

# 小動物における薬剤耐性菌の動向

鎌田 寛

日本大学生物資源科学部獣医微生物学教室 (〒 252-8510 藤沢市亀井野 1866)

## 1. 緒言

小動物（主に犬，猫）の耐性菌発生・保有状況は，諸外国において概ね数～十数%とされ，耐性菌分離株中に MRSA のような高度耐性株を高率 (>50%) に含む例も報告されている [4, 14, 17]。獣医臨床での主な耐性菌発生・伝播の原因には，獣医療環境との関連 [10, 11, 19] や，異宿主間あるいは宿主・ヒト間での菌株の移動 [5, 7, 12, 18] などが指摘されている。また，近年の獣医療の進歩は延命率や術後生存率を高めた反面，日和見感染の難治要因として耐性菌の脅威を高めている [2, 3, 9, 13, 16]。

このような状況に対して，日本の小動物由来抗菌剤耐性菌の現状に関する知見は乏しいまま経過してきた。宿主の抗菌剤接触頻度の低さ，飼養環境の衛生・栄養条件の改善，保菌動物との水平感染頻度の少なさなどが，日本では耐性菌の発生を比較的低い値に留めているとされている。

小動物における抗菌剤使用が一般化した今日，耐性菌出現の懸念は異なると考えねばならない。拡大しがちな抗菌剤使用が耐性菌発生の素地をつくる一方，宿主高齢化は薬剤投与頻度や保菌動物との接触機会の増加を生み，これらが相俟って耐性菌発生の要因を形成している。しかしながら，小動物における耐性菌保有の実態や発生・伝播の現況は不明で，このため獣医療における耐性化に対する関心は一様でない。

小動物における耐性菌の現状を検討する目的で，小動物由来株の抗生物質耐性度を検査するとともに，分離株の伝播様式について検討を試みた。

## 2. 材料および方法

### 1) 被検菌

動物病院，大学家畜病院来院小動物（犬，猫）の細菌検査材料および直腸内容清拭試料ならびに抗生物質未投与でかつ罹病歴のない健康な犬と猫の口腔および直腸内各清拭試料（湿重量平均 0.1g/ 試料）を用いた。5%羊血液加寒天，5%馬血液加 GAM 寒天，DHL 寒天に塗抹後 37℃，48 時間好・嫌気培養を施し，形成集落を釣菌，純培養した。純培養株に対し生化学的性状検査により菌種鑑別を行った。

### 2) 薬剤感受性試験

別途保存の健康な犬と猫由来感受性 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)，*Escherichia coli* (*E. coli*) および *Klebsiella* spp. (n= 各 20) を用い，MIC 範囲，MIC<sub>50</sub>，MIC<sub>90</sub> をカップ法で測定後ブレイクポイントを設定し，この濃度を超える場合を耐性株とした。NCCLS 法に準じ寒天平板希釈法によりアンピシリン (ABPC)，オキサシリン (MIPIC)，セファレキシム (CEX)，セファロキシム (CXM)，セフトキシム (CTX)，カナマイシン (KM)，ゲンタマイシン (GM)，クロラムフェニコール (CP)，オキシテトラサイクリン (OTC)，エンフロキサシン (ERFX) につき検討した (表 1)。

### 3) 薬剤耐性遺伝子

ブドウ球菌属の耐性株について，PCR 法により *mecA* 遺伝子保有を検査した [8, 15, 17]。グラム陽性球菌およびグラム陰性桿菌の耐性株に関し

表1 使用抗生物質のMIC 設定

グラム陽性菌					
抗生物質	略号	MIC 範囲	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	BP*
アンピシリン	ABPC	0.05-6.25	0.1	3.13	6.25
オキサシリン	MPIPC	0.05-12.5	0.39	0.78	1.56
セファレキシム	CEX	0.1-6.25	0.78	3.16	6.25
セファロキシム	CXM	0.1-6.25	0.39	3.13	6.25
セフォタキシム	CTX	0.1-6.25	0.39	1.56	3.13
カナマイシン	KM	0.1-100	0.78	3.13	6.25
ゲンタマイシン	GM	0.1-100	0.2	0.78	1.56
クロラムフェニコール	CP	0.1-100	6.25	25.0	50.0
オキシテトラサイクリン	OTC	0.1-100	0.78	50.0	100.0
エンロフロキサシン	ERFX	0.1-50	0.1	0.2	0.4
グラム陰性菌					
抗生物質	略号	MIC 範囲	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	BP*
アンピシリン	ABPC	3.13-100	3.13	25	50
セファレキシム	CEX	1.56-100	1.56	25	25
セファロキシム	CXM	1.56-100	1.56	12.5	6.25
セフォタキシム	CTX	1.56-100	0.78	1.56	3.13
カナマイシン	KM	3.12-100	0.78	12.5	25
ゲンタマイシン	GM	3.12-100	0.78	3.13	6.25
クロラムフェニコール	CP	0.1-100	3.12	12.5	25
オキシテトラサイクリン	OTC	0.1-100	3.12	25	50
エンロフロキサシン	ERFX	0.1-50	0.15	0.31	0.78

