

# 宮城県内の河川における薬剤耐性菌分布の実態

東北大学工学部建築・社会環境工学科 学生会員 ○中尾 江里  
宮城県保健環境センター 畠山 敬, 渡邊 節, 中村 朋之  
東北大学大学院工学研究科 正会員 中野 和典, 野村 宗弘, 千葉 信男, 西村 修

## 1. はじめに

抗生物質等の医薬品は、医療だけでなく畜産等の生物生産の場でも継続的に使用されている。通常、人用医薬品は生体内で代謝された後尿中に排出され、下水処理場または浄化槽で処理される。しかし、医薬品等の使用形態によっては、処理されることなく環境中に直接放出されている可能性がある。近年の研究でも、日本の河川から低濃度の医薬品の検出が報告されている<sup>1)</sup>。また、環境水中からは医療と同様に薬剤耐性細菌の検出が報告されており<sup>2)</sup>、これらの菌の環境における動態の解明が急がれている。

そこで、本研究では、宮城県南部・北部地域の河川水を採取し、糞便由来の細菌と、環境常在細菌の薬剤に対する耐性獲得の実態を検証した。

## 2. 調査概要

### (1) 調査地点

宮城県内の酪農地帯を流域とする鳴瀬川水系と白石川水系を調査対象とした。調査は、2007年10月9日から12月13日にかけて二回行った。一回目の調査はそれぞれの水系の上流から下流にかけて広範囲に行い、細菌が多く検出された地点に重点をおいて二回目の調査を実施した。各水系における調査地点を図1に示す。

### (2) 試料の調製

採取した河川水は、採水後24時間以内に試験に供した。細菌数が未知なため、検体を原液・10倍・100倍

希釈、あるいは10倍・100倍・1000倍に濃縮して測定のための試料とした。

### (3) 供試薬剤および対象菌種

供試薬剤は、古くから家畜等に汎用されている抗生物質であるアンピシリン(ABPC)、カナマイシン(KM)、オキシテトラサイクリン(OTC)、クロラムフェニコール(CP)の4種類とした。検出の対象となる菌種は、ヒトと動物の糞便由来細菌として腸内細菌及び腸球菌を、環境常在細菌として一般細菌及びシュードモナス属細菌を選択した。

### (4) 薬剤耐性試験

薬剤耐性試験は寒天平板希釈法<sup>3)</sup>で行った。菌の検出には選択培地を用い、腸内細菌にはマッコンキー寒天培地、腸球菌はEF寒天培地、一般細菌はミューラーヒントン寒天培地とし、シュードモナス属細菌にはセトリミド寒天培地を使用した。培地に加える抗生物質は、National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)<sup>4)</sup>に基づいて、それぞれ目的とする菌の中間耐性濃度(ABPCは $16\mu\text{g/mL}$ 、KMは $32\mu\text{g/mL}$ 、OTCは $8\mu\text{g/mL}$ 、CPは $16\mu\text{g/mL}$ )とし、これらの濃度に調製した選択培地に発育する菌を当該抗生物質に対する耐性菌と定義した。抗生物質無添加の培地上に発育した菌数と、抗生物質を加えた培地の菌数の比率から、それぞれの薬剤に対する薬剤耐性菌出現率(%)を算出した。尚、算出結果が100を超えたものについては、出現率を100とした。

## 3. 調査結果と考察

河川の人為的汚染による影響の有無を比較するため、白石川の支流である松川の上流(S6)と下流(S10)の2地点の薬剤耐性菌出現率の比較を図2に示した。また、鳴瀬川の支流である田川の上流(N1)と下流(N4)の2地点の薬剤耐性菌出現率の比較を図3に示した。

白石川水系のS6では、腸内細菌及び腸球菌は検出さ

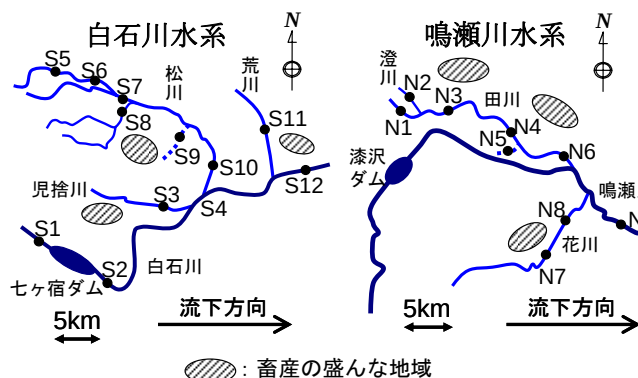


図1 採水地点

れずシュードモナス属菌も同様であったが、下流の S10 ではすべての細菌が検出されたことから、S6 はこれらの菌による汚染の少ない地点であると考えられた。このことから、S10 では民家や小規模畜産排水等がこの区間で流入している可能性が示唆された。一方、鳴瀬川水系では N1 から腸内細菌が検出され、N1 よりもさらに上流に汚染源が存在する可能性が示された。

