

| | |
|--------------|--|
| 氏名 (本 (国) 籍) | 小 澤 真名緒 (千葉県) |
| 推 薦 教 員 | 東京農工大学 教授 本 多 英 一 |
| 学 位 の 種 類 | 博士 (獣医) |
| 学 位 記 番 号 | 獣医博乙第108号 |
| 学位授与年月日 | 平成23年3月14日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第3条第2項該当 |
| 学 位 論 文 題 目 | Studies on Fluoroquinolone Resistance of Avian Pathogenic <i>Escherichia coli</i> Strains (鶏大腸菌症由来大腸菌におけるフルオロキノロン耐性 に関する研究) |
| 審 査 委 員 | 主査 東京農工大学 教授 本 多 英 一 副査 帯広畜産大学 教授 猪 熊 壽 副査 岩 手 大 学 教授 津 田 修 治 副査 東京農工大学 教授 藤 川 浩 副査 岐 阜 大 学 教授 杉 山 誠 |

論 文 の 内 容 の 要 旨

鶏の大腸菌症は、病型は多様であるが敗血症での死亡率は極めて高く、家畜衛生上重要な疾病である。本病の予防には飼養衛生管理が重要であり、またワクチンも用いられている。しかし毎年多数発生が認められ、その治療にはフルオロキノロン剤を含む抗菌性物質が使用されている。フルオロキノロン剤は人医療と同様に獣医療上もきわめて重要な抗菌剤であり、耐性菌の発現を最小限に抑えるため慎重な使用が求められている。近年各国でフルオロキノロン耐性鶏大腸菌症由来大腸菌が報告されているが、我が国での鶏大腸菌症由来大腸菌のフルオロキノロンに対する耐性レベル、耐性菌の分布状況については不明である。

このような背景から、フルオロキノロンの使用に当たって耐性菌の選択を最小限とするために参考となる情報を得ることを目的として、国内で鶏大腸菌症由来大腸菌を収集し、フルオロキノロンを含む各種抗菌剤に対する薬剤感受性、血清型、病原因子等の各種調査を行った。さらに、フルオロキノロン耐性株について分子疫学的性状解析を行い、各種フルオロキノロンの治療効果についても検討した。

第1章では、各種抗菌剤に対する薬剤感受性、血清型、病原因子等を調査した。鶏大腸菌症由来大腸菌のフルオロキノロンに対する耐性率は約20%であり、健康家畜由来大腸菌と比較して有意に高かった。また、フルオロキノロン耐性株の約50%が血清群078に属しており、パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)を行ったところ、それらの株の大部分は同一のクラスターに属していた。これらの結果から、国内でフルオロキノロン耐性を示す血清群078の特定のPFGE型が広く分布している可能性が示唆された。

第2章では、血清群 078 のフルオロキノロン耐性株の性状解析を PFGE 及びマルチローカス・シーケンス・タイピング (MLST) によって行った。フルオロキノロン耐性株は、ST23, ST155 及び ST117 に属していた。PFGE と MLST の結果の組み合わせにより、フルオロキノロン耐性株は 4 つの型に分類され、そのうち一つはフルオロキノロン耐性株特有の型であった。関東甲信越地方、中国四国地方及び九州地方のそれぞれの地域内で、同一の型に属するフルオロキノロン耐性株が分離されており、遺伝的に関係のある株がそれぞれの地域内で広まっている可能性が考えられた。

第3章では、鶏大腸菌症を効能として承認されているフルオロキノロン剤 (エンロフロキサシン、オフロキサシン、ノルフロキサシン、ダノフロキサシン) について、鶏大腸菌症由来大腸菌に対する抗菌力を調べた。薬剤感受性試験によって MIC 値を求め、エンロフロキサシンの MIC との相関を比較したところ、各薬剤について高い相関が認められた。また、耐性率もほぼ同じ値となった。MIC₅₀ はエンロフロキサシンとダノフロキサシンでノルフロキサシンとオフロキサシンよりも若干低かったが MIC₉₀ は同じであった。これらの結果から、*in vitro* における抗菌力にはそれほど差がないと考えられた。次に、Pharmacokinetic (PK) 値として文献値の AUC 及び C_{max} を、Pharmacodynamic (PD) 値として MIC₅₀ を用いて PK/PD 解析を行った結果、エンロフロキサシンとオフロキサシンが他と比べて治療効果が高い可能性が示された。しかし、いずれのフルオロキノロン剤についても PD 値として MIC₉₀ を用いた場合は PK/PD 値が小さな値となり、薬剤の有効性が低下している可能性が示唆された。

以上の研究により、鶏大腸菌症由来大腸菌のフルオロキノロンに対する耐性率は健康鶏由来株と比較して有意に高いこと、遺伝子型の類似したフルオロキノロン耐性株が広く分布していること及びフルオロキノロンの治療効果が低下している可能性が示された。これらの結果は、鶏大腸菌症におけるフルオロキノロンの不用意な使用はさらなる耐性の発現及び伝播につながることを示唆している。従って、フルオロキノロンの使用は起因菌の薬剤感受性を調べたのちに行うべきである。

鶏大腸菌症の治療において、これらの研究成果を考慮してフルオロキノロンを使用することにより、獣医療におけるフルオロキノロンに対する耐性菌の発現を抑え、人医療への影響を最小限にすることができるであろう。

審 査 結 果 の 要 旨

鶏大腸菌症は家畜衛生上重要な疾病であり、その起因菌は Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC) である。鶏大腸菌症の治療にはフルオロキノロン (FQ) 剤を含む抗菌性物質が使用されている。FQ 剤は人医療と同様に獣医療上もきわめて重要な抗菌剤であるが、近年各国で FQ 耐性 APEC が報告されている。しかし、我が国での APEC の FQ に対する耐性レベル、耐性菌の分布状況については不明である。このような背景から、申請者は国内で APEC を収集し、薬剤感受性、血清型、病原因子等の調査を行った。さらに、FQ 耐性株について分子疫学的性状解析を行い、各種 FQ 剤の治療効果についても検討した。

