

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

嶋田恵理子¹⁾ 宮本 忠^{1)†} 鳩谷晋吾²⁾

1) 山口県 開業 (みやもと動物病院: 〒753-0851 山口市黒川2265-8)

2) 大阪府立大学大学院生命環境科学研究科 (〒598-8531 泉佐野市りんくう往来北1-58)

(2011年10月4日受付・2012年1月4日受理)

要 約

メタロ-β-ラクタマーゼ (MBL) 産生 *Acinetobacter lwoffii* が, 2011年5月から2011年8月までに来院した膿皮症の犬2頭, 皮下膿瘍の犬1頭及び膀胱炎の猫1頭の検査材料から分離された. すべてのMBL産生 *A. lwoffii* 分離株は, アンピシリン, ピペラシリン, クラブラン酸・アモキシシリン, セファゾリン, セフォチアム及びイミペネムに対して耐性で, ミノサイクリン及びアミカシンに対して感受性であった. MBL産生菌は公衆衛生上も重要であり, 動物病院におけるMBL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, メタロ-β-ラクタマーゼ.

----- 日獣会誌 65, 365~369 (2012)

抗菌薬はさまざまな細菌感染症の治療に有用である. しかしながら, 近年, 犬猫においてメチシリン耐性 *Staphylococcus pseudintermedius* が世界的に急増しており [1], また, 多剤耐性の腸内細菌科細菌 [2] やフルオロキノロン耐性 *Pseudomonas aeruginosa* [3] が増えてきているため, 抗菌薬治療への影響が懸念される. さらに, 人の医療で国際的にも問題になっている基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ産生 *Escherichia coli* の犬猫からの分離報告もされている [4, 5].

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) に分類されている (Ambler分類) [6]. このうちクラスBに属する酵素は活性中心に金属である亜鉛イオンを有することからメタロ-β-ラクタマーゼ (MBL) とも呼ばれ, カルバペネム系薬を分解する酵素である. このMBL産生株は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 [7]. 人の医療機関ではMBL産生菌が1990年代以降に分離されている [6-9] が, 犬猫においてはこれまで分離報告例はない.

今回, 細菌感染症として当院に来院した犬の3例と猫の1例から分離されたMBL産生 *Acinetobacter lwoffii* の薬剤感受性試験及び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.

材料及び方法

2011年5月から2011年9月の間に細菌感染症で当院に来院した犬155頭と猫28頭から以下のとおり, 各種材料を採取した. 膿皮症の症例は皮膚病変を滅菌綿棒で深くこするようにして膿性分泌物を採取し, 皮下膿瘍の症例は皮下の膿を滅菌綿棒で採取した. 膀胱炎の症例は尿をカテーテルで無菌的に採取後, 尿を1,500×gで10分間遠心し, 尿沈渣を滅菌綿棒で採取した. 採取した材料からの *A. lwoffii* の分離・同定及びその薬剤感受性試験は日本医学臨床検査研究所にて実施した. *A. lwoffii* 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℃, 24時間好気培養を行った. 羊血液寒天培地で純培養状に発育していた集落から釣菌し, 分離株がグラム陰性桿菌であることを確認後, VITEK2 GN同定カード (bio Mérieux S.A., France) で同定を行った. 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.

MBL産生菌の検出は, Shibataら [10] 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

† 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 ☎・FAX 083-932-4622 E-mail: miya629@c-able.ne.jp

