

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 20 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580426

研究課題名(和文) 抗菌剤耐性サルモネラの感染様式と耐性因子伝達機構の解明

研究課題名(英文) The mode of infection of anti-microbial resistant Salmonella and the transmission of the determinants of the resistance.

研究代表者

中馬 猛久 (Chuma, Takehisa)

鹿児島大学・獣医学部・教授

研究者番号：90201631

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：南日本のブロイラーから分離されたサルモネラのうちアンピシリン、セフトキシムの両剤に耐性を示したのは33株(35.5%)でblaTEM52、blaTEM20型ESBL産生株がそれぞれ22株、1株認められ、以前の報告と比較して著しく増加していた。IncP型のプラスミドはtetA、aadA1、sul1の3つの耐性遺伝子を保有し、3つの血清型から検出されたため、多剤耐性の拡大と大きく関わっていることが示された。調査したサルモネラにはプラスミドが広く存在し、異なる血清型間に共通のプラスミドが存在したことから、CTX耐性及び多剤耐性サルモネラの増加とプラスミドは大きく関わっていることが判明した。

研究成果の概要(英文)：The study was conducted to determine the antimicrobial resistance and characterize the B-lactamase genes and the plasmids in *S. Infantis* isolates from broilers. In 93 (6.3%) isolates recovered, 33 (35.5%) isolates showed resistance to cefotaxime conferred by TEM-20, TEM-52 and CTX-M-25 ESBLs. In addition to ESC-resistance, eight (8.6%) isolates exhibited resistance to ceftiofur mediated by CMY-2 AmpC B-lactamase. Plasmid analysis revealed the blaTEM-20 and blaCMY2 genes were associated with IncP plasmids, blaTEM-52 linked with a non-typable plasmid and blaCTX-M-25 was carried by an IncA/C plasmid. Resistance to streptomycin, sulfamethoxazole, and oxytetracycline encoded by the aadA1, sul1, and tetA, respectively, was found in 86 (92.5%) isolates. These data indicate that *S. Infantis* isolates producing ESBLs and AmpC B-lactamase have spread among broiler farms in Japan. These data demonstrated the incidence of ESC-resistant *S. Infantis* carrying blaTEM-52 remarkably increased.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学 応用獣医学

キーワード：サルモネラ 抗菌剤耐性 ブロイラー

1. 研究開始当初の背景

サルモネラはヒトの食中毒の原因菌として重要な位置を占めており、その中でも血清型 Infantis は、卵由来の血清型 Enteritidis について全体の 2 位を占め、食肉由来のサルモネラの中では最も多く、さらに食中毒発生件数が増加傾向を示していた。一方、ヒトの臨床では多剤耐性菌が脅威となり、国内ではアシネトバクターによる院内感染による死亡例が複数報告され、インドでは抗菌剤耐性遺伝子「NMD1」を保有する多剤耐性大腸菌が検出され世界的感染拡大が懸念されていた。世界保健機関(WHO)は、耐性菌の監視と感染対策の徹底周知を各国に求め始めた。

これまでの我々の調査により、*S. Infantis* はプロイラーにおいて最も高頻度に分離される血清型であることが明らかになった(Poultry Sci. 2008)。また、鹿児島のプロイラー鶏群に 2003 年に初めてラクタム薬耐性 *S. Infantis* 株が侵入したことを明らかにし(Int. J. Antimicrob. Agents 2006)、その耐性を担う遺伝子をつきとめてきた(Vet. Microbiol. 2010, Foodborne Pathog. Dis. 2010)。

