

(4) 土壤に分布する薬剤耐性菌が、野菜へ伝播する量およびその機序の解明(浅井鉄夫(岐阜大学))

市販野菜から薬剤耐性菌を含む細菌が検出されることがあり、野菜に起因する細菌性食中毒も報告されている。野菜からの細菌の検出は主に栽培環境からであると考えられるが、肥料や灌漑用水として堆肥や畜産排水を利用することで、その中に含まれる細菌が農作物へ伝播する危険性が危惧されている。本研究は、畜産に由来する薬剤耐性菌が野菜へ伝播するかを明らかにするため、家畜由来基質特異性拡張型βラクタマーゼ(Extended spectrum β-lactamases: ESBL)産生菌を用いて、土壤から野菜への伝播試験を実施した。

【材料と方法】

令和2年度に、小松菜を対象に、土壤から茎葉への細菌の伝播を検証した。実験室内で野菜を園芸用ポットで栽培して、5枚以上の葉が生育した後、被検菌を接種し、接種後1、2、3、6、10日後に葉を切断した。葉について、0.5 g採取し、4.5 mLの滅菌生理食塩水に加え、ストマッカーで1分間処理した。野菜残渣を除いた液を菌原液とし、細菌検査に供した。培養土中の菌数は、別の鉢から培養土1gを試験日ごとに採取した。供試菌は、ブロイラー由来CTX-M-3型ESBL産生 *Escherichia coli* (TMICEX24)、*Enterobacter cloacae* (TMICEX6)、及び*Klebsiella pneumoniae* (TMICEX23)の3菌種で、トリプティックソイ液体培地を用いて1晩培養したものを土壤に接種した。

小松菜に対する接種菌量の影響を調べるため、CTX-M-3型ESBL産生 *Enterobacter cloacae*を用いて、 10^{10} CFUから 10^4 CFUまで希釈して土壤に接種した。

令和3年度は、生食する野菜としてレタスとミニトマトを対象に前述の3株の他、CTX-M-2型ESBL産生 *E. coli* (S11とS13)を追加して単濃度(レタス:約 10^{10} CFU、ミニトマト:約 10^{11} CFU)を土壤に接種することで実施した。レタスに関して、1回目は培養液(トリプティックソイ液体培地)を接種し、2回目は培養液を遠心後滅菌蒸留水で再浮遊した菌液を用いた。ミニトマトを用いた接種試験は、培養液を遠心後滅菌蒸留水で再浮遊した菌液を用いた。レタスについて、0.5 g採取し、4.5 mLの滅菌生理食塩水に加え、ストマッカーで1分間処理した。野菜残渣を除いた液を菌原液とし、細菌検査に供した。また、ミニトマトについては、10 g採取し、ストマッカーで1分間処理した。野菜残渣を除いた液を菌原液とし、細菌検査に供した。レタスとミニトマトは、岐阜大学応用生物科学部附属岐阜フィールド科学教育研究センターから購入した。ここで、ミニトマト栽培土壤への接種菌量を多くした理由は、栽培ポットが大きかったためである。

培養液を接種すると同時に、接種菌量を測定するため10倍段階希釈を行って菌数をセフトキシム添加DHL培地でカウントした。一部の発育した菌を単離し、菌種をAPI20Eにより同定し、PCRにより接種菌が保有するESBL遺伝子の保有を確認した。

【結果と考察】

小松菜への接種試験の結果、*Enterobacter cloacae*は接種2～6日後に回収され、*Escherichia coli*は接種2日後に回収された。*Klebsiella pneumoniae*は、いずれの日においても回収されなかった(表29)。培養土中の菌数は、 10^{10} の菌を接種すると、 10^8 CFU/gとなった。

次に、接種菌量の影響を*Enterobacter cloacae*を用いて調べたところ、 10^6 CFU以上を土壤に接種した時に、茎葉から回収された(表30)。土壤中の菌量は 10^3 CFU以上と推定された。接種翌日には、培養土1 g当たりの菌数は1/100～1/1000に減少するが、観察した接種3日後まで 10^8 CFU以上接種したグループでは土中の菌数変化は認められなかった。

