

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02351

研究課題名(和文)ロドコッカス・エクイ新規病原性プラスミドpVAPNの病原遺伝子解析と分子疫学調査

研究課題名(英文)Molecular epidemiology of novel bovine-associated pVAPN in Rhodococcus equi and genetic analysis of the plasmid

研究代表者

高井 伸二 (Takai, Shinji)

北里大学・獣医学部・教授

研究者番号：80137900

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,600,000円

研究成果の概要(和文)：国内初のロドコッカス・エクイ感染症例を沖縄県山羊農場ボア一種で認め、pVAPNを検討したところ病変分離株32株全てと土壌分離株29株中10株(34.5%)がVapN陽性となった。GST融合組換えVapN蛋白質を用いたELISA法により42頭の山羊血清中のVapN抗体価を測定したところ12頭が抗体陽性となった。次に、山羊糞便中を検索したところ、山羊糞便とその飼育環境土壌からVapN陽性株が分離された。PFGE法でそれら陽性株の染色体DNA切断像を比較したところ、糞便と土壌由来株は異なっていた。以上の成績から反芻獣に病原性を示すVapN陽性株が飼育環境の汚染が明らかとなり、更なる検討が必要となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ロドコッカス・エクイはウマの化膿性肺炎の起因菌であるが、近年、牛・山羊など反芻動物に対して新規毒力関連抗原VapNをコードする線状プラスミドを保有し、肉芽腫性疾患を引き起こすことが明らかとなった。本研究は、我が国における山羊や牛における本菌の疫学調査が殆ど調査されていない。本研究では簡便にスクリーニングできるELISA法を確立し、疫学調査が容易となったことは学術的意義が高い。

研究成果の概要(英文)：Rhodococcus equi isolates from the infected Boa goat in Okinawa reported in 2015 were reexamined by the PCR for VapN gene. The VapN gene was detected in all the 32 isolates from the lesions of the goat, and they possessed a 120-kb linear virulence plasmid. Ten (34.5%) of 29 environmental isolates from soil in the goat farm were VapN-positive. Serological surveillance in goats at the farm was done using an enzyme-linked immunosorbent assay with recombinant glutathione S-transferase-tagged VapN as an immobilized antigen, and revealed that the VapN antibody titer was elevated in 12 of 42 goats. Subsequently, we attempted to isolate R. equi from the feces of goats and soil on Farm A. VapN-positive R. equi was isolated from the feces of Goat No. 27 and one soil sample near the shed. The pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) patterns of five VapN-harboring R. equi strains show two PFGE patterns. Further study on the epidemiology of VapN-positive R. equi in ruminants in Japan is needed.

研究分野：獣医学

キーワード：ロドコッカス・エクイ 病原性プラスミド 毒力関連抗原 病原性遺伝子 反芻獣 山羊 牛 分子疫学調査

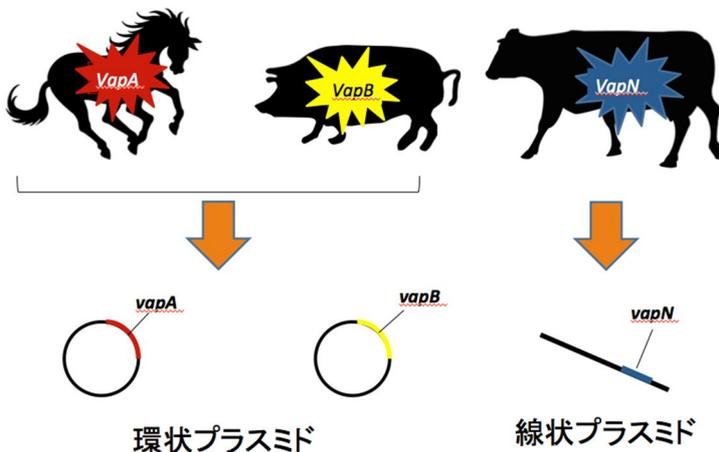
科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