\*: ブレックポイント

( $\mu\text{g/mL}$ )

アクロモペプチダーゼ法およびアルカリ-SDS 法 [1] によりプラスミド分離を行い、分離プラスミドを用いた同菌種薬剤感受性株に対する形質転換実験 [6] から分離プラスミドと抗菌剤との関連を調べた。耐性関連プラスミド非保有抗菌剤 *E. coli* 株による耐性遺伝子の接合伝達能を、乳糖非分解性薬剤感受性 *E. coli* 変異株と選択培地を用いて検討した。

#### 4) 高度耐性株の MIC 測定

分離株中、高い抗菌剤耐性を示したメチシリン耐性ブドウ球菌 (MRS), *Pseudomonas auruginosa* (*P. aeruginosa*) 分離株について、それぞれ ABPC, MPIPC, テトラサイクリン (TC), CP, CTX, ERFX あるいはアミカシン (AMK), イミペナム (IPM), シプロフロキサシン (CPFX) に対する MIC 測定を行った。

### 3. 結果

#### 1) 小動物における耐性菌保有率

臨床由来の犬 1,783 例のうち 208 例 (11.7%), 猫 435 例中 47 例 (10.8%) に耐性株保有を認めた (表 2)。

全検査株中約 10.1% が被験抗生物質のいずれかに対して耐性を示し、由来動物別に検査株をみると、検出率では犬由来 2,716 株中 272 株 (10.0%),

表 2 小動物臨床例における耐性菌保有状況

	犬	猫	計
検査例数	1,783	435	2,218
耐性株保有例数	208	47	255
比率 (%)	11.7	10.8	11.5
検査株数	2,716	680	3,396
耐性株数	272	70	342
比率 (%)	10.0	10.3	10.1

猫由来 680 株中 70 株 (10.3%) であった。抗生物質未投与で罹患歴の無い健康犬および猫 (各 n=10) からは耐性菌を検出しなかった。

### 2) 耐性菌種発生の年次推移

1994 年の調査結果で、犬由来の抗菌剤耐性コアグラゼ陽性ブドウ球菌 (CPS) 2 株を認めた (表 3)。過去 5 年間 (2000 ~ 2004) の年次毎の検査株総数に対する耐性株検出割合は 3.1% から 16.0% に上昇した。

抗菌剤耐性を示す菌種として、CPS およびコアグラゼ陰性ブドウ球菌 (CNS) を定期的に検出し、2001 年以後はグラム陰性通性嫌気性菌の検出数増加を認めた。

*E. coli*, *K. pneumoniae* を含む *Klebsiella* 属菌, *E. tarda* などを含む *Edwardsiella* 属菌を分離し、2003 年以後 *P. aeruginosa* の強度耐性株分離例が出現した。犬および猫由来耐性株は生物学的性状で相違を示さず、いずれも年度毎に検出率の増加傾向を呈し、猫で 2001 年以後、犬では 2002 年以後分離総数の約 10% 程度の株に耐性化を認めた。

### 3) 小動物由来耐性株の耐性型

耐性株における耐性型を検討し、CPS, CNS, *E. coli*, *Klebsiella* spp. および *Edwardsiella* spp. の

半数以上に 2 剤耐性を認めた。CPS, CNS および *E. coli* では、単剤耐性が次いだ。3 剤耐性株の出現率は CPS, CNS および *E. coli* で 10% 以内であったが、*Klebsiella* spp. は 14.6% と最も高率を示した。また、*P. aeruginosa* は供試全抗菌剤に耐性を示した (表 4)。

