

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）

（分担）研究報告書

分担研究課題 「環境中の薬剤耐性のヒト感染症へのリスク評価」

研究分担者： 金森 肇 東北大学大学院医学系研究科 総合感染症学分野・准教授

研究要旨

薬剤耐性ワンヘルスの観点から下水中の薬剤耐性の実態調査を行い、ヒトの薬剤耐性への影響を理解する必要がある。令和 5 年度の本分担研究では、病院・市中下水から分離されたカルバペネマーゼ産生 *Enterobacter* 属菌のゲノム解析を継続し、遺伝的多様性、潜在的な伝播メカニズムを明らかにした。市中排水や、大学病院や小児病院における臨床と病院下水の ESBL-E や CPE 等臨床的に重要な薬剤耐性菌のゲノム解析を実施した。また、マルチプレックス・ハイブリッドキャプチャー法による病院排水中の薬剤耐性遺伝子のモニタリングは、従来のメタゲノム法と比較し、*bla*_{CTX-M} や *bla*_{IMP} 等の感染対策上重要な薬剤耐性遺伝子の検出に有用と考えられた。日本の環境中の薬剤耐性に関するエビデンスが不十分なことから、下水中の薬剤耐性の調査法を確立し、下水中の薬剤耐性のヒト感染症のリスクを明らかにする必要がある。

研究協力者：

馬場 啓聡	東北大学病院 総合感染症科 助教
渡部 徹	山形大学 農学部 教授
西山 正晃	山形大学 農学部 准教授
黒田 誠	国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター センター長

A. 研究目的

病院における薬剤耐性対策は喫緊の課題であると同時に、排出される病院下水は環境中の薬剤耐性菌のリザーバーとなり、環境への薬剤耐性の拡散が懸念される。医療施設で問題となる薬剤耐性菌は成人と小児患者で異なっているが、日本の病院下水中の薬剤耐性調査は十分に行われていない。環境中の薬剤耐性の実態を把握するため、成人と小児患者由来の病院下水の薬剤耐性調査を実施していく必要がある。

本分担研究では、成人患者および病院下水から分離されたカルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌 (*carbapenemase-producing Enterobacterales*; CPE) のゲノム解析を継続した。成人患者の病院下水中の薬剤耐性遺伝子 (ARG) について、メタゲノム法

(mDNA-seq) 及びマルチプレックス・ハイブリッドキャプチャー法 (xHYB) を用いた薬剤耐性の解析を継続した。また、小児患者および病院下水から分離された基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ産生腸内細菌目細菌 (*extended spectrum β lactamase-producing Enterobacterales*; ESBL-E) について調査した。さらに、日本の下水中の薬剤耐性の調査方法に関する文献レビューを実施した。令和 5 年度では、以下の研究を行った。

- 1) 病院・市中下水由来のカルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌のゲノム解析
- 2) 病院・市中下水由来のカルバペネム耐性グラム陰性桿菌のゲノム解析
- 3) 成人患者の病院下水における xHYB を用いた網羅的 ARG 検出
- 4) 小児患者と病院下水由来の ESBL 産生腸内細菌目細菌の検出

B. 研究方法

1. 病院・市中下水由来のカルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌のゲノム解析

次世代シーケンサー (Illumina MiSeq) を用いた病院・市中下水の CPE 分離株のうち、最も多く検出された *Enterobacter* 属菌のゲノム解析を AREScloud(Ares Genetics, Vienna, Austria)で実施した。

2. 病院・市中下水由来のカルバペネム耐性グラム陰性桿菌のゲノム解析

大学病院の排水及び同地域の下水処理場流入水を隔月で採水し、サンプルを選択培地 CHROMagar mSuperCARBA 上で培養した。培地上に得られたコロニーについて MALDI-TOF MS で菌種同定を行い、検出された *Pseudomonas aeruginosa*、*Acinetobacter baumannii* complex 及び *Aeromonas hydrophila/caviae* に対し、PCR 法によるカルバペネマーゼ遺伝子 *bla*_{IMP}、*bla*_{GES}、*bla*_{NDM}、*bla*_{KPC}、*bla*_{VIM}、*bla*_{OXA-48} の検出を行った。カルバペネマーゼ陽性株について、次世代シーケンサー (Illumina MiSeq) で全ゲノム配列を決定し、Ridom SeqSphere+ソフトウェア (Ridom GmbH, Münster, Germany) を用いて、塩基配列情報に基づく菌種同定・薬剤耐性遺伝子検出を行った (Jünemann)。

3. 成人患者の病院下水における xHYB を用いた網羅的 ARG 検出

大学病院排水から、データベース上の ARG を対象に mDNA-seq (Strange) 及び xHYB (Beaudry) による検出を行い、それぞれの Reads per kilobase of gene per million (RPKM) を算出した。同期間の排水中の *bla*_{CTX-M}、*bla*_{IMP}、*mecA*、*vanA* 及び *vanB* の RPKM 値の月別推移と、ESBL 及びメタロβラクタマーゼ (MBL) 産生菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) 及びバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) 検出患者数

の月別推移を比較した。

4. 小児患者と病院下水由来の ESBL 産生腸内細菌目細菌の検出

2023 年 6 月～12 月の 6 ヶ月間に、こども病院の 3 棟の病棟それぞれに由来する排水を月一回ずつ採水し、サンプルを薬剤耐性菌選択培地 (CHROMagar™ ESBL・mSuperCARBA・MDRP・MDRA・VRE) 上で培養した (Nishiyama)。培地上に得られたコロニーのうち、色や形状の異なるものを最大 6 個選択し、MALDI-TOF MS による菌種同定を行った。また、同期間にこども病院で臨床分離された ESBL 産生腸内細菌目細菌 (ESBL-E)、カルバペネム耐性腸内細菌目細菌 (CRE)、多剤耐性緑膿菌 (MDRP)、多剤耐性アシネトバクター (MDRA) 及びバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) を収集した。

検出された ESBL-E 及び CRE に対し、Cica genus® ESBL genotype detection kit 2 及び Carbapenemase genotype detection kit 2 (Kanto Chemical CO., Inc., Tokyo, Japan) を用いて、PCR による *bla*_{CTX-M-1}、*bla*_{CTX-M-2}、*bla*_{CTX-M-8}、*bla*_{CTX-M-9}、*bla*_{CTX-M-25}、*bla*_{CTX-M-64}、*bla*_{TEM}、*bla*_{SHV}、*bla*_{IMP-1}、*bla*_{IMP-6}、*bla*_{KPC}、*bla*_{NDM}、*bla*_{VIM}、*bla*_{OXA-48} 及び *bla*_{GES} の各薬剤耐性遺伝子のスクリーニングを行った。

(倫理面への配慮)

本研究内容に関して東北大学大学院医学系研究科倫理委員会にて審査を受け、承認された。微生物ゲノムデータの取り扱いに関しては、セキュリティ対策を実施して、研究を行った。

C. 研究結果

1. 病院・市中下水由来のカルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌のゲノム解析

カルバペネマーゼ産生 *Enterobacter* 属菌 21 株は、*E. asburiae* (n=2)、*E. cloacae* (n=5)、*E. hormaechei* (n=1)、*E. kobei* (n=4)、*E. ludwigii* (n=1)、*E. roggkampii* (n=2) and

Enterobacter sp. E20 (n=5)に分類された (図 1)。プラスミド解析により、*Enterobacter* 属菌 6 株において、IMP-cassette (*intI1* – *bla_{IMP-1}* – *aac(6′)-IIc* – *sul1*) を認めた (図 2)。

2. 病院・市中下水由来のカルバペネム耐性グラム陰性桿菌のゲノム解析

研究期間内に、病院排水及び市中排水中から、*P. aeruginosa* 12 株、*A. baumannii* complex 153 株及び *A. hydrophilalaviae* 38 株の計 203 株を検出した (表 1)。検出株数は、9 月が 34 株と最も多く、2 月が 3 株と最も少なかった。検出株の中で、*P. aeruginosa* 1 株、*A. baumannii* complex 1 株及び *A. hydrophilalaviae* 14 株の計 16 株が、PCR でカルバペネマーゼ遺伝子が陽性となった。

全ゲノム配列解析によって、*A. baumannii* complex 1 株は、*A. baumannii* と同定された。計 14 株の *A. hydrophilalaviae* のうち 10 株 (71%) が *A. taiwanensis*、2 株 (14%) が *A. caviae*、1 株 (7%) が *A. hydrophila*、1 株 (7%) が *A. veirionii* と同定された (図 3)。また、計 16 株のカルバペネマーゼ遺伝子陽性株から、5 種類のカルバペネマーゼ遺伝子及び 2 種類のコリスチン耐性遺伝子を含む計 41 の薬剤耐性遺伝子が検出された (図 3)。*P. aeruginosa* 1 株はカルバペネマーゼ遺伝子 *bla_{IMP-1}* を、*A. baumannii* 1 株は *bla_{OXA-69}* をそれぞれ保有していた。*A. taiwanensis* は 10 株全てがカルバペネマーゼ遺伝子 *bla_{GES-24}* を保有し、*A. caviae* 2 株中 1 株は *bla_{GES-5}* を、1 株は *bla_{GES}* を保有していた。*A. hydrophila* 1 株及び *A. veirionii* 1 株はそれぞれカルバペネマーゼ遺伝子 *cphA* を保有していた。また、*A. caviae* 1 株及び *A. veirionii* 1 株はコリスチン耐性遺伝子 *mcr-5.1* 及び *mcr-3.3* を保有していた。

