

河川上流域における抗生物質耐性細菌数に関する研究

龍谷大学 正会員 ○越川博元

大阪大学大学院 橋本くるみ

西島製作所 滝さやか

1. はじめに

近年、河川を中心とした環境水中での薬剤の存在とその濃度が多く報告されている。なかでも抗生物質は病原性細菌などに対する対抗手段として重要であり、抗生物質耐性細菌の存在や抗生物質感受性細菌の耐性化は、微生物学的安全性の観点から重大な懸念をもたらす。しかし、河川水中の抗生物質濃度はおおむね数 100ng/L レベルであること、この濃度レベルは MIC と比較しても小さく、抗生物質感受性大腸菌である *E.coli* JM109 株のコロニー形成を阻害しないことを既に我々は報告¹⁾している。一方で、河川水中に最大 60mg/L の抗生物質存在下でもコロニーを形成する細菌が存在すること、研究に供した抗生物質のなかではレボフロキサシン (LVFX)耐性菌の存在がその抑制という点から問題があることを指摘した。

山間部では比較的人為的影響が少ないことが予想されることから、山間部の河川上流には抗生物質や抗生物質耐性細菌がほとんど存在しないのではないかと考えられる。一方、スズメ、カラスなどといった野鳥、ホンダヌキなどの野生動物から抗生物質耐性細菌や R プラスミド保有細菌が検出されている例が報告されている。またライチョウなどのふん便中に抗生物質耐性細菌が検出されており、ヒトとの接触の機会が比較的少ないと考えられる野生動物にも抗生物質耐性細菌が拡散していることが伺える。またこのような野生生物が人里へ降りてくる事例も増えていることから、人里で抗生物質を含んだ食餌や抗生物質耐性菌を摂取したのちに山間部へ戻り、そのふん便により汚染が進行することも想像される。山間部の水場調査については大腸菌群数についての事例があるが、抗生物質や抗生物質耐性細菌についての事例は少ない。

本研究は、河川に存在する抗生物質耐性細菌の制御を最終的な目的とし、そのために抗生物質耐性細菌の起源を明らかにすることを目的としている。そこで、山間部の河川における抗生物質耐性細菌数について調査をおこない、集落等の人為的な汚染が予想される地点においてもその対象として調査した結果を報告する。

2. 実験方法

調査地点の選定基準は、以下を原則とした。すなわちある河川について、調査地点の上流にゴルフ場、集落、農地などがなく、調査地点より下流には集落等が存在すること、である。河川は、周囲の地形などの特徴が異なるものを選定した。調査は近畿地方山間部の 7 河川（桂川、安曇川、紀ノ川、熊野川、犬上川、愛知川）の流域にある地点で、調査をおこなった。本稿では主に、2008 年 11 月 3 日に実施した桂川上流域における調査について述べる。百井峠の水源涵養林からの湧水(k1)、桂川支流の鞍馬川の河川水(k2～4)、同じく桂川支流の貴船川の河川水(k5,6)、桂川本川上流の河川水(k7,8)、安曇川支流の百井川の河川水(m1,2)を採水した。紀ノ川、熊野川、櫛田川については、2008 年 11 月 30 日に、犬上川、愛知川については、2008 年 12 月 14 日に採水をした。



図1 桂川上流域における調査地点

キーワード 抗生物質耐性、抗生物質耐性細菌、河川、上流域

連絡先 〒520-2194 滋賀県大津市瀬田大江町横谷 1-5 Tel:077-544-7102, Fax:077-544-7130

採水は基本的に流心でおこなうこととし、メタノールおよびイオン交換水で洗浄したステンレス製のやかんを河川水で3回共洗いのち、改めて採水したものを、予めオートクレーブにより滅菌した500mLポリプロピレン製容器にとり、これをクーラーボックスに入れて氷冷した。

抗生物質耐性細菌数の計測は、メンブレンフィルター法を用いた。すなわち、0.45 μ mのメンブレンフィルターにより細菌を捕捉し、m-TGE培地上で37 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C、22 $\pm$ 2時間、倒置培養し、形成したコロニー数をカウントした。全細菌数についてはm-TGE培地のみ、抗生物質耐性細菌数については、アンピシリンナトリウム塩(ABPC)、レボフロキサシン(LVFX)、バンコマイシン塩酸塩(VM)、クロラムフェニコール(CP)、およびエリスロマイシン(EM)とし、それぞれの濃度は最小生育阻害濃度(MIC)を基に20mg/Lとした。また試料水については、pH、水温、TOC濃度をそれぞれ測定した。

