

原 著

## 人および伴侶動物から分離される基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌

永井佑樹, 楠原 一, 小林章人, 赤地重宏

### Prevalence of Extended-Spectrum β-lactamase (ESBL)-producing Isolates from Human and Companion Animals

Yuhki NAGAI, Hajime KUSUHARA, Akihito KOBAYASHI and Shigehiro AKACHI

近年, 薬剤耐性 (AMR) の一つである基質特異性拡張型 β-ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌の拡散が社会的に大きな問題となっているが, 伴侶動物における実態は不明な点も多い. そこで今回犬猫を対象に ESBL 産生菌の保菌率を調査し, 人由来の株と比較を行った. その結果, 人の ESBL 産生菌の保菌率は 12.5%, 犬猫の保菌率は 8.6%であった. 人と犬猫で共通した variant 型は, *bla*<sub>CTX-M-14</sub>, *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, *bla*<sub>CTX-M-65</sub>, *bla*<sub>CTX-M-79</sub> の 4 種類みられたが, POT 法による分子疫学解析の結果, 共通した POT 型は確認されなかった. また今回の調査では, 人で流行しているパンデミッククローン ST131 は犬猫では確認されなかった. 大腸菌の系統発生群解析では, 人では病原性が高いとされる B2, D 群が大多数 (93.3%) を占めるのに対し, 犬猫では A, B1 群が優勢 (77.8%) であった. 以上から, 人および犬猫由来 ESBL 産生大腸菌は本来異なる遺伝系統であり, 人と健康な犬猫間では菌が伝播している可能性は低いと考えられた. しかしながら, レプリコンタイプでは IncFIB や IncII など人と犬猫で共通した type がみられることや, 最近の研究で ESBL を産生する ST131 クローンは既に動物病院の犬猫で確認されていることから, 今後, 市中の健康な犬猫の間でも, 人と同じように ST131 クローンが拡散していく可能性が示唆された.

キーワード: ESBL, 伴侶動物, ST131

#### はじめに

近年, 抗菌薬が効かなくなる薬剤耐性 (Antimicrobial Resistance: AMR) 感染症が世界的に拡大しており, 社会的にも非常に大きな問題となっている. AMRの一つである基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ (Extended Spectrum β-lactamase :ESBL) 産生菌は, 主にペニシリン系薬を分解するクラスAのβ-ラクタマーゼ遺伝子に変異が起こることにより, 第三世代セファロスポリンやモノバクタム系の抗菌薬を分解する能力を獲得したβ-ラクタマーゼである. 近年このESBLを産生する菌が院内のみならず市中感染症の起因菌としても増加しており深刻な問題となっているが<sup>1,2)</sup>, その急激な増加要因は明らかになっていない. またこのESBL産生菌はヒトだけでなく動物からも分離されており, ヒトと動物

間での耐性菌 (耐性遺伝子) の伝播も懸念されている. 動物から分離される耐性菌においては, 食用動物や畜産動物についての調査はこれまでに多数報告されているが, 伴侶動物における調査はあまり実施されていない. さらに国内では伴侶動物における耐性菌のサーベイランスシステム自体が構築されておらず, 伴侶動物における耐性菌の拡がりを調査することはAMR対策を進めるうえでも必要不可欠と考えられる.

こうした背景を踏まえ, 本研究では犬猫を対象に ESBL産生菌の保菌率を調査し, 得られた菌株の分子疫学的解析を行うとともに, 人由来の株と比較することで, 伴侶動物と人との間でのESBL産生菌の伝播状況について考察することを目的とした.

