

## 東京都における環境水中抗微生物薬の存在実態 及び河川水中カルバペネム耐性菌の検出状況

木下 輝昭<sup>a</sup>, 小田 智子<sup>a</sup>, 渡邊 喜美代<sup>a</sup>, 山崎 貴子<sup>b</sup>, 飯田 春香<sup>a</sup>, 角田 徳子<sup>a</sup>, 小杉 有希<sup>a</sup>,  
村上 昂<sup>c</sup>, 井田 美樹<sup>c</sup>, 斎藤 育江<sup>a</sup>, 猪又 明子<sup>d</sup>, 守安 貴子<sup>d</sup>

都内の多摩川河川水（支川を含む）及び井戸水について抗微生物薬の存在実態を調査した。調査に先立ちカルバペネム系薬剤及びポリペプチド系薬剤の分析方法を検討した。固相抽出において、疎水性カラム（C18）と親水性カラム（グラファイトカーボン）を連結して使用したところ、コリスチンを除く各成分の回収率は40～65%、変動係数は2～13%で、スクリーニング方法として有用であった。多摩川河川水中の抗微生物薬調査では、クラリスロマイシン、アジスロマイシン及びレボフロキサシンの検出率が57～73%と高く、検出濃度範囲がそれぞれ0.0009～0.22 µg/L、0.004～0.22 µg/L及び0.003～0.11 µg/Lであった。これら3物質は、ヒトによる体外排泄量が多く、下水処理工程での除去率が低いことから、河川水での検出は下水処理水の混入によるものと思われる。多摩地区井戸水57地点における調査では、スルファメトキサゾールの検出率が23%と最も高く、検出濃度範囲が0.002～0.016 µg/Lであった。また、河川水について、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）の調査を行ったところ、夏期にのみ多摩川中流域で存在が認められた。ただし、同地点におけるカルバペネム系薬剤は不検出であったことから、他の箇所が発生したCREが流入してきたものと推察される。

**キーワード：**抗微生物薬、カルバペネム系薬剤、多摩川河川水、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌

### はじめに

抗微生物薬は、現代の医療において重要な役割を果たしており、感染症治療に大きな効果を発揮している。また、ヒト以外にも畜産及び水産業等で疾病の治療薬や飼料中の栄養成分の有効利用を目的とした飼料添加物として使用されている。一方、抗微生物薬の不適正な使用によって薬剤耐性を持つ細菌（薬剤耐性菌）が増加しており、抗微生物薬を適切な場面で適切に使用することが求められている<sup>1)</sup>。日本における抗微生物薬の使用については、マクロライド系、第三世代セファロスポリン、フルオロキノロン系薬剤の使用量が多いことが指摘されている<sup>2)</sup>。その中で、重篤感染症治療の最後の砦とされているカルバペネム系薬剤について、薬剤耐性菌であるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（Carbapenem-resistant enterobacteriaceae, 以下CREと略す）の蔓延が懸念され、世界的な問題となっている。従来、薬剤耐性菌は主に病院内での発生とされていたが、近年では環境水中での存在が確認されており、病院外での発生も懸念されている。環境水中における抗微生物薬や薬剤耐性菌の調査はそれぞれ行われてきた<sup>3-7)</sup>が、同一試料を用いて抗微生物薬と薬剤耐性菌を調査し、その関連を解析した報告はほとんど見られない。本研究では、抗微生物薬のうちカルバペネム系薬剤に着目し、多摩川河川水中において薬剤とCREの存在実態を把握することを目的の1つとした。薬剤の実態調査をする上で、カルバペネ

ム系薬剤の分析方法に関する報告は、血漿中に含まれる成分を分析するHILIC-LC/MS/MS法<sup>8-9)</sup>が見られるものの、環境水中に含まれる成分を分析する方法はほとんどない。そこで、鈴木らが用いた医薬品の分析方法<sup>10)</sup>を参考に検討を行い、分析方法を確立したので報告する。また、多摩川河川水及び多摩地区井戸水においてカルバペネム系薬剤を含む多種の抗微生物薬の存在実態及び多摩川河川水中におけるCRE調査を行ったので、併せて報告する。

### 実験方法

#### 1. 試薬及び器具

##### 1) 抗微生物薬調査

調査対象は、表1のとおりβ-ラクタム系薬剤（15種）、マクロライド系薬剤（5種）、テトラサイクリン系薬剤（3種）、ポリペプチド系薬剤（1種）、キノロン系薬剤（1種）、サルファ剤（2種）、リンコマイシン系薬剤（1種）、アリルアミン系薬剤（1種）及びST合剤（1種）の計30種とした。セフカペンピボキシル塩酸塩一水和物及びピニアペネムは東京化成社製、それ以外の製品は富士フィルム和光純薬社製を使用した。また、内部標準物質としてカルバマゼピン-*d*<sub>10</sub>（富士フィルム和光純薬社製）を用いた。固相抽出は、セップパックコンセントレーター（Waters社製）を用いて行った。また、カルバペネム系薬剤及びポリペプチド系薬剤における溶出液の濃縮は、

<sup>a</sup> 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部環境衛生研究科  
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

