

「薬剤耐性食中毒菌サーベイランスに関する研究」

分担研究総合報告書

分担課題名：犬の糞便由来大腸菌と腸球菌の薬剤耐性調査

研究分担者：田村 豊＊ 酪農学園大学獣医学部獣医公衆衛生学教室

研究協力者：石原加奈子 酪農学園大学獣医学部獣医公衆衛生学教室

(＊平成 19 年度より研究分担者として研究事業に参加)

研究要旨

本研究は、これまで情報が少ない伴侶動物における薬剤耐性菌の保有状況を明らかにするとともに、犬から人への耐性菌伝播の可能性を検討したものである。酪農学園大学付属動物病院（RGU）および江別市内の 8ヶ所の動物病院（市中動物病院）に来院した犬の糞便から、薬剤耐性指標細菌である大腸菌と腸球菌を分離した。大腸菌では 46.3%の株で耐性が認められ、ほとんどが 2 剤以上の多剤耐性菌であった。この内、人医療で重要視されている第三世代セフェム系とフルオロキノロン系（FQ）抗菌剤に対する耐性株が高頻度に分離された。一方、腸球菌では、ほとんどの株が供試薬剤に耐性を示し、多剤耐性株も多い傾向にあった。特に、*Enterococcus faecium* では高頻度に FQ 耐性株が認められた。

次いで、犬由来 FQ 耐性大腸菌と人の臨床材料由来の FQ 耐性大腸菌の性状を比較したところ、人で主に使用される FQ 抗菌剤に対する最小発育阻止濃度（MIC）の分布に大きな違いが認められなかった。FQ 耐性株のキノロン耐性決定領域（QRDR）の塩基配列解析では、供試株全てで GyrA の 80 番目と 87 番目および ParC の 80 番目に点変異を伴うアミノ酸置換が認められた。犬由来株と人由来株では、このアミノ酸置換のみが共通で、それ以外の変異は供試株ごとに異なっていた。O 群血清型別では、犬由来株で O1 型が、人由来株で O25 型が主なものであった。また、パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）による遺伝子型別では、同じ血清型を示した犬由来株と人由来株で 95%以上の相対率を示す株は認められなかった。

以上の成績より、犬由来大腸菌および腸球菌の耐性率が極めて高く、人医療で重要視される FQ 耐性菌も多く認められた。しかし、犬由来耐性菌と人由来耐性菌の性状は異なり、犬と人との間で FQ 耐性大腸菌の直接的な伝播の可能性は低いものと考えられた。

## A. 研究目的

近年、犬や猫等の伴侶動物は人と共通の場で生活し、人との接触頻度は極めて高い状況にある。一方、獣医学技術の進展や動物福祉への関心の高まりを背景として、伴侶動物に対して人と遜色のない獣医療が求められるようになった。その結果、伴侶動物医療では人体用医薬品の使用が一般化している。抗菌化学療法も例外ではなく、人体用抗菌剤が伴侶動物に高頻度に使用されている実態がある。したがって、家庭内で飼育されている伴侶動物に人体用抗菌剤が使用されて出現する薬剤耐性菌が容易に人や食品へ伝播し、人の健康に影響を与える可能性が考えられる。そこで本研究では、これまで殆ど調査されていない犬における薬剤耐性菌の保有状況を、腸管に普遍的に生息し薬剤耐性の指標細菌といわれる大腸菌と腸球菌について調べた。また、人医療で重要視される FQ 抗菌剤に対する耐性菌に注目し、犬由来 FQ 耐性大腸菌と人の臨床材料由来 FQ 耐性大腸菌の各種性状を比較することにより、犬から人への FQ 耐性菌伝播の可能性を検討した。

## B. 研究方法

1. 供試材料:2005年6月~12月にGRUに来院した犬96頭と、市中動物病院の犬80頭の直腸内容を材料した。
2. 分離・同定:大腸菌分離用としてDHL寒天培地(日水)およびFQ耐性菌を分離するためエンロフロキサシン(ERFX)4μ

g/mL添加DHL寒天培地(日水)を用い、腸球菌分離用として、Difco Enterococcosel Agar(日本ベクトン・デッキンソン)を用いた。同定は生化学性状と、大腸菌ではApi 20Eキット(日本ビオメリュー)、腸球菌ではApi 20 STREP(日本ビオメリュー)により行った。

3. 人由来FQ耐性大腸菌:2008年4月から6月に、札幌臨床検査センターおよび北海道大学付属病院により、患者の尿、喀痰、便、吸引チューブ、腸液、創部、膿分泌液および血液から得られた大腸菌の内、微量液体希釈法で測定したレボフロキサシン(LVFX)に対するMICが2μg/mL以上、またはシプロフロキサシン(CIP)に対するMICが1μg/mL以上を示した118株を供試した。
4. 薬剤感受性試験:CLSI法に準拠した寒天平板希釈法により、最小発育阻止濃度(MIC)を求めた。培地は、ミュラーヒントン(MH)寒天培地(OXOID)を用いた。ブレイクポイントは原則的にMICが2峰性のピークを示した中間値とした。供試薬剤は、大腸菌でアンピシリン(ABPC)、アモキシシリン(AMPC)、セファゾリン(CEZ)、セファレキシン(CEX)、セフボドキシム(CPDX)、ジヒドロストレプトマイシン(DSM)、カナマイシン(KM)、ゲンタマイシン(GM)、オキシテトラサイクリン(OTC)、クロラムフェニコール(CP)、

スルファジメトキシシン (SDMX)、ERFX を用いた。腸球菌では、ABPC、DSM、KM、GM、エリスロマイシン(EM)、OTC、バンコマイシン (VCM)、CP、リンコマイシン (LCM)、ERFX、テイコプラニン (TPN) を用いた。FQ 耐性大腸菌については、ERFX の他、CIP、LVFX、プルリフロキサシン (PUFX) およびガチフロキサシン (GFLX) の人体用 FQ 抗菌剤を用いた。

5. **Efflux pump 阻害試験**：ERFX に対する MIC の違い (16-256  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) により任意に選択した犬由来 16 株と人由来 29 株を供試した。Efflux pump 阻害剤である PA $\beta$ N (Sigma) および NMP (Chess) をそれぞれ 20、40、80 および 160  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の濃度で MH 寒天培地に添加し、5 種の FQ 抗菌剤に対する MIC を測定し、阻害剤無添加で測定した MIC と比較した。
6. **QRDR 塩基配列解析**：FQ 耐性株の内、ERFX に対する MIC が 16、32、64、128 および 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$  を示した任意の 23 株 (犬由来 13 株、人由来 10 株) を供試した。DNA ジャイレースをコードする *gyrA* および *gyrB* 遺伝子と、トポイソメラーゼ IV をコードする *parC* および *parE* 遺伝子の QRDR の変異によるアミノ酸置換を調べた。
7. **O 群血清型別**：供試菌株は病原大腸菌免疫血清「生研」(デンカ生研) を用い、使用