近年様々な地域や菌種から多様なプラスミドが検出されている。その中でも *Vibrio fluvialis* のキノロン耐性遺伝子および基質特異性拡張型ラクタマーゼ(ESBL)遺伝子をコードしたプラスミド、スペインの *Salmonella* Virchow が保有する CTX-M-9 遺伝子保有プラスミドと *S. Enteritidis* が保有する CTX-M-1 遺伝子保有プラスミド、日本の牛由来 *S. Typhimurium* の新たなクローン株が保有する、複数の毒性遺伝子と TEM1 遺伝子をコードしたプラスミドなど、薬剤耐性と関連したプラスミドも多く報告されており、それらの疫学的解析がより重要となっている。鹿児島県プロイラー由来薬剤耐性サルモネラからもプラスミドが検出されており耐性との関連が疑われているが、それらの解析はまだ十分に行われていない。プラスミドのより疫学的な調査を行う方法として、プラスミドの全塩基配列シーケンスが行われている。中国で流行した *Escherichia coli* O157:H7 株の 38kb 接合性プラスミドは、全塩基配列シーケンスにより *S. Agona* 由来プラスミドと同じ起源を有していることが明らかになった。また日本の *E. coli* ST38 由来プラスミド pNDM-1_Dok01 の全塩基配列シーケンスにより、このプラスミドが保有するメタロラクタマーゼ遺伝子は植物病原体起源である可能性が示された。このようにプラスミドの全塩基配列は、プラスミドの疫学的調査を行うにあたって非常に有用な情報をもたらす。近年普及してきた次世代シーケンスにより安価で大量に塩基配列を読めるようになり、複数のプラスミドをより詳しく比較することが可能となった。次世代

シーケンスを用いたプロイラー産業由来サルモネラのプラスミド解析は世界ではいくつか報告がされているが、日本ではまだ余り行われていない。

サルモネラのプロイラー鶏群における汚染様式や汚染原は未だわかっておらず、本菌の汚染防除のための有効な方策は立てられていないのが現状であった。*S. Infantis* を原因とする食中毒が増加していること、薬剤耐性菌および耐性遺伝子の世界的流行の兆しを鑑みると早急なる防除対策が必要とされた。

2. 研究の目的

本研究課題では、養鶏業の最も盛んな地域である鹿児島を調査対象範囲とし、

1) プロイラーにおけるサルモネラ汚染の地理的分布と時間的推移の解析を行い、その汚染様式と汚染源を解明する。

2) 分離菌株の薬剤感受性試験および薬剤耐性遺伝子の検索を行い、サルモネラの薬剤耐性の進行、多剤耐性化の実態を把握し、その遺伝的メカニズムを明らかにする。

3) 薬剤耐性菌株のゲノム遺伝子とプラスミドの伝達性を解析し、プロイラー間でのサルモネラの伝播様式と薬剤耐性の伝達様式を解明する。

以上の項目を目的とした。

3. 研究の方法

1) 菌株の収集・同定

鹿児島県下の農場から食鳥処理場に持ち込まれるプロイラーの盲腸を収集、増菌培地および選択培地を用いてコロニーを分離し、生化学的性状検査により菌種を同定後、特異抗血清を用いて血清型別を実施した。

2) 薬剤感受性試験

寒天平板希釈法を用いて、動物およびヒトで临床上重要な抗菌剤の分離菌に対する最小発育阻止濃度(MIC)を測定することにより感受性試験を実施した。試験には、アンピシリン(ABPC: Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, U.S.A, R 32)、セフォタキシム(CTX: Sigma-Aldrich, R 4)、セフォキシチン(CFX: Sigma-Aldrich, R 32)、オキシテトラサイクリン(OTC: Nacalai Tesque, Inc., Kyoto, Japan, R 16)、スルファメソキサゾール(SUL: Sigma-Aldrich, R 512)、ストレプトマイシン(SM: Nacalai Tesque, R 16)、カナマイシン(KM: Sigma-Aldrich, R 64)、オフロキサシン(OFLX: Sigma-Aldrich, R 8)、クロラムフェニコール(CP: Sigma-Aldrich, R 32)の9薬剤を用いた。

3) 薬剤耐性遺伝子の検索

各々の耐性に関与する様々な遺伝子に特異的プライマーを用いたPCR法によって検索した。インスタジーン DNA 生成マトリクス (Bio-Rad Lab., Richmond, CA, U.S.A.) を用いて DNA 抽出を行い、ラクタマーゼ遺伝子 (*TEM*, *CTX-Mgroup*、*CTX-Mgroup*、*CTX-Mgroup*、*SHV*, *CMY-2*)、テトラサイクリン耐性遺伝子 (*tetA*)、ストレプトマイシン耐性遺伝子 (*aadA1*)、スルフォナミド耐性遺伝子 (*sul1*) の検出を PCR にて実施した。さらに、ラクタマーゼ遺伝子の特定のため Dye Terminator 法を用いてシーケンズ解析を行った。