## 方法

### 1. 被検材料

#### 1-A. 人から分離された ESBL/AmpC 産生菌

2016年3月から8月にかけて感染症発生动向調査および平成28年度AMED感染症実用化研究事業砂川分担研究班「NESIDを中心とした下痢症ウイルスの疾病負荷や疫学に関する研究」の研究事業に基づいて県内の医療機関から提供された256検体を使用した。検体は小児科を有する県内11の医療機関（北勢6，中勢2，南勢1，伊賀2）を受診し，感染性胃腸炎と診断された小児患者（平均年齢3.0歳；0～19歳，SD=2.95）の糞便あるいは直腸ぬぐい液を対象とした。

#### 1-B. 犬猫から分離された ESBL/AmpC 産生菌

2015年4月から2017年12月にかけて県内の保健所に収容された犬猫由来の116検体（犬：83検体，猫：33検体）を対象に検査を実施した。

### 2. 分離と同定

検体を2μg/mLのCTX加DHL寒天培地（栄研化学）に画線塗抹し，35℃，24時間培養後，赤色を呈するコロニーが形成されたものをESBL産生疑似株と判定した。また犬猫由来の検体は同時にクロモアガー-ESBL培地（関東化学）にも画線塗抹した。DNA抽出は加熱抽出法により実施し，PCRおよびシーケンス用のテンプレートとして使用した。菌種の同定は，Api20E（シスメックスピオメリユー）により実施し，判定ができなかったものに関しては16SrRNA解析により菌種同定を行った。

### 3. ESBL 遺伝子の検出

ESBL産生疑似株はShibataら<sup>3)</sup>の方法に従いTEM，SHV，CTX-M-1，CTX-M-2，CTX-M-9，CTX-M-8 group<sup>4)</sup>のESBL遺伝子検出を行った。さらにPerezら<sup>5)</sup>の方法によりplasmid AmpCの遺伝子（MOX，CMY-2，DHA，ACC，EBC，FOX）についても同時にPCRを実施した。PCRによりESBL陽性となった検体については，ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定しvariant型別を実施した。シーケンスはBigDye Terminators v3.1 Cycle Sequencing Kit（Applied Biosystems）を使用し，3130

Genetic Analyzer（Applied Biosystems）により塩基配列を決定した。

### 4. 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験はCLSIの抗菌薬ディスク感受性試験実施基準に基づき，市販の感受性試験用ディスク（センシディスク，BD）を用いて実施した。供試薬剤はクロラムフェニコール（CP），テトラサイクリン（TC），ストレプトマイシン（SM），カナマイシン（KM），スルファメトキサゾールトリメトプリム（ST），ナリジクス酸（NA），ノルフロキサシン（NFLX），ゲンタマイシン（GM），ホスホマイシン（FOM），シプロフロキサシン（CPFX），イミペネム（IPM）の11薬剤とした。

### 5. 系統発生群(phylogenetic groups)解析

分離株（大腸菌）における系統発生群分類はClermont<sup>6)</sup>らの方法により実施し，4つのグループ（A群，B1群，B2群，D群）に分類した。

### 6. POT 法による分子疫学解析

菌株の分子疫学解析としてPCR-based Open Reading Frame Typing（POT）法を実施した。解析はシカジーニアス分子疫学解析POTキット（大腸菌用）（関東化学）を用いて行った。2組のmultiplex PCRを実施した後，PCR産物を4% Nusieve 3:1 agarose（Lonza）を用いて電気泳動を行った。電気泳動像から，各POTナンバーのバンドの有無を確認し，各菌株のPOT型（POT 1-2-3）を決定した。また電気泳動には分子量マーカーとして50bp DNA ladder（日本ジェネティクス）を使用した。

### 7. ST131 およびサブクローン H30の検出

Johnsonら<sup>7)</sup>の報告に従い，パンデミッククローンST131株を検出するためのPCR（ST131-specific PCR）を実施した。またST131と同定された株については，Colpan<sup>8)</sup>らの方法に従いST131のサブクローンであるH30（allele 30 of *fimH*）を検出した。さらにH30サブクローンのうちキノロン耐性株についてはH30Rと定義した。

Table 1. Distribution of ESBL and other β-lactamases isolated from pediatric patients with gastroenteritis

