

調査研究

福井県内の家庭動物から分離された病原大腸菌、フルオロキノロン耐性大腸菌および CTX-M 型基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ遺伝子保有大腸菌

永田暁洋・山崎史子・石畝 史・大村勝彦

Diarrheagenic *Escherichia coli*, Fluoroquinolone resistant *Escherichia coli* and CTX-M-type β -Lactamase genes harboring *Escherichia coli* Isolated from Companion Animals in Fukui Prefecture

Akihiro NAGATA, Fumiko YAMAZAKI, Fubito ISHIGURO, Katsuhiko OMURA

2009年4月から2010年3月に県内の5動物病院で採取した家庭動物の糞便235検体から病原大腸菌、フルオロキノロン耐性大腸菌およびセファロスポリン耐性大腸菌の分離を試み、分離株の血清型、薬剤感受性および遺伝子型について調査した。病原因子遺伝子はPCR法にて *astA*、*eae*、*aggR*、LT、ST、*stx1* および *stx2* について検索したところ、*astA*陽性24検体、*eae*陽性12検体および *astA*+*eae*陽性2検体であった。薬剤耐性大腸菌は、175/295 (59.4%) 株が分離され、CPFVX耐性およびCTX耐性は51検体70株であった。CPFVX耐性大腸菌の主要血清型はO1:H6およびO25:H4、CTX耐性大腸菌の主要血清型はO1:H6およびO1:HNMで、CTX-M-14とCTX-M-15のどちらか、あるいはその両方を保有していた。

CTX耐性大腸菌等について、地域内流行あるいは動物病院内感染があるかどうかは明らかとはならなかったが、これらの菌は、健康な家庭動物の消化管に常在していると考えられたことから、家庭動物と過度の接触を避ける等、適切な対応が感染症対策ならびに多剤耐性菌のまん延防止に重要である。

1. はじめに

病原大腸菌は、人および動物に下痢等の症状を引き起こす大腸菌の総称である。その病原性の発生機序から腸管毒素原性大腸菌 (ETEC)、腸管侵入性大腸菌 (EIEC)、腸管病原性大腸菌 (EPEC)、腸管凝集付着性大腸菌 (EAggEC)、腸管出血性大腸菌 (EHEC) およびその他の病原大腸菌に分類される。それぞれの病原因子の主なものとして、ETECのLTおよびST、EPECの*eae*、EAggECの*aggR*、EHECの*stx1*、*stx2*、その他の病原大腸菌の*astA*などがある。

一方、人の医療、畜産現場および小動物医療分野などでは年間2,000t以上の抗菌剤が使用されており¹⁾、多様な多剤耐性菌の出現およびその増加が懸念されている。感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律においては、病院関連感染で問題となっているMRSA、VRSA、VRE、PRSPおよび多剤耐性緑膿菌が届出対象となっており、近年では、基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌およびカルバペネマーゼ産生菌の出現なども問題となっている。福井県内では2002年以降、散発下痢症患者から分離されるフルオロキノロン (FQ) 系薬剤耐性大腸菌が増加傾向にあり、ESBL産生菌も散見されるようになってきている²⁾。

病原大腸菌および薬剤耐性大腸菌の人への感染源は鶏肉等の食品が主であると考えられているが、人の腸管外病原大腸菌として注目されているO25-ST131型のクローン株が、犬および猫から分離されたとの報告³⁻⁴⁾が欧米ではあり、人への感染源として家庭動物が関

与している可能性も指摘されている。他方、日本においては、家庭動物の糞便は薬剤耐性大腸菌の人への感染源としての意義は低いとする報告⁵⁾もあり、議論されているところである。

今回、我々は福井県内の5か所の動物病院の協力を得て、家庭動物の糞便を採取し、病原大腸菌、FQ系薬剤耐性大腸菌および第3世代セファロスポリン耐性大腸菌の分離を試み、血清型、薬剤感受性および遺伝子型等について調査した。

2. 材料および方法

2.1 材料

2009年4月から2010年2月に福井県内の5動物病院 (福井市内3病院、坂井市内1病院および大野市内1病院) に来院した家庭動物の糞便235検体を採取した。採便はシードスワブ γ -1号「栄研」(栄研化学)を用いた。動物種は犬161検体、猫69検体、鳥類4検体およびカメラ1検体であった。

