

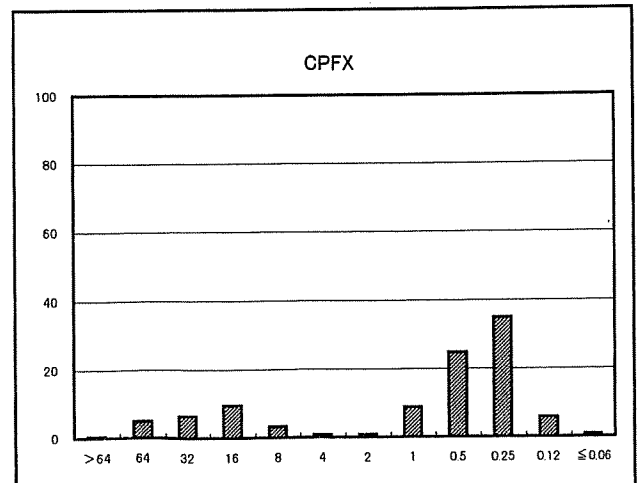
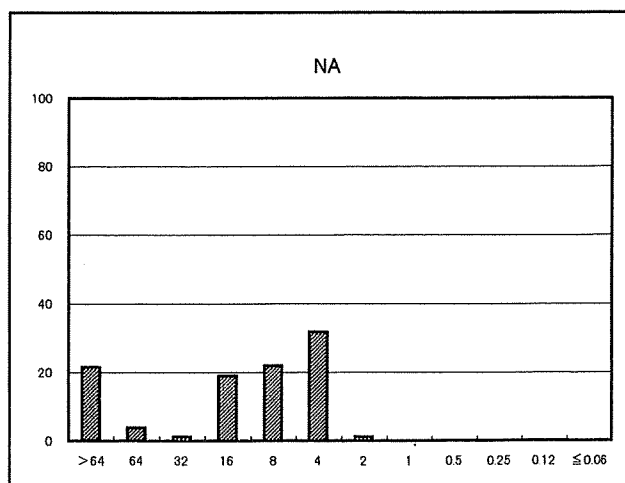
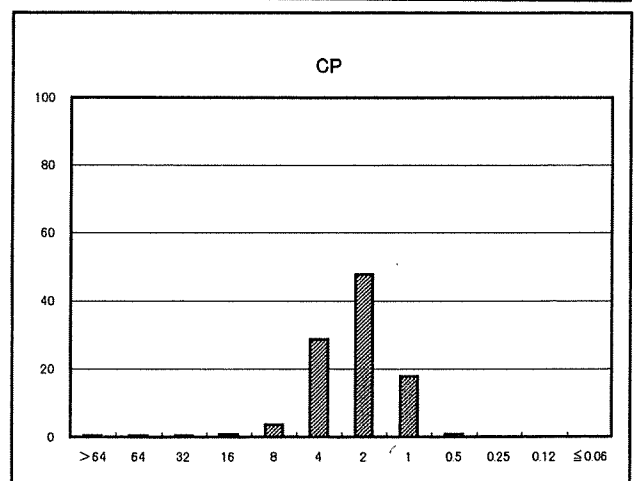
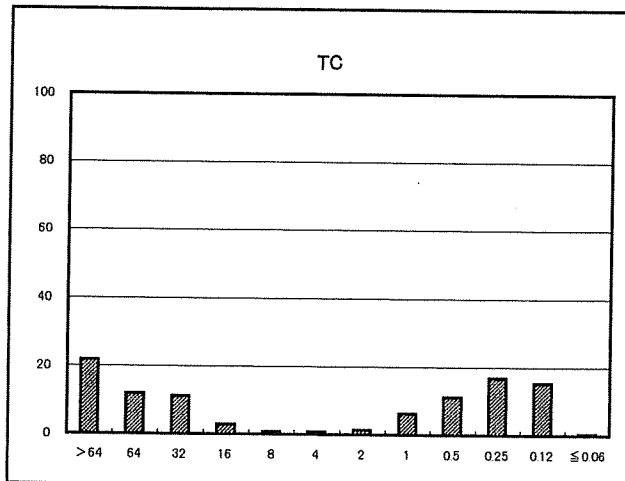
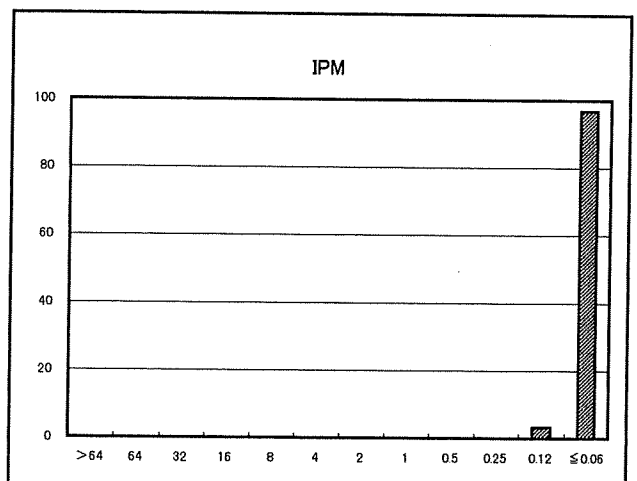
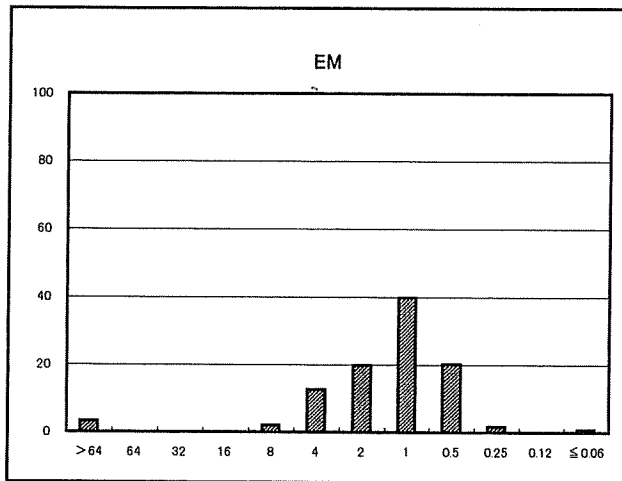
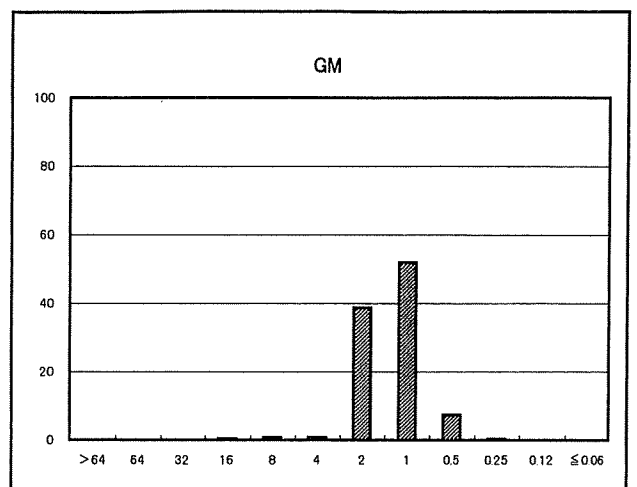
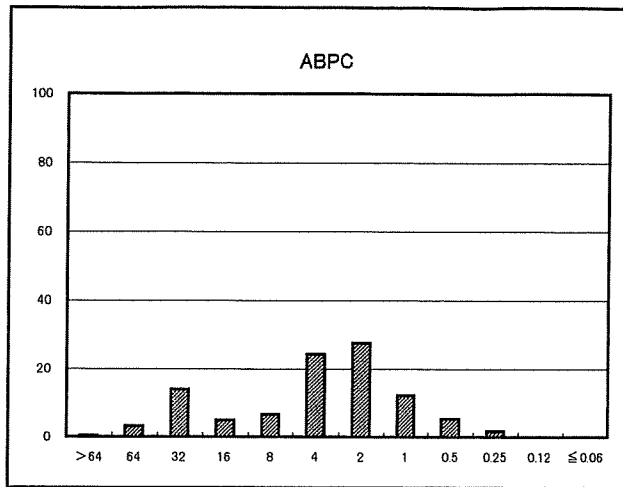
No.	動物種	菌種	血清型	ABPC	GM	EM	IPM	TC	CP	NA	CPFX
137	牛	C.fetus		8	2	4	≦0.06	64	16	>64	32
138	牛	C.fetus		4	2	2	≦0.06	2	8	>64	2
139	牛	C.fetus		2	2	2	≦0.06	1	8	>64	2
140	牛	C.fetus		2	2	4	≦0.06	32	4	>64	32
141	牛	C.fetus		1	2	1	≦0.06	0.5	2	>64	1
142	牛	C.fetus		2	2	4	≦0.06	1	8	>64	1
143	牛	C.fetus		1	2	4	≦0.06	1	8	>64	1
144	牛	C.fetus		4	2	2	≦0.06	1	4	>64	1
145	牛	C.fetus		2	2	2	≦0.06	1	4	>64	1
146	牛	C.fetus		2	2	2	≦0.06	1	4	>64	1
147											
148	牛	C.jejuni		0.25	2	1	≦0.06	0.5	4	>64	1
149	牛	C.jejuni		1	2	0.25	≦0.06	8	1	4	0.25
150	鶏	C.jejuni		2	8	2	≦0.06	1	4	4	0.25
151	鶏	C.jejuni		4	1	4	≦0.06	1	4	8	0.5
152	処理場	C.jejuni		8	1	1	≦0.06	0.25	4	>64	32
153	処理場	C.jejuni		4	2	2	≦0.06	0.5	2	>64	16
154	処理場	C.coli		2	2	8	0.12	>64	4	>64	64
155	処理場	C.jejuni		32	2	2	≦0.06	64	4	64	32
156											
157	鶏	C.jejuni		4	1	2	≦0.06	1	4	16	1
158	処理場	C.jejuni		2	1	1	≦0.06	32	2	4	0.25
159	処理場	C.jejuni		2	1	2	≦0.06	0.25	2	4	0.5
160	処理場	C.jejuni		1	2	1	≦0.06	0.25	2	4	0.25
161	処理場	C.jejuni		32	2	2	≦0.06	0.5	4	32	0.5
162	処理場	C.jejuni		16	1	2	≦0.06	0.25	4	>64	8
163	鶏	C.coli		64	2	4	0.12	1	4	>64	>64
164	鶏	C.coli		>64	2	4	0.12	0.5	4	>64	>64
165	鶏	C.jejuni		8	4	8	0.12	>64	4	8	0.5
166	処理場	C.jejuni		64	2	>64	0.12	64	64	>64	32
167	牛	C.jejuni		8	2	>64	≦0.06	16	16	64	32
168	牛	C.jejuni		4	2	>64	≦0.06	8	8	64	8
169	牛	C.jejuni		2	2	1	≦0.06	0.12	2	4	0.5
170	牛	C.jejuni		2	2	4	≦0.06	0.25	4	8	0.5
171	牛	C.jejuni		2	2	1	≦0.06	32	1	8	0.25
172	牛	C.jejuni		2	1	1	≦0.06	0.25	2	4	0.25
173	牛	C.fetus		4	2	4	≦0.06	>64	8	>64	1
174	牛	C.jejuni		4	0.5	1	≦0.06	0.12	2	4	0.25
175	牛	C.jejuni		4	2	4	0.12	>64	4	>64	32
176	牛	C.jejuni		1	1	2	≦0.06	0.12	4	8	0.25
177	牛	C.jejuni		2	1	1	≦0.06	32	1	16	4
178	牛	C.jejuni		16	1	1	≦0.06	0.25	1	4	0.25
179	牛	C.jejuni		4	2	1	≦0.06	16	1	64	8
180	牛	C.coli		8	2	16	0.12	0.5	8	16	1
181	牛	C.jejuni		2	2	0.5	≦0.06	0.25	1	8	0.25
182	牛	C.jejuni		0.5	1	0.25	≦0.06	32	32	4	≦0.06
183	牛	C.jejuni		1	1	0.5	≦0.06	32	1	4	0.12
184	牛	C.jejuni		1	1	0.5	≦0.06	32	1	4	0.12
185	牛	C.jejuni		1	0.5	0.25	≦0.06	32	1	4	0.12
186	牛	C.jejuni		1	0.5	1	≦0.06	16	2	8	0.12
187	牛	C.jejuni		0.5	1	2	≦0.06	64	2	16	0.5
188	牛	C.jejuni		1	1	0.5	≦0.06	0.12	4	8	0.25
189	牛	C.jejuni		0.5	1	2	≦0.06	64	2	8	0.5
190	牛	C.fetus		1	2	2	≦0.06	4	4	>64	1
191	牛	C.fetus		1	2	4	≦0.06	16	4	>64	1
192	牛	C.jejuni		0.25	2	4	≦0.06	0.25	4	4	0.25
193	牛	C.fetus		4	2	2	≦0.06	2	4	>64	1
194	牛	C.fetus		4	4	4	≦0.06	32	4	>64	1
195	牛	C.coli		4	4	4	0.12	>64	2	>64	32
196	牛	C.fetus		1	2	2	≦0.06	16	4	>64	1
197	鶏	C.jejuni		0.5	2	0.5	≦0.06	0.25	1	4	0.25
198	鶏	C.jejuni		0.5	1	0.5	≦0.06	0.25	1	4	0.25
199	鶏	C.jejuni		0.5	1	1	≦0.06	0.25	2	8	0.5
200	牛	C.jejuni		1	1	2	≦0.06	0.12	2	4	0.25
201	牛	C.jejuni		0.5	1	0.5	≦0.06	0.5	4	64	0.12
202	牛	C.coli		4	2	8	≦0.06	>64	16	16	0.5
203	牛	C.jejuni		0.5	0.5	1	≦0.06	0.25	1	4	0.12
204	牛	C.jejuni		2	1	4	≦0.06	64	4	8	0.25

