

原 著

犬猫における臨床材料からの基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生菌と
メタロ- β -ラクタマーゼ産生菌の検出状況と薬剤感受性

宮本 忠^{1)*}・嶋田恵理子¹⁾

〔2012年12月13日受付・2013年2月25日受理〕

ORIGINAL ARTICLE

PREVALENCE AND ANTIMICROBIAL DRUG SUSCEPTIBILITY OF EXTENDED - SPECTRUM
 β - LACTAMASE - OR METALLO - β - LACTAMASE - PRODUCING BACTERIA
FROM CLINICAL SPECIMENS OF DOGS AND CATS

Tadashi MIYAMOTO^{1)*} and Eriko SHIMADA¹⁾

1) *Miyamoto animal hospital, 2265 - 8 Kurokawa,
Yamaguchi, 753 - 0851, Japan*

山口獣医学雑誌 第39号 13~20頁 2012
Yamaguchi J. Vet. Med., No. 39 : 13~20. 2012

別 刷

原 著

犬猫における臨床材料からの基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生菌と
メタロ- β -ラクタマーゼ産生菌の検出状況と薬剤感受性

宮本 忠^{1)*}・嶋田恵理子¹⁾

〔2012年12月13日受付・2013年2月25日受理〕

ORIGINAL ARTICLE

PREVALENCE AND ANTIMICROBIAL DRUG SUSCEPTIBILITY OF EXTENDED - SPECTRUM
 β - LACTAMASE - OR METALLO - β - LACTAMASE - PRODUCING BACTERIA
FROM CLINICAL SPECIMENS OF DOGS AND CATS

Tadashi MIYAMOTO^{1)*} and Eriko SHIMADA¹⁾

1) Miyamoto animal hospital, 2265 - 8 Kurokawa,
Yamaguchi, 753 - 0851, Japan

Twelve strains of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli*, a strain of ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae*, and six strains of metallo- β -lactamase (MBL)-producing *Acinetobacter lwoffii* were isolated from dogs and cats admitted to an animal hospital between April, 2011 and November, 2012. The ESBL-producing *E. coli* isolates were resistant to β -lactams except for latamoxef (LMOX), meropenem (MEPM), amoxicillin-clavulanic acid, and cefmetazole (CMZ), and were susceptible to amikacin (AMK) and fosfomycin. The ESBL-producing *K. pneumoniae* isolate was resistant to β -lactams except for CMZ, LMOX, and MEPM, and was susceptible to gentamicin, AMK, and trimethoprim - sulfamethoxazole. The MBL-producing *A. lwoffii* isolates were resistant to all β -lactams and susceptible to minocycline and AMK. All cases infected with these β -lactamase-producing bacteria were resolved after administrations of antimicrobial drugs shown to be effective against the bacteria. Recognition of β -lactamase-producing bacteria in dogs and cats is also important for public health issues, and attention needs to be paid to the existence of β -lactamase-producing bacteria in animal hospitals.

Key words : *Acinetobacter lwoffii*, Antimicrobial drug susceptibility,
 β -lactamase, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*.

1) みやもと動物病院

* 連絡責任者・宮本 忠 (みやもと動物病院)

〒753-0851 山口市黒川2265-8 TEL・FAX 083-932-4622 E-mail:miya629@c-able.ne.jp

要 約

2011年4月から2012年11月の間に来院した犬と猫から、基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 産生 *Escherichia coli*が12株、ESBL産生*Klebsiella pneumoniae*が1株、およびメタロ- β -ラクタマーゼ (MBL) 産生 *Acinetobacter lwoffii*が6株分離された。ESBL産生*E. coli*は、ラタモキシセフ (LMOX)、メロペネム (MEPM)、クラブラン酸・アモキシシリン、セフメタゾール (CMZ)を除く β -ラクタム系に耐性であり、アミカシン (AMK) とホスホマイシンに高い感受性を示した。ESBL産生*K. pneumoniae*は、CMZ, LMOX, MEPMを除く β -ラクタム系に耐性であり、ゲンタマシリン, AMK, スルファメトキサゾール・トリメトプリムに感受性を示した。MBL産生 *A. lwoffii*はすべての β -ラクタム系に耐性を示したが、ミノサイクリンとAMKに感受性を示した。これら β -ラクタマーゼ産生菌感染症のすべての症例は、感受性を示した抗菌薬を投与することにより治癒した。犬猫における β -ラクタマーゼ産生菌の認識は公衆衛生上も重要であり、動物病院において β -ラクタマーゼ産生菌の存在に留意する必要があると考えられる。

キーワード: *Acinetobacter lwoffii*, 薬剤感受性, β -ラクタマーゼ, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*.

