

第 353 回雑誌会

(Jun. 18, 2021)

(1) β -lactam resistance genes in bacteriophage and bacterial DNA from wastewater, river water, and irrigation water in Washington State

Zhang, A., Call, D., Besser, T., Liu, J., Jones, L., Wang, H., Davis

Water Research, **161**, 335-340, (2019).

Reviewed by S.Tamai

基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌の蔓延は、国際的な問題となっている。中でも CTX-M 型酵素は最も検出頻度が高く、2007 年のアメリカでは、地理的に分散した 15 の医療機関の 80% から *bla*CTX-M 遺伝子を保有する大腸菌・肺炎桿菌の存在が確認されている。ESBL 産生遺伝子は薬剤耐性プラスミド上に存在し、様々な伝達方法を介して、異なる細菌間に広がり得る可能性があるため対策が必要であるが、その伝達経路は不明である。そこで本研究では、バクテリオファージによって ESBL 産生遺伝子が伝播していると仮説を立て、排水や河川水中に存在するバクテリオファージが ESBL 産生遺伝子を保有しているかの調査を行った。試料として、ワシントン州のヤキマ川から河川水と灌漑用水を合計 82 サンプル採取した。さらに、ヤキマ川に処理水を放出する 2 つの下水処理場から下水流入地点、物理的処理後、および処理水を合計 63 サンプル採取した。採取後、排水サンプル 1 L ならびに河川サンプル 2 L を、ナイロンフィルターで粗ろ過後にタンジェンシャルフローろ過によって 40~50 mL に濃縮した。濃縮サンプルをフィルターによって細菌分画とファージ分画に分け、それぞれ DNA 抽出と精製を行った。

PCR 法によって ESBL 産生遺伝子 (*bla*TEM, *bla*CTX-M, *bla*PSE, *bla*CMY-2) とカルバペネマーゼ耐性遺伝子 (*bla*KPC, *bla*OXA-48, *bla*NDM-1) の存在を調査した結果、全ファージ分画から、*bla*TEM (64.0%), *bla*OXA-48 (57.3%), *bla*PSE (52.8%), *bla*CTX-M (52.2%), *bla*KPC (42.7%), *bla*CMY-2 (38.8%), および *bla*NDM-1 (7.3%) が検出された。一方の細菌分画からは、*bla*OXA-48 (36.8%), *bla*TEM (34.6%), *bla*CTX-M (32.4%), *bla*PSE (32.4%), *bla*CMY-2 (30.8%), *bla*KPC (25.4%) および *bla*NDM-1 (5.4%) が検出された。河川水サンプルは排水サンプルと比較して、各遺伝子の検出頻度が有意に低いことが確認された。また、河川水サンプルでは、細菌分画と比較してファージ分画の各遺伝子の検出頻度が有意に高いことが確認された。一方において、排水サンプルでは細菌分画とファージ分画の各遺伝子の検出頻度に有意な差は見られなかった。本研究によって、ファージが薬剤耐性遺伝子 (ARG) を保持することが確認されたことから、形質導入によって細菌間に ARG が伝播することが示唆された。

(2) Antibiotic and heavy metal resistance in enterococci from coastal marine sediment

Vignaroli, C., Pasquaroli, S., Citterio, B., Cesare, A. D., Mangiaterra, G., Fattorini, D., Biavasco, F.
Environmental Pollution, **237**, 406-413, (2018).

Reviewed by W. Sugiyama

海洋沿岸環境では、病院や都市部の排水に由来する抗生物質耐性（AR）腸球菌が検出されている。また、重金属は農業や工業からの排水によって海洋環境へ拡散しており、海洋堆積物に抗生物質と重金属が蓄積することによって、AR 株の供給源となる可能性がある。本研究では、沿岸海洋堆積物中の AR と重金属耐性の存在実態を調査した。また、堆積物中の重金属の存在と、AR および重金属耐性の関連性を分析し、重金属が AR 腸球菌の選択に与える影響を評価した。調査は、2012 年 3 月から 2013 年 5 月の期間において、アドリア海の海岸 2 地点（海岸 1, 2）と河口 1 地点から堆積物試料を採取した。堆積物中の重金属の Cd と Cu は、原子吸光分析法で測定した。また、Hg は低温蒸気原子吸光分析法で測定した。堆積物中の腸球菌は、Slanetz-BARTley (SB) 寒天培地を用いて計数した。その後、腸球菌陽性株を単離し、ddl 配列を標的とした PCR 法によって種を同定した。次に、腸球菌と同定された株について、8 種類の抗生物質（アンピシリン、クロラムフェニコール、シプロフロキサシン、エリスロマイシン (ERY)、テトラサイクリン (TET)、ストレプトマイシン、バンコマイシン (VAN)、キヌプリスチン/ダルフォプリスチン (Q/D)) と 3 種類の重金属 (Cd, Cu, Hg) に対する最小発育阻止濃度 (MIC) 試験を行った。

堆積物の化学分析の結果、重金属の濃度は Cd が 0.07~0.13 $\mu\text{g/g}$ 、Cu が 1.00~7.64 $\mu\text{g/g}$ であり、Hg は検出されなかった。腸球菌数は各地点において全体的に少なく、海岸 1 と 2 では、それぞれ 0.93 ± 0.62 CFU/g と 2.2 ± 1.8 CFU/g であり、河口では 5.0 ± 6.9 CFU/g であった。腸球菌陽性株の 123 株が PCR 法によって腸球菌と同定され、このうち 48 株 (39%) が抗生物質耐性を示した。全ての地点において、ERY, TET, Q/D 耐性株が検出された。TET 耐性株が最も多く検出されたのに対して、VAN 耐性株は検出されなかった。重金属に対しては、84 株 (68%) の菌株が Cd または Cu に耐性を示したが、Hg 耐性株は検出されなかった。さらに、AR 株の 75% が Cd または Cu に耐性を示した。そこで、重金属と AR の関連性を評価するために、ERY, TET, Q/D 耐性株における Cu または Cd 耐性の割合を地点ごとに算出したところ、河口の Q/D 耐性株と Cu 耐性の間に有意な関連性が確認された。海洋堆積物中の腸球菌における特定の抗菌薬耐性と重金属耐性との有意な関連は、AR 腸球菌の選択に重金属が寄与することを示唆している。