

平成 30 年 6 月 5 日現在

機関番号：32607

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K21596

研究課題名(和文) 下水処理プロセスにおける薬剤耐性菌の不活性化：下水道は耐性遺伝子のプールなのか？

研究課題名(英文) Inactivation of antibiotic-resistant bacteria in sewage water treatment plant:
Is the sewer system a pool of antibiotic-resistant genes?

研究代表者

古川 隼士 (Furukawa, Takashi)

北里大学・医療衛生学部・講師

研究者番号：90632729

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：下水処理過程における薬剤耐性菌(ARB)と耐性遺伝子(ARGs)の挙動を明らかにするために、各処理槽におけるバンコマイシンに耐性従属栄養細菌と耐性遺伝子(vanA, vanB)の存在実態を調べた。塩素消毒水を含めたすべての下水および汚泥試料からバンコマイシン耐性従属栄養細菌および耐性遺伝子が検出された。バッチ式の塩素消毒実験においてバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)の不活化実験を行った。塩素消毒によってVREは効果的に不活化できるものの、vanA遺伝子は処理水中に残存することがわかった。以上の結果から、下水処理場はARBとARGsのプールとなり、水環境へ放流されている可能性が強く示唆された。

研究成果の概要(英文)：To clarify the behavior of antibiotic-resistant bacteria (ARB) and antibiotic-resistant genes (ARGs) in sewage water treatment plant, the presence of heterotrophic bacteria resistant to vancomycin and vanA and vanB, vancomycin resistant genes in each sewage water and sludge sample were determined. Heterotrophic bacteria resistant to vancomycin and vanA and vanB were detected from all sewage water and sludge samples even in the chlorinated water. Furthermore, in batch-type chlorination experiment of vancomycin-resistant enterococci (VRE) were carried out. Although VRE could be inactivated completely by chlorination, vanA gene could not be destroyed and remained in chlorinated water. Our results strongly indicated that sewage water treatment plant might play as pools of ARB and ARGs and discharge to water environments.

研究分野：水環境工学

キーワード：薬剤耐性菌 薬剤耐性遺伝子 下水処理場 バンコマイシン バンコマイシン耐性遺伝子 従属栄養細菌

1. 研究開始当初の背景

薬剤耐性菌 (Antibiotic-Resistant Bacteria: ARB) は従来、院内感染の原因菌として危険視されていたが、近年では水環境における検出・感染事例が報告されつつあり、ARB による水系汚染が新たな水環境問題として危惧され始めている。ARB は通常、流域において発生し排水等に含まれる可能性があり、それを介して水環境に流入する。その一方で、下水処理場は耐性遺伝子のプールとなっている可能性があり、遺伝子水平伝搬によって病原性を有した新たな ARB を生み出す危険性も否定できない。さらに、下水処理場から水環境へ ARB あるいは耐性遺伝子が流入することで水系全体へ ARB が拡散し、それに伴い ARB による感染リスクが極めて高くなる。すなわち、真に安心・安全な都市環境域を構築するためには、ARB および耐性遺伝子の不活性化技術を構築し、下水処理場等の排水処理施設に導入することが強く望まれる。下水処理場は ARB の主要な発生源の 1 つとして重要である一方で、下水道は都市域から病原性微生物等を効果的に集約できるシステムであるため、ARB および耐性遺伝子を不活性化できるプロセスを解明・導入できれば、水環境への ARB の拡散を大幅に削減し、それに伴う感染リスクの抑制に大きく貢献できると強く認識した。そのためには、下水処理過程における薬剤耐性菌および耐性遺伝子の存在実態、ならびに動態と消長についてその全容を解明することが極めて重要である。