<sup>b</sup> 当時：東京都健康安全研究センター薬事環境科学部環境衛生研究科

<sup>c</sup> 東京都健康安全研究センター微生物部食品微生物研究科

<sup>d</sup> 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部

表1.調査対象一覧

分類	製品名 (成分名)	定量下限値* ( $\mu\text{g/L}$ )
ペニシリン系薬剤 (4種)	ピペラシリンナトリウム (ピペラシリン)	0.4
	アモキシシリン三水和物 (アモキシシリン)	0.003
	アンピシリンナトリウム (アンピシリン)	0.006
	ベンジルペニシリンカリウム (ベンジルペニシリン)	0.002
$\beta$ -ラクタム系薬剤 (15種)	セフジニル (セフジニル)	0.02
	セフメタゾール (セフメタゾール)	0.02
	セフトリアキソンニナトリウム3.5水和物 (セフトリアキソン)	0.4
	セフカベンピボキシル塩酸塩一水和物 (セフカベンピボキシル)	0.001
	セフジトレンピボキシル (セフジトレンピボキシル)	0.006
	セファクロロモノヒドリド (セファクロロ)	0.01
カルバペネム系薬剤 (4種)	イミペネムモノヒドリド (イミペネム)	0.1
	ドリペネム (ドリペネム)	0.02
	ピアペネム (ピアペネム)	0.02
	メロペネム三水和物 (メロペネム)	0.02
$\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤 (1種)	スルバクタムナトリウム (スルバクタム)	0.01
マクロライド系薬剤 (5種)	タイロシン酒石酸塩 (タイロシン)	0.003
	ロキシシロマイシン (ロキシシロマイシン)	0.002
	アジスロマイシン (アジスロマイシン)	0.003
	クラリスロマイシン (クラリスロマイシン)	0.0008
	エリスロマイシン (エリスロマイシン)	0.009
テトラサイクリン系薬剤 (3種)	オキシテトラサイクリン (オキシテトラサイクリン)	0.004
	クロルテトラサイクリン塩酸塩 (クロルテトラサイクリン)	0.005
	ドキシサイクリンモノヒドリド (ドキシサイクリン)	0.002
ポリペプチド系薬剤 (1種)	コリスチン硫酸塩 (コリスチン)	4
キノロン系薬剤 (1種)	レボフロキサシン塩酸塩 (レボフロキサシン)	0.002
サルファ剤 (2種)	スルファメトキサゾール (スルファメトキサゾール)	0.002
	スルファモノメトキシ (スルファモノメトキシ)	0.002
リンコマイシン系薬剤 (1種)	リンコマイシン塩酸塩一水和物 (リンコマイシン)	0.001
アリルアミン系薬剤 (1種)	テルピナフィン塩酸塩 (テルピナフィン)	0.0004
ST合剤 (1種)	トリメトプリム (トリメトプリム)	0.002

\* 水試料としての値

TurboVap LV (Biotage社製) を用いて、窒素気流下70°Cで行った。

## 2) カルバペネム耐性腸内細菌科細菌調査

前処理に用いるフィルターは、ミリポア社製S-pakメンブレンフィルター (ポアサイズ0.45  $\mu\text{m}$ ,  $\Phi$ 47 mm), LB培地は栄研化学社製パールコア乳糖ブイオン培地, ECC培地は関東化学社製クロモアガーECC培地, 薬剤ディスクはベクトン・ディッキンソン社製BDセンシ・ディスク2種 (イミペネム及びメロペネム) を用いた。ディスクの詳細を表2に示す。

表2 BDセンシ・ディスク2種の詳細

成分名	含有量 ( $\mu\text{g}$ )	For Enterobacteriaceae		
		耐性 (mm)	中間 (mm)	感性 (mm)
イミペネム	10	19	20-22	23
メロペネム	10	19	20-22	23

## 2. 標準液の調製

### 1) カルバペネム系薬剤及びポリペプチド系薬剤

表1のカルバペネム系薬剤及びポリペプチド系薬剤を各10 mg秤量して10 mL試験管に採り、0.1%ギ酸メタノール10 mLに溶かして標準原液とした (各1,000 mg/L)。また、各標準原液の適量を10 mL試験管に採り、精製水で適宜希

釈して検量線用標準液を調製した。

### 2) その他の薬剤

表1の各薬剤 (カルバペネム系薬剤及びポリペプチド系薬剤を除く) を10 mg秤量 (純度を掛けた値) して10 mL試験管に採り、メタノール10 mLに溶かして標準原液とした (各1,000 mg/L)。また、各標準原液の適量を10 mL試験管に採り、精製水で適宜希釈して検量線用標準液を調製した。

## 3. 試験溶液の調製

### 1) カルバペネム系薬剤及びポリペプチド系薬剤の前処理検討

鈴木らが報告した分析方法<sup>10)</sup>を用いて固相抽出を行ったところ、メロペネムを除く全ての成分が回収されなかった。カルバペネム系薬剤のpKaは2.7~4.3であるため、検水を酸性にして疎水性カラムによる回収が可能であると考えられたが、良好な結果ではなかった。そこで、検水のpH調整を行わず、疎水性カラムをクリーンアップ用、親水性カラムを目的成分の回収用として連結して用いる前処理法の検討を行った。疎水性カラムにはジーエルサイエンス社製C18, 親水性カラムにはジーエルサイエンス社製InertSep AC (以下ACと略す) 又はInertSep GC (以下GCと略す) を使用し、溶出液は0.1%ギ酸50%メタノール溶液を用いた。最適な溶出量を把握するため、精製水500 mLに各成

