

本邦で分離された *Bacteroides fragilis* group の clindamycin 耐性決定基の DNA homology

渡辺 邦友・沢 赫代・宮内 正幸・山岡 一清・上野 一恵

岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設

(昭和 60 年 11 月 9 日受付)

clindamycin に 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の高度耐性を示す臨床材料由来の *Bacteroides fragilis* group 42 株を用いて、clindamycin 耐性決定基の Sequence homology が検討された。

clindamycin 耐性 DNA probe は、clindamycin 耐性の伝達性因子である pBFTM 10 の EcoR 1 B fragment を cloning された *E. coli* の vector plasmid pMJS 100 を用いた。clindamycin に耐性の 42 株中 41 株は、tetracycline にも耐性を示した。そして 42 株中 39 株は、pBFTM 10 の clindamycin 耐性決定基と homology を示した。pBFTM 10 の clindamycin 耐性決定基との homology を欠いた 3 株は、いずれも clindamycin 耐性を伝達しなかった。

これらの成績は、アメリカで F. P. TALLY らによって発見されそして特徴づけがなされた plasmid pBFTM 10 にある clindamycin 耐性決定基が、広く日本の clindamycin 耐性 *B. fragilis* にも分布していることを示した。

1976 年、敗血症の 2 例から初めて clindamycin 耐性の *Bacteroides fragilis* が分離された¹⁾。そして 1979 年、この clindamycin 耐性が *B. fragilis* の間で伝達することが報告された²⁻⁴⁾。clindamycin 耐性の伝達は、pBFTM 10、pBF 4 (=pIP 410) と名付けられた plasmids が関連していた^{5,6)}。またこの pBFTM 10 に存在する clindamycin 耐性決定基は、アメリカ本土の異なる地域で分離された clindamycin 耐性の *B. fragilis* とその近縁の菌種の菌株の plasmid または chromosome region に非常に優勢に存在していることが示された⁷⁻¹⁰⁾。

著者らは、すでに本邦で分離された *B. fragilis* 3 株 (GAI-1213, 2385 および 6434) の clindamycin 耐性が、filter mating 法で伝達することを報告した^{15,16)}。

本報では、本邦で分離された clindamycin 耐性の *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *B. distasonis* の clindamycin 耐性決定基とアメリカで分離された *B. fragilis* の clindamycin 耐性伝達因子 pBFTM 10 の clindamycin 耐性決定基との関連を調査した。

I. 材料と方法

1) 供試菌株

Table 1 に供試菌株を示した。本邦で分離された clindamycin に高度耐性 (MIC 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上) の *Bacteroides* 42 株を対照として clindamycin に感受性の 7 株とアメリカで分離された clindamycin に高度耐性

の 2 株の合計 51 株である。

clindamycin 耐性の *Bacteroides* 42 株は *Bacteroides fragilis* 40 株、*B. thetaiotaomicron* 1 株および *B. distasonis* 1 株からなる。42 株中、10 株は岐阜大学医学部附属病院、4 株は長崎大学医学部附属病院、3 株は愛媛大学医学部附属病院、22 株は東京都内の 4 病院、残りの 3 株はそれぞれ富山、福岡および埼玉県内の病院由来である。これら clindamycin 耐性の 42 株中 41 株は、tetracycline にも耐性 (MIC 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上) を示した。GAI-2360 の 1 株のみは tetracycline に感受性 (MIC 0.78 $\mu\text{g/ml}$) であった。

対照に用いた 9 菌株のうち GAI-6064 (=TM 4003), GAI-6068 (=TMP 10), および GAI-7001 (=JC-101) の 3 株は、F. P. TALLY より分与されたものである。GAI-6068 は、plasmid pBFTM 10 の original host であり、GAI-6064 は GAI-6068 と GAI-7001 との filter mating によって得られた transconjugant で pBFTM 10 のみを有する株である。

これらの菌は、Virginia Polytechnic Institute で開発された基準に従って同定され、スミムミルクを保護剤として -70°C に保存されていたもので、使用に先立ち、API 20 A (アスカ純薬) を用いて菌種の確認を行なった。嫌気培養は、すべて嫌気性グローブボックス (Forma) で行なった。

