

内閣府食品安全委員会
平成27年度食品安全確保総合調査

畜水産食品における薬剤耐性菌の 出現実態調査報告書

平成28年3月

一般財団法人 東京顕微鏡院

目 次

I . 調査の概要	1
II . 調査背景および目的	2
III . サルモネラ属菌、大腸菌および腸球菌の検出試験と成績	2
1. 試料のサンプリング	2
1) 施設の要件	2
2) 対象食品の種類	2
3) 試料のサンプリング、輸送および保管方法	2
4) 試料数	3
2. 試料からのサルモネラ属菌、大腸菌、腸球菌の分離および同定の概略	6
1) 対象菌	6
2) 分離および同定	6
3. 試験方法	6
1) 試料液の調製	6
① サルモネラ属菌	6
② 大腸菌および腸球菌	6
2) 検出方法および同定方法	6
① サルモネラ属菌	6
② 大腸菌	7
③ 腸球菌	8
3) 試験に使用した培地・試薬	9
4. 結果	13
1) 対象菌の検出成績	13
① 市販鶏肉からの検出状況	13
② 食鳥処理場鶏肉からの検出状況	16
IV . 分離菌株の薬剤感受性試験(MIC の測定)	18
1. 分離菌株の選定	18
1) 市販鶏肉からの分離株	18
① サルモネラ属菌	18
② 大腸菌	18
③ 腸球菌	18
2) 食鳥処理場鶏肉からの分離株	18
① サルモネラ属菌	18
② 大腸菌	18
③ 腸球菌	18

2.測定方法	19
1)対象薬剤	19
2)MIC 測定試験方法	20
①接種用菌液の調製	20
②菌液の接種および培養	20
③判定方法とブレイクポイント.....	21
④精度管理	23
3)試験に使用した機器・培地	24
3.結果.....	24
1)市販鶏肉由来株の MIC と耐性出現頻度	24
①サルモネラ属菌	24
②大腸菌	28
③腸球菌	30
2)食鳥処理場鶏肉由来株の MIC と耐性出現頻度	36
①サルモネラ属菌	36
②大腸菌	39
③腸球菌	41
3)ヒト由来株の MIC と耐性出現頻度	45
①サルモネラ属菌	45
4)平成 26 年度調査事業由来株との比較	46
V . 薬剤耐性菌の性状解析	47
1.対象菌株の選定	47
2.試験方法	47
1)ESBL の確認	47
2)ESBL の遺伝子型別	47
3)PFGE 解析	47
4)試験に使用した機器・培地	47
3.結果および考察	49
1)ESBL 産生大腸菌の検出状況	49
2)ESBL 遺伝子型別	49
3)PFGE 解析	50
4.分離菌株の保存	54

I. 調査の概要

本調査では家畜等への抗菌性物質の使用に起因する薬剤耐性菌の食品健康影響評価をより科学的に実施するため、鶏肉における薬剤耐性菌の調査を実施した。

平成 27 年 6 月から平成 28 年 1 月にかけて、国内の代表的な都市において国内産の鶏肉 357 検体、国内 11 か所の食鳥処理場から出荷用にパック詰めされた鶏肉 155 検体入手し、サルモネラ属菌、大腸菌、腸球菌(*Enterococcus faecalis*、*E. faecium*)を分離した。

市販鶏肉からの対象菌の分離状況は、サルモネラ属菌が 196 検体(陽性率 54.9%)、大腸菌が 315 検体(88.2%)、腸球菌が 327 検体(91.6%)で陽性であった。食鳥処理場鶏肉からの分離状況は、サルモネラ属菌が 90 検体(58.1%)、大腸菌が 147 検体(94.8%)、腸球菌が 139 検体(89.7%)で陽性であった。

次に、分離された菌株について、微量液体希釈法により薬剤感受性試験を行った。対象とした薬剤は、サルモネラ属菌および大腸菌については ABPC、CEZ、CTX、SM、GM、KM、TC、CP、CL、NA、CPFX および ST 合剤の 12 薬剤、腸球菌については ABPC、DSM、GM、KM、OTC、CP、BC、EM、LCM、ERFX、TS、SNM および VGM の 13 薬剤とした。市販鶏肉由来のサルモネラ属菌(*Salmonella* *Infantis*)について見ると、薬剤耐性株が供試した 12 薬剤のうち 8 薬剤に認められ、耐性率は 1.8%(ST)～83.2%(TC)であった。大腸菌は、薬剤耐性株が供試した 12 薬剤中 11 薬剤に認められ、耐性率は 1.9%(CTX)～42.5%(TC)であった。腸球菌(*E. faecalis* + *E. faecium*)は、薬剤耐性株が供試した 13 薬剤のうち 10 薬剤に認められ、耐性率は 2.4%(ABPC、GM)～49.4%(OTC)であった。食鳥処理場鶏肉由来のサルモネラ属菌(*S. Infantis*)について見ると、薬剤耐性株が供試した 12 薬剤のうち 8 薬剤に認められ、耐性率は 5.6%(CTX、NA、ST)～66.7%(TC)であった。大腸菌は、薬剤耐性菌が供試した 12 薬剤中 10 薬剤に認められ、耐性率は 3.3%(CEZ)～73.3%(TC)であった。腸球菌(*E. faecalis* + *E. faecium*)は、薬剤耐性株が供試した 13 薬剤のうち 10 薬剤に認められ、耐性率は 3.4%(ABPC)～70.7%(OTC)であった。

さらに得られた薬剤耐性菌について PFGE 等による解析を実施した。ESBL 産生大腸菌について遺伝子型別を調べたところ、*bla*_{SHV} 保有株が 43 株で最も多く、*bla*_{CTX-M-2} が 25 株、*bla*_{CTX-M-1} が 21 株であった。またサルモネラ属菌は、*S. Infantis* および *S. Schwarzengrund*、ESBL 産生大腸菌について PFGE 解析に基づく系統樹を作成した。

Ⅱ．調査背景および目的

家畜等への抗菌性物質の使用に起因する薬剤耐性菌の食品健康影響評価をより科学的に実施するに当たり、畜水産食品等の薬剤耐性菌の出現に関する科学文献および調査報告数が極めて少ないことから、畜水産食品等の薬剤耐性菌の出現状況を定量的に把握しておく必要がある。平成 17 年度には、畜水産食品における薬剤耐性菌について情報収集するとともに、薬剤耐性菌の出現状況を定量的に把握するためのプロトコルを作成した(平成 17 年度「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)。このプロトコルに従い、平成 18、19、20 および 25、26 年度に畜産食品(牛肉、豚肉、鶏肉、牛肝臓、豚肝臓、牛ひき肉、豚ひき肉)における薬剤耐性菌の出現状況を調査した。

本調査では家畜等への抗菌性物質の使用に起因する薬剤耐性菌の食品健康影響評価をより科学的に実施するため、鶏肉由来のサルモネラ属菌、大腸菌および腸球菌における薬剤耐性菌の調査を実施し、薬剤耐性菌の食品健康影響評価を実施するための基礎資料とすることを目的とした。

Ⅲ．サルモネラ属菌、大腸菌および腸球菌の検出試験と成績

1. 試料のサンプリング

1) 施設の要件

鶏肉を国内産に限って採取する必要があることから、全国の手量販店、中小量販店、小売店の施設を対象とした。なおサンプリングにおいては、産地が偏らないよう北海道、東北、関東、中部、近畿、中国・四国および九州の、それぞれ代表的な都市の手量販店等から採取した。また出荷地域が明らかになる食鳥処理場 11 か所(北海道 1 か所、東北 3 か所、中国・四国 1 か所、九州 6 か所)から出荷用にパック詰めされた鶏肉を採取した。

2) 対象食品の種類

国内産の鶏肉を対象食品とした。また、対象食品は加熱調理等がなされていないもので、国内産(パッケージや店頭表示で「国産」「国内産」「○○県産」などが明らかであるもの)を対象とした。

3) 試料のサンプリング、輸送および保管方法

包装容器およ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してサンプリング(購入)した。また、サンプリングした試料は凍結しないように保冷して運搬し、速やかに試験に供試した。

4)試料数

調査仕様書に従い市販鶏肉の試料数は 300 サンプル以上、食鳥処理場由来鶏肉の試料数は 150 サンプル以上とした。市販鶏肉の採取目標数を表 1 に示した。なお採取目標数は、人口比等を考慮して設定した。

市販鶏肉の地域別採取数を表 2 に示した。また、食鳥処理場鶏肉の処理場別採取数を表 3 に示した。

実際の採取数は市販鶏肉が 357 検体、食鳥処理場鶏肉が 155 検体であった。またヒト由来 *S. Infantis* と鶏肉由来 *S. Infantis* の分布を比較・解析する目的で、健康者の腸管系病原菌保菌者検索で分離された *S. Infantis* 22 株についても供試した。

表1 市販鶏肉の採取目標数

地域	採取割合 (%)	採取目標数
北海道	4.3	13
東北	7.2	22
関東	33.4	100
中部	16.9	50
近畿	17.8	54
中国・四国	9.0	27
九州	11.4	34
合計	100.0	300

(検体)

表2 市販鶏肉の地域別採取数

地域	市販鶏肉			
	大手量販店	中小量販店	小売店	合計
北海道	5	5	5	15
東北	4	20	9	33
関東	25	70	19	114
中部	5	45	11	61
近畿	4	55	8	67
中国・四国	3	18	8	29
九州	5	30	3	38
合計	51	243	63	357

(検体)

表3 食鳥処理場鶏肉の処理場別採取数

処理場	採取数
A	13
B	16
C	11
D	11
E	26
F	16
G	16
H	16
I	10
J	10
K	10
合計	155

(検体)

2. 試料からのサルモネラ属菌、大腸菌、腸球菌の分離および同定の概略

1) 対象菌

サルモネラ属菌

大腸菌

腸球菌(*Enterococcus faecalis*, *E. faecium*)

2) 分離および同定

試験方法は原則として、平成 17 年度食品安全確保総合調査「畜水産食品における薬剤耐性菌の出現実態調査(プロトコル作成)報告書(平成 18 年 3 月)」に準拠して、分離および同定を行った。また最新の試験方法として「食品からの微生物標準試験法」等を参考に、使用する分離平板培地などを選択した(図 1 から図 3)。なお今回の調査では、薬剤耐性菌をスクリーニングする目的で ESBL 産生大腸菌およびバンコマイシン耐性の腸球菌を検出可能な酵素基質培地も併用した。

3. 試験方法

1) 試料液の調製

① サルモネラ属菌

試料 25 g を秤量し、滅菌緩衝ペプトン水(BPW)225 ml を加えた後、1 分間ストマック一処理したものを試料液(1 次増菌培養)として用いた(図 1)。

② 大腸菌および腸球菌

試料 25 g を秤量し、滅菌緩衝ペプトン水(BPW)100 ml を加えた後、1 分間ストマック一処理したものを試料液(乳剤)として用いた(図 2、図 3)。

2) 検出方法および同定方法

① サルモネラ属菌

a) 増菌培養法

試料液を 36℃で 22±2 時間 1 次増菌培養した。次に、1 次増菌培養液 0.1 ml をラポート・バシリアディス培地 10 ml、1 次増菌培養液 1.0 ml をテトラチオネート培地 10 ml にそれぞれ接種し、42℃で 22±2 時間 2 次増菌培養した。2 次増菌培養液の 1 白金耳量を DHL 寒天培地およびクロモアガーサルモネラ寒天培地に画線塗抹し、36℃で 22±2 時間培養した。

b) 生化学的性状試験

培養終了後、各寒天培地にサルモネラ属菌が疑われる集落が出現した場合は、下記

表 4 に示す生化学的性状試験を行い、サルモネラ属菌の同定を行った。なお得られたサルモネラ属菌については O 抗原および H 抗原を調べ、血清型を決定した。

表4 サルモネラ属菌の生化学的性状試験

使用培地	試験項目	サルモネラ属菌の性状
TSI寒天培地	糖分解	斜面(乳糖・白糖)：非分解/ 高層(ブドウ糖)：分解
	硫化水素産生	+
	ガス産生	+ or -
LIM寒天培地	リジン脱炭酸	+
	インドール産生	-
	運動性	+
VP半流動培地	VP反応	-
シモンズのクエン酸塩培地	クエン酸塩利用能	+

②大腸菌

a)直接分離培養法

試料液 0.1 ml をクロモアガーECC 寒天培地に塗抹し、36℃で 24±2 時間培養した。

b)増菌培養法

試料液 10 ml を 3 倍濃度の EC 培地 5 ml に接種し、36℃で 24±2 時間培養した。その後、培養液の 1 白金耳量をクロモアガーオリエンタシオン/ESBL 分画培地に画線塗抹し、36℃で 24±2 時間培養した。

c)生化学的性状試験

直接分離培養法および増菌培養法の各寒天培地に大腸菌が疑われる集落が出現した場合は、下記表 5 に示す生化学的性状試験を行い、大腸菌の同定を行った。

表5 大腸菌の生化学的性状試験

使用培地	試験項目	大腸菌の性状
TSI寒天培地	糖分解	斜面(乳糖・白糖)：分解/ 高層(ブドウ糖)：分解
	硫化水素産生	-
	ガス産生	+ or -
LIM寒天培地	リジン脱炭酸	+ or -
	インドール産生	+
	運動性	+
VP半流動培地	VP反応	-
シモンズのクエン酸塩培地	クエン酸塩利用能	-

③腸球菌

a)直接分離培養法

試料液 0.1 ml を EF 寒天培地に塗抹し、36℃で 48±3 時間培養した。

b)増菌培養法

試料液 10 ml を 3 倍濃度の Enterococcosel 培地 5 ml に接種し、36℃で 24 時間培養した。その後、培養液の 1 白金耳量を EF 寒天培地(48±3 時間)およびクロモアガー VRE スクリーン培地(24±2 時間)に画線塗抹し、36℃で培養した。

c)生化学的性状試験

直接分離培養法および増菌培養法の各寒天培地に腸球菌が疑われる集落が出現した場合は、下記表 6 に示す生化学的性状試験を行い腸球菌であることを確認後、PCR¹を用いて *E. faecalis* および *E. faecium* の菌種同定を行った。

表6 腸球菌の生化学的性状試験

使用培地	試験項目	腸球菌の性状
血液寒天培地	45℃発育	+
6.5%食塩加ブドウ糖ブイヨン	6.5%食塩発育	+

¹ B.A. Layton, et al.:*J. Appl. Microbiol.*, **109**, 539-547, 2010.

