

Bacteroides fragilis から *Bacteroides thetaiotaomicron* への clindamycin, erythromycin, josamycin および tetracycline 耐性の伝達に関する研究

梅村 厚志・渡辺 邦友・上野 一恵

岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設

(昭和 57 年 4 月 5 日受付)

臨床由来 *Bacteroides fragilis* 25 株から *B. thetaiotaomicron* への clindamycin (CLDM), erythromycin (EM), josamycin (JM) および tetracycline (TC) 耐性の伝達を行ない、次の結果を得た。

1) 24 株の TC, CLDM, EM, JM 耐性株から CLDM, または TC 耐性の伝達のみられたもの、それぞれ 14 株、12 株で計 15 株に耐性伝達のみられた。3 株では CLDM, EM, JM 耐性のみが、1 株では TC 耐性のみが伝達した。11 株ではいずれの耐性にも伝達のみられたが、その内 5 株は全耐性の同時伝達を示し、2 株は TC 耐性と CLDM, EM, JM 3 剤耐性が独立して伝達し、3 株では TC 耐性のみ解離伝達、1 株では CLDM, EM, JM 耐性のみ解離伝達のみられた。9 株ではいずれの耐性伝達も認められなかった。

伝達株 3,180 コロニーの検索で、CLDM, EM, JM 耐性間に解離伝達は認められなかった。

2) CLDM 感受性, EM, JM, TC 耐性の 1 株からは耐性の伝達は認められなかった。

3) 2 株において TC, CLDM, EM それぞれの耐性脱落をエチジウムブロマイド法で試みたが脱落は認められなかった。

Clindamycin (CLDM) は *Bacteroides fragilis* group (*B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus*, *B. distasonis*, *B. ovatus*, *B. uniformis*, *B. eggerthii* の 7 菌種を含む) に対する秀れた抗菌剤の一つであるが、近年特に我が国では臨床材料から分離される *B. fragilis* group の 15~20% は CLDM 耐性株である。また *B. fragilis* group の約 50% は tetracycline (TC) に耐性株である^{1,2)}。

PRIVITERA³⁾ や TALLY⁴⁾ は CLDM 耐性が plasmid によって決定されており、その耐性が *B. fragilis* group 間で伝達することを報告し、また CLDM 耐性因子が菌株により染色体上に存在しているという報告もある⁵⁾。著者らは *B. fragilis* から *B. thetaiotaomicron* への CLDM, erythromycin (EM), josamycin (JM) および TC 耐性の伝達を証明し、その伝達頻度および薬剤耐性パターンについて検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

1) 使用菌株: CLDM, EM, JM および TC の 4 剤耐性菌としては当施設にて臨床材料から分離し保存されている CLDM 15 µg/ml, EM 15 µg/ml, JM 15 µg/ml および TC 6.5 µg/ml 以上に耐性の *B. fragilis* 24 株を用いた。また EM, JM および TC の 3 剤耐性菌としては婦

人科よりの子宮内容物から分離され当施設に保存されている EM 15 µg/ml, JM 15 µg/ml および TC 6.5 µg/ml 以上に耐性で CLDM 15 µg/ml に感受性の *B. fragilis* GAI 1806 株を用いた。

受容菌としては H. WERNER より分与された CLDM 15 µg/ml, EM 15 µg/ml, JM 15 µg/ml および TC 6.5 µg/ml 感受性の *B. thetaiotaomicron* GAI 0449 株の rifampicin (RFP) 耐性突然変異株 *B. thetaiotaomicron* GAI 0449 RFP 株を用いた。

2) 嫌気培養: 嫌気培養はすべてアネロビックチェンバー (Forma 社) 内で行なった。

3) 供試薬剤: 実験に用いた薬剤は CLDM, EM, JM, TC および RFP で、それぞれ力価の明らかなものを用いた。

4) 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定: 日本化学療法学会で推奨する方法に従った⁶⁾。感受性試験用培地には GAM 寒天培地 (ニッスイ) を用い 37°C 24 時間嫌気培養 (N₂ 80%, CO₂ 10%, H₂ 10%) 後に MIC を判定した。