2) DNA probe の作製

Table 1 *Bacteroides* strains

GAI#	Species	Origin	Phenotype	Transfer*		Homology with pMJS 100
				<i>cln</i> ^r	<i>tet</i> ^r	
Test strains						
0332	<i>B. fragilis</i>	Gifu	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
0605	<i>B. fragilis</i>	Gifu	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	-	+	-
1118	<i>B. fragilis</i>	Gifu	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
1214	<i>B. fragilis</i>	Gifu	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	+	+	+
1924	<i>B. fragilis</i>	Gifu	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	+	+	+
2116	<i>B. fragilis</i>	Gifu	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
3023	<i>B. fragilis</i>	Gifu	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	+	+	+
4825	<i>B. thetaiotaomicron</i>	Gifu	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
5906	<i>B. fragilis</i>	Gifu	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	+	+	+
6069	<i>B. fragilis</i>	Gifu	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	+	+	+
2360	<i>B. fragilis</i>	Nagasaki	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	-	-	-
2369	<i>B. fragilis</i>	Nagasaki	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	+	+	+
2373	<i>B. fragilis</i>	Nagasaki	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	+	+	+
2385	<i>B. fragilis</i>	Nagasaki	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	+	+	+
0554	<i>B. fragilis</i>	Ehime	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
3026	<i>B. fragilis</i>	Ehime	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	-	+	+
3034	<i>B. fragilis</i>	Ehime	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	+	+	+
6225	<i>B. fragilis</i>	Tokyo A	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
6235	<i>B. fragilis</i>	Tokyo A	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	+	+	+
6243	<i>B. fragilis</i>	Tokyo A	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
6250	<i>B. fragilis</i>	Tokyo A	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
6281	<i>B. fragilis</i>	Tokyo A	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
6286	<i>B. fragilis</i>	Tokyo A	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
6325	<i>B. distasonis</i>	Tokyo A	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
6346	<i>B. fragilis</i>	Tokyo A	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	+	+	+
6354	<i>B. fragilis</i>	Tokyo A	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	+	+	+
6355	<i>B. fragilis</i>	Tokyo A	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	+	+	+
6357	<i>B. fragilis</i>	Tokyo A	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	+	+	+
6359	<i>B. fragilis</i>	Tokyo A	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	+	+	+
6447	<i>B. fragilis</i>	Tokyo A	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
6423	<i>B. fragilis</i>	Tokyo B	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	+	+	+
6425	<i>B. fragilis</i>	Tokyo B	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
6434	<i>B. fragilis</i>	Tokyo B	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	-	-	-
6443	<i>B. fragilis</i>	Tokyo B	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	+	+	+
6444	<i>B. fragilis</i>	Tokyo B	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
6449	<i>B. fragilis</i>	Tokyo B	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	+	+	+
2650	<i>B. fragilis</i>	Tokyo C	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
2667	<i>B. fragilis</i>	Tokyo C	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r	+	+	+
6710	<i>B. fragilis</i>	Tokyo D	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
6707	<i>B. fragilis</i>	Toyama	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
6857	<i>B. fragilis</i>	Fukuoka	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
7167	<i>B. fragilis</i>	Saitama	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
Control strains						
7034	<i>B. fragilis</i>	Toyama	<i>cln</i> ^r (<i>ery</i> ^r) <i>tet</i> ^r			-
7100	<i>B. fragilis</i>	Kochi	<i>cln</i> ^r (<i>ery</i> ^r) <i>tet</i> ^r			-
7154	<i>B. fragilis</i>	Yamaguchi	<i>cln</i> ^r (<i>ery</i> ^r) <i>tet</i> ^r			-
8139	<i>B. fragilis</i>	Toyama	<i>cln</i> ^r (<i>ery</i> ^r) <i>tet</i> ^r			-
10001	<i>B. fragilis</i>	Saitama	<i>cln</i> ^r (<i>ery</i> ^r) <i>tet</i> ^r			-
10015	<i>B. fragilis</i>	Tokyo	<i>cln</i> ^r (<i>ery</i> ^r) <i>tet</i> ^r			-
6064	<i>B. fragilis</i> (=TM 4003)	Boston	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
6068	<i>B. fragilis</i> (=TMP 10)	California	<i>cln</i> ^r <i>tet</i> ^r			+
7001	<i>B. fragilis</i> (JC. 101)	Paris	<i>cln</i> ^r (<i>ery</i> ^r) <i>tet</i> ^r			-