3)試験に使用した培地・試薬

サルモネラ属菌、大腸菌および腸球菌の検出および同定に使用した培地、試薬を表7に示した。

表7 使用培地、試薬一覧

対象菌	名称	メーカー名
サルモネラ属菌	緩衝ペプトン水	Oxoid
	ラパポート・バシリアディス(RV)培地	Oxoid
	テトラチオネート(TT)培地	Oxoid
	DHL寒天培地	極東製薬
	クロモアガーサルモネラ寒天培地	関東化学
	TSI寒天培地	日水製薬
	LIM寒天培地	日水製薬
	VP半流動培地	栄研化学
	シモンズのクエン酸塩培地	日水製薬
	サルモネラ免疫血清(O群, H血清)	デンカ生研
大腸菌	緩衝ペプトン水	極東製薬
	クロモアガーECC寒天培地	関東化学
	EC培地	極東製薬
	クロモアガーオリエンタシオン/ESBL分画培地	関東化学
	TSI寒天培地	日水製薬
	LIM寒天培地	日水製薬
	VP半流動培地	栄研化学
	シモンズのクエン酸塩培地	日水製薬
	病原大腸菌免疫血清(O群)	デンカ生研
腸球菌	緩衝ペプトン水	極東製薬
	EF寒天培地	日水製薬
	Enterococcosel培地	BD
	クロモアガーVREスクリーン寒天培地	関東化学
	6.5%食塩加ブドウ糖ブイヨン	自家調製

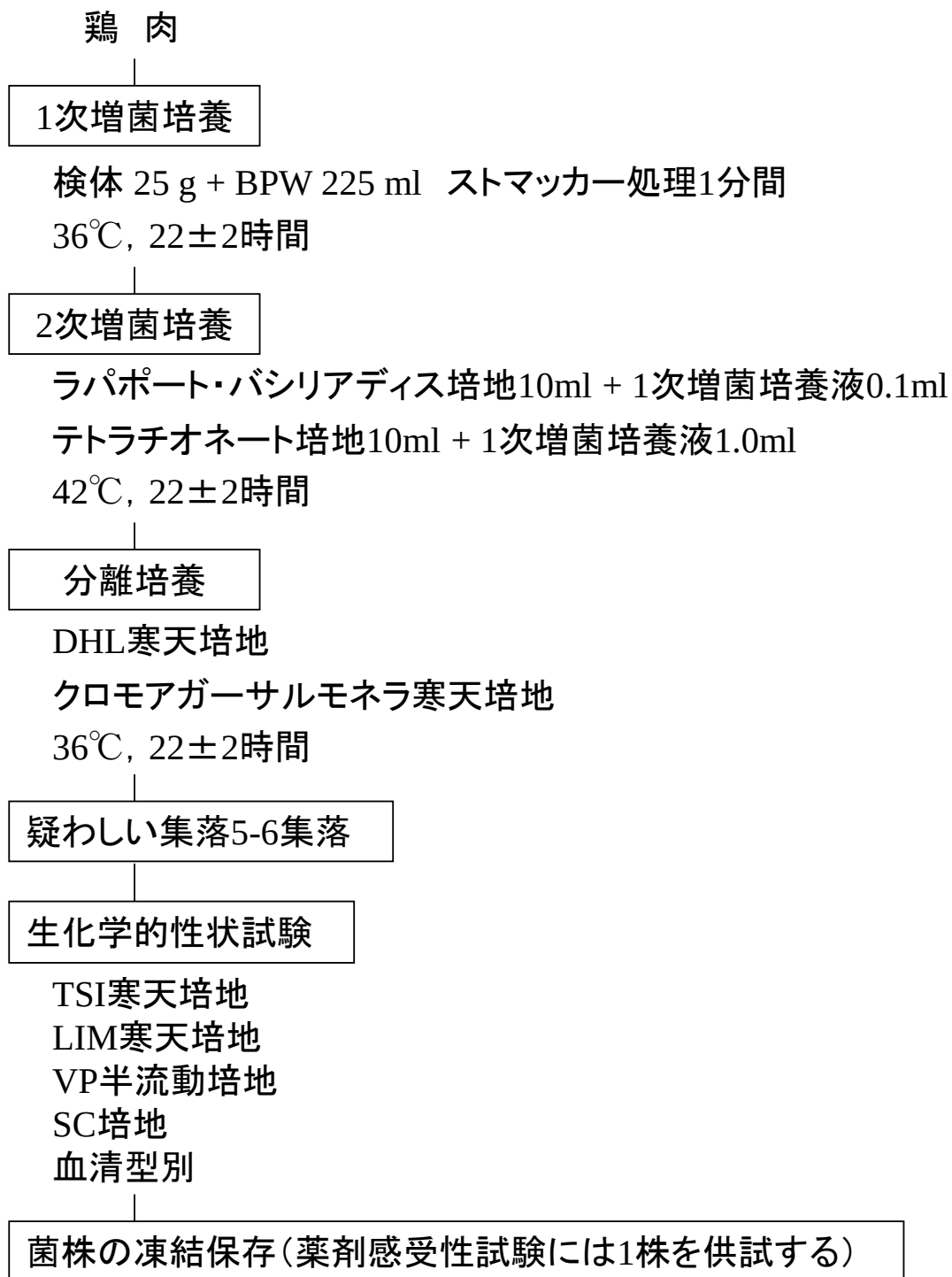


図1 サルモネラ属菌の分離方法

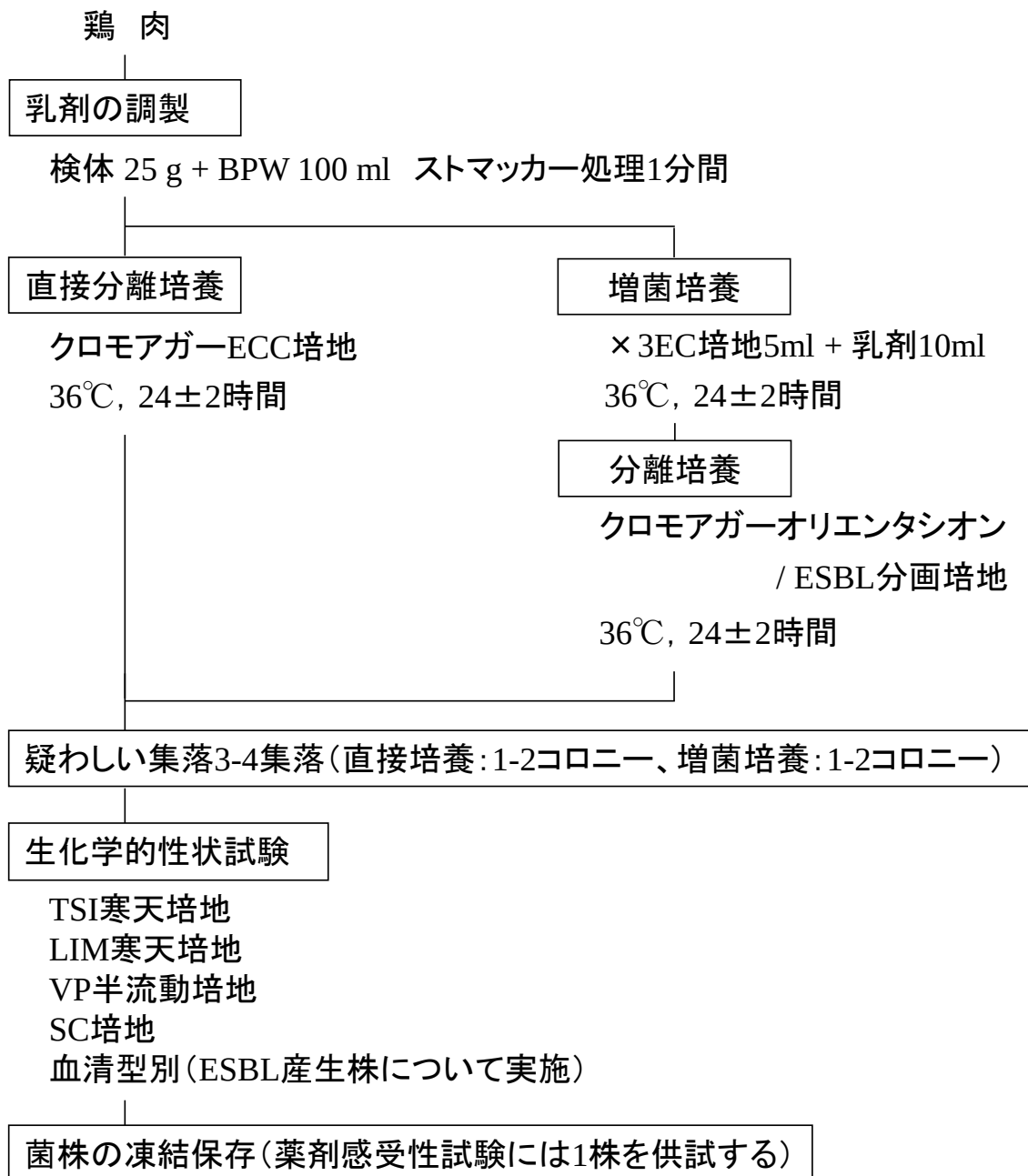


図2 大腸菌の分離方法

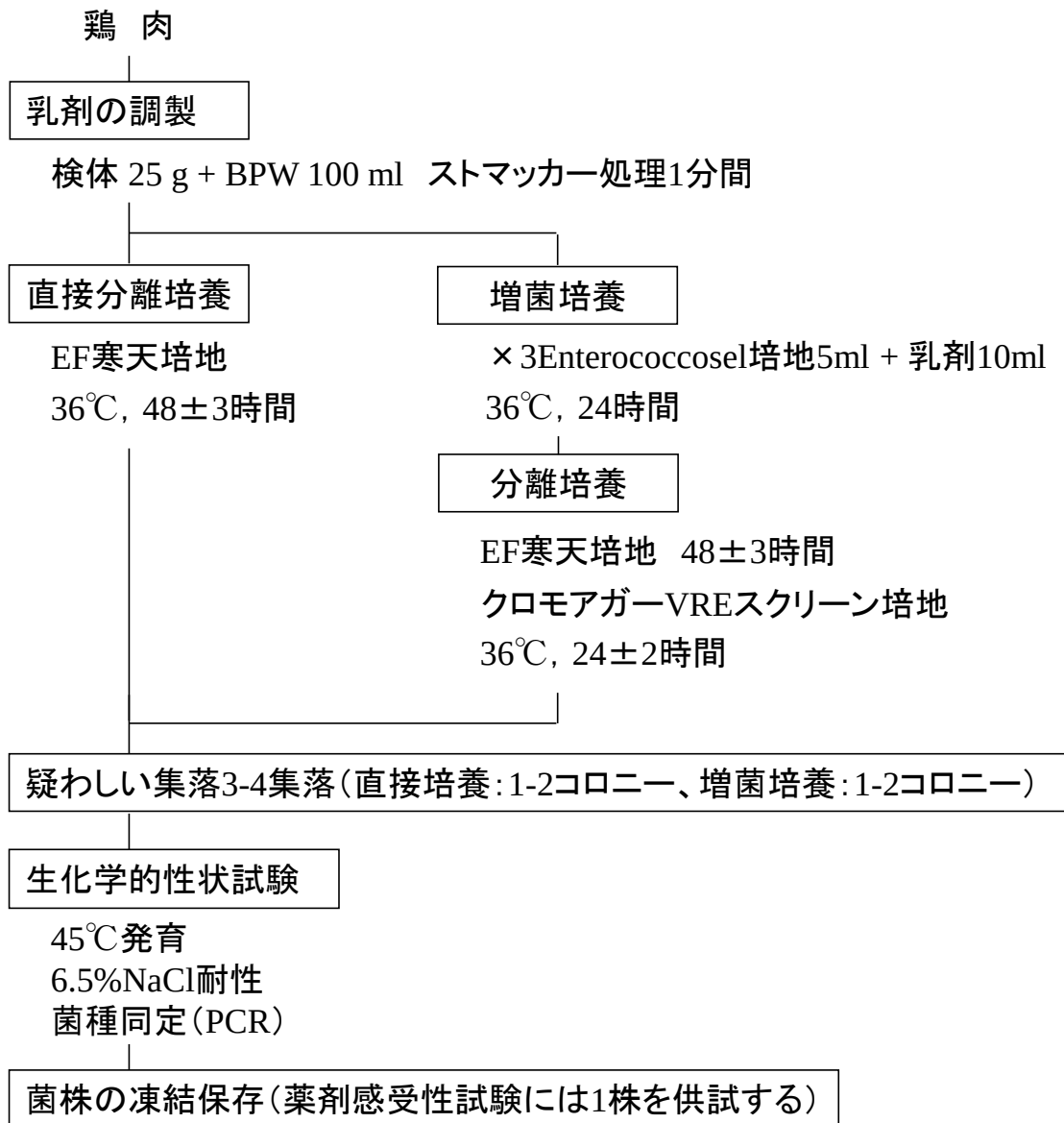


図3 腸球菌の分離方法

4.結果

1)対象菌の検出成績

①市販鶏肉からの検出状況

市販鶏肉からの対象菌の検出状況を地域別、規模別に整理して表 8-1、表 8-2 に、分離菌株一覧を表 9 に示した。

市販鶏肉 357 検体中、サルモネラ属菌は 196 検体、大腸菌は 315 検体、腸球菌は 327 検体が陽性であり、陽性率はそれぞれ 54.9%、88.2%、91.6%であった。地域別の検出状況を見ると、特定の地域で陽性率が高くなるといった傾向は認められず、サルモネラ属菌の陽性率は 40 から 60%、大腸菌、腸球菌の陽性率は 80 から 100%であった。規模別の状況を見ると、サルモネラ属菌は大手量販店、大腸菌、腸球菌は中小量販店や小売店の陽性率が高い傾向であった。

分離菌株数は、サルモネラ属菌が 214 株、大腸菌が 396 株、腸球菌が 485 株であった。サルモネラ属菌の血清型別の内訳は、*S. Infantis* が 113 株、*S. Schwarzengrund* が 63 株、*S. Manhattan* が 25 株、その他が 12 株、型別不能が 1 株であった。

腸球菌の内訳は、*E. faecalis* が 407 株(直接培養 87 株、増菌培養 320 株)、*E. faecium* が 78 株(直接培養 1 株、増菌培養 77 株)であった。

また、薬剤耐性菌をスクリーニングする目的で使用したクロモアガーVRE スクリーン培地からの検出は認められず、クロモアガーオリエンタシオン/ESBL 分画培地からは 118 株が分離された。

表8-1 市販鶏肉からの検出状況 (地域別)

地域	検体数	サルモネラ属菌		大腸菌		腸球菌	
		陽性数	陽性率 (%)	陽性数	陽性率 (%)	陽性数	陽性率 (%)
北海道	15	6	40.0	13	86.7	13	86.7
東北	33	19	57.6	29	87.9	29	87.9
関東	114	66	57.9	92	80.7	101	88.6
中部	61	27	44.3	55	90.2	58	95.1
近畿	67	42	62.7	62	92.5	62	92.5
中国・四国	29	16	55.2	29	100.0	28	96.6
九州	38	20	52.6	35	92.1	36	94.7
合計	357	196	54.9	315	88.2	327	91.6

表8-2 市販鶏肉からの検出状況 (規模別)

	検体数	サルモネラ属菌		大腸菌		腸球菌	
		陽性数	陽性率 (%)	陽性数	陽性率 (%)	陽性数	陽性率 (%)
大手量販店	51	33	64.7	39	76.5	43	84.3
中小量販店	243	130	53.5	220	90.5	225	92.6
小売店	63	33	52.4	56	88.9	59	93.7
合計	357	196	54.9	315	88.2	327	91.6

表9 市販鶏肉からの分離菌株一覧

対象菌	菌種またはサルモネラ血清型	分離方法	分離菌株数	薬剤感受性試験に 供試する菌株数
サルモネラ属菌	S. Infantis	増菌培養	113	113
	S. Schwarzengrund		63	63
	S. Manhattan		25	0
	S. Typhimurium		4	0
	S. Agona		3	0
	S. Blockley		2	0
	S. Anatum		1	0
	S. Cubana		1	0
	S. Montevideo		1	0
	UT		1	0
	合計		214	176
大腸菌		直接培養	81	81
		増菌培養*	315	25
		合計	396	106
腸球菌	<i>E. faecalis</i>	直接培養	87	87
		増菌培養	320	0
		計	407	87
	<i>E. faecium</i>	直接培養	1	0
		増菌培養	77	77
		計	78	77
	合計		485	164

*クロモアガー-ESBLからの分離あり:118株

②食鳥処理場鶏肉からの検出状況

食鳥処理場鶏肉からの対象菌の検出状況を表 10 に、分離菌株一覧を表 11 に示した。食鳥処理場鶏肉 155 検体中、サルモネラ属菌は 90 検体、大腸菌は 147 検体、腸球菌は 139 検体が陽性であり、陽性率はそれぞれ 58.1%、94.8%、89.7%であった。なお、食鳥処理場 J からサルモネラ属菌の検出が認められなかったが、これは 10 検体全てが同一ロットであり、サルモネラ属菌陰性の鶏群であったためと考えられた。

分離菌株数は、サルモネラ属菌が 97 株、大腸菌が 208 株、腸球菌が 187 株であった。サルモネラ属菌の血清型別の内訳は、*S. Schwarzengrund* が 49 株、*S. Manhattan* が 29 株、*S. Infantis* が 18 株、その他(型別不明)が 1 株であった。

腸球菌の内訳は、*E. faecalis* が 162 株(直接培養 24 株、増菌培養 138 株)、*E. faecium* が 25 株(直接培養 1 株、増菌培養 24 株)であった。

