

山口市における犬猫からの2011年臨床分離菌の薬剤感受性

嶋田 恵理子¹⁾, 宮本 忠^{1) ☆}, 木村 唯¹⁾, 角本 舞¹⁾, 鳩谷 晋吾²⁾

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

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

☆連絡責任者: 宮本 忠 (みやもと動物病院)

〒753-0851 山口県山口市黒川 2265-8 TEL・FAX 083-932-4622

山口市における犬猫からの 2011 年臨床分離菌の薬剤感受性

嶋田 恵理子¹⁾, 宮本 忠^{1) ☆}, 木村 唯¹⁾, 角本 舞¹⁾, 鳩谷 晋吾²⁾

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

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

☆連絡責任者: 宮本 忠 (みやもと動物病院)

〒 753-0851 山口県山口市黒川 2265-8 TEL・FAX 083-932-4622

Antimicrobial Sensitivity of Clinical Isolates from Dogs and Cats in Yamaguchi City in 2011

Eriko SHIMADA¹⁾, Tadashi MIYAMOTO¹⁾, Yui KIMURA¹⁾, Mai KAKUMOTO¹⁾, Shingo HATOYA²⁾

¹⁾ Miyamoto Animal Hospital, 2265-8 Kurokawa, Yamaguchi-shi, Yamaguchi 753-0851, Japan

²⁾ Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University,

1-58 Rinku Ourai kita, Izumisano-shi, Osaka 598-8531, Japan

(Received 11 June 2012 / Accepted 15 November 2012)

SUMMARY : Minimum growth inhibitory concentrations of antibacterial agents were determined using a broth-microdilution method, and antibacterial activity of each drug was assessed in clinical isolates from dogs and cats which had been brought to our animal hospital in Yamaguchi City in 2011. Twenty percent of strains of the *Staphylococcus intermedius* group (SIG), 10 percent of strains of coagulase negative Staphylococci, and 33 percent of strains of *S. aureus* were methicillin-resistant (MR).

Although MR Staphylococci were resistant to many antimicrobial drugs, MRSIG were sensitive to minocycline, arbekacin, linezolid, vancomycin, and teicoplanin. *Enterococcus* spp., especially *E. faecium*, were resistant to many drugs. Twenty-four percent of strains of *Escherichia coli* and 17 percent of strains of *Klebsiella pneumoniae* were productive of extended - spectrum β -lactamase. Twenty-four percent of strains of *E. coli* and 6 percent of strains of *Pseudomonas aeruginosa* were resistant to fluoroquinolone. Since various kinds of resistant bacteria were isolated from dogs and cats in this survey, attention needs to be paid to the trend toward resistance to antibacterial agents.

KEY WORDS : antimicrobial sensitivity, extended-spectrum β -lactamase, fluoroquinolone-resistance, methicillin-resistance, minimum inhibitory concentration

(*J Anim Clin Med.* 21 (4)170-179, 2012)

要約 : 2011 年に山口市の動物病院に来院した犬猫からの臨床分離菌に対する各種抗菌薬の最小発育阻止濃度を微量液体希釈法で測定し, 抗菌力の比較検討を行った。*Staphylococcus intermedius* group (SIG) 株の 20%, コアグラーゼ陰性ブドウ球菌株の 10% および *S. aureus* 株の 33% がメチシリン耐性 (MR) であった。MR ブドウ球菌は多くの抗菌薬に耐性であったが, MRSIG はミノサイクリン, アルベカシン, リネゾリド, バンコマイシンおよびテイコプラニンに感受性であった。腸球菌, 特に *Enterococcus faecium* は多くの抗菌薬に耐性であった。*Escherichia coli* 株の 24% と *Klebsiella pneumoniae* 株の 17% が基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生株であった。*E. coli* 株の 24% と *Pseudomonas aeruginosa* 株の 6% がレボフロキサシンに耐性を示した。犬猫から種々の耐性菌が分離され, 抗菌薬への耐性化の動向に注意が必要であると考えられた。

キーワード : 薬剤感受性, 基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ, フルオロキノロン耐性, メチシリン耐性, 最少発育阻止濃度

(*動物臨床医学* 21 (4)170-179, 2012)

はじめに

抗菌薬は感染症に対する最も有効な手段である。しかしながら、近年、犬猫においてグラム陽性菌であるメチシリン耐性(MR)*Staphylococcus pseudintermedius*が世界的に急増し[1-5]、また、グラム陰性菌においても基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ(ESBL)産生*Escherichia coli*[6, 7]や*Klebsiella pneumoniae*[8]、フルオロキノロン耐性*Pseudomonas aeruginosa*[9, 10]およびメタロ- β -ラクタマーゼ産生*Acinetobacter lwoffii*[11]が報告されようになってきており、抗菌薬治療への影響が懸念される。