説明書に準拠して O 群血清型別を行った。

8. **パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE)**：犬および人由来 FQ 耐性大腸菌で共通の O 群型であった菌株について、Pulse Net (CDC, USA) のプロトコールに従って PFGE 遺伝子型別を行った。

## C. 研究結果

### 1. 大腸菌の薬剤耐性菌調査

犬 176 頭から 147 株の大腸菌が分離された。分離株 147 株の薬剤感受性試験成績を表 1 に示した。147 株中、79 株(53.7%)は供試した全ての薬剤に感受性を示したが、68 株 (46.3%) はいずれかの薬剤に耐性を示した。供試した薬剤の内、ペニシリン系抗菌剤である ABPC と AMPC に対して 45 株 (30.6%) が耐性を示した。また、第一世代セフェム系抗菌剤である CEZ と CEX、さらに第三世代の CPDX の全てに耐性を示したものが 21 株 (14.3%) 認められた。一方、26 株 (17.7%) は FQ 抗菌剤である ERFX に耐性を示した。耐性を示した 68 株中 57 株が 2 剤以上の多剤耐性株であった。

### 2. 腸球菌の薬剤耐性調査

RGU から分離された *E.faecalis* 34 株と *E.faecium* 57 株、市中動物病院から *E.faecalis* 22 株と *E.faecium* 50 株の合計 174 株を供試した。耐性株は、RGU の *E.faecalis* 30 株(88.2%)と *E.faecium* 49 株 (86.0%) に、市中動物病院の *E.faecalis* 15

株 (68.2%) と *E.faecium* 42 株 (84.0%) に認められた。2 剤以上に耐性を示す多剤耐性株は、市中動物病院より RGU で多い傾向にあった。

#### (1) *E.faecalis*

*E.faecalis* では、DSM (62.5%) に対する耐性が最も高く、OTC (42.9%)、GM(35.7%)、CP(33.9%)、LCM(26.5%)、EM(26.8%)、KM(21.4%)が続いた(表 2)。ERFX に対する耐性は 1 株 (1.8%) であった。VCM と TPN に対する耐性株は認められなかった。

#### (2) *E.faecium*

*E.faecium* では、DSM(49.5%)に対する耐性が最も高く、OTC(48.6%)、KM(30.8%)、EM(27.1%)、GM(23.4%)、LCM(21.5%)、ABPC(15.9%)、CP(14.4%)が続いた(表 3)。ERFX に対しては、*E.faecalis* と異なり 27.1%が耐性株であった。VCM と TPN に対する耐性株は認められなかった。

### 3. 犬由来 FQ 耐性大腸菌の分離

RGU 由来である 22 株、市中動物病院由来である 12 株の計 34 株の FQ 耐性大腸菌が分離された。犬からの分離率は、RGU で 18.8% (96 頭中 18 頭) であり、市中動物病院で 15.0% (80 頭中 12 頭) で両者に有意差は認められなかった。

### 4. 犬由来および人由来 FQ 耐性大腸菌の薬剤感受性試験

供試株の FQ 5 抗菌剤に対する薬剤感

受性試験成績を表 4 に示した。ERFX に対して高度耐性を示した株は CIP に対しても同様に高度耐性を示し、他の FQ 抗菌剤でも MIC 分布は高かった。両由来菌株で ERFX に対して CIP より MIC<sub>50</sub>、MIC<sub>90</sub> ともに高い値を示した。FQ 抗菌剤全てにおいて犬および人由来株間で MIC 範囲、MIC<sub>50</sub> および MIC<sub>90</sub> に大きな違いが認められなかった。

### 5. QRDR のアミノ酸置換

犬由来株 13 株と人由来株 10 株の QRDR のアミノ酸置換と FQ5 薬剤の MIC との関連性を図 1 に示した。全ての株において GyrA の 83 番目と 87 番目および ParC の 80 番目にアミノ酸置換が認められた。それに加え ParC の 84 番目にアミノ酸置換が認められた株では、認められなかった株より MIC が高い値を示した。

さらに犬由来株の 2 株において ParE の QRDR 外である 458 番目と 460 番目にそれぞれアミノ酸置換が認められた。しかし、GyrA および ParC に同じアミノ酸置換が認められ ParE に変異が認められなかった株と比較すると FQ5 薬剤に対する MIC は高い値を示した。

また、犬由来株と人由来株間では共通する変異型は GyrA で Ser83Leu および Asp87Asn と ParC で Ser80Ile のアミノ酸置換のみであった。

### 6. Efflux pump 阻害剤の影響

PAβN および NMP それぞれ同濃度添加

MH 寒天培地と無添加 MH 寒天培地での FQ5 薬剤の MIC を比較すると、FQ5 剤とも PA $\beta$ N は NMP に比べ MIC を大きく減少させた。PA $\beta$ N および NMP とも 160  $\mu$ g/mL 添加 MH 寒天培地と無添加 MH 寒天培地での FQ5 薬剤の MIC を比較すると、ERFX において耐性株のほうが感受性株より MIC を大きく減少させ、有意な差が認められた( $p < 0.05$ )。特に PA $\beta$ N160  $\mu$ g/mL 添加では、感受性株では ERFX の MIC の減少比率が 1/4 および 1/8 にその多くが分布しており、平均約 1/11 の減少を示した(表 5)。耐性株では 1/32 以上に 18 株(40.9%)が、ERFX の MIC がより高い株の方が MIC 減少率も大きくなる傾向を示した(表 5)。

#### 7. O 群血清型別

犬由来株の O 群型は O1 が 12 株(35.3%)、人由来株では O25 が 44 株(37.3%)とそれぞれ最も多く認められた(表 6)。また、両由来株とも全体の 50%以上が型別不能であった。

#### 8. PFGE による遺伝子型別

犬および人両由来株で共通の血清型であった O1 の 17 株(犬由来株 12 株および人由来株 5 株)と、O153 の 3 株(犬由来株 1 株および人由来株 2 株)の計 20 株を供試菌株とした(図 2)。犬由来株と人由来株間で 95%以上の高い相関率を示す株は認められなかった。犬由来株においては、RGU(RE17 株、RE33 株)または同一の市中動物病院(CE3 株、CE4 株)ごとに異なる患犬由来株でそれぞれ 97%以上の相関率