CPS, CNS および *E. coli* では主に ABPC, CEX, GM および KM に対する単剤耐性を認めた (表 5)。CPS, CNS における 2 剤耐性は主に ABPC+CEX (44.9, 52.3%), CEX+CXM (23.1, 34.1%) で認められ、CPS では ABPC+KM (15.4%) の組合せに対する耐性株を比較的高率に検出した。*E. coli*, *Klebsiella* spp., *Edwardsiella* spp. は ABPC+KM (28.1, 22.9, 50.0%) あるいは ABPC+CP (21.9, 20.0, 50.0%) に対する 2 剤耐性株の分離頻度が相対的に高く、さらに *E. coli* ではセフェム系抗生物質に対する 2 剤耐性株が多い傾向であった。3 剤耐性では CPS, CNS で共に ABPC+MIPIC+CEX 耐性 (60.0, 25.0%) を認めた。グラム陰性耐性桿菌では主に ABPC+CTX+ERFX および ABPC+CEX+CXM, CTX+GM+ERFX に対する耐性を検出した。*P. aeruginosa* を犬および猫から共に分離し、分離株はいずれも供試した全抗菌剤に耐性を示した。

同一分離菌種 (属) の耐性度について、由来動物毎での相違を認めなかった。耐性型は、年度経

表 3 小動物由来の薬剤耐性菌出現状況の推移

検出年度	1994	2000	2001	2002	2003	2004	株数
年度別総耐性株検出率 (%)	1.9	3.1	4.9	8.9	14.2	16.0	
耐性菌総検出株数 / 検査株総数	2 (0) / 103 (0)	15 (3) / 480 (96)	26 (9) / 524 (104)	68 (17) / 761 (152)	110 (19) / 773 (166)	121 (22) / 755 (162)	
耐性菌種別株数							
CPS	2 (0)*	6 (2)	13 (5)	21 (6)	43 (7)	47 (9)	132
CNS	—	9 (1)	10 (3)	18 (5)	24 (5)	27 (5)	88
<i>E. coli</i>	—	—	3 (1)	13 (3)	17 (3)	19 (4)	52
<i>Klebsiella</i> spp.	—	—	—	11 (3)	12 (4)	18 (3)	41
<i>Edwardsiella</i> spp.	—	—	—	—	1 (0)	3 (0)	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	—	—	—	—	2 (0)	4 (0)	6
その他 (グラム陰性通性嫌気性桿菌)	—	—	—	5 (0)	11 (0)	3 (1)	19
						計	342
年度別犬耐性株検出率 (%)	1.9	3.1	3.6	8.4	14.9	16.7	
年度別猫耐性株検出率 (%)	0	3.1	8.7	11.2	11.4	13.6	

( ) : うち猫由来株数

表4 耐性菌属における耐性型の比率

菌 属	菌属別 分離株総数	耐性型		
		1 剤	2 剤	3 剤以上
CPS	132	49 (37.1%)	78 (59.1)	5 ( 3.8)
CNS	88	36 (40.9)	44 (50.0)	8 ( 9.1)
<i>E. coli</i>	52	17 (32.7)	32 (61.5)	3 ( 5.8)
<i>Klebsiella</i> spp.	41	0 (0)	35 (85.4)	6 (14.6)
<i>Edwardsiella</i> spp.	4	0 (0)	4 (100)	0 (0)
<i>P. aeruginosa</i>	6	0 (0)	0 (0)	6 (100)*
その他	19	2 (10.5)	17 (89.5)	0 (0)
計	342	104 (30.4)	210 (61.4)	28 ( 8.2)

\*：3 剤以上耐性。他は 3 剤耐性

表5 小動物由来耐性菌の耐性薬剤傾向

## 単剤耐性

薬 剤	耐性菌種と株数			
	CPS	CNS	<i>E. coli</i>	その他
ABPC	32 (65.3%)	25 (69.4)	3 (17.6)	—
CEX	15 (30.6)	11 (30.6)	2 (11.8)	2 (100.0)
KM	—	—	12 (70.6)	—
GM	2 ( 4.1)	—	—	—
計	49	36	17	2

## 2 剤耐性

薬 剤	耐性菌種と株数					
	CPS	CNS	<i>E. coli</i>	<i>Klebsiella</i> spp.	<i>Edwardsiella</i> spp.	その他
ABPC, MPIP	4 ( 5.1)	2 ( 4.5)	—	—	—	—
ABPC, KM	12 (15.4)	—	9 (28.1)	8 (22.9)	2 (50.0)	—
ABPC, CP	7 ( 8.9)	2 ( 4.5)	7 (21.9)	7 (20.0)	2 (50.0)	—
ABPC, CEX	35 (44.9)	23 (52.3)	3 ( 9.4)	—	—	7 (41.2)
CEX, CXM	18 (23.1)	15 (34.1)	6 (18.8)	—	—	6 (35.3)
CEX, CTX	—	—	4 (12.4)	14 (40.0)	—	4 (23.5)
CXM, CTX	2 ( 2.6)	2 ( 4.5)	—	—	—	—
CEX, GM	—	—	3 ( 9.4)	6 (17.1)	—	—
計	78	44	32	35	4	17