Species	ESBL						Other β-lactamases		
	CTX-M-9 group			CTX-M-1 group			TEM	p-AmpC	
	CTX-M-14	CTX-M-27	CTX-M-65	CTX-M-55	CTX-M-15	CTX-M-79	TEM-1	CMY-2	DHA
<i>Escherichia coli</i>	14	7		3	3	3	9	2	1
<i>Citrobacter freundii</i>			1						
<i>Citrobacter koseri</i>				1					
<i>Serratia liquefaciens</i>								1	

## 8. replicon typing

既報に従い、プラスミドのレプリコンタイプを解析した<sup>9,10)</sup>。

### 結果

#### 1. ESBL 産生菌の検出

##### 1-A. 人から分離された ESBL/AmpC 産生菌

検査対象となった 256 名のうち、37 名の検体で ESBL 産生疑い株が検出され、PCR の結果 32 名 (12.5%) から ESBL 産生菌が分離された。性別による保菌率は男性が 12.6%、女性が 12.4%と男女間で差はなく、保菌者の年齢分布は 0~4 歳が 28 名と最も多く、0 歳児でも 3 名の保菌が確認された。菌種の内訳としては *E.coli* が 30 株と最も多く、*Citrobacter freundii* と *C.koseri* が 1 株ずつ検出された (Table 1)。また、ESBL ではなかった疑い株 (5 株) では AmpC である CMY-2 産生株が 3 株 (*E.coli* ; 2 株, *Serratia liquefaciens* ; 1 株), DHA 産生株 1 株 (*E.coli*) が確認された。残りの 1 株は、プロトタイプの TEM-1 のみを保持しておりそれ以外の耐性遺伝子は確認されなかった (TEM-1 の 9 株のうち 8 株は CTX-M 型と重複)。

##### 1-B. 犬猫から分離された ESBL/AmpC 産生菌

116 検体中、ESBL 産生菌が 10 株 (8.6% : 犬 9 検体、猫 1 検体)、AmpC 産生菌が 2 株 (1.7% : 犬 1 検体、猫 1 検体) 確認され、AmpC は 2 株とも CMY-2 産生菌であった (Table 2)。

#### 2. ESBL 遺伝子の遺伝子型別

人由来 32 株の ESBL 遺伝子型は、22 株が CTX-M-9-group で、残りの 10 株は CTX-M-1-group であった。シーケンスにより ESBL 遺伝子の

variant 型別を実施した結果、CTX-M-9-group の 22 株のうち、*bla*<sub>CTX-M-14</sub> が 14 株、*bla*<sub>CTX-M-27</sub> が 7 株、*bla*<sub>CTX-M-65</sub> が 1 株であった。一方、CTX-M-1-group の 10 株は、型別の結果 *bla*<sub>CTX-M-55</sub> が 4 株、*bla*<sub>CTX-M-15</sub> が 3 株、*bla*<sub>CTX-M-79</sub> 株が 3 株であった (Table 1)。

一方、犬猫由来 10 株の遺伝子型は、CTX-M-1 group が 4 株、CTX-M-9 group が 3 株、CTX-M-2 group が 2 株、CTX-M-8 group が 1 株であった。variant 型別の内訳は、CTX-M-1 group の 4 株のうち *bla*<sub>CTX-M-1</sub> が 2 株、また *bla*<sub>CTX-M-15</sub> が 1 株、*bla*<sub>CTX-M-79</sub> が 1 株であった。CTX-M-9 group の 3 株は、*bla*<sub>CTX-M-14</sub> が 2 株、*bla*<sub>CTX-M-65</sub> が 1 株、CTX-M-2 group の 2 株は、*bla*<sub>CTX-M-44</sub> の 2 株であった (Table 2)。