2. 研究の目的

本研究では、下水処理場における ARB および耐性遺伝子の不活性化技術の構築・導入を提言することを念頭に置き、未だ解明が不十分な下水処理過程における ARB および耐性遺伝子の動態と消長について調査研究および実験を行う。研究期間内には以下のことを明らかにする。下水処理場における調査研究において、採取した各下水処理過程の下水試料および汚泥試料から従属栄養細菌を単離・回収し、複数の抗生物質を用いた薬剤感受性試験によって、多剤耐性菌を含めた ARB の存在実態を明らかにする。バンコマイシン耐性遺伝子 (*van* 遺伝子) をモデル遺伝子とし、耐性遺伝子の下水処理過程における動態と消長を究明する。塩素消毒による VRE と *vanA* 遺伝子の不活性化効果を明らかにする。

3. 研究の方法

3.1 下水処理場における実態調査研究

3.1.1 試料採取

試料採取は大分県内の下水処理場 (標準活性汚泥法、分流式) を対象として、2015 年 7 月～2016 年 6 月の期間に月一回を基本として実施した (2016 年 2 月は試料採取が実施できなかったため、合計 11 回の試料採取を実施)。下水試料の採取地点は、最初沈殿池流入口 (流入下水)、エアレーションタンク (タン

ク水)、最終沈殿池越流口 (二次処理水)、および塩素消毒水 (消毒水) とした。汚泥試料の採取地点は、最初沈殿池汚泥管 (初沈汚泥)、最終沈殿池汚泥管 (終沈汚泥)、および返送汚泥管とした。採取した下水および汚泥試料は滅菌済ポリエチレンボトルに保存して実験室に持ち帰り、直ちに実験に供した (試料採取から 2 時間以内)。下水および汚泥試料は、従属栄養細菌数、大腸菌群数、大腸菌数、腸球菌数、および耐性遺伝子 (*vanA*, *vanB*) のコピー数を分析した。

3.1.2 細菌数の計数

各細菌数の計数方法は、平板塗抹法あるいはメンブレンフィルター法によって実施した。細菌濃度が高いと予測される下水および汚泥試料は、滅菌済生理食塩水を用いて希釈した。従属栄養細菌数は、真菌の増殖を抑制するために 200 mg/L のシクロヘキシミドを添加した R2A 寒天培地を用いて測定した。100 μ L の試料あるいは希釈試料を培地上に塗布し、35.0 \pm 1.0 $^{\circ}$ C で 72 時間培養した。培養後に培地上に形成された白色および黄色のコロニーを従属栄養細菌として計数した。大腸菌群数、大腸菌数および腸球菌数はメンブレンフィルター法に従って測定した。100 mL の試料あるいは 10 mL の希釈試料をメンブレンフィルター (孔径 0.45 μ m) を用いてろ過し、フィルターを培地に置いて、37 \pm 1.0 $^{\circ}$ C で 24 時間培養した。大腸菌群および大腸菌は XM-G 寒天培地で、腸球菌は mEI 寒天培地を用いてそれぞれ培養した。培養後、XM-G 培地上の赤色のコロニーおよび青色のコロニーを大腸菌群および大腸菌としてそれぞれ計数した。mEI 寒天培地上の青色のコロニーを腸球菌として計数した。

3.1.3 従属栄養細菌株の薬剤感受性試験

従属栄養細菌株のバンコマイシンに対する薬剤感受性試験を実施するために単離・回収した。計数後、R2A 寒天培地上のシングルコロニーを Nutrient 寒天培地に単離し、35.0 \pm 1.0 $^{\circ}$ C で 48 時間培養した。従属栄養細菌株は、各下水および汚泥試料から 50 株ずつ単離した。次いで、培地上に形成されたシングルコロニーを 1.0 mL の Nutrient 液体培地が入った 2-mL チューブに植えついで、35.0 \pm 1.0 $^{\circ}$ C で 48 時間培養した。細菌の培養が確認できた 2-mL チューブは薬剤感受性試験を実施するまで -80 $^{\circ}$ C で保存した。