4) プラスミド抽出と型別

プラスミドの抽出にはプラスミド簡易微量分離法 (関崎の変法) を用いた【8】。菌株を LB 培地で 24 時間培養を行い、菌液 1ml を 12000rpm、3 分間遠心し菌体沈渣を得た。得られた菌体沈渣に solution (50%グルコース 1.8ml, 1 MTris-HCl(pH8.0) 2.5ml, 0.4M EDTA(pH8.0) 2.5ml, 蒸留水 53.2ml) を 100 μ l を加えよく懸濁し、solution2 (1N NaOH 2ml, 10%SDS 1ml, 蒸留水 7ml) を 200ml を加え軽く転倒混和し、PCI 溶液 (フェノール 25ml, クロロホルム 24ml, イソアミルアルコール 1ml) を 300 μ l 加え 100 回程緩やかに転倒混和した。14000rpm、10 分間遠心分離した後、得られた上澄 20 μ l に RNAase 添加 6 \times Loading Dye (RNAase 5 μ l, 6 \times Loading Dye 1ml) を 4 μ l 混合し、0.8%アガロースゲルで 90~100v、60 分および 180 分間電気泳動を行った。その後エチジウムブロマイドを 0.1%添加した蒸留水にゲルを 15 分浸し染色し、さらに蒸留水のみ 15 分ゲルを浸し、結果を撮影した。プラスミドの型別には、プライマー: I1、A/C、HI2、HI1、N、X、W、Y、P、T、FIIIs、L/M、FIA、FIB、FIC、FrepB、K/B、B/O とプライマー: X1、X2、X3、X4 を使用し、PCR 法にてレプリコンタイピングを実施した。

5) 耐性伝達試験

試験管内接合法により、薬剤耐性伝達能を試験した。レシピエントとしてリファンピシン耐性 (RF MIC:512 μ g/ml) を付与した *E. coli* DH5 を用いた。トランスコンジュガントを選択するため、リファンピシン (RF: Nacalai Tesque) 256 μ g/ml と CTX4 μ g/ml、RF と OTC16 μ g/ml、RF と SM16 μ g/ml をそれぞれ添加したマッコンキー寒天培地を作成した。ドナー株とレシピエント株をミューラーヒントン (MH) プロス (5ml) でそれぞれ 24 時間振盪培養し、その菌液を MH プロス (4.5ml) に 1 白金耳接種し、5 時間振盪培養を行った。培養したドナー菌液 0.5ml とレシピエント菌液 4.5ml を混合し、さらに 1 時間震盪培養を行った後 0.1ml を薬

剤培地に塗布し 24 時間培養した。発育したコロニーを DHL 寒天培地にて 24 時間培養し *E. coli* のみを選択し、さらにプラスミド抽出を行い、ドナーと同サイズのプラスミドを保有するものをトランスコンジュガントとした。伝達を媒介したプラスミド遺伝子をアルカリ溶解法にて抽出し、PCR法により伝達した耐性遺伝子を特定した。

6) ゲノム遺伝子の比較

パルスフィールドゲル電気泳動法を用いてサルモネラゲノム遺伝子の型別を行った。以上より、サルモネラの汚染の広がりや遺伝子型の関係を明らかにし、さらに細菌遺伝子型と耐性遺伝子、プラスミドとの関係をつきとめ耐性の伝達様式の解明を試みた。

7) 次世代シーケンズ

トランスコンジュガントを用いてプラスミド抽出、エタノール沈殿を行った後、Roche 454 FLX (Life Sciences, Branford, CT, U.S.A.) を用いてプラスミドの全塩基配列シーケンズを行った。シーケンズデータの解析には BLAST の homology search、aline search を使用し、塩基配列のアミノ酸変換には EMBOSS Transeq (EMBL-EBI) を使用した。

4. 研究成果

南日本のプロイラーから分離された 93 株のサルモネラのうちアンピシリン、セフトキシムの両剤に耐性を示したのは 33 株 (35.5%) で blaTEM52、blaTEM20 型 ESBL 産生株がそれぞれ 22 株、1 株認められ、以前の報告と比較して著しく増加していた。blaTEM52 保有株 1 株は blaCTX-M25 にも同時に陽性を示した。AmpC 産生を示した株は 8 株すべてで blaCMY2 陽性であった。ESBL 産生株では約 50kb、180kb の、AmpC 産生株では約 180kb のプラスミドが検出され、両者の間で保有するプラスミドの相違が認められた。blaCTX-M25 は約 125kb のプラスミドが関連していた。以上より、プロイラーにおける blaTEM52 型 ESBL 産生 *S. Infantis* の広範囲な拡大が認められた。さらに blaCMY2、blaCTX-M25 保有 *S. Infantis* 株も新たに出現した。これらのラクタマーゼ遺伝子はプラスミドと関連していると考えられた。