その後2回（3回目と4回目）小松菜への接種試験を実施したが、3菌種とも分離されなかった。また、接種翌日には、培養土1 g当たりの菌数は1/100～1/1000に減少するが、接種3日後まで土中の菌数変化は認められなかったが、調査した接種10日後まで、徐々に減少した。

以上から、複数回実施したが小松菜への伝播は不安定で、常に伝播するわけではないことが示唆された。また、野菜への伝播に接種菌の濃度が影響する可能性が示唆されたことから、未完熟な堆肥や未処理汚水を圃場にまく場合は、家畜由来細菌が伝播する可能性があると考えられた。

表29、小松菜への接種試験の結果

菌種	接種菌量	1 dpi	2 dpi	3 dpi	6 dpi	10 dpi
<i>E. cloacae</i>	5.2×10^{10}	-	2.2×10^3	2×10^2	4×10^2	-
<i>K. pneumoniae</i>	7.8×10^{10}	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	6.8×10^{10}	-	2.0×10^3	-	-	-
培養土中の菌数 (<i>E. coli</i>)		2.1×10^8	1.2×10^8	4.5×10^7	1.5×10^7	2.2×10^6

CFU/gを示す。

表30、小松菜への接種試験の結果

接種菌	1 dpi		2 dpi		3 dpi		7 dpi
	培養土	葉茎	培養土	葉茎	培養土	葉茎	葉茎
5.9×10^{10}	3.7×10^7	2×10^2	7.8×10^7	-	1.3×10^7	-	-
5.9×10^9	1.0×10^7	2×10^2	4.1×10^6	-	1.8×10^6	-	-
5.9×10^8	2.0×10^5	-	4.7×10^5	-	1.2×10^5	-	-
5.9×10^7	1.8×10^5	9×10^2	4.3×10^3	1.1×10^3	8.8×10^3	-	-
5.9×10^6	NT	1.3×10^3	NT	-	NT	-	-
5.9×10^5	2.1×10^2	-	2.9×10^2	-	<100	-	-
5.9×10^4	<100	-	<100	-	<100	-	-

CFU/gを示す。

レタスを対象にした1回目の試験では、*Enterobacter cloacae*は接種3、6と10日後に回収された（表31）。*Escherichia coli*では1株(TMICEX24)は接種6と10日後、1株(S11)では3と10日後に回収され、残りの1株(S13)では回収されなかった。*Klebsiella pneumoniae*では接種3と10日後に回収された。2回目の試験では、*Escherichia coli*では2株(TMICEX24とS13)は接種2日後に回収されたが、1株(S11)は回収されなかった（表32）。*Klebsiella pneumoniae*では接種2と3日後に回収されたが、*Enterobacter cloacae*は回収されなかった。

表 31、レタスへの接種試験の結果（1 回目）

結果：レタス1回目

菌種（株名、接種菌量）		菌数				
		1 dpi	2 dpi	3 dpi	6 dpi	10 dpi
<i>Enterobacter cloacae</i> (TMICEX6, 2.4×10^{10})	1	0	0	1	10	1
	2	0	0	∞	0	∞
	培養土	5.7×10^9	2.7×10^9	5.9×10^8	1.8×10^8	1.2×10^7
<i>Escherichia coli</i> (TMICEX24, 3.0×10^{10})	1	0	0	0	13	3
	2	0	0	0	0	0
	培養土	4.8×10^9	2.2×10^9	5.4×10^8	9.8×10^8	2.9×10^7
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (TMICEX23, 2.0×10^{10})	1	0	0	5	0	0
	2	0	0	0	0	26
	培養土	4.2×10^8	1.8×10^9	6.1×10^8	6.0×10^8	4.0×10^7
<i>Escherichia coli</i> (S11, 2.5×10^{10})	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	138	0	∞
	培養土	2.1×10^9	3.0×10^9	5.4×10^8	3.6×10^8	1.5×10^8
<i>Escherichia coli</i> (S13, 2.4×10^{10})	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	培養土	1.8×10^9	3.6×10^9	7.6×10^8	1.7×10^8	2.1×10^8