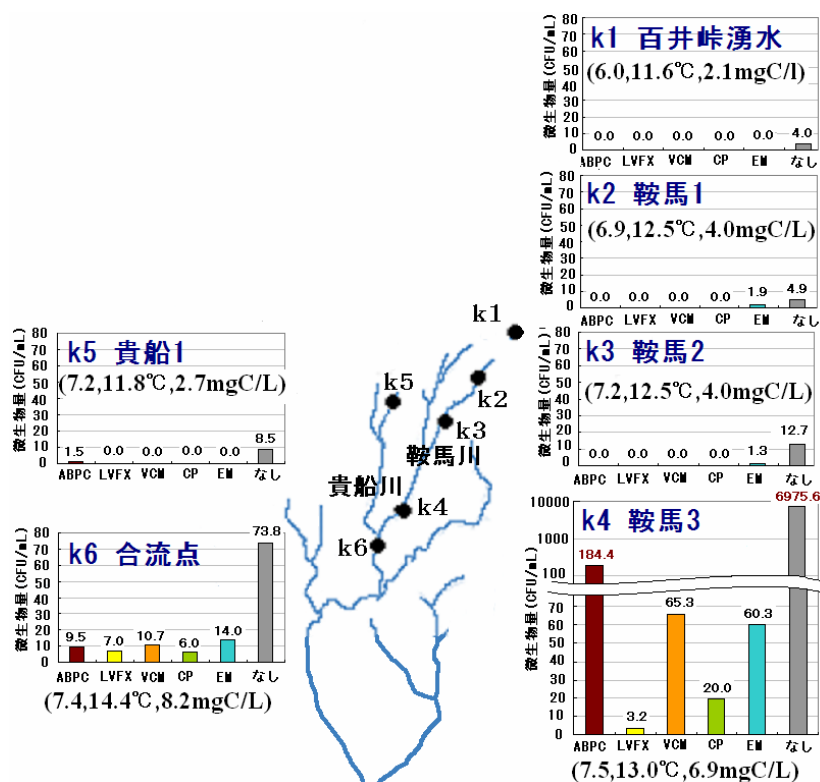


図2 桂川上流域における調査結果

3. 結果と考察

調査結果を図2に示した。それぞれの調査地点における微生物量(CFU/mL)で表し、「なし」とは抗生物質を含まないm-TGE培地で形成されたコロニー数、すなわち全細菌数をしめす。またグラフの括弧内にはそれぞれ、pH、水温、TOC濃度を示した。pH、水温についてはいずれも大差なく、pHは中性付近、水温は13 $^{\circ}$ C前後であった。k1～k3、およびk5では抗生物質非存在下で生育した細菌が4.0～12.7(CFU/mL)の範囲で存在したが、抗生物質存在下ではほとんど生育しなかったことから、これらの細菌は抗生物質感受性細菌であることがわかった。一方、k4は集落のほぼ中心に位置していたが、全細菌数では10³オーダーで増加していた。また抗生物質耐性菌も検出された。図2に示したようにk1～k3と流下した河川はk4の前で別の河川と合流していることから、希釈効果を考慮するとk4における負荷量は大きいことがわかった。なお、k6では、採水時間に大きな違いがあることから直接的な比較はできないが、k4から流下しさらにk5に由来する河川と合流していることを考慮しても、k4と比較するとその細菌量は少ないものの、抗生物質耐性細菌が検出された。これらの結果から、山間部の河川上流にはほとんど抗生物質耐性細菌は見られず、野生生物等の影響よりも人為的な排出による抗生物質耐性細菌の負荷が大きいことがわかった。

4. 参考文献

1)越川博元, 滝さやか, 井口彩, 小幡倫大, 田中宏明, 淀川水系における抗生物質、溶存態DNAの挙動と抗生物質耐性菌の特性, 水環境学会誌, Vol.31, No.11, 2008,

謝辞: 本研究は「財団法人 三菱財団」の助成を得て実施しました。謝して記します。