

安全な農畜水産物安定供給のための包括的レギュラトリーサイエンス研究推進委託事業

「抗菌剤の使用による薬剤耐性発現の実態調査手法の開発」

令和4年度 最終年度報告書

課題番号 (e-Radシステム課題ID)	18065045
課題名 (契約課題名)	抗菌剤の使用による薬剤耐性発現の実態調査手法の開発

研究実施期間	平成30年度～令和4年度 (5年間)
代表機関	国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門
研究総括者	木嶋 伸行
研究総括者 連絡先	TEL : 029-838-8028
	FAX : 029-838-8028
	E-mail : nkijima@affrc.go.jp
共同研究機関	国立大学法人 九州大学大学院農学研究院
	合同会社 アグアイッシュ

<別紙様式3>最終年度報告書

1 研究目的

各種細菌性感染症の治療に抗菌剤が用いられてきたが、それら薬剤に対する耐性菌の出現はヒトへの大きな脅威となることが懸念され、関係分野での実態把握や対応策が講じられている。既に医療分野、畜産、水産分野ではそれらの実態把握やその対策への動きがある。農業生産環境においても生産性確保という観点から植物病害防除を目的とした様々な抗菌剤が用いられており、その一部はヒト感染症への適用例がある。農業分野では病害防除という観点から耐性菌の出現については検討が進められているが、ヒトの健康害との関連について検討されていない。

このため、本研究では、農薬として農業生産環境に投入される抗菌剤のうち、ヒト感染症への適用例のあるオキシテトラサイクリン（OTC）およびストレプトマイシン（SM）を対象に研究を実施した。

1. オキシテトラサイクリン耐性菌の研究
2. ストレプトマイシン耐性菌の研究

上記2課題の実施により、対象抗菌剤を農薬として農業生産環境に投入することでヒトの健康害に繋がる耐性菌の出現の可能性を把握すると共に、対象薬剤存在下で特異的に出現する細菌の選抜を行い、農業生産環境の影響評価のための指標菌としての利用とその手法開発を目標とした。

その結果、下記2点を見いだした。

1. OTC剤を農薬として農業生産環境に投入した場合であっても、ヒトへの感染性を示す細菌が増加する傾向は認められなかった。一方、植物体からは *Curtobacterium*属細菌が土壌環境からは *Burkholderia*属細菌が特異的に出現した。
2. SM剤を農薬として農業生産環境に投入した場合であっても、ヒトへの感染性を示す細菌が増加する傾向は認められなかった。一方、植物体からは *Curtobacterium*属細菌、土壌環境からは *Burkholderia*属細菌および *Paenibacillus*属細菌が特異的に出現した。

ここで得られた結果はヒトの健康害との関係に主眼を置き、37°Cで培養可能な細菌を対象としたもので、抗菌剤を農薬として利用することが直接ヒトの健康害に繋がる可能性は低いと考えられる。その一方で、抗菌剤の利用により、特異的に出現する細菌の存在が明らかとなり、農薬としての抗菌剤の利用が農業生産環境に生息する細菌群に少なからず影響を与えていると考えられる。特に土壌環境においては抗菌剤の利用の有無にかかわらず薬剤耐性菌が存在することから、農業生産環境では薬剤耐性因子が細菌間でやりとりされている可能性が考えられる。そのため農薬として抗菌剤を利用することがこれまで薬剤耐性因子を有しなかった細菌に対する薬剤耐性因子の伝播との関係を明らかにすることが重要と考えられる。

2 研究内容

(1) 研究課題

1) 抗菌剤の使用による薬剤耐性発現の実態調査手法の開発（木嶋伸行・農研機構）

本課題では農薬として生産環境に投入される抗生物質のうち、ヒト感染症への適用例のあるオキシテトラサイクリン（OTC）およびストレプトマイシン（SM）を対象に該当薬剤を含む農薬の投入と該当薬剤に対する耐性能発現の関係を示す、指標菌の選抜を行う。該当薬剤はいずれも天然物であることから、これらを農薬として投入していない環境であっても様々な耐性能を有する細菌が生残すると考えられる。そのため、環境中に潜在的に存在する耐性菌と薬剤投入によって出現した耐性菌とを明確に分ける必要がある。本提案では生育温度が環境微生物に比べ高い細菌群を対象にOTCおよびSMに対する耐性菌のスクリーニングを行い、検出手順の簡便性などから指標性の高い耐性菌の選抜を行う。また、有望菌種を対象に検出手順の確立を行い、実ほ場における手法の性能確認を行う。