- ・ 1回目は培養液(トリプティクソイブロス)を接種
- ・ 細菌は葉茎から数日の間分離される。

表 32、レタスへの接種試験の結果（2 回目）

結果：レタス2回目

菌種（株名、接種菌量）		菌数				
		1 dpi	2 dpi	3 dpi	6 dpi	10 dpi
<i>Enterobacter cloacae</i> (TMICEX6, 4.3×10^{10})	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	培養土	3.6×10^8	8.6×10^7	6.5×10^6	5.2×10^6	4.3×10^6
<i>Escherichia coli</i> (TMICEX24, 3.1×10^{10})	1	0	0	0	0	0
	2	0	141	0	0	0
	培養土	1.8×10^8	4.1×10^7	1.5×10^7	2.0×10^8	5.8×10^6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (TMICEX23, 4.2×10^{10})	1	0	23	∞	0	0
	2	0	0	0	0	0
	培養土	4.3×10^6	4.8×10^7	8.0×10^6	1.8×10^6	6.3×10^4
<i>Escherichia coli</i> (S11, 4.4×10^{10})	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	培養土	2.1×10^8	1.7×10^7	2.5×10^6	3.7×10^6	<116
<i>Escherichia coli</i> (S13, 3.9×10^{10})	1	0	∞	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	培養土	3.8×10^8	1.5×10^7	3.9×10^6	1.7×10^6	<102

- ・ 培養液を遠心後滅菌蒸留水で再浮遊した菌液を接種
- ・ 細菌は葉茎から分離されるが、再現性や規則性は認められない。

ミニトマトを用いた接種試験は、培養液を遠心後滅菌蒸留水で再浮遊した菌液を用いて 2 回実施した

。2回ともトマト（実）から回収されなかった（表33）。しかし、2回目の試験では、葉茎から*Enterobacter cloacae*が接種3日後に回収された。レタスの2回目およびトマトの試験で、培地を直接接種するのではなく試験菌を蒸留水に再浮遊した理由は、植物の塩分抵抗性が小松菜に比べてレタスやトマトでは低いためである。

表33、ミニトマトへの接種試験の結果（1回目＝上段、2回目＝下段）

結果：ミニトマト（上段：1回目、下段：2回目）

菌種（株名）	接種菌数	菌数(トマト実)				
		1 dpi	2 dpi	3 dpi	6 dpi	10 dpi
<i>Enterobacter cloacae</i> (TMICEX6)	2.4x10 ¹²	0	0	0	0	0
		3.7x10 ⁶	2.8x10 ⁶	1.7x10 ⁶	8.1x10 ⁴	1.2x10 ³
<i>Escherichia coli</i> (TMICEX24)	3.1x10 ¹¹	0	0	0	0	0
		8.2x10 ⁶	1.9x10 ⁶	2.2x10 ⁶	1.4x10 ⁶	2.2x10 ⁴
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (TMICEX23)	4.2x10 ¹¹	0	0	0	0	0
		9.1x10 ³	2.8x10 ⁵	7.7x10 ³	2.6x10 ²	1.7x10 ²
<i>Escherichia coli</i> (S13)	3.9x10 ¹¹	0	0	0	0	0
		2.6x10 ²	8.7x10 ¹	5.7x10 ⁴	7.0x10 ⁴	3.2x10 ³

菌種（株名）	接種菌数	菌数(トマト実/茎葉)				
		1 dpi	2 dpi	3 dpi	6 dpi	10 dpi
<i>Enterobacter cloacae</i> (TMICEX6)	2.5x10 ¹¹	0/0	0/0	0/6	0/0	0/0
		4.7x10 ⁶	3.6x10 ⁵	4.5x10 ⁴	2.9x10 ³	4.8x10 ²
<i>Escherichia coli</i> (TMICEX24)	2.1x10 ¹¹	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
		2.3x10 ⁷	1.2x10 ⁷	1.3x10 ⁵	5.4x10 ⁴	1.9x10 ³
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (TMICEX23)	2.1x10 ¹¹	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
		8.9x10 ⁵	4.4x10 ⁴	2.4x10 ³	2.0x10 ³	5.0x10 ²
<i>Escherichia coli</i> (S13)	1.4x10 ¹¹	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
		6.3x10 ⁷	2.5x10 ⁶	4.4x10 ⁴	4.3x10 ³	8.2x10 ²