また、薬剤耐性菌をスクリーニングする目的で使用したクロモアガーVRE スクリーン培地からの検出は認められず、クロモアガーオリエンタシオン/ESBL 分画培地からは 49 株が分離された。

表10 食鳥処理場鶏肉からの検出状況 (処理場別)

食鳥処理場	検体数	サルモネラ属菌		大腸菌		腸球菌	
		陽性数	陽性率 (%)	陽性数	陽性率 (%)	陽性数	陽性率 (%)
A	13	4	30.8	12	92.3	12	92.3
B	16	7	43.8	16	100.0	14	87.5
C	11	7	63.6	11	100.0	10	90.9
D	11	7	63.6	9	81.8	9	81.8
E	26	18	69.2	25	96.2	24	92.3
F	16	12	75.0	14	87.5	16	100.0
G	16	13	81.3	16	100.0	14	87.5
H	16	8	50.0	16	100.0	10	62.5
I	10	9	90.0	10	100.0	10	100.0
J	10	0	0.0	8	80.0	10	100.0
K	10	5	50.0	10	100.0	10	100.0
合計	155	90	58.1	147	94.8	139	89.7

表11 食鳥処理場鶏肉からの分離菌株一覧

対象菌	菌種またはサルモネラ血清型	分離方法	分離菌株数	薬剤感受性試験に 供試する菌株数
サルモネラ属菌	S. Schwarzengrund	増菌培養	49	49
	S. Manhattan		29	0
	S. Infantis		18	18
	Salmonella sp.		1	0
	合計		97	67
大腸菌		直接培養	63	60
		増菌培養*	145	0
		合計	208	60
腸球菌	E. faecalis	直接培養	24	24
		増菌培養	138	9
		計	162	33
	E. faecium	直接培養	1	1
		増菌培養	24	24
		計	25	25
	合計		187	58

*クロモアガー-ESBLからの分離あり:49株

IV. 分離菌株の薬剤感受性試験(MIC の測定)

1. 分離菌株の選定

分離された菌株について、市販鶏肉由来のサルモネラ属菌、大腸菌および腸球菌はそれぞれ 100 株を超えるよう、食鳥処理場鶏肉由来のサルモネラ属菌、大腸菌、腸球菌はそれぞれ 50 株を超えるように選定した。分離菌株の選定では、直接分離培養で分離された菌株を優先的に採用し、直接分離培養陰性の検体については、増菌培養で分離された菌株を用いた。また基本的に 1 試料について 1 株を採用した。なお腸球菌については、*E. faecalis* と *E. faecium* が半々となるように選定した。

1) 市販鶏肉からの分離株

市販鶏肉から分離された菌株のうち、薬剤感受性試験に供試した菌株数を表 9 に示した。

①サルモネラ属菌

市販鶏肉から分離された *S. Infantis* 113 株、*S. Schwarzengrund* 63 株全てを試験用菌株とした。

②大腸菌

直接培養で分離された 81 株、増菌培養で分離された 25 株の合計 106 株を試験用菌株とした。

③腸球菌

E. faecalis は直接培養で分離された 87 株、*E. faecium* は増菌培養で分離された 77 株、合計 164 株を試験用菌株とした。

2) 食鳥処理場鶏肉からの分離株

食鳥処理場鶏肉から分離された菌株のうち、薬剤感受性試験に供試した菌株数を表 11 に示した。

①サルモネラ属菌

食鳥処理場鶏肉から分離された *S. Infantis* 18 株、*S. Schwarzengrund* 49 株全てを試験用菌株とした。

②大腸菌

直接培養で分離された 60 株を試験用菌株とした。

③腸球菌

E. faecalis は直接培養で分離された 24 株全て、増菌培養で分離された 9 株の計 33 株、*E. faecium* は直接培養で分離された 1 株、増菌培養で分離された 24 株の計 25 株、合計 58 株を試験用菌株とした。

2.測定方法

米国臨床検査標準委員会(Clinical and Laboratory Standards Institute ; CLSI)の試験法に準拠し、微量液体希釈培養法により最小発育阻止濃度(Minimum Inhibitory Concentration ; MIC)を測定した。なお対象薬剤は国内の家畜衛生分野におけるモニタリング調査で採用されている薬剤を参考に決定した。

1)対象薬剤

対象とした薬剤および濃度範囲を表 12、13 に示した。

表12 調査対象薬剤 (サルモネラ属菌、大腸菌)

薬剤名	略号	系統	濃度範囲 (μg/ml)
アンピシリン	ABPC	Penicillin	1-128
セファゾリン	CEZ	Cephem	1-128
セフトキシム	CTX		0.5-64
ストレプトマイシン	SM	Aminoglycoside	0.5-64
ゲンタマイシン	GM		0.5-64
カナマイシン	KM		1-128
テトラサイクリン	TC	Tetracycline	0.5-64
クロラムフェニコール	CP	Phenicol	1-128
コリスチン	CL	Lipopeptide	0.12-16
ナリジクス酸	NA	Quinolone	1-128
シプロフロキサシン	CPF	Fluoroquinolone	0.03-4
スルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤	ST	Folate pathway inhibitor	2.38/0.12-152/8

表13 調査対象薬剤 (腸球菌)

薬剤名	略号	系統	濃度範囲 (μg/ml)
アンピシリン	ABPC	Penicillin	0.12-128
ジヒドロストレプトマイシン	DSM	Aminoglycoside	0.25-512
ゲンタマイシン	GM		0.12-256
カナマイシン	KM		0.25-512
オキシテトラサイクリン	OTC	Tetracycline	0.12-64
クロラムフェニコール	CP	Phenicol	0.25-512
バシトラシン	BC	Lipopeptide	0.25-512
エリスロマイシン	EM	Macrolide	0.12-128
リンコマイシン	LCM	Lincomycin	0.12-256
エンロフロキサシン	ERFX	Fluoroquinolone	0.12-64
タイロシン	TS	Macrolide	0.12-256
サリノマイシン	SNM	Polyether	0.12-32
バージニアマイシン	VGM	Streptogramin	0.12-128

2)MIC 測定試験方法

微量液体希釈培養法には、栄研化学株式会社製のフローズプレートまたはドライプレートを用いた。なお、S. Schwarzengrund の ST 合剤の MIC 測定では、微量液体希釈培養法により判定が困難な事例が認められたことから Etest を併用して総合的に判定した。

①接種用菌液の調製

サルモネラ属菌と大腸菌については、凍結保存菌株を普通寒天培地で 35℃、18-24 時間培養した。生育した集落を滅菌生理食塩水に McFarland 標準濁度 No.1 と同じ濁度となるように調製した。調製した菌液 0.025ml をミューラーヒントンブイヨン (BD 社製)12ml に加えたものを接種用菌液とした。

腸球菌については、凍結保存菌株を普通寒天培地で 35℃、18-24 時間培養した。生育した集落を滅菌生理食塩水に McFarland 標準濁度 No.1 と同じ濁度となるように調製した。調製した菌液 1ml を、滅菌生理食塩水 9ml で 10 倍に希釈し、接種用菌液とした。

②菌液の接種および培養

サルモネラ属菌と大腸菌については、接種用菌液を 0.05ml ずつドライプレートの各ウェルに接種した。接種後、35℃で 16-20 時間培養した。

腸球菌については、接種用菌液を 0.0025ml ずつフローズンプレートの各ウェルに接種した。接種後、35℃で 16-20 時間培養した。

③判定方法とブレイクポイント

マイクロプレートリーディングミラーの上に培養後のプレート置き、判定を行った。肉眼的に混濁または沈殿が認められない場合、沈殿物があっても直径 1 mm 未満で 1 個の場合には発育陰性と判定した。これ以外の場合には、発育陽性と判定した。

なおブレイクポイント(耐性限界値)は、農林水産省および(独)農林水産消費安全技術センターの平成 26 年度家畜由来細菌の抗菌性物質感受性実態調査を参考にした(表 14、15)。

表14 調査対象薬剤に対するブレイクポイント (サルモネラ属菌、大腸菌)

薬剤名	ブレイクポイント (μg/ml)
ABPC	32
CEZ	32
CTX	4
SM	32
GM	16
KM	64
TC	16
CP	32
CL	16
NA	32
CPFX	4
ST	76/4

表15 調査対象薬剤に対するブレイクポイント (腸球菌)

薬剤名	ブレイクポイント (μg/ml)
ABPC	16
DSM	128
GM	32
KM	128
OTC	16
CP	32
BC	-
EM	8
LCM	128
ERFX	4
TS	64
SNM	-
VGM	-

④精度管理

CLSI のガイドラインで示された下記の菌株を用いて精度管理を行った。

Staphylococcus aureus ATCC29213

Enterococcus faecalis ATCC29212

Escherichia coli ATCC25922

Pseudomonas aeruginosa ATCC27853

なお、MIC の精度管理限界値(MIC 範囲)については CLSI の規定²に従った(表16)。

表16 CLSIが規定する調査対象薬剤におけるMIC (μg/ml) の精度管理限界値

薬剤名	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
ABPC	0.5-2	0.5-2	2-8	-
BC	-	-	-	-
CEZ	0.25-1	-	1-4	-
CL	-	-	-	-
CP	2-8	4-16	2-8	-
CPFX	-	-	-	-
CTX	-	-	-	-
DSM	-	-	-	-
EM	0.25-1	1-4	-	-
ERFX	0.03-0.12	0.12-1	0.008-0.03	1-4
GM	0.12-1	4-16	0.25-1	0.5-2
KM	1-4	16-64	1-4	-
LCM	-	-	-	-
NA	-	-	-	-
OTC	-	-	-	-
SM	-	-	-	-
SNM	-	-	-	-
ST	≤9.5/0.5	≤9.5/0.5	≤9.5/0.5	152/8-608/32
TC	0.12-1	8-32	0.5-2	8-32
TS	-	-	-	-
VGM	-	-	-	-

-: 規定なし

² CLSI document M31-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.

3)試験に使用した機器・培地

MIC 測定に使用した培地類を表 17 に示した。

表17 MIC測定に使用した試薬等一覧

名称	メーカー名	ロットNo.
ドライプレート‘栄研’ QJ0E	栄研化学株式会社	59004 5X005
フローズンプレート‘栄研’ XB0A	栄研化学株式会社	59002
フローズンプレート‘栄研’ XB1B	栄研化学株式会社	59002
ミューラーヒントンブイヨン	Oxoid	1460487
Etest® TRIM/SULFA 1/19	BIOMERIEUX	1003652350 1003830330
ミューラーヒントン寒天培地	Oxoid	1333385

3.結果

1)市販鶏肉由来株の MIC と耐性出現頻度

①サルモネラ属菌

S. Infantis

市販鶏肉から分離された *S. Infantis* の Range、MIC₅₀、MIC₉₀、耐性菌株数および耐性率を表 18、MIC 分布を表 19、薬剤耐性パターンを表 20 に示した。

薬剤耐性株は供試した 12 薬剤のうち 8 薬剤に認められ、耐性率は 1.8%(ST 合剤)～83.2%(TC)であった。ABPC では ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$ および 32-64 $\mu\text{g/ml}$ 、CEZ では ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$ および >128 $\mu\text{g/ml}$ 、CTX では ≤ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ および 4 $\mu\text{g/ml}$ 、SM では 4 $\mu\text{g/ml}$ および 32 $\mu\text{g/ml}$ 、KM では ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$ および >128 $\mu\text{g/ml}$ 、TC では ≤ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ および 32 $\mu\text{g/ml}$ 、NA では 2 $\mu\text{g/ml}$ および >128 $\mu\text{g/ml}$ 、ST 合剤では $\leq 2.38/0.12$ $\mu\text{g/ml}$ および $>152/8$ $\mu\text{g/ml}$ を MIC のピークとする二峰性が認められた。また薬剤耐性パターンについては、1～6 薬剤耐性の 18 パターンに分類され、6 薬剤耐性が 3 株、5 薬剤耐性が 3 株、4 薬剤耐性が 7 株、3 薬剤耐性が 22 株、2 薬剤耐性が 38 株、1 薬剤耐性が 29 株、感受性株が 11 株であった。耐性株の内訳については、SM-TC の 2 薬剤耐性が 29 株(25.7%)で最も多く、次いで TC の 1 薬剤耐性が 24 株(21.2%)、SM-KM-TC の 3 薬剤耐性が 17 株(15.0%)であった。

表18 *S. Infantis*の薬剤感受性試験 (市販鶏肉)

薬剤名	菌株数	Range (μg/ml)	MIC ₅₀ (μg/ml)	MIC ₉₀ (μg/ml)	耐性菌株数	耐性率 (%)	ブレイクポイント (μg/ml)
ABPC	113	≤1->128	≤1	≤1	11	9.7	32
CEZ	113	≤1->128	≤1	2	9	8.0	32
CTX	113	≤0.5-16	≤0.5	≤0.5	6	5.3	4
SM	113	4->64	32	32	61	54.0	32
GM	113	≤0.5	≤0.5	≤0.5	0	0.0	16
KM	113	≤1->128	≤1	>128	36	31.9	64
TC	113	≤0.5-64	32	32	94	83.2	16
CP	113	≤1-2	≤1	2	0	0.0	32
CL	113	≤0.12-2	0.5	1	0	0.0	16
NA	113	≤1->128	2	128	13	11.5	32
CPFX	113	≤0.03-0.25	≤0.03	0.12	0	0.0	4
ST	113	≤2.38/0.12->152/8	≤2.38/0.12	4.75/0.25	2	1.8	76/4

表19 *S. Infantis*のMIC分布 (市販鶏肉)

薬剤名	菌株数	No. of strains with MIC (μg/ml)													
		≤0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
ABPC	113	-	-	-	-	-	102(≤1)					4	4	1	2
CEZ	113	-	-	-	-	-	101(≤1)	3						4	5
CTX	113	-	-	-	-	103(≤0.5)	1	3	4	1	1			-	-
SM	113	-	-	-	-	-			18	4	30	55	5	-	1(>64)
GM	113	-	-	-	-	113(≤0.5)								-	-
KM	113	-	-	-	-	-	65(≤1)	12							36
TC	113	-	-	-	-	19(≤0.5)					29	64	1	-	-
CP	113	-	-	-	-	-	100(≤1)	13							-
CL	113	-	-	16(≤0.12)	22	55	19	1				-	-	-	-
NA	113	-	-	-	-	-	20(≤1)	78	2					3	10
CPFX	113	100		11	2									-	-

薬剤名	菌株数	No. of strains with MIC (μg/ml)						
		≤2.38/0.12	4.75/0.25	9.5/0.5	19/1	38/2	76/4	>152/8
ST	113	90	20	1				2

表20 *S. Infantis*の薬剤耐性パターン (市販鶏肉)

種	耐性薬剤数	菌株数	薬剤耐性パターン											
			Penicillin	Cephem		Aminoglycoside		Tetracycline	Phenicol	Lipopeptide	Quinolone	Fluoroquinolone	Folate pathway inhibitor	
S. Infantis	6	2	ABPC	CEZ	CTX	SM	GM	KM	TC	CP	CL	NA	CPFX	ST
		1	ABPC	CEZ	CTX	SM			TC			NA		
	5	2	ABPC	CEZ	CTX	SM			TC			NA		
		1	ABPC	CEZ	CTX				TC			NA		
	4	3				SM		KM	TC			NA		
		3	ABPC	CEZ		SM			TC					
		1						KM	TC			NA		ST
	3	17				SM		KM	TC					
		3				SM			TC			NA		
		1						KM	TC			NA		
		1	ABPC			SM								ST
	2	29				SM			TC					
		7						KM	TC					
		1	ABPC					KM						
		1						KM				NA		
	1	24							TC					
		3						KM						
		2										NA		
	感受性株		11											
	合計		113											