(ア) オキシテトラサイクリン耐性発現の研究

植物体および土壌をオキシテトラサイクリン耐性菌のスクリーニングを行い、指標菌としてグラム陽性菌3菌種およびグラム陰性菌3菌種の選抜を行うとともに、これらの検出手法を確立する。手法の有効性は実ほ場における実証試験を通じ行う。研究期間は初年度（平成30年度）から4年度目（令和3年度）とする。

(イ) ストレプトマイシン耐性発現の研究

植物体および土壌をストレプトマイシン耐性菌のスクリーニングを行い、指標菌としてグラム陽性菌3菌種およびグラム陰性菌3菌種の選抜を行うとともに、これらの検出手法を確立する。手法の有効性は実ほ場における実証試験を通じ行う。研究期間は3年度目（令和2年度）から最終年度（令和4年度）とする。

(2) 達成目標

オキシテトラサイクリン（OTC）およびストレプトマイシン（SM）を農薬として農業生産環境に投入することが農業生産環境における同薬剤に対する耐性能の発現に寄与するか否かを評価するための手法開発として、OTCおよびSMの投入を反映する指標菌をそれぞれグラム陽性菌3菌種およびグラム陰性菌3菌種を選抜し、それらの検出方法を確立する。

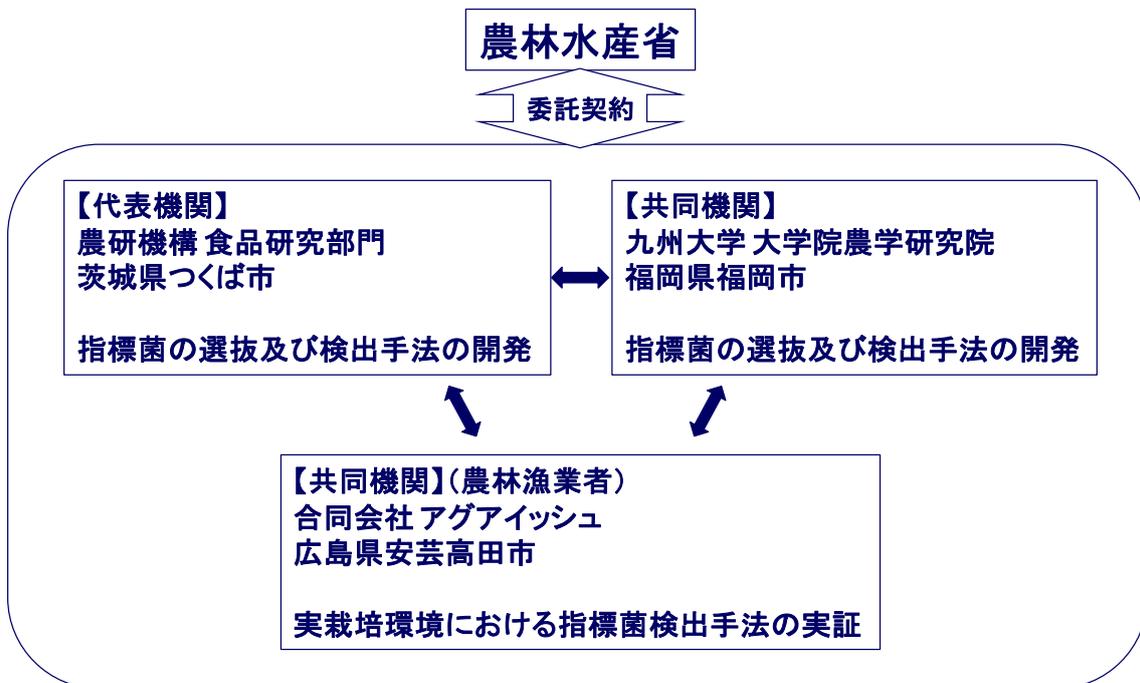
(3) 研究開発された成果の取扱い

本課題では抗菌剤を農薬として用いることで起こりうる影響を把握するために対象薬剤に対するヒトへの感染性を示す耐性菌の分離に加え、影響評価に繋がる指標菌の選抜を実施した。まず、前者については今後様々な場面（生産環境）で実施する場合は、本課題の実施内容を基に進めることが可能と考えられる。また、指標菌については該当薬剤の現状（有無や程度）を定量的に把握することはできないが、直近の利用の有無であれば把握できるものと思われる。また、検出手法については自治体の農業試験場等での実施を想定し、寒天培地を用いた培養法とPCR法を用いた特定遺伝子配列の検出とした。尚、特定遺伝子の配列情報等については既知の情報であるため、知財として特段の注意は不要である。

(4) 年次計画

研究課題	研究年度				
	H30	H31	R2	R3	R4
1 オキシテトラサイクリン耐性発現の研究	指標菌の選抜		検出手法の確立	開発手法の実証	
2 ストレプトマイシン耐性発現の研究		指標菌の選抜	検出手法の確立	開発手法の実証	

(5) 研究体制



(6) 実施体制

研究項目	担当研究機関・研究室		研究担当者	エフォート (%)
	機関	研究室		
研究開発責任者	農研機構 食品研究部門	食品流通・安全研究領域	◎木嶋伸行	20
1 オキシテトラサイクリン耐性発現の研究				
(1) 指標菌の選抜	農研機構 野菜花き研究部門 九州大学	野菜生産システム研究領域 食品衛生化学	木嶋伸行 本城賢一	前出 20
