

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19H02272

研究課題名（和文）耐性遺伝子の進化的プロファイルと微量化学物質による薬剤耐性菌の拡散動態解析

研究課題名（英文）Tracking of antibiotic resistant bacteria in water environment by using genetic and chemical tracers

研究代表者

本多 了 (Honda, Ryo)

金沢大学・地球社会基盤学系・教授

研究者番号：40422456

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：都市河川を対象とした調査より，雨天時の下水越流水の出水時には，薬剤耐性の割合が上流から下流まで一様に増加することが明らかになった。また，薬剤耐性遺伝子の細菌間の水平伝搬による拡散要因として懸念される可変遺伝子の割合も雨天時の下水越流水の出水時に増加していたことが明らかになった。また，実験により底泥環境下でラクタマーゼ産生遺伝子が他の細菌に水平伝搬することも明らかとなった。これらのことから，雨天時の下水越流水の放流により，下水由来の薬剤耐性の多く流出するだけでなく，遺伝子水平伝搬による拡散がより起こりやすい状況にあることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果により，合流式下水道雨天時越流水が河川環境中における薬剤耐性の拡散動態に与えている影響が明らかになった。都市下水は，環境中に拡散する薬剤耐性の主要な排出源であり，その拡散の低減において，雨天時下水越流水の制御が重要であることが明らかになった。また，環境中における遺伝子水平伝搬による細菌間での薬剤耐性の拡散について，底泥環境下で一定の割合で起こりうることを示唆され，雨天時下水越流水によって，水平伝搬の要因となる遺伝子の放流量も増えることが明らかになった。以上のことは，ワンヘルスの考えのもとで環境中の薬剤耐性の拡散を抑制するために重要な知見である。

研究成果の概要（英文）：A survey of the target urban river revealed that the proportion of antimicrobial resistance genes increased uniformly from upstream to downstream during outflow of combined sewage overflow during wet weather. The proportion of mobile genetic elements, which are associated with spread of antimicrobial resistance among different species by horizontal gene transfer, also increased during wet weather. The in vitro experiment revealed that  $\beta$ -lactamase-producing genes can be horizontally transmitted to other bacteria in the sediment environment. These results indicate that the release of combined sewage overflow during wet weather not only releases a large quantity of antimicrobial resistance genes, but also possibly increase the chance in spread of antimicrobial resistance by horizontal gene transfer.

研究分野：環境微生物学

キーワード：薬剤耐性 雨天時下水越流水 都市河川 微生物群集

### 1. 研究開始当初の背景

薬剤耐性菌は、抗菌薬（いわゆる抗生物質）に耐性を持つ細菌で広く拡散することで感染症の効果的な治療が困難になることが懸念されている。環境中の薬剤耐性菌の主な人為的起源は都市下水や畜産廃水等であるが、これらの排出源からの拡散範囲や時間スケールはさまざまであると考えられる。しかし、「環境中の薬剤耐性菌が、どの排出源から、どのような経路を経て、どれくらいの範囲に拡散しているか」を詳細に追跡した研究はほとんどない。また、薬剤耐性菌の環境中への拡散を抑制するためには、多種多様な排出源からの拡散動態を把握することは重要である。