5) 耐性伝達実験: 供与菌 および 受容菌を GAM ブイヨン (ニッスイ) 中で約 4 時間嫌気培養したものを、それぞれ 2.5 ml 混合してミリポアフィルター (Diame-

ter 25 mm, Pore size 0.45 μ m) を通した後, そのフィルターを BHIS 寒天培地 [Brain heart infusion agar (Difco) に 0.5% 酵母エキス, 5 μ g/ml ヘミンを加えて作成した] 上に置き嫌気培養した。この時に使用した供与菌 6 株と受容菌は菌数測定のため, それぞれ 10 倍希釈法で GAM ブイヨンで希釈し, GAM 寒天培地に塗抹し 48 時間培養した。18 時間培養後のフィルター上の菌苔を白金耳でかき取り, 1 ml の GAM ブイヨンに移し, Vortex mixer で攪拌し, 10 倍希釈法で GAM ブイヨンで希釈し, 次のごとく選択培地に塗抹し 48 時間培養した。選択培地は糖分解用 GAM 半流動培地 (ニッスイ)

に寒天を 1.5% になるように加え, さらに 0.2% BTB 溶液 0.5 ml/100 ml, アラビノース 0.5 g/100 ml と以下のごとく抗生剤を加えて作成した。培地にアラビノースを添加した理由は *B. fragilis* と *B. thetaiotaomicron* はアラビノース発酵能が異なり *B. thetaiotaomicron* はアラビノースを発酵するため黄色集落, *B. fragilis* はアラビノースを発酵しないため白色集落を形成するため, 供与菌と受容菌との鑑別に用いた。

- 1) 供与菌数測定のために CLDM 15 μ g/ml を加えた。
- 2) 受容菌数測定のために RFP 25 μ g/ml を加えた。

Table 1 Susceptibility of *B. fragilis* and *B. thetaiotaomicron* against clindamycin, erythromycin, josamycin, and tetracycline

<i>Bacteroides</i>	MIC (μ g/ml)									
	CLDM		EM		JM		TC		RFP	
	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁶
(donor)										
<i>B. fragilis</i>										
GAI 1670	≥ 100	≥ 100	≥ 100	100	50	50	25	25	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 1114	≥ 100	≥ 100	≥ 100	≥ 100	25	25	12.5	3.13	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 1924	≥ 100	≥ 100	100	100	50	50	25	25	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 0753	≥ 100	≥ 100	100	100	50	50	25	25	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 2116	≥ 100	≥ 100	100	100	50	50	25	25	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 1668	≥ 100	≥ 100	≥ 100	100	50	50	25	25	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 1118	≥ 100	≥ 100	≥ 100	≥ 100	50	50	50	25	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 2115	≥ 100	≥ 100	100	100	50	50	25	25	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 0624	≥ 100	≥ 100	≥ 100	100	50	50	25	12.5	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 2330	≥ 100	≥ 100	≥ 100	≥ 100	50	50	12.5	3.13	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 0764	≥ 100	≥ 100	100	100	50	50	25	25	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 0605	≥ 100	≥ 100	50	50	50	50	25	25	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 1213	≥ 100	≥ 100	≥ 100	100	50	50	25	12.5	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 2385	≥ 100	≥ 100	100	100	25	25	25	25	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 0626	≥ 100	≥ 100	100	100	100	50	25	25	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 0554	≥ 100	≥ 100	100	100	≥ 100	≥ 100	25	25	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 1214	≥ 100	≥ 100	100	100	≥ 100	≥ 100	25	25	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 2054	≥ 100	≥ 100	100	100	≥ 100	≥ 100	25	25	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 2138	≥ 100	≥ 100	100	100	≥ 100	≥ 100	25	25	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 2028	≥ 100	≥ 100	100	100	50	50	25	12.5	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 0332	≥ 100	≥ 100	100	100	≥ 100	≥ 100	100	50	0.78	0.39
GAI 1806	≤ 0.20	≤ 0.20	100	100	100	50	50	50	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 2266	≥ 100	≥ 100	100	100	25	25	50	25	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 0758	≥ 100	≥ 100	100	100	50	50	25	25	≤ 0.20	≤ 0.20
GAI 2020	≥ 100	≥ 100	100	100	50	50	25	25	≤ 0.20	≤ 0.20
(recipient)										
<i>B. thetaiotaomicron</i>										
GAI 0449 RFP	3.13	0.39	1.56	0.78	≤ 0.20	≤ 0.20	0.39	≤ 0.20	≥ 100	≥ 100

