

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）

（総括）研究報告書

「環境中における薬剤耐性菌及び抗微生物剤の調査法等の確立のための研究」

研究代表者 金森 肇 東北大学大学院医学系研究科 総合感染症学分野 講師

研究要旨

国内外の河川、下水等の環境中から薬剤耐性菌が検出されており、ワンヘルス（人・動物・環境）の観点から環境の薬剤耐性（AMR）対策が注目されている。環境中における薬剤耐性や抗菌薬の調査法が確立されておらず、本邦の環境中の薬剤耐性菌および抗菌薬の実態は明らかではない。本研究班では環境中の薬剤耐性および残留抗菌薬の調査法の確立に向けた研究を行い、各地方衛生研究所の協力を得て全国的な環境水 AMR 調査を実施した。環境 AMR モニタリングに資する作業手順書を作成し、全国展開するための体制が整備された。メタゲノム解析法と培養法による調査法を用いて、下水処理場の放流水、都市下水、河川水、病院排水、養豚場の下水における薬剤耐性菌および耐性遺伝子の検出、さらに下水処理水および病院排水の抗菌薬分析を行うことで、対象地域の環境水の薬剤耐性の実態を明らかにした。本研究班で実施した全国的なサーベイランスにより環境中の薬剤耐性の現状を把握するためのデータが得られ、日本の環境中の薬剤耐性因子や抗微生物薬がヒトおよび動物へ与える影響についてリスク評価を行うための基盤を作ることができた。本研究結果と国内外の文献情報をもとに、環境中の薬剤耐性菌および残留抗菌薬の人・動物に与える影響を評価する方法を確立し、日本における環境中の薬剤耐性および抗菌薬の実態調査を充実させ、薬剤耐性ワンヘルス・アプローチを推進していく必要がある。

研究分担者

黒田 誠 国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター センター長
楠本 正博 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門
細菌・寄生虫研究領域 腸管病原菌ユニット・ユニット長
渡部 徹 山形大学 農学部 教授
山口 進康 大阪健康安全基盤研究所 衛生化学部生活環境課 課長

研究協力者

馬場 啓聡 東北大学大学院医学系研究科感染制御インテリジェンスネットワーク寄附講座
勝見 真琴 東北大学病院 検査部
関塚 剛史 国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター
糸川 健太郎 国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター
玉村 雪乃 農研機構動物衛生研究部門 細菌・寄生虫研究領域
渡部 真文 農研機構動物衛生研究部門 病態研究領域
上垣 隆一 農研機構動物衛生研究部門 病態研究領域
ゲルグ・キルティール 農研機構動物衛生研究部門 病態研究領域
西山 正晃 山形大学 農学部
本多 了 金沢大学 理工研究域
原 宏江 金沢大学 理工研究域
河原 隆二 大阪健康安全基盤研究所 微生物部細菌課
安達 史恵 大阪健康安全基盤研究所 衛生化学部生活環境課

A. 研究目的

世界各国の土壌・河川等の環境からも薬剤耐性因子が検出され、ワンヘルス（人・動物・環境）の観点から環境の薬剤耐性（AMR）対策が注目されている。抗菌薬の環境汚染による薬剤耐性の拡がり与人へのリスクが懸念されるが、人および動物に及ぼす影響に関する定まった見解はない。環境中における薬剤耐性や抗菌薬の調査法が確立されておらず、日本の環境中の薬剤耐性菌および残留抗菌薬の実態は不明である。したがって、環境中の薬剤耐性の調査法を確立し、人および動物に与えるリスク評価を行うことが重要課題である。

本研究班の研究目的は、次の通りである。

- 1) 環境中の薬剤耐性及び抗菌薬の状況を把握するための調査方法の確立
- 2) 本研究班の大都市圏の成果を踏まえ、全国的な環境水のモニタリング調査へ発展
- 3) ワンヘルスの観点から環境・動物・ヒトにおける特定の薬剤耐性菌や耐性遺伝子の循環についての研究を推進
- 4) 環境（特に下水排水）の薬剤耐性菌の調査及び文献レビューにより、本邦の環境中の薬剤耐性や抗菌薬がヒト及び動物へ与える影響に関するリスク評価

B. 研究方法

令和2年度においては、本邦における環境AMRおよび残留抗菌薬の調査法の確立に向けた研究を実施し、環境水の全国的なサーベイランスおよび地域の実態調査を継続した（図1、図2）。また、国内外における環境中の薬剤耐性に関する現状と課題を明らかにするため、環境中の薬剤耐性に関する文献レビューとリスク評価を行った（図3）。

本研究班における研究代表者および研究分担者は、各研究課題である1) 医療と環境の薬剤耐性に関する研究（金森）2) 環境微生物ゲノム情報の取得（黒田）、3) 大都市圏の環境水調査および薬剤耐性菌の分離（山口）、4) 動物からの薬剤耐性菌の分離と解析（楠本）、5) 残留抗菌薬の検査・評価にかかる方針策定と提言（渡部）、6) 国内外の文献レビューとリスク評価（全班員）に関する研究活動を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は環境中における薬剤耐性の調査法を確立するための研究であり、個人が識別可能なデータは取り扱わなかった。個人情報を取り扱う一部の研究においては、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に基づき、当該研究を実施する施設の倫理委員会で審査・承認を得てから実施した。微生物ゲノムデータの取り扱いに関しては、セキュリティー対策を実施し、データを公表する際には個別の施設名が特定できないように配慮した。

1. 医療と環境の薬剤耐性に関する研究

大学病院の下水、及びその病院下水が流入する下水処理場から採水し、薬剤耐性の状況を調査した。ヒトでの輸入症例および大規模な院内感染事例の原因となるカルバペネム耐性菌の分離を試みた。各種カルバペネマーゼ遺伝子のPCRを行い、次世代シーケンサーを用いて病院・市中下水から分離されたカルバペネマーゼ産生菌のゲノム解析を行った。

2. 環境微生物ゲノム情報の取得

水再生センター（下水処理場）の放流地点から放流水原液を採水し、次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析による生物種および薬剤耐性因子の配列同定までの作業手順を示した。解読リードをメタゲノム解析ツールで生物種を分類と検出数を算出し、サンプル毎の多様性を評価した。薬剤耐性データベースを参照して薬剤耐性因子の同定・検出数の算出を行った。RPKM法を用いて相対的なARG濃度を算出し、比較解析を実施した。さらに、東京近郊の水再生センター8箇所から採水した処理放流水からセフェム系薬剤耐性腸内細菌科細菌の分離を行い、プラスミド配列を含む完全長ゲノム情報を解析した。

3. 大都市圏の環境水調査および薬剤耐性菌の分離

大阪府内の下水処理場およびその下流河川で採水を行い、薬剤耐性菌を分離した。PCRによる耐性遺伝子のスクリーニングおよびシーケンスによるサブタイプの検索を行った。環境水中の薬剤耐性菌および耐性遺伝子の全国的なサーベイランスを行うために、地方衛生研究所全国協議会のネットワークを活かし、

国内各地の地方衛生研究所から協力を得て、環境水のメタゲノム解析を行った。

4. 動物からの薬剤耐性菌の分離と解析

北海道内で採取した野生シカの糞便検体から分離した薬剤耐性大腸菌のゲノム解析を行い、sequence type、薬剤耐性遺伝子、プラスミドレプリコン型、病原遺伝子を検索した。また、養豚場の周辺環境水（放流水および用水路水）を採取するとともに、農場内の豚の糞便および原尿槽の水試料を収集し、メタゲノム解析を行った。

5. 残留抗菌薬の検査・評価にかかる方針策定と提言

残留抗菌薬濃度の経年変化を調べるために、昨年度と同じ山形県内の都市下水処理場からの放流水を採取した。採取された水試料を固相抽出法により前処理した後、高速クロマトグラフィータンデム質量分析（LC-MS/MS）計で測定した。また、国内（北海道から九州までの各地域を含む）の下水処理場12カ所で流入下水と下水処理放流水のサンプリングを行い、残留抗菌薬のLC-MS分析を行った。病院排水中の残留抗菌薬を調べるために、昨年引き続き宮城県内の病院において病院排水および地域の下水処理場の流入下水を採取し、抗菌薬の検出を行った。

6. 文献レビューとリスクアセスメント

国内外の環境AMR文献レビューとリスク評価を行った。令和2年度においては、昨年度までの環境AMR文献レビューにおいて不十分と思われた、「日本の下水・排水中の薬剤耐性」「水再生センター（下水処理場）に係る薬剤耐性因子のゲノミクス」「環境と薬剤耐性」「下水処理過程での抗菌薬の除去」をテーマに文献を収集し、検討した。

C. 研究結果

1. 医療と環境の薬剤耐性に関する研究

- (1) 病院・市中下水由来のカルバペネム耐性菌のゲノム解析を行い、薬剤耐性因子を明らかにした。
- (2) 病院・市中下水から分離されたカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌の

Enterobacter cloacae および *Klebsiella pneumoniae* は、*bla*_{IMP} または *bla*_{GES} を保有していた。また、*bla*_{IMP-1} と *mcr-9* を同時に保有する *K. pneumoniae* ST-985、*bla*_{GES-4} と *mcr-9* を同時に保有する *E. cloacae* ST-27 が検出された。

2. 環境微生物ゲノム情報の取得

- (1) 全国レベルの環境水AMRモニタリングを実施するため、34自治体から計59箇所の放流水を収集し、次世代シーケンサーによる網羅的配列解読法（メタゲノム解析）を構築するとともに、日本の環境水中のAMR評価基準について検討した。
- (2) 多摩川及び東京湾岸に隣接する水再生センターの放流処理水から海外型カルバペネマーゼ（KPC-2、NDM-5）を保有する腸内細菌科細菌株を分離し、環境においても既に海外型の侵入を示唆するデータが得られた。

