

報告 : Report

## 都市河川における抗生物質耐性大腸菌の存在 Dynamics of antibiotic resistance *Escherichia coli* in urban river

乾継利<sup>1</sup>, 小田瑞樹<sup>1</sup>, 松井一彰<sup>1,2</sup>  
Tsuguri Inui<sup>1</sup>, Mizuki Oda<sup>1</sup> and Kazuaki Matsui<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>近畿大学理工学部社会環境工学科, <sup>2</sup>近畿大学理工学総合研究所  
<sup>1</sup> *Department of Civil and Environmental Engineering, Kindai University*  
<sup>2</sup> *Science and Technology Research Institute, Kindai University*

(Received May 12, 2024)

### 概要

大阪府内を流れる都市河川において、大腸菌とその薬剤耐性細菌の存在実態を知る事を目的とした一ヶ月間の調査を実施した。河川水 100ml あたりから約数十の培養可能な大腸菌が検出され、都市河川には恒常的に大腸菌が存在することがわかった。また抗生物質アンピシリンやテトラサイクリンに耐性を示す大腸菌の割合は、大腸菌群内での耐性細菌の割合よりも高かった。大腸菌は、ヒトを含めた温血動物の腸管内で抗生物質耐性を獲得し、その後何らかの経路をたどって都市河川へと定期的流れこんでいることが考えられる。

### 1. 緒言

細菌による感染症治療の際には、静菌や殺菌を目的に抗生物質を使用する。しかし、病原細菌が抗生物質への耐性を獲得してしまうと、可能だったはずの感染症の治療が困難になってしまう<sup>1)</sup>。このように抗生物質への耐性を示すようになった細菌は、薬剤耐性細菌と呼ばれる。感染性の薬剤耐性細菌に起因する死者は、2013年の1年間で70万人であったが、2019年の調査では1年間に127万人に増えている事が示された<sup>2)</sup>。このまま何も対策を講じないと、2050年には年間1000万人にのぼるという試算も報告されている<sup>3)</sup>。

薬剤耐性細菌は、医療や畜産分野での不適切な抗生物質の使用によって発生し、拡散す

ると言われている。ヒトや愛玩動物の常在細菌も、投薬によって薬剤耐性を獲得している可能性がある。都市においては、薬剤耐性を獲得した常在菌が糞便とともに体外へ排出され、下水道を通過して下水処理場に運ばれると考えられる。しかし、下水道の大部分が合流式で整備されている大都市では、一定量の降雨があると、未処理の汚水が雨水とともに近隣の都市河川に流れ込む<sup>4)</sup>。よって都市の河川中には、人や愛玩動物由来の薬剤耐性細菌が流入している可能性が考えられるが、その実態についてはあまり明らかになっていない。

そこで下水越流が生じる大阪の都市河川を対象に、糞便混入の指標として用いられる大腸菌とその薬剤耐性細菌の存在実態を明らか

にする事を目的に、経日的な調査を実施したので紹介したい。

## 2. 調査方法

平野川は大阪府の柏原市、八尾市、大阪市を流れる都市河川である。採水は2023年の10月17日から11月14日にかけて計10回、平野川大橋の橋上からバケツを用いて行った。毎回の採水時間は午前11時とした。採水地点は合流式下水吐口の数十メートル下流に位置している。採水時には、水質測定器 (Multi 3420、セントラル科学株式会社) を用いて河川水中の溶存酸素量と電気伝導度を測定した。

採水した河川水に含まれる細菌を、直径47 mm 孔径0.45 μmのメンブレンフィルター (メルクミリポア社) 上に吸引ろ過にて捕捉した。ろ過後のメンブレンフィルターを、大腸菌の特定酵素基質培地であるクロモアガーECC (CHROMagar ECC™ 関東化学) 寒天培地上に置き、24時間37°Cで培養した。培養後に形成された青色のコロニーを大腸菌、赤紫色のコロニーを大腸菌群と判定し、計数をおこなった (図1)。

採水毎に3枚のプレートを用いて計数し、その平均値からろ過水量に応じて菌数 (CFU / 100 mL) を算出した。また、抗生物質のアンピシリン (終濃度50 μg/mL) を添加した寒天培地と、同じく抗生物質のテトラサイクリン (終濃度10 μg/mL) を添加した寒天培地でもそれぞれ計数をおこない、各抗生物質への耐性細菌として計数した。

