

# イヌ・ネコ由来細菌の薬剤耐性について

片岡 康

日本獣医畜産大学獣医畜産学部獣医微生物学教室 (〒180-8602 武蔵野市境南町1-7-1)

## 緒 言

小動物臨床現場においては、家畜や家禽に使用する抗生物質に比べると非常に多種類の抗生物質を使用している。また、細菌性疾病のみならず他の疾患にも、あるいは術後の二次感染症予防のため抗生物質を多用することもある。そのため、細菌性疾病の治療あるいは術後管理において薬剤耐性菌の問題を考慮する必要があると考えられる。しかしながら、小動物由来細菌の薬剤耐性に関する報告はほとんどないのが現状である。

そこで、小動物の細菌性疾病由来細菌と健康動物由来細菌を収集し薬剤感受性試験を行い、抗生物質治療の薬剤耐性化に及ぼす影響について検討した。

## 材料及び方法

### 1) 健康動物由来ブドウ球菌と病巣由来ブドウ球菌の薬剤感受性

動物病院あるいは大学家畜病院に来院したイヌ、ネコの皮膚炎あるいは外耳炎の症例からブドウ球菌を分離した。また、動物病院にワクチン接種あるいは健康診断のために来院したイヌ、ネコの皮膚に常在するブドウ球菌を分離した。ブドウ球菌の分離には、5%羊血液加寒天培地とマンニット食塩培地を用い、37°C、18時間培養した。菌の同定は常法に従い、薬剤感受性試験は動物用抗菌剤研究会標準法に準じて7薬剤 (TC: テトラサイクリン, SM: ストレプトマイシン, KM: カナマイシン, PCG: ベンジルペニシリン, ABPC: アンピシリン, MIPIC: オキサシリ

ン, CEZ: セファゾリン) について寒天平板希釈法で行った。

### 2) PCRによる *mecA* 遺伝子

MIPICのMIC値が4.0mg/ml以上を示した菌株について、PCRによる *mecA* 遺伝子の検出を行った。PCRは、Ubukataら<sup>2)</sup>の方法とKawanoら<sup>1)</sup>の方法に準じて行った。

### 3) 健康動物由来大腸菌の薬剤感受性

動物病院で抗生物質の治療を受けた経験のある大学病院来院犬の糞便由来大腸菌、過去に抗生物質による治療を受けた経験がない健康な犬や保健所に持ち込まれる抑留犬の糞便由来大腸菌を分離した。糞便からの大腸菌分離にはDHL寒天培地を用い、37°C、18時間培養した。大腸菌の同定は常法に従い、薬剤感受性試験は動物用抗菌剤研究会標準法に準じて9薬剤 (TC, SM, KM, ABPC, AMP: アモキシシリン, CP: クロラムフェニコール, OFLX: オフロキサシン, CEZ, ST合剤: スルファメトキサゾール・トリメトプリム) について寒天平板希釈法で行った。

## 結 果

### 1) 病巣由来ブドウ球菌と健康動物由来ブドウ球菌の薬剤感受性の比較

皮膚炎あるいは外耳炎から高頻度に分離されるブドウ球菌と健康な動物の皮膚や外耳道から分離されるブドウ球菌の薬剤感受性を比較したところ、PCG, ABPC, MIPICおよびCEZに対するMIC値に大きな差が見られた。特に、ペニシリン系薬剤に対して、病巣由来細菌はMIC90が12.5および3.12mg/mlであったのに対し、健康動

物由来ブドウ球菌はMIC90がいずれも0.39mg/mlであった。また、健康動物由来ブドウ球菌ではこれらの薬剤に対する耐性菌は検出されなかったが、病巣由来ブドウ球菌では6.0～32.0%の割合で耐性菌が検出された(表1)。

日本化学療法学会では、MCIPCのMIC値が4mg/ml以上のものをメチシリン耐性ブドウ球菌と定義付けているため、病巣由来ブドウ球菌でMIC値4mg/ml以上を示した4株について、PCRにより *mecA* 遺伝子の存在を検査したところ、4株すべてに *mecA* 遺伝子が存在し、メチシリン耐性ブドウ球菌であることが判明した。これらのメチシリン耐性ブドウ球菌は、イヌの皮膚炎から分離された *Staphylococcus aureus* が2株、ネコの皮膚炎から分離された *Staphylococcus epidermidis* が1株、ネコの外耳炎から分離された *Staphylococcus lentus* が1株であった。これらのうち、*S. epidermidis* は調べた7薬剤すべてにMIC値が100mg/ml以上を示した(表2)。しかしながら、健康動物由来ブドウ球菌からはMCIPCのMIC値が4mg/ml以上を示すメチシリン耐性ブドウ球菌は分離されなかった。