3. 大都市圏の環境水調査および薬剤耐性菌の分離

- (1) 大阪府内における環境水中のメタゲノム解析では、アミノグリコシド、β-ラクタム剤、サルファ剤、マクロライドおよび第4級アンモニウム耐性に係る薬剤耐性因子の検出割合が多く、全体の約80%以上を占めていた。
- (2) 培養法では、環境水よりカルバペネマーゼ産生株が分離され、*bla*_{GES-24} 保有 *Enterobacter* sp.、*R. ornithinolytica* および *Klebsiella pneumoniae*、*bla*_{NDM-5} 保有 *K. pneumoniae* が同定された。

4. 動物からの薬剤耐性菌の分離と解析

- (1) 野生シカ由来薬剤耐性大腸菌は *bla*_{TEM-1A}、*aadA2*、*strA*、*strB*、*tetA*、*tetB*、*floR*、*sul1*、*sul2*、*dfrA12* など、ヒトや動物に広く分布する薬剤耐性遺伝子を保有していた。ヒトや動物に広く分布し、薬剤耐性遺伝子の伝達に係る IncF 型レプリコン（IncFIB、IncFII）を認めた。
- (2) 豚糞便の検体を採取した農場や発育ステージが異なっても耐性遺伝子の組成は同様であった。農場周辺環境水の耐性遺伝子組成は同様であり、これが豚糞便の組成と大きく異なっていた。原尿槽の耐性遺伝子も全体

的に豚糞便に近い組成であったが、中には豚糞便より農場周辺環境水に近い組成の遺伝子 (*qac* や *sul* など) も認めた。農場Ⅲと農場Ⅶの水試料において四級アンモニウムおよびスルホンアミドに対する耐性遺伝子を多く検出した。

5. 抗菌薬の検査・評価にかかる方針策定と提言

(1) 山形県内の下水処理場における下水処理水中の抗菌薬の測定では、昨年度と同様にスルファメトキサゾール、トリメトプリム、エリスロマイシンが高頻度で検出されたが、今年度ではリンコマイシンは検出されなかった。全国 12 カ所の下水処理場で調査を行った流入下水と下水処理水（放流水）中の抗菌薬の分析では、下水処理水からはいずれの抗菌薬もほとんど検出されなかったが、流入水からはエリスロマイシン、ノフロキサシン、レボフロキサシン、トリメトプリムが多くの処理場で検出された。

(2) 病院排水で検出頻度が高かった抗菌薬は、エリスロマイシン、ノフロキサシン、レボフロキサシン、トリメトプリム、スルファメトキサゾールであった。レボフロキサシン、トリメトプリム、スルファメトキサゾールについては昨年度も高頻度で検出され、都市下水からも同様に検出された。

6. 文献レビューとリスクアセスメント

2020 年度に収集された論文は、「日本の下水・排水中の薬剤耐性」に関する文献が 39 報、「水再生センター（下水処理場）に係る薬剤耐性因子のゲノミクス」に関する文献が 16 報、「下水処理過程での抗菌薬の除去」に関する文献が 5 報の計 60 報あり、環境 AMR の文献情報閲覧サイト (<https://gph.niid.go.jp/paper/env-amr>) に登録した。既に登録された文献の他に、「環境と薬剤耐性」に関する新たな文献は見つからなかった。

「日本の下水・排水中の薬剤耐性」に関する文献の検討では、国内の下水・排水中には相当量の耐性菌・耐性遺伝子及び抗菌薬が残存しており、これらによる環境汚染が懸念された。また、「水再生センターの放流水に係る

薬剤耐性」に関する文献の検討では、国外での水再生センターの放流水中の薬剤耐性汚染の実態と環境汚染リスクが相次いで報告された。「下水処理過程での抗菌薬の除去」に関する文献の検討では、生物学的な下水処理によって抗菌薬を完全に除去することは現状では困難であった。一方で、「日本の下水・排水中の薬剤耐性」に関する文献の検討で、下水・排水中における薬剤耐性や残留医薬品の測定技術及び下水処理施設における薬剤耐性因子や残留医薬品の処理技術の開発が進んでいることが明らかとなった。

D. 考察

環境中の薬剤耐性の調査法として培養法を用いて、病院・市中下水由来のカルバペネム耐性菌を対象にゲノム解析を行い、薬剤耐性の特徴を明らかにした。下水中に臨床上問題となるカルバペネマーゼ遺伝子およびコリスチン耐性遺伝子を同時に保有する腸内細菌科細菌の出現が確認され、高度薬剤耐性菌の出現を探知するために、環境水の薬剤耐性のモニタリングが有用であることが示唆された。医療上、優先度の高い薬剤耐性菌を環境 AMR の観点から分離培養を行い、その株固有のゲノム情報から追跡調査し、人や動物への薬剤耐性リスクに関する研究を継続していく必要がある。

環境 AMR モニタリングに資する作業手順書を作成し、さらに全国展開するための体制が整備された。メタゲノム解析による薬剤耐性因子の検出には課題もあるが、同一の作業手順書を使用して実施した放流水の AMR 調査により、薬剤耐性遺伝子が継続的に増加傾向であることが明らかになった。その主要因としてサルファ剤およびテトラサイクリン耐性遺伝子が有意に高く検出された。一方で、下水処理場・放流水中のマクロライド耐性遺伝子は顕著な減少を示し、ヒトに対するマクロライド系薬の使用が減少したことを反映する結果が得られたものと考えられた。また、キノロン耐性遺伝子においても同様の減少傾向が見られ、ヒトに対するキノロン系薬の使用量が減少したこととの関連が示唆されるが、キノロン耐性大腸菌の分離状況とは乖離が見られた。本研究班のメタゲノム解析法は世界

的なメタゲノム解析法に準じたものであり、各国からの報告と比較することが可能である。今後、臨床・動物由来分離株と環境由来分離株のゲノム情報や抗菌薬の消費量と薬剤耐性との関係について比較検討を行う必要がある。

大阪府内の環境水のメタゲノム解析により検出された薬剤耐性因子のうち、 β -ラクタマーゼ関連遺伝子は GES、IMP、OXA、VEB 型等が多数を占めており、地域の状況を反映していると考えられた。一方で、耐性遺伝子のバリエーションはほとんど検出されず、対象地域の医療機関から報告されるものとも異なっていたため、メタゲノムで検出された耐性遺伝子の由来については、さらなる調査が必要である。培養法においては、ESBL 株、カルバペネマーゼ産生株の検出率は、地域の医療機関での検出状況と概ね一致していた。培養法による薬剤耐性菌の検出率は、地域の状況を把握するための指標となりうると考えられた。

動物の薬剤耐性調査では、野生シカ由来薬剤耐性菌はヒト、動物、環境由来の薬剤耐性大腸菌と比較的類似した特徴を有していることが示唆された。また、養豚場におけるメタゲノム解析結果では、農場によらず豚糞便と周辺環境水で細菌叢および耐性遺伝子の組成が大きく異なることから、豚で選択された薬剤耐性の環境放出リスクは極めて低いと考えられた。原尿槽の水試料中に豚糞便より農場周辺環境水に近い組成の遺伝子 (*qac* や *sul* など消毒剤に含まれる四級アンモニウムやスルホンアミドに対する耐性遺伝子) も認められたことから、豚の排泄物や消毒剤などが流入した原尿槽中で消毒剤の成分が選択圧となり、豚糞便とは異なる細菌叢が形成された可能性がある。環境 AMR の観点では、豚の腸管内で選択された薬剤耐性よりも養豚環境中 (汚水の流れ、原尿槽などの貯蔵施設、処理過程など) で選択された薬剤耐性の影響が大きいと考えられた。

環境水中の残留抗菌薬の調査では、下水処理場の下水処理放流水からスルファメトキサゾール、トリメトプリム、エリスロマイシンが LC-MS/MS で高頻度に検出されており、これらの抗菌薬は下水処理による除去が困難であることから、環境中への流出が懸念された。また、国内の他の下水処理場 12 カ所で同様に

下水処理放流水の残留抗菌薬の LC-MS 分析を行ったところ、いずれの抗菌薬もほとんど検出されなかった。下水処理水からの抗菌薬の検出には LC-MS では不十分な可能性があり、LC-MS/MS による測定が有用と考えられた。病院排水から検出されたエリスロマイシン、ノルフロキサシン、レボフロキサシン、トリメトプリム、スルファメトキサゾールは都市下水からも同様に高頻度で検出されており、病院での抗菌薬使用と関連は不明であった。

令和 2 年度の「日本の下水・排水中の AMR」「水再生センター (下水処理場) に係る AMR 因子のゲノミクス」「環境と薬剤耐性」「下水処理過程での抗菌薬の除去」をテーマとした環境 AMR 文献レビューでは、病院排水や下水処理場の流入水・処理水、及び河川中の AMR や抗菌薬の汚染リスクに関する報告は近年増えつつあるものの未だ少数であった。また、環境中の薬剤耐性や抗菌薬の処理法の新規開発が進んでいるが、未だ決定的な介入策が存在しない実態が明らかとなった。さらに、昨年までの文献レビュー結果と同様に、下水を経て河川に放出される薬剤耐性や抗菌薬の人に対する直接的なリスクを示した報告はなかった。今後も引き続き排水および河川・下水処理場における薬剤耐性および残留抗菌薬のモニタリングを継続し、環境中の薬剤耐性がもたらす人・動物へのリスク評価が必要であると考えられた。

