

## 愛玩用モルモットからのメチシリン耐性 *Staphylococcus haemolyticus* の分離

宮本 忠<sup>1)†</sup> 木村 唯<sup>1)</sup> 鳩谷晋吾<sup>2)</sup> 青木弘太郎<sup>3)</sup> 石井良和<sup>3)</sup>

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)

3) 東邦大学医学部 (〒143-8540 大田区大森西 5-21-16)

(2016年4月4日受付・2016年6月6日受理)

### 要 約

メチシリン耐性 (MR) の staphylococci が犬や猫で増加し、それに伴う人への伝播が問題になってきているが、わが国でモルモットにおける同菌の分離報告はない。今回、ペットショップで飼育されていた愛玩用モルモットが脱毛を主訴として受診した。皮膚病変から MR-*Staphylococcus haemolyticus* TUM14414 が分離され、同菌が皮膚炎の起原菌であると考えられた。同分離菌は、フルオロキノロン系薬耐性を示したが、クロラムフェニコール、テトラサイクリン系、グリコペプチド系及びアミノグリコシド系薬には感受性を示した。同菌株の全ゲノム解析の結果では、① GyrA のキノロン耐性決定領域に S84L の変異が認められ、② SCCmec は市中感染型の V 型であった。今回、愛玩用モルモットから MR-*S. haemolyticus* が分離されたことから、モルモットを介した人への同菌の感染が成立する可能性が示唆された。——キーワード：モルモット、メチシリン耐性 staphylococci, *Staphylococcus haemolyticus*.

-----日獣会誌 69, 612~615 (2016)

近年、犬や猫からのメチシリン耐性 (MR) の staphylococci の検出が世界的に増加し、それに伴い、MR-staphylococci の動物から人への伝播が問題になっている [1-3]。一方、モルモットにおいては、これまでドイツで MR-*Staphylococcus aureus* の分離報告例が 1 例あるだけで [4]、わが国では MR-staphylococci が分離された報告例はない。そのため、モルモットは MR-staphylococci の人への感染源として考えられていなかった。

モルモットは、不衛生な環境、日常的な皮膚の湿潤あるいはストレスなどにより細菌性皮膚炎を発症する [5]。細菌性皮膚炎の起原菌として *S. aureus* 及び *Staphylococcus epidermidis* が関与することが多いと報告されているが [5]、モルモットの細菌性皮膚炎の起原菌に関する報告はほとんどない。

今回、ペットショップで販売された愛玩用モルモットの皮膚病変から MR-*S. haemolyticus* が分離された。

### 症 例

ペットショップで販売されていた愛玩用モルモット、

10 カ月齢、体重 700g の雌の個体が、脱毛を主訴に受診した。このモルモットは他店からの仕入個体で、それ以前の治療歴及び同居モルモットに関する情報は不明であった。外部検査にて腰背部と腹部に脱毛と鱗屑が認められたため、皮膚の搔把、細菌培養、薬剤感受性及び真菌培養検査を行った。搔把検査では寄生虫は検出されず、真菌培養でも真菌類は分離されなかった。一方、(株)日本医学臨床検査研究所 (京都) に依頼した細菌培養検査では、グラム陽性球菌とグラム陰性桿菌が分離され、*S. haemolyticus* と *Corynebacterium* spp. と同定された。薬剤感受性検査では、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) のガイドライン (M07-A10) に基づいたディスク法及びドライプレート (“栄研” BT42, 栄研化学(株), 東京) を用いた微量液体希釈法で実施した。薬剤感受性検査成績の解釈は CLSI の M100-S25 に従って行った。供試菌株である *Corynebacterium* spp. 及び *S. haemolyticus* TUM14414 の薬剤感受性検査成績は表 1, 2 のとおりである。*Corynebacterium* spp. は検査したすべての薬剤に感受性を示した。*S. haemolyticus* TUM14414 における微量液体希釈法での

† 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 モルモットから分離された細菌のディスク法を用いた薬剤感受性検査成績