表1 *Acinetobacter lwoffii* が分離された犬猫の症例の概要

メタロ-β-ラクタマーゼ	分離日	動物	年齢	性別	採取材料	病名	基礎疾患又は合併症	過去の治療歴	治療	入院歴	治療経過
産生	7月11日	犬	1歳齢	雄	皮膚	膿皮症	アトピー性皮膚炎	プレドニゾロン内服	ドキシサイクリン内服, クロルヘキシジン外用	無	4週間後に治癒
産生	8月29日	犬	7歳齢	雄	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	ドキシサイクリン内服	無	2週間後に治癒
産生	7月24日	犬	9歳齢	雌	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	オフロキサシン内服	無	3週間後に治癒
産生	5月20日	猫	5歳齢	去勢雄	尿	膀胱炎	尿道閉塞, 腎後性腎不全	オフロキサシン内服	輸液, ドキシサイクリン内服	有	2週間後に治癒
非産生	7月11日	犬	1歳齢	雄	皮膚	膿皮症	なし	セフトロキシムプロキシセチル内服, プレドニゾロン内服	セフトロキシムプロキシセチル内服, クロルヘキシジン外用	無	4週間後に治癒
非産生	8月22日	犬	2歳齢	雌	皮下	皮下膿瘍	根尖膿瘍	セフジニル内服, メロキシカム内服, クロルヘキシジン外用	オフロキサシン内服, メロキシカム内服, クロルヘキシジン外用	無	2週間後に治癒
非産生	7月30日	猫	3カ月齢	雌	皮膚	膿皮症	皮膚糸状菌症	なし	クラリスロマイシン内服, イトラコナゾール内服	無	4週間後に治癒

て行った。イミペネム (IPM) もしくはセフトジジム (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 5mm 以上の拡大を示した場合, その菌株を MBL 産生菌とした。

薬剤感受性検査は, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) に準拠し [11], 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), セフトリアキソン (CTM), ラタモキシセフ (LMOX), セフトリアキソン (CTRX), セフェピム (CFPM), ミノサイクリン (MINO), アミカシン (AMK), レボフロキサシン (LVFX) 及び IPM を用いた。

成 績

研究期間中に *A. lwoffii* が犬の5例と猫の2例から分離された (表1)。このうち, MBL 産生 *A. lwoffii* は膿皮症の犬 (症例1, 2) の皮膚, 皮下膿瘍の犬 (症例3) 及び膀胱炎の猫 (症例4) の尿から分離された。これ以外の犬2例 (症例5, 6) 及び猫1例 (症例7) からは MBL 非産生 *A. lwoffii* が分離された。*A. lwoffii* が分離された7例中6例は基礎疾患又は合併症を持っていた。このうち, MBL 産生 *A. lwoffii* が分離された3例はアトピー性皮膚炎を持ち, 1例は尿道閉塞による腎不全を呈

していた。また, 7例中4例はプレドニゾロンを内服していた。MBL 産生 *A. lwoffii* が分離された4例中3例は過去にセフジニル又はオフロキサシンの投与歴があったが, カルバペネム系薬の投与歴はなかった。

今回分離された *A. lwoffii* は ABPC, C/AMP, CEZ 及び CTM に対してすべてが耐性で, MINO と AMK にはすべてが感受性であった (表2)。一方, PIPC と IPM には, すべての MBL 非産生 *A. lwoffii* は感受性であったが, すべての MBL 産生 *A. lwoffii* は耐性であった。また, 犬 (症例1, 2 及び3) から分離された MBL 産生 *A. lwoffii* は CTRX, CFPM 及び LMOX に耐性であった。さらに, 症例1から分離された MBL 産生 *A. lwoffii* は LVFX に耐性であった。

MBL 産生 *A. lwoffii* が分離された症例はドキシサイクリン及びオフロキサシンの内服並びに対症療法により2~4週間後に治癒した (表1)。MBL 非産生 *A. lwoffii* が分離された症例はセフトロキシムプロキシセチル, オフロキサシン及びクラリスロマイシンの内服並びに対症療法により2~4週間後に治癒した。

考 察

Acinetobacter spp. はナイセリア科に属する細菌であり, ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌に分類される。自然界の水系・土壌にはほぼ100%本菌が存在し, また, 人の院内370カ所における環境調査においても, その90%以上から *Acinetobacter* spp. が分離されたことが報告されている [6]。 *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