土壤中の腐生細菌であるロドコッカス属の中に、病原菌が2菌種存在する。一つは子馬の病原菌であるロドコッカス・エクイ、もう一つは、植物に腫瘤を形成するロドコッカス・ファシアンズである。興味深いことに、この2種の動物と植物の病原菌は病原性プラスミドによって、その毒力が規定されている。これまでに私たちはロドコッカス・エクイの病原性プラスミドを発見し、2種類のプラスミド(以下 pVANA と pVAPB と呼称)がそれぞれ強毒と中等度毒力という2つの毒力レベルを規定し(J.Infect.Dis.1995)、細胞内寄生菌として馬と豚にそれぞれの毒力株が棲み分けをしていることを明らかにした。さらに、病原性プラスミドの全塩基配列から、病原性プラスミドは、GC含量が異なる大きな遺伝子挿入部位 Pathogenicity island(病原性遺伝子群)を持つキメラ構造が明らかとなり(Infected.Immun.2000)、外部からの遺伝子群の挿入というダイナミックな遺伝子の水平伝播があることを明らかにした。2015年、イギリスの研究グループから牛の病変部由来株が新たな毒力関連遺伝子 VapN を保有する線状プラスミドにコードされていることを発見した。2016年、我が国においても三重県食肉検査所で敗血症の疑いで廃棄となった牛の肺の多発性腫瘤および腫大したリンパ節から VapN 遺伝子を保有する本菌が分離された。2016年9月には長崎県のふれあい牧場の山羊が死亡し、肺・肝臓などの多発性膿瘍と腸管附属リンパ節炎が認められ VapN 陽性株が分離され、我が国においても既に第三の病原性プラスミド(pVAPN)を保有する毒力株が広範に分布していることが示唆された。

### 新しい毒力関連抗原 VapN の発見 (2015)



### 2. 研究の目的

本研究の目的は、1) 我が国における第三の病原性プラスミド pVAPN を保有する毒力株の各種家畜における分子疫学調査を実施し、その棲息域を明らかにする。既に、予備実験で研究室が保有するヒト AIDS 患者等分離株における VapN 遺伝子の保有状況を検討したところ、約 10% の株が保有していた。これは、牛・山羊などの家畜・飼育環境或いは畜産食品が感染源となっていたことを示唆する。この分子疫学調査は食の安全の観点からも極めて重要である。2) 線状プラスミド pVAPN を保有する毒力株に関する病原性発現機序については、世界各地のロドコッカス・エクイの研究グループが検討を行っている。最近、私たちも馬の強毒株が保有する pVANA にコードされる VapA が細胞内寄生菌としての機能を付与する機構に関する新たな知見を得た。牛の病理組織像から多数のマクロファージの浸潤、類上皮細胞やラングハンス型巨細胞が認められ、肉芽腫巣を形成し、グラム染色ではマクロファージ内に菌体が確認できたことから、マクロファージ内での生き残り戦略に VapN 蛋白質の関与が推察される。この機能を私たちのシステムで検討する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 牛と山羊その飼育・棲息環境からの新規病原性プラスミドを保有するロドコッカス・エクイ分子疫学調査

三重県の食肉検査所において肺・化膿性肉芽腫性リンパ節炎を示す牛から pVAPN を保有するロドコッカス・エクイを分離した。2015年の pVAPN の報告はアイルランドの牛由来であるが、我が国にもこのタイプの病原菌が浸潤していることを私たちは明らかにした。これらの成績を基に、分子疫学調査を発生地とそれ以外の生産地について実施する。山羊(沖繩県等)の飼育環境において研究協力者に現地案内を頂き、採材を実施する。牛(大分県他の肉用牛生産牧場等)については、現地の家畜保健衛生所に材料採取を依頼する。牛・山羊の糞便、飼育環境土壌から菌分離を行い、PCR を用いた VapN 遺伝子検索によって発生農場並びに周辺

