

調査資料

2 動物質性飼料原料等の腸球菌の薬剤耐性モニタリング調査（平成 30 年度）

浅尾 美由起*, 奥山 紀子*

Monitoring Results of Antimicrobial Resistance of Enterococci Isolated from Feed Ingredients
(in the Fiscal Year 2018)

Miyuki ASAO* and Noriko OKUYAMA*

(* Fertilizer and Feed Inspection Department, Food and Agricultural Materials Inspection Center)

We have made an antimicrobial susceptibility test on enterococci isolated from soybean meal and animal byproducts ingredients.

In order to isolate the enterococci from samples, their selective enrichment culture in AC broth, selective culture on Enterococcosel agar and two-time pure isolations on Brain Heart Infusion agar were conducted in due order. Then isolated gram-positive cocci were detected by the cultivation in Heart Infusion broth with 6.5 % NaCl. Having confirmed the biochemical characteristics of the catalase test, PYR test, mobility and pigment production, enterococci was identified with Rapid ID 32 STREP API. The minimum inhibitory concentration (MIC) was subsequently measured by using the broth micro-dilution method according to the guideline of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Isolation rate of enterococci from soybean meal, fish meal, poultry by-product meal, and pork and poultry meat and bone meal (MBM) were 45.5 %, 25.5 %, 16.0 % and 37.5 % respectively. The most common strain was *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) at 35.7 % (20 of 56 strains) followed by *E. faecium* at 32.1 % (18 of 56 strains). The antimicrobial resistance rates were 0.0 % to 15.0 % (*E. faecalis*), 0.0 % to 61.1 % (*E. faecium*) and 0.0 % to 22.2 % (other strains).

Key words: soybean meal; fish meal; poultry by-product meal; pork and poultry meat and bone meal (MBM); *Enterococcus faecalis*; *Enterococcus faecium*; antimicrobial susceptibility testing; broth microdilution method; minimum inhibitory concentration (MIC); antimicrobial resistance rates

キーワード：大豆油かす；魚粉；チキンミール；豚鶏混合肉骨粉；*Enterococcus faecalis*；*Enterococcus faecium*；薬剤感受性試験；微量液体希釈法；MIC（最小発育阻止濃度）；薬剤耐性率

1 緒 言

近年、新規の抗菌剤の開発が滞っている中で、薬剤耐性菌による感染症の増加が世界的に懸念されている。このため、WHO は 2015 年 5 月の総会で薬剤耐性に対する国際行動計画を採択し、これを受け、日本では関係省庁・関係機関等がワンヘルス・アプローチ（人と動物等の保健衛生の一体的な推進）の視野に立ち、協働して集中的に取り組む「薬剤耐性（AMR）対策に関するアクシ

* 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

「ヨンプラン 2016-2020」¹⁾を策定した。畜産分野の主な取組は「慎重使用の推進等の強化、薬剤耐性の動向調査・監視を強化、養殖水産動物用医薬品の使用に専門家が関与する仕組みを導入、アジア地域における国際協力の強化」がある²⁾。このうち、薬剤耐性菌の動向調査は平成 11 年度から健康動物由来食品媒介性病原細菌及び指標細菌の全国的な薬剤耐性調査を JVARM（動物由来薬剤耐性菌モニタリング）として実施し、独立行政法人農林水産消費安全技術センターは、腸球菌を担当している。

JVARM では農場（平成 11 年度から平成 27 年度）や、と畜場及び食鳥処理場（平成 24 年度から）で採材した直腸便又は盲腸便から分離される腸球菌を対象としている一方で、飼料から分離される腸球菌については、海外において鶏用飼料と原料からの分離率が、それぞれ 100 % と 66 % で、耐性率が、それぞれ 1.2~69.1 % と 0.1~59.8 % であったという報告³⁾はあるが、日本における、飼料から分離される腸球菌の分離率や耐性の動向に関する知見や研究事例が少ないことから、本調査を実施した。

2 実験方法

2.1 試料

平成 30 年 4 月から平成 31 年 1 月までの 10 ヶ月間の間に、大豆油かす、魚粉、チキンミール及び豚鶏混合肉骨粉を微生物試験用の試料の採取方法⁴⁾で採取した。採取場所は大豆油かす及び輸入魚粉については配合飼料工場、その他については各製造事業場であった。試料受け入れ後から試験開始までは、冷蔵で保存し、採材後 2 週間以内に試験に供した。

