場、店頭を分けて考える必要がある。
- 本事業の調査目的を考慮すると、サンプリング箇所は店頭でもよい。
- 小売店でサンプリングするのであれば、幾つかのサンプルに関しては、屠場まで遡って調査する必要がある。

決定事項

出荷量ベースで算出した各都道府県の実生産割合に基づき、対象とする食品の検体数を割り振る。またサンプリング箇所については食品安全委員会より意見を頂き、決定する。

2) 養殖魚の都道府県・エリア別生産量と割合

- 国産養殖魚の都道府県・エリア別生産割合について、検討会事務局にて「平成16年」(農林水産統計)を元に調査した結果を報告した。
- 養殖魚については、市場まで同一容器(水槽)による流通が実施されている。また市場においては、多種の魚を同一の生簀に入れること、また多くの水を掛け流す等の処理が行なわれることから、クロスコンタミネーションの危険が高い。
- 小売店でのサンプリングは、二次汚染のリスクが高く、難しい。

- 刺身を対象として考えるのであれば、次亜塩素酸が使用されている点も考慮するほうが良い。

決定事項

出荷量ベースで算出した各都道府県の生産割合に基づき、対象とする食品の検体数を割り振る。

3) 食品からの対象菌検査法

- 検討会事務局より、サルモネラ、カンピロバクター、大腸菌、腸管出血性大腸菌の検査法(案)を提案した。
- 腸管出血性大腸菌 O157 の検出は、食品衛生検査指針に記載される方法に準じて実施しても、国際的な方法に劣るものではない。対象は牛肉のみ。
- サルモネラの検出は、食品衛生検査指針に記載される方法に準じて実施しても、FDA 等の国際的な方法に劣るものではない。また免疫磁気ビーズによる集菌は必要ない。
- 大腸菌と腸球菌の検査法の選定が難しい。
- 大腸菌の検査に酵素基質培地を使用するのであれば、リン液を Buffered peptone water よりもリン酸緩衝液や生理食塩水を希釈水に用いたほうが良い。
- 検査対象とする腸球菌は、*Enterococcus faecalis* と *E. faecium* とする。
- バンコマイシン耐性腸球菌の分離には、バンコマイシン 3 μ g/ml の濃度とする。
- 池先生より腸球菌の検出に関するプロトコルを提供して頂く。

4) 対象薬剤およびブレイクポイント

- あらゆる種類の薬剤を対象とすると膨大なデータを収集しなくてはならず、データ収集、解析の点において徒労に終わることが考えられる。
- 各種薬剤の中で、代表的なものを対象薬剤として挙げる。池先生より対象薬剤に関してのデータを頂く

5) 「食品を介してヒトの健康に影響を及ぼす細菌に対する抗菌性物質の重要度のランク付けについて(案)」

- 食品安全委員会事務局より、当該の資料 8 について説明頂いた。
- 食品安全委員会としては、人間に使用される薬剤の重要度は今回のプロトコル作成において考慮していない。

6) その他

- 今回のプロトコル作成において、対象食品のサンプリング時期は考慮しないこととする。
- 卵、牛乳については、流通過程におけるコンタミネーションは考え難いため、小売店でのサンプリングでも問題ない。

(3) 第 3 回検討会について

- 検討委員の予定を確認、調整した上で決定する。

以上

1. 目的

適切な科学文献及び情報を検討して、科学的かつ国際的に調和したプロトコルを作成するために、調査内容及びその方法について決定する。

2. 日時・場所

2006年3月2日(木曜日)15:00-16:50

財団法人東京顕微鏡院 食と環境の科学センター5F 会議室

3. 内容と決定事項

(1) 第2回検討会議事内容の確認

- 第2回検討会議事内容について決定事項の確認を行った。

(2) サンプリングの問題点

- 食肉処理場、食鳥処理場、卸市場(魚)、焼肉店舗の細菌汚染に関して、検討会事務局にて文献調査した結果を報告した(資料3)。
- 食肉加工場における加工工程について、菊池先生より説明頂いた(資料7)。
- 食肉加工場において、作業者はラテックス手袋をはめ、定期的にアルコール消毒を行うことから、作業(手指)から食肉を汚染することは極めて少ない。
- 牛は一頭毎の処理であるが、豚は産地又は農場毎に処理されることから、固体識別は不可能である。牛と豚の処理工程は異なることから牛豚間での汚染はない。
- 食肉加工場における食肉の微生物汚染は、基本的に屠体、特に表皮と内臓由来微生物のみである。
- 養殖魚の流通経路に関して、検討会事務局で実地調査した結果について説明した(資料3)。
- 第2回検討会において内水面養殖魚の中で「うなぎ」の取り扱いについて意見交換が行われたが、加工調理を施していない生ものでないと対象菌の分離ができないこと、および仕様書の調査方法の項に「スーパーマーケットおよび小売店等で販売される・・・」とあることから、「うなぎ」については調査対象から除外する。
- プロトコルの中では、加工工程における二次汚染の可能性が無視できないことを明記しておく必要がある。
- サンプリングに関しては、スーパーマーケット等の直接消費者が入手可能なものとするが、バックヤード等での二次汚染の可能性を考慮し、屠場、食肉処理場等でのサンプリング方法についても記しておく必要がある。
- 出荷量の少ないブランド肉に関しては、生産地に近いスーパーマーケットに行き、サンプリングする必要がある。

決定事項

「うなぎ」については調査対象から除外する。

(3) 検査法

- 第2回検討会までに出された意見を参考に、対象菌の検査法(案)を検討会事務局にて作成し、説明した(資料4)。
- 池先生より腸球菌の検査法について説明頂いた(資料5)。
- 腸球菌の増菌培地は、Enterococcus Broth が良く、他の培地を使用するとグラム陰性菌が増殖してしまう。
- 腸球菌の増菌方法は、リンス液 10ml を用いるのがよい。

- 本検査法にて検出できない対象菌に関しては、他の検査法にてアプローチする必要がある旨、報告書に記す。
- (4) 対象薬剤
- 鮫島先生より動薬研の薬剤耐性菌モニタリング調査で対象としている薬剤の最新版リストを提供頂く。
 - 西留様よりオラキンドックスの飼料添加物としての使用停止年月日について情報提供頂く。
- (5) その他
- 収集した英文献について、どの程度和訳が必要であるか田中様より指示頂く。

以上

1. 目的

適切な科学文献及び情報を検討して、科学的かつ国際的に調和したプロトコルを作成するために、調査内容及びその方法について決定する。

2. 日時・場所

2006年3月23日(木曜日)16:00-18:30

財団法人東京顕微鏡院 食と環境の科学センター5F 会議室

3. 内容と決定事項

(1) 収集文献についての説明

- 検討会事務局にて収集した文献について、大腸菌関係81件、腸球菌関係56件、サルモネラ関係126件、カンピロバクター関係49件、総合38件の合計350件を収集した結果を報告した。
- 食品安全委員会より依頼のあった英文献、資料について、合計10件を和訳し、資料として報告書に添付することを報告した。

(2) 対象菌の検査法についての説明

- 検討会事務局にて作成した、対象菌の検査法について説明した。

(3) サンプルング、プロトコルに関する意見

- 特定のと場、加工場、店舗の流れをつかむサンプルングを考えるのであれば、食肉センター協議会に依頼する手段も考えられる。
- 対象食品のサンプルングについて、東京、名古屋、大阪、福岡の4都市でのサンプルング実施を考えると、主要な銘柄はカバーでき、コンスタントに入手可能である。
- ブロイラーの生産は、鹿児島、宮崎、岩手の3県で過半数を占め、これ以降の産地の入手は難しいと考えられる。
- サルモネラの検査法について、EEM プイオンより緩衝ペプトン水を用いる方が良い。
- O157の検査法について、クロモアガーO157TAMを用いるほうが良い。
- MIC分布を作成するために必要な菌株数として、3株とするのが良い。
- 菌株の保存方法について、一時的な保存であればドルセット培地ではなく、カシトン半流動培地の使用で保存可能である。
- 薬剤耐性菌株の保存法について、Skim milkではなく、培養液1:グリセリン1とし、-80℃保存が良い。

(4) 報告書記載事項について(報告書の記載方法に関する意見)

- 本事業で対象としている細菌の検出率、流通工程における汚染率等、可能な限り文献等の数値を引用し、報告書本文中に記載するようにする。
- サンプルングの対象となる場所は、あくまでも消費者が購入する店舗であるため、と畜場から店舗までの流れをつかむサンプルング、検査についての話は報告書のプロトコルとは別の項を立てて記載する。
- 報告書の中に、食鳥の流通に関する説明を記載する。
- 食肉、食鳥、養殖魚の流通の中で、微生物汚染について考察する。
- 微生物汚染から食品の安全性を保護するために定められている各種規制と効果の実際について、ガイドライン等の導入前後の数値があれば報告書に記載する。また実際問題として、ガイドライン等が機能していない状況であれば、その旨を記載する。

- 今後への提言の項に記載されている事項は、検討会において出された主な意見の項に記載する。

(5) その他

- セデカマイシン、チルミコシンの溶解に使用する溶媒について、秋元様より連絡頂く。
- 3月27日までに秋元様より報告書素案を返却頂き、検討会事務局で修正した上、3月29日までに再度提出する。

以上

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
大1	Antimicrobial Agents Chemotherapy	Plasmid-mediated quinolone resistance in clinical isolates of <i>Escherichia coli</i> from Shanghai, China	2003	47	2242
大2	Appl Environ Microbiol	Prevalence and characterization of non-O157 Shiga Toxin-Producing <i>Escherichia coli</i> on carcasses in commercial beef cattle processing plants.	2002	68	4847
大3	Appl Environ Microbiol	Determination of the sensitivity of a rapid <i>Escherichia coli</i> O157:H7 assay for testing 375-gram composite samples.	2000	66	4149
大4	Appl Environ Microbiol	Antimicrobial resistance and virulence genes of <i>Escherichia coli</i> isolates from swine in Ontario	2005	71	6753
大5	Appl Environ Microbiol	Frequency and distribution of tetracycline resistance genes in genetically diverse, nonselected, and nonclinical <i>Escherichia coli</i> strains isolated from diverse human and animal sources	2004	70	2503
大6	Appl Environ Microbiol	Role of Calf -adapted <i>Escherichia coli</i> in maintenance of antimicrobial drug resistance in dairy calves	2004	70	752
大7	Appl Environ Microbiol	Antimicrobial resistance of <i>Escherichia coli</i> O157 isolated from humans, cattle , swine , and food	2002	68	576
大8	Culture Media for Food Microbiology	Media for 'total' Enterobacteriaceae, coliforms and <i>Escherichia coli</i>	1995	34	163
大9	Emerging Infectious Diseases	Fluoroquinolone-resistant <i>Escherichia coli</i> , Indonesia	2005	11	1363
大10	Emerging Infectious Diseases	armA and aminoglycoside resistance in <i>Escherichia coli</i>	2005	11	954
大11	Emerging Infectious Diseases	Fluoroquinolone-resistant <i>Escherichia coli</i> carriage in long-term care facility	2005	11	889
大12	Emerging Infectious Diseases	Integrating <i>Escherichia coli</i> antimicrobial susceptibility data from multiple surveillance programs	2005	11	873
大13	Emerging Infectious Diseases	Antimicrobial-resistant invasive <i>Escherichia coli</i> , Spain	2005	11	546
大14	Emerging Infectious Diseases	Genetic background of <i>Escherichia coli</i> and extended-spectrum β -Lactamase Type	2005	11	54

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
大15	Emerging Infectious Diseases	Cephalosporin -resistant Escherichia coli among summer camp attendees with Salmonellosis	2003	9	1273
大16	Emerging Infectious Diseases	Isolation of Escherichia coli O157: H7 from intact colon fecal samples of swine	2003	9	380
大17	Emerging Infectious Diseases	Antimicrobial resistance of Escherichia coli O26,O103, O111,O128, and O145 from animals and humans	2002	8	1409
大18	Food Microbiology	Interpretation of the results of antimicrobial susceptibility analysis of Escherichia coli isolates from bovine milk, meat and associated foodstuffs	2005	22	353
大19	Food Microbiology	Retail meat and poultry as a reservoir of antimicrobial- resistant Escherichia coli	2004	21	249
大20	Food Microbiology	Antibiotic susceptibility pattern of Escherichia coli strains with verocytotoxic E.coli-associated virulence factors from food and animal faeces	2003	20	27
大21	International Journal of Food Microbiology	Antimicrobial resistance of Escherichia coli O157 from cattle in Korea	2006	106	74
大22	International Journal of Food Microbiology	Comparative evaluation of different chromogenic/fluorogenic media for detecting Escherichia coli O157:H7 in food.	2001	71	257
大23	International Journal of Food Microbiology	Isolation and characterization of verocytotoxin-producing Escherichia coli O157 from slaughter pigs and poultry.	1999	52	67
大24	International Journal of Food Microbiology	Comparison of enrichment procedures for isolation of Escherichia coli O157:H7 from ground beef and radish sprouts.	1999	50	211
大25	J Appl Microbiol	Cross-contamination of carcasses and equipment during pork processing.	2002	93	169
大26	J Appl Microbiol	Prevalence of verotoxin-producing Escherichia coli(VTEC) and E. coli O157:H7 in French pork.	2002	93	7
大27	J Appl Microbiol	Genotypic analysis of Escherichia coli recovered from product and equipment at a beef-packing plant	2004	97	78
大28	J Dairy Sci	In Vitro antimicrobial susceptibility of Escherichia coli Isolates from clinical bovine mastitis in Finland and Israel	2003	86	3927
大29	J Vet Med Sci	Isolation and characterization of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli O157:H7 from beef, pork and cattle fecal samples in Changchun, China.	2002	64	1041

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
大30	Journal of Antimicrobial Chemotherapy	Antibiotic resistance of faecal Escherichia coli in poultry,poultry farmers and poultry slaughterers	2001	47	763
大31	Journal of Applied Microbiology	Geographical variation in antibiotic resistance profiles of Escherichia coli isolated from swine, poultry, beef and dairy cattle farm water retention ponds in Florida	2006	100	50
大32	Journal of Clinical Microbiology	Characterization of Multiple-antimicrobial-resistant Escherichia coli isolates from diseased chickens and swine in China	2004	42	3483
大33	Journal of Food Protection	Microbiological quality of ground beef from conventionally-reared cattle and "raised without antibiotics" label claims	2004	67	1433
大34	Journal of Food Protection	Detection and quantitation of Enterohemorrhagic Escherichia coli O157,O111,and O26 in beef and bovine feces by real-time polymerase chain reaction	2002	65	1371
大35	Journal of Food Protection	Incidence of Escherichia coli O157:H7 in frozen beef patties produced over an 8-hour shift	2002	65	1363
大36	Journal of Food Protection	Detection of Escherichia coli O157:H7 in 10-and 25-gram ground beef samples with an evanescent-wave biosensor with silica and polystyrene waveguides	2002	65	596
大37	Journal of Food Protection	A new technique for Escherichia coli testing of beef and pork carcasses	2002	65	192
大38	Journal of Food Protection	Isolation and characterization of Escherichia coli O157:H7 from retail meats in Argentina	2001	64	1346
大39	Journal of Food Protection	Comparison of sponging and excising as sampling procedures for microbiological analysis of fresh beef-carcass tissue	1999	62	1255
大40	Journal of Food Protection	Occurrence and Survival of Verocytotoxin-Producing Escherichia coli O157 in meats obtained from retail outlets in the Netherlands	1999	62	1115
大41	Journal of Food Protection	Characterization of the risk to human health of pathogenic Escherichia coli isolates from chicken carcasses	1999	62	741
大42	Journal of Food Protection	Antibiotic resistance of Escherichia coil O157:H7 and O157:NM isolated from animals, food, and humans	1998	61	1511
大43	Journal of Food Protection	Evaluation of the VIDAS methodology for detection of Escherichia coli O157 in food samples	1998	61	917
大44	Lett Appl Microbiol	Escherichia coli O26 detection from foods using an enrichment procedure and an immunomagnetic separation method	2000	30	151

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
大45	Lett Appl Microbiol	Isolation of shiga toxin-producing Escherichia coli(STEC) from foods using EHEC agar.	2000	30	109
大46	Lett Appl Microbiol	Detection of Shiga-toxigenic Escherichia coli(STEC) in fresh seafood and meat marketed in Mangalore, India by PCR.	2001	33	334
大47	Lett Appl Microbiol	Resistance patterns of non-O157 Shiga toxin-producing Escherichia coli(STEC) strains isolated from animals, food and asymptomatic human carriers in Switzerland.	2001	32	114
大48	Letters in Applied Microbiology	Isolation of E.coli O157 :H7 and non-O157 STEC in different matrices: review of the most commonly used enrichment protocols	2006	42	102
大49	Letters in Applied Microbiology	A Chromogenic plating medium for isolating Escherichia coli O157: H7 from beef	1999	29	26
大50	Meat Sci	Presence and characterisation of verotoxin producing E. coli in fresh Italian pork sausages, and preparation and use of an antibiotic-resistant strain for challenge studies	2005	70	181
大51	Meat Sci	Effect of antimicrobial proteins from porcine leukocytes on Staphylococcus aureus and Escherichia coli in comminuted meats	2003	65	615
大52	The Journal of Veterinary Medical Science	Antimicrobial susceptibility of pathogenic Escherichia coli isolated from sick cattle and pigs in Japan	2005	67	999
大53	感染症学雑誌	ヒト下痢症および健康牛から分離したVero毒素産生性大腸菌 O157:H7 (VTEC O157:H7) における薬剤感受性	2005	79	451
大54	感染症学雑誌	豚からのVero毒素産生性大腸菌 (VTEC) の分離および血清型	2003	77	1032
大55	感染症学雑誌	ハトおよびカラスからのVero毒素産生性大腸菌 (VTEC) の分離および血清型	2003	77	5
大56	感染症学雑誌	散発下痢患者由来大腸菌の腸管病原性大腸菌 (EPEC) eaeA 遺伝子および腸管凝集性大腸菌 (EAggEC) aggR 遺伝子保有状況とその病原性の評価	2002	76	721
大57	感染症学雑誌	人下痢症および乳牛から分離されたVero毒素産生性大腸菌 (VTEC) の分子疫学的検討	2002	76	96
大58	感染症学雑誌	Vero毒素産生性大腸菌 (VTEC) 感染症に関する研究 -鹿からの本菌分離について-	1999	73	1140
大59	感染症学雑誌	乳牛におけるVero毒素産生性大腸菌 (VTEC) の汚染状況および分離菌株の血清型	1999	73	445

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
大60	埼玉研所報	埼玉県における腸管出血性大腸菌の検出状況(1996-1998)	1999	(33)	107
大61	動物抗菌会報	豚由来毒素産生性大腸菌の薬剤耐性	2000	21	49
大62	日本獣医師会雑誌	夏季における牛の腸管出血性大腸菌O157保菌状況と分離株の薬剤感受性	2005	58	205
大63	日本獣医師会雑誌	牛の腸管出血性大腸菌O157の保菌状況と分離株の性状	2003	56	745
大64	日本食品微生物学会雑誌	牛挽肉,ポテトサラダおよび野菜のドレッシング和えからの腸管出血性大腸菌O157の検出における培養法,免疫磁気ビーズ,イムノクロマト系簡易キットの有用性の検討	2002	19	187
大65	日本獣医師会雑誌	牛からの志賀毒素産生性大腸菌の分離と病原因子	2003	56	267
大66	日本獣医師会雑誌	哺乳豚および離乳豚における酸耐性大腸菌の保有状況	2001	54	909
大67	日本獣医師会雑誌	沖縄県で分離された子豚下痢由来腸管毒素原性大腸菌(ETEC)の細菌学的性状と病原遺伝子保有状況	2001	54	595
大68	日本獣医師会雑誌	静岡県におけるヒトおよび牛由来腸管出血性大腸菌O157のファージ型	2001	54	489
大69	日本獣医師会雑誌	2種類の増菌培養法による牛の腸管出血性大腸菌O157保菌状況	2001	54	391
大70	日本獣医師会雑誌	子牛由来Vero毒素産生性大腸菌の細菌学的性状、薬剤感受性とプラスミドプロフィール	2000	53	279
大71	日本獣医師会雑誌	と畜牛からの志賀毒素産生性大腸菌分離	1999	52	445
大72	日本獣医師会雑誌	人由来腸管出血性大腸菌の分子疫学	1999	52	383
大73	日本獣医師会雑誌	と畜場における志賀毒素産生性大腸菌の分離	1999	52	198
大74	日本獣医師会雑誌	飲水を介した離乳豚の大腸菌性腸管毒血症の発生	1998	51	659

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
大75	日本獣医師会雑誌	と畜場の牛枝肉からのベロ毒素産生性大腸菌分離	1997	50	663
大76	日本獣医師会雑誌	PCR法による牛直腸内容集合検体からのVero毒素産生性大腸菌遺伝子の検出	1997	50	607
大77	日本獣医師会雑誌	腸管出血性大腸菌に関する研究班・食肉の汚染実態に関する調査研究班の中間報告書	1997	50	123
大78	日本食品微生物学会雑誌	小学校給食の牛乳が原因と推定される腸管出血性大腸菌O157:H7感染事例	2001	18	159
大79	日本食品微生物学会雑誌	腸管出血性大腸菌O157分離培地BD CHROMagar™O157の評価	2001	18	75
大80	獣医畜産新報	薬剤耐性菌を巡る最近の話題 食肉等から分離された腸管出血性大腸菌O157およびサルモネラの薬剤耐性	2001	54	749
大81	食品衛生研究	食肉における腸管出血性大腸菌O157の迅速検査法の検討	1999	49	89

参照文献:腸球菌

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
腸1	Antimicrob Agents Chemother	Enterococci with glycopeptide resistance in turkeys, turkey farmers, turkey slaughterers, and (Sub)Urban residents in the South of The Netherlands: Evidence for transmission of vancomycin resistance from animals to humans?	1999	43	2215
腸2	Antimicrob Agents Chemother	Vancomycin-resistant Enterococcus faecium strains with highly similar pulsed-field gel electrophoresis patterns containing similar Tn1546-like elements isolated from a hospitalized patient and pigs in Denmark.	1999	43	724
腸3	Appl Environ Microbiol	Vancomycin-resistant Enterococci in humans and imported chickens in Japan	2002	68	6457
腸4	Appl Environ Microbiol	Changes in antimicrobial susceptibility of native Enterococcus faecium in chickens Fed Virginiamycin	2005	71	4986
腸5	Appl Environ Microbiol	Prevalence and antimicrobial resistance of Enterococcus species isolated from retail meats	2003	69	7153
腸6	Culture Media for Food Microbiology	Culture media for enterococci and group D-streptococci	1995	34	51
腸7	Emerging Infectious Diseases	Global spread of vancomycin -resistant Enterococcus faecium from distinct nosocomial genetic complex	2005	11	821
腸8	Emerging Infectious Diseases	Epidemic and nonepidemic multidrug-resistant Enterococcus faecium	2003	9	1108
腸9	Emerging Infectious Diseases	Use of antimicrobial growth promoters in food animals and Enterococcus faecium resistance to therapeutic antimicrobial drugs in Europe	1999	5	329
腸10	Emerging Infectious Diseases	Multiple-drug resistant Enterococci: The nature of the problem and an agenda for the future	1998	4	239
腸11	Emerging Infectious Diseases	Diversity among multidrug-resistant Enterococci	1998	4	37
腸12	Emerging Infectious Diseases	Vancomycin-resistant Enterococci outside the health-care setting: prevalence, sources, and public health implications	1997	3	311
腸13	International Journal of Food Microbiology	The role and application of enterococci in food and health	2006	106	1
腸14	International Journal of Food Microbiology	Molecular structure and evolution of the conjugative multiresistance plasmid pRE25 of Enterococcus faecalis isolated from a raw-farmed sausage	2003	88	325