## 3 剤以上耐性

薬 剤	耐性菌種と株数				
	CPS	CNS	<i>E. coli</i>	<i>Klebsiella</i> spp.	<i>P. aeruginosa</i>
ABPC, MPIP, CEX	3 (60.0)	2 (25.0)	—	—	—
ABPC, CEX, CXM	1 (20.0)	—	2 (66.7)	—	—
ABPC, CTX, ERFX	—	—	—	3 (50.0)	—
CEX, CXM, CTX	1 (20.0)	6 (75.0)	—	1 (16.7)	—
CTX, GM, ERFX	—	—	1 (33.3)	2 (33.3)	—
供試全薬剤	—	—	—	—	6 (100.0)
計	5	8	3	6	6

過につれ多剤耐性型へ移行する傾向を示した。

#### 4) 耐性 CPS, CNS の耐性遺伝子保有状況と耐性形質転換能

CPS, CNS 耐性株のプラスミド平均保有率はそれぞれ 70.8%, 73.9% でほぼ同様な値を示した (表 6)。単剤耐性型, 2 剤耐性型株におけるプラスミド保有率も概ね類似しており, CPS では ABPC+CP, ABPC+KM 耐性株でそれぞれ 28.6% および 58.3% に認められたが, CNS では検出しなかった。3 剤耐性型では ABPC+MPIPC+CEX 耐性株でプラスミド保有を CPS で 33.3%, CNS で 50.0% にそれぞれ認めた。また, CNS では CEX+CXM+CTX 耐性 6 株中 2 株 (33.3%) でプラスミドを検出した。

薬剤感受性の異なる同種菌株間での分離プラスミドによる耐性形質転換実験で, 2 剤耐性型株由来プラスミドの高い耐性形質転換率を CPS (86.8%) および CNS (91.2%) の双方で観察した (表 7)。3 剤耐性型において ABPC+MPIPC+CEX 耐性株由来プラスミドは, CPS (100%) および CNS (100%) に高い耐性形質転換能を示した。また, CNS では CEX+CXM+CTX 耐性株由来プラスミドで高い転換率 (100%) を認めた。転換率の平均的比較で, CNS 由来プラスミド (75.4%) は, CPS 由来プラスミドの転換割合 (62.0%) を上回った。

5) 耐性 *E. coli*, *Klebsiella* spp. および *Edwardsiella* spp. の耐性遺伝子保有状況と耐性形質転換能  
グラム陰性菌の耐性株におけるプラスミド平均保有率は *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Edwardsiella* spp., *P. aeruginosa* およびその他の菌について 40.4, 17.1, 0.0, 66.7 および 21.1% であった (表 8)。*E. coli* および *Klebsiella* spp. 以外のグラム陰性耐性株ではプラスミド保有例が少なかった。*E. coli* 単剤耐性型, 2 剤耐性型で, *Klebsiella* spp. の 2 剤耐性株 (CEX+CTX, 42.9%) で, それぞれ比較的高いプラスミド保有率を認めた。3 剤耐性株では, ABPC+CEX+CXM 耐性 *E. coli* および ABPC+CTX+ERFX 耐性 *Klebsiella* spp. のそれぞれ一部でプラスミドを分離した。

分離プラスミドによる耐性形質転換率は, 単剤耐性型 71.4%, 2 剤耐性型 91.3% および 3 剤耐性型 100.0% をそれぞれ示した (表 9)。単剤耐性における KM (33.3%), 2 剤耐性における ABPC+KM (60.0%) を除き, 分離プラスミドで高い形質転換結果 (100.0%) を得た。

#### 6) プラスミド非保有 *E. coli* 耐性株の耐性形質転換

非プラスミド性 *E. coli* 耐性株による感受性株への接合性耐性伝達は, 単剤耐性型 36.4%, 2 剤耐

表 6 小動物由来 CPS, CNS 耐性株のプラスミド保有率と耐性形質転換能

耐性型	CPS			CNS		
	耐性分離株数	プラスミド保有株数	保有率 (%)	耐性分離株数	プラスミド保有株数	保有率 (%)
ABPC	30	24	80.0	25	21	84.0
CEX	15	12	80.0	11	7	63.6
GM	2	2	100.0	0	—	—
ABPC, MPIPC	4	4	100.0	2	2	100.0
ABPC, CEX	35	27	77.1	23	18	78.3
ABPC, CP	7	2	28.6	2	0	0.0
ABPC, KM	12	7	58.3	0	—	—
CEX, CXM	18	11	61.1	15	12	80.0
CEX, CTX	2	2	100.0	2	2	100.0
ABPC, MPIPC, CEX	3	1	33.3	2	1	50.0
ABPC, CEX, CXM	1	0	0.0	0	—	—
CEX, CXM, CTX	1	0	0.0	6	2	33.3
計	130	92	70.8	88	65	73.9