2.2 試薬

- 1) 水は RFD240RA（アドバンテック製）により蒸留した蒸留水（JIS K 0211 の 5213 に定義された蒸留水）を用いた。なお、調製に用いた試薬は、等級があるものは特級を用いた。
- 2) 生理食塩液
塩化ナトリウム溶液（0.9 w/v%）を 121 °C で 15 分間高圧蒸気滅菌した。
- 3) 1.6 w/v% ブロモクレゾールパープルエタノール溶液
ブロモクレゾールパープル 0.8 g を無水エタノール 47.5 mL に溶かし、蒸留水 2.5 mL を加えて調製した。遮光して、室温で保存した。
- 4) AC 培地
AC ブイヨン基礎培地（日水製薬製）50.5 g 及びアジ化ナトリウム（和光純薬工業製）0.25 g を蒸留水 1000 mL に溶かし、500 mL 培養瓶に 250 mL 分注して、121 °C で 15 分間高圧蒸気滅菌した。
- 5) エンテロコッコセル寒天培地（以下「ECS 培地」という。）
ECS 培地（Difco 製）56 g を蒸留水 1000 mL に溶かし、121 °C で 15 分間高圧蒸気滅菌した。これを 60 °C まで冷却した後、ペトリ皿に一様に広がるように 15 mL 分注し、水平に静置して凝固させた後、倒置してふたをわずかにずらし、37 °C で 1 時間静置して培地表面を乾燥させた。
- 6) ブレインハートインフュージョン寒天培地（以下「BHI 寒天培地」という。）
BHI Agar（Difco 製）52 g を蒸留水 1000 mL に溶かし、121 °C で 15 分間高圧蒸気滅菌した。以下、5) によった。

7) グラム染色液

フェイバーG「ニッスイ」(日水製薬製)の染色液 A (ビクトリアブルー), 脱色液 (ピクリン酸・エタノール液) 及び染色液 B (サフラニン)

8) 6.5 w/v%塩化ナトリウム加ハートインフュージョン培地 (以下「6.5 %NaCl 加 HI 培地」という。)

HI Broth (Difco 製) 25 g, 塩化ナトリウム 65 g, ブドウ糖 1 g 及び 1.6 %プロモクレゾールパープルエタノール溶液 1 mL を蒸留水 1000 mL に溶かした。これを小試験管に 3 mL 程度分注し, 121 °C で 15 分間高圧蒸気滅菌した。

9) ミュラーヒントン半流動培地 (以下「MH 半流動培地」という。)

Muller Hinton Broth (Difco 製) 21 g 及び Bacto-Agar (Difco 製) 2.5 g を蒸留水 1000 mL に溶かした。これを小試験管に 3 mL 程度分注し, 121 °C で 15 分間高圧蒸気滅菌した後, 高層に凝固させた。

10) 3 v/v%過酸化水素水 過酸化水素水 (30 %) を 10 倍希釈した。

11) スワブカラー「イワキ」PYR (イワキ製)

12) Rapid ID32 STREP API (シスメックス・ビオメリュー製)

13) ミュラーヒントン半流動培地 (以下「MH 半流動培地」という。)

Muller Hinton Broth (Difco 製) 21 g 及び Bacto-Agar (Difco 製) 2.5 g を蒸留水 1000 mL に溶かした。これを小試験管に 3 mL 程度分注し, 121 °C で 15 分間高圧蒸気滅菌した後, 高層に凝固させた。

14) 20 w/v% スキムミルク (以下「20 %スキムミルク」という。)

スキムミルク (Difco 製) 20 g を蒸留水 1000 mL に溶かし, 中試験管に 2 mL 程度分注し, 121 °C で 15 分間高圧蒸気滅菌した。

15) 薬剤感受性試験用フローズンプレート「栄研」(オーダープレート) (栄研化学製)

培地には Ca^{2+} 及び Mg^{2+} を添加した Muller Hinton Broth を用いた。供試薬剤と薬剤濃度域については Table 1 のとおり。試薬受け入れ後から使用までは, -80 °C で保存した。