次に、菌種毎に耐性菌出現率の比較を行うと、白石川 S6 では一般細菌で耐性を示す薬剤は主に ABPC で 18.2%であるのに対し、S10 では ABPC が 40.6%と増加し、CP, KM に対する耐性菌も検出された。同様に、鳴瀬川でも ABPC, CP, KM 耐性菌が検出され、特に ABPC は全ての菌が耐性であった。腸内細菌も一般細菌と同様、ABPC 耐性の割合が高く、下流では割合が増加した (N4)。腸球菌は両水系共に上流では検出されなかったが、下流では白石川 (S10) で KM 耐性が 40%，鳴瀬川 (N4) で 86.1%と、出現率に 2 倍以上の差があった。さらに、N4 は S10 に比較して ABPC や OTC に対する出現率が高かった。また、シュードモナス属菌では鳴瀬川上流の N1 で 100%耐性であった CP と ABPC が、下流の N4 では 20%以下に減少するなど、他の菌とは挙動が異なった。さらに、白石川下流の S10 では OTC が 100%耐性になるなど、河川による違いが判明した。しかし、腸球菌やシュードモナス菌は株により ABPC, KM などに対する自然耐性であることが報告されているため、分離した菌の精査が必要である。

細菌の薬剤耐性獲得方法の一つは遺伝子の突然変異であり、薬剤への暴露の有無にかかわらず耐性能を獲得する。二つ目としては薬剤耐性遺伝子の菌株間の伝達が挙げられる。いずれにしても、菌の変化は薬剤が存在する環境での生残には必須であり、感受性菌との交代現象が引き起こされる。また、耐性能を獲得した菌の拡散は免疫力の低下した人などに難治性の感染を引き起こすため、環境での実態把握は重要である。

本研究によって、河川の上流域においても糞便汚染が確認されただけでなく、環境常在菌の中にも薬剤耐性菌が認められたことから、これらの菌が環境中に広く存在している実態が明らかとなった。しかし、今回の調査では河川水中に存在する薬剤との関連は不明であることから、今後は薬剤濃度の調査を併せて、薬剤使用と耐性菌の関係を明らかにしていく必要がある。

## 参考文献

- 1) 清野ら (2004), 水環境学会誌 Vol. 27, No11, pp. 685-691
- 2) 清野ら (2004), 水環境学会誌 Vol. 27, No. 11, pp. 693-698
- 3) 坂埜利一編 (1987), 図解 臨床細菌検査, 文光堂, p102-103
- 4) National Committee for Clinical Laboratory Standards(1993), NCCLS VOL. 13 NO. 25 M7-A3
- 5) 小栗豊子, 臨床微生物検査ハンドブック第 2 版, p191-195

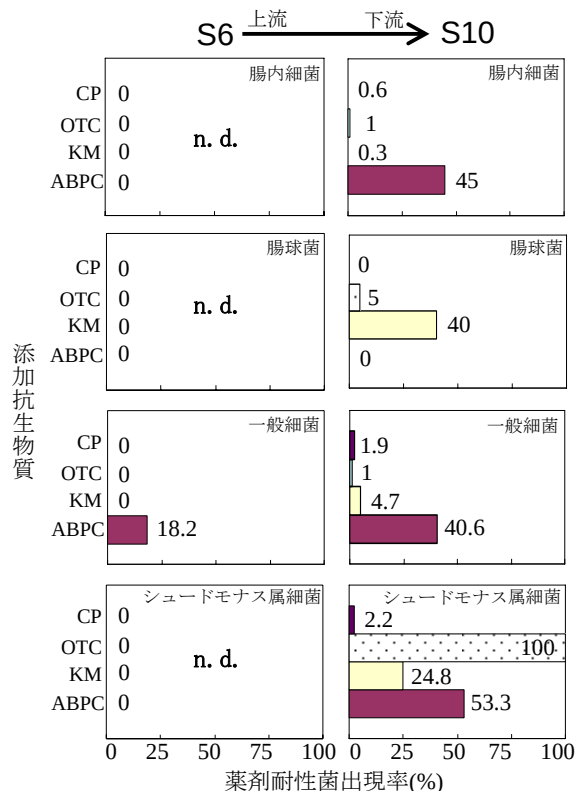


図2 白石川水系の薬剤耐性菌出現率の比較。  
n. d. : 薬剤無添加の培地でコロニーを未検出のサンプル。

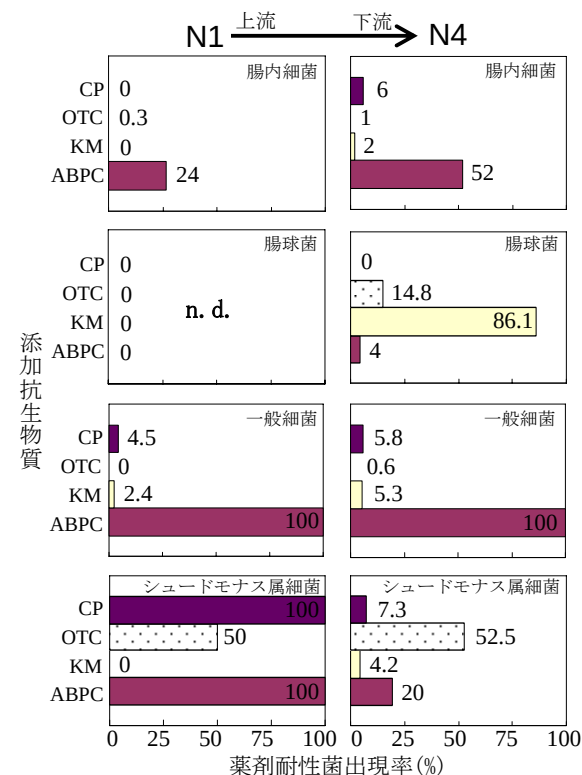


図3 鳴瀬川水系の薬剤耐性菌出現率の比較

