

第 343 回雑誌会  
(Oct. 26, 2020)

**(1) Microbiological safety and antibiotic resistance risks at a sustainable farm under large-scale open-air composting and composting toilet systems**

Liu, N., Xu, L., Han, L., Huang, G. and Ciric, L.

Journal of Hazardous Materials, **401**, (2020).

Reviewed by T. Horita

近年、堆肥中の病原細菌や抗生物質耐性細菌（ARB）に関する研究が注目されている。しかしながら、人間と動物の排泄物を堆肥化する処理方式を同時に分析し、持続可能な生態系農場における病原細菌と ARB のリスクを評価した研究は極めて少ない。そこで本研究では、動物の排泄物を堆肥化する大規模な屋外堆肥化システムと、人間の排泄物を堆肥化するコンポストトイレシステム（CT システム）を用いた持続可能な生態系農場において、病原細菌と ARB のリスクを評価した。ロンドンの農場を調査対象とし、屋外堆肥化システムと CT システムによって生産されたそれぞれの堆肥とそれらの堆肥を用いて育成された野菜、屋外堆肥化システムで堆肥化される家畜ふん尿、植栽地と放牧地の土壌、および灌漑用の雨水など合計 21 サンプルを採取した。病原大腸菌と腸球菌の選択培地には、それぞれエオシンメチレンブルー寒天培地と胆汁エスクリン寒天培地を使用した。また、Clinical and Laboratory Standards Institute に記載されている細菌の最小阻害濃度（MIC）の最大値に従って、アモキシリン（AMX）32 mg/L、テトラサイクリン（TC）16 mg/L、および AMX32 mg/L と TC16 mg/L を添加した R2A 培地で培養し、サンプル中の AMX 耐性、TC 耐性、および AMC-TC 耐性の腸球菌を計数した。さらに、R2A 培地で単離した薬剤耐性腸球菌について、16S rRNA 遺伝子シーケンシングによって菌種を同定した。

病原大腸菌と腸球菌は、家畜のふん尿と土壌で多く確認され、土壌よりも家畜ふん尿中が多くなる傾向にあった。一方で ARB はふん尿よりも土壌で多く確認された。AMX 耐性菌が土壌、堆肥、および野菜から多く計測された。屋外堆肥化システムにより、病原大腸菌と腸球菌の数は減少したが、反面 ARB 数は大幅に増加した。一方で CT システムでは、ARB 数が屋外堆肥化システムよりも減少したものの、病原大腸菌と腸球菌がほとんど減少せず、病原大腸菌は、 $2.7 \times 10^8$  CFU/g と基準値である  $2.0 \times 10^6$  CFU/g を大幅に超過した。抗生物質耐性率は、栽培地より野菜が高いことから、耐性菌が植物の根を介して、植物内部における抗生物質耐性の形成・発達を誘導している可能性が示唆される。また、放牧地の土壌と野菜から同一菌種の耐性腸球菌が検出され、AMX と AMX-TC に対する耐性が類似した。これらの調査結果から、農場における堆肥の使用は、抗生物質耐性の拡散と人間の健康に被害をもたらすリスクがある。

## (2) Chlorine disinfection increases both intracellular and extracellular antibiotic resistance genes in a full-scale wastewater treatment plant

Liu, S., Qu, H., Yang, D., Hu, H., Liu, W., Qiu, Z., Hou, A., Guo, J., Li, J. and Jin, M.  
Water Research, **136**, 131-136, (2018).

Reviewed by S.Tamai

都市下水処理場 (UWWTP) には、抗菌薬や多様な細菌が、病院、家庭、および畜産場からの排水を通じて合流するため、細菌の薬剤耐性の獲得や ARB を蔓延させている可能性がある。その対策として、UWWTP では、ARB や薬剤耐性遺伝子 (ARG) を除去・不活化させるため、二酸化塩素 (ClO<sub>2</sub>) などによる消毒が行われている。しかしながら、ClO<sub>2</sub> 消毒によって、死滅した ARB から放出された DNA に含まれる ARG の拡散を招く可能性が報告されている。そこで本研究では、核酸吸着粒子 NAAP (水酸化アルミニウムで被膜されたシリカ) を用いた濃縮法によって、UWWTP から採取された水試料の細胞外 ARG (eARG) と細胞内 ARG (iARG) の動態を 1 年間にわたって調査した。調査は 2016 年に実施し、中国天津市の UWWTP から ClO<sub>2</sub> 消毒前後の水試料を採取した。細胞内 DNA は Bacterial DNA Kit を用いて抽出した。細胞外 DNA は、水試料を NAAP カラムに通水させ、カラムからの溶出後、イソプロパノール沈殿によって回収した。DNA 抽出後、qPCR 法によって 22 種類の ARG の検出・定量を行った。また、スピアマンの相関分析によって、ARG の濃度と ClO<sub>2</sub> 消毒後の水質との関係について調査した。

qPCR 法によって 22 種類の主要な ARG について調査した結果、ClO<sub>2</sub> 消毒後に、eARGs および iARGs の濃度が上昇することが確認された。具体的には、マクロライド (*ermB*)、テトラサイクリン (*tetA*, *tetB*, *tetC*)、スルホンアミド (*sul1*, *sul2*, *sul3*)、β-ラクタム (*ampC*)、アミノグリコシド (*aph(2')-Id*)、リファンピシン (*katG*)、バンコマイシン (*vanA*) の eARG 濃度が、ClO<sub>2</sub> 消毒後に増加した。一般的に、ARB から放出された eARG は、ClO<sub>2</sub> 消毒によってさらに分解されるはずであるが、今回の結果から、上記の ARG は ClO<sub>2</sub> に対して耐性があることが示唆された。また同様に、いくつかの iARG についても ClO<sub>2</sub> 消毒後に増加が確認された。これは、不十分な ClO<sub>2</sub> 投与によって、プラスミドの複製や細菌間での接合伝達の促進が考えられた。さらに、相関分析の結果、eARG の濃度は、ClO<sub>2</sub> 処理前の大腸菌の存在量と正の相関を示した。一方の iARG 濃度は、アンモニウムイオン濃度と正の相関を示し、温度と負の相関を示した。本研究は、ClO<sub>2</sub> 消毒によって iARGs と eARGs の存在量が増加し、環境における ARB の拡散のリスクをもたらす可能性を示唆している。