S. Schwarzengrund

市販鶏肉から分離された *S. Schwarzengrund* の Range、MIC₅₀、MIC₉₀、耐性菌株数および耐性率を表 21、MIC 分布を表 22、薬剤耐性パターンを表 23 に示した。薬剤耐性株は供試した 12 薬剤のうち 8 薬剤に認められ、耐性率は 1.6%(CP)~90.5%(TC)であった。ABPC では ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$ および >128 $\mu\text{g/ml}$ 、GM では ≤ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ および 16-32 $\mu\text{g/ml}$ 、KM では 2 $\mu\text{g/ml}$ および >128 $\mu\text{g/ml}$ 、TC では ≤ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ および 32 $\mu\text{g/ml}$ 、CP では 2 $\mu\text{g/ml}$ および 128 $\mu\text{g/ml}$ 、NA では 2 $\mu\text{g/ml}$ および >128 $\mu\text{g/ml}$ 、ST 合剤では $\leq 2.38/0.12$ $\mu\text{g/ml}$ および $>152/8$ $\mu\text{g/ml}$ を MIC のピークとする二峰性が認められた。また薬剤耐性パターンについては、1~5 および 7 薬剤耐性の 14 パターンに分類され、7 薬剤耐性が 1 株、5 薬剤耐性が 2 株、4 薬剤耐性が 27 株、3 薬剤耐性が 21 株、2 薬剤耐性が 8 株、1 薬剤耐性が 4 株であった。耐性株の内訳については、SM-KM-TC-ST の 4 薬剤耐性が 27 株(42.9%)で最も多く、次いで SM-KM-TC の 3 薬剤耐性が 12 株(19.0%)、SM-TC の 2 薬剤耐性が 5 株(7.9%)であった。

表21 *S. Schwarzengrund*の薬剤感受性試験 (市販鶏肉)

薬剤名	菌株数	Range ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/ml}$)	耐性菌株数	耐性率 (%)	ブレイクポイント ($\mu\text{g/ml}$)
ABPC	63	≤ 1 - >128	≤ 1	≤ 1	2	3.2	32
CEZ	63	≤ 1 -4	≤ 1	≤ 1	0	0.0	32
CTX	63	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5	0	0.0	4
SM	63	4- >64	32	64	53	84.1	32
GM	63	≤ 0.5 -32	≤ 0.5	≤ 0.5	2	3.2	16
KM	63	≤ 1 - >128	>128	>128	53	84.1	64
TC	63	≤ 0.5 -64	32	32	57	90.5	16
CP	63	≤ 1 - >128	2	2	1	1.6	32
CL	63	0.25-1	0.5	1	0	0.0	16
NA	63	≤ 1 - >128	2	2	3	4.8	32
CPFX	63	≤ 0.03 -0.25	≤ 0.03	≤ 0.03	0	0.0	4
ST	63	$\leq 2.38/0.12$ - $>152/8$	$>152/8$	$>152/8$	37	58.7	76/4

表22 *S. Schwarzengrund*のMIC分布 (市販鶏肉)

		No. of strains with MIC (μg/ml)													
薬剤名	菌株数	≤0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
ABPC	63	-	-	-	-	-	61(≤1)								2
CEZ	63	-	-	-	-	-	61(≤1)	1	1						
CTX	63	-	-	-	-	63(≤0.5)									
SM	63	-	-	-	-				1	3	6	43	7		3(>64)
GM	63	-	-	-	-	60(≤0.5)	1				1	1			
KM	63	-	-	-	-	-	4(≤1)	5	1						53
TC	63	-	-	-	-	6(≤0.5)					5	50	2		
CP	63	-	-	-	-	-	14(≤1)	48						1	
CL	63	-	-		16	39	8					-	-		-
NA	63	-	-	-	-	-	3(≤1)	54	2	1					3
CPFX	63	59		3	1										

		No. of strains with MIC (μg/ml)							
薬剤名	菌株数	≤2.38/0.12	4.75/0.25	9.5/0.5	19/1	38/2	76/4	152/8	>152/8
ST	63	24	2						37

表23 S. Schwarzengrundの薬剤耐性パターン (市販鶏肉)

薬剤耐性パターン														
種	耐性薬剤数	菌株数	Penicillin	Cepham		Aminoglycoside			Tetracycline	Phenicol	Lipopeptide	Quinolone	Fluoroquinolone	Trimethoprim-sulfamethoxazole
			ABPC	CEZ	CTX	SM	GM	KM	TC	CP	CL	NA	CPFX	ST
S. Schwarzengrund	7	1	ABPC			SM	GM	KM	TC	CP	CL	NA	CPFX	ST
		1	ABPC			SM		KM	TC					ST
	5	1				SM		KM	TC			NA		ST
		27				SM		KM	TC					ST
		12				SM		KM	TC					
		4				SM			TC					ST
	3	3						KM	TC					ST
		1				SM	GM	KM						
		1						KM	TC			NA		
		5				SM			TC					
	2	2						KM	TC					
		1						KM				NA		
		3						KM						
	1	1				SM								
	合計	63												

②大腸菌

市販鶏肉から分離された大腸菌の Range、MIC₅₀、MIC₉₀、耐性菌株数および耐性率を表 24、MIC 分布を表 25、薬剤耐性パターンを表 26 に示した。

薬剤耐性株は供試した 12 薬剤中 11 薬剤に認められ、耐性率は 1.9%(CTX)～42.5%(TC)であった。ABPC では 2 µg/ml および >128 µg/ml、CEZ では ≤1 µg/ml および 128->128 µg/ml、SM では 4 µg/ml および >64 µg/ml、KM では ≤1 µg/ml および >128 µg/ml、TC では ≤0.5 µg/ml および 32 µg/ml、CP では 2 µg/ml および 128 µg/ml、NA では ≤1 µg/ml および >128 µg/ml、CPFX では ≤0.03 µg/ml および >4 µg/ml、ST 合剤では ≤2.38/0.12 µg/ml および >152/8 µg/ml を MIC のピークとする二峰性が認められた。また薬剤耐性パターンについては、1～7 および 9 薬剤耐性の 46 パターンに分類され、9 薬剤耐性が 1 株、7 薬剤耐性が 3 株、6 薬剤耐性が 8 株、5 薬剤耐性が 10 株、4 薬剤耐性が 12 株、3 薬剤耐性が 13 株、2 薬剤耐性が 10 株、1 薬剤耐性が 11 株、感受性株が 38 株であった。耐性株の内訳については、TC の 1 薬剤耐性が 5 株(4.7%)で最も多く、次いで NA の 1 薬剤耐性および ABPC-SM-KM-TC-CP-ST の 6 薬剤耐性が各 4 株(3.8%)であった。

表24 大腸菌の薬剤感受性試験 (市販鶏肉)

薬剤名	菌株数	Range (µg/ml)	MIC ₅₀ (µg/ml)	MIC ₉₀ (µg/ml)	耐性菌株数	耐性率 (%)	ブレイクポイント (µg/ml)
ABPC	106	≤1->128	2	>128	39	36.8	32
CEZ	106	≤1->128	≤1	4	4	3.8	32
CTX	106	≤0.5-16	≤0.5	≤0.5	2	1.9	4
SM	106	1->64	4	>64	34	32.1	32
GM	106	≤0.5-64	≤0.5	≤0.5	3	2.8	16
KM	106	≤1->128	2	>128	29	27.4	64
TC	106	≤0.5->64	≤0.5	64	45	42.5	16
CP	106	≤1->128	2	64	12	11.3	32
CL	106	≤0.12-4	0.5	1	0	0.0	16
NA	106	≤1->128	2	>128	33	31.1	32
CPFX	106	≤0.03->4	≤0.03	4	14	13.2	4
ST	106	≤2.38/0.12->152/8	≤2.38/0.12	>152/8	31	29.2	76/4

表25 大腸菌のMIC分布 (市販鶏肉)

藥劑名	菌株數	No. of strains with MIC (μg/ml)													
		≤0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
ABPC	106	-	-	-	-	-	30(≤1)	36	1			3	2	34	
CEZ	106	-	-	-	-	-	75(≤1)	16	9	1	1		2	2	
CTX	106	-	-	-	-	101(≤0.5)	2	1	1	1				-	
SM	106	-	-	-	-		1	14	44	11	2	4	5	25(>64)	
GM	106	-	-	-	-	98(≤0.5)	4		1		1	2	-	-	
KM	106	-	-	-	-	-	39(≤1)	32	5	1				29	
TC	106	-	-	-	-	56(≤0.5)	5			4	24	15		2(>64)	
CP	106	-	-	-	-	-	8(≤1)	79	4	1	2	5	6	1	
CL	106	-	-	7(≤0.12)	13	64	19	2	1		-	-	-	-	
NA	106	-	-	-	-	-	47(≤1)	25	1			5	8	20	
CPFX	106	72		14	5		1	6	-	-	-	-	-	8(>4)	

藥劑名	菌株數	No. of strains with MIC (μg/ml)							
		≤2.38/0.12	4.75/0.25	9.5/0.5	19/1	38/2	76/4	152/8	>152/8
ST	106	74	1						31

表26 大腸菌の薬剤耐性パターン (市販鶏肉)

[illegible]

③腸球菌

市販鶏肉から分離された腸球菌の Range、MIC₅₀、MIC₉₀、耐性菌株数および耐性率を表 27、MIC 分布を表 28～30、薬剤耐性パターンを表 31～33 に示した。

E. faecalis

薬剤耐性株は供試した 13 薬剤のうち 8 薬剤に認められ、耐性率は 3.4%(GM)～52.9%(OTC)であった。DSM では 64 µg/ml および>512 µg/ml、GM では 8 µg/ml および>256 µg/ml、KM では 32 µg/ml および>512 µg/ml、OTC では 0.5 µg/ml および>64 µg/ml、CP では 8 µg/ml および 128 µg/ml、EM では 2 µg/ml および>128 µg/ml、LCM では 32 µg/ml および>256 µg/ml、TS では 2 µg/ml および>256 µg/ml、VGM では 0.25 µg/ml および 8 µg/ml を MIC のピークとする二峰性が認められた。また薬剤耐性パターンについては、1 から 8 薬剤耐性の 18 パターンに分類され、8 薬剤耐性が 1 株、7 薬剤耐性が 6 株、6 薬剤耐性が 10 株、5 薬剤耐性が 9 株、4 薬剤耐性が 4 株、3 薬剤耐性が 6 株、2 薬剤耐性が 4 株、1 薬剤耐性が 14 株、感受性株が 33 株であった。耐性株の内訳については、OTC の 1 薬剤耐性が 14 株(16.1%)で最も多く、次いで DSM-KM-OTC-EM-LCM-TS の 6 薬剤耐性が 7 株(8.0%)であった。

E. faecium

薬剤耐性株は供試した 13 薬剤のうち 10 薬剤に認められ、耐性率は 1.3%(GM)～68.8%(KM)であった。DSM では 32-64 µg/ml および>512 µg/ml、KM では 128 µg/ml および>512 µg/ml、OTC では 0.5 µg/ml および>64 µg/ml、BC では 16 µg/ml および 256 µg/ml、EM では 4 µg/ml および>128 µg/ml、LCM では 32 µg/ml および>256 µg/ml、TS では 8 µg/ml および>256 µg/ml を MIC のピークとする二峰性が認められた。また薬剤耐性パターンについては、1 から 8 薬剤耐性の 33 パターンに分類され、8 薬剤耐性が 3 株、7 薬剤耐性が 6 株、6 薬剤耐性が 7 株、5 薬剤耐性が 9 株、4 薬剤耐性が 5 株、3 薬剤耐性が 3 株、2 薬剤耐性が 22 株、1 薬剤耐性が 17 株、感受性株が 5 株であった。耐性株の内訳については、KM-EM の 2 薬剤耐性が 9 株(11.7%)で最も多く、次いで ERFX の 1 薬剤耐性および KM-OTC の 2 薬剤耐性が各 7 株(9.1%)、KM の 1 薬剤耐性および DSM-KM-OTC-EM-LCM-ERFX-TS の 7 薬剤耐性が各 6 株(7.8%)であった。

E. faecalis + *E. faecium*

薬剤耐性株は供試した 13 薬剤のうち 10 薬剤に認められ、耐性率は 2.4%(ABPC、GM)～49.4%(OTC)であった。DSM では 64 µg/ml および>512 µg/ml、KM では 32 µg/ml および>512 µg/ml、OTC では 0.5 µg/ml および>64 µg/ml、CP では 8 µg/ml およ

び 128 µg/ml、EM では 2 µg/ml および >128 µg/ml、LCM では 32 µg/ml および >256 µg/ml、TS では 2 µg/ml および >256 µg/ml を MIC のピークとする二峰性が認められた。また薬剤耐性パターンについては、1 から 8 薬剤耐性の 48 パターンに分類され、8 薬剤耐性が 4 株、7 薬剤耐性が 12 株、6 薬剤耐性が 17 株、5 薬剤耐性が 18 株、4 薬剤耐性が 9 株、3 薬剤耐性が 9 株、2 薬剤耐性が 26 株、1 薬剤耐性が 31 株、感受性株が 38 株であった。耐性株の内訳については、OTC の 1 薬剤耐性が 15 株(9.1%)で最も多く、次いで KM-EM の 2 薬剤耐性が 9 株(5.5%)、ERFX の 1 薬剤耐性、KM-OTC の 2 薬剤耐性および DSM-KM-OTC-EM-LCM-TS の 6 薬剤耐性が各 7 株(4.3%)であった。

表27 腸球菌の薬剤感受性試験 (市販鶏肉)

薬剤名	種	菌株数	Range (μg/ml)	MIC ₅₀ (μg/ml)	MIC ₉₀ (μg/ml)	耐性菌株数	耐性率 (%)	ブレイクポイント (μg/ml)
ABPC	<i>E. faecalis</i>	87	0.5-1	1	1	0	0.0	16
	<i>E. faecium</i>	77	≤0.12-128	2	4	4	5.2	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	164	≤0.12-128	1	4	4	2.4	
DSM	<i>E. faecalis</i>	87	16->512	64	>512	27	31.0	128
	<i>E. faecium</i>	77	16->512	64	>512	20	26.0	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	164	16->512	64	>512	47	28.7	
GM	<i>E. faecalis</i>	87	2->256	8	16	3	3.4	32
	<i>E. faecium</i>	77	2->256	8	8	1	1.3	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	164	2->256	8	16	4	2.4	
KM	<i>E. faecalis</i>	87	16->512	32	>512	25	28.7	128
	<i>E. faecium</i>	77	16->512	128	>512	53	68.8	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	164	16->512	64	>512	78	47.6	
OTC	<i>E. faecalis</i>	87	0.25->64	16	>64	46	52.9	16
	<i>E. faecium</i>	77	≤0.12->64	0.5	>64	35	45.5	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	164	≤0.12->64	1	>64	81	49.4	
CP	<i>E. faecalis</i>	87	4-128	8	128	13	14.9	32
	<i>E. faecium</i>	77	2-64	8	16	5	6.5	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	164	2-128	8	32	18	11.0	
BC	<i>E. faecalis</i>	87	32->512	128	>512	-	-	-
	<i>E. faecium</i>	77	4->512	256	>512	-	-	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	164	4->512	128	>512	-	-	
EM	<i>E. faecalis</i>	87	0.25->128	2	>128	32	36.8	8
	<i>E. faecium</i>	77	≤0.12->128	4	>128	38	49.4	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	164	≤0.12->128	4	>128	70	42.7	
LCM	<i>E. faecalis</i>	87	0.5->256	64	>256	33	37.9	128
	<i>E. faecium</i>	77	0.5->256	32	>256	24	31.2	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	164	0.5->256	32	>256	57	34.8	
ERFX	<i>E. faecalis</i>	87	0.5-2	1	1	0	0.0	4
	<i>E. faecium</i>	77	0.5-16	4	8	40	51.9	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	164	0.5-16	1	8	40	24.4	
TS	<i>E. faecalis</i>	87	2->256	4	>256	32	36.8	64
	<i>E. faecium</i>	77	1->256	8	>256	23	29.9	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	164	1->256	4	>256	55	33.5	
SNM	<i>E. faecalis</i>	87	0.5-8	1	8	-	-	-
	<i>E. faecium</i>	77	0.25-16	2	8	-	-	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	164	0.25-16	2	8	-	-	
VGM	<i>E. faecalis</i>	87	0.25-16	8	8	-	-	-
	<i>E. faecium</i>	77	0.25-32	1	2	-	-	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	164	0.25-32	2	8	-	-	