MIC判定結果

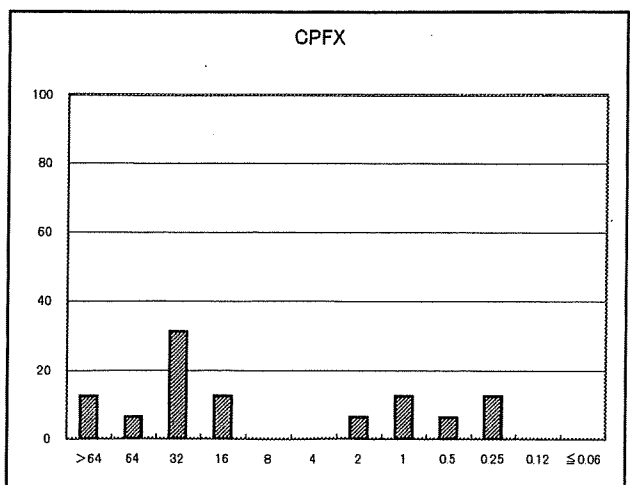
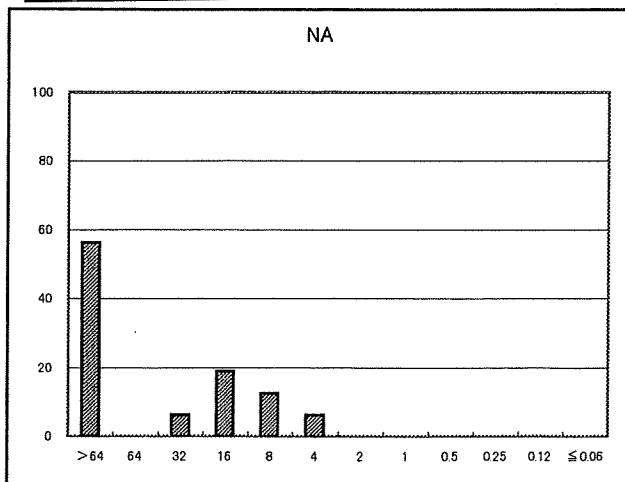
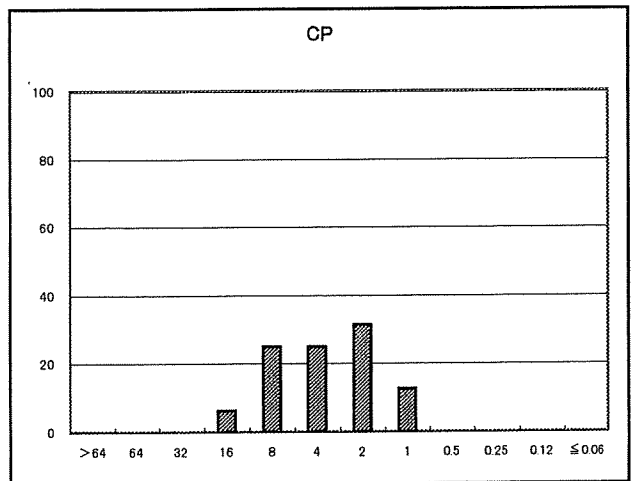
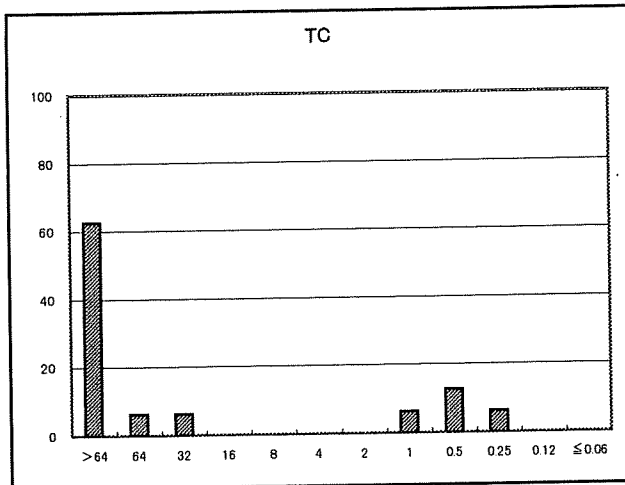
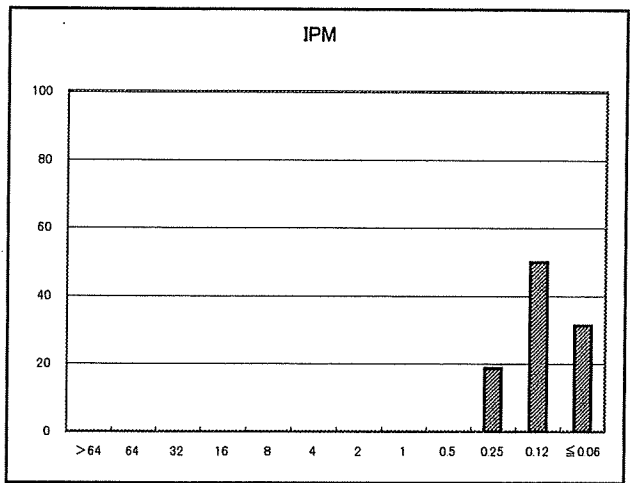
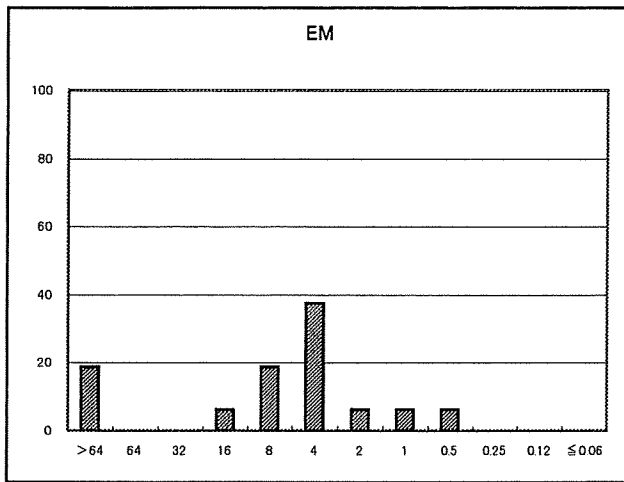
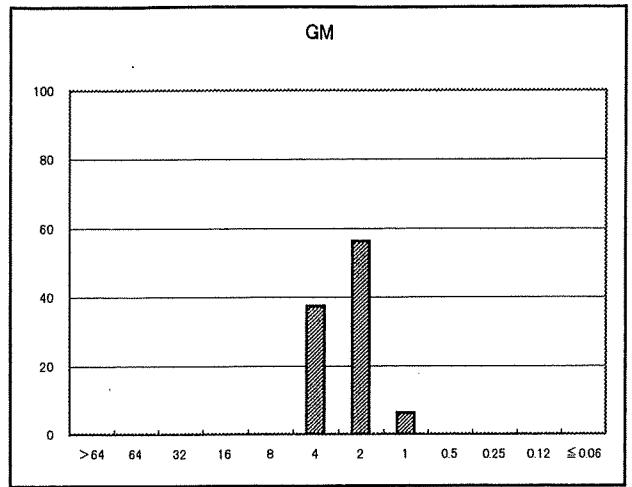
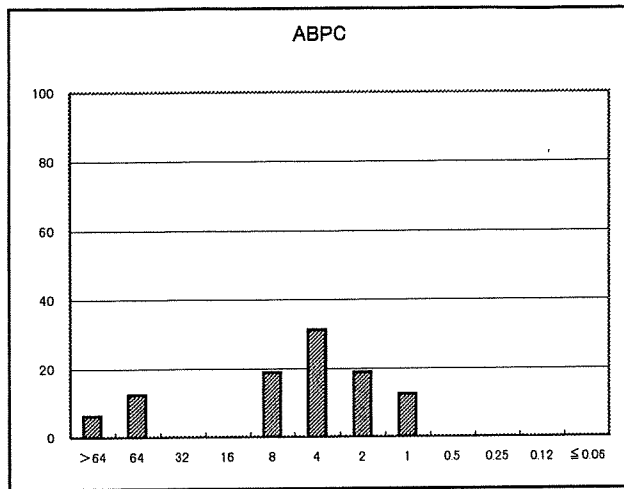
No.	動物種	菌種	血清型	ABPC	GM	EM	IPM	TC	CP	NA	CPFX
205	牛	C.jejuni		0.25	0.5	1	≦0.06	0.12	1	4	0.12
206	牛	C.jejuni		0.25	1	1	≦0.06	0.12	2	2	0.12
207	鶏	C.jejuni	Z7	8	1	4	≦0.06	64	8	64	2
208	鶏	C.jejuni	C	2	2	2	≦0.06	>64	4	16	0.5
209	鶏	C.jejuni	L	16	1	1	≦0.06	1	4	16	0.5
210	鶏	C.jejuni	Z7	4	1	0.5	≦0.06	0.5	2	8	1
211	鶏	C.jejuni	Z7	4	1	1	≦0.06	0.5	2	16	1
212	鶏	C.jejuni	Z7	4	1	2	≦0.06	0.5	2	16	1
213	鶏	C.jejuni	C	2	2	4	≦0.06	>64	4	16	0.5
214	鶏	C.jejuni	C	4	2	4	≦0.06	>64	4	16	0.5
215	鶏	C.jejuni	C	1	1	4	≦0.06	>64	4	16	0.5
216											
217	鶏	C.jejuni	UT	4	2	4	≦0.06	>64	4	16	0.5
218	鶏	C.jejuni	F	4	2	2	≦0.06	64	4	8	0.5
219	鶏	C.jejuni	UT	2	1	4	≦0.06	>64	4	16	0.5
220	鶏	C.jejuni	Z7	4	1	2	≦0.06	64	4	16	1
221	鶏	C.jejuni	C	2	2	4	≦0.06	>64	4	16	0.5
222	鶏	C.jejuni	C	2	2	2	≦0.06	>64	4	16	0.5
223	鶏	C.jejuni	C	2	2	4	≦0.06	>64	4	16	0.5
224	鶏	C.jejuni	B	4	1	2	≦0.06	>64	4	8	0.5
225	鶏	C.jejuni	A	4	1	4	≦0.06	>64	2	>64	16
226	鶏	C.jejuni	L	16	1	1	≦0.06	1	4	16	0.5
227	鶏	C.jejuni	A	4	1	0.5	≦0.06	64	1	>64	8
228	鶏	C.jejuni	A	8	2	2	≦0.06	>64	2	>64	32
229	鶏	C.jejuni	A	4	0.5	1	≦0.06	64	1	>64	8
230	鶏	C.jejuni	L	8	0.5	0.5	≦0.06	1	1	16	0.25
231											
232	鶏	C.jejuni	C	1	1	2	≦0.06	>64	4	16	0.25
233	鶏	C.jejuni	C	1	2	2	≦0.06	>64	4	16	0.5
234	鶏	C.jejuni	C	1	2	2	≦0.06	>64	4	16	0.25
235	鶏	C.jejuni	C	2	2	4	≦0.06	>64	4	16	0.5