地域の農場の汚染度を現地調査で明らかとする。

## (2) 牛・山羊分離株の病原性に関する検討：新規病原性プラスミドの分子型別と保有株の病原性並びに菌株の PFGE 型に関する検討

我が国の牛、山羊症例分離株、世界各地で発生したヒト AIDS 患者等分離株において新規病原性プラスミドが検出されている。これらのマウス病原性についても全く調べられておらず、菌株間、由来における病原性の差異については全く検討が行われていない。また、これまで私たちが強毒株と中等度毒力株の環状の病原性プラスミドで実施したプラスミド型別も新規病原性プラスミドでは出来ていない。線状プラスミド DNA の分離方法についても検討するが、現時点では菌側の染色体 DNA をパルスフィールドゲル電気泳動法によって型別し、新規プラスミドを運ぶロドコッカス・エクイのバリエーションを検討する。それらの情報を得て、牛、山羊、ヒト分離株のマウス病原性との比較を行う。

## (3) VapN 抗体測定方法の確立並びに VapN の機能解析

大腸菌の系で VapN 抗原を発現し、牛・山羊など反芻獣における特異抗体検出系を ELISA で確立する。これにより、浸潤状況が把握可能となる。

ロドコッカス・エクイは細胞内寄生菌であり、強毒株の菌体表層に発現する VapA が M において正常な後期エンドソーム生成の阻害が生じることが報告されている。既に、私たち研究室ではマウス M 細胞株 (J774 細胞) を用いた解析システムを報告しており (JVMS2017)、これを用いて VapB, VapN 蛋白質の機能解析を実施する。その概要は、緑色蛍光タンパク (EGFP) を発現するロドコッカス・エクイとマクロファージに感染させ、同時或いはその前後に VapA, VapB, VapN 蛋白をそれぞれ添加し、そのファゴゾーム生成阻害能の違いを測定する。毒力関連抗原 Vap は単独発現では蛋白質凝集を起こし、可溶化しない。その準備に初年度を計画した。

## 4. 研究成果

### (1) 牛と山羊その飼育・棲息環境からの新規病原性プラスミドを保有するロドコッカス・エクイ分子疫学調査 沖縄県で 2013 年に発生した山羊のロドコッカス・エクイ感染症例からの分離株の病原性再検討

沖縄県北部地域の肉用山羊繁殖農場でポアー種雄 5 歳 1 頭が 2013 年 12 月に食欲廃絶、起立不能となったため予後不良と判断し病性鑑定殺を実施し、肝臓、脾臓、肺、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸及び腸間膜リンパ節から 32 株、隣接草地土壌からロドコッカス・エクイが 29 株が分離された。当初、VapA と VapB 遺伝子のみを検索で全て陰性と判定された。これらの菌株について病原性プラスミド並びに VapN 遺伝子検索を既報に従って vapN 遺伝子を PCR で、線状病原性プラスミドをパルスフィールドゲル電気泳動法で実施した。PCR により VapN 遺伝子を検索したところ、病変部分離株 32 株全て (100%) が、土壌分離株 29 株は 10 株 (34.5%) が陽性となった。陽性となった全ての株について PFGE により線状プラスミドの分離を試みたところ、分子量マーカー 120kb 付近に 1 本のバンドが確認された。サザンハイブリダイゼーションを実施して VapN 遺伝子の存在を確認した (図 1)。