3. 成人患者の病院下水における xHYB を用いた網羅的 ARG 検出

xHYB によって検出された ARG の平均 RPKM 値は、mDNA-seq と比較し著明に高

かった (それぞれ 665,225 及び 328、 $p < 0.05$) (図 4)。検出された *bla_{CTX-M}*、*bla_{TEM}*、*bla_{IMP}*、*bla_{VIM}*、*mcr*、*qnrS*、*aac(6′)-Ib*、*aph*、*ermB* 及び *ermF*、*tetM*、*sul1* 及び *sul2*、*mecA*、*vanA* 及び *vanB* の、mDNA-seq 及び xHYB による RPKM 値を表 2 に示す。ESBL 遺伝子としては *bla_{CTX-M}* 及び *bla_{TEM}* がそれぞれ xHYB では 1,330 及び 9,120 検出されたが、mDNAseq では 1 及び 1 のみ検出された。カルバペネマーゼ遺伝子としては *bla_{IMP}* 及び *bla_{VIM}* がそれぞれ 6,173 及び 224 検出されたが、mDNAseq では *bla_{IMP}* が 4 のみ検出され、*bla_{VIM}* は検出されなかった。xHYB で検出された *bla_{CTX-M}* の中では、本邦で臨床検体からの検出頻度の高い *bla_{CTX-M-1}* 及び *bla_{CTX-M-9}* グループ (Bevan、Masui) がそれぞれ 556 及び 765 と、5、3 及び 1 検出された *bla_{CTX-M-2}*、*bla_{CTX-M-8}* 及び *bla_{CTX-M-19}* グループに比べ有意に多く検出された ($p < 0.05$)。 *bla_{IMP}* の中では、本邦で臨床検体からの検出頻度の高い *bla_{IMP-1}* グループ (Yamamoto) が 6,130 と、6、6、16 及び 15 検出された *bla_{IMP-2}*、*bla_{IMP-5}*、*bla_{IMP-11}* 及び *bla_{IMP-31}* グループに比べ有意に多く検出された ($p < 0.05$)。 *mcr* 遺伝子は xHYB によってのみ検出され、*mcr-5* グループの平均 RPKM 値は、*mcr-3*、*mcr-7*、*mcr-9* 及び *mcr-10* グループの平均 RPKM 値よりも有意に高かった (660 対 62、6、26 及び 20、 $p < 0.05$)。

2020 年の ESBL 産生菌検出患者数及び *bla_{CTX-M-1}* の RPKM 値はそれぞれ月平均 17 例及び 921 で、2019 年の 13 例及び 232 からそれぞれ著明に増加していた ($p < 0.05$) (図 5)。MBL 産生菌検出患者数は月平均 1 例であり、月平均 17 例であった ESBL 産生菌検出患者数より有意に少なかった ($p < 0.05$)。一方、*bla_{IMP}* の RPKM 値は月平均 6,163 と、月平均 1,327 検出された *bla_{CTX-M}* と比較し有意に多かった ($p < 0.05$)。MRSA 検出患者は、ESBL 産生菌検出患者より有意に多かったが (月平均 28 患者対 14 患者、 $p < 0.05$)、排水中の *mecA* 遺伝子の RPKM 値は *bla_{CTX-M}* に比べ有意に少なかった (月平均 6 対 1,327、 $p < 0.05$)。研究期間内に VRE は入院患者から検出されなかったが、排水中からは *vanB*

遺伝子が RPKM 値で月平均 126 検出された。

4. 小児患者と病院下水由来の ESBL 産生腸内細菌目細菌の検出

研究期間内に、こども病院排水中から、47 株の ESBL-E 及び 6 株の CRE を含む計 184 株を検出した (表 3)。検出した ESBL-E のうち、計 24 株の *Escherichia coli* 菌株中 *bla*_{CTX-M-1} 保有株が 9 株、*bla*_{CTX-M-2} 保有株が 1 株及び *bla*_{CTX-M-9} 保有株が 12 株あり、計 14 株の *Klebsiella pneumoniae* 菌株全てが *bla*_{SHV} を保有していた (表 3、図 6)。検出した CRE のうち、*Citrobacter freundii* 2 株が *bla*_{IMP-1} を保有していた。研究期間内に、こども病院の臨床検体から、*bla*_{CTX-M-1} 保有株 3 株、*bla*_{CTX-M-9} 保有株 5 株の計 8 株の ESBL 産生 *E. coli* が検出された。研究期間内に、こども病院排水及び臨床検体から MDRP・MDRA・VRE は検出されなかった。

D. 考察

1. 病院・市中下水由来のカルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌のゲノム解析

病院・市中下水由来のカルバペネマーゼ産生 *Enterobacter* 属菌のゲノム解析により、*Enterobacter* 属菌の遺伝的多様性、共有されている薬剤耐性遺伝子カセットの存在、潜在的な伝播メカニズムを明らかにした。今回の研究結果は、下水分離株の間で薬剤耐性遺伝子が *Enterobacter* 属菌間で伝播したことが示唆された。ゲノム疫学の視点で下水中の薬剤耐性モニタリングが重要と考えられた。

2. 病院・市中下水由来のカルバペネム耐性グラム陰性桿菌のゲノム解析

カルバペネマーゼ産生菌選択培地による病院・市中排水中のカルバペネマーゼ産生菌のスクリーニング及びゲノム解析によって、排水中における臨床的に重要なカルバペネマーゼ産生菌の存在が明らかになった。検出菌のうち *A. taiwanensis* は、2010 年に台湾において熱傷患者の創部より初めて検出されたが

(Alperi)、その後はメキシコ (Otero-Olarrá) やインド (Nanda) の土壌や環境水、イスラエルの胃腸炎患者の下痢便からの検出 (Senderovich) が散発的に報告されている程度であり、日本における検出は今回が初である。また、*bla*_{GES-24} 保有 *A. taiwanensis* については今回が初の報告である。今回の研究によってカルバペネマーゼ産生菌の環境中への伝播拡散が示唆されたため、注意が必要である。

3. 成人患者の病院下水における xHYB を用いた網羅的 ARG 検出

大学病院排水からの ARG 検出において xHYB は、*bla*_{CTX-M} や *bla*_{IMP}、*mcr*、*mecA* 及び *vanB* を含む、従来の mDNA-seq ではほとんど検出できなかった、臨床的に重要な ARG を高感度に検出できた。排水中の *bla*_{CTX-M-1} の RPKM 値は、病院内における ESBL 産生菌検出患者数の増加に並行して増加していた。一方、研究期間中に MBL 産生菌検出患者数は月平均 1 例と少なかったが、排水中には *bla*_{CTX-M} を大きく上回る RPKM 値の *bla*_{IMP} が検出されていた。xHYB による病院排水中の ARG のモニタリングは、従来の mDNA-seq と比較し、*bla*_{CTX-M} や *bla*_{IMP} 等の感染対策上重要な ARG の検出に有用であるとともに、病院内における薬剤耐性菌の伝播拡散の理解と把握に重要であると考えられた。

4. 小児患者と病院下水由来の ESBL 産生腸内細菌目細菌の検出

こども病院排水中から、臨床的に重要な *bla*_{CTX-M-27} を保有する *E. coli* や、*bla*_{IMP-1} を保有する CRE を含む多様な薬剤耐性菌が検出されたことで、薬剤耐性菌の環境中への伝播拡散が示唆された。

E. 結論

令和 5 年度の本分担研究において、培養法を用いて市中排水や、大学病院や小児病院における臨床と病院下水の ESBL-E や CPE 等臨床的に重要な薬剤耐性菌のゲノム解析を実

施した。また、xHYB による病院排水中の ARG のモニタリングは、従来の mDNA-seq と比較し、*bla*_{CTX-M} や *bla*_{IMP} 等の感染対策上重要な ARG の検出に有用と考えられた。本研究班の研究結果から、下水中の AMR モニタリングの実施は、市中や臨床における AMR の伝播拡散の状況を把握することにつながる。今後、下水中の薬剤耐性の調査法を確立し、下水中の薬剤耐性のヒト感染症のリスクを明らかにする必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

学会発表

1. 金森肇. シンポジウム 2 「AMR 対策と新アクションプラン 2023-2027」AMR 対策とワンヘルス. 第 72 回日本感染症学会 東日本地方会学術集会 第 70 回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会, 東京, 2023 年 10 月
2. 金森肇. 薬剤耐性ワンヘルス：環境からのアプローチ. 第 26 回日本臨床腸内微生物学会総会・学術集会, 横浜, 2023 年 9 月
3. 馬場啓聡, 黒田誠, 関塚剛史, 金森肇. マルチプレックス・ハイブリッドキャプチャー法による病院排水中の薬剤耐性遺伝子の検出. 第 38 回日本環境感染学会・学術集会, 横浜, 2023 年 7 月
4. Baba H, Kuroda M, Sekizuka T, Kanamori H. Deep detection of antimicrobial resistance genes in hospital wastewater using the multiplex hybrid capture method. IDWEEK 2023, October 11-15, 2023, Boston, MA, US.