今回使用したCTX-M-3型ESBL産生菌3株はブロイラーの同一鶏群から分離された株で、菌種は異なるが同一多剤耐性プラスミド（80Kbp）を保有する。プラスミド上には、*bla*_{CTX-M-3}以外に*aac*(3)-IIId（ゲンタマイシン耐性）、*aadA2*（ストレプトマイシン耐性）、*su11*（サルファ剤耐性）、*dfrA12*（トリメトプリム耐性）が存在する（Yossapolらの報告（2020））。TMICEX24株（*Escherichia coli*）は、血清型O138:H48 MLST型ST219（O138:H48-ST219）で、病原因子の検索により腸管凝集付着性大腸菌耐熱性毒素遺伝子（*astA*）を保有していた。さらに、耐性遺伝子検索によりプラスミド性耐性遺伝子以外にクロラムフェニコール耐性（*catA1*）やテトラサイクリン耐性（*tet*(A)）遺伝子を保有していた。一方、酪農学園大学から提供されたCTX-M-2型ESBL産生大腸菌2株は074:H39-ST10で、*bla*_{CTX-M-2}以外に*aadA12*、*su11*、*dfrA12*を保有する多剤耐性菌であった。このように、ウシやブロイラーに分布するESBL産生多剤耐性菌が高濃度に暴露した場合には野菜への伝播が成立することから、堆肥や汚水などの畜産に由来する廃棄物の適正な管理が必要と考えられる。

【参考文献】

Yossapol M., Suzuki K., Odio J.O., Sugiyama M., Usui M., Asai T. 2020. Persistence of extended-spectrum beta-lactamase plasmids among Enterobacteriaceae in commercial broiler farms. Microbiol. Immunol. 64. 712-718.

(5) 分離菌株に対する包括的なゲノム解析（鈴木仁人（感染症研究所））

課題を通して分離された細菌について、その相同性を含む関連性について解析を行い、家畜、水圏、野菜、ヒトとの関連性を明らかにするため、次世代シーケンス解析を行なった。

【材料と方法】

表34のとおり、分担課題II、1（2）（3）において分離された合計739株のアンピシリン耐性菌（主に大腸菌）について、各分担研究者が実施したマルチプレックスPCRによるβラクタマーゼ遺伝子の検出及びPhylogenetic group型別の結果をもとに、*bla_{TEM}*陽性株のgDNAをそれぞれ分担担当者より受け取り、ゲノム解析を行なった。

表34. 各分担研究課題において分離されたアンピシリン耐性菌（主に大腸菌）の一覧

研究番号	担当	由来	株数
1（2）ア	酪農学園大学*	牛糞便、畜産廃棄物、土壌（附属農場）	18
		牛糞便、畜産廃棄物、土壌（別海）	15
1（3）ア	動物用医薬品検査所	健康牛直腸便	86
		病畜（牛）	45
		健康豚直腸	116
1（3）イ	岐阜大学**	養豚場排水	25
		食鳥処理場排水	6
		と畜場排水	6
	酪農学園大学	酪農場排水	14
	広島大学	下水処理施設	55
1（3）ウ	広島大学	市販野菜	148
1（3）エ	北海道大学・札幌医大	ヒトの臨床例	205
合計			739

*1（2）の課題については、分離されたアンピシリン耐性菌の伝播の可能性の解明を目的としてNGS解析を実施したため、分離された全てのアンピシリン耐性株を対象にしたわけではない。

**アンピシリン添加培地から分離された大腸菌株も含むため、分担課題の結果（表16）で示した株数とは異なる。

ライブラリー調製（2x150 bp paired-end）はNextera XT DNA Library Preparation Kit（Illumina社）、配列解読はHiSeq X（Illumina社）を用いて行った。配列解読後、de novo assemblyをShovill v1.1.0（<https://github.com/tseemann/shovill>）を用いて行った。菌種同定はFastANI v1.32（<https://github.com/ParBLISS/FastANI>）、薬剤耐性遺伝子およびプラスミドレプリコンの検出、MLST（multilocus sequence typing）による型別はStaramr v0.7.2（<https://github.com/phac-nml/staramr>）、系統解析はRoary v3.13.0（<https://github.com/sanger-pathogens/Roary>）を用いて行った。また、薬剤耐性遺伝子と関連したMGEの検出はMobileElementFinder（<https://bitbucket.org/mhkj/mgedb/src/develop/>）を用いて行った。