Table 1 Kind, concentration range and break point of antimicrobial agents

Group	Antimicrobial agent	Abbreviation	Range ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Break Point (BP)
Aminoglycosides	Dihydrostreptomycin	DSM	0.25 ~ 512	128
Aminoglycosides	Kanamycin	KM	0.25 ~ 512	128
Fluoroquinolones	Enrofloxacin	ERFX	0.12 ~ 64	4
Lincomycins	Lincomycin	LCM	0.12 ~ 256	128
Macrolides	Erythromycin	EM	0.12 ~ 128	8 ^{a)}
Macrolides	Tylosin	TS	0.12 ~ 256	64
Penicillins	Ampicillin	ABPC	0.12 ~ 128	16 ^{a)}
Tetracyclines	Oxytetracycline	OTC	0.12 ~ 64	16

a) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing of CLSI

16) ハートインフュージョン寒天培地 (以下「HI 寒天培地」という。)

HI Agar (Difco 製) 40 g を蒸留水 1000 mL に溶かし, 121 °C で 15 分間高圧蒸気滅菌した。

以下、5)によった。

17) トリプチケースソイ培地（以下「TSB 培地」という。）

トリプチケースソイ（Difco 製）30 g を蒸留水 1000 mL に溶かし、小試験管に 4 mL 程度分注し、121 °C で 15 分間高圧蒸気滅菌した。

2.3 装置及び器具

- 1) ペトリ皿：ガンマ滅菌済み，内径 90 mm，高さ 20 mm のもの
- 2) 白金耳：ポリプロピレン製，ガンマ滅菌済み，1 µL ディスポーループ
- 3) インキュベーター：庫内温度を 35~45 °C（管理精度：±1 °C）に設定できるもの
- 4) その他：試験に用いた器具のうち，培地及び菌液に接触するものは，乾熱滅菌又は高圧蒸気滅菌済みのもの

2.4 分離及び同定方法

1) 選択増菌培養

分析試料 25 g を量って AC 培地に入れ，振り混ぜた後，37 °C で 18~24 時間培養した。

2) 選択分離培養

選択増菌培養液の 1 白金耳を ECS 培地に画線塗抹し，倒置して 37 °C で 48~72 時間培養した。

3) 純粋分離培養

ECS 培地表面の腸球菌と疑われる集落（周囲が黒褐色又は黒色帯で，中心が半透明のコロニー）を 2 個釣菌し，それぞれ生理食塩液 15 µL 程度に懸濁した。各懸濁液の 1 白金耳を BHI 寒天培地に画線塗抹し，倒置して 37 °C で 18~24 時間培養した。

培養後，BHI 寒天培地表面の集落を 1 個釣菌し，上記と同様に操作した。

4) 確認培養

BHI 寒天培地表面の集落を 1 個釣菌し，MH 半流動培地に穿刺した後，6.5 % NaCl 加 HI 培地に接種した。MH 半流動培地は 37 °C で 18~24 時間，6.5 % NaCl 加 HI 培地は 45 °C で 18~24 時間培養した。

5) 確認同定

上記 2 種類の確認培地，グラム染色，カタラーゼ試験，PYR で Table 2 の生化学的性状を確認した。

Table 2 Biochemical confirmation test of *Enterococcus*

Biochemical confirmation	Culture	Culture medium	Character of <i>Enterococcus</i>
High NaCl concentration	18~24 h at 45 ± 1 °C	HI ^{a)} broth with 6.5 w/v% NaCl	+
High temperature	18~24 h at 45 ± 1 °C	HI ^{a)} broth with 6.5 w/v% NaCl	+
Motility	18~24 h at 37 ± 1 °C	Mueller-Hinton semisolid agar	+ / -

a) Heart Infusion

Biochemical confirmation	Reagent	Character of <i>Enterococcus</i>
Gram stain	Faber G " Nissui "	Gram positive
Catalase test	3 v/v% hydrogen peroxide water	-
PYR test	Swab color " IWAKI " PYR	+
Pigmentation	-	+ / -

Strains presumed to be enterococci in property tests are identified by Rapid ID32 STREP API

グラム染色 スライドガラスをエタノールに一晩以上浸漬し、バーナーで軽く焼き、冷ました。その上に、2回目の純粋分離培養塗抹用の菌液 10 µL を分注し、薄く広げた。乾燥後、火炎固定した塗抹面に染色液 A を十分添加し、1 分間静置した。染色液を水洗後、脱色液で染色液 A の青色が溶け出さなくなるまで脱色した。脱色液を水洗後、塗抹面に染色液 B を十分添加し、1 分間静置した。染色液を水洗後、ろ紙で水気をふき取り、光学顕微鏡で観察した。