#### 3. 感受性試験

##### 1-A. 人由来 ESBL 産生菌の感受性試験

感受性試験の結果、各薬剤における耐性率は CP ; 3.1%(1/32), Tc ; 34.4%(11/32), SM ; 37.5%(12/32), KM ; 6.3%(2/32), GM ; 21.9%(7/32), ST ; 31.3%(10/32), FOM ; 0%(0/32), N/A ; 75%(24/32), NFLX ; 50%(16/32), CPFX ; 50%(16/32), IPM ; 0%(0/32)となった。ESBL の variant 別における耐性薬剤数は、*bla*<sub>CTX-M-14</sub> が平均 2.57 薬剤、*bla*<sub>CTX-M-15</sub> が平均 2.33 薬剤、*bla*<sub>CTX-M-27</sub> が平均 3.57 薬剤、*bla*<sub>CTX-M-55</sub> が平均 1.5 薬剤、*bla*<sub>CTX-M-65</sub> が平均 7 薬剤、*bla*<sub>CTX-M-79</sub> が平均 6 薬剤となった。また ST131 株では平均で 3.7 薬剤に耐性を示し、N/A ; 100% (10/10), NFLX ; 80% (8/10), CPFX ; 80% (8/10) とキノロン系に高い耐性率を示した。

##### 1-B. 犬猫由来 ESBL 産生菌の感受性試験

各薬剤における耐性率は CP ; 10%(1/10), Tc ; 50%(5/10), SM ; 50%(5/10), KM ; 10%(1/10), GM

Table 2. Characterization of ESBL/pAmpC-producing *Enterobacteriaceae* isolated from dogs and cats in Mie Prefecture

Isolates	<i>Enterobacteriaceae</i>	Origin	Area	CTX-M type β-lactamase	Other β- lactamase	Phyloge- netic group	Replicon typing	POT number
A	<i>Escherichia coli</i>	dog	Matsusaka	CTX-M-65		A	HI2	26-16-9
B	<i>Escherichia coli</i>	dog	Matsusaka	CTX-M-14	TEM-1	D	ND	16-18-11
C	<i>Escherichia coli</i>	dog	Ise	CTX-M-44		A	ND	26-148-32
D	<i>Escherichia coli</i>	dog	Ise	CTX-M-44		A	ND	24-148-32
E	<i>Escherichia coli</i>	dog	Kumano	CTX-M-1		A	I1	10-1-0
F	<i>Escherichia coli</i>	dog	Kumano	CTX-M-1		A	I1	10-1-0
G	<i>Escherichia coli</i>	dog	Suzuka	CTX-M-15		B1	I1,FIA, FIB	8-1-28
H	<i>Escherichia coli</i>	dog	Suzuka	CTX-M-14		D	F	17-16-135
I	<i>Enterobacter cloacae</i>	cat	Suzuka	CTX-M-8		NT	B/O, I1	NT
J	<i>Escherichia coli</i>	dog	Suzuka	CTX-M-79		B1	I1,FIB	10-17-0
K	<i>Escherichia coli</i>	cat	Ise	-	CMY-2	B1	I1	8-32-0
L	<i>Citobacter freundii</i>	dog	Matsusaka	-	CMY-2	NT	ND	NT

Table 3. Characterization of *Escherichia coli* ST131 clone isolated from pediatric patients with gastroenteritis

No	type	POT Number	Phylogenetic Group	Replicon typing	ST131 subclone	Quinolone Resistance	Drug resistance
C1	CTX-M-27	49-56-81	B2	FIA, FIB, I1	H30	R	NA, NFLX, CPFX
C2	CTX-M-14	49-62-43	B2	FIA, FIB, Frep	H30	R	NA, NFLX, CPFX
C3	CTX-M-27	49-58-23	B2	FIA, FIB, Frep	H30	R	NA, NFLX, CPFX, TC, SM
C4	CTX-M-27	49-58-83	B2	FIA	H30	R	NA, NFLX, CPFX
C5	CTX-M-14	49-56-73	B2	FIA, FIB	non-H30	S	NA, TC, SM, ST
C6	CTX-M-27	49-58-83	B2	FIA, FIB	H30	R	NA, NFLX, CPFX
C7	CTX-M-27	49-58-83	B2	FIA, FIB	H30	R	NA, NFLX, CPFX, TC, SM, ST
C8	CTX-M-27	49-58-83	B2	FIA	H30	R	NA, NFLX, CPFX, SM, ST
C9	CTX-M-15	49-21-56	B2	FIB, I1	non-H30	S	NA
C10	CTX-M-79	49-57-8	B2	FIA, FIB, I1	non-H30	R	NA, NFLX, CPFX, GM