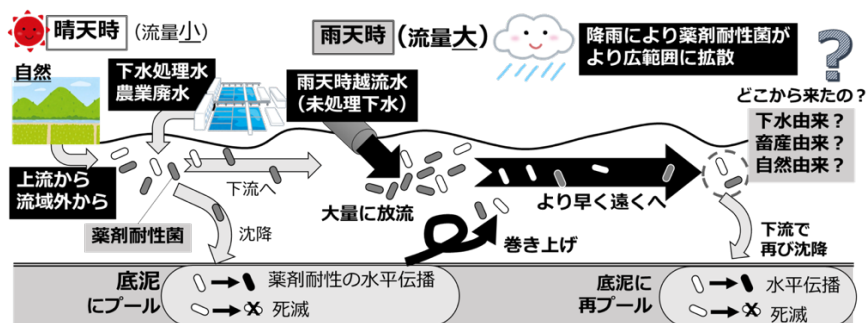


図 1-1 水環境中の薬剤耐性菌の起源と拡散動態，および降雨による影響

### 2. 研究の目的

本研究は、環境中の薬剤耐性菌の多様な排出源からの拡散動態を把握することを目的とした。その中でも、人為的起源として影響が大きいと考えられる都市下水由来の薬剤耐性の河川における拡散動態に着目して研究を行った。具体的には、水環境中において都市下水由来の薬剤耐性の拡散に影響が大きい要因として、次の2つの項目について薬剤耐性の拡散動態の時間的・空間的スケールを明らかにした。

- (1) 都市河川における都市下水由来の薬剤耐性の拡散動態と天候の影響
- (2) 河川・湖沼の底泥における薬剤耐性遺伝子の微生物間の水平伝播ポテンシャル

### 3. 研究の方法

#### 3. 1. 都市河川における都市下水由来の薬剤耐性の拡散動態と天候の影響

##### 3. 1. 1. 調査対象地域および試料前処理

淀川水系の西高瀬川（京都市）を対象とした採水調査を行った。調査対象河川は、2つの下水処理場からの処理水の放流先となっている。また、雨天時には上流より雨天時下水越流水が流入する。対象河川の下水処理場上流から下流までの5ヶ所で晴天時と雨天時に河川水 10L を試料として採取した。採水地点は、上流から順に NTR1~NTR5 と呼称し、2つの下水処理場は、NTR2 の上流と NTR4 の上流に位置していた。すべてのサンプルは、氷上で実験室に輸送後、サンプリング後 24 時間以内に濃縮処理を施した。

各サンプルは中空糸 UF 膜で濃縮を行い 100~200 mL の濃縮液を得た後、10,000×g で 15 分間遠心分離を行い、得られたペレットから FastDNA Spin Kit for Soil (MPBiomedicals, USA) を用いて DNA を抽出した。

##### 3. 1. 2. ショットガンメタゲノム解析

各サンプルの DNA 抽出液のショットガンメタゲノム配列を NBSEQ-G400RS High-throughput Sequencing Set を用いて解析した。DNA サンプルは 500bp に断片化し、MGIEasy DNA Adapter-96 (Plate) Kit と dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific) を用いてライブラリーを作製した。Fragment Analyzer と dsDNA 915 Reagent Kit (Advanced Analytical Technologies) を用いてライブラリーを検証した後、MGI Easy Circularization Kit を用いてライブラリーから環状 DNA を作製した。DNBSEQ-G400RS high-throughput Sequencing Set により、DNA ナノボール (DNBs) を作製した。DNBSEQ-G400 を用いて DNB から 2×200 bp のペアエンド配列を取得した。この配列は Enveomics collection pipeline (Rodriguez-R and Konstantinidis, 2016) を用いてフィルタリングおよびトリミングを行った。トリミング後、ペアエンドリードをマージしたものを後述の配列解析に用いた。

##### 3. 1. 3. 薬剤耐性遺伝子叢および可変遺伝因子叢

得られた配列の薬剤耐性遺伝子は、Comprehensive Antibiotic Resistance Database (CARD) ver.3.0.7 に対して BLASTn により同定した (E 値カットオフ  $1 \times 10^{-5}$ ) (Jia et al. 2017)。得られた配列を集計して、各薬剤耐性遺伝子のリード数を得た。遺伝子長さによるリード数へのバイ

アスを除去するために、各薬剤耐性遺伝子の遺伝子長さ (slen) に対して reads per kilobase (RPK) として正規化した。また、各サンプルについて、Parallel-META 3 (Jing et al., 2017) を用いて 16S rRNA 遺伝子のリード数をカウントした。16S rRNA 遺伝子のリードカウントは、大腸菌の 16S rRNA 遺伝子長 1,541bp (Brosius et al., 1978) を用いて RPK として正規化した。各サンプルの薬剤耐性遺伝子比率は、全薬剤耐性遺伝子の RPK の合計と 16S rRNA 遺伝子の RPK の比によって算出した。