2.2 方法

採取した糞便は、生理食塩水約1mlで懸濁した後、mEC培地10mlに接種し、42°Cで18~20時間増菌培養した。

2.2.1 病原大腸菌の分離

畠山らの報告⁶⁾に基づき、増菌培養液400 μ lを12,000rpm、10分間遠心分離し、その沈さをPBSで2回洗浄した。次いで、95°C10分間の加熱処理後12,000rpm、5分間遠心し、その上清をPCR法に供した。PCR法は表

1に示したプライマーを用い、それぞれの病原因子遺伝子の検出を行った。増菌培養液で陽性となった検体は、DHL培地に1白金耳量を塗抹し、37°C、22hr培養し、発育してきた大腸菌と思われるコロニーを10~30個釣菌して、PCR法により同様に検索を行った。病原因子遺伝子陽性が確定した株については、病原大腸菌免疫血清「生研」(デンカ生研)を用いて血清型別を行った。

表1 病原因子遺伝子の検索に用いたプライマー

病原因子遺伝子	プライマー	reference
<i>astA</i>	EAST1S	7)
	EAST1AS	
<i>eae</i>	EA-1	7)
	EA-2	
<i>aggR</i>	aggRks1	8)
	aggRkas2	
<i>lt</i>	LT-1	9)
	LT-2	
<i>st</i>	ST-1	9)
	ST-2	
<i>stx1</i>	V1	10)
	V3	
<i>stx2</i>	V4	10)
	V5	

2. 2. 2 CPFYXおよびCTX耐性大腸菌の分離

シプロフロキサシン(CPFYX)を6.4μg/ml添加したDHL培地およびセフトキシム(CTX)を6.4μg/ml添加したDHL培地に、増菌培養液をそれぞれ1白金耳量塗抹し、37±1°Cで20~24hr培養した。発育してきた大腸菌と思われるコロニーは、1平板あたり5個程度釣菌し、血清型別を行った。

2. 2. 3 薬剤感受性試験および最小発育阻止濃度(MIC)の測定

薬剤感受性試験はClinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)¹¹⁾に準拠したKB法により実施した。使用した薬剤は、アンピシリン(ABPC)、ストレプトマイシン(SM)、テトラサイクリン(TC)、CPFYX、カナマイシン(KM)、CTX、クロラムフェニコール(CP)、ST合剤(ST)、スルフィソキサゾール(Su)、ゲンタマイシン(GM)、ナリジクス酸(NA)およびホスホマイシン(FOM)の12剤とし、分離した295株を供試した。CPFYXに耐性を示した株については、CPFYXおよびエンロフロキサシン(ERFX)のMICを寒天平板希釈法により調べた。また、CTXに耐性を示した株については、CTX、セフトジジム(CAZ)、セフトリアキソン(CTRX)、セフトピロム(CPR)のMICをE-testにより調べた。有意差の検定は、wilcoxonの順位和検定により行った。

2. 2. 4 FQ系薬剤耐性大腸菌の遺伝子解析

CPFYX耐性株のうち、特に多く分離された血清型O1:H6(9株)およびO25:H4(8株)について、耐性機構の解析のため、Giraudらの報告に基づき¹²⁾*gyrA*および*parC*遺伝子のキノロン耐性決定領域(QRDR)を増幅するPCR

を行い、PCR産物を精製した。その後、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し、NCBIのBLASTにより遺伝子変異状況について感受性株と比較した。

2. 2. 5 bla遺伝子保有状況

CTXに耐性を示した株は、八木ら¹³⁾、Shibataら¹⁴⁾、Shengら¹⁵⁾の報告に基づき、*bla*遺伝子のうち、*bla*SHV、*bla*TEM、*bla*CMY、*bla*CMY-2、*bla*CTX-M-1GROUP、*bla*CTX-M-2GROUP、*bla*CTX-M-8GROUPおよび*bla*CTX-M-9GROUPについてPCRにより保有状況を調べた。また、*bla*CTX-M-GROUPのいずれかに陽性となった株は、Dutourら¹⁶⁾の報告に基づき、PCRおよびPCR産物のダイレクトシーケンスを行い、NCBIのBLASTによりCTX-M型を決定した。

