

第 433 回雑誌会
(Jul. 23, 2025)

(1) Microplastic biofilm: An important microniche that may accelerate the spread of antibiotic resistance genes via natural transformation

Wang, H., Xu, K., Wang, J., Feng, C., Chen, Y., Shi, J., Ding, Y., Deng, C. and Liu, X
Journal of hazardous materials, **459**, 132085, 2023.

Reviewed by S. Tamai

マイクロプラスチック (MP) は表面が疎水性であることから、細菌が付着し、バイオフィームが形成されやすい。また、MP には自然形質転換能を有する細菌が付着されやすい可能性が指摘されている。水中に存在する細胞外 DNA は粒子に吸着することで分解されにくくなることから、MP バイオフィームにおける形質転換を介した薬剤耐性遺伝子の伝播の可能性も否定できない。そこで本研究では、MP バイオフィーム中において、自然形質転換能を有する細菌の形質転換の実態を評価した。レシピエント細菌としてグラム陽性菌の *Bacillus subtilis* とグラム陰性菌の *Acinetobacter baylyi*、薬剤耐性プラスミドとして複製機構の異なる 2 種類のプラスミド (pRK415, pUC19) を使用し、形質転換実験を実施した。200 mL の栄養培地にプラスミド、MP、およびレシピエント株をそれぞれ 1 種類ずつ添加し、30°C (*B. subtilis*)、または 37°C (*A. baylyi*) で 72 時間培養した。培養後、抗菌薬入りの培地でバイオフィームから抽出した細菌と浮遊細菌から形質転換体を選択した。MP の種類、サイズ、劣化による形質転換頻度の変化を明らかにするために、大きさの異なる (0.3 mm, 3 mm) ポリプロピレン (PP)、ポリエチレン、ポリスチレン、および UV で劣化させた MP を使用した。また、対照群として石英砂を使用した。さらに、各試料で形質転換頻度が変化する原因を明らかにするために、バイオフィームから RNA を抽出し、qPCR によってバイオフィーム関連遺伝子と細菌の生理活性に関わる遺伝子を定量した。

バイオフィームごとの MP の形質転換頻度は、石英、浮遊細菌と比較して有意に高かった。バイオフィーム内で形質転換が促進される可能性が示唆された。しかし、石英と浮遊細菌では形質転換頻度に有意差がなかったことから、MP が形質転換の場として適していることが推察された。MP の種類による形質転換頻度を比較したところ、PP において最も高く、石英と比較して最大で 1,000 倍に増加した (形質転換頻度, PP : 10^{-3})。形質転換頻度は MP のサイズによっても異なり、0.3 mm の MP において有意に高かった。さらに、劣化した MP の形質転換頻度が有意に上昇することが確認され、新品の PP と比較して、劣化 PP の形質転換頻度は 77 倍になった。RNA 解析の結果、線毛運動、接着、および形質転換能力を向上させる遺伝子の発現量が増加しており、これらの遺伝子が MP バイオフィームでの形質転換頻度の向上に寄与していることが明らかになった。これらの結果は、MP バイオフィームが環境中における薬剤耐性菌の拡散の場となりえることを示唆している。

(2) Antibiotic resistance genes in bacteriophages from wastewater treatment plant and hospital wastewaters

Joana, P., Ricardo, S. and Silvia, M.

Science of The Total Environment, **892**, 164708, 2023.

Reviewed by M. Hayashida

コリスチンやバンコマイシンは抗菌治療の最終手段であり、慎重に使用されているが、それらの抗菌薬に耐性を持つ細菌も確認されている。また、ファージは形質導入によって薬剤耐性遺伝子 (ARGs) を拡散させることから、临床上重要な ARGs の伝播にファージが関連している可能性がある。しかしながら、ファージが保有する临床上重要な ARGs の情報は不足している。そこで本研究では、病院と下水処理場からの環境への ARG の拡散を想定し、病院廃水と流入下水におけるファージの ARGs 保有実態を調査した。水試料は、ポルトガルに位置する 3 つの病院廃水と、その処理水が流入する 5 つの下水処理場から採取した。各試料は中空糸膜ろ過とポリエチレングリコール沈殿によって濃縮後、0.22 μm のフィルターでろ過し、DNase で処理した後に DNA を抽出した。そして、qPCR 法でファージに含まれる临床上重要な ARGs (*bla*_{TEM}, *bla*_{CMY}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M}, *mcr-1*, *mecA*, *vanA*) を定量し、ファージの ARGs 保有率を評価した。さらに、病院廃水と流入下水の ARGs プロファイルを比較し、病院廃水による環境中への ARGs 拡散の影響について検討した。

β ラクタム系抗菌薬に対する ARGs (*bla*_{TEM}, *bla*_{CMY}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M}) は、全ての試料中のファージから高頻度 (40%~85%) かつ高濃度 (10^3 copies/L~ 10^4 copies/L) で検出された。特に、*bla*_{TEM} と *bla*_{SHV} は、病院廃水において他の *bla* 遺伝子よりも高い検出率を示し、病院での抗菌薬の使用が影響していると考えられた。一方、*mcr-1*, *mecA*, *vanA* の検出率は、全ての試料で低く (5%~40%)、比較的低濃度 (検出下限値以下~ 10^3 copies/L) であった。ファージにおけるコリスチン、バンコマイシン耐性遺伝子 (*mcr-1*, *vanA*) の保有は、これまでに報告されておらず、临床上重要な抗菌薬への耐性がファージを介して拡散する可能性が示唆された。また、病院廃水とその廃水が流れ込む下水のファージが保有する ARGs の検出率を比較したところ、両者の間における ARGs の検出率は有意に異なった ($p = 0.01$)。この結果は、下水中の ARGs 保有ファージの主要な供給源が病院廃水だけではないことを示唆しており、抗菌薬の使用量、畜産業の影響、下水集水地域の廃水特性などが複雑に関与していると考えられる。これらの結果から、ファージは病院廃水や下水における ARGs の保存および拡散の重要な輸送体であることが示唆された。本研究は定量的な評価にとどまっており、ARGs を保有するファージの動態解明が今後の課題である。