を示した株が認められた。また、RGU に来院した同じ患犬(RE28 株、RE29 株)においても異なる来院日で 96%の相関率を示した。

#### D. 考察

本研究から伴侶動物である犬由来大腸菌と腸球菌は、人医療で重要な抗菌剤といわれる FQ 抗菌剤に対して高率に耐性を示す実態が明らかとなった。これまでの家畜衛生分野におけるモニタリング調査結果から、食用動物の腸管に生息する大腸菌では 0~9%、腸球菌では 1~13%の ERFX 耐性率であった。今回の調査では、犬由来の大腸菌で 17.7%、*E.faecium* で 27.1%と極めて高い耐性率であることが特徴的であった。加えて、ERFX を添加した選択培地を使用した調査でも、供試した犬の 17.0%から ERFX 耐性大腸菌が分離された。ERFX 耐性菌の分離率は二次診療施設である RGU と一次診療施設である市中動物病院とほぼ同じであり、ERFX 無添加培地での調査成績とも一致する結果であった。また、PFGE 解析により、同じ動物病院において異なる犬から同じ遺伝子型の耐性菌が分離されており、犬における ERFX 耐性大腸菌の蔓延が示唆された。現在、犬を対象動物とする抗菌剤は少なく、ERFX は数少ない犬用の抗菌剤である。本来、ERFX は尿路感染症に二次選択薬として使用されるが、多くは適応外使用として様々な感染症の治療薬として汎用されている。今回の結果は、そのような犬における ERFX の使用実態を反映した結果と考えられた。

また、今回、犬由来 ERFX 耐性大腸菌の多くは CPDX に対しても耐性を示した。CPDX は人体用の第三世代セフェム系抗菌剤であり、CPDX 耐性菌から人の医療で問題視されている基質特異性拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼ (ESBL) を産生している可能性がある。今後、耐性菌の性状を詳細に明らかにし、人由来 ESBL 産生菌との関連を調べる必要がある。

一方、その他の供試薬剤に対しては、多少のバラツキがあるものの、食用動物における調査成績と同様な結果であった。犬の感染症には、ERFX 以外に多くの人体用抗菌剤が使用されている。今回の供試薬剤が動物で承認されている抗菌剤を中心に選択されていることから、今後は人体専用の抗菌剤に対する薬剤感受性を調べる必要がある。

次いで、犬由来 FQ 耐性大腸菌の人医療への影響を知る目的で、犬から分離された ERFX 耐性大腸菌と、犬が飼育された同じ地域の医療施設の臨床材料から分離した人由来 FQ 耐性大腸菌の各種性状を比較した。その結果、両由来株で各種 FQ 抗菌剤に対する薬剤感受性に相違は無かったものの、QRDR のアミノ酸置換や O 群血清型が異なること、さらには PFGE 型が異なることを考えると、犬から人へ ERFX 耐性大腸菌が直接的に伝播する可能性は低いものと考えられた。

大腸菌の ERFX に対する耐性機構として、QRDR のアミノ酸置換が重要であることが知られている。犬由来および人由来 ERFX 耐性大腸

でも薬剤感受性の程度に応じて、GyrA や ParC、さらには ParE のアミノ酸置換が観察された。さらに高度耐性株ほど QRDR のアミノ酸置換に加えて、菌体内に取り込まれた抗菌剤を能動的に排出する efflux pump の関与が示唆された。大腸菌の FQ 耐性には、今回検討した染色体性の機構に加え、プラスミド性の関与が報告されている。今後、犬由来 ERFX 耐性大腸菌のプラスミドを介した FQ 耐性の人への伝播についても検討する必要がある。

いずれにせよ今回の研究から、伴侶動物である犬は高頻度に耐性菌を保菌していることが明らかにされたことから、犬由来耐性菌と人由来耐性菌の関連を早急に明らかにし、人への伝播経路を解明することが人の健康被害を未然に防止する上で極めて重要と思われる。

## E. 結論

これまでの薬剤耐性調査は食用動物に対してのものが殆どで、人の生活と密接に関係する伴侶動物に関する調査は限定されている。今回、犬由来の大腸菌と腸球菌の薬剤耐性を調べたところ、食用動物で分離される以上に耐性菌が分離された。特に、人医療で重要視される第三世代セフェム系抗菌剤や FQ 抗菌剤に対する耐性菌を高頻度に保菌していることが明らかにされた。しかし、犬由来 FQ 耐性大腸菌と人由来 FQ 耐性大腸菌では、O 群血清型や QRDR 変異、さらには PFGE による遺伝子型が異なることから、犬由来耐性菌が人へ直接的に伝播する可

能性は低いものと考えられた。

#### F. 健康危機情報

FQ はヒト医療で最も汎用される抗菌剤である。FQ 耐性菌は程度の差こそあれ人や各種動物から分離される。また、今回の成績から犬由来耐性菌の人への直接的な伝播の可能性は低いことから直ぐに対応する必要はないものと思われる。しかし、今回分離された ERFX 耐性大腸菌は人でも使用される抗菌剤にも耐性を示す多剤耐性菌であり、今後も伴侶動物における耐性菌や耐性遺伝子の動向を注視していく必要がある。

#### G. 研究発表

##### <口頭発表>

1. 田村 豊, 村松康和, 中島千絵, 柳沢千恵, 鈴木定彦, 花木秀明: 動物病院におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の伝播, 第 82 回日本感染症学会総会, 2008 年 4 月 17 日, 松江.
2. 下久保奈津美, 廉澤 剛, 石原加奈子, 村松康和, 上野弘志, 田村 豊: 動物病院におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌対策の有効性, 第 146 回日本獣医学会学術集会, 2008 年 9 月 24-26 日, 宮崎.
3. 佐藤豊孝, 石原加奈子, 村松康和, 上野弘志, 岡林環樹, 横田伸一, 藤井暢弘, 田村 豊: 犬由来大腸菌のフルオロキノロン耐性機構, 第 146 回日本獣医学会学術集

会, 2008 年 9 月 24-26 日, 宮崎.