E. 結論

薬剤耐性 (AMR) アクションプランの目標達成に向け、厚労 (人)・農水 (動物) 各分野の取り組みが実施されている中、環境中の薬剤耐性菌および残留抗菌薬の人・動物に与える影響を評価する手法を確立し、日本における環境中の薬剤耐性および抗菌薬の実態調査を充実させることが重要である。メタゲノム解析による AMR の環境水中のモニタリングは、薬剤耐性遺伝子の全体像の把握、あるいは他地域との比較による地域特有の耐性遺伝子の検出には有用であると考えられた。培養法は環境水の前処理法の検討は必要であるが、検出感度には優れており、これまで分離されていない薬剤耐性菌を同定し、詳細に解析することで、地域における薬剤耐性の実態把握に

有用と考えられた。

全国的なサーベイランスにより環境中の薬剤耐性の現状を把握するためのデータが得られ、日本の環境中の薬剤耐性因子や抗微生物薬がヒトおよび動物へ与える影響についてリスク評価を行うための基盤を作ることができた。本研究結果と国内外の文献情報をもとに人や動物へのリスク評価を行い、薬剤耐性ワンヘルス・アプローチを推進していく必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Kanamori H, Baba H, Weber DJ. Rethinking One Health approach in the challenging era of COVID-19 pandemic and natural disasters. *Infect Ecol Epidemiol.* 2020;11:1852681.
2. Sekizuka T, Inamine Y, Segawa T, Hashino M, Yatsu K, Kuroda M. Potential KPC-2 carbapenemase reservoir of environmental *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas caviae* isolates from the effluent of an urban wastewater treatment plant in Japan. *Environ Microbiol Rep.* 2019 Aug;11(4):589-597. doi: 10.1111/1758-2229.12772. Epub 2019 May 31. PubMed PMID: 31106978; PubMed Central PMCID: PMC6851574.
3. Sekizuka T, Inamine Y, Segawa T, Kuroda M. Characterization of NDM-5- and CTX-M-55-coproducing *Escherichia coli* GSH8M-2 isolated from the effluent of a wastewater treatment plant in Tokyo Bay. *Infect Drug Resist.* 2019 Jul 23;12:2243-2249. doi: 10.2147/IDR.S215273. eCollection 2019. PubMed PMID: 31413601; PubMed Central PMCID: PMC6662510.

4. Tamamura-Andoh Y, Tanaka N, Sato K, Mizuno Y, Arai N, Watanabe-Yanai A, Akiba M, Kusumoto M. A survey of the antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from wild sika deer (*Cervus nippon*) in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 2021, 83(5) doi: 10.1292/jvms.21-0005.
5. Ryo Honda, Chihiro Tachi, Mana Noguchi, Ryoko Yamamoto-Ikemoto, Toru Watanabe. Fate and seasonal change of *Escherichia coli* resistant to different antibiotic classes at each stage of conventional activated sludge process. *Journal of Water and Health*, doi: 10.2166/wh.2020.013
6. Masateru Nishiyama, Susan Praise, Keiichi Tsurumaki, Hiroaki Baba, Hajime Kanamori, Toru Watanabe. Prevalence of antibiotic-resistant bacteria ESKAPE among healthy people estimated by monitoring of municipal wastewater. *Antibiotics*, accepted

その他発表

1. 薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2020. (4)環境.
2. Characterization of a *bla*_{KPC-2}-positive *Klebsiella pneumoniae* and *Aeromonas* spp. isolated from the effluent of urban wastewater treatment plants in Japan. 黒田誠, 関塚剛史, 瀬川孝耶, 橋野正紀, 稲嶺由羽. 第92回日本細菌学会、口頭、札幌市
3. Global Genome Epidemiology Database (gGENEPID) 第16回日本台湾合同シンポジウム The 16th Japan-Taiwan Symposium on Infectious Diseases Tokyo, 口頭、東京
4. Global Genome Epidemiology Database

- (gGENEPID), Makoto Kuroda, Regional JPIAMR Workshop in Asia: Fostering Knowledge on Clinical Epidemiology, AMR Policy, Therapeutics and Diagnostics to Combat AMR in Asia. Oral presentation. Suwon in South Korea.
5. 細菌ゲノミクスを支援する Global Genome Epidemiology Database (gGENEPID)の開発 関塚剛史、谷津弘仁、糸川健太郎、○黒田誠。第93回日本細菌学会、口頭、名古屋市
 6. 河原隆二、山口貴弘、安達史恵、安楽正輝、川津健太郎：大阪府内で分離された mCIM 陽性 *Enterobacter cloacae* complex 株の解析。第49回薬剤耐性菌研究会、埼玉（2020）
 7. 渡部徹、西山正晃、森祐哉、洪木理央、金森肇、馬場啓聡、都市下水と病院排水のモニタリングによる薬剤耐性菌のまん延調査、第23回日本水環境学会シンポジウム、令和2年9月9～10日、オンライン開催
 8. 渡部徹、病院排水中の耐性菌のモニタリングー都市下水との比較で分かることー、第69回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第67回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会、令和2年10月21～23日、オンライン開催【招待講演】
 9. 森祐哉、西山正晃、渡部徹、日本とタイの都市下水から分離されたコリスチン耐性菌の薬剤感受性、令和2年度土木学会東北支部技術研究発表会、令和3年3月6日、オンライン開催
 10. 甲高綾乃、西山正晃、渡部徹、都市下水から単離したバンコマイシン耐性腸球菌の薬剤感受性と遺伝子型別、令和2年度土木学会東北支部技術研究発表会、令和3年3月6日、オンライン開催
 11. 西山正晃、馬場啓聡、金森肇、渡部徹、都市下水と病院排水中の腸内細菌科細菌が保有するESBL産生遺伝子の特徴、令和2年度土木学会東北支部技術研究発表会、令和3年3月6日、オンライン開催
 12. 森祐哉、西山正晃、渡部徹、日本とタイの都市下水からのコリスチン耐性菌の検出、第55回日本水環境学会年会、令和3年3月10～12日、オンライン開催
 13. 西山正晃、馬場啓聡、金森肇、渡部徹、都市下水と病院排水から単離したメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の分子疫学調査、第55回日本水環境学会年会、令和3年3月10～12日、オンライン開催
- H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
- なし

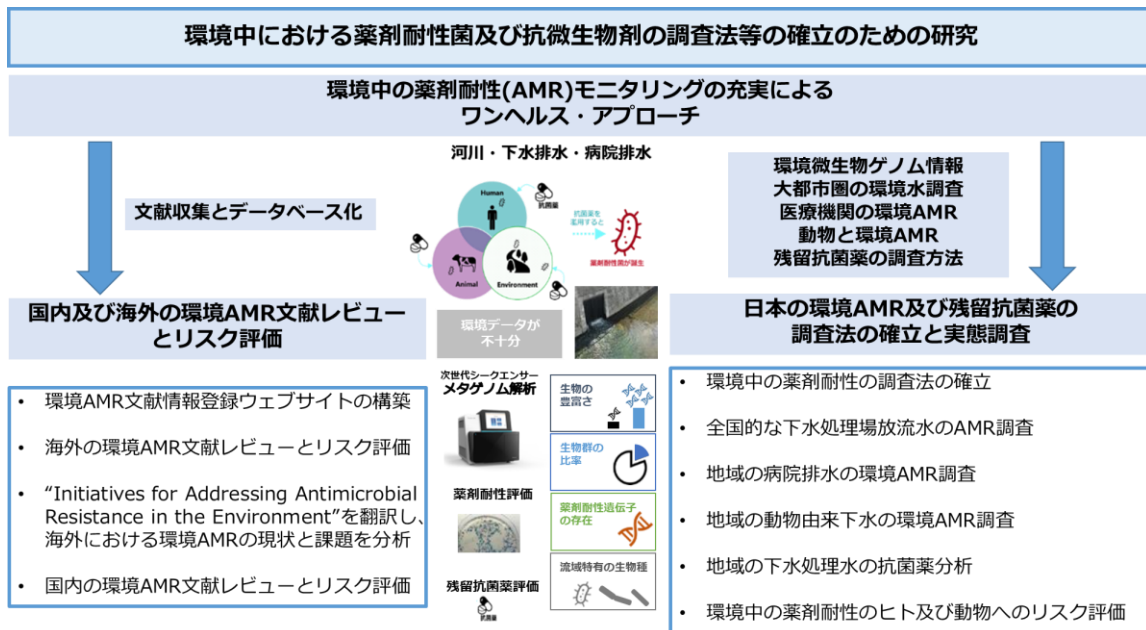


図1 環境中における薬剤耐性菌および抗微生物剤の調査法等の確立のための研究（令和2年度）

環境水の薬剤耐性の調査方法

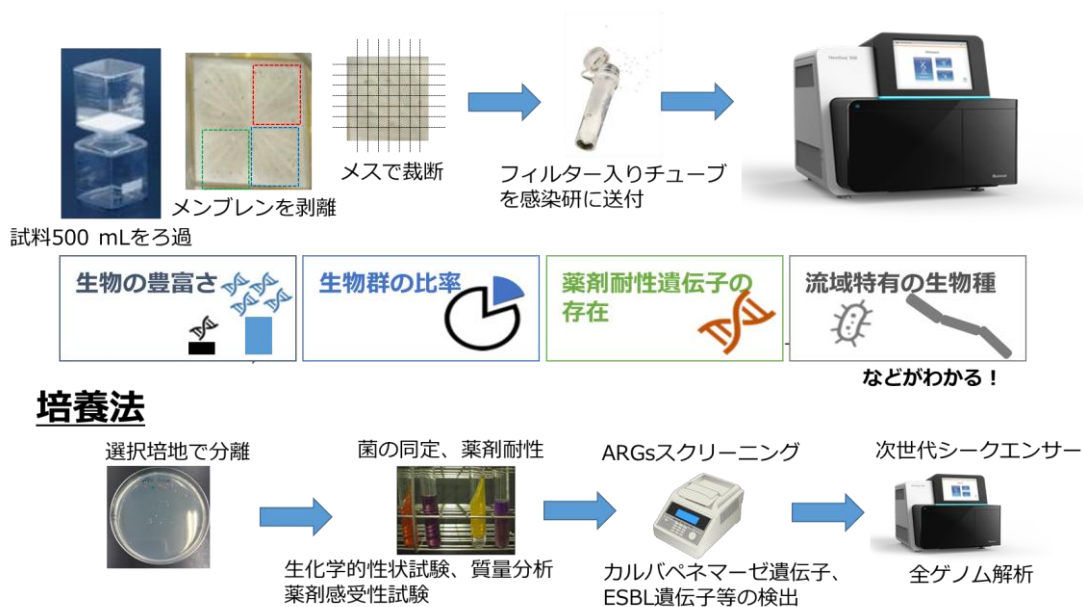


図2 メタゲノム解析法と培養法を用いた環境水の薬剤耐性の調査方法

環境AMR文献レビューとリスク評価

1. (海外) 環境中の薬剤耐性に対するイニシアチブ：現状と課題

- 抗菌薬や薬剤耐性因子は環境に拡散し、環境水中の耐性菌の曝露によって感染リスクが高まる
- 耐性菌の人の健康へのリスクを理解するため、環境水のどこに、どれだけの耐性菌が存在しているか評価する
- 環境水の耐性菌を測定するためにサンプリングと試験方法を評価し、プラクティスを標準化する