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
腸15	International Journal of Food Microbiology	Gene transfer of vancomycin and tetracycline resistances among <i>Enterococcus faecalis</i> during cheese and sausage fermentations	2003	88	315
腸16	International Journal of Food Microbiology	Species distribution and antibiotic resistance patterns of enterococci isolated from food of animal origin in Germany	2003	88	311
腸17	International Journal of Food Microbiology	Species identification and detection of vancomycin resistance genes in enterococci of animal origin by multiplex PCR	2003	88	305
腸18	International Journal of Food Microbiology	Comparison of the incidence of virulence determinants and antibiotic resistance between <i>Enterococcus faecium</i> strains of dairy, animal and clinical origin	2003	88	291
腸19	International Journal of Food Microbiology	Occurrence and spread of antibiotic resistances in <i>Enterococcus faecium</i>	2003	88	269
腸20	International Journal of Food Microbiology	Opsonophagocytic assay as a potentially useful tool for assessing safety of enterococcal preparations	2003	88	263
腸21	International Journal of Food Microbiology	Safety aspects of enterococci from the medical point of view	2003	88	255
腸22	International Journal of Food Microbiology	EU assessment of enterococci as feed additives	2003	88	247
腸23	International Journal of Food Microbiology	Homemade traditional cheeses for the isolation of probiotic <i>Enterococcus faecium</i> strains	2003	88	241
腸24	International Journal of Food Microbiology	<i>Enterococcus faecium</i> RZS C5, an interesting bacteriocin producer to be used as a co-culture in food fermentation	2003	88	235
腸25	International Journal of Food Microbiology	Functionalty of enterococci in meat products	2003	88	223
腸26	International Journal of Food Microbiology	Functionalty of enterococci in dairy products	2003	88	215
腸27	International Journal of Food Microbiology	Physiological and molecular aspects of bile salt response in <i>Enterococcus faecalis</i>	2003	88	207
腸28	International Journal of Food Microbiology	Glucose prevents citrate metabolism by enterococci	2003	88	201
腸29	International Journal of Food Microbiology	Differentiation of <i>Enterococcus faecium</i> from <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> and <i>Streptococcus thermophilus</i> strains by PCR and dot-blot hybridisation	2003	88	197

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
腸30	International Journal of Food Microbiology	The phenoplate system for studies of the diversity of enterococcal populations from the food chain and the environment	2003	88	189
腸31	International Journal of Food Microbiology	Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of Enterococcus spp. 2. Pheno- and genotypic criteria	2003	88	165
腸32	International Journal of Food Microbiology	Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of Enterococcus spp. 1. Media for isolation and enumeration	2003	88	147
腸33	International Journal of Food Microbiology	Comparison of enterococcal populations in animals, humans, and the environment - a European study	2003	88	133
腸34	International Journal of Food Microbiology	Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract	2003	88	123
腸35	International Journal of Food Microbiology	Enterococci in foods - a conundrum for food safety	2003	88	105
腸36	Journal of Antimicrobial Chemotherapy	Antibiotic resistance of faecal enterococci in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers	2002	49	497
腸37	Journal of Clinical Microbiology	Improved primer design for multiplex PCR analysis of vancomycin-resistant Enterococcus spp.	2001	39	2367
腸38	Journal of Clinical Microbiology	Occurrence of vancomycin-resistant Enterococci in pork and poultry products from a cattle-rearing area of France	2001	39	2354
腸39	Journal of Clinical Microbiology	Simple and reliable multiplex PCR assay for surveillance isolates of vancomycin-resistant Enterococci	2000	38	3092
腸40	Journal of Clinical Microbiology	Prevalence of vancomycin-resistant Enterococci in fecal samples from hospitalized patients and nonhospitalized controls in a cattle-rearing Area of France	2000	38	620
腸41	Journal of Clinical Microbiology	Evaluation of a vanA-specific PCR assay for detection of vancomycin-resistant Enterococcus faecium during a hospital outbreak	1999	37	3348
腸42	Journal of Clinical Microbiology	Fecal carriage of vancomycin-resistant Enterococci in hospitalized patients and those living in the community in The Netherlands	1997	35	3026
腸43	Journal of Clinical Microbiology	Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant Enterococci by PCR	1995	33	24
腸44	Journal of Food Protection	Contribution of Enterococci to the spread of antibiotic resistance in the production chain of swine meat commodities	2005	68	955

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
腸45	Journal of Food Protection	Resistance to gentamicin and vancomycin in Enterococcal strains isolated from retail broiler chickens in Japan	2004	67	2292
腸46	Journal of Food Protection	Antibiotic resistance and virulence traits of Enterococci isolated from baylough, an irish artisanal cheese	2004	67	1948
腸47	Letters in Applied Microbiology	Antimicrobial susceptibilities of enterococci isolated from faeces of broiler and layer chickens	2000	31	427
腸48	Swiss Medical Weekly	Prevalence of colonisation and resistance patterns of vancomycin-resistant enterococci in healthy, non-hospitalised persons in Switzerland	2001	131	280
腸49	Journal of Food Protection	Vancomycin resistance and antibiotic susceptibility of Enterococci in raw meat	2000	63	912
腸50	日本獣医師会雑誌	食鳥と体から分離されたバンコマイシン耐性腸球菌	2005	58	489
腸51	日本食品微生物学会雑誌	国産および輸入鶏肉におけるバイコマイシン耐性腸球菌(VRE)の分離状況および分離菌株の分子疫学的解析	2000	17	235
腸52	宮城県保健環境センター年報	宮崎県内における動物由来腸球菌の薬剤耐性保有状況調査-特にバンコマシンの耐性腸球菌保有状況-	1999	(17)	56
腸53	食品衛生研究	市販鶏肉におけるバンコマイシン耐性腸球菌の汚染実態調査	2005	55	57
腸54	鳥取県衛生環境研究所報	県内流通鶏肉におけるVRE汚染実態調査	2005	(45)	56
腸55	日本細菌学雑誌	輸入鶏肉より分離されたバンコマイシンに依存性を示すバンコマイシン耐性腸球菌の遺伝学的解析	2003	58	357
腸56	日本食品微生物学会学術総会講演要旨集	鶏肉における腸球菌の汚染状況とその薬剤感受性	2002	23	86

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
カ1	Antimicrobial Agents Chemotherapy	Prevalence and subtypes of ciprofloxacin -resistant <i>Campylobacter</i> spp. in commercial poultry flocks before, during , and after treatment with fluoroquinolones	2005	49	690
カ2	Antimicrobial Agents Chemotherapy	Incidence of antibiotic resistance in <i>Campylobacter jejuni</i> isolated in Alberta, Canada, from 1999 to 2002, with special reference to tet(O)-mediated tetracycline resistance	2004	48	3442
カ3	Antimicrobial Agents Chemotherapy	Antimicrobial resistance in <i>Campylobacter jejuni</i> and <i>Campylobacter coli</i> strains isolated in 1991 and 2001-2002 from poultry and humans in Berlin, Germany	2003	47	3825
カ4	Applied and Environmental Microbiology	Effects of orally administered tetracycline on the intestinal community structure of chickens and on tet determinant carriage by commensal bacteria and <i>Campylobacter jejuni</i>	2005	71	5865
カ5	Applied and Environmental Microbiology	Concurrent quantitation of total <i>Campylobacter</i> and total ciprofloxacin-resistant <i>Campylobacter</i> loads in rinses from retail raw chicken carcasses from 2001 to 2003 by direct plating at 42°C	2005	71	4510
カ6	Applied and Environmental Microbiology	Effects of subtherapeutic administration of antimicrobial agents to beef cattle on the prevalence of antimicrobial resistance in <i>Campylobacter jejuni</i> and <i>Campylobacter hyointestinalis</i>	2005	71	3872
カ7	Applied and Environmental Microbiology	Prevalence and antimicrobial resistance of thermophilic <i>Campylobacter</i> spp, from cattle farms in Washington State	2005	71	169
カ8	Applied and Environmental Microbiology	Comparison of prevalence and antimicrobial susceptibilities of <i>Campylobacter</i> spp. isolates from organic and conventional dairy herds in Wisconsin	2004	70	1442
カ9	Culture Media for Food Microbiology	Culture media for the isolation of <i>Campylobacters</i>	1995	34	129
カ10	Emerging Infectious Diseases	Antimicrobial resistance in <i>Campylobacter</i>	2004	10	1346
カ11	Emerging Infectious Diseases	Fluoroquinolone susceptibility of <i>Campylobacter</i> strains, Senegal	2003	9	1479
カ12	Emerging Infectious Diseases	Increasing fluoroquinolone resistance in <i>Campylobacter jejuni</i> , Pennsylvania, USA, 1982-2001	2002	8	1501
カ13	Emerging Infectious Diseases	Quinolone and macrolide resistance in <i>Campylobacter jejuni</i> and <i>C. coli</i> :Resistance mechanisms and trends in human isolates	2001	7	24
カ14	Emerging Infectious Diseases	Antibiotics in animal feed and spread of resistant <i>Campylobacter</i> from poultry to humans	2004	10	1158

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
カ15	Emerging Infectious Diseases	Integronlike structures in <i>Campylobacter</i> spp., of human and animal origin	2000	6	50
カ16	Epidemiol. Infect.	Antibiotic resistance of <i>Campylobacter</i> in raw retail chickens and imported chicken portions	2003	131	1181
カ17	Int Journal of Antimicrobial Agents	Antimicrobial susceptibilities of <i>Campylobacter</i> isolated from food-producing animals on farms (1999-2001): results from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring program	2004	24	261
カ18	J Antimicrob Chemother	Antibiotic resistance in <i>Campylobacter</i> spp., isolated from human faeces (1980-2000) and foods (1997-2000) in Northern Ireland :an update	2001	48	455
カ19	J Vet Med Sci	<i>Campylobacter</i> spp.in human, chickens , pigs and their antimicrobial resistance	2003	65	161
カ20	Journal of Antimicrobial Chemotherapy	Tetracycline resistance of Australian <i>Campylobacter jejuni</i> and <i>Campylobacter coli</i> isolates	2005	55	452
カ21	Journal of Antimicrobial Chemotherapy	Antimicrobial resistance in <i>Campylobacter</i> strains isolated from French broilers before and after antimicrobial growth promoter bans	2004	54	1025
カ22	Journal of Antimicrobial Chemotherapy	Antimicrobial susceptibility of <i>Campylobacter</i> spp., isolated from broiler chickens in Northern Ireland	2003	52	220
カ23	Journal of Applied Microbiology	Genetic characterization and antibiotic resistance of <i>Campylobacter</i> spp. isolated from poultry and humans in senegal	2006	100	209
カ24	Journal of Food Protection	Prevalence and antimicrobial resistance of <i>Campylobacter</i> in antimicrobial -free and conventional pig production systems	2005	68	2402
カ25	Journal of Food Protection	Reduction in flock prevalence of <i>Campylobacter</i> spp., in broilers in Norway after implementation of an action plan	2005	68	2220
カ26	Journal of Food Protection	<i>Campylobacter</i> contamination of raw meat and poultry at retail sale : Identification of multiple types and comparison with isolates from human infection	2000	63	1654
カ27	Letters in Applied Microbiology	Antimicrobial resistance of <i>Campylobacter jejuni</i> and <i>Campylobacter coli</i> isolates from broiler Chickens isolated at an Irish poultry processing plant	2003	36	277
カ28	Letters in Applied Microbiology	Antimicrobial resistance and plasmid profiles of <i>Campylobacter jejuni</i> and <i>Campylobacter coli</i> from human and animal sources	2002	34	149
カ29	Preventive Veterinary Medicine	Evaluation of an antimicrobial resistance monitoring program for <i>Campylobacter</i> in poultry by simulation	2005	70	29

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
カ30	Preventive Veterinary Medicine	Clinical herd health , farm management and antimicrobial resistance in <i>Campylobacter coli</i> on finishing pig farms in Switzerland	2005	69	189
カ31	Veterinary Record	Reduced antibiotic resistance to fluoroquinolones and streptomycin in 'animal-friendly ' pig fattening farms in Switzerland	2003	152	80
カ32	秋田県衛生科学研究所報	カンピロバクター分離株の薬剤感受性と型別について	1997	41	43
カ33	感染症学雑誌	下痢患者由来 <i>Campylobacter jejuni</i> のニューキノロン薬に対する薬剤感受性の年次別推移	1996	70	1227
カ34	東京衛研年報	鶏および鶏肉由来 <i>Campylobacter</i> 属菌のニューキノロン剤に対する薬剤感受性	1997	48	3
カ35	動物抗菌会報	健康家畜由来カンピロバクターの薬剤感受性調査	2004	24	16
カ36	動物抗菌会報	カンピロバクターの薬剤感受性試験法の現状	2002	24	26
カ37	動物抗菌会報	ヒト食中毒由来カンピロバクターの薬剤耐性	2002	24	22
カ38	動物抗菌会報	食鳥処理場におけるカンピロバクターの汚染実態	2002	24	12
カ39	動物抗菌会報	カンピロバクターの生態学	2002	24	8
カ40	鶏病研報	生産現場におけるカンピロバクター汚染実態とその対策	2001	37	195
カ41	日本獣医師会雑誌	市販鶏肉におけるカンピロバクターの定量検査と分離菌株の血清型	2004	57	595
カ42	日本獣医師会雑誌	腸炎患者、犬、猫および野鳥におけるカンピロバクターおよびヘリコバクターの保有状況ならびに分離法の検討	2004	57	455
カ43	日本獣医師会雑誌	人および鶏肉由来 <i>Campylobacter jejuni</i> HS:2およびHS:19血清型株のPCR-RFLP法による遺伝子解析	2003	56	471
カ44	日本獣医師会雑誌	国産および輸入鶏肉におけるカンピロバクターの汚染状況	2003	56	103

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
カ45	日本獣医師会 雑誌	RAPD法による牛由来 <i>Campylobacter jejuni</i> の遺伝子型別	2001	54	639
カ46	日本獣医師会 雑誌	鶏肉からの <i>Campylobacter jejuni</i> の分離におけるストマッカー処理の効果	1999	52	326
カ47	埼玉県衛生研 究所報	市販鶏肉のカンピロバクターの定量検査とRAPD法による遺伝子型別	2001	35	59
カ48	静岡県環境衛 生科学研究所 報告	カンピロバクターの生態および検出方法に関する研究	2002	45	5
カ49	日本獣医師会 雑誌	国産および輸入鶏肉におけるカンピロバクターの汚染状況	2003	56	103

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
サ1	Antimicrobial Agents Chemotherapy	Multidrug-resistant Salmonella enterica Serovar Muenchen from pigs and humans and humans and potential interserovar transfer of antimicrobial resistance	2005	49	503
サ2	Antimicrobial Agents Chemotherapy	Increasing prevalence of quinolone resistance in human nontyphoid Salmonella enterica Isolates obtained in Spain from 1981 to 2003	2004	48	3789
サ3	Appl Environ Microbiol	Characterization of multiple-antimicrobial-resistant Salmonella serovars Isolated from retail meats	2004	70	1
サ4	Appl Environ Microbiol	Clonal expansion may account for high levels of quinolone resistance in Salmonella enterica serovar Enteritidis	2005	71	2587
サ5	Appl Environ Microbiol	Prevalence and antimicrobial susceptibility of Salmonella spp. isolates from US cattle in feedlots in 1999 and 2000	2003	95	753
サ6	Appl Environ Microbiol	Characterization and chromosomal mapping of antimicrobial resistance genes in Salmonella enterica serotype Typhimurium	2000	66	4842
サ7	Culture Media for Food Microbiology	Media for Salmonella	1995	34	187
サ8	Emerging Infectious Diseases	β -Lactam resistance and Enterobacteriaceae, United States	2005	11	1464
サ9	Emerging Infectious Diseases	Cephalosporin and ciprofloxacin resistance in Salmonella, Taiwan	2005	11	947
サ10	Emerging Infectious Diseases	Hospitalization and antimicrobial resistance in Salmonella outbreaks,1984-2002	2005	11	943
サ11	Emerging Infectious Diseases	International Salmonella Typhimurium DT104 infections, 1992-2001	2005	11	859
サ12	Emerging Infectious Diseases	Multidrug-resistant Salmonella Typhimurium Infection from milk contaminated after pasteurization	2004	10	932
サ13	Emerging Infectious Diseases	Multidrug-resistant strains of Salmonella enterica Typhimurium,United States,1997-1998	2004	10	795
サ14	Emerging Infectious Diseases	Ciprofloxacin-resistant Salmonella enterica Typhimurium and Choleraesuis from pigs to humans, Taiwan	2004	10	60

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
サ15	Emerging Infectious Diseases	Fluoroquinolone resistance linked to GyrA,GyrB,and ParC mutations in Salmonella enterica Typhimurium Isolates in humans	2003	9	1455
サ16	Emerging Infectious Diseases	First incursion of Salmonella enterica serotype Typhimurium DT160 into New Zealand	2003	9	493
サ17	Emerging Infectious Diseases	Emergence of ceftriaxone-resistant Salmonella isolates and rapid spread of plasmid-encoded CMY-2-like cephalosporinase,Taiwan	2003	9	323
サ18	Emerging Infectious Diseases	Life-threatening infantile diarrhea from fluoroquinolone-resistant Salmonella enterica Typhimurium with mutations in both gyrA and parC	2003	9	255
サ19	Emerging Infectious Diseases	Excess Mortality Associated with Antimicrobial Drug -Resistant Salmonella Typhimurium	2002	8	490
サ20	Emerging Infectious Diseases	Reduced Fluoroquinolone Susceptibility in Salmonella enterica Serotypes in Travelers Returning from Southeast Asia	2001	7	996
サ21	Emerging Infectious Diseases	Presence of Class I Integrons in Multidrug -Resistant, Low-Prevalence Salmonella Serotypes, Italy	2001	7	455
サ22	Emerging Infectious Diseases	Decreased Susceptibility to Ciprofloxacin in Salmonella enterica serotype Typhi, United Kingdom	2001	7	448
サ23	Emerging Infectious Diseases	Expanding Drug Resistance through Integron Acquisition by IncFI Plasmids of Salmonella enterica Typhimurium	2001	7	444
サ24	Emerging Infectious Diseases	Molecular Typing of Multidrug -Resistant Salmonella Blockley Outbreak Isolates from Greece	2000	6	60
サ25	Epidemiol. Infect.	Epidemiological characteristics of Salmonella Typhimurium isolated from animals and feed in Poland	2006	134	179
サ26	Epidemiol. Infect.	Antibiotic resistance in Salmonella enterica serotypes Typhimurium, Enteritidis and Infantis from human infections,foodstuffs and farm animals in Italy	2004	132	245
サ27	Epidemiol. Infect.	Epidemiological studies of human and animal Salmonella Typhimurium DT104 and DT104b isolates in Ireland	2001	126	3
サ28	Eur J Clin Microbiol Infect Dis	Antimicrobial resistance patterns and serotype distribution among Salmonella enterica strains in Turkey , 2000-2002	2005	24	220
サ29	European Journal of Epidemiology	Epidemiology of antibiotic resistance of human nontyphoidal Salmonellae in Greece during an 8-year Period (1990-1997)	2001	17	751

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
サ30	Fleischwirtschaft	Salmonella-monitoring in der Schweinefleischzerlegung.	2000	80	86
サ31	Food Microbiology	Effects of plasmid curing on antibiotic susceptibility, phage type, lipopoly saccharide and outer membrane protein profiles in local Salmonella isolates	2001	18	631
サ32	International Journal of Food Microbiology	Antimicrobial resistance in Salmonella enteritidis strains isolated from broiler carcasses, food, human and poultry-related samples	2005	97	297
サ33	International Journal of Food Microbiology	Genetic diversity and virulence gene determinants of antibiotic-resistant Salmonella isolated from preharvest turkey production sources	2004	91	51
サ34	International Journal of Food Microbiology	Comparison of VIDAS enzyme-linked fluorescent immunoassay using moore swab sampling and conventional culture method for Salmonella detection in bulk tank milk and in-line milk filters in California dairies.	2001	67	123
サ35	International Journal of Food Microbiology	Occurrence of Salmonella spp. in imported eggs into Albania	1999	49	169
サ36	International Journal of Food Microbiology	Rapid detection of stressed Salmonella spp. in dairy and egg products using immunomagnetic separation and PCR.	1999	46	37
サ37	J Am Vet Med Assoc	Antimicrobial susceptibility patterns of Salmonella isolates from cattle in feedlots	2002	221	268
サ38	J Appl Microbiol	Tracing of Salmonella spp. in two pork slaughter and cutting plants using serotyping and macrorestriction genotyping	2001	90	131
サ39	J Med Microbiol	Evolution of chloramphenicol resistance, with emergence of cross-resistance to florfenicol, in bovine Salmonella Typhimurium strains implicates definitive phage type (DT) 104	2000	49	103
サ40	Journal of Antimicrobial Chemotherapy	Fluoroquinolone treatment of experimental Salmonella enterica serovar Typhimurium DT104 infections in chickens selects for both gyrA mutations and changes in efflux pump gene expression	2005	56	297
サ41	Journal of Antimicrobial Chemotherapy	Ciprofloxacin resistance in non-typhoidal Salmonella serotypes in Scotland, 1993-2003	2005	56	110
サ42	Journal of Antimicrobial Chemotherapy	Antimicrobial susceptibility of Salmonella isolated from cattle, swine and poultry (2001-2002) :report from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program	2004	53	266
サ43	Journal of Antimicrobial Chemotherapy	Antimicrobial resistance in salmonellae from humans, food and animals in Spain in 1998	2001	47	315
サ44	Journal of Applied Microbiology	The incidence of antimicrobial-resistant Salmonella spp. on freshly processed poultry from US midwestern processing plants	2003	94	16

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
サ45	Journal of Chemotherapy	Antimicrobial-resistant Salmonella enterica serovars isolated from chickens in Spain	2002	14	346
サ46	Journal of Clinical Microbiology	Characterization of Isolates of Salmonella enterica serovar Typhimurium displaying high-level fluoroquinolone resistance in Japan	2005	43	5074
サ47	Journal of Clinical Microbiology	Fluorescent amplified fragment length polymorphism subtyping of multiresistant Salmonella enterica serovar Typhimurium DT104	2004	42	4843
サ48	Journal of Clinical Microbiology	Antimicrobial susceptibilities of Salmonella strains isolated from humans, cattle ,pigs, and chickens in The Netherlands from 1984 to 2001	2003	41	3574
サ49	Journal of Clinical Microbiology	Multiple genetic typing of Salmonella enterica serotype Typhimurium isolates of different phage types (DT104,U302,DT204b, and DT49)from animals and humans in England , Wales, and Northern Ireland	2002	40	4450
サ50	Journal of Clinical Microbiology	Molecular characterization of multidrug-resistant Salmonella enterica subsp., enterica serovar Typhimurium isolates from swine	2002	40	2813
サ51	Journal of Clinical Microbiology	Characterization of multidrug- resistant Salmonella enterica serovar Typhimurium isolated in Japan	2001	39	2700
サ52	Journal of Clinical Microbiology	Characterization of Salmonella enterica serovar Typhimurium DT104 Isolated from Denmark and comparison with isolates from Europe and the United States	2000	38	1581
サ53	Journal of Food Protection	Antimicrobial susceptibilities of Salmonella isolates obtained from layer chicken houses on a commercial egg-producing farm in Japan, 1997 to 2002	2005	68	2030
サ54	Journal of Food Protection	Salmonella in dairy operations in the United states : Prevalence and antimicrobial drug susceptibility	2005	68	696
サ55	Journal of Food Protection	Comparison of four different methods for Salmonella detection in fecal samples of Porcine origin	2004	67	2158
サ56	Journal of Food Protection	Prevalence and number of Salmonella in Irish retail pork sausages	2004	67	1834
サ57	Journal of Food Protection	Characterization of antimicrobial-resistant phenotypes and genotypes among Salmonella enterica recovered from pigs on farms,from transport trucks, and from pigs after slaughter	2004	67	698
サ58	Journal of Food Protection	Antibiotic resistance of Salmonella Isolated from hog,beef, and chicken carcass samples from provincially inspected abattoirs in Ontario	2004	67	448
サ59	Journal of Food Protection	Comparison of sampling methods for the detection of Salmonella on whole broiler carcasses purchased from retail outlets	2003	66	1768