; 10%(1/10), ST ; 30%(3/10), FOM ; 0%(0/10), N/A ; 50%(5/10), NFLX ; 20%(2/10), CPFX ; 20%(2/10), IPM ; 0%(0/10)となった。

### 5. POT 法による分子疫学解析

POT 法を実施した人由来大腸菌 30 株のうち、POT 型は全部で 26 種類確認された。同一 POT 型が複数検出されたものは 2 種類あり、最も多く検出された POT 型は (49-58-83) が 4 株、次いで (16-6-7) が 2 株であった。

一方、犬猫由来の大腸菌 10 株のうち同一 POT 型は 1 種類 (10-1-0) 確認され、2 株とも同じ保健所由来であった (Table 2, E, F)。また POT ナンバー 1 のみが異なる類似株 (Table 2, C, D) も確認されが、これらの株も同じ保健所由来であった。

### 6. ST131 およびサブクローン H30

POT 法の POT1 のスコアならびに、ST131-specific PCR の結果から、人由来大腸菌 30 株のうち 10 株が ST131 クローンと判定された (Table 2)。また今回検出された ST131 クローン 10 株の ESBL 型は、*bla*<sub>CTX-M-27</sub> が 6 株と最も多く、次いで *bla*<sub>CTX-M-14</sub> が 2 株、*bla*<sub>CTX-M-15</sub> と *bla*<sub>CTX-M-79</sub> がそれぞれ 1 株ずつであった。また ST131 クローン 10 株の系統群は全て B2 群であった。さらに ST131 のサブクローンを同定したところ、10 株のうち 7 株が H30R であった。一方で犬猫由来の大腸菌では ST131 クローンは確認されなかった。

### 7. replicon typing

耐性遺伝子を担うプラスミドのレプリコンタイプを解析したところ、人由来の ESBL 産生菌 32 株のうち 22 株が IncF グループ (FIA, FIB) のプラスミドを保有していた。その他には 8 株が IncI を保持しており、5 株はどのタイプにも分類され

なかった。また ST131 クローンの 10 株は全て IncF プラスミドを保有し、H30R サブクローンの 7 株については全て FIA を保有していた (Table 3)。

一方で、犬猫由来の ESBL, AmpC 産生菌 12 株のうち 6 株が IncI1 プラスミドを保持していた。また 4 株はいずれのレプリコンタイプも検出されなかった (Table 2)。

### 考 察

本研究の結果、人の ESBL 産生菌の保菌率は 12.5%、犬猫の保菌率は 8.6%となり、犬猫では既報よりやや低い傾向がみられた<sup>11)</sup>。その要因として、本研究では動物病院由来ではなく、保健所に収容された犬猫を対象にしていることが考えられる。また ESBL 産生菌の遺伝子型は、人では *bla*<sub>CTX-M-14</sub> や *bla*<sub>CTX-M-27</sub> が多くみられ、犬猫では *bla*<sub>CTX-M-8</sub> など人ではあまりみられない遺伝子型が確認された。人と犬猫で共通した遺伝子型は、*bla*<sub>CTX-M-14</sub>、*bla*<sub>CTX-M-15</sub>、*bla*<sub>CTX-M-65</sub>、*bla*<sub>CTX-M-79</sub> の 4 種類みられたが、POT 法による分子疫学解析では共通した POT 型は確認されなかった。また今回の調査では、人で流行しているパンデミッククローン ST131 は、犬猫では確認されず、大腸菌の系統発生群では人および犬猫で明らかな違いが認められた。すなわち人では、病原性が高いとされる B2, D 群が大多数 (93.3%) を占めるのに対し、犬猫では commensal な A, B1 群が優勢 (77.8%) であった。以上から、人および犬猫由来 ESBL 産生大腸菌は本来それぞれ異なる遺伝系統であり、現時点では、人と健康な犬猫間で菌が伝播している可能性は低いと考えられた。しかしながら、プラスミドの replicon type では IncFIB や IncI1 など人と犬猫で共通した type がみられることや、最近の研究で ESBL を産生する ST131 クローンが既に動物病院の犬猫で確認されていることから<sup>11)</sup>、今後、