(2) 検出手法の確立	農研機構 野菜花き研究部門 九州大学	野菜生産システム研究領域 食品衛生化学	木嶋伸行 本城賢一	前出 前出
(3) 開発手法の実証	農研機構 野菜花き研究部門、食品研究部門 九州大学 アグアイッシュ	野菜生産システム研究領域、食品流通・安全研究領域 食品衛生化学	木嶋伸行 本城賢一 石井孝昭	前出 前出 20
2 ストレプトマイシン耐性発現の研究				
(1) 指標菌の選抜	農研機構 野菜花き研究部門、食品研究部門 九州大学	野菜生産システム研究領域、食品流通・安全研究領域 食品衛生化学	木嶋伸行 本城賢一	前出 前出
(2) 検出手法の開発	農研機構 食品研究部門 九州大学	食品流通・安全研究領域 食品衛生化学	木嶋伸行 本城賢一	前出 前出
(3) 開発手法の実証	農研機構食品研究部門 九州大学 アグアイッシュ	食品流通・安全研究領域 食品衛生化学	木嶋伸行 本城賢一 石井孝昭	前出 前出 前出

(注1) 研究総括者には◎、小課題責任者には○、実行課題責任者には△を付すこと。

(7) 各年度の研究費

平成30年度	7,000,000円
平成31年度/令和元年度	6,150,000円
令和2年度	5,351,000円
令和3年度	4,655,000円
令和4年度	4,189,000円

3 研究成果の概要

(1) 主な成果

1) 成果の内容

栽培段階で農薬として用いられる様々な抗菌剤のうち、ヒト感染症への適用例のあるオキシテトラサイクリン (OTC) およびストレプトマイシン (SM) を農作物または土壌に作用させると、OTC 投入下では *Curtobacterium* 属細菌および *Burkholderia* 属細菌のうち6菌種が特異性を示した。SM 投入下では *Curtobacterium* 属細菌、*Burkholderia* 属細菌および *Paenibacillus* 属細菌が特異的に出現した。また、農薬としての投入レベルではヒトへの感染性を示す細菌や耐性菌が増加する傾向は認められなかった。

2) 成果の活用

室内実験ならびに実証試験を通じ、農業生産環境において OTC 剤投入条件では1属のグラム陽性菌と6種のグラム陰性菌を、SM 剤投入条件では2属のグラム陽性菌と1属のグラム陰性菌を指標菌として選抜した。それぞれの細菌は培養法と PCR 法を組み合わせることで検出が可能である。

(2) 各研究課題の成果

1) 小課題名：オキシテトラサイクリン耐性発現の研究

(ア) 研究目標

農業生産段階におけるオキシテトラサイクリン (OTC) を含む農薬の使用とヒトの健康害に繋がる可能性のある耐性菌出現の関係を明らかにする評価のための指標菌の候補株を選抜する。