236	鶏	C.jejuni	C	2	2	4	≦0.06	>64	4	16	0.5
237	鶏	C.jejuni	F	2	2	0.5	≦0.06	64	1	8	0.25
238	鶏	C.jejuni	UT	4	2	2	≦0.06	0.5	2	16	1
239	鶏	C.jejuni	B	1	1	1	≦0.06	0.5	2	16	0.5
240	鶏	C.jejuni	UT	2	1	1	≦0.06	0.12	1	4	0.25
241	鶏	C.coli		64	4	>64	0.25	>64	8	>64	32
242	鶏	C.jejuni	K	16	1	>64	≦0.06	32	1	32	4
243	鶏	C.jejuni	N	0.5	0.5	0.25	≦0.06	0.12	1	4	0.25
244	鶏	C.jejuni	UT	2	2	>64	0.12	>64	4	16	2
245	鶏	C.jejuni	C	0.5	1	0.5	≦0.06	32	1	>64	8
246	鶏	C.jejuni	I	1	0.5	1	≦0.06	2	2	>64	64
247	鶏	C.jejuni	D	2	1	1	≦0.06	64	1	4	0.25
248	鶏	C.jejuni	J	2	1	>64	≦0.06	64	2	64	8
249	鶏	C.jejuni	K	2	1	1	≦0.06	0.12	2	4	0.25
250	鶏	C.jejuni	L	8	1	1	≦0.06	0.5	2	16	1
251	鶏	C.jejuni	A	32	2	2	≦0.06	0.5	2	16	1
252	鶏	C.jejuni	L	16	1	0.5	≦0.06	0.5	2	>64	32
253	鶏	C.jejuni	L	0.5	1	0.5	≦0.06	64	2	16	0.5
254	鶏	C.jejuni	B	2	1	1	≦0.06	0.5	4	4	0.25
255	鶏	C.jejuni	F	4	2	0.5	≦0.06	0.12	2	8	0.25
256	鶏	C.jejuni	A	2	0.5	0.25	≦0.06	32	1	4	0.12
257	鶏	C.jejuni	B	1	1	0.5	≦0.06	0.25	2	4	0.25
258	鶏	C.jejuni	B	1	1	0.5	≦0.06	0.25	2	4	0.25
259	鶏	C.jejuni	B	1	1	0.5	≦0.06	0.25	2	4	0.25
260	鶏	C.jejuni	F	4	1	0.5	≦0.06	0.12	2	8	0.5
261	鶏	C.jejuni	G	32	1	4	≦0.06	0.5	8	16	0.5
262	鶏	C.jejuni	O	32	1	4	≦0.06	0.5	4	16	0.5
263	鶏	C.jejuni	O	8	1	0.5	≦0.06	0.25	2	>64	16
264	鶏	C.jejuni	UT	4	1	>64	≦0.06	64	1	>64	16
265	鶏	C.jejuni	O	8	2	0.5	≦0.06	0.25	2	>64	16
266	鶏	C.jejuni	Z4	2	1	>64	≦0.06	64	1	>64	16
267	鶏	C.jejuni	G	4	0.5	1	≦0.06	0.25	2	4	0.25
268	鶏	C.jejuni	O	4	0.5	1	≦0.06	0.25	2	4	0.25
269	鶏	C.jejuni	C	2	1	2	≦0.06	2	4	8	0.5
270	鶏	C.jejuni	Z4	2	1	1	≦0.06	2	2	16	0.5
271	鶏	C.jejuni	F	4	2	1	≦0.06	0.12	2	8	0.5
272	鶏	C.jejuni	F	2	2	0.5	≦0.06	0.12	2	8	0.25