病原細菌の薬剤感受性を把握し、適切な抗菌薬を選択することは細菌感染症治療の奏功には不可欠である[1]。また、耐性菌の発生・蔓延を防ぐために、最新の薬剤感受性動向と各種耐性菌の出現状況を把握しておくことが重要である。人では多くの臨床分離株を用いたサーベイランスが定期的に報告されている[12, 13]が、犬猫ではそのような報告はほとんどない[14]。しかも、犬猫における薬剤感受性検査の多くはディスク拡散法によるもので、最小発育阻止濃度(MIC)は調べられておらず[15, 16]、人の医療と比較すると耐性菌対策は圧倒的に遅れている。このような状況下では小動物臨床における耐性菌の発生・蔓延を助長するとともに、人-動物間で伝播し得る細菌に関しては公衆衛生上の重要な問題となり得る[11, 15-17]。

そこで、今回、2011年に当院に来院した種々の犬猫の臨床材料から分離されたブドウ球菌、腸球菌、腸内細菌科、緑膿菌に対する各種抗菌薬のMICを微量液体希釈法で測定し、抗菌力の比較検討を行ったのでこれを報告する。

材料および方法

2011年に細菌感染症で当院に来院した犬196頭と猫36頭からスワブにて材料を採取した。採取した材料から細菌を分離・同定し、日本医学臨床検査研究所にて薬剤感受性試験を実施した。細菌は、羊血液寒天培地(株日研生物医学研究所、京都)とBTB寒天培地(株日研生物医学研究所、京都)を用いて好気培養により分離された。また、グラム染色とVITEK2 GP同定カード(bio Mérieux S.A., France)またはVITEK2 GN同定カード(bio Mérieux S.A., France)により菌同定を行った。コアグラゼ陽性ブドウ球菌は、さらに*S. aureus* ID寒天培地(bio Mérieux S.A., France)とMRSA ID寒天培地(bio Mérieux S.A., France)を用い検査した。カタラーゼテスト陰性の集落には、SF培地(株日研生物医学研究所、京都)、アルギニン培地(株日研生物医学研究所、

京都)およびエスクリン培地(株日研生物医学研究所、京都)の確認培地を使用した。また、グラム陰性菌は、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。MRブドウ球菌の判定はClinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)ドキュメントの基準(M100-S18)に従い、セフォキシチンディスク法を用いて行った[16]。ESBLの判定はCLSIドキュメントの基準(M100-S19)に従い、スクリーニング試験と確認試験を用いて行った[17]。

薬剤感受性試験は、CLSI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MICをVITEK2オリジナル感受性カード(bio Mérieux S.A., France)で測定した。供試薬剤としてペニシリン系:ベンジルペニシリン(PCG)、アンピシリン(ABPC)、ピペラシリン(PIPC)、クラバン酸・アモキシシリン(C/AMP)、タゾバクタム・ピペラシリン(T/PIPC)、第1世代セファロスポリン系:セファゾリン(CEZ)、第2世代セファロスポリン系:セフォチアム(CTM)、セフロキシム(CXM)、第3世代セファロスポリン系:セフトジジム(CAZ)、セフトリアキソン(CTRX)、セフォペラゾン(CPZ)、セフトジジム(CAZ)、第4世代セファロスポリン系:セフェピム(CFPM)、 β -ラクタマーゼ阻害剤配合セフェム系:セフォペラゾン・スルバクタム(S/CPZ)、モノバクタム系:アズトレオナム(AZT)、セファマイシン系:セフメタゾール(CMZ)、オキサセフェム系:ラタモキシセフ(LMOX)、カルバペネム系:イミペネム(IPM)、メロペネム(MEPM)、マクロライド系:エリスロマイシン(EM)、テトラサイクリン系:ミノサイクリン(MINO)、アミノグリコシド系:ゲンタマイシン(GM)、アミカシン(AMK)、アルベカシン(ABK)、クロラムフェニコール系:クロラムフェニコール(CP)、リンコマイシン系:クリンダマイシン(CLDM)、オキサゾリジノン系:リネゾリド(LZD)、フルオロキノロン系:レボフロキサシン(LVFX)、シプロフロキサシン(CPFX)、ホスホマイシン系:ホスホマイシン(FOM)、グリコペプチド系:バンコマイシン(VCM)、テイコプラニン(TEIC)およびST合剤:スルファメトキサゾール・トリメトプリム(ST)を使用した。