分量が10 µgになるように添加して固相抽出を行い、溶出液を2 mLずつ3分画し、それぞれの測定を行った。前処理フローを図1に示す。

2) その他の薬剤

鈴木らが報告した分析方法<sup>10)</sup>を用いて、検水500 mLをギ酸でpH調整し、固相抽出を行った。固相カラムは、Waters社製Sep-Pak PS-2 Plus及びOasis HLB Plusを連結して用いた。また、通水はSep-Pak PS-2 Plus側から開始し、溶出はバックフラッシュで行った。得られた溶出液を窒素気流下で0.1 mLまで濃縮し、精製水で0.5 mLに定容した。前処理フローを図2に示す。

4. 装置及び測定条件

1) カルバペネム系薬剤及びポリペプチド系薬剤

LC装置はWaters社製ACQUITY UPLC I-Classシステム、MS-MS装置はWaters社製XevoTQを使用した。LCの分析条件を表3、MS-MSのMRM条件を表4に示す。

2) その他の薬剤

LC装置はWaters社製ACQUITY UPLC H-Classシステム、MS-MS装置はWaters社製XevoTQDを使用した。LCの分析条件を表5、MS-MSのMRM条件を表6に示す。

表3. カルバペネム系及びポリペプチド系薬剤のLC分析条件

カラム	UPLC BEH C18 (2.1 × 100 mm, 1.7 µm)		
移動相A	0.1%ギ酸0.5 ml酢酸アンモニウム水溶液		
移動相B	アセトニトリル		
LC部	グラジエント条件 B: 5%(1.2 min)→50%(3.0 min)→70%(6.0 min)→90%(9.0 min)→5%(12 min)		
流速	0.2 mL/min	サンプル温度	10 °C
カラム温度	40 °C	注入量	30 µL
イオン化法	ESI +	脱溶媒温度	650 °C
MS部	キャピラリー電圧 3 kV	コーンガス流量	50 L/hr
	イオン源温度 150 °C	脱溶媒ガス流量	1200 L/hr

表4. カルバペネム系及びポリペプチド系薬剤のMS-MSのMRM条件

成分名	イオンモード	Precursor (m/z)	Product (m/z)	Cone (V)	Collision (V)
イミペネム	ES+	345.6	171.7	20	30
			273.3	20	10
ピアペネム	ES+	396.5	109.7	20	20
			159.6	20	50
ドリペネム	ES+	466.5	315.7	20	20
			387.6	20	20
メロペネム	ES+	429.6	174.7	20	20
			357.7	20	20
コリスチンA	ES+	390.4	101.0	20	16
			384.5	20	10
コリスチンB	ES+	385.7	101.1	20	18
			379.8	20	10

表5. その他の薬剤のLC分析条件

カラム	L-column 2 ODS (2.0×100 mm, 3 µm)		
移動相A	0.1%ギ酸精製水		
移動相B	0.1%ギ酸アセトニトリル		
LC部	グラジエント条件 B: 5%(2 min)→20(3 min)→50%(16 min)→100%(18 min)→5%(23.01 min)		
流速	0.2 mL/min	サンプル温度	10 °C
カラム温度	40 °C	注入量	5 µL
イオン化法	ESI +/-	脱溶媒温度	500 °C
MS部	キャピラリー電圧 2.0 kV/3.0 kV	コーンガス流量	50 L/hr
	イオン源温度 150 °C	脱溶媒ガス流量	1000 L/hr

表6. その他の薬剤のMS-MSのMRM条件

成分名	イオンモード	Precursor (m/z)	Product (m/z)	Cone (V)	Collision (eV)
クラリスロマイシン	ES+	748.52	158.10	38	24
スルバクタム	ES-	231.99	187.96	24	10
アンピシリン	ES+	350.07	105.99	28	22
セフカペンビボキシル	ES+	568.14	507.14	26	12
アモキシシリン	ES+	366.07	349.09	22	8
セフジトレンビボキシル	ES+	621.14	241.04	44	20
セフメタゾール	ES+	494.01	334.05	38	16
スルファメトキサゾール	ES+	254.03	155.96	32	16
トリメトプリム	ES+	291.10	230.06	48	22
レボフロキサシン	ES+	362.16	261.15	44	28
セフトリアキソン	ES+	555.10	396.08	28	12
セフジニル	ES+	396.03	125.95	54	30
ビベラシリン	ES-	516.16	233.05	22	18
セファクロル	ES+	367.97	105.99	24	18
テルビナフィン	ES+	292.16	141.04	36	18
ロキシスロマイシン	ES+	837.65	158.13	40	32
リンコマイシン	ES+	407.22	126.08	48	28
アジスロマイシン	ES+	749.59	83.03	46	54
オキシテトラサイクリン	ES+	461.16	426.13	20	16
クロルテトラサイクリン	ES+	479.16	444.07	40	20
ドキシサイクリン	ES+	445.16	428.14	32	18
タイロシン	ES+	916.65	174.12	74	40
ベンジルペニシリン	ES+	335.03	90.96	54	44
スルファアモノメトキシシン	ES+	281.10	92.01	40	28
エリスロマイシン	ES+	734.52	158.12	38	30
カルバマゼピン-d <sub>10</sub>	ES+	247.16	204.12	44	20