緒 言

ペニシリン系, 第一〜第四世代セファロスポリン系, モノバクタム系, セファマイシン系, オキサセフェム系, カルバペネム系などの β -ラクタム系薬は, 殺菌的に作用する抗菌薬であり, 臨床における治療域が広く, その一方で副作用が少ないことから小動物臨床において最も汎用される抗菌薬である¹⁰。そのため, β -ラクタム系薬に耐性を示す病原菌は, 抗菌薬治療へ大きな影響を与えることになる。近年, 人医領域において β -ラクタム系薬に耐性を示す病原菌が増えてきており, この β -ラクタム耐性機序の中で最も重要なのは β -ラクタマーゼの産生である^{8, 13, 23}。 β -ラクタマーゼは β -ラクタム系薬に存在する β -ラクタム環のペプチド結合を切断する酵素で, そのアミノ酸一次配列をもとに4クラス (A, B, C, D) に分類される (Ambler分類)^{13, 19}。

基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) は, ペニシリナーゼの構造遺伝子が変異を起こし, ペニシリン系, 第四世代を含むすべてのセファロスポリン系薬やモノバクタム系薬をも加水分解するクラスAまたはクラスDに属する β -ラクタマーゼであり²³, クラブラン酸のような β -ラクタマーゼ阻害剤によって阻害されるのが特徴である⁸。人においては, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*などで多く分離され, 国内では2000年ごろから急増している^{8, 13, 14, 23}。近年, 犬猫においてもESBL産生菌の分離が報告されるようになってきている^{2, 10, 11, 15, 20}が, 国内での分離報告例は少ない⁵。

メタロ- β -ラクタマーゼ (MBL) は, 活性中心に金属である亜鉛イオンを有するクラスBに属する β -ラクタマーゼで, カルバペネム系薬のみならず, 他の β -ラクタム系薬も広域に分解することが特徴である⁹。人の医療機関ではMBL産生菌が1990年代以降に, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *K. pneumoniae*などで分離されている^{7, 9, 12, 19}が, 犬猫においては, これまで世界中で我々の報告のみである¹⁸。

今回, 当院における犬猫からのESBL産生菌とMBL産生菌の検出状況と薬剤感受性を調べ, さらに, 当該動物の臨床経過の観察を行ったのでこれを報告する。

材料および方法

2011年4月から2012年11月の間に細菌感染症で当院に来院した犬と猫から材料を採取した。採取した材料からの細菌の分離・同定, およびその薬剤感受性検査は日本医学臨床検査研究所にて実施した。細菌の検出は, 羊血液寒天培地 ((株) 日研生物医学研究所, 京都), BTB寒天培地 ((株) 日研生物医学研究所, 京都) の分離培地を用いて, 35°C, 24時間好気培養を行った。分離株がグラム陰性桿菌であることを確認後, VITEK 2 GN同定カード (bio Mérieux S. A., France) を用いて菌種の同定を行った。また, 同時に, オキシダーゼテストとTSI確認培地 ((株) 日研生物医学研

究所, 京都) を用いてブドウ糖発酵菌か非発酵菌であるかを確認した。

薬剤感受性検査は, *E. coli*と*K. pneumoniae*においては, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) のドキュメントの基準 (M100-S19) に準拠した微量液体希釈法により, 最小発育阻止濃度 (MIC) をVITEK 2 オリジナル感受性カード (AST-N173) (bio Mérieux S. A., France) で測定した。供試薬剤としてアンピシリン (ABPC), ピペラシリン (PIPC), クラブラン酸・アモキシシリン (C/AMP), セファゾリン (CEZ), セフォチアム (CTM), セフ

タジジム (CAZ), セフトリアキソン (CTRX), セフェピム (CFPM), アズトレオナム (AZT), セフメタゾール (CMZ), ラタモキシフ (LMOX), メロペネム (MEPM), ミノサイクリン (MINO), ゲンタマイシン (GM), アミカシン (AMK), レボフロキサシン (LVFX), ホスホマイシン (FOM), およびスルファメトキサゾール・トリメトプリム (ST)を使用した。

*Acinetobacter lwoffii*においては, CLSIドキュメントの基準 (M100-S18) に準拠し, センシディスク ((株) 日本ベクトン・ディッキンソン, 東京) を使いディスク法で実施した。薬剤感受性試験の供試薬剤として ABPC, PIPC, C/AMP, CEZ, CTM, CTRX, CFPM, LMOX, イミペネム (IPM), MINO, AMK, および LVFXを用いた。

ESBLのスクリーニングは, CLSIのドキュメントの基準 (M100-S19) に従い, CAZ, CTRX, AZTのうちいずれかひとつ以上の抗菌薬のMICが $\geq 2 \mu\text{g/ml}$ を示した菌株をESBL確認試験の対象とした。ESBLの確認試験はCLSIに準拠したディスク拡散法により行った。確認試験は, ESBL-セフォドキシム (CPX)/CVA '栄研' ((株) 栄研化学, 東京) とCPX (センシ

ディスク, (株) 日本ベクトン・ディッキンソン, 東京), ESBL-CAZ/CVA '栄研' とCAZ (センシディスク), ESBL-セフォタキシム (CTX)/CVA '栄研' とCTX (センシディスク) のディスクを用いて感受性検査を行い, いずれかの薬剤でクラブラン酸添加により阻止円の直径が5 mm以上大きくなった場合, ESBL産生菌と判定した⁸⁾。

MBL産生菌の検出は, Shibataら¹⁷⁾によるメルカプト酢酸ナトリウム (SMA) による阻害試験に準じて行った。IPMもしくはCAZを含有するディスク周辺に形成された阻止円よりもSMAディスク ((株) 栄研化学, 東京) に隣接したIPMもしくはCAZの阻止円が, SMAとIPMもしくはCAZのディスクの中心を繋いだ軸方向に対して垂直方向に5 mm以上の拡大を示した場合, その菌株をMBL産生菌とした。

なおCLSIでは, ESBL産生菌と判定された場合, ペニシリン系, 第一～第四世代セファロスポリン系, およびモノバクタム系の臨床効果は低く, MIC値の実測値如何にかかわらず, 「耐性」と報告するとされているため, 今回の研究でもこれに従った。

成 績

ESBL産生菌が*E. coli*から12株 (犬11株, 猫1株) と*K. pneumoniae*から1株 (犬), MBL産生菌が*A. lwoffii*から6株 (犬4株, 猫2株) 分離された (Table 1, 2)。ESBL非産生*E. coli*は膣・子宮感染症から21株, 膀胱炎から10株, 膿皮症から3株, 肛門嚢炎から2株, 皮下膿瘍から1株, および外耳炎から1株 (合計で38株) 分離され, ESBL産生*E. coli*は膀胱炎から5株, 膿皮症から2株, 肛門嚢炎から2株, 膣・子宮感染症から1株, 皮下膿瘍から1株, および手術部位感染から1株 (合計で12株) 分離された。分離された*E. coli*株中のESBL産生*E. coli*株の占める割合は24% (50株中12株) であった。ESBL非産生*K. pneumoniae*は膣・子宮感染症から3株, 膀胱炎から2株, 膿皮症から1株, 皮下膿瘍から1株, および肛門嚢炎から1株 (合計で8株) 分離され, ESBL産生*K. pneumoniae*は膀胱炎から1株分離された。分離された*K. pneumoniae*株中のESBL産生*K. pneumoniae*株の占める割合は11% (9株中1株) であった。MBL非産生*A. lwoffii*は膿皮症から9株, 皮下膿瘍から1株, および歯周炎から1株 (合計で11株) 分離され, MBL産生*A. lwoffii*は膿皮症から3株, 膀胱炎から2株, および皮下膿瘍から1株 (合計で6株) 分離された。分離された*A. lwoffii*株中のMBL産生*A. lwoffii*株の占める割合は35% (17株中6株) であった。

ESBL産生*E. coli*が分離された12例中8例はアトピー性皮膚炎などの基礎疾患あるいは合併症を持ち, 10例

は過去6ヵ月以内に抗菌薬を投与されていた。手術歴は2例があり, 入院歴は4例であった。ESBL産生*K. pneumoniae*が分離された1例は膀胱結石があり, その治療のため抗菌薬の投与, 手術, および入院歴があった。MBL産生*A. lwoffii*が分離されたすべての症例はアトピー性皮膚炎などの基礎疾患あるいは合併症を持ち, 5例は過去6ヵ月以内に抗菌薬が, 4例はステロイド剤が投与されていた。すべての症例で手術歴はなく, 入院歴は1例であった。

今回分離されたESBL非産生*E. coli*は, ほとんどの抗菌薬に感受性であり, とくにペニシリン系以外の抗菌薬は感受性率が90%以上であった (Table 3)。一方, ESBL産生*E. coli*は, β -ラクタム系ではLOMXとMEPMにすべてが感受性で, C/AMPに42%とCMZに58%が感受性であったが, これ以外の β -ラクタム系にはすべて耐性であった。 β -ラクタム系以外では, AMKとFOMに高い感受性を示した。ESBL非産生*K. pneumoniae*は, ABPC, PIPC, FOMを除いた抗菌薬に高い感受性を示した。一方, ESBL産生*K. pneumoniae*は1株のみであったが, CMZ, LMOX, MEPM, GM, AMK, STに感受性であり, その他の抗菌薬には耐性であった。MBL非産生*A. lwoffii*はPIPC, CFPM, IPM, MINO, AMK, LVFXに73%以上が感受性を示した。一方, MBL産生*A. lwoffii*はすべての β -ラクタム系に耐性を示したが, MINOとAMKにすべてが感受性で, LVFXに33%が感受性を示した。

Table 1. 基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ産生菌が分離された症例の概要

分離菌	症例	分離日	動物種	年齢	性別	採取材料	病名	基礎疾患または合併症	過去6ヶ月以内の治療歴	入院歴	治療	治療経過
<i>Escherichia coli</i>	No. 1	2011年 4月2日	犬	1歳齢	避妊メス	尿	膀胱炎	なし	なし	無	オフロキサシン内服	2週間後に治癒
	No. 2	2011年 4月25日	犬	3ヶ月齢	去勢オス	皮下	手術部位 感染	下痢、直腸脱	メロニダゾール内服	有	ホスホマイシン内服	2週間後に治癒
	No. 3	2011年 7月1日	犬	8歳齢	去勢オス	皮下	皮下膿瘍	アトピー性皮膚炎	セフジニル内服、プレドニゾロン内服、クロルヘキシジン外用	無	ホスホマイシン内服	2週間後に治癒
	No. 4	2011年 7月26日	犬	10歳齢	メス	肛門囊	肛門囊炎	アトピー性皮膚炎	ホスホマイシン内服、プレドニゾロン内服	無	ホスホマイシン内服、クロルヘキシジン外用	3週間後に治癒
	No. 5	2011年 8月16日	犬	8歳齢	避妊メス	皮膚	膿皮症	アトピー性皮膚炎	セフジニル内服、プレドニゾロン内服	無	ドキシサイクリン内服、ゲンタマイシン外用	3週間後に治癒
	No. 6	2011年 10月11日	犬	4歳齢	オス	皮膚	膿皮症	アトピー性皮膚炎	オフロキサシン内服、プレドニゾロン内服	無	ゲンタマイシン外用	2週間後に治癒
	No. 7	2011年 10月17日	犬	2歳齢	避妊メス	尿	膀胱炎	なし	オフロキサシン内服	無	オフロキサシン内服	2週間後に治癒
	No. 8	2012年 1月21日	猫	不明	去勢オス	尿	膀胱炎	尿道閉塞	なし	有	輸液、アミカシン注射、ドキシサイクリン内服	2週間後に治癒
	No. 9	2012年 4月20日	犬	9歳齢	避妊メス	尿	膀胱炎	脊髄損傷	ドキシサイクリン内服	有	アミカシン注射、ドキシサイクリン、ホスホマイシン内服	4週間後に治癒
	No. 10	2012年 5月15日	犬	不明	避妊メス	肛門囊	肛門囊炎	なし	セフジニル内服	無	ホスホマイシン、クラブラン酸・アモキシシリン内服	4週間後に治癒
	No. 11	2012年 9月21日	犬	4歳齢	メス	子宮	子宮蓄膿症	なし	セフボドキシム内服	有	セファゾリン注射、オフロキサシン内服	4週間後に治癒
	No. 12	2012年 10月28日	犬	12歳齢	避妊メス	尿	膀胱炎	膀胱腫瘍	オフロキサシン内服	無	ドキシサイクリン内服	3週間後に治癒
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	No. 13	2011年 7月6日	犬	10歳齢	オス	尿	膀胱炎	膀胱結石、手術	ホスホマイシン内服	有	アミカシン注射、クラブラン酸・アモキシシリン、スルファメトキサゾール・トリメプリーム、ファロペネム内服	5ヶ月後に治癒 (ファロペネム投与後4週間で治癒)