さらに、追加分離したサルモネラ 149 株 (*S. Infantis* 128 株、Manhattan 17 株、Typhimurium 4 株) を材料とし、9 薬剤を用いた感受性試験、PCR とシーケンズによる耐性遺伝子の検出、プラスミドの抽出・レプリコンタイピング・伝達試験を行った結果、149 株のうち 137 株が SM、SUL、OTC の 3 剤に耐性を示し、ほとんどの株が耐性であった。また -ラクタム薬である ABPC、CTX にはそれぞれ 63 株、60 株が耐性を示した。CFX、KM、OFLX に耐性を示した株はそれぞれ 9 株、18 株、1 株であり、耐性率は低かった。CP に耐

性の株は認められなかった。

これらのサルモネラ全 149 株は 4 つのプラスミドパターンに分類され、型は 140kb プラスミド 1 本、型は 140、38kb の 2 本、型は 140、120、38kb の 3 本、型は 135、100、38kb の 3 本のプラスミドを保有していた。*S. Infantis* では 99 株が型、26 株が型を示し、型と型はそれぞれ 1 株、2 株と少数であった。*S. Manhattan* では 2 株が型で 15 株が型であった。*S. Typhimrium* は全て型を示した。

サルモネラの各血清型からそれぞれプラスミドパターンごとに 1 株ずつ選抜し接合実験を行った結果、5 株のドナー株から 9 株のトランスコンジュガントが得られた。140kb プラスミドを保有する 3 株のトランスコンジュガント (T102、T16a、T62a) では、表現型は SM、SUL、OTC、耐性遺伝子は *aadA1*、*sul1*、*tetA* 遺伝子が伝達しており、レプリコンタイプは IncP を示した。また、このプラスミドを保有するサルモネラの 93% が 3 剤全てに耐性を示した。次に 38kb プラスミドを保有する 4 株のトランスコンジュガント (T16b、T62b、T70b、T115b) では、表現型は ABPC と CTX、耐性遺伝子は *TEM52* 遺伝子が伝達しており、レプリコンタイプは IncX1 を示した。このプラスミドを保有するサルモネラは全て CTX に耐性を示した。また 120kb プラスミドを保有する T70a では、表現型は ABPC、SM、SUL、CTX、耐性遺伝子は *TEM52*、*CTX-M-25* 遺伝子が伝達しており、レプリコンタイプは IncA/C を示した。100kb プラスミドを保有する T115b では、表現型は ABPC、OTC、CTX、CFX、耐性遺伝子は *CMY-2*、*tetA* 遺伝子が伝達しており、レプリコンタイプは IncI1 を示した。

pInf03-38、pInf07-38、pMan08-38 のレプリコンタイプを調べた結果全て IncX1 であり、これら 3 つのプラスミドの塩基配列を比較したところ、全ての組み合わせで 99.99% 一致した。耐性遺伝子については、pInf07-38 と pMan08-38 は *TEM52* 遺伝子を保有していたのに対し、pInf03-38 は *TEM20* 遺伝子を保有していた。これらのプラスミドを BLAST で相同性を検索した結果、2006 年にアメリカで鶏肉由来大腸菌から検出されたプラスミド pE001、pDOX1-TEM-52 と近縁であり、それぞれ 99% 以上の近縁度を示した。

鹿児島県のプロイラーから分離されたサルモネラの 92% が SM、SUL、OTC の 3 剤に耐性を示し、これらの 3 剤に対しては、以前に分離されたサルモネラと同様に耐性率は高いまま推移していた。またラクタム薬である ABPC と CTX に対しては 42%、40% が耐性を示した。以前に分離されたサルモネラの ABPC への耐性率は 24%、CTX への耐性率は 9% であり、この数年間でラクタム薬に対する耐性が増加していることが分かった。

140kb プラスミドを保有するトランスコンジュガントは SM、SUL、OTC の 3 剤に耐性を示し、*aadA1*、*sul1*、*tetA* と 3 つの耐性遺伝