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
サ60	Journal of Food Protection	Prevalence and antibiotic susceptibility of Salmonella isolated from foods in Korea from 1993 to 2001	2003	66	1154
サ61	Journal of Food Protection	Serotyping and antibiotic resistance profiling of Salmonella in feedlot and nonfeedlot beef cattle	2002	65	1694
サ62	Journal of Food Protection	Salmonella spp. on chicken carcasses in processing plants in Poland	2002	65	1475
サ63	Journal of Food Protection	Salmonella serotypes isolated from nonhuman sources in Sao Paulo, Brazil, from 1996 through 2000	2002	65	1041
サ64	Journal of Food Protection	Antibiotic resistance of Salmonella spp. from animal sources in Spain in 1996 and 2000	2002	65	768
サ65	Journal of Food Protection	Determination of MICs of streptomycin for resistant Salmonella Isolates in swine and poultry using a micro-broth dilution system	2002	65	563
サ66	Journal of Food Protection	Occurrence of Salmonella enterica serotype Typhimurium DT 104A in retail ground beef	2002	65	403
サ67	Journal of Food Protection	Prevalence and antibiotic susceptibility of Salmonella Isolated from beef animal hides and carcasses	2002	65	284
サ68	Journal of Food Protection	Prevalence of antimicrobial resistance in Salmonellae Isolated from market-age swine	2001	64	1496
サ69	Journal of Food Protection	Incidence of Salmonella in minced meat produced in a European union-approved cutting plant	2001	64	1435
サ70	Journal of Food Protection	Monitoring of layer feed and eggs for Salmonella in Eastern Japan between 1993 and 1998	2001	64	734
サ71	Journal of Food Protection	Multidrug- resistant Salmonella Typhimurium DT104 in poultry	2000	63	155
サ72	Journal of Food Protection	Automated rapid screening of foods for the presence of Salmonellae	1999	62	1341
サ73	Journal of Food Protection	Antimicrobial resistance of Salmonella in raw retail chickens, imported chicken portions, and human clinical specimens	2004	67	1220
サ74	Lett Appl Microbiol	Characterization of antimicrobial resistant Salmonella Kinshasa from dairy calves in Texas	2004	38	140

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
サ75	Microbiol Immunol	Epidemiological characterization of Salmonella Typhimurium DT104 prevalent among food -producing animals in the Japanese veterinary antimicrobial Resistance Monitoring Program(1999-2001)	2004	48	553
サ76	The Journal of Veterinary Medical Science	Prevalence of the virulence plasmid in Salmonella Typhimurium isolates from pigs	2006	68	187
サ77	Vet Res	Evaluation of molecular typing methods for Salmonella enterica serovar Typhimurium DT 104 isolated in Germany from healthy pigs	2001	32	119
サ78	Veterinary Microbiology	Antimicrobial resistance in Salmonella enterica serovars Enteritides and Typhimurium isolated from animals in Korea : comparison of phenotypic and genotypic resistance characterization	2002	86	295
サ79	Veterinary Record	Serovars of Salmonella isolated from Danish turkeys between 1995 and 2000 and their antimicrobial resistance	2002	150	471
サ80	Veterinary Record	Antimicrobial resistance patterns of Salmonella typhimurium and Salmonella dublin isolated from cattle in Japan	2000	147	48
サ81	感染症学雑誌	多剤耐性Salmonella enterica serovar Newportにおける患者由来株と下水由来株との比較検討	2005	79	270
サ82	感染症学雑誌	多剤耐性Salmonella Newportの国内初報告例	2004	78	989
サ83	感染症学雑誌	人の感染性腸炎から分離されたサルモネラの薬剤感受性試験, 接合型Rプラスミド保有状況およびプラスミドプロファイル	2000	74	816
サ84	静岡県環境衛生科学研究所報告	食品等のサルモネラ汚染実態と対策に関する研究	1997	40	21
サ85	食衛誌	卵の保存及び調理と関連する条件がSalmonella Enteritidisの増殖、侵入及び生残に与える影響	2002	43	71
サ86	食衛誌	卵及び卵加工品におけるサルモネラエンテリティディスの汚染とその対策	1999	40	7
サ87	食品衛生研究	食鳥検査において確認されたブロイラーのサルモネラ症	2003	53	51
サ88	動物抗菌会報	Salmonella Typhimurium DT104とわが国の現状について	2000	22	16
サ89	動物抗菌会報	搾乳牛に発生したSalmonella Typhimurium感染症と生菌製剤投与による清浄化対策	1999	20	22

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
サ90	動物抗菌会報	搾乳牛群におけるサルモネラ症	1997	18	29
サ91	動物抗菌会報	搾乳牛に発生したサルモネラ症とその衛生対策	1997	18	24
サ92	動物抗菌会報	搾乳牛に発生したSalmonella Typhimurium感染症と対策	1997	18	17
サ93	動物抗菌会報	乳用雄牛に発生したSalmonella Dublin 感染症とSalmonella Bredeney-保菌乳用牛群における対策	1997	18	8
サ94	鶏病研究会報	卵トレイのサルモネラ汚染状況調査と養鶏場で実施可能な消毒方法の検討	2005	41	107
サ95	鶏病研究会報	ヒト、ブロイラーおよび採卵鶏由来Salmonella Infantisのパルスフィールド電気泳動法による解析	2005	41	47
サ96	鶏病研究会報	イムノクロマト法によるSalmonella Enteritidis検出キットの感度	2002	38	202
サ97	鶏病研究会報	イムノクロマト法によるSalmonella Enteritidis検出キットの検討	2002	38	189
サ98	鶏病研究会報	採卵鶏育成鶏における生薬のSalmonella Enteritidis 排菌抑制効果	2001	37	217
サ99	鶏病研究会報	高介卵感染性Salmonella Enteritidis株の検索と介卵感染への断餌・断水の影響	2001	37	36
サ100	鶏病研究会報	サルモネラ検査法	2001	37	14
サ101	鶏病研究会報	遺伝子診断によるサルモネラ検査法	2000	36	123
サ102	鶏病研究会報	鶏肉の食鳥処理場別サルモネラ汚染と汚染防止策	2000	36	33
サ103	鶏病研究会報	食鳥処理現場における採卵廃鶏のサルモネラ汚染実態調査	1999	35	89
サ104	新潟県保健環境科学研究所年報	鶏卵及び鶏肉のサルモネラ・エンテリティディス汚染状況	1998	14	101

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
サ105	日本獣医師会雑誌	豚のサルモネラ症の現状と対策(Ⅰ)	2005	58	780
サ106	日本獣医師会雑誌	鶏のサルモネラ症の現状と対策(その2)	2004	57	742
サ107	日本獣医師会雑誌	鶏のサルモネラ症の現状と対策(その1)	2004	57	671
サ108	日本獣医師会雑誌	市販食肉におけるサルモネラとリステリアの汚染状況	2003	56	167
サ109	日本獣医師会雑誌	鶏肉のサルモネラ汚染調査および分離菌株の薬剤感受性	2002	55	305
サ110	日本獣医師会雑誌	食鳥処理場で分離されたSalmonella Typhimuriumの薬剤感受性およびdefinitive phage type104の検出	2001	54	797
サ111	日本獣医師会雑誌	健康な繁殖母豚のサルモネラ保菌状況とその血清型	2000	53	533
サ112	日本獣医師会雑誌	食肉のサルモネラモニタリング	2000	53	473
サ113	日本獣医師会雑誌	牛由来サルモネラに対するオルビフロキサシンとホスマイシンのin vitro併用効果	2000	53	1
サ114	日本獣医師会雑誌	十勝管内のブロイラーにおけるサルモネラ保菌状況の調査	1999	52	46
サ115	日本食品微生物学会雑誌	DIASALMを用いたサルモネラ簡易迅速検出法の検討	2002	19	171
サ116	日本獣医師会雑誌	食鳥処理場におけるサルモネラ分離株の血清型と薬剤感受性	1997	50	285
サ117	日本食品微生物学会雑誌	イカ菓子食中毒事件に関与したSalmonella OranienburgとSalmonella Chesterによるサルモネラ感染症の細菌学的検討	2001	18	135
サ118	日本食品微生物学会雑誌	東京都多摩地区の国産食鳥肉のサルモネラ汚染状況と分離株の血清型および薬剤耐性(1992-1999)	2000	17	207
サ119	日本食品微生物学会雑誌	サルモネラ分離寒天培地'ESサルモネラ'の評価	1999	16	249

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
サ120	感染症学雑誌	東京都内におけるサルモネラ血清型Enteritidisファージ型Iによる集団下痢症の発生状況と疫学マーカーによる解析	1999	73	437
サ121	宮崎県衛生環境研究所年報	宮崎県内で食鳥の糞便、鶏肉、患者、健康保菌者から分離された <i>Salmonella Corvallis</i> の薬剤耐性試験について	2001	12	71
サ122	食品衛生研究	食中毒原因食品解析における <i>Salmonella Infantis</i> の薬剤感受性およびパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)法による型別の応用	2002	52	97
サ123	生活衛生	食鳥検査の現場からみたブロイラーのサルモネラ汚染実態調査	2002	46	177
サ124	長崎県衛生公害研究所報	長崎県内に流通する鶏卵のサルモネラ汚染実態調査 (1999-2001年度)	2001	47	109
サ125	奈良県保健環境研究センター年報	奈良県内の食鳥肉のサルモネラ汚染状況と分離株の血清型および薬剤耐性 (平成4年-平成13年)	2002	(36)	117
サ126	日本食品微生物学会雑誌	鶏ミンチ肉のサルモネラ検出法 増菌・分離培地の比較	2002	19	133

参考文献:総合

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
総1	Appl Environ Microbiol	Prevalence and antimicrobial resistance of <i>Campylobacter</i> spp., and <i>Salmonella</i> serovars in organic chickens from Maryland retail stores	2005	71	4108
総2	Appl Environ Microbiol	Prevalence of <i>Campylobacter</i> spp., <i>Escherichia coli</i> , and <i>Salmonella</i> serovars in retail chicken, turkey, pork, and beef from the Greater Washington, D.C., Area	2001	67	5431
総3	Emerging Infectious Diseases	Current status of antimicrobial resistance in Taiwan	2002	8	132
総4	Epidemiol. Infect.	<i>Salmonella</i> and <i>Campylobacter</i> contamination of raw retail chickens from different producers: a six year survey	2002	129	635
総5	Food Microbiology	Comparison of antimicrobial resistance in <i>Salmonella</i> and <i>Campylobacter</i> isolated from turkeys in the Midwest USA☆	2004	21	779
総6	International Journal of Food Microbiology	Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> spp. and <i>Campylobacter</i> spp. isolated from slaughtered sheep in Switzerland	2004	92	45
総7	International Journal of Food Microbiology	<i>Campylobacter</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> and <i>Escherichia coli</i> in live and dressed poultry from metropolitan Accra	2001	71	21
総8	J Dairy Sci	Prevalence of <i>Salmonellae</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , and fecal coliforms in bulk tank milk on US dairies	2004	87	2822
総9	Journal of Antimicrobial Chemotherapy	A European survey of antimicrobial susceptibility among zoonotic and commensal bacteria isolated from food-producing animals	2004	54	744
総10	Journal of Food Protection	Survey of <i>Salmonella</i> and <i>Campylobacter</i> contamination of whole, raw poultry on retail sale in Wales in 2003	2005	68	1447
総11	Journal of Food Protection	Effect of fecal contamination and cross-contamination on numbers of coliform, <i>Escherichia coli</i> , <i>Campylobacter</i> , and <i>Salmonella</i> on immersion-chilled broiler carcasses	2005	68	1340
総12	Journal of Food Protection	Prevalence of <i>Campylobacter</i> , <i>Salmonella</i> , and <i>Escherichia coli</i> on the external packaging of raw meat	2005	68	469
総13	Journal of Food Protection	Prevalence and antibiotic resistance profiles of <i>Escherichia coli</i> O157:H7 in beef products from retail outlets in Gaborone, Botswana	2005	68	403
総14	Journal of Food Protection	Identification of <i>Enterobacteriaceae</i> from washed and unwashed commercial shell eggs	2004	67	2613

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
総15	Journal of Food Protection	Process control and sampling for Escherichia coli O157:H7 in beef trimmings	2004	67	1755
総16	Journal of Food Protection	Survival of Escherichia coli O157:H7, Salmonella Enteritidis, Staphylococcus aureus, and Listeria monocytogenes in Kimchi	2004	67	1497
総17	Journal of Food Protection	Development of methods for the recovery of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella from beef carcass sponge samples and bovine fecal and hide samples	2002	65	1527
総18	Journal of Food Protection	Microbial profile and antibiotic susceptibility of Campylobacter spp. and Salmonella spp. in broilers processed in air-chilled and immersion -chilled environments	2002	65	948
総19	Journal of Food Protection	Quantification of the contamination of chicken and chicken products in The Netherlands with Salmonella and Campylobacter	2001	64	538
総20	Journal of Food Protection	The microbiological profile of chilled and frozen chicken	2000	63	1228
総21	Veterinary Microbiology	Susceptibility of Escherichia coli and Enterococcus faecium isolated from pigs and broiler chickens to tetracycline degradation products and distribution of tetracycline resistance determinants in E. coli from food animals	2003	95	91
総22	Journal of Food Protection	Identification of inadequately cleaned equipment used in a sheep carcass -breaking process	1999	62	637
総23	Lett Appl Microbiol	Incidence of Campylobacter and Salmonella isolated from retail chicken and associated packaging in South Wales	2001	33	450
総24	日本食品衛生学会学術講演会講演要旨集	鶏肉におけるVRE,サルモネラ,カンピロバクター汚染状況と分離株の薬剤耐性について	2003	86	103
総25	茨城県衛生研究所	認定小規模食鳥処理場における細菌汚染状況について	1995	(33)	45
総26	茨城県衛生研究所	認定小規模食鳥処理場における細菌汚染状況について(第4報)	1996	(34)	39
総27	動物抗菌会報	JVARMにおける抗菌剤の使用と耐性との関係解析について	2005	27	10
総28	動物抗菌会報	最近における抗菌剤の使用状況と大腸菌、サルモネラ及び黄色ブドウ球菌の抗菌剤に対する薬剤耐性	1998	19	13
総29	鶏病研究会報	サルモネラの生態と疾病予防策	2005	41	171

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
総30	鶏病研究会報	家畜由来各種細菌の抗菌性物質感受性動向調査の概要と薬剤耐性を巡るわが国の対応	2003	39	69
総31	日本獣医師会雑誌	家畜および市販ひき肉における Arcobacter, Campylobacter, Salmonella の分布状況	2004	57	393
総32	日本獣医師会雑誌	食肉処理センターにおける大動物処理工程改善による効果	2000	53	159
総33	日本獣医師会雑誌	食鳥と体の細菌学的サンプリング方法の検討とブロイラーと体の細菌汚染調査	2001	54	857
総34	日本獣医師会雑誌	食鳥処理場における細菌汚染調査	1998	51	608
総35	埼玉県衛生研究所報	市販鶏肉の細菌汚染調査	2002	(36)	80
総36	埼玉県衛生研究所報	市販鶏肉からのカンピロバクター及びサルモネラの分離と血清型別法, RAPD法, PFGE法の比較	2000	(34)	52
総37	秋田県衛生科学研究所報	薬剤耐性菌の浸淫実態解明に関する調査研究(平成12年度-平成14年度)	2003	47	24
総38	食品衛生研究	焼肉用生肉等の汚染実態調査結果について	2002	52	73
総39	臨床栄養	最近の食中毒発生の傾向と問題点	2005	107	22
総40	モダンメディア別冊	今、微生物による食中毒で何が問題となっているか	2004	50	104
総41	月刊 HACCP2004年10月号	腸管出血性大腸菌O157食中毒の傾向と対策	2004	(10)	42
総42	食品衛生学雑誌	食品の微生物学的安全性確保	2000	41	384
総43	食品衛生研究	食鳥処理場における微生物制御に関する調査について	1995	45	69
総44	鶏病研究会報	採卵養鶏場における Salmonella Enteritidis 清浄化対策	2004	40	20

文献番号	雑誌名	タイトル	年	巻(号)	頁
総45	鶏病研究会報	ブロイラー養鶏場におけるHACCPの導入とその問題	2005	41	3

参照資料:

文献番号	資料名	編集・監修	年
資1	農林水産統計 平成16年漁業・養殖業生産統計(概数)	農林水産省大官房統計部	2005
資2	農林水産統計 平成16年食鳥流通統計調査結果の概要	農林水産省大官房統計部	2005
資3	農林水産統計 牛乳乳製品統計(平成18年1月分)	農林水産省大官房統計部	2006
資4	農林水産統計 鶏卵流通統計(平成17年10月～12月分)	農林水産省大官房統計部	2006
資5	食品品質表示の早わかり	農林水産省・社団法人 日本農林規格協会	2005
資6	知っておきたい 食品の表示	厚生労働省・農林水産省・公正取引委員会	2005
資7	銘柄牛肉ハンドブック2005	財団法人 日本食肉消費総合センター	2005
資8	銘柄豚肉ハンドブック2005	財団法人 日本食肉消費総合センター	2005
資9	市場のしおり Market Guide	東京都中央卸売市場	
資10	築地市場概要 平成17年度版	東京都中央卸売市場築地市場	2005
資11	ヨコハマ 食肉市場 ガイドブック	横浜中央卸売市場食肉市場	2004
資12	食肉のまち・品川発-芝浦ブランド	東京都中央卸売市場食肉市場	
資13	岐阜県食肉衛生検査所	お肉ができるまで	2006
資14	滋賀県 県民文化生活部 食肉衛生検査所	食肉検査の流れ	2006

文献番号	資料名	編集・監修	年
資15	我が国の家畜衛生分野における 薬剤耐性モニタリング耐性	http://www.nval.go.jp/taisei/zu3.jpg	
資16	The Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System (JVARM)	http://www.nval.go.jp/taisei/etaisei/JVARM	
資17	平成16年度家畜由来細菌の抗菌性物質感受性実態調査	http://www.nval.go.jp/taisei/16taisei/H16.htm	2004
資18	平成15年度家畜由来細菌の抗菌性物質感受性実態調査	http://www.nval.go.jp/taisei/15taisei/H15.htm	2003
資19	平成14年度家畜由来細菌の抗菌性物質感受性実態調査成績の概要について	http://www.nval.go.jp/taisei/14taisei/H14.htm	2002
資20	平成12年度家畜由来細菌の抗菌性物質感受性実態調査	http://www.nval.go.jp/taisei/12taisei/H12.htm	2001
資21	平成11年度家畜由来細菌の抗菌性物質感受性実態調査	http://www.nval.go.jp/taisei/11taisei/H11.htm	2000
資22	市場のしくみ Q&A	http://www.shijou.metro.tokyo.jp.jp	2000
資23	Bacteriological Analytical Manual online	http://www.cfsan.fda.gov/^ebam/bam-5.html	2005
資24	Bacteriological Analytical Manual online	http://www.cfsan.fda.gov/^ebam/bam-1.html	2003
資25	Bacteriological Analytical Manual online Chapter4	http://www.cfsan.fda.gov/^ebam/bam-4.html	2002
資26	Bacteriological Analytical Manual online Chapter4A	http://www.cfsan.fda.gov/^ebam/bam-4.html	2002
資27	Bacteriological Analytical Manual online Chapter5A	http://www.cfsan.fda.gov/^ebam/bam-7.html	2001
資28	平成12年度食品中の食中毒汚染実態調査結果について	http://www.mhlw.go.jp/houdou/0104/h0427-3.html	2001
資29	豚と畜処理方法が豚内臓の品質へ与える影響の調査	全国農業協同組合連合会	2000

参照資料:

文献番号	資料名	編集・監修	年	巻、号	タイトル
成1	食品衛生検査指針 微生物編	厚生労働省・社団法人 日本食品衛生協会	2004		
成2	腸管系病原菌の検査法 第4版	医学書院	1985		
成3	HACCP: 衛生管理計画の作成と実践 改訂データ編	中央法規出版株式会社	2003		
成4	東京都食品衛生調査会答申	東京都衛生局	2000		集団給食施設に対する衛生管理対策 鶏卵に起因するサルモネラ食中毒の防止対策
成5	東京都食品衛生調査会答申	東京都衛生局	1999		食品関係施設における 腸管出血性大腸菌O157汚染防止対策
成6	東京都食品衛生調査会答申	東京都食品衛生調査会	1985		カンピロバクター食中毒予防対策に関する答申
成7	東京都食品安全情報評価委員会報告		2004		カンピロバクター食中毒の発生を低減させるために-
成8	WHO Regional Publications, Eastern Mediterranean Series 15	World Health Organization Regional Office for The Eastern Mediterranean	1996		Guidelines for Antimicrobial Resistance Surveillance
成9	Progress in Industrial Microbiology	Elsevier Science B.V	1995	34	Culture Media for Food Microbiology
成10	Manual of Clinical Microbiology	ASM PRESS・ Washington, DC	1995		
成11	Food Microbiology Fundamentals and Frontiers	ASM PRESS・ Washington, DC	1997		
成12	International Journal of Food Microbiology	Elsevier Science B.V	1994	21	Special Issue devoted to Salmonella enteritidis
成13	Practical Food Microbiology Series	Blackwell Science Ltd	2002		salmonella: A practical approach to the organism and its control in foods
成14	Campylobacter 2ed Edition	ASM PRESS・ Washington, DC	2000		
成15	Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria	Cambridge University Press	1965		
成16	Escherichia coli in Domestic Animals and Humans	CAB International	1994		
成17	DANMAP	https://www.dfvf.dk/Files/Filer/Zoonosecenter/Publikationer/Danmap	2003		
成18	CIPARS	http://www.phac-aspc.gc.ca/cipars-picra/index.html	2002		
成19	SVARM	http://www.sva.se/pdf/svarm2002.pdf	2004		
成20	Clinical and Laboratory Standards Institute	https://www.clsi.org/	2005	25	Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing ; Fifteenth Informational Supplement
成21	NCCLS	https://www.nccls.org	2002	22	Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twelfth Informational Supplement
成22	NCCLS	https://www.nccls.org	2004	24	Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Informational Supplement
成23	NARMS	http://www.fda.gov/cvm/coverstheet2003.htm	2003		NARMS Retail Meat Annual Report ,2003 US FDA BAM
成24	Clinical and Laboratory Standards Institute	https://www.clsi.org/	2006	26	performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing ;Sixteenth Informational Supplement
成25	OIE International Standards on Antimicrobial Resistance,	http://www.oie.int	2003		

文献番号	資料名	編集・監修	年	巻、号	タイトル
成26	食肉・肉製品の科学	学窓社	1992		
成27	食中毒菌の制御-データと文献抄録-	中央法規出版株式会社	1988		
成28	食肉加工場の衛生管理ABC	食肉通信社	1981		

添付資料:

文献番号	資料名
添付資料1	<p>英文献 資料の和訳</p> <p>①Occurrence and spread of antibiotic resistances in <i>Enterococcus faecium</i>, International Journal of Food Microbiology 88 (2003) 269-290</p> <p>②Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of <i>Enterococcus</i> spp. 1. Media for isolation and enumeration, International Journal of Food Microbiology 88 (2003) 147-164</p> <p>③Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of <i>Enterococcus</i> spp. 2. Pheno- and genotypic criteria, International Journal of Food Microbiology 88 (2003) 165-188</p> <p>④EU assessment of enterococci as feed additives, International Journal of Food Microbiology, 88:247-254(2003)</p> <p>⑤Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci fom food and the gastro-intestinal tract,International Journal of Food Microbiology, 88:123-131(2003)</p> <p>⑥Comparison of sampling method for the detection of <i>Salmonella</i> on whole broiler carcasses purchased from retail outlets,Journal of Food Protection,66:1768-1770(2003)</p> <p>⑦Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (CIPARS) 2002</p> <p>⑧The Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme (DANMAP) 2003</p> <p>⑨Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring (SVARM) 2004</p> <p>⑩National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS) 2003</p>
添付資料2	市販食肉と養殖魚のラベル一覧
添付資料3	<p>①銘柄牛肉・豚肉の都道府県別割合</p> <p>②養殖魚の都道府県別割合</p>
添付資料4	食品衛生検査指針・微生物編に報告されている検査法
添付資料5	DANMAP2003に記載される検査法
添付資料6	飼料添加物として指定されている抗菌性物質
	<p>対象菌に対する各国のブレイクポイント</p> <p>①大腸菌</p>

文献番号	資料名
添付資料7	②腸球菌
	③サルモネラ
	④カンピロバクター
添付資料8	①生肉表面のバイコマシン耐性腸球菌分離方法〔池康嘉先生資料〕 ②鶏肉のVRE汚染調査〔池康嘉先生資料〕
添付資料9	牛豚と畜工程〔菊池孝治先生資料〕

添付資料 1

Occurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcus faecium*

Enterococcus faecium における抗生物質耐性の出現及び伝播

Ingo Klare, Carola Konstabel, Dietlinde Badstübner, Guido Werner, Wolfgang Witte

International Journal of Food Microbiology 88 (2003) 269-290

Enterococcus は院内感染において第二～三位の最も重要な細菌類である。特に *Enterococcus faecium* は自然に広範囲に分布するし、この総説の中で述べた獲得した抗生物質耐性を持っている。医学的視点から考えると、腸球菌中の糖ペプチド(たとえばバンコマイシン、VAN またはテイコプラニン、TPL)及びストレプトグラミン (guinupristin/dalfopristin、Q/D) に対する伝達性の耐性に非常に関心がある。腸球菌の糖ペプチド耐性遺伝子 VanA タイプ (Van-r、TPL-r) は最も重要な一種である。この主要な耐性菌株は *Enterococcus faecium* である。糖ペプチド耐性 *E. faecium* (GREF) は病院内及び病院外で発見された。病院外の場合は、すなわちここまで生長促進因子として糖ペプチド avoparcin (AVO) を使われていたヨーロッパの商業畜産業のことである。異なった生態由来のサンプル(動物糞便、動物飼料、入院患者、一般社会の人及び汚水)からの腸球菌において同じタイプの vanA 遺伝子クラスターを持っている。明らかに交差食物連鎖(GREFによる汚染された食肉製品)から、これらの多剤耐性細菌またはそれらの vanA 遺伝子クラスターが人に移行する。院内感染においては幅広い流行している毒性の強い糖ペプチド耐性をもつ、または耐性をもたない同じクローンの *E. faecium* が分離されている。これらの菌株はしばしば違うプラスミド及び esp 遺伝子を含む。このことから、病院適応の流行性強毒性の *E. faecium* 菌株は広範囲に伝播された後に、vanA 遺伝子クラスターを伝播された。ストレプトグラミン virginiamycin はここ 20 年以上の間にヨーロッパ商業畜産業において飼料添加剤として使われている。そのため、ストレプトグラミン耐性 *E. faecium* (SREF) としての保有者を産生した。1998/1999に SREF はドイツの下水処理場の汚水、virginiamycin (Q/D) に対して交差耐性を食べさせた動物の糞便、食肉製品、一般社会の人の糞便及び臨床サンプルから分離された。これらの SREF 分離菌株は 2000 年 5 月にドイツの病院でストレプトグラミンの組合せ Q/D が治療法の目的として使用する前に一時的に発見されたが、その時ドイツの病院において他のストレプトグラミン類をまだ使用されていない。このことは SREF 菌株またはそれらのストレプトグラミン耐性遺伝子が病院外のほかのところ、たぶん商業畜産業に由来することを示されているようだ。多剤耐性腸球菌またはそれらの伝達性耐性遺伝子の伝播を妨げるために、人や家畜の病気治療及び畜産業において抗生物質の慎重な利用が必要である。

Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of *Enterococcus* spp.

