

都内河川水から分離された大腸菌の薬剤感受性および 基質特異性拡張型βラクタマーゼ (ESBL) 産生株の分離状況

西野 由香里^a, 下島 優香子^{b,c}, 畠山 薫^a, 福井 理恵^a, 黒田 寿美代^a, 山崎 華恵子^a,
木下 輝昭^d, 新開 敬行^a, 貞升 健志^e, 千葉 隆司^e
(外部機関査読者: 鈴木 康規^f)

河川水における薬剤耐性菌の汚染状況を把握するため、大腸菌を対象として菌分離および薬剤感受性試験を行った。2019年から2020年に多摩川とその支流から採水した河川水を供試サンプルとし、分離された大腸菌167株について薬剤感受性試験と基質特異性拡張型βラクタマーゼ (ESBL) 関連遺伝子の検出を行った。薬剤感受性試験の結果、アンピシリンの耐性率が全体の19.2%、ナリジクス酸の耐性率が21.0%であり、薬剤耐性株の割合は河川の上流域よりも下流域で高かった。また、ESBL産生株は10株 (6.0%) 分離され、ESBL遺伝子型はCTX-M-1 groupが7株と最も多かった。近年、B2-O25-ST131に属するESBL大腸菌の世界的な蔓延が報告されているが、本特徴を保有する菌株は4株分離された。河川水における薬剤耐性菌の分布を把握するために、今後も継続したモニタリングが重要である。

キーワード: 河川水, 薬剤耐性, 大腸菌, ESBL産生大腸菌

はじめに

近年、薬剤耐性菌の増加が国際的な課題となっており、2015年にWHO総会で「薬剤耐性 (Antimicrobial Resistance ; AMR) に関するグローバル・アクション・プラン」が採択された。我が国においても「薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン」が公表され、One Healthの概念の基づきヒトや動物、食品、環境等について分野横断的な薬剤耐性菌対策への取組が必要とされている。

AMR対策として、公衆衛生分野では厚生労働省の院内感染対策サーベイランス (JANIS)、家畜衛生分野では農林水産省の動物由来薬剤耐性菌モニタリング (JVARM) において耐性菌の動向調査や監視が実施されている。一方、環境分野においては薬剤耐性菌の情報が少なく、その実態の把握が急務とされている。また、第三世代セファロスポリン系薬剤については医療現場で広く使用されているが、本薬剤に対して耐性を示す基質特異性拡張型βラクタマーゼ (extended-spectrum β-lactamase ; ESBL) 産生菌の増加が問題となっている。ESBL産生菌はヒトから分離されるほか、食品や環境からの分離例も報告されている¹⁻³⁾。また、ESBL産生大腸菌を原因とする感染症においてB2-O25-ST131株が世界的に蔓延しており⁴⁾、環境由来株において本タイプの検出が報告されている⁵⁾。

以上を踏まえ、今回、大腸菌を対象として、東京都内の

河川水から分離した株の薬剤感受性とESBL産生株の分離状況を調査した。また、ESBL産生株のβラクタマーゼ産生遺伝子の解析とB2-O25-ST131型の検出を行ったので、その結果を報告する。

実験方法

1. 供試検体

2019年から2020年に計7回 (2019年5月・8月・11月, 2020年2月・5月・8月・11月)、東京都内の多摩川水系河川11地点から採水し、計77試料を供試した。11地点は多摩川本流および支流を含み、上流から地点A~Kとした (図1)。



図1. 都内河川水における採水地点

^a 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
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1
^b 当時: 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
^c 現所属: 東洋大学
351-8510 埼玉県朝霞市岡48-1
^d 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
^e 東京都健康安全研究センター微生物部
^f 東京農工大学

2. 大腸菌の分離および同定

試料500 mLを孔径0.45 μm , 直径47 mmのセルロースメンブレンフィルター (Merck) で吸引る過後, フィルターをXM-G寒天培地 (島津ダイアグノスティクス) の一部に塗布し画線した. 次いで, 35°Cで18~22 時間培養し, XM-G寒天培地上に発育した青色を呈した定型コロニーを中心に, 1検体につき形状もしくは色調の異なる1~5コロニーを釣菌し, MALDI Biotyper (Bruker) を用いて菌種の同定を行った.