3) CLDM 耐性伝達株の選択のために CLDM 15 $\mu\text{g/ml}$, RFP 25 $\mu\text{g/ml}$ を加えた。また CLDM 60 $\mu\text{g/ml}$, RFP 25 $\mu\text{g/ml}$ も場合により加えた。

4) TC 耐性伝達株の選択のために TC 6.5 $\mu\text{g/ml}$, RFP 25 $\mu\text{g/ml}$ を加えた。また TC 1.6 $\mu\text{g/ml}$, RFP 25 $\mu\text{g/ml}$ も場合により加えた。

伝達株の耐性型を調べるには、選択培地上に生じたコロニーを滅菌湯子を用い CLDM 15 $\mu\text{g/ml}$, EM 15 $\mu\text{g/ml}$, JM 15 $\mu\text{g/ml}$ および TC 6.5 $\mu\text{g/ml}$ 各々の薬剤含有 GAM 寒天培地と *B. fragilis* group の確認のために gentamicin (GM) 加 GAM 寒天培地 (ニッスイ) およびインドール判定のために Trypticase soy 羊血液寒天培地に画線塗抹し、*B. fragilis* はインドール陰性であるが、*B. thetaiotaomicron* はインドール陽性であるため、供与菌と受容菌との鑑別のために菌株のインドール産生性を paradimethyl aminocinnam aldehyde 溶液を用いる簡便法により確認した。

伝達頻度の算定は選択培地上の黄色集落数を、そのときに接種した培養液量中にある供与菌数で割って行なった。このことによりフィルター上の細菌の回収に伴う誤差を除くことができる。

6) エチジウムブロマイド処理による耐性の脱落：方法は三橋らの方法⁷⁾に従った。PA プロスを GAM ブイヨンで代用し、処理後 GAM 寒天培地上に生育させた集落より滅菌湯子を用いて CLDM 15 $\mu\text{g/ml}$, EM 15 $\mu\text{g/ml}$, TC 6.5 $\mu\text{g/ml}$ 各々の薬剤を含む GAM 寒天培地と GM 加 GAM 寒天培地へ接種し耐性の脱落をみた。

II. 実験成績

1) 使用菌株の薬剤耐性値：使用された CLDM, EM, JM および TC の 4 剤または 3 剤に耐性の *B. fragilis* 25 株の耐性値測定結果を Table 1 に示した。これらの菌を用い受容菌 *B. thetaiotaomicron* GAI 0449 RFP 株に混合培養による耐性伝達を試みると、CLDM, EM および JM 耐性を伝達した株は 14 株、TC 耐性を伝達した株は 12 株で計 15 株に耐性伝達が認められた。残る 10 株には耐性伝達は認められなかった。

2) 耐性伝達の頻度：Table 2 は耐性伝達前の供与菌数および受容菌数と CLDM および TC と RFP により選択したときの耐性伝達頻度を示したものである。*B. fragilis* GAI 1213 株を用いた交配では CLDM 耐性伝達頻度が 10^{-4} ~ 10^{-5} , TC 耐性伝達頻度が 10^{-4} ~ 10^{-6} で CLDM 選択の方が TC 選択のときより 1~5 倍伝達頻度が高かった。これは受容菌の交配菌数を 10^7 から 10^4 まで段階的に変えて行なっても同様であった。また CLDM の選択を 15 $\mu\text{g/ml}$ から 60 $\mu\text{g/ml}$ に変え、TC の選択を 6.5 $\mu\text{g/ml}$ から 1.6 $\mu\text{g/ml}$ に変えても、CLDM