表7 分離プラスミドの耐性形質転換能

耐性型	転換型							
	r-CNS - sCNS			小計	r-CNS - sCNS			小計
	使用プラスミド数	転換陽性株数	転換率(%)		使用プラスミド数	転換陽性株数	転換率(%)	
ABPC	24	8	33.3	26.3% (10/38)	21	11	52.4	53.6% (15/28)
CEX	12	2	16.7		7	4	57.1	
GM	2	0	0.0		—	—	—	
ABPC, MPIP	4	4	100.0	86.8% (46/53)	2	2	100.0	
ABPC, CEX	27	24	88.9		18	18	100.0	
ABPC, CP	2	2	100.0	—	—	—	91.2% (31/34)	
ABPC, KM	7	6	85.7	—	—	—		
CEX, CXM	11	8	61.1	12	9	75.0		
CEX, CTX	2	2	100.0	2	2	100.0		
ABPC, MPIP, CEX	1	1	100.0	100% (1/1)	1	1	100.0	100% (3/3)
ABPC, CEX, CXM*	—	—	—		—	—	—	
CEX, CXM, CTX	—	—	—		2	2	100.0	
計	92	57	62.0		65	49	75.4	

r: 薬剤耐性 s: 薬剤感受性 \*: 転換例無し

性型 61.6%, 3 剤耐性型 100.0%であった(表 10)。単剤耐性では ABPC, 2 剤耐性では ABPC+CEX, CEX+CXM, CEX+CTX, 3 剤耐性では ABPC+CEX+CXM および CTX+ERFX+GM の各耐性株に高率な転換能を認めた。一方, 単剤耐性型 KM (22.2%), 2 剤耐性型 ABPC+KM (25.0%) および ABPC+CP (0.0%) を示した株の転換能は低率であった。

7) MRS および *P. aeruginosa* 分離株の耐性性状 *mecA*-PCR に反応し, MPIP 耐性(閾値; 8  $\mu$ g/mL)を示した株を MRS として 2003 年 4 株, 2004 年 7 株をそれぞれ検出した(表 11)。分離株はいずれも臨床由来で, 菌種として *S. aureus* 7 株, *S. epidermidis* 4 株を同定した。*S. aureus* 分離株の MIC 値は *S. epidermidis* に比べ高い値を示した。

異なる犬の臨床例から, *P. aeruginosa* 6 株を分離した(表 12)。分離各株はいずれも供試全抗菌剤に耐性を示した。2003 年に分離した 2 株についてアミカシン (AMK), イミペナム (IPM), シプロフロキサシン (CPF) の効果を調べたところ感受性を認めた。しかし, 2004 年の分離株 4 株はいずれも耐性を示した。これら 4 株はサイズの異なるプラスミドを保有していたが形質転換および *E. coli* への接合試験は共に陰性を示した。

#### 4. 考 察

1960 年代初頭に発生し, 1980 年代以後急速に日本国内へ浸透した MRSA は, 感染症問題の象徴的事例として, 耐性菌への広範な注意を喚起するきっかけとなった。耐性菌は医療機関で発生し易く, 院内感染例の増加をふまえ, 獣医療においてもその発生予防に留意が払われ始めている。

経年検査の結果, 事前の感受性検査に基づき最小量の投与を原則とした診治療機関の患者においても, 耐性菌保有率の上昇しつつある現状が明らかとなった。保有率年次上昇の推移速度, 分離耐性株の示す耐性型の変化と多剤化への移行傾向は, 引き続き注意深い観察による耐性菌監視体制の継続と強化を促している。

耐性菌に対する有効あるいは早急な対策の見当たらずに現在, 獣医療現況下で進行しつつある耐性菌問題への対応には, 予防的検討が不可欠である。既に一部獣医療機関では, 常に院内感染防止へ向けた配慮を厳重に課すようになった。獣医療機関のような閉鎖性の高い空間では, 耐性株の循環的な移動と感染が伝播原因を構成する。このため, 耐性菌防圧には獣医療側の消毒強化措置と共

表 8 薬剤耐性 *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Edwardsiella* spp. のプラスミド保有率