##### <紙上発表>

1. 田村 豊: 畜産現場における抗菌剤の使用動向と豚由来耐性菌の現状, 臨床獣医 3 月号, 71-76, 2007.
2. 田村 豊: 動物用抗菌薬の使用状況と耐性菌の現状—ヒトにいたる耐性菌の伝播経路—, 小児科, 48(4), 437-444, 2007.
3. Kojima A., Morioka A., Kijima M., Ishihara K., Asai T., Fujisawa T., Tamura Y. and Takahashi T.: Classification and Antimicrobial Susceptibilities of Enterococcus species isolated from Apparently Healthy Food-producing animals in Japan, Zoonese and Public Health (印刷中)

表1. 犬由来大腸菌の薬剤感受性

| 薬剤   | Range <sup>(a)</sup> | MIC <sub>50</sub> <sup>(a)</sup> | MIC <sub>90</sub> <sup>(a)</sup> | BP <sup>(a)(b)</sup> | 耐性菌 |      |
|------|----------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------|-----|------|
|      |                      |                                  |                                  |                      | 株数  | %    |
| ABPC | 2-128<               | 4                                | 128<                             | 32                   | 45  | 30.6 |
| AMPC | 1-128<               | 8                                | 128<                             | 64                   | 45  | 30.6 |
| CEZ  | 1-128<               | 2                                | 128<                             | 64                   | 22  | 15.0 |
| CEX  | 4-128<               | 3                                | 128<                             | 128                  | 22  | 15.0 |
| CPDX | ≤0.125-128<          | 0.5                              | 128                              | 32                   | 21  | 14.3 |
| DSM  | 2-128<               | 4                                | 128<                             | 32                   | 38  | 25.9 |
| KM   | 1-128<               | 2                                | 32                               | 16                   | 17  | 11.6 |
| GM   | 0.5-128<             | 1                                | 2                                | 32                   | 9   | 6.1  |
| OTC  | 1-128<               | 2                                | 128<                             | 32                   | 31  | 21.1 |
| CP   | 4-128<               | 8                                | 16                               | 64                   | 10  | 6.8  |
| SDMX | 64-128<              | 128<                             | 128<                             | -                    | -   | -    |
| ERFX | ≤0.125-128           | ≤0.125                           | 64                               | 4                    | 26  | 17.7 |

(a): μg/mL

(b): ブレークポイント

表2. 犬由来 *E. faecalis* の薬剤感受性

| 薬剤   | MIC (μg/ml) |      |     |    |    |    |    |    |    |    |     |      | range*<br>(μg/mL) | MIC <sub>50</sub><br>(μg/mL) | MIC <sub>90</sub><br>(μg/mL) | B.P**<br>(μg/mL) | 耐性<br>率<br>(%) |
|------|-------------|------|-----|----|----|----|----|----|----|----|-----|------|-------------------|------------------------------|------------------------------|------------------|----------------|
|      | ≤0.125      | 0.25 | 0.5 | 1  | 2  | 4  | 8  | 16 | 32 | 64 | 128 | >128 |                   |                              |                              |                  |                |
| ABPC |             | 2    | 46  | 8  |    |    |    |    |    |    |     |      | 0.25~1            | 0.5                          | 1                            |                  | 0.0            |
| DSM  |             |      |     |    |    | 1  | 1  |    | 1  | 18 | 24  | 11   | 4~>128            | 64                           | >128                         | 128              | 62.5           |
| KM   |             |      |     |    |    |    | 1  | 2  | 6  | 35 | 2   | 10   | 8~>128            | 64                           | >128                         | 128              | 21.4           |
| GM   |             |      | 1   | 1  |    | 4  | 3  | 27 | 12 |    | 1   | 7    | 0.5~>128          | 16                           | >128                         | 32               | 35.7           |
| EM   |             | 3    | 1   | 3  | 31 | 3  |    | 1  | 2  |    |     | 12   | 0.25~>128         | 2                            | >128                         | 8                | 26.8           |
| OTC  |             |      | 1   | 19 | 11 | 1  |    | 2  | 7  | 14 | 1   |      | 0.5~128           | 2                            | 64                           | 16               | 42.9           |
| VCM  |             |      |     | 29 | 16 | 11 |    |    |    |    |     |      | 1~4               | 2                            | 4                            |                  | 0.0            |
| CP   |             |      |     |    | 4  | 9  | 19 | 5  | 18 |    | 1   |      | 2~128             | 8                            | 32                           | 32               | 33.9           |
| LCM  |             |      |     |    |    |    | 1  | 5  | 18 | 19 | 2   | 11   | 8~>128            | 64                           | >128                         | 128              | 26.5           |
| ERFX |             |      | 15  | 38 | 2  |    |    |    | 1  |    |     |      | 0.5~32            | 1                            | 1                            | 4                | 1.8            |
| TPN  | 14          | 27   | 11  | 4  |    |    |    |    |    |    |     |      | 0.25~1            | 0.25                         | 0.5                          |                  | 0.0            |