カタラーゼ試験 純粋分離培養した菌を少量かき取り、スライドガラス上に 1 滴滴下した 3 v/v% 過酸化水素水と混和し、発泡の有無を確認した。

PYR 試験 添加試薬 1 を 1 滴滴下したテストスワブで純粋分離培養した菌をかき取り、菌塊の色を観察する。常温で 3~5 分静置後、添加試薬 2 を 1 滴滴下し、色の変化を観察した。

上記の生化学的性状で腸球菌の性状を示した菌について、Rapid ID32 STREP API で菌種同定を行った。

Rapid ID32 STREP API サスペンションメディウム 2 mL に McFarland 濁度 4 になるように菌を接種した。調製した菌液をプレートの各カップに 55 µL ずつ分注し、蓋をして 37 °C で 4~4.5 時間培養した。キットの添付文書のとおり判定し、判定結果を APIWEB 同定ソフトウェアに入力し、菌種同定を行った。菌種同定された菌株は、HI 培地と 20 % スキムミルクを等量ずつ混合した保存用培地で -80 °C で保存した。

2.5 薬剤感受性試験（微量液体希釈法）

1) 精度管理株

Staphylococcus aureus ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 を精度管理株として被験菌株と同時に試験し、精度管理株の MIC（最小発育阻止濃度：Minimum Inhibitory Concentration）が Table 3 の規格値に入ることを確認した。

Table 3 Quality control limit of quality control strains

Antimicrobial agent	Quality control strains			
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
DSM	1 – 2	16 – 64	1 – 4	4 – 32
KM ^{a)}	1 – 4	16 – 64	1 – 4	*
ERFX ^{a)}	≤ 0.125	0.12 – 1	< 0.125	*
LCM	0.25 – 4	8 – 32	≥ 256	≥ 256
EM ^{a)}	0.25 – 1	1 – 4	*	*
TS ^{a)}	0.5 – 4	0.5 – 4	> 32	> 32
ABPC ^{a)}	0.5 – 2	0.5 – 2	2 – 8	*
OTC	≤ 1	4 – 16	0.25 – 2	2 – 16

*: No quality control limit

a) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (CLSI)

2) 菌液の調製

保存菌株を HI 寒天培地に画線塗抹し、倒置して 37 °C で 18~24 時間培養した。HI 寒天培地表面の集落を 4~5 個釣菌し、TSB 培地に接種し、37 °C で 18~24 時間培養した。培養後の TSB 培地を滅菌生理食塩液で 10 倍希釈し、McFarland 濁度 1 に合わせ、その菌液をさらに滅菌生理食塩液で 10 倍希釈して、フローズンプレート接種用の菌液とした。