論文発表

1. Baba H, Kuroda M, Sekizuka T, Kanamori H. Highly sensitive detection of antimicrobial resistance

genes in hospital wastewater using the multiplex hybrid capture target enrichment. *mSphere*. 2023 Aug 24;8(4):e0010023. doi: 10.1128/msphere.00100-23.

その他発表

1. 薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2023. (4)環境.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

【参考文献】

- Jünemann S, Sedlazeck FJ, Prior K, Albersmeier A, John U, Kalinowski J, Mellmann A, Goesmann A, von Haeseler A, Stoye J, Harmsen D. Updating benchtop sequencing performance comparison. *Nat Biotechnol* 2013;31:294-6.
- Strange JES, Leekitcharoenphon P, Møller FD, Aarestrup FM. Metagenomics analysis of bacteriophages and antimicrobial resistance from global urban sewage. *Sci Rep* 2021; 11:1600.
- Beaudry MS, Wang J, Kieran TJ, Thomas J, Bayona-Vásquez NJ, Gao B, Devault A, Brunelle B, Lu K, Wang J-S, Rhodes OE, Glenn TC. Improved Microbial Community Characterization of 16S rRNA via Metagenome Hybridization Capture Enrichment. *Front Microbiol* 2021; 12:644662.
- Nishiyama M, Praise S, Tsurumaki K, Baba H, Kanamori H, Watanabe T. Prevalence of Antibiotic-Resistant Bacteria ESKAPE among Healthy People Estimated by Monitoring of Municipal Wastewater. *Antibiotics (Basel)* 2021;10:495.

Jolley KA, Maiden MC. BIGSdb: Scalable analysis of bacterial genome variation at the population level. *BMC Bioinformatics* 2010;11:595.

Alperi A, Martínez-Murcia AJ, Ko WC, Monera A, Saavedra MJ, Figueras MJ. *Aeromonas taiwanensis* sp. nov. and *Aeromonas sanarellii* sp. nov., clinical species from Taiwan. *Int J Syst Evol Microbiol* 2010;60:2048-2055.

Otero-Olarra JE, Curiel-Quesada E, Baltazar-Cruz J, Aguilera-Arreola MG, Pérez-Valdespino A. Low Cassette Variability in Class 2 and Class 1 Integrons of *Aeromonas* spp. Isolated from Environmental Samples. *Microb Drug Resist* 2020;26:794-801.

Nanda T, Sharma D. First report of isolation of *Aeromonas taiwanensis* from India. *New Microbes New Infect* 2020;36:100721.

Senderovich Y, Ken-Dror S, Vainblat I, Blau D, Izhaki I, Halpern M. A molecular study on the prevalence and virulence potential of *Aeromonas* spp. recovered from patients suffering from diarrhea in Israel. *PLoS One* 2012;7:e30070.

表 1. 病院・市中排水中のカルバペネマーゼ産生グラム陰性桿菌の月別検出数

		2019											2020		Total
		Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	
<i>P. aeruginosa</i>	WWTP	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	5	0	11
	HW	0	0	0	0	0	0	1 (1)	0	0	0	0	0	0	1 (1)
<i>A. baumannii</i>	WWTP	1	9	19	12	13	12	13	18	11	15	13 (1)	9	4	149 (1)
	HW	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	4
<i>Aeromonas spp.</i>	WWTP	0	1 (1)	1	1	0	3	1	14 (4)	3 (1)	8 (6)	3 (2)	0	0	35 (14)
	HW	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	3

() 内の数字は、カルバペネマーゼ遺伝子検出株の数を表す。

WWTP：下水処理場流入水（市中排水）、HW：病院排水

表 2. 検出された *bla*_{CTX-M}、*bla*_{TEM}、*bla*_{AMP}、*bla*_{VIM}、*mcr*、*qnrS*、*aac(6)-Ib*、*aph*、*ermB* 及び *ermF*、*tetM*、*sul1* 及び *sul2*、*mecA*、*vanA* 及び *vanB* の、mDNA-seq 及び xHYB による平均 RPKM 値

Gene	Group	AMROTU ID	Gene list	Average RPKM value	
				mDNA-Seq	xHYB
<i>bla</i> _{CTX-M}	Total			1	1,330
	<i>bla</i> _{CTX-M-1}	AMROTU_507	<i>bla</i> _{CTX-M-1} , <i>bla</i> _{CTX-M-3} , <i>bla</i> _{CTX-M-10} , <i>bla</i> _{CTX-M-12} , <i>bla</i> _{CTX-M-22} , <i>bla</i> _{CTX-M-23} , <i>bla</i> _{CTX-M-28} , <i>bla</i> _{CTX-M-29} , <i>bla</i> _{CTX-M-30} , <i>bla</i> _{CTX-M-32} , <i>bla</i> _{CTX-M-33} , <i>bla</i> _{CTX-M-34} , <i>bla</i> _{CTX-M-36} , <i>bla</i> _{CTX-M-37} , <i>bla</i> _{CTX-M-42} , <i>bla</i> _{CTX-M-52} , <i>bla</i> _{CTX-M-53} , <i>bla</i> _{CTX-M-54} , <i>bla</i> _{CTX-M-55} , <i>bla</i> _{CTX-M-58} , <i>bla</i> _{CTX-M-60} , <i>bla</i> _{CTX-M-61} , <i>bla</i> _{CTX-M-62} , <i>bla</i> _{CTX-M-66} , <i>bla</i> _{CTX-M-68} , <i>bla</i> _{CTX-M-69} , <i>bla</i> _{CTX-M-71} , <i>bla</i> _{CTX-M-72} , <i>bla</i> _{CTX-M-79} , <i>bla</i> _{CTX-M-80} , <i>bla</i> _{CTX-M-82} , <i>bla</i> _{CTX-M-88} , <i>bla</i> _{CTX-M-96} , <i>bla</i> _{CTX-M-101} , <i>bla</i> _{CTX-M-103} , <i>bla</i> _{CTX-M-104} , <i>bla</i> _{CTX-M-114} , <i>bla</i> _{CTX-M-116} , <i>bla</i> _{CTX-M-117} , <i>bla</i> _{CTX-M-127} , <i>bla</i> _{CTX-M-136} , <i>bla</i> _{CTX-M-138} , <i>bla</i> _{CTX-M-139} , <i>bla</i> _{CTX-M-142} , <i>bla</i> _{CTX-M-143} , <i>bla</i> _{CTX-M-144} , <i>bla</i> _{CTX-M-146} , <i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>bla</i> _{CTX-M-150} , <i>bla</i> _{CTX-M-154} , <i>bla</i> _{CTX-M-155} , <i>bla</i> _{CTX-M-156} , <i>bla</i> _{CTX-M-157} , <i>bla</i> _{CTX-M-158} , <i>bla</i> _{CTX-M-162} , <i>bla</i> _{CTX-M-163} , <i>bla</i> _{CTX-M-164} , <i>bla</i> _{CTX-M-166} , <i>bla</i> _{CTX-M-167} , <i>bla</i> _{CTX-M-169} , <i>bla</i> _{CTX-M-170} , <i>bla</i> _{CTX-M-172} , <i>bla</i> _{CTX-M-173} , <i>bla</i> _{CTX-M-175} , <i>bla</i> _{CTX-M-176} , <i>bla</i> _{CTX-M-177} , <i>bla</i> _{CTX-M-178} , <i>bla</i> _{CTX-M-179} , <i>bla</i> _{CTX-M-180} , <i>bla</i> _{CTX-M-181} , <i>bla</i> _{CTX-M-182} , <i>bla</i> _{CTX-M-183} , <i>bla</i> _{CTX-M-184} , <i>bla</i> _{CTX-M-186} , <i>bla</i> _{CTX-M-187} , <i>bla</i> _{CTX-M-188} , <i>bla</i> _{CTX-M-189} , <i>bla</i> _{CTX-M-190} , <i>bla</i> _{CTX-M-193} , <i>bla</i> _{CTX-M-194} , <i>bla</i> _{CTX-M-197} , <i>bla</i> _{CTX-M-202} , <i>bla</i> _{CTX-M-203} , <i>bla</i> _{CTX-M-204} , <i>bla</i> _{CTX-M-206} , <i>bla</i> _{CTX-M-207} , <i>bla</i> _{CTX-M-208} , <i>bla</i> _{CTX-M-209} , <i>bla</i> _{CTX-M-210} , <i>bla</i> _{CTX-M-211} , <i>bla</i> _{CTX-M-212} , <i>bla</i> _{CTX-M-216} , <i>bla</i> _{CTX-M-218} , <i>bla</i> _{CTX-M-22} , <i>bla</i> _{CTX-M-220} , <i>bla</i> _{CTX-M-222} , <i>bla</i> _{CTX-M-224} , <i>bla</i> _{CTX-M-225} , <i>bla</i> _{CTX-M-226} , <i>bla</i> _{CTX-M-227} , <i>bla</i> _{CTX-M-228} , <i>bla</i> _{CTX-M-23} , <i>bla</i> _{CTX-M-230} , <i>bla</i> _{CTX-M-231} , <i>bla</i> _{CTX-M-232} , <i>bla</i> _{CTX-M-236} , <i>bla</i> _{CTX-M-}	0	556

