

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・トリメトプリム、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)

Table 2. メタロ-β-ラクタマーゼ産生 *Acinetobacter lwoffii* が分離された症例の概要

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
No. 14	2011年5月20日	猫	5歳齢	去勢オス	尿	膀胱炎	尿道閉塞、腎後性腎不全	オフロキサシン内服	有	輸液、ドキシサイクリン内服	2週間後に治癒
No. 15	2011年7月11日	犬	1歳齢	オス	皮膚	膿皮症	アトピー性皮膚炎	プレドニゾロン内服	無	ドキシサイクリン内服、クロルヘキシジン外用	4週間後に治癒
No. 16	2011年7月24日	犬	9歳齢	メス	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	オフロキサシン内服	3週間後に治癒
No. 17	2011年8月29日	犬	7歳齢	オス	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、クロルヘキシジン外用	無	ドキシサイクリン内服	2週間後に治癒
No. 18	2012年11月10日	犬	6歳齢	オス	尿	膀胱炎	膀胱結石、肝障害	ドキシサイクリン内服	無	オフロキサシン内服	2週間後に治癒
No. 19	2012年11月26日	猫	1歳齢	去勢オス	皮膚	膿皮症	アトピー性皮膚炎	セファレキシシン内服、プレドニゾロン内服	無	ドキシサイクリン内服	2週間後に治癒

Table 3. 分離された *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter lwoffii* の薬剤感受性率 (%)

系統	抗菌薬名	<i>Escherichia coli</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Acinetobacter lwoffii</i>	
		ESBL ¹⁾ 非産生 (n=38)	ESBL産生 (n=12)	ESBL非産生 (n=8)	ESBL産生 (n=1)	MBL ²⁾ 非産生 (n=11)	MBL産生 (n=6)
β-ラクタム系							
ペニシリン系	アンピシリン (ABPC)	68	0	0	0	0	0
ペニシリン系	ピペラシリン (PIPC)	74	0	50	0	73	0
ペニシリン系	クラブラン酸・アモキシシリン (C/AMP)	82	42	100	0	0	0
第1世代セファロスポリン系	セファゾリン (CEZ)	90	0	100	0	0	0
第2世代セファロスポリン系	セフォチアム (CTM)	95	0	100	0	0	0
第3世代セファロスポリン系	セフトラジウム (CAZ)	100	0	100	0	NT	NT
第3世代セファロスポリン系	セフトリアキソン (CTRX)	100	0	100	0	45	0
第4世代セファロスポリン系	セフェピム (CFPM)	100	0	100	0	100	17
モノバクタム系	アズトレオナム (AZT)	100	0	100	0	NT	NT
セファマイシン系	セフメタゾール (CMZ)	95	58	100	100	NT	NT
オキサセフェム系	ラタモキシセフ (LMOX)	100	100	100	100	27	0
カルバペネム系	メロペネム (MEPM)	100	100	100	100	NT	NT
カルバペネム系	イミペネム (IPM)	NT ³⁾	NT	NT	NT	91	0
テトラサイクリン系	ミノサイクリン (MINO)	90	50	88	0	91	100
アミノグリコシド系	ゲンタマイシン (GM)	90	67	88	100	NT	NT
アミノグリコシド系	アミカシン (AMK)	100	100	100	100	100	100
フルオロキノロン系	レボフロキサシン (LVFX)	92	25	88	0	91	33
ホスホマイシン系	ホスホマイシン (FOM)	95	92	0	0	NT	NT
ST合剤	スルファメトキサゾール・トリメトプリム (ST)	95	67	100	100	NT	NT

1) ESBL: 基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ

2) MBL: メタロ-β-ラクタマーゼ

3) NT: 検査せず

ESBL産生*E. coli*が分離された症例は、薬剤感受性試験の結果が得られるまでの期間、セフジニルやオフロキサシンなどの抗菌薬で治療を行ったが、分離された株はこれら抗菌薬に耐性を示し、治療効果は認められなかった。その後、薬剤感受性試験の結果から、治療薬をFOMなどに変更したところ、すべての症例が

治癒した。ESBL産生 *K. pneumoniae*が分離され症例は、C/AMP, ST, AMKの投与では治癒せず、ペネム系のファロペネムの投与後に治癒した。MBL産生*A. lwoffii*が分離された症例はドキシサイクリンやオフロキサシンの内服により治癒した。