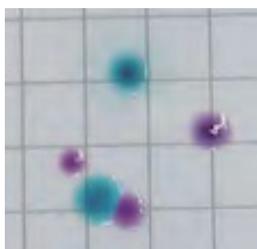


図1 培養後に呈色したクロモアガーECC 寒天培地上のコロニーの様子

## 3. 調査結果

3日おきに1ヶ月間調査した結果、平野川においては、河川水100mLあたり約数十の培養可能な大腸菌と、約1万の培養可能な大腸菌群が検出された (図2A, B)。細菌数を蛍光顕微鏡下で直接計数した2022年の調査では、同場所での河川水100 mLあたりの計数値は $2.4 \sim 4.9 \times 10^8$ であった。河川水中の全細菌中に占める割合は低い、一ヶ月間ほぼ同数の

コロニーが安定して検出されたことから、平野川には、一定数の大腸菌と大腸菌群が、定着または流入していることがわかった。

調査期間中、11月10日の午前6時から20時にかけて1時間あたり0~4.5 mm (総雨量24.5 mm)の断続的な降雨が観測された。11月11日の採水では、その影響と思われる大腸菌数と大腸菌群数の大幅な増加が観察された

(図2A, B)。試料水の溶存酸素量と電気伝導度が低下していたことから (図2C, D)、他の採水日とは水質の異なる水が、河川に流れ込んでいたと考えられた。直ぐ上流にある合流

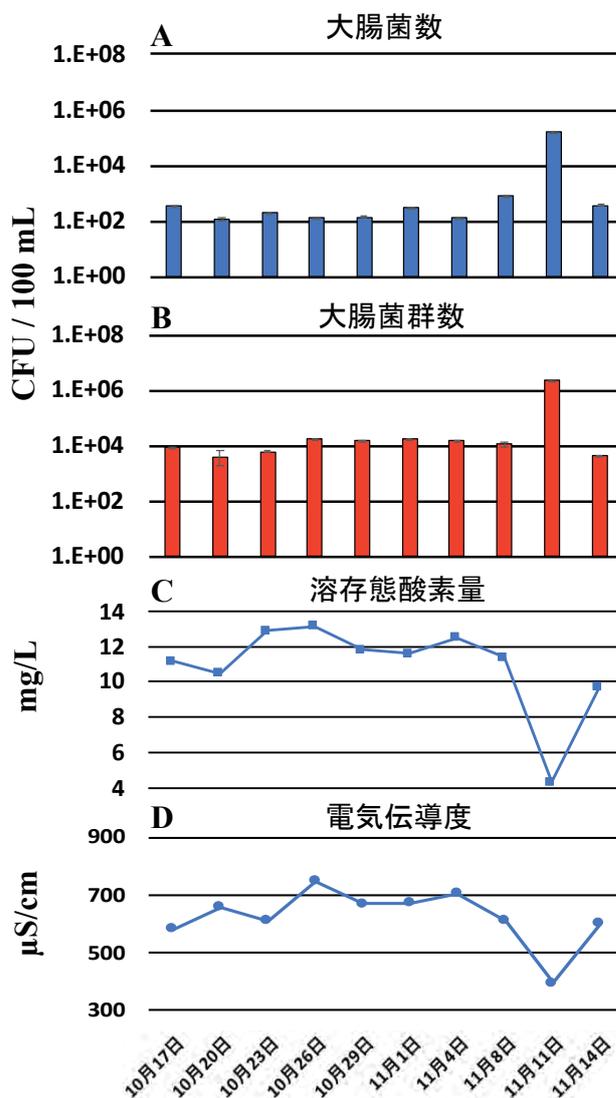


図2 平野橋橋上より2023年の10月17日から11月14日にかけて3日おきに採水した河川水中のA大腸菌数、B大腸菌群数、C溶存酸素量、D電気伝導度。A, Bのグラフについては平均値に対する標準偏差をエラーバーで示している。(注: 視覚的に変化を認識しやすくするために、A, Bを棒グラフ、C, Dを折れ線グラフで示している)

式下水吐口からの放流水の影響も考えられるが、最終降雨計測時刻から採水までに15時間の間隔があることから、放流水による影響の可能性は低いと思われる。

アンピシリンまたはテトラサイクリンを添加した寒天培地を用いても、同様の計数をおこなった。抗生物質を添加した寒天培地上のコロニー数を、図2で得た抗生物質非添加のコロニー数で除することで、各抗生物質に耐性を示す大腸菌および大腸菌群の割合を算出した(図3)。アンピシリンに耐性を示す大腸菌の割合は12.7~32.4%であった。大腸菌群におけるアンピシリン耐性の割合は0.7~17.6%であったため、大腸菌群よりも大腸菌の方がアンピシリンに耐性獲得の割合が高いと推定される。テトラサイクリンに対しては、より顕著な違いがみられ、大腸菌では9.1~17.9%の割合で耐性を示したのに対して、大腸菌群では0.2~1.8%の割合に留まっていた。