2. (日本) 環境AMR文献レビュー

- 薬剤耐性菌は下水処理場の流入水で多く流出水では比較的少ない
- 処理後の流出水中や、それを受ける河川水中には相当量の耐性菌・耐性遺伝子が残存しており、環境汚染が懸念される
- 本邦における臨床分離頻度が稀な耐性菌（KPC-2やNDM-5産生菌等）が下水中から検出された

図3 国内外の環境 AMR 文献レビューとリスク評価

資料 1 令和 2 年度環境 AMR 文献一覧

①「日本の下水・排水中の AMR」に関する文献

論文名	概要
<p>Azuma T, Hayashi T. Effects of natural sunlight on antimicrobial-resistant bacteria (AMRB) and antimicrobial-susceptible bacteria (AMSB) in wastewater and river water. <i>Sci Total Environ</i> 2020; 142568.</p>	<p>水中の薬剤耐性菌・非耐性菌に対する太陽光の殺菌効果を、下水処理場の流入・流出水及び河川水を用いて検証した論文。薬剤耐性菌・非耐性菌はともに下水処理場の流出水及び河川水に比べ下水処理場の流入水中に多く存在し、いずれも太陽光への暴露によって著明に減少し、5 時間後にその殺菌効果はほぼ 100%に達した。太陽光は環境水中の耐性菌低減に重要な役割を果たしている。</p>
<p>Azuma T, Otomo K, Kunitou M, et al. Environmental fate of pharmaceutical compounds and antimicrobial-resistant bacteria in hospital effluents, and contributions to pollutant loads in the surface waters in Japan. <i>Sci Total Environ</i> 2019; 657: 476-84.</p>	<p>病院排水、下水処理場流入水、放流水、河川水中の医薬品混入量に関する 2016 年の論文 (PubMed: 26802347) の続報で、同環境中の耐性菌として CRE、ESBL 産生菌、MDR アシネトバクター、MDR 緑膿菌、MRSA、VRE について調べている。これらの生菌数は病院排水と下水処理場流入水で最も多く、下水処理場放流水と河川水では 1/10~1/100 程度に減少していた。抗菌剤と同様に、通常の下処理では耐性菌を完全に除去できない一方で、オゾン処理では検出限界以下にできていた。</p>
<p>Furukawa T, Hashimoto R, Mekata T. Quantification of vancomycin-resistant enterococci and corresponding resistance genes in a sewage treatment plant. <i>J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng</i> 2015; 50: 989-95.</p>	<p>下水処理システム中のバンコマイシン耐性腸球菌と、その耐性遺伝子である vanA/vanB の分布について調査した論文。下水処理システムにより処理水中の腸球菌濃度の著明な低下を認めた。検出された腸球菌の中で、実際にバンコマイシンに耐性を示した株はごくわずかであったが、vanA/vanB は下水処理後の水中からも相当量が検出され、これらの河川や海岸など環境への流出が懸念された。</p>

<p>Hayashi W, Tanaka H, Taniguchi Y, et al. Acquisition of mcr-1 and Cocarriage of Virulence Genes in Avian Pathogenic Escherichia coli Isolates from Municipal Wastewater Influent in Japan. Appl Environ Microbiol 2019; 85.</p>	<p>下水処理施設で検出された大腸菌における、プラスミド媒介性コリスチン耐性遺伝子、mcr の分布を調査した論文。それぞれ遺伝的系統の異なる、合計 7 株の mcr-1 陽性コリスチン耐性大腸菌菌株が 3 か所の下水処理場の流入水から検出された。5 株は IncX4 プラスミド、2 株は Incl2 プラスミド上に mcr-1 を保有し、このうち 4 株の IncX4 プラスミドと 2 株の Incl2 はそれぞれ遺伝的相同性が非常に高かった。また、IncX4 プラスミド保有株と Incl2 プラスミド保有株それぞれ 2 株は鶏病原性大腸菌の病原遺伝子を保有した CoIV プラスミドも同時に保有し、その他一株も同様の病原遺伝子を染色体に保有していた。家禽は mcr-1 の重要なリザーバーであり、下水はその増幅に関与している可能性がある。</p>
<p>Liu M, Hata A, Katayama H, Kasuga I. Consecutive ultrafiltration and silica adsorption for recovery of extracellular antibiotic resistance genes from an urban river. Environ Pollut 2020; 260: 114062.</p>	<p>連続限外ろ過法による、細胞内 DNA (inDNA)、水中に溶解した細胞外 DNA (Dis_exDNA) 及び浮遊粒子表面に吸着した細胞外 DNA (Ads_exDNA) の分離法を用いて、下水処理場の処理水からの薬剤耐性遺伝子の検出を試みた論文。中空繊維を用いたろ過によって全ての DNA 断片を濃縮した後、遠心分離により Dis_exDNA とその他を分け、更に inDNA と Ads_exDNA を遠心限外ろ過とシリカ吸着を組み合わせて分離した。inDNA、Dis_exDNA および Ads_exDNA の全てが、下水処理場の上流から下流に向かって濃度が増加した。全 DNAのうち Ads_exDNA と Dis_exDNA がそれぞれ 1.8-26.7%及び 0.03-20.9%を占めた。Ads_exDNA と Dis_exDNA は薬剤耐性遺伝子の水平伝播に重要である可能性が示された。</p>

<p>Nishiyama M, Iguchi A, Suzuki Y. Identification of <i>Enterococcus faecium</i> and <i>Enterococcus faecalis</i> as vanC-type Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE) from sewage and river water in the provincial city of Miyazaki, Japan. <i>J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng</i> 2015; 50: 16-25.</p>	<p>バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) による水環境の汚染を評価するため、宮崎県の下水及び河川水のスクリーニング調査を行った。下水及び河川水から検出された腸球菌のうち VRE の割合はそれぞれ 12%及び 24%であった。VRE のうち 92%がバンコマイシン耐性遺伝子である vanC1 保有の <i>Enterococcus caerliffavus/gallinarum</i> であったが、ヒトから主に検出される <i>E. faecium</i> 及び <i>E. faecalis</i> の vanC2/3 保有株がそれぞれ 4%ずつ検出された。</p>
<p>Sekizuka T, Inamine Y, Segawa T, Hashino M, Yatsu K, Kuroda M. Potential KPC-2 carbapenemase reservoir of environmental <i>Aeromonas hydrophila</i> and <i>Aeromonas caviae</i> isolates from the effluent of an urban wastewater treatment plant in Japan. <i>Environ Microbiol Rep</i> 2019; 11(4): 589-97.</p>	<p>東京湾の下水処理場流出水中から検出された、blaKPC-2 遺伝子陽性 <i>Aeromonas hydrophila</i> 株 (GSH8-2) 及び <i>A. caviae</i> 株 (GSH8M-1) それぞれの全ゲノム配列を決定した。GSH8-2 と GSH8M-1 は、過去に米国の病院排水から検出された <i>Aeromonas</i> 属菌や中国の下水から検出された <i>A. hydrophila</i>、そして臨床分離された <i>Klebsiella</i>、<i>Enterobacter</i> 属菌や <i>Escherichia coli</i>、下水から分離された <i>Citrobacter</i> や <i>Pseudomonas</i> 属菌が保有していたプラスミドと共通の骨格を持つ、blaKPC-2 遺伝子保有 IncP-6 群プラスミドを保有していた。<i>Aeromonas</i> 属菌は日和見病原体であるが、環境中の薬剤耐性電子のリザーバーとなり得る。下水流出水中の薬剤耐性モニタリングは、環境中、そして臨床現場やコミュニティにおける薬剤耐性伝播拡散の早期探知に有用である。</p>
<p>Sekizuka T, Inamine Y, Segawa T, Kuroda M. Characterization of NDM-5- and CTX-M-55-coproducing <i>Escherichia coli</i> GSH8M-2 isolated from the effluent of a wastewater</p>	<p>東京湾の下水処理場流出水中から検出された、NDM-5 産生 <i>Escherichia coli</i> 菌株 GSH8M-2 について、プラスミドを含めた全ゲノム配列の決定と解析を行った。GSH8M-2 は ST542 に属</p>