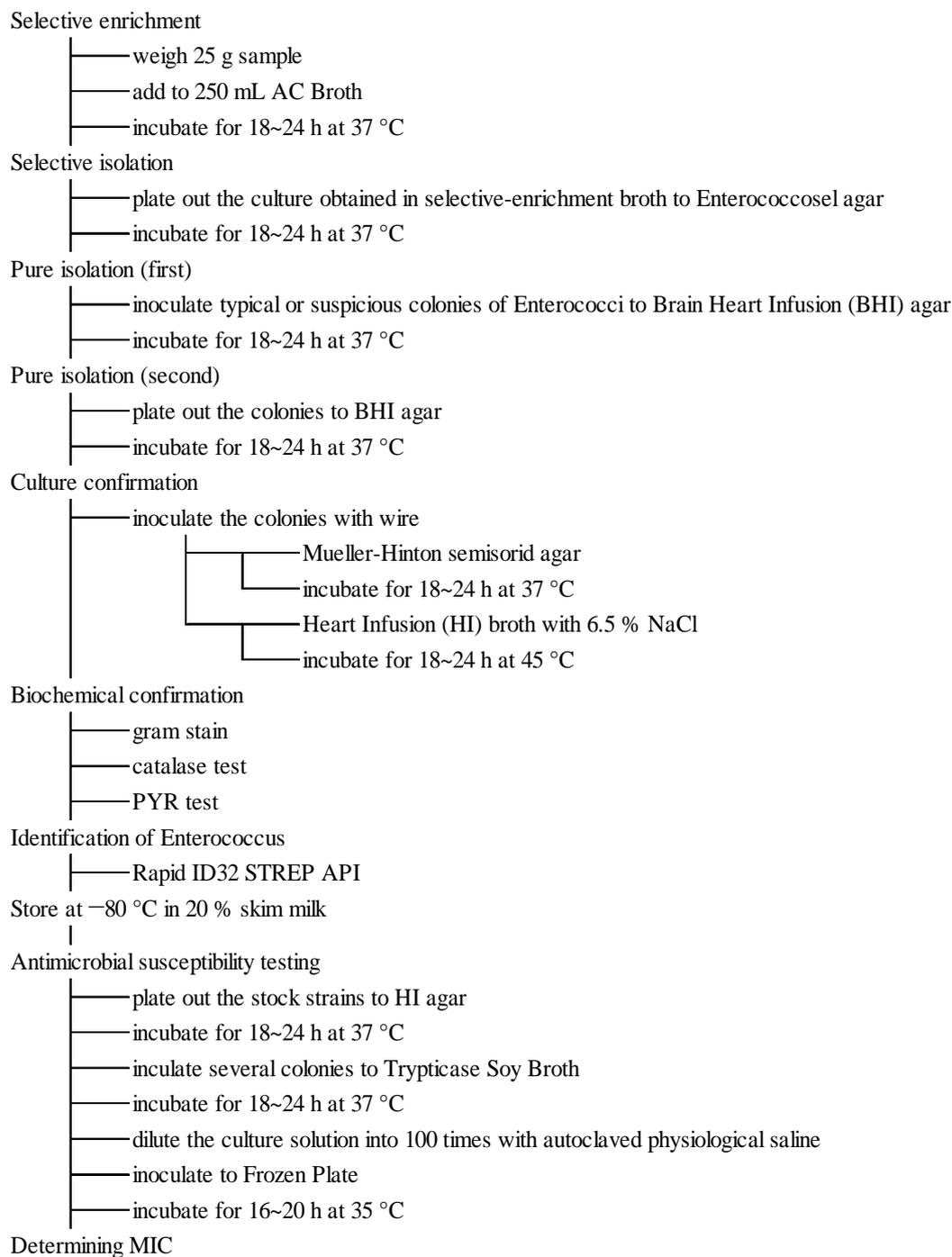
3) フローズンプレートへの接種及び培養

2)で調製した菌液（全量）をトランスファーセットのトレイに入れ、96 ピンプレートを浸し、96 ピンプレートをフローズンプレートの容器に接種した。フローズンプレートに蓋をして、35 °C で 16~20 時間培養した。

4) 判定

リーディングミラーの上にフローズンプレートを置き、肉眼的に懸濁又は沈殿が認められない場合及び沈殿物があっても 1 mm 未満で 1 個の場合は発育阻止とみなした。接種菌の発育が阻止された薬剤の最低濃度を MIC とした。

なお、分離同定から感受性試験までの概要を Scheme 1 に示した。



Scheme 1 Antimicrobial susceptibility testing of *Enterococcus* spp. isolated from feed ingredients

3 結果及び考察

3.1 分離状況

平成 30 年 4 月から平成 31 年 1 月までに採取した試料の点数や分離された試料の点数等は Table 4 のとおりである。腸球菌はほ乳動物の腸管内の常在菌であるが、外界へ排出された後も生残性が高く、また、ほ乳動物以外に鳥類、は虫類、昆虫、植物、土壌、水環境等にも生息している。今回採取した飼料原料は一般的に製造工程において加熱や加圧、溶媒抽出等が行われるた

め、加工後から袋詰めされるまでの間又は保管若しくは輸送の間に汚染されたと考えられる。

Table 4 Isolation of *Enterococcus* (for each feed ingredient)

	Number of samples	Number of positive	Isolated rate ^{a)} (%)	Number ^{b)} of <i>Enterococci</i>
Soybean meal	33	15	45.5	21
Fish meal	55	14	25.5	20
Poultry by-product meal	25	4	16.0	6
Pork and poultry MBM ^{c)}	16	6	37.5	9
Total	129	39	30.2	56

a) Ratio of the number of samples to the number of the test samples

b) Isolated up to 2 strains from 1 sample

c) Meat and bone meal

次に、分離された腸球菌の菌種を Table 5 に示す。最も多かったのは *E. faecalis* が 20 株で、次いで *E. faecium* が 18 株であった。飼料の種類別では、大豆油かすからは 6 菌種、動物質性飼料原料からは主に 2 菌種が分離された。腸球菌は Table 6 のように菌種により生息域⁵⁾が異なる。試料により分離された菌種が異なる明確な要因は不明だが、汚染のされやすさ（作業員、ハエなどの昆虫、ネズミなどの害獣との接触）などの違いがあると考えられる。