* The isolates were tested for their ability to transfer clindamycin resistance to the sensitive recipient, *B. fragilis* 7001. The limit of detectable transfer was 10⁻⁸ resistant transconjugants per recipient cells; (+) indicates that the isolate was able to transfer resistance and (-) indicates that the isolate was unable to transfer resistance.

Probe DNA としては plasmid pMJS 100 を用いた⁸⁾。plasmid pMJS 100 を有する *Escherichia coli* RVSmc/100-2 は、F. P. TALLY より恵与された。pMJS 100 は chimeric plasmid で、*E. coli* の plasmid pMC 1403 に pBFTM 10 の EcoR I B fragment が cloning されたものである¹³⁾。

pMJS 100 DNA は、CLEWELL and HELINSKI の方法に準じて、CsCl EtBr 超遠心分離法によって精製した。

DNA の標識は、Nick translation system [³²P] (New England Nuclear, Boston) を用いて行なった¹⁷⁾。

3) Colony hybridization

Colony hybridization は、Cold Spring Harbor Laboratory の manual に準じて行なった¹²⁾。

Nitrocellulose filter は、membrane filter BA 85 20 (0.45 μ m ϕ 82 mm, Schleicher & Schul, w Germany) を用いた。被験菌の純培養菌の 1 colony を filter 上の所定の位置に 2 mm \sim 3 mm 滅菌つまようじを用いて画線した。菌を接種した filter は、菌の接種面を上にして、GAM 寒天平板上に密着させ、18 時間嫌気培養された。GAM 寒天培地上の filter は、まず 10% Sodium dedoxy sulfonate (SDS) 溶液で飽和された沱紙 (Whatman 3 MM) 上で 3 分間、次いで 0.5 M NaOH, 1.5 M NaCl からなる DNA 変性用溶液で飽和された沱紙上で 5 分間、最後に 1.5 M NaCl, 0.5 M Tris-Cl (pH 8.0) からなる中和用溶液で飽和された沱紙上に 5 分間置かれた。このように処理された沱紙は、30 \sim 60 分間の乾燥 (室温) の後、80 $^{\circ}$ C で 2 時間真空オープン中で baking され、次の hybridization study に使用された。

hybridization は、plastic meat bag を使い、0.9 M NaCl, 0.09 M Na citrate (6 \times SSC), 0.2% Ficoll 400, 0.2% Polyvinylpyrrolidone, 0.02% gelatin, cat thy-mus DNA 25 mg/ml, 32 p でラベルした Probe DNA からなる hybridization solution 中で 65 $^{\circ}$ C 18 時間行なわれた。filter は、洗浄後、Kodak AR film を用い、-80 $^{\circ}$ C で 2 日 \sim 7 日間露出された。

なお、hybridization study においては、常に一つの filter 上に陽性、陰性 2 つの controls を置いた。陽性 control として、pBFTM 10 を有する clindamycin 耐性 tetracycline 感受性の *B. fragilis* GAI-6064, 陰性 control として clindamycin および tetracycline に感受性の *B. fragilis* GAI-7001 を用いた。

4) 耐性伝達実験

一部の菌株について、clindamycine と tetracycline の耐性伝達能の有無を調査した。

耐性の伝達は、前報に示したように filter mating 法

で行なわれた¹²⁾。Recipient としては、*B. fragilis* GAI-7001 を用い、donor は、recipient との交配に先立ち 1 μ g/ml の tetracycline 加ブイオンで前処理した。

