

# 薬剤耐性プラスミドの脱落因子の特定

東京農工大学大学院農学研究院・准教授 石原 加奈子

## ■ 目的

抗菌剤の使用により、薬剤耐性菌が世界的に増加している。食用動物の保有する薬剤耐性菌は動物における抗菌剤の治療効果を低下させるだけでなく、畜産物等を介して人に感染し、患者における抗菌剤の治療効果も低下させる可能性がある。薬剤耐性遺伝子の水平伝達は、他の細菌に同時に多剤耐性を獲得させることができるため、薬剤耐性の拡大に重要な役割を果たしている。本研究では、薬剤耐性遺伝子の水平伝達を担っているプラスミドを脱落させ、薬剤耐性菌を感受性に復帰させる要因を明らかにすることを目的とした。

## ■ 方法

鶏肉由来 *Salmonella enterica* serovar Schwarzengrund および *Salmonella enterica* serovar Infantis 各2株を薬剤耐性菌として用い、薬剤感受性復帰試験を行った。薬剤感受性復帰株の選択方法として、吉川のペニシリンスクリーニング(PS)法のクロラムフェニコールをトリメトプリムに変更して応用した。薬剤感受性復帰を促進させるため、薬剤耐性菌の増殖に負荷をかける条件として、有機酸の乳酸、酢酸および酪酸の添加並びに乳酸菌の培養上清の添加を検討した。改良したPS法を用い、有機酸および乳酸菌の培養上清を添加して培養した薬剤耐性菌における感受性復帰率を測定した。また、得られた感受性復帰株の薬剤感受性を調べた。

## ■ 結果および考察

薬剤耐性菌をトリメトプリム単剤添加培地で培養し、薬剤感受性菌の増殖が抑制された1時間後にアンピシリンを添加し、その後、23時間培養した培養液から感受性復帰株を分離できたが、薬剤感受性復帰候補株には耐性を維持した株も多く混在していた。さらなる改良を行い、アンピシリンを高濃度ペニシリンに変更することで耐性株の増殖を抑制でき、より効率的に感受性復帰株を選択できた。

感受性復帰を誘導するため、乳酸0.1%、酢酸0.05%および酪酸0.1%添加条件で薬剤耐性菌を培養し、アンピシリンを添加したPS法により感受性復帰率を測定したが、感受性復帰株はほとんど得られず、有機酸は、感受性復帰を促進しなかった。

得られた感受性復帰株は、トリメトプリムだけでなくテトラサイクリンおよびストレプトマイシンにも感受性が復帰した株が多く、3剤の薬剤耐性遺伝子を含む薬剤耐性プラスミドが脱落したと考えられ、改良PS法で薬剤耐性プラスミド脱落の評価が行えると考えられた。

薬剤耐性菌の増殖を抑制する乳酸菌3株の培養上清を添加した条件では、感受性復帰率は対照の $10^{-9.50}$ から $10^{-5.78}$ 、 $10^{-7.57}$ と $10^{-8.62}$ へ上昇し、乳酸菌の培養上清は薬剤耐性プラスミドの脱落を促進すると推察された。改良PS法を用いた感受性復帰株の選択は実施に5日間必要であり、高濃度ペニシリンを用いた改良PS法の試験は1回のみの実施となったが、本研究を継続し、より多くの薬剤耐性菌に対する薬剤耐性プラスミドの脱落促進効果が得られるか評価していきたい。

## ■ 結語

薬剤耐性プラスミドの脱落頻度を測定できるPS法の改良法を確立できた。有機酸は薬剤耐性プラスミドの脱落頻度を低下させた。乳酸菌の培養上清は薬剤耐性プラスミドの脱落頻度を上昇させた。