【結果と考察】

対象としたアンピシリン耐性菌計739株から、 β ラクタマーゼ遺伝子 (bla_{TEM} 、 bla_{CTX-M} など) を検出した。その結果を表35に記す。

表35. アンピシリン耐性菌の β ラクタマーゼ遺伝子の検出結果

研究番号	由来	株数	TEM	SHV	CTX-M1	CTX-M9
1 (2) ア	牛糞便、畜産 廃棄物、土壌 (附属農場)	18	11	ND	ND	7
	牛糞便、畜産 廃棄物、土壌 (別海)	15	10	ND	5	ND
1 (3) ア	健康牛直腸便	86	72	1	1	1
	病畜 (牛)	45	40	1	2	5
	健康豚直腸	116	112	0	0	3
1 (3) イ	養豚場排水	25	25	ND	ND	ND
	食鳥処理場排水	6	6	ND	ND	ND
	と畜場排水	6	6	ND	ND	ND
	酪農場排水	14	11	ND	3	ND
	下水処理施設	55	22	4	19**	19**
1 (3) ウ	市販野菜*	148	19	5	76**	76**
1 (3) エ	ヒトの臨床例	205	121	1	10	48

ND, 検出なし

*野菜由来細菌については、多くが大腸菌ではない。

**下水処理施設と市販野菜の bla 型別については、CTXグループであることを確認しており、M1groupとM9groupの区別は未実施。

全ての由来から bla_{TEM} 遺伝子が検出され、分離頻度も高かった。

また、分担研究者が実施したアンピシリン耐性大腸菌のPhylogenetic group解析の結果を表36に記す。

表36. 分離されたアンピシリン耐性大腸菌株の属するPhylogenetic group

研究番号	由来	株数	A	B1	B2	C	D	E	F
1 (3) ア	健康牛直腸便	86	9	48	0	0	5	6	0
	病畜 (牛)	45	8	25	0	2	4	2	3
	健康豚直腸	116	45	50	3	7	1	2	4
1 (3) イ	養豚場排水	25	16	9	0	0	0	0	0
	食鳥処理場排水	6	2	3	0	0	1	0	0
	と畜場排水	6	3	3	0	0	0	0	0

	酪農場排水	2	7	0	0	0	5	0	0
1 (3) ウ	市販野菜	11	1	4	3	0	0	3	0
1 (3) エ	ヒトの臨床例	205	4	13	157	3	20	2	6

分離株が属するphylogenetic group (A~F) は、由来ごとに偏りは認められるものの、多岐に渡っていた。このことから、特定のアンピシリン耐性株が由来ごとに分布している訳ではないことが明らかとなった。

全ての由来から *bla*_{TEM} 遺伝子が検出され、phylogenetic group は多岐にわたることから、複数の由来から分離された *bla*_{TEM} 遺伝子を保有する332株（詳細を表37及び別添のエクセルファイル補助資料9に記す）について、同遺伝子の周辺構造を解析した。

表37. NGS解析を実施した *bla*_{TEM} 遺伝子陽性株の一覧

研究番号	由来	アンピシリン耐性株数	<i>bla</i> _{TEM} 陽性株数	NGS解析実施株数	IS26を含む構造を決定できた株数
1 (2) ア	牛糞便、畜産廃棄物、土壌（附属農場）	18	11	11	3
	牛糞便、畜産廃棄物、土壌（道東牛農場）	15	10	8	4
1 (3) ア	健康牛直腸便	86	72	57	6
	病畜（牛）	45	40	32	6
	健康豚直腸	116	112	93	6
1 (3) イ	養豚場排水	25	25	23	1
	食鳥処理場排水	6	6	4	0
	と畜場排水	6	6	4	1
	酪農場排水	14	11	5	2
	下水処理施設	55	22	12*	2
1 (3) ウ	市販野菜	148	19	5**+2***	0
1 (3) エ	ヒトの臨床例	205	121	76****	16