耐性伝達の検出限界は、10⁻⁸/input donor cells で、伝達が認められたものを陽性、認められなかったものを陰性とした。

II. 成 績

1. pMJS 100 probe の特異性

供試菌株の中から clindamycin 耐性の *B. fragilis* 3 株 (GAI-6286, 6346 および 6068) と clindamycin 感受性の 6 株 (GAI-7034, 7100, 7154, 8139, 10001 および 10015), 更に陽性 control として clindamycin 耐性で pMFTM 10 を有する GAI-6064, 陰性 control として clindamycin 感受性の GAI-7001 を用い、得られた pMJS 100 probe の特異性を検討した。

成績は Fig. 1 に示した。clindamycin 耐性の菌株は pMJS 100 probe に対して強い homology を示したが、clindamycin 感受性の菌株は全く homology を示さなかった。clindamycin 感受性の菌株の中に erythromycin に耐性 (100 μ g/ml 以上) の株が、3 株存在したが、pMJS 100 との homology は認められなかった。

2. DNA homology study

わが国の異なる地域 (岐阜, 長崎, 福岡, 愛媛, 富山, 埼玉, 東京) の 10 施設由来の *Bacteroides* 42 株中

Fig. 1 ³²P labelled pMJS 100 was used as a probe. 1, 2, 3: *cln^r*, *ery^r*, *tet^r* strains; GAI-6068 (= TMP 10), GAI-6286, GAI-6346, 3, 5, 6: *cln^s*, *ery^r*, *tet^r* strains; GAI-7034, GAI-7154, GAI-7100, 7, 8, 9: *cln^s*, *ery^s*, *tet^s* strains; GAI-10001, GAI-8139, GAI-10015, +: positive control which contains pBFTM 10; GAI-6064 (=TM 4003), -: negative control; GAI-7001 (=JC-101)

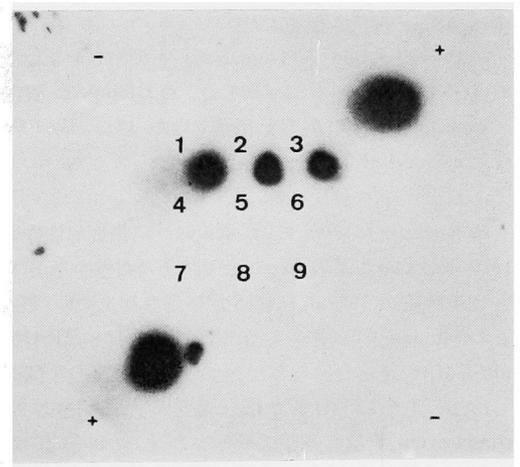
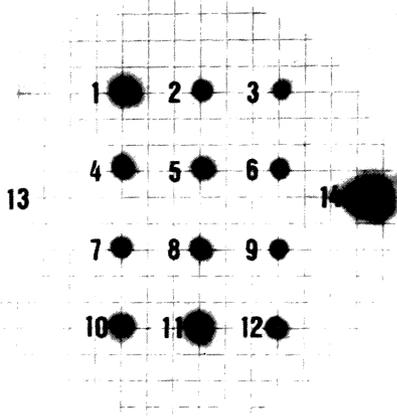


Fig. 2 Colony hybridization with the pMJS 100 probe. The *cln^r*, *tet^r* *B. fragilis* strains tested were as followed: 1, GAI-6225; 2, GAI-6235; 3, GAI-6250; 4, GAI-6281; 5, GAI-6286; 6, GAI-6346; 7, GAI-6354; 8, GAI-6355; 9, GAI-6357; 10, GAI-6359; 11, GAI-6423; 12, GAI-6425; 13, GAI-7001 (=JC-101, negative control); 14, GAI-6064 (=TM 4003, positive control containing pBFTM 10)



39 株は pMJS 100 probe との明らかな homology を認めた。pMJS 100 probe との homology を欠いた 3 株は、岐阜由来の *B. fragilis* GAI-0605, 長崎由来の *B. fragilis* GAI-2360, 東京 B 病院由来の *B. fragilis* GAI-6434 であった。

3. clindamycin 耐性および tetracycline 耐性の伝達能

42 株中 21 株は、clindamycin 耐性と tetracycline 耐性の *B. fragilis* GAI-7001 への伝達能の有無が調べられた。