市中の健康な犬猫の間でも、人と同じように ST131 クローンが拡散し、人への感染源となりうる可能性が示唆された。また今回猫から IncII プラスミドを保有する *bla*<sub>CTX-M-8</sub> 産生株が 1 株確認された (Table 2, sample I)。近年の研究で、この *bla*<sub>CTX-M-8</sub> を仲介する IncII プラスミドは、ニワトリを起源とし、鶏肉を介して人に伝達された可能性が指摘されており<sup>12)</sup>、今後さらなる調査が必要である。

また今回、人由来および犬猫由来大腸菌について POT 法により分子疫学解析を行った。人で最も多く検出された POT 型 (49-58-83 ; 4 株) は現在市中で急激に拡散している ESBL 産生菌 B2-ST131-*H30R* クローンであった。このクローンはキノロン系に耐性を獲得した株が多く、さらに一部のクローンは敗血症を起こしやすいなど病原性が高いことも指摘されており<sup>13,14)</sup>、今後も動向を注視していくことが必要である。

一方で犬猫由来大腸菌では同一 POT 型は 1 種類 (10-1-0) 確認され、POT 1 のみが異なる類似株 (26-148-32, 24-148-32) も確認された。これらの株は、同時期に同一保健所に収容されていた犬由来の株である。通常同時期に収容された犬は、同じ犬舎で生活している可能性が高く、もともと ESBL 産生菌を保有していた犬から同居している別の犬に伝播した可能性が考えられた。また通常 POT 法では POT 1 は菌株の系統依存的な部位の保有パターンを示し、POT 2 と POT 3 は外来遺伝子の保有パターンから算出されている。よって POT 2 と POT 3 が同じで POT 1 のみ異なる株の場合、plasmid 等の外来遺伝子が菌から菌へ伝達された可能性が示唆された。

本研究では、三重県の犬猫における ESBL 産生菌の保有状況を初めて明らかにすることができた。しかしながら、犬猫の検体数が少ないことや治療歴が不明な点など課題も多い。また、市中にいる健康な犬猫と動物病院の犬猫の耐性菌保有状態の違い等、不明な点も多いことから、今後も引き続き犬猫の検体を収集しサーベイランスを継続していくことが重要であると思われる。

## 謝 辞

本研究の実施にあたり臨床検体を提供頂いた国立病院機構三重病院の谷口清州先生、中村春奈先生ならびに各医療機関の先生方に深謝致します。また犬猫の検体提供にご協力いただいた各保健所および三重県動物管理事務所の関係各位にお礼申し上げます。なお本研究の一部は大同生命厚生事業団による助成を受け実施しています。