(イ) 研究内容

植物体と農耕地土壌を対象にオキシテトラサイクリン (OTC) 存在下で特異的に出現する細菌 (群) の選抜を行うため、植物体としてジャガイモ (種イモ)、タマネギ、レタスを、土壌として栽培履歴の異なる農耕地の土壌 (3点) を対象にした。

種イモは植え付け前年度にオキシテトラサイクリンを含む薬剤で消毒処理をすることから、消毒処理を施したジャガイモの表面と未処理のジャガイモの表面から細菌を分離した。

栽培履歴の異なる農耕地土壌として新潟県 (2カ所) および福岡県 (1カ所) を対象に OTC 存在下で集積培養を行い、OTC 存在下および非存在下の試料からそれぞれ細菌を分離した。また、分離の際には対象試料に OTC 耐性菌がどの程度存在するのかを把握するため、寒天培地に OTC (40 mg/L) を添加した培地も用いた。細菌の分離は 37°C で実施し、寒天培地に試料を塗布し、48 時間培養後に出現したコロニーを対象に解析を行った。

分離菌株の 16S ribosomal RNA 領域 (16S 領域) の配列を決定し、分離菌の分類を行った。

(ウ) 研究結果

植物体を対象にした研究では、OTC による消毒処理の有無に係わらずジャガイモ表面から

はOTCを含むR2A培地上（選択条件）では2 Log CFU/g程度であった。R2A培地上（非選択条件）では消毒処理の有無にかかわらず4 Log CFU/g程度の細菌を確認した。それぞれの試料から分離した細菌の16S領域の配列情報から選択条件ではOTC剤による消毒処理後の種イモと無処理の種イモ表面の種イモに差異は認められなかったが、非選択条件では処理後の種イモ表面で*Curtobacterium*属細菌が特異的に出現することを見いだした。実証試験として、慣行栽培のレタスおよびタマネギ、無農薬栽培のレタスから同様の手順で細菌を分離し、それらの性状把握をした結果、OTC剤を農薬として用いた慣行栽培のレタスとタマネギから非選択条件で*Curtobacterium*属細菌が検出されたが、無農薬栽培のレタス試料からは検出されなかった。また、選択条件、非選択条件共に消毒処理後の種イモ表面からヒトへの感染性を示す細菌種は検出されなかった。次に本菌群の検出手法として、大豆等の植物病害としての*Curtobacterium*属細菌の分類に用いられている23S ribosomal RNA領域（23S領域）（Evseev *et al.*, 2022）を対象とした検出手法を、本プロジェクトで得られた菌株に適用したところ、PCR法（Fw: GAAATGGTGTTATGGCCGGAT, Rev: ACGGGTTAACCTCGCCACA）による23S領域の増幅を確認することで、他の細菌との区別が可能であることを確認した。

土壌試料を対象とした検討では栽培履歴の異なる3土壌を対象にOTC存在下で集積培養を行い、OTCを含むR2A培地上（選択条件）で細菌の分離を行った。分離した細菌の16S領域の配列情報から集積培養後の土壌からヒトへの感染性を示す細菌は確認されず、*Burkholderia*属細菌がOTC存在下で特異的に出現することを見いだした。また、耐性遺伝子の解析結果からこれらは既知のテトラサイクリン耐性遺伝子（*tet*または*tetR*）（Popowska *et al.* 2012）を有していた。実証試験の結果、選択条件で慣行栽培のタマネギほ場とジャガイモほ場の土壌からは*Burkholderia ambifaria*と*B. stabilis*が特異的に検出された。無農薬栽培土壌からも複数種の*Burkholderia*属細菌が検出されたが、慣行栽培土壌から検出された2菌種は検出されず、*B. aenigmatica*、*B. diffusa*、*B. latens*、*B. vietnamiensis*の異なる4種がOTC非存在試料から特異的に検出された。耐性菌として分離した細菌は既知のテトラサイクリン耐性遺伝子を保有しており、土壌環境へのOTC投入履歴の違いによる差異は認められなかった（表1）。これらの結果から土壌環境ではOTCを含む寒天培地を用いた細菌の検出とそれらの16S領域の配列情報を確認することで該当菌種を特定することが可能と考えられる。

