

東京大学大学院工学系研究科 ○岩根泰蔵

東京大学環境安全研究センター 浦瀬太郎

東京大学環境安全研究センター 山本和夫

1. はじめに

近年、MRSA院内感染や日和見感染症、更には病原性大腸菌 0157 等の流行において、抗生物質耐性の問題はますます重要になっている。現代の都市において、医療活動・畜産活動等が行われていれば、必ず抗生物質が使用され、結果として環境中の耐性菌濃度を上昇させていると考えられる。

無害な細菌が耐性を持つこと自体に危険は無いという見方も存在する。しかし、耐性因子の中には伝達性プラスミドのように伝達性を有するものがある以上、その菌が病原菌に耐性を伝達する可能性を持つという意味では危険がある。環境中の細菌相の耐性化傾向は、都市の潜在的リスクの一つといえる。

本研究では、多摩川水系の河川水・下水処理水等を対象とした水環境中の抗生物質耐性菌の分布調査を行い、それぞれの試料の耐性菌比率等の特徴を抽出した。

2. 実験方法

2.1 試料の採取

採水場所には、多摩川本川では羽村堰・日野橋・調布堰を上流・中流・下流地点として選定し、また、人為的排水として、羽村堰～日野橋間に流入するA都市下水路（放流口）、B下水処理場（放流口から河川へ合流する途中地点）、谷地川（直接浄化施設より上流地点）を選んだ。

耐性菌の分布に関する調査は1996年12月に第1回、1997年1月に第2回として行った。また、羽村堰以外の交叉耐性パターンの判定を調査の第1回目において行った。

2.2 測定実験

今回用いた抗生物質は以下の5種類である。培地中の添加薬剤濃度はAraiによった¹⁾。これらは、いずれも1940～60年代に開発された代表的薬剤である。

アンピシリン (ABPC)	50 μ g/ml
クロラムフェニコール (CP)	25 μ g/ml
カナマイシン (KM)	12.5 μ g/ml
ストレプトマイシン (SM)	12.5 μ g/ml
テトラサイクリン (TC)	25 μ g/ml

耐性菌数の算定においては、一般細菌項目には各抗生物質を含んだ標準寒天培地による単層混釈平板培養法、大腸菌群項目には同様に抗生物質を含んだデスオキシコーレイト培地による二重層混釈平板培養法を用いた（第一段階）。培養条件は37℃、約1日である。なお、耐性菌の割合を算出するために、対照として薬剤を何も加えない（None）計数も行った。

続いて、発生した集落から一定数を任意に選び、細菌の単離培養を行った（培養条件は上に同じ）。まず、その菌の由来する培地と同じ抗生物質を含む同じ培地にて単離培養した（第二段階）。続いて、第二段階の細菌から一定数を任意に選び、その細菌が耐性を持つ事が明らかとなった種類以外の4種の抗生物質をそれぞれ含む培地にて単離培養した（第三段階）。そして第三段階での増殖をもって各細菌の交叉耐性パターンを決定した。

表1 多摩川水系の薬剤耐性菌<第一回調査・一般細菌>

	1	2	3	4	5	6
None	390	18400	25000	320000	58000	14500
ABPC	3 0.8%	328 1.8%	3500 14.0%	5500 1.7%	6300 11.3%	2120 14.6%
CP	2 0.5%	137 0.7%	400 1.6%	252 0.1%	170 0.3%	89 0.6%
KM	3 0.8%	1210 6.6%	4400 17.6%	18600 5.8%	7000 12.5%	2210 15.2%
SM	7 1.8%	5200 28.3%	4700 18.8%	15100 4.7%	5800 10.4%	1200 8.3%
TC	3 0.8%	41 0.2%	61 0.2%	108 0.0%	13 0.0%	9 0.1%

1. 羽村堰
2. A都市下水路
3. B下水処理場
4. 谷地川
5. 日野橋
6. 調布堰

地点番号(流下順)

上段:細菌数(個/ml)

下段:Noneに対する比率

凡例

表2 多摩川水系の薬剤耐性菌<第一回調査・大腸菌群>

	1	2	3	4	5	6
None	240	5700	480	13600	2800	3700
ABPC	3 1.3%	500 8.8%	40 8.3%	1970 14.5%	110 3.9%	213 5.8%
CP	1 0.4%	0 0.0%	2 0.4%	20 0.1%	0 0.0%	100 2.7%
KM	0 0.0%	320 5.6%	330 68.8%	2080 15.3%	150 5.4%	139 3.8%
SM	8 3.3%	400 7.0%	242 50.4%	1650 12.1%	580 20.7%	106 2.9%
TC	0 0.0%	22 0.4%	56 11.7%	153 1.1%	80 2.9%	12 0.3%

3. 実験結果と考察

6つの採水地点について、それぞれ2回ずつ行われた調査における、耐性菌数の算定結果を表1～表4に示す。各耐性菌と総菌数との比率、即ち各種耐性菌の存在比率も算出した。第1回目の調査の結果が表1・表2(それぞれ一般細菌と大腸菌群)、第2回目の調査の結果が表3・表4(同様)である。