## 2) 糞便由来大腸菌の薬剤感受性

保健所に持ち込まれる抑留犬の糞便由来大腸菌

は、SM、KM、CP、OFLX および ST 合剤の5薬剤に対して全ての株が感受性を示した。特に、OFLXにおけるMIC90の値は0.1mg/ml未満であった。また、一般の動物病院にワクチン接種や健康診断で来院した健康なイヌの糞便より分離した大腸菌は、CPおよびOFLXに対する耐性株は検出されなかった。これに対し、過去に抗生物質治療を受けた経験を持つ大学病院来院犬の糞便由来大腸菌は、調べた9種類の薬剤すべてに対しMIC値が高い傾向にあり、さらにすべての薬剤に対する耐性菌が検出された。特にペニシリン系に対する耐性度の上昇が激しく、さらにニューキノロン系抗菌剤に対する耐性度も上昇していた(表3)。

次に耐性型を比較してみると、抑留犬から分離される大腸菌は3剤耐性株がわずかに6.0%、2剤耐性株が13.3%で、調べた80%の株が感受性株であった。同様に、一般動物病院来院犬から分離される大腸菌も74.1%が感受性株であったが、4剤耐性株が22.2%分離された。これに対し、大学病院来院犬から分離される大腸菌は、感受性株の割合が著しく減少して25.9%しか分離されず、2剤耐性以上を示した菌株が全体の66.7%を占めた(表4)。

表1 健康動物由来ブドウ球菌と皮膚炎・外耳炎由来ブドウ球菌の薬剤感受性の比較

薬剤	健康動物由来ブドウ球菌				皮膚炎・外耳炎由来ブドウ球菌			
	MIC 範囲	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	耐性率(%)	MIC 範囲	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	耐性率(%)
TC	0.1 - 100<	0.39	100	25.0	0.1 - 100<	0.39	50	18.0
SM	0.2 - 100<	1.57	3.12	4.2	0.39 - 100<	1.57	100<	18.0
KM	0.2 - 100<	0.39	100	12.5	0.05 - 100<	0.39	50<	20.0
PCG	0.025 - 0.78	0.05	0.39	0	0.025 - 100<	0.2	12.5	32.0
ABPC	0.025 - 0.78	0.1	0.39	0	0.006 - 100<	0.2	3.12	8.0
MPIPC	0.05 - 0.78	0.2	0.39	0	0.025 - 100<	0.2	1.57	8.0
CEZ	0.05 - 1.57	0.2	1.57	0	0.05 - 100<	0.39	1.57	6.0

MIC<sub>50</sub>: 50%の菌株が発育阻止される薬剤濃度 (mg/ml)

MIC<sub>90</sub>: 90%の菌株が発育阻止される薬剤濃度 (mg/ml)

表2 皮膚炎・外耳炎由来メチシリン耐性ブドウ球菌のMIC (mg/ml) の比較

症状	分離菌種	株数	PC	ABPC	MPIPC	CEZ	SM	TC
イヌ・皮膚炎	<i>S. aureus</i>	2	6.25	1.57	12.5	100<	100<	100<
ネコ・皮膚炎	<i>S. epidermidis</i>	1	100<	100<	100<	100<	100<	100<
ネコ・外耳炎	<i>S. lentus</i>	1	0.78	3.12	6.25	1.57	1.57	12.5

表3 イヌの糞便由来大腸菌の薬剤感受性の比較

薬剤	保健所抑留犬				皮膚炎・外耳炎由来ブドウ球菌				大学病院来院犬			
	MIC range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	耐性率(%)	MIC range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	耐性率(%)	MIC range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	耐性率(%)
TC	1.57-100<	1.57	100<	13.3	1.57-100<	3.12	100<	11.1	0.39-100<	1.57	100<	13.3
SM	3.12-6.25	3.12	6.25	0	3.12-100<	6.25	100<	25.9	1.57-100<	3.12	6.25	0
KM	3.12-6.25	3.12	3.12	0	1.57-25	3.12	25	11.1	1.57-100<	3.12	3.12	0
ABPC	3.12-100<	6.25	100<	6.7	1.57-100<	6.25	100<	22.2	6.25-100<	6.25	100<	6.7
AMP	3.12-100<	6.25	100<	6.7	1.57-100<	6.25	100<	22.2	3.12-100<	6.25	100<	6.7
CP	6.25-12.5	3.12	12.5	0	6.25-12.5	6.25	12.5	0	<0.1-12.5<	3.12	12.5	0
OFLX	<0.1-12.5	<0.1	<0.1	0	<0.1-0.2	<0.1	0.2	0	1.57-100<	<0.1	<0.1	0
CEZ	1.57-100<	3.12	6.25	6.7	1.57-100<	1.57	100<	11.1	1.57-100<	3.12	6.25	6.7
ST合剤	0.39-3.12	3.12	3.12	0	0.2-100<	0.2	100<	11.1	0.39-12.5	3.12	3.12	0