1. Media for isolation and enumeration

Enterococcus spp. の分離、定量、特性及び同定方法について 1. 分離及び定量用培地

Konrad J. Domig, Helmut K. Mayer, Wolfgang Kneifel

International Journal of Food Microbiology 88 (2003) 147-164

Enterococci は食品、飼料、環境及び臨床サンプルにおいて重要性を持つことで、*Enterococci* の検査及び定量は日常の検査のみならず、最近の研究活動においても重要な課題になっている。今まで様々な目的のために、いくつかの培地とプロトコルが発表されたが、一般的にすべての要求を満たす方法はまだ確立されていない。そのため、種々の方法の欠点と利点を考慮に入れて、付随する細菌叢の種類及びその量によって、特定の培地及びその改良されたものを利用しなければならない。これまでの応用に加えて(水の検査、種々の食品、腸及びほかの臨床サンプル)、バンコマイシン耐性 *Enterococci* (VRE) は院内感染において頻繁に発見されたので、VRE の検査は重要な課題である。さらにいくつかの違った方法の提案はこの総説の中で記述されている。この総説はここ 20 年間提案された方法や各種の培地について系統的な説明を与えるだろう。この総説は記述された培地の詳細な組成と具体的な応用を強調している。

〈結論〉

今異なった試料中の *Enterococci* の検査用培地がいろいろ使われている。提案された培地とその改良されたものが多く存在するけれども、同時に全ての要求を満たすための培地はない。さらにそれぞれの培養方法の特性は試料の由来及びその付随の微生物叢に依存する。動物飼料中に存在する *Enterococcal* 菌株の検査に関する大量のスクリーニング実験から、BEA 培地が腸球菌菌株の定量検査に適用することを示した。さらに、*Lactobacilli*、*Pediococci* 及び *Bifidobacteria* との混合するもののサンプルでも、BEA 培地は十分な選択性を持つことを証明した。しかし、培養法では *Enterococcal* 汚染菌と probiotic *Enterococcus* 菌株とを区別できない。そのため、表現型と遺伝子型の実験方法の応用実験はさらに必要である。表現型と遺伝子型の具体的な実験方法に関してはこの総説の第二部分に記述されている。

**Methods used for the isolation, enumeration, characterisation
and identification of *Enterococcus* spp.**

2. Pheno- and genotypic criteria

***Enterococcus* spp. の分離、定量、特性及び同定方法について
2. 表現型及び遺伝子型検査とその評価**

Konrad J. Domig, Helmut K. Mayer, Wolfgang Kneifel

International Journal of Food Microbiology 88 (2003) 165-188

この論文は *Enterococci* の同定と特性に適用される実験方法及び表現型、遺伝子型と系統発生的技術について記述した。通常の表現型検査体系はルーチンで腸球菌の迅速及び簡易同定に使われているが、他の検査方法たとえば標準化された SDS-PAGE 電気泳動法、多重酵素電気泳動法 (MLEE)、抗菌剤感受性試験法、血清型分類法、熱分解質量分光測定法 (pyMS) 及び振動分光 (スペクトル) 分析法は *Enterococci* の特徴を広く深く認めることができる。最近報告された多くの腸球菌の菌種は表現型の性状に関しては従来のいわゆる典型的な腸球菌とは逸脱する場合があることが示唆されている。したがって、*Enterococcus* 属に関する可能な問題を明らかにするために、遺伝子型の方法を用いなければならない。この総説において、最近開発されたポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) に基づいた方法たとえば、ランダム増幅多型 DNA 分析法 (RAPD)、増幅断片長多型分析法 (AFLP)、特異ランダム増幅分析法 (SARA)、PCR-ribotyping の改良法及びパルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE)、部分塩基配列分析法について特に強調している。

Enterococci の属と種の同定のため、保存された DNA 部分 (たとえばリボソーム RNA 遺伝子) の塩基配列データの応用のようなプローブ及び PCR の利用にも特に種の同定の場合は注視されている。

〈結論〉

現在広範囲に増大するさまざまな分類学の分析技術は腸球菌の同定、特性及び分類に使われている。ここ 15 年間実験方法の応用展開に伴い、細菌分類をかなり科学的に分類し直された。特に腸球菌の場合は、最新の細菌分類を多方面の研究から得られた広範囲の情報を集約して全体にまとめた。表現型を基にした伝統的な分類方法 (生物型分類法) は日常の分類においてまだ重要であるが、遺伝子型的分類方法は微生物の完全な特徴とそれらの細分類にますます役立つ。そのうえ、これらの分類技術は食品微生物でなく、疫学研究にも有力な手段になる。種々な研究方法の中

でこれまでの基本の検査法と開発された新たな検査法の組合せにより、同定のための適切な検査方法を提供することができるだろう。

EU assessment of enterococci as feed additives

飼料添加物である腸球菌に関するEU評価

P. Becquet

International Journal of Food Microbiology, 88:247-254(2003)

1. 序文

15 年以前からプロバイオティクスとして細菌を家畜飼料に添加し、腸管内の微生物叢の改善に活用されてきた。その効果としては家畜の健康維持、発育促進、飼料効率の改善などが指摘され、特に若齢家畜に良好な結果が得られている。飼料添加物としてのプロバイオティクスは EU 構成国では最初、国々により異なった規定により実施されていた。一方、飼料添加物はその時点で EU 諸国間の規制ルールが調整されていた。1993 年になり、飼料添加物としてのプロバイオティクスの利用が増加してきたことから、欧州委員会は EU 構成国により EU での飼料添加物の規制を支援した。

この報告書は飼料添加物としての微生物、特に腸球菌に関する最初の規定であり、登録書類の 3 本柱を解説する。

2. 飼料中の微生物に対する規定の構成

2.1. 飼料添加物としての微生物製剤

1993 年以後より、生菌剤が飼料添加物として注目されたことから、飼料添加物として市場に出荷される前に許可に関する基礎的基準を確立し、家畜栄養としての添加物に関する EEC の 70/524 会議の決議となった。

70/524 決議は 5 回修正され、1996 年に EC の 96/51 会議での最終修正案が提出された。微生物に対する基礎的基準は既に国の規則に従い市販されており、1993 年では確立されていなかった。委員会に付属する科学分野部局(動物栄養に関する科学小委員会:SCAN)によって評価された書類が作成される移行期限までは微生物の供給業者がそれらの生産物を市販できることを保証するために作成された。移行期限は次のごとく要求された。

— 各々の構成国は微生物供給業者により提出された明確な資料により市場(国のリスト)で利用可能な生産物のリストを作成する。

— 各供給業者は2年間に完全な評価書類を提出する。

— 各書類は EEC の 70/524 決議の要求を受託するために SCAN により評価される。移行期間は 2001 年 6 月までつづく。そして、この期間以降、微生物製剤の EU ポジティブリストは欧州委員会の公的な雑誌(Official Journal European Communities)に発表される。

2.2. 飼料添加物のポジティブリスト

2001年11月に最後に更新された微生物製剤のポジティブリストは9項目に分かれている。

- EUメンバー(生産物を認可するメンバー)
- 菌株の説明書(例えば、*Enterococcus faecium*とその菌株番号)
- 市場で使用されるに適切な菌株の表示(濃度、製品の形状:顆粒、粉末、液体)
- 家畜の種類/カテゴリ
- 家畜の最大年齢、製品が利用できる年齢
- 最小菌量(集落形成単位 cfu/kg)
- 最大菌量
- 製品自体に関する規定や表示に関する要求事項

付属書類の例を表1に示す。許可された腸球菌菌株のリストは表2に示す。リストに示された製品は条件(表示、動物のカテゴリ、飼料中の濃度)を満たすことにより市場に出荷できる。リストにないいかなる製品もEUの市場に出荷できない。

2.3. 認可を受けるための原則

飼料添加剤のポジティブリストに受け入れられる微生物を得るための手段として供給者は評価のための委員会やメンバーに認可すべき情報を含んだ書類一式を提出すべきである。

- 対象動物、製品を製造しているヒト、動物飼育者および環境に対する安全性
- 製品の鑑定(成分、形状)、分析方法
- 各動物に対する製品の効力

関係書類一式のガイドラインは公表し、さらに条項の第二部分について討議をすべきだろう。

2.4. 登録手順

現在は、登録書類の一式は国や委員会の他のメンバーのために報告書を提出することを国の専門メンバーに受託させる。報告者は最初の評価を組織しなければならないし、ガイドラインに従った書類を完成させ、修正するためのサポートをする。この組織は登録が委員会や構成国に受け入れられるために行う最初のステップである。

報告者レベルの最初の評価は1年以内と仮定する。しかし、この期間は特別な検討が必要な場合には延期できる。この評価の後、構成国の報告者は委員会や他の構成

国のメンバーに書類を送らなければならない。

報告者と評価報告書に基づいて委員会と他の構成国メンバーは 2 つの段階に従い書類を公表する。

- 最初の段階は 60 日間にガイドラインによる書類を評価する。
- 次の段階は 250 日間に活用を含めた科学的傍証を評価する。

一般的に、書類は有効性の評価と併せて科学的リスク評価のために SCAN に送られる。FEFANA はこの評価が規定された枠内の時間制限がないことが欠点であり、異常に長い評価時間となることがある。

SCAN は製品の安全性と有効性に関する意見を集約する。それはインターネットで公表し、委員会に提出する。構成国メンバーからの意見と評価をもとに、Food Chain & Animal Health 委員会は発案した Regulation 委員会に提案する。もし発案した製品の妥当性が受け入れられたならば、製品はポジティブリストに加えられ、さらにその評価が Official Journal of the European Communities に公表された時点で、市場に出荷できる。一般的に、これらのすべての過程を通過するに 2 ないし 3 年かかる。

最近、委員会は協議会と欧州議会に新たな規制体制 (COM,2002) を提案した。この新しく構成された欧州食品安全当局 (European Food safety Authority) を活用することにより認可の過程を単純化できる。ポジティブリストの基準を維持していく FEFANA がこの新しい提案を援助する。

2.5. 期間限定認可

プロバイオティクス菌株は特定動物に対して 4 年の暫定的な期間認可を受ける。その間に製品の効果が監視されるであろう。

製品の安全性評価は最終であると考えられるし、書類の報告は動物の発育にポジティブ効果であることが示される。暫定的な認可期間の 4 年間の間に提供者はそのプロバイオティクス菌株の効果の証明がなされるであろう。この証明はガイドラインに従い動物ごとのカテゴリの統計的な特異試験に基づく。効力試験は最終承認のために委員会と構成国で承諾される。最終承認は期間限定でない。

3. 微生物評価のガイドライン

87/153 会議での決議はすべての飼料添加剤に対する書類の受託の構成を指摘するガイドラインを制定する。EEC の 70/524 会議の決議の範囲内で 1993 年の手引きにより委員会は 1994 年に酵素と微生物のための特異要件を導入し、それらのガイドラインを新しくした。

87/153 会議での決議の化学物質に関する新しい改正が最近公表された。それ故に、

微生物に対する書類は先の EEC の 94/40 会議の決議に従う。その間に、SCAN は酵素と微生物の評価に関するガイドラインの意見をインターネット上に公表した。それらのガイドラインはこの問題についての委員会決議でないので公式の認証でない。ガイドラインは4つの重要項目のもとに承諾書類を求めている。

- －書類の要約
- －対照の同定と方法
- －有効性
- －適用動物、ヒトおよび環境への安全性

3.1. 菌株の同定と方法

このパートは飼料添加物(プロバイオティクス株を含む公式の製品)および菌株そのものの特性に関する記載である。

製品の細菌に関する定性的及び定量的成分の表示を行う。集落形成数(cfu/g)で表現される最終製品のプロバイオティクス株の最小濃度を表示する。菌株はできれば EU に所属するところの国際的に認められた標準菌株であることが要請される。製品に含まれる潜在的な不純物を明記しなければならない。

飼料添加物のポジティブリストへの登録は特異な製品のフォームに従って信頼される報告に基づく。従って製品のフォームは家畜の飼料への混合状態を適正にするために物理的状态(液体、固体)、粒子の形状(粉末、顆粒状)により評価する。

プロバイオテック株の生産のための製造過程はプロセスコントロールを含めて明記される。製造工程の変更は EU 委員会に報告すべきである。

飼料添加物のポジティブリストへの登録は特異菌株に関連しており、菌株の生物学的由来は詳細な記述や分類学上の名称を含めて記載する。飼料添加物の使用や保存条件を適切にするために、3 つの異なったバッチをもとに安定性の研究が行われなければならない。これらの研究は動物の栄養連鎖においてすべての製品の保存期間を明確にすることになる。

分析方法はプロバイオティクスとしての飼料添加物の適切な管理やモニタリングを検証するために出願者により作成される。FEFANA は認定されたプロバイオティクス株が飼料中で適切に規制されるために分析方法が重要であると考え。DG 研究プロジェクト委員会は FEFANA の補佐のもとに飼料添加物としてのプロバイオティクス株の決定のための標準検査法を重視している。

飼料添加物として遺伝子組み換えとして登録された菌株はないが、環境中に放出される遺伝学的に変異された菌株(GMM)は EC の 2001/18 会議で評価しなければならない。

3.2 有効性

プロバイオティクス株の有効性は動物の発育、飼料効率、動物の健康維持、下痢の減少などにより評価される。それらの効果は暫定的な認可を示しているが極めて不明瞭である。効果の実証は最小で 3 回の試験により統計的に特異的な有意差が求められる。例えば動物のカテゴリは下記のごとくである。

- －4ヶ月までの子豚
- －肥育豚
- －雌豚
- －乳牛
- －肥育鶏

最近の SCAN の考えは、試験は EU において少なくとも2ヶ所のところで組織的に計画され実行しなければならない。試験は Study Director の検討のもとで、すべての期間やその一部を優秀な農場で組織されるだろう。その条件は次のごとくである。

- －実験動物
- －飼料の成分
- －プロバイオティクス株と製品の形状の解析
- －遂行の評価

3.3 使用条件での安全性

プロバイオティクスの安全性は 4 つのパートからなる。

- －適用される動物
- －作業者の安全性
- －消費者の安全性
- －環境への安全性

3.31.1. 適用される動物への安全性試験

出願者は動物のカテゴリごとに製品の使用方法が要求される。適用される動物の安全性試験を実施しなければならない。そのような試験の明らかな目的は飼料添加物として過剰量の投与事故による動物のリスク評価である。少なくとも投与量の 10 倍量で試験すべきである。普通の飼育農場で動物飼料の使用評価の最大期間は約4週であるが、安全性試験では期間を延長できる。科学的背景や現実的な意義ではないけれども FEFANA はこの試験を要請している。

3.3.2 毒素の産生および病原性因子

ある特異条件で *Bacillus* 属菌のある菌株は毒素を産生する可能性がある。SCAN は動物栄養 (SCAN,2000) に *Bacillus* 属菌種の使用の安全性に関する意見を提出した。この意見は *Bacillus* 属菌の菌株ごとの製品に対しての評価基準とした。このパートでは適用動物と同様に作業員、消費者(と殺後の食肉がプロバイオティクス株による腐敗への可能性)、環境への安全性を確保する。

3.3.3 抗菌剤耐性のプロファイルおよび耐性遺伝子の伝達性

一部の腸球菌株はバンコマイシンに耐性であり、他の菌種にこの耐性遺伝子を伝達できる。そのため、SCAN は 2001 年 7 月にこのことを明記した。その後 2002 年 4 月に (SCAN,2002) 更新された。

この意見の目的は耐性と伝達を導き出している各細菌株の可能性を示すために新たな検査を開発する手引きである。

このような評価の基礎は抗生物質の広いレンジにおける MIC 評価から始める。ある菌株が特定の抗生物質に耐性であることが明らかとなったとき、その菌種は通常この抗生物質に感受性であるので、そのような耐性であることの理由を明らかにすべきである。そのような獲得した耐性は伝達性かもしれない。もし知られている外来性の耐性遺伝子が存在するならばプロバイオティクス菌株は飼料添加物としての使用が不適切である。

4. 結論

飼料添加物としてのプロバイオティクス菌株の利用はその特性、有効性、適用動物への安全性、環境への安全性を評価しなければ利用できない。この完璧なアセスメントはあらゆる見地から正確に表記された菌株であり、また正確に評価された菌株であることが明確にされたガイドラインに基づいている。

対象動物のカテゴリに対して正当に公認されていない菌株や 70/524 決議の付属文書によった明確な規定がない菌株は飼料の市場に出荷すべきでない。EU において飼料添加物として使用される '*Enterococcus*' の特定な菌株は使用規定に従って安全である。

Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract

食品や腸管内に存在する *Enterococcus* の分類、生態、および抗菌剤耐性

G.Klein

International Journal of Food Microbiology, 88:123-131(2003)

典型的な腸球菌はヒトや家畜の腸管内あるいは食品、飼料などに広範囲に分布する乳酸発酵細菌のグループに属する。これらのグループの細菌は発育性、生化学的特性が類似している。腸球菌のある菌株は *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* などの他の乳酸発酵細菌と同様に乳酸発酵食品のスターターや微生物抑制剤、あるいはプロバイオティクスや家畜の飼料添加剤として利用されている。食品産業界で広く活用されている腸球菌は抗菌剤耐性など安全性の面から正しい理解が求められるので、本菌の分類、生態学、抗菌剤耐性について解説する。

1. 腸球菌の分類

1984年に Kilpper-Balz はこれまでに *Streptococcus* 属に分類されていた *S.faecalis*, *S.faecium* を新属として設定した *Enterococcus* 属に分類し、*E.faecalis*, *E.faecium* とした。'Enterococcus' の名称について最初は 1899 年に命名されていたが、このグループの細菌はグラム陽性球菌であること、カタラーゼが陰性であることから *Streptococcus faecalis* と称されていた。しかし、*Streptococcus* 属菌と *S.faecalis* の細菌学的比較研究、分布やヒトへの病原性あるいは 16S rRNA による遺伝学的検討により、従来の *Streptococcus* (広義) から *Enterococcus*, *Lactococcus* および *Streptococcus* (狭義) に分類された。

現在は、生理学的特徴、生化学的性状および 16S rRNA の相同性により 7 グループ、22 菌種に分類されている。*E.faecalis* グループ (*E.faecalis*, *E.haemoperoxidus*, *E.moraviensis*), *E.faecium* グループ (*E.faecium*, *E.durans*, *E.hirae*, *E.mundtii*, *E.porcinus*, *E.villorum*), *E.avium* グループ (*E.avium*, *E.pseudoavium*, *E.malodoratus*, *E.raffinosis*), *E.casseliflavus* グループ (*E.casseliflavus*, *E.gallinarum*, *E.flavescens*), *E.cecorum* グループ (*E.cecorum*, *E.columbae*), *E.dispar* グループ (*E.dispar*, *E.asini*), *E.accharolyticus* グループ (*E.saccharolyticus*, *E.sulfureus*) である。以前に *E.gilvus*, *E.pallens*, *E.ratti*, *E.solitarius* とされた菌種は *Tetragenococcus* 属に分類された。

食肉、酪農食品あるいは家畜やヒトの糞便から検出された菌株の類縁属と腸球菌属との鑑別あるいは腸球菌属内の菌種鑑別は、重要な技術である。糖の発酵パター

ンあるいは生理学的、生化学的特徴より同定が可能である。*E. faecalis* は TTC(triphenyl-tetrazolium-chloride)を還元するが、*E. faecium* は還元しないか弱く反応することから、TTC を添加した培地では *E. faecalis* は濃厚な赤色の集落を形成、*E. faecium* の集落はうすいピンク色である。

日常の食品などからの腸球菌検査に使用する分離培地は Aesculin-bile-azide 培地 (ABA 培地:市販名は Enterococcosel 培地)、Kanamycin esculin azide 寒天、Citrate azide tween carbonate 寒天 (CATC 培地)、Slanetz & Bartley 培地、Thallos acetate tetrazolium glucose 寒天、Streptococcus selective 寒天、Crystal violet azide 寒天 がある。バンコマイシン耐性腸球菌の検出には ABA 培地や CATC 培地にバンコマイシンを添加する。

分離菌株の同一性や相同性の検査は分子遺伝学的技術がある。特に 16S や 23S rRNA をターゲットにした解析が腸球菌属菌種に応用されている。その他、RAPD-PCR, PFGE, CHEF など様々な方法が開発されている。

2. 腸球菌の腸管内や食品における生態

腸球菌や D 群連鎖球菌はヒトや動物の腸管内の固有の微生物である。*E. faecalis* と *E. faecium* はヒトの腸管内に高頻度に分布する。家禽、牛では *E. faecium* がしばしば認められる菌種であるが豚では少ない。その他の菌種はまれに見られる。動物由来食品には動物の腸管内に見られる腸球菌汚染が高い。*E. faecalis* や *E. faecium* は環境抵抗性が高いし、pH の変動、高濃度の食塩などに抵抗性があり、日常の食肉、酪農食品などから検出され、食品の常在細菌叢であるが、糞便汚染指標菌である。*E. faecalis* はチーズ、食肉、ソーセージあるいは魚、甲殻類などからしばしば検出されるが、動物の腸管に高く分布する *E. faecium* の検出率は低い。その理由として *E. faecium* の選択分離培地の問題があろう。

