

第 237 回雑誌会

(Nov. 25, 2015)

(1) Characterization of fecal vancomycin-resistant enterococci with acquired and intrinsic resistance mechanisms in wild animals, Spain

Lozano, C., Gonzalez-Barrio, D., Camacho, M. C., Lima-Barbero, J. F., de la Puente, J., Höfle, U. and Torres, C.

Microbial Ecology, doi 10. 1007/s00248-015-0648-x (2015).

Reviewed by M. Nishiyama

腸球菌は、環境中への高い適合性を有し、様々な薬剤耐性遺伝子を獲得できることが知られている。その中でも、バンコマイシン耐性腸球菌 (vancomycin-resistant enterococci, VRE) には、獲得耐性と自然耐性が存在し、両面の特徴からVREを評価する必要がある。そこで本研究では、多様な環境中に生息する異なる野生動物から菌株を分離し、VREの存在実態を調査した。試料は、スペインの異なる地域に生息する野生動物の総排泄腔、または直腸を対象とし、合計348試料採取した：イノシシ81試料、鳥類267試料 (アカアシイワシャコ127試料、コウノトリ81試料、アカトビ59試料)。試料採取後、バンコマイシンを添加した腸球菌選択培地を使用して菌株を単離し、生化学性状試験とPCR法によって、菌種を同定した。菌種同定後、バンコマイシンを含む12種類の薬剤感受性試験を実施し、19種類の薬剤耐性遺伝子の検出を試みた。また、バンコマイシン耐性遺伝子の保有を確認した菌株について、各病原性遺伝子を検出した。さらに、MLST (multi-locus sequence typing) を実施し、野生株と臨床分離株との疫学的関連性を評価した。

野生動物から採取した348試料のうち、97試料 (27.9%) からVREが検出された：イノシシ4試料 (4.9%)、アカアシイワシャコ10試料 (7.9%)、コウノトリ38試料 (46.9%)、アカトビ42試料 (71.2%)。このうち、イノシシから採取した1試料のみ、獲得耐性であるvanA保有VREが検出された。この試料から分離された菌株は、*Enterococcus faecium*であり、水平伝播に関わるトランスポゾンであるTn1546にvanAがコードされていた。さらに、MLSTによって評価した結果、臨床分離株との関連性は認められず、新規のST (Sequence Type) に分類された (ST993)。このことから、野生動物の腸管内に存在する腸球菌に、vanAの伝播が確認された。その一方、VREが検出された97試料のうち、96試料から自然耐性のVREである*Enterococcus gallinarum*と*Enterococcus casseliflavus*がそれぞれ、89株と7株検出された。また、大部分の*E. gallinarum*は、テトラサイクリンとエリスロマイシンのいずれかに対して耐性を示し、それぞれ66.3%と46.1%であった。以上のことから、獲得耐性であるvanA保有VREは、自然環境のみならず、生息する野生動物にまで普及しており、世界中に拡散する可能性が考えられた。

(2) Metal accumulation and toxicity measured by PAM-Chlorophyll fluorescence in seven species of marine macroalgae

Baumann, H. A., Morrison, L. and Stengel, D. B.

Ecotoxicology and Environmental Safety, **72**(4), 1063-1075 (2009).

Reviewed by S. Hirayama

近年、フィールド調査において、植物の光合成能の評価にパルス変調クロロフィル蛍光分析が使用されており、汚染物質の毒性評価への応用も期待されている。しかしながら、パルス変調クロロフィル蛍光を利用した海藻への毒性評価に関する定量的なデータは乏しい。そこで本研究では、7種の海藻を供試生物として、パルス変調クロロフィル蛍光による金属の毒性評価と金属蓄積量の測定を室内実験で実施し、毒性と金属蓄積量の関係性を調査した。供試生物の海藻は、褐藻門2種(*Ascophyllum nodosum* と *Fucus vesiculosus*)、緑藻植物門2種(*Ulva intestinalis* と *Cladophora rupestris*)、および紅色植物門3種(*Chondrus crispus*, *Palmaria palmata*, および *Polysiphonia lanosa*)とした。試験水は、5種類の金属(Cu, Cr, Zn, Cd, Pb)を0, 0.1, 1, および10 $\mu\text{mol/L}$ の各4濃度区に調整し、藻体を14日間暴露して試験を実施した。パルス変調クロロフィル蛍光は、試験開始時と4, 7, および14日目に測定し、各測定日の量子収量値を算出して毒性を評価した。藻体への金属蓄積量と培地中の金属濃度は、試験終了後に測定した。