耐性型	<i>E. coli</i>			<i>Klebsiella</i> spp.			<i>Edwardsiella</i> spp.		
	耐性 分離株	プラス ミド保 有株数	保有率 (%)	耐性 分離株	プラス ミド保 有株数	保有率 (%)	耐性 分離株	プラス ミド保 有株数	保有率 (%)
ABPC	3	1	33.3	0	—	—	0	—	—
CEX	2	2	100.0	0	—	—	0	—	—
KM	12	3	25.0	0	—	—	0	—	—
ABPC, CEX	3	0	0.0	0	—	—	0	—	—
ABPC, CP	7	4	57.1	7	0	0.0	2	0	0.0
ABPC, KM	9	5	55.6	8	0	0.0	2	0	0.0
CEX, CXM	6	3	50.0	0	—	—	0	—	—
CEX, CTX	4	2	50.0	14	6	42.9	0	—	—
CEX, GM	3	0	0.0	6	0	0.0	0	—	—
ABPC, CEX, CXM	2	1	50.0	0	—	—	0	—	—
ABPC, CTX, ERFX	0	—	—	3	1	33.3	0	—	—
CEX, CXM, CTX	0	—	—	1	0	0.0	0	—	—
CTX, ERFX, GM	1	0	0.0	2	0	0.0	0	—	—
全薬剤	0	—	—	0	—	—	0	—	—
計	52	21	40.4	41	7	17.1	4	0	0.0

耐性型	<i>P. aeruginosa</i>			その他		
	耐性 分離株	プラス ミド保 有株数	保有率 (%)	耐性 分離株	プラス ミド保 有株数	保有率 (%)
ABPC	0	—	—	0	—	—
CEX	0	—	—	2	1	50.0
KM	0	—	—	0	—	—
ABPC, CEX	0	—	—	7	3	42.9
ABPC, CP	0	—	—	0	—	—
ABPC, KM	0	—	—	0	—	—
CEX, CXM	0	—	—	6	0	0.0
CEX, CTX	0	—	—	4	0	0.0
CEX, GM	0	—	—	0	—	—
ABPC, CEX, CXM	0	—	—	0	—	—
ABPC, CTX, ERFX	0	—	—	0	—	—
CEX, CXM, CTX	0	—	—	0	—	—
CTX, ERFX, GM	0	—	—	0	—	—
全薬剤	6	4	66.7	0	—	—
計	6	4	66.7	19	4	21.1

に細菌側の伝播能力に対する理解が必要で、耐性関連遺伝子による多様化機構の解明が重要である。

耐性遺伝子の変異は、単剤耐性型の出現や多剤耐性型の出現・移行をもたらす直接的原因である。抗菌剤耐性は当初、主に細菌の薬剤暴露に基

づく直接的、あるいは間接的影響による変異と考えられる。耐性菌発生抑制に関する一連の指摘から、抗菌剤大量使用は一般に収束し、抗菌剤に対する菌の接触機会は減少している。しかし、今回の調査から、既に細菌学的な汚染予防措置を執る環境にも、耐性菌発生の危惧は残存していると考

表9 薬剤耐性 *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Edwardsiella* spp. から分離したプラスミドの耐性形質転換能

耐性型	使用プラスミド数	転換陽性株数	転換率 (%)	小計	転換型
ABPC	1	1	100.0	71.4% (5/7)	<i>rE.coli-sE.coli</i>
CEX	3	3	100.0		<i>rE.coli-sE.coli</i> , <i>r</i> その他- <i>sE.coli</i>
KM	3	1	33.3		<i>rE.coli-sE.coli</i>
ABPC, CEX	3	3	100.0	91.3% (21/23)	<i>r</i> その他- <i>sE.coli</i>
ABPC, CP	4	4	100.0		<i>rE.coli-sE.coli</i>
ABPC, KM	5	3	60.0		<i>rE.coli-sE.coli</i>
CEX, CXM	3	3	100.0		<i>rE.coli-sE.coli</i>
CEX, CTX	8	8	100.0		<i>rE.coli-sE.coli</i> , <i>rKlebsiella-sKlebsiella</i>
CEX, GM	0	—	0.0		—
ABPC, CEX, CXM	1	1	100.0		<i>rE.coli-sE.coli</i>
ABPC, CTX, ERFX	1	1	100.0		100.0% (2/2)
CEX, CXM, CTX	0	—	0.0	—	
CTX, ERFX, GM	0	—	0.0	—	
計	32	28	87.5		

表10 プラスミド非保有 *E. coli* 耐性株の耐性形質転換

耐性型	非プラスミド耐性株数	転換能陽性株数	転換率 (%)	耐性型別小計	
ABPC	2	2	100.0	36.4% (4/11)	
KM	9	2	22.2		
ABPC, CEX	3	3	100.0	61.1% (11/18)	
ABPC, KM	3	0	0.0		
ABPC, CP	4	1	25.0		
CEX, CXM	3	3	100.0		
CEX, CTX	2	2	100.0		
CEX, GM	3	2	66.7		
ABPC, CEX, CXM	1	1	100.0		100.0%
CTX, ERFX, GM	1	1	100.0		(2/2)
計	31	17	54.8		

