

第 311 回雑誌会

(Dec. 7, 2018)

(1) Spatial and temporal variation in enterococcal abundance and its relationship to the microbial community in Hawaii beach sand and water

Henglin, C., Kun, Y., Eulyn, P. and Tao, Y.

Applied and Environmental Microbiology, 3601-3609 (2013).

Reviewed by T. Kuroda

海洋環境に存在する腸球菌の多くは、ヒトや温血動物由来であることからふん便汚染を評価する指標として用いられる。しかし、一部の腸球菌は、自然由来の細菌群集の一種であることから、ふん便指標細菌の妥当性が懸念されている。そこで本研究では、砂浜と海水に存在する腸球菌と細菌叢の空間分布、および時間的変動を調査・比較した。調査は 2 段階に分けて実施した。2011 年 11 月において、オアフ島に位置する 23 のビーチから砂試料と海水を採取し、腸球菌数を測定した。そして、腸球菌が高濃度に検出された都市部と農村部のビーチをそれぞれ 1 地点選定した。また、選定されたワイアラエビーチ（都市部）とクアロエビーチ（農村部）を対象として、2012 年 3 月 19 日から 5 月 7 日の期間において、毎週 1 回（合計 8 回）のモニタリング調査を実施した。砂試料は、後浜、波打ち際、および海底から採取した。海水試料は、砂を採取した海底直上の表層から採取した。採取した砂と海水について、細菌数（腸球菌、大腸菌、従属栄養細菌、ビブリオ属菌、ウェルシュ菌）を測定した。また、各試料から DNA を抽出し、次世代シーケンサーによって、16s rRNA 遺伝子を対象とした菌叢解析を実施した。得られた菌叢解析の結果を用いて、多次元尺度構成（MDS）法によって、細菌叢の相対存在量を試料採取地点間で比較し、空間分布、および時間的変動を調べた。

ワイアラエビーチにおける腸球菌は、後浜（263.0 CFU/100 g）において最も高濃度に検出された。次いで、波打ち際（50.1 CFU/100 g）、海底（46.8 CFU/100 g）、海水（12.0 CFU/100 g）であった。クアロエビーチからも、後浜において、腸球菌が高濃度に検出された。そして、腸球菌の濃度は、全試取地点において、ビブリオ属菌と有意な相関関係を示した（ < 0.001 ）。また、菌叢解析によって各試料から細菌が同定された：後浜 196 種類、波打ち際 135 種類、海底 143 種類、海水 103 種類。腸球菌が高濃度に検出された後浜は、他の採取地点と比較して、多種多様な細菌が存在していることがわかった。後浜における種の多様性（4.28）と種の均一性（0.80）も、他の地点と比較して高かった。そこで、MDS を実施した結果、後浜は、調査期間において細菌叢の大きな変動が確認されなかった。以上のことから、オアフ島のビーチには、細菌群集の一部として、自然由来の腸球菌が存在していることが示唆された。

(2) Abundances and profiles of antibiotic resistance genes as well as co-occurrences with human bacterial pathogens in ship ballast tank sediments from a shipyard in Jiangsu Province, China

Lv, B., Cui, Y., Tian, W., Li, J., Xie, B. and Yin, F.

Ecotoxicology and Environmental Safety, **157**, 169-175 (2018).

Reviewed by H. Shimizu

近年、水環境における薬剤耐性遺伝子（ARGs）やヒト病原細菌（HBPs）の拡散が問題となっている。船舶の安全航行に必要なバラスタタンク内のバラスタ水においても ARGs や HBPs が存在することが報告されている。しかしながら、バラスタタンク内の堆積物において、ARGs や HBPs を調査した事例は極めて少ない。そこで本研究では、qPCR 法と次世代シーケンシング（NGS）法によってバラスタタンク内の堆積物中に存在する ARGs と HBPs の検出を行った。さらに、ARGs と HBPs との関係性を検討した。堆積物試料は、中国江蘇省江陰市の海上船 9 隻のバラスタタンク内からそれぞれ 2.0 kg ずつ採取した。全試料から DNA 抽出後、10 種類の ARGs (*ermB*, *mefA*, *sul1*, *sul2*, *tetM*, *tetQ*, *aadA1*, *strB*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{TEM}*), インテグロン (*int11*), および 16S rRNA 遺伝子を qPCR 法によって定量した。また、全試料を対象に、16S rRNA 遺伝子を標的とした NGS 法によって遺伝子解析を実施した。さらに、ARGs と HBPs の相関関係を調べるために、ネットワーク解析を実施した。

qPCR 法を行った結果、全試料から対象とした全ての ARGs が検出された。その中でも、*sul1* と *sul2* の濃度が比較的高く、それぞれ 8.36×10^7 – 1.61×10^9 copies/g と 2.55×10^7 – 4.31×10^8 copies/g の範囲で検出された。また、*int11* は 1.73×10^8 – 3.86×10^9 copies/g の範囲で検出され、*sul1*, *sul2*, *tetM*, および *bla_{CTX-M}* に対して有意な正の相関を示した ($p < 0.05$)。これは、*int11* が上記の ARGs の増加に寄与していることが考えられる。NGS 法で分析したところ、44 種の HBPs が検出された。*Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Enterococcus hirae*, *Shigella sonnei*, および *Bacillus anthracis* が主要な HBPs であり、検出された病原細菌の 64.5% を占めた。そこで、ネットワーク解析を実施した結果、2 種類の ARGs (*sul1*, *sul2*) が 6 種類の HBPs (*B. subtilis*, *E. hirae*, *Citrobacter koseri*, *Streptococcus agalactiae*, *B. anthracis*, *Salmonella typhimurium*) に対して有意な正の相関を示した ($p < 0.05$)。以上のことから、バラスタタンク内の堆積物中には ARGs や HBPs が存在しており、公衆衛生向上のためには、バラスタタンク内の堆積物の適切な管理が必要であると示唆された。