*NGS解析は、22株で実施。TEM陽性は12株。

**NGS解析は、7株で実施。TEM陽性は5株。

***別のプロジェクトでTEM陽性だった野菜由来株2株を追加で解析。

****NGS解析は、156株で実施。TEM陽性は121株。

結果、211株において *bla*_{TEM} と同一のcontigにMGE (mobile genetic element) が認められた。そのうち、47株で、*bla*_{TEM} 遺伝子とそれに隣接したIS26を含む構造が検出された(図13)。これら、47株について、由来や系統発生分類について、並べたところ、由来は多岐に渡り、系統発生分類も多岐にわたっていた(図14)。さらに、周辺構造の類似性をもとに、19株について、*bla*_{TEM} 遺伝子とそれに隣接したIS26を含む構造について、配列比較を実施したところ、複数の由来で、類似した遺伝子配列が認められた(図15)。以上のことから、*bla*_{TEM} 遺伝子を保有する株の由来や系統発生分類は多岐にわたり、*bla*_{TEM} 遺伝子周辺のMGEの1つであるIS26を含む構造が、由来に限らずプラスミドなどを介して幅広く拡散・伝播している可能性が示唆された。ただし、ゲノム比較については、同一の構造を注目する解析方法となってしまうため、低い頻度の拡散・伝播の可能性について、過剰な評価となってしまう可能性もある。