10 $\mu\text{mol/L}$ のCuとCdに暴露された藻体の量子収量値は、海藻種によって違いが認められ、両物質に対して影響が認められた海藻種は、*P. palmata*のみであった。10 $\mu\text{mol/L}$ のCrとZnに暴露された藻体の量子収量値は、すべての供試生物において、4日目に0まで低下した。その一方で、いずれの海藻種に対しても、試験期間を通してPbの影響は認められなかった。藻体への金属蓄積量を測定した結果、10 $\mu\text{mol/L}$ の金属溶液に暴露した場合のCu, Zn, およびPbの蓄積量は、*U. intestinalis*で最も高く、1~27 $\mu\text{mol/g}$ と算出された。Cu, Cr, Cd, およびPbの蓄積量は、10 $\mu\text{mol/L}$ の金属溶液に暴露された場合にすべての海藻種において、最も高くなる傾向を示した。これに対して、Znは10 $\mu\text{mol/L}$ に暴露された場合と比較して、0~1 $\mu\text{mol/L}$ に暴露された場合にすべての海藻種で、蓄積量が高くなった。この要因として、10 $\mu\text{mol/L}$ のZnに暴露された藻体は、4日目までに死滅し、その後の10日間に暴露液中へZnを放出したためと考えられた。14日目の量子収量値と金属蓄積量の間関係を調査したところ、両者の関係は海藻種ならびに金属種によって変化し、両者に一般的な関係性は認められなかった。

(3) Population structure of *Cladophora*-borne *Escherichia coli* in nearshore water of Lake Michigan

Byappanahalli, M. N., Whitman, R. L., Shively, D. A., Ferguson, J., Ishii, S., Sadowsky, M. J.

Water Research, **41**, 3649-3654 (2007).

Reviewed by Y. Ota

近年、緑藻シオグサ属植物である *Cladophora* から大腸菌が高濃度で検出されることが報告されている (10^4 CFU/g)。しかしながら、既往の研究では、サンプル数が少なく、地理的、空間的情報が不十分であるため、*Cladophora* と大腸菌数の関連性は明らかになっていない。そこで本研究では、*Cladophora* 中に存在する大腸菌の地理的・空間的変化を明らかにし、ヒト・動物由来の大腸菌との類似性を比較した。試料は、ミシガン湖に設置されている防波堤を基点として、右岸（水路側）と左岸（ミシガン湖側）の2地点から *Cladophora* を採取した。調査は、2003年5月～8月の期間において、月ごとに5サンプル採取した。また、*Cladophora* 中の大腸菌は mTEC 培地を用いて計数し、各サンプルの単離株（879株）は、Horizontal fluorophore-enhanced rep-PCR（HFERP）を用いて遺伝子型を取得した。さらに、得られた遺伝子型は、ヒトならびに動物由来である大腸菌の遺伝子型とともに、系統樹解析、ジャックナイフ分析、および MANOVA 分析に供し、遺伝子型間の類似性を評価した。

各サンプル中の大腸菌数は、ミシガン湖側 (2.55 ± 0.1 CFU/g, $n=417$) と比較して、水路側から高濃度 (3.09 ± 0.12 CFU/g, $n=418$) で検出された。HFERP によって、*Cladophora* から単離された大腸菌 879 株から 357 通りの遺伝子型が取得され、系統樹解析によって 13 のグループに分類された。また、大腸菌の遺伝子型は、地点ごとに固有の遺伝子型が高い割合で一致した（水路；79%，ミシガン湖；80%）。一方で、水路側とミシガン湖側で共通の遺伝子型を持つ大腸菌の割合は低かった（20%）。このことから、大腸菌は、地点ごとに特異な遺伝子型を有することが明らかとなった。また、MANOVA 分析によって、*Cladophora* 中の大腸菌とヒト・動物由来の大腸菌との遺伝子型を比較した結果、類似性は認められなかった。以上のことから、大腸菌の起源は明らかにされなかったが、*Cladophora* 中の大腸菌は、地点ごとに固有の遺伝子型を有することが明らかとなった。