表1. 実証試験ほ場から分離したオキシテトラサイクリン耐性菌のオキシテトラサイクリン耐性遺伝子 (*tet*, *tetR*) の保有状況

菌種	慣行栽培試料				無農薬栽培試料	
	散布		種イモ消毒+散布		レタス①	レタス②
	タマネギ ①	タマネギ ②	ジャガイモ ①	ジャガイモ ②		
<i>Burkholderia aenigmatica</i>					<i>tetR</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>
<i>B. ambifaria</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>		
<i>B. cepacia</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>		<i>tet</i> , <i>tetR</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>
<i>B. contaminans</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>				<i>tet</i> , <i>tetR</i>	<i>tetR</i>
<i>B. diffusa</i>						<i>tet</i> , <i>tetR</i>
<i>B. lata</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>		<i>tet</i> , <i>tetR</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>
<i>B. latens</i>					<i>tet</i> , <i>tetR</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>
<i>B. stabilis</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>		
<i>B. vietnamiensis</i>					<i>tet</i> , <i>tetR</i>	<i>tet</i> , <i>tetR</i>

空欄：該当菌種は不検出

(エ) 研究成果の活用における留意点

特になし。

(オ) 研究目標の達成に当たっての問題点

指標菌の選抜に際してはプロジェクトの募集内容に従い、種レベルでの特定を目指したが、選抜段階で種レベルの共通性を見いだすことはできず、一部は属レベルの選抜となった。

<引用文献>

Evseev P., Lukianova A., Tarakanov R., Tokmakova A., Shneider M., Ignatov A., Miroshnikov K., 2022, *Curtobacterium* spp. and *Curtobacterium flaccumfaciens*: Phylogeny, Genomics-Based Taxonomy, Pathogenicity, and Diagnostics, *Curr. Issues Mol. Biol.* ;44(2):889-927

Popowska M., Rzczycka M., Miernik A., Krawczyk-Balska A., Walsh F., Duffy B., 2012, Influence of soil use on prevalence of tetracycline, streptomycin, and erythromycin resistance and associated resistance genes, *Antimicrob. Agents Chemother.* :56(3): 1434-1443.

2) 小課題名：ストレプトマイシン耐性発現の研究

(ア) 研究目標

農業生産段階におけるストレプトマイシン (SM) を含む農薬の使用とヒトの健康害に繋がる可能性のある耐性菌出現の関係を明らかにする評価のための指標菌の候補株を選抜する。

(イ) 研究内容

植物体と農耕地土壌を対象にストレプトマイシン（SM）存在下で特異的に出現する細菌（群）の選抜を行うため、植物体としてジャガイモ（種イモ）、タマネギ、レタスを、土壌として栽培履歴の異なる農耕地の土壌（4点）を対象にした。

種イモは植え付け前年度にSMを含む薬剤で消毒処理をすることから、消毒処理を施したジャガイモの表面と未処理のジャガイモの表面から細菌を分離した。

栽培履歴の異なる農耕地土壌として新潟県（2カ所）および福岡県（1カ所）を対象にSM存在下で集積培養を行い、SM存在下および非存在下の試料からそれぞれ細菌を分離した。また、分離の際には対象試料にSM耐性菌がどの程度存在するのかを把握するため、寒天培地にSM（40 mg/L）を添加した培地（選択条件）も用いた。細菌の分離は37°Cで実施し、寒天培地に試料を塗布し、48時間培養後に出現したコロニーを対象に解析を行った。

分離菌株の16S ribosomal RNA領域（16S領域）の配列情報から分離菌の分類を行った。

(ウ) 研究結果

植物体を対象にした研究では、SMによる消毒処理の有無に係わらずジャガイモ表面からはSMを含むR2A培地上（選択条件）では検出限界以下で、R2A培地上（非選択条件）では消毒処理の有無に係わらず3 Log CFU/g程度の細菌を確認した。それぞれの試料から非選択条件で分離した細菌の（16S領域）の配列情報からSM剤処理によりヒトへの感染性を示す細菌は確認されなかった。SM剤による消毒処理後の種イモ表面からは非選択条件で *Curtobacterium*属細菌、*Janthinobacterium*属細菌、*Achromobacter*属細菌が特異的に出現した（図1、図2）。実証試験試料とした、慣行栽培タマネギと慣行栽培レタスからは非選択条件で *Curtobacterium*属細菌のみが検出され、無農薬栽培レタスからは上記の3属の細菌は検出されなかった。