表3. 犬由来 *E. faecium* の薬剤感受性

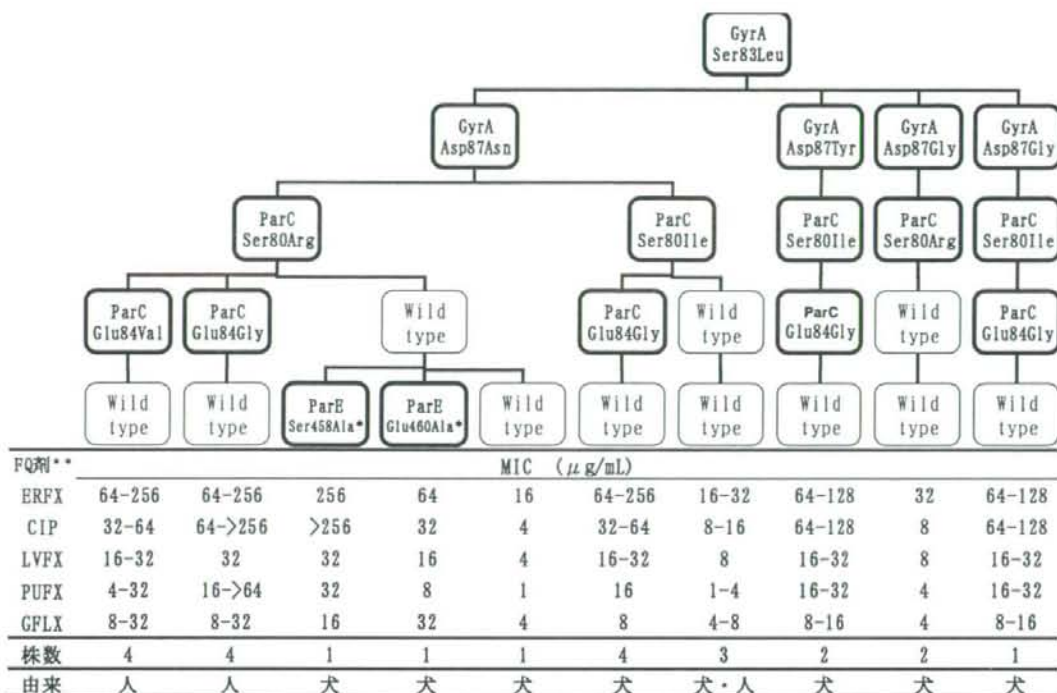
| 薬剤   | MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) |      |     |    |    |    |    |    |    |    |     | range*<br>( $\mu\text{g/ml}$ ) | MIC <sub>50</sub><br>( $\mu\text{g/ml}$ ) | MIC <sub>90</sub><br>( $\mu\text{g/ml}$ ) | B.P**<br>( $\mu\text{g/ml}$ ) | 耐性率<br>(%) |      |      |
|------|--------------------------|------|-----|----|----|----|----|----|----|----|-----|--------------------------------|---|---|-------------------------------|------------|------|------|
|      | $\leq 0.125$             | 0.25 | 0.5 | 1  | 2  | 4  | 8  | 16 | 32 | 64 | 128 |                                |   |   |                               |            | >128 |      |
| ABPC | 2                        | 11   | 65  | 9  | 2  | 1  |    |    | 7  | 6  | 4   |                                | 0.125~128                                 | 0.5                                       | 64                            | 32         | 15.9 |      |
| DSM  |                          |      |     |    |    |    |    | 6  | 8  | 14 | 26  | 21                             | 32  | 8~>128                                    | 128                           | >128       | 128  | 49.5 |
| KM   |                          |      |     |    |    |    |    |    | 7  | 18 | 49  | 6                              | 27  | 16~>128                                   | 64                            | >128       | 128  | 30.8 |
| GM   |                          | 1    | 2   | 6  | 9  | 11 | 23 | 30 | 9  | 3  | 2   | 11                             | 0.25~>128                                 | 64  | >128                          | 32         | 23.4 |      |
| EM   | 8                        | 4    | 6   | 14 | 39 | 7  | 4  | 1  |    |    | 2   | 22                             | 0.125~>128                                | 64  | >128                          | 8          | 27.1 |      |
| OTC  |                          |      | 14  | 25 | 16 |    |    |    | 13 | 15 | 12  | 1                              | 11  | 0.5~>128                                  | 64                            | >128       | 16   | 48.6 |
| VCM  |                          |      | 16  | 49 | 30 | 6  | 6  |    |    |    |     |                                |   | 0.5~8                                     | 64                            | 4          |      | 0.0  |
| CP   |                          |      |     |    | 7  | 36 | 35 | 13 | 15 | 1  |     |                                |   | 2~64                                      | 64                            | 4          | 32   | 14.5 |
| LCM  |                          | 1    | 13  | 2  | 2  | 4  | 4  | 22 | 36 | 6  | 2   | 15                             | 0.25~>128                                 | 64  | >128                          | 64         | 21.5 |      |
| ERFX |                          | 1    | 13  | 64 | 2  | 11 | 6  |    | 1  | 9  |     |                                | 0.25~64                                   | 64  | 64                            | 4          | 27.1 |      |
| TPN  | 5                        | 43   | 38  | 19 | 2  |    |    |    |    |    |     |                                | 0.125~2                                   | 64  | 1                             |            | 0.0  |      |

表4. 犬および人由来株のFQ5薬剤に対するMIC分布

| FQ剤* | 由来 | MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) |      |     |   |   |    |    |    |    |    |     | MIC <sub>50</sub> | MIC <sub>90</sub> |     |      |
|------|----|--------------------------|------|-----|---|---|----|----|----|----|----|-----|-------------------|-------------------|-----|------|
|      |    | $\leq 0.125$             | 0.25 | 0.5 | 1 | 2 | 4  | 8  | 16 | 32 | 64 | 128 |                   |                   | 256 | >256 |
| ERFX | 犬  |                          |      |     |   |   |    |    | 2  | 7  | 13 | 10  | 2                 |                   | 64  | 128  |
|      | 人  |                          |      |     |   |   |    |    | 2  | 14 | 45 | 36  | 9                 | 12                | 32  | 64   |
| CIP  | 犬  |                          |      |     |   |   | 1  | 5  | 4  | 8  | 13 | 2   | 1                 |                   | 32  | 64   |
|      | 人  |                          |      |     |   |   | 1  | 3  | 13 | 53 | 39 | 7   | 1                 | 1                 | 32  | 64   |
| LVFX | 犬  |                          |      |     |   |   | 3  | 6  | 16 | 9  |    |     |                   |                   | 16  | 32   |
|      | 人  |                          |      |     |   |   |    | 13 | 69 | 28 | 6  | 2   |                   |                   | 16  | 32   |
| PUFX | 犬  |                          |      |     | 1 | 4 | 9  | 10 | 7  | 4  | 2  |     |                   |                   | 8   | 32   |
|      | 人  |                          |      |     | 1 | 3 | 50 | 36 | 15 | 11 | 1  | 1** |                   |                   | 8   | 32   |
| GFLX | 犬  |                          |      |     |   |   | 3  | 13 | 7  | 11 |    |     |                   |                   | 16  | 32   |
|      | 人  |                          |      |     |   |   | 8  | 67 | 36 | 7  |    |     |                   |                   | 8   | 16   |

\* ERFX: エンロフロキサシン, CIP: シプロフロキサシン, LVFX: レボフロキサシン,  
PUFX: プルリフロキサシン, GFLX: ガチフロキサシン

\*\*  $\geq 128 \mu\text{g/ml}$



\* QRDR以外でのアミノ酸置換

\*\* ERFX: エンロフロキサシン, CIP: シプロフロキサシン, LVFX: レボフロキサシン, PUPX: プルリフロキサシン, GFLX: ガチフロキサシン

図1. QRDRのアミノ酸置換とMICとの関連

表5. PAβ N160 μg/mL添加MH培地によるエンロフロキサシン (ERFX) のMICの減少比率

| MIC減少比率   | ERFX MIC (μg/mL) |       |      |          |
|-----------|------------------|-------|------|----------|
|           | 0.03<br>-0.125   | 16-32 | 64   | 128-≥256 |
| 1/2       | -                | 1     | -    | -        |
| 1/4       | 5*               | 2     | -    | -        |
| 1/8       | 14               | -     | 10   | 2        |
| 1/16      | 1                | 2     | -    | 6        |
| 1/32      | 1                | 1     | 1    | 10       |
| 1/64      | 1                | 1     | -    | 3        |
| 1/128     | -                | -     | -    | -        |
| 1/256     | -                | -     | -    | 3        |
| 平均MIC減少比率 | 1/11             | 1/20  | 1/11 | 1/58     |