			237, <i>bla</i> _{CTX-M-238} , <i>bla</i> _{CTX-M-244} , <i>bla</i> _{CTX-M-245} , <i>bla</i> _{CTX-M-246} , <i>bla</i> _{CTX-M-251}		
<i>bla</i> _{CTX-M-2}	AMROTU_539		<i>bla</i> _{CTX-M-2} , <i>bla</i> _{CTX-M-4} , <i>bla</i> _{CTX-M-5} , <i>bla</i> _{CTX-M-6} , <i>bla</i> _{CTX-M-7} , <i>bla</i> _{CTX-M-20} , <i>bla</i> _{CTX-M-31} , <i>bla</i> _{CTX-M-35} , <i>bla</i> _{CTX-M-43} , <i>bla</i> _{CTX-M-44} , <i>bla</i> _{CTX-M-56} , <i>bla</i> _{CTX-M-59} , <i>bla</i> _{CTX-M-76} , <i>bla</i> _{CTX-M-77} , <i>bla</i> _{CTX-M-92} , <i>bla</i> _{CTX-M-95} , <i>bla</i> _{CTX-M-97} , <i>bla</i> _{CTX-M-115} , <i>bla</i> _{CTX-M-124} , <i>bla</i> _{CTX-M-131} , <i>bla</i> _{CTX-M-141} , <i>bla</i> _{CTX-M-165} , <i>bla</i> _{CTX-M-171} , <i>bla</i> _{CTX-M-200} , <i>bla</i> _{CTX-M-229}	0	5
<i>bla</i> _{CTX-M-8}	AMROTU_542		<i>bla</i> _{CTX-M-8} , <i>bla</i> _{CTX-M-40} , <i>bla</i> _{CTX-M-23}	0	3

	<i>bla</i> _{CTX-M-9}	AMROTU_531	<i>bla</i> _{CTX-M-9} , <i>bla</i> _{CTX-M-13} , <i>bla</i> _{CTX-M-14} , <i>bla</i> _{CTX-M-14b} , <i>bla</i> _{CTX-M-16} , <i>bla</i> _{CTX-M-17} , <i>bla</i> _{CTX-M-19} , <i>bla</i> _{CTX-M-21} , <i>bla</i> _{CTX-M-24} , <i>bla</i> _{CTX-M-27} , <i>bla</i> _{CTX-M-38} , <i>bla</i> _{CTX-M-46} , <i>bla</i> _{CTX-M-47} , <i>bla</i> _{CTX-M-48} , <i>bla</i> _{CTX-M-49} , <i>bla</i> _{CTX-M-50} , <i>bla</i> _{CTX-M-51} , <i>bla</i> _{CTX-M-65} , <i>bla</i> _{CTX-M-67} , <i>bla</i> _{CTX-M-73} , <i>bla</i> _{CTX-M-81} , <i>bla</i> _{CTX-M-83} , <i>bla</i> _{CTX-M-84} , <i>bla</i> _{CTX-M-85} , <i>bla</i> _{CTX-M-86} , <i>bla</i> _{CTX-M-87} , <i>bla</i> _{CTX-M-90} , <i>bla</i> _{CTX-M-93} , <i>bla</i> _{CTX-M-98} , <i>bla</i> _{CTX-M-99} , <i>bla</i> _{CTX-M-102} , <i>bla</i> _{CTX-M-104} , <i>bla</i> _{CTX-M-105} , <i>bla</i> _{CTX-M-110} , <i>bla</i> _{CTX-M-111} , <i>bla</i> _{CTX-M-112} , <i>bla</i> _{CTX-M-113} , <i>bla</i> _{CTX-M-121} , <i>bla</i> _{CTX-M-122} , <i>bla</i> _{CTX-M-125} , <i>bla</i> _{CTX-M-126} , <i>bla</i> _{CTX-M-129} , <i>bla</i> _{CTX-M-130} , <i>bla</i> _{CTX-M-134} , <i>bla</i> _{CTX-M-137} , <i>bla</i> _{CTX-M-140} , <i>bla</i> _{CTX-M-147} , <i>bla</i> _{CTX-M-148} , <i>bla</i> _{CTX-M-159} , <i>bla</i> _{CTX-M-161} , <i>bla</i> _{CTX-M-168} , <i>bla</i> _{CTX-M-174} , <i>bla</i> _{CTX-M-191} , <i>bla</i> _{CTX-M-192} , <i>bla</i> _{CTX-M-195} , <i>bla</i> _{CTX-M-196} , <i>bla</i> _{CTX-M-198} , <i>bla</i> _{CTX-M-201} , <i>bla</i> _{CTX-M-213} , <i>bla</i> _{CTX-M-214} , <i>bla</i> _{CTX-M-215} , <i>bla</i> _{CTX-M-219} , <i>bla</i> _{CTX-M-221} , <i>bla</i> _{CTX-M-223} , <i>bla</i> _{CTX-M-233} , <i>bla</i> _{CTX-M-235} , <i>bla</i> _{CTX-M-239} , <i>bla</i> _{CTX-M-240} , <i>bla</i> _{CTX-M-241} , <i>bla</i> _{CTX-M-242} , <i>bla</i> _{CTX-M-243} , <i>bla</i> _{CTX-M-252}	0	765
	<i>bla</i> _{CTX-M-1/9 hybrids}	AMROTU_540	<i>bla</i> _{CTX-M-64} , <i>bla</i> _{CTX-M-123} , <i>bla</i> _{CTX-M-132} , <i>bla</i> _{CTX-M-153} , <i>bla</i> _{CTX-M-199} , <i>bla</i> _{CTX-M-234}	0	1
<i>bla</i> _{TEM}		AMROTU_584	<i>bla</i> _{TEM-1} , <i>bla</i> _{TEM-1A} , <i>bla</i> _{TEM-1C} , <i>bla</i> _{TEM-1D} , <i>bla</i> _{TEM-2} , <i>bla</i> _{TEM-3} , <i>bla</i> _{TEM-4} , <i>bla</i> _{TEM-5} , <i>bla</i> _{TEM-6} , <i>bla</i> _{TEM-7} , <i>bla</i> _{TEM-8} , <i>bla</i> _{TEM-9} , <i>bla</i> _{TEM-10} , <i>bla</i> _{TEM-11} , <i>bla</i> _{TEM-12} , <i>bla</i> _{TEM-15} , <i>bla</i> _{TEM-16} , <i>bla</i> _{TEM-17} , <i>bla</i> _{TEM-19} , <i>bla</i> _{TEM-20} , <i>bla</i> _{TEM-21} , <i>bla</i> _{TEM-22} , <i>bla</i> _{TEM-24} , <i>bla</i> _{TEM-26} , <i>bla</i> _{TEM-28} , <i>bla</i> _{TEM-29} , <i>bla</i> _{TEM-30} , <i>bla</i> _{TEM-31} , <i>bla</i> _{TEM-32} , <i>bla</i> _{TEM-33} , <i>bla</i> _{TEM-34} , <i>bla</i> _{TEM-35} , <i>bla</i> _{TEM-36} , <i>bla</i> _{TEM-37} , <i>bla</i> _{TEM-39} , <i>bla</i> _{TEM-40} , <i>bla</i> _{TEM-43} , <i>bla</i> _{TEM-45} , <i>bla</i> _{TEM-47} , <i>bla</i> _{TEM-48} , <i>bla</i> _{TEM-49} , <i>bla</i> _{TEM-52} , <i>bla</i> _{TEM-52B} , <i>bla</i> _{TEM-52C} , <i>bla</i> _{TEM-53} , <i>bla</i> _{TEM-54} , <i>bla</i> _{TEM-55} , <i>bla</i> _{TEM-57} , <i>bla</i> _{TEM-60} , <i>bla</i> _{TEM-61} , <i>bla</i> _{TEM-63} , <i>bla</i> _{TEM-67} , <i>bla</i> _{TEM-68} , <i>bla</i> _{TEM-70} , <i>bla</i> _{TEM-71} , <i>bla</i> _{TEM-72} , <i>bla</i> _{TEM-76} , <i>bla</i> _{TEM-77} , <i>bla</i> _{TEM-78} , <i>bla</i> _{TEM-79} , <i>bla</i> _{TEM-80} , <i>bla</i> _{TEM-81} , <i>bla</i> _{TEM-82} , <i>bla</i> _{TEM-83} , <i>bla</i> _{TEM-84} , <i>bla</i> _{TEM-85} , <i>bla</i> _{TEM-86} , <i>bla</i> _{TEM-87} , <i>bla</i> _{TEM-88} , <i>bla</i> _{TEM-90} , <i>bla</i> _{TEM-91} , <i>bla</i> _{TEM-92} , <i>bla</i> _{TEM-93} , <i>bla</i> _{TEM-94} , <i>bla</i> _{TEM-95} , <i>bla</i> _{TEM-96} , <i>bla</i> _{TEM-97} , <i>bla</i> _{TEM-98} , <i>bla</i> _{TEM-99} ,	1	9,120