21 株中 17 株は clindamycin 耐性を伝達し、19 株は tetracycline 耐性を伝達した。

pMJS 100 probe との homology を欠如した 3 株中 2 株は GAI-2360 と GAI-6364 は、clindamycin 耐性と tetracycline 耐性の両方を伝達しなかった。GAI-0605 は、tetracycline 耐性のみを伝達した。

III. 考 按

Bacteroides fragilis の clindamycin 高度耐性株は、1976 年に初めて認識され、そしてその耐性が伝達するという事実が 1979 年に初めて報告された²⁻⁴⁾。最初、この clindamycin 耐性の伝達は pBF 4(=pIP 410), pBFTM 10 と名付けられた 2 つの伝達性因子と関連していた。しかし、いまでは伝達性因子と関連しない clindamycin 耐性伝達様式があることも知られてい

る¹³⁻¹⁴⁾。

さて pBF 4 と pBFTM 10 の 2 つの伝達性因子は、DNA-DNA hybridization により、共通の clindamycin 耐性決定基を共有していることが示された⁷⁾。近年、D. G. GUINEY らにより新しく発見された pCP 1 も C. J. SMITH らにより発見された pBI 136 も pBF 4 や pBFTM 10 と同一の clindamycin 耐性決定基を有することが示された⁹⁻¹¹⁾。

F. P. TALLY ら、および D. G. GUINEY らは、彼らの分離したそれぞれ pBFTM 10, pCP 1 の clindamycin 耐性決定基を *E. coli* の plasmid vector に ligate した chimeric plasmid を用いて clindamycin resistance DNA probe を作製し、この clindamycin 耐性決定基が、アメリカの国内に、またフランス、オランダ、ブラジルに広く分布していることを明らかにした⁸⁻¹⁰⁾。

私共は、F. P. TALLY らにより開発された DNA probe を用いて、わが国の地理上の異なる地点から分離された clindamycin 耐性株について、その clindamycin 耐性決定基の存在をサーベイしたところ、42 株中 39 株 (93%) にその存在が確認され、わが国でもアメリカ同様一つの clindamycin 耐性決定基が優勢であることが明らかとなった。

しかし、F. P. TALLY らがすでに報告しているように、pBFTM 10 の clindamycin 耐性決定基と homology を欠く菌株も 3 株 (GAI-0605, GAI-2360 および GAI-6434) 認められた。しかしこれらの 3 株は、いずれもこれらの clindamycin 耐性を *B. fragilis* GAI-7001 に伝達することができなかった。GAI-0605 だけは tetracycline 耐性のみを伝達した。pBFTM 10 上にある clindamycin 耐性決定基と異なる耐性決定基が存在すると思われる。

さて pBFTM 10 の clindamycin 耐性決定基は erythromycin 耐性も同時に交配する。私共は、今回 clindamycin には、0.10~0.78 $\mu\text{g/ml}$ と感受性であるが erythromycin には 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上と耐性である *B. fragilis* 3 株が、pBFTM 10 の clindamycin 耐性決定基と homology のないことを確認した。erythromycin 耐性を支配する別の genes があると考えられ、これらが伝達性であるか否かも含めてさらに検討される必要がある。

文 献

- 1) SALAKI, J. S.; R. BLACK, F. P. TALLY & J. W. KISLAK: *Bacteroides fragilis* resistant to clindamycin. *Am. J. Med.* 60: 426~428, 1976
- 2) PRIVITERA, G.; A. DUBLANCHET & M. SEBALD: Transfer of multiple antibiotic resistance between subspecies of *Bacteroides fragilis*. *J. Infect. Dis.* 139: 97~101, 1979