従属栄養細菌のバンコマイシンに対する感受性を明らかにするために、微量液体培地希釈法に基づいた最小発育阻止濃度 (MIC) 試験を実施した。バンコマイシンの濃度は 8, 16, 32, 64, および 128 μ g/mL とした。従属栄養細菌株は Nutrient 液体培地を用いて、35.0 \pm 1.0 $^{\circ}$ C で一晚培養した。培養後の従属栄養細菌株のペレットを遠心分離 (17,800 \times g, 5 分) して、1.0 mL の滅菌済リン酸緩衝溶液 (PBS) で 2 回洗浄した。洗浄後、PBS で 0.5 McFarland 標準液に相当する濁度に細菌懸濁

液を調製した。単離・回収したすべての従属栄養細菌株は、はじめにバンコマイシン濃度 8.0 µg/mL に耐性を示すかどうかスクリーニングした。はじめにバンコマイシン濃度 8.0 µg/mL に耐性を示した従属栄養細菌株は、次いで MIC 試験を実施した。

3.1.4 各試料からの DNA 抽出

流入下水およびタンク水は、金属製網ふるい(メッシュサイズ 250 µm)を用いて夾雑物を除去した。10~500 mL の各下水試料はメンブランフィルター(孔径 0.45 µm)を用いてろ過した。ろ過後のフィルターは 10 mL の滅菌済蒸留水が入った 50-mL 遠沈管に入れ、10 分間ボルテックス操作をした。遠沈管からフィルターを取り除いた後、17,800×g で 5 分間遠心分離を行い、上澄みを除去した。各下水試料の DNA は遠沈管内の沈殿物から抽出した。前処理した下水試料および汚泥試料からの DNA 抽出は PowerSoil® DNA Isolation Kit (BO BIO Laboratories) を用いて、付属の使用説明書に従って実施した。DNA 抽出液は、リアルタイム定量 PCR 法による *vanA* および *vanB* 遺伝子定量に用いるまで -20 °C で保存した。

3.1.5 耐性遺伝子の定量

リアルタイム定量 PCR 法による耐性遺伝子定量のための *vanA* および *vanB* クローンは、それぞれ *Enterococcus faecium* ATCC 51559 (*vanA* 遺伝子保有) および *E. faecalis* ATCC 51299(*vanB* 遺伝子保有)を用いて作成した。*vanA* および *vanB* 遺伝子のクローニングは、pGEM®-T Easy Vector System II (Promega) を用いて、付属の使用説明書に従って実施した。インサートが確認できたコンピテントセルのコロニーは、アンピシリン添加 LB 培地(アンピシリン: 50 µg/mL)で 37.0±1.0 °C で一晚培養した後、illustra plasmidPrep Mini Spin Kit (GE ヘルスケア)を用いて、付属の使用説明書に従いプラスミド DNA を抽出した。抽出したプラスミド DNA は、微量分光光度計 (BioSpec-Nano, Shimadzu) で DNA 濃度を測定し、*vanA* および *vanB* 遺伝子のコピー数に換算した。

vanA および *vanB* 遺伝子の定量は、THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix(TOYOBO)を用いて、付属の使用説明書に従って実施した。プライマーセットおよびプローブは表 1 に示すものを用いた。なお、*vanA* および *vanB* 遺伝子定量のためのプライマーおよびプローブは、Primer Express Software Version 3.0.1

(Applied Biosystems) を用いて設計した。PCR 反応液は、Applied Biosystemns StepOne (Applied Biosystems) に供し、反応条件は、95 °C で 60 秒の初期熱変性処理後、95 °C で 15 秒および 60 °C で 45 秒のサイクルを 45 回繰り返した。