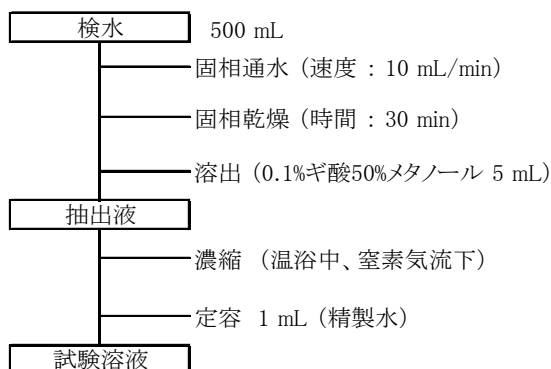


図1. カルバペネム系薬剤及びポリペプチド系薬剤の前処理フロー

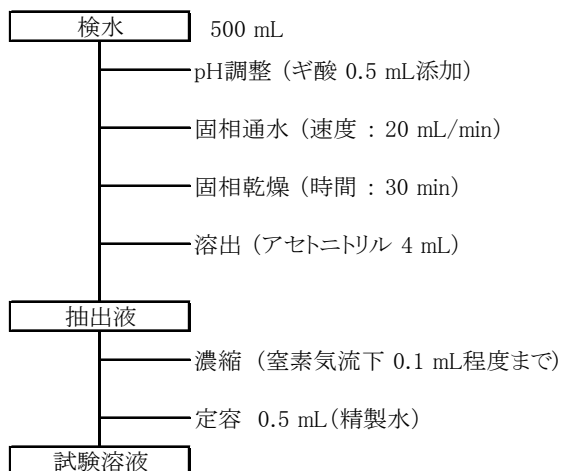


図2. その他薬剤の前処理フロー

5. 環境水中の抗微生物薬調査

1) 多摩川河川水

東京都内の多摩川（支川を含む）における抗微生物薬の存在実態を把握するため、令和元年5月27日、8月27日、11月13日及び令和2年2月17日に採水を行った。採水地点は、図3に示すとおり、多摩川本流5地点（a：羽村堰、d：日野橋（11月以降は立日橋）、f：関戸橋、h：多摩川橋、k：二子橋）、支川6地点（b：多西橋（平井川）、c：東秋川橋（秋川）、e：新井橋（浅川）、g：報恩橋（大栗川）、i：なかのはし（野川）、j：田中之森橋（仙川））の11地点を選定した。

2) 多摩地区井戸水

多摩地区井戸水における抗微生物薬の存在実態を把握するため、令和元年11月18～21日、25～28日に57地点（水源として表流水・伏流水を含む）で採水を行った。



図3. 多摩川及び支川における調査地点

6. 多摩川河川水中のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌調査

多摩川河川水中におけるCREの有無を調査するため、多摩川河川水における抗微生物薬調査で採取した試料を分けて用いた。また、CREの発生源を調査するために、日野橋（d地点）及び関戸橋（f地点）の周辺（図4）で、支川である残堀川、根川及び谷地川を含む地点を選定し、9月18日、10月3日及び12月17日に調査を行った。前処理として、検水400 mLをフィルターでろ過し、そのフィルターをLB液体培地に入れて、37°Cで18～24時間培養した。さらに、黄変した試料0.1 mLをECC培地に添加し、薬剤ディスクを配置して、37°Cで24時間培養した。操作フローを図5に示す。

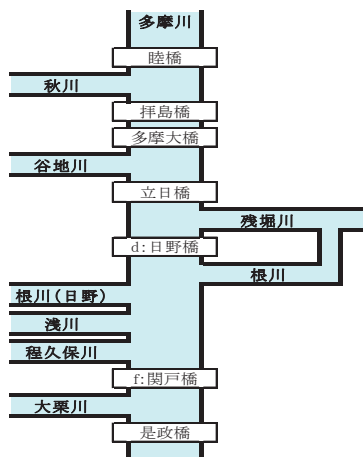


図4. CRE発生源調査の採水地点

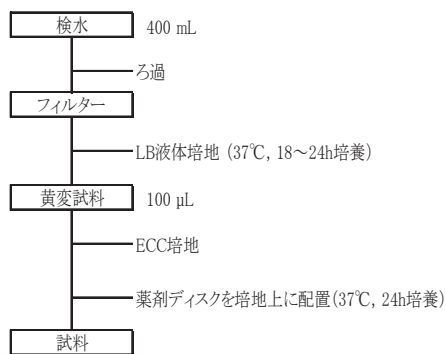


図5. 薬剤耐性菌の試験操作フロー

結果

1. カルバペネム系及びポリペプチド系薬剤の測定方法の検討

親水性カラムに AC 又は GC を使用して固相抽出した際の各画分の結果を表7に示す。カルバペネム系薬剤について見ると、AC を使用した場合、各成分の3画分の合計による回収率及び変動係数は、イミペネムが12.7%及び27.2%、メロペネムが23.6%及び14.8%、ドリペネムが18.6%及び26.1%、ピアペネムが21.7%及び39.2%であった。一方、GC を使用した場合、回収率及び変動係数は、イミペネムが61.7%及び2.6%、メロペネムが46.0%及び3.0%、ドリペネムが46.1%及び12.2%、ピアペネムが41.1%及び8.5%となり、AC を使用した場合と比較して、回収率は改善され、バラツキも小さくなった。この結果、回収率に改善の余地はあるものの、スクリーニング分析としては有用であると考え、固相は疎水性カラム C18 と親水性カラム GC を用いることとした。また、溶出量は、各成分共に画分1（2 mL）で3画分（6 mL）の80～98%回収できているが、より高回収を目指して5 mLとした。今回、ポリペプチド系薬剤であるコリスチンは、両方法共に回収できなかったため、調査対象外とした。