<p>treatment plant in Tokyo Bay. <i>Infect Drug Resist</i> 2019; 12: 2243-9.</p>	<p>し、blaNDM-5 遺伝子の他、キノロンやテトラサイクリン、ST 合剤等複数種類の抗菌薬に対する耐性遺伝子を保有していた。blaNDM-5 遺伝子は IncX3 プラスミド、qGSH8M-2-4 を持ち、142 の IncX3 プラスミドの解析の結果、qGSH8M-2-4 は東アジアで臨床分離された <i>E. coli</i> 及び <i>Klebsiella</i> 属菌と関連していた。GSH8M-2 は blaCTX-M-55 遺伝子を有する IncX1 プラスミド、pGSH8M-2-3 を保有していた。下水処理場流出水の NDM 産生菌による汚染は環境汚染へとつながる恐れがあり、公衆衛生上の脅威である。下水処理場流出水中の薬剤耐性菌モニタリングが重要である。</p>
<p>Sekizuka T, Yatsu K, Inamine Y, et al. Complete Genome Sequence of a bla (KPC-2)-Positive <i>Klebsiella pneumoniae</i> Strain Isolated from the Effluent of an Urban Sewage Treatment Plant in Japan. <i>mSphere</i> 2018; 3.</p>	<p>東京湾の下水処理場流出水中から検出された、KPC-2 陽性 <i>Klebsiella pneumoniae</i>、GSU10-3 株について全ゲノム配列の決定と解析を行った。日本では 2012 年にブラジルの病院で治療歴のある患者から分離されて以来、KPC-2 陽性 <i>K. pneumoniae</i> 株は報告されていない。GSU10-3 株は ST11 型で、コアゲノム分子系統解析では 2011-2017 年に中国で臨床分離された KPC-2 陽性 <i>K. pneumoniae</i> と遺伝的関連性が強かった。GSU10-3 株の保有する 4 つのプラスミドのうち、blaKPC-2 を保有するプラスミド pGSU10-3-3 は他の blaKPC-2 を保有するプラスミドよりサイズが小さく、2 つのレプリコンを持ち、より複製及び宿主への適合に有利な条件を持っていた。その他のプラスミドはアミノグリコシド耐性遺伝子など多くの薬剤耐性遺伝子を保有し、他の腸内細菌科細菌に広く広がるものと高い相同性を示すものであった。下水流出水中の薬剤耐性モニタリングは、環境</p>

	中、そして臨床現場やコミュニティにおける薬剤耐性伝播拡散の早期探知に有用である。
11. Suzuki Y, Ida M, Kubota H, et al. Multiple β -Lactam Resistance Gene-Carrying Plasmid Harbored by <i>Klebsiella quasipneumoniae</i> Isolated from Urban Sewage in Japan. <i>mSphere</i> 2019; 4.	国内の下水処理場流入水より分離されたクレブシエラが、IncA/C2 プラスミド上にカルバペネマーゼ遺伝子 (blaKHM-1) を保有していた。本プラスミドは 185 kb で、blaKHM-1 の他、blaOXA-1、blaCTX-M-2、blaDHA-1 も保有しており、大腸菌への伝達性も認められた。
Tanaka H, Hayashi W, Iimura M, et al. Wastewater as a Probable Environmental Reservoir of Extended-Spectrum- β -Lactamase Genes: Detection of Chimeric β -Lactamases CTX-M-64 and CTX-M-123. <i>Appl Environ Microbiol</i> 2019; 85.	下水処理場の流入水中の blaCTX-M 遺伝子保有 <i>Escherichia coli</i> について調査・解析した論文。31 の ST 型に属する 73 株の E. coli が検出され、このうち blaCTX-M-14 保有株が 14 株と最も多く、次いで blaCTX-M-15 保有株が 12 株、blaCTX-M-27 保有株が 10 株であった。7 株中 5 株の B2-ST131 株が blaCTX-M-27 を保有していた。本邦ではこれまで臨床分離されたことのない、blaCTX-M-64 と blaCTX-M-123 のキメラ遺伝子を保有する株も 1 株検出された。下水は薬剤耐性遺伝子を保有する、臨床的に重要な菌株のリザーバーである。
Yamashita N, Katakawa Y, Tanaka H. Occurrence of antimicrobial resistance bacteria in the Yodo River basin, Japan and determination of beta-lactamases producing bacteria. <i>Ecotoxicol Environ Saf</i> 2017; 143: 38-45.	淀川流域において、下水処理場からの排水及び排水の合流前後の河川水、更に病院からの排水をサンプリングし、各水中の大腸菌の薬剤耐性を調査した論文。下水処理場及び病院からの排水中の大腸菌は他に比べ優位に薬剤耐性傾向が強く、特に病院排水中の大腸菌はほとんどが多剤耐性で、メタロ β ラクタマーゼ産生株も検出された。下水処理場及び病院の排水が、河川の薬剤耐性菌による汚染に密接に関わっていることが示された。
Yasojima M, Nakada N, Komori K, Suzuki Y, Tanaka H. Occurrence of levofloxacin,	下水処理場において、活性汚泥法の各過程におけるレボフロキサシン、クラリスロマイシン、

<p>clarithromycin and azithromycin in wastewater treatment plant in Japan. Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research 2006; 53: 227-33.</p>	<p>アジスロマイシンの各抗菌薬濃度を、液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法によって測定した論文。この方法により、1.2~29 ng/L以上の範囲で各抗菌薬を定量でき、その平均検出率は 35~93%であった。下水処理場への流入水中にレボフロキサシン、クラリスロマイシン、アジスマイシンはそれぞれ 552ng/L、647ng/L、260ng/L 検出され、それぞれは 42%、43%、49%除去された。活性汚泥中のクラリスロマイシン・アジスロマイシン濃度は処理過程が進むとともに減少したが、レボフロキサシン濃度は上昇した。それぞれの抗菌薬の除去率に差はみられなかった。抗菌薬が除去される過程は、活性汚泥による吸収以外の機序が関わっていることが示唆された。</p>
<p>Ghosh GC, Okuda T, Yamashita N, Tanaka H. Occurrence and elimination of antibiotics at four sewage treatment plants in Japan and their effects on bacterial ammonia oxidation. Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research 2009; 59(4): 779-86.</p>	<p>日本の大規模下水処理場におけるマクロライド系、キノロン系等、17種類の抗菌薬の検出と除去について調査した論文。流入水中の濃度はクラリスロマイシンが最も高く、次いでアジスロマイシン、レボフロキサシン、ノルフロキサシンが高かった。除去率はナリジクス酸が最も高く、ついでノルフロキサシン、レボフロキサシン、シプロフロキサシン、エンロフロキサシンが高かった。マクロライド系薬の中では、クラリスロマイシン及びアジスロマイシンが、ロキシスロマイシンに比べ比較的高い除去率を示した。ほとんどの抗菌薬について、CAS 過程より A2O や AO をベースとした処理法の方が除去率が高かった。細菌のアンモニア酸化に対する抗菌薬の影響は、それぞれ 0.05mg/L 以下の濃度では検出されなかった。それぞれの抗菌薬は、別個に存在する場合より混合して存在す</p>

	<p>る方がより高い細菌の抑制効果を示した。</p>
<p>Gomi R, Matsuda T, Matsumura Y, et al. Occurrence of Clinically Important Lineages, Including the Sequence Type 131 C1-M27 Subclone, among Extended-Spectrum-β-Lactamase-Producing <i>Escherichia coli</i> in Wastewater. <i>Antimicrob Agents Chemother</i> 2017; 61(9).</p>	<p>日本（関西地区）の下水処理場と病院排水由来の ESBL 産生(CTX-M 型)大腸菌の全ゲノム解析を行った論文。下水処理場および病院排水中に臨床的に重要なクローン(Sequence Type 131 C1-M27)の存在が明らかになった。ESBL 産生大腸菌が排水を介して環境中に拡散する可能性があるため、排水中の AMR を監視する必要がある。</p>
<p>Gomi R, Matsuda T, Yamamoto M, et al. Characteristics of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in Wastewater Revealed by Genomic Analysis. <i>Antimicrob Agents Chemother</i> 2018; 62.</p>	<p>日本(関西地区)および台湾の排水処理場および病院排水から排水サンプルを収集し、排水中のカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌(CPE)の全ゲノム解析を行った論文。日本の病院排水では CPE は検出されなかったが、その他の排水からカルバペネマーゼ遺伝子の GES 型が多く検出された。日本と台湾の排水分離株ではインテグロン構造が異なっていたが、排水分離株由来のインテグロンは同じ地域の臨床分離株からも検出されていた。処理された排水中に種々の CPE が存在しており、排水中の AMR をモニターすることの重要性を示唆している。</p>
<p>Iwane T, Urase T, Yamamoto K. Possible impact of treated wastewater discharge on incidence of antibiotic resistant bacteria in river water. <i>Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research</i> 2001; 43: 91-9.</p>	<p>多摩川及び多摩川流域の下水処理場における、抗菌薬耐性を持つ大腸菌群細菌について調査した論文。下水処理場からの流出水中の耐性菌は河川水中より多く、下流に向かうにしたがって増加した。下水処理過程において薬剤耐性菌濃度は減少するが、処理しきれなかった薬剤耐性菌によって河川水が汚染されている可能性が示された。</p>
<p>Kim I, Yamashita N, Tanaka H. Performance of UV and UV/H2O2 processes for the removal of pharmaceuticals detected</p>	<p>下水中の薬物除去に対する、紫外線を用いた処理法の有効性について、ベンチスケール実験を用いて評価した論文。紫外線単独による処理法</p>