3.2 VRE のパッチ式塩素消毒による不活性化実験

3.2.1 細菌懸濁試料を用いた VRE の不活性化実験

VRE の標準株として、*E. faecium* ATCC 51559 を用いた。30 mL の Todd Hewitte 液体培地で前培養した *E. faecium* 株は、50-mL の遠心管に入れ遠心分離を行った (14,000 rpm, 10 分間)。上澄みを除去し、*E. faecium* のペレットを 40 mL の PBS を用いて 1 回洗浄した。その後、ペレットを PBS に再懸濁させた溶液の吸光度 (OD600) を測定して、細菌濃度が 10⁸ CFU/100 mL となるように調整した。この溶液 10 mL と 90 mL の PBS を混合させた試料を細菌懸濁試料(細菌濃度: 10⁷ CFU/100 mL) とし、塩素による不活性化実験に供した。

100 mL の細菌懸濁試料を 300-mL ビーカーに分注し、所定の塩素濃度 (0.0, 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, および 3.0 mgCl₂/L) なるように次亜塩素酸ナトリウムを添加した。添加後直ちにマグネチックスターラーを用いて 500 rpm で、所定時間 (3, 5, 10, 20, 40, および 60 分間) で攪拌した。攪拌後、0.025 M チオ硫酸ナトリウムを添加し、さらに 3 分間攪拌して塩素を中和させた。塩素中和を行った試料は、次いで腸球菌の計数と DNA の抽出に供した。

3.2.2 腸球菌濃度の測定

塩素による不活性化後の細菌懸濁試料は、腸球菌濃度を測定した。細菌濃度が高いと思われる試料は、PBS を用いて適宜希釈した。100 あるいは 1,000 µL の試料を mEnterococcus 寒天培地 (DIFO, 1.5%寒天含有) に塗布し、35±1.0 °C で 48 時間培養した。培養後、フィルター上の赤色のコロニーを腸球菌として計数した。腸球菌濃度の検出下限値は 1 CFU/mL であり、それ以下の試料は検出下限値以下で表した。

3.2.3 DNA 抽出および耐性遺伝子の検出

塩素による不活性化後の細菌懸濁試料 (90 mL) は、遠心分離 (14,000 rpm, 10 分間) を行い上澄みを除去した。ペレットは 1.5 mL の滅菌済蒸留水に再懸濁させ、1.5-mL チュー

表 1 耐性遺伝子定量のためのプライマーとプローブ

Assay	Primer	Sequence
vanA	Forward	5' TCAGGCTGCAGTACGGAATCT 3'
	Reverse	5' GTCCTCGCTCCTCTGCTGAA 3'
	Probe	5' FAM-AAAACGCAGTTATAACCGTTCCCGCAGA-BHQ1a 3'
vanB	Forward	5' GTCGGCGAAGTGGATCAAAT 3'
	Reverse	5' TGGAACGATAATCATCGCATTC 3'
	Probe	5' FAM-AGCCACGGTATCTTCCGCATCCATC-BHQ1a3'

ブに移した。以降の DNA 抽出は、InstaGene Matrix を用いて付属の説明書に従って実施した。*vanA* の PCR による検出は、GoTaq[®] Green Master Mix を用いて実施した。PCR 反応溶液は、10 μ L の 2 \times GoTaq[®] Green Master Mix、1.0 μ L の各プライマー（最終濃度：それぞれ 0.5 μ M）、および 1.0 μ L テンプレート DNA に 10 μ L の Nuclease-free water を加え、全量を 20 μ L とした。フォワードおよびリバースプライマーの塩基配列は、それぞれ *vanAfw* : 5' GGGAAAACGACAATTGC 3' および *vanArv* : 5' GTACAATGCGGCCGTTA 3' とした。PCR の反応条件は、94 $^{\circ}$ C で 2 分間の初期熱変性処理後、94 $^{\circ}$ C で 1 分間、アニーリングを 54 $^{\circ}$ C で 1 分間、72 $^{\circ}$ C を 1 分間のサイクルを 30 回繰り返した。その後、最終伸長反応を 72 $^{\circ}$ C で 5 分間行った。PCR 反応後、1.5% アガロースゲルで電気泳動を行い、PCR 増幅産物 (*vanA*) の有無を確認した。