および TC 耐性の伝達頻度に大差はなかった。この場合いずれの薬剤選択でも TC, CLDM 両耐性が殆どの株でみられているから、頻度の差は形質発現の難易によるもので、伝達頻度自身の差とは考えられない。これに対し *B. fragilis* GAI 0605 株と *B. fragilis* GAI 0758 株を用いた交配では CLDM 耐性が 10^{-5} ~ 10^{-6} の頻度で伝達するのに対し、TC 耐性の伝達は 0 で 10^{-2} 以上の伝達頻度の差を認めた。*B. fragilis* GAI 2385 株を用いた交配では CLDM 耐性の伝達は認めなかった。

EM 15 $\mu\text{g/ml}$, JM 15 $\mu\text{g/ml}$ および TC 6.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上に耐性で CLDM 15 $\mu\text{g/ml}$ に感受性の *B. fragilis* GAI 1806 株を用いた交配では TC および EM 耐性は伝達しなかった。

3) 耐性伝達株の薬剤耐性パターン：CLDM または TC で選択されて得られた耐性伝達株について、それぞれ 1 株から 329 株の範囲で CLDM, EM, JM および

Table 2 Transfer frequency of clindamycin and tetracycline resistance from *B. fragilis* to *B. thetaiotaomicron*

Strain used	No. of input cells		Transfer frequency	
	Donor	Recipient	CLDM 15 $\mu\text{g/ml}$	TC 6.5 $\mu\text{g/ml}$
<i>B. fragilis</i> GAI 1213	2.4×10^6	6.6×10^6	1.6×10^{-5}	3.1×10^{-6}
		5.6×10^7	7.0×10^{-5}	2.6×10^{-5}
	3.9×10^6	5.6×10^6	3.5×10^{-5}	3.0×10^{-5}
		5.6×10^5	2.4×10^{-4}	1.8×10^{-4}
	5.6×10^4	5.7×10^{-5}	1.3×10^{-5}	
<i>B. fragilis</i> GAI 0605	2.7×10^7	4.6×10^6	6.7×10^{-7}	0
	1.5×10^7	1.6×10^7	1.4×10^{-5}	NT
<i>B. fragilis</i> GAI 1668	9.1×10^7	6.8×10^6	5.1×10^{-3}	4.2×10^{-8}
<i>B. fragilis</i> GAI 2385	1.5×10^7	6.8×10^6	0	8.9×10^{-9}
<i>B. fragilis</i> GAI 0758	2.3×10^7	6.8×10^6	3.9×10^{-6}	0
			CLDM 60 $\mu\text{g/ml}$	TC 1.6 $\mu\text{g/ml}$
<i>B. fragilis</i> GAI 1213	2.4×10^6	6.6×10^6	1.8×10^{-5}	7.2×10^{-6}
<i>B. fragilis</i> GAI 0605	1.5×10^7	1.6×10^7	1.8×10^{-3}	NT
			EM 15 $\mu\text{g/ml}$	TC 6.5 $\mu\text{g/ml}$
<i>B. fragilis</i> GAI 1806	9.7×10^7	4.6×10^5	0	0

Recipient is *B. thetaiotaomicron* GAI 0449 RFP

Table 3 Resistance pattern of transciipients of *B. thetaiotaomicron* after mating