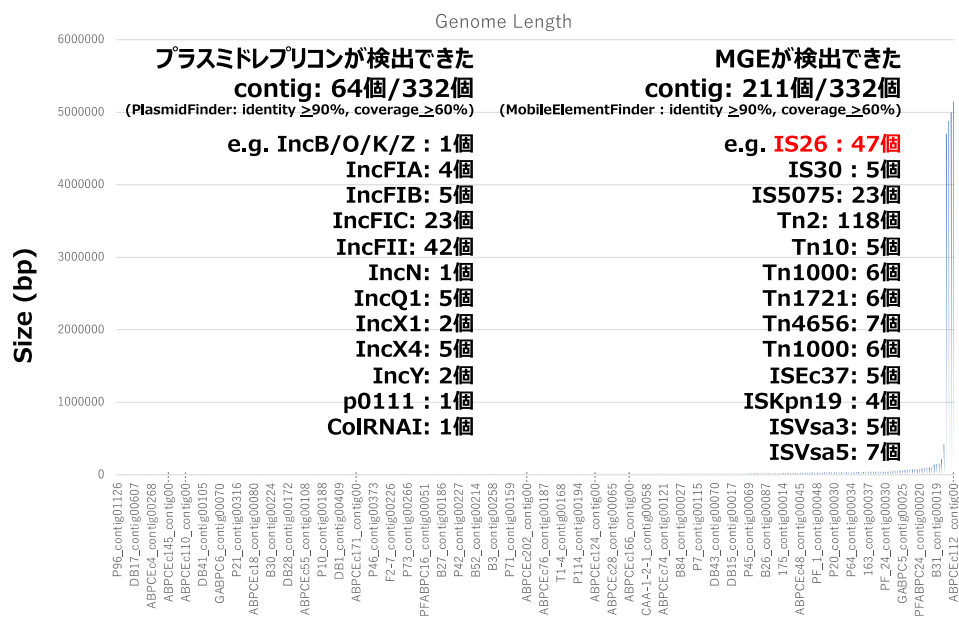


図13. ドラフトゲノム解析で得られた *bla*_{TEM} 陽性 contig の羅列

Source	Isolate	Species	MLST	Group	ARG
NVAL	DB36	ecoli	744	A	aadA5, aph(3'')-1b, aph(6)-1d, blaTEM-1B, catA1, dfrA17, mph(A), qacE, sul1, sul2
NVAL	P114	ecoli	10	A	aph(3'')-1b, aph(6)-1d, blaTEM-1B, dfrA8, sul2
NVAL	P4	ecoli	10	A	aph(3'')-1b, aph(6)-1d, blaTEM-1B, dfrA14, sul2
NVAL	P54	ecoli	1244	A	blaTEM-1B, floR
GU	PFABPC11	ecoli	542	A	blaTEM-1B, sul3
RGU	163	ecoli	937	B1	blaTEM-1D
NVAL	B36	ecoli	642	B1	blaTEM-1B
NVAL	B49	ecoli	164	B1	aph(3'')-1b, aph(6)-1d, blaTEM-1A, floR, sul2, tet(A)
NVAL	B63	ecoli	164	B1	aph(3'')-1b, aph(6)-1d, blaTEM-1A, sul2, tet(A)
NVAL	B66	ecoli	164	B1	aph(3'')-1b, aph(6)-1d, blaTEM-1A, floR, sul2, tet(A)
NVAL	B7	ecoli	58	B1	blaTEM-1B
NVAL	B81	ecoli	1704	B1	aph(3'')-1b, aph(6)-1d, blaTEM-1A, sul2, tet(A)
HU	CE-1-2	ecoli	4623	B1	blaLAP-2, blaTEM-1B, qnrS1, tet(A)
NVAL	DB26	ecoli	56	B1	blaTEM-1B, dfrA17
NVAL	DB37	ecoli	101	B1	aph(3'')-1b, aph(6)-1d, blaTEM-1B, sul2, tet(A)
NVAL	DB38	ecoli	224	B1	aac(3)-II d, blaTEM-1B
NVAL	DB42	ecoli	58	B1	blaTEM-1B
NVAL	DB43	ecoli	2329	B1	blaTEM-1B
GU	GABPC5	ecoli	795	B1	blaTEM-1B, sul2
HU	MA-1-1b	ecoli	7937	B1	aac(3)-II d, aadA2, blaTEM-1B, catA1, dfrA12, mph(A), qacE, sul1
NVAL	P104	ecoli	101	B1	aph(3'')-1b, aph(6)-1d, blaTEM-1B, sul2, tet(A)
NVAL	P20	ecoli	58	B1	aph(3'')-1b, aph(6)-1d, blaTEM-1B, sul2
NVAL	P64	ecoli	1727	B1	aph(3'')-1b, aph(6)-1d, blaTEM-1B, dfrA14, sul2, tet(A)
NVAL	P80	ecoli	641	B1	aadA1, blaTEM-1B, dfrA1, sul3
SMU	ABPCEc11_2	ecoli	131	B2	blaTEM-1B
SMU	ABPCEc112	ecoli	131	B2	blaTEM-1B
SMU	ABPCEc129	ecoli	131	B2	blaTEM-1B
SMU	ABPCEc141	ecoli	131	B2	blaTEM-1B
SMU	ABPCEc170	ecoli	1193	B2	blaTEM-1B
SMU	ABPCEc24	ecoli	569	B2	aph(3'')-1b, aph(6)-1d, blaTEM-1B, sul2
SMU	ABPCEc5	ecoli	131	B2	blaTEM-1B
SMU	ABPCEc51	ecoli	131	B2	aac(3)-II d, blaTEM-1B
SMU	ABPCEc81	ecoli	131	B2	blaTEM-1B
SMU	ABPCEc9	ecoli	73	B2	aac(3)-II d, blaCTX-M-3, blaTEM-1B
SMU	ABPCEc91	ecoli	12	B2	ant(3'')-Ia, blaTEM-1B, qacE, sul1
SMU	ABPCEc97	ecoli	N/A	B2	blaTEM-1B
SMU	ABPCEc98	ecoli	131	B2	blaTEM-1B
SMU	ABPCEc1_1	ecoli	69	D	blaTEM-1B
RGU	F3-6E	ecoli	973	D	blaTEM-1B
RGU	F5-4	ecoli	973	D	blaTEM-1B
RGU	165	ecoli	182	E	aph(3'')-1b, aph(6)-1d, blaTEM-1B, dfrA7, qacE, sul1, sul2
RGU	166	ecoli	182	E	aph(3'')-1b, aph(6)-1d, blaTEM-1B, dfrA7, qacE, sul1, sul2, tet(A)
SMU	ABPCEc194	ecoli	648	F	aph(3'')-1b, aph(6)-1d, blaTEM-1B, dfrA14, sul2
SMU	ABPCEc195	ecoli	648	F	aph(3'')-1b, aph(6)-1d, blaTEM-1B, dfrA14, sul2
SMU	ABPCEc198	ecoli	648	F	aph(3'')-1b, aph(6)-1d, blaTEM-1B, sul2
RGU	175	ecoli	N/A	G	aph(3'')-1b, aph(6)-1d, blaTEM-1B, dfrA5, sul2, tet(A)
RGU	S10-5E	efergusonii	7852	fergusa	aph(3'')-1b, aph(6)-1d, blaTEM-1B, dfrA14, sul2