考 察

ESBLの検査法としては、クラブラン酸による活性阻害を指標とする表現型を基にする方法と、PCRとシーケンス解析を組み合わせた遺伝子的方法が用いられている⁸⁾。ESBLはCLSIが推奨するスクリーニング試験および確認試験、ESBL検出用Etestまたはdouble disk synergy testで検出が可能であるとされている⁸⁾。CLSI法によるESBLの検出は、感度と特異度は94%、98%以上と信頼度が高く、現在最も広く利用されている^{6, 8, 13, 14)}。本研究で分離された12株の*E. coli*と1株の*K. pneumoniae*はCLSI法によるESBLの表現型の検査から、ESBL産生菌であることが示唆された。しかしながら、ESBLは通常、セファマイシン系、カルバペネム系薬に対しては活性を有さず、クラブラン酸などのβ-ラクタマーゼ阻害剤により活性が阻害される¹⁰⁾が、今回分離されたESBL産生*E. coli*株の58%がC/AMPに耐性で、セファマイシン系のCMZに42%が耐性であった。クラスCに属するセファロスポリナーゼ(AmpC)型β-ラクタマーゼはC/AMPとセファマイシン系に耐性であり、近年、プラスミド性のAmpC型β-ラクタマーゼとESBL同時産生菌が増加しつつあることが報告されている^{14, 16)}。したがって、これらの株は複数酵素同時産生菌である可能性が考えられたが、今回、AmpC型β-ラクタマーゼの確認を行っていないため、本研究では証明することはできなかった。

ESBL産生菌は人においてICU患者や長期入院患者から多く分離され、院内感染の原因菌として知られている²⁰⁾。本研究において、ESBL産生菌が分離された12例のうち入院歴があったのは2例であり、手術歴があったのは4例であった。また、ESBL産生菌が分離された12例中10例は基礎疾患または合併症の治療のために過去に抗菌薬の投与を受けており、抗菌薬の選択圧がESBL産生菌の分離に関係していた可能性も考えられた。近年、人ではESBL産生*E. coli*は院内感染のみならず、市中感染の原因菌としても分離されるようになり、院内への持ち込み例も増加していると報告されている²⁰⁾。したがって今後、動物病院で分離されるESBL産生菌の感染源や感染経路について詳細に検討する必要があると考える。

ESBL産生菌に対して*in vitro*で感受性となることが多い薬剤は、β-ラクタム系薬/β-ラクタマーゼ阻害薬、セファマイシン系薬、第四世代セファロスポリン系薬、カルバペネム系薬とされている²²⁾。しかし、人由来のESBL産生菌に対しては、β-ラクタム系薬/β-ラクタマーゼ阻害薬は有効例の報告は少なく、セファマイシン系薬は無効となることが多く、また第四世代セファロスポリン系薬はカルバペネム系薬に比べ肺炎治療で有効率が劣るとの報告がある。以上のことから、カルバペネム系薬が最も信頼のおける有効な薬剤であると考えられている²²⁾。一方、カルバペネム系抗菌薬の過剰使用は、今後さらなる耐性菌の出現を促す可能性があり、注意するべきであるとされている²²⁾。本研究において、ESBL産生*E. coli*の92%の株がFOMに感受性を示し、さらにESBL産生*E. coli*が分離された5症例がFOMの投与後に治癒したことから、ESBL産生*E. coli*感染症の治療にFOMは有効であると考えられた。一方、*K. pneumoniae*のすべての株はFOMに耐性であり、ESBL産生*K. pneumoniae*感染症はESBL産生*E. coli*感染症よりもさらに治療が困難になりうると考えられたが、ペネム系抗菌薬であるファロペネムの投与が有効である可能性が示唆された。

Acinetobacter spp.は、通常は弱毒菌で日和見感染を起こし、人において、肺炎、カテーテル等を介した血流感染、術創感染、髄膜炎や尿路感染の原因菌となり、犬や猫においても*A. baumannii*による院内感染が報告されている⁴⁾。本研究において、MBL産生*A. lwoffii*が分離されたすべての症例が基礎疾患あるいは合併症を有しており、このうち4例は治療のため副腎皮質ステロイド剤を投与されていた。したがって、本菌の感染に免疫能の低下が関係していた可能性があると考えられた。