Donor	Selective drug	Resistance pattern and No. of transciipient			
		Total	TC, CLDM EM, JM	CLDM EM, JM	TC
<i>B. fragilis</i> GAI 1213	CLDM15 μ g/ml	299	297 (99.3%)	2 (0.7%)	
	CLDM15 μ g/ml	150	150 (100%)		
	CLDM60 μ g/ml	161	161 (100%)		
	TC 6.5 μ g/ml	298	256 (85.9%)		42 (14.1%)
	TC 6.5 μ g/ml	29	27 (93.1%)		2 (6.8%)
	TC 1.6 μ g/ml	70	61 (87.1%)		9 (12.9%)
<i>B. fragilis</i> GAI 0605	CLDM15 μ g/ml	299		299 (100%)	
	CLDM15 μ g/ml	329		329 (100%)	
	CLDM60 μ g/ml	295		295 (100%)	
	EM 15 μ g/ml	328		328 (100%)	
<i>B. fragilis</i> GAI 1668	CLDM15 μ g/ml	30	30 (100%)		
	TC 6.5 μ g/ml	23	23 (100%)		
<i>B. fragilis</i> GAI 2385	TC 6.5 μ g/ml	4			4 (100%)
<i>B. fragilis</i> GAI 0758	CLDM15 μ g/ml	298		298 (100%)	
<i>B. fragilis</i> GAI 2330	CLDM15 μ g/ml	6	6 (100%)		
	TC 6.5 μ g/ml	30	3 (10%)		27 (90%)
<i>B. fragilis</i> GAI 2266	CLDM15 μ g/ml	109		109 (100%)	
<i>B. fragilis</i> GAI 0554	TC 6.5 μ g/ml	3	3 (100%)		
<i>B. fragilis</i> GAI 0332	TC 6.5 μ g/ml	78	26 (33%)		52 (67%)
<i>B. fragilis</i> GAI 0626	CLDM15 μ g/ml	2	2 (100%)		
	TC 6.5 μ g/ml	1	1 (100%)		
<i>B. fragilis</i> GAI 1670	CLDM15 μ g/ml	1	1 (100%)		
	TC 6.5 μ g/ml	1	1 (100%)		
<i>B. fragilis</i> GAI 2054	TC 6.5 μ g/ml	1	1 (100%)		
<i>B. fragilis</i> GAI 1114	CLDM15 μ g/ml	22	22 (100%)		
	TC 6.5 μ g/ml	4	2 (50%)		2 (50%)
<i>B. fragilis</i> GAI 0753	CLDM15 μ g/ml	153		153 (100%)	
	TC 6.5 μ g/ml	1			1 (100%)
<i>B. fragilis</i> GAI 0624	CLDM15 μ g/ml	155	2 (1%)	153 (99%)	
Total		3180	1075 (34%)	1966 (62%)	139 (4%)

Recipient is *B. thetaiotaomicron* GAI 0449 RFP

TC それぞれの薬剤含有平板に接種し、伝達した耐性型をみた結果を Table 3 に示した。表より供与菌には以下3種の伝達型が認められた。

(1) CLDM, EM, JM の3剤耐性のみの同時伝達がみられた3株。(2) CLDM, EM, JM および TC の4剤のいずれにも伝達性があった11株。(3) TC のみ伝達性があった1株。さらに第(2)の株には CLDM, EM, JM 3剤か TC の解離伝達のみられたものと、みられないものがあった。なお調べた総計 3,180 コロニーの伝達株において CLDM, EM, JM の3剤耐性間に解離伝達は認められなかった。

4) *B. fragilis* GAI 0605 株, *B. fragilis* GAI 1213 株の2株を用いエチジウムブロマイド処理による plasmid の脱落を試みたが、それぞれ 2,112 コロニーの検索では TC, CLDM および EM 耐性の脱落は認められなかった。

III. 考 按

CLDM, EM 耐性が *B. fragilis* group 間で伝達することを PRIVITERA ら³⁾ (1979) や TALLY ら⁴⁾ (1979) が報告して以来、CLDM, TC 耐性の伝達およびその伝達因子について多くの報告が見られている。

それらの報告の中に CLDM 耐性と TC 耐性は同時に伝達するという報告⁵⁾ や CLDM, EM, lincomycin, streptogramin 耐性を MLS 耐性として一括している報告⁶⁾ がみられるが、実際には *B. fragilis* group の中に TC 耐性で CLDM 感受性の株や、*B. fragilis* GAI 1806 株のように (Table 1) CLDM 感受性で EM 耐性の株が存在する。我々は CLDM, TC の耐性伝達頻度と、その伝達株の耐性パターンについて検討した。その結果、供与菌に *B. fragilis* GAI 1213 株を用いた交配では、TC 耐性と CLDM 耐性はほぼ同頻度で伝達したが、両耐性の解離伝達株もみられ、また供与菌に *B. fragilis* GAI 0605 株, 0758 株, 2266 株を用いた交配では TC 耐性と CLDM 耐性の伝達頻度に 10^{-2} 以上の差があり、CLDM, EM, JM 耐性の伝達のみがみられた。このことは CLDM 耐性と TC 耐性の伝達が、それぞれ独立したものであることを示すと思われた。しかし *B. fragilis* GAI 1668 株, 0554 株, 0626 株, 1670 株, 2054 株の5株のように、TC 耐性と CLDM 耐性の解離伝達が認め