2. 環境水中の抗微生物薬調査

1) 多摩川河川水

各地点の4回の調査において、定量下限値（表1）以上の濃度で検出された成分及び検出濃度を表8に示す。また、

表7. カルバペネム系及びポリペプチド系薬剤の固相抽出による回収率（n=5）

	イミペネム	メロペネム	ドリペネム	ピアペネム	コリスチン	
C18+AC	画分1 (µg)	0.89	1.28	1.12	1.72	不検出
	画分2 (µg)	0.29	0.61	0.55	0.26	不検出
	画分3 (µg)	0.09	0.47	0.18	0.19	不検出
	合計 (µg)	1.27	2.36	1.86	2.17	-
	回収率 (%)	12.7	23.6	18.6	21.7	-
変動係数 (%)	27.2	14.8	26.1	39.2	-	
C18+GC	画分1 (µg)	6.02	3.69	4.40	3.82	不検出
	画分2 (µg)	0.15	0.49	0.21	0.13	不検出
	画分3 (µg)	0.00	0.42	0.00	0.16	不検出
	合計 (µg)	6.17	4.60	4.61	4.11	-
	回収率 (%)	61.7	46.0	46.1	41.1	-
変動係数 (%)	2.6	3.0	12.2	8.5	-	

添加量：10 µg 変動係数は、合計 (µg) のバラツキを示す。

表 8. 河川水の各調査地点における検出成分の濃度

成分名	単位: µg/L										
	羽村堰 a	多西橋 b	東秋川橋 c	日野橋 (立日橋) d	新井橋 e	関戸橋 f	報恩橋 g	多摩川原 h	なかのほし i	田中の森橋 j	二子橋 k
	多摩川	平井川	秋川	多摩川	浅川	多摩川	大栗川	多摩川	野川	仙川	多摩川
クラリスロマイシン	5月			0.072	0.0043	0.035		0.053	0.0012	0.061	0.015
	8月			0.044	0.0051	0.022		0.038	0.0016	0.079	0.025
	11月				0.010	0.072	0.0017	0.11	0.0010	0.21	0.093
	2月	0.0009	0.010	0.0044	0.15	0.020	0.11	0.0060	0.15	0.0084	0.22
スルバクタム	2月									0.016	
アンピシリン	2月									0.0096	
セフシトレンピホキシル	2月										0.010
セフメタゾール	5月			0.048		0.043				0.036	
	8月			0.045		0.035		0.028		0.067	
	11月					0.057		0.030		0.020	0.025
	2月			0.080		0.034		0.024		0.066	0.030
スルファメキサゾール	5月			0.049	0.009	0.029		0.043		0.054	0.025
	8月			0.039	0.015	0.22	0.002	0.19		0.097	0.16
	11月				0.010	0.038	0.002	0.050		0.090	0.043
トリメトプリム	5月			0.029		0.012		0.018		0.033	0.006
	8月			0.025	0.003	0.013		0.021		0.039	0.014
	11月				0.002	0.014		0.020		0.025	0.015
	2月			0.035	0.003	0.025		0.033		0.069	0.024
レボフロキサシン	5月			0.11		0.050		0.081	0.003	0.083	0.016
	8月			0.039	0.003	0.035		0.044	0.003	0.064	0.015
	11月				0.004	0.016		0.062		0.037	0.031
	2月			0.054	0.006	0.047		0.070	0.003	0.11	0.048
テルビナフィン	5月			0.0005							
	8月									0.0009	
	11月		0.0071					0.0005		0.019	
	2月			0.0007		0.0005		0.0005			
ロキシスロマイシン	5月		0.002	0.027		0.012		0.021		0.021	0.005
	8月			0.007		0.004		0.008		0.018	0.005
	11月					0.009		0.016		0.024	0.013
	2月			0.023	0.004	0.020		0.035	0.010	0.039	0.022
リンコマイシン	5月			0.001		0.001					
	8月									0.003	0.001
アジスロマイシン	5月			0.072	0.004	0.036		0.054		0.060	0.013
	8月			0.044	0.005	0.024		0.036		0.082	0.026
	11月				0.011	0.072		0.11		0.21	0.092
	2月			0.004	0.16	0.021	0.11	0.005	0.15	0.008	0.22
ドキシサイクリン	2月			0.002							
ベンジルペニシリン	8月							0.003			
スルファモノキシン	8月					0.026		0.014			0.010
エリスロマイシン	5月			0.083		0.036		0.064		0.11	0.018
	8月					0.016		0.038		0.084	0.023
	11月					0.029		0.027		0.070	0.031
	2月			0.061		0.044		0.058		0.074	0.046