			<i>bla</i> _{TEM-101} , <i>bla</i> _{TEM-102} , <i>bla</i> _{TEM-103} , <i>bla</i> _{TEM-104} , <i>bla</i> _{TEM-105} , <i>bla</i> _{TEM-106} , <i>bla</i> _{TEM-107} , <i>bla</i> _{TEM-108} , <i>bla</i> _{TEM-109} , <i>bla</i> _{TEM-110} , <i>bla</i> _{TEM-111} , <i>bla</i> _{TEM-112} , <i>bla</i> _{TEM-113} , <i>bla</i> _{TEM-114} , <i>bla</i> _{TEM-115} , <i>bla</i> _{TEM-116} , <i>bla</i> _{TEM-120} , <i>bla</i> _{TEM-121} , <i>bla</i> _{TEM-122} , <i>bla</i> _{TEM-123} , <i>bla</i> _{TEM-124} , <i>bla</i> _{TEM-125} , <i>bla</i> _{TEM-126} , <i>bla</i> _{TEM-127} , <i>bla</i> _{TEM-128} , <i>bla</i> _{TEM-129} , <i>bla</i> _{TEM-130} , <i>bla</i> _{TEM-131} , <i>bla</i> _{TEM-132} , <i>bla</i> _{TEM-133} , <i>bla</i> _{TEM-134} , <i>bla</i> _{TEM-135} , <i>bla</i> _{TEM-136} , <i>bla</i> _{TEM-137} , <i>bla</i> _{TEM-138} , <i>bla</i> _{TEM-139} , <i>bla</i> _{TEM-141} , <i>bla</i> _{TEM-142} , <i>bla</i> _{TEM-143} , <i>bla</i> _{TEM-144} , <i>bla</i> _{TEM-145} , <i>bla</i> _{TEM-146} , <i>bla</i> _{TEM-147} , <i>bla</i> _{TEM-148} , <i>bla</i> _{TEM-149} , <i>bla</i> _{TEM-150} , <i>bla</i> _{TEM-151} , <i>bla</i> _{TEM-152} , <i>bla</i> _{TEM-153} , <i>bla</i> _{TEM-154} , <i>bla</i> _{TEM-155} , <i>bla</i> _{TEM-156} , <i>bla</i> _{TEM-157} , <i>bla</i> _{TEM-158} , <i>bla</i> _{TEM-159} , <i>bla</i> _{TEM-160} , <i>bla</i> _{TEM-162} , <i>bla</i> _{TEM-163} , <i>bla</i> _{TEM-164} , <i>bla</i> _{TEM-166} , <i>bla</i> _{TEM-167} , <i>bla</i> _{TEM-168} , <i>bla</i> _{TEM-169} , <i>bla</i> _{TEM-171} , <i>bla</i> _{TEM-176} , <i>bla</i> _{TEM-177} , <i>bla</i> _{TEM-178} , <i>bla</i> _{TEM-181} , <i>bla</i> _{TEM-182} , <i>bla</i> _{TEM-183} , <i>bla</i> _{TEM-184} , <i>bla</i> _{TEM-185} , <i>bla</i> _{TEM-186} , <i>bla</i> _{TEM-187} , <i>bla</i> _{TEM-188} , <i>bla</i> _{TEM-189} , <i>bla</i> _{TEM-190} , <i>bla</i> _{TEM-191} , <i>bla</i> _{TEM-193} , <i>bla</i> _{TEM-194} , <i>bla</i> _{TEM-195} , <i>bla</i> _{TEM-196} , <i>bla</i> _{TEM-197} , <i>bla</i> _{TEM-198} , <i>bla</i> _{TEM-201} , <i>bla</i> _{TEM-205} , <i>bla</i> _{TEM-206} , <i>bla</i> _{TEM-207} , <i>bla</i> _{TEM-208} , <i>bla</i> _{TEM-209} , <i>bla</i> _{TEM-210} , <i>bla</i> _{TEM-211} , <i>bla</i> _{TEM-212} , <i>bla</i> _{TEM-213} , <i>bla</i> _{TEM-214} , <i>bla</i> _{TEM-215} , <i>bla</i> _{TEM-216} , <i>bla</i> _{TEM-217} , <i>bla</i> _{TEM-219} , <i>bla</i> _{TEM-220} , <i>bla</i> _{TEM-224} , <i>bla</i> _{TEM-225} , <i>bla</i> _{TEM-226} , <i>bla</i> _{TEM-227} , <i>bla</i> _{TEM-228} , <i>bla</i> _{TEM-229} , <i>bla</i> _{TEM-230} , <i>bla</i> _{TEM-231} , <i>bla</i> _{TEM-232} , <i>bla</i> _{TEM-233} , <i>bla</i> _{TEM-234} , <i>bla</i> _{TEM-235} , <i>bla</i> _{TEM-236} , <i>bla</i> _{TEM-237} , <i>bla</i> _{TEM-238} , <i>bla</i> _{TEM-239} , <i>bla</i> _{TEM-240} , <i>bla</i> _{TEM-241} , <i>bla</i> _{TEM-242} , <i>bla</i> _{TEM-243} , <i>bla</i> _{TEM-244} , <i>bla</i> _{TEM-245} , <i>bla</i> _{TEM-246}		
	Total			4	6,173
<i>bla</i> _{IMP}	<i>bla</i> _{IMP-1}	AMROTU_873	<i>bla</i> _{IMP-1} , <i>bla</i> _{IMP-3} , <i>bla</i> _{IMP-6} , <i>bla</i> _{IMP-7} , <i>bla</i> _{IMP-10} , <i>bla</i> _{IMP-25} , <i>bla</i> _{IMP-26} , <i>bla</i> _{IMP-30} , <i>bla</i> _{IMP-34} , <i>bla</i> _{IMP-38} , <i>bla</i> _{IMP-40} , <i>bla</i> _{IMP-42} , <i>bla</i> _{IMP-43} , <i>bla</i> _{IMP-51} , <i>bla</i> _{IMP-52} , <i>bla</i> _{IMP-55} , <i>bla</i> _{IMP-59} , <i>bla</i> _{IMP-60} , <i>bla</i> _{IMP-61} , <i>bla</i> _{IMP-66} , <i>bla</i> _{IMP-70} , <i>bla</i> _{IMP-73} , <i>bla</i> _{IMP-76} , <i>bla</i> _{IMP-77} , <i>bla</i> _{IMP-78} , <i>bla</i> _{IMP-79} , <i>bla</i> _{IMP-80} , <i>bla</i> _{IMP-88} , <i>bla</i> _{IMP-89} , <i>bla</i> _{IMP-94}	4	6,130

