

第 360 回雑誌会

(Aug. 27, 2021)

(1) Isolation and characterization of human pathogenic multidrug resistant bacteria associated with plastic litter collected in Zanzibar

Rasool, F. N., Saavedra, M. A., Pamba, S., Perold, V., Mmochi, A. J., Maalim, M., Simonsen, L., Buurf, L., Pedersen, R. H., Syberg, K., Jelsbak, L.

Journal of Hazardous Materials, **405**, 124591, (2021).

Reviewed by W. Sugiyama

廃棄物管理が不十分な発展途上国においては、環境中のプラスチック汚染が問題となっている。また、水環境中のプラスチックには微生物がコロニー形成していることから、プラスチックが感染症や多剤耐性菌を媒介し、人間の健康に影響を与える可能性がある。しかし、プラスチックの環境中への拡散と病原菌や薬剤耐性菌の蔓延との関連性は解明されていない。そこで本研究では、プラスチックにおける病原菌および多剤耐性菌の関連性を明らかにすることを目的とした。調査は2018年9月にザンジバル諸島ウングジャの農村部4地点で行い、各地点からプラスチック試料を採取した。プラスチック試料は4地点で合計20試料採取した。プラスチック試料は、FTIRによって化学組成を分析した。プラスチックに付着した多剤耐性菌は、4種類の抗菌薬（アンピシリン、シプロフロキサシン、カナマイシン、テトラサイクリン）を添加したLB寒天培地を用いて単離した。また、VibrioChrom寒天培地およびTCBS寒天培地を用いて *Vibrio* 株を単離した。単離した株について、16S rRNA 遺伝子を標的としたPCR法によって同定した。続いて、各単離株について、3種類の抗菌薬（アンピシリン、シプロフロキサシン、カナマイシン）に対する最小発育阻止濃度試験（MIC）を行った。さらに、各単離株からDNAを抽出し、次世代シーケンシング（NGS）法によって抗菌薬耐性遺伝子を特定した。

各試料から単離された多剤耐性株において、*Klebsiella pneumoniae* (2株)、*Enterobacter cloacae* (1株)、*Citrobacter freundii* (6株) が同定された。一方で、*Vibrio cholerae* は1株のみが単離・同定された。なお、単離された株の菌種とプラスチック試料の化学組成の間に関連は見られなかった。また、アンピシリンとシプロフロキサシンに対して全ての *C. freundii* 株が耐性を示した。そして、*K. pneumoniae* 株の1つから16種類の抗菌薬耐性遺伝子が検出された。さらに、*V. cholerae* 株からは複数の抗菌薬耐性遺伝子に加えて、ヒト病原性遺伝子も検出された。今回の調査から、プラスチックごみが多剤耐性菌の供給源として機能し、感染症と多剤耐性菌の伝播に関わる可能性は明らかになった。

(2) Population genomics and antimicrobial resistance dynamics of *Escherichia coli* in wastewater and river environments

Delgado-blas, F. J., Ovejero, M. C., David, S., Montero, N., Calero-Caceres, W., Garcillan-Barcia, P. M., Cruz, F., Muniesa, M., Aanensen, M. D. and Gonzalez-zorn, B.

Communications Biology, 4(457), 2021.

Reviewed by Y. Kato

アミノグリコシドに対する細菌の耐性は、多様なメカニズムによって引き起こされる。アミノグリコシド耐性の原因酵素である 16S-RMTases にはいくつかの酵素 (*armA*, *RmtA-RmtH*, *NpmA*) が含まれており、これらの産生・拡散の重要な貯留地として、下水処理場 (WWTP) や河川などの水環境があげられる。そこで、本研究では、WWTPs および河川から採取した 16S-RMTase を保有する大腸菌のゲノム構造と個体群多様性を解明し、異なる水環境における遺伝子やプラスミドの出現-進化-拡散を明らかにすることを目的とした。バルセロナ地域の河川水と下水から 8 つのサンプルを採取した。試料はセルロース膜 (0.45 μm) でろ過し、ゲンタマイシン (200 mg/l) とアミカシン (200mg/l) 含有 MacConkey 寒天培地で培養した。そして、全陽性株について、MALDI-TOF MS を用いて菌種を同定した。16S-RNTase 遺伝子は PCR 法で検出し、Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) および Multi-locus sequence typing (MLST) によって 16S-RMTase 陽性大腸菌の類似性とクローン性を確認し、全ゲノムシーケンス方法を用いて遺伝子を解析した。

下水と河川水で確認されたアミノグリコシド耐性腸内細菌の中では、大腸菌が最も優勢であった。PFGE の結果から、下水には 2 つのパルスタイプがあり、河川水には 5 つの特徴的なパルスタイプがあることが示された (類似性 \geq 90%)。MLST の解析によって、下水から分離されたほとんど全ての大腸菌は、OXA-48-carbapenemase の産生に関連するシーケンスタイプ (ST) である ST1196 と多剤耐性菌 ST である ST224 の 2 つの主要な ST に属すること、河川からの大腸菌が 6 種類の大腸菌 ST であることがわかった。16S-RMTase 遺伝子は、全ての下水および河川分離株のプラスミドに存在した。WWTPs では、*rmtB* は IncFII プラスミド、特に ST1196 に属する株は IncFII プラスミドタイプ内の pHN7A8 プラスミドに組み込まれており、多剤耐性大腸菌に関連していることがわかった。また、河川水では、*armA* は 4 種類の STs に属していた。以上のことから、下水環境ではプラスミドの変化と拡散が大腸菌の増長と耐性遺伝子の伝播を促進し、特定のプラスミド-ST 結合が生じた。一方、人為的な影響が少なく、環境条件が一定の河川環境における大腸菌の多様化と保有はプラスミドが握っており、遺伝子とプラスミドの関連性が維持されることが示唆された。