3. 薬剤感受性試験

1) 14薬剤の薬剤感受性試験

分離された大腸菌株について, 定法に従い薬剤感受性試験用ディスク (センシディスク, 日本BD) を用いて, アンピシリン (ABPC), セフトキシム (CTX), ストレプトマイシン (SM), ゲンタマイシン (GM), カナマイシン (KM), テトラサイクリン (TC), クロラムフェニコール (CP), ナリジクス酸 (NA), シプロフロキサシン (CPF), スルファメトキサゾール・トリメトプリム (ST), ホスホマイシン (FOM), アミカシン (AMK), イミペネム (IPM), メロペネム (MEPM) の14薬剤の薬剤感受性試験を行った.

2) ESBL産生性の検出

CTXに耐性または中間を示した菌株について, CTX/クラバン酸 (CVA) ディスクおよびセフトキシム (CAZ)/CVAディスク (日本BD) を用いてESBL産生株の表現型を確認した. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) に従い⁶⁾, CTX, CAZ単剤とCTX/CVA, CAZ/CVAを比較して, CVAとの合剤による阻止円が5mm以上拡大した菌株をESBL産生株とした.

4. ESBL産生株の解析

上記3.の結果ESBL産生大腸菌と判定された株について, 以下の解析を行った.

1) β ラクタマーゼ遺伝子型別

既報^{7,8)}のプライマーを用いてSHV, TEM, CTX-M-1, 2, 8, 9 groupの遺伝子型別をPCR法で実施した. すなわち, アルカリ熱抽出法により抽出したDNAを鋳型とし, TaKaRa Ex Taq Hot Start Version (タカラバイオ) を用いてPCR反応を行い, アガロースゲル電気泳動により増幅産物を検出した. また, TEMについてPCRダイレクトシーケンスにより塩基配列解析を行い, TEM-1は β ラクタマーゼの機能分類によりESBLからは除外した. なお, 塩基配列解析に用いたプライマーは前述と同一のものを使用し, BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific) によるシーケンス反応に次いで, ABI 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific) を用いて配列を決定し, BLASTによる解析を行った.

2) 系統発生群型別

系統発生群型別は, 既報⁹⁾のプライマーを用いたPCR法

により, 4つのグループ (A群, B1群, B2群, D群) に分類した.

3) O群血清型別試験

市販の病原大腸菌診断用血清 (デンカ) を用いてO群血清型別試験を行った. 凝集が認められなかった株 (OUT) についてはIguchiらの方法¹⁰⁾に従いPCR法によりO-genotypingを実施した.

4) B2-O25-ST131株の検出

B2-O25-ST131株の検出はClermontらの方法¹¹⁾に従い, PCR法によりB2-O25-ST131株に特異的な配列を検出することにより実施した.

5. 統計解析

河川水由来株におけるESBL産生株, および非ESBL産生株における薬剤耐性率の比較をフィッシャーの正確検定により行った. 統計ソフトはEZR (v.1.68) を用い¹²⁾, 検定結果のp値が0.05未満のものを有意差ありとした.

結 果

1. 大腸菌の分離

77試料のうち75試料 (97.4%) から計167株の大腸菌が分離された. 大腸菌が陰性であったのは, 2020年11月にC地点とG地点から採水した試料のみであった.

2. 分離株の薬剤感受性試験

分離株における14薬剤の薬剤感受性について表1に示した. 供試薬剤の中ではABPCおよびNAの耐性率が19.2%および21.0%と高かった. 地点A~Cを上流域, 地点D~Gを中流域, 地点H~Kを下流域とした流域別のABPCとNAの耐性率は, 上流域由来株 (9.1%および15.2%) よりも, 下流域由来株 (25.4%および28.2%) で高い値を示した. 本調査で使用したすべての供試菌株は, AMK, IMPおよびMEPMに感受性であった. また, 分離菌株における耐性薬剤の数は, 本調査で供試した薬剤すべてに感受性の株の割合は上流域で84.8%であったが, 中流域では68.3%, 下流域では60.6%であった. 2剤以上に耐性の株の割合は, 上流域は12.1%, 中流域は22.2%, 下流域は31.0%であった (表2).

3. ESBL産生株の解析

供試菌株167株のうちESBL産生株は10株 (6.0%) で, 流域別では上流域1株 (3.0%), 中流域6株 (9.5%), 下流域3株 (4.2%) であった. ESBL産生株のESBL遺伝子型の解析の結果, CTX-M-1 groupが6株, CTX-M-2 groupが1株, CTX-M-9 groupが2株, CTX-M-1 groupとCTX-M-9 groupを保有する株が1株であった (表3). 菌株No.6, 7および9の株はPCRによる β ラクタマーゼ遺伝子検出でTEMが検出されたが, すべてTEM-1であった.

系統発生群は, B2が6株 (60%) と最も多く, Dが3株 (30%), Aが1株 (30%) であった. O群血清型別試験で

表 1. 河川水由来大腸菌の薬剤感受性

薬剤	耐性株数 (%)			
	上流域 ^{**} (n=33)	中流域 ^{**} (n=63)	下流域 ^{**} (n=71)	合計 (n=167)
アンピシリン(ABPC)	3 (9.1)	11 (17.5)	18 (25.4)	32 (19.2)
セフトキシム(CTX)	1 (3.0)	6 (9.5)	3 (4.2)	10 (6.0)
ストレプトマイシン(SM)	0 (0)	5 (7.9)	9 (12.7)	14 (8.4)
ゲンタマイシン(GM)	0 (0)	4 (6.3)	5 (7.0)	9 (5.4)
カナマイシン(KM)	0 (0)	1 (1.6)	1 (1.4)	2 (1.2)
テトラサイクリン (TC)	1 (3.0)	12 (19.0)	8 (11.3)	21 (12.6)
クロラムフェニコール(CP)	0 (0)	2 (3.2)	2 (2.8)	4 (2.4)
ナリジクス酸(NA)	5 (15.2)	10 (15.9)	20 (28.2)	35 (21.0)
シプロフロキサシン(CPFX)	2 (6.1)	5 (7.9)	12 (16.9)	19 (11.4)
スルファメトキサゾール・ トリメトプリム (ST)	0 (0)	9 (14.3)	9 (12.7)	18 (10.8)
ホスホマイシン(FOM)	0 (0)	1 (1.6)	0 (0)	1 (0.6)
アミカシン(AMK)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
イミペネム(IMP)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
メロペネム(MEPM)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

^{**}上流域：採水地点A, B, C, 中流域：D, E, F, G, 下流域：H, I, J, K

表 2. 河川水由来大腸菌の耐性薬剤数

耐性薬剤数	株数 (%)			
	上流域 ^{**} (n=33)	中流域 ^{**} (n=63)	下流域 ^{**} (n=71)	合計 (n=167)
0	28 (84.8)	43 (68.3)	43 (60.6)	114 (68.3)
1	1 (3.0)	6 (9.5)	6 (8.5)	13 (7.8)
≥2	4 (12.1)	14 (22.2)	22 (31.0)	40 (24.0)

^{**}上流域：採水地点A, B, C, 中流域：D, E, F, G, 下流域：H, I, J, K

表 3. 河川水由来 ESBL産生大腸菌の特徴

菌株 No.	採水地点	流域 ^{**}	採水時期	ESBL遺伝子型	耐性薬剤	系統発生群	O血清群	O-genotyping	B2-O25-ST131
1	A	上流域	2020年2月	CTX-M-1 group	ABPC, CTX, NA, CPFX	B2	O25	NT	+
2	D	中流域	2019年5月	CTX-M-1 group	ABPC, CTX, GM, ST, NA, CPFX	D	OUT	Og102	-
3	D	中流域	2020年5月	CTX-M-1 group	ABPC, CTX, TC, CP, ST	D	OUT	OgGr9	-
4	E	中流域	2019年5月	CTX-M-1 group	ABPC, CTX, FOM, NA, CPFX	B2	O25	NT	+
5	E	中流域	2020年2月	CTX-M-9 group	ABPC, CTX, NA, CPFX	B2	OUT	Og75	-
6	F	中流域	2020年8月	CTX-M-9 group	ABPC, CTX, SM, TC, ST	D	OUT	OgGr9	-
7	G	中流域	2019年8月	CTX-M-2 group	ABPC, CTX, TC, ST	A	OUT	Og154	-
8	H	下流域	2020年11月	CTX-M-1 group	ABPC, CTX, NA, CPFX	B2	OUT	Og25	+
9	I	下流域	2019年11月	CTX-M-1/-9 group	ABPC, CTX, NA	B2	OUT	Og16	-
10	K	下流域	2020年5月	CTX-M-1group	ABPC, CTX, NA, CPFX	B2	O25	NT	+

^{**}上流域：採水地点A, B, C, 中流域：D, E, F, G, 下流域：H, I, J, K

アンピシリン：ABPC, セフトキシム：CTX, ストレプトマイシン：SM, ゲンタマイシン：GM, テトラサイクリン：TC, クロラムフェニコール：CP, ナリジクス酸：NA, シプロフロキサシン：CPFX, スルファメトキサゾール・トリメトプリム：ST
NT：未実施

はO25であった3株以外はOUTとなり、7株について O-genotypingを実施した。O-genotypingを実施した結果、1株はOg25であったが、その他の株は多様な型を示した。系統発生群B2の6株のうち4株がO25 (Og25) であった。また、PCRによりB2-O25-ST131型を検出した結果、系統発生群B2、O25 (Og25) の4株が陽性であった。B2-O25-ST131株と判定された4株はすべてCPFX耐性で、ESBL遺伝子型はCTX-M-1 groupであった。

4. ESBL産生株とnon-ESBL産生株の薬剤感受性

分離株におけるESBL産生株および非ESBL産生株の14薬剤の薬剤感受性試験結果を表4に示した。ESBL産生株において、ABPCとCTXを除く供試薬剤の中ではTC、NA、CPFXおよびSTの耐性率が非ESBL産生株よりも有意に高かった。ESBL産生株のNA耐性率は70%、CPFX耐性率は60%と高い値を示した。

表4. 河川水由来大腸菌におけるESBL産生株と非ESBL産生株の薬剤感受性

薬剤	耐性株数 (%)	
	ESBL (n=10)	非ESBL (n=157)
アンピシリン(ABPC)	10 (100) ^a	22 (14.0) ^b
セフトキシム(CTX)	10 (100) ^a	13 (8.3) ^b
ストレプトマイシン(SM)	1 (10.0)	8 (5.1)
ゲンタマイシン(GM)	1 (10.0)	8 (5.1)
カナマイシン(KM)	0 (0)	2 (1.3)
テトラサイクリン (TC)	4 (40.0) ^a	17 (10.8) ^b
クロラムフェニコール(CP)	1 (10.0)	3 (1.9)
ナリジクス酸(NA)	7 (70.0) ^a	28 (17.8) ^b
シプロフロキサシン(CPFX)	6 (60.0) ^a	13 (8.3) ^b
スルファメトキサゾール・トリメトプリム (ST)	4 (40.0) ^a	14 (8.9) ^b
ホスホマイシン(FOM)	1 (10.0)	0 (0)

^{ab}ab間で有意差あり (p<0.05)

考 察

現在、人的活動に伴い生じた薬剤耐性菌が自然界に排出・拡散することが懸念されており、環境中の薬剤耐性菌の実態把握が求められている。そこで今回、都市河川である多摩川の河川水を対象に、分離された大腸菌の薬剤感受性とESBL産生株の出現状況について調査を行った。分離株の薬剤感受性試験の結果、ABPCとNAの耐性率が約 20%

と供試した薬剤の中では高く、臨床上重要なCTXおよびCPFXの耐性率は 6.0%および 11.4%であった。健常者由来大腸菌での報告¹³⁾におけるABPC、NA、CTXおよびCPFXの耐性率は 30.0%、25.0%、4.4%および 13.5%で、薬剤耐性率の傾向が今回の結果と類似していた。また、以前に行われた河川水における薬剤耐性菌の調査によると¹⁴⁾、都市河川では下水処理場放流水の影響によりヒト由来大腸菌の薬剤感受性の傾向と類似し、畜産業が盛んな地域の河川では畜産排水が流入することにより家畜由来大腸菌の薬剤感受性の傾向と類似することが報告されている。ヒトでの薬剤耐性モニタリングはJANISで行われており、2014年から2023年のヒト由来大腸菌のABPC耐性率は約50%、フルオロキノロン系薬剤のレボフロキサシン耐性率は約40%で¹⁵⁾、本調査のABPC耐性率(19.2%)やCPFX耐性率(11.4%)よりも高い値を示している。JANISでは医療機関の患者由来株を対象としているため、投薬等の影響により健常者から分離される株よりも薬剤耐性率が高いと考えられる。一方、多摩川は都市河川であり、河川水中には水再生センターの放流水が含まれ、健常者由来大腸菌の薬剤耐性化の傾向に類似したことが考えられる。また、上流域よりも中流域や下流域で薬剤耐性菌の出現率が高かった点については、地点AからCよりも下流に存在する大規模な水再生センターからの放流水の影響が考えられた。

ESBL産生株は10株(6%)分離され、その多くは中流域と下流域から分離された株であった。国内のヒト由来ESBL産生菌のESBL遺伝子はCTX-M-1 groupとCTX-M-9 groupが多いことが報告されており^{16,17)}、本調査で分離されたESBL産生株も同様であった。B2-O25-ST131株は世界的に急増しているパンデミッククローンとして注視されており、臨床現場のみならず健常者からも分離されている¹⁾。本調査でもこの特徴を示す株が4株分離されており、全ESBL産生株の40%を占めた。多摩川の上流に近い地点AでもB2-O25-ST131株が分離されたが、A地点の周辺には市街地があり、ヒト由来大腸菌が河川に流れ込んだ可能性が考えられた。

B2-O25-ST131株が保有する主なESBL遺伝子型として、CTX-M-1 groupに属するCTX-M-15やCTX-M-9 groupに属するCTX-M-27が報告されている^{4,11)}。本調査で分離された4株はCTX-M-1 groupであることがPCR型別で明らかになることができたが、前述の主要タイプか否かを判別するためには詳細なゲノム解析が必要である。ヒトで流行するB2-O25-ST131株はフルオロキノロン耐性を示すことが報告されており⁴⁾、本調査の4株もすべてCPFX耐性であった。B2-O25-ST131株におけるフルオロキノロン耐性化の要因の一つとして、*bla*_{CTX-M-15}を保有するプラスミド上にキノロン耐性遺伝子*aac* (6')-*1b-cr*が同時に存在することが報告されている^{18,19)}。また、B2-O25-ST131株は進化系統群Clade C1またはC2、*fimH*型H30の特徴を有し、本タイプの株は染色体上に存在する*gyrA*と*parC*のキノロン耐性決

定領域の変異によりフルオロキノロンに対する耐性を獲得する^{19,20)}。ESBL産生株におけるNAとCPFXの耐性率は、非ESBL産生株と比較すると非常に高く、これはESBL産生株の40%がB2-O25-ST131株であったことが影響していると考えられる。ヒト由来大腸菌においても同様に、ESBL産生株のフルオロキノロン耐性率は非ESBL産生株よりも高いことが報告されている²¹⁾。一方、我々が以前に行った食肉由来大腸菌の調査では²²⁾、ESBL産生株と非ESBL産生株のCPFX耐性率に差はみられなかった。ヒト由来株の薬剤耐性の傾向は家畜や食肉の薬剤耐性の傾向と異なっており、本調査の結果から多摩川における薬剤耐性菌はヒト由来株の影響が大きいと考えられた。薬剤耐性菌対策のためにモニタリングによる情報の蓄積が求められおり、今後も河川水における薬剤耐性菌の調査を行っていく必要がある。

ま と め

2019年から2020年に都内河川水から分離された大腸菌167株の薬剤感受性およびESBL産生株の分離状況を調査した。その結果、供試薬剤の中ではABPCおよびNAの耐性率が高かった。また、供試薬剤すべてに感受性であった株は上流で84.8%、中流で68.3%、下流で60.6%と下流側ほど少なくなり、薬剤耐性株の分布は上流よりも下流で多いことが示された。また、ESBL産生株は10株(6.0%)分離され、ESBL遺伝子としてCTX-M-1 groupを保有する株が7株と多かった。ヒト臨床において蔓延しているB2-O25-ST131の特徴を持つ株は、ESBL産生株10株のうち4株であった。河川水から分離される薬剤耐性菌の実態を把握するために、今後も継続して調査を行っていく必要がある。

文 献

- 1) Nakane K., Kawamura K., Goto K., *et al.*: *Appl. Environ. Microbiol.*, **82**,1818–1827, 2016.
- 2) 下島優香子, 井田美樹, 猪股光司, 他: 東京健安研セ, **62**, 145–150, 2011.
- 3) Gomi R., Yamamoto M., Tanaka M., *et al.*: *Curr. Res. Microb. Sci.*, **3**, 100144., 2022.
- 4) Fukushima Y., Sato T., Tsukamoto N., *et al.*: *J. Glob. Antimicrob. Resist.*, **27**, 150–155, 2021.
- 5) Biggel M., Hoehn S., Frei A., *et al.*: *Environ. Pollut.*, **337**, 122476, 2023.
- 6) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, M100, 33rd Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2023.
- 7) Shibata N., Kurokawa H., Doi Y., *et al.*: *Antimicrob. Agents Chemother.*, **50**, 791–795, 2006.
- 8) Yagi T., Kurokawa H., Shibata N., *et al.*: *FEMS Microbiol. Lett.*, **184**, 53–56, 2000.
- 9) Clermont O., Bonacorsi S., Bingen E.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**, 4555–4558, 2000.
- 10) Iguchi A., Iyoda S., Seto K., *et al.*: *J. Clin. Microbiol.*, **53**, 2427–2432, 2015.
- 11) Clermont O., Dhanji H., Upton M., *et al.*: *J. Antimicrob. Chemother.*, **64**, 274–277, 2009.
- 12) Kanda Y.: *Bone Marrow Transplant.*, **48**, 452–458, 2013.
- 13) Fukuda A., Nakamura H., Umeda K., *et al.*: *Int. J. Antimicrob. Agents.*, **57**, 106298, 2021.
- 14) 清野敦子, 長谷川素子, 益永茂樹: 水環境学会誌, **27**, 693–698, 2004.
- 15) 厚生労働省: 薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書2024, <https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/001447793.pdf> (2025年7月9日現在. なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 16) 西原弘人, 小林謙一郎, 坂本直也, 他: 医学検査, **66**, 141–146, 2004.
- 17) Suzuki S., Shibata N., Yamane K., *et al.*: *J. Antimicrob. Chemother.*, **63**, 72–79, 2018.
- 18) Calhau V., Ribeiro G., Mendonça N., *et al.*: *Virulence*, **4**, 726–7299, 2013.
- 19) Kallonen T., Brodrick H.J., Harris S.R., *et al.*: *Genome Res.*, **27**, 1437–1449, 2017.
- 20) Petty N.K., Ben Zakour N.L., Stanton-Cook M., *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **111**, 5694–5699, 2014.
- 21) Komatsu Y., Kasahara K., Inoue T., *et al.*: *PLoS One*, **13**, e0202276, 2018.
- 22) 西野由香里, 福井理恵, 黒田寿美代, 他: 東京健安研セ, **74**, 35–41, 2023.

**Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* and Prevalence of Extended-spectrum β -lactamase-Producing Strains
in River Water in Tokyo, Japan**

Yukari NISHINO^a, Yukako SHIMOJIMA^{b,c}, Kaoru HATAKEYAMA^a, Rie FUKUI^a, Sumiyo KURODA^a, Kaeko YAMAZAKI^a,
Teruaki KINOSHITA^a, Takayuki SHINKAI^a, Kenji SADAMASU^a and Takashi CHIBA^a
(Reviewed by Yasunori SUZUKI^d)

This study aimed to survey the trend of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from river water. We examined the antimicrobial susceptibilities of 167 *E. coli* isolates collected from the Tama River between 2019 and 2020. Antimicrobial susceptibility testing and detection of substrate-specific extended-spectrum β -lactamase (ESBL) genes were conducted on these isolated. Antimicrobial susceptibility testing showed resistance to ampicillin in 19.2% of the isolates and to nalidixic acid in 21.0%. The percentage of antimicrobial-resistant strains was higher in the downstream area than in the upstream area. Ten ESBL-producing strains (6.0%) were detected, with the CTX-M-1 group being the most common ESBL genotype, identified in seven strains. Recently, a global spread of ESBL-producing *E. coli* strains with B2-O25-ST131 characteristics has been reported. In this study, four such strains were identified among the ESBL-producing isolates. Continued monitoring and analysis are necessary to understand the distribution of antimicrobial-resistant bacteria in river water.

Keywords: river water, antimicrobial resistances, *Escherichia coli*, extended-spectrum β -lactamase- producing *Escherichia coli*

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

^b Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, at the time when this work was carried out

^c Present Address: Toyo University,
1-1-1, Itakura-machi, Ora-gun, Gunma 374-0113, Japan

^d Tokyo University of Agriculture and Technology,