表2 本研究で分離した *Acinetobacter lwoffii* の薬剤感受性試験成績

系 統	抗 菌 薬 名	メタロ-β-ラクタマーゼ産生				メタロ-β-ラク タマーゼ非産生		
		症例 1	症例 2	症例 3	症例 4	症例 5	症例 6	症例 7
β-ラクタム系								
ペニシリン系	アンピシリン (ABPC)	R*	R	R	R	R	R	R
ペニシリン系	ピペラシリン (PIPC)	R	R	R	R	S	S	S
ペニシリン系	クラブラン酸・アモキシシリン (C/AMP)	R	R	R	R	R	R	R
第1世代セファロスポリン系	セファゾリン (CEZ)	R	R	R	R	R	R	R
第2世代セファロスポリン系	セフォチアム (CTM)	R	R	R	R	R	R	R
第3世代セファロスポリン系	セフトリアキソン (CTRX)	R	R	R	I	S	S	I
第4世代セファロスポリン系	セフェピム (CFPM)	R	R	R	S	S	S	S
オキサセフェム系	ラタモキセフ (LMOX)	R	R	R	I	S	I	I
カルバペネム系	イミベネム (IPM)	R	R	R	R	S	S	S
テトラサイクリン系	ミノサイクリン (MINO)	S	S	S	S	S	S	S
アミノグリコシド系	アミカシン (AMK)	S	S	S	S	S	S	S
フルオロキノロン系	レボフロキサシン (LVFX)	R	S	S	I	S	S	S

* S: 感受性, I: 中間, R: 耐性

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 [12]. 本研究において, *A. lwoffii* が分離された7例中6例は基礎疾患又は合併症を持ち, このうち4例は治療のためステロイド剤を投与されていた. また, 過去に治療歴がなかった症例7は免疫システムが不完全な3カ月齢であった. 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.

Acinetobacter 感染症は抗菌薬による治療が困難である [13]. *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及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 [14]. このため一般に, *Acinetobacter* spp. は, ペニシリン系や第1, 2世代セファロスポリン系薬に耐性を示す [15]. 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 [15]. 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及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 [16]. 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.

本研究では, 医学領域において報告 [6] されているカルバペネム, アミノグリコシド及びフルオロキノロン系の3系統の抗菌薬に耐性を示す多剤耐性株は分離されなかったが, MBL産生 *A. lwoffii* の1株がフルオロキノ

ロン系の抗菌薬に耐性であった. 犬猫由来 *A. lwoffii* の薬剤感受性に関する報告は少ないが, われわれの過去の報告において, フルオロキノロン系の抗菌薬に耐性の犬猫由来 *A. lwoffii* は12株中1株であった [17]. 人由来株では, フルオロキノロン系薬耐性には染色体上に存在するDNAジャイレースやIV型トポイソメラーゼのキノロン耐性決定領域のアミノ酸残基の置換を引き起こす遺伝子変異や抗菌薬排出機構などが関与するとされている [15]. 今後, 今回分離された犬猫由来株のフルオロキノロン系薬耐性機構について検討する必要がある.

イミベネム, パニベネム, メロベネムなどのカルバペネム系薬は, グラム陽性菌, グラム陰性菌, 嫌気性菌に対して広範囲かつ強力な抗菌活性を示すため, 原因病原体が特定できない難治性・重症感染症に対して人においては広く使用されている [6]. 人においては, この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 [6, 8, 9]. 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る. 今後, 感染源や感染経路について詳細に検討する必要がある. MBLはカルバペネム系薬を含むほとんどのβ-ラクタム系薬を加水分解することができる強力なβ-ラクタマーゼであると報告されている [9] が, 本研究においてもMBL産生 *A. lwoffii* はカルバペネム系のIPM, ペニシリン系のPIPC, 第3世代セファロスポリン系のCTRX, 第4世代セファロスポリン系のCFPM及びオキサセフェム系の

LMOXに耐性を示した。

種々の細菌においてMBL産生菌が認められ、MBL遺伝子が染色体あるいはプラスミド上に存在する場合がある [7, 8]。MBL遺伝子の伝達性プラスミドによる菌株もしくは菌種間における伝達が *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., 腸内細菌科細菌などの種々のグラム陰性桿菌で認められている [7, 8]。当院において、MBL産生菌はこれまで *A. lwoffii* のみで分離されているが、プラスミド上の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MBL産生菌が分離されたという報告はない。しかしながら、MBL産生菌は通常の微生物検査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。さらに、今回、MBL産生 *A. lwoffii* は犬猫の皮膚、皮下膿瘍及び尿から分離されたため、飼い主や獣医療スタッフへ伝播する可能性も考えられた。したがって、MBL産生菌が広がらないように、動物病院においてMBL産生菌の存在に留意し、MBL産生菌の出現動向を監視していくことが必要であると考えられた。