\*株数

表6. 人由来株と犬由来株とのO群血清型別の比較

| 血清型   | 株数   |      |
|-------|------|------|
|       | 人由来株 | 犬由来株 |
| 01    | 5    | 12   |
| 08    | 1    | 0    |
| 015   | 1    | 0    |
| 025   | 44   | 0    |
| 0114  | 0    | 1    |
| 0136  | 1    | 0    |
| 0153  | 2    | 1    |
| 0167  | 1    | 0    |
| 型別不能株 | 63   | 20   |
| 合計    | 118  | 34   |

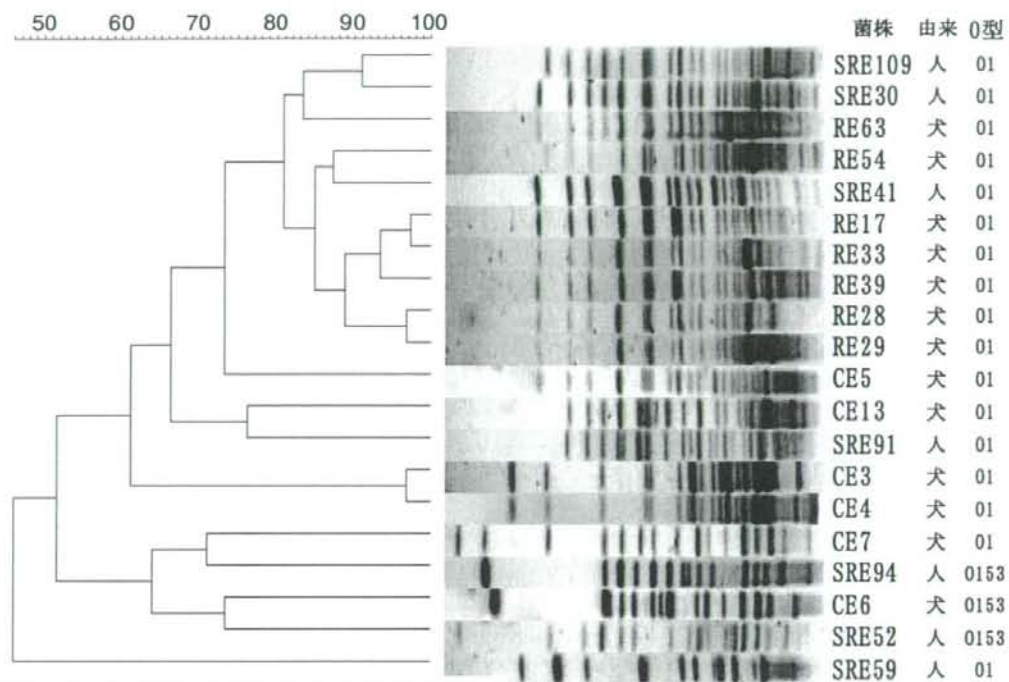


図2. *Xba* I を用いたPFGEによる遺伝子型別

研究発表（平成18年～20年度）

研究成果の刊行に関する一覧表

| 発表者氏名  | 論文タイトル名  | 発表誌名                          | 巻号 | ページ       | 出版年  |
|--|--|-------------------------------|----|-----------|------|
| M. Morita,<br>K. Mori,<br>K. Tominaga,<br>J. Terajima,<br>K. Hirose,<br>H. Watanabe and<br>H. Izumiya  | Characterization of lysine decarboxylase-negative strains of <i>Salmonella enterica</i> serovar Enteritidis disseminated in Japan.   | FEMS Immunol. Med. Microbiol. | 46 | 381-385   | 2006 |
| M. Taguchi,<br>K. Seto,<br>W. Yamazaki,<br>T. Tsukamoto,<br>H. Izumiya and<br>H. Watanabe  | CMY-2 $\beta$ -lactamase-producing <i>Salmonella enterica</i> serovar Infantis isolated from poultry in Japan.   | Jpn. J. Infect. Dis.          | 59 | 144-146   | 2006 |
| M. Morita,<br>K. Ito,<br>K. Hirose,<br>H. Takahashi,<br>K. Shimuta,<br>J. Terajima,<br>M. Ohnishi,<br>M. Harada,<br>M. Matsuzaki,<br>H. Watanabe and<br>H. Izumiya | Development of a real-time PCR assay for detection of <i>gyrA</i> mutations associated with reduced susceptibility to ciprofloxacin in <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi and Paratyphi A. | Microbiol. Immunol.           | 50 | 707-711   | 2006 |
| Harada K.,<br>Asai T.,<br>Kojima A.,<br>Sameshima T. and<br>Takahashi T.   | Characterization of Macrolide-resistant <i>Campylobacter coli</i> isolates from Food-Producing Animals on Farms Across Japan during 2004.  | <i>J. Vet. Med. Sci.</i>      | 68 | 1109-1111 | 2006 |

|  |  |                             |    |               |      |
|--|--|-----------------------------|----|---------------|------|
| Y. Matsumoto,<br>H. Kitazume,<br>M. Yamada,<br>Y. Ishiguro,<br>T. Muto,<br>H. Izumiya and<br>H. Watanabe   | CTX-M-14 type $\beta$ -lactamase<br>producing <i>Salmonella enterica</i><br>serovar Enteritidis isolated from<br>imported chicken meat.  | Jpn. J. Infect. Dis.        | 60 | 236-238       | 2007 |
| S. Yamasaki,<br>K. Hara,<br>H. Izumiya,<br>H. Watanabe,<br>N. Misawa,<br>K. Okamoto and<br>K. Takase   | Lysine decarboxylase-negative<br><i>Salmonella enterica</i> serovar<br>Enteritidis: Antibiotic<br>susceptibility, phage and PFGE<br>typing.                                      | J. Vet. Med. Sci.           | 69 | 813-818       | 2007 |
| K. Kawagoe,<br>H. Mine,<br>T. Asai,<br>A. Kojima,<br>K. Ishihara,<br>K. Harada,<br>M. Ozawa,<br>H. Izumiya,<br>J. Terajima,<br>H. Watanabe,<br>E. Honda,<br>T. Takahashi and<br>T. Sameshima | Changes of multi-drug resistance<br>pattern in <i>Salmonella enterica</i><br>subspecies <i>enterica</i> serovar<br>typhimurium isolates from<br>food-producing animals in Japan. | J. Vet. Med. Sci.           | 69 | 1211-<br>1213 | 2007 |
| Asai, T.,<br>Harada, K.,<br>Ishihara, K.,<br>Kojima, A.,<br>Sameshima, T.,<br>Tamura, Y. and<br>Takahashi, T.  | Association of antimicrobial<br>resistance in <i>Campylobacter</i><br>isolated from food-producing<br>animals with antimicrobial use on<br>farms.                                | <i>Jpn. J. Infect. Dis.</i> | 60 | 290-294       | 2007 |