これまでに栽培履歴の異なる土壌試料をSM存在下で集積培養を行うことでSM耐性能を有する *Burkholderia*属細菌、*Lysinibacillus*属細菌、*Paenibacillus*属細菌の3属が特異的に出現することを見いだした。実証試験の結果、慣行栽培土壌からはSM耐性能を有する3属の細菌が、無農薬栽培土壌からは耐性能を有する2属、*Lysinibacillus*属細菌と *Paenibacillus*属細菌が検出された。OTC剤と同様にSM剤の投入によるヒトへの感染性を示す細菌は確認されなかった。慣行栽培環境の土壌試料から分離された細菌の耐性遺伝子の解析から慣行栽培土壌でのみ検出された *Burkholderia*属細菌は多剤排出トランスポーター遺伝子 (*ceoA-ceoB-opcM*または *ceoA-opcM*) を保有していた（表2）。慣行試料と無農薬試料の両方から検出された *Lysinibacillus*属細菌は既知のストレプトマイシン耐性遺伝子 (*strB*) を1種類保有しており、*Paenibacillus*属細菌は慣行試料では2種類のSM耐性遺伝子 (*strA*と *strB*) を無農薬試料では *strB*のみを保有しており、*Burkholderia*属細菌または *Paenibacillus*属細菌がSM存在条件における指標性を示した。これらの結果から土壌環境においてはSMを含む寒天培地を用いた細菌の検出と多剤排出トランスポーター遺伝子 (*ceoA-ceoB-opcM*または *ceoA-opcM*) またはSM耐性遺伝子 (*strA*) の有無を確認することで指標性を示した *Burkholderia*属細菌または *Paenibacillus*属細菌の特定が可能になると考えられる。