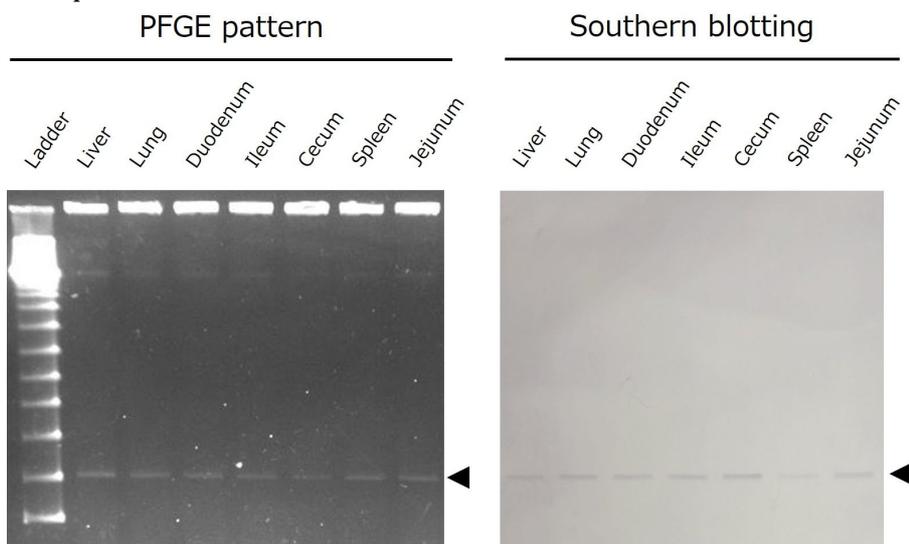


図 1 病変部分離株が保有する線状プラスミド DNA の PGFE 電気泳動像とサザンプロット像

### 糞便及び土壌からのロドコッカス・エクイの分離と vapN 保有株の検索

2019 年現在沖縄県畜産研究センターにて飼育されているヤギ 42 頭の糞便及びヤギ畜舎 20 カ所の土壌を採取し、ロドコッカス・エクイを分離した。42 頭中 29 頭(69%)の糞便から、cox 遺伝子陽性菌であるロドコッカス・エクイを分離した。その内 vapN 遺伝子陽性ロドコッカス・エクイは、検体番号 27 のヤギ糞便から 3 株分離された。一方で、20 カ所中 13 カ所(65%)の土壌から、cox 遺伝子陽性菌であるロドコッカス・エクイを分離した。その内 vapN 遺伝子陽性ロドコッカス・エクイは、ヤギ小屋近くの土壌(検体番号:3)から 1 株のみ分離された。

表 1 沖縄県の山羊とその飼育環境土壌からのロドコッカス・エクイの分離

分離年	分離材料	分離株数	VapN 陽性数	陽性率
2013 年	感染山羊臓器	32	32	100%
	飼育環境土壌	29	10	34.5%
2019 年	山羊の糞便	107	3	2.8%
	飼育環境土壌	51	1	2.0%

### (2) 牛・山羊分離株の病原性に関する検討：新規病原性プラスミドの分子型別と保有株の病原性並びに菌株の PFGE 型に関する検討

過去の研究によってマウス LD<sub>50</sub> は、vapA 陽性株で 10<sup>6</sup>、vapB 陽性株で 10<sup>7</sup>であることが知られている。vapN 陽性株におけるマウス LD<sub>50</sub> を検討した。使用した菌株は牛（四日市）肝臓由来株、山羊（長崎県）肝臓由来株、山羊（沖縄県肝臓）由来株の 3 種類であった。菌株は自家製液体培地に接種して 30 で振とう培養したものを使用した。四日市株ではマウス 3 匹を 1 群として、菌液を 1 倍、3 倍、9 倍、27 倍、81 倍と 5 段階に希釈したものをマウスに接種し、長崎県と沖縄県検体ではマウス 4 匹を 1 群として菌液を 1 倍、3 倍、9 倍、27 倍と 4 段階に希釈したものをマウスに接種して 14 日間観察した。その成績を表 2 に示した。

沖縄県の 2013 年の山羊発症例の肝臓由来株は、対照とした長崎の羊由来株の 5 倍、四日市の牛由来株の 9 倍の菌量が LD<sub>50</sub> 値に必要であった。これらの値は、馬に病原性を示す VapA 陽性株の LD<sub>50</sub> 値が 10<sup>6</sup> 台であることから、豚に病原性を示す VapB 陽性株の中等度毒力株とほぼ同じ毒力を示すことが明らかとなった。

