

第 373 回雑誌会

(June. 22, 2022)

(1) Persistence of wastewater-associated antibiotic resistant bacteria in river microcosms

Mahaney P. A., and Franklin B. R.

Science of the Total Environment, **819**, 1, (2022)

Reviewed by Y Kato

水生生態系における薬剤耐性菌 (ARB) および薬剤耐性遺伝子 (ARG) の蔓延は、公衆衛生上の懸念事項となっている。これまで、処理済み、未処理の排水および河川などの受入水域から高濃度の ARB および ARG が発見されているが、排水後の受入水域における ARB の生残性と増殖についてはほとんど知られていない。そこで本研究では、河川内の土着細菌群集の生物学的相互作用による排水 ARB の増殖と生残性に及ぼす影響を検討した。河川水試料は、バージニア州リッチモンド市の中心部を流れるジェームズ川の上流から採取し、排水試料は、リッチモンド排水処理施設 (WWTF) から未処理排水と処理排水を採取した。河川水と排水を様々な組み合わせ (河川水のみ、河川水+排水、濾過滅菌河川水+排水) で混合し、シプロフロキサシン (CIP)、バクトリム (SMZ/TMP)、エリスロマイシン (INN) 耐性菌 (従属栄養細菌) の生存数について、72 時間モニタリングする一連の微小生態系実験 (マイクロコズム実験) を行った。従属栄養細菌は、 $t=0, 12h, 24h, 48h, 72h$ に 3 種類の抗菌薬をそれぞれ添加した R2A 寒天培地で培養・計数した。次に、従属栄養細菌については、生存数データ (CFU/mL) を用いて、各抗菌薬に対する薬剤耐性率 (%) を算出し、ARB の生残性を比較した。

河川のみの場合、河川内の土着微生物群集の存在数と薬剤耐性率は低く、CIP に対する耐性は 2%未満であり、SMZ/TMP (~5%) と INN (~8.5%) に対する耐性率は少し高かった。未処理排水を添加した場合、河川水+排水および濾過滅菌河川水+排水の組み合わせにおいて、3 種類の耐性菌における初期の菌数が有意に増加し ($p < 0.03$)、その中で INN 耐性菌が最も増加した。処理排水を添加した場合、未処理排水の場合と比較して、ARB の初期増加は小さく、少なくとも 12 時間のタイムラグを経てから菌数が急増した。SMZ/TMP 耐性菌の割合は 3.8% ($t=0$) から 14.1% ($t=72h$)、INN 耐性菌は 10.0% ($t=0$) から 22.3% ($t=72h$) へとそれぞれ増加し、ARB が経時的に増殖することがわかった。濾過滅菌河川水と各種排水を混合した微小生態系では ARB が激的に多くなり、濾過滅菌していない河川水と各種排水を組み合わせた場合よりも数が 1~2 桁増加した。この結果から、河川内の土着細菌群集と排水由来の微視物群集との生物学的相互作用が ARB の生残性や増殖性に重要な役割を果たすことが示唆された。

(2) Long-Term Persistence of *bla*_{CTX-M-15} in Soil and Lettuce after Introducing Extended-Spectrum β -Lactamase (ESBL)-Producing *Escherichia coli* via Manure or Water

Gekenidis, M. T., Rigotti, S., Hummerjohann, J., Walsh, F., Drissner, D.
Microorganisms 2020, **8**, doi:10.3390/microorganisms8111646 (2020).

Reviewed by T. Horita

細菌感染症の治療を目的として、大量の抗生物質に使用されるようになって以来、薬剤耐性菌 (ARB) および薬剤耐性遺伝子 (ARG) は、あらゆる環境下で検出されるようになった。その中でも生鮮野菜は、生食される頻度が高く、ARB および ARG がヒトに直接伝播すると考えられる。しかしながら、生鮮野菜の栽培過程で播種から収穫に至るまでの ARB および ARG について追跡した研究は少ない。そこで本研究では、レタスの栽培過程において、灌漑水や堆肥を介してレタスに侵入した ESBL 産生大腸菌とそのプラスミドが保有する *bla*_{CTX-M-15} 遺伝子について調査した。調査は、レタスの苗および蒸気処理された土壌を用いてポット内で栽培を行った。プラスミド pEK499 を保有する ESBL 産生大腸菌を混入させた水道水と堆肥をレタス苗に散布した。ESBL 産生大腸菌を、水道水に、低濃度 (10^4 CFU/mL)、高濃度 (10^6 CFU/mL) で添加し、堆肥に 10^8 CFU/mL で添加した。各ポットから、植え付け後 0, 1, 3, 7, 14, 21, 28 日に、土壌とレタスの葉の採取をそれぞれ 3 回行った。さらに、ESBL 産生大腸菌を含む堆肥を散布したポットでは、苗の植え付け 6 週間前に施肥を行い、施肥日から苗の植え付け日まで 1 週間毎に土壌の採取を行った。採取した土壌とレタスの葉は、リン酸緩衝食塩水 (PBS Buffer) で懸濁液を作成し、CHROMagar™ ECC 培地上で 37°C, 24 時間培養後、生育した青色コロニーを大腸菌性陽性株として計数した。培養したコロニーについて、マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計 (MALDI-TOF MS) を用いて、同定を行った。また、DNeasy PowerSoil Kit と DNeasy PowerWater Kit を用いて、土壌とレタスの葉から単離された大腸菌の DNA 抽出物をそれぞれ生成し、*bla*_{CTX-M-15} のコピー数を算出した。

ESBL 産生大腸菌を含む水道水を散布したポットでは、低濃度と高濃度のいずれにおいても植え付け 28 日後までレタスの葉と土壌から *bla*_{CTX-M-15} が検出された。ESBL 産生大腸菌を含む堆肥を散布したポットでは、土壌において、施肥日から植え付け 21 日後まで *bla*_{CTX-M-15} が検出された。一方、レタスの葉からは、植え付け 7 日目以降、*bla*_{CTX-M-15} が検出されなかった。

以上のことから、ESBL 産生大腸菌が灌漑水および堆肥によって生鮮野菜が汚染された後、長きに渡って残留することを示している。