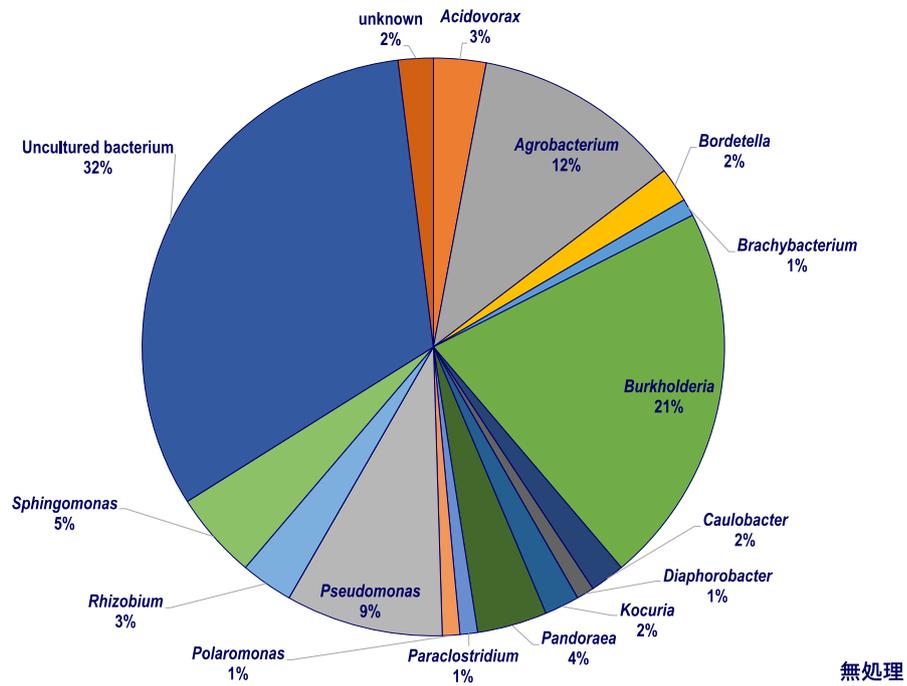


図1 無処理の種イモ表面から非選択条件で分離した細菌の16S ribosomal RNA配列による分類

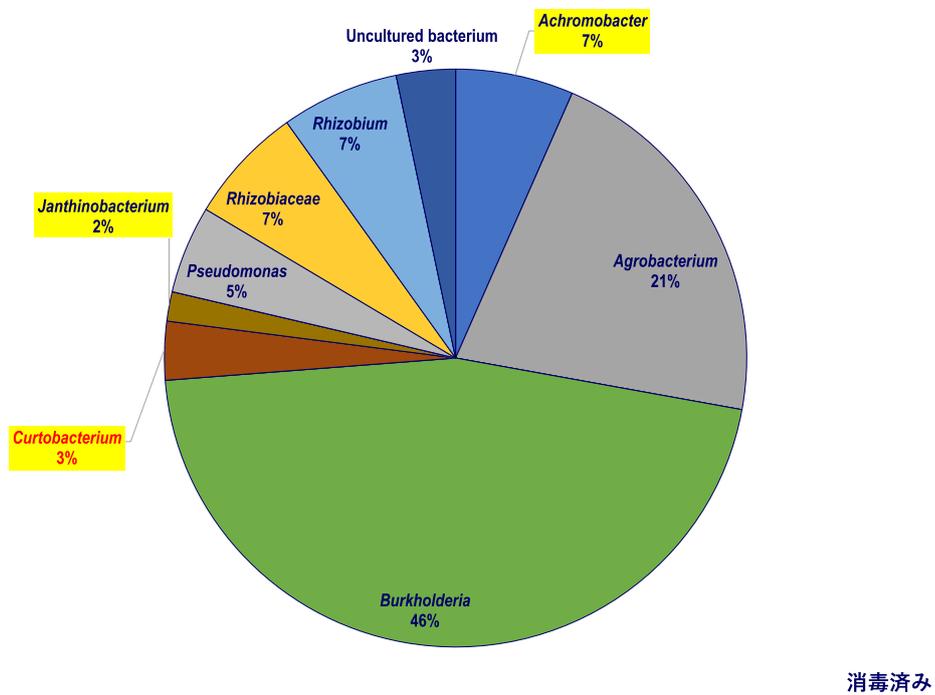


図2 ストレプトマイシン剤による消毒処理をした種イモ表面から非選択条件で分離した細菌の16S ribosomal RNA配列による分類

表2. 実証試験ほ場の土壌より分離した細菌の多剤排出トランスポーター遺伝子 (*ceoA-ceoB-opcM*または*ceoA-opcM*) の保有状況

菌種	慣行栽培試料				無農薬栽培試料	
	散布		種イモ消毒+散布		レタス①	レタス②
	タマネギ ①	タマネギ ②	ジャガイモ ①	ジャガイモ ②		
<i>Burkholderia ambifaria</i>	<i>ceoA</i> , <i>opcM</i>	<i>ceoA</i> , <i>opcM</i>	<i>ceoA</i> , <i>ceoB</i> , <i>opcM</i>			
<i>B. cepacia</i>	<i>ceoA</i> , <i>ceoB</i> , <i>opcM</i>	<i>ceoA</i> , <i>ceoB</i> , <i>opcM</i>				
<i>B. contaminans</i>	<i>ceoA</i> , <i>ceoB</i> , <i>opcM</i>					
<i>B. diffusa</i>		<i>ceoA</i> , <i>ceoB</i> , <i>opcM</i>				
<i>B. lata</i>	<i>ceoA</i> , <i>ceoB</i> , <i>opcM</i>	<i>ceoA</i> , <i>ceoB</i> , <i>opcM</i>				
<i>B. pyrrocinia</i>		<i>ceoA</i> , <i>opcM</i>				
<i>B. stabilis</i>	<i>ceoA</i> , <i>opcM</i>	<i>ceoA</i> , <i>ceoB</i> , <i>opcM</i>				