表28 腸球菌のMIC分布 (市販鶏肉, *E. faecalis*)

種	菌株数	薬剤名	No. of strains with MIC (μg/ml)														
			≤0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	>512	
<i>E. faecalis</i>	87	ABPC			20	67								-	-	-	
		DSM	-							1	18	41		1		26	
		GM					6	11	52	15				1	-	2(>256)	
		KM	-							6	40	16		1		24	
		OTC		3	22	15			1	11	5	3	-	-	-	27(>64)	
		CP	-					13	60	1		4	9				
		BC	-								6	14	43	14		10	
		EM		7	4	9	33	2	1	4	4		2	-	-	21(>128)	
		LCM			6	3						29	16	4	3	-	26(>256)
		ERFX			41	45	1							-	-	-	-
		TS					32	23						1	1	-	30(>256)
		SNM			12	38	16	12	9				-	-	-	-	-
		VGM		6	3		1	9	63	5				-	-	-	-

表29 腸球菌のMIC分布 (市販鶏肉, *E. faecium*)

種	菌株数	薬剤名	No. of strains with MIC (μg/ml)													
			≤0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	>512
<i>E. faecium</i>	77	ABPC	1	1	12	18	25	13	3		2		2	-	-	-
		DSM	-							1	28	28			1	19
		GM					2	23	46	5					-	1(>256)
		KM	-							1	3	20	24	12		17
		OTC	3	11	27				1	1	2	5	-	-	-	27(>64)
		CP	-				4	19	46	3	4	1				
		BC	-					1	5	8			8	30	6	19
		EM	12	4	1	4	5	13	12	5	2		1	-	-	18(>128)
		LCM			2	12	4	1	2	14	15	3	1	4	-	19(>256)
		ERFX			8	11	18	22	17	1			-	-	-	-
		TS				1	18	16	18	1				3	-	20(>256)
		SNM		1		19	22	17	17	1		-	-	-	-	-
		VGM		1	19	20	35	1			1		-	-	-	-

表30 腸球菌のMIC分布 (市販鶏肉, *E. faecalis* + *E. faecium*)

種	菌株数	薬剤名	No. of strains with MIC (μg/ml)													
			≤0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	>512
<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	164	ABPC	1	1	32	85	25	13	3	2		2	-	-	-	
		DSM	-							2	46	69	1	1	45	
		GM					8	34	98	20			1	-	3(>256)	
		KM	-							7	43	36	24	13	41	
		OTC	3	14	49	15			2	12	7	8	-	-	54(>64)	
		CP	-				4	32	106	4	4	5	9			
		BC	-					1	5	8	6	14	51	44	6	29
		EM	12	11	5	13	38	15	13	9	6		3	-	-	39(>128)
		LCM			8	15	4	1	2	14	44	19	5	7	-	45(>256)
		ERFX			49	56	19	22	17	1			-	-	-	-
		TS				1	50	39	18	1			1	4	-	50(>256)
		SNM		1	12	57	38	29	26	1		-	-	-	-	-
		VGM		7	22	20	36	10	63	5	1		-	-	-	-

表31 腸球菌の薬剤耐性パターン (市販鶏肉, *E. faecalis*)

薬剤耐性パターン															
種	耐性薬剤数	菌株数	Penicillin	Aminoglycoside			Tetracycline	Phenicol	Lipopeptide	Macrolide	Lincomycin	Fluoroquinolone	Macrolide	Polyether	Streptogramin
			ABPC	DSM	GM	KM	OTC	CP	BC	EM	LCM	ERFX	TS	SNM	VGM
<i>E. faecalis</i>	8	1		DSM	GM	KM	OTC	CP		EM	LCM		TS		
	7	5		DSM		KM	OTC	CP		EM	LCM		TS		
		1		DSM	GM	KM	OTC			EM	LCM		TS		
	6	7		DSM		KM	OTC			EM	LCM		TS		
		3		DSM			OTC	CP		EM	LCM		TS		
		4					OTC	CP		EM	LCM		TS		
	5	2		DSM		KM				EM	LCM		TS		
		2		DSM			OTC			EM	LCM		TS		
		1				KM	OTC			EM	LCM		TS		
	4	2				KM				EM	LCM		TS		
		2					OTC			EM	LCM		TS		
	3	3		DSM		KM	OTC								
		2								EM	LCM		TS		
		1			GM	KM	OTC								
		2		DSM		KM									
	2	1		DSM			OTC								
		1					OTC				LCM				
	1	14					OTC								
	感受性株	33													
合計	87														

表32 腸球菌の薬剤耐性パターン (市販鶏肉, *E. faecium*)

式3-4 耐性薬剤の実効性のあるパターン (18例中9例, *E. faecium*)

種	耐性薬剤数	菌株数	薬剤耐性パターン												
			Penicillin	Aminoglycoside			Tetracycline	Phenicol	Lipopeptide	Macrolide	Lincomycin	Fluoroquinolone	Macrolide	Polyether	Streptogramin
			ABPC	DSM	GM	KM	OTC	CP	BC	EM	LCM	ERFX	TS	SNM	VGM
<i>E. faecium</i>	8	2	ABPC	DSM		KM	OTC			EM	LCM	ERFX	TS		
		1		DSM		KM	OTC	CP		EM	LCM	ERFX	TS		
	7	6		DSM		KM	OTC			EM	LCM	ERFX	TS		
		1	ABPC	DSM		KM	OTC	CP				ERFX			
		1		DSM		KM				EM	LCM	ERFX	TS		
		1		DSM			OTC			EM	LCM	ERFX	TS		
	6	1			GM	KM	OTC			EM		ERFX	TS		
		1				KM	OTC	CP		EM		ERFX	TS		
		1				KM	OTC			EM	LCM	ERFX	TS		
		1					OTC	CP		EM	LCM	ERFX	TS		
		3				KM				EM	LCM	ERFX	TS		
		2		DSM		KM	OTC				LCM	ERFX			
	5	1		DSM		KM	OTC	CP				ERFX			
		1		DSM		KM	OTC			EM			TS		
		1				KM	OTC			EM	LCM		TS		
		1				KM	OTC			EM		ERFX	TS		
		2				KM	OTC				LCM	ERFX			
	4	1	ABPC	DSM		KM	OTC								
		1		DSM		KM				EM			TS		
		1		DSM			OTC				LCM	ERFX			
	3	1		DSM		KM				EM					
		1					OTC			EM		ERFX			
		1								EM	LCM		TS		
		9				KM				EM					
		7				KM	OTC								
	2	3				KM						ERFX			
		2								EM		ERFX			
		1					OTC					ERFX			
		7										ERFX			
	1	6				KM									
		2								EM					
		1					OTC								
		1									LCM				
	感受性株	5													
	合計	77													

表33 腸球菌の薬剤耐性パターン (市販鶏肉, *E. faecalis* + *E. faecium*)

種	耐性薬剤数	菌株数	薬剤耐性パターン											
			Penicillin	Aminoglycoside		Tetracycline	Phenicol	Lipopeptide	Macrolide	Lincomycin	Fluoroquinolone	Macrolide	Polyether	Streptogramin
			ABPC	DSM	GM	KM	OTC	CP	BC	EM	LCM	ERFX	TS	
<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	8	2	ABPC	DSM		KM	OTC			EM	LCM	ERFX	TS	
		1		DSM	GM	KM	OTC	CP		EM	LCM	ERFX	TS	
		1		DSM		KM	OTC	CP		EM	LCM	ERFX	TS	
	7	6		DSM		KM	OTC			EM	LCM	ERFX	TS	
		5		DSM		KM	OTC	CP		EM	LCM	ERFX	TS	
		1		DSM	GM	KM	OTC			EM	LCM		TS	
	6	7		DSM		KM	OTC			EM	LCM	ERFX	TS	
		3		DSM			OTC	CP		EM	LCM		TS	
		1	ABPC	DSM		KM	OTC	CP				ERFX		
		1		DSM		KM				EM	LCM	ERFX	TS	
		1		DSM			OTC			EM	LCM	ERFX	TS	
		1			GM	KM	OTC			EM		ERFX	TS	
		1				KM	OTC	CP		EM		ERFX	TS	
	5	1				KM	OTC			EM	LCM	ERFX	TS	
		4					OTC	CP		EM	LCM	ERFX	TS	
		3				KM				EM	LCM	ERFX	TS	
		2		DSM		KM				EM	LCM		TS	
		2		DSM			OTC			EM	LCM		TS	
		2		DSM		KM	OTC				LCM	ERFX		
		2				KM	OTC			EM	LCM		TS	
<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	4	1		DSM		KM	OTC	CP				ERFX		
		1		DSM		KM	OTC			EM		ERFX	TS	
		2				KM				EM	LCM		TS	
		2					OTC			EM	LCM		TS	
		1	ABPC	DSM		KM	OTC				LCM	ERFX		
		1		DSM		KM	OTC			EM			TS	
		3		DSM		KM	OTC				LCM	ERFX		
	3	3					OTC			EM	LCM		TS	
		1			GM	KM	OTC							
		1		DSM		KM				EM				
	2	1					OTC			EM		ERFX		
		9				KM				EM				
		7				KM	OTC							
		3				KM						ERFX		
		2		DSM		KM								
		2								EM		ERFX		
		1		DSM			OTC							
<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	1	1					OTC				LCM			
		15					OTC					ERFX		
		7										ERFX		
		6				KM								
		2								EM				
		1									LCM			
		1												
	感受性株	38												
		合計	164											

2)食鳥処理場鶏肉由来株の MIC と耐性出現頻度

①サルモネラ属菌

S. Infantis

食鳥処理場鶏肉から分離されたサルモネラ属菌の Range、MIC₅₀、MIC₉₀、耐性菌株数および耐性率を表 34、MIC 分布を表 35、薬剤耐性パターンを表 36 に示した。

薬剤耐性株は供試した 12 薬剤のうち 8 薬剤に認められ、耐性率は 5.6%(CTX、NA、ST)～66.7%(TC)であった。ABPC では≤1 µg/ml および>128 µg/ml、CEZ では≤1 µg/ml および>128 µg/ml、KM では≤1 µg/ml および>128 µg/ml、TC では≤0.5 µg/ml および 32 µg/ml を MIC のピークとする二峰性が認められた。また薬剤耐性パターンについては、2～5 薬剤耐性の 9 パターンに分類され、5 薬剤耐性が 2 株、4 薬剤耐性が 2 株、3 薬剤耐性が 3 株、2 薬剤耐性が 6 株、感受性株が 5 株であった。耐性株の内訳については、SM-TC の 2 薬剤耐性および SM-KM-TC の 3 薬剤耐性が各 3 株(16.7%)で最も多かった。

表34 S. Infantisの薬剤感受性試験 (食鳥処理場鶏肉)

薬剤名	菌株数	Range (µg/ml)	MIC ₅₀ (µg/ml)	MIC ₉₀ (µg/ml)	耐性菌株数	耐性率 (%)	ブレイクポイント (µg/ml)
ABPC	18	≤1->128	≤1	>128	5	27.8	32
CEZ	18	≤1->128	≤1	>128	2	11.1	32
CTX	18	≤0.5-4	≤0.5	2	1	5.6	4
SM	18	4-64	16	32	9	50.0	32
GM	18	≤0.5	≤0.5	≤0.5	0	0.0	16
KM	18	≤1->128	≤1	>128	8	44.4	64
TC	18	≤0.5-32	32	32	12	66.7	16
CP	18	≤1-2	≤1	≤1	0	0.0	32
CL	18	≤0.12-1	0.5	0.5	0	0.0	16
NA	18	≤1->128	2	2	1	5.6	32
CPFEX	18	≤0.03-0.12	≤0.03	≤0.03	0	0.0	4
ST	18	≤2.38/0.12->152/8	≤2.38/0.12	4.75/0.25	1	5.6	76/4

表35 S. InfantisのMIC分布 (食鳥処理場鶏肉)

薬剤名	菌株数	No. of strains with MIC (µg/ml)													
		≤0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
ABPC	-	-	-	-	-	-	13(≤1)					2			3
CEZ	-	-	-	-	-	-	13(≤1)	1	2						2
CTX	-	-	-	-	-	16(≤0.5)	1		1						-
SM	-	-	-	-	-				4	1	4	8	1	-	-
GM	-	-	-	-	-	18(≤0.5)									-
KM	-	-	-	-	-	-	10(≤1)								8
TC	-	-	-	-	-	6(≤0.5)						12		-	-
CP	-	-	-	-	-	-	17(≤1)	1							-
CL	-	-	-	2(≤0.12)	5	10	1								-
NA	-	-	-	-	-	-	5(≤1)	12							1
CPFEX	17			1											-

薬剤名	菌株数	No. of strains with MIC (µg/ml)						
		≤2.38/0.12	4.75/0.25	9.5/0.5	19/1	38/2	76/4	>152/8
ST		16	1					1

表36 *S. Infantis*の薬剤耐性パターン (食鳥処理場鶏肉)

薬剤耐性パターン														
種	耐性薬剤数	菌株数	Penicillin	Cepham		Aminoglycoside			Tetracycline	Phenicol	Lipopeptide	Quinolone	Fluoroquinolone	Protein synthesis inhibitor
			ABPC	CEZ	CTX	SM	GM	KM	TC	CP	CL	NA	CPFX	ST
S. Infantis	5	1	ABPC	CEZ	CTX	SM			TC					
		1	ABPC			SM		KM	TC					ST
	4	1	ABPC	CEZ				KM	TC					
		1	ABPC			SM		KM	TC					
	3	3				SM		KM	TC					
		3				SM			TC					
	2	1	ABPC					KM						
		1						KM	TC					
		1							TC			NA		
		感受性株	5											
	合計	18												

S. Schwarzengrund

食鳥処理場鶏肉から分離された *S. Schwarzengrund* の Range、MIC₅₀、MIC₉₀、耐性菌株数および耐性率を表 37、MIC 分布を表 38、薬剤耐性パターンを表 39 に示した。薬剤耐性株は供試した 12 薬剤のうち 4 薬剤に認められ、耐性率は 6.1%(NA)～79.6%(KM)であった。SM では 4 µg/ml および 32 µg/ml、KM では ≤1 µg/ml および >128 µg/ml、TC では ≤0.5 µg/ml および 32 µg/ml、NA では 2 µg/ml および >128 µg/ml、ST では ≤2.38/0.12 µg/ml および >152/8 µg/ml を MIC のピークとする二峰性が認められた。また薬剤耐性パターンについては、1～5 薬剤耐性の 10 パターンに分類され、5 薬剤耐性が 2 株、4 薬剤耐性が 17 株、3 薬剤耐性が 7 株、2 薬剤耐性が 11 株、1 薬剤耐性が 11 株、感受性株が 1 株であった。耐性株の内訳については、SM-KM-TC-ST の 4 薬剤耐性が 16 株(32.7%)で最も多く、次いで KM の 1 薬剤耐性が 10 株(20.4%)、SM-TC の 2 薬剤耐性が 8 株(16.3%)であった。

表37 *S. Schwarzengrund*の薬剤感受性試験 (食鳥処理場鶏肉)

薬剤名	菌株数	Range (µg/ml)	MIC ₅₀ (µg/ml)	MIC ₉₀ (µg/ml)	耐性菌株数	耐性率 (%)	ブレイクポイント (µg/ml)
ABPC	49	≤1	≤1	≤1	0	0.0	32
CEZ	49	≤1-2	≤1	≤1	0	0.0	32
CTX	49	≤0.5	≤0.5	≤0.5	0	0.0	4
SM	49	4-64	32	32	33	67.3	32
GM	49	≤0.5	≤0.5	≤0.5	0	0.0	16
KM	49	≤1->128	>128	>128	39	79.6	64
TC	49	≤0.5-32	32	32	37	75.5	16
CP	49	≤1-2	2	2	0	0.0	32
CL	49	0.25-2	0.5	1	0	0.0	16
NA	49	≤1->128	2	2	3	6.1	32
CPFX	49	≤0.03-0.12	≤0.03	≤0.03	0	0.0	4
ST	49	≤2.38/0.12->152/8	≤2.38/0.12	>152/8	20	40.8	76/4