|   |   |                            |    |           |      |
|---|---|----------------------------|----|-----------|------|
| M. Akiba,<br>Y. Nakaoka,<br>M. Kida,<br>Y. Ishioka,<br>T. Sameshima,<br>N. Yoshii,<br>M. Nakazawa,<br>I. Uchida and<br>N. Terakado  | Changes in antimicrobial susceptibility in a population of <i>Salmonella enterica</i> serovar Dublin isolated from cattle in Japan from 1976 to 2005.   | J. Antimicrob. Chemother.  | 60 | 1235-1242 | 2007 |
| Asai T.,<br>Ishihara K.,<br>Harada K.,<br>Kojima A.,<br>Tamura Y.,<br>Sato S. and<br>Takahashi T.   | Long-term prevalence of Antimicrobial-Resistant <i>Salmonella enterica</i> subspecies <i>enterica</i> serovar Infantis in Broiler Chicken Industry in Japan.  | <i>Microbiol. Immunol.</i> | 51 | 111-115   | 2007 |
| Wataru Yamazaki-<br>Matsune,<br>Masumi Taguchi,<br>Kazuko Seto,<br>Ryuji Kawahara,<br>Kentaro Kawatsu,<br>Yuko Kumeda,<br>Miyoshi Kitazato,<br>Masafumi Nukina,<br>Naoaki Misawa and<br>Teizo Tsukamoto | Development of a multiplex PCR assay for identification of <i>Campylobacter coli</i> , <i>Campylobacter fetus</i> , <i>Campylobacter hyointestinalis</i> subsp. <i>hyointestinalis</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Campylobacter lari</i> and <i>Campylobacter upsaliensis</i> . | J Med Microbiol            | 56 | 1467-1473 | 2007 |
| Y. Une,<br>A. Sanbe,<br>S. Suzuki,<br>T. Niwa,<br>K. Kawakami,<br>R. Kurosawa,<br>H. Izumiya,<br>H. Watanabe and<br>Y. Kato   | <i>Salmonella enterica</i> serotype Typhimurium infection causing mortality in Eurasian tree sparrows ( <i>Passer montanus</i> ) in Hokkaido.   | Jpn. J. Infect. Dis.       | 61 | 166-167   | 2008 |

|  |   |   |        |           |      |
|--|---|---|--------|-----------|------|
| T. Asai,<br>K. Harada,<br>A. Kojima,<br>T. Sameshima,<br>T. Takahashi,<br>M. Akiba,<br>M. Nakazawa,<br>H. Izumiya,<br>J. Terajima and<br>H. Watanabe | Phage type and antimicrobial susceptibility of <i>Salmonella enterica</i> serovar Enteritidis from food-producing animals in Japan between 1976-2004.   | New Microbiol.                          | 31     | 555-559   | 2008 |
| M. Akiba,<br>T. Sameshima,<br>I. Uchida and<br>M. Nakazawa   | Antimicrobial resistance of <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium isolated from cattle in Japan.   | Food Additives and Contaminants.        | 25     | 1076-1079 | 2008 |
| Igimi S.,<br>Okada Y.,<br>Ishiwa A.,<br>Yamasaki M.,<br>Morisaki N.,<br>Kubo Y.,<br>Asakura H. and<br>Yamamoto S.                                    | Antimicrobial resistance of <i>Campylobacter</i> : Prevalence and trends in Japan.  | Food Addit Contam.                      | 25 (9) | 1080-1083 | 2008 |
| Harada, K.,<br>Ozawa, M.,<br>Ishihara, K.,<br>Koike, R.,<br>Asai, T. and<br>Ishikawa, H.   | Prevalence of antimicrobial resistance among serotypes of <i>Campylobacter jejuni</i> isolates from cattle and poultry in Japan.                        | <i>Microbiol Immunol.</i><br>(in press) |        |           | 2009 |
| M. Sugawara,<br>D. Fukamizu,<br>H. Okazaki,<br>K. Tanaka,<br>I. Uchida,<br>H. Izumiya,<br>H. Watanabe,<br>M. Kusumoto,<br>T. Iwata, and<br>M. Akiba  | Chromosomal location of <i>bla</i> <sub>CMY-2</sub> in <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium and its contribution to cephalosporin resistance. | Submitted for publication.              |        |           | 2009 |



|  |   |  |              |               |             |
|--|---|--|--------------|---------------|-------------|
| Asai, T.,<br>Murakami, K.,<br>Ozawa, M.,<br>Koike, R., and<br>Ishikawa, H.   | Relationship of Multidrug-resistant <i>Salmonella enterica</i> serovar Schwarzengrund between broiler chickens and retail chicken meats in Japan. | <i>Jpn.J. Infect. Dis.</i><br>(in press) |              |               | 2009        |
| Kojima A.,<br>Morioka A.,<br>Kijima M.,<br>Ishihara K.,<br>Asai T.,<br>Fujisawa T.,<br>Tamura Y. and<br>Takahashi T. | Classification and Antimicrobial Susceptibilities of Enterococcus species isolated from Apparently Healthy Food-producing animals in Japan.       | Zoonese and Public Health (印刷中)          |              |               | 2009        |
| 泉谷秀昌   | 事例から見たサルモネラ食中毒  | 食と健康                                     | 第50巻<br>第12号 | 8-15          | 2006        |
| 田村 豊   | 畜産現場における抗菌剤の使用動向と豚由来耐性菌の現状  | 臨床獣医                                     | 3月号          | 71-76         | 2007        |
| 藤尾公輔、<br>清水晃、<br>松村浩介、<br>河野潤一、<br>北川浩、<br>五十君静信   | 市販食肉、ヒト、豚および鶏から分離された黄色ブドウ球菌の薬剤感受性   | 日本食品微生物学会<br>雑誌                          | 24(2)        | 100-106       | 2007        |
| 田村 豊   | 動物用抗菌薬の使用状況と耐性菌の現状－ヒトにいたる耐性菌の伝播経路－  | 小児科                                      | 48(4)        | 437-<br>444   | 2007        |
| 泉谷秀昌   | サルモネラ食中毒  | 化学療法の領域                                  | 第24巻<br>第7号  | 1009-<br>1015 | 2008<br>年7月 |
| 秋庭正人   | 動物に対するキノロン系抗菌剤の使用と耐性菌選択との関連   | 動物用抗菌剤研究会<br>報                           | 30           | 29-33         | 2008        |
| 秋庭正人   | わが国の牛群における <i>Salmonella</i> Dublin 薬剤感受性の変化  | 畜産技術                                     | 643          | 6-10          | 2008        |

