

# 学 位 論 文 要 旨

氏名 木村 唯

題 目 : Investigation of pathogenicity and antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. in dogs and cats  
(犬と猫におけるアシネトバクター属菌の病原性と薬剤耐性に関する調査)

## 論文要旨 :

近年、愛玩動物と人との関係はより密接となり、これにより各種薬剤耐性菌の人 - 動物間の共有化が懸念されている。アシネトバクター属菌は、自然環境中に存在するが、人医療分野において日和見感染や院内感染を起こす薬剤耐性菌として注目されており、特にカルバペネム耐性株は人医療上深刻な問題となっている。犬や猫においても、アシネトバクター属菌は尿路感染症、呼吸器感染、皮膚感染症などから低率ではあるが分離され、耐性菌の出現も報告されている。一方、動物における病原性や薬剤耐性の発生状況に関する研究は、十分に行われていない。そこで本研究では、日本国内におけるカルバペネム耐性アシネトバクター属菌と国内各地の犬と猫から分離されたアシネトバクター属菌を対象とし、病原性と薬剤耐性について調査を行った。

第一章では、IMP-1 型メタロ- $\beta$ -ラクタマーゼ (MBL) 産生 *Acinetobacter radioresistens* を犬の膀胱炎と猫の結膜炎から分離した。これら 2 株の MBL 産生 *A. radioresistens* は薬剤感受性試験に用いられたすべての  $\beta$  ラクタム系薬に耐性を示した一方、ゲンタマイシン、アミカシン、ミノサイクリンには感受性を示した。また、猫からの分離株はシプロフロキサシン、レボフロキサシンにも感受性を示した。これらの 2 症例は、感受性試験で感受性を示したテトラサイクリン系薬もしくはフルオロキノロン系薬の投与により治癒に至った。次世代シーケンサーを用いて全ゲノム解析を行った結果、カルバペネム耐性遺伝子として、*bla*<sub>IMP-1</sub> および *bla*<sub>OXA-23</sub> が検出されたが、*bla*<sub>OXA-23</sub> にはプロモーター配列が確認されず、*bla*<sub>IMP-1</sub> がカルバペネム耐性の責任遺伝子であることが示された。さらに、薬剤耐性遺伝子の網羅的検索により、今回分離された 2 株の MBL 産生 *A. radioresistens* は、同時にスルホンアミド、アミノグリコシド耐性に関する遺伝子を複数保有していることが明らかとなった。コンパニオンアニマルからの IMP-1 型 MBL 産生 *A. radioresistens* の分離報告は、本報告が世界で初めてであった。MBL 産生菌の拡散防止の観点から、小動物臨床領域において、MBL 産生菌の動向には注意を払う必要性が示唆された。

第二章では、日本各地の小動物臨床施設において、犬と猫から分離された 67 株のアシネトバクター属菌を対象として、病原因子および薬剤耐性の保有状況を調査した。菌種の構成は、*Acinetobacter baumannii* が 21 株、non-*baumannii* *Acinetobacter* が 46 株であった。PCR

を用いて病原性に関与する遺伝子の保有状況を調べた結果、最も高率に検出された病原遺伝子は *afa/draBC* (29.9%) であった。次いで、*papC* (22.4%)、*cvaC* (20.9%) が検出された。薬剤感受性試験の結果、本研究で対象としたアシネトバクター属菌は、ゲンタマイシン (14.9%) およびシプロフロキサシン (11.9%) に比較的高率に耐性を示すことが明らかとなった。ゲンタマイシンのみ、シプロフロキサシンのみ、もしくはゲンタマイシンおよびシプロフロキサシンに耐性を示した 5 株の *A. baumannii* について、multilocus sequence typing (MLST) 解析を行った結果、それぞれ ST25、ST149、ST164、ST203、ST1198 であった。また、フルオロキノロン系耐性機構について解析を行った結果、すべてのシプロフロキサシン耐性株において、キノロン耐性決定領域 (QRDR) である *gyrA* と *parC* の一方あるいは両方に点変異を生じていることが明らかとなった。一方、今回の分離株は、プラスミド伝達性キノロン耐性因子 (PMQR) は保有しないことが示された。本章では、日本国内におけるコンパニオンアニマル由来のアシネトバクター属菌の特性を把握することができた。

本研究により、日本国内においてコンパニオンアニマル由来アシネトバクター属菌の多剤耐性化は発生していない一方、いくつかの抗菌薬に耐性を示す株は存在することが明らかとなった。多剤耐性菌の発生および拡大防止のため、今後も薬剤耐性菌についてのサーベイランスを行う必要がある。本研究で対象としたアシネトバクター属菌の株数は限定的ではあったが、本研究は獣医療域におけるアシネトバクター属菌の病原性と薬剤耐性に関する研究を推進する一助となると考える。