なお、CLSIでは、メチシリン耐性菌と判定された場合、 β -ラクタム系の臨床効果は低いので、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おり、また、ESBL産生菌と判定された場合、ペニシリン系、第1~第4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いので、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。

結 果

メチシリン感受性 (MS) *S. intermedius* group (SIG) が 68 株, MRSIG が 17 株, MS コアグラウゼ陰性ブドウ球菌 (CNS) が 26 株, MRCNS が 3 株, MSS. *aureus* (SA) が 8 株, MRSA が 4 株, *Enterococcus faecalis* が 18 株, *E. faecium* が 3 株, ESBL 非産生 *E. coli* が 32 株, ESBL 産生 *E. coli* が 10 株, *Proteus mirabilis* が 20 株, ESBL 非産生 *K. pneumoniae* が 5 株, ESBL 産生 *K. pneumoniae* が 1 株および *P. aeruginosa* が 17 株分離された (Table 1)。

MSSIG において, CEZ, CXM, IPM, MINO, ABK, VCM および TEIC は良好な抗菌力を示した (Table 2)。MSSIG における耐性菌は PCG が 48 株 (71%), EM が 22 株 (32%), GM, LVFX, ST が 20 株 (30%), CLDM が 16 株 (24%), CP が 10 株 (15%) および FOM が 7 株 (10%) であった。MRSIG において, MINO, ABK, LZD, VCM, TEIC は良好な抗菌力を示し, とくに ABK, LZD, VCM および TEIC の MIC₉₀ は 2 μg/ml 以下であった (Table 3)。その他の抗菌薬は耐性化がみられ, MRSIG における耐性菌は IPM と EM が 17 株 (100%), LVFX が 16 株 (94%), CLDM と ST が 15 株 (88%), GM が 12 株 (71%), CP が 11 株 (65%) および FOM が 10 株 (59%) であった。MSCNS においては PCG と FOM 以外の抗菌薬は良好な抗菌力を示した。MRCNS において, ABK, CLDM, LZD, VCM, TEIC および ST では耐性株は認められなかった。MSSA において, PCG 以外の抗菌薬に対する耐性株は認められなかった。MRSA において, ABK, CP, LZD, VCM, TEIC および ST では耐性株は認められなかった。

E. faecalis において, IPM, LZD, VCM, TEIC および LVFX は良好な抗菌力を示した (Table 4)。*E. faecalis* における耐性菌は EM と MINO が 7 株 (39%), PCG が 5 株 (28%), CP が 4 株 (22%) および LVFX が 1 株 (6%) であった。*E. faecium* において, LZD, VCM および TEIC では MIC は低く耐性株は認められなかったが, PCG, IPM, EM および LVFX ではすべてが耐性株であった。

ESBL 非産生 *E. coli* における耐性菌は ABPC が 10 株 (31%) と PIPC が 8 株 (25%) であったが, それ以外の抗菌薬は良好な抗菌力を示した (Table 5)。とくに MEPM の MIC₉₀ は 0.25 μg/ml と低く, CAZ, CTRX, CFPM, AZT, CMZ, LMOX, GM, LVFX の MIC₉₀ も 1 μg/ml と低かった。ESBL 産生 *E. coli* 株は, LMOX と MEPM を除く β-ラクタム系, MINO, GM, LVFX および ST に耐性化を示した。

P. mirabilis における耐性菌は MINO が 20 株 (100%) と FOM が 7 株 (35%) であったが, それ以外の抗菌薬は良好な抗菌力を示した。

ESBL 非産生 *K. pneumoniae* における耐性菌は ABPC と FOM が 5 株 (100%) および MINO と GM が 1 株 (20%) であったが, それ以外の抗菌薬は良好な抗菌力を示した (Table 6)。ESBL 産生 *K. pneumoniae* は C/AMP, CMZ, LMOX と MEPM を除く β-ラクタム系, LVFX, FOM および ST に耐性を示した。

