

第 228 回雑誌会

(Sep. 2, 2015)

(1) Horizontal transfer of antibiotic resistance from *Enterococcus faecium* of fermented meat origin to clinical isolates of *E. faecium* and *Enterococcus faecalis*

Jahan, A., Zhanel, G. G., Sparling, R. and Holley, R. A.

International Journal of Food Microbiology, **199**, 78-85 (2015).

Reviewed by M. Nishiyama

食物連鎖は、動物とヒトとの間で薬剤耐性菌が感染・拡散する潜在的な経路のひとつとして考えられている。特に、ハムやソーセージ等の未加熱の発酵食肉は、動物の腸管内に存在する薬剤耐性菌をヒトが直接摂取するため、感染が懸念されている。そこで本研究では、発酵食肉と臨床から分離した腸球菌の遺伝子学的関連性を調査し、耐性遺伝子の伝達性を評価した。供与菌は発酵食肉から分離した17株のテトラサイクリン耐性腸球菌 (*E. faecalis* ; n=11, *E. faecium* ; n=6)、受容菌は臨床から分離した9株のテトラサイクリン感受性多剤耐性腸球菌 (*E. faecalis* ; n=3, *E. faecium* ; n=6) とした。テトラサイクリン耐性遺伝子の水平伝播は、plate mating法による*in vitro* 接合実験を実施し、供与菌に対する接合完了体の割合 (transconjugants/donor, T/D) によって伝達性を評価した。また、PCR法によって薬剤耐性遺伝子を検出し、水平伝播に関わるプラスミドの解析を実施した。さらに、試験に供した供与菌と受容菌についてPFGE法を実施し、分離菌株間における遺伝子型の類似性を評価した。

plate mating法によるテトラサイクリン耐性遺伝子の伝達性を評価した結果、供与菌17株のうち、1株 (*E. faecium* S27) のみの遺伝子伝達が確認された。受容菌として使用した9株の臨床分離株のうち、*E. faecium* S27から伝播が確認された菌株は*E. faecalis* 82916と*E. faecium* 83056の2株であり、その伝達性はそれぞれ 1.1×10^6 T/D, 2.1×10^5 T/Dであった。接合完了体について、薬剤耐性遺伝子をPCR法によって検出したところ、いずれも*tet(M)*が検出され、*E. faecalis* 82916からは*aadA*も検出された。そこで、接合完了体のプラスミドを解析した結果、プラスミド上には*tet(M)*の存在は確認されなかった。また、*aadA*の伝播は、クラス1インテグロンの有無と関係しているため、これらの耐性遺伝子の水平伝播は、インテグロンを経由して生じていると推察された。試験に供した各菌株における遺伝子型の類似性を評価した結果、14株の*E. faecalis*は類似度25%以上で8つのクラスターに分類された。同様に、12株の*E. faecium*においても、類似度55%で2つのクラスターに分類され、発酵食肉と臨床から分離した腸球菌株との間には遺伝子学的関係性は認められなかった。以上のことから、発酵食肉に存在する腸球菌の一部は、院内感染の原因菌となる腸球菌に対して、インテグロンによって耐性遺伝子を水平伝播できることが明らかとなった。

(2) Toxicological effects of metal-EDTA/NTA complex formation in a synthetic medium on the macroalga *Gracilaria domingensis*

Mendes, L. F., Zambotti-Villela, L., Simas-Rodrigues, C. and Colepicolo, P.

Journal of Applied Phycology, **27**(3), 1307-1314 (2015).

Reviewed by S. Hirayama

家庭や工場から排出されるエチレンジアミン四酢酸 (EDTA) やニトリロ三酢酸 (NTA) 等のキレート剤は、水環境中の重金属類と反応し、化学形態を変化させることが知られている。しかしながら、キレート剤と錯体を形成した金属が海藻に及ぼす毒性を詳細に調査した研究例は少ない。そこで本研究では、人工海水中において EDTA ならびに NTA と錯体形成した金属の紅藻 *Gracilaria domingensis* に及ぼす毒性を検討した。試料は、人工海水にキレート剤のみを添加した溶液と、キレート剤と各金属 (カドミウム, 銅, 亜鉛, および鉛) 溶液を混合した溶液を調整した。キレート剤のみを添加した溶液は、EDTA について 0.027~16.4 mmol/L, NTA について 0.50~45.5 mmol/L のそれぞれ 8 濃度区を設定した。一方、キレート剤と各金属溶液を混合した溶液は、EDTA と NTA について、対照区を含む 4 濃度区をそれぞれ設定し、所定濃度 (0.053~0.65 mmol/L) の各金属溶液と混合して調整した。試験は、切断した *G. domingensis* の頂部と調整した試験溶液をフラスコ内で暴露し、48 時間暴露後の湿重量の変化から、1 日当たりの生長率 (DGR) を算出した。

G. domingensis に対する EDTA ならびに NTA の毒性を調査した結果、キレート剤濃度の増加に伴って、DGR は減少する傾向を示した。DGR から半数阻害濃度 (IC₅₀) を算出したところ、EDTA と NTA の IC₅₀ は、それぞれ 8.9 と 26.5 mmol/L であり、EDTA の毒性は、NTA と比較して約 3 倍強かった。次に、各金属溶液に異なる濃度のキレート剤を添加して *G. domingensis* を暴露したところ、すべての金属溶液において、EDTA 濃度の増加に伴って DGR は上昇する傾向を示した。NTA を添加した場合についても、Cd, Zn, および Pb 溶液で EDTA 添加の場合と同様の傾向が認められた。Cd 溶液中 (0.053 mmol/L) における化学種の存在割合を調査したところ、Cd²⁺は、EDTA 無添加の場合に 0.26%であったのに対し、最も高い EDTA 濃度 (0.45 mmol/L) では 0.0001%未満に低下した。この変化は、すべての金属溶液中で認められた。そのため、キレート剤濃度の増加に伴う DGR の上昇は、藻類に対して強い毒性を有する無機の金属イオンの減少によって引き起こされた可能性が高い。以上の結果から、キレート剤の EDTA と NTA は、人工海水中で金属イオンと結合し、海藻の *G. domingensis* に対する重金属類の毒性を低減することが示唆された。