

令和元年5月7日現在

機関番号：84407

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2017

課題番号：16H07501

研究課題名(和文) 伴侶動物におけるラクタマーゼ産生菌の保有状況およびヒト感染リスクの評価

研究課題名(英文) Prevalence and transfer-link to humans of beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae among companion animals.

研究代表者

梅田 薫(中田薫)(Umeda, Kaoru)

地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所・微生物部・主任研究員

研究者番号：90332444

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：様々な生活背景を持つ収容動物(イヌ・ネコ)を対象としたラクタマーゼ産生菌の保有調査を実施した。イヌ151頭中22頭(14.6%)、ネコ182頭中20頭(11.0%)からラクタマーゼ産生菌が検出された。ESBL産生菌はイヌ8頭、ネコ14頭、AmpC産生菌はイヌ15頭、ネコ6頭から検出された(イヌ1頭はESBLおよびAmpC産生菌保有)。カルバペネマーゼ産生菌は検出されなかった。多様な耐性遺伝子型やPFGE型が検出され、ヒト臨床領域での頻出遺伝子型が含まれていたことから、ヒトと伴侶動物間での薬剤耐性菌の伝播が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒト・動物・環境を含めた薬剤耐性菌の蔓延が問題となっている。イヌ・ネコ等の伴侶動物はヒトと密接な関係を持ち、薬剤耐性菌が双方向に伝播しつるため、多様な生活背景を持つ収容動物の調査は耐性菌の汚染指標となりうる。本研究から多様な生活背景を持つイヌ・ネコが高率にラクタマーゼ産生菌を保有し、その耐性遺伝子型にはヒトでの頻出型が含まれることが分かった。これはヒトと伴侶動物間での薬剤耐性菌の伝播や、ヒト・動物・環境における多様な薬剤耐性菌の蔓延を示唆するものである。

研究成果の概要(英文)：We investigated the prevalence of cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae among sheltered dogs and cats with various backgrounds. Cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae was detected in 22 dogs (14.6%) and 20 cats (11.0%): 21 were extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing, 20 were AmpC-producing, and 1 was both ESBL- and AmpC-producing. We found several types of cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae distributed among companion animals with a range of individual attributes and histories in Osaka, Japan. Companion animals may play a bridging role in the circulation of antimicrobial-resistant bacteria from humans and from other origins.

研究分野：細菌学

キーワード：薬剤耐性菌 ラクタマーゼ産生菌 伴侶動物 ワンヘルス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、抗菌薬の汎用により、様々な細菌で薬剤耐性菌の出現が認められている。国内でも、体力・免疫力が低下して易感染状態にあるヒトが薬剤耐性菌に感染して重篤な症状を呈する院内感染事例が多発している。中でもペニシリン系、セファロsporin系、カルバペネム系などのラクタム系薬剤を分解して不活化するラクタマーゼ産生菌 (ESBL 産生菌、AmpC 産生菌、カルバペネマーゼ産生菌) は、医療環境だけでなく、畜産分野や環境を含めた世界的規模の拡散が問題となっている。

2. 研究の目的

伴侶動物はヒトと生活域を共有し密接な関係にあることから伴侶動物が保有している病原体はダイレクトにヒトに移行しうる。また、ペットフードとしての生肉の喫食、散歩等の経路により、畜産動物や環境中の菌を取り込む可能性もある。よって、伴侶動物の調査はヒト・動物・環境を含めた薬剤耐性菌の汚染指標にもなりうると考えられる。本研究では、多様な生活背景を持つ収容動物 (イヌ・ネコ) におけるラクタマーゼ産生菌の保有調査および、分離菌の遺伝学的解析を行った。

3. 研究の方法

イヌ 151 頭、ネコ 182 頭の糞便あるいは直腸スワブを調査材料とし、CTX 添加マッコンキー寒天培地によるラクタマーゼ産生菌のスクリーニング検査を行った。検出された菌について、ディスク法、微量液体希釈法による薬剤感受性試験、阻害剤 (CLA, ABP, SMA) を用いたラクタマーゼ検出試験、カルバ NP テスト、菌種同定キットによる菌種同定等を実施した。また、耐性遺伝子検出 PCR 法、得られた増幅産物のシーケンスによりラクタマーゼ遺伝子を同定した。分離菌の PFGE 型別 (*Xba* I) を行い、バンドパターンの相同性に基づく系統樹を作成した。キノロン耐性菌の QRDR 遺伝子の変異および PMQR 遺伝子の有無を確認した。調査動物の個体情報 (性別、年齢層、健康状態、所有者の有無等) と菌保有の関連性を Fisher の直接確率法により統計学的に検討した。

4. 研究成果

(1) ラクタマーゼ産生菌保有状況

ラクタマーゼ産生菌は、イヌ 22 頭 (14.6%)、ネコ 20 頭 (11.0%) から検出された。ESBL 産生菌はイヌ 8 頭、猫 14 頭から検出 (イヌ 1 頭は ESBL 産生菌および AmpC 産生菌保有) され、1 株 (*K. pneumoniae*) を除きすべて大腸菌であった。AmpC 産生菌はイヌ 15 頭、ネコ 6 頭から検出され、すべて大腸菌であった。