空欄は定量下限値(表1)未満

表 9. 河川水からの検出成分の検出数, 検出率及び検出濃度

成分名	検出数	検出率 (%)	検出濃度 (µg/L)
クラリスロマイシン	32	73	0.0009 ~ 0.22
スルバクタム	1	2.3	0.016
アンピシリン	1	2.3	0.010
セフカペンピホキシル	1	2.3	0.010
セフメタゾール	16	36	0.020 ~ 0.080
スルファメキサゾール	19	43	0.002 ~ 0.22
トリメトプリム	22	50	0.002 ~ 0.069
レボフロキサシン	25	57	0.003 ~ 0.11
テルビナフィン	8	18	0.0005 ~ 0.019
ロキシスロマイシン	22	50	0.002 ~ 0.039
リンコマイシン	13	30	0.001 ~ 0.003
アジスロマイシン	26	59	0.004 ~ 0.22
ドキシサイクリン	1	2.3	0.002
ベンジルペニシリン	1	2.3	0.003
スルファモノキシン	3	6.8	0.010 ~ 0.026
エリスロマイシン	18	41	0.016 ~ 0.11

検出された成分について, 全調査における検出数, 検出率及び検出濃度範囲を表 9 に示す。

河川水からは, 調査対象 29 成分中 16 成分が検出され, カルバペネム系薬剤は検出されなかった。マクロライド系薬剤であるクラリスロマイシンは, 検出率が 73% と最も高く, 多摩川河川水の中下流域 (d 地点~k 地点) において, ほぼ全調査時期で検出が認められた。検出濃度範囲は 0.0009~0.22 µg/L で濃度幅が大きく, 5 月及び 8 月の調査と比較して, 11 月及び 2 月で 2~4 倍となる特徴が見られた。同分類であるアジスロマイシンは, 検出率が 59% と 2 番目に高く, 検出濃度範囲は 0.004~0.22 µg/L で, 検出状況はクラリスロマイシンと同様の傾向であった。キノロン系薬剤であるレボフロキサシンは, 検出率が 57%, 検出濃度範囲は 0.003~0.11 µg/L であった。サルファ剤であるスルファメトキサゾール及びトリメトプリムは, 検出率が 43%及び 50%, 検出濃度範囲は 0.002~0.22 µg/L 及び 0.002~0.069 µg/L であった。特徴として, スルファ

表 10. 井戸水からの検出成分, 検出濃度及び検出率

地点	単位: $\mu\text{g/L}$						
	クラリスロマイシン	スルファメトキサゾール	トリメトプリム	テルビダイン	リンコマイシン	アジスロマイシン	タイロシンA
A		0.012					
B	0.0050		0.004	0.12	0.009	0.006	0.046
C		0.007					
D		0.003					
E		0.005					
F		0.002		0.0010			
G		0.008					
H		0.003					
I		0.002					
J		0.016					
K		0.002					
L		0.004					
M		0.008					
N		0.002		0.0004			
検出率(%)	1.8	23	1.8	5.3	1.8	1.8	1.8

空欄は定量下限値(表1)未満

メトキサゾールの濃度は8月に高く, 2月では全地点で不検出であった. 地点別に見ると, 多摩川河川水の上流域(a地点~c地点)では, 全調査において検出成分がほとんど見られなかった. また, 野川と仙川を比較すると, 仙川の方で検出成分数が大幅に多かった.

## 2) 多摩地区井戸水

井戸水から7成分が検出され, カルバペネム系薬剤は不検出であった. 調査地点数57地点のうち抗微生物薬が検出された14地点について, 検出成分及び濃度を表10に示す. サルファ剤であるスルファメトキサゾールの検出率が23%と最も高く, 検出濃度範囲は0.002~0.016  $\mu\text{g/L}$ であった. また, 地点別に見てみると, B地点ではクラリスロマイシン, アジスロマイシン等6成分が検出されており, 他の地点と検出状況が異なった.

## 3. 多摩川河川水中のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌調査

多摩川河川水における調査時に同地点で調査を行ったところ, 令和元年8月にd地点及びf地点でイミペネム及びメロペネムの耐性菌の存在が認められた(図6及び図7). 検出された菌種は, d地点がエンテロバクター属菌, f地点がクレブシエラ属菌であった. 9月の発生源調査では, 多摩川本流で7地点(睦橋~是政橋), 残堀川で1地点, 根川で1地点の採水を行ったところ, 多摩川本流の立日橋及び日野橋でCREの存在が認められた. この結果, 発生源として多摩大橋と立日橋の間で流入している谷地川が考えられた. そこで, 10月の発生源調査では, 谷地川4地点, 多摩川及び谷地川の合流地点前後の2地点, 立日橋で採水を行った. しかし, 合流地点前後及び立日橋でCREの存在は認められたものの, 谷地川4地点からCREの存在は認められなかった. このことから, 発生源として多摩大橋及び立日橋の間の多摩川本流にあると考えられ, 12月の発生源調査において, 多摩川本流の多摩大橋及び立日橋の間で7地点を選定し(両橋を含む)調査を行ったところ, どの地点からもCREは認められなかった.

