

※タイトル左のこちらの

枠内は、講演番号欄です

(書込厳禁)

## オキシテトラサイクリン曝露による土壤中の薬剤耐性菌 発現に関する研究

(<sup>1</sup> 九大院生資環, <sup>2</sup> 九大院農, <sup>3</sup> (国研)農研機構 野花研, <sup>4</sup> (同)アグアイ  
シユ)

○香坂拓哉<sup>1</sup>, 益田時光<sup>2</sup>, 木嶋伸行<sup>3</sup>, 石井孝昭<sup>4</sup>, 本城賢一<sup>2</sup>, 宮本敬久<sup>2</sup>

**【目的】**近年、抗生物質の使用によって生じる薬剤耐性菌が問題となっている。圃場においては、植物病害抑制のために農薬としてオキシテトラサイクリン(OTC)が使用されることがある。そこで、OTC 使用によって生じた薬剤耐性菌がヒトへの健康被害を及ぼす要因となりうるのかを調べるために薬剤耐性菌発現状況を明らかにすることを目的とした。

**【方法】**まず、栽培履歴のある3種類の土壌(褐色低地土、黒ボク土、褐色森林土)と0.017% (170 µg/mL) OTC 水溶液を混合し、25°Cで1週間振とう処理した。その後、各土壌の希釈液を、LB、R2A、40 µg/mL OTC 含有 LB (LB+OTC)、またはOTC 含有 R2A (R2A+OTC)の4つの寒天培地に塗抹し、37°Cで48時間培養後、生菌数を測定した。次に、栽培履歴のない土壌(黒ボク土)を加えた4種類の土壌を1または3週間OTC処理し、それぞれの土壌について43~92のOTC耐性分離株を取得し、さらに、OTC未処理土壌については、18~34のOTC耐性分離株を取得した。次に、16S rRNA 遺伝子の一部をPCRにて増幅し塩基配列の決定を行った後、相同性検索を行い、菌種の同定を行った。

**【結果】**土壌中の生菌数はOTCを含まないLB、R2A培地どちらにおいても $10^7\sim 10^8$  CFU/gであり、培地の違いによる生菌数の差は認められなかった。しかし、LB+OTC培地においては約 $10^5\sim 10^6$  CFU/gであったのに対し、R2A+OTC培地では $10^6\sim 10^7$  CFU/gであったことから、R2A+OTC培地ではLB+OTC培地に比べて多数の菌が検出された。また、R2Aを基礎培地として用いた場合、全ての土壌サンプルにおいてOTC処理土壌の方がOTC未処理土壌より薬剤耐性菌の割合が高い傾向であることが認められた。次に、菌種の同定を行ったところ、OTC未処理土壌で多くの割合を占めた*Sphingomonas paucimobilis*はOTC処理により減少したのに対し、*Mesorhizobium amorphae*、*Burkholderia*属はOTC処理により割合が多くなる傾向があった。特に、*M. amorphae*は4種類全ての土壌から検出されたことから、圃場中の薬剤耐性菌発現状況を確認する指標菌となる可能性が示された。