2. 2. 6 サルモネラ属菌の分離

鳥類4検体およびカメ1検体は、糞便を緩衝ペプトン水(BPW)で37°C24時間、前増菌培養した後、ハーナのテトラチオネート培地(TT)で42°C24時間増菌培養し、SS寒天培地(SS)に塗抹して37°C24時間培養した。発育してきたサルモネラと思われるコロニーは、TSI培地およびLIM培地に接種し、生化学性状およびIDテスト(栄研化学)を用いて同定した。

2. 2. 7 パルスフィールド・ゲル電気泳動

*bla*CTX-M遺伝子を保有する血清型O1:H6は、感染症研究所の方法¹⁷⁾に基づき、制限酵素*Xba*I処理によるパルスフィールド・ゲル電気泳動(PFGE)を実施した。撮影画像は、画像解析ソフトFingerPrinting IIを用いてUPGMA法により処理し、散发下痢症患者由来O1:H6と比較解析した。

3. 結果

3. 1 動物の年齢および健康状態

検体の動物種は犬161頭、猫69頭、鳥類4羽およびカメ1匹であった。犬161頭の年齢は、生後1ヶ月から18才、猫69頭の年齢は、生後1ヶ月から13才であった。鳥類は4歳が1羽、年齢不明が3羽およびカメは10才であった。

動物の健康状態および投薬歴を図1に示した。消化器症状なし・投薬歴なしが130検体(54.6%)、消化器症状なし・投薬歴ありが46検体(19.3%)、下痢症状あり・投薬歴なしが11検体(4.6%)、下痢症状あり・投薬歴ありが27検体(11.3%)、その他の症状あり・投薬歴なしが8検体(3.4%)およびその他の症状あり・投薬歴ありが16検体(6.7%)であった。204検体(85.7%)は採便時に投薬していなかった。

3. 2 病原大腸菌およびサルモネラの検出状況

29/238検体(12.2%)はDHL培地にコロニーが発育せず、大腸菌は得られなかった。増菌培養液のPCR結果は、61検体(25.6%)が*astA*陽性または*eae*陽性となった。その後の菌検索の結果、37検体(15.1%)から38株の病原大腸菌が検出された。動物種では犬が29/161検体(18.0%)および猫が8/69検体(11.6%)であった。

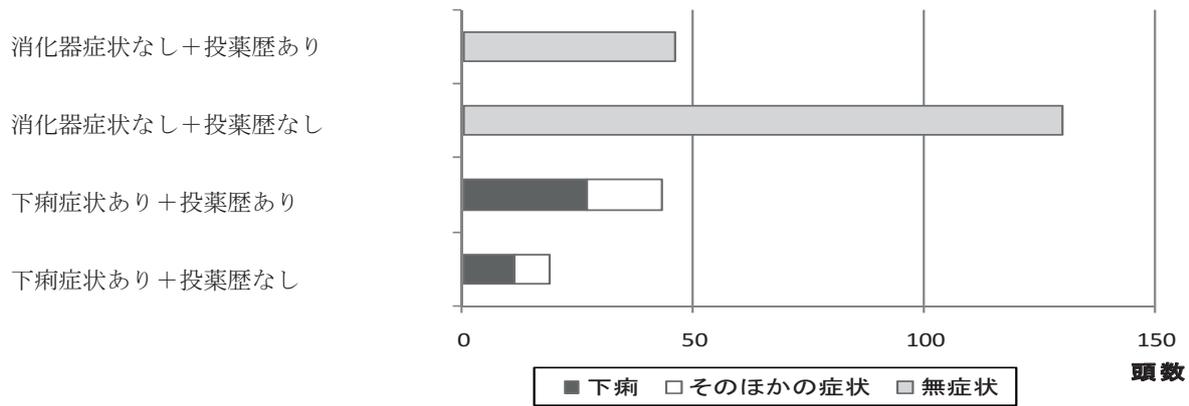


図1 動物の健康状態および投薬歴

astA 陽性は 23 検体 (9.7%) 24 株、*eae* 陽性は 12 検体 (5.0%) 12 株および *astA*+*eae* 陽性は 2 検体 (0.8%) 2 株であった。主な血清型は、O153、O157、O103、O74 および O8 であった (表 2)。病原大腸菌を保有していた動物の年齢は、生後 2 カ月から 18 才で、1 才未満の動物が 24 検体 (64.9%) であった。また、30/37 検体 (83.3%) が消化器症状なしであった。なお、鳥類 4 検体およびカメラ 1 検体からサルモネラは検出されなかった。

表 2 主な病原大腸菌の血清型等

血清型	病原因子遺伝子	検体数	動物種	年齢
O153	<i>astA</i>	5	イヌ	3M~14Y
O157	<i>eae</i>	2	イヌ	2M,6Y 2M
	<i>astA</i> + <i>eae</i>	1		
O103	<i>eae</i>	2	イヌ	2M,3M
O74	<i>astA</i>	2	ネコ	2M,10M
O8	<i>astA</i>	2	ネコ	8M

3. 3 薬剤感受性試験および MIC

分離した 295 株のうち、175 株 (59.4%) が供試した 12 薬剤のいずれかに中間の感受性および耐性を示した。耐性薬剤数は図 2 に示した。1 剤以上に耐性を示した犬分離株は 136/210 株 (64.8%) で、猫分離株は 39/83 株 (46.9%) であった。薬剤別の耐性率 (図 3) は ABPC、TC、SM、Su および NA の順に高く、それぞれ 42.0%、28.5%、27.8%、25.8% および 20.1% であった。FOM を除く 11 薬剤の耐性率は、犬分離株の方が猫分離株より高かった。CPF 耐性株は 55 検体 (23.9%) 59 株 (犬 48 株 および猫 11 株)、CTX 耐性株は 24 検体 30 株、CPF 耐性かつ CTX 耐性株は 14 検体 16 株が分離された。CPF 耐性株および CTX 耐性株が分離された動物の年齢は生後 2 カ月から 18 才で、1 才未満は 20 検体 (39.2%) であった。また、24/51 検体 (47.1%) は投薬歴があった。複数の検体から分離された血清型は、O1 : H6、O1 : HNM、O153 : H6、O25 : H4、O91 : H28、O86a : HNM および O157 : H16 で、CPF 耐性株では特に O1:H6 (9 株) および O25:H4 (8 株) が多かった。17 株に対する CPF および ERF の MIC 等を表 3 に示した。CPF の MIC は、O1:H6 が O25:H4 よりも有意に高かった ($p < 0.05$)

が、ERF の MIC は血清型間で有意差は認められなかった。一方、CTX 耐性株の血清型は O1:H6 および O1:HNM が最も多く、各 5 株分離された。第 3 世代セファロsporin 系 4 薬剤 (CTX、CAZ、CPDX および CTRX) の MIC は 2 血清型間で有意差は見られなかったが、第 4 世代セファロsporin 系薬剤である CPR の MIC は、O1:HNM に対して有意に高かった ($p < 0.01$) (表 4)。

3. 4 QRDR における遺伝子変異

供試した 17 株の遺伝子変異パターンは 5 パターンに分類された (表 5)。すなわち、O1:H6 は 3 点および 4 点変異の 3 パターン、O25:H4 は 1 点および 4 点変異の 2 パターンで、4 点変異株が 12 株であった。変異パターン間で FQ 系薬剤の MIC に有意差は認められなかった。

3. 5 bla 遺伝子保有状況

CTX 耐性の 30 株のうち、CTX-M 型 *bla* 遺伝子保有大腸菌は 24 株で、CTX-M-1G 保有 7 株、CTX-M-9G 保有 13 株および CTX-M-1G+CTX-M-9G 保有 4 株であった。主要な血清型であった O1:H6 および O1:HNM の *bla* 遺伝子保有状況を表 6 に示した。調べた 4 遺伝子群全てを保有する株が 7 株あり、うち 3 株はさらに CTX-M 型 *bla* 遺伝子を 2 種類 (CTX-M-14 および CTX-M-15) 保有していた。

3. 6 CTX-M 型 bla 遺伝子保有 O1:H6 の分子疫学解析

O1:H6 の PFGE 解析結果を図 4 に示した。供試した 13 株全てが異なる遺伝子パターンを示し、散发下痢症患者由来株と家庭飼育動物由来株の間および家庭飼育動物由来株間のいずれにおいても、近縁と推定される遺伝子パターンの株は見られなかった。

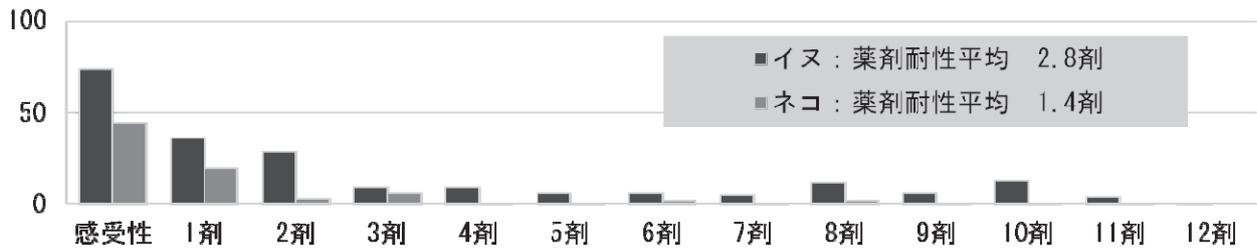


図2 分離株の薬剤耐性状況

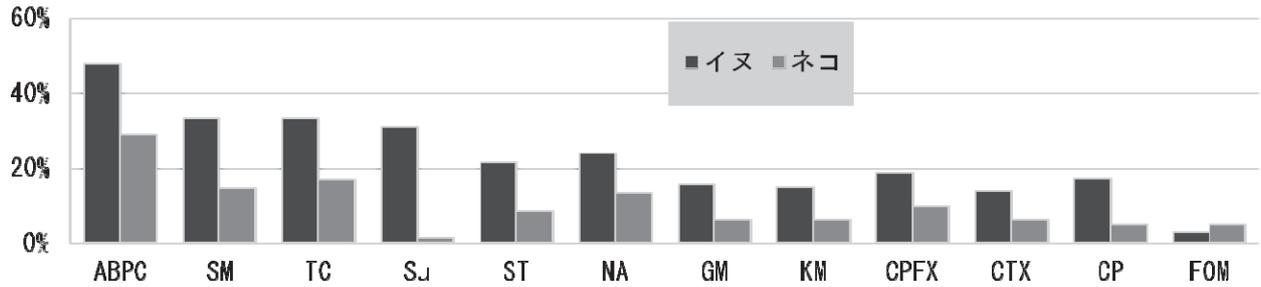


図3 分離株の薬剤別耐性率

表3 O1:H6 および O25:H4 に対する CPFX および ERFX の MIC

血清型	動物種	耐性薬剤数	MIC	
			CPFX	ERFX
O1:H6	イヌ	4	64	128
	イヌ	7	128	512<
	イヌ	8	128	512
	イヌ	8	64	128
	イヌ	9	128	512<
	イヌ	10	256	512<
	イヌ	10	128	256
	イヌ	10	128	128
	イヌ	10	64	128
O25:H4	ネコ	2	32	256
	イヌ	2	32	128
	イヌ	2	64	128
	イヌ	3	64	128
	ネコ	3	128	512<
	イヌ	4	32	64
	ネコ	4	64	128
	イヌ	7	64	512<

表4 O1:H6 および O1:HNM の FQ 耐性状況

血清型	分離検体	分離株数	耐性薬剤数	薬剤の MIC					病原因子遺伝子
				CTX	CAZ	CPDX	CTRX	CPR	
O1:H6	5	5	10						<i>astA</i>
			7	256	32	256<	96	32	
			8	256	8	256<	256	64	
			16	0.8	128	16	4		
			10	16	256<	256<	48		
			9	256<64	2	256<256<	256<	24	
O1:HNM	5	5	10	256<	8	256<	256<	96	-
			10	256<	8	256<	256<	256<	
			10	256<	8	256<	256<	256<	
			5	256<	48	256<	256<	256	
			6	256<	16	256<	256<	192	

表5 QRDRの変異パターンとFQのMIC

パターン	血清型	株数	GyrA		ParC		MIC (μg/mL)	
			83位	87位	80位	84位	CPFX	ERFX
1	O1:H6	5	S83L	D87N	S80I	E84G	64~256	128~512<
2	O1:H6	2	S83L	D87N	S80I	-	128	128~512
3	O1:H6	2	S83L	D87Y	S80I	-	64~128	128~256
4	O25:H4	7	S83L	D87N	S80I	E84V	32~128	128~512<
5	O25:H4	1	-	D87N	-	-	32	64

表6 O1:H6およびO1:HNMのbla遺伝子保有状況

血清型	β-ラクタマーゼ遺伝子				
	bla _{CMY}	bla _{SHV}	bla _{TEM}	bla _{CTX-M-Group}	bla _{CTX-M-type}
O1:H6	CMY-2	+	+	M-9G	CTX-M-14
O1:H6	+	+	+	M-9G	CTX-M-14
O1:H6	+	+	+	M-9G	CTX-M-14
O1:H6	+	+	+	M-1G+M-9G	CTX-M-14+M-15
O1:H6	-	+	-	M-1G	CTX-M-15
O1:HNM	+	+	+	M-1G+M-9G	CTX-M-14+M-15
O1:HNM	+	+	+	M-1G+M-9G	CTX-M-14+M-15
O1:HNM	+	+	+	M-1G	CTX-M-15
O1:HNM	+	-	+	M-1G+M-9G	CTX-M-14+M-15
O1:HNM	-	+	-	M-1G	CTX-M-15

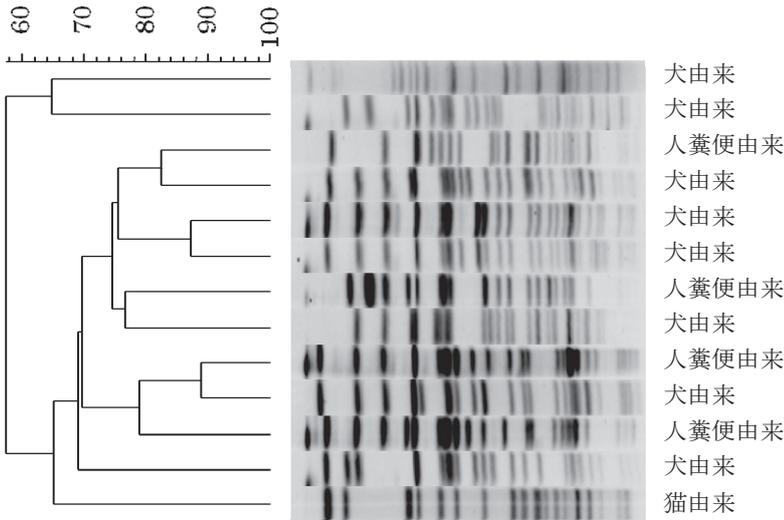


図4 CTX-M型bla遺伝子保有O1:H6のPFGE解析 (制限酵素XbaI処理)

4. 考察

福井県内の5動物病院に来院した家庭動物の病原大腸菌の保有率は15.1%で、*eae* 遺伝子陽性は、12検体(犬11検体および猫1検体)12株で、EAggECの*astA* 遺伝子陽性は、23検体(犬16検体および猫7検体)24株であった。それ以外の因子は確認できなかった。畠山らの報告⁶⁾では、動物飼養施設および動物愛護相談センターの動物を対象に病原大腸菌の保有実態調査が行われており、ST遺伝子のみ、犬から10.3%、猫から15.9%および鳥類から4.8%検出されている。検出率については、我々の結果とそれほど変わらないが、対象動物や地域の違いにより、保有する病原因子遺伝子が全く異なる結果となったこと

は興味深い。

今回分離された大腸菌株の薬剤感受性については、175/295株(59.4%)が12薬剤のいずれかに耐性あるいは中間の感受性を示し、薬剤別の耐性率が、ABPC、TC、SM、SuおよびNAの順にそれぞれ、42.0%、28.5%、27.8%、25.8%および20.1%であった。Costaらの報告¹⁸⁾では、健康な犬39頭および猫36頭から分離した大腸菌144株の20.0%がABPC耐性、12.0%がTC耐性、15.0%がSM耐性で、他の薬剤の耐性率は4.0%以下であり、我々の結果の方が耐性率が高い傾向にあった。

CPFX耐性を示したO1:H6およびO25:H4のQRDRにおける変異パターンは、福井県等の散発下痢症患者から分離されたO153の変異パターン²⁾とほぼ同様であったが、CPFXのMICは家庭動物由来株の方が高い傾向が見られ

た。今回分離された FQ 系薬剤耐性の O25:H4 は、米国の家庭動物由来株（犬由来 1 株および猫由来 2 株）からも分離され、家庭動物間での伝播が生じていると考察されている¹⁹⁾。米国分離株との関連性を考察するためにも Sequence Type を調査する必要がある。

CTX-M 型 *bla* 遺伝子保有大腸菌の家庭動物からの検出報告は世界的に増加しており、欧米では CTX-M-15 保有、ST131 の血清型 O25:H4 の分離報告がされている^{20~21)}。また、中国では犬から CTX-M-1G および CTX-M-9G 保有大腸菌が²²⁾、チリでも犬および猫から、CTX-M-1 および CTX-M-14 保有大腸菌の分離報告²³⁾ がなされている。一方、日本においては、畠山らの報告²⁴⁾ で動物愛護相談センターの犬糞便から CTX-M-14 保有大腸菌を 1 株分離している。今回、我々は犬および猫から CTX-M-14 および CTX-M-15 保有大腸菌を 24 株分離しており、今まで判明していた以上に、日本の家庭動物においても CTX-M 型 β -ラクタマーゼ遺伝子の伝播が生じていると示唆された。本研究で分離された CTX-M 型 *bla* 遺伝子保有の血清型 O25:H4 は、CTX-M-27 保有であり、世界的流行株とは異なっていた。ただし、この株は FQ 系薬剤にも耐性であり、動向に注意すべきと思われる。家庭動物由来の CTX-M 型 *bla* 遺伝子保有 O1:H6 については、散発下痢症患者由来 O1:H6 との明らかな遺伝子学的関連は見られなかった。

本研究により、日常生活で最も身近な家庭動物である犬および猫が、病原大腸菌、CPFX 耐性大腸菌および CTX 耐性大腸菌を高率に保有していることが明らかとなった。これらの菌の血清型および薬剤耐性の保有遺伝子の特徴等から、家庭動物間で容易に薬剤耐性が伝播するだけでなく、人と家庭動物の間でも伝播する可能性が示唆された。人に対するレゼルボアとしての公衆衛生上の意義および動物医療の現場における適正な抗生物質の選択のためにも、今後も家庭動物の薬剤耐性菌保有状況を監視する必要があると思われる。

5. まとめ

1. 病原因子遺伝子保有大腸菌は 37 検体 (15.1%) 38 株が分離された。*astA* 陽性が 23 検体 24 株、*eae* 陽性が 12 検体 12 株および *astA*+*eae* 陽性が 2 検体 2 株であった。
2. 薬剤耐性株は 175/295 株 (59.4%) が分離され、薬剤別の耐性率は ABPC、SM、TC、Su および NA の順に高く、42.0%、28.5%、27.8%、25.8% および 20.1% であった。
3. CPFX 耐性株は 55 検体 (23.9%) 59 株分離され、特に O1:H6 および O25:H4 が多かった。QRDR における変異は、O1:H6 は 3 点および 4 点変異の 3 パターン、O25:H4 は 1 点および 4 点変異の 2 パターンで、4 点変異株が 12 株であった。
4. CTX 耐性の 30 株のうち、CTX-M 型 *bla* 遺伝子保有大腸菌は 24 株で、CTX-M-1G 保有 7 株、CTX-M-9G 保有 13 株および CTX-M-1G+CTX-M-9G 保有 4 株であった。主要な血清型の O1:H6 および O1:HNM は、CTX-M-14 と CTX-M-15 のどちらか、またはその両方を保有していた。

5. 家庭動物は、病原大腸菌、FQ 耐性大腸菌および CTX-M 型 *bla* 遺伝子保有大腸菌を高率に保有しており、人に対するレゼルボアとしての役割を担う可能性が示唆された。

謝辞

本研究を行うにあたり、検体採取にご協力いただきました各動物病院の皆様および研究費を助成いただいた公益社団法人福井県獣医師会に深謝いたします。

参考文献

- 1) <http://www.forth.go.jp/keneki/nagoya/KOUSEI-BUS-SITU.htm>
- 2) 石畝 史ら：散発下痢症患者由来のフルオロキノロン耐性大腸菌における *gyrA* 遺伝子および *parC* 遺伝子の変異. 感染症誌 2006;80:507-512
- 3) Constanca Pomba et al. : Detection of the Pandemic O25-ST131 Human Virulent *Escherichia coli* CTX-M-15-Producing Clone Harboring the *qnr B2* and *acc(6)-Ib-cr* Genes in a Dog. Antimicrob Agents Chemother 2009, 53 (1) : 327-328
- 4) James R. Johnson et al. : Sharing of *Escherichia coli* Sequence Type ST131 and Other Multidrug-Resistant and Urovirulent *E.coli* Strains among Dogs and Cats within a Household. J Clin Microbiol 2009; 47(11):3721-3725
- 5) 原田 和記：犬及び猫由来の大腸菌の薬剤耐性. 動物用抗菌剤研究会報 2011; 33:28-35
- 6) 畠山 薫ら：ペット動物における病原大腸菌の保有実態調査. 東京健安研年報 2006;57:77-81
- 7) 八柳 潤ら：水系感染集団事例から分離された毒素原性大腸菌および腸管集合性大腸菌耐熱性エンテロトキシン (EAST-1) 遺伝子保有大腸菌の性状. 感染症誌 1996;70:215-223
- 8) Ratchtrachenchai O-A: Investigation on entero aggregative *Escherichia coli* infection by multiplex PCR. Bull Dept Med Sci 1997;39:211-220
- 9) 伊藤 文明ら：混合プライマーを用いた PCR による下痢原性大腸菌の病原遺伝子の同時検出法：日本臨床, 50, 343-347 (1992)
- 10) 小林 一寛：腸管出血性大腸菌の PCR 法による検出. 臨床と微生物 1991;18:507-513
- 11) National Committee for Clinical Laboratory Standards : Performance Standard for Anti microbiol Disk Susceptibility Tests. M100-S12 : NCCLS (2002)
- 12) Giraud E et al: Comparative studies of mutations in animal isolates and experimental in vitro- and in vivo-selected mutants of *Salmonella* spp. Suggest a counterselection of highly fluoro quinolone-resistant strains in the field. Antimicrob Agents Chemother 43, 2131-2137(1999)
- 13) 八木 哲也ら：ESBLs 遺伝子の検出法. 臨床と微生物 1999;26:709-716

- 14) Shibata N et al. : PCR classification of CTX-M-type β -lactamase genes identified in clinically isolated gram-negative bacilli in Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:791-795
- 15) Sheng Chen et al. : Characterization of Multiple-Antimicrobial-Resistant *Salmonella* Serovars Isolated from Retail Meats. *Appl Environ Microbiol* 2004;70:1-7
- 16) Dutour C et al. : CTX-M-1, CTX-M-3, and CTX-M-14 β -Lactamases from *Enterobacteriaceae* Isolated in France. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:534-537
- 17) 国立感染症研究所細菌部：腸管出血性大腸菌 O157 の検出・解析等の技術研修マニュアル 1997:17-27)
- 18) Costa D. et al : Prevalence of antimicrobial resistance and resistance genes in faecal *Escherichia coli* isolates recovered from healthy pets. *Vet Microbiol* 2008;127:97-105
- 19) James R. et al. : Sharing of *Escherichia coli* Sequence Type ST131 and Other Multidrug-Resistant and Urovirulent *E.coli* Strains among Dogs and Cats within a Household. *J Clin Microbiol* 2009;47:3721-3725
- 20) Constanca P et al. : Detection of the Pandemic O25-ST131 Human Virulent *Escherichia coli* CTX-M-15-Producing Clone Harboring the qnrB2 and aac(6)-Ib-cr Genes in a Dog. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:327-328
- 21) Christa E et al. : Emergence of human pandemic O25:H4-ST131 CTX-M-15 extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* among companion animals. *J Antimicrob Chemother* 2010;65:651-660
- 22) Junying Ma et al. : High Prevalence of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Determinants qnr, aac(6)-Ib-cr, and qepA among Ceftiofur-Resistant *Enterobacteriaceae* Isolates from Companion and Food-Producing Animals. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:519-524
- 23) A Moreno et al. : Extended-spectrum β -lactamases belonging to CTX-M group produced by *Escherichia coli* strains isolated from companion animals treated with enrofloxacin. *Vet Microbiol* 2008;129:203-208
- 24) 畠山 薫ら：イヌふん便からの薬剤耐性菌検出の試み. 東京健安研セ年報 2007;58:73-76