薬 剤	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> TUM14414	<i>Corynebacterium</i> spp.
バンコマイシン	S*	NT
テイコプラニン	S	NT
リネゾリド	S	NT
ドキシサイクリン	S	S
クロラムフェニコール	S	S
ホスホマイシン	S	S
ゲンタマイシン	S	S
アミカシン	S	S
アルベカシン	S	NT
スルファメトキサゾール・トリメトプリム	S	S
オフロキサシン	R	S
クラブラン酸・アモキシシリン	R	NT
セファレキシリン	R	NT

\*S: 感受性, R: 耐性, NT: 検査せず

オキサシリンの最少発育阻止濃度 (MIC) 値が $>8\mu\text{g/ml}$  (耐性:  $>4\mu\text{g/ml}$ ) を示したことから, MR-*S. haemolyticus* であることを確定した. 薬剤感受性検査結果が判明する前に, 経験的治療としてエンロフロキサシンが,  $5\text{mg/kg}$ , 1日2回, 経口, 10日間の条件で投与されたが, 症状の改善は認められなかった. *S. haemolyticus* TUM14414 はフルオロキノロン系薬 (オフロキサシン, レボフロキサシン及びトスフロキサシン) に耐性を示したため (表1, 2), 第11病日からディスク法にて当該菌株に対する感受性が確認されたクロラムフェニコールを  $50\text{mg/kg}$ , 1日2回, 経口投与した. その後, 症状は改善し, 20日後に治癒したため投薬を中止した.

*S. haemolyticus* TUM14414 のオキサシリン耐性及びフルオロキノロン系薬に対する耐性機序を解明するために, 次世代シーケンサー (Illumina MiSeq システム, 300bp-ペアエンドシーケンス) を用いた全ゲノム解析を行った. 300bpのショートリードのアセンブルには CLC genomics workbench (CLC bio) を用いた. 薬剤耐性遺伝子の検索及び SCCmec typing には, ResFinder2.1 及び blastn プログラム (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>) を用いた [6, 7]. GyrA, GyrB, ParC 及び ParE のキノロン耐性決定領域 (QRDR) の変異解析は, *S. haemolyticus* DNF00585 株 (GenBank アクセッション番号: NZ\_JRNM000000000.1) のゲノム配列をフルオロキノロン感受性の野生株として比較・検討した. *S. haemolyticus* TUM14414 が有する SCCmec は V 型であった. また, GyrA の QRDR には S84L のアミノ酸置換変異 (塩基置換: C251T) のみが認められた.

表2 モルモットから分離された *Staphylococcus haemolyticus* TUM14414 の微量液体希釈法を用いた薬剤感受性検査成績

薬 剤	MIC 値 ( $\mu\text{g/ml}$ )	判定*
オキサシリン	$>8$	R
エリスロマイシン	0.25	S
バンコマイシン	$<1$	S
テイコプラニン	2	S
アルベカシン	$\leq 0.25$	S
レボフロキサシン	8	R
トスフロキサシン	$>16$	R
ミノサイクリン	2	S
スルファメトキサゾール・トリメトプリム	38/2	S
リネゾリド	1	S

\*S: 感受性, R: 耐性

## 考 察

人において, *S. haemolyticus* は日和見病原体で, *S. epidermidis* に次いで分離頻度の高いコアグラゼ陰性 staphylococci である [8-11]. *S. haemolyticus* は各種抗菌薬に対する耐性獲得が staphylococci の中でも早いとされ [12], 抗菌薬による *S. haemolyticus* 感染症の治療が困難になると報告されている [8, 13]. モルモットの細菌性皮膚炎の起病菌として *S. aureus* 及び *S. epidermidis* が重要であるが, 同時に *Treponema* spp. や *Streptococcus* spp., *Fusobacterium* spp., *Corynebacterium* spp. などが分離されたとの報告がある [5]. 一方, モルモットの細菌性皮膚炎の起病菌として *S. haemolyticus* はこれまで報告されていない. 本症例は *S. haemolyticus* TUM14414 に耐性を示したフルオロキノロン系薬の投与では皮膚症状は改善せず, 感受性を示したクロラムフェニコールの投与で皮膚症状が改善した. したがって, *S. haemolyticus* が本症例の皮膚炎の起病菌である可能性が示唆された.