3. 2. 4 二次処理水を用いた不活化実験

二次処理水は、2017 年 2 月 13 日に大分県内の下水処理場（標準活性汚泥法、分流式）における最終沈殿池越流口から採取した。二次処理水は滅菌済ポリエチレンビンに保存し、実験室に持ち帰り直ちに実験に供した。二次処理水の pH、電気伝導度、濁度、および水温は、6.6、79.3 mS/m、2.6 度（カオリン）、および 17.7 $^{\circ}$ C であった。二次処理水はオートクレーブを用いて滅菌し、前培養した *E. faecium* ATCC 51559 株を懸濁させた（細菌濃度：10⁷ CFU/100 mL）。その VRE 懸濁二次処理水の塩素による不活性化実験を行った。次亜塩素酸ナトリウム添加量は、0、0.5、3.0、5.0、および 10.0 mgCl₂/L とした。実験の手順は 3. 2. 1 に示した方法と同様の方法で実施した。

4. 研究成果

4. 1 下水処理場における実態調査研究

4. 1. 1 下水および汚泥試料中の各細菌数の変動（データ非表示）

大腸菌群数および大腸菌数は下水試料から 10⁸ cfu/100 mL オーダーで検出された。腸球菌数は下水試料から 10⁷ cfu/100 mL オーダーで検出された。これらの 3 種の細菌は、下水処理過程を経ることで大幅に削減された（削減率の平均：5.9 log 以上）。消毒水中の大腸菌群数、大腸菌数、および腸球菌数の平均値は、それぞれ 31.5 \pm 60.0 cfu/100 mL、

6.0 \pm 10.7 cfu/100 mL、および 1.4 \pm 2.1 cfu/100 mL であった。従属栄養細菌数は流入下水において 10⁹ ~ 10¹⁰ cfu/100 mL オーダーで検出された。処理過程を経ることで一部の従属栄養細菌は削減されたけれども、消毒水からは 106 cfu/100 mL オーダーで検出された（削減率の平均：2.9 log）。すべての細菌において、初沈汚泥の細菌数が高かった。

4. 1. 2 従属栄養細菌株のバンコマイシン感受性

表 2 に従属栄養細菌の MIC 試験の結果を示す。MIC 試験は各下水および汚泥試料から回収した 1979 株について実施した。スクリーニング試験において、従属栄養細菌の全単離株のうち、1227 株がバンコマイシン濃度 8.0 μ g/mL に対して耐性を示した。各試料別にみると、耐性を示した従属栄養細菌株が最も多かった試料は流入下水（92.9 %）で、次いでタンク水（74.0 %）であった。逆に最も少なかった試料は消毒水であった（39.4 %）。これらのバンコマイシン濃度 8.0 μ g/mL に対して耐性を示した従属栄養細菌株について、MIC 試験を実施した。ほぼすべての試料において、低濃度から高濃度のバンコマイシン濃度に耐性を示す従属栄養細菌株が検出された。スクリーニング試験において耐性を示した従属栄養細菌株のほとんどが高濃度のバンコマイシンに対して耐性を示した。消毒槽はスクリーニング試験において耐性を示した従属栄養細菌株数が最も少なかったにもかかわらず、MIC 試験をした 115 株のうち 106 株がバンコマイシン濃度 128 μ g/mL に対して耐性を示した（92.2 %）。3 つの汚泥試料から回収した従属栄養細菌も、下水試料の従属栄養細菌株と類似の割合で各濃度のバンコマイシンに耐性を示した。