MIC判定結果

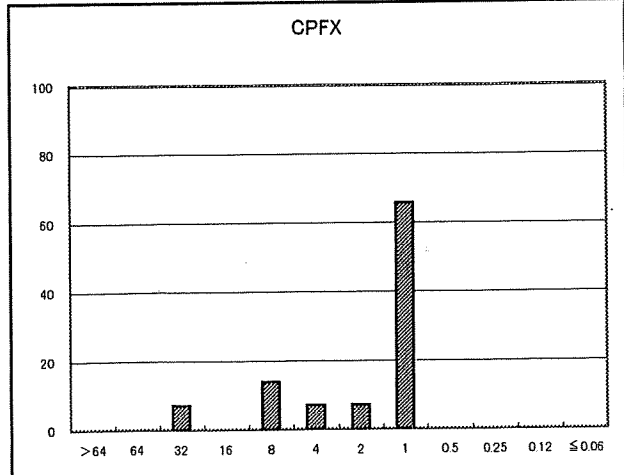
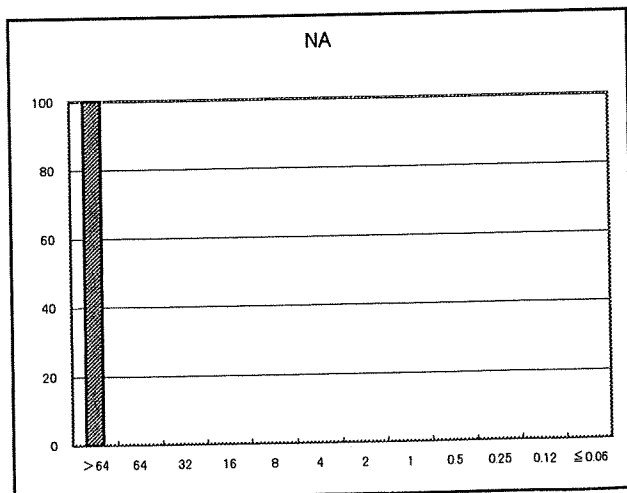
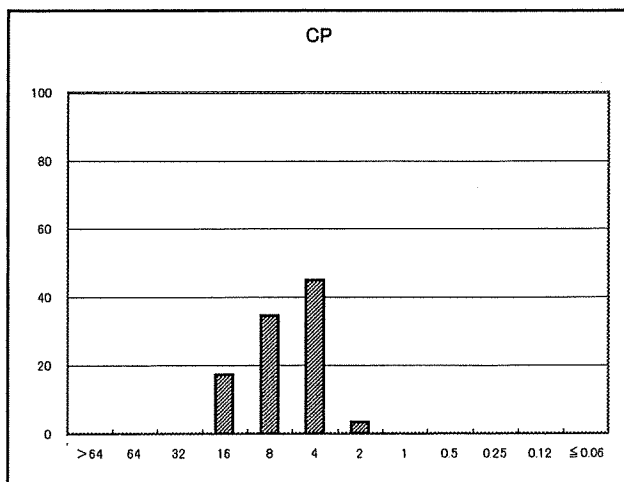
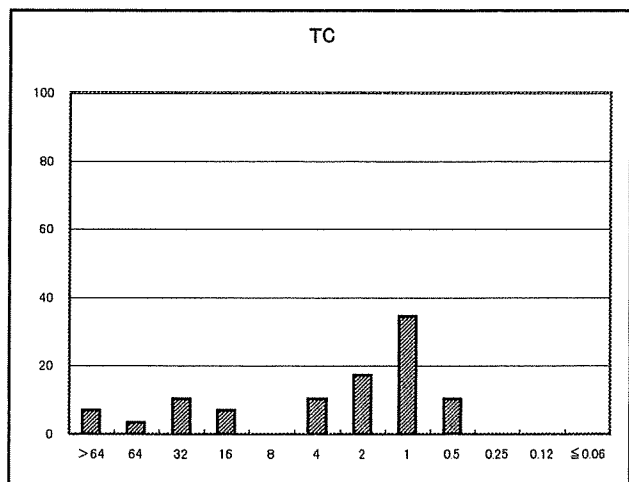
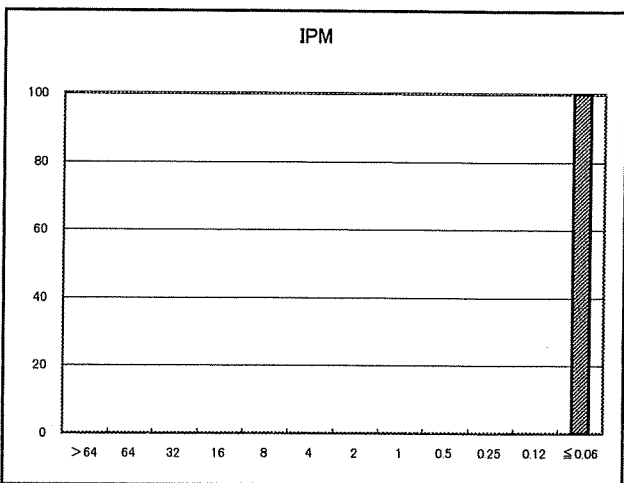
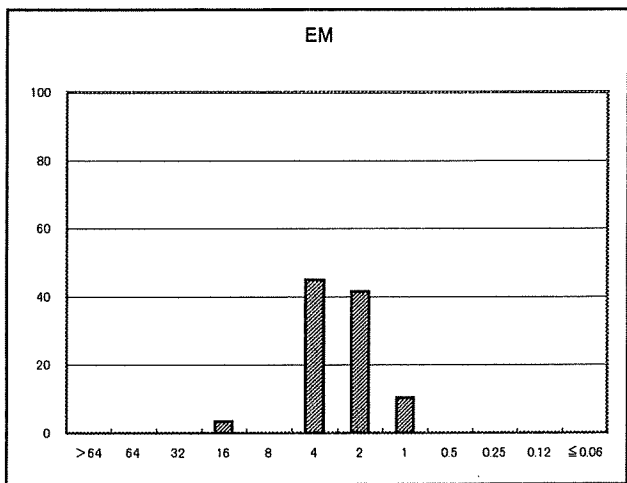
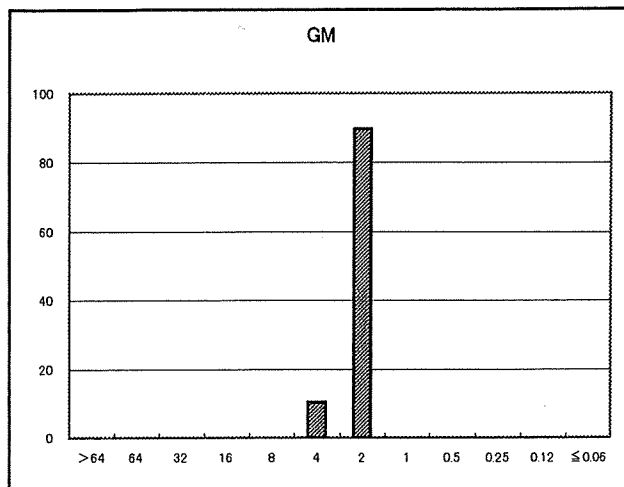
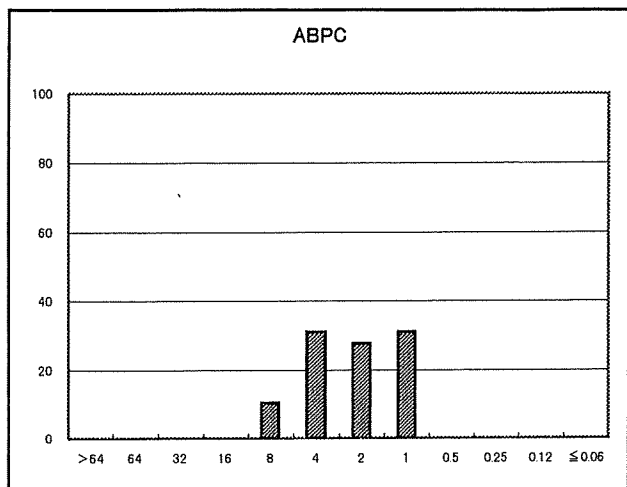
No.	動物種	菌種	血清型	ABPC	GM	EM	IPM	TC	CP	NA	CPFX
273	鶏	C.jejuni	B	2	1	1	≦0.06	1	4	8	0.5
274	鶏	C.jejuni	B	4	1	2	≦0.06	1	4	8	0.5
275	鶏	C.jejuni	B	2	1	2	≦0.06	0.25	2	4	0.25
276	鶏	C.jejuni	B	2	1	1	≦0.06	0.12	1	4	0.25
277	鶏	C.jejuni	R	4	1	8	≦0.06	1	8	16	1
278	鶏	C.jejuni	G	32	1	1	≦0.06	>64	2	4	0.25
279	鶏	C.jejuni	Y	32	1	1	≦0.06	0.25	2	4	0.25
280	鶏	C.jejuni	UT	16	1	2	≦0.06	0.5	4	8	0.5
281	鶏	C.jejuni	UT	16	1	2	≦0.06	1	2	8	0.5
282	鶏	C.jejuni	UT	16	1	2	≦0.06	0.5	4	8	0.5
283	鶏	C.jejuni	UT	16	1	2	≦0.06	0.5	4	8	0.5
284	鶏	C.jejuni	D	32	1	1	≦0.06	>64	2	8	0.5
285	鶏	C.jejuni	UT	4	1	2	≦0.06	>64	4	16	1
286	鶏	C.jejuni	G	16	0.5	1	≦0.06	32	1	4	0.25
287	鶏	C.jejuni	K	2	1	0.5	≦0.06	32	1	>64	16
288	鶏	C.jejuni	D	4	1	4	≦0.06	>64	4	16	1
289	鶏	C.jejuni	K	2	1	0.5	≦0.06	0.12	2	>64	16
290	鶏	C.jejuni	D	4	1	2	≦0.06	1	4	16	1
291	鶏	C.jejuni	D	2	2	2	≦0.06	1	4	16	1
292	鶏	C.jejuni	F	4	2	2	≦0.06	0.12	1	8	0.25
293	鶏	C.jejuni	P	2	1	0.5	≦0.06	32	1	>64	16
294	鶏	C.jejuni	P	2	1	0.5	≦0.06	32	1	64	8
295	鶏	C.jejuni	B	2	1	2	≦0.06	0.5	4	>64	32
296	鶏	C.jejuni	F	2	1	0.5	≦0.06	0.12	1	8	0.5
297	鶏	C.jejuni	P	2	1	1	≦0.06	32	1	>64	8
298	鶏	C.jejuni	B	2	1	0.5	≦0.06	32	1	>64	16
299	鶏	C.jejuni	F	4	2	0.5	≦0.06	0.12	2	>64	32
300	鶏	C.jejuni	F	2	1	0.5	≦0.06	0.12	2	8	0.5
301	鶏	C.coli		1	2	>64	≦0.06	64	1	32	16
302	鶏	C.jejuni	B	2	1	2	≦0.06	1	4	>64	32
303	鶏	C.jejuni	G	32	0.5	4	≦0.06	>64	4	64	1
304	鶏	C.jejuni	G	32	0.5	2	≦0.06	>64	4	16	0.5
305	鶏	C.jejuni	C	32	1	1	≦0.06	0.12	2	>64	16
306	鶏	C.jejuni	F	4	2	4	≦0.06	0.25	2	4	0.25
307	鶏	C.jejuni	Y	32	0.5	1	≦0.06	0.12	1	64	16
308	鶏	C.jejuni	L	2	1	1	≦0.06	>64	2	16	0.5
309	鶏	C.jejuni	D	32	1	1	≦0.06	0.12	2	>64	16
310	鶏	C.jejuni	UT	2	0.25	0.5	≦0.06	0.12	1	2	≦0.06
311	鶏	C.jejuni	E	4	2	4	≦0.06	>64	8	16	1
312	鶏	C.jejuni	B	2	1	2	≦0.06	0.5	4	8	0.5
313	鶏	C.jejuni	C	0.5	1	0.5	≦0.06	0.12	0.5	4	0.12
314	鶏	C.jejuni	P	1	1	1	≦0.06	0.12	2	4	0.12
315	鶏	C.jejuni	UT	32	1	0.5	≦0.06	>64	2	4	0.25
316	鶏	C.jejuni	UT	32	1	1	≦0.06	0.12	2	>64	16
317	鶏	C.jejuni	D	2	1	1	≦0.06	32	2	8	0.25
318	鶏	C.jejuni	G	32	1	1	≦0.06	0.12	2	>64	16
319	鶏	C.jejuni	UT	32	0.5	1	≦0.06	0.12	1	64	16
320	鶏	C.jejuni	B	2	1	1	≦0.06	1	4	16	0.5
321	鶏	C.jejuni	G	32	0.5	1	≦0.06	0.12	2	4	0.12
322	鶏	C.jejuni	G	32	1	1	≦0.06	0.12	2	4	0.25
323	鶏	C.jejuni	UT	8	2	>64	≦0.06	>64	2	8	1
324	鶏	C.coli		8	2	>64	≦0.06	>64	2	8	1
325	鶏	C.jejuni	O	8	2	0.5	≦0.06	0.25	1	4	0.25
326	鶏	C.jejuni	Z	1	0.5	0.5	≦0.06	0.12	1	4	0.25
327	鶏	C.jejuni	P	32	1	1	≦0.06	>64	2	8	0.25
328	鶏	C.jejuni	Z	8	2	0.5	≦0.06	0.25	1	4	0.25
329	鶏	C.jejuni	UT	8	2	>64	0.12	>64	4	8	0.5
330	鶏	C.jejuni	B	4	1	2	≦0.06	1	4	16	0.5
331	鶏	C.jejuni	D	1	1	0.5	≦0.06	>64	2	>64	64
332	鶏	C.jejuni	E	32	1	0.5	≦0.06	>64	2	16	0.5
333	鶏	C.jejuni	L	2	1	1	≦0.06	32	2	>64	32
334	鶏	C.jejuni	L	2	2	0.5	≦0.06	>64	2	8	0.5
335	鶏	C.coli		2	1	1	≦0.06	32	1	>64	16
336	鶏	C.jejuni	B	2	1	1	≦0.06	1	2	>64	64
337	鶏	C.jejuni	G	2	1	1	≦0.06	32	1	>64	16
338	鶏	C.jejuni	O	16	0.5	0.5	≦0.06	≦0.06	0.5	4	0.25