モルモットなどのげっ歯類は,  $\beta$ -ラクタム系, マクロライド系, リンコマイシン系及びアミノグリコシド系などの抗菌薬の投与によって抗生物質起因性腸毒素血症及び腸炎を起こすため, 使用できる抗菌薬が限られている [14]. そのため, 細菌感染症の経験的治療にフルオロキノロン系薬が用いられることが多いが [14], 本症例から分離された *S. haemolyticus* は, フルオロキノロン耐性を併せ持っていた. したがって, モルモットの感染症においても, 分離された菌株の薬剤感受性検査を必ず実施し, その結果に基づく抗菌薬投与が重要であると考えられた.

*S. haemolyticus* TUM14414 の全ゲノム解析の結果, ① GyrA のキノロン耐性決定領域に S84L の変異が認められること, ② SCCmec は市中感染型である V 型であ

ることが明らかとなった。SCC*mec* V型の菌株の多くがオキサシリン及びセフォキシチンに耐性を示すが、その他のβ-ラクタム系薬を含む多くの抗菌薬系統に感受性を示すことが報告されており [15]、上述の感受性検査成績はこれに矛盾しないと考えられた。

今回、MR-S. *haemolyticus* が分離されたモルモットは販売用にペットショップで飼育されていた。ペットショップの場合、今回は確認されなかったが、集団で飼育されているために感染した動物個体から他のモルモットや他の小動物に感染が拡大する可能性がある。その結果、薬剤耐性菌が感染した、もしくは保菌している動物個体が市場に出回るリスクが増加し、さらには成人に比較して易感染者である子どもへと伝播し、感染症を引き起こす可能性がある。したがって、ペットショップにおいて、細菌感染症の発生を最小限にするために、飼育環境の整備と慎重な観察の必要がある。飼育環境の整備として、標準予防策の順守が重要である。すなわち、動物に接触する前後の手指消毒、必要な場合のディスボーズ手袋、ガウン、マスク及びゴーグルの着用が重要である。さらに、細菌感染症の発生を検知した場合、早期に保菌動物の隔離と適切な治療を行い、他の個体への伝播防止対策を徹底して行う必要がある。

今回、モルモットにおいてもMR-staphylococciが分離された。ペットとして飼育される小動物が保菌する薬剤耐性菌は人に伝播し、感染症を引き起こす可能性があるために、公衆衛生上重要であると考えられた。今後、モルモットをはじめとした小動物におけるMR-staphylococciを含めた薬剤耐性菌の保有状況を明らかにすると同時に、それらの薬剤耐性菌の拡散防止策を講じる必要があると考える。