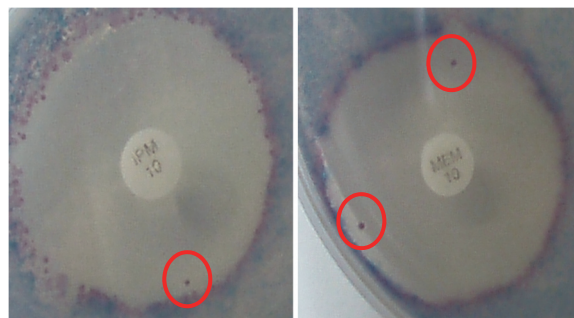


図6 イミペネム耐性菌(左)及びメロペネム耐性菌(右) d地点

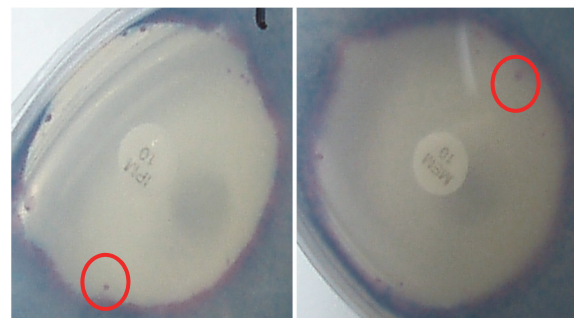


図7 イミペネム耐性菌(左)及びメロペネム耐性菌(右) f地点

## 考 察

### 1. 環境水中の抗微生物薬

#### 1) 多摩川河川水

河川水において検出率の高かったクラリスロマイシン, アジスロマイシン及びレボフロキサシンは, 抗微生物薬の中で使用割合が高く, ヒト用抗生物質として使用されている. クラリスロマイシン及びレボフロキサシンは, ヒト体外排泄量が年間10万tを超えると推定されており<sup>11)</sup>, アジスロマイシンは, ほとんどが未変化体としてヒトの糞便中に排泄される<sup>12)</sup>ことから, 水再生センターの流入水に高頻度で含有されている可能性がある. また, 現在の下水処理過程において, この3物質の除去率は低い<sup>13)</sup>ことから, 河川水での検出率が高いと考えられる. 11月, 2月に検出濃度が高かった理由として, 秋頃から流行し始める肺炎等の呼吸器感染症への薬剤投与として, マクロライド系及びキノロン系薬剤の使用頻度が高くなったためと推測される. スルファメトキサゾールとトリメトプリムは, 国内において合剤として承認されており, 河川水における検出状況は類似していたが, 2月の調査においてスルファメトキサゾールのみ全地点で不検出であった原因は不明である. 多摩川河川水における抗微生物薬の存在状況では, 上流域に比べて中下流域で検出成分数が大幅に多かった. これは, 多摩川中流域の周辺には水再生センターが存在し, 河川水中の下水処理水の割合が45%を占めている<sup>14)</sup>ため, 下水処理水の混入によるものと考えられる. また, 仙川の上流にも水再生センターが存在しているため, 野川と比べて検出成分数が大幅に多くなったと思われる. これらの結果, 河川水における抗微生物薬の存在状況においては, 水再生センターの放流水による影響の可能性が考えられる.

## 2) 多摩地区井戸水

調査地点数 57 地点のうち 13 地点で検出されたスルファメトキサゾールは、ヒト用抗生物質以外に動物用抗生物質として使用されることが多い。検出の原因として、畜産農場からの排水による影響や豚や鶏等の排泄物の堆肥化による土壌経由の地下浸透等が考えられる。また、検出成分数が多かった B 地点（深さ 40m）は、日野橋近辺の場所となる。検出物質は河川水からの検出成分と類似していることから、多摩川（伏流水）の影響を受けているものと思われる。

## 2. 多摩川河川水中のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌

CRE が存在した試料について、カルバペネム系薬剤を測定したところ不検出であったことから、河川水中で CRE が発生したとは考えにくく、他の箇所が発生した CRE が流入してきたものと考えられる。また、多摩川中流域において、8 月、9 月及び 10 月に CRE が存在したものの、12 月に不検出となった原因の一つとして、水温の可能性がある。8~10 月では、水温が 21.5~26.0℃であったのに対して、12 月では 12℃と約 10℃低くなっており、CRE の生育に影響を与えた可能性がある。今回、薬剤耐性菌の発生源を特定することは出来なかったが、環境水中における薬剤耐性菌の汚染拡大を抑制するために、継続して調査を行う必要があると思われる。

## ま と め

抗微生物薬のうちカルバペネム系薬剤及びポリペプチド系薬剤の分析方法の検討を行ったところ、固相抽出において疎水性カラム（C18）と親水性カラム（GC）を連結して使用した場合、各成分の回収率が、イミペネムは 61.7%、メロペネムは 46.0%、ドリペネムは 46.1%及びピアペネムが 41.1%となり、スクリーニング方法として有効であることが確認できた。多摩川河川水における抗微生物薬の存在実態調査を令和元年 5 月、8 月、11 月、令和 2 年 2 月に行ったところ、マクロライド系薬剤であるクラリスロマイシン、アジスロマイシン及びキノロン系薬剤のレボフロキサシンの検出率は 57~73%で、検出濃度範囲はそれぞれ 0.0009~0.22 µg/L、0.004~0.22 µg/L及び 0.003~0.11 µg/Lであった。これらの 3 物質は、ヒトの体外排泄量が多く、下水処理工程による除去率が低いことから、河川水での検出は下水処理水の混入によるものと思われる。令和元年 11 月の多摩地区井戸水 57 地点における抗微生物薬の存在実態調査では、スルファメトキサゾールの検出率が 23%、検出濃度範囲は 0.002~0.016 µg/Lであった。この物質は、動物用抗生物質として使用されることが多く、検出原因として、畜産農場からの排水による影響や豚や鶏等の排泄物の堆肥化による土壌経由の地下浸透等が考えられる。多摩川河川水における CRE の調査を行ったところ、令和元年 8 月に多摩川中流域で存在が認められた。ただし、同地点におけるカルバペネム系薬剤は不検出であったことから河川水