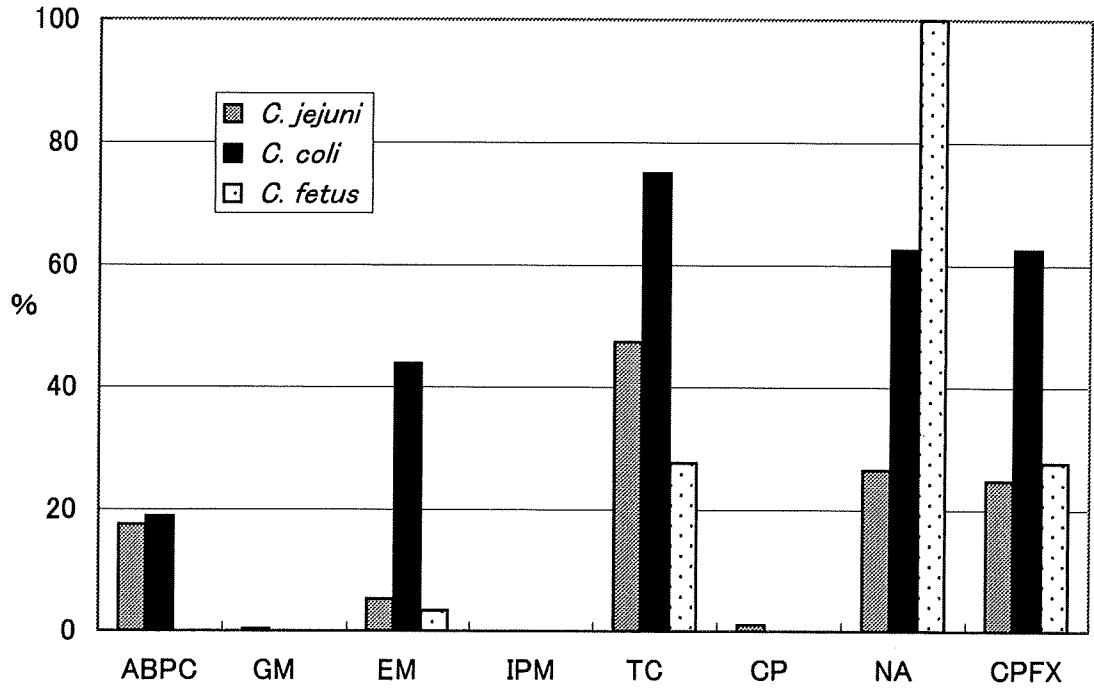
C. coli の各薬剤に対する MIC の分布 (%)