<p>in secondary effluent of a sewage treatment plant in Japan. J Hazard Mater 2009; 166: 1134-40.</p>	<p>によってケトプロフェン等の薬剤は効率よく除去された一方、マクロライド系抗菌薬はほとんど除去されなかった。紫外線とオゾン/過酸化水素を用いた方法では多くの薬物が効率よく除去された。紫外線による下水中の薬物除去を効率的に行うためには、オゾン/過酸化水素と組み合わせが有効である。</p>
<p>Matsuo H, Sakamoto H, Arizono K, Shinohara R. Behavior of pharmaceuticals in waste water treatment plant in Japan. Bull Environ Contam Toxicol 2011; 87: 31-5.</p>	<p>下水中の薬物成分が活性汚泥によりどのように処理されるかを評価した論文。アモキシシリンやアンピシリン、アセトアミノフェン等の薬物は 90%以上が除去された一方、オセルタミビルやケトプロフェン等の薬物の除去率は 50%以下に留まった。消化過程では、トリメトプリムやインドメタシン等の薬物は 70%以上除去された一方、カルバマゼピン等の薬物は 50%以下しか除去されなかった。</p>
<p>Miura T, Kusada H, Kamagata Y, Hanada S, Kimura N. Genome Sequence of the Multiple-β-Lactam-Antibiotic-Resistant Bacterium Acidovorax sp. Strain MR-S7. Genome announcements 2013; 1.</p>	<p>βラクタム系薬によって汚染された、下水処理場の活性汚泥中から検出された <i>Acidovorax</i> 属菌 MR-S7 株について全ゲノム配列解析を行った。MR-S7 株はアンピシリン・アモキシシリン及びセファドロキシルに対し高い MIC を示し、多数の βラクタム系薬に対する耐性遺伝性を保有していた。</p>
<p>Miyata M, Ihara I, Yoshid G, Toyod K, Umetsu K. Electrochemical oxidation of tetracycline antibiotics using a Ti/IrO₂ anode for wastewater treatment of animal husbandry. Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research 2011; 63: 456-61.</p>	<p>畜産排水中のテトラサイクリンの電気化学的酸化を試みた論文。酸化イリジウム被覆チタン電極と硫酸ナトリウムを用いた電気化学的酸化によって、畜産排水中に 100mg/L 存在したテトラサイクリンは、6 時間で 0.7mg/L 以下の濃度まで低下した。電気化学的酸化は畜産排水中のテトラサイクリン除去に有用である。</p>
<p>Mori T, Mizuta S, Suenaga H, Miyazaki K. Metagenomic screening for bleomycin</p>	<p>活性化汚泥中のブレオマイシン耐性遺伝子をメタゲノム解析によって調査した論文。互いに</p>

<p>resistance genes. <i>Appl Environ Microbiol</i> 2008; 74: 6803-5.</p>	<p>異なる二種類のブレオマイシンが検出されたが、これらはブレオマイシンを産生するアクチノマイセス属菌の持つ遺伝子や、臨床分離株から検出される遺伝子とは異なるものであった。環境は新規薬剤耐性遺伝子のリザーバーであり、これを検出するためにメタゲノム解析が有用である。</p>
<p>Motoyama M, Nakagawa S, Tanoue R, Sato Y, Nomiyama K, Shinohara R. Residues of pharmaceutical products in recycled organic manure produced from sewage sludge and solid waste from livestock and relationship to their fermentation level. <i>Chemosphere</i> 2011; 84: 432-8.</p>	<p>ヒト尿尿汚泥、下水汚泥、牛糞堆肥、家禽堆肥、豚糞堆肥及び馬糞堆肥それぞれに由来する再利用有機堆肥中の、医薬品の残余濃度を調査した論文。フルオロキノロンはヒト尿尿汚泥及び下水汚泥に、サルファ剤は家禽堆肥及び豚糞堆肥中に、テトラサイクリンは豚糞堆肥中にそれぞれ高濃度で存在していた。医薬品の残余濃度と堆肥の熟成度は正の相関を示した。回転式発酵槽では、テトラサイクリンやフルオロキノロン、エリスロマイシン、トリメトプリムなどの残余濃度は著明な低下を示した。発酵の過程において分解される医薬品が、環境に与える影響は小さい。</p>
<p>Murata A, Takada H, Mutoh K, Hosoda H, Harada A, Nakada N. Nationwide monitoring of selected antibiotics: Distribution and sources of sulfonamides, trimethoprim, and macrolides in Japanese rivers. <i>Sci Total Environ</i> 2011; 409: 5305-12.</p>	<p>国内の主要な 37 河川においてヒトおよび家畜で使用される抗菌剤(12 種類)の濃度を調べた。抗菌剤濃度は郊外より都市部が高く(主にマクロライド系抗菌剤)、畜産が盛んな地域のいくつかの河川では動物に使用されるスルホンアミド系抗菌剤が主に検出された。ほとんどの河川の下流域ではヒト用抗菌剤の濃度が動物用抗菌剤を大きく上回っており、国内の河川の抗菌剤は主に都市部の下水処理場に由来する(家畜の排泄物由来の抗菌剤はそれほど河川に流入しない)と考えられる。</p>
<p>Nakada N, Shinohara H, Murata A, et al.</p>	<p>下水処理場の砂ろ過及びオゾン処理の、スルフ</p>

<p>Removal of selected pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and endocrine-disrupting chemicals (EDCs) during sand filtration and ozonation at a municipal sewage treatment plant. <i>Water research</i> 2007; 41: 4373-82.</p>	<p>アメトキサゾール、トリメトプリム、マクロライド系抗菌薬等の抗菌薬をはじめとした、24の医薬品に対する除去効果について評価した論文。砂ろ過は医薬品除去に不十分であったが、オゾン処理は抗菌薬をはじめとした多くの医薬品を80%以上除去した。下水中の医薬品除去には、砂ろ過にオゾン処理を組み合わせる方法が効果的である。</p>
<p>Nakada N, Yasojima M, Okayasu Y, Komori K, Suzuki Y. Mass balance analysis of triclosan, diethyltoluamide, crotamiton and carbamazepine in sewage treatment plants. <i>Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research</i> 2010; 61: 1739-47.</p>	<p>下水処理場における抗菌物質トリクロサン、昆虫忌避薬 DEET、抗てんかん薬カルバマゼピン、鎮痛薬クロタミトンの動態をガスクロマトグラフ質量分析器によって調査した論文。トリクロサンは主に活性汚泥によって効率的に除去された一方、DEET の除去率は限定的であり、カルバマゼピン・クロタミトンはほとんど除去されなかった。下水処理場の一般的な処理過程において、DEET やカルバマゼピン・クロタミトン等水溶性薬剤の除去は困難である。</p>
<p>Narumiya M, Nakada N, Yamashita N, Tanaka H. Phase distribution and removal of pharmaceuticals and personal care products during anaerobic sludge digestion. <i>J Hazard Mater</i> 2013; 260: 305-12.</p>	<p>下水処理場における嫌気性処理による下水汚泥中の医薬品やパーソナルケア製品の除去について評価した論文。スルファメトキサゾールとトリメトプリムはほぼ全てが、トリクロサン・トリクロカーバン及びオフロキサシンは30～50%が分解されたが、カルバマゼピンは除去されなかった。</p>
<p>Ogura Y, Ueda T, Nukazawa K, et al. The level of antimicrobial resistance of sewage isolates is higher than that of river isolates in different <i>Escherichia coli</i> lineages. <i>Sci Rep</i> 2020; 10: 17880.</p>	<p>河川水及び下水中の大腸菌の薬剤耐性について、表現型及び全ゲノム解析による遺伝子型両面から解析した論文。河川水・下水中の大腸菌は分子系統解析上区別ができず、薬剤耐性株も系統樹上に偏りなく分布していた。薬剤耐性株の割合及び薬剤耐性の種類、薬剤耐性遺伝子の保有頻度はいずれも河川水由来株と比較し下</p>

	水由来株が多かった。大腸菌の薬剤耐性は、その遺伝学的系統によらず、下水中において選択されやすいことが示された。
Okubo T, Hasegawa T, Fukuda A, et al. Screening of hospital-manhole sewage using MacConkey agar with cefotaxime reveals extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing <i>Escherichia coli</i> . <i>Int J Antimicrob Agents</i> 2019; 54: 831-3.	病院排水による院内の多剤耐性菌モニタリングの有用性を、大学病院の排水と、病院以外の大学の排水中の多剤耐性菌濃度を比較することで検証した。セフトラックス添加マッコキー培地を用いたスクリーニングによって ESBL 産生大腸菌が検出され、同菌の病院内環境への定着が示唆された。病院排水は病院内の薬剤耐性菌モニタリングに有用である可能性がある。
Okuda T, Kobayashi Y, Nagao R, et al. Removal efficiency of 66 pharmaceuticals during wastewater treatment process in Japan. <i>Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research</i> 2008; 57: 65-71.	古典的な活性化汚泥法や生物学的栄養塩除去法、及びオゾン処理を含む物理化学的処理法、更にこれらの化学的方法に凝集・沈殿・濾過に続く UV や塩素による消毒を加えた Title 22 の各方法による医薬品成分の除去効率について評価した論文。全過程において、対象とした抗菌薬を含む 66 の医薬品成分のうちほとんどは 80%以上除去されたが、カルバマゼピン及びクロタミトンは 30%以下に留まった。活性化汚泥法後の処理水中の医薬品濃度は生物学的栄養塩除去法後の濃度の 1.5 倍高かった。活性化汚泥法後の処理水にオゾン処理を加えた場合、医薬品濃度は流入水の 20%以下まで低下した。活性化汚泥法後に Title 22 処理を行った場合、医薬品成分の除去は不十分であったが、活性化汚泥法後にオゾン処理を加えた場合、医薬品成分は規定値以下まで除去された。
Sugimoto Y, Suzuki S, Nonaka L, et al. The novel <i>mef(C)</i> - <i>mph(G)</i> macrolide resistance genes are conveyed in the environment on various vectors. <i>J Glob Antimicrob Resist</i>	日本、台湾及びタイの水産養殖場における新規 <i>mef(C)</i> - <i>mph(G)</i> タンデム遺伝子の広がりを調査した論文。 <i>mef(C)</i> - <i>mph(G)</i> は、計 29 種の菌株の、大小様々なベクター上に保有されていた