4. 1. 3 *vanA* および *vanB* 遺伝子の定量

図 1 にリアルタイム定量 PCR 法による *vanA* および *vanB* 遺伝子の定量結果を示す。*vanA* および *vanB* 遺伝子はすべての下水および汚泥試料から検出された。*vanA* 遺伝子のほうが *vanB* 遺伝子よりも各調査日における変動が大きかった。消毒水の *vanA* および *vanB* 遺伝子の平均値は、それぞれ 3.5 \times 10³ copies/mL および 2.2 \times 10³ copies/mL であり、塩素消毒槽からも高コピー数で検出された。流入下水と消毒水の各耐性遺伝子のコピー数に有意差はなく（ $p > 0.05$ ）、いずれの耐性遺

表 2 従属栄養細菌株のバンコマイシンに対する MIC 試験

Sample	No. of isolates (strains)	No. of positive (strain)*	No. of strains resistant to vancomycin (strains)				
			8**	16**	32**	64**	128**
Influent sewage	239	222	14	3	4	4	197
Tank water	292	216	8	2	6	4	196
Secondary effluent	290	132	8	5	9	12	98
Chrolinated water	292	115	4	0	1	4	106
Primary sludge	293	198	18	2	11	12	155
Finally sludge	280	204	15	0	12	5	172
Return sludge	293	140	11	6	9	3	111
Total	1979	1227	78	18	52	44	1035

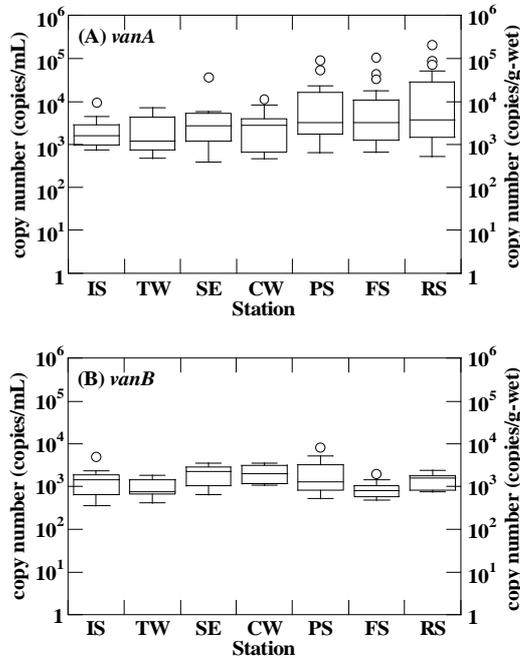


図1 *vanA* および *vanB* 遺伝子の定量

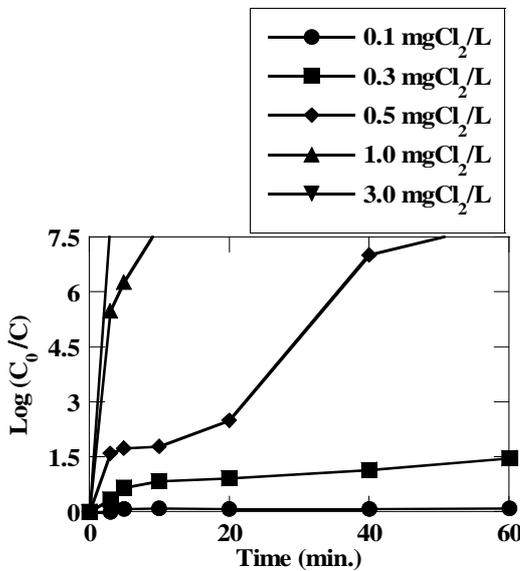


図2 細菌懸濁液の VRE 不活化率
伝子についても下水処理過程を経て削減される傾向は示さなかった。*vanA* および *vanB* 遺伝子のコピー数の平均値が最も高かったのは初沈汚泥であった。*vanA* 遺伝子は下水試料よりも汚泥試料の方が高コピー数で検出される傾向を示した。