Table 5 Number of *Enterococcus* spp. isolated from each feed ingredient

	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. hirae</i>	<i>E. avium</i>	<i>E. gallinarum</i>	<i>E. casseliflavus</i>	<i>E. sp.</i> ^{a)}
Soybean meal	3	5	6	1	1	4	1
Fish meal	8	8	1	0	0	0	3
Poultry by-product meal	6	0	0	0	0	0	0
Pork and poultry MBM	3	5	1	0	0	0	0
Total	20	18	8	1	1	4	4

a) Judged " Identification to the genus " by Rapid ID32 STREP API

Table 6 Species of the genus *Enterococcus* and their currently known habitats⁵⁾

Species	Known habitats	Human pathogen
<i>E. faecalis</i>	Human, animal (multiple), plant, insect	Yes
<i>E. faecium</i>	Human, animal (multiple), plant, insect	Yes
<i>E. hirae</i>	Animal (multiple), plant	
<i>E. avium</i>	Human, animal (multiple)	Yes
<i>E. gallinarum</i>	Human, animal (multiple), insect	Yes
<i>E. casseliflavus</i>	Plant, soil, human, animal (multiple)	Yes

3.2 薬剤感受性試験の結果

試料 39 点から分離された腸球菌 56 株（1 試料から最大 2 株分離）の薬剤感受性試験の結果を Table 7 に、耐性を示した菌株の詳細を Table 8 に示した。

MIC は細菌の発育が認められなかった濃度の最小値である。MIC₅₀ 及び MIC₉₀ はそれぞれ

50 %及び90 %の菌株の発育を阻止した MIC である。MIC₉₀ が低い場合は、大部分の株が感受性（一部耐性菌が出現している場合もある）、MIC₅₀ が高い場合は、大部分が耐性化していると判断できる。また、MIC₉₀ と MIC₅₀ の幅が広い場合は、耐性株が増加、あるいは、耐性化傾向にあると考えられる⁶⁾。

今回分離された全ての菌株が ERFX, ABPC 及び TS に感受性であった。KM, EM 及び OTC に対する耐性率はそれぞれ *E. faecalis* で 10.0 %, 0.0 %及び15.0 %, *E. faecium* で 61.1 %, 33.3 % 及び0.0 %, その他の菌種で 11.1 %, 22.2 %及び5.6 %であり、菌種により耐性の傾向に違いが見られた。その他の薬剤に対しては耐性株が0~1株であり、特に違いは見られなかった。

耐性を示した菌種は *E. faecium* が11株で最も多かった。2薬剤への多剤耐性菌は、*E. faecium* で6株、*E. faecalis* で2株、*E. sp.*で2株であり、3薬剤への多剤耐性菌は *E. faecalis* で1株であった。

Table 7 Antimicrobial susceptibility of enterococci 56 isolates from each feed ingredient

	<i>E. faecalis</i> (n = 20)				<i>E. faecium</i> (n = 18)				others (n = 18)			
	MIC ₅₀ (µg/mL)	MIC ₉₀ (µg/mL)	Resistance Number	Resistance (%)	MIC ₅₀ (µg/mL)	MIC ₉₀ (µg/mL)	Resistance Number	Resistance (%)	MIC ₅₀ (µg/mL)	MIC ₉₀ (µg/mL)	Resistance Number	Resistance (%)
DSM	64	64	1	5.0	32	64	0	0.0	32	64	0	0.0
KM	32	64	2	10.0	128	256	11	61.1	32	256	2	11.1
ERFX	1	1	0	0.0	1	1	0	0.0	0.5	1	0	0.0
LCM	32	64	1	5.0	16	32	0	0.0	16	32	0	0.0
EM	2	4	0	0.0	4	8	6	33.3	0.3	8	4	22.2
TS	2	4	0	0.0	8	16	0	0.0	2	8	0	0.0
ABPC	1	1	0	0.0	1	2	0	0.0	0.5	2	0	0.0
OTC	1	64	3	15.0	0.5	1	0	0.0	0.5	1	1	5.6