<p>2017; 10: 47-53.</p>	<p>が、このうち 13 株は <i>tral(pAQU-IncA/C-SRI)</i> を保有しており、保有していない株と比較し高い転移性を示した。<i>mef(C)-mph(G)</i> タンデム遺伝子はアジア諸国の海洋細菌や下水中の細菌に広く分布しており、この遺伝子の伝播拡散にはベクターとして <i>tral(pAQU-IncA/C-SRI)</i> が関与している。</p>
<p>Suzuki Y, Hashimoto R, Xie H, et al. Growth and antibiotic resistance acquisition of <i>Escherichia coli</i> in a river that receives treated sewage effluent. <i>Sci Total Environ</i> 2019; 690: 696-704.</p>	<p>河川環境における大腸菌の増殖と抗生物質耐性獲得の可能性を明らかにするために、宮崎県で調査を実施した。下水放流水の上流および下流で、河川水、付着生物および堆積物を採取した。下水放流水中の大腸菌濃度は低かったが、その下流および付着生物では増加した。クロロフィル a の濃度も下流で増加していた。下水処理放流水は、大腸菌を河川へ直接的には供給していないものの、付着生物の成長を促進する栄養素を供給している。また、付着生物に存在するバイオフィルムにいる細菌が、耐性獲得のホットスポットになっている可能性がある。これにより河川中の大腸菌のレベルが上昇し、抗生物質耐性大腸菌が出現する可能性が考えられる。</p>
<p>Tagiri-Endo M, Suzuki S, Nakamura T, Hatakeyama T, Kawamukai K. Rapid determination of five antibiotic residues in swine wastewater by online solid-phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. <i>Anal Bioanal Chem</i> 2009; 393: 1367-75.</p>	<p>オンライン固層抽出法と液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法の組み合わせによって、養豚排水中の抗菌薬（フロルフェニコール、リンコマイシン、オキシテトラサイクリン、チロシン及びバルネムリン）を試み、成功させた論文。</p>
<p>諏訪 守. 生活水のバイオセーフティ 下水処理場における抗生物質耐性大腸菌の実態. <i>バムサジャーナル</i> 2015; 27:7-11.</p>	<p>関東圏内の下水処理施設 3 か所における流入下水及び二次処理水中の抗菌薬耐性大腸菌を検出・測定し、その耐性遺伝子の保有状況につ</p>

	<p>いて調査した論文。検出された大腸菌は多くがアンピシリン・テトラサイクリンに耐性を示すもので、レボフロキサシン耐性の大腸菌はそれらに比較し少なかった。家庭排水が主に流入する処理施設に比べ、病院排水の負荷の強い施設では多剤耐性大腸菌の存在割合が多かった。流入水に比べ二次処理水では多剤耐性大腸菌の存在割合が増加していた。また、多剤耐性大腸菌は、薬剤耐性のない大腸菌に比べ塩素消毒耐性が大きい傾向にあった。各種排水施設における薬剤耐性菌の、継続した調査・監視が重要である。</p>
<p>石畝 史, 京田 芳人, 望月 典郎, 布施田 哲也, 重屋 志啓盛, 泉谷 秀昌, 渡辺 治雄. 多剤耐性 <i>Salmonella enterica</i> Serovar Newport における患者由来株と下水由来株との比較検討. 感染症学雑誌 2005;79:270-275.</p>	<p>2003 年に福井県内の下痢症患者及び下水流入水から検出された多剤耐性 <i>Salmonella enterica</i> Serovar Newport について比較検討を行った論文。3 か所の浄化センターから採取された計 5 検体から計 9 株の <i>bla</i>_{CMY} 陽性多剤耐性 <i>S. Newport</i> が検出され、このうち患者の住所地とは別の地域の浄化センター 2 施設から検出の 3 株は薬剤感受性パターン及び PFGE パターンが患者由来株と一致した。多剤耐性 <i>S. Newport</i> は広範囲に分布している可能性があり注意が必要である。</p>
<p>中村 宗一郎, 野村 男次. 地下水の薬剤耐性糞便性大腸菌群および R プラスミド汚染. 日本食品工業学会誌 1990; 37:83-90.</p>	<p>井戸水として採取した地下水中の薬剤耐性糞便性大腸菌群と R プラスミドの汚染状況を調査した論文。22 の地下水サンプルのうち 13 サンプルから 1,066 の糞便性大腸菌群が検出され、そのうち 39.8%がテトラサイクリン・アミノグリコシド・クロラムフェニコール・アンピシリン・ナリジクス酸・リファンピシン・スルフイソキサゾールのいずれかに耐性を示した。また、全耐性株の 9.7%が R プラスミド保有株</p>

	<p>であり、Rプラスミド保有株はテトラサイクリン・クロラムフェニコール・ストレプトマイシン及びスルフィソキサゾール耐性パターンを示すことが多かった。</p>
<p>医療機関を対象にした新規水処理技術の開発. YAKUGAKU ZASSHI 2018;138:289-96.</p>	<p>医療機関に由来する排水として公共下水道に放流される病院排水の現状、医薬品の存在実態、環境へのリスク評価、除去技術についての総説。病院排水の研究は世界的に見てもまだ限られており、国内での状況もほとんどわかっていない。病院排水中に存在する抗菌薬では、シプロフロキサシン、レボフロキサシン、クラリスロマイシンが病院排水から高濃度で検出される。下水処理場の流入水に含まれる抗菌薬の成分は病院排水由来の負荷割合が高いため、河川に放流される医薬品成分の負荷を軽減するために、下水処理場における処理技術の向上だけでなく、医療機関でも公共下水道に放流する前に処理を行う必要性を示唆している。病院排水の処理技術として、生物処理、UV、過酸化水素、オゾン、およびそれらの組み合わせを用いた方法が期待されている。</p>
<p>メタゲノムから読み解くヒト・ほ乳類と自然界の薬剤耐性遺伝子の多様性. ファルマシア 2017; 53:66.</p>	<p>ヒト・動物・植物・環境試料中のメタゲノムデータの解析から、ヒトの消化管には30~80の耐性遺伝子が検出され高い多様性がみられ、病院廃水処理施設では同様の多様性を認める一方、病院以外の廃水処理施設で検出される耐性遺伝子は6~17種と少ないことが報告されている。各試料中ではβラクタマーゼ耐性遺伝子、特に <i>bla</i>_{TEM} 遺伝子が最も高頻度に検出され、自然界に存在しないトリメトプリムの耐性遺伝子はヒトや哺乳類の消化管、及び農場土壌資料から検出された。Martinezらの提唱するヒト・</p>

	<p>動物・水・下水・土壌の間の耐性遺伝子の伝搬に対する3つのボトルネック、①試料間の物理的接触可能性 (ecological connectivity)、②ある耐性遺伝子が既に優占している場合に類似の耐性遺伝子が定着しにくくなる新規参入障害 (founder effect)、③新しい遺伝子の保有に伴い微生物にかかる適応コスト (fitness cost) を考慮した場合、<i>bla_{TEM}</i> 遺伝子には①のヒト・水・土壌試料の間を耐性遺伝子が行き来できるような物理的なつながりが存在し、③による障害も小さかったと考えられる。</p>
<p>医薬品による環境汚染. 医学のあゆみ 2003; 205:159-60.</p>	<p>医薬品が水環境中に放出されることにより、そこに生息する生物への影響や、地下水や上水が汚染されることによる人間への影響が懸念される。内服・外用された医薬品は下水処理場での処理を経て放出されるが、下水処理による完全な除去は困難であり、除去されなかった医薬品が河川・海岸などの水環境中に放出されている。また、家畜に投与される医薬品は、時に肥料として、処理施設を経由せず直接河川に流入することもあり得る。医薬品の水生生物に対する毒性データは不足しており、複合汚染による毒性の増大や、薬剤耐性菌の発生なども懸念されている。医薬品による環境汚染の実態把握が急務である。</p>

②「水再生センター（下水処理場）に係る AMR 因子のゲノミクス」に関する文献

論文名	概要
<p>Marcelino VR, Wille M, Hurt AC, González-Acuña D, Klaassen M, Schlub TE, Eden JS, Shi M, Iredell JR, Sorrell TC, Holmes EC. Meta-transcriptomics reveals a diverse</p>	<p>オーストラリアの野鳥の Gut microbiota。下水処理場近くの水を嗜む Ducks は薬剤耐性遺伝子が保有していることが多く、南極のペンギンたちは少ない。</p>

antibiotic resistance gene pool in avian microbiomes. BMC Biol. 2019;17:31.	
Antão EM, Vincze S, Hanke R, Klimmek L, Suchecka K, Lübke-Becker A, Wieler LH. Antibiotic resistance, the 3As and the road ahead. Gut Pathog. 2018;10:52.	AMR に関する 3As, Awareness ・ Availability ・ Alternatives のレビュー。
Joseph SM, Battaglia T, Maritz JM, Carlton JM, Blaser MJ. Longitudinal Comparison of Bacterial Diversity and Antibiotic Resistance Genes in New York City Sewage. mSystems. 2019;4:e00327-19.	2015 年の 2・5・8 月の 3 回、New York City 地域 14 箇所の下水処理場の流入水を 16S-metagenome および薬剤耐性遺伝子の qPCR で評価した論文。
Qu J, Huang Y, Lv X. Crisis of Antimicrobial Resistance in China: Now and the Future. Front Microbiol. 2019;10:2240.	中国の AMR 問題の包括的なレビュー。中国での報告内容、環境 AMR のことも盛り込まれている。
Whitmer GR, Moorthy G, Arshad M. The pandemic Escherichia coli sequence type 131 strain is acquired even in the absence of antibiotic exposure. PLoS Pathog. 2019;15:e1008162.	市中に蔓延する E. coli ST131 clone の特徴（伝播、病原性、遺伝型、プラスミド）についてまとめた論文。健常者キャリアーの増加傾向が止まらず、数多くの薬剤耐性因子を伝達する基盤となってしまっている。このクローンを指標にすれば、伝播抑制・減少に貢献できる介入法を見つけることができるだろう。
Paulus GK, Hornstra LM, Alygizakis N, Slobodnik J, Thomaidis N, Medema G. The impact of on-site hospital wastewater treatment on the downstream communal wastewater system in terms of antibiotics and antibiotic resistance genes. Int J Hyg Environ Health. 2019;222:635-644.	PharmaFilter ・ Membrane Bioreactor (Microfiltration) (MBR) ・ Ozonation (Ozon.) ・ Granulated Activated Carbon (GAC) ・ UV Treatment (UV)を組み合わせた下水の処理能力を評価した論文。抗菌薬および薬剤耐性遺伝子も評価している。
Liu X, Zhang G, Liu Y, Lu S, Qin P, Guo X, Bi B, Wang L, Xi B, Wu F, Wang W, Zhang T. Occurrence and fate of antibiotics and antibiotic resistance genes in typical urban	北京近郊の病院と河川の抗菌薬と薬剤耐性遺伝子を評価した論文。病院排水中が特に多い。多くの薬剤耐性遺伝子は浄化されているが、sul1 ・ sul2 ・ tetC の相対量は増加している。下