表38 *S. Schwarzengrund*のMIC分布 (食鳥処理場鶏肉)

薬剤名	菌株数	No. of strains with MIC (μg/ml)													
		≤0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
ABPC	49	-	-	-	-	-	49(≤1)								
CEZ	49	-	-	-	-	-	48(≤1)	1							
CTX	49	-	-	-	-	49(≤0.5)								-	-
SM	49	-	-	-	-	-			10	1	5	31	2	-	-
GM	49	-	-	-	-	49(≤0.5)								-	-
KM	49	-	-	-	-	-	8(≤1)	2							39
TC	49	-	-	-	-	11(≤0.5)		1			5	32		-	-
CP	49	-	-	-	-	-	13(≤1)	36							
CL	49	-	-	-	2	23	23	1				-	-	-	-
NA	49	-	-	-	-	-	4(≤1)	41	1						3
CPFX	49	46		3											

薬剤名	菌株数	No. of strains with MIC (μg/ml)						
		≤2.38/0.12	4.75/0.25	9.5/0.5	19/1	38/2	76/4	152/8
ST	49	29						20

表39 *S. Schwarzengrund*の薬剤耐性パターン (食鳥処理場鶏肉)

種	耐性薬剤数	菌株数	薬剤耐性パターン											
			Penicillin	Cephem			Aminoglycoside			Tetracycline	Phenicol	Lipopeptide	Quinolone	Fluoroquinolone
			ABPC	CEZ	CTX	SM	GM	KM	TC	CP	CL	NA	CPFX	Folate pathway inhibitor
<i>S. Schwarzengrund</i>	5	2				SM		KM	TC				NA	
	4	16				SM		KM	TC					ST
		1				SM		KM	TC				NA	
	3	5				SM		KM	TC					
		2						KM	TC					ST
		8				SM			TC					
	2	2						KM	TC					
		1				SM		KM						
	1	10						KM						
		1							TC					
	感受性株	1												
	合計	49												

②大腸菌

食鳥処理場鶏肉から分離された大腸菌の Range、MIC₅₀、MIC₉₀、耐性菌株数および耐性率を表 40、MIC 分布を表 41、薬剤耐性パターンを表 42 に示した。

薬剤耐性菌は供試した 12 薬剤中 10 薬剤に認められ、耐性率は 3.3%(CEZ)～73.3%(TC)であった。ABPC では ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$ および >128 $\mu\text{g/ml}$ 、SM では 4 $\mu\text{g/ml}$ および >64 $\mu\text{g/ml}$ 、GM では ≤ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ および 32 $\mu\text{g/ml}$ 、KM では 2 $\mu\text{g/ml}$ および >128 $\mu\text{g/ml}$ 、TC では ≤ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ および 32 $\mu\text{g/ml}$ 、CP では 2 $\mu\text{g/ml}$ および 32 $\mu\text{g/ml}$ 、NA では 2 $\mu\text{g/ml}$ および >128 $\mu\text{g/ml}$ 、ST 合剤では $\leq 2.38/0.12$ $\mu\text{g/ml}$ および $>152/8$ $\mu\text{g/ml}$ を MIC のピークとする二峰性が認められた。また薬剤耐性パターンについては、1 から 8 薬剤耐性の 34 パターンに分類され、8 薬剤耐性が 1 株、7 薬剤耐性が 3 株、6 薬剤耐性が 3 株、5 薬剤耐性が 8 株、4 薬剤耐性が 11 株、3 薬剤耐性が 11 株、2 薬剤耐性が 9 株、1 薬剤耐性が 7 株、感受性株が 7 株であった。耐性株の内訳については、TC の 1 薬剤耐性および ABPC-TC-CP の 3 薬剤耐性が各 4 株(6.7%)で最も多く、次いで KM-TC の 2 薬剤耐性、ABPC-SM-TC の 3 薬剤耐性、ABPC-KM-TC-ST の 4 薬剤耐性および ABPC-SM-TC-NA-ST の 5 薬剤耐性が各 3 株(5.0%)であった。

表40 大腸菌の薬剤感受性試験 (食鳥処理場鶏肉)

薬剤名	菌株数	Range ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/ml}$)	耐性菌株数	耐性率 (%)	ブレイクポイント ($\mu\text{g/ml}$)
ABPC	60	≤ 1 - >128	>128	>128	35	58.3	32
CEZ	60	≤ 1 - >128	≤ 1	8	2	3.3	32
CTX	60	≤ 0.5 -2	≤ 0.5	≤ 0.5	0	0.0	4
SM	60	2- >64	16	>64	25	41.7	32
GM	60	≤ 0.5 -32	≤ 0.5	1	4	6.7	16
KM	60	≤ 1 - >128	2	>128	22	36.7	64
TC	60	≤ 0.5 - >64	32	64	44	73.3	16
CP	60	≤ 1 -128	2	32	9	15.0	32
CL	60	0.25-2	0.5	1	0	0.0	16
NA	60	≤ 1 - >128	2	>128	25	41.7	32
CPFX	60	≤ 0.03 - >4	≤ 0.03	2	4	6.7	4
ST	60	$\leq 2.38/0.12$ - $>152/8$	$\leq 2.38/0.12$	$>152/8$	20	33.3	76/4

表41 大腸菌のMIC分布 (食鳥処理場鶏肉)

薬剤名	菌株数	No. of strains with MIC (μg/ml)													
		≤0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
ABPC	60	-	-	-	-	-	16(≤1)	8	1					3	32
CEZ	60	-	-	-	-	-	37(≤1)	10	2	5	4		1	1	
CTX	60	-	-	-	-	57(≤0.5)		3						-	
SM	60	-	-	-	-			3	18	7	7	3	5	-	17(>64)
GM	60	-	-	-	-	53(≤0.5)	3				1	3		-	-
KM	60	-	-	-	-	-	16(≤1)	18	4				2		20
TC	60	-	-	-	-	13(≤0.5)	2	1			1	21	20	-	2(>64)
CP	60	-	-	-	-	-	2(≤1)	38	6		5	6	2	1	
CL	60	-	-		13	23	22	2				-	-	-	-
NA	60	-	-	-	-	-	15(≤1)	16	2	2			5	8	12
CPFX	60	33	1	10	8	1		3	3	-	-	-	-	-	1(>4)

薬剤名	菌株数	No. of strains with MIC (μg/ml)							
		≤2.38/0.12	4.75/0.25	9.5/0.5	19/1	38/2	76/4	152/8	>152/8
ST	60	40							20

表42 大腸菌の薬剤耐性パターン (食鳥処理場鶏肉)

種	耐性薬剤数	菌株数	薬剤耐性パターン											
			Penicillin	Cepham		Aminoglycoside		Tetracycline	Phenicol	Lipopeptide	Quinolone	Fluoroquinolone	Folate pathway inhibitor	
E. coli	8	1	ABPC	CEZ	CTX	SM	GM	KM	TC	CP	CL	NA	CPFX	ST
		1	ABPC				GM	KM	TC	CP		NA	CPFX	ST
	7	1	ABPC			SM		KM	TC	CP		NA		ST
		1	ABPC	CEZ		SM		KM	TC			NA	CPFX	ST
	6	2	ABPC			SM		KM	TC			NA		ST
		1	ABPC			SM	GM		TC			NA		ST
	5	3	ABPC			SM			TC			NA		ST
		1	ABPC			SM		KM	TC					ST
	5	1	ABPC					KM	TC			NA	CPFX	ST
		1	ABPC					KM	TC			NA		ST
	5	1	ABPC						TC	CP		NA		ST
		1				SM	GM		TC			NA		ST
	4	3	ABPC					KM	TC					ST
		2	ABPC				SM		TC					ST
	4	2				SM		KM	TC			NA		
		1	ABPC			SM	GM					NA		
	4	1	ABPC				SM		KM	TC				
		1						KM	TC			NA	CPFX	
	4	1							TC	CP		NA		ST
		4	ABPC						TC	CP				
	3	3	ABPC			SM			TC					
		1	ABPC			SM		KM						
	3	1	ABPC	CEZ								NA		
		1	ABPC			SM						NA		
	3	1				SM			TC					ST
		3						KM	TC					
	2	2	ABPC						TC					
		1	ABPC					KM						
	2	1				SM			TC					
		1						KM				NA		
	1	1							TC			NA		
		4							TC					
	1	2										NA		
	1	ABPC												
	7	感受性株												
	合計	60												

③腸球菌

食鳥処理場鶏肉から分離された腸球菌の Range、MIC₅₀、MIC₉₀、耐性菌株数および耐性率を表 43、MIC 分布を表 44～46、薬剤耐性パターンを表 47～49 に示した。

E. faecalis

薬剤耐性株は供試した 13 薬剤のうち 8 薬剤に認められ、耐性率は 12.1%(GM)～66.7%(OTC)であった。DSM では 64 µg/ml および>512 µg/ml、GM では 16 µg/ml および>256 µg/ml、KM では 32-64 µg/ml および>512 µg/ml、OTC では 1 µg/ml および>64 µg/ml、CP では 8 µg/ml および 128 µg/ml、EM では 1 µg/ml および>128 µg/ml、LCM では 64 µg/ml および>256 µg/ml、TS では 4 µg/ml および>256 µg/ml を MIC のピークとする二峰性が認められた。また薬剤耐性パターンについては、1～8 薬剤耐性の 12 パターンに分類され、8 薬剤耐性が 1 株、7 薬剤耐性が 7 株、6 薬剤耐性が 2 株、5 薬剤耐性が 3 株、4 薬剤耐性が 1 株、3 薬剤耐性が 7 株、2 薬剤耐性が 2 株、1 薬剤耐性が 3 株、感受性株が 7 株であった。耐性株の内訳については、DSM-KM-OTC の 3 薬剤耐性が 5 株(15.2%)で最も多く、次いで DSM-KM-OTC-CP-EM-LCM-TS の 7 薬剤耐性が 4 株(12.1%)であった。

E. faecium

薬剤耐性株は供試した 13 薬剤のうち 10 薬剤に認められ、耐性率は 8.0%(ABPC、GM、CP)～84.0%(KM)であった。DSM では 64 µg/ml および>512 µg/ml、GM では 8 µg/ml および>256 µg/ml、OTC では 0.5 µg/ml および>64 µg/ml、LCM では 32 µg/ml および>256 µg/ml、TS では 4 µg/ml および>256 µg/ml を MIC のピークとする二峰性が認められた。また薬剤耐性パターンについては、1～8 薬剤耐性の 17 パターンに分類され、8 薬剤耐性が 1 株、7 薬剤耐性が 2 株、6 薬剤耐性が 3 株、5 薬剤耐性が 1 株、4 薬剤耐性が 5 株、3 薬剤耐性が 5 株、2 薬剤耐性が 5 株、1 薬剤耐性が 3 株であった。耐性株の内訳については、KM-OTC の 2 薬剤耐性、KM-OTC-LCM-ERFX の 4 薬剤耐性および KM-OTC-EM-LCM-ERFX-TS の 6 薬剤耐性が各 3 株(12.0%)で最も多かった。

E. faecalis + *E. faecium*

薬剤耐性株は供試した 13 薬剤のうち 10 薬剤に認められ、耐性率は 3.4%(ABPC)～70.7%(OTC)であった。DSM では 64 µg/ml および>512 µg/ml、GM では 8 µg/ml および>256 µg/ml、KM では 64 µg/ml および>512 µg/ml、OTC では 0.5-1 µg/ml および>64 µg/ml、CP では 8 µg/ml および 128 µg/ml、LCM では 32 µg/ml および>256 µg/ml、TS では 4 µg/ml および>256 µg/ml を MIC のピークとする二峰性が認められた。また薬

剤耐性パターンについては、1～8 薬剤耐性の 28 パターンに分類され、8 薬剤耐性が 2 株、7 薬剤耐性が 9 株、6 薬剤耐性が 5 株、5 薬剤耐性が 4 株、4 薬剤耐性が 6 株、3 薬剤耐性が 12 株、2 薬剤耐性が 7 株、1 薬剤耐性が 6 株、感受性株が 7 株であった。耐性株の内訳については、DSM-KM-OTC の 3 薬剤耐性が 6 株(10.3%)で最も多く、次いで DSM-KM-OTC-CP-EM-LCM-TS の 7 薬剤耐性が 4 株(6.9%)であった。

表43 腸球菌の薬剤感受性試験 (食鳥処理場鶏肉)

薬剤名	種	菌株数	Range (μg/ml)	MIC ₅₀ (μg/ml)	MIC ₉₀ (μg/ml)	耐性菌株数	耐性率 (%)	ブレイクポイント (μg/ml)
ABPC	<i>E. faecalis</i>	33	0.5-2	1	1	0	0.0	16
	<i>E. faecium</i>	25	≤0.12->128	2	8	2	8.0	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	58	≤0.12->128	1	4	2	3.4	
DSM	<i>E. faecalis</i>	33	32->512	>512	>512	20	60.6	128
	<i>E. faecium</i>	25	16->512	64	>512	6	24.0	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	58	16->512	64	>512	26	44.8	
GM	<i>E. faecalis</i>	33	8->256	16	>256	4	12.1	32
	<i>E. faecium</i>	25	4->256	8	16	2	8.0	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	58	4->256	8	16	6	10.3	
KM	<i>E. faecalis</i>	33	32->512	>512	>512	17	51.5	128
	<i>E. faecium</i>	25	32->512	256	>512	21	84.0	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	58	32->512	256	>512	38	65.5	
OTC	<i>E. faecalis</i>	33	0.5->64	16	>64	22	66.7	16
	<i>E. faecium</i>	25	0.5->64	>64	>64	19	76.0	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	58	0.5->64	32	>64	41	70.7	
CP	<i>E. faecalis</i>	33	4-128	8	128	5	15.2	32
	<i>E. faecium</i>	25	2-32	8	8	2	8.0	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	58	2-128	8	32	7	12.1	
BC	<i>E. faecalis</i>	33	64->512	128	>512	-	-	-
	<i>E. faecium</i>	25	4->512	256	>512	-	-	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	58	4->512	256	>512	-	-	
EM	<i>E. faecalis</i>	33	0.5->128	4	>128	16	48.5	8
	<i>E. faecium</i>	25	≤0.12->128	2	>128	9	36.0	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	58	≤0.12->128	4	>128	25	43.1	
LCM	<i>E. faecalis</i>	33	2->256	64	>256	16	48.5	128
	<i>E. faecium</i>	25	0.5->256	32	>256	11	44.0	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	58	0.5->256	64	>256	27	46.6	
ERFX	<i>E. faecalis</i>	33	0.5-2	1	1	0	0.0	4
	<i>E. faecium</i>	25	0.5-16	4	8	16	64.0	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	58	0.5-16	1	8	16	27.6	
TS	<i>E. faecalis</i>	33	2->256	4	>256	16	48.5	64
	<i>E. faecium</i>	25	1->256	4	>256	5	20.0	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	58	1->256	4	>256	21	36.2	
SNM	<i>E. faecalis</i>	33	0.5-8	2	8	-	-	-
	<i>E. faecium</i>	25	0.5-16	4	8	-	-	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	58	0.5-16	2	8	-	-	
VGM	<i>E. faecalis</i>	33	0.25-16	8	16	-	-	-
	<i>E. faecium</i>	25	0.25-2	2	2	-	-	
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	58	0.25-16	8	16	-	-	

表44 腸球菌のMIC分布 (食鳥処理場鶏肉, *E. faecalis*)

種	菌株数	薬剤名	No. of strains with MIC (μg/ml)													
			≦0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	>512
<i>E. faecalis</i>	33	ABPC			2	30	1									
		DSM									3	10	3			17
		GM							11	18						4(>256)
		KM									8	8				17
		OTC			3	8					7	2	5			8(>64)
		CP						3	22	3				5		
		BC										3	14	11		5
		EM			3	6	4	4		1	2	1	1			11(>128)
		LCM					1				7	9				16(>256)
		ERFX			10	22	1									
		TS					5	12								16(>256)
		SNM			2	7	11	3	10							
		VGM		1						24	8					