## 引用文献

- [1] Weese JS : Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals, *ILAR J*, 51, 233-244 (2010)
- [2] 田村 豊 : コンパニオンアニマルを介した耐性菌汚染 - 日本と世界・現状と対策, *臨床と微生物*, 37, 655-660 (2010)
- [3] Wieler LH, Ewers C, Guenther S, Walther B, Lübke-Becker A : Methicillin-resistant staphylococci (MRS) and extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) -producing *Enterobacteriaceae* in companion animals: nosocomial infections as one reason for the rising prevalence of these potential zoonotic pathogens in clinical samples, *Int J Med Microbiol*, 301, 635-641 (2011)
- [4] Walther B, Wieler LH, Vincze S, Antão EM, Brandenburg A, Stamm I, Kopp PA, Kohn B, Semmler T, Lübke-Becker A : MRSA variant in companion animals, *Emerg Infect Dis*, 18, 2017-2020 (2012)
- [5] Ellis C, Mori M : Skin diseases of rodents and small exotic mammals, *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*, 4, 493-542 (2001)
- [6] Kondo Y, Ito T, Ma XX, Watanabe S, Kreiswirth BN, Etienne J, Hiramatsu K : Combination of multiplex PCR for staphylococcal cassette chromosome *mec* type assignment: rapid identification system for *mec*, *ccr*, and major differences in junkyard regions, *Antimicrob Agents Chemother*, 51, 264-274 (2007)
- [7] Zankari E, Hasman H, Cosentino S, Vestergaard M, Rasmussen S, Lund O, Aarestrup FM, Larsen MV : Identification of acquired antimicrobial resistance genes, *J Antimicrob Chemother*, 67, 2640-2644 (2012)
- [8] de Allori MC, Jure MA, Romero C, de Castillo ME : Antimicrobial resistance and production of biofilms in clinical isolates of coagulase-negative *Staphylococcus* strains, *Biol Pharm Bull*, 29, 1592-1596 (2006)
- [9] de Silva GDI, Kantzanou M, Justice A, Massey RC, Wilkinson AR, Day NPJ, Peacock SJ : The *ica* operon and biofilm production in coagulase-negative staphylococci associated with carriage and disease in a neonatal intensive care unit, *J Clin Microbiol*, 40, 382-388 (2002)
- [10] Fischetti A, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA, Rood JI, Lina G, Etienne J, Vandenesch F : Biology and pathogenicity of staphylococci other than *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, Gram-positive pathogens, 450-462, ASM Press, Washington DC (2000)
- [11] Viale P, Stefani S : Vascular catheter-associated infections: a microbiological and therapeutic update, *J Chemother*, 18, 235-249 (2006)
- [12] Froggatt JW, Johnston JL, Galetto DW, Archer GL : Antimicrobial resistance in nosocomial isolates of *Staphylococcus haemolyticus*, *Antimicrob Agents Chemother*, 33, 460-466 (1989)
- [13] Klingenberg C, Rønnestad A, Anderson AS, Abrahamson TG, Zorman J, Villaruz A, Flaegstad T, Otto M, Sollid JE : Persistent strains of coagulase-negative staphylococci in a neonatal intensive care unit: virulence factors and invasiveness, *Clin Microbiol Infect*, 13, 1100-1111 (2007)
- [14] Hawkins M : Diseases problems of guinea pigs, Ferrets, rabbits, and rodents: clinical medicine and surgery, Quesenberry KE, et al eds, 3rd ed, 295-310, Elsevier Saunders, Missouri (2011)
- [15] Adwan K, Jarrar N, Abu-Hijleh A, Adwan G, Awwad E, Salameh Y : Molecular analysis and susceptibility patterns of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains causing community- and health care-associated infections in the northern region of Palestine, *Am J Infect Control*, 41, 195-198 (2013)

## Isolation of Methicillin-resistant *Staphylococcus haemolyticus* from a Pet Guinea Pig

Tadashi MIYAMOTO<sup>1)†</sup>, Yui KIMURA<sup>1)</sup>, Shingo HATOYA<sup>2)</sup>,  
Kotaro AOKI<sup>3)</sup> and Yoshikazu ISHII<sup>3)</sup>

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

2) *Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University, 1-58  
Rinku Ourai kita, Izumisano-shi, 598-8531, Japan*

3) *Faculty of Medicine, Toho University, 5-21-16 Omorinishi, Ota-ku, 143-8540, Japan*

### SUMMARY

The increase of methicillin-resistant (MR) staphylococci in dogs and cats, and the spread of MR staphylococci to humans has become a concern, but there was no report on MR staphylococci in pet guinea pigs in Japan. A guinea pig, which was kept as a commercial pet in a shop, was sent to an animal hospital because it exhibited the main symptoms of alopecia. MR-*Staphylococcus haemolyticus* TUM14414 was isolated from the skin lesion, and *S. haemolyticus* TUM14414 was thought to be the bacteria causing dermatitis. In the drug sensitivity test, the isolated *S. haemolyticus* TUM14414 was resistant to fluoroquinolones, and susceptible to chloramphenicol, tetracyclines, glycopeptides, and aminoglycosides. Whole-genome sequencing analysis of *S. haemolyticus* TUM14414 showed that ① the mutation of S84L was detected in the quinolone resistance-determining region of the GyrA, and that ② SCC*mec* was type V, which was found in the community that had become infected. Because MR-S. *haemolyticus* was isolated from a pet guinea pig, there is the possibility that guinea pigs can transmit MR-S. *haemolyticus* to humans.

— Key words : Guinea pig, methicillin-resistant staphylococci, *Staphylococcus haemolyticus*.

† Correspondence to : Tadashi MIYAMOTO (*Miyamoto Animal Hospital*)

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

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

*J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 69, 612 ~ 615 (2016)*