表 2 牛・山羊分離株のマウス病原性試験

菌株名	由来	LD <sub>50</sub>
沖縄	羊・肝膿瘍	1.0 x 10 <sup>8</sup>
長崎	羊・肝膿瘍	2.0 x 10 <sup>7</sup>
四日市	牛・肝膿瘍	1.1 x 10 <sup>7</sup>

### (3)VapN 抗体測定方法の確立並びに VapN の機能解析：GST-VapN を固相化抗原とした ELISA による血清診断スクリーニング法の確立

ELISA を用いた抗体価測定の結果、ロドコッカス・エクイ感染症を発症し 2013 年の 12 月に死亡したヤギ(個体番号:8077)の OD 値は、2013 年の 5 月までは 0.05 から 0.09 の値で推移していたが、2013 年の 12 月に 0.40 まで上昇した(図 2)。また同居ヤギ (個体番号：8027)は、発症ヤギと同時期である 2013 年の 12 月に 0.23 まで上昇し、その後抗体価を維持していた。一方、同居ヤギ (個体番号:8007)は 2012 年以前の OD 値の平均が 0.172 と他の 2 個体よりも高い数値で推移していたが、本個体の OD 値も 2013 年の 5 月までに 1.80 まで急激に上昇した。OD 値が 0.2 を超えた検体の多くは、ロドコッカス・エクイの感染が成立したと考えられる 2013 年 5 月前後に採取した血清であった。また、過去に一度もロドコッカス・エクイ感染症の報告がない大学内十和田農場で飼育されているヤギ 4 頭の OD 値は、0.04 から 0.21 であった。

表 3 .2013 年に *R. equi* 感染症を発症したヤギ血清の GST-VapN に対する OD 値

個体番号	生年月日	性別	採血日	OD 値
8077	2008/9/13	オス	2010/2/4	0.05
			2010/4/5	0.06
			2011/4/19	0.05
			2011/12/21	0.07
			2012/5/8	0.09
			2013/5/17	0.07
			2013/12/13	0.40

ロドコッカス・エクイ感染症成立時期の前後で採取した血清で OD 値が 0.23 以上のものをすべて選抜し、VapN 産生株 {四日市ウシ肝臓由来株} を抗原として、短冊ウエスタンブロットを行った。発症ヤギ(個体番号:8077)の血清では、複数のサイズの異なるバンドが認められ、菌体タンパク質に対する反応が観察されたが、上記発症ヤギ血清を含めた 5 種類全ての血清を使用した場合において、VapN タンパク質(16kDa)の位置にバンドを確認した(図 2)。続いて、GST-VapN を SDS-PAGE で分離した際の短冊ウエスタンブロットを行った。5 種類の血清は全て GST-VapN を認識し、そのバンドの濃淡は OD 値の増減と一致していた(図 3)。一方で、ロドコッカス・エクイ感染陰性個体である本学のヤギ血清を用いた場合はいずれもバンドが検出されなかった。

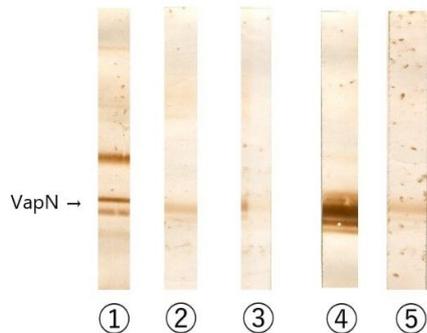


図 2 . pVAPN 保有菌株の溶菌液を抗原として用いたウエスタンブロット像

使用血清は以下の通りである。

ロドコッカス・エクイ感染症発症ヤギ(8077) (2013/12/13) 同居ヤギ(8027) (2013/12/13)  
同居ヤギ(8027) (2014/3/5) 同居ヤギ(8007) (2013/5/17) 同居ヤギ(8007) (2014/3/5)