## 学位論文審査の結果の要旨

氏 名	木村 唯
審 査 委 員	主 査：山口大学 教授 度会 雅久
	副 査：山口大学 教授 島田 緑
	副 査：JRA 競走馬総合研究所 研究役 丹羽 秀和 (客員教授)
	副 査：山口大学 准教授 清水 隆
	副 査：鹿児島大学 准教授 安藤 匡子
題 目	Investigation of pathogenicity and antimicrobial resistance of <i>Acinetobacter</i> spp. in dogs and cats (犬と猫におけるアシネトバクター属菌の病原性と薬剤耐性に関する調査)

### 審査結果の要旨：

近年、愛玩動物と人との関係はより密接となり、これにより各種薬剤耐性菌の人 - 動物間の共有化が懸念されている。アシネトバクター属菌は、自然環境中に存在するが、人医療分野において日和見感染や院内感染を起こす薬剤耐性菌として注目されており、特にカルバペネム耐性株は人医療上深刻な問題となっている。犬や猫においても、アシネトバクター属菌は尿路感染症、呼吸器感染、皮膚感染症などから低率ではあるが分離され、耐性菌の出現も報告されている。一方、動物における病原性や薬剤耐性の発生病況に関する研究は、十分に行われていない。そこで本研究では、日本国内におけるカルバペネム耐性アシネトバクター属菌と国内各地の犬と猫から分離されたアシネトバクター属菌を対象とし、病原性と薬剤耐性について調査を行った。

#### 1) IMP-1 型メタロ-β-ラクタマーゼ (MBL) 産生 *Acinetobacter radioresistens* の性状

IMP-1 型メタロ-β-ラクタマーゼ (MBL) 産生 *Acinetobacter radioresistens* を犬の膀胱炎と猫の結膜炎から分離した。これら 2 株の MBL 産生 *A. radioresistens* は薬剤感受性試験に用いられたすべての β ラクタム系薬に耐性を示した一方、ゲンタマイシン、アミカシン、ミノサイクリンには感受性を示した。また、猫からの分離株はシプロフロキサシン、レボフロキサシンにも感受性を示した。これらの 2 症例は、感受性試験で感受性を示したテトラサイクリン系薬もしくはフルオロキノロン系薬の投与により治癒に至った。次世代シーケンサーを用いて全ゲノム解析を行った結果、カルバペネム耐性遺伝子として、*bla*<sub>IMP-1</sub> および *bla*<sub>OXA-23</sub> が検出されたが、*bla*<sub>OXA-23</sub> にはプロモーター配列が確認されず、*bla*<sub>IMP-1</sub> がカルバペネム耐性の責任遺伝子であることが示された。さらに、薬剤耐性遺伝子の網羅的検索により、今回分離された 2 株の MBL 産生 *A. radioresistens* は、同時にスルホンアミド、アミノグリコシド耐性に

関する遺伝子を複数保有していることが明らかとなった。コンパニオンアニマルからの IMP-1 型 MBL 産生 *A. radioresistens* の分離報告は、本報告が世界で初めてであった。MBL 産生菌の拡散防止の観点から、小動物臨床領域において、MBL 産生菌の動向には注意を払う必要性が示唆された。

## 2) アシネトバクテリ属菌の病原因子および薬剤耐性の保有状況

日本各地の小動物臨床施設において、犬と猫から分離された 67 株のアシネトバクテリ属菌を対象として、病原因子および薬剤耐性の保有状況を調査した。菌種の構成は、*Acinetobacter baumannii* が 21 株、non-*baumannii* *Acinetobacter* が 46 株であった。PCR を用いて病原性に関与する遺伝子の保有状況を調べた結果、最も高率に検出された病原遺伝子は *afa/draBC* (29.9%) であった。次いで、*papC* (22.4%)、*cvaC* (20.9%) が検出された。薬剤感受性試験の結果、本研究で対象としたアシネトバクテリ属菌は、ゲンタマイシン (14.9%) およびシプロフロキサシン (11.9%) に比較的高率に耐性を示すことが明らかとなった。ゲンタマイシンのみ、シプロフロキサシンのみ、もしくはゲンタマイシンおよびシプロフロキサシンに耐性を示した 5 株の *A. baumannii* について、multilocus sequence typing (MLST) 解析を行った結果、それぞれ ST25、ST149、ST164、ST203、ST1198 であった。また、フルオロキノロン系耐性機構について解析を行った結果、すべてのシプロフロキサシン耐性株において、キノロン耐性決定領域 (QRDR) である *gyrA* と *parC* の一方あるいは両方に点変異を生じていることが明らかとなった。一方、今回の分離株は、プラスミド伝達性キノロン耐性因子 (PMQR) は保有しないことが示された。日本国内におけるコンパニオンアニマル由来のアシネトバクテリ属菌の特性を把握することができた。本研究は獣医療域におけるアシネトバクテリ属菌の病原性と薬剤耐性に関する研究を推進する一助となると考える。

以上により、審査委員一同は博士 (獣医学) の学位論文として十分な価値を有するものと判定した。