- 3) TALLY, F. P.; D. R. SNYDMAN, S. L. GORBACH & M. H. MALAMY : Plasmid mediated transfer resistance to clindamycin and erythromycin in *Bacteroides fragilis*. J. Infect. Dis. 139 : 83~88, 1979
- 4) WELCH, R. A.; K. R. JONES & F. L. MACRINA : Plasmid-mediated transfer of lincosamide macrolide and tetracycline resistance in *Bacteroides*. Plasmids 2 : 261~268, 1979
- 5) TALLY, F. P.; D. R. SNYDMAN, M. J. SHIMELL & M. H. MALAMY : Characterization of pBFTM 10, a clindamycin-erythromycin resistance transfer factor from *Bacteroides fragilis*. J. Bacteriol. 151 : 686~691, 1982
- 6) WELCH, R. A. & F. L. MACRINA : Physical characterization of *Bacteroides fragilis* R plasmid pBF 4. J. Bacteriol. 152 : 867~872, 1981
- 7) SHIMELL, M. J.; C. J. SMITH, F. P. TALLY, F. L. MACRINA & M. H. MALAMY : Hybridization studies reveals homology between pBF 4 and pBFTM 10, two clindamycin-erythromycin resistance transfer plasmids of *Bacteroides fragilis*. J. Bacteriol. 152 : 950~953, 1982
- 8) MARSH, P. K.; M. H. MALAMY, M. J. SHIMEL & F. P. TALLY : Sequence homology of clindamycin resistant determinants in clinical isolates of *Bacteroides* spp. AAC 23(5) : 726~730, 1983
- 9) GUINEY, D. G. JR.; P. HASEQAWA & C. E. DAVIS : Homology between clindamycin resistance plasmid in *Bacteroides*. Plasmids 11 : 268~271, 1984
- 10) GUINEY, D. G. JR.; P. HASEQAWA, D. STALKER & C. E. DAVIS : Genetic analysis of clindamycin resistance in *Bacteroides* species. J. Infect. Dis. 147 : 551~558, 1983
- 11) SMITH, C. J. & F. L. MACRINA : Large transmissible clindamycin resistance plasmid in *Bacteroides ovatus*. J. Bacteriol. 158(2) : 739~741, 1984
- 12) MANIATIS, T., et al. : Molecular cloning-A Laboratory manual cold spring Harbor Laboratory Cold Spring Harbor, New York, 1982
- 13) MALAMY, M. H. & F. P. TALLY : Mechanisms of drug-resistance transfer in *Bacteroides fragilis*. J. A. C. 8(suppl. D) : 59~75, 1981
- 14) MACRINA, F. L.; T. D. MAYS, C. J. SMITH & R. A. WELCH : Non-plasmid associated transfer of antibiotic resistance in *Bacteroides*. J. of Antimicrobial Chemotherapy 8 (suppl. D) : 79~86, 1981
- 15) 梅村厚志, 渡辺邦友, 上野一恵 : *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。Chemotherapy 31 : 963~967, 1983
- 16) 渡辺邦友, 梅村厚志, 上野一恵 : *Bacteroides fragilis* の clindamycin および tetracycline 耐性の伝達に関する研究。Chemotherapy 33 : 6~11, 1985
- 17) RIGBY, P. W. J.; M. DIECKMANN, C. RHODES & P. BERG : Labeling deoxyribonucleic acid to high specific activity *in vitro* by nick translation with DNA polymerase I. J. Mol. Biol. 113 : 237~251, 1977

DNA HOMOLOGY OF CLINDAMYCIN RESISTANCE
DETERMINANTS IN CLINICAL ISOLATES
OF *BACTEROIDES* SPP. IN JAPAN

KUNITOMO WATANABE, KAKUYO SAWA, MASAYUKI MIYAUCHI,
KAZUKIYO YAMAOKA and KAZUE UENO

Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University
School of Medicine

The sequence homology of clindamycin resistance determinants was studied in 42 clindamycin resistant *Bacteroides* strains isolated from different geographical areas, that is Gifu, Nagasaki, Fukuoka, Ehime, Toyama, Tokyo and Saitama. These isolates were surveyed for homology with the clindamycin resistance determinant of the plasmid pBFTM 10. The clindamycin resistance DNA probe used in colony hybridization were pMJS 100, a plasmid derivative containing an EcoRI B fragment of pBFTM 10 cloned into *E. coli*. All of the strains resistant to clindamycin also carried tetracycline resistance except one strain and a total of 39 of 42 clindamycin resistant strains showed homology with the clindamycin resistance determinant of pBFTM 10. These data revealed that the same clindamycin resistance determinant dominant in U. S. A. is also widely distributed in Japan.