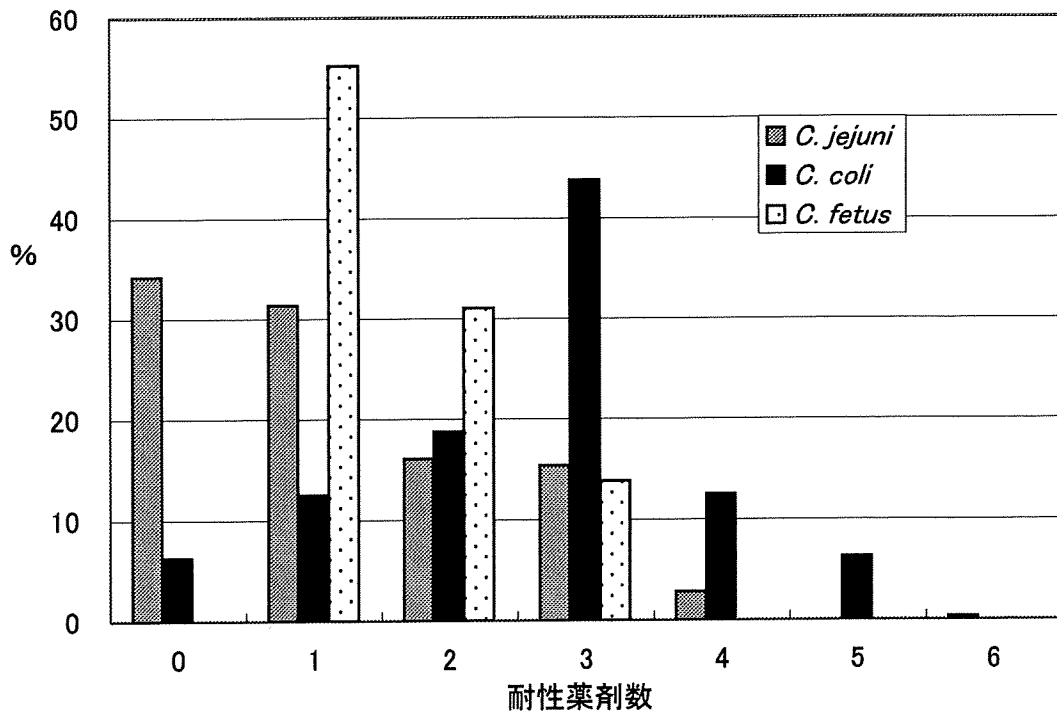
C. fetus の各薬剤に対する MIC の分布 (%)



薬剤耐性出現率



耐性薬剤数の分布



この添付文書をよく読んでから使用して下さい。

体外診断用医薬品

承認番号 20500AMZ00204000

※ 1998年5月改訂
1993年5月作成

M I C測定用

ドライプレート‘栄研’

(販売名は別表1参照)

341074

【開発の経緯及び特徴】

細菌検査において、臨床分離株の感受性試験を行うことは、適切な治療抗菌薬を選択するための重要な検査です。従来、臨床検査室での感受性試験はディスクによる検査が普及していました。

しかし、近年の抗菌薬の開発はめざましいものがあり、同一系統に属する抗菌薬でもそれぞれの抗菌スペクトルが微妙に異なることから、最小発育阻止濃度 (Minimum Inhibitory Concentration: M I C) を測定する方法が要求されています^{1),2)}。このような背景から、1980年米国臨床検査標準委員会 (National Committee for Clinical Laboratory Standards: N C C L S) が感受性試験方法の一つとして、微量液体希釈法の実施基準を設定し^{3),4)}、また国内においても1990年日本化学療法学会が「微量液体希釈法によるM I C測定法(日本化学療法学会標準法)」を報告しています⁵⁾。

ドライプレート‘栄研’は、この「微量液体希釈法によるM I C測定(日本化学療法学会標準法)」を行うための抗菌薬を含んだM I C測定用プレートです。ドライプレート‘栄研’を使用することで、随時簡便な操作でM I C測定ができます。また機器との組み合わせにより、試験作業の省力化、検査精度の向上がはかれます。

【本質(キットの構成)】

別表1, 2参照

【効能・効果(使用目的)】

細菌薬剤感受性検査 [最小発育阻止濃度(M I C)の測定]

【測定方法(測定原理)】

微量液体希釈法

【用法・用量(操作法)】

1. 用手法による操作法

1) 操作法 a (調製菌液を接種する場合)

(1) 試薬の調製

ドライプレート‘栄研’をそのまま使用します。

(2) 被検菌液の調製

- ①一夜培養した寒天培地上の被検菌体を滅菌生理食塩水(別売品)に1 McFarlandに相当する菌濃度に調製するか、ブレインハートインフュージョンブイヨン培地‘栄研’またはトリプトソイブイヨン培地‘栄研’の3~6 mLに接種して35±1℃で3~4時間培養した後、滅菌生理食塩水に1 McFarlandに相当する菌濃度に調製します。嫌気性菌の場合は、いずれの場合も感受性A B C Mブイヨン‘栄研’(別売品)を用いて2 McFarlandに相当する濃度に調製します。

②この調製菌液0.025mLをミューラーヒントンブイヨン‘栄研’（別売品）に加え、これを接種用被検菌液とします。なお、栄養要求の厳しい菌種（*Streptococcus* 属、*Haemophilus* 属の菌など）を試験する場合はミューラーヒントンブイヨン‘栄研’に所定量のストレプト・ヘモ サプリメント‘栄研’（別売品）を添加した培地を、嫌気性菌の場合は感受性ABCMBブイヨン‘栄研’を用いて接種用被検菌液を調製します。

(3)被検菌液の接種と培養

①(2)で調製した被検菌液を0.1mLずつドライプレート‘栄研’の各ウエルに接種します。これにより最終接種菌量は約 5×10^4 CFU/ウエルになります。嫌気性菌の場合は、約 10^5 CFU/ウエルになります。

②菌接種後、直ちに $35 \pm 1^\circ\text{C}$ で18～24時間培養します。嫌気性菌の場合は、嫌气的環境下で40～48時間培養します。

(4)判 定

①下記の基準に従い、明らかに菌の発育を認めたものを発育陽性、菌の発育が認められないものを発育陰性とします。

発育陽性の判定基準

肉眼的に混濁または直径1mm以上の沈澱が認められた場合

沈澱物の直径が1mm以下であっても沈澱塊が2個以上認められた場合

発育陰性の判定基準

肉眼的に混濁または沈澱が認められない場合

沈澱物があっても直径が1mm以下で1個の場合

2) 操作法 b (培地分注後、菌を接種する場合)

(1)試薬の調製

ドライプレート‘栄研’の各ウエルにミューラーヒントンブイヨン‘栄研’（栄養要求の厳しい菌種の場合はストレプト・ヘモ サプリメント‘栄研’添加ミューラーヒントンブイヨン‘栄研’、嫌気性菌の場合は感受性ABCMBブイヨン‘栄研’）を0.1mLずつ分注し、薬剤を溶解して使用します。

(2)被検菌液の調製

①操作法 a (2)被検菌液の調製①と同様に調製します。

②この調製菌液1mLを滅菌生理食塩水9mLに加え、均等な菌浮遊液を作り、これを接種菌液とします。嫌気性菌の場合は、調製菌液2mLを感受性ABCMBブイヨン‘栄研’8mLに加え、均等な菌浮遊液を作り、これを接種菌液とします。

(3)被検菌液の接種と培養

①(2)で調製した接種菌液の約0.002mLずつを、プレートの各ウエルに接種します。

②1)操作法 a (3)被検菌液の接種と培養②と同様に培養します。

(4)判 定

1)操作法 a (4)判定と同様に判定します。

2. 機器による操作方法

[菌液自動希釈・接種機(DP-100)および自動読みとり機(MR-5000)による操作の場合]

上記、1. 用手法による操作法のうち、「(2)被検菌液の調製の②(操作法 a のみ)」と「(3)被検菌液の接種と培養の①(操作法 a のみ)」および「(4)判定」の操作が自動的に行われます。

(菌の発育を波長630nmで測定し、濁度またはMICで表示します。)

【操作上の留意事項】

1. 測定試料の性質・採取法

抗菌薬のMICを測定する被検菌は、新鮮培養菌を使用します。保存菌株は、一般増殖培地で培養を繰り返したものを被検菌とします。

2. 妨害物質など

純培養菌を用いますので、雑菌汚染のない限りは特に影響するものではありません。

【測定結果の判定法】

抗菌薬の被検菌に対するMICは、細菌の発育を阻止した抗菌薬濃度系列のうち最小希釈濃度で表します。

[判定例]

抗菌薬希釈濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	C
菌の発育	-	-	+	+	+	+	+	+	+

MICは16($\mu\text{g/mL}$)と判定します。(Cは抗菌薬不含有培地)

【性能】

1. 感 度

自社施設において、日本化学療法学会の微量液体希釈法によるMIC測定法（日本化学療法学会標準法）でのMICが4倍以上差のある試験菌株を用いて試験を行ったとき、得られたMICはいずれの抗菌薬においても4倍以上の差が認められました。