表45 腸球菌のMIC分布 (食鳥処理場鶏肉, *E. faecium*)

種	菌株数	薬剤名	No. of strains with MIC (μg/ml)													
			≦0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	>512
<i>E. faecium</i>	25	ABPC	3		2	5	6	5	2		1					1(>128)
		DSM								1	4	14		2		4
		GM						4	15	4						2(>256)
		KM									1	3	7	7	2	5
		OTC			5				1		3	1				15(>64)
		CP					1	8	14		2					
		BC						1	1	1			5	5	3	9
		EM	10			1	3	2	4				1			4(>128)
		LCM			1	3	1			4	5		3	2		6(>256)
		ERFX			1	5	3	8	6	2						
		TS				2	4	8	5	1						5(>256)
		SNM			1	3	7	7	6	1						
		VGM		1	4	6	14									

表46 腸球菌のMIC分布 (食鳥処理場鶏肉, *E. faecalis* + *E. faecium*)

種	菌株数	薬剤名	No. of strains with MIC (μg/ml)													
			≦0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	>512
<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	58	ABPC	3		4	35	7	5	2		1					1(>128)
		DSM								1	7	24	3		2	21
		GM						4	26	22						6(>256)
		KM									9	11	7	7	2	22
		OTC			8	8			1	7	5	6				23(>64)
		CP					1	11	36	3	2		5			
		BC						1	1	1		3	19	16	3	14
		EM	10		3	7	7	6	4	1	2	1	2			15(>128)
		LCM			1	3	2			4	12	9	3	2		22(>256)
		ERFX			11	27	4	8	6	2						
		TS				2	9	20	5	1						21(>256)
		SNM			3	10	18	10	16	1						
		VGM		2	4	6	14		24	8						

表47 腸球菌の薬剤耐性パターン (食鳥処理場鶏肉, *E. faecalis*)

種		耐性薬剤数	菌株数	薬剤耐性パターン												
				Penicillin	Aminoglycoside			Tetracycline	Phenicol	Lipopeptide	Macrolide	Lincomycin	Fluoroquinolone	Macrolide	Polyether	Streptogramin
E. faecalis		8	1	ABPC	DSM	GM	KM	OTC	CP	BC	EM	LCM	ERFX	TS	SNM	VGM
		7	4		DSM		KM	OTC	CP		EM	LCM		TS		
			3		DSM	GM	KM	OTC			EM	LCM		TS		
		6	2		DSM		KM	OTC			EM	LCM		TS		
		5	2		DSM			OTC			EM	LCM		TS		
			1		DSM		KM				EM	LCM		TS		
		4	1					OTC			EM	LCM		TS		
		3	5		DSM		KM	OTC								
			2								EM	LCM		TS		
		2	1		DSM			OTC								
			1		DSM		KM									
		1	3					OTC								
		感受性株	7													
	合計	33														

表48 腸球菌の薬剤耐性パターン (食鳥処理場鶏肉, *E. faecium*)

薬剤耐性パターン																
種	耐性薬剤数	菌株数	Penicillin	Aminoglycoside			Tetracycline	Phenicol	Lipopeptide	Macrolide	Lincomycin	Fluoroquinolone	Macrolide	Polyether	Streptogramin	
			ABPC	DSM	GM	KM	OTC	CP	BC	EM	LCM	ERFX	TS	SNM	VGM	
E. faecium	8	1	ABPC	DSM	GM	KM	OTC	CP		EM	LCM	ERFX	TS			
		1		DSM		KM	OTC			EM	LCM	ERFX	TS			
	7	1	ABPC	DSM	GM	KM	OTC	CP				ERFX				
		3				KM	OTC			EM	LCM	ERFX	TS			
	5	1				KM	OTC			EM	LCM		TS			
		3				KM	OTC				LCM	ERFX				
	4	1				KM	OTC	CP				ERFX				
		1					OTC					ERFX				
		2				KM	OTC					ERFX				
		1				KM	OTC			EM						
	3	1		DSM		KM					LCM					
		1		DSM		KM	OTC									
		3				KM	OTC									
	2	1				KM						ERFX				
		1				KM				EM						
	1	2										ERFX				
		1								EM						
		感受性株	0													
		合計	25													

表49 腸球菌の薬剤耐性パターン (食鳥処理場鶏肉, *E. faecalis* + *E. faecium*)

種	耐性薬剤数	菌株数	薬剤耐性パターン													
			Penicillin	Aminoglycoside			Tetracycline	Phenicol	Lipopeptide	Macrolide	Lincomycin	Fluoroquinolone	Macrolide	Polyether	Streptogramin	
<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	8	1	ABPC	DSM	GM	KM	OTC		CP	BC	EM	LCM	ERFX	TS	SNM	VGM
		1		DSM	GM	KM	OTC		CP		EM	LCM		TS		
	7	4		DSM		KM	OTC		CP		EM	LCM		TS		
		3		DSM	GM	KM	OTC				EM	LCM		TS		
		1	ABPC	DSM	GM	KM	OTC		CP				ERFX			
	6	1		DSM		KM	OTC				EM	LCM	ERFX	TS		
		3				KM	OTC				EM	LCM	ERFX	TS		
		2		DSM		KM	OTC				EM	LCM		TS		
	5	2		DSM			OTC				EM	LCM		TS		
		1		DSM		KM					EM	LCM		TS		
		1				KM	OTC				EM	LCM		TS		
	4	3				KM	OTC					LCM	ERFX			
		1		DSM			OTC					LCM	ERFX			
		1				KM	OTC		CP				ERFX			
	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	3	1				OTC				EM	LCM		TS		
			6		DSM		KM	OTC								
			2				KM	OTC					ERFX			
	3	2									EM	LCM		TS		
		1		DSM		KM						LCM				
		1				KM	OTC				EM					
2	3				KM	OTC										
	1		DSM		KM											
	1		DSM			OTC										
1	1				KM					EM						
	1				KM							ERFX				
	3					OTC										
1	2											ERFX				
	1									EM						
	1															
感受性株		7									EM					
合計		58														

3)ヒト由来株の MIC と耐性出現頻度

①サルモネラ属菌

S. Infantis

腸管系病原菌の保菌者検索で分離された *S. Infantis* の Range、MIC₅₀、MIC₉₀、耐性菌株数および耐性率を表 50、MIC 分布を表 51、薬剤耐性パターンを表 52 に示した。薬剤耐性株は供試した 12 薬剤のうち 8 薬剤に認められ、耐性率は 4.5%(ABPC、CEZ、CTX、NA)～59.1%(TC)であった。ABPC では≤1 μg/ml および 64 μg/ml、CEZ では≤1 μg/ml および>128 μg/ml、CTX では≤0.5 μg/ml および 4 μg/ml、SM では 8 μg/ml および 32 μg/ml、KM では≤1 μg/ml および>128 μg/ml、TC では≤0.5 μg/ml および 32 μg/ml、ST 合剤では≤2.38/0.12 μg/ml および>152/8 μg/ml を MIC のピークとする二峰性が認められた。また薬剤耐性パターンについては、1～4 および 6 薬剤耐性の 7 パターンに分類され、6 薬剤耐性が 1 株、4 薬剤耐性が 2 株、3 薬剤耐性が 4 株、2 薬剤耐性が 5 株、1 薬剤耐性が 1 株、感受性株が 9 株であった。耐性株の内訳については、SM-TC の 2 薬剤耐性が 4 株(18.2%)で最も多く、次いで SM-KM-TC の 3 薬剤耐性が 3 株(13.6%)、SM-KM-TC-ST の 4 薬剤耐性が 2 株(9.1%)であった。

表50 *S. Infantis*の薬剤感受性試験 (ヒト由来)

薬剤名	菌株数	Range (μg/ml)	MIC ₅₀ (μg/ml)	MIC ₉₀ (μg/ml)	耐性菌株数	耐性率 (%)	ブレイクポイント (μg/ml)
ABPC	22	≤1-64	≤1	≤1	1	4.5	32
CEZ	22	≤1->128	≤1	≤1	1	4.5	32
CTX	22	≤0.5-4	≤0.5	≤0.5	1	4.5	4
SM	22	4-64	16	32	11	50.0	32
GM	22	≤0.5	≤0.5	≤0.5	0	0.0	16
KM	22	≤1->128	≤1	>128	6	27.3	64
TC	22	≤0.5-32	16	32	13	59.1	16
CP	22	≤1-2	≤1	2	0	0.0	32
CL	22	≤0.12-1	0.5	1	0	0.0	16
NA	22	≤1->128	2	4	1	4.5	32
CPFEX	22	≤0.03-0.12	≤0.03	≤0.03	0	0.0	4
ST	22	≤2.38/0.12->152/8	≤2.38/0.12	>152/8	3	13.6	76/4

表51 *S. Infantis*のMIC分布 (ヒト由来)

薬剤名	菌株数	No. of strains with MIC (μg/ml)													
		≤0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
ABPC	22	-	-	-	-	-	21(≤1)					1			
CEZ	22	-	-	-	-	-	21(≤1)								1
CTX	22	-	-	-	-	21(≤0.5)			1					-	-
SM	22	-	-	-	-			3	7		1	10	1	-	-
GM	22	-	-	-	-	22(≤0.5)								-	-
KM	22	-	-	-	-	-	13(≤1)	3						-	6
TC	22	-	-	-	-	9(≤0.5)					2	11		-	-
CP	22	-	-	-	-	-	15(≤1)	7						-	-
CL	22	-	-	4(≤0.12)	5	7	6					-	-	-	-
NA	22	-	-	-	-	-	2(≤1)	16	3					-	1
CPFX	22	21		1										-	-

薬剤名	菌株数	No. of strains with MIC (μg/ml)						
		≤2.38/0.12	4.75/0.25	9.5/0.5	19/1	38/2	76/4	152/8
ST	22	19						3

表52 *S. Infantis*の薬剤耐性パターン (ヒト由来)

種	耐性薬剤数	菌株数	薬剤耐性パターン											
			Penicillin		Cepham		Aminoglycoside			Tetracycline	Phenicol	Lipopeptide	Quinolone	Fluoroquinolone
			ABPC	CEZ	CTX	SM	GM	KM	TC	CP	CL	NA	CPFX	ST
<i>S. Infantis</i>	6	1	ABPC	CEZ	CTX	SM			TC				NA	
	4	2				SM		KM	TC					ST
	3	3				SM		KM	TC					
	3	1				SM			TC					ST
	2	4				SM			TC					
	1	1						KM	TC					
	1	1							TC					
	感受性株	9												
	合計	22												

4)平成 26 年度調査事業由来株との比較

平成 26 年度食品安全確保総合調査事業³において分離されたサルモネラ属菌の薬剤耐性パターンについて見てみると、菌株数は少ないものの *S. Infantis* では SM-TC の 2 薬剤耐性や SM-KM-TC の 3 薬剤耐性、*S. Schwarzengrund* では KM の 1 薬剤耐性や SM-KM-TC-ST の 4 薬剤耐性が多く分離されており、今回の鶏肉由来株の結果もほぼ同様の傾向が認められた。次に、牛ひき肉から分離された *E. faecalis* の薬剤耐性パターンを見ると、OTC の 1 薬剤耐性や DSM-KM-OTC-EM-LCM-TS の 6 薬剤耐性が、*E. faecium* では KM-EM の 2 薬剤耐性や KM の 1 薬剤耐性が多く分離されており、今回の調査結果も同様の傾向であった。一方、豚ひき肉から分離された *E. faecalis* の薬剤耐性パターンは KM の 1 薬剤耐性、*E. faecium* では OTC および DSM の 1 薬剤耐性が多く分離され今回の調査結果とは異なっており、検体種により差があると考えられた。

³内閣府食品安全委員会：平成 26 年度食品安全確保総合調査「畜水産食品における薬剤耐性菌の出現実態調査」報告書，2015

V. 薬剤耐性菌の性状解析

1.対象菌株の選定

今回の調査において薬剤耐性菌をスクリーニングする目的で使用した酵素基質培地(クロモアガーオリエンタシオン/ESBL 分画培地、クロモアガーVRE スクリーン培地)から分離された菌株および薬剤感受性試験の結果から ESBL 産生が疑われる菌株を対象とした。

2.試験方法

1)ESBL の確認

クロモアガーオリエンタシオン/ESBL 分画培地から分離された大腸菌については ESBL 産生が疑われるため、MASTDISCSTMID AmpC and Extended Spectrum Beta-Lactamase(ESBL) Detection Discs(Mast 社製)を用いて ESBL の確認試験を行った。

2)ESBL の遺伝子型別

分離された ESBL 産生大腸菌については PCR 法^{4,5}により *bla*_{CTX-M-1}、*bla*_{CTX-M-2}、*bla*_{CTX-M-9}、*bla*_{TEM}、*bla*_{SHV} の検出を行った。

3)PFGE 解析

サルモネラ属菌(*S. Infantis* および *S. Schwarzengrund*)、ESBL 産生大腸菌について、以下に示した条件でパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)による核型解析を行った。供試菌株のプラグを作成し、制限酵素 *Xba* I で 30℃、5 時間の処理を行った後、CHEF DRIIIを用いて電気泳動を行った。なおゲルは 1%PrimeGelTM Agarose GOLD 3-40K、泳動バッファーは×0.5TBE を用いた。また泳動条件は温度 14℃、電圧 6V/cm、角度 120°、パルスタイム 2.2-54.2 秒を 18 および 20 時間で行った。泳動終了後、Ethidium bromide により染色を行い、GelDox XR を用いて画像データとした。さらに、得られた画像データをもとに BioNumerics を用いて平均距離法(UPGMA 法)により系統樹を作成した。

4)試験に使用した機器・培地

ESBL の確認に使用した試薬を表 53、ESBL の遺伝子型別に使用した機器および試薬を表 54、ESBL 遺伝子検出用プライマーを表 55、PFGE 解析に使用した機器および試薬を表 56 に示した。

⁴ Hiki, M., et al.: *Foodborne Pathog Dis.*,**10**, 243-249, 2013

⁵ Kojima, A., et al.: *Antimicrob Agents Chemother.*,**49**, 3533-3537, 2005

表53 ESB�の確認に使用した試薬

名称	メーカー名	ロットNo.
MASTDISCSTMID AmpC and Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) Detection Discs	MAST	349722
ミューラーヒントン寒天培地	Oxoid	1333385

表54 ESB�の遺伝子型別に使用した機器および試薬一覧

名称	メーカー名	機種番号
サーマルサイクラー	Applied Biosystem	Veriti 96 well Thermal Cycler
DNeasy® Blood & Tissue kit	QIAGEN	-
10× Ex Taq Buffer	TaKaRa	-
2.5mM dNTP Mixture		-
TaKaRa Ex Taq HS		-
Primer	SIGMA	-
1× TBE(Tris-Borate-EDTA)	TaKaRa	-
Agarose LO3「TaKaRa」		-

表55 ESB�遺伝子検出用プライマー一覧

ターゲット	5'-3'	PCR産物サイズ
<i>bla</i> _{TEM}	ATGAGTATTCAACATTTTCG TTACCAATGCTTAATCAGTG	1080 bp
<i>bla</i> _{SHV}	ATGCGTTATATTCGCCTGTG TTAGCGTTGCCAGTGCTCGA	871 bp
<i>bla</i> _{CTX-M-1}	GACTATTCATGTTGTTGTTATTTTC TTACAAACCGTTGGTGACG	950, 1122, 876 bp
<i>bla</i> _{CTX-M-2}	ATGATGACTCAGAGCATTCG TCAGAAACCGTGGGTACGA	876 bp
<i>bla</i> _{CTX-M-9}	ATGGTGACAAAGAGAGTGCAACGG TCACAGCCCTTCGGCCGATGATTCT	1007 bp

表56 PFGE解析に使用した機器および試薬一覧

名称	メーカー名	機種番号
パルスフィールドゲル電気泳動装置	Bio-Rad	CHEF DR III
画像解析装置	Bio-Rad	GelDoc XR
<i>Xba</i> I	TaKaRa	-
PrimeGel™ Agarose GOLD 3-40K	TaKaRa	-