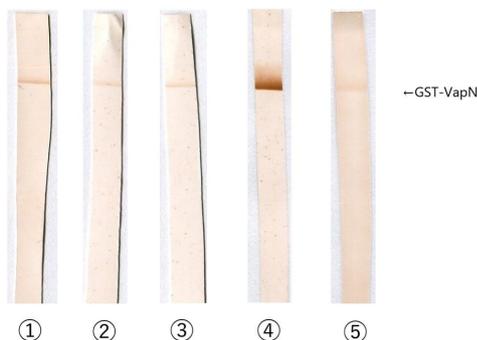


図 3 . GST-VapN を抗原として用いたウエスタンブロット像

使用血清は以下の通りである。

ロドコッカス・エクイ感染症発症ヤギ(8077) (2013/12/13) 同居ヤギ(8027) (2013/12/13)  
同居ヤギ(8027) (2014/3/5) 同居ヤギ(8007) (2013/5/17) 同居ヤギ(8007) (2014/3/5)

これらの結果を踏まえ、GST-VapN を固相化抗原とした ELISA を用いた陽性判断の基準値を以下の計算式で算出した。2012 年以前の沖縄県ヤギ血清 15 検体の OD 値と本学のヤギ血清 4 検体の OD 値の平均値(0.11)+標準偏差の 2 倍値(0.14)すなわち病態識別値(カットオフ値)を 0.25 と設定した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件／うち国際共著 6件／うちオープンアクセス 14件）