子を保有していた。このプラスミドが検出された *S. Infantis*、*S. Manhattan*、*S. Typhimrium* 計 147 株のうち 137 株が 3 剤全てに耐性を示した。このことから、この 140kb プラスミドが鹿児島県プロイラー由来サルモネラの多剤耐性の獲得に関係していると考えられる。このような多剤耐性プラスミドは他の地域でも認められている。国内では山口県のプロイラー由来 *S. Infantis* から SM、SUL、OTC、KM の 4 剤に耐性を示す IncP プラスミドが検出されている。ヨーロッパでは、ナリジクス酸、SM、スルホンアミド、テトラサイクリンの 4 剤に耐性を示す 168kb プラスミドを保有した *S. Infantis* が広がっており、オーストリア、ルーマニア、ポーランド、トルコ、ハンガリーに分布している。多剤耐性プラスミドは国内および国外の *S. Infantis* 内に広範に分布しており、これらの起源や関係性についてさらなる調査が必要であると考えられる。

38kb プラスミドを保有するトランスコンジュガントは ABPC、CTX に耐性を示し、*TEM52* 遺伝子を保有していた。このプラスミドが検出された *S. Infantis*、*S. Manhattan* 計 44 株も、全て ABPC と CTX に耐性を示した。このことから、38kb プラスミドが鹿児島県プロイラー由来サルモネラの CTX 耐性の獲得に関係していると考えられる。

この 38kb プラスミドについて、次世代シーケンシングを用いて比較解析を行った結果、過去に分離された *Infantis03* 株が保有する 38kb プラスミド (pInf03-38) に、*TEM20* 型のラクタマーゼ遺伝子が存在していることが明らかとなった。鹿児島県のプロイラーからはその後も ABPC 耐性サルモネラが 17 株検出されており、これらの株も *TEM20* 型であると考えられる。ABPC と CTX とともに耐性の *Infantis07* 株、*Manhattan08* 株が保有する 38kb プラスミド (pInf07-38、pMan08-38) および pInf03-38 の塩基配列は 99.99% 一致した。また pInf03-38 から *TEM20* 遺伝子が検出されたのに対し、pInf07-38 と pMan08-38 からは共に *TEM52* 遺伝子が検出された。*TEM20* 遺伝子が 1 塩基変異すると ESBL をコードする *TEM52* 遺伝子となり、第 3 世代セフェム系薬にも耐性となる。これらのことをまとめると、*TEM20* 遺伝子を保有していたプラスミドが点変異することで CTX 耐性を獲得し、さらに血清型を超えて現在鹿児島県プロイラー内のサルモネラに蔓延していると考えられる。

日本ではプロイラーに対する第 3 世代セフェム系薬の使用は許可されていない。そのため鹿児島県のプロイラー内で第 3 世代セフェム系薬に対する耐性化が先行的に進んだとは考えにくく、他の国や宿主由来のサルモネラ、あるいは大腸菌など他の細菌からプラスミドを通じて耐性が伝播したと推測される。pInf07-38、pMan08-38 のシーケンシング結果は、2006 年にアメリカで鶏肉から分離された大腸菌由来のプラスミド pE001、pDKX1-TEM-52

と99%同一であった。これらのプラスミドと同様な *TEM52* 遺伝子保有 IncX1 型プラスミドは近年多くの地域で検出されている。デンマークの牛肉由来大腸菌、フランスのヒト由来大腸菌からも報告されているが、オランダの家禽由来 *S. Blockley*、*S. Paratyphi*、*S. Typhimurium*、*S. Virchow*、デンマークの鶏肉由来大腸菌など、多くは家禽と関連して検出されている。これらより、このプラスミドは大腸菌とサルモネラの間で伝達されて家禽を主として国際的に広がっていることが示唆される。しかし我々の以前の調査では、鹿児島県のプロイラー由来大腸菌からサルモネラと共通したプラスミドは検出されなかった。第3世代セフェム系薬である CTX の耐性が鹿児島県プロイラー由来サルモネラに伝播した経路は未だ明らかになっておらず、更なる調査が必要であると考え。

120kb プラスミドと 100kb プラスミドは 1 株あるいは 2 株の少数のサルモネラから検出された。これらのプラスミドはそれぞれ ESBL 遺伝子である *CTX-M-25* 遺伝子、AmpC 型 β -ラクタマーゼ遺伝子である *CMY-2* 遺伝子を保有していた。これらのプラスミドの今後の動向にも注意が必要であると考え。