可変遺伝子 (MGE: mobile gene elements) は、ACLAME データベース (ver.0.4) と MGE データベースに対して BLASTn により同定した (E 値カットオフ  $1 \times 10^{-10}$ )。ACLAME データベースはプラスミド、トランスポゾン、プロファージなど様々な遺伝子型を含むデータベース、MGE データベースはトランスポザーゼ、プラスミド、インテグラーゼ、挿入要素など 270 以上の遺伝子型に属する非冗長配列 2706 個からなるデータベースである (Parnanen et al. 2018)。MGE のリード数も RPK として正規化した。各サンプルの各 MGE 存在比率は、サンプル内のすべての MGE の RPK の合計に対する各 MGE の RPK の比率として計算し、各サンプルに含まれる MGE の総量は、全 MGEs の RPK の合計と 16S rRNA 遺伝子の RPK との比として算出した。

### 3. 1. 4. 16S rRNA 遺伝子に基づく微生物群集

16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域をターゲットとして、各サンプルの微生物群集を解析した。抽出した DNA から MiSeq System (Illumina, USA) と MiSeq Reagent Kit v3 (Illumina, USA) を用いて、paired end reads ( $2 \times 300$  bp) を取得し、Fastx toolkit version 0.0.14 と sickle version 1.33 を用いて、生リードのトリミングとフィルタリングを行った。クリーンリードは FLASH version 1.2.11 を用いてマージし、paired-end library を作成した。分類学的解析は Quantitative Insights into Microbial Ecology 2 (QIIME2) version 2021.4 で行った。キメラ配列は dada2 プラグインで除去した後、Greengene (ver. 13\_8) の参照ライブラリのもと、97% の同一性でオペレーション分類単位 (OTU) に分類した。

また、各サンプルの微生物濃度を 16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域をターゲットとしたリアルタイム PCR にて定量した。プライマーは、341f (5'-CCTACGGNGGCWGCAG-3') と 805R (5'-GACTACHVGGTATCTAATCC-3') を用いて、PCR アッセイには、Brilliant III Ultra-Fast SYBR Green qPCR Master Mix Kit (Agilent Technologies, USA) を用いて、各サンプルの 20  $\mu$  L PCR 反応混合物を調製した。増幅はリアルタイム PCR システム (Mx3000P, Agilent Technologies, USA) を用い、以下の PCR 条件、95°C で 3 分間の変性、55°C で 45 秒間のアニーリング、72°C で 1 分間の伸長を 40 サイクル行い、標準オリゴを用いた検量線と Ct 値を比較してサンプル中の 16S rRNA 遺伝子濃度を得た。

### 3. 2. 河川・湖沼の底泥における薬剤耐性遺伝子の微生物間の水平伝播ポテンシャル

水平伝播の確率の推定には、供与菌 (耐性菌) から受容菌 (非薬剤耐性菌) に耐性遺伝子を受け渡す確率から評価した。すなわち、供与菌と受容菌を底泥環境下で共培養することで、受容菌が供与菌からプラスミドを受け取ることで生まれる耐性菌 (接合完了体) の発生確率から、水平伝播の可能性を調査した。

供試菌株として、グラム陽性・陰性菌のそれぞれを用意し、表 3.2-1 に示す菌株を使用した。グラム陽性菌には腸球菌を、グラム陰性菌には大腸菌と腸内細菌科細菌を使用した。対象とする遺伝子には、1 種類のバンコマイシン耐性遺伝子 (*vanA*) と 3 種類の  $\beta$  ラクタマーゼ産生遺伝子 (*bla*<sub>CTX-M-15</sub> (group-1 gene), *bla*<sub>CTX-M</sub> group-2 gene, *bla*<sub>CTX-M</sub> group-9 gene) を使用した。これら両薬剤耐性遺伝子は、プラスミド上にコードされている。グラム陽性菌は、4 種類の供与菌に対して 3 種類の受容菌を、グラム陰性菌は 3 種類の供与菌に対して 1 種類の受容菌を使用した。受容菌には、リファンピシンとフシジン酸に対する薬剤耐性マーカーを導入した突然変異株を作製し、試験に供した。実験に使用した河川底泥は、山形県内を流下する一級河川である赤川の河口から採取し、オートクレーブ処理した後に使用した。