4.2 塩素消毒による VRE 不活化実験

4.2.1 細菌懸濁液を用いた VRE の不活化実験

塩素濃度 0.1 mgCl₂/L のとき、腸球菌濃度の減少はほとんどなかった。塩素濃度 0.3 mgCl₂/L でも腸球菌濃度の減少があったものの、処理時間 60 分においても 10⁶ CFU/mL オーダーの腸球菌が残存していた。塩素濃度 0.5 ~ 3.0 mgCl₂/L においては、塩素濃度および処理時間の増加と共に腸球菌数は顕著に減少する傾向を示した。塩素濃度 0.5 mgCl₂/L・処理時間 60 分、および塩素濃度 1.0 mgCl₂/L・

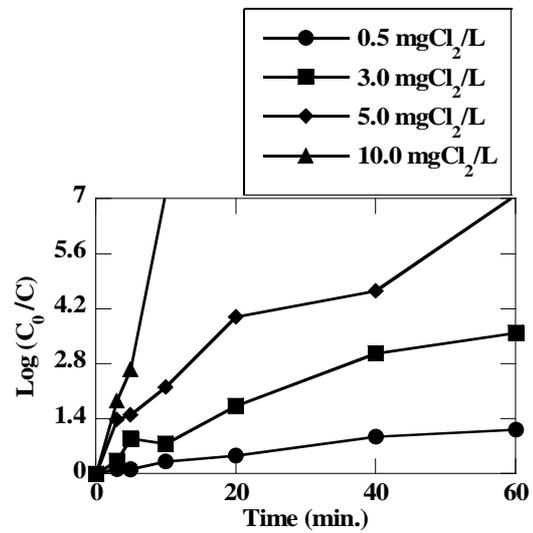


図3 下水二次処理水の VRE 不活化率
処理時間 20 分以上において腸球菌は検出下限値以下であった。また、塩素濃度 3.0 mgCl₂/L ではすべての処理時間における試料で検出下限値以下となった。腸球菌の不活化率も同様に、塩素濃度および処理時間の増加と共に大きくなった(図2)。塩素濃度 0.1 および 0.3 mgCl₂/L における最大不活性化率は、それぞれ 0.1 log および 1.46 log であったのに対して、塩素濃度 0.5, 1.0, および 3.0 mgCl₂/L の最大不活性化率は、7.5 log 以上を示した。以上のことから、VRE も通常の微生物と同様に塩素消毒によって不活性化されることがわかった。

各塩素濃度および処理時間における試料から DNA を抽出し、VRE の耐性遺伝子の 1 種である *vanA* が検出されるかどうかを PCR によって確認した結果、*vanA* は平板培養法によって腸球菌が検出されなかった試料を含めて、すべての試料において陽性を示した。

4.2.2 二次処理水を用いた VRE 不活化実験

塩素濃度 0.5 mgCl₂/L では、処理時間 60 分においても処理水中に VRE が高濃度で残存していた (7.9×10⁵ cfu/mL)。細菌懸濁試料を用いた場合、3.0 mgCl₂/L では処理時間 3 分で検出下限値以下となったが、二次処理水を用いた場合では処理時間 60 分においても 1.9×10³ cfu/mL が残存していた(削減率 3.59log)。VRE が検出下限値以下となった処理条件は、塩素濃度 5.0 mgCl₂/L、処理時間 60 分、および塩素濃度 10 mgCl₂/L、処理時間 10 分以上であった。図3に腸球菌の不活性化率(VRE 懸濁二次処理水)を示す。細菌懸濁試料を用いた実験の場合と比較して、VRE 懸濁二次処理水中の VRE を不活化させるためには、より高い塩素濃度および長い処理時間を要した。塩素は、水中に含まれる有機物やアンモニア性窒素、有機性窒素によって消費される。VRE 懸濁二次処理水中には、このような塩素消費物質が存在するため、VRE の不活性化により多くの塩素の添加が必要であった。PCR によって塩素消毒後の二次処理水中

の *vanA* 遺伝子が検出されるかどうか検討した結果、細菌懸濁液の場合と同様に、平板培養法で VRE が検出されなかった試料を含めて、すべての試料で *vanA* が検出された。