以上より、2007 年から 2009 年に分離された鹿児島県プロイラー由来サルモネラの薬剤耐性には、多剤耐性 140kb プラスミドおよび *TEM52* 保有 38kb プラスミドが関係していることが明らかになった。また、現在鹿児島県プロイラー内の *S. Infantis* と *S. Manhattan* に蔓延している *TEM52* 保有 IncX1 型プラスミドは、国際的にも他の菌種間で広がっていることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 4 件)

1) Chronological Change of Resistance to β -Lactams in *Salmonella enterica* serovar *Infantis* Isolated from Broilers in Japan. *Front. Microbiol.* 4: article113. 1-5. (2013) Chuma T, Miyasako D, Dahshan H, Takayama T, Nakamoto Y, Shahada F, Akiba M, and Okamoto K.

2) Prevalence and Epidemiological Relationship of *CMY-2* AmpC β -Lactamase and CTX-M Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolates from Broiler Farms in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 75:1009-1015. (2013) Kameyama M, Chuma T, Yabata J, Tominaga K, Iwata H, Okamoto K.

3) Distribution of extended-spectrum

cephalosporin resistance determinants in *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* isolated from broilers in southern Japan. *Poult. Sci.* 92:1641-1649. (2013) Shahada F, Chuma T, Kosugi G, Kusumoto M, Iwata T, Akiba M.

4) Emergence of *Salmonella enterica* serovar *Infantis* harboring IncI1 plasmid with *bla*CTX-M-14 in a broiler farm in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 74: 1213-1216. (2012) Kameyama M, Chuma T, Yokoi T, Yabata J, Tominaga K, Miyasako D, Iwata H, and Okamoto K.

〔学会発表〕(計 7 件)

1) 中馬猛久、野尻彩歌、永松大和、安藤匡子 プロイラー由来サルモネラから検出された薬剤耐性遺伝子保有プラスミドの特徴と分布, 第 87 回日本細菌学会, 2014 年. 船堀ホール 東京.

2) 野尻彩歌、永松大和、中馬猛久 プロイラー由来サルモネラにおける薬剤耐性獲得とプラスミドの関係, 第 156 回日本獣医学会, 2013 年. 岐阜大学 岐阜.

3) 亀山光博、中馬猛久、矢端順子、富永潔、岩田祐之、岡本嘉六 プロイラー農場における ESBL、AmpC 型 β -ラクタマーゼ産生大腸菌の分布, 第 155 回日本獣医学会, 2013 年. 東京大学 東京.

4) Francis Shahada、中馬猛久、小杉岳童、楠本正博、岩田剛敏、秋庭正人 プロイラーから分離されたサルモネラと大腸菌における広域セファロスポリン耐性因子の分布, 第 154 回日本獣医学会, 2012 年. 岩手大学 盛岡.

5) 中馬猛久、宮迫大輔、Hesham Dahshan、横井智毅、仲本佑子、岡本嘉六 プロイラーから分離された *Salmonella Infantis* の薬剤感受性と β ラクタマーゼ産生型の推移, 第 153 回日本獣医学会, 2012 年. 大宮ソニックシティ 大宮.

6) 3rd ASM Conference on antimicrobial resistance in zoonotic bacteria and foodborne pathogens in animals, humans, and the environment. T. Chuma, D. Miyasako, H. Dahshan, T. Takayama, Y. Nakamoto, F. Shahada, M. Akiba, K. Okamoto. Chronological change of resistance to β -lactams in *Salmonella enterica* serovar *Infantis* isolated from broilers in Japan. Aix-en Provence, France. June 26, 2012.

7) 3rd ASM Conference on antimicrobial resistance in zoonotic bacteria and foodborne pathogens in animals, humans, and the environment. Distribution of extended-spectrum cephalosporin resistance determinants of Salmonella enterica and Escherichia coli isolated from broilers in southern Japan. F. Shahada, G. Kosugi, M. Kusumoto, T. Iwata, T. Chuma, M. Akiba Aix-en Provence, France. June 26, 2012.

6 . 研究組織

(1)研究代表者

中馬 猛久 (CHUMA Takehisa)
鹿児島大学・共同獣医学部・教授
研究者番号：90201631

(2)研究分担者

岡本 嘉六 (OKAMOTO Karoku)
鹿児島大学・共同獣医学部・教授
研究者番号：00136847