

第 392 回雑誌会

(May 24, 2023)

(1) Comparison of environmental microbiomes in an antibiotic resistance-polluted urban river highlights periphyton and fish gut communities as reservoirs of concern

Mills, M., Lee, S., Mollenkopf, D., Wittum, T., Sullivan, S. M. P. and Lee, J.

Science of The Total Environment, **851**, 158042, (2022).

Reviewed by K. Tsuda

河川水中に存在する薬剤耐性遺伝子 (ARG) は新興の汚染物質として懸念されている。特に、ヒトの多剤耐性菌の感染症に使用されるカルバペネム系抗菌薬に耐性を示すカルバペネマーゼをコードする遺伝子の一部はプラスミド媒介性であり、接合によって他の細菌に伝播する可能性がある。そこで本研究では、環境マトリックス (水, 堆積物, デトリタス, ペリフェトン, 魚の腸) におけるカルバペネム耐性遺伝子の存在量と細菌叢を比較し, ARG の汚染が最も懸念されるマトリックスを特定することを目的とした。試料は, 2017 年 10 月から 2018 年 8 月の各季節に米国オハイオ州サイオト川流域の 26 地点から採取した。各環境マトリックスから DNA を抽出後, 3 つのカルバペネム耐性遺伝子 (*bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{OXA-48}*) を Droplet Digita™ PCR (ddPCR) で定量した。さらに, 都市部の 9 地点 (9/26 地点) における細菌叢の 16S rRNA 遺伝子を解析し, 採取地点と季節差によるペリフェトン中の微生物群集構造解析を行った。また, 環境マトリックスの生態系動態を推定するために, 解析ソフトウェア PICRUST2 を用いて機能遺伝子存在量の予測解析を行った。

カルバペネム耐性遺伝子は, すべてのマトリックスから検出され, 各検出率は *bla_{KPC}* : 88%, *bla_{NDM}* : 64%, *bla_{OXA-48}* : 22% であった。魚の腸は *bla_{KPC}* と *bla_{NDM}* の濃度が最も高く, ARG の生物濃縮の可能性と, ふん便を介して薬剤耐性が水環境全体に拡散するリスクが示唆された。ペリフェトンは, 他のマトリックスと比較して, *bla_{NDM}* と *bla_{OXA-48}* において濃度が高かった。各マトリックスの細菌叢を比較したところ, 堆積物の α 多様性が最も高く, デトリタスは最も低かった。ペリフェトンの細菌叢の多様性は, 場所よりも季節の変化による影響が大きかった。夏と比較して, 春に細菌属の多様性と濃度が増加した。細菌叢の多様性とカルバペネム耐性遺伝子の関連を統計的に解析したところ, 両者の間に有意な関係は認められなかった。また, PICRUST2 による, 異なる環境マトリックスにおける微生物群の機能は, その役割や場所によって異なり, 堆積物は好気性細菌と嫌気性細菌が混合し, 水とペリフェトンはそれぞれオクタン酸とパルミチン酸生合成する細菌が検出された。ペリフェトンでは, バイオフィルムの安定性に不可欠なパルミチン酸を含むパルミテートの生合成が活発であることがわかった。これらの結果から, 最も懸念されるマトリックスは, ペリフェトンと魚の腸であることが明らかになった。河川における ARG 負荷を推定するためには, 複数のマトリックス中の ARG を考慮することが重要である。

(2) Seasonal distribution and prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* in different aquatic environments in Taiwan

Wen-Chien, H., Bing-Mu, H., Po-Min, K., Chi-Wei, T., Ying-Ning, H., Chun-Wei, K. and Yu-Li, H.

Ecotoxicology and Environmental Safety, **124**, 37-41 (2016).

Reviewed by R. Matsuyama

表流水の糞便汚染問題のうち、病原体の存在はヒトの健康に重大なリスクを与える可能性がある。病原体の存在は、季節や天候による影響を受けることが報告されているが、下痢原性大腸菌 (DEC) の季節的变化に関する知見は少ない。そこで本研究では、台湾の異なる水環境を対象に、DEC である腸管病原性大腸菌 (EPEC), 腸管毒素産生大腸菌 (ETEC), 志賀毒素産生大腸菌 (STEC) の存在と季節分布について調査した。試料は、2013 年 4 月から 2014 年 4 月に、温泉 5 ヶ所、淡水湖 19 ヶ所、河川 12 ヶ所、プーヅ川流域の 34 地点から表流水を採取した。なお、温泉以外の地点は、季節ごとに計 4 回試料採取を行った。水質評価のために、水温、pH、および濁度を測定した。従属栄養細菌数と総大腸菌群数はメンブレンフィルター法によって計数した。また、試料水 1L をフィルター通水し、通水後のフィルターを MacConkey ブロス 10 mL に入れ、37°C で 24 時間培養した。その後、フィルターを取り出して遠心分離し、沈殿したペレットから MagPurix Bacterial DNA Extraction Kit ZP02006 を用いて DNA を抽出した。抽出した DNA は、PCR 法で病原遺伝子 (ETEC : *LT*, EPEC : *eae*, STEC : *stx1*) の保有を確認することで DEC の存在を把握した。また、Mann-Whitney U 検定によって、各水質項目と DEC 検出率の相関を調べた。

383 検体のうち、31.8% (122/383 検体) が DEC として検出された。DEC の検出率は対象とした水域ごとに違いが見られ、淡水湖は 3.3% (2/59 検体)、温泉は 6.1% (5/81 検体)、河川は 36.1% (17/47 検体)、プーヅ川流域は 50% (98/196 検体) であった。プーヅ川流域で DEC が検出率の高かった原因は、生活排水や畜産排水の流入による汚染であると推測される。DEC の種別でみると、EPEC, ETEC, STEC の順に検出率が高かった。また、各季節でみると、全水域において、春季・夏季は秋季・冬季と比較して検出率が高かった。台湾は主に夏に降雨があり、台風や雷雨が発生しやすい天候が影響したと考えられる。また、統計解析の結果、DEC の検出率は、各水域の pH、総大腸菌群数、従属栄養細菌数と有意な関係が見られた。以上の結果から、DEC の検出率は、季節や天候の影響を受け、降雨が多い時期に検出率が高くなる可能性が示唆された。また、水質項目の持続的調査は、DEC 汚染状況の把握に役立つと考えられた。