引用文献

- [1] Scott Weese J : Antimicrobial resistance in companion animals, *Anim Health Res Rev*, 9, 169-176 (2008)
- [2] Gibson JS, Morton JM, Cobbold RN, Sidjabat HE, Filippich LJ, Trott DJ : Multidrug-resistant *E. coli* and *Enterobacter* extraintestinal infection in 37 Dogs, *J Vet Intern Med*, 22, 844-850 (2008)
- [3] Rubin J, Walker RD, Blickenstaff K, Bodeis-Jones S, Zhao S : Antimicrobial resistance and genetic characterization of fluoroquinolone resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from canine infections, *Vet Microbiol*, 131, 164-172 (2008)
- [4] Warren AL, Townsend KM, King T, Moss S, O'Boyle D, Yates RM, Trott DJ : Multi-drug resistant *Escherichia coli* with extended-spectrum β -lactamase activity and fluoroquinolone resistance isolated from clinical infections in dogs, *Aust Vet J*, 79, 621-623 (2001)
- [5] Johnson JR, Miller S, Johnston B, Clabots C, Debroy C : Sharing of *Escherichia coli* sequence type ST131 and other multidrug-resistant and urovirulent *E. coli* strains among dogs and cats within a household, *J Clin Microbiol*, 47, 3721-3725 (2009)
- [6] 館田一博 : 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)
- [7] 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)
- [8] 井田孝志 : 緑膿菌におけるメタロ- β -ラクタマーゼの細菌の動向, *化学療法の領域*, 23, 227-234 (2007)
- [9] 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)
- [10] 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-beta-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)
- [11] Clinical and Laboratory Standards Institute : Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 18th informational supplement, CLSI document M100-S18, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa (2008)
- [12] Francey T, Gaschen F, Nicolet J, Burnens AP : 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)
- [13] Fishbain J, Peleg AY : Treatment of *Acinetobacter* infections, *Clin Infect Dis*, 51, 79-84 (2010)
- [14] 遠藤史郎, 平湯洋一 : 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)
- [15] 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)
- [16] 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)
- [17] 嶋田恵理子, 宮本 忠, 鳩谷晋吾 : 犬猫における臨床材料からのグラム陰性菌の検出状況と薬剤感受性, *日獣会誌*, 64, 879-884 (2011)

Isolation of Metallo- β -Lactamase-Producing *Acinetobacter lwoffii*
from Three Dogs and a Cat

Eriko SHIMADA*, Tadashi MIYAMOTO† and Shingo HATOYA

* Miyamoto Animal Hospital, 2265-8 Kurokawa, Yamaguchi, 753-0851, Japan

SUMMARY

Metallo- β -lactamase (MBL)-producing *Acinetobacter lwoffii* was isolated from two dogs with pyoderma, a dog with subcutaneous abscess, and a cat with cystitis admitted to an animal hospital between May and August, 2011. All MBL-producing *A. lwoffii* isolates were resistant to ampicillin, piperacillin, amoxicillin-clavulanic acid, cefazolin, cefotiam, and imipenem; and were susceptible to minocycline and amikacin. Because MBL-producing bacteria has been recognized as a public health problem, veterinary staff at animal hospitals should be concerned about possible infections of dogs and cats with MBL-producing bacteria, including *Acinetobacter*. — Key words : *Acinetobacter lwoffii*, Antimicrobial drug susceptibility, Metallo- β -lactamase.

† Correspondence to : Tadashi MIYAMOTO (Miyamoto Animal Hospital)

2265-8 Kurokawa, Yamaguchi, 753-0851, Japan

TEL · FAX 083-932-4622 E-mail : miya629@c-able.ne.jp

— J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 65, 365 ~ 369 (2012)