<p>water of Beijing, China. <i>Environ Pollut.</i> 2019;246:163-173.</p>	<p>水処理でテトラサイクリンとキノロンは減量しているが、サルファ剤とマクロライドの除去は不十分のようだ。</p>
<p>Kelly KR, Brooks BW. Global Aquatic Hazard Assessment of Ciprofloxacin: Exceedances of Antibiotic Resistance Development and Ecotoxicological Thresholds. <i>Prog Mol Biol Transl Sci.</i> 2018;159:59-77.</p>	<p>世界各地の fresh surface water, groundwater, saltwater, treated municipal effluent, raw municipal sewage, treated hospital effluent, and raw hospital sewage のシプロフロキサシンの濃度測定を実施した論文。Ecotoxicological predicted no effect concentrations (PNEC) for ciprofloxacin in water として 100 ng/L つまり 0.0001 µg/mL を設定している。</p>
<p>Lamba M, Gupta S, Shukla R, Graham DW, Sreekrishnan TR, Ahammad SZ. Carbapenem resistance exposures via wastewaters across New Delhi. <i>Environ Int.</i> 2018;119:302-308.</p>	<p>インド・ニューデリーの CRE 調査。ニューデリーでは NDM-1 汚染が激しく、その主体は <i>Pseudomonas</i> 属菌である。</p>
<p>Buelow E, Bayjanov JR, Majoor E, Willems RJ, Bonten MJ, Schmitt H, van Schaik W. Limited influence of hospital wastewater on the microbiome and resistome of wastewater in a community sewerage system. <i>FEMS Microbiol Ecol.</i> 2018;94.</p>	<p>オランダにおける病院排水中の AMR 調査。病院排水中の細菌叢は WWTP 流入水のそれと大きな違いなく、薬剤耐性遺伝子は病院排水に多い。</p>
<p>Arora VK, Chandra K, Chandra M. Occupational tuberculosis in sewage workers: A neglected domain. <i>Indian J Tuberc.</i> 2019;66:3-5.</p>	<p>インドの下水処理場職員は結核感染症 (TB) リスクが高いとの報告。抗酸菌は塩素耐性が強く、次亜塩素酸では殺菌できないため、インドのような排水汚染が高い地域では TB として露見した可能性。</p>
<p>Fresia P, Antelo V, Salazar C, Giménez M, D'Alessandro B, Afshinnekoo E, Mason C, Gonnet GH, Iraola G. Urban metagenomics uncover antibiotic resistance reservoirs in coastal beach and sewage waters.</p>	<p>ウルグアイの首都モンテビデオでのビーチおよび下水処理場サンプルの比較ゲノミクス。サルファ剤および beta-lactam 耐性が顕著な違いを見せている。</p>

Microbiome. 2019;7:35.	
Dinh Q, Moreau-Guigon E, Labadie P, Alliot F, Teil MJ, Blanchard M, Eurin J, Chevreuil M. Fate of antibiotics from hospital and domestic sources in a sewage network. Sci Total Environ. 2017;575:758-766.	病院排水中の抗菌薬濃度は郊外の下水中の抗菌薬濃度の 10 倍高く、排水処理場へ流入する抗菌薬の 90%を占めている。
Hutinel M, Huijbers PMC, Fick J, Åhrén C, Larsson DGJ, Flach CF. Population-level surveillance of antibiotic resistance in Escherichia coli through sewage analysis. Euro Surveill. 2019;24:1800497.	スウェーデン・イエーテボリの 8 箇所の病院排水・大腸菌臨床株 (721 株) と 6 箇所の市中下水処理場・大腸菌株 (531 株) の薬剤感受性比較。病院の臨床分離株との感受性結果とも比較している。
東京都水道局。流域下水道における主要施策。 https://gph.niid.go.jp/paper/env-amr/readupload/235/%E6%B5%81%E5%9F%9F%E4%B8%8B%E6%B0%B4%E9%81%93%E3%81%AB%E3%81%8A%E3%81%91%E3%82%8B%E4%B8%BB%E8%A6%81%E6%96%BD%E7%AD%962_%E6%9D%B1%E4%BA%AC%E9%83%BD%E4%B8%8B%E6%B0%B4%E9%81%93%E5%B1%80.pdf	多摩川や柳瀬川では、河川水量の約 5 割を下水処理水が占めており、良好な水環境の形成には下水道の役割は重要となっている。平成 28 年には、約 463 万尾のアユが多摩川を遡上している。
多摩川流域の水流の現状把握。 https://gph.niid.go.jp/paper/env-amr/readupload/234/%E5%A4%9A%E6%91%A9%E5%B7%9D%E3%81%AE%E6%B0%B4%E8%B3%AA%E8%AA%BF%E6%9F%BB.pdf	多摩川の水質調査。

③「下水処理過程での抗菌薬の除去」に関する論文

論文名	概要
Plósz BG, Leknes H, Liltved H, Thomas KV. Diurnal variations in the occurrence and the fate of hormones and antibiotics in activated	ノルウェーのオスロの下水処理場で、流入水のトリメトプリム、スルファメトキサゾール、テトラサイクリン、シプロフロキサシンの濃度の

<p>sludge wastewater treatment in Oslo, Norway. <i>Sci Total Environ.</i> 2010;408:1915-24.</p>	<p>ダイナミクスを調べたところ、服用のタイミングとの関連が見られた。処理の過程では、抗菌薬の生物学的な除去は限定的であり、処理水中のトリメトプリム、スルファメトキサゾール、シプロフロキサシンの濃度は、流入水よりも高かった。シプロフロキサシンは、その低い除去率のために、処理水中で卓越しており、他の抗菌薬のおおよそ 10 倍量で存在していた。</p>
<p>Li B, Zhang T. Mass flows and removal of antibiotics in two municipal wastewater treatment plants. <i>Chemosphere.</i> 2011;83:1284-9.</p>	<p>香港の 2 つの下水処理場で、7 クラス 20 種類の抗菌薬を調査した。アンピシリン、セファレキシム、スルファメトキサゾール、スルファジアジン、スルファメトキサゾール、クロルテトラサイクリン、バンコマイシンは活性汚泥プロセスで 52~100%が、アンピシリンとセファレキシムは消毒で 91~99%が除去されていた。</p>
<p>Gulkowska A, Leung HW, So MK, Taniyasu S, Yamashita N, Yeung LW, Richardson BJ, Lei AP, Giesy JP, Lam PK. Removal of antibiotics from wastewater by sewage treatment facilities in Hong Kong and Shenzhen, China. <i>Water Res.</i> 2008;42:395-403.</p>	<p>香港と深センの 4 カ所の下水処理場において、流入水と放流水中の抗菌薬 9 種類を測定した。香港の処理場ではセファレキシムの濃度が最も高かったが、深センの処理場では検出されなかった。深センの処理場の流入水では、セフトキシムが卓越していたが、香港の処理場のその濃度は低かった。これは両都市における抗菌薬の使用パターンが反映されているのであろう。処理過程では、ノルフロキサシンとテトラサイクリンの除去率が高く、エリスロマイシンの除去率は低かった。</p>
<p>Tran NH, Chen H, Reinhard M, Mao F, Gin KY. Occurrence and removal of multiple classes of antibiotics and antimicrobial agents in biological wastewater treatment processes. <i>Water Res.</i> 2016;104:461-472.</p>	<p>シンガポールの都市下水について、10 種類の異なるクラスの抗菌薬を調査した。ベータラクタム、グリコペプチド、フルオロキノロン系の抗菌薬は、生物学的な下水処理プロセスで大部分が除去されたのに対して、トリメトプリムやバンコマイシン系の抗菌薬は除去されづらいよ</p>

	うに見えた。
<p>Chen Y, Shen W, Wang B, Zhao X, Su L, Kong M, Li H, Zhang S, Li J. Occurrence and fate of antibiotics, antimicrobial resistance determinants and potential human pathogens in a wastewater treatment plant and their effects on receiving waters in Nanjing, China. <i>Ecotoxicol Environ Saf.</i> 2020;206:111371.</p>	<p>中国の貴州の下水処理場において、18種類の抗菌薬を調査した。その中でスルファメトキサゾールが最も高頻度で検出され、その濃度も最も高かった。抗菌薬の除去の主たるメカニズムは、生物学的または非生物学的な分解であった。ただし、キノロンの除去は汚泥への吸着が第一の要因であった。</p>