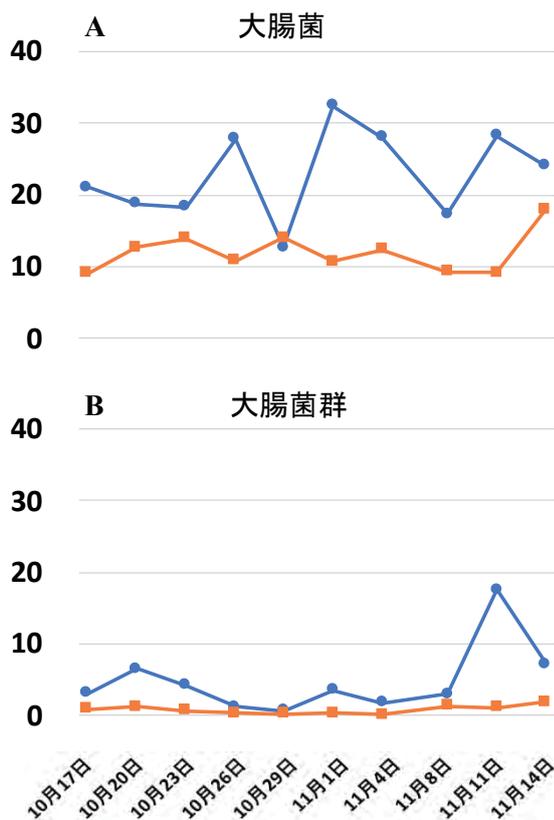


図3 大腸菌(A)または大腸菌群(B)におけるアンピシリン(●)またはテトラサイクリン(■)に耐性を示すコロニー数の割合(注: 視覚的に変化を認識しやすくするために、折れ線グラフで表示しています)

アンピシリン、テトラサイクリンとも、医療用および動物用の医薬品として使用されているが、テトラサイクリンは動物用医薬品としての使用量が特に多い<sup>5),6)</sup>。大腸菌はヒトを含む温血動物の消化管に生息しているため、大腸菌が抗生物質耐性を獲得する場所として、ヒト、愛玩動物、家畜の消化管内でのアンピシリン耐性の獲得と、家畜動物の消化管内でのテトラサイクリン耐性の獲得が考えられる。調査をおこなった平野川は、都市部を流れるために家畜由来の流入が少ない。このことが、アンピシリン耐性よりも、テトラサイクリン耐性を示す大腸菌の割合が低かった一因として推察される。

畜産が盛んな地域では、降雨後の出水時にテトラサイクリン耐性大腸菌数の増加が確認されている<sup>7)</sup>。しかし本調査では、降雨翌日の11月11日にテトラサイクリン耐性細菌の割合が増加する傾向はみられなかった(図3A)。またアンピシリン耐性大腸菌についても降雨に起因する増加は確認できなかった。図2と3の結果を勘案すると、降雨によって大腸菌が平野川に流れ込むが、流れ込む大腸菌の薬剤耐性率が高いわけではないと考えられる。

一方、大腸菌群においては、降雨によって流れ込む大腸菌群のアンピシリン耐性率が高い様子が観察された(図3B)。大腸菌群には、大腸菌以外の腸内細菌や非腸内細菌科の細菌も含まれる細菌も含まれる事が知られており、今回の調査では、大腸菌は大腸菌群には含まれていない。流れ込んだアンピシリン耐性大腸菌群は、降雨時の下水越流または土壌などからの流れ込みで起因していると思われるが、詳細を明らかにするためには、別途調査が必要である。

#### 4. 参考文献

- 1) World Health Organization. Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Report: 2021 (2021)
- 2) C. J. L. Murray et al. The Lancet 399, 629-655 (2022)
- 3) O'Neil Commission. Antimicrobial Resistance: Tracking a crisis for the health and wealth of nations (2021)
- 4) 松井一彰 他7名. 土木学会論文集 G 73, 134-142 (2017)

- 5) AMR 臨床リファレンスセンター：抗菌薬  
使用サーベイランス,  
<https://amrcrc.ncgm.go.jp/surveillance/index.html>  
(2024年5月12日アクセス)
- 6) 動物医薬品検査所,  
<https://www.maff.go.jp/nval/index.html> (2024年  
5月12日アクセス)
- 7) 杉江由規、井原賢、馬綴宇、田中宏明.  
土木学会論文集 G 76, III431-III440 (2020)