2. 特 異 性

自社施設において、感受性値の明らかな試験菌株を用いて試験したとき、得られたMICは日本化学療法学会標準法でのMICと±1管以内で一致しました。

3. 同時再現性

自社施設において、上記2. 特異性の試験を3回繰り返し行ったとき、いずれも同一の結果を示しました。

4. 測定範囲

別表2に示した各抗菌薬の希釈系列の範囲。

【相 関 性】

日本化学療法学会の微量液体希釈法によるMIC測定法（日本化学療法学会標準法）との相関をみたところ、90~100%の一致率が得られました⁶⁾。

※【使用上又は取扱い上の注意】

1. 微生物の取り扱いに習熟した人の指導のもとに、バイオハザード対策を実施した上で使用して下さい。感染のおそれのある検体および被検菌の取扱いは十分に注意して下さい。
2. 使用の際は、室温に戻してから開封して下さい。
3. 接種用菌液の菌濃度は結果に影響することがありますので、必ず指定の濃度に調製して下さい。
4. 接種用菌液は調製後15分以内に接種して下さい。特に嫌気性菌は、空気中にさらすと生菌数の減少が起こるため、菌液の調製・接種は速やかに行い、嫌気的環境下で培養して下さい。

ドライプレート '栄研'
XSA7

2001.1.12

静岡県環境衛生科学研究所

(濃度は $\mu\text{g}/\text{ml}$)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	ABPC 128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.12	0.06
B	GM 128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.12	0.06
C	EM 128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.12	0.06
D	Control IPM	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.12	0.06
E	Control TC	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.12	0.06
F	Control CP	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.12	0.06
G	Control NA	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.12	0.06
H	Control CPF	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.12	0.06

分担研究報告書（平成12年度）

市販鶏肉由来菌株の性状（血清型、遺伝子型および自発凝集活性）に関する研究

分担研究者 伊藤喜久治
（東京大学大学院農学生命科学科）

市販鶏肉由来カンピロバクターの遺伝子型別と自発凝集活性に関する研究

分担研究者 伊藤喜久治（東京大学大学院）

研究要旨

市販鶏肉由来 *Campylobacter jejuni* 129 株の分子疫学的解析と病原性の指標として自発凝集活性を調べた。RAPD-PCR による遺伝子型別を行ったところ、すべての分離株が型別可能であり、18 のクラスターに分けられた。また分離菌株にはヒト分離株で報告されているものと同じ血清型が含まれていた。多くの市販鶏肉由来 *C. jejuni* は強い自発凝集活性を示し、病原因子としての細胞付着および菌体疎水結合能を有していることが示唆された。

協力研究者氏名	三澤尚明
所属施設名	宮崎大学
職名	助手

C. jejuni 33 株

C. coli 1 株

静岡県環境衛生科学研究所

C. jejuni 34 株

（うちヒト由来 1 株）

C. coli 1 株

A. 研究目的

市販ブロイラー肉より分離された *Campylobacter jejuni* を用いて、Random Amplified Polymorphism DNA-Polymerase Chain Reaction (RAPD-PCR) 法による分子疫学的調査を行うとともに、病原性の指標となる菌体の自発凝集活性を調べ、菌体側のリスクファクターを評価する。

C. coli およびヒト由来 *C. jejuni* の菌株数が少ないので、今回はブロイラー由来 *C. jejuni* 計 129 株を検査対象とした。供試菌株の Penner（耐熱性抗原）血清型別は各送付機関において実施された。

B. 研究方法

1) 供試菌株

新潟県食肉衛生検査センター

C. jejuni 30 株

秋田県衛生科学研究所

C. jejuni 36 株

（うちヒト由来 3 株）

C. coli 2 株

埼玉県衛生研究所

2) 遺伝子型別

菌体 DNA を CATB 法[1]によって抽出し、20ng/ μ l となるように調整した。10 塩基からなるランダムプライマー（5'-CAATCGCCGT-3'）を用いて RAPD-PCR [2]による遺伝子型別を行った。得られたバンドパターンから UPGMA 法によるクラスター分析[3]を実施し、血清型別との関連性について調べた。

RAPD-PCR の条件 (20 μ l/tube)

10x PCR buffer	2.0 μ l
dNTPs	250 μ M
Taq (Qiagen)	0.5 U
primer	160 nM
MgCl ₂	3 mM
DNA	20 ng

94°C 5 min

36°C 5 min

72°C 5 min

4 cycles

94°C 1 min

36°C 1 min

72°C 2 min

30 cycles

72°C 10 min

3) 自発凝集活性の測定

C. jejuni のビルレンスマーカーとしては細胞付着性、侵入性、毒素産生性などがあるが、いずれも試験操作が煩雑である。*C. jejuni* の自発凝集活性は、培養細胞への付着能ならびに菌体疎水結合能との間に正の相関性があり[4]、簡便に測定できる自発凝集活性を調べることで分離菌株の細胞付着性を検査することができる。そこでブロイラー由来株の自発凝集能を定量的に調べた。

血液寒天で培養した供試菌を滅菌蒸留水で2回洗浄した後、吸光度(550-600nm)が1.0となるようにPBSに浮遊させ小試験管3本に2mlずつ分注する。室温に24時間静置し、上清1mlの吸光度を測定する。強い自発凝集活性を示す菌株は低い吸光度を示し、逆に弱い菌株は高い吸光度を示

す。

C. 研究結果

1) 今回は *C. jejuni* が分離された産地のみの集計であるため、産地間の分離率を比較することはできないが、本州、九州産の市販ブロイラー肉は *C. jejuni* に広く汚染されていることが示唆された(表1)。

2) 部位別での分離率には差は認められなかった(表2)。

3) 19種類のO血清型が分離されたが、型別不能となる菌株も多数認められた。主要なO血清型は、B、C、F、およびGであった。日本国内で認められる *C. jejuni* 感染が関与すると考えられるギランバレー症候群患者から比較的高頻度に分離されるO19型(ここではOと表記されている)は、今回、ブロイラー肉から6株(4.6%)が分離された(表3)。

4) RAPD-PCRによるバンドパターンを基にクラスター分析(図1)を行ったところ、18の遺伝子型に分類され、3型、2型および6型が優勢であった(表4)。また、遺伝子型とO血清型による分類にはある程度の関連性が認められた(表5)。

5) 分離菌株の90%近くが強い自発凝集活性を示し、細胞付着性をもつことが示唆された(表6)。

D. 考察

キャンピロバクター食中毒の予防対策を講じるためには、本感染症におけるリスクファクターを明らかにすることが重要となる。環境中におけるリスクファクターの検索は、欧米を中心に散発性ならびに集団食中毒事例のケースコントロールスタ

ディによって明らかにされてきた[5]。キャンピロバクター感染症における重要なリスクファクターには、本菌に汚染された家禽・家畜の不完全調理肉、未殺菌乳、河川・井戸水等の摂取、あるいは保菌動物との濃厚な接触が考えられている。本菌に汚染された鶏肉の摂食による食中毒事例が全体の10～15%を占めることから、鶏肉が最も高いリスクファクターと考えられている[5]。本研究では、市販ブロイラー肉から分離された *C. jejuni* の菌体側のリスクファクターを明らかにするために、分離菌株の分子疫学的解析と病原因子マーカーとしての自発凝集活性を調べた。

分離菌株の HS 血清型の分布は、型別不能を含む 20 の血清型群に分けられ、B 群および C 群が最も高頻度に分離された。これらは、Penner 血清型ではそれぞれ HS2 と HS3 に相当するもので、貫名の国内における過去 20 年間の成績[6]でニワトリから HS2 が高頻度に分離されたとする報告と一致していた。同報告では、HS2、HS15 および HS4 がヒトから分離された主要な血清型であり、ニワトリがヒトのキャンピロバクター感染症に関連していることを示唆している。

分離株の RAPD-PCR による遺伝子型別では、供試したすべての菌株が型別され、18 群に分けることができた。このことは市販鶏肉由来 *C. jejuni* が遺伝子レベルにおいて多様性を持つことを示しており、様々なポピュレーションから構成されていると考えられた。遺伝子型別では血清型のように型別不能となることはないので、有効な疫学的解析手段であると考えられる。今後はヒト由来株においても同様な分子疫学

的解析を行い、両由来株の関連性を明らかにすることが必要と思われる。

これまでの本菌の病原性に関する研究では、さまざまな由来の菌株間で大きな差異は認められていない。したがって、鶏由来株に特徴的な病原因子は明らかにされていない。今回調査した分離菌株の自発凝集活性においても供試菌株のほとんどが強い凝集活性を示し、宿主への感染成立に重要である細胞への付着能や疎水結合能を有していると考えられた。一方、わが国では、キャンピロバクター感染症に起因すると考えられるギランバレー症候群 (GBS) 患者から Penner の血清型 HS19 が高頻度に検出されている[7]。HS19 群は食中毒患者から分離されるのは稀であるため、GBS 発症に関連する何らかの菌体側あるいは宿主側の要因が存在すると考えられているが、それに関連した因子は明らかにされていない。さらに HS19 の環境中における分布についても明らかにされていなかった。今回の調査において HS19 に属する *C. jejuni* が 6 株分離され、ブロイラー肉は GBS 発症の感染源になりうることを示唆された。

今後は、動物感染実験も含めた分離菌株の様々な病原因子についても解析し、菌体側のリスクファクターについてさらに研究を行う必要があると思われる。

E. 結論

1) 市販鶏肉より分離された *C. jejuni* は多くの HS 血清型に属し、ヒト分離株で報告されている血清型と同じものを含んでいた。

2) 市販鶏肉由来 *C. jejuni* 株は遺伝子

レベルにおいて多様性を示し、多くのポピュレーションから構成されていることが示唆された。

3) 多くの市販鶏肉由来 *C. jejuni* 株は強い自発凝集活性を示し、病原因子としての細胞付着能および疎水結合能を有していることが示唆された。

F. 参考文献

[1] Wilson K. Preparation of genomic DNA from bacteria. In: Ausubel FM et al. ed. Current protocols in molecular biology. Vol. 1. New York: John Wiley & Sons Inc. 1987, Unit 2.4.