3. 腸球菌の抗菌剤耐性

土着の細菌叢としての腸球菌あるいはスターターやプロバイオティクスとしての活用されている腸球菌の評価の重要性はバンコマイシンやアボパルシンなどのグリコペプチド系薬剤に対する耐性を獲得することである。グリコペプチド系薬剤はペニシリンが無効である免疫不全宿主の重度の感染症の抗菌剤治療に利用されている。グリコペプチド系のアボパルシンは最近まで発育促進剤として家畜の飼料に添加されていた。グリコペプチド耐性腸球菌 (GRE) は食物連鎖により食品から人の腸管に導入される。さらにそのリスクは接合により GRE から腸管内の他の細菌へ 耐性が伝達される。多くの研究者は動物由来食品にバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) が分布することを明らかにした。その分離率は様々であるが、検査方法による影響があるのだろう。Klein らによる成績では新鮮な食肉からの VRE の検出率は直接培養で 0.5%、増菌培養で 8.3% である。食肉中の VRE 菌量は 1×10^1 cfu/g 以下であると考えられるので、増菌培養でなければ検出できない。スイスの報告では未殺菌牛乳から製造したチーズ

や生ソーセージ中の VRE 菌量が 107cfu/g 以上であった。

食品由来の VRE とヒト臨床由来の VRE 菌株について耐性パターンや遺伝子レベルでの解析報告が多数ある。Baumgartner らは両者の分離株の耐性パターンの違いを報告しているし、Klare らや Braak らなどは分子疫学的解析によっても食品由来株とヒト由来株の相違を指摘している。オランダ、ドイツでは鶏由来株と臨床由来株の PFGE パターンの相違を指摘している。Earon らは臨床由来株の方が食品由来株より病原性因子を高く持つことを報告している。

ヒト腸管内の薬剤耐性腸球菌は耐性株の摂取よりも耐性の伝達による影響が高いと考えられる。腸球菌のグリコペプチド耐性は他の腸球菌にしばしば導入される。しかし、接合による耐性獲得は臨床由来株で高く見られ、食品やプロバイオティクス株では低い。従って、正常な腸管内のフローラーとしての腸球菌の耐性伝達はありそうもないかもしれない。

腸球菌以外のグラム陽性細菌へのバンコマイシン耐性の遺伝子の導入は in vitro でのわずかな報告があるのみである。Noble らはマウスを用いて *E. faecalis* の耐性遺伝子が *Staphylococcus aureus* に伝達されたこと、in vitro では *Listeria* 属菌に耐性遺伝子が伝達されたことを報告している。

腸球菌は食品のスターターあるいは飼料添加によるプロバイオティクスとしての利用がなされているが、それらへの耐性遺伝子の特異伝達の可能性は殆ど否定的であかも知れない。動物の栄養として利用される細菌の薬剤耐性に関するプロトコルがヨーロッパにおいて動物栄養科学委員会 (Scientific Committee on Animal Nutrition) で提案されている。この計画図で一番重要な点は耐性の伝達に関する可能性である。

Comparison of sampling method for the detection of Salmonella on whole broiler carcasses purchased from retail outlets

小売店から出荷されたブロイラーからのサルモネラ検出のためのサンプリング法の比較

M. Simmons, D.L. Fletcher, M.E. Berrang and J.A. Cason

Journal of Food Protection, 66:1768-1770(2003)

ブロイラーからのサルモネラ検出のための2つの方法について効果的なレベルでの比較を行った。5週間にわたり、小売店から新鮮なブロイラーと体を週20検体ずつ買い上げ、計100検体を検査した。袋からと体を無菌的に取り出し、内蔵を除去した。1%緩衝ペプトン水400ml入れられた滅菌袋にと体を入れた。その後60秒間振り出した。次いで、この試料から30ml取りだし、37°C、24時間培養した。この方法(一部培養法)はUSDA-FSISが奨励しているものである。リンスした液体の7.5%が培養されたこととなる。

一方、と体が入れられた残りの370mlにさらに1%緩衝ペプトン水を130ml加え、再度振り出しを行った。バックごと37°C、24時間増菌培養を行った(全体培養法)。

一次増菌培養液の0.5mlを10mlずつ分注されたRappaport-Vassiliadis brothとTetorathionate(Hajna)brothにそれぞれ接種し、42°C、24時間培養した。分離用培地はBG Sulfa寒天およびModified lysine iron寒天を使用した。両培地に出現したサルモネラを疑う集落については生化学的性状とO多価血清とH多価血清による凝集反応によりサルモネラの同定を行った。

一部培養法:サルモネラの陽性率は100件中13件(13%)、週ごとの陽性率は20件に対して0%から4%であった。

全体培養法:サルモネラの陽性率は100件中38件(38%)、週ごとの陽性率は20件に対して4%から10%であった。

すなわち、サルモネラ汚染が少量の場合には培養のためのサンプリングは全体を用いることが最善であると結論された。

Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (CIPARS) 2002

細菌の分離方法

食肉処理場のサーベイランス(サルモネラ)

食肉処理場のサーベイランスでは、カナダ政府の MFLP-75 法という方法が改良され用いられている。この方法によって、ブロイラー、豚、牛からサルモネラを分離する。この方法は 42°C で MSR/V 培地においてサルモネラが生育できることを基にしている。豚と牛の試料では、10g の腸管内容物と 20ml の BPW を混ぜ、非選択増菌培養を行なう。同様の方法によって、鳥の腸管内容物は BPW と 1:2 の割合で混合する。試料は 35°C にて 24 時間培養する。増菌液 0.1ml を MSR/V 平板に接種して、42°C で 24-72 時間培養する。疑わしいコロニーを純化するために MAK に接種して、TSI と尿素寒天斜面に移す。サルモネラと推定される分離株は、Poly A-I&Vi サルモネラ血清を用いたスライド凝集によって同定する。

食肉処理場のサーベイランス(大腸菌)

サルモネラ分離用に調製した BPW の一滴を、MAC 寒天培地に接種して、35°C で 18-24 時間培養する。ラクトース発酵コロニーを純化のために選択して、LB 寒天培地に移す。推定されるコロニーは、シモンズ・クエン酸とインドール試験により同定する。分離された全ての細菌は、-70°C にて保存する。

薬剤感受性の試験方法

CIPARS2002 では AMR 試験には Sensititre™ Automated Antimicrobial Susceptibility System を使用する。Sensititre™ はウェルの中に入った薬剤を用いるマイクロ液体希釈法として有用である。結果は MIC として出てくる。NARMS Sensititre™ 感受性パネルである CMV6CNCD と CMV7CNCD を用いる。ウェルは 37°C で 18 時間、好氣的に培養する。MIC は生育してこない最も低い濃度として示される。*Staphylococcus aureus* ATCC29213、*Escherichia coli* ATCC25922、*Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853、*Enterococcus faecalis* ATCC29212 が精度管理用の菌株として用いられる。

The Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme (DANMAP) 2003

細菌の分離方法

動物試料での試験

サルモネラ

牛と豚の試料では、22gの試料を200mlのBPWに入れ、37°Cで一晩培養する非選択増菌培養が行なわれる。MSRV培地の平板に0.1mlのBPWを接種する。41.5°Cで一晩培養後、スライド凝集によって疑わしいコロニーを見つける。

食鳥の試料では、1:9の割合でBPWと混合させ37°Cで一晩、非選択増菌培養を行なう。続いて9.9mlのRV培地に0.1mlの増菌液を入れ、41.5°Cで一晩培養する。選択増菌液をRanbach寒天培地に接種する。サルモネラと疑われる株を、スライド凝集によって同定する。

カンピロバクター

試料を選択培地に直接接種することで分離する。選択寒天培地としてCCD寒天培地を用い、42°C、1-3日間微好気培養する。選択増菌培養ではプレストン培地に1:10の割合で接種して、42°C、24時間微好気培養する。10 μ lの選択増菌液をCCD寒天培地に接種して、42°C、1-3日間培養する。カンピロバクター様のコロニーは、生化学的性状試験とセファロチンに対する感受性により同定する。牛と豚からの分離株については、オキシダーゼ試験とナリジクス酸感受性についても試験する。

大腸菌

試料は直接Drigalski寒天培地に接種して、37°Cで一晩培養する。カタラーゼ陽性、オキシダーゼ陰性の黄色のコロニーを、インドール、クエン酸、メチルレッド、VP反応の各試験によって同定する。

腸球菌

2mlの生理食塩水に懸濁させた糞便試料の1滴を、Slanetz-Bartley寒天培地に広げ、42°Cで2日間培養する。*E. faecalis*と*E. faecium*の形態的特徴を示すコロニーを3個以上、エスクリン寒天培地に培養する。エスクリン陽性で白色のコロニーを、運動性、アルギニンジハイドロナーゼ、マンニトール、ソルビトール、アラビノース、ラフィノースの発酵性により同定する。

ブロイラーからの腸球菌は次の様に分離同定する。スワブを腸球菌選択培地(Enterococcosel培地)を用い、42°Cで一晩培養する。培養液をSlanetz-Bartley寒天培

地に画線し、37℃で48時間培養する。*E. faecalis*と*E. faecium*の形態的特徴を示すコロニーを、上記同様に同定する。*E. faecalis*又は*E. faecium*と同定した全ての菌株を薬剤感受性試験に供試する。

病原菌

全ての分離株は、次の試験まで-80℃にて保存する。

食品試料での試験

大腸菌

大腸菌の分離法は、5gの食品を45mlのマッコンキー又はラウリル硫酸培地で44℃、18-24時間培養する。培養液をViolet red bile寒天培地に画線し、44℃で48時間培養する。大腸菌と推定される株は血液寒天培地で培養し、輸送培地に移しDVFAに運ぶ。分離株は基本的な形態学的形状及びAP80試験を含む生化学的性状試験により大腸菌として同定される。

腸球菌

腸球菌の検査は、5gの試料を45mlのアザイドデキストロース培地に入れ、44℃で18-24時間培養し、Slanetz-Bartley寒天培地に画線する。44℃、48時間の培養後、生育を確認し、典型的な赤色コロニーを血液寒天培地に培養、輸送培地に移し、DVFAに運ぶ。Slanetz-Bartley寒天培地に分離株を培養後、PCRにて同定する。*E. faecalis*と*E. faecium*だけをサーベイランスの対象とする。

カンピロバクター

カンピロバクターは半定量的方法により分離する。25gの食品試料を1:4の割合でミューラーヒントン培地と混合させ、スタマック処理する。1:10の割合で希釈して、1mlの希釈液を9mlのミューラーヒントン培地に入れ、42℃で24時間微好気培養する。10μlの培養液をmCCDAに画線し、42℃で24-48時間微好気培養する。mCCDAはカンピロバクター様コロニーの存在を調べるために用いられる。推定されるコロニーは、位相差顕微鏡、オキシダーゼ反応、馬尿酸と酢酸インドキシルの加水分解により同定される。*C. jejuni*のみサーベイランスの対象とする。

薬剤感受性試験

寒天平板希釈によるMICは、カンピロバクター分離株の感受性を試験するために用いられる。これ以外の感受性試験は、Sensitireを用いて行なわれる。NCCLSのガイドラインに従って行なわれる。MICは生育しない最も低い薬剤の濃度により決定される。*Staphylococcus aureus* ATCC29213、*Escherichia coli* ATCC25922、*Pseudomonas*

aeruginosa ATCC27853、*Enterococcus faecalis* ATCC29212 が精度管理用の菌株として用いられる。Sensitire の精度管理は、毎週行なう。MIC は NCCLS のガイドラインに従って決定される。寒天平板希釈による MIC (カンピロバクター) 測定において、全ての対照菌株と *Campylobacter jejuni* ATCC35360 は全ての寒天培地に培養する。

Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring (SVARM) 2004

細菌の分離と同定

カンピロバクター

鶏からのカンピロバクターは SVA において分離同定されている。試料からの分離は、プレストン増菌培地、プレストン選択寒天培地を用いて 42°C で培養する NMKL 法を改良した方法で行われる。同定はコロニーの形態、運動性を含む顕微鏡観察、オキシダーゼ、カタラーゼ、馬尿酸の加水分解、酢酸インドキシルの生化学的性状試験により行われる。これらの試験において、馬尿酸陽性の *C. jejuni*、それ以外の馬尿酸陰性、好熱性のカンピロバクターとして同定される。SVA はカンピロバクターの分離同定を認定している。

大腸菌

0.5g の腸管内容物を 4.5ml のリン酸緩衝液に懸濁させる。混合後、0.1ml の懸濁液をマッコンキー寒天培地に塗抹する。37°C で一晚培養後、大腸菌の形態を有するラクトース陽性コロニーを馬血寒天培地で培養する。インドールと β -グルクロニダーゼの生産を試験する。典型的な形態を有するラクトース陽性菌と両方の試験の陽性菌の感受性を試験する。

腸球菌

腸管内容物を大腸菌と同様に希釈して、選択薬剤を入れないものと、バンコマイシン 16mg/L を入れた選択培地の両方を用いて培養する。

選択薬剤なしの培養

0.1ml の懸濁液を Slanetz-Bartley 寒天培地に塗抹する。平板は 37°C で 48 時間培養する。ランダムに一つのコロニーを選んで、bile esculin 寒天培地と血液寒天培地で培養する。形態学的に腸球菌の性状を示すコロニー、bile esculin 寒天培地上で陽性のコロニーを薬剤感受性試験に供試し、種レベルまで同定を行なう。

バンコマイシン耐性腸球菌の選択培養

バンコマイシンを加えた Slanetz-Bartley 寒天培地で培養する。典型的な陽性菌の生育を示す最低一つのコロニーを bile-esculin 寒天培地と血液寒天培地で 37°C、24 時間培養する。バンコマイシンの MIC が 128 μ g/L 以上の分離株については、VanA-、VanB- 遺伝子を PCR で確認する。バンコマイシン耐性菌は PhenePlate TMSystem を用いてサブタイプする。

薬剤感受性試験

Mueller-Hinton 培地を用いた希釈平板培養法で行なう。カンピロバクター以外の細菌に対してはNCCLSのマイクロ希釈法に準じて行う。カンピロバクターについては今のところ、マイクロ液体希釈法は標準法とはなっていない。NCCLSによるマイクロ希釈培養法をカンピロバクターに適用する。マイクロ希釈用パネルのそれぞれのウェルに106CFU/mlとなる濃度で100 μ lのCAMBHを接種する。パネルは37 $^{\circ}$ Cで48時間微好気培養する。MICは生育が抑制される最小の薬剤濃度で記録される。被検菌のMICが、本来持つ感受性より高い場合、耐性とみなす。微生物的カットオフ値は、耐性を定義するために使用する。目的に応じて、NCCLSによって提案されているブレイクポイントを考慮する。耐性を定義するために使用されるカットオフ値を表AP3Iに示す。バシトラシン値はunit/mlで示される。SVARMで使用されるバシトラシン化合物は、Sigmaから入手できる。1unitは26 μ g US標準品と同等である。

National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS) 2003

微生物分析

試験室では、試料は 4°C に冷蔵し、サンプリングしてから 96 時間以上置かないようにする。試験終了後、肉と鶏からサルモネラ、カンピロバクター、大腸菌、腸球菌が検出されたか記録する。それぞれの試験室では、試料収集手順を統一する。小売されている肉と鶏のパッケージは、試験開始直前までそのままにしておく。鶏と豚の試料は肉の一片を用いる。牛については 25g を試料とする。それぞれの試料は無菌のバッグに入れ、250ml のペプトン緩衝水を入れ、激しく攪拌する。それぞれの試料リンス液 50ml を、サルモネラ、カンピロバクター、大腸菌、腸球菌を分離同定するために滅菌したフラスコに移す。分離同定した株は FDA の CVM オフィスに送る。

サルモネラ分離

50ml のリンス液と 50ml の倍濃度ラクトース培地を混ぜたものをサルモネラ分離に用いる。これを 35°C で 24 時間培養する。0.1ml の培養液を、9.9ml の RVR10 培地を入れた試験管に接種する。これを 42°C で 16-20 時間培養し、あらかじめ保温しておいた 10ml の M 培地を入れた試験管に 1ml 接種する。これを 35-37°C で 6-8 時間培養する。M 培地培養液から 1ml を取り、100°C で 15 分間加熱する。残りは冷凍する。加熱した試料液を室温に戻し、TECRA または VIDAS を用いて試験する。もし TECRA または VIDAS の結果が陰性であれば、サルモネラは存在しないと考えられる。もし TECRA または VIDAS の結果が陽性であれば、加熱していない M 培地培養液を XLD 寒天培地に画線し、35°C で 24 時間培養する。それぞれの XLD 寒天培地上でサルモネラのコロニーを探す。サルモネラ様のコロニーが認められなければ、試料は陰性と考えられる。サルモネラ様のコロニーが存在した場合には、5%BAP を加えた TSA 培地に画線し、35°C で 18-24 時間培養後、さらに試験する。サルモネラ分離株は 20% のグリセリンを入れたブルセラ培地で -60 から -80°C で凍結させ、FDA-CVM へ運ぶ。CVM に到着したら、BAP 上で純化させ、Vitek を用いて同定する。これらの分離株はさらに O、H 抗原または CDC 抗血清を用いて血清型を決める。

カンピロバクター分離

50ml のリンス液と 50ml の倍濃度ボルトン培地を混ぜたものをカンピロバクター分離に用いる。Campy Pak または 85% の窒素、10% の二酸化炭素、5% の酸素を含むガス混合物を用いて酸素を減少させた条件で、42°C、24 時間培養する。スワブを用いて、CCA 平板の四分の一にボルトン培地培養液を接種する。残りの部分に、独立したコロニーを得るために画線し、42°C で 24-48 時間、微好気培養する。CCA 平板の中から、

典型的なカンピロバクターのコロニーを探す。もし CCA 平板上にカンピロバクター様のコロニーが認められなければ、試料は陰性であったと考えられる。カンピロバクター様のコロニーが認められれば、典型的なコロニーを CCA 平板から BAP に移し、上記同様に培養する。培養後、典型的なカンピロバクター様のコロニーのグラム染色、カタラーゼ、オキシダーゼ、馬尿酸、運動性について試験する。小さく、グラム陰性、らせん状であれば、試料はカンピロバクター陽性と考えられる。CCA 平板または BAP に典型的なコロニーが認められない、あるいは分離株がカンピロバクターと一致しなければ、試料は陰性と考えられる。カンピロバクターと同定した分離株は全て、20%のグリセリンを含むブルセラ培地で-60 から-80℃で凍結させ、FDA-CVM へ運ぶ。CVM に到着したら、BAP 上で2回純化させ、グラム染色と同定キットを用いて確認する。カンピロバクターの種は PCR によって決定する。

大腸菌分離

50ml のリンス液と 50ml の倍濃度マッコンキー培地を混ぜたものを大腸菌分離に用いる。これを 35℃で 24 時間培養する。培養液を EMB 寒天培地に移し、分離のために画線する。35℃で 24 時間培養し、典型的な大腸菌を確認する。EMB 寒天培地上に典型的なコロニーが認められなければ、試料は陰性と考えられる。大腸菌様のコロニーが認められれば、分離のために BAP に移す。35℃で 24 時間培養し、純化を確認する。一つの典型的なコロニーをインドール、オキシダーゼ試験を行う。インドール陽性でオキシダーゼ陰性菌が大腸菌と推定される。大腸菌と考えられる分離株は、20%のグリセリンを含むブルセラ培地で-60 から-80℃で凍結させ、FDA-CVM へ運ぶ。CVM に到着したら、BAP 上で純化させ、Vitek を用いて大腸菌と同定する。

腸球菌分離

50ml のリンス液と 50ml の倍濃度エンテロコッコセル培地を混ぜたものを腸球菌分離に用いる。これを 45℃で 24 時間培養する。生育があるいはブラッキングが認められない場合には、試料は陰性と考えられる。ブラッキングが認められた場合には、分離のために EAP 上に塗抹する。35℃で 24 時間培養後、腸球菌様のコロニーを探す。EAP 上に典型的なコロニーが認められない場合には、試料は陰性と考えられる。腸球菌様のコロニーが認められた場合には、一つのコロニーを BAP 上に移し、35℃で 24 時間培養する。腸球菌と考えられる分離株は、20%のグリセリンを含むブルセラ培地で-60 から-80℃で凍結させ、FDA-CVM へ運ぶ。CVM に到着したら、BAP 上で純化させ、Vitek を用いて腸球菌と同定する。

薬剤感受性試験

大腸菌、腸球菌、サルモネラに関する MIC は、NCCLS 法に拠る 96 ウェル微量液

体希釈法により決定する。サルモネラ、大腸菌については、グラム陰性細菌用に開発された CMV6CNCD、腸球菌はグラム陽性細菌用に開発された CMV5ACDC を用いて試験する。薬剤感受性試験を実施する時には、NCCLS が精度管理用菌として推奨している菌株を常に用いる。精度管理用の菌株は、*Escherichia coli* ATCC25922 と 35218、*Enterococcus faecalis* ATCC29212、*Staphylococcus aureus* ATCC29213、*Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 である。カンピロバクターに関しては、NCCLS が推奨している寒天希釈培養法が、シプロフロキサシン、ドキシサイクリン、エリスロマイシン、ゲンタマイシン、メロペネムに対する MIC を決定するのに使用される。NCCLS が推奨する精度管理用菌株である *Campylobacter jejuni* ATCC33560 を試験するときに常に用いる。カンピロバクターについて NCCLS が承認している基準はないが、NARMS による試験的なブレイクポイントを表 1 に示す。

添付資料 2

鹿児島県産刺身用かんぱち(養殖)

消費期限 加工年月日
06. 3. 2 06. 2. 28

0 215103 005146 100g当り 598 税込
(円) 514
正味量 86
151 0133 総容量 (g)
保存温度4℃以下
トレニ ラップ
値段(円)

大分県産刺身用ぶり(養殖)

消費期限 加工年月日
06. 2. 28 06. 2. 28

0 215103 007683 100g当り 680 税込
(円) 768
正味量 113
151 0162 総容量 (g)
保存温度4℃以下
トレニ ラップ
値段(円)

柿安すくすく鶏 皮なしモモ肉 静岡県産

要冷蔵 0℃~4℃で保存
加工日 06. 2. 28 消費期限 06. 3. 2

0 219707 003096 100g当り 144 3304
(円) 309
正味量 215
トレニ ラップ
税込(円)

柿安すくすく鶏 手羽先 静岡県産

要冷蔵 0℃~4℃で保存
加工日 06. 2. 28 消費期限 06. 3. 2

0 219707 002167 100g当り 90 3308
(円) 216
正味量 240
トレニ ラップ
税込(円)

鹿児島XX豚 カレー煮込用 鹿児島県産

要冷蔵 0℃~4℃で保存
加工日 06. 2. 28 消費期限 06. 3. 2

0 219607 003981 100g当り 189 2837
(円) 398
正味量 211
トレニ ラップ
税込(円)

沖縄アグー豚 赤身モモ切り落し 沖縄県産

要冷蔵 0℃~4℃で保存
加工日 06. 2. 28 消費期限 06. 3. 2

0 219608 005441 100g当り 315 2022
(円) 544
正味量 173
トレニ ラップ
税込(円)

【神奈川県産】

活けずき(養殖)お刺身一点盛

4℃以下で保存
消費期限
06.3.8

加工日
06.3.7



神奈川県川崎市幸区南加瀬3-40-3



0 220007 304981

価格(円)

498

【愛媛産】

ぶり(養殖)

料理用途:照焼、塩焼

10℃以下で保存
消費期限
06.3.8

加工日
06.3.7



神奈川県川崎市幸区南加瀬3-40-3



0 220362 606225

100g当り
(円) 298
正味量
(g) 209

価格(円)

622

BSE検査合格済
十勝産
上旭牛
黒毛和牛の雄牛と乳用牛の雌牛から
生まれた牛です。
上旭肉牛牧場HP <http://www.jc-beef.com/kamiasahi/>

BSE検査合格牛

北海道帯広市佐々木畜産(株)



【十勝産】

個体識別番号1186273891

上旭牛リブロースすけ切り・3等級

北海道十勝郡清水町字旭山にある上旭肉牛牧場で
育てられました。

4℃以下で保存
消費期限
06.3.9

加工日
06.3.6



神奈川県川崎市幸区南加瀬3-40-3



0 230006 212200

100g当り
(円) 798
正味量
(g) 153

価格(円)

1220

【国内産】

個体識別番号0385704124

牛ばらカルビ焼用・2等級

あらかじめ、筋切り処理してあります
十分に加熱してお召し上がり下さい。

4℃以下で保存
消費期限
06.3.9

加工日
06.3.6



神奈川県川崎市幸区南加瀬3-40-3



0 230266 107513

100g当り
(円) 488
正味量
(g) 154

価格(円)

751

【国内産】

みつせ鶏すじなしささみ

4℃以下で保存
消費期限
06.3.9

加工日
06.3.7



神奈川県川崎市幸区南加瀬3-40-3



0 230448 303108

100g当り
(円) 198
正味量
(g) 157

価格(円)

310

【国内産】

みつせ鶏手羽もと

4℃以下で保存
消費期限
06.3.9

加工日
06.3.7



神奈川県川崎市幸区南加瀬3-40-3



0 230440 704378

100g当り
(円) 118
正味量
(g) 371

価格(円)

437

自然の元気をごちそうに

みつせ鶏

うまみにこだわり 健康赤鶏
料理教室 www.yokoo.co.jp

純粋黒豚には、黒毛に六ヶ所白い部分があります。「六白」の呼称は、此呼称のみに許された本物の証です。

六白
純粋黒豚
国内産

【鹿児島産】

六白黒豚切りおとし

4℃以下で保存
消費期限
06.3.10

加工日
06.3.7



神奈川県川崎市幸区南加瀬3-40-3



0 230599 505475

100g当り
(円) 238
正味量
(g) 230

価格(円)

547

三重県産
刺身用真鯛お造り(養殖)



保存方法4℃以下
消費期限06. 2.28 加工年月日06. 2.28 9:55

神奈川県川崎市川崎区港町12-1



2 466946 003987

8946

100g当
り(肉)
正味量
(g)

価格(円)

398

鹿児島県産
刺身用かんぱちお造り(養殖)



保存方法4℃以下
消費期限06. 2.28 加工年月日06. 2.28 9:55

神奈川県川崎市川崎区港町12-1



2 466764 003981

8764

100g当
り(肉)
正味量
(g)

価格(円)

398

三重県産
刺身用平目お造り(養殖)



保存方法4℃以下
消費期限06. 2.28 加工年月日06. 2.28 9:55

神奈川県川崎市川崎区港町12-1



2 466441 003983

8441

100g当
り(肉)
正味量
(g)

価格(円)

398



岩手県産
奥州こくみ鶏もも・むね親子并用



保存方法4℃以下

消費期限06. 3. 2 加工年月日06. 2.28

神奈川県川崎市川崎区港町12-1



0 212126 003296

2126

100g当
り(肉)
正味量
(g)

価格(円)

178
185

329

鹿児島県産
若鶏手羽元



保存方法4℃以下

消費期限06. 3. 1 加工年月日06. 2.27

神奈川県川崎市川崎区港町12-1



0 213346 003745

3346


100g当
り(肉)
正味量
(g)

価格(円)

98
382

374



飛騨牛切落し (もも・バラ) 

個体識別番号 1001400288


保存方法 4℃以下

消費期限 06. 3. 1 加工年月日 06. 2. 27

神奈川県川崎市川崎区港町12-1

4867  価格(円)
100g当り(肉) 780
正味量 92 717
0 214867 007175




鹿児島県産 
黒毛和牛バラカルビ焼用

個体識別番号 1198646711


保存方法 4℃以下

消費期限 06. 3. 1 加工年月日 06. 2. 27

神奈川県川崎市川崎区港町12-1

1679  価格(円)
100g当り(肉) 780
正味量 84 655
J 211679 006556



栃木県那須産 
こくみ豚肩バラ切落し

保存方法 4℃以下

消費期限 06. 3. 2 加工年月日 06. 2. 28

神奈川県川崎市川崎区港町12-1

6931  価格(円)
100g当り(肉) 178
正味量 110 195
0 216931 001959

山形牛小間切れ (山形県産)

消費期限	保存温度	4℃以下	
06. 3. 8	3113 7 1		
0 422470 808861	100g当り (円)	498	886
	内容量 (g)	178	
加工者		千葉県船橋市高瀬町24-12	
		外包装	

国産牛肉かたろーすスライス

消費期限	保存温度	4℃以下	
06. 3. 8	3113 7 1		
0 450221 508678	100g当り (円)	398	867
	内容量 (g)	218	
加工者		千葉県船橋市高瀬町24-12	
		外包装	

鹿児島県産黒豚ばらスライス

消費期限	保存温度	4℃以下	
06. 3. 8	3113 2 1		
0 456018 404161	100g当り (円)	208	416
	内容量 (g)	200	
加工者		千葉県船橋市高瀬町24-12	
		外包装	

鹿児島県産黒豚もも切りおとし

消費期限	保存温度	4℃以下	
06. 3. 8	3113 2 1		
0 453454 404397	100g当り (円)	198	439
	内容量 (g)	222	
加工者		千葉県船橋市高瀬町24-12	
		外包装	

鹿児島県産
活ノかんぱち (養殖) 刺身用

消費期限	保存温度	0~4℃	
06. 3. 6	加工年月日	06. 3. 5	
2 740126 504416	100g当り (円)	398	441
	内容量 (g)	111	
加工者		神奈川県相模原市古瀬2-10-1	
		外包装	

宮城県産
真 だ ら

消費期限	保存温度	0~4℃	
06. 3. 6	加工年月日	06. 3. 5	
2 744101 303384	100g当り (円)	198	338
	内容量 (g)	171	
加工者		神奈川県相模原市古瀬2-10-1	
		外包装	

添付資料 3

①食肉(牛肉)

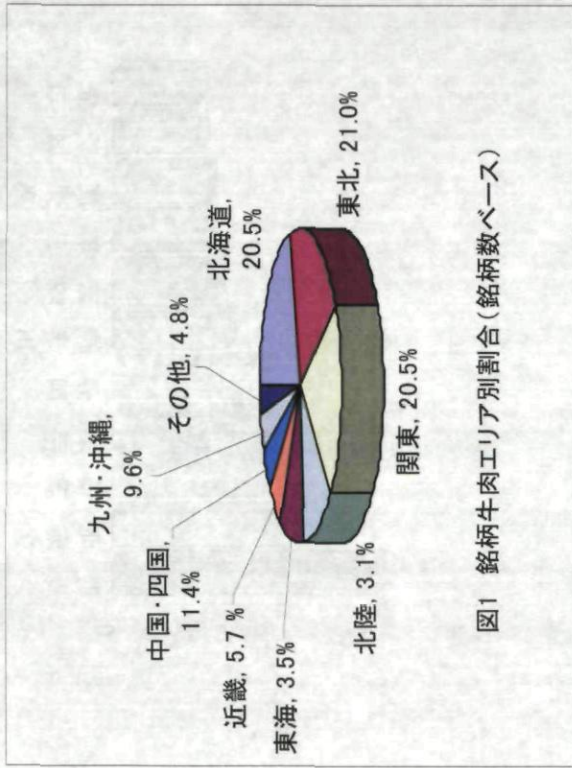


図1 銘柄牛肉エリア別割合(銘柄数ベース)

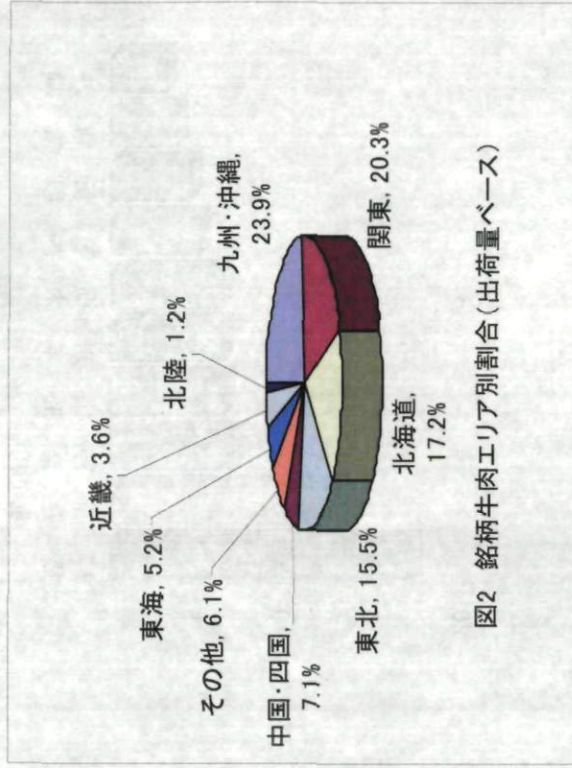


図2 銘柄牛肉エリア別割合(出荷量ベース)

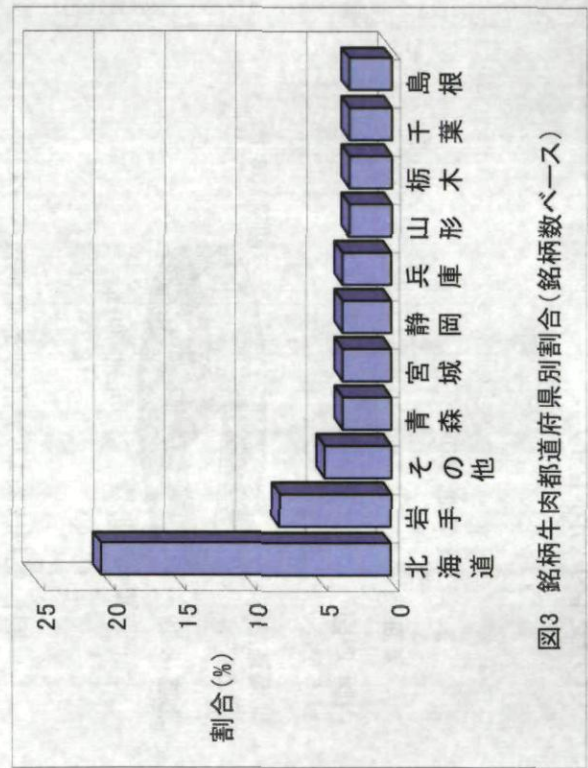


図3 銘柄牛肉都道府県別割合(銘柄数ベース)

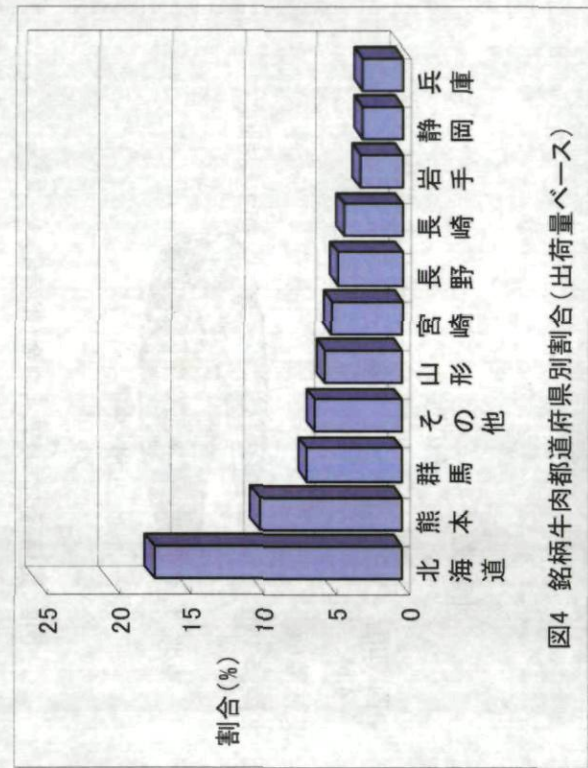


図4 銘柄牛肉都道府県別割合(出荷量ベース)

①食肉(豚肉)

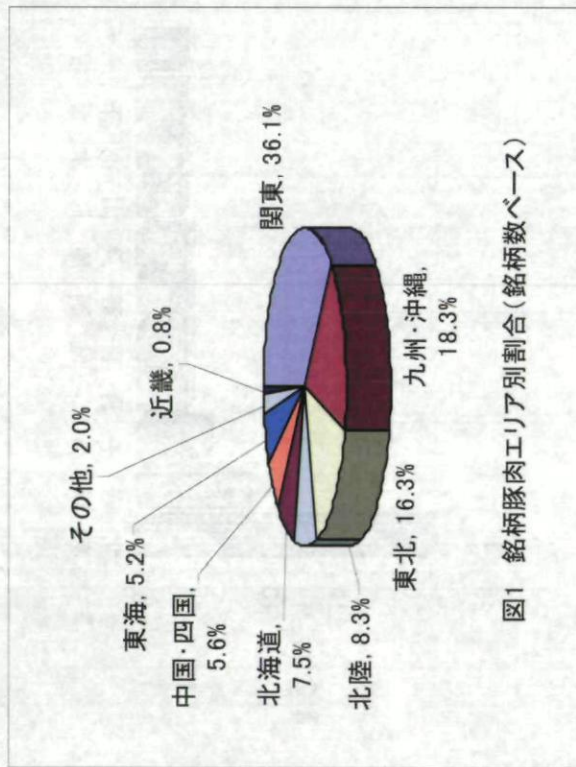


図1 銘柄豚肉エリア別割合(銘柄数ベース)

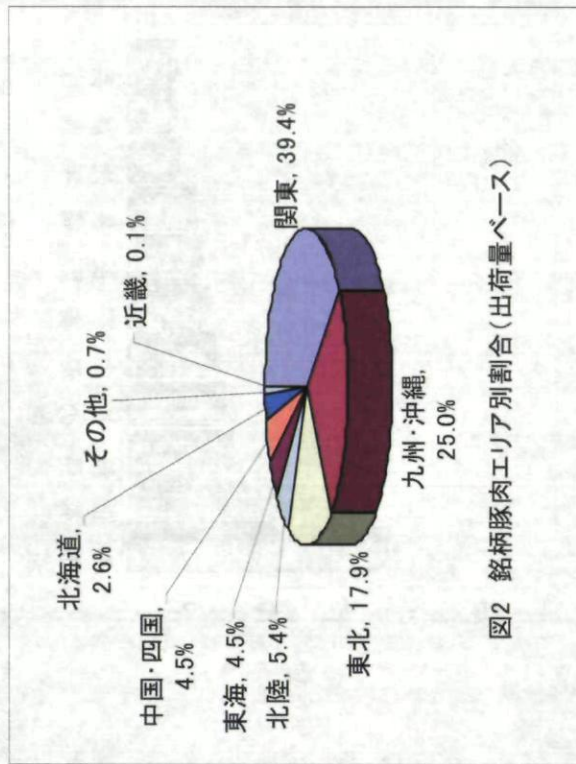


図2 銘柄豚肉エリア別割合(出荷量ベース)

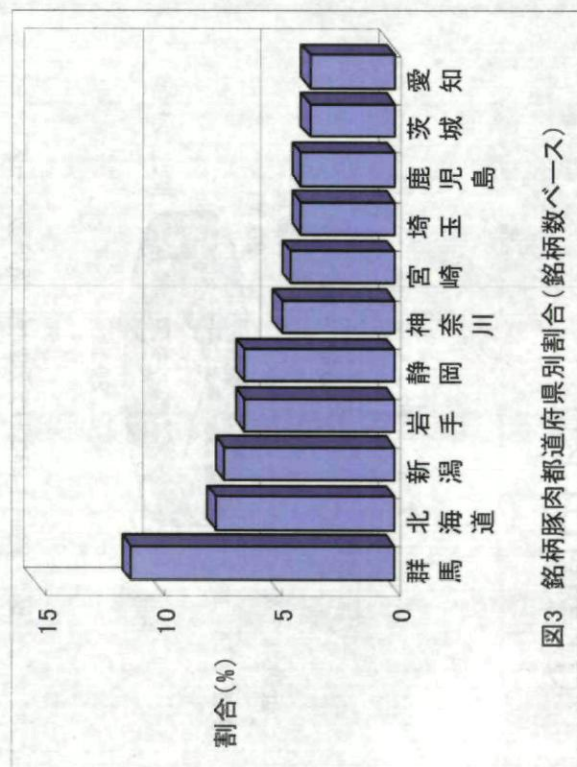


図3 銘柄豚肉都道府県別割合(銘柄数ベース)

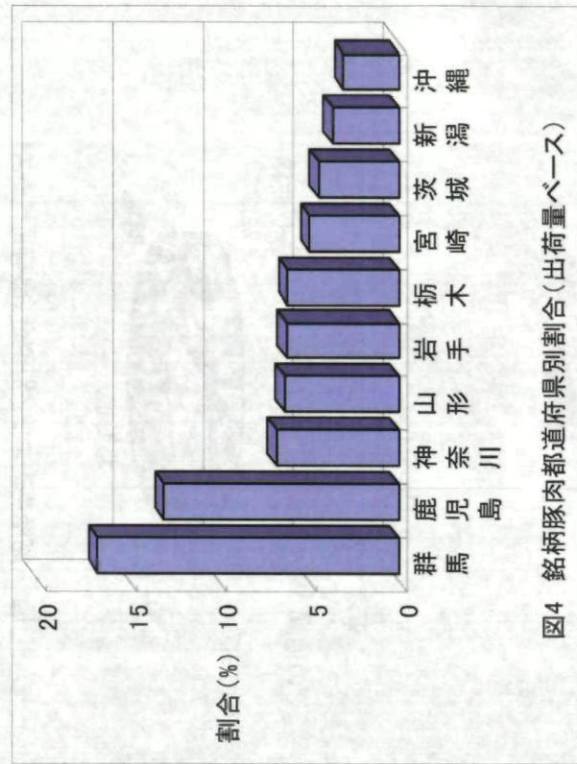


図4 銘柄豚肉都道府県別割合(出荷量ベース)

②養殖魚(海面養殖業)

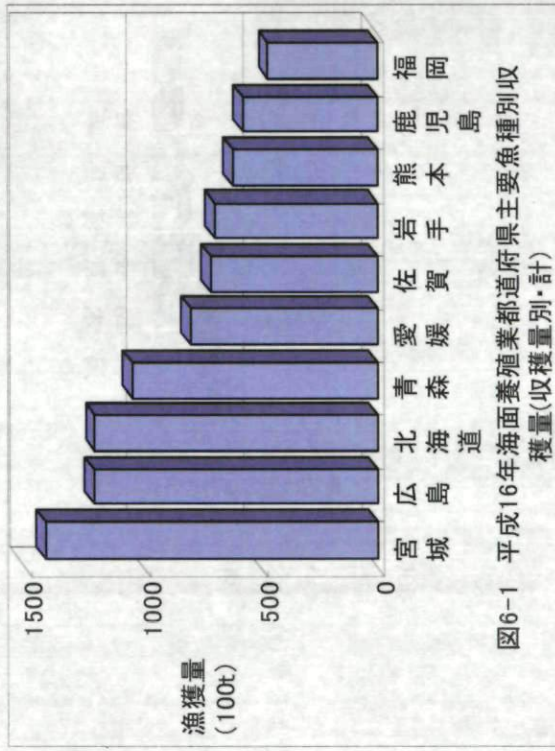


図6-1 平成16年海面養殖業都道府県主要魚種別収穫量(収穫量別・計)

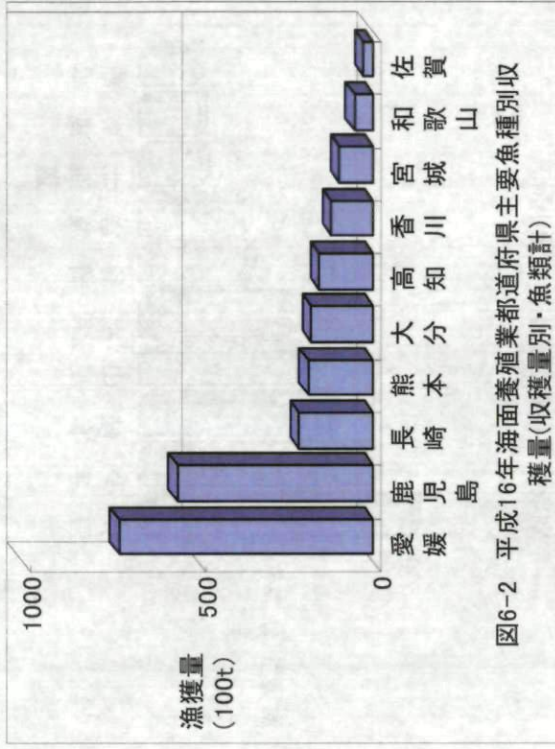


図6-2 平成16年海面養殖業都道府県主要魚種別収穫量(収穫量別・魚類計)

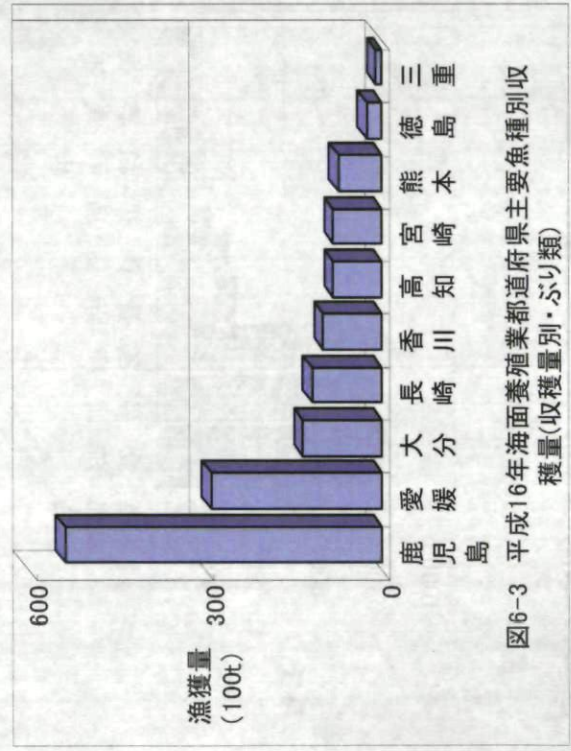


図6-3 平成16年海面養殖業都道府県主要魚種別収穫量(収穫量別・ぶり類)

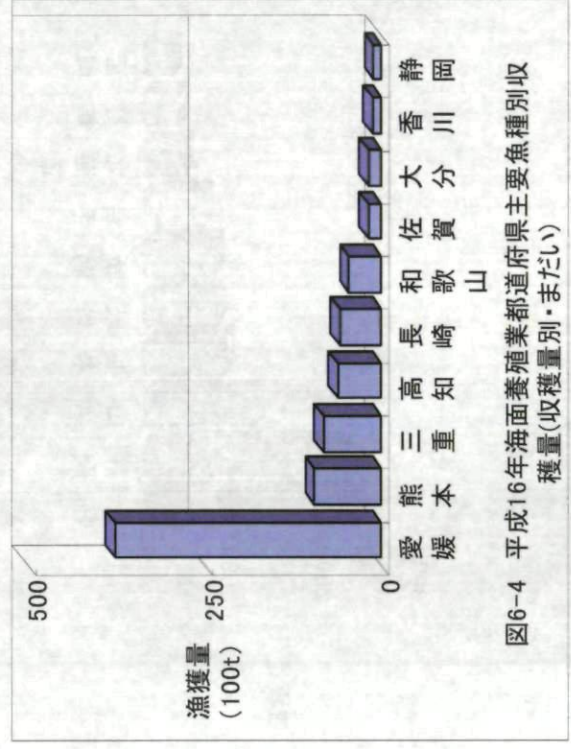


図6-4 平成16年海面養殖業都道府県主要魚種別収穫量(収穫量別・まだい)

②養殖魚(内水面養殖業)

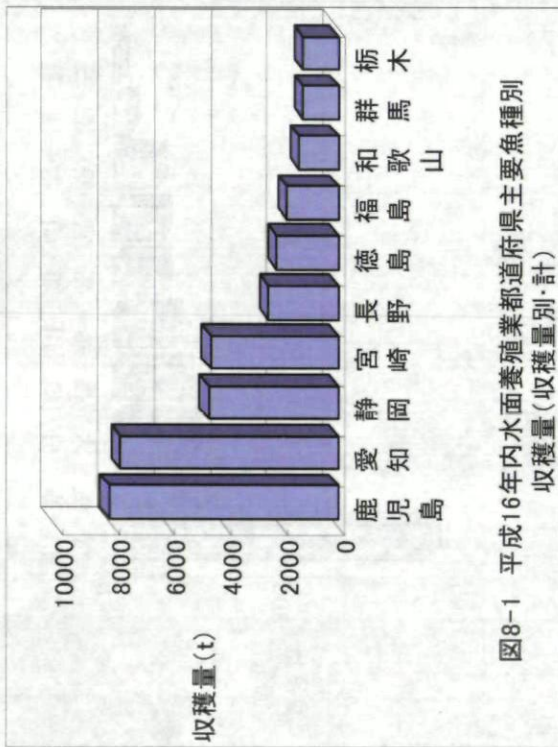


図8-1 平成16年内水面養殖業都道府県主要魚種別
収穫量(収穫量別・計)

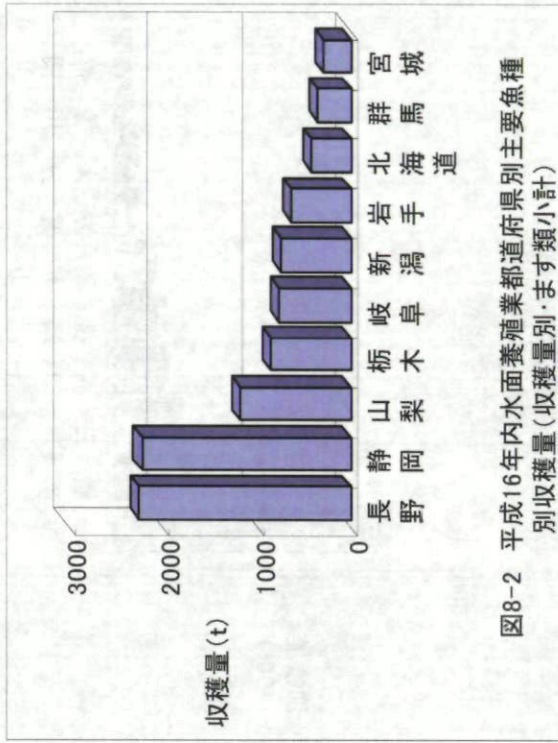


図8-2 平成16年内水面養殖業都道府県別主要魚種
別収穫量(収穫量別・ます類小計)

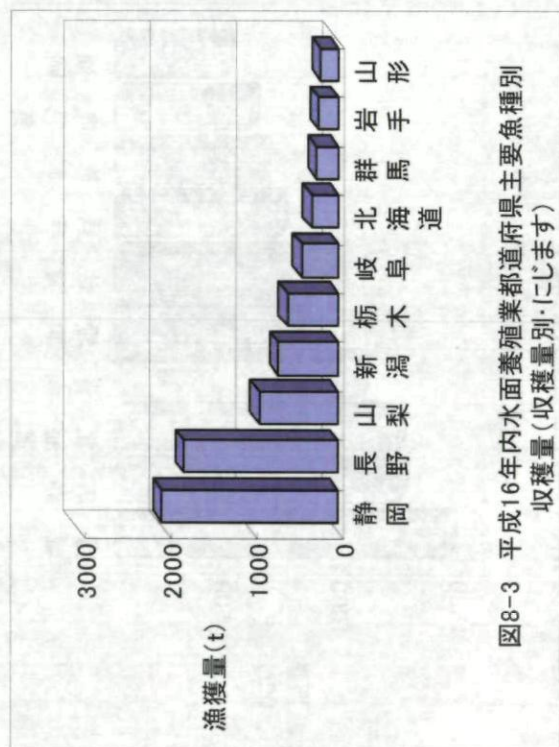


図8-3 平成16年内水面養殖業都道府県主要魚種別
収穫量(収穫量別・にじます)

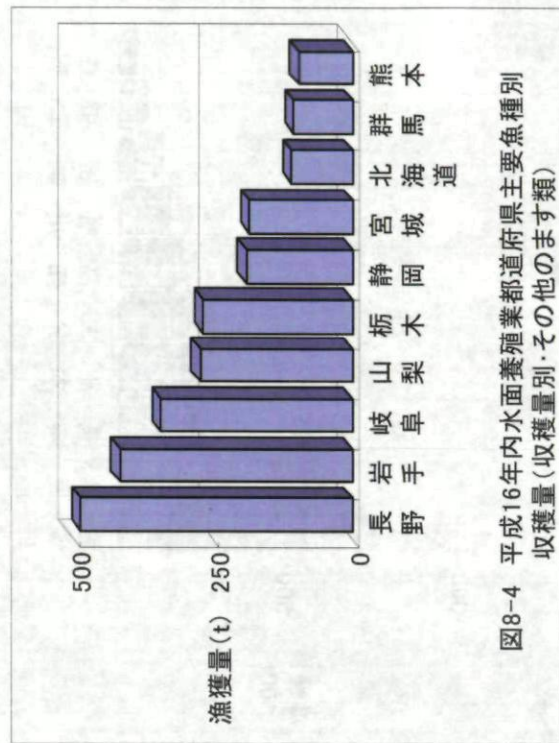
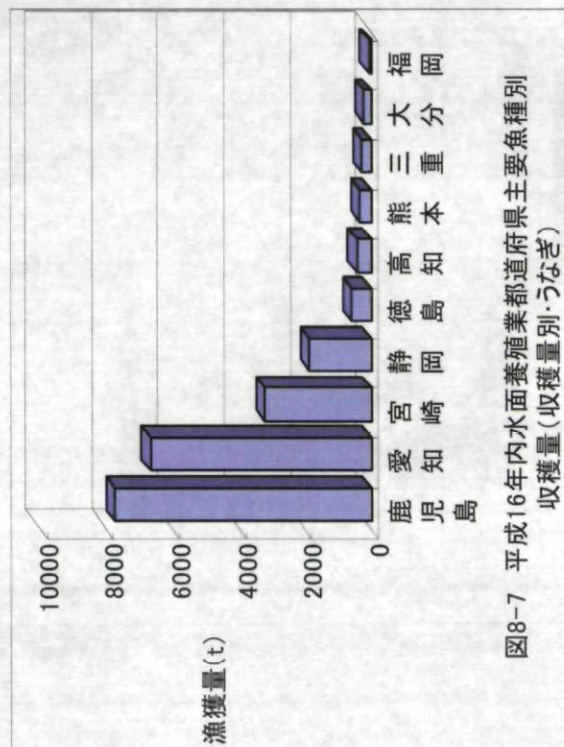
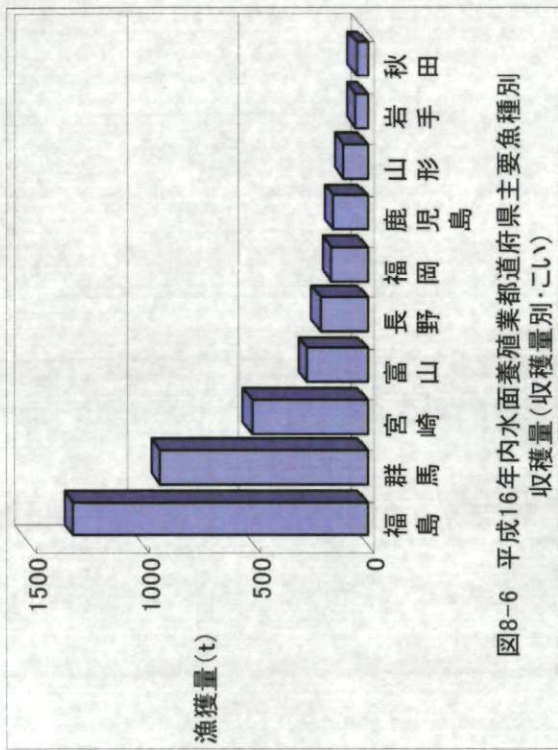
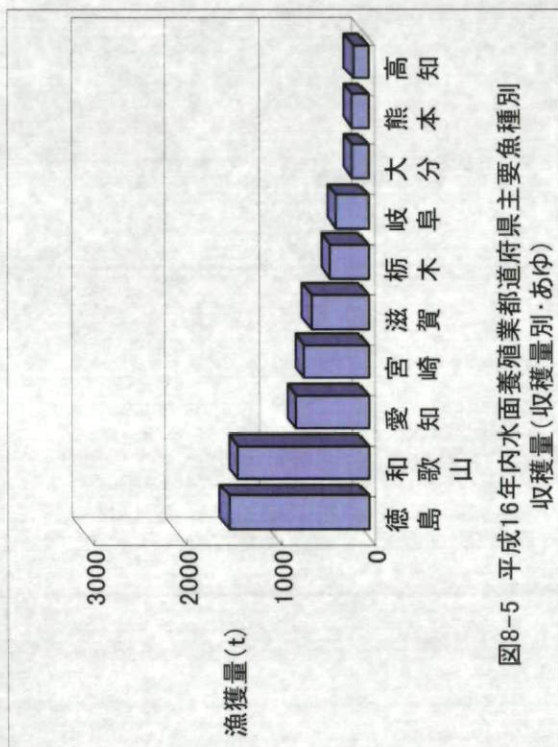
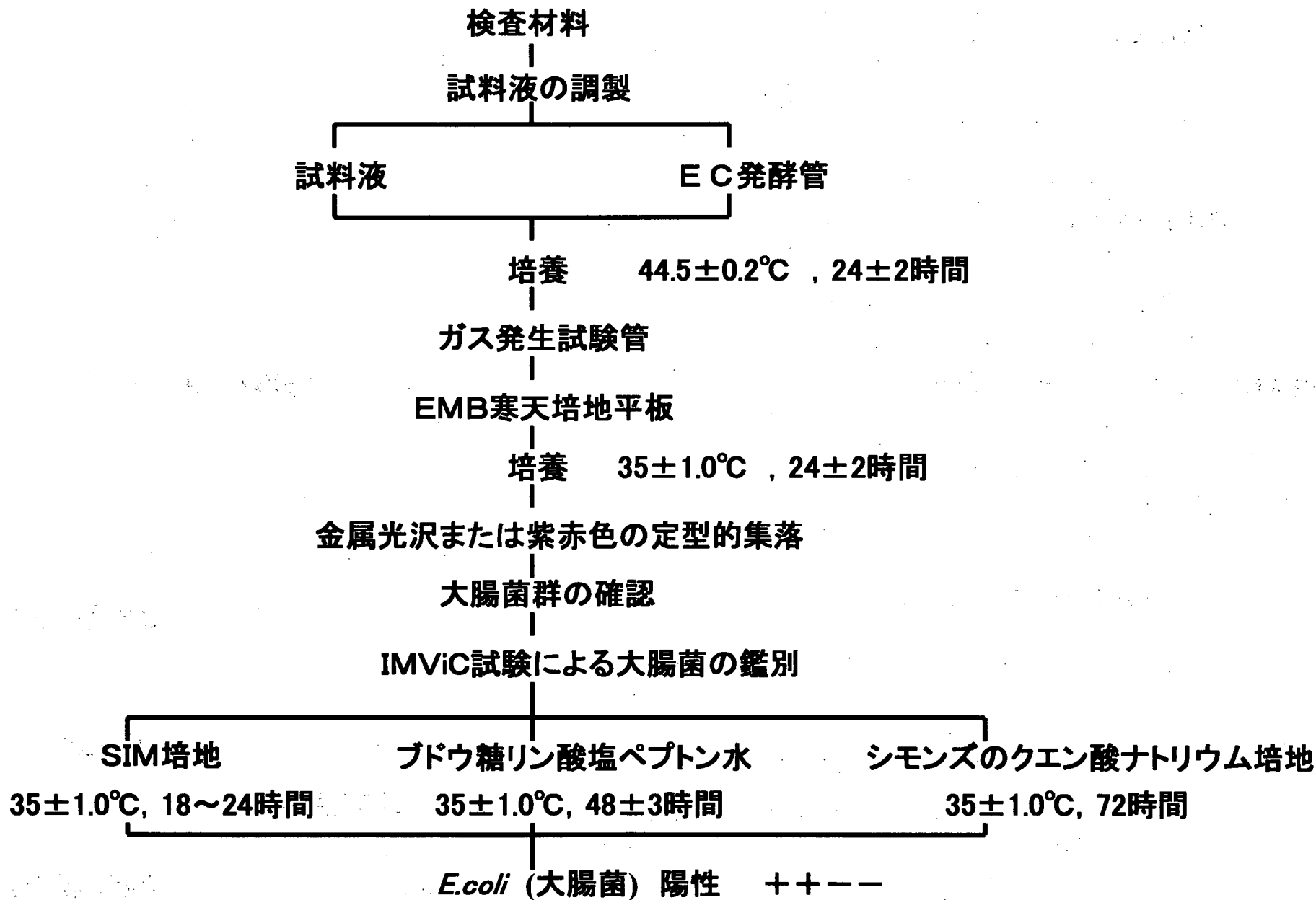


図8-4 平成16年内水面養殖業都道府県主要魚種別
収穫量(収穫量別・その他のます類)

②養殖魚(内水面養殖業)

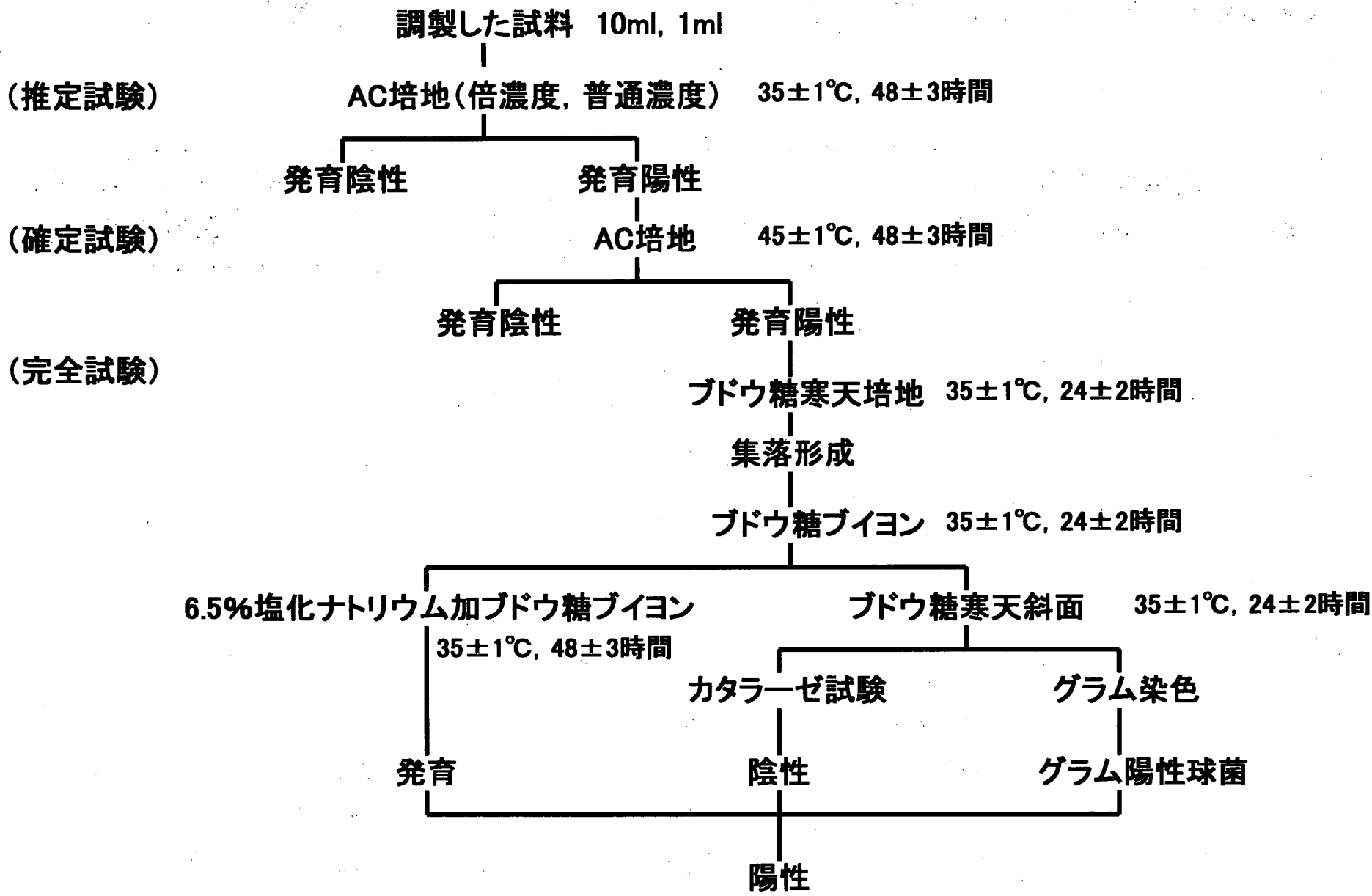


添付資料 4



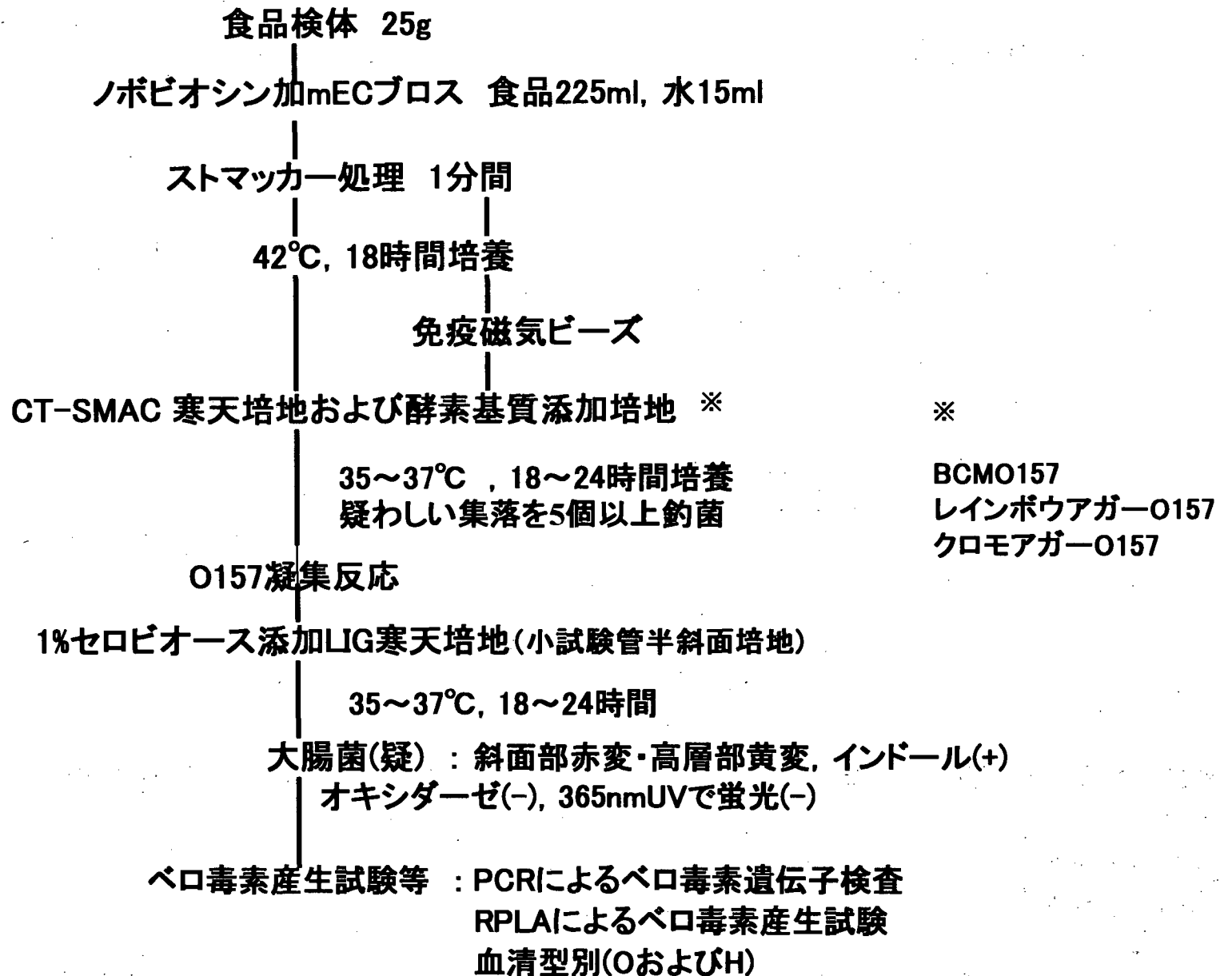
糞便系大腸菌群, 大腸菌

出典: 食品衛生検査指針微生物編2004



腸球菌

出典：食品衛生検査指針微生物編2004



腸管出血性大腸菌O157

出典：平成9年7月4日
衛食第207号 衛乳第199号

試料 25g(25ml)

前増菌培養

迅速診断

緩衝ペプトン水, EEMブイオン
乳糖ブイオン 培地量 225ml
35±1.0°C, 18±2時間

イムノアッセイ
DNAアッセイ

選択増菌培養

免疫磁気ビーズによる集菌

ラパポート・バシリアディス(RV)培地
セレナイトブリリアントグリーン(SBG)培地
ハーナ・テトラチオン酸塩培地
43±1.0°C, 18時間

選択分離培地

MLCB 寒天培地, ブリリアントグリーン寒天培地(BGA)
XLD 寒天培地, クロモアガーO157TAM寒天培地
ESサルモネラ寒天培地, DHL寒天培地
35±1.0°C, 24±2時間

鑑別テスト

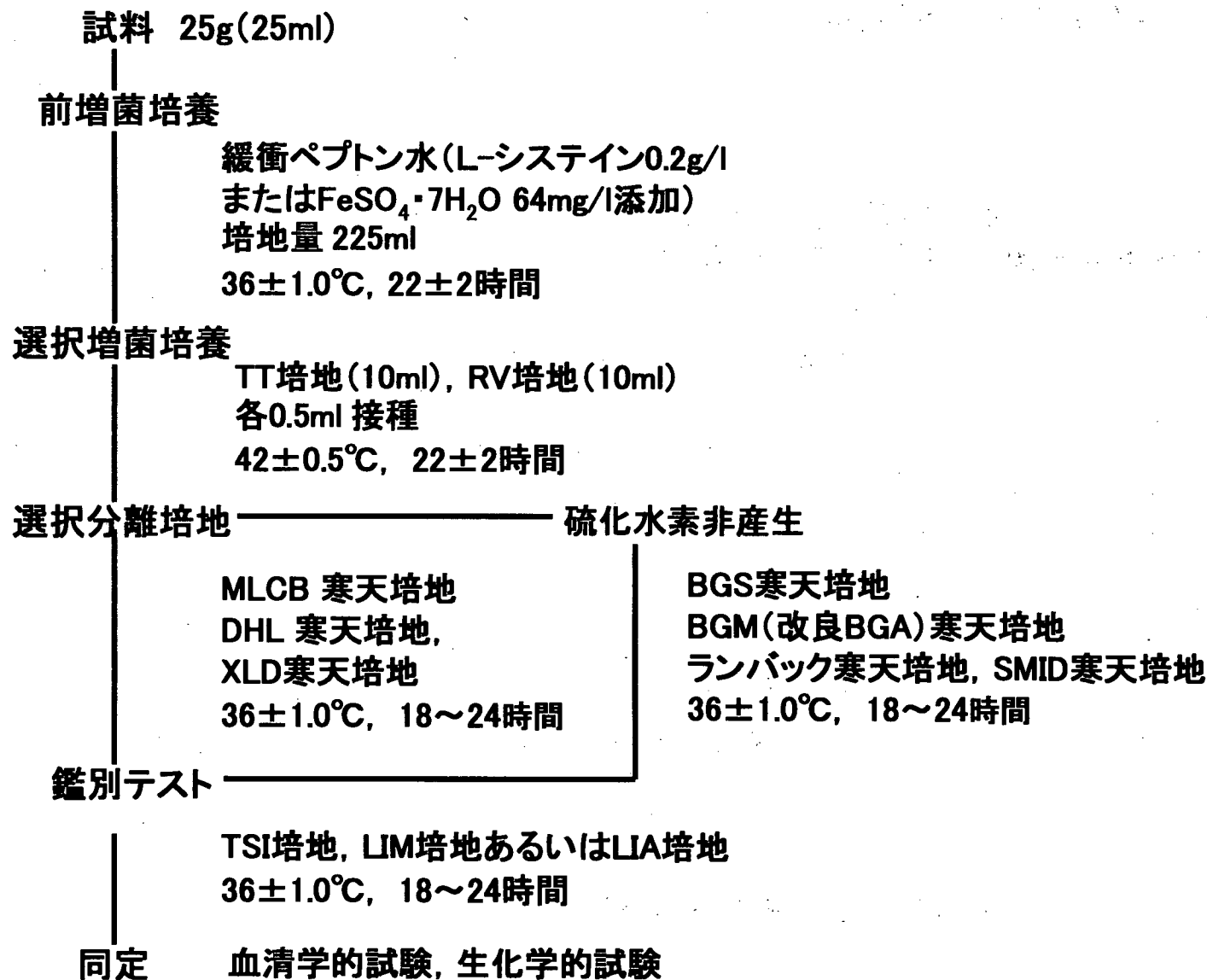
TSI培地, SIM培地, VP-MR培地, リシン脱炭酸塩培地
35±1.0°C, 24±2時間