空欄：該当菌種は不検出

表3. 実証試験ほ場の土壌より分離した細菌のストレプトマイシン耐性遺伝子(*strA*または*strB*)の保有状況

菌種	慣行栽培試料				無農薬栽培試料	
	散布		種イモ消毒+散布		レタス①	レタス②
	タマネギ ①	タマネギ ②	ジャガイモ ①	ジャガイモ ②		
<i>Lysinibacillus boronitolerans</i>			-	<i>strB</i>		
<i>L. cavernae</i>						<i>strB</i>
<i>L. fusiformis</i>				<i>strB</i>	<i>strB</i>	<i>strB</i>
<i>L. macroides</i>						<i>strB</i>
<i>L. mangiferihumi</i>					<i>strB</i>	
<i>L. pakistanensis</i>			<i>strB</i>		<i>strB</i>	<i>strB</i>
<i>L. sphaericus</i>	-					<i>strB</i>
<i>L. xylanilyticus</i>					<i>strB</i>	<i>strB</i>
<i>Paenibacillus amylolyticus</i>			<i>strB</i>	-		<i>strB</i>
<i>P. barcinonensis</i>						<i>strB</i>
<i>P. cucumis</i>				<i>strA, strB</i>		
<i>P. dongdonensis</i>						
<i>P. etheri</i>		-	<i>strA, strB</i>	<i>strA, strB</i>	<i>strB</i>	
<i>P. helianthi</i>				<i>strA, strB</i>		<i>strB</i>
<i>P. mobilis</i>			<i>strB</i>	-		<i>strB</i>
<i>P. odorifer</i>	-		<i>strA, strB</i>	-	<i>strB</i>	<i>strB</i>
<i>P. pabuli</i>	-		<i>strB</i>		<i>strB</i>	
<i>P. polysaccharolyticus</i>			<i>strA, strB</i>	<i>strA, strB</i>		<i>strB</i>
<i>P. purispatii</i>			<i>strB</i>			
<i>P. riograndensis</i>					<i>strB</i>	
<i>P. seodonensis</i>					<i>strB</i>	<i>strB</i>
<i>P. silagei</i>	-					
<i>P. silvae</i>			-	<i>strB</i>	<i>strB</i>	<i>strB</i>
<i>P. sonchi</i>				-	<i>strB</i>	
<i>P. taichungensis</i>	-		<i>strB</i>	-	<i>strB</i>	<i>strB</i>
<i>P. taohuashanense</i>	-			<i>strB</i>		
<i>P. tundrae</i>			<i>strA, strB</i>	-		<i>strB</i>
<i>P. zeisoli</i>				<i>strB</i>	-	

空欄：該当菌種は不検出、-：該当菌種は検出されたが対象遺伝子是不検出

(エ) 研究成果の活用における留意点

植物体を対象にした場合、*Curtobacterium*属細菌がOTC投入下およびSM投入下の両方で

指標性を示したため、*Curtobacterium*属細菌を検出しても投入薬剤の種類については言及できない。

(オ) 研究目標の達成に当たっての問題点

指標菌の選抜に際してはプロジェクトの募集内容に従い、種レベルでの特定を目指したが、選抜段階で種レベルの共通性を見いだすことはできなかったため、属レベルの選抜を行った。

<引用文献>

Nair B.M., Cheung Jr.K.J., Griffith A., Burns, J.L., 2004, Salicylate induces an antibiotic efflux pump in *Burkholderia cepacia* complex genomovar III (*B. cenocepacia*), J. Clin. Invest. :113 :464-473.

Popowska M., Rzeczycka M., Miernik A., Krawczyk-Balska A., Walsh F., Duffy B., 2012, Influence of soil use on prevalence of tetracycline, streptomycin, and erythromycin resistance and associated resistance genes, Antimicrob. Agents Chemother. :56(3): 1434-1443.

4 研究成果の発表

別添のとおり。

5 研究期間中に生じた問題、今後の課題等

記載した内容はヒトの健康害との関係に主眼を置き、37°Cで培養可能な細菌を対象としたもので、抗菌剤を農薬として利用することが直接ヒトの健康害に繋がる可能性は低いと考えられる。その一方で、抗菌剤の利用により、特異的に出現する細菌の存在が明らかとなり、農薬としての抗菌剤の利用が農業生産環境に生息する細菌群に少なからず影響を与えていると考えられる。特に土壌環境においては抗菌剤の利用の有無にかかわらず薬剤耐性菌が存在することから、農業生産環境では薬剤耐性因子が細菌間でやりとりされている可能性が考えられる。そのため農薬として抗菌剤を利用することがこれまで薬剤耐性因子を有しなかった細菌に対する薬剤耐性因子の伝播との関係や農業生産物の消費（喫食）を通じ、腸内細菌等への伝播の可能性を明らかにすることが重要と考えられる。