## 文 献

- 1) Colodner R, Rock W, Chazan B, et al: Risk factors for the development of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in nonhospitalized patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* **23**:163-167 (2004).
- 2) Pitout JD, Hanson ND, Church DL, et al: Population-based laboratory surveillance for *Escherichia coli*-producing extended spectrum beta lactamases: importance of community isolates with *bla*<sub>CTX-M</sub> genes. *Clin Infect Dis.* **38**:1736-1741 (2004).
- 3) Shibata N, Kurokawa H, Doi Y, et al: PCR classification of CTX-M-type beta-lactamase genes identified in clinically isolated gram-negative bacilli in Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* **50**:791-795 (2006).
- 4) Kameyama M, Chuma T, Yabata J, et al: Prevalence and epidemiological relationship of CMY-2 AmpC  $\beta$ -lactamase and CTX-M extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from broiler farms in Japan. *J Vet Med Sci.* **75**:1009-1015 (2013).
- 5) Pérez-Pérez FJ, Hanson ND: Detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* **40**:2153-2162 (2002).
- 6) Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E: Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl Environ Microbiol.* **66**:4555-4558 (2000).
- 7) Johnson JR, Menard M, Johnston B, et al: Epidemic clonal groups of *Escherichia coli* as a cause of antimicrobial-resistant urinary tract infections in Canada, 2002 to 2004. *Antimicrob Agents Chemother.* **53**:2733-2739 (2009).
- 8) Colpan A, Johnston B, Porter S, et al: *Escherichia coli* sequence type 131 (ST131) subclone *H30* as an emergent multidrug-resistant pathogen among US veterans. *Clin Infect Dis.* **57**:1256-1265 (2013).
- 9) Carattoli A, Bertini A, Villa L, et al: Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. *J Microbiol Methods.* **63**:219-228 (2005).
- 10) Johnson TJ, Wannemuehler YM, Johnson SJ, et al: Plasmid replicon typing of commensal and pathogenic *Escherichia coli* isolates. *Appl Environ Microbiol.* **73**:1976-1983 (2007).
- 11) Kawamura K, Sugawara T, Matsuo N, et al: Spread of CTX-Type Extended-Spectrum

- $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolates of Epidemic Clone B2-O25-ST131 Among Dogs and Cats in Japan. *Microb Drug Resist.* **23**:1059-1066 (2017).
- 12) Norizuki C, Wachino JI, Suzuki M, et al: Specific bla(CTX-M-8)/IncI1 Plasmid Transfer among Genetically Diverse *Escherichia coli* Isolates between Humans and Chickens. *Antimicrob Agents Chemother.* **61**:6(2017).
- 13) Price LB, Johnson JR, Aziz M, et al: The epidemic of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* ST131 is driven by a single highly pathogenic subclone, H30-Rx. *MBio.* **4**(6):e00377-13 (2013).
- 14) Mathers AJ, Peirano G, Pitout JD. The role of epidemic resistance plasmids and international high-risk clones in the spread of multi-drug-resistant *Enterobacteriaceae*. *Clin Microbiol Rev.* **28**:565-591 (2015).

## Prevalence of Extended-Spectrum $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing Isolates from Human and Companion Animals

Yuhki NAGAI, Hajime KUSUHARA, Akihito KOBAYASHI, and Shigehiro AKACHI

**Keywords:** ESBL, companion animal, ST131

Recently, the resistance of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* has currently become one of the most important public health problems around the world. However, knowledge about ESBL in healthy companion animals is limited. In this study, we evaluated the rate of fecal carriage of ESBL producing isolates from human and companion animals. Of the 116 animals, 10 carried ESBL producing isolates (8.6%). While, 37 human isolates out of 256 studied were ESBL positive (12.5%). Common ESBL variant were *bla*<sub>CTX-M-14</sub>, *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, *bla*<sub>CTX-M-65</sub>, and *bla*<sub>CTX-M-79</sub> between companion animals isolates and human isolates. However, same POT types were not found. Further, of the 9 ESBL-producing *E. coli* from companion animals, none was found to belong to ST131 clone. Phylogenetic analyses also showed that *E. coli* strains isolated from human were belonged to the pathogenic phylogenetic groups (B2 or D) (93.3%). Meanwhile, *E. coli* strains isolated from companion animals were belonged to the commensal groups (A or B1) (77.8%). As a result, these findings raise the low possibility of transmission of ESBL-producing isolates from companion animals to human. However, common replicon types were found such as IncFIB or IncI1 between companion animals and human in this study. In addition, recent studies showed that the ESBL-producing pandemic *E. coli* of ST131 clone has already appeared in Japanese clinical companion animals. Consequently, these results raise the possibility that ESBL-producing *E. coli* of ST131 clone have spread among healthy companion animals in community.