表11 小動物由来 MRS 分離株 (*mecA*) の主な抗菌剤に対する MIC

菌種	株数	ABPC	MPIPC	TC	CP	CTX	ERFX	由来 (例数)
<i>S. aureus</i>	7	32 <sup>1)</sup>	8	128	16	32	0.8	犬皮膚膿瘍 (2), 犬鼻気管炎 (2) 犬腫瘍 (2), 猫皮膚膿瘍 (1)
<i>S. epidermidis</i>	4	16	8	64	8	32	0.8	犬皮膚膿瘍 (1), 犬皮膚炎 (1) 猫歯肉炎 (1), 猫鼻気管炎 (1)

1) :  $\mu\text{g/mL}$



表 12 小動物由来 *P. aeruginosa* 分離株の MIC

株番号	分離年	AMK	IPM	CPFX	由来
1	2003	4 <sup>1)</sup>	8	0.5	犬乳腺種
2	2003	16	8	2	犬黒色腫
3	2004	— 100	16	16	犬皮膚炎
4	2004	64	32	8	犬乳腺種
5	2004	32	16	16	犬腎炎
6	2004	32	64	8	犬外耳炎

<sup>1)</sup> :  $\mu\text{g/mL}$

ブレイクポイント : AMK 32  $\mu\text{g/mL}$ , IPM 16  $\mu\text{g/mL}$ , CPFX 4  $\mu\text{g/mL}$

えねばならない。

今回の検査における形質転換実験の結果は、接合・伝達に基づく耐性遺伝子の授受が、同一菌属あるいは菌種間で比較的容易に起き得ることを示した。このことは、自然循環で耐性遺伝子断片の直接接種に基づく伝播が生じ得ることを示唆する。生菌や抗菌剤の無い状態においても、多剤耐性菌を生じ得るこうした遺伝子分子は、耐性の多様化をもたらす因子としての役割を担い、その性質についてさらに検討の必要があると考える。

小動物の耐性菌は、発生の期間を過ぎ、小動物獣医療領域の境界から侵入の機会を常に覗く状態へ移行していると考えられる。防止措置を怠らず、抗菌剤使用に留意し、今後耐性株による耐性性の賦与が、環境細菌群あるいは常在細菌群に及ぶ事態を何としても避けねばならない。

小動物獣医療において、先ず耐性菌の危険性を理解し、次いで通常検出菌の動向に注意を向け、耐性菌の発生、耐性型の変化などに対応可能な体制を持ち、被害の最小化に配慮する準備が重要である。

## 要 約

臨床例、健常例の犬、猫から耐性菌分離を行い、菌種（属）、耐性型を調べた。抗菌剤投与下にある臨床由来の犬 11.7% (208 例)、猫 10.8% (47 例) に耐性株保有を認め、犬由来株 272 株 (10.0%)、猫由来株 70 株 (10.3%) を分離した。抗菌剤未投与の健常犬、猫からは耐性菌を検出できなかった。年次毎の検査株数に対する耐性株検出割合は、2000～2004 年で、3.1% から 16.0% に上

昇した。CPS およびコアグララーゼ陰性ブドウ球菌 (CNS) を定常的に検出し、2001 年以後、グラム陰性通性嫌気性細菌が増加した。*E. coli*, *Klebsiella* spp., *Edwardsiella* spp. を分離し、2003 年以後は *Pseudomonas aeruginosa* を検出した。犬、猫由来耐性株は生物学的性状、抗菌剤型などで相違を示さず、猫由来株で 2001 年以後、犬由来株では 2002 年以後分離総数の約 10% 程度に耐性化を認めた。耐性型は年とともに多剤耐性型に移行した。主に CPS, CNS, *E. coli*, *Klebsiella* spp. に抗菌剤プラスミド、同染色体を認め、これらは感受性株を *in vitro* で耐性化させた。今後耐性化が、環境細菌群あるいは常在細菌群に及ぶ可能性に注意する必要がある。