	<i>bla</i> _{IMP-2}	AMROTU_864	<i>bla</i> _{IMP-2} , <i>bla</i> _{IMP-8} , <i>bla</i> _{IMP-13} , <i>bla</i> _{IMP-17} , <i>bla</i> _{IMP-19} , <i>bla</i> _{IMP-20} , <i>bla</i> _{IMP-23} , <i>bla</i> _{IMP-24} , <i>bla</i> _{IMP-33} , <i>bla</i> _{IMP-37} , <i>bla</i> _{IMP-39} , <i>bla</i> _{IMP-69} , <i>bla</i> _{IMP-84}	0	6
	<i>bla</i> _{IMP-5}	AMROTU_887	<i>bla</i> _{IMP-5} , <i>bla</i> _{IMP-9} , <i>bla</i> _{IMP-15} , <i>bla</i> _{IMP-28} , <i>bla</i> _{IMP-29} , <i>bla</i> _{IMP-45} , <i>bla</i> _{IMP-53} , <i>bla</i> _{IMP-62} , <i>bla</i> _{IMP-81} , <i>bla</i> _{IMP-82} , <i>bla</i> _{IMP-85}	0	6
	<i>bla</i> _{IMP-11}	AMROTU_876	<i>bla</i> _{IMP-11} , <i>bla</i> _{IMP-16} , <i>bla</i> _{IMP-21} , <i>bla</i> _{IMP-22} , <i>bla</i> _{IMP-41} , <i>bla</i> _{IMP-44} , <i>bla</i> _{IMP-58} , <i>bla</i> _{IMP-68} , <i>bla</i> _{IMP-74} , <i>bla</i> _{IMP-93}	0	16
	<i>bla</i> _{IMP-31}	AMROTU_878	<i>bla</i> _{IMP-31} , <i>bla</i> _{IMP-35} , <i>bla</i> _{IMP-92}	0	15
<i>bla</i> _{VIM}		AMROTU_735	<i>bla</i> _{VIM-1} , <i>bla</i> _{VIM-2} , <i>bla</i> _{VIM-3} , <i>bla</i> _{VIM-4} , <i>bla</i> _{VIM-6} , <i>bla</i> _{VIM-8} , <i>bla</i> _{VIM-9} , <i>bla</i> _{VIM-10} , <i>bla</i> _{VIM-11} , <i>bla</i> _{VIM-12} , <i>bla</i> _{VIM-14} , <i>bla</i> _{VIM-15} , <i>bla</i> _{VIM-16} , <i>bla</i> _{VIM-17} , <i>bla</i> _{VIM-18} , <i>bla</i> _{VIM-19} , <i>bla</i> _{VIM-20} , <i>bla</i> _{VIM-23} , <i>bla</i> _{VIM-24} , <i>bla</i> _{VIM-25} , <i>bla</i> _{VIM-26} , <i>bla</i> _{VIM-27} , <i>bla</i> _{VIM-28} , <i>bla</i> _{VIM-29} , <i>bla</i> _{VIM-30} , <i>bla</i> _{VIM-31} , <i>bla</i> _{VIM-32} , <i>bla</i> _{VIM-33} , <i>bla</i> _{VIM-34} , <i>bla</i> _{VIM-35} , <i>bla</i> _{VIM-36} , <i>bla</i> _{VIM-37} , <i>bla</i> _{VIM-38} , <i>bla</i> _{VIM-39} , <i>bla</i> _{VIM-40} , <i>bla</i> _{VIM-41} , <i>bla</i> _{VIM-42} , <i>bla</i> _{VIM-43} , <i>bla</i> _{VIM-44} , <i>bla</i> _{VIM-45} , <i>bla</i> _{VIM-46} , <i>bla</i> _{VIM-48} , <i>bla</i> _{VIM-50} , <i>bla</i> _{VIM-51} , <i>bla</i> _{VIM-52} , <i>bla</i> _{VIM-53} , <i>bla</i> _{VIM-54} , <i>bla</i> _{VIM-55} , <i>bla</i> _{VIM-56} , <i>bla</i> _{VIM-57} , <i>bla</i> _{VIM-58} , <i>bla</i> _{VIM-59} , <i>bla</i> _{VIM-60} , <i>bla</i> _{VIM-62} , <i>bla</i> _{VIM-63} , <i>bla</i> _{VIM-64} , <i>bla</i> _{VIM-65} , <i>bla</i> _{VIM-66} , <i>bla</i> _{VIM-67} , <i>bla</i> _{VIM-68} , <i>bla</i> _{VIM-70} , <i>bla</i> _{VIM-72} , <i>bla</i> _{VIM-73} , <i>bla</i> _{VIM-74} , <i>bla</i> _{VIM-75} , <i>bla</i> _{VIM-76} , <i>bla</i> _{VIM-77} , <i>bla</i> _{VIM-78} , <i>bla</i> _{VIM-79} , <i>bla</i> _{VIM-80}	0	224
<i>mcr</i>	<i>mcr-3</i>	AMROTU_76	<i>mcr-3.1</i> , <i>mcr-3.10</i> , <i>mcr-3.11</i> , <i>mcr-3.12</i> , <i>mcr-3.13</i> , <i>mcr-3.14</i> , <i>mcr-3.15</i> , <i>mcr-3.16</i> , <i>mcr-3.18</i> , <i>mcr-3.19</i> , <i>mcr-3.2</i> , <i>mcr-3.20</i> , <i>mcr-3.21</i> , <i>mcr-3.22</i> , <i>mcr-3.23</i> , <i>mcr-3.24</i> , <i>mcr-3.25</i> , <i>mcr-3.26</i> , <i>mcr-3.27</i> , <i>mcr-3.28</i> , <i>mcr-3.29</i> , <i>mcr-3.3</i> , <i>mcr-3.31</i> , <i>mcr-3.32</i> , <i>mcr-3.33</i> , <i>mcr-3.34</i> , <i>mcr-3.35</i> , <i>mcr-3.36</i> , <i>mcr-3.37</i> , <i>mcr-3.38</i> , <i>mcr-3.39</i> , <i>mcr-3.4</i> , <i>mcr-3.40</i> , <i>mcr-3.41</i> , <i>mcr-3.5</i> , <i>mcr-3.6</i> , <i>mcr-3.7</i> , <i>mcr-3.8</i> , <i>mcr-3.9</i>	0	62
	<i>mcr-5</i>	AMROTU_72	<i>mcr-5.1</i> , <i>mcr-5.2</i> , <i>mcr-5.3</i> , <i>mcr-5.4</i>	0	660

	<i>mcr-7</i>	AMROTU_83	<i>mcr-7.1</i>	0	6
	<i>mcr-9</i>	AMROTU_84	<i>mcr-9</i>	0	26
	<i>mcr-10</i>	AMROTU_82	<i>mcr-10.1, mcr-10.2, mcr-10.3, mcr-10.4, mcr-10.5</i>	0	20
<i>qnrS</i>	Total			1	1,272
		AMROTU_955	<i>qnrS2, qnrS6</i>	0	704
		AMROTU_954	<i>qnrS1, qnrS3, qnrS4, qnrS5, qnrS7, qnrS8, qnrS9, qnrS10, qnrS11, qnrS12, qnrS13, qnrS14, qnrS15</i>	0	568
<i>aac(6')-Ib</i>		AMROTU_1012	<i>aac(6')-Ib, aac(6')-Ib', aac(6')-Ib3, aac(6')-Ib4, aac(6')-Ib11, aac(6')-Ib-cr, aac(6')-Ib-cr3, aac(6')-Ib-cr4, aac(6')-Ib-cr5, aac(6')-Ib-cr6, aac(6')-Ib-cr7, aac(6')-Ib-cr8, aac(6')-Ib-cr9, aac(6')-Ib-cr10, aac(6')-Ib-cr11, aac(6')Ib-cr, aac(6')-Ib- Hangzhou</i>	30	69,921
<i>aph</i>	Total			20	61,927
		AMROTU_714	<i>aph(3')-Ia</i>	1	20,569
		AMROTU_658	<i>aph(6)-Id</i>	9	19,310
		AMROTU_674	<i>aph(3'')-Ib</i>	9	18,272
		AMROTU_775	<i>aph(3')-IIIa</i>	1	2,692
		AMROTU_813	<i>aph(3')-VI, aph(3')-VIa, aph(3')-VIb</i>	0	577
		AMROTU_716	<i>aph(3')-Ib</i>	0	137

		AMROTU_776	<i>aph(3')-IIa</i>	0	94
		AMROTU_737	<i>aph(3')-IIb</i>	0	79
		AMROTU_739	<i>aph(3')-XV</i>	0	48
		AMROTU_638	<i>aph(6)-Ic</i>	0	37
		AMROTU_478	<i>aph(2'')-If</i>	0	37
		AMROTU_461	<i>aph(2'')-IIa</i>	0	33
		AMROTU_415	<i>aph(2'')-Ig</i>	0	27
		AMROTU_449	<i>aph(2'')-Ie, aph(2'')-IVa</i>	0	7
		AMROTU_414	<i>aph(2'')-IIIa</i>	0	4
		AMROTU_854	<i>aph(3')-VIIa</i>	0	2
		AMROTU_747	<i>aph(3')-IIc</i>	0	2
<i>ermB</i> and <i>ermF</i>	Total			16	18,854
	<i>ermB</i>	AMROTU_764	<i>ermB</i>	5	6,798
	<i>ermF</i>	AMROTU_844	<i>ermF</i>	10	12,056
<i>tetM</i>		AMROTU_44	<i>tetM, tetS/M</i>	1	1,885
<i>sulI</i> and	Total			22	51,788

<i>sul2</i>	<i>sul1</i>	AMROTU_525	<i>sul1</i>	17	42,156
	<i>sul2</i>	AMROTU_622	<i>sul2</i>	4	9,632
<i>mecA</i>		AMROTU_32	<i>mecA, mecA2</i>	0	6
<i>vanB</i>		AMROTU_328	<i>vanB</i>	0	125