血清型別テスト

OおよびH血清による凝集反応

サルモネラ

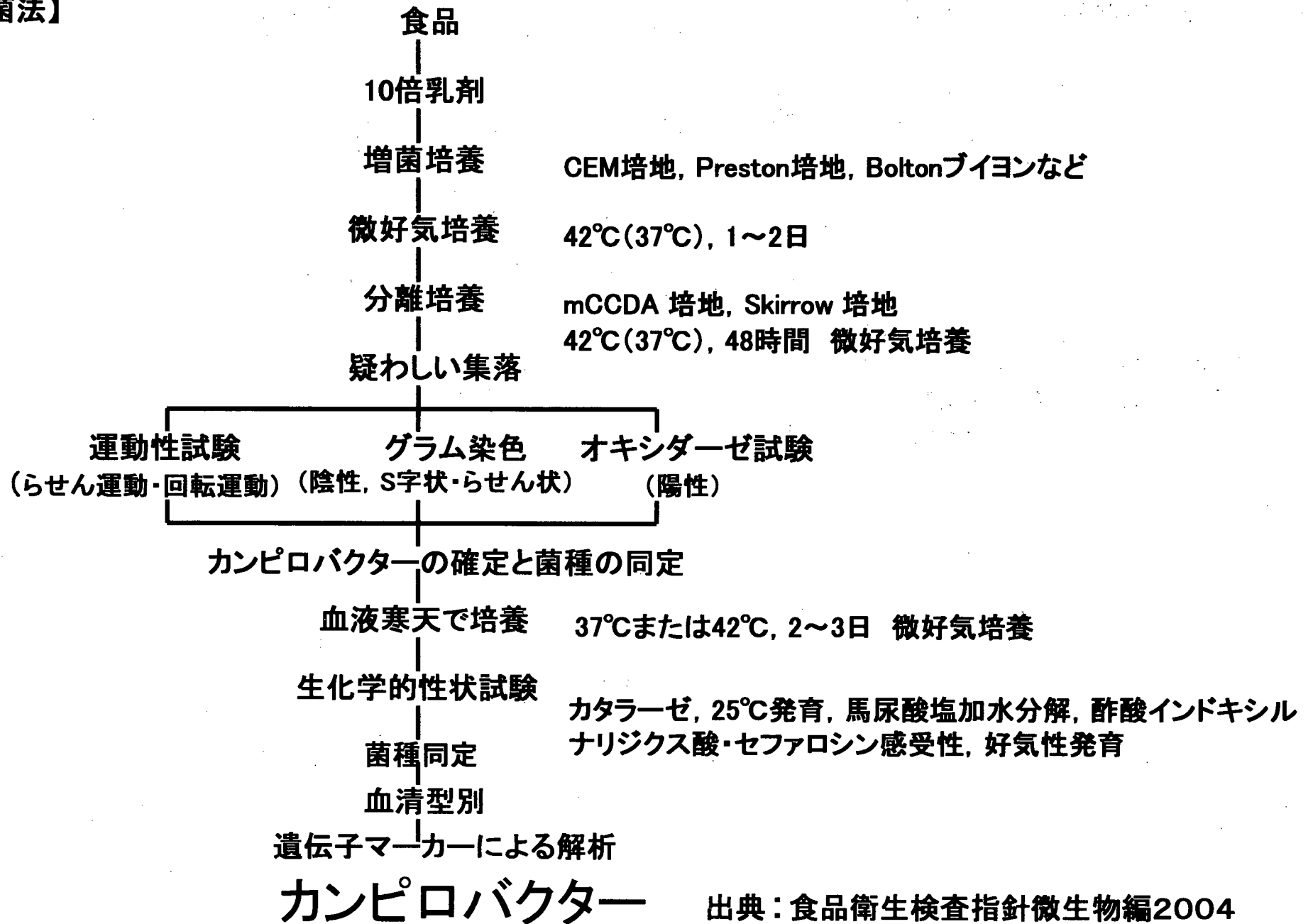
出典：食品衛生検査指針微生物編2004



サルモネラ属菌(液卵)

出典：食品，添加物等の規格基準

【増菌法】



添付資料 5

動物からの薬剤感受性試験用菌株の検出法 Denmark (DANMAP2003)

Salmonella

非選択増菌培養
食肉(牛肉,豚肉) 22g
+ Buffered peptone water (BPW) 200ml
↓
37°C overnight
↓
0.1ml of BPW
Semi-solid Rappaport-Vassiliadis medium
↓
41.5°C overnight
↓
Suspect colonies by slide agglutination

非選択増菌培養
食肉(鶏肉):BPW=1:1
or
食肉(鶏肉):BPW=1:9, homogenized
↓
37°C overnight
↓
選択増菌培養
0.1ml 非選択増菌培養液
9.9ml Rappaport-Vassiliadis broth
↓
41.5°C overnight
↓
Rambach agar
↓
Slide agglutination

Campylobacter

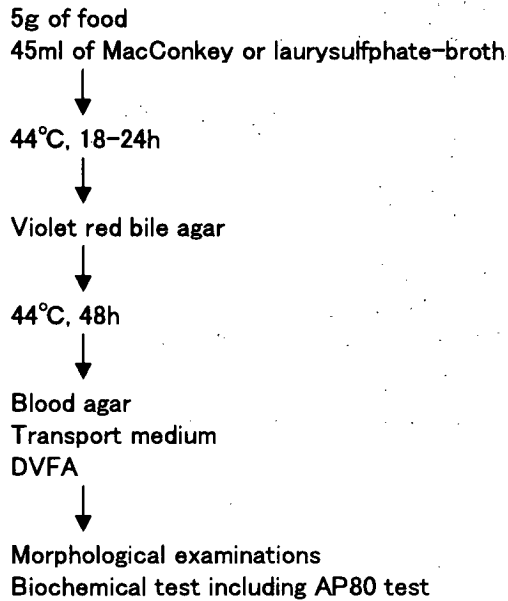
選択増菌培養
食肉:Preston broth=1:10
↓
Microaerophilic atmosphere
42°C, 1-3days
↓
10 µl, CCD agar
↓
42°C, 1-3days
↓
Catalase activity
Ability of hydrolyse hippurate and indoxyl acetate
Susceptibility to cephalothine
(For isolates from cattle and pigs)
Oxidase activity and nalidixic acid susceptibility

Escherichia coli

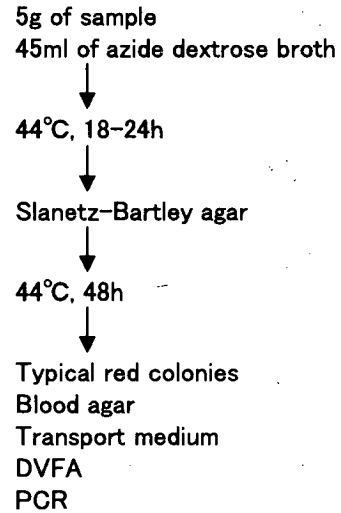
Drigalski agar
↓
37°C overnight
↓
Yellow colonies
catalase positive and oxidase negative
indole, citrate, methyl red, Voges-Proskauer reaction

食品からの薬剤感受性試験用菌株の検出法 Denmark (DANMAP2003)

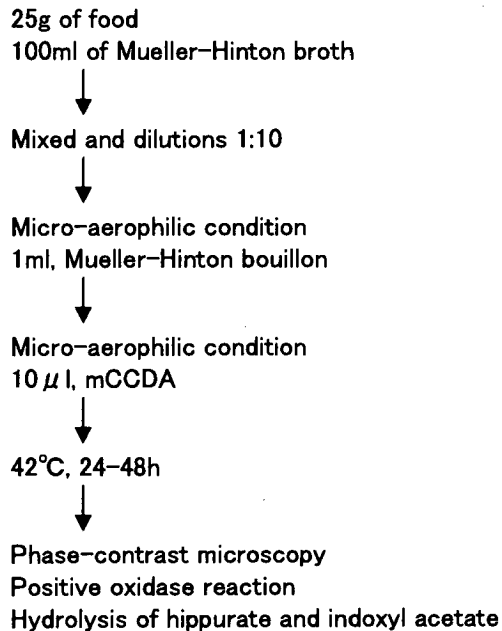
Escherichia coli



Enterococci



Campylobacter



添付資料 6

表 飼料添加物として指定されている抗菌性物質

類別 (Classification)	指定されている飼料添加物の種類	Abbreviation	Name of feed additives	
抗生物質 (Antibiotics)	亜鉛バシトラシン	BC	Zinc Bacitracin	PTs
	アビラマイシン	AVM	Avilamycin	Etc
	アルキルトリメチルアンモニウムカルシウムオキシテトラサイクリン	OTC	Alkyltrimethylammonium Calcium Oxytetracycline	TCs
	エフロトマイシン	EFM	Efrotomycin	Etc
	エンラマイシン	EDC	Enramycin	PTs
	クロルテトラサイクリン	CTC	Chlortetracycline	TCs
	サリノマイシンナトリウム	SNM	Salinomycin Sodium	PEs
	セデカマイシン	SCM	Sedecamycin	MLs
	センデュラマイシンナトリウム	SDRM	Semduramicin Sodium	PEs
	DESTマイシンA	DM-A	Destomycin A	AGs
	ナラシン	NRS	Narasin	PEs
	ノシヘプタイド	NHT	Nosiheptide	PTs
	バージニアマイシン	VGM	Virginiamycin	PTs
	ビコザマイシン	BCM	Bicozamycin	Etc
	フラボフォスホリポール	FV	Flavophospholipol	PTs
	モネンシンナトリウム	MNS	Monensin Sodium	PEs
	ラサロシドナトリウム	LLC	Lasalocid Sodium	PEs
硫酸コリスチン	CL	Colistin Sulfate	PTs	
リン酸タイロシン	TS	Tylosin Phosphate	MLs	
合成抗菌剤 (Synthetic Antimicrobials)	アンプロリウム	APL	Amprolium	APAts
	エトパベート	ETB	Ethopabate	APAts
	スルファキノキサリン	SQ	Sulfaquinoxaline	SAs
	クエン酸モランテル		Morantel Citrate	
	デコキネート	DEC	Decoquinat	APAts
	ナイカルバジン	NCZ	Nicarbazin	APAts
	ハロフジノンポリスチレンスルホン酸カルシウム	HFN	Calcium Halofuginone Polystyrenesulfonate	APAts

AGs: Aminoglycoside antibiotics

MLs: Macrolide antibiotics

PTs: Peptide antibiotics

PEs: Polyether antibiotics

TCs: Tetracycline antibiotics

Etc: Other antibiotics

SAs: Sulfa drugs

APAts: Antiprotozoan agents

添付資料 7

表 *E. coli*に対するブレイクポイント

Antimicrobial agent	Denmark	Sweden	Canada	USA		日本
	DANMAP2003	SVARM2004	CIPARS2002	NARMS2003	CLSI2005	
	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml
Amikacin			>=64	>64	>64	
Ampicillin	32	>8	>=32	>32	>32	32
Amoxicillin/Clavulanic acid	32		>=32/16	>32/16	>32/16	
Apramycin	16	>32				
Avilamycin						
Bacitracin						
Cefoxitin			>=32	>32	>32	
Ceftiofur	8	>2	>=8	>8		8
Ceftraxone			>=64	>64		
Cephalothin	32		>=32	>32	>32	
Chloramphenicol	32	>16	>=32	>32	>32	32
Ciprofloxacin	0.125/4		>=4	>4	>4	
Colistin	16					16
Doxycycline					>16	
Enrofloxacin		>0.25				2
Erythromycin						
Flavomycin						
Florfenicol	32	>16				
Gentamicin	16	>8	>=16	>16	>16	16
Imipenem			>=16		>16	
Kanamycin			>=64	>64	>64	64
Lincomycin						
Linezolid						
Meropenem						
Nalidixic acid	32	>16	>=32	>32	>32	32
Narasin						
Neomycin	16	>8				
Nitrofurantoin					>128	
Oxacillin+2%NaCl						
Penicillin						
Salinomycin						
Spectinomycin	128		>=64			
Streptomycin	32	>32		>64		
Sulfonamide	512				>512	
Sulphamethoxazole		>256	>=512	>512		
Quinupristin/dalfopristin						
Teicoplanin						
Tetracycline	16	>8	>=16	>16	>16	
Tiamulin						
Trimethoprim	16	>8			>16	16
Trimethoprim&Sulphamethoxazole			>=4/76	>4/76	>4/76	
Tylosin						
Vancomycin						
Virginiamycin						

表 *Enterococcus* に対するブレイクポイント

Antimicrobial agent	Denmark	Sweden	USA		
	DANMAP2003 <i>Enterococci</i> µg/ml	SVARM2004 <i>Enterococcus</i> µg/ml	NARMS2003 <i>Enterococcus</i> µg/ml	CLSI2005 <i>Enterococcus</i> µg/ml	日本 <i>Enterococcus</i> µg/ml
Amikacin					
Ampicillin		>8		>16	16
Amoxicillin/Clavulanic acid					
Apramycin					
Avilamycin	16	>16			16
Bacitracin	128	>32	>128		
Cefoxitin					
Ceftiofur					
Ceftraxone					
Cephalothin					
Chloramphenicol	32	>16	>32	>32	32
Ciprofloxacin			>4	>4	
Colistin					
Doxycycline				>16	
Enrofloxacin					4
Erythromycin	8	>4	>8	>8	8
Flavomycin	16	>32	>3		
Florfenicol	32				
Gentamicin	1024	>512	>500		32
Imipenem					
Kanamycin	2048		>512		128
Lincomycin			>32		128
Linezolid	8		>8	>8	
Meropenem					
Nalidixic acid					
Narasin		>2			
Neomycin		>1024			
Nitrofurantoin			>128	>128	
Oxacillin+2%NaCl					
Penicillin	16		>16	>16	
Salinomycin	16		>32		
Spectinomycin					
Streptomycin	2048	>1024	>1000		
Sulfonamide					
Sulphamethoxazole					
Quinupristin/dalfopristin	4		>4	>4	
Teicoplanin	32			>32	
Tetracycline	16	>8	>16	>16	
Tiamulin					
Trimethoprim					
Trimethoprim&Sulphamethoxazole					
Tylosin			>32		
Vancomycin	32	>16	>32	>32	32
Virginiamycin		>8			

表 *Salmonella* に対するブレイクポイント

Antimicrobial agent	Denmark	Sweden	Canada	USA		日本
	DANMAP2003 <i>Salmonella</i> µg/ml	SVARM2004 <i>Salmonella</i> µg/ml	CIPARS2002 <i>Salmonella</i> µg/ml	NARMS2003 <i>Salmonella</i> µg/ml	CLSI2005 <i>Salmonella</i> µg/ml	<i>Salmonella</i> µg/ml
Amikacin				>64	>64	
Ampicillin	32	>8	>=32	>32	>32	32
Amoxicillin/Clavulanic acid	32			>32/16	>32/16	
Apramycin	16		>=32			
Avilamycin						
Bacitracin						
Cefoxitin				>32	>32	
Ceftiofur	8	>2	>=8	>8		
Ceftraxone				>64		
Cephalothin	32	>16		>32	>32	
Chloramphenicol	32	>16		>32	>32	32
Ciprofloxacin	0.125/4			>4	>4	
Colistin	16					
Doxycycline					>16	
Enrofloxacin		>0.25				
Erythromycin						
Flavomycin						
Florfenicol	32	>16				
Gentamicin	16	>8		>16	>16	
Imipenem					>16	
Kanamycin				>64	>64	64
Lincomycin						
Linezolid						
Meropenem						
Nalidixic acid	32	>16		>32	>32	32
Narasin						
Neomycin	16	>8				
Nitrofurantoin					>128	
Oxacillin+2%NaCl						
Penicillin						
Salinomycin						
Spectinomycin	128					
Streptomycin	32	>32		>64		
Sulfonamide	512				>512	
Sulphamethoxazole		>256		>512		
Quinupristin/dalfopristin						
Teicoplanin						
Tetracycline	16	>8		>16	>16	
Tiamulin						
Trimethoprim	16	>8			>16	16
Trimethoprim&Sulphamethoxazole		>0.5		>4/76	>4/76	
Tylosin						
Vancomycin						
Virginiamycin						

表 *Campylobacter* に対するブレイクポイント

Antimicrobial agent	Denmark	Sweden	USA		
	DANMAP2003 <i>Campylobacter</i> µg/ml	SVARM2004 <i>Campylobacter</i> µg/ml	NARMS2003 <i>Campylobacter</i> µg/ml	CLSI2005 <i>Campylobacter</i> µg/ml	日本 <i>Campylobacter</i> µg/ml
Amikacin				>64	
Ampicillin		>16			32
Amoxicillin/Clavulanic acid				>32/16	
Apramycin					
Avilamycin					
Bacitracin					
Cefoxitin					
Ceftiofur					
Ceftraxone					
Cephalothin					
Chloramphenicol	32			>32	16
Ciprofloxacin	4		>4		
Colistin					
Doxycycline			>16		
Enrofloxacin		>1			2
Erythromycin	32	>16	>8		32
Flavomycin					
Florfenicol					
Gentamicin	16	>8	>16	>16	
Imipenem				>16	
Kanamycin				>64	
Lincomycin					
Linezolid					
Meropenem			>16		
Nalidixic acid	64	>16			32
Narasin					
Neomycin	16				
Nitrofurantoin					
Oxacillin+2%NaCl					
Penicillin					
Salinomycin					
Spectinomycin					
Streptomycin	16				
Sulfonamide				>512	
Sulphamethoxazole					
Quinupristin/dalfopristin					
Teicoplanin					
Tetracycline	16	>8		>16	
Tiamulin					
Trimethoprim					
Trimethoprim&Sulphamethoxazole				>4/76	
Tylosin					
Vancomycin					
Virginiamycin					

添付資料 8

生肉表面のバンコマイシン耐性腸球菌分離方法

1. スワブの直接塗布による分離

- 1) 生肉表面を充分スワブでふき取る。
- 2) バンコマイシンを含む腸球菌分離用培地に塗布。

①腸球菌分離用培地：Bile esculin azide agar (Difco)

②バンコマイシン濃度：

12.5 µg/ml (高度バンコマイシン耐性菌 (class A VRE の分離を目的とする時))

6 µg/ml (中等度(class B VRE)以上のバンコマイシン耐性菌の分離を目的とする時)

- 3) 1～2日間 37°C培養

- 4) 腸球菌は黒又は黒灰色のコロニーとして出現する。

一検体より出現するコロニーはすべて同一の場合もあるが種々のコロニーが混合している場合もある。コロニーの大きさ(腸球菌は一般に直径0.5～1.5mm位の大きさ)、外観、形状などにより異なるコロニーをそれぞれ採集し、純粋培養を行う(2回)。

純粋培養用寒天培地次のいずれか使用。

Todd Hewitt broth agar

BHI agar

Heart infusion agar

純粋培養の寒天培地培養時間は37°C一夜培養。

- 5) 純粋培養後バンコマイシン耐性値を調べる。バンコマイシン濃度12.5 µg/mlに生育する菌はclass A (*vanA*)型のVRE、それ以下の耐性菌はclass B又はclass C VREと考えられる。

VREと考えられる菌が出現した時

- ①グラム染色でグラム陽性菌であることを確認。
- ②PCRで*vanA*, *vanB*, *vanC*型のいずれかを調べる。
- ③レンサ球菌、腸球菌同定用キット(API STREP)又はその他の方法を用いて菌種を同定する。

2. 選択的増菌法による高度バンコマイシン耐性腸球菌(class A VRE)の分離

- 1) 肉表面をスワブで充分ふき取る。
- 2) スワブを適当量(5-10ml)の選択的増菌用液体培地に入れ 37°Cで一夜培養する。

選択的増菌用液体培地

培地 Todd Hewitt Broth, THB (Difco)

Brain Heart Infusion BHI

Bile esculin azide broth (自己作製)

(Enterococcal Broth) (BD)

薬剤濃度:

バンコマイシン 12.5 µg/ml

カナマイシン 25 µg/ml (グラム陰性菌抑制の目的)

- 3) 培養液の適当量 (0.1ml)を VRE 選択寒天培地に植える。

培地: Bile esculin azide agar (Difco)

薬剤濃度: バンコマイシン 12.5 µg/ml

- 4) 1-2日間 37°Cで培養後、黒又は黒灰色コロニーを生ずる。

一検体より出現するコロニーはすべて同一の場合もあるが種々のコロニーが混合している場合もある。コロニーの大きさ(腸球菌は一般に直径 0.5-1.5mm 位の大きさ)、外観、形状などにより異なるコロニーをそれぞれ採集し、純粋培養を行う(2回)。

純粋培養用寒天培地次のいずれか使用。

Todd Hewitt broth agar

BHI agar

Heart infusion agar

純粋培養の寒天培地培養時間は 37°C一夜培養。

- 5) 純粋培養後、バンコマイシン耐性値を調べる。バンコマイシン濃度 12.5 µg/ml に生育する菌は class A (*vanA*)型の VRE、それ以下の耐性菌は class B 又は class C と考えられる。VRE と考えられる菌が出現した時、

①グラム染色で、グラム陽性菌であることを確認。

②PCR で *vanA*, *vanB* 又は *vanC*型を調べる。

③レンサ球菌、腸球菌同定用キット(API STREPT)又はその他の方法を用いて菌種を同定する。

鶏肉の VRE 汚染調査

1. 材料

- ・ 輸入鶏肉
- ・ 国内鶏肉

外国産鶏肉

タイ、中国、台湾、ブラジル、アメリカ合衆国、フランス
その他アジア、アメリカ大陸、ヨーロッパの鶏肉

国内産鶏肉

アボパルシン使用歴のある鹿児島、群馬、奈良、その他の鶏肉

2. 検体数

外国産肉；1つの国につき、できれば30検体。最低10検体お願いします。
特にフランス、EU各国、タイは可能な限り多くお願い致します。
す。

国内産肉；1施設、最低30検体

3. 方法

- 1)ガーゼ 約30cm x 30cmの大きさに切る。
- 2)ガーゼを適当に折りたたみ滅菌する。
- 3)生理食塩水又はリン酸バッファーを作り滅菌する。
- 4)滅菌ガーゼを滅菌生理食塩水又は滅菌リン酸バッファーでしめらす。
- 5)4)のガーゼで鶏肉表面を広範囲に充分ふき取る。
- 6)鶏肉表面をふき取ったガーゼを滅菌プラスチックシャーレに入れる。
- 7)6)をクール宅急便で発送する。

発送先

〒371-8511

群馬県前橋市昭和町3丁目39番22号

群馬大学医学部微生物学教室 TEL027-220-7990

池 康嘉

添付資料 9

牛、豚と畜工程