られない例もあった。このような同時伝達の場合、遺伝子間の連関の有無には更に分子生物学的な解析が必要である。一方、今回の実験では伝達株の 3,180 コロニーを調べた限りでは CLDM, EM, JM の解離は認められず、これら耐性遺伝子は同一か、密接に連関して存在していると考えられる。*B. fragilis* GAI 1806 株の例もあるので (Table 1) CLDM 耐性遺伝子は他の遺伝子と異なることが推定できる。なおこれら遺伝子の細胞内存在様式は不明である。実験的に脱落せしめることはできなかったのが耐性伝達が細胞質因子によるかどうかは今後の解析にまつところである。

文 献

- 1) UENO, K.: Resistance pattern of anaerobic bacteria in Japan. International Congress on chemotherapy (Symposium on drug resistance of anaerobic bacteria) Florence, Italy, 1981
- 2) 岡田 淳: 嫌気性菌の各種化学療法剤に対する感受性の推移ならびに耐性化についての研究. Jap. J. Antibiotics 35 (2): 325~361, 1982
- 3) PRIVITERA, G.; A. DUBLANCHET & M. SEBALD: Transfer of multiple antibiotic resistance between subspecies of *Bacteroides fragilis*. J. inf. dis. 139: 97~101, 1979
- 4) TALLY, F. P.; D. R. SNYDMAN, S. L. GORBACH & M. H. MALAMY: Plasmid-mediated, transferable resistance to clindamycin and erythromycin in *Bacteroides fragilis*. J. inf. dis. 139: 83~88, 1979
- 5) MACRINA, F. L.; T. D. MAYS, C. J. SMITH & R. A. WELCH: Non-plasmid associated transfer of antibiotic resistance in *Bacteroides*. J. Antimicrobial Chemotherapy 8: 77~86, 1981
- 6) 小酒井 望, 他 (嫌気性菌 MIC 測定法検討委員会): 嫌気性菌の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法. Chemotherapy 27: 559~560, 1979
- 7) 三橋 進編: 薬剤感受性測定法, 37~38 頁, 講談社サイエンティフィック, 1980
- 8) PRIVITERA, G.; G. BOTTA & M. SEBALD: Macrolide, lincosamide, streptogramin and tetracycline transferable resistance in the *Bacteroides fragilis* group. J. Antimicrobial Chemotherapy 8: 87~94, 1981

TRANSFERABLE RESISTANCES TO CLINDAMYCIN,
ERYTHROMYCIN, JOSAMYCIN AND TETRACYCLINE
FROM *BACTEROIDES FRAGILIS* TO
BACTEROIDES THETAIOAOMICRON.

ATSUSHI UMEMURA, KUNITOMO WATANABE and KAZUE UENO

Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University School of Medicine

The transfer of resistance to clindamycin, erythromycin, josamycin or tetracycline from 25 clinical strains of *Bacteroides fragilis* to one strain of *B. thetaiotaomicron* was studied. The results obtained were as follows.

1) Among 24 strains resistant to all of the four drugs mentioned above, fifteen strains transferred clindamycin or tetracycline resistance, but nine strains could not transfer clindamycin nor tetracycline resistance. The 15 strains were grouped into the following three types:

i) Three strains transferred only resistances to clindamycin, erythromycin and josamycin.

ii) One strain transferred only tetracycline resistance.

iii) All of the clindamycin, erythromycin, josamycin and tetracycline resistances were transferable in 11 strains. In this type, some strains transferred different resistance marker(s) with different selective drugs. In 5 strains all of the markers transferred jointly.

2) There found no dissociated transfer among resistance markers to clindamycin, erythromycin and josamycin in 3180 transipients so far examined.

3) One strain resistant to erythromycin, josamycin and tetracycline but susceptible to clindamycin did not transfer any of these resistance markers.

4) On two strains, we were unable to eliminate tetracycline, clindamycin or erythromycin resistance by ethidium bromide treatment.