表 3. こども病院排水中から検出された薬剤耐性菌

Selective media	Ward	Month						
		Jun	July	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec
CHROMagar ESBL	A	<i>A. Nosocomialis</i> (1) <i>C. gleum</i> (1) <i>A. hydrophila</i> (1)	<i>E. coli</i> (1) <i>C. freundii</i> (1) <i>A. punctata (caviae)</i> (2)		<i>*E. coli [blaCTX-M-1]</i> (1) <i>A. punctata (caviae)</i> (3) <i>Bifidocatreium</i> sp. (1)	<i>*E. coli [blaCTX-M-1]</i> (2) <i>*E. coli [blaCTX-M-9]</i> (1) <i>E. cloacae complex</i> (1) <i>A. baumannii</i> (1) <i>A. seifertii</i> (1)	<i>C. freundii</i> (1) <i>E. cloacae complex</i> (3) <i>P. agglomerans</i> (1)	<i>*E. coli [blaCTX-M-9]</i> (2) <i>E. cloacae complex</i> (1) <i>A. nosocomialis</i> (1) <i>S. maltophilia</i> (1)
	B	<i>E. coli</i> (1)	<i>*E. coli [blaCTX-M-9]</i> (1) <i>K. aerogenes</i> (2)	<i>*E. coli [blaCTX-M-1]</i> (1) <i>*K. pneumoniae [blasiv]</i> (1) <i>A. nosocomialis</i> (1)	<i>*E. coli [blaCTX-M-9]</i> (1) <i>*K. pneumoniae [blasiv]</i> (4) <i>A. hydrophila</i> (1)	<i>*E. coli [blaCTX-M-1]</i> (1) <i>*K. pneumoniae [blasiv]</i> (4) <i>P. putida</i> (1)	<i>*E. coli [blaCTX-M-1]</i> (3) <i>*K. pneumoniae [blasiv]</i> (2) <i>R. ornithinolytica</i> (2)	<i>*E. coli [blaCTX-M-9]</i> (3) <i>*K. pneumoniae [blasiv]</i> (3) <i>R. ornithinolytica</i> (1) <i>A. punctata (caviae)</i> (1)
	C		<i>A. punctata (caviae)</i>	<i>*E. coli [blaCTX-M-1]</i> (1)	<i>*E. coli [blaCTX-M-9]</i> (1) <i>K. oxytoca</i> (1) <i>A. punctata (caviae)</i> (2)	<i>*E. coli [blaCTX-M-2]</i> (1) <i>K. oxytoca</i> (3)	<i>*E. coli [blaCTX-M-9]</i> (3) <i>A. punctata (caviae)</i> (1)	<i>P. aeruginosa</i> (1)
CHROMagar mSuperCARBA	A	<i>*K. pneumoniae [blasiv]</i> (1) <i>A. nosocomialis</i> (1) <i>C. gleum</i> (1)	<i>A. pittii</i> (1) <i>A. hydrophila</i> (1)		<i>A. hydrophila</i> (1) <i>V. disper</i> (1) <i>F. magna</i> (1)		<i>A. hydrophila</i> (1)	<i>C. gleum</i> (1) <i>A. hydrophila</i> (1)
	B	<i>E. coli</i> (1)	<i>A. hydrophila</i> (1)	<i>*C. freundii [blaSHV-1]</i> (2) <i>A. baumannii</i> (1)	<i>E. cloacae complex</i> (2) <i>A. hydrophila</i> (1)	<i>S. maltophilia</i> (1) <i>A. hydrophila</i> (2)	<i>P. putida</i> (1)	<i>A. hydrophila</i> (1) <i>A. punctata (caviae)</i> (1)
	C		<i>A. punctata (caviae)</i> (1)	<i>P. mosselii</i> (1)				
CHROMagar MDRP	A		<i>E. coli</i> (1)			<i>E. coli</i> (1)	<i>O. intermedium</i> (1)	
	B		<i>E. coli</i> (2)				<i>E. coli</i> (1)	<i>E. coli</i> (1)
	C		<i>C. aquatica</i> (1)	<i>E. coli</i> (1)				
CHROMagar MDRA	A	<i>P. aeruginosa</i> (1) <i>C. gleum</i> (1)	<i>C. gleum</i> (2)		<i>P. putida</i> (1) <i>C. gleum</i> (1)	<i>P. putida</i> (1)	<i>C. gleum</i> (2)	<i>P. putida</i> (1) <i>C. gleum</i> (1)
	B		<i>C. gleum</i> (2)	<i>P. putida</i> (1) <i>B. multivorans</i> (1)	<i>P. putida</i> (1) <i>C. gleum</i> (1)	<i>P. putida</i> (1) <i>S. maltophilia</i> (1) <i>C. gleum</i> (2)	<i>S. maltophilia</i> (1) <i>C. gleum</i> (1)	<i>P. putida</i> (1) <i>C. gleum</i> (1)
	C		<i>P. putida</i> (1) <i>E. anophelis</i> (1)	<i>P. putida</i> (1) <i>E. anophelis</i> (2)	<i>P. putida</i> (1)	<i>P. putida</i> (1) <i>C. gleum</i> (1) <i>E. anophelis</i> (1)	<i>C. gleum</i> (1)	<i>P. putida</i> (1) <i>E. anophelis</i> (1)
CHROMagar MRSA	A		<i>E. microcola</i> (1)	<i>B. cereus</i> group (1)	<i>B. cereus</i> group (2)	<i>B. cereus</i> group (2)	<i>B. cereus</i> group (1)	<i>B. cereus</i> group (1)
	B	<i>E. coli</i> (1) <i>P. aeruginosa</i> (1)	<i>E. meningoseptica</i> (1)		<i>S. maltophilia</i> (1)		<i>B. cereus</i> group (1)	<i>B. cereus</i> group (1)
	C				<i>S. haemolyticus</i> (1) <i>B. cereus</i> group (1)	<i>S. aureus</i> (2)		<i>B. cereus</i> group (1)
CHROMagar VRE	A		<i>A. hydrophila</i> (2)		<i>B. contaminans</i> (1)	<i>A. hydrophila</i> (2)		
	B		<i>A. hydrophila</i> (2)	<i>A. hydrophila</i> (3)		<i>A. hydrophila</i> (1)	<i>A. hydrophila</i> (3)	

