

## 第 223 回雑誌会

(Jul. 14, 2015)

### (1) Effect of in-feed administration and withdrawal of tylosin phosphate on antibiotic resistance in enterococci isolated from feedlot steers.

Beukers, A. G., Zaheer, R., Cook, S. R., Stanford, K., Chaves, A. V., Ward, M. P. and McAllister, T. A.

Frontiers in Microbiology, **6**, doi:10.3389/fmicb.2015.00483 (2015).

Reviewed by M. Nishiyama

マクロライド系抗生物質であるリン酸タイロシンは、畜牛の肝膿瘍発症を抑えるため飼料中に投与される。現在、家畜飼料への継続的な抗生物質の使用は、薬剤耐性菌の発生に寄与すると考えられている。そこで本研究では、ほ乳類の腸管内に常在する腸球菌を対象として、リン酸タイロシンの投与による腸球菌のマクロライド耐性化を調査した。調査は、カナダの肥育場における去勢雄牛を対象として、リン酸タイロシンの混合飼料を与えた雄牛 (T11, 試料中のリン酸タイロシン濃度: 11 ppm) と、未混合飼料を与えた雄牛 (CON) について実施した。各条件の雄牛について、以下の経過日数にふん便試料を採取した; 0, 14, 49, 84, 113, 141, 169, 197, および225日。なお、197日以降はT11への抗生物質の使用を中止した。経過日数ごとに、採取したふん便試料について腸球菌を計数した。通常を選択培地に加えて、エリスロマイシンとタイロシンの濃度がそれぞれ、8, 32 µg/mLに調節した選択培地 (BEA<sup>E</sup>, BEA<sup>T</sup>) を使用して、エリスロマイシン耐性 (ery<sup>R</sup>) とタイロシン耐性 (tyl<sup>R</sup>) 腸球菌を併せて計数した。各選択培地から菌株を単離し、*groES-EL* 領域の配列情報から、腸球菌種を同定した。同定した腸球菌株について、薬剤感受性試験とマクロライド耐性遺伝子 (*ermB*) の有無を判定し、PFGE法によって遺伝子型の類似性を評価した。

調査期間におけるT11とCONのふん便中の腸球菌数は、 $10^3 \sim 10^5$  CFU/gの範囲で推移した。T11におけるふん便中のery<sup>R</sup>とtyl<sup>R</sup>腸球菌の割合は増加し、113, 141, 169, および197日では、CONと比較して有意に高かった ( $P < 0.001$ )。その一方で、使用を中止した28日後 (225日) のery<sup>R</sup>とtyl<sup>R</sup>腸球菌の割合は、197日と比較して減少し、CONと有意差は認められなかった ( $P > 0.05$ )。各選択培地から単離した519株の菌種を同定したところ、83.0% (431株) が *Enterococcus hirae* であった。BEA<sup>E</sup>とBEA<sup>T</sup>から単離した98株の *E. hirae* について薬剤感受性試験を実施した結果、エリスロマイシンとタイロシンに対して耐性を示した菌株はそれぞれ、42株と69株であった。このうち、*ermB* 遺伝子を保有した *E. hirae* 69株の遺伝子型を取得したところ、投与開始前 (0日) と開始後の遺伝子型は極めて類似した。以上のことから、リン酸タイロシン投与の有無によって、マクロライド耐性腸球菌は増減するものの、一部の耐性菌は既に腸管内に定着していることが明らかとなった。

## (2) Inter-population comparisons of copper resistance and accumulation in the red seaweed, *Gracilariopsis longissima*

Brown, M. T., Newman, J.E. and Han, T.

Ecotoxicology, **21**(2), 591-600 (2012).

Reviewed by S. Hirayama

水生生物の中には、同一種の個体であっても生息地点の金属汚染度の変化によって金属に対する耐性に違いを生じる生物が存在する。現在までに、沿岸域の主要な一次生産者である海藻について、同一種の個体間での金属に対する耐性の変化を調査した研究例は見当たらない。そこで本研究では、銅濃度の異なる地点から採取した紅藻 *Gracilariopsis longissimi* の銅に対する耐性と銅の蓄積・放出能力を室内実験ならびに現地実験によって調査した。供試生物の *G. longissimi* は、イギリス南西の Mylor, St. just, Flushing, Helford, および Chesil の 5 地点から採取した。7 日間で 15 日間で室内実験を実施した。7 日間の室内実験は、4 月と 10 月の 2 回実施し、5 地点から採取した個体を対照区と 5 濃度区の銅試験液に暴露して相対生長率を算出した。さらに、相対生長率から NOEC, LOEC, EC<sub>50</sub>, および EC<sub>20</sub> を算出した。15 日間の室内実験では、最初の 7 日間、Mylor と Helford から採取した個体を銅濃度 100 µg/L の試験液に暴露し、7 日目に銅の蓄積量を測定した。その後の 8 日間は、銅無添加の培地で培養し、0, 1, 5, および 8 日目に培地中の銅濃度を測定した。一方、現地実験では、Mylor と St. Just から採取した個体を Mylor と St. Just の 2 地点に、それぞれ移植して 30 日間培養し、実験終了後に銅の蓄積量を測定した。

10 月に実施した 7 日間の室内実験では、すべての濃度区において、5 つの個体間で相対生長率に違いは認められなかった。影響濃度を算出した結果、EC<sub>50</sub> と EC<sub>20</sub> は、4 月の実験でそれぞれ 31.1 と 12.6 µg/L, 10 月の実験でそれぞれ 25.8 と 11.3 µg/L と算出され、実験の実施期間で有意な違いは認められなかった。15 日間の室内実験において、銅濃度の高い Mylor と銅濃度の低い Helford で採取した各個体の 7 日目の銅蓄積量は、それぞれ 231 と 216 µg/g と見積もられ、両者に有意な違いは認められなかった。その後、銅無添加の培地で 8 日間培養したところ、培地中の銅濃度は、どちらも 8 日目に約 6 µg/L に上昇した。現地実験において、Mylor と St. Just から採取した個体の 30 日間での銅蓄積量は、Mylor で培養した場合、それぞれ 16.3 と 16.5 µg/g, St. Just で培養した場合、それぞれ 6.2 と 4.7 µg/g であった。このことから、同一種の個体間に違いは認められず、銅濃度の高い Mylor で培養した場合に蓄積量が高くなる傾向を示した。以上の結果から、*G. longissimi* の銅に対する耐性と銅の蓄積・放出能力は、同一種の個体間で変化しないことがわかった。