表4 イヌの糞便由来大腸菌の薬剤感受性の比較

耐性型	保健所抑留犬		一般動物病院来院犬		大学病院来院犬	
	枚数	%	枚数	%	枚数	%
4剤耐性以上	—		6	22.2	6	22.2
3剤耐性	1	6.6	—		4	14.8
2剤耐性	2	13.3	—		8	29.6
単剤耐性	—		6	3.7	2	7.4
感受性	12	80.0	20	74.1	7	25.9

## 考 察

抗生物質による治療が薬剤耐性化に及ぼす影響について検討してきたが、治療経験の有無により耐性菌の割合が異なることが明らかとなった。すなわち、皮膚、外耳道由来ブドウ球菌では、過去に治療経験があることにより薬剤耐性菌保有率の増加傾向につながり、さらに近年医学界でも院内感染の重要な原因菌として問題となっているメチシリン耐性ブドウ球菌までもが分離された。このことは、獣医医療でも今後抗菌剤による治療を本格的に検討しなければならないことを示唆している。ブドウ球菌と同様に、健康動物由来大腸菌と治療経験のある動物から分離される大腸菌とでは、薬剤耐性率と多剤耐性化傾向に大きな差が認められた。このことは、抗生物質による治療が常在菌である大腸菌にまで少なからず影響を及ぼしていることを示唆している。

動物用抗菌薬のみならず様々な抗菌薬が応用されている小動物獣医医療現場においては、今後耐

性菌問題が必ずや浮上して来るであろう。その時になって初めて抗菌剤の使用について考え直すのではなく、現状のヒト医療現場を考えて早急に手を打つ必要があると考えられる。臨床獣医師一人一人が、抗菌剤による耐性菌問題について理解をし、将来的に耐性菌による治療困難な状態を作り出さないようにすることが大切である。

## 要 約

小動物の細菌性疾病の原因菌と健康動物由来細菌を収集し薬剤感受性試験を行い、抗生物質治療が薬剤耐性化に及ぼす影響について検討した。

皮膚炎あるいは外耳炎から高頻度で分離されるブドウ球菌と健康な動物の皮膚や外耳道から分離されるブドウ球菌の薬剤耐性を比較したところ、臨床症例由来ブドウ球菌からは *mecA* 遺伝子を保有するメチシリン耐性ブドウ球菌が4株分離された。しかしながら、健康動物由来ブドウ球菌からはメチシリン耐性ブドウ球菌は分離されなかった。また、動物病院で抗生物質による治療を受け

たイヌより分離された大腸菌と、過去に動物病院での治療経験のない健康なイヌや保健所に持ち込まれる抑留犬から分離された大腸菌の薬剤感受性を比較したところ、治療経験のあるイヌから分離された大腸菌の方が各薬剤に対する MIC 値が高い傾向にあり、さらに耐性菌の比率も高い傾向にあった。これらのことから、抗生物質治療により病原細菌のみならず常在菌も薬剤耐性化の方向にあることが示唆された。

## 文 献

1. Kawano, J., Shimizu, A., Saito, Y. et al.: Isolation of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from chickens. *J. Clin. Microbiol.*, 34, 2072-2077 (1996)
2. Ubukata, K., Nakagami, S., Nitta, A. et al.: Rapid detection of the *mecA* gene in methicillin-resistant staphylococci by enzymatic detection of polymerase chain reaction products. *J. Clin. Microbiol.*, 30, 1728-1733 (1992)

## Antimicrobial Susceptibility of the Bacteria Isolated from Dogs and Cats

Yasushi KATAOKA

*Department of Veterinary Microbiology, Nippon Veterinary and Animal Science University*

It was considered whether the antibiotic therapy was associated with the bacterial resistance by examining antimicrobial susceptibility test among the isolates from diseased and healthy small animals.

Comparing with the resistance of Staphylococci isolated from dermatitis and otitis media and from skin and ear of healthy dogs and cats, 4 isolates of methicillin resistant staphylococci with *mecA* gene were isolated from clinical isolates. No isolates of methicillin resistant staphylococci, however, isolated from healthy animals. Comparing with the resistant rate and the MIC value of *Escherichia coli* isolates from dogs with and without the post antibiotic treatment, it was shown higher tendency of the isolates from the therapeutic dogs with antibiotics. These data were indicated that the antibiotic treatment was brought the resistance both of virulent and avirulent bacterial strains.