## 引用文献

- 1) Birnboim, HC and J Doly: *Nucleic Acids Res*, 7, 1513-1523 (1979)
- 2) Fox JG, Beaucage JG, Folta CA, et al.: *J Clin Microbiol*, 14, 157-160 (1981)
- 3) Francey T, Gaschen F, Nicolet J, et al.: *J Vet Intern Med*, 14, 177-183 (2000)
- 4) Ganiere JP, Medaille C, Mangion C: *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 52, 25-31 (2005)
- 5) Guardabassi L, Schwarz S, Lloyd DH: *J Antimicrob Chemother*, 54, 321-332 (2004)
- 6) Hanahan DJ, Ekholm JE: *Methods Enzymol*, 31, 168-172 (1974)
- 7) Jaffe AC: *Pediatr Clin North Am*, 30, 405-413 (1983)
- 8) Kania SA, Williamson NL, Frank LA, et al.: *Am J*

- Vet Res, 65, 1265-1268 (2004)
- 9) Marcus LC, E Marcus: N Engl J Med, 338, 757-759 (1998)
  - 10) Mathewson JJ, Simpson RB, Roush DA: Antimicrob Agents Chemother, 19, 355-356 (1981)
  - 11) Middleton JR, Fales WH, Luby CD, et al.: J Clin Microbiol, 43, 2916-2919 (2005)
  - 12) Rich M, Roberts L: Vet Rec, 154, 310 (2004)
  - 13) Sanchez S, McCrackin Stevenson MA, Hudson CR, et al.: J Clin Microbiol, 40, 3586-3595 (2002)
  - 14) Shaw SE: J Small Anim Pract, 45, 587-588 (2004)
  - 15) Ubukata K, Nakagami S, Nitta A, et al.: J Clin Microbiol, 30, 1728-1733 (1992)
  - 16) Uhaa IJ, Hird DW, Hirsh DC, et al.: Am J Vet Res, 49, 1501-15015 (1988)
  - 17) van Duijkeren E, Box AT, Heck ME, et al.: Vet Microbiol, 103, 91-97 (2004)
  - 18) van Duijkeren E, Wolfhagen MJ, Box AT, et al.: Emerg Infect Dis, 10, 2235-2237 (2004)
  - 19) Weinzweig N, Gonzalez M: Ann Plast Surg, 49, 621-627 (2002)

## Survey of Bacterial Prevalence on the Drug-resistant Strains among Veterinary Patients

Hiroshi KAMATA

Laboratory of Veterinary Microbiology, Nihon University Kameino, 1866, Fujisawa, Kanagawa 252-8510, Japan

There is a concern over the propagation of drug resistant bacteria among animals. Gram positive facultative cocci and Gram negative facultative rods from dogs and cats under antimicrobial administration were screened for drug resistance by antimicrobial agar diffusion method on the ten antimicrobials. Since 2000 to 2004, 208 of 1,783 (11.7%) dogs and 47 of 435 cats (10.8%) were proved to carry drug resistant bacteria, from which 272 strains of 2,716 (dog; 10.0%) and 70 of 680 (cat; 10.2%) isolates were convinced as drug resistant strains (DRS) on the basis of its antimicrobial and genomic characteristics. The gross proportion of animals possessing DRSs increased from 3.1 (2000) to 16.0 (2004) percent annually. Resistant CPS and CNS were most common through the duration of study including 11 strains denoted *mecA* positive. Resistant *E. coli*, *Klebsiella* spp. and *Edwardsiella* spp. were significantly isolated since 2001. *P. aeruginosa* appeared sporadically since 2003 in dogs and total 6 isolates of the bacterium showed alike highly resistance to whole antimicrobials examined. Whereas the DRS occupancy against total isolates exceeded over 10% since 2001 in cats and since 2002 in dogs, respectively, any significance was observed in major features of DRSs' strains in identical species from different animal sources. Plasmids from DRSs successfully transformed the identical strains with susceptible nature to resistant at the rate of 62.0% to 87.5% *in vitro*. Chromosomal based DRSs also revealed highly transforming ability to corresponding susceptible strains.

The spread of surgery-acquired and community-acquired DRS is a major challenge in veterinary medicine and prophylactic monitoring routine is supremely desirable.

### 討 論 (座長：澤田拓士 日獣大, 高橋敏雄 動薬検)

質問 (澤田拓士, 日獣大)

こうした耐性菌は、既に全国に存在しているのか、あるいは特定の条件下でのことか。

答 (鎌田 寛)

耐性株の一部は関西、東北、北海道の症例である。地域差については判然としないものの、出現が広域である可能性は高い。当該獣医療機関の抗菌剤の種類・量は、耐性菌発生の条件であり、これらが要件に適合

ばどこで耐性菌の発生をみてもおかしくない。この点からして、地域差は考えにくいとしなければならないと思う。

質問 (佐々木, 臨床獣医師)

耐性株のβラクタマーゼの種類には、どの様なものがあつたか。

答 (鎌田 寛)

耐性の傾向から A 型および B 型と考える。