3. 結果および考察

1) ESB� 産生大腸菌の検出状況

クロモアガー-ESBL 培地から分離された大腸菌 167 株が ESB� 産生株と推定された。

2) ESB� 遺伝子型別

前項 1)において、167 株が ESB� 産生と推定されたが、確認試験としてクロモアガー-ESBL 培地から分離された大腸菌 167 株全てについて遺伝子型を調べ、表 57 に示した。ESBL 産生大腸菌の遺伝子型を見ると、*bla*_{SHV} を保有する株が 43 株で最も多く、次いで *bla*_{CTX-M-2} が 25 株、*bla*_{CTX-M-1} が 21 株であった。

表57 ESB�産生大腸菌の遺伝子型株数

遺伝子型	株数
<i>bla</i> _{CTX-M-1}	21
<i>bla</i> _{CTX-M-1} + <i>bla</i> _{CTX-M-2} + <i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV}	1
<i>bla</i> _{CTX-M-1} + <i>bla</i> _{TEM}	11
<i>bla</i> _{CTX-M-2}	25
<i>bla</i> _{CTX-M-2} + <i>bla</i> _{TEM}	18
<i>bla</i> _{CTX-M-9}	16
<i>bla</i> _{CTX-M-9} + <i>bla</i> _{SHV}	1
<i>bla</i> _{CTX-M-9} + <i>bla</i> _{TEM}	8
<i>bla</i> _{SHV}	43
<i>bla</i> _{TEM}	5
<i>bla</i> _{SHV} + <i>bla</i> _{TEM}	15

3)PFGE 解析

S. Infantis

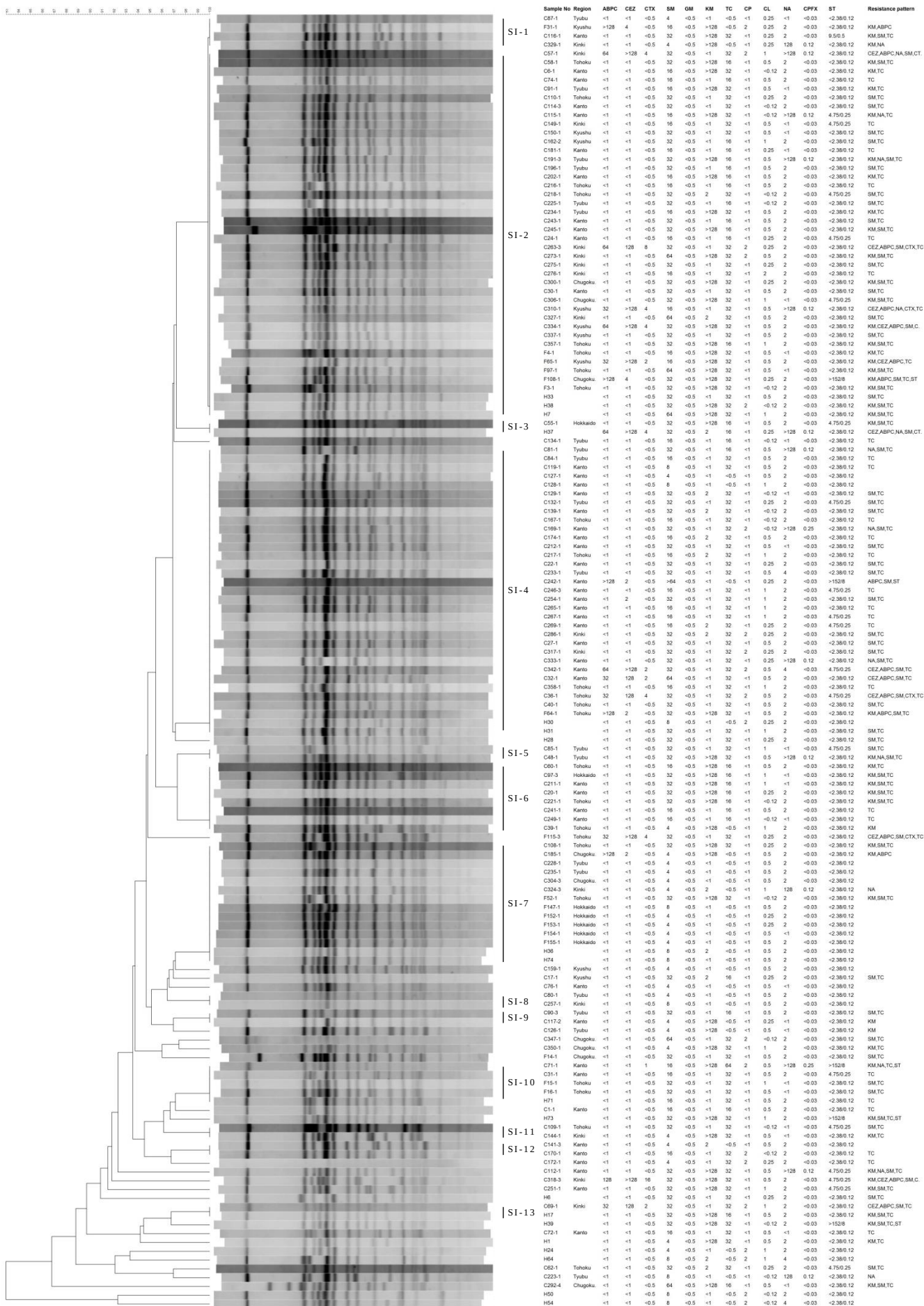
市販鶏肉および食鳥処理場鶏肉から分離されたサルモネラ属菌のうち、*S. Infantis* の PFGE による電気泳動図および平均距離法(UPGMA 法)により作成した系統樹を、薬剤感受性試験の結果と合わせて図 4 に示した。鶏肉から分離された *S. Infantis*(市販鶏肉由来 113 株、食鳥処理場鶏肉由来 18 株、ヒト由来 22 株)のうち制限酵素処理不完全のためスメア状となりバンドを確認できなかった株を除く 147 株について系統樹を作成したところ 40 パターンに分類された。この中で similarity 100%であった株は 13 パターン(SI-1 から SI-13)存在した。パターン SI-5 および SI-12 を示した株は、それぞれ同一の地域で採取された株であったが、これ以外のパターンを示した株は同一の PFGE パターン内でも採取地域が異なっていた。さらに SI-2、SI-7、SI-10 および SI-13 のように、鶏肉由来株とヒト由来株が同一 PFGE パターンを示す場合も存在し、薬剤感受性試験の結果が類似している株もあることから関連性が疑われた。

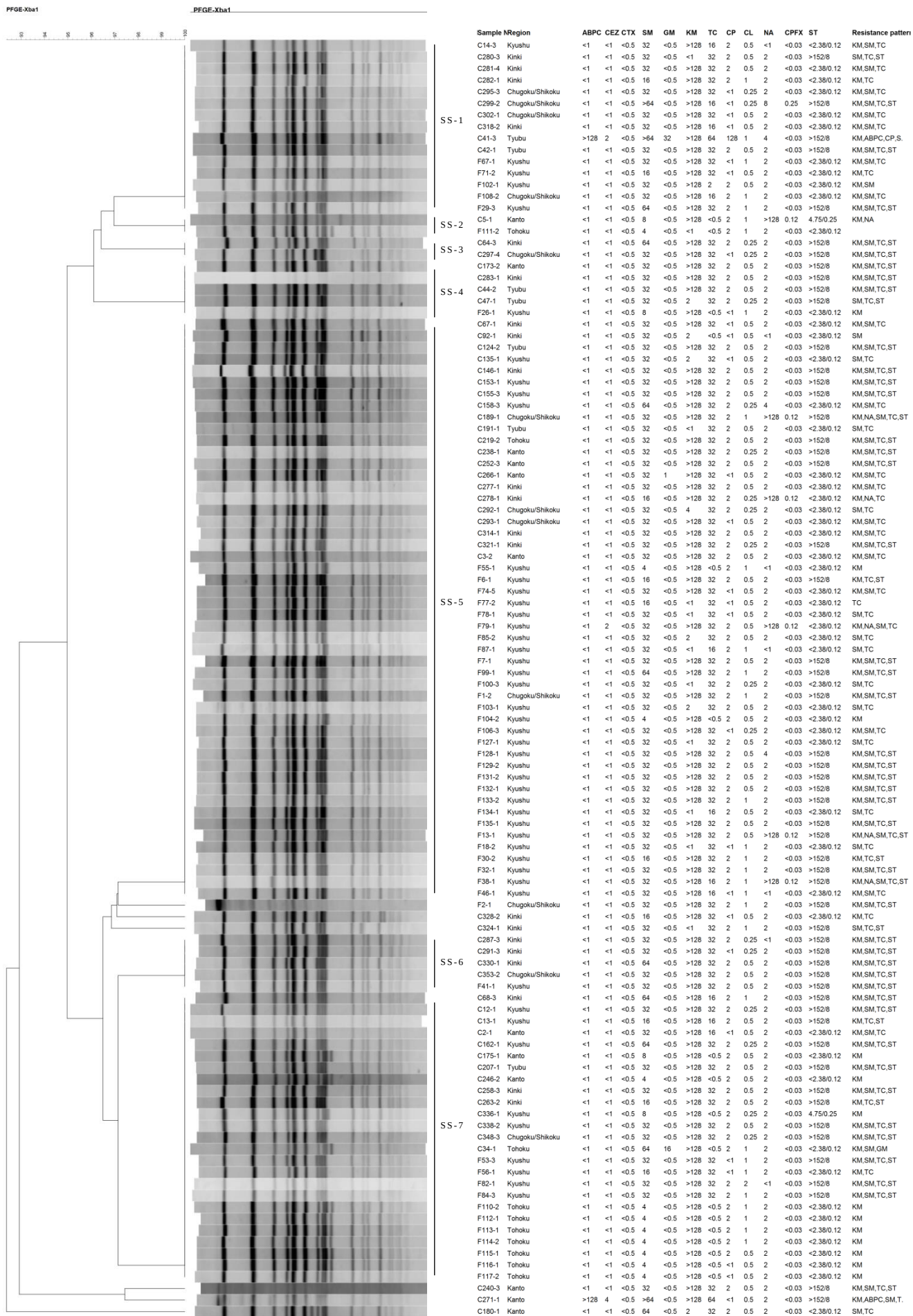
S. Schwarzengrund

市販鶏肉および食鳥処理場鶏肉から分離されたサルモネラ属菌のうち、*S. Schwarzengrund* の PFGE による電気泳動図および UPGMA 法により作成した系統樹を、薬剤感受性試験の結果と合わせて図 5 に示した。鶏肉から分離された *S. Schwarzengrund*(市販鶏肉由来 63 株、食鳥処理場鶏肉由来 49 株)のうち上記同様の理由によりバンドを確認できなかった株を除く 110 株について系統樹を作成したところ 13 パターンに分類された。この中で similarity 100%であった株は 7 パターン(SS-1 から SS-7)存在した。同一の PFGE パターンを示した中で薬剤感受性試験の結果を考慮してみると、類似している菌株もあることから *S. Infantis* と同様に関連性が疑われた。

ESBL 産生大腸菌

市販鶏肉および食鳥処理場鶏肉から分離された ESBL 産生大腸菌の PFGE による電気泳動図および UPGMA 法により作成した系統樹を、図 6 に示した。鶏肉から分離された ESBL 産生大腸菌のうち上記同様の理由によりバンドを確認できなかった株を除く 162 株について系統樹を作成したところ 151 パターンに分類された。この中で similarity 100%であった株は 12 パターン(EC-1 から EC-12)存在し、関連性が疑われた。





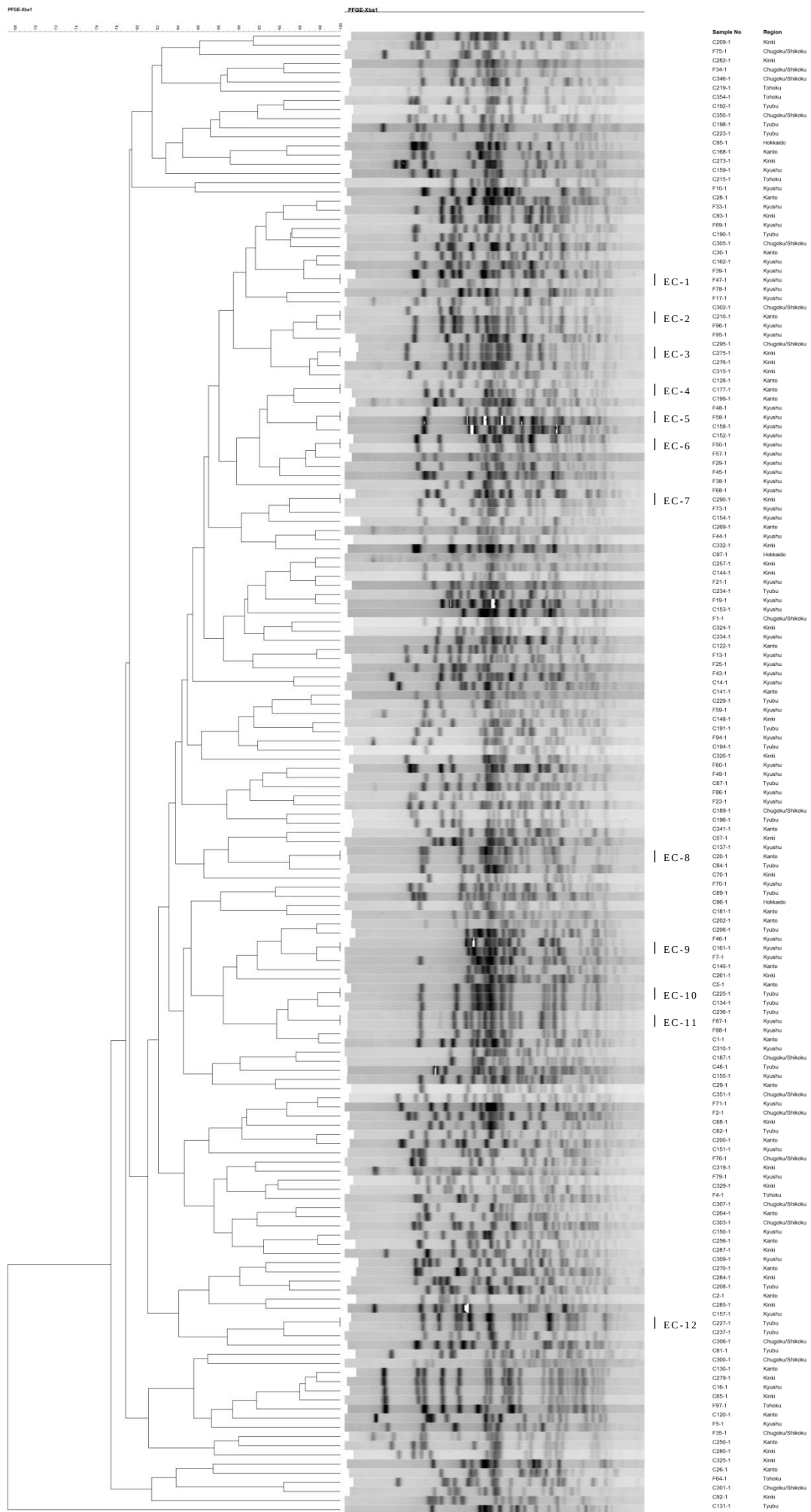


図 6 ESBL 産生大腸菌の PFGE による電気泳動図および系統樹

4.分離菌株の保存

本調査で分離され、薬剤感受性試験に供した菌株を-80℃で凍結保存した。
凍結保存した菌株数を表 58 に示した。

表58 凍結保存に供した分離菌株数

菌種		菌株数		
		市販鶏肉分離株	食鳥処理場鶏肉分離株	計
サルモネラ属菌	<i>S. Infantis</i>	113	18	131
	<i>S. Schwarzengrund</i>	63	49	112
大腸菌		106	60	166
腸球菌	<i>E. faecalis</i>	87	33	120
	<i>E. faecium</i>	77	25	102
合計		446	185	631

以 上