(2) 調査動物の個体情報と菌保有との関連

調査動物の個体情報と菌保有との関連を表 1 に示した。統計学的解析の結果、イヌにおいて、オス群がメス群と比較して有意に検出率が高かった ( $P=0.035$ , オッズ比 3.245)。ネコにおいて、有意差は検出されなかった。

(3) 分離菌株の遺伝学的および生物学的特性 (図 1)

43 株のラクタマーゼ産生菌のうち、22 株が ESBL 産生菌、21 株が AmpC 産生菌であった。カルバペネマーゼ産生菌は検出されなかった。菌種は、42 株が大腸菌であった。*K. pneumoniae* は ESBL 産生菌 1 株がネコから分離され、CTX-M-15, TEM-1, SHV-28 遺伝子を持ち、MLST 型は ST15 (Clonal group15) であった。本株は GM, CEZ, CAZ, CPF, ST, ABPC に耐性であった。

21 株の ESBL 産生大腸菌は、すべて CTX-M 遺伝子を保有していた。内 7 株は TEM-1 遺伝子を保有していた。8 種類の CTX-M 遺伝子; CTX-M-1, 2, 8, 14, 15, 24, 27, 55 が検出された。MLST 型別により 13 の ST; 117, 131, 38, 69, 155, 162, 165, 345, 350, 405, 648, NA(II), NA(III) に分類された。ST131 株は系統群 B2 に属し、血清型は O25, UT であり、CTX-M-14 あるいは 27 遺伝子が検出された。

21 株の AmpC 産生大腸菌は、CMY-2 が 15 株、DHA-1 が 3 株であった。3 株はどの遺伝子も検出されなかった。AmpC 産生大腸菌は 12 の ST; 10, NA(I), 38, 297, 93, 2541, 56, 162, 3549, 73, 589, 115 に分類された。

表1. 個体情報と菌保有との関連

調査動物の個体情報		ラクタマーゼ産生菌保有個体数/割合 (%)	
		イヌ	ネコ
		22/151 (14.6%)	20/182 (11.0%)
性別	オス	17/83 (20.5%)*	11/71 (15.5%)
	メス	5/68 (7.4%)*	9/110 (8.2%)
年齢層	< 3か月齢	0/12 (0%)	4/34 (11.8%)
	≥ 3か月齢	22/139 (15.8%)	16/148 (10.8%)
所有者	有り	15/86 (17.4%)	4/69 (5.8%)
	不明	7/65 (10.8%)	16/113 (14.2%)
健康状態	健康	16/128 (12.5%)	17/147 (11.6%)
	不健康	6/23 (26.1%)	3/35 (8.6%)

\*有意差を検出  $P=0.035$ , odds比: 3.245 (95% credible interval 1.166-8.974)



37 株 (86%) が MDR と定義された。これは伴侶動物およびヒトの感染症治療に影響を与える重要な知見である。

ラクタマーゼ産生菌が多様な生活背景を持つ伴侶動物から分離されたこと、分離菌が遺伝学的多様性を持っていたことより、菌は様々なルート；ヒトとのコンタクト、環境、生のペットフード、抗生物質投与などを介して伴侶動物に取り込まれていると考えられた。

<引用文献> Matsumura et al., J Antimicrob Chemother. 67:2612-2620, 2012. Kawamura et al., Microb Drug Resist. 23:1059-1066, 2017. Magiorakos AP., Clin Microbiol Infect 18:268-281, 2012.

## 5 . 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計 1 件)

Kaoru Umeda, Atsushi Hase, Masashi Matsuo, Tomoaki Horimoto, Jun Ogasawara. Prevalence and genetic characterization of cephalosporin-resistant *Enterobacteriaceae* among dog and cats in an animal shelter. Journal of Medical Microbiology 68(3):339-345. DOI 10.1099/jmm.0.000933.

### 〔学会発表〕(計 3 件)

梅田 薫、松尾雅史、長谷 篤、堀本知昭、小笠原 準. 大阪市内の伴侶動物における薬剤耐性菌の保有状況. 第 160 回日本獣医学会学術集会、鹿児島市 (2017. 9.13-15)

松尾 雅史、梅田 薫、長谷 篤、畠山 理沙、小笠原 準、堀本 知昭. 大阪市のイヌ・ネコにおける薬剤耐性菌保有状況調査. 平成 29 年度獣医学術近畿地区学会、堺市 (2017.10.8)

梅田 薫、松尾雅史、長谷 篤、堀本知昭、小笠原 準. 大阪市内の収容動物における薬剤耐性菌の保有状況. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡市 (2018.3.27-29)

### 〔図書〕(計 0 件)

### 〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

### 〔その他〕

ホームページ等

地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所 HP <http://www.iph.osaka.jp/index.html>

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

なし

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：松尾 雅史、堀本 知昭、長谷 篤、福田 昭

ローマ字氏名：Masashi Matsuo, Tomoaki Horimoto, Atsushi Hase, Akira Fukuda.

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。