[2] Akopianz N, Bukanov NO, Westblom TU, Kresovich S, and Berg DE. 1992. DNA diversity among clinical isolates of *Helicobacter pylori* detected by PCR-based RAPD fingerprinting. Nucleic Acid Res. 20: 5137-5142.

[3] Sneath PH, Sokal RR. Numerical taxonomy, the principles and practice of numerical classification. San Francisco: W. H. Freeman Co. 1973.

[4] Misawa N and Blaser MJ. Detection and characterization of autoagglutination activity by *Campylobacter jejuni*. Infect. Immun. 2000, 68: 6168-6175.

[5] Friedman CR, Neimann J, Wegener HC, and Tauxe RV. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrialized

nations. In: Nachamkin I, Blaser MJ ed. *Campylobacter*, Washington D. C. : ASM press. 2000, 121-138.

[6] 貫名正文 (2000) カンピロバクターの結成群別、1979~1999、平成 12 年度日本獣医公衆衛生学会年次学会講演要旨、p.482.

[7] Kuroki S, Saida T, Nukina M et al. *Campylobacter jejuni* strains from patients with Guillain-Barré syndrome belong to Penner serogroup 19 and contain β -N-acetylglucosamine residues. Ann Neurol 1993, 33: 243-247.

G. 研究発表

1. 論文発表

Misawa N and Blaser MJ. Detection and characterization of autoagglutination activity by *Campylobacter jejuni*. Infect. Immun. 2000, 68: 6168-6175.

2. 学会発表

川本久之、川島久実子、近藤房生、川原聡、六車三治男、山内清、三澤尚明 真空包装ブロイラー肉の汚染細菌の増殖・生存性に及ぼす保存温度の影響について 第131回日本獣医学会学術集会(2001年4月)

表1 産地別による分離成績

産地	分離数	(%)
岩手県	62	(48.1)
静岡県	26	(20.2)
宮崎県	12	(9.3)
国産	8	(6.2)
新潟県	6	(4.7)
不明	4	(3.1)
秋田県	3	(2.3)
鹿児島県	3	(2.3)
青森県	3	(2.3)
宮城県	2	(2.3)
合計	129	

表2 部位別による分離成績

部位	分離数	(%)
胸肉	52	(40.3)
もも肉	40	(31.1)
手羽先	36	(27.9)
皮	1	(0.8)
合計	129	

表3 血清型別による分離成績

血清型	菌株数	(%)
B	17	(13.2)
UT	17	(13.2)
C	16	(12.4)
F	10	(7.8)
G	10	(7.8)
L	9	(7)
D	8	(6.2)
A	6	(4.7)
O	6	(4.7)
P	5	(3.9)
Z7	5	(3.9)
K	4	(3.1)
Y	3	(2.3)
Z4	2	(1.6)
E	2	(1.6)
Z	2	(1.6)
R	1	(0.8)
N	1	(0.8)
I	1	(0.8)
J	1	(0.8)
Fw	1	(0.8)
Cw	1	(0.8)
Fw/Z5w	1	(0.8)
合計	129	

表4 遺伝子型別による分離成績

RAPD 型	菌株数	(%)
3	27	(20.9)
2	18	(14)
6	143	(10.9)
7	13	(10.1)
13	12	(9.3)
1	11	(8.5)
14	7	(5.4)
11	6	(4.7)
12	5	(3.9)
9	3	(2.3)
15	3	(2.3)
4	2	(1.6)
5	2	(1.6)
17	2	(0.8)
8	1	(0.8)
10	1	(0.8)
16	1	(0.8)
18	1	(0.8)
合計	129	

表5 血清型と遺伝子型の関連性

RAPD 型	血清型(菌株数)
1	B(4), D(2), A, C, Z4, UT(2)
2	A(4), D(2), G(2), B, C, E, L, O, Y, Z4, UT(3)
3	C(12), L(4), D(2), G(2), B, P, Y, UT(4)
4	G(2)
5	D, E
6	B(4), G(4), C, I, O, Y, UT(2)
7	B(4), L(3), A, D, J, K, UT(2)
8	N
9	B(2), UT
10	R
11	K(3), F(2), L
12	O(4), UT
13	F(8), P(3), UT
14	Z7(5), Z(2)
15	B, F, P
16	C
17	C, UT
18	UT

UT:型別不能

表6 分離菌株の自発凝集活性

吸光度(A550)	鶏肉由来 (%)	食中毒由来 (%)
0.00-0.10	75 (58.1)	3 (75)
0.11-0.20	25 (19.4)	
0.21-0.30	14 (10.9)	1 (25)
0.31-0.40	6 (4.7)	
0.41-0.50	2 (1.6)	
0.51-0.60	2 (1.6)	
0.61-0.70	1 (0.8)	
0.71-0.80	2 (1.6)	
0.81-0.90	1 (0.8)	
0.91-1.00	1 (0.8)	
合計	129	4

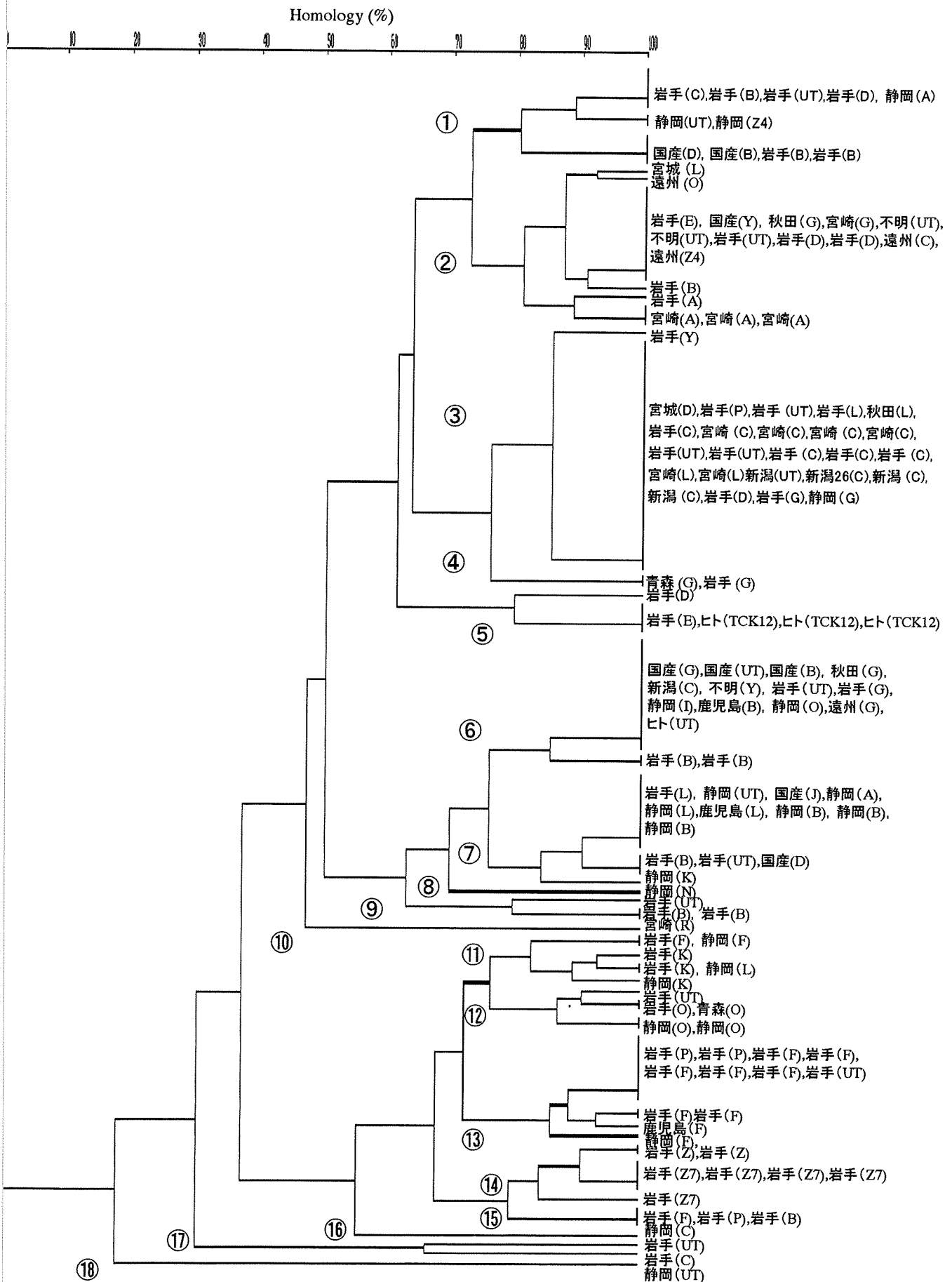


図 1 分離菌株のRAPD-PCRによるバンドパターンのクラスター分析から作成した系統樹