Table 8 Antimicrobial resistance patterns in *Enterococcus* spp. isolated from feed ingredients

Kind of feed ingredient	Species	Antimicrobial resistance pattern	Kind of feed ingredient	Species	Antimicrobial resistance
Soybean meal	<i>E. faecium</i>	KM	Fish meal	<i>E. faecalis</i>	OTC, LCM
Soybean meal	<i>E. faecium</i>	KM	Fish meal	<i>E. faecium</i>	KM
Soybean meal	<i>E. faecium</i>	KM, EM	Fish meal	<i>E. faecium</i>	KM
Soybean meal	<i>E. faecium</i>	KM, EM	Fish meal	<i>E. faecium</i>	KM, EM
Soybean meal	<i>E. faecium</i>	KM, EM	Fish meal	<i>E. faecium</i>	KM, EM
Soybean meal	<i>E. casseliflavus</i>	OTC	Fish meal	<i>E. faecium</i>	KM, EM
Soybean meal	<i>E. sp.</i>	KM, EM	Fish meal	<i>E. sp.</i>	EM
Poultry by-product meal	<i>E. faecalis</i>	KM, OTC	Fish meal	<i>E. sp.</i>	EM
Poultry by-product meal	<i>E. faecalis</i>	KM, DSM, OTC	Fish meal	<i>E. sp.</i>	KM, EM
Pork and poultry MBM	<i>E. faecium</i>	KM			

4 まとめ

平成30年4月から平成31年1月までの10ヶ月の間に、採取した飼料原料（大豆油かす、魚粉、チキンミール及び豚鶏混合肉骨粉）から分離した腸球菌の同定と微量液体希釈法による薬剤感受性試験を行い、飼料原料における腸球菌の薬剤耐性の実態調査を行った。

- 1) 大豆油かす, 魚粉, チキンミール及び豚鶏混合肉骨粉からの腸球菌の分離率は, それぞれ 45.5 %, 25.5 %, 16.0 % 及び 37.5 % であった.
- 2) 腸球菌の菌種は植物質性原料と動物質性原料で異なり, 大豆油かすからは 6 菌種, その他の動物質性飼料原料からは主に 2 菌種が分離された. 最も多かった菌種は *E. faecalis* で 35.7 % (56 株中 20 株), 次いで *E. faecium* が 32.1 % (56 株中 18 株) であった.
- 3) 薬剤感受性試験の結果は, KM, EM 及び OTC に対する耐性率はそれぞれ *E. faecalis* で 10.0 %, 0.0 % 及び 15.0 %, *E. faecium* で 61.1 %, 33.3 % 及び 0.0 %, その他の菌種で 11.1 %, 22.2 % 及び 5.6 % であり, 菌種により耐性傾向が異なった. ERFX, ABPC 及び TS に対しては全ての菌株が感受性を示した.
- 4) 耐性を示した菌種は *E. faecium* が 11 株と最も多く, 多剤耐性菌は, *E. faecium* で 6 株, *E. faecalis* で 3 株, *E. sp.* で 2 株であった.

文 献

- 1) 公益社団法人日本動物用医薬品協会: 薬剤耐性 (AMR) 対策の推進について - 動物用抗菌剤の慎重使用 -, 平成 29 年 3 月 (2017).
- 2) 農林水産省: 薬剤耐性対策アクションプランについて,
http://www.maff.go.jp/j/syouan/tikusui/yakuzi/pdf/setsumei_shiryu.pdf, cited 9 Apr. 2019
- 3) Paulo Martins da Costa, Manuela O., Alexandra B., Paulo Vand Fernando B.: Antimicrobial resistance in *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli* isolated from poultry feed and feed ingredients, *Vet Microbiol*, 120, 122-131 (2007).
- 4) 農林水産省畜産局長通知: 飼料等検査実施要領の制定について, 昭和 52 年 5 月 10 日, 52 畜 B 第 793 号 (1977).
- 5) Muruleedhara N. Byappanahalli, Meredith B. Nevers, Asja Korajkic, Zachery R. Staley, Valerie J. Harwood: Enterococci in the Environment, *Microbiol Mol Biol Rev*, 76, 685-706 (2012).
- 6) 動物用抗菌剤研究会: 最新データ 動物用抗菌剤マニュアル第 2 版, 平成 25 年 4 月 12 日 (2013).