1. 著者名 Irie T, Ichii O, Nakamura T, Ikeda T, Ito T, Yamazaki A, Takai S, Yagi K.	4. 巻 18
2. 論文標題 Molecular characterization of three <i>Sarcocystis</i> spp. from wild sika deer ( <i>Cervus nippon yesoensis</i> ) in Hokkaido, Japan.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Vet. Parasitol.: Regional Studies and Reports	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vprsr.2019.100327	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Takahashi T, Kabeya H, Sato S, Yamazaki A, Kamata Y, Taira K, Asakura H, Sugiyama H, Takai S, Maruyama S.	4. 巻 56(2)
2. 論文標題 Prevalence of <i>Yersinia</i> Among Wild Sika Deer ( <i>Cervus nippon</i> ) and Boars ( <i>Sus scrofa</i> ) in Japan.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Wildl Dis.	6. 最初と最後の頁 270-277
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7589/2019-04-094.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Irie T., Uruguchi K., Ito T., Yamazaki A., Takai S., Yagi K.	4. 巻 11
2. 論文標題 First report of <i>Sarcocystis pilosa</i> sporocysts in feces from red fox, <i>Vulpes vulpes schrencki</i> , in Hokkaido, Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Parasitol Parasites Wildl.	6. 最初と最後の頁 29-31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijppaw.2019.12.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Suzuki Y, Hisaya K, Ono Y, Shimojima H, Kubota R, Kato T, Kakuda S, Hirose S, Dong-Liang Hu, A. Nakane, S. Takai, K. Sadamasu	4. 巻 92
2. 論文標題 A novel staphylococcal enterotoxin SE02 involved in a staphylococcal food poisoning outbreak that occurred in Tokyo in 2004.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Food Microbiol.	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.fm.2020.103588	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki Y, K. Takahashi, F. Takase, N. Sawada, S. Nakao, A. Toda, Y. Sasaki, T. Kakuda and S. Takai	4. 巻 73
2. 論文標題 Serological epidemiological surveillance for vapN-harboring Rhodococcus equi infection in goats in Okinawa, Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 CIMID	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cimid.2020.101540	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakano, S. , Ishizuka, S, Kawashima, G., Nakagawa, R., Sasaki, Y., Kakuda, T., Suzuki, Y., and S. Takai	4. 巻 73
2. 論文標題 Reexamination of virulence of Rhodococcus equi isolates from the infected goat and its environmental soil in Okinawa reported in 2015.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Jpn. V J et. Med. Assoc.	6. 最初と最後の頁 582-584
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.12935/jvma.73.582	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takai, S., N. Sawada, Y. Nakayama, S. Ishizuka, R. Nakagawa, G. Kawashima, N. Sangkanjanavanich, Y. Sasaki, T. Kakuda, and Y. Suzuki	4. 巻 71
2. 論文標題 Reinvestigation of the virulence of Rhodococcus equi isolates from patients with and without AIDS.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Lett Appl Microbiol.	6. 最初と最後の頁 679-683
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/lam.13386.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Portilho FVR, Paes AC, Megid J, Hataka A, Neto RT, Headley SA, Oliveira TES, Colhado BS, de Paula CL, Guerra ST, Mota AR, Listoni FJP, Takai S, Ribeiro MG.	4. 巻 129
2. 論文標題 Rhodococcus equi pVAPN type causing pneumonia in a dog coinfecting with canine morbillivirus (distemper virus) and Toxoplasma gondii.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microb Pathog.	6. 最初と最後の頁 112-117
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.micpath.2019.01.048	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Niwa, H., Kihara, H., Nagai, H., Akiba, M., Kokuho, T., Kato, K., Anzai, T., and Takai, S.	4. 巻 72
2. 論文標題 Microplate agglutination test for serological diagnosis of equine paratyphoid.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Jpn. Vet. Med. Assoc.	6. 最初と最後の頁 210-214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.12935/jvma.72.210	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kadohira M, Phiri BJ, Hill G, Yoshizaki R, Takai S.	4. 巻 24
2. 論文標題 Game Meat Consumption and Foodborne Illness in Japan: A Web-Based Questionnaire Survey	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Food Prot.	6. 最初と最後の頁 1224-1232
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4315/0362-028X.JFP-18-502.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Lechinski de Paula C, Silveira Silva RO, Tavanelli Hernandez R, de Nardi J. G, Babboni SD, Trevizan Guerra S, Paganini Listoni FJ, Giuffrida R, Takai S, Sasaki Y, Garcia Ribeiro M.	4. 巻 2019
2. 論文標題 First Microbiological and Molecular Identification of Rhodococcus equi in Feces of Nondiarrheic Cats.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomed Res Int.	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2019/4278598. eCollection 2019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ribeiro, M. G., G. H. B. Lara, P. da Silva, M. M. J. Franco, A. L. de Mattos-Guaraldi, A. P. C. de Vargas, R.I.Sakate,F. R. Pavan, B. S. Colhado, F. V. R. Portilho, R. G. Motta, T. Kakuda, S. Takai.	4. 巻 65
2. 論文標題 Novel bovine-associated pVAPN plasmid type in Rhodococcus equi identified from lymph nodes of slaughtered cattle and lungs of people living with HIV/AIDS.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Transboundary and Emerging Diseases	6. 最初と最後の頁 321-326
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tbed.12785	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 de Morais ABC, Bolanos CAD, Alves AC, Ikuta CY, Lara GHB, Heinemann MB, Giuffrida R, Listoni FP, de Souza Ribeiro Mioni M, Motta RG, Takai S, Ribeiro MG	4. 巻 50
2. 論文標題 Identification of Mycobacterium species and Rhodococcus equi in peccary lymph nodes.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Trop Anim Health Prod.	6. 最初と最後の頁 1319-1326
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s 11250-018-1562-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Nakagawa R, Moki H, Hayashi K, Oniwa K, Tokuyama K, Kakuda T, Yoshioka K, Takai S.	4. 巻 80
2. 論文標題 A case report on disseminated Rhodococcus equi infection in a Japanese black heifer.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Vet Med Sci.	6. 最初と最後の頁 819-822
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.18-0064.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

#### 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	角田 勤  (Kakuda Tsutomu)  (80317057)	北里大学・獣医学部・准教授   (32607)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	鈴木 康規  (Suzuki Yasunori)	北里大学・獣医学部・講師   (32607)	

#### 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------