赤字の株に対し PCR を実施した。() 内の数字は検出数を、[] 内は PCR で検出された遺伝子を示す。
*ESBL 陽性株 **カルバペネマーゼ陽性株

図 1. 病院・市中下水由来のカルバペネマーゼ産生 *Enterobacter* 属菌の系統解析

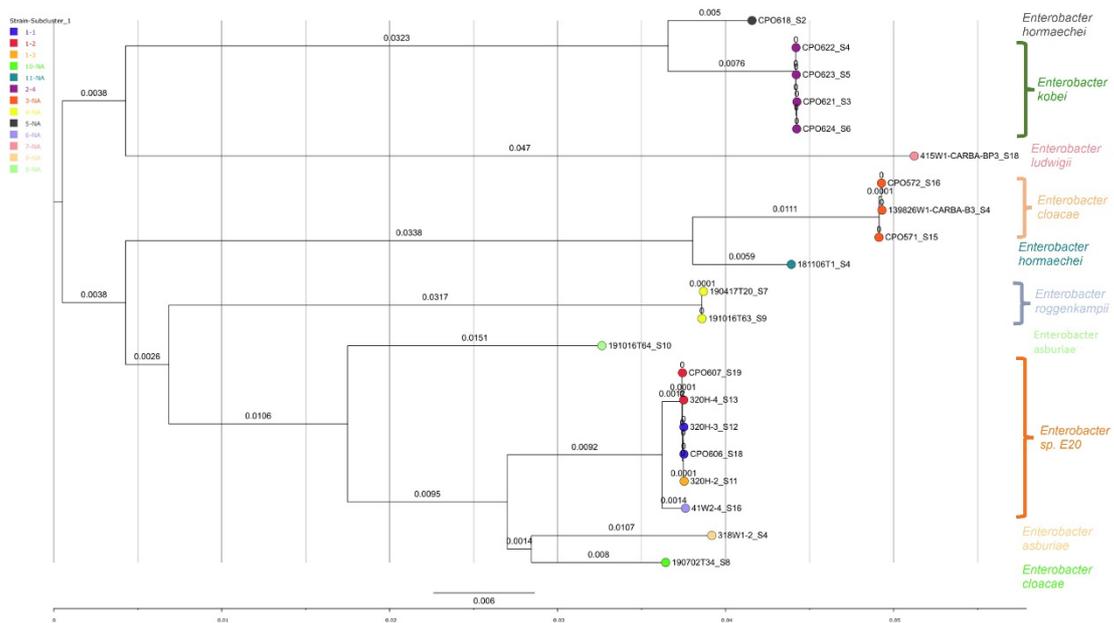


図 2. blaIMP コンティグのプラスミドマッピング

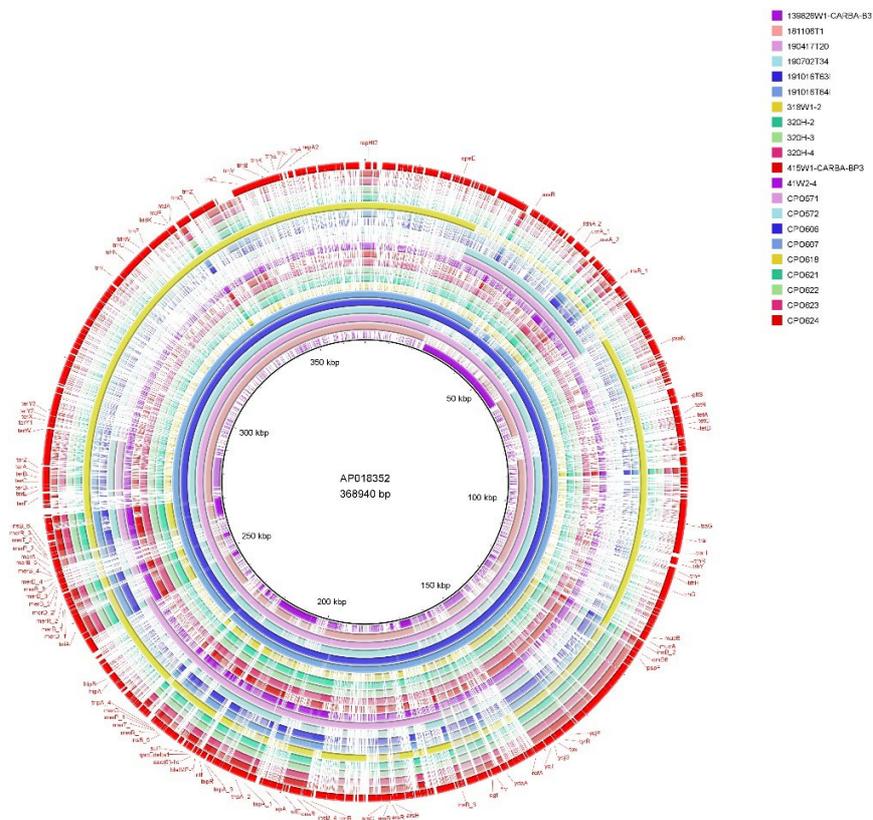


図 4. 検出された薬剤耐性遺伝子それぞれの、mDNA-seq 法及び xHYB 法による RPKM 値の比較

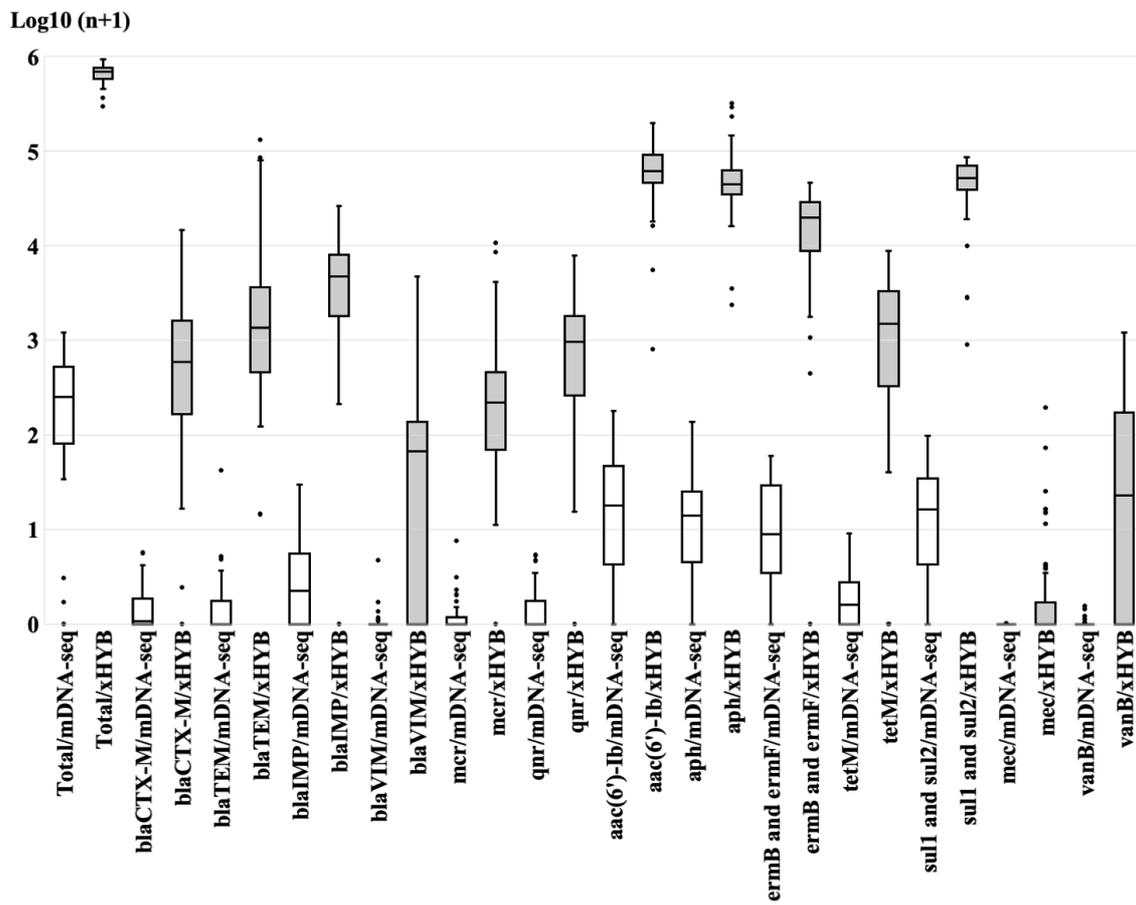


図 5. 病院排水中の *bla*_{CTX-M}、*bla*_{IMP} 及び *mecA* の RPKM 値の月別推移と、基質特異性拡張型 β ラクターマーゼ (ESBL) 及びメタロ β ラクターマーゼ (MBL) 産生菌、及びメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) 検出患者数の月別推移の比較

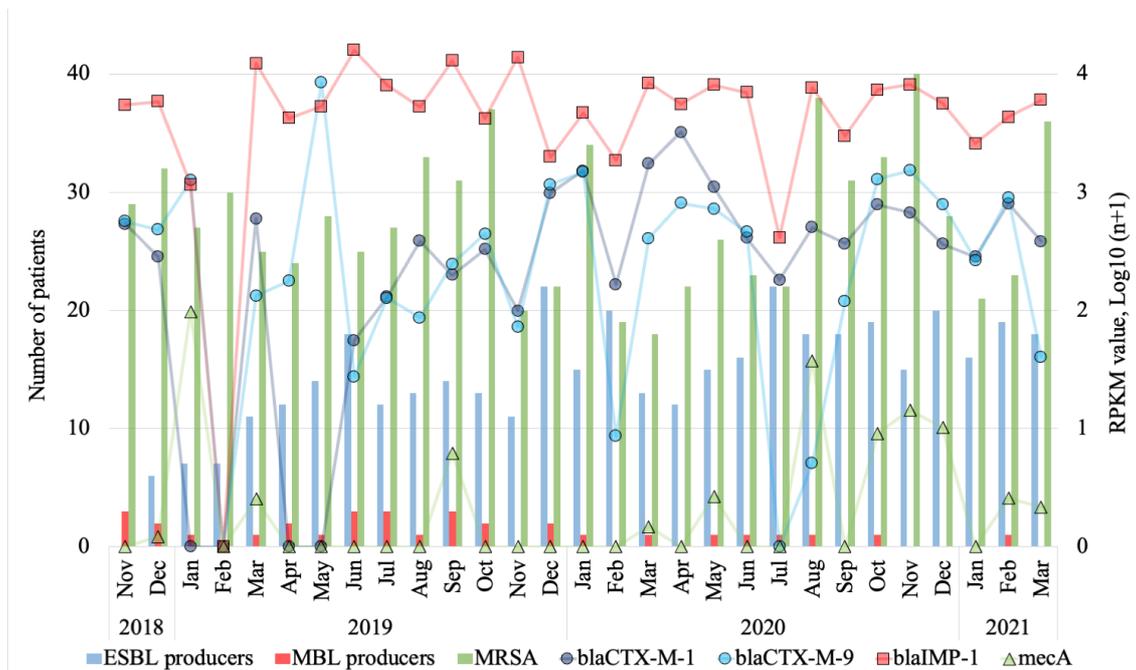
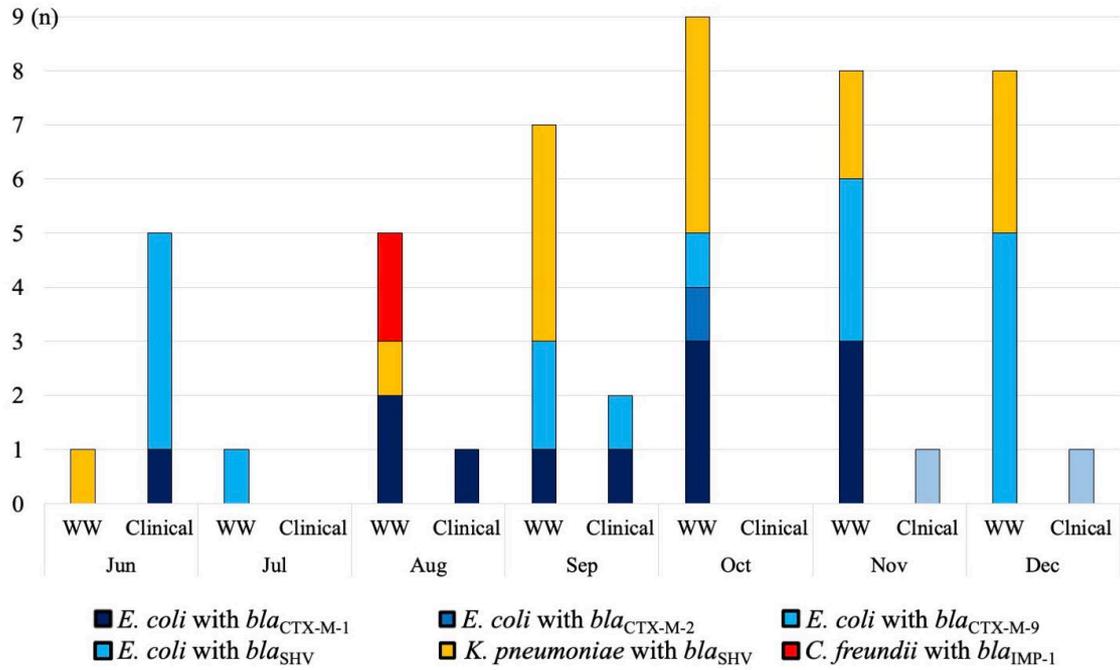


図 6. こども病院排水及び臨床検体由来の ESBL 産生・カルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌の月別検出数の月別検出数



WW : 排水