P. aeruginosa における耐性菌は CTRX が 6 株 (35%), AZT が 3 株 (18%), PIPC, CFPM, CPFV および LVFX が 1 株 (6%) であった。

Table 1 分離菌の動物種・材料別内訳

	動物種		材料								合計
	犬	猫	皮膚	皮下膿瘍	眼分泌物	耳垢	尿	膣・子宮分泌物	肛門囊	口腔分泌物	
メチシリン感受性 <i>Staphylococcus intermedius</i> group	65	3	38	8	5	10	5	1	0	1	68
メチシリン耐性 <i>Staphylococcus intermedius</i> group	11	6	4	3	4	0	4	1	0	1	17
メチシリン感受性コアグラウゼ陰性ブドウ球菌	16	10	14	1	2	7	2	0	0	0	26
メチシリン耐性コアグラウゼ陰性ブドウ球菌	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	3
メチシリン感受性 <i>Staphylococcus aureus</i>	3	5	6	0	1	0	1	0	0	0	8
メチシリン耐性 <i>Staphylococcus aureus</i>	3	1	1	1	0	0	2	0	0	0	4
<i>Enterococcus faecalis</i>	16	2	3	4	0	4	3	2	2	0	18
<i>Enterococcus faecium</i>	1	2	0	0	0	0	3	0	0	0	3
ESBL非産生 <i>Escherichia coli</i>	31	1	2	1	0	1	10	16	2	0	32
ESBL産生 <i>Escherichia coli</i>	9	1	2	2	0	0	4	0	2	0	10
<i>Proteus mirabilis</i>	18	2	4	0	0	5	3	2	5	1	20
ESBL非産生 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	1	1	1	0	0	2	1	0	0	5
ESBL産生 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15	2	3	0	2	4	4	1	0	3	17
合計	196	36	81	21	14	31	43	24	11	6	232

Table 2 メチシリン感受性ブドウ球菌株に対する各抗菌薬の最少発育阻止濃度(MIC)分布、MIC₅₀、MIC₉₀および耐性菌の株数

抗菌薬	MIC (μg/ml)															耐性菌株 (%)		
	0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128	50%	90%		
<i>Staphylococcus intermedius</i> group (n=68)	PCG*	19	1		2	46										0.5	0.5	48 (71)
	CEZ								68							4	4	0 (0)
	CXM						64	3	1							1	1	0 (0)
	IPM						68									1	1	0 (0)
	EM				43	3				22						0.25	8	22 (32)
	MINO					33	4	13	14	4						1	4	0 (0)
	GM					40	2			6	20					0.5	16	20 (30)
	ABK						68									1	1	0 (0)
	CP								14	44			10			8	64	10 (15)
	CLDM				52					16						0.25	8	16 (24)
	VCM					22	45	1								1	1	0 (0)
	TEIC					68										0.5	0.5	0 (0)
	LVFX			33	10	1	2		2	20						0.25	8	20 (29)
	FOM									60	1			7		8	128	7 (10)
	ST										46	2			20	16	>128	20 (29)
	コアグララーゼ陰性ブドウ球菌 (n=26)	PCG	16	1	3	1	5									0.03	0.5	6 (23)
CEZ									26							4	4	0 (0)
CXM							23	1	2							1	2	0 (0)
IPM							26									1	1	0 (0)
EM					22					4						0.25	8	4 (15)
MINO						26										0.5	0.5	0 (0)
GM						24			2							0.5	0.5	0 (0)
ABK							26									1	1	0 (0)
CP									17	8			1			4	8	1 (4)
CLDM					25					1						0.25	0.25	1 (4)
VCM						8	16	2								1	1	0 (0)
TEIC						20	1	2	1	1	1					0.5	4	0 (0)
LVFX				10	3	3	2	4	4							0.25	4	0 (0)
FOM										19	1			6		8	128	6 (23)
ST											24	2				16	16	0 (0)
<i>Staphylococcus aureus</i> (n=8)		PCG		2	2	1	3									-	-	4 (50)
	CEZ								8						-	-	0 (0)	
	CXM						2	6							-	-	0 (0)	
	IPM						8								-	-	0 (0)	
	EM				8										-	-	0 (0)	
	MINO					8									-	-	0 (0)	
	GM					8									-	-	0 (0)	
	ABK						8								-	-	0 (0)	
	CP								8						-	-	0 (0)	
	CLDM				8										-	-	0 (0)	
	VCM					1	7								-	-	0 (0)	
	TEIC					8									-	-	0 (0)	
	LVFX			2	5			1							-	-	0 (0)	
	FOM								8						-	-	0 (0)	
	ST									8					-	-	0 (0)	

*PCG: ベンジルペニシリン CEZ: セファゾリン CXM: セフトキシム IPM: イミペネム EM: エリスロマイシン MINO: ミノサイクリン GM: ゲンタマイシン ABK: アルベカシン CP: クロラムフェニコール CLDM: クリンダマイシン VCM: バンコマイシン TEIC: テイコプラニン LVFX: レボフロキサシン FOM: ホスホマイシン ST: スルファメトキサゾール・トリメトプリム