人においては、カルバペネム系薬の使用増加に伴い、欧米を中心にカルバペネム耐性*Acinetobacter* spp.の増加が問題になっており、特に耐性機序としてMBLが注目されている^{7, 12, 19)}。一方、当院においては、カルバペネム系薬はすべての症例においてこれまで一度も使用したことがないため、当院におけるMBL産生*A. lwoffii*の分離にはカルバペネム系抗菌薬の使用による選択圧は関係していないと考えられた。したがって、当院で分離されたMBL産生*A. lwoffii*の感染経路は不明であった。

*Acinetobacter*感染症は抗菌薬による治療が困難である³⁾。*Acinetobacter* spp.の耐性機序として、外膜の透過性が

極端に低いこと、薬剤排出ポンプ (efflux pumps) による抗菌薬の菌体外への排出、 β -ラクタマーゼなどの抗菌薬不活化酵素による抗菌薬の失活、および抗菌薬の作用部位への親和性の低下が報告されている¹⁾。このため一般的には、*Acinetobacter* spp. は、ペニシリン系や第一、二世セファロスポリン系薬に耐性を示す¹⁰⁾。さらに菌体外に存在するDNA断片を取り込んで自己の染色体DNAなどに組み込む機構を持つため、容易に種々の抗菌薬に耐性化し得ると報告されている¹⁰⁾。本研究で分離された*A. lwoffii*はテトラサイクリン系のMINO、アミノグリコシド系のAMK、およびフルオロキノロン系のLVFXに感受性が高かったが、これは人由来株の薬剤感受性と似ていた²¹⁾。本研究において、*A. lwoffii*の分離株が感受性を示した抗菌薬の投与後すべての症例が治癒し、治療が困難となった症例はなかった。

ESBL遺伝子やMBL遺伝子は、その多くが伝達性プラスミド上に存在することが明らかになっており、グラム陰性桿菌の間で拡散・伝播している^{7, 9, 23)}。したがって、ESBL遺伝子やMBL遺伝子はグラム陰性桿菌であれば菌種を越えて伝達する可能性があるため、その動向を監視し、菌種に限定しない対応が必要であると考えられる。

これまで犬猫から β -ラクタマーゼ産生菌が分離されたという報告は少ない。しかしながら、 β -ラクタマーゼ産生菌は通常の薬剤感受性検査のみでは判別ができないために犬猫においても常在しているがこれまで認識されていなかった可能性がある。したがって、検出された細菌が、第三世代セファロスポリン系薬に耐性を示す場合はESBL産生菌の出現が疑われるためESBLの確認試験を行い、またカルバペネム系薬に耐性を示す場合はMBL産生菌の出現が疑われるためMBLの確認試験を行うべきと考える。以上のような方法を用いて、動物病院において β -ラクタマーゼ産生菌を早期に発見し、 β -ラクタマーゼ産生菌が広がらないように対策を行う必要があると考えられた。さらに、不適切な抗菌薬の投与は β -ラクタマーゼ産生菌を増やしてしまう可能性があるため、動物病院における抗菌薬の使用法や使用量を見直す必要があると考える。