中での発生は考えにくく、他の箇所が発生した CRE が流入してきたものと思われる。

## 文 献

- 1) 厚生労働省健康局結核感染症課：抗微生物適正使用の手引き第一版，2017。  
<https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10900000-Kenkoukyoku/0000166612.pdf>  
(2020年8月21日現在。なお本URLは変更または末梢の可能性はある)
- 2) 厚生労働省薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会：薬物耐性ワンヘルス動向調査年次報告書2018，2018。  
<https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/000415561.pdf>  
(2020年8月21日現在。なお本URLは変更または末梢の可能性はある)
- 3) 清野敦子，古荘早苗，益永茂樹：水環境学会誌，**27(11)**，685-691，2004。
- 4) 遠藤美砂子，中村朋之，畠山 敬，他：宮城県保健環境センター年報，**26**，51-56，2008。
- 5) 鈴木俊也：東京健安研七 年 報，**63**，69-81，2012。
- 6) 尾崎正明，諏訪 守：平成16年度下水道関係調査研究年次報告書集，193-198，2004。
- 7) 浦野直人，石田真巳，岡井公彦，他：科学・技術研究 **8(1)**，13-22，2019。
- 8) Liu, Y., Liu, J., Li, X., et al.: *Anal.lett.*, **50(9)**，1387-1396，2017。
- 9) Rocco, M. D., Moloney, M., O'Beirne, T., et al.: *J. Chromato. A*, **1500**，121-135，2017。
- 10) 鈴木俊也，矢口久美子，栗田雅行，他：東京都健安研七 年 報，**60**，253-258，2009。
- 11) 八十島誠，山下尚之，中田典秀，他：水環境学会誌，**27(11)**，707-714，2004。
- 12) 医薬品インタビューフォーム：15員環マクロライド系抗生物質製剤。  
<http://image.packageinsert.jp/pdf.php?mode=1&yjcode=6149004F1125>  
(2020年8月21日現在。なお本URLは変更または末梢の可能性はある)
- 13) 酒井真美：平成30年度環境創造局業務研究・改善事例発表会，2018。  
[https://www.city.yokohama.lg.jp/kurashi/machizukuri-kankyo/kasen-gesuido/gesuido/shori/sokutei/chosa/report.files/0077\\_20190329.pdf](https://www.city.yokohama.lg.jp/kurashi/machizukuri-kankyo/kasen-gesuido/gesuido/shori/sokutei/chosa/report.files/0077_20190329.pdf)  
(2020年8月21日現在。なお本URLは変更または末梢の可能性はある)
- 14) 東京都下水道局：東京都の下水道局2015。  
<https://www.gesui.metro.tokyo.lg.jp/business/pdf/kanko/kankou/2015tokyo/2015tokyo.pdf>  
(2020年8月21日現在。なお本URLは変更または末梢の可能性はある)

**The detection of antimicrobial agents and carbapenems-resistant Enterobacteriaceae in river water in Tokyo**

Teruaki KINOSHITA<sup>a</sup>, Tomoko ODA<sup>a</sup>, Kimiyo WATANABE<sup>a</sup>, Takako YAMAZAKI<sup>a</sup>, Haruka IIDA<sup>a</sup>, Tokuko TSUNODA<sup>a</sup>, Yuki KOSUGI<sup>a</sup>, Kou MURAKAMI<sup>a</sup>, Miki IDA<sup>a</sup>, Ikue SAITO<sup>a</sup>, Akiko INOMATA<sup>a</sup>, and Takako MORIYASU<sup>a</sup>

Tama river water, its tributaries, and groundwater in Tokyo were surveyed for the presence of antimicrobial agents. The identification of carbapenem and polypeptide agents using analytical methods was considered before the survey. A hydrophobic C18 column and a hydrophilic graphite carbon column for solid-phase extraction were used to improve the recovery of antibiotics. During the survey for 29 antimicrobial agents in the Tama river and its tributaries, the detection rate of clarithromycin, azithromycin, and levofloxacin was high at 57% to 73% with a detection range of 0.0009–0.22 µg/L, 0.004–0.22 µg/L, and 0.003–0.11 µg/L, respectively. Because these 3 agents are often ingested and excreted by humans, their net removal rate from sewerage treatment is relatively low. Therefore, it is thought that the detection of the 3 agents in the river water was influenced by the discharge from the sewerage treatment plants. During the survey of antimicrobial agents in the water in 57 wells, sulfamethoxazole had the highest detection rate at 23% and detection range of 0.002–0.016 µg/L. Sulfamethoxazole is mainly used in animals. The high level of sulfamethoxazole in water is likely due to the drainage from stock-raising farms, which compost swine or poultry excrement in the soil, penetrating the groundwater. In addition, carbapenems-resistant Enterobacteriaceae (CRE) was detected in the middle basin of the Tama river only in the summer. However, the CRE may have flowed in from other places because the carbapenem agents were not detected in the water at the same time.

**Keywords:** antimicrobial agent, carbapenem, Tama river, carbapenems-resistant Enterobacteriaceae

---

<sup>a</sup> Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,  
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan