

## 河川基金助成事業

「畜産事業場からの抗菌剤・薬剤耐性微生物の流域河川への排出・変容特性把握とバイオリスク低減評価」

助成番号：2021-5211-021

京都大学大学院工学研究科  
准教授 西村文武

2021年度

## 1. はじめに

畜産業からの排出や堆肥施肥により薬剤耐性菌が環境中に排出されることが知られており<sup>1), 2)</sup>、下水処理施設においても、流入下水中の抗生物質や薬剤耐性菌、薬剤耐性遺伝子の低減に多大な役割を担っているものの、処理水からの水環境中への排出地点となっていることが指摘されている<sup>3), 4)</sup>。薬剤耐性菌の起源解析や河川における挙動、影響を与えうる因子(例えば河川構造物や河床生物膜状態)の効果が解明できれば、バイオリスク低減という新たな観点からの河川管理の基礎情報とすることができる。この知見を多く収集していくことにより安心して安全な河川管理の在り方や、多自然川づくり等の河川環境創造への活用への展開が期待される。数多くの調査はこれまでになされてきているものの、薬剤耐性菌の発生は、抗菌剤、抗生物質の使用や排出が素因であり、地域特性に加えて、微生物群集間における水平伝播や垂直伝播もあるため、環境中への排出実態や環境中における動態は完全には解明されていない。水環境中の薬剤耐性リスクを評価するためには、下水道や畜産を介した発生源からの流出過程を対象とするだけでなく、堆肥の施用先である農地も含めた面的な調査が重要である。河川水中の薬剤耐性菌と流域の土地利用の関係について評価した例は少ない<sup>5)</sup>。水環境中の薬剤耐性リスクを評価するためには、下水道や畜産を介した発生源からの流出過程を対象とするだけでなく、堆肥の施用先である農地も含めた面的な調査が重要である。

そこで、本研究では、まず、基礎的知見として、家畜や野生動物の糞便、下水処理場の処理水を対象として薬剤耐性大腸菌数の測定および薬剤感受性試験による薬剤耐性パターンを調査し、水環境中への薬剤耐性菌の負荷源の推定、及びその薬剤耐性菌の特性の把握を試みた。次に、畜産事業場が比較的多く点在する滋賀県の南東部に位置する野洲川、日野川の複数地点での、降雨イベントにおける薬剤耐性菌の流出実態把握を試みるとともに、「平常時」と「増水時」を区別した薬剤耐性大腸菌の存在実態を調査し、流域河川への排出・変容特性把握とバイオリスク低減評価や対策を講じる際の有効な知見を得ることを目的とした。

キーワード：

薬剤耐性微生物、畜産事業場、排出特性

## 2. 琵琶湖流域の薬剤耐性大腸菌の存在実態調査

### 2.1 調査概要

家畜や野生動物の糞便、下水処理場の処理水を対象として薬剤耐性大腸菌数の測定および薬剤感受性試験による薬剤耐性パターンを調査し、水環境中への薬剤耐性菌の負荷源の推定、及びその薬剤耐性菌の特性の把握を試みた。

### 2.2 負荷源別の薬剤耐性大腸菌の存在実態調査

#### 2.2.1 大腸菌、及び薬剤耐性菌数

家畜(牛、鶏)や野生動物(シカ、水鳥)の糞便、河川や琵琶湖より採水した水試料について薬剤耐性大腸菌数を測定した。家畜、及び野生動物の菌数の測定結果を図 2-1 に示す。

各動物について、牛は 25 頭、鶏は 22 羽、シカは 14 頭、水鳥 9 羽分の糞便を分析した。大腸菌数は中央値で見ると、牛、鶏、シカ、水鳥でそれぞれ 6.1 Log, 5.1 Log, 6.7 Log, 4.8 Log (CFU/g-wet)であり、野生のシカ糞便中の大腸菌数が最も高かった。また、各動物種内で 5 Log 程の個体差があった。アンピシリン耐性

大腸菌数は中央値で見ると、鶏で 3.0 Log (CFU/g-wet)であり、鶏以外ではほとんど検出されなかった。テトラサイクリン耐性大腸菌数は中央値で見ると、牛、鶏でそれぞれ 4.4Log, 3.7 Log (CFU/g-wet)であった。一方で、シカ、水鳥などの野生動物からはほとんど検出されなかった。

野生動物とは対照的に家畜において、薬剤耐性大腸菌数、検出数が高かった。畜産農家の方への聞き取り調査によると、本調査で対象にした家畜には疾病にかかった個体以外には、アンピシリンを含むセファロスポリン系薬剤やテトラサイクリンを含むテトラサイクリン系薬剤は投与されていない。今回調査した家畜においてテトラサイクリン耐性が確認された理由としては、疾病にかかってテトラサイクリンを投与された個体からの糞便を採取していた可能性や、調査個体が直接テトラサイクリンを投与されていないが過去に畜産施設で使用されたテトラサイクリンに耐性を獲得した大腸菌が、農場に定着し続けている可能性などが考えられる。

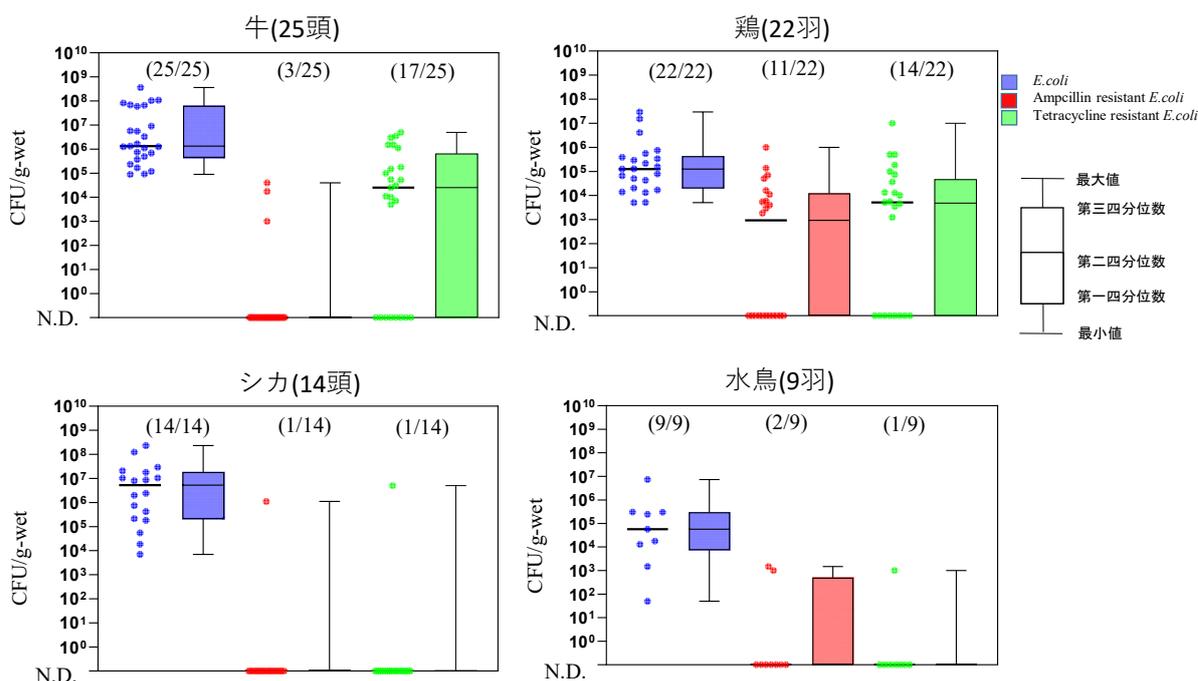


図 2-1 家畜動物、及び野生動物の糞便における  
湿潤重量 1 g 当たり的大腸菌、薬剤耐性大腸菌数

括弧内の数字は総サンプル数とコロニーが検出されたサンプル数。

中央値・標準誤差は、N.D.に検出下限値の半分である 0.1 CFU/g-wet を代入し算出。

## 2.2.2 大腸菌の薬剤耐性パターン

下水処理場 A で採水した流入水と放流水、および各動物の糞便より単離した大腸菌に対し、ディスク法による薬剤感受性試験を実施し、それぞれの薬剤耐性パターンを把握した(図 2-2、図 2-3)。

流入水より単離された大腸菌は、多くの薬剤に対し耐性を示した(図 2-2)。アンピシリン耐性 (28.0%)、ピペラシリン耐性 (18.0%)、セファゾリン耐性、ナリジクス酸ナトリウム耐性、テトラサイクリン耐性 (各 14.0%)の順で高い薬剤耐性割合を示し、アンピシリンへの耐性を示す株が最も高い割合であった。放流水より単離された大腸菌も流入水同様に、多くの薬剤に対し耐性を示した。テトラサイクリン耐性 (25.0%)、アンピシリン耐性、ピペラシリン耐性、ナリジクス酸ナトリウム耐性 (各 20.8%)の順で高い薬剤耐性割合を示し、テトラサイクリンへの耐性を示す株が最も高い割合であった。下水処理場 A において、処理過程で大腸菌の薬剤耐性パターンにほとんど変化みられなかった。

下水処理場に流入する糞便細菌の多くは、ヒト糞便に由来している。2017 年度の院内感染対策サーベイ

ランス事業 (JANIS) の公表データ<sup>6)</sup>より、ヒト由来大腸菌の耐性率は、特にアンピシリン (51.7%)、ピペラシリン (45.2%)、セファゾリン (37.3%)、セフォタキシム (26.8%) で高かった。下水処理場の流入水において、アンピシリン、ピペラシリン、セファゾリン、セフォタキシムの耐性が確認されたことは、流入水中の大腸菌の多くがヒト由来であることが要因と考えられる。流入水において、上記以外の薬剤に対する耐性も確認された。既往研究<sup>7), 8)</sup>において、ヒトの臨床株からそれらの薬剤への耐性が確認されており、流入水中の大腸菌の多くがヒト由来であることに矛盾しない。本調査の対象とした下水処理場 A からの琵琶湖への年間総大腸菌負荷量は、 $3.0 \times 10^{13}$  (CFU/year) と推定されており<sup>9)</sup>、放流水より単離された大腸菌が多くの薬剤に対し耐性を示したことから、下水処理の放流は薬剤耐性微生物リスクのある負荷源であると示唆される。

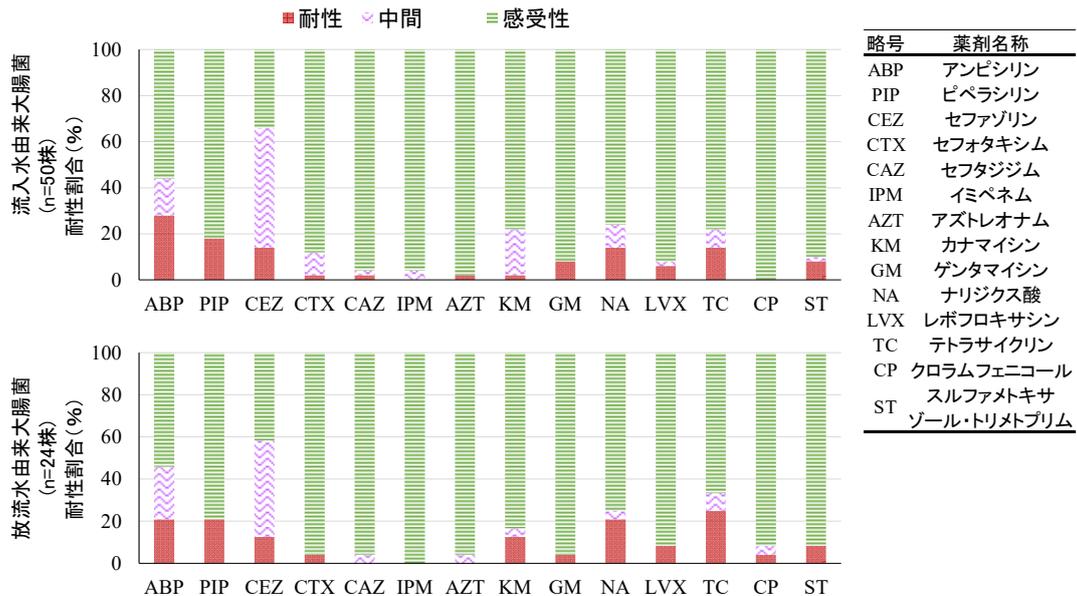


図 2-2 流入水、及び放流水から単離された大腸菌の薬剤耐性パターン

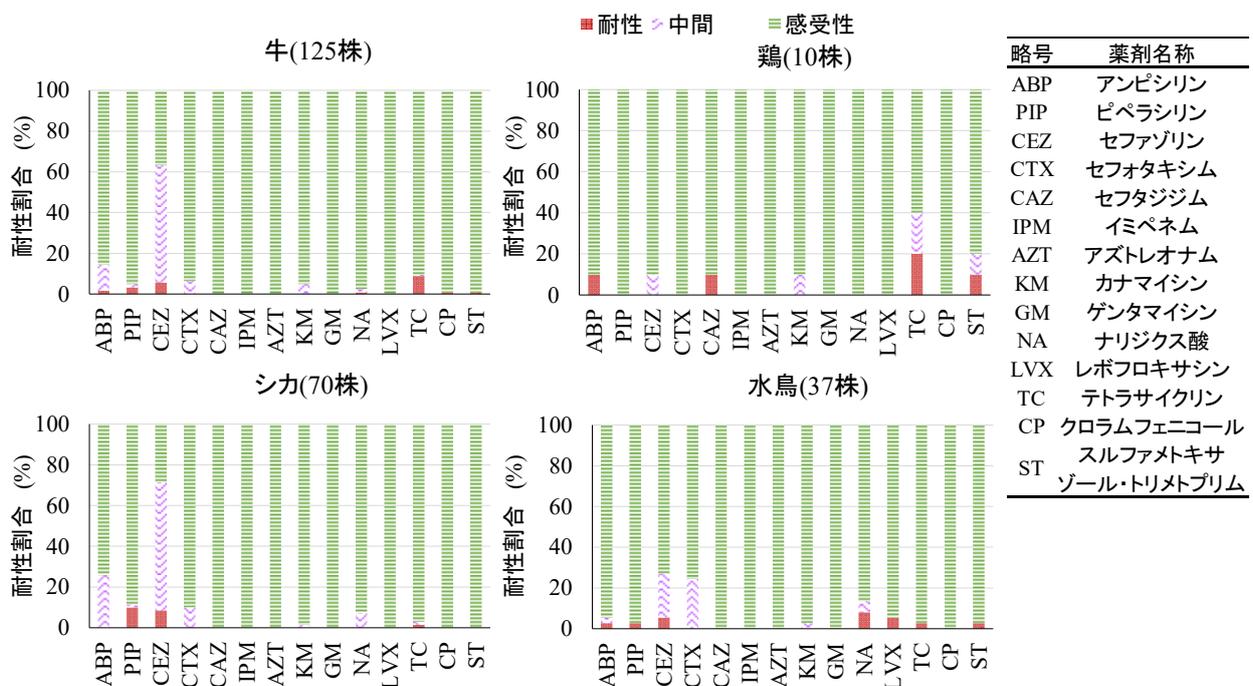


図 2-3 家畜(牛、鶏)、及び野生動物(シカ、水鳥)から単離された大腸菌の薬剤耐性パターン

各動物の糞便から単離された大腸菌は、ほとんどの薬剤に対し耐性を示さなかった(図 2-3)。牛より単離された大腸菌は、主にペペラシリン、セファゾリン、テトラサイクリンに対して耐性を示し、耐性割合はそれぞれ 3.2%, 5.6%, 8.8% であった。鶏より単離された大腸菌は、主にアンピシリン、セフトジジム、テトラサイクリン、スルファメトキサゾール・トリメトプリムに対して耐性を示し、耐性割合はそれぞれ 10%, 10%, 20%, 10% であった。シカより単離された大腸菌は、主にペペラシリン、セファゾリンに対して耐性を示し、耐性割合はそれぞれ 10%, 8.6% であった。水鳥より単離された大腸菌は、主にセファゾリン、ナリジクス酸ナトリウム、レボフロキサシンに対して耐性を示し、耐性割合はそれぞれ 5.4%, 8.1%, 5.4% であった。

2016 年度の動物由来薬剤耐性菌モニタリング (JVARM) の公表データ<sup>10)</sup>より、牛より単離された大腸菌はテトラサイクリン (19.0%)、アンピシリン (4.2%) に対して、鶏より単離された大腸菌はテトラサイクリン (22.3%)、アンピシリン (19.8%)、ナリジクス酸ナトリウム (17.4%) に対して高い薬剤耐性を示したことが報告されている。一方で、本調査では牛より単離された大腸菌はテトラサイクリン (8.8%)、アンピシリン (1.6%) に対して、鶏より単離された大腸菌はテトラサイクリン (20.0%)、アンピシリン (10.0%) に対して薬剤耐性を示したが、いずれも既報値よりも耐性率は低かった。本調査研究での対象施設においては家畜への薬剤が適正に使用されていて大腸菌の薬剤耐性率が低かった可能性がある。

野生動物においても耐性率は低いですが、薬剤耐性大腸菌が検出された。農薬や汚水等に含まれる抗菌性物質に暴露されることで野生動物の体内で薬剤耐性大腸菌の選択が生じている可能性が考えられる。家畜、野生動物由来大腸菌がほとんどの薬剤に対し感受性を示したことから、畜産排水や堆肥が施用された農地からの排水、野生動物からの環境への直接的な糞便汚染は、薬剤耐性リスクの低い負荷源であると示唆される。

## 2.3 琵琶湖流域河川における薬剤耐性大腸菌の存在実態調査

### 2.3.1 薬剤耐性大腸菌の存在実態調査結果

本助成研究期間前を含め、2020 年 11 月から 2021 年 10 月にかけて、滋賀県の琵琶湖流域河川(計 23 の河川)において、大腸菌、及び薬剤耐性大腸菌の存在実態を調査した<sup>11)</sup>。十禅寺川においては計 1 回、それ以外の地点では計 5 回の採水を行った。各河川における大腸菌数、及び薬剤耐性大腸菌数の測定結果を図 2-4 に、その薬剤耐性率を図 2-5 に示す。

大腸菌数は、特に大津・南部地域に位置する十禅寺川、雄琴川、真野川、及び東近江地域に位置する野洲川、日野川において、特に高い菌数を示し、それぞれの菌数は平均値で 742, 445, 389, 294, 327 (CFU/100mL) であった(図 2-4)。また、大津・南部地域、及び東近江地域に位置する河川におけるアンピシリン耐性大腸菌数、テトラサイクリン耐性大腸菌数は大腸菌数と同様に、これらの地域の河川で高い菌数の傾向を示した。アンピシリン耐性率は、東近江地域に位置する河川において高い傾向を示した。一方で、東近江地域に位置する河川と同様に薬剤耐性菌数が高い傾向にあった大津・南部地域に位置する河川では、テトラサイクリン耐性率がアンピシリン耐性率よりも高くなる傾向を示した(図 2-5)。

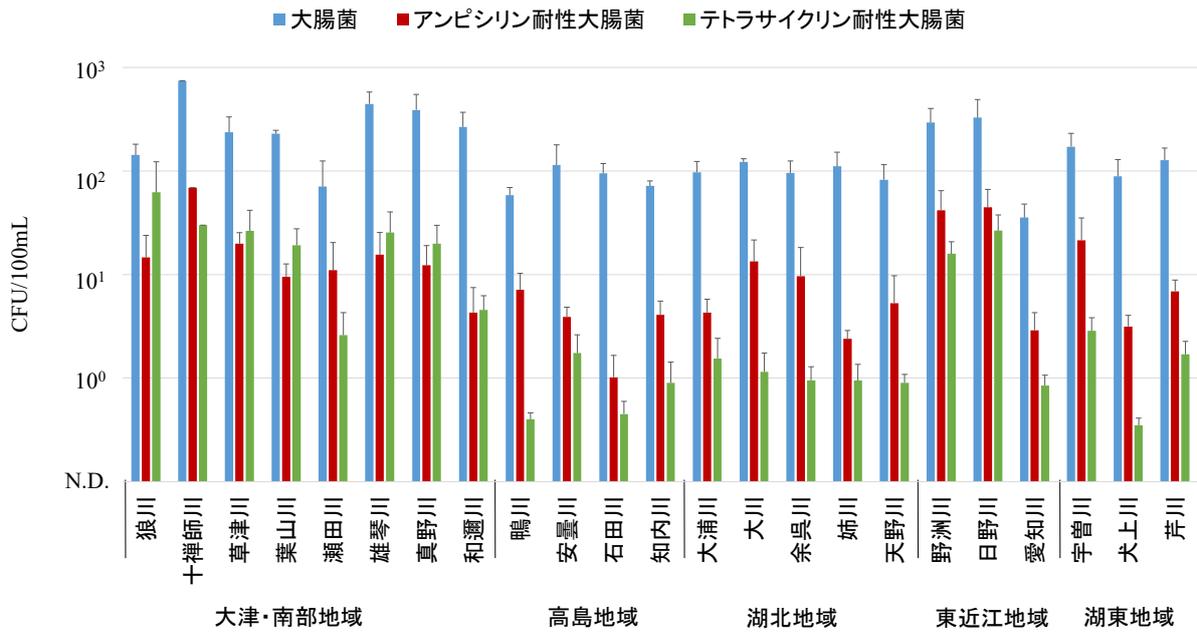


図 2-4 琵琶湖流域河川における大腸菌、及び薬剤耐性大腸菌の菌数分布  
 平均値・標準誤差は、N.D.に検出下限値の半分である 0.5 CFU/100mL を代入し算出。

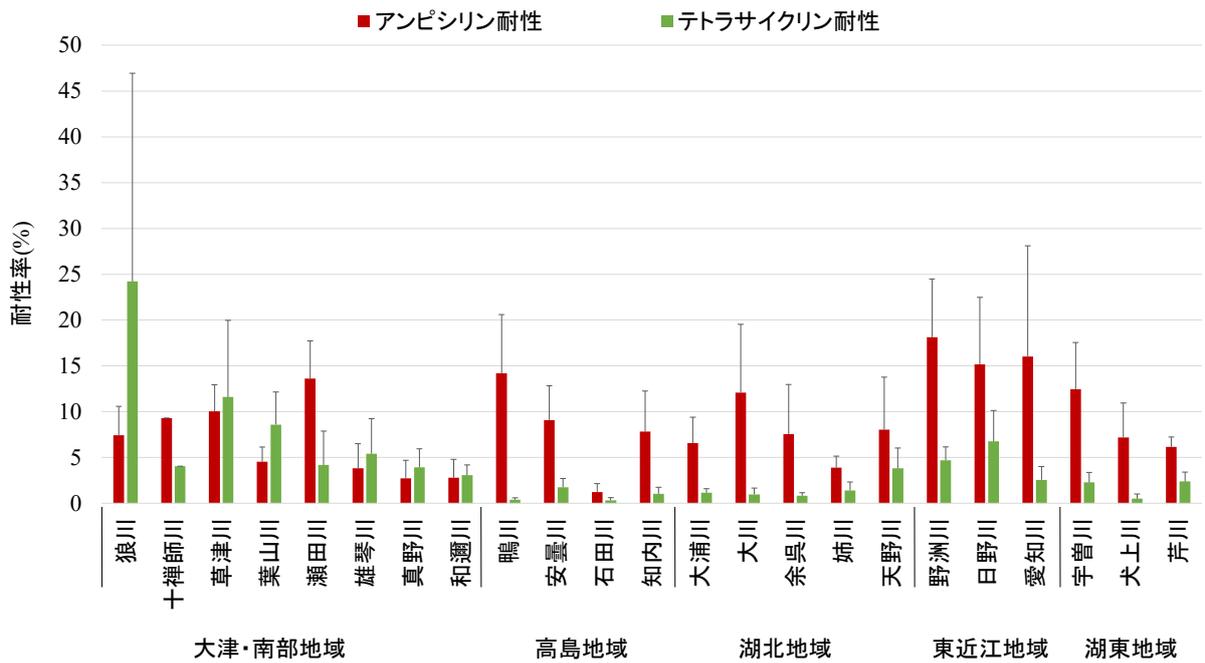


図 2-5 琵琶湖流域河川における薬剤耐性率

### 2.3.2 河川類型別分析

本調査の対象とした滋賀県の琵琶湖流域河川(計 23 の河川)を各河川流域の土地利用項目別面積率を平均と標準偏差によって類型化した(表 2-1)。

表 2-1 各河川流域の土地利用項目別面積率と類型  
面積率が各対象河川の流域の平均値よりも顕著に高い場合には、赤字で表記

	森林面積率	水田面積率	畑地面積率	都市的土地利用面積率	類型
狼川	4.1	14.1	1.6	60.0	畑地・都市型
十禅寺川	2.8	20.5	0.6	60.7	都市卓越型
草津川	39.4	17.4	2.6	29.1	畑地・都市型
葉山川	18.0	19.8	0.2	43.5	都市卓越型
雄琴川	43.1	28.4	0.0	23.0	水田卓越型
真野川	60.0	22.3	0.1	11.7	水田卓越型
和邇川	76.4	8.1	0.1	8.2	森林卓越型
鴨川	77.4	17.3	0.1	2.5	森林卓越型
安曇川	91.7	3.3	0.3	1.3	森林卓越型
石田川	84.3	8.8	0.6	2.3	森林卓越型
知内川	83.8	9.5	0.4	2.6	森林卓越型
大浦川	82.9	11.6	0.2	3.0	森林卓越型
大川	86.9	7.5	0.3	4.0	森林卓越型
余呉川	61.5	21.2	1.1	9.7	水田・畑地型
姉川	83.1	9.8	0.5	4.0	森林卓越型
天野川	64.9	18.0	1.9	10.1	畑地卓越型
野洲川	58.3	17.8	2.1	11.6	畑地卓越型
日野川	47.8	27.8	1.8	12.3	水田・畑地型
愛知川	78.5	10.8	0.7	3.3	森林卓越型
宇曾川	26.9	49.3	0.7	17.7	水田卓越型
犬上川	79.6	7.2	0.5	7.4	森林卓越型
芹川	75.9	3.9	0.5	12.0	森林卓越型

本調査の対象河川について、山下らの方法<sup>13)</sup>に基づき、流域の土地利用特性による河川の類型化を行った。各流域における森林、水田、畑地、市街地の面積率を算出し、それらが各対象河川の流域の平均値より顕著に高い(平均値+標準偏差/2以上)土地利用項目の組合せで流域を分類し命名した。まず「水田卓越型」と命名された流域は、4項目のうち水田の面積率だけが顕著に高い。次に「水田・畑地型」と命名された流域は、水田と畑地の2項目の面積率が顕著に高い。結果を類型別にみると、都市に関する類型の河川は大津・南部地域で多い傾向にあり、農地に関する類型の河川は東近江地域に多い傾向にあった。一方で、高島地域の河川は全て森林卓越型に類型化された。河川中の薬剤耐性大腸菌数と流域の土地利用との関係を調べた結果を図2-6に示す。

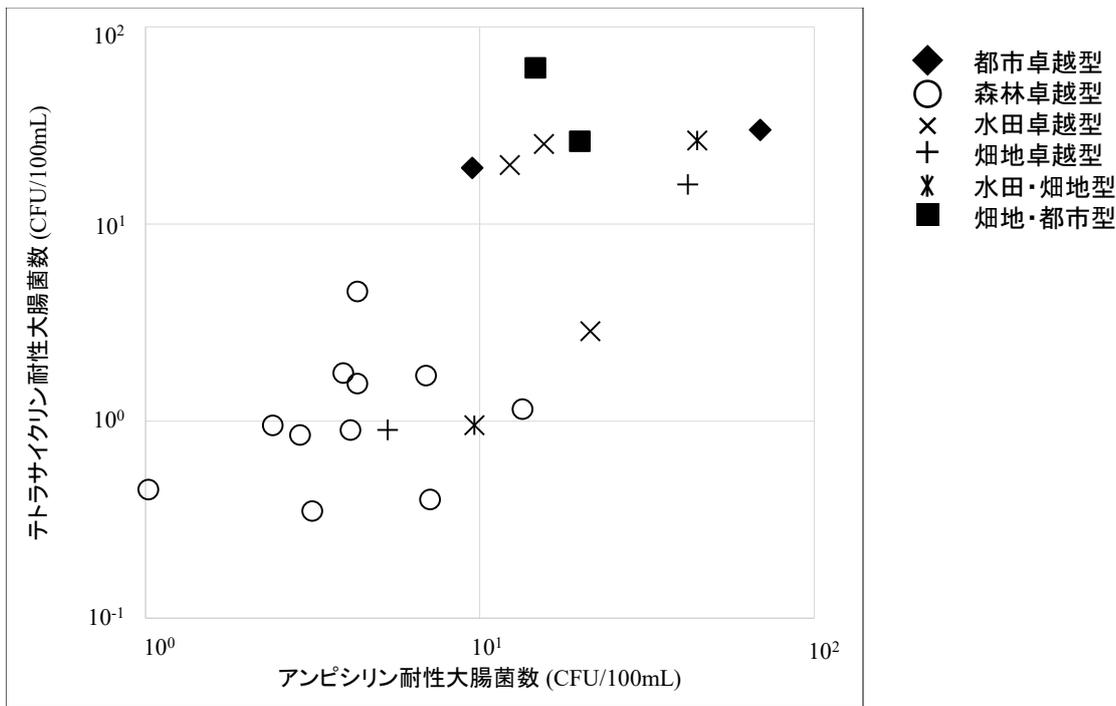


図 2-6 河川水中の薬剤耐性大腸菌数と河川流域の土地利用の関係  
 図中の薬剤耐性大腸菌数は各河川における菌数の平均値をプロットした。

河川中のアンピシリン耐性大腸菌数とテトラサイクリン耐性大腸菌数について、ピアソンの積率相関計数を調べたところ両者に有意な相関関係が認められた( $R=0.51, p<0.05$ )。類型別の傾向をみると、特に都市卓越型や畑地・都市型のような都市に関する類型の河川では薬剤耐性大腸菌数が高い傾向であった。一方、森林卓越型の河川では他の類型に比べ、最も薬剤耐性大腸菌数が低い傾向にあった。水田卓越型や畑地卓越型、水田・畑地型のような農地に関する類型の河川では都市卓越型や畑地・都市型の河川ほどではないが薬剤耐性大腸菌数が高い傾向であった。薬剤耐性菌の汚染が顕著であった都市域や農業地域の河川では、ヒトや家畜が負荷源である可能性が高い。

ヒトによる大腸菌汚染は、ヒト腸管内の大腸菌が糞便と共に体外に排出され、下水処理を経て処理されなかった一部が、処理水と共に河川に流入することで生じる。一方で、家畜による大腸菌汚染は、家畜腸管内の大腸菌が糞便と共に体外に排出され、堆肥処理を経て残存したものが堆肥施用時に農地に導入され、農業排水と共に河川に流入することで生じる。そのため、農業地域における河川での大腸菌汚染には、流域の畜産活動が間接的に影響を及ぼしている可能性がある。

河川への処理水の流入、及び流域の畜産活動の影響を明らかにするために、河川水中の薬剤耐性大腸菌数と河川への污水处理施設からの大腸菌負荷量、及び流域における家畜由来大腸菌の発生量との関係を調べた(図 2-7)。処理場を介して、河川に放出された大腸菌は河川水により希釈される。一般的に、流域面積が大きいほど河川流量が大きくなる傾向がある。本調査において、河川水中大腸菌への污水处理施設からの大腸菌の寄与についての指標として、流域単位面積あたりの污水处理施設から河川への大腸菌負荷量を求めた。

農業集落排水処理施設などの污水处理施設は水質汚濁法、湖沼水質保全特別措置法または滋賀県公害防止条例で特定事業場に指定され、所在地等の情報が登録されている。滋賀県ホームページで公開されている水質汚濁防止法等に基づく特定事業場一覧<sup>12)</sup>より、各河川流域内の農業集落排水処理施設などの污水处理施設の所在地、及び各施設における日平均排水量を把握した。処理水による河川の大腸菌汚染を評価するために、各河川の流域に位置するし尿処理施設に着目し、流域ごとにこれら施設の日排水量の総和を求

めた。流域におけるし尿処理場からの排水量の総和に、排水中の大腸菌数の推定値(下水処理場 A の処理水中の大腸菌数)を乗じることで河川への汚水処理施設からの大腸菌負荷量を求めた。この値を流域面積で除することで、流域単位面積あたりの汚水処理施設から河川への大腸菌負荷量を算出した。

滋賀県のホームページで公開されている地域別の家畜飼養頭数<sup>13)</sup>を各地域の面積で除することで単位面積当たりの家畜飼養頭数を推定した。次に、河川流域に占める地域別の面積を計算し、地域別単位面積当たりの家畜飼養頭数を乗じることで、各流域における家畜飼養頭数を推定した。また、家畜種別の 1 頭 1 日当たりの糞便排泄量<sup>14)</sup>に糞便中の大腸菌数<sup>15)</sup>を乗じることで、1 頭 1 日当たりの大腸菌発生量を推定した。各流域における家畜飼養頭数に、1 頭 1 日当たりの大腸菌発生量を乗じることで、流域内の家畜による大腸菌発生量を求めた。この値を流域面積で除することで、流域単位面積あたりの家畜による大腸菌発生量を算出した。

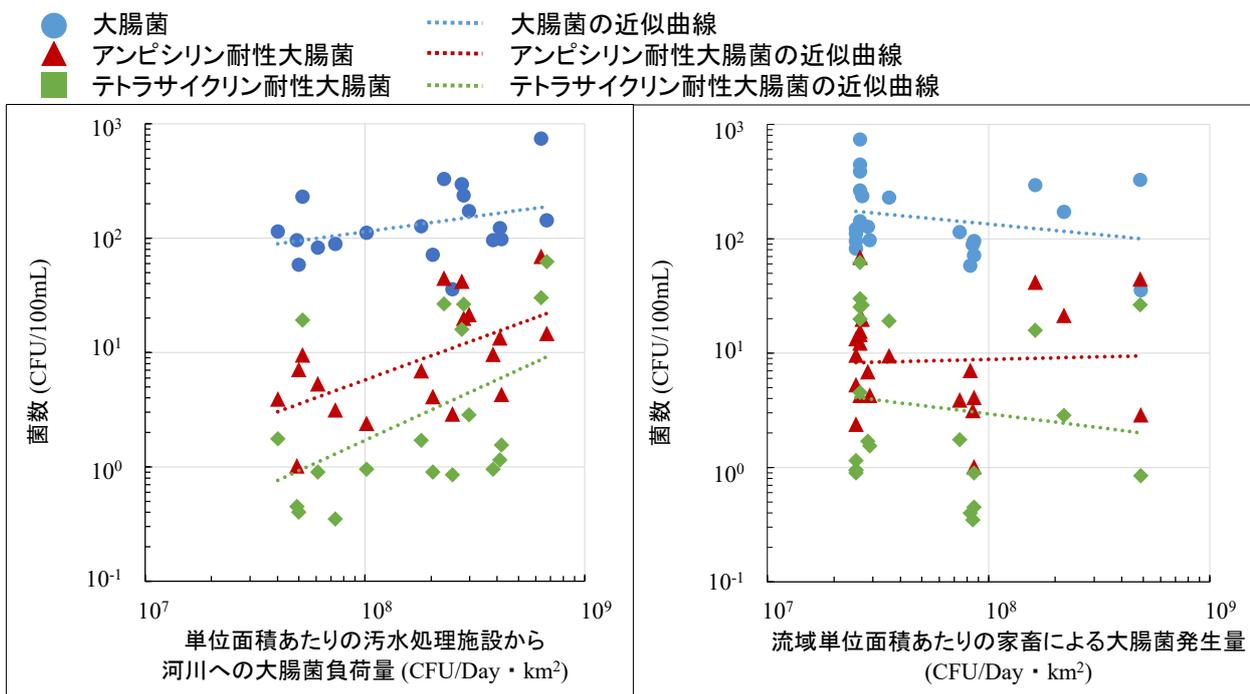


図 2-7 河川水中の薬剤耐性大腸菌数と、河川流域における単位面積あたりの汚水処理施設から河川への大腸菌負荷量(図左)、または家畜による大腸菌発生量(図右)との関係

流域単位面積あたりの汚水処理施設から河川への大腸菌負荷量と河川中の大腸菌数、薬剤耐性大腸菌数について、ピアソンの積率相関係数を調べた(図 2-7(左図))。流域単位面積あたりの汚水処理施設から河川への大腸菌負荷量とテトラサイクリン耐性大腸菌数について有意な相関関係が認められた( $R=0.32, p<0.05$ )が、大腸菌数やアンピシリン耐性大腸菌数との間には有意な相関は認められなかった( $R=0.25, p=0.13, R=0.27, p=0.09$ )。また、河川中の大腸菌数、薬剤耐性大腸菌数と流域単位面積あたりの家畜による大腸菌発生量について、両者とも相関関係は認められなかった(図 2-7(右図))。

処理水中には、河川水に比べ、多くの薬剤耐性菌が存在している<sup>16)</sup>。また、下水処理水を受容する河川では、その下流域における薬剤耐性菌数の増加が多くの研究で報告されている<sup>17)</sup>。相関分析の結果より、流域の汚水処理施設を介して、ヒトによる河川の薬剤耐性菌汚染が生じている可能性が示唆された。河川水中の大腸菌に占める処理水由来の大腸菌の割合は、河川の薬剤耐性菌汚染の指標になりうるとも考えられる。

### 3. 降雨による河川増水時の大腸菌、及び薬剤耐性大腸菌の動態把握

#### 3.1 調査概要

日本国内において、臨床分野のみならず畜産分野においても多くの薬剤耐性菌が確認されている<sup>18), 19)</sup>。体内で発生した薬剤耐性菌は、糞便と共に排出される。家畜糞便は、ヒトとは異なり、下水処理されるもののほかに、堆肥利用されるものが多い。薬剤耐性菌が含まれる豚や鶏などの糞便由来の堆肥を施肥することで、土壌の薬剤耐性菌数が増えることが報告されており<sup>20), 21), 22)</sup>、その薬剤耐性菌は降雨時の出水に伴い堆肥が施肥された畑地から河川に流入してくることが考えられる。海外では、河川において降雨後に大腸菌等の細菌数の増加<sup>23), 24), 25), 26)</sup>、薬剤耐性率の上昇<sup>27), 28)</sup>、薬剤耐性遺伝子の濃度の上昇<sup>29)</sup>が報告されている。しかし、降雨時の水環境中における薬剤耐性菌や薬剤耐性遺伝子の研究事例は少なく、細かい時間スケールで数日間にわたって、降雨時の薬剤耐性菌数の変動をモニタリングした研究事例は存在しない<sup>30)</sup>。この点について調査が必要である。

河川中の糞便性細菌は河川底質に蓄積し、長期間生き残る可能性がある<sup>31)</sup>。底質中の糞便性細菌は、増水時の底質巻き上げに伴い河川水中に再懸濁する<sup>32), 33)</sup>。最近の研究では、降雨後の河川中の糞便性細菌数の増加は、流域からの表面流出水の河川への流入ではなく、河川底質の再懸濁が原因であると報告するものも多い<sup>34), 35)</sup>。降雨時の薬剤耐性菌の挙動を把握するためには、耐性菌の増加に底質の再懸濁がどのような影響を及ぼしているかを評価することが必要である。

本調査では、河川中の大腸菌、及び薬剤耐性大腸菌数への降雨の影響を明らかにすることを目的として、滋賀県の南東部に位置する野洲川、日野川の複数地点で「平常時」と「増水時」を区別した薬剤耐性大腸菌の存在実態を調査した。複数地点の調査結果から、河川水中の大腸菌数、及び薬剤耐性大腸菌数は増水時に増加する傾向がみられた。この結果を受けて、増水による河川流量の変化に伴う大腸菌の菌数と負荷量の変動を詳細に把握するため、野洲川の流量観測地点において増水期間中(4~7日間)の大腸菌数、及び薬剤耐性大腸菌数を連続的に調査した。その結果を基にLQ解析を行い、薬剤耐性菌の流出特性の季節的な変化の把握、野洲川からの琵琶湖への大腸菌負荷量の推定を試みた。また、増水時の薬剤耐性菌数の増加に及ぼす底質の再懸濁の影響を評価するために、野洲川において底質中の大腸菌、及び薬剤耐性大腸菌の菌数の長期モニタリングを行った。増水時の薬剤耐性菌の挙動を把握するために、膜により河川中大腸菌を粒子吸着態と遊離態に分画し、それぞれの菌数の変動を調査した。

#### 3.2 河川水中薬剤耐性大腸菌の存在実態への降雨の影響の把握

##### 3.2.1 野洲川、及び日野川における薬剤耐性大腸菌の存在実態調査結果

野洲川、及び日野川とその支流の複数地点より採水した水試料について薬剤耐性大腸菌数を測定し、河川の平常時と増水時の結果を区別し分析を行った(図 3-1)。2019年12月から2021年9月にかけて調査を行い、全ての採水地点で、平常時に計13回、増水時に計9回の採水を行った。なお、本報告書では、本研究の助成期間の他に、事前に継続して行ってきた同様の調査研究<sup>11)</sup>結果と併せて解析する。

全ての採水地点において、大腸菌数は平常時よりも増水時に高い傾向があった(図 3-1 (a))。平常時は中央値で16~58(CFU/100mL)の範囲にあり、増水時には98~581(CFU/100mL)であった。全ての採水地点において、平常時よりも増水時の大腸菌数が有意に高かった( $p<0.05$ )。アンピシリン耐性大腸菌数は、平常時は中央値で0.8~13.5(CFU/100mL)の範囲であり、増水時には20~74(CFU/100mL)であった(図 3-1 (b))。テトラサイクリン耐性大腸菌数は、平常時は中央値で検出下限値未満~1.4(CFU/100mL)の範囲であり、増水時には2~45(CFU/100mL)であった(図 3-1 (c))。アンピシリン耐性大腸菌、テトラサイクリン耐性大腸菌ともに御代参橋を除く、全ての採水地点において、平常時よりも増水時の菌数が有意に高かった( $p<0.05$ )。

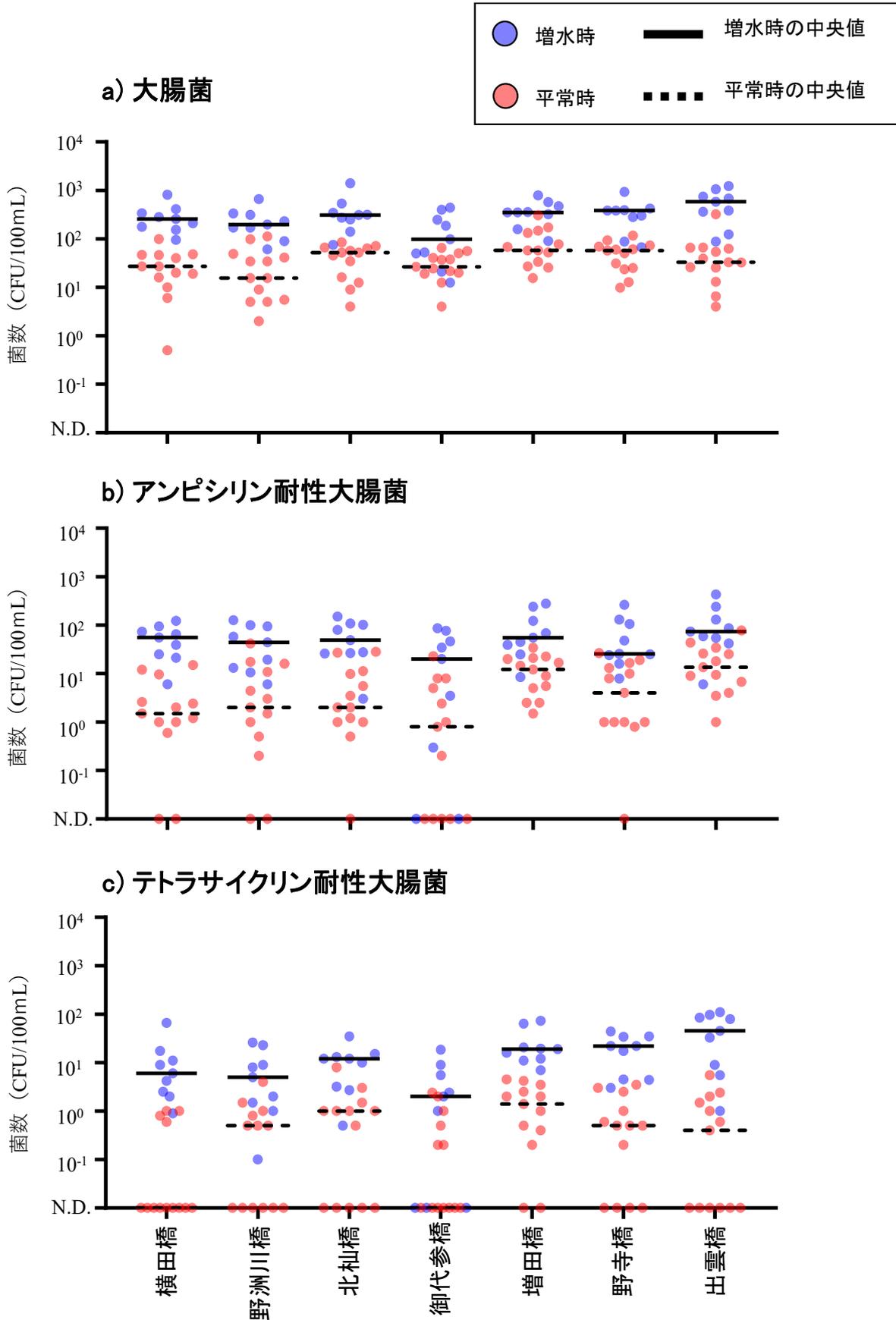


図 3-1 野洲川、及び日野川における薬剤耐性大腸菌の存在実態調査結果  
 N.D.: 検出下限値 (0.1~0.5 CFU/100mL) 未満

### 3.2.2 野洲川における増水時の連続詳細調査結果

河川水中の大腸菌、及び薬剤耐性大腸菌の菌数変化への河川増水の影響を詳細に解析するため、野洲川橋において、計 5 回の増水期間を対象に大腸菌数、及び薬剤耐性大腸菌数を連続的に調査した(調査日程: 2020 年 4 月 12 日~4 月 17 日、9 月 6 日~9 月 10 日、9 月 25 日~9 月 29 日、2021 年 5 月 26 日~5 月 31 日、9 月 17 日~9 月 22 日)。各連続詳細調査時における野洲川の流況、及び降雨状況を図 3-2 に、大腸菌、及び薬剤耐性大腸菌の菌数の変動を図 3-3 に、薬剤耐性率の変化を図 3-4 に示す。

2020 年 4 月 12 日~4 月 17 日、2021 年 9 月 17 日~9 月 22 日の調査においては、降雨の前から採水を行い、降雨の影響のない河川水を分析することで、降雨前後の比較を行った(図 3-2)。降雨時の河川の流況には流域全体の降雨量が影響しており、野洲川のように 100 km<sup>2</sup> 以上の流域を持つ河川では流域内で降雨状況が大きく異なる可能性が高い。本調査において降雨量は野洲川の採水地点における観測値であるため、流量との関連が低いと思われる。各調査期間中の最大流量は 86~310(m<sup>3</sup>/s) であり、各調査期間で大きく異なっていた(図 3-2)。

降雨前の期間から調査が行われた 2020 年 4 月 12 日~4 月 17 日、2021 年 9 月 17 日~9 月 22 日の調査において、降雨前の大腸菌、及び薬剤耐性大腸菌の菌数はピーク前と比較して非常に低かった。全ての調査期間中において、大腸菌、及び薬剤耐性大腸菌の菌数は増水初期に急激に増加し、流量のピーク付近で最大に達した(図 3-3)。大腸菌、及びアンピシリン耐性大腸菌の菌数は、最大に達した後、緩やかに減少した。増水前の菌数に戻るまで 36 時間以上を要し、2021 年 9 月 17 日~9 月 22 日の調査については、調査期間中に降雨前の菌数まで減少することはなかった。河川中の大腸菌数が増水初期に急激に増加した後、緩やかに減少する傾向は他の研究でも確認されている<sup>23),24)</sup>。

テトラサイクリン耐性大腸菌は、2021 年 9 月 17 日~9 月 22 日の調査において、大腸菌やアンピシリン耐性大腸菌とは異なる変動を示した。テトラサイクリン耐性大腸菌は降雨前には検出されず、増水初期に初めて検出された。また菌数は、流量のピーク付近のタイミングで最大に達したあと、すぐに減少に転じた。そして、流量の減少が緩やかになると検出下限値未満となった。

大腸菌は、流量のピーク後も降雨前に比べて高い菌数が維持されていた。特に 2020 年 4 月 12 日~4 月 17 日の調査においては、流量のピーク後 80 時間後でもなお、降雨前に比べ 10 倍以上高い菌数が維持されていた。降雨の規模にも依存すると思われるが、降雨による河川中の大腸菌や薬剤耐性大腸菌数の増加は、長期間にわたることが分かった。また、図 3-3 に示すように、降雨後の採水のタイミングによって、特に降雨の初期段階では、大腸菌数<sup>23),24),25),26)</sup>や薬剤耐性大腸菌数は大きく変化する。テトラサイクリン耐性大腸菌のようにタイミングによっては検出下限値未満となる場合もある。降雨時に大腸菌数や薬剤耐性大腸菌数を測定する目的で採水する場合には、採水のタイミングが測定結果に大きく影響を及ぼすことを示している。

アンピシリン耐性率は、流量の増加に伴って耐性率は減少し、流量が平常時のレベルに戻るにつれ、耐性率が上昇する傾向が多く調査期間中で確認された。一方で、テトラサイクリン耐性率は、増水に伴って耐性率が上昇する傾向がみられた(図 3-4)。

菌数の変動のパターンの違いをさらに検証するために、河川流量と大腸菌数、薬剤耐性大腸菌数の関係を調べた(図 3-5)。

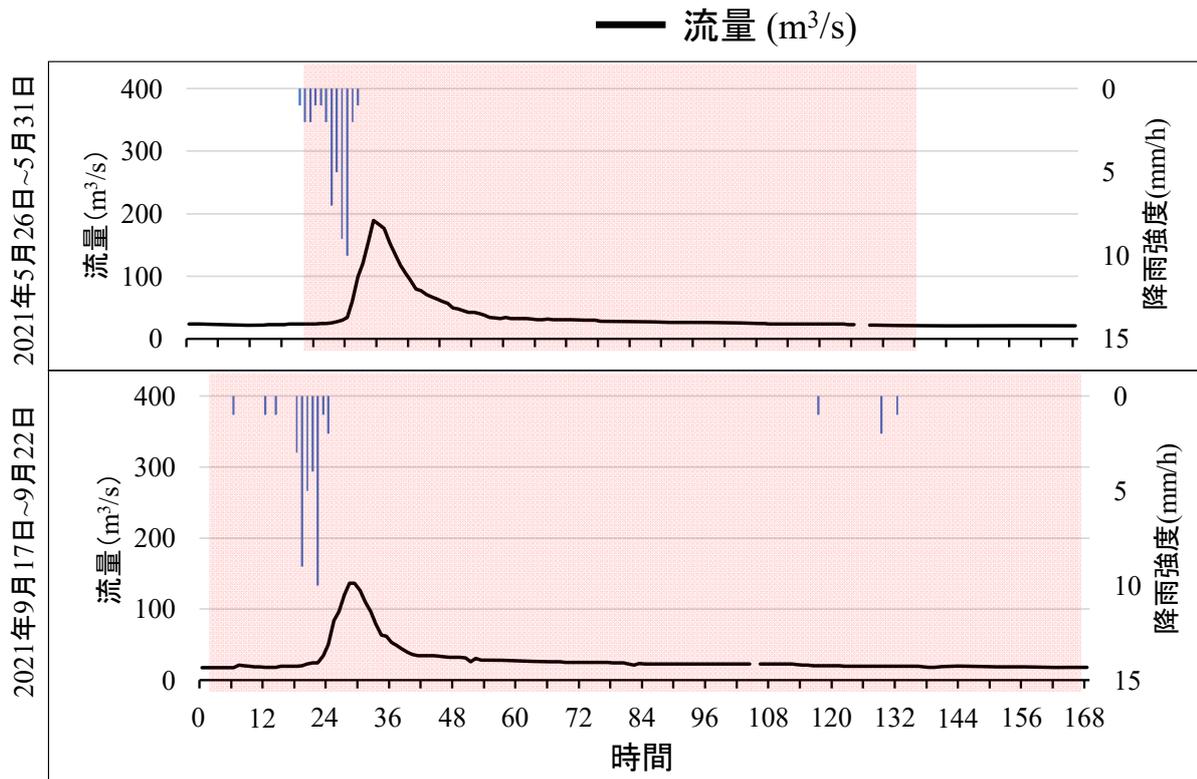


図 3-2 各連続詳細調査時における野洲川の流況、及び降雨状況

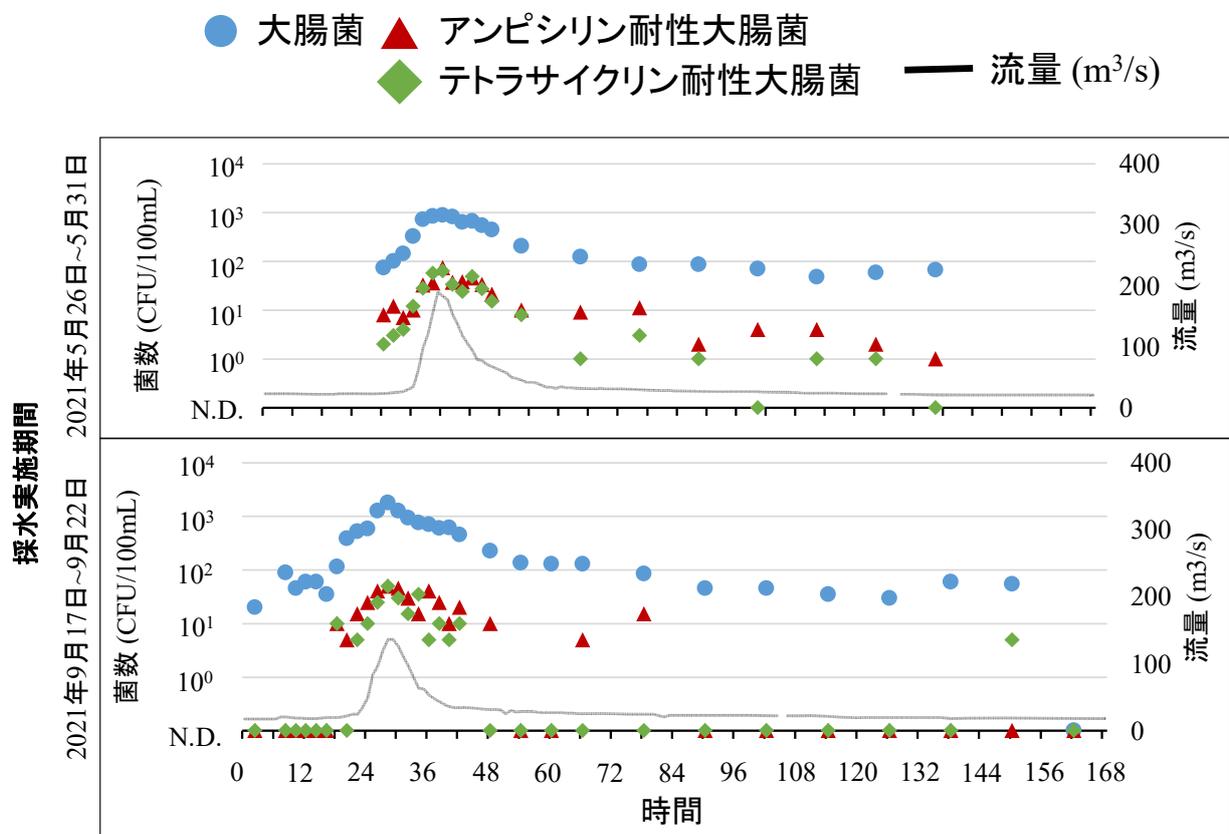


図 3-3 各連続詳細調査時における大腸菌、及び薬剤耐性大腸菌の菌数の変動

N.D.: 検出下限値 (0.5~1 CFU/100mL) 未満

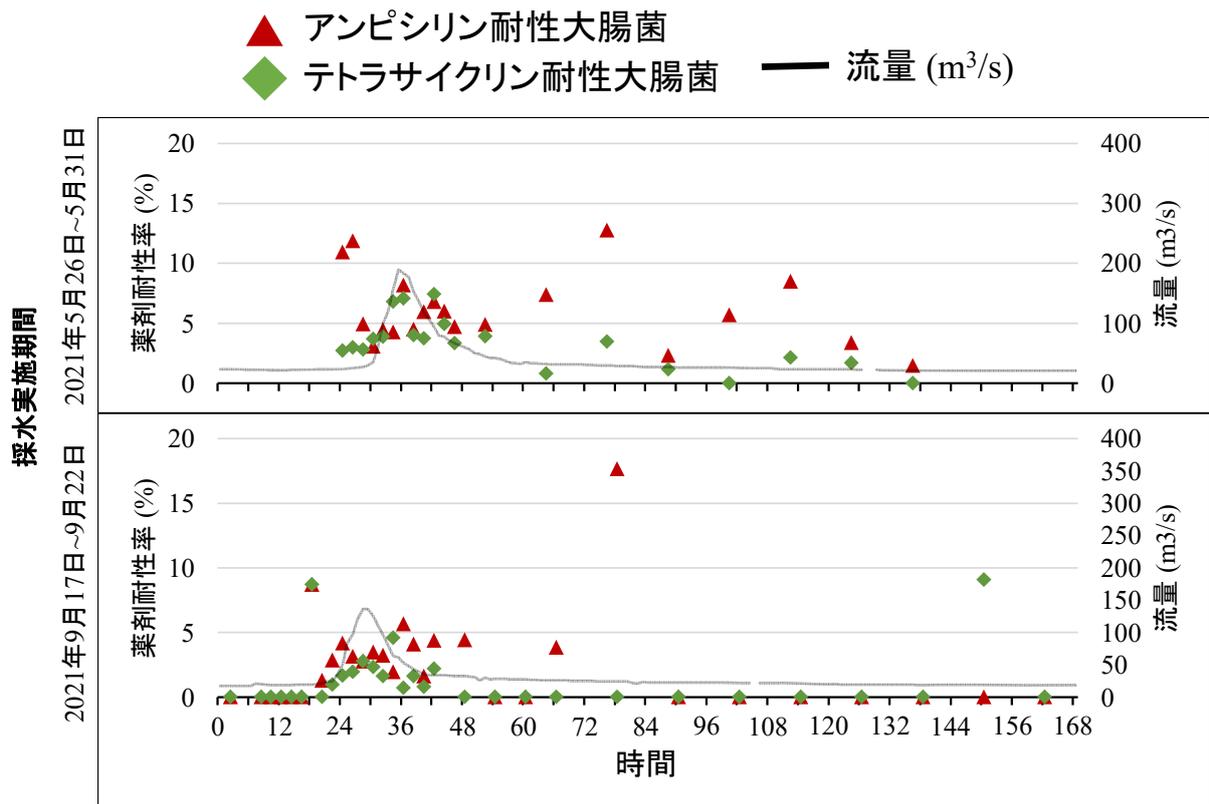


図 3-4 各連続詳細調査時における薬剤耐性率の変化

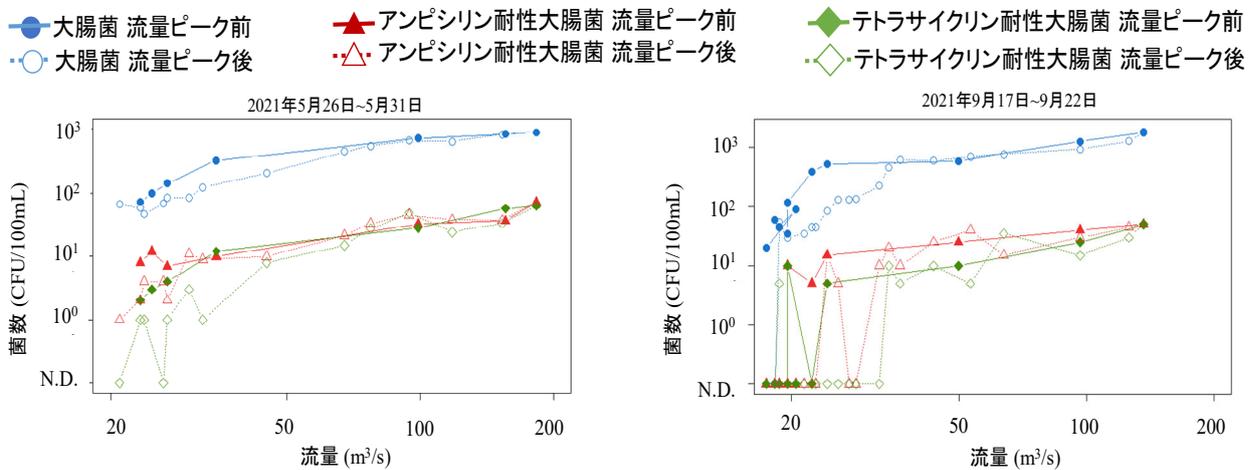


図 3-5 河川流量と大腸菌、及び薬剤耐性大腸菌の菌数との関係

河川流量がピークに達する前の増水過程、ピークに達した後の減水過程での菌数を区別して示す。N.D.: 検出下限値 (0.5~1 CFU/100mL) 未満

2020年4月12日~4月17日の調査では、流量変化に伴う菌数の変動においても、大腸菌とアンピシリン耐性大腸菌は類似の傾向を示すことがわかる。流量が20~50 m<sup>3</sup>/sの範囲ではファーストフラッシュ的に急激に菌数が増加し、それより大きな流量の範囲では数が一定に保たれていた。一方で、テトラサイクリン耐性大腸菌は増水初期ではほとんど検出されず、高流量時に一定の割合で数が増加した(図3-5)。ファーストフラッシュ的な急激な菌数の増加は見られなかった。これらの流出特性の違いは、テトラサイクリン

耐性大腸菌は大腸菌やアンピシリン耐性大腸菌と環境中での存在や水環境への流出の機構が異なることが要因であると示唆される。2020年4月12日~4月17日の調査以外では、流量変化に伴う菌数の変動において、大腸菌、アンピシリン耐性大腸菌、テトラサイクリン耐性大腸菌のすべてで類似の傾向を示した。流量が少ない範囲ではファーストフラッシュ的に急激に菌数が増加し、それより大きな流量の範囲では数が一定に保たれていた。

2020年4月12日~4月17日の調査における薬剤耐性の種類による流出特性の違いは、薬剤耐性大腸菌の環境中での存在や水環境への流出の機構が異なるために生じた可能性がある。大腸菌数は、同じ流量でも増水時に比べて、減水時において小さくなる傾向がみられた。洪水時の水質成分の変化を調べた研究<sup>36)</sup>において、このような傾向はBODなど、人間活動により発生する汚濁成分の特性であり、環境に一時的に蓄積しているものが出水とともに流出していると考察されている。大腸菌の負荷源もこのような特性に当てはまると推測される。

### 3.3 LQ解析

#### 3.3.1 大腸菌、及び薬剤耐性大腸菌の流出特性の把握

河川の流量(Q)と流出成分の負荷量(L)との関係は、その存在量や供給量、さらに存在状態について、より詳細な情報を提供する<sup>37)</sup>。薬剤耐性の種類によって流出特性の違いが確認された2020年4月12日~4月17日の調査において、薬剤耐性大腸菌の流出特性についてより詳細な解析するため、3-5.1に示す方法に従ってLQ解析を行った(図3-6)。大腸菌とアンピシリン耐性大腸菌については、負荷量が急激に増加する流量増加の初期段階と、負荷量の増加がやや小さくなる後期段階に分類して、近似曲線を求めた。近似曲線の傾きはLQ式の“b”の値となる。

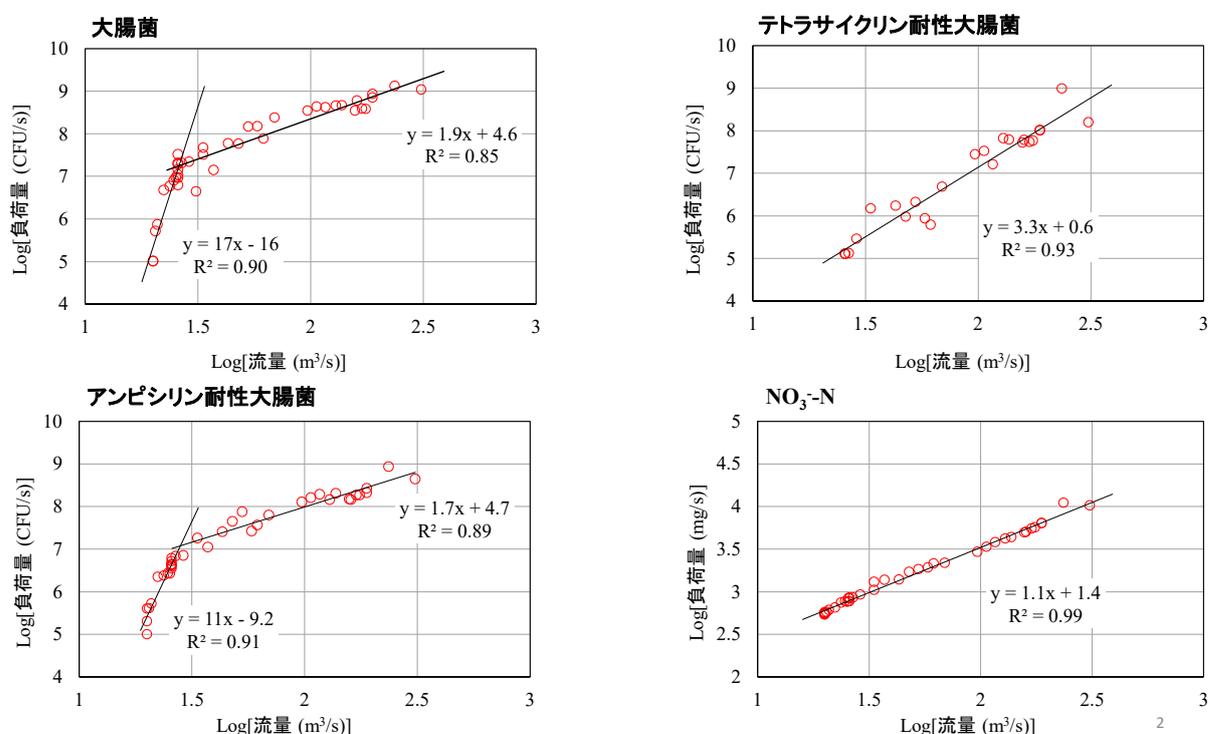


図 3-6 2020年4月12日~4月17日の調査における大腸菌、薬剤耐性大腸菌、硝酸性窒素のLQ解析結果

図 3-6 より、 $\text{NO}_3\text{-N}$  の LQ 式の  $b$  の値は 1 付近をとる。これは流量の増加に関わらず、濃度が一定であることを意味し、既存の研究結果と一致する<sup>36)</sup>。この流出特性を示す流出成分は地表に蓄積されているが、その量すなわち生産速度や土壌への供給速度に限界がある物質であると言われている。

テトラサイクリン耐性大腸菌は、流量の増加に伴い、負荷量は上昇する。流量の全ての範囲に対して  $b$  の値が 3.3 で一定であった。一方、大腸菌とアンピシリン耐性大腸菌は、低流量時と高流量時では負荷量の増加の傾きが明らかに異なっていた。よって、流量増加の初期段階と後期段階で別々の LQ 式を求めた。初期段階では大腸菌とアンピシリン耐性大腸菌の LQ 式の  $b$  の値はそれぞれ 17, 11 となり、流量の増加に伴って負荷量も急激に増加することがわかる。後期段階では  $b$  の値はそれぞれ 1.9, 1.7 となり、負荷量増加はやや緩やかになることがわかる。このように、大腸菌とアンピシリン耐性大腸菌は低流量時と高流量時では、流出特性が異なることが改めて示唆される。低流量時と高流量時では、大腸菌とアンピシリン耐性大腸菌の主な負荷源が異なる可能性、もしくは、雨の降り始めの段階では蓄積している大腸菌が一時的にファーストフラッシュのように多量に洗い出されている可能性が考えられる。一方で、2020 年 4 月 12 日～4 月 17 日の調査以外では、LQ 解析を通して薬剤耐性の種類や流量の程度による LQ 式の傾きの違いはほとんどみられなかった。

2020 年 4 月 12 日～4 月 17 日の調査においては、大腸菌とアンピシリン耐性大腸菌は流量増加に伴う菌数の増加のパターンも、負荷量増加のパターンも類似していたが、テトラサイクリン耐性大腸菌は明確に異なるパターンを示した。このことから季節性はあるが、アンピシリン耐性大腸菌とテトラサイクリン耐性大腸菌は環境中での存在や水環境への流出の機構が異なることが示唆される。

### 3.3.2 琵琶湖への野洲川からの年間負荷量の推定

野洲川の流量観測地点における平常時、及び計 5 回の連続詳細調査時における大腸菌数の測定結果に基づいて、琵琶湖への野洲川からの大腸菌負荷量推定に用いるための LQ 式を求めた(図 3-7)。LQ 式の算出の際、各連続詳細調査におけるデータ数を同じにするため、増水期間中の測定値をランダムに抽出し、回帰分析を行った。

大腸菌は、低流量時と高流量時では負荷量の増加の傾きが異なっていた。よって、流量増加の初期段階と後期段階で別々の LQ 式を求めた。初期段階では大腸菌 LQ 式の  $b$  の値は 4.6 となり、流量の増加に伴って負荷量も急激に増加することがわかる。後期段階では  $b$  の値はそれぞれ 1.3 となり、負荷量増加はやや小さくなることがわかる。大腸菌の負荷量推定には、低流量時と高流量時の LQ 式の使い分けが必要であることが示唆された。次に、図 3-7 の LQ 式に基づき、琵琶湖への野洲川からの大腸菌負荷量の推定を行った(図 3-8)。大腸菌負荷量は年間を通じて大きく変動していることがわかる。特に、4 月から 9 月の間に大腸菌負荷量が少なくなる傾向がみられる。その理由として、灌漑期(4 月～9 月)には石部頭首工などから河川水が農業用水として取水される可能性などが考えられる。降雨時には表面流出水などの流入により河川流量が増大する。本調査では、降雨時に生じる大腸菌負荷量を「降雨時流出負荷量」、定常的に生じている大腸菌負荷量を「基底負荷量」と区別し、それぞれの大腸菌負荷量を推定した(図 3-8)。年間総負荷量に占める降雨時流出負荷量の割合は 83.90%であり、降雨に伴う流出負荷の寄与が大きいことを示していた。負荷量解析の対象とした 2016 年は、9 月 20 日台風 16 号による大雨が流域内で観測された。その増水期間中の平均流量、LQ 式より推定した平均大腸菌負荷量は  $3.8 \times 10^5(\text{m}^3/\text{h})$ ,  $3.9 \times 10^{12}(\text{CFU}/\text{h})$  であり、年間総流量、年間総大腸菌負荷量に占める割合はそれぞれ 13%, 61% であった。台風等に伴う大規模な増水が琵琶湖への野洲川からの年間総負荷量の大半を占めることが示された。

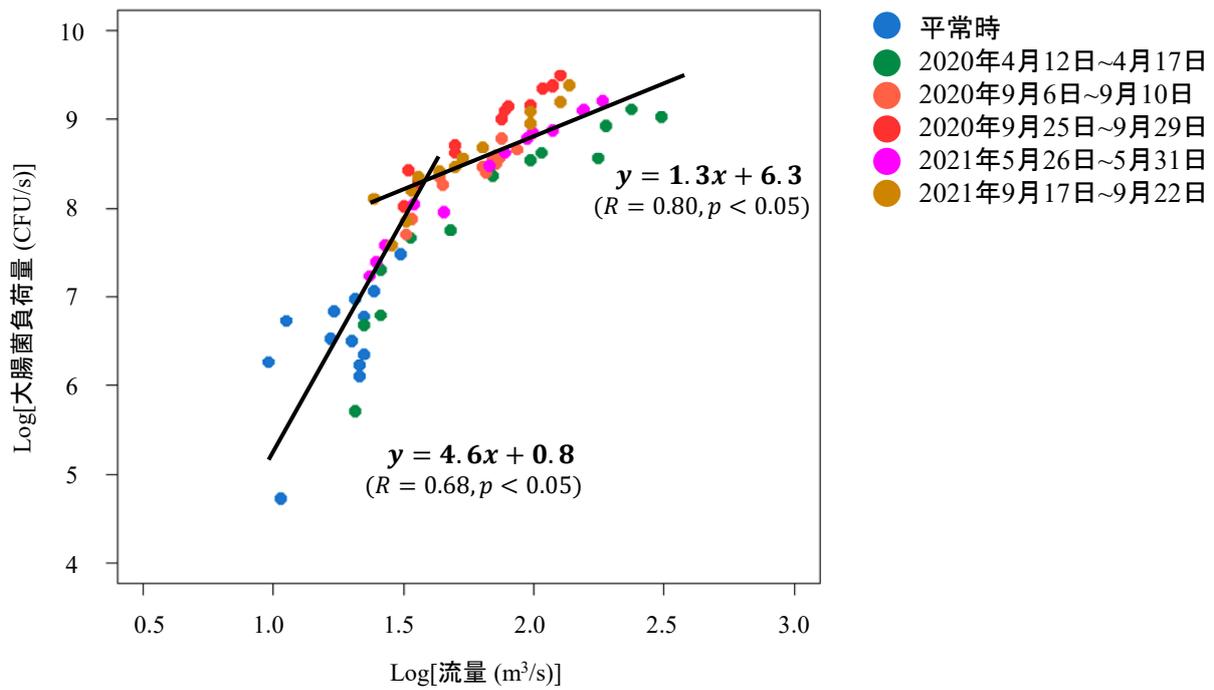


図 3-7 琵琶湖への野洲川からの大腸菌負荷量推定に用いる LQ 式  
 $R$  : ピアソン積率相関係数

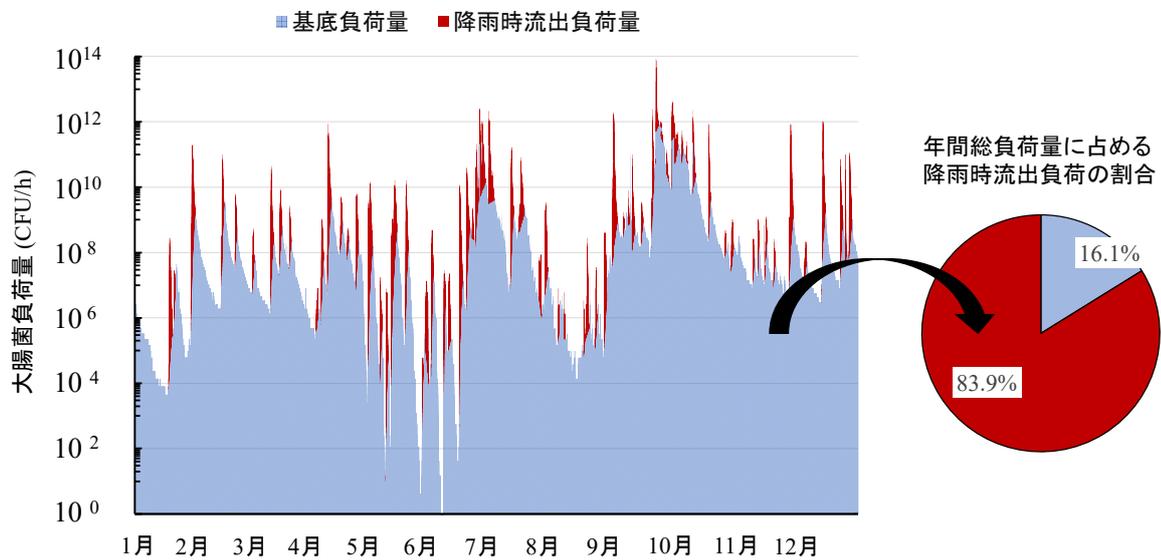


図 3-8 琵琶湖への野洲川からの大腸菌負荷量の推定結果

### 3.4 河川増水時の薬剤耐性菌数への底質の巻き上げの影響

#### 3.4.1 河川水、及び底質中の薬剤耐性大腸菌数の経時変化

2021年8月30日、9月2日、9月5日、9月8日に野洲川の最下流地点で採取した水試料、底質試料において大腸菌、及び薬剤耐性大腸菌の菌数を測定した。流心、及び流心と川岸の中間地点の計3点で採取した試料をそれぞれ測定し、それらの平均値を図にプロットした(図3-9)。ただし、9月5日、9月8日においてのみ、薬剤耐性大腸菌数を測定した。

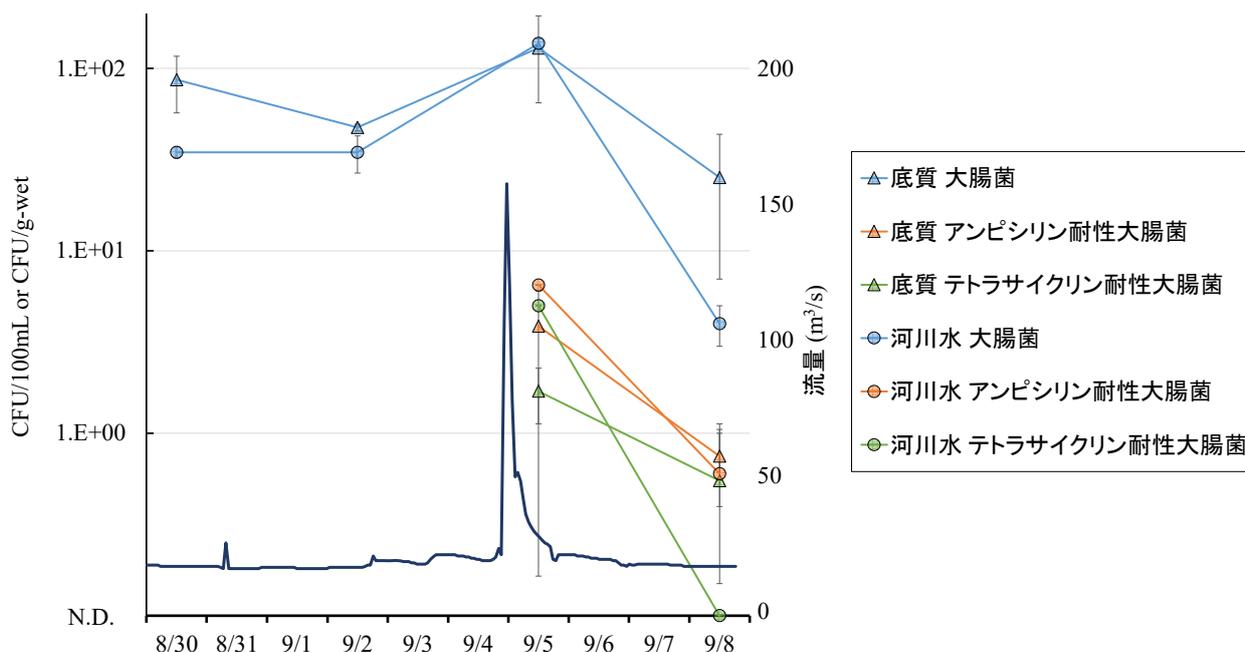


図 3-9 野洲川の最下流地点における河川水、底質中の大腸菌、及び薬剤耐性大腸菌の菌数の長期モニタリング結果

N.D.: 検出下限値 (0.5 CFU/100mL, 0.5 CFU/g-wet) 未満

調査期間中、大腸菌は平均値でみると、河川水中で 34, 34, 137, 4 (CFU/100mL) で推移しており、増水後の9月5日における菌数が最も高かった。一方で、底質中では 87, 48, 129, 25 (CFU/g-wet)で推移しており、河川水中の大腸菌数と同様に増水後の9月5日における菌数が最も高かった。特に、9月5日から9月8日にかけての菌数の減少は底質よりも河川水において大きかった。また、河川水中の大腸菌は採水地点による大腸菌数の違いはほとんどみられなかったが、底質中の大腸菌数は採泥地点によって菌数が大きく異なっていた。大腸菌の空間的な変動が河川水よりも底質において大きく、時間的な変動が底質よりも河川水で大きくなる傾向は、他の研究においても確認されている<sup>38)</sup>。薬剤耐性大腸菌は平均値でみると、それぞれの薬剤耐性において河川水、底質ともに9月5日から9月8日にかけて、菌数の減少がみられた。

#### 3.4.2 増水時の薬剤耐性大腸菌の流出の動態把握

2021年9月17日~9月22日の調査の試料を Mahler らの方法<sup>39)</sup>に従って、大腸菌を粒子吸着態と遊離態に分画し、それぞれの菌数の変動を調査した(図3-10)。

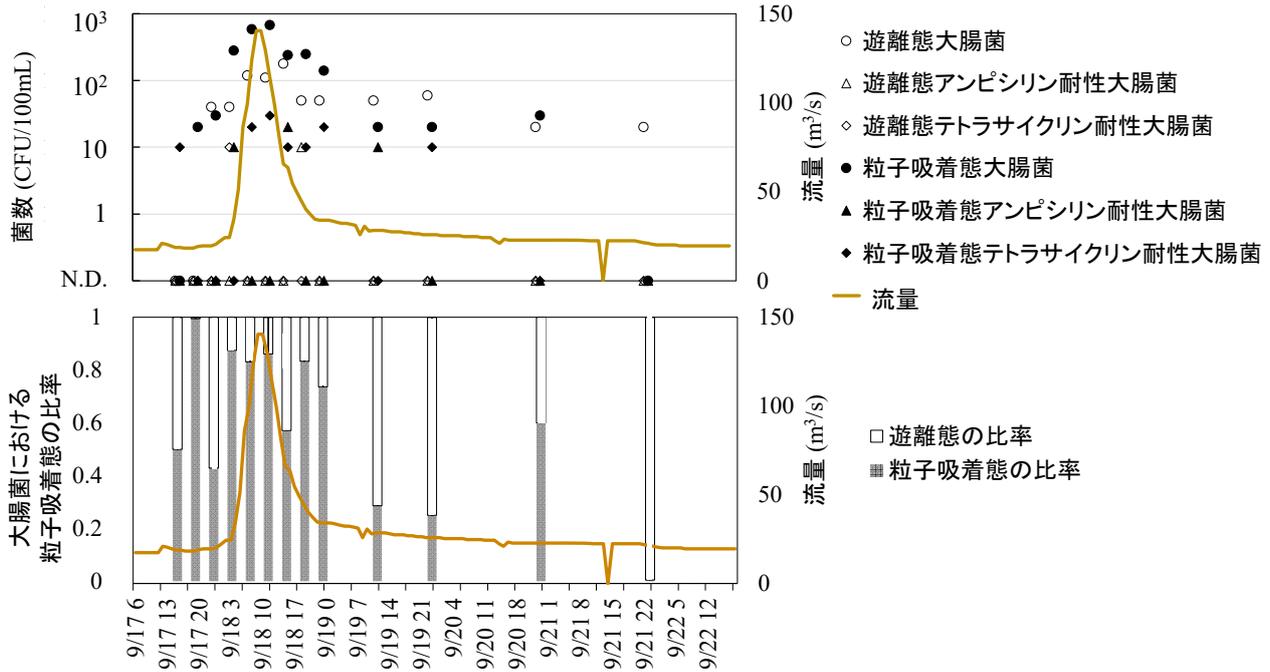


図 3-10 増水時における存在実態別の大腸菌、及び薬剤耐性大腸菌の菌数の変動  
N.D.: 検出下限値 (5 CFU/100mL) 未満

増水前の 17 日 15 時の時点では、大腸菌は、遊離態、粒子吸着態ともに未検出であった。粒子吸着態大腸菌は増水が始まった 18 日 3 時から菌数が急激に増加し、11 時には 680 (CFU/100mL) に達した。その後、菌数は緩やかに減少し、21 日の 23 時に検出下限値未満となった。遊離態大腸菌は粒子吸着態大腸菌ほどではないが、増水が始まった 18 日 3 時から菌数が急激に増加し、15 時には 180 (CFU/100mL) に達した。その後、菌数は緩やかに減少したが、粒子吸着態大腸菌のように検出下限値未満にはならず、21 日 23 時でも 20 (CFU/100mL) であった。薬剤耐性大腸菌においても同様の傾向がみられ、増水時において薬剤耐性大腸菌のほとんどが粒子吸着態として検出された。大腸菌における粒子吸着態の比率をみると、増水時において大腸菌の多くは粒子吸着態大腸菌に分画され、増水後は粒子吸着態大腸菌の比率が下がる傾向がみられた。

大腸菌は、粒子に吸着するか、水中を遊離する形で河川水中を輸送される。粒子に吸着した大腸菌、特に比重の大きな無機物の粒子に吸着した大腸菌は、流速の低い平常時には沈降により底質中に移動しやすい<sup>40)</sup>。底質中の大腸菌は、長期間生存し続けることが多くの研究で報告されている<sup>31)</sup>。増水時の河川流速の上昇は、せん断力の増加を伴い、それにより底質の再懸濁が引き起こされる<sup>34),35)</sup>。本調査において、増水時の粒子吸着態大腸菌の比率が高いことは、増水時の流速増加により底質巻き上げに伴う大腸菌の再懸濁が生じていることに矛盾しない。

#### 4. まとめ

本研究では、まず家畜や野生動物の糞便、下水処理場の処理水を対象として薬剤耐性大腸菌数の測定や薬剤感受性試験により薬剤耐性パターンを調査し、水環境中への薬剤耐性菌の負荷源の推定、及びその薬剤耐性菌の特性の把握を試みた。流域の土地利用に基づき、河川中の薬剤耐性菌の存在実態に影響を及ぼす流域の人為活動の推定を試みた。以下に、主な成果を示す。

[1] 家畜(牛、鶏)、及び野生動物(シカ、水鳥)における薬剤耐性大腸菌数の測定結果より、野生動物におい

て、ほとんど薬剤耐性大腸菌が検出されなかった。一方で、家畜において薬剤の投与がほとんどなされていないにもかかわらず、薬剤耐性大腸菌が検出された。これは過去に使用した薬剤に耐性を獲得した菌が農場に定着したこと要因である可能性がある。

- [2] 薬剤感受性試験の結果より、処理水中から単離された大腸菌は多くの薬剤に耐性を示し、この結果は JANIS などヒト糞便中の大腸菌を対象にした感受性試験の結果と似た傾向を示した。処理水中の大腸菌の薬剤耐性パターンはヒト由来大腸菌の薬剤耐性パターンを反映している可能性がある。家畜や野生動物由来の大腸菌に比べ、処理水中の大腸菌が多くの薬剤に耐性を示したことから、処理水は薬剤耐性リスクの高い負荷源であると示唆された。
- [3] 琵琶湖流域河川における薬剤耐性大腸菌の存在実態調査より、特に都市卓越型や畑地・都市型のよう な都市に関する類型の河川で薬剤耐性大腸菌数が高い傾向にあり、河川中の薬剤耐性菌と流域の土地利用との間に関係がみられた。また河川水中の薬剤耐性大腸菌数と河川への污水处理施設からの大腸菌負荷量、及び流域単位面積あたりの家畜による大腸菌発生量との関係を調べたところ、流域単位面積あたりの污水处理施設から河川への大腸菌負荷量とテトラサイクリン耐性大腸菌数について有意な相関関係が認められ( $R=0.32, p<0.05$ )、流域の污水处理施設を介して、ヒトによる河川の薬剤耐性菌汚染が生じている可能性が示唆された。

また、川中の大腸菌、及び薬剤耐性大腸菌数への降雨の影響を明らかにすることを目的として、滋賀県の南東部に位置する野洲川、日野川の複数地点で「平常時」と「増水時」を区別した薬剤耐性大腸菌の存在実態を調査した。複数地点の調査結果から、河川水中の大腸菌数、及び薬剤耐性大腸菌数は増水時に増加する傾向がみられた。この結果を受けて、増水による河川流量の変化に伴う大腸菌の菌数と負荷量の変動を詳細に把握するため、野洲川の流量観測地点において増水期間中(4~7日間)の大腸菌数、及び薬剤耐性大腸菌数を連続的に調査した。その結果を基に LQ 解析を行い、薬剤耐性菌の流出特性の季節的な変化の把握、野洲川からの琵琶湖への大腸菌負荷量の推定を試みた。また、増水時の薬剤耐性菌数の増加に及ぼす底質の再懸濁の影響を評価するために、野洲川において底質中の大腸菌数、薬剤耐性大腸菌数の長期モニタリングを行った。増水時の薬剤耐性菌の挙動を把握するために、膜により河川中大腸菌を粒子吸着態と遊離態に分画し、それぞれの菌数の変動を調査した。以下に、主な成果を示す。

- [4] 河川中の大腸菌は全ての地点で、薬剤耐性率大腸菌は御代参橋を除く全ての地点で降雨による増水時の方が平常時に比べて、菌数が有意に増加した( $p<0.05$ )。
- [5] 野洲川の流量観測地点で出水時に、複数回連続的な調査を行った結果、季節性はあるが大腸菌、アンピシリン耐性大腸菌とテトラサイクリン耐性大腸菌とでは降雨時の流出特性が異なっており、環境中の存在実態が異なることが示唆された。
- [6] 大腸菌、アンピシリン耐性大腸菌、テトラサイクリン耐性大腸菌は流量の初期段階からファーストフラッシュ的に急激に菌数が増加した。ただし季節によって、テトラサイクリン耐性大腸菌は低流量時、ほとんど検出されず、高流量時に菌数が一定の割合で増加する場合もみられた。
- [7] 野洲川における河川流量(Q)大腸菌負荷量(L)の関係を実測データに基づいて初めて明らかにし、琵琶湖への大腸菌負荷量の推定を行った。そして、年間総大腸菌負荷量に占める降雨時流出負荷量の割合を明らかにした。
- [8] 河川水中の輸送形態別に、増水時において大腸菌数を連続的に調査することで、増水時の河川中大腸菌のほとんどが粒子に吸着する形で輸送されることを明らかにした。

薬剤耐性菌の発生には抗菌薬の使用量や種類が密接に関係している。畜産農家によって、抗菌薬の使用方法に差がある可能性があるため、家畜由来の大腸菌の薬剤耐性パターンをより正確に把握するには、複数の畜産施設における薬剤耐性の実態調査データ増やしていく必要がある。

## 引用・参考文献

- 1) Jia, Shuyu, et al. "Fate of antibiotic resistance genes and their associations with bacterial community in livestock breeding wastewater and its receiving river water." *Water research* 124 (2017): 259-268.
- 2) He, Liang-Ying, et al. "Discharge of swine wastes risks water quality and food safety: antibiotics and antibiotic resistance genes from swine sources to the receiving environments." *Environment international* 92 (2016): 210-219.
- 3) Yamashita Naoyuki, et al. "Occurrence of antimicrobial resistance bacteria in the Yodo River basin, Japan and determination of beta-lactamases producing bacteria." *Ecotoxicology and environmental safety* 143 (2017): 38-45.
- 4) Servais, Pierre, et al. "Antimicrobial resistance of fecal bacteria in waters of the Seine river watershed (France)." *Science of the Total Environment* 408.2 (2009): 365-372.
- 5) Duff, Jason A., et al. Cohen. "Land Use and Environmental Variables Influence Tetracycline-Resistant Bacteria Occurrence in Southeastern Coastal Plain Streams." *Journal of Environmental Quality* 48.6 (2019): 1809-1816.
- 6) 院内感染対策サーベイランス事業 (JANIS) <http://janis.mhlw.go.jp/> 2022年1月9日最終アクセス
- 7) Kappell, Anthony D., et al. "Detection of multi-drug resistant *Escherichia coli* in the urban waterways of Milwaukee, WI." *Frontiers in microbiology* 6 (2015): 336.
- 8) Bryan Andrew, et al. "Frequency and distribution of tetracycline resistance genes in genetically diverse, nonselected, and nonclinical *Escherichia coli* strains isolated from diverse human and animal sources." *Applied and environmental microbiology* 70.4 (2004): 2503-2507.
- 9) 西田光希ら. "下水処理場から水域へ放流される年間微生物負荷量の推定." *土木学会論文集 G (環境)* 76.7 (2020): III 441-III 448.
- 10) 動物由来薬剤耐性菌モニタリング (JVARM) [http://www.maff.go.jp/nval/yakuzai/yakuzai\\_p3.html](http://www.maff.go.jp/nval/yakuzai/yakuzai_p3.html)
- 11) 杉江由規. "琵琶湖および流域河川における薬剤耐性大腸菌の存在実態とその起源に関する研究." 京都大学大学院工学研究科 都市環境工学専攻 修士論文, 2022.
- 12) 大久保賢治ら. "琵琶湖南湖の湖流解析." 京都大学防災研究所年報. B= Disaster Prevention Research Institute Annuals. B 26.B-2 (1983): 503-530.
- 13) 滋賀県 HP: 滋賀の畜産 2020 <https://www.pref.shiga.lg.jp/ippan/shigotosangyou/chikusan/311685.html>
- 14) 農林水産省: 管理基準の内容や家畜排せつ物の発生量等の記録様式に関するパンフレット [https://www.maff.go.jp/j/chikusan/kankyo/taisaku/t\\_mondai/04\\_zyokyo/](https://www.maff.go.jp/j/chikusan/kankyo/taisaku/t_mondai/04_zyokyo/)
- 15) 金子光美, 「水質衛生学」, (2003), 技術堂出版
- 16) Ma, Chih-Yu. Occurrence and characterization of antibiotic-resistant *Escherichia coli* in wastewater and surface water. 京都大学大学院工学研究科都市環境工学専攻博士(工学)論文, 2020.
- 17) Fouz, Nour, et al. "The contribution of wastewater to the transmission of antimicrobial resistance in the environment: implications of mass gathering settings." *Tropical medicine and infectious disease* 5.1 (2020): 33.
- 18) 院内感染対策サーベイランス事業 (JANIS) <http://janis.mhlw.go.jp/> 最終アクセス 2022年1月10日
- 19) 動物由来薬剤耐性菌モニタリング (JVARM) [http://www.maff.go.jp/nval/yakuzai/yakuzai\\_p3.html](http://www.maff.go.jp/nval/yakuzai/yakuzai_p3.html)
- 20) Sengeløv, Gitte, et al. "Bacterial antibiotic resistance levels in Danish farmland as a result of treatment with pig manure slurry." *Environment international* 28.7 (2003): 587-595.
- 21) Yang, Q., et al.: Practical survey on antibiotic-resistant bacterial communi-ties in livestock mature and mature-amended soil. *Journal of Environmental Science and Health, part B*, 51:1, 14-23 (2016)
- 22) 小橋有里. 抗生物質耐性遺伝子の農業環境中における分布と拡散に関する研究. Diss. 筑波大学大学院生命環境科学研究科生物機能科学専攻博士 (農学) 論文, 2007.
- 23) Surbeck, Cristiane Q., et al. "Flow fingerprinting fecal pollution and suspended solids in stormwater runoff from an urban coastal watershed." *Environmental science & technology* 40.14 (2006): 4435-4441.
- 24) Liao, Hehuan, et al. "Storm loads of culturable and molecular fecal indicators in an inland urban stream." *Science of the Total Environment* 530 (2015): 347-356.
- 25) Nagels, J. W., et al. "Faecal contamination over flood events in a pastoral agricultural stream in New Zealand." *Water Science and Technology* 45.12 (2002): 45-52.
- 26) Stumpf, Curtis H., et al. "Loading of fecal indicator bacteria in North Carolina tidal creek headwaters: hydrographic patterns and terrestrial runoff relationships." *Water research* 44.16 (2010): 4704-4715.
- 27) Zhang, Songhe, et al. "Antibiotic concentration and antibiotic-resistant bacteria in two shallow urban lakes after stormwater event." *Environmental Science and Pollution Research* 23.10 (2016): 9984-9992.
- 28) Salmore, Alissa K., et al. "Delineation of a chemical and biological signature for stormwater pollution in an urban river." *Journal of water and health* 4.2 (2006): 247-262.
- 29) Di Cesare, Andrea, et al. "Rainfall increases the abundance of antibiotic resistance genes within a riverine microbial community." *Environmental Pollution* 226 (2017): 473-478.
- 30) Hamilton, Kerry A., et al. "Antimicrobial-resistant microorganisms and their genetic determinants in stormwater: a systematic review." *Current Opinion in Environmental Science & Health* (2020).
- 31) Byappanahalli, Muruleedhara N., et al. "Enterococci in the environment." *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 76.4 (2012): 685-706.
- 32) Jamieson, Rob, et al. "Transport and deposition of sediment-associated *Escherichia coli* in natural streams." *Water Research* 39.12 (2005): 2665-2675.
- 33) Jamieson, Rob C., et al. "Resuspension of sediment-associated *Escherichia coli* in a natural stream." *Journal of Environmental Quality* 34.2 (2005): 581-589.
- 34) Cho, Kyung Hwa, et al. "Release of *Escherichia coli* from the bottom sediment in a first-order creek: Experiment and reach-

- specific modeling." *Journal of Hydrology* 391.3-4 (2010): 322-332.
- 35) Walters, Evelyn, et al. "Influence of resuspension on the fate of fecal indicator bacteria in large-scale flumes mimicking an oligotrophic river." *Water research* 48 (2014): 466-477.
  - 36) 橘治国. "洪水時における水質と水質成分の流出特性." *水文・水資源学会誌* 6.3 (1993): 254-267.
  - 37) Steavens, R. J., et al. "A Comparison of Discreet and Intensive Sampling for Measuring the Loads of Nitrogen and Phosphorus in the River Main, County Antrim." *Water Reseach* 12 (1978): 12-23.
  - 38) Matthew D. stocker, Michael Penrose, et al. "Spatial Patterns of Escherichia coli Concentrations in Sediment before and after High-Flow Events in a First-Order Creek." *Jornal of Environmental Quality* 47 (2018): 958-966.
  - 39) Mahler, B. J., et al. "Transport of free and particulate-associated bacteria in karst." *Journal of Hydrology* 238.3-4 (2000): 179-193.
  - 40) Scott EE, et al. "Spatiotemporal variation of bacterial water quality and the relationship with pasture land cover." *J Water Health* 6 (2017): 839-848.