第1章では、各種抗菌剤に対する薬剤感受性、血清型等を調査した。FQ に対する耐性率は約 20% であり、健康家畜由来大腸菌と比較して有意に高かった。また、FQ 耐性株の約 50% が血清群 078 に属しており、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) を行ったところ、それらの株の大部分は同一のクラスターに属していた。これらの結果から、FQ 耐性を示す 078 の特定の PFGE 型が広く分布している可能性が示唆された。

第2章では、078のFQ耐性株の性状解析をPFGE及びマルチローカス・シーケンス・タイピング(MLST)によって行った。PFGEとMLSTの組み合わせにより耐性株は4つの型に分類され、そのうち一つはFQ耐性株特有の型であった。また、それぞれの地域内で同一の型に属するFQ耐性株が分離されており、遺伝的に関係のある株が地域内で広まっていることが明らかとなった。

第3章では、4種類のFQ剤についてAPECに対する抗菌力を調べた。各薬剤について、*in vitro*における抗菌力にはそれほど差がないと考えられた。しかし、薬力学(PD)/薬動態学(PK)解析を行った結果、FQ剤間で治療効果に差がある可能性が示された。しかし、いずれのFQ剤についても治療効果が低下している可能性が示唆された。

以上の結果より、我が国のAPECのFQの耐性レベル、耐性株の性状及び分布、FQの治療効果が明らかとなった。これらの研究成果は、鶏大腸菌症の治療におけるFQ剤の使用について重要な知見となると考えられる。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Antimicrobial susceptibilities, serogroups, and molecular characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* isolates in Japan
著 者 名 : Ozawa, M., Harada, K., Kojima, A., Asai, T. and Sameshima, T.
学術雑誌名 : Avian Diseases
巻・号・頁・発行年 : 52 (3) : 392-397, 2008
- 2) 題 目 : Molecular typing of avian pathogenic *Escherichia coli* O78 strains in Japan by using multilocus sequence typing and pulsed-field gel electrophoresis
著 者 名 : Ozawa, M., Baba, K. and Asai, T.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年 : 72 (11) : 1517-1520, 2010
- 3) 題 目 : Comparison of *in vitro* activities and pharmacokinetics/pharmacodynamics estimations of veterinary fluoroquinolones against avian pathogenic *Escherichia coli* isolates
著 者 名 : Ozawa, M., Baba, K., Shimizu, Y. and Asai, T.
学術雑誌名 : Microbial Drug Resistance
巻・号・頁・発行年 : 16 (4) : 327-332, 2010

既発表学術論文

- 1) 題 目 : Changes of multi-drug resistance pattern in *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Typhimurium isolates from food-producing animals in Japan
著 者 名 : Kawagoe, K., Mine, H., Asai, T., Kojima, A., Ishihara, K., Harada, K., Ozawa, M., Izumiya, H., Terajima, J., Watanabe, H., Honda, E., Takahashi, T. and Sameshima, T.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年 : 69 (11) : 1211-1213, 2007

- 2) 題 目 : Farm-level impact of therapeutic antimicrobial use on
antimicrobial-resistant populations of *Escherichia coli* isolates from
pigs
著 者 名 : Harada, K., Asai, T., Ozawa, M., Kojima, A. and Takahashi, T.
学術雑誌名 : Microbial Drug Resistance
巻・号・頁・発行年 : 14 (3) : 239-244, 2008
- 3) 題 目 : Prevalence of antimicrobial resistance among serotypes of
Campylobacter jejuni isolates from cattle and poultry in Japan
著 者 名 : Harada, K., Ozawa, M., Ishihara, K., Koike, R., Asai, T. and Ishikawa,
H.
学術雑誌名 : Microbiology and Immunology
巻・号・頁・発行年 : 53 (2) : 107-111, 2009
- 4) 題 目 : Mutations in GyrA and ParC in fluoroquinolone-resistant *Mannheimia*
haemolytica isolates from cattle in Japan
著 者 名 : Ozawa, M., Asai, T. and Sameshima, T.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年 : 71 (4) : 107-111, 2009
- 5) 題 目 : Relationships between multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar
Schwarzengrund and both broiler chickens and retail chicken meats in
Japan
著 者 名 : Asai, T., Murakami, K., Ozawa, M., Koike, R. and Ishikawa, H.
学術雑誌名 : Japanese Journal of Infectious Disease
巻・号・頁・発行年 : 62 (3) : 198-200, 2009
- 6) 題 目 : Etiological and biological characteristics of *Erysipelothrix rhusiopathiae*
isolated between 1994 and 2001 from pigs with swine erysipelas in
Japan
著 者 名 : Ozawa, M., Yamamoto, K., Kojima, A., Takagi, M. and Takahashi, T.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年 : 71 (6) : 697-702, 2009
- 7) 題 目 : Conjugative transposition of Tn916 and detection of Tn916-like
transposon in *Erysipelothrix rhusiopathiae*
著 者 名 : Ozawa, M., Yamamoto, K., Kojima, A., Takagi, M. and Takahashi, T.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年 : 71 (11) : 1537-1540, 2009
- 8) 題 目 : Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from
swine in Japan
著 者 名 : Baba, K., Ishihara, K., Ozawa, M., Tamura, Y. and Asai, T.
学術雑誌名 : International Journal of Antimicrobial Agents
巻・号・頁・発行年 : 36 (4) : 352-354, 2010