3.1 各種薬剤に対する耐性菌数

(1) 薬種別

薬剤の種類別に結果を概観すると、ほぼ全ての試料に関して、ABPC・KM・SMという比較的耐性菌比率の高い薬剤グループ(グループA)と、CP・TCという比較的耐性菌比率の低い薬剤グループ(グループB)に区別された。

(2) 採水地点別

採水地点ごとの耐性菌数・比率を概観する。

羽村堰では、総菌数が少ない上に、各耐性菌数も非常に少なかった。しかし第二回調査においては、菌数が幾分多くなった。第一回調査における一般細菌の総菌数が(大腸菌群の総菌数と比較して)低い値を示したが、理由は不明である。

B下水処理場では、消毒の影響によって他の排水系よりも大腸菌群数が大幅に少なくなったと考えられる。2回の調査の総菌数の大きな違いは消毒の効きの差によると推測される。しかし、いずれの場合も各耐性菌の比率は(特にKM耐性・SM耐性について)非常に高く、おおよそ多摩川本川3地点での数字を上回った。下水処理プロセスでの選択・耐性因子の伝達等が可能性として指摘できる。

谷地川では、一般細菌項目における各耐性菌の比率は余り高くないが、これは、いわゆる汚濁小河川では耐性を持たない従属栄養細菌が多く存在するためと考えられる。

日野橋では、2回の調査のグループA(ABPC・KM・SM)の各耐性菌比率は一般細菌項目ではい

ずれも10%前後と一定したが、大腸菌群項目ではばらつきがあった。ただし、SM耐性の大腸菌群項目では比率は共に20%を超えた。CP耐性は一般細菌項目では存在するものの、大腸菌群項目では殆ど見られなかった。羽村堰と比較した場合、各種耐性菌の比率は殆どの場合で上回った。この地点までに本川に流入した各種排水がもたらす水質への影響は、耐性菌比率にも現われると言える。

調布堰では、ABPC耐性の比率が日野橋の数字を上回っている他は、各薬剤に共通する変動は読み取れず、日野橋から調布堰までの(5→6の)約30kmの流下そのものに伴う影響として明確に指摘できる点は無かった。多摩川においては中流以降は下水・下水処理水等の流入によって同程度に耐性菌の存在が認められるという事が明らかになった。

表3 多摩川水系の薬剤耐性菌<第二回調査・一般細菌>

	1	2	3	4	5	6
None	1100	20700	2840	190000	21600	11400
ABPC	23 2.1%	890 4.3%	710 26.9%	2080 1.1%	1900 8.8%	3700 32.5%
CP	0 0.0%	34 0.2%	2 0.1%	390 0.2%	105 0.5%	30 0.3%
KM	12 1.1%	1480 7.1%	65 2.5%	5500 2.9%	1350 6.3%	1940 17.0%
SM	81 7.4%	3600 17.4%	370 14.0%	13200 6.9%	1370 6.3%	2120 18.6%
TC	0 0.0%	39 0.2%	3 0.1%	81 0.0%	35 0.2%	2 0.0%

表4 多摩川水系の薬剤耐性菌<第二回調査・大腸菌群>

	1	2	3	4	5	6
None	138	3300	52	22400	1330	5400
ABPC	2 1.4%	61 1.8%	33 63.5%	1220 5.4%	210 15.8%	990 18.3%
CP	0 0.0%	9 0.3%	2 3.8%	120 0.5%	4 0.3%	10 0.2%
KM	13 9.4%	530 16.1%	7 13.5%	910 4.1%	245 18.4%	380 7.0%
SM	15 10.9%	890 27.0%	30 57.7%	1500 6.7%	280 21.1%	670 12.4%
TC	0 0.0%	60 1.8%	0 0.0%	106 0.5%	18 1.4%	16 0.3%

今後は、水の循環利用時の潜在的风险等も考慮した上で、現在ある各種の処理プロセス中の耐性菌・耐性因子の挙動に目を向けることも必要であると思われる。

<参考文献>

- 1) Arai T. (1991) Studies on the bacterial fauna of the Tamagawa river. *Water Science and Technology* 24, 109-112.

3.2 耐性菌の交叉耐性パターン

各地点の耐性菌の耐性パターン(結果は省略)から考察できることを示す。

A都市下水路では一剤耐性の多さが目立った。また、B下水処理場では様々なパターンの耐性が見られた。下水管内或いは活性汚泥プロセスでの耐性因子の伝達を示唆される。

日野橋、調布堰では多剤耐性が多かったが、その耐性パターンは限られていた(ABPC・KM・SM耐性など)。また、調布堰の方が耐性菌に占める多剤耐性の割合が高かった。

なお、薬剤種別ではKMとSMの交叉耐性が多く見られた。両者が同系列の(アミノグリコシド系)抗生剤である事によると考えられる。

4. 結論と今後の課題

多摩川水系における耐性菌の存在に関する調査を行った結果、下水処理水中の耐性菌比率が高く、これら各種排水の流入した後の中・下流では上流と比較して多くの耐性菌が存在する事が示された。また、下水処理水には多剤耐性菌も多く、下水処理システムでの耐性因子の伝達の可能性が示唆される。