図14. *bla*_{TEM}遺伝子とそれに隣接したIS26を含む構造が検出された47株(左側に由来を示す: NVAL, 動物医薬品検査所、HU, 広島大学、GU, 岐阜大学、SMU, 札幌医大、RGU, 酪農学園大学)

IS26-*bla*_{TEM-1}



Source	Isolate	Species	MLST	Group	contig	ARG	MGE	Plasmid/replicon	Length
NVAL	P114	ecoli	10	A	P114_contig00194	aph(3'')-Ib, aph(6)-Ic, blaTEM-1B, dfrA8, sul2	IS26, Tn6205	None	8,484
NVAL	B86	ecoli	642	B1	B86_contig00182	blaTEM-1B	IS26	None	1,935
NVAL	DB88	ecoli	224	B1	DB88_contig00114	aac(3)-IId, blaTEM-1B	IS26	None	3,297
SMU	ABPCEc129	ecoli	131	B2	ABPCEc129_contig00160	blaTEM-1B	IS26, IS629	None	6,558
SMU	ABPCEc170	ecoli	1193	B2	ABPCEc170_contig00057	blaTEM-1B	IS26	None	6,921
SMU	ABPCEd5	ecoli	131	B2	ABPCEd5_contig00093	blaTEM-1B	IS26, IS629	None	16,396
SMU	ABPCEd81	ecoli	131	B2	ABPCEd81_contig00131	blaTEM-1B	IS26	None	10,948
SMU	ABPCEd97	ecoli	N/A	B2	ABPCEd97_contig00168	blaTEM-1B	IS26	None	3,746
SMU	ABPCEc1_1	ecoli	69	D	ABPCEc1_1_contig00158	blaTEM-1B	IS26	None	8,219

IS26-*bla*_{TEM-1}



Source	Isolate	Species	MLST	Group	contig	ARG	MGE	Plasmid/replicon	Length
SMU	ABPCEc112	ecoli	131	B2	ABPCEc112_contig00056	blaTEM-1B	IS26	IncFI B(AP001918)	9,976
SMU	ABPCEd98	ecoli	131	B2	ABPCEd98_contig00232	blaTEM-1B	IS26	None	2,630

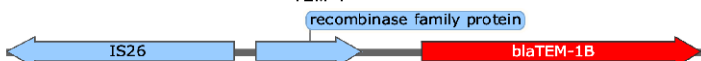
IS26(Δ57aa)-*bla*_{TEM-1}



Source	Isolate	Species	MLST	Group	contig	ARG	MGE	Plasmid/replicon	Length
NVAL	P54	ecoli	1244	A	P54_contig00105	blaTEM-1B, floR	IS26, IS903	None	9,155

図15a. IS26-*bla*_{TEM-1}周辺構造の解析例(12株)

IS26-recombinase-*bla*_{TEM-1}



Source	Isolate	Species	MLST	Group	contig	ARG	MGE	Plasmid/replicon	Length
NVAL	DB86	ecoli	744	A	DB86_contig00063	aadA5, aph(3'')-Ib, aph(6)-Ic, blaTEM-1B, catA1, dfrA17, mph(A), qacE, sul1, sul2	IS26, IS26, IS26, IS6100, Tn6205	IncQ1	24,950
GU	GABPC5	ecoli	795	B1	GABPC5_contig00025	blaTEM-1B, sul2	IS26, IS679, ISVas5	IncFI1	58,643

*bla*_{TEM-1}-IS26



Source	Isolate	Species	MLST	Group	contig	ARG	MGE	Plasmid/replicon	Length
RGU	163	ecoli	937	B1	163_contig00037	blaTEM-1D	IS26	None	41,843
NVAL	B7	ecoli	58	B1	B7_contig00188	blaTEM-1B	IS26, Tn2	None	6,396
RGU	F9-6E	ecoli	973	D	F9-6E_contig00272	blaTEM-1B	IS26	None	2,597
RGU	P5-4	ecoli	973	D	P5-4_contig00262	blaTEM-1B	IS26	None	2,368
RGU	175	ecoli	N/A	G	175_contig00014	aph(3'')-Ib, aph(6)-Ic, blaTEM-1B, dfrA5, sul2, tet(A)	IS26, IS26, Tn1721, Tn6205	IncQ1	23,742

図15b. IS26-*bla*_{TEM-1}周辺構造の解析例(7株)