学会発表一覧表

| 発表者氏名  | 発表タイトル名  | 学会名   | 開催年月日               | 開催地                      |
|--|--|---|---------------------|--------------------------|
| A.Kai,<br>N.Konishi,<br>H.Obata,<br>Y.Shimajima,<br>C.Monma,<br>A.Nakama,<br>S.Yamada                      | Epidemiological and<br>Bacteriological aspects of EHEC<br>infection in Tokyo.            | 6 <sup>th</sup> International<br>Symposium on Shiga<br>Toxin-Producing<br><i>Escherichia coli</i><br>Infections | 2006                | Melbourne                |
| M. Akiba,<br>I. Uchida,<br>N. Yoshii,<br>M. Nakazawa   | Antimicrobial resistance of<br><i>Salmonella</i> isolated from cattle in<br>Japan.       | 10 <sup>th</sup> International<br>Symposium on Toxic<br>Microorganisms  | Nov. 8, 2006        | Washington<br>D.C., USA. |
| Igimi S,<br>Okada Y,<br>Ishiwa A,<br>Yamasaki M,<br>Morisaki N,<br>Kubo Y,<br>Asakura H and<br>Yamamoto S. | Antimicrobial resistance of<br>Campylobacter: Prevalence and<br>trends in Japan.         | 10th International<br>Symposium on Toxic<br>Microorganisms  | November 7,<br>2006 | Washington<br>DC         |
| H. Izumiya,<br>J. Terajima and<br>H. Watanabe  | Fluoroquinolone-resistant<br><i>Salmonella enterica</i> serovar<br>Typhimurium in Japan. | 48th Annual<br>ICAAC/ISDA 46th<br>Annual Meeting  | Oct. 2008           | Washington,<br>DC, USA.  |
| 秋庭正人、<br>喜田宗敬、<br>中岡祐司、<br>内田郁夫、<br>吉井紀代、<br>中澤宗生  | わが国の牛から分離された<br><i>Salmonella</i> Dublinの薬剤感受<br>性                                       | 第142回日本獣医学会<br>学術集会   | 2006年9月22日          | 山口                       |
| 倉園貴至、<br>近 真理奈、<br>砂押克彦、<br>大島まり子、<br>山口正則、<br>泉谷秀昌、<br>渡邊治雄   | 腸管感染症の薬剤耐性マーカー<br>の利用について  | 衛生微生物技術協議<br>会第27回研究会   | 2006年               | 札幌                       |

|  |  |                     |            |    |
|--|--|---------------------|------------|----|
| 勢戸和子、<br>田口真澄、<br>塚本定三、<br>多賀賢一郎、<br>林 昭宏                  | 海外渡航者からのナリジクス酸<br>耐性赤痢菌の分離状況とシプロ<br>フロキサシン感受性（1998年～<br>2004年）             | 第80回感染症学会総<br>会     | 2006年4月    | 東京 |
| 勢戸和子、<br>田口真澄、<br>山崎 渉、<br>塚本定三                            | 多種類の下痢原性大腸菌が分離<br>された修学旅行食中毒事例   | 第46回感染性腸炎研<br>究会総会  | 2007年3月    | 東京 |
| 秋庭正人、<br>岡崎ひづる、<br>石岡幸子、<br>内田郁夫、<br>吉井紀代、<br>中澤宗生         | わが国の牛から分離されたセファ<br>ゾリン耐性 <i>Salmonella</i><br><i>Typhimurium</i> の性状       | 第144回日本獣医学会<br>学術集会 | 2007年9月2日  | 札幌 |
| 石和玲子、<br>山崎学、<br>岡田由美子、<br>朝倉宏、<br>山本茂貴、<br>五十君静信          | 市販鶏肉から分離されたカンピ<br>ロバクター株の抗生物質耐性に<br>関する検討                                  | 日本食品微生物学会           | 2007年9月28日 | 東京 |
| 秋庭正人、<br>中岡祐司、<br>鮫島俊哉、<br>吉井紀代、<br>中澤宗生、<br>内田郁夫、<br>寺門誠致 | 日本の牛群における <i>Salmonella</i><br><i>Dublin</i> の薬剤感受性                        | 第81回日本細菌学会<br>総会    | 2008年3月25日 | 京都 |
| 菅原克、<br>深水大、<br>岡崎ひづる、<br>石岡幸子、<br>岩田剛敏、<br>内田郁夫、<br>秋庭正人  | 国内の牛から分離されたセファ<br>ロスポリン耐性サルモネラにお<br>ける <i>bla<sub>CMY-2</sub></i> 遺伝子の存在様式 | 第146回日本獣医学会<br>学術集会 | 2008年9月25日 | 宮崎 |

|  |   |                   |                   |     |
|--|---|-------------------|-------------------|-----|
| 小西典子,<br>尾畑浩魅,<br>下島優香子,<br>門間千枝,<br>仲真晶子,<br>甲斐明美,<br>矢野一好          | サルモネラInfantisにおける薬剤耐性菌出現状況  | 第82回日本感染症学会総会     | 2008年             | 島根県 |
| 金子誠二,<br>井田美樹,<br>柴田幹良,<br>平井昭彦,<br>加藤玲,<br>甲斐明美,<br>矢野一好            | 食肉におけるMethicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> および <i>Clostridium difficile</i> の分布 | 第29回日本食品微生物学会学術総会 | 2008年             | 広島県 |
| 田村 豊,<br>村松康和,<br>中島千絵,<br>柳沢千恵,<br>鈴木定彦,<br>花木秀明                    | 動物病院におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の伝播   | 第82回日本感染症学会総会     | 2008年4月17日        | 松江  |
| 下久保奈津美,<br>廉澤 剛,<br>石原加奈子,<br>村松康和,<br>上野弘志,<br>田村 豊                 | 動物病院におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌対策の有効性  | 第146回日本獣医学会学術集会   | 2008年<br>9月24-26日 | 宮崎  |
| 佐藤豊孝,<br>石原加奈子,<br>村松康和,<br>上野弘志,<br>岡林環樹,<br>横田伸一,<br>藤井暢弘,<br>田村 豊 | 犬由来大腸菌のフルオロキノロン耐性機構   | 第146回日本獣医学会学術集会   | 2008年<br>9月24-26日 | 宮崎  |