以上の結果から、下水処理場にはバンコマイシンに耐性を有する従属栄養細菌だけでなく、その耐性遺伝子も塩素消毒槽を含めたすべての処理過程から検出されたことから、薬剤耐性菌は処理場内に存在し、水環境中に放流されている可能性が示唆された。さらに塩素消毒では耐性遺伝子を完全に不活化できないことが明らかとなったことから、今後は薬剤耐性菌だけでなく、その耐性遺伝子も不活化できるような消毒技術の開発と導入が必要であると考え。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

1. Furukawa, T., Jikumaru, A., Ueno, T., and Sei, K.: Inactivation effect of Antibiotic-resistant gene using chlorine disinfection, *Water*, 9(7), 547, 2017, doi:10.3390/w9070547 (査読有)

[学会発表](計 10 件)

1. 古川隼士, 米加田徹, 小西忠司, 清和成.: 下水処理過程におけるバンコマイシン耐性を有する従属栄養細菌の存在実態と耐性遺伝子の定量, 第 52 回日本水環境学会年会, 3 月, 2018.
2. Furukawa, T., Jikumaru, A., and Ueno, T.: Inactivation of vancomycin-resistant enterococci and their resistance gene using chlorine disinfection, *Proceedings of The 12th International Symposium on Southeast Asian Water Environment (SEAWE12)*, 301-306, Nov., 2016.
3. 古川隼士, 軸丸淳史.: 都市河川における薬剤耐性を有するふん便性細菌の存在実態に関する研究, 第 16 回環境技術学会年次大会, 9 月, 2016.
4. 軸丸淳史, 古川隼士.: バンコマイシン耐性腸球菌とその耐性遺伝子の塩素消毒による不活性化効果に関する基礎的検討, 第 16 回環境技術学会年次大会, 9 月, 2016.
5. Hashimoto, R., Furukawa, T., and Suzuki, Y.: Fate of vancomycin-resistant bacteria and corresponding resistance genes in a sewage treatment plant, *Water and Environment Technology Conference 2016*, Aug., 2016.
6. 橋本怜奈, 古川隼士.: 下水処理過程におけるバンコマイシン耐性腸球菌とその耐性遺伝子の存在実態と消長, 平成 27 年度土木学会西部支部研究発表会, 3 月, 2016.
7. 衛藤修平, 橋本怜奈, 藍澤夏美, 古川隼士.: 下水処理過程における薬剤耐性菌の存在実態調査, 平成 27 年度日本水環境学会九州支部発表会, 2 月, 2016.
8. 藍澤夏美, 橋本怜奈, 衛藤修平, 古川隼士.: 下水処理過程におけるバンコマイシ

ン耐性遺伝子 (*vanA*, *vanB*) の定量, 平成 27 年度日本水環境学会九州支部発表会, 2 月, 2016.

9. 橋本怜奈, 藍澤夏美, 衛藤修平, 古川隼士.: 下水処理過程における薬剤耐性菌と耐性遺伝子の存在実態調査, 第 21 回高専シンポジウム in 香川, 1 月, 2016.
10. 橋本怜奈, 古川隼士, 米加田徹.: 下水処理過程におけるバンコマイシン耐性腸球菌の存在実態調査, 平成 26 年度土木学会西部支部研究発表会, 3 月, 2015.

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
古川 隼士 (Furukawa Takashi)
北里大学・医療衛生学部・講師
研究者番号: 90632729

(2) 研究分担者
()

研究者番号:

(3) 連携研究者
()

研究者番号:

- (4) 研究協力者
清 和成 (Sei Kazunari)
小西 忠司 (Konishi Tadashi)
米加田 徹 (Mekata Tohru)
橋本 怜奈 (Reina Hashimoto)
軸丸 淳史 (Jikumaru Atsushi)