引用文献

- 1) 遠藤史郎・平潟洋一：耐性ブドウ糖非発酵菌：*A. baumannii*, *B. cepacia*, *S. maltophilia*, 感染症診療の基礎と臨床～耐性菌の制御に向けて～, 飯沼由嗣・館田一博編, 第1版：49～55. 医薬ジャーナル社, 大阪. 2010.
- 2) Ewers, C., Grobbel, M., Stamm, I., Kopp, P. A., Diehl, I., Semmler, T., Fruth, A., Beutlich, J., Guerra, B., Wieler, L. H., Guenther, S.: Emergence of human pandemic O25:H4-ST131 CTX-M-15 extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* among companion animals. *J. Antimicrob. Chemother.*, 65: 651～660. 2010.
- 3) Fishbain, J., Peleg, A. Y.: Treatment of *Acinetobacter* infections. *Clin. Infect. Dis.*, 51: 79～84. 2010.
- 4) Francey, T., Gaschen, F., Nicolet, J., Burnens, A. P.: The role of *Acinetobacter baumannii* as a nosocomial pathogen for dogs and cats in an intensive care unit. *J. Vet. Intern. Med.*, 14: 177～183. 2000.
- 5) Harada, K., Morimoto, E., Kataoka, Y., Takahashi, T.: Clonal spread of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolates among pups in two kennels. *Acta. Vet. Scand.*, 53: 11. 2011.
- 6) Ho, P. L., Chow, K. H., Yuen, K. Y., Ng, W. S., Chau, P. Y.: Comparison of a novel, inhibitor-potentiated disc-diffusion test with other methods for the detection of extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 42: 49～54. 1998.
- 7) 井田孝志：緑膿菌におけるメタロ- β -ラクタマーゼの最近の動向. 化学療法の領域, 23: 227～234. 2007.
- 8) 石井良和：基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌, AmpC型 β -ラクタマーゼ産生菌, メタロ- β -ラクタマーゼ産生菌. 臨床と微生物, 36: 615～622. 2009.
- 9) 草野展周：メタロ- β -ラクタマーゼ (MBL) 産生菌. 最新医学, 64: 426～430. 2009.
- 10) Li, X. Z., Mehrotra, M., Ghimire, S., Adewoye, L.: β -lactam resistance and β -lactamases in bacteria of animal origin. *Vet. Microbiol.*, 121: 197～214. 2007.
- 11) Ma, J., Zeng, Z., Chen, Z., Xu, X., Wang, X., Deng, Y., Lü, D., Huang, L., Zhang, Y., Liu, J., Wang, M.: High prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants *qnr*, *aac(6')*-*Ib-cr*, and *qepA* among ceftiofur-resistant *Enterobacteriaceae* isolates from companion and food-producing animals. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 53: 519～524. 2009.
- 12) 三沢成毅・小栗豊子・中村文子・田部陽子・近藤成美・三宅一徳・三宅紀子・猪狩 淳・大坂顕通：臨床材料からのメタロ- β -ラクタマーゼ産生グラム陰性桿菌の検出状況と薬剤感受性. 日本化学療法学会雑誌, 55: 211～219. 2007.
- 13) 村谷哲郎：基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生菌. 最新医学, 64: 416～425. 2009.

- 14) 長野則之・長野由紀子：わが国の医療機関における臨床分離細菌の多剤耐性化の現状とその対応(1)多剤耐性アシネトバクターやESBL産生菌の検出について. 化学療法の領域, 27:1592~1601. 2011.
- 15) O'Keefe, A., Hutton, T. A., Schifferli, D. M., Rankin, S. C.: First detection of CTX - M and SHV extended - spectrum β - lactamases in *Escherichia coli* urinary tract isolates from dogs and cats in the United States. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 54:3489~3492. 2010.
- 16) Robberts, F. J., Kohner, P. C., Patel, R.: Unreliable extended - spectrum β - lactamase detection in the presence of plasmid - mediated AmpC in *Escherichia coli* clinical isolates. *J. Clin. Microbiol.*, 47:358~361. 2009.
- 17) Shibata, N., Doi, Y., Yamane, K., Yagi, T., Kurokawa, H., Shibayama, K., Kato, H., Kai, K., Arakawa, Y.: PCR typing of genetic determinants for metallo - β - lactamases and integrases carried by gram - negative bacteria isolated in Japan, with focus on the class 3 integron. *J. Clin. Microbiol.*, 41:5407~5413. 2003.
- 18) 嶋田恵理子・宮本 忠・鳩谷晋吾：メタロ - β - ラクタマーゼ産生 *Acinetobacter lwoffii* が分離された犬猫の4例. 日獣会誌, 65:365~369. 2012.
- 19) 舘田一博：最近話題の耐性菌による呼吸器感染症のトピックス. 化学療法の領域, 27:601~793. 2011.
- 20) Timofte, D., Dandrieux, J., Wattret, A., Fick, J., Williams, N. J.: Detection of extended - spectrum β - lactamase - positive *Escherichia coli* in bile isolates from two dogs with bacterial cholangiohepatitis. *J. Clin. Microbiol.*, 49:3411~3414. 2011.
- 21) 渡部理恵・本田孝行・蜂谷 勤・佐野健司・上原 剛：信州大学医学部附属病院にて検出された *Acinetobacter* 属および *Stenotrophomonas maltophilia* の薬剤感受性. 信州医学雑誌, 52:171~179. 2004.
- 22) 八木哲也：腸内細菌科, 感染症診療の基礎と臨床~耐性菌の制御に向けて~飯沼由嗣・舘田一博編, 第1版: 324~327. 医薬ジャーナル社, 大阪. 2010.
- 23) 矢野寿一：わが国の大学(教育)病院における感染症への対応(1)ESBLを中心に. 化学療法の領域, 27:1633~1638. 2011.