供与菌と受容菌の菌株は、Brain Heart Infusion (BHI) 液体培地にて 37°C で 18 時間培養した。培養後、菌体密度が  $10^8$  CFU/mL になるように調整し、両者を混合した後に、滅菌した河川底質に接種した。接種した底質は 37°C で 24 時間培養した後に、供与菌、受容菌、ならびに接合完了体が計数できる薬剤混合 BHI 寒天培地を用意した。なお、各菌株の計数に使用した抗菌薬濃度を以下に示す: バンコマイシン, 10 mg/L; セフトキシム, 10 mg/L; リファンピシン, 30 mg/L; フシジン酸, 20 mg/L。各条件培養後、受容菌、供与菌、および耐性遺伝子が伝播した接合完了体を計数した。薬剤耐性遺伝子の水平伝播ポテンシャルは、受容菌に対する接合完了体の比によって評価した。計数された接合完了体は、PCR 法によって菌種同定とターゲット遺伝子の有無を確認した。実験は、1 つの交配条件につき 3 試行行い、これを 3 回繰り返した (合計 9 回)。

表 3.2-1 水平伝播実験に使用した供与菌と受容菌

細菌の種類	耐性遺伝子	菌株名	細菌種	単離起源	
グラム陽性菌	供与菌 <i>vanA</i>	NCTC12201	<i>E. faecalis</i>	標準株	
		NCTC12202	<i>E. faecium</i>	標準株	
		HC-1	<i>E. faecium</i>	外国産鶏肉	
		507W2-VRE-R3	<i>E. faecium</i>	下水	
			<i>E. faecalis</i>	河川	
グラム陰性菌	受容菌		<i>E. faecium</i>	下水	
			<i>E. faecalis</i>	標準株	
		<i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> (group 1 gene)	NCTC13353	<i>Escherichia coli</i>	標準株
		<i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> group 2 gene	NCTC13462	<i>Escherichia coli</i>	標準株
		<i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> group 9 gene	NCTC13464	<i>Enterobacter cloacae</i>	標準株
	なし	NBRC3301	<i>Escherichia coli</i>	標準株	

#### 4. 研究成果

##### 4. 1. 都市河川における都市下水由来の薬剤耐性の拡散動態と天候の影響

##### 4. 1. 1. 晴天時と雨天時における薬剤耐性遺伝子叢の変化

晴天時には、16SrRNA 遺伝子あたりの薬剤耐性遺伝子比率は 3.1-9.8%であったが、雨天時の下水越流水出水時には 37-54%まで増加していた (図 4.1-1a)。晴天時の全サンプルにおいて、27 種類の薬剤に耐性を示す 126-161 種類の ARG が検出された。このうち、全体の約 7 割の遺伝子は晴天時の全サンプルに共通していた。一方、雨天時には 29 種類の薬剤に耐性を示す 348-380 の ARG が検出された。これらの遺伝子のうち、約 9 割は雨天時の全サンプルで共通であった。また、薬剤耐性機構の組成は、天候に関わらず薬剤不活化 (antibiotic inactivation) が最も多い割合であった (図 4.1-1b)。雨天時には標的変更・保護系 (target alteration, target protection) に属する耐性遺伝子が若干多く検出された。耐性先薬剤としては、晴天時にはアミノグリコシド系、セファロスポリン系、フルオロキノロン系、マクロライド系などの薬剤が多く、上流から下流に向かって割合が減少するものが多かったのに対して、雨天時の下水越流水出水時には、採水地点による差異は少なくなっていた (図 4.1-2a)。遊離脂肪酸やホスホマイシンなどの薬剤耐性遺伝子は雨天時には検出されなかったが、これらの薬剤耐性遺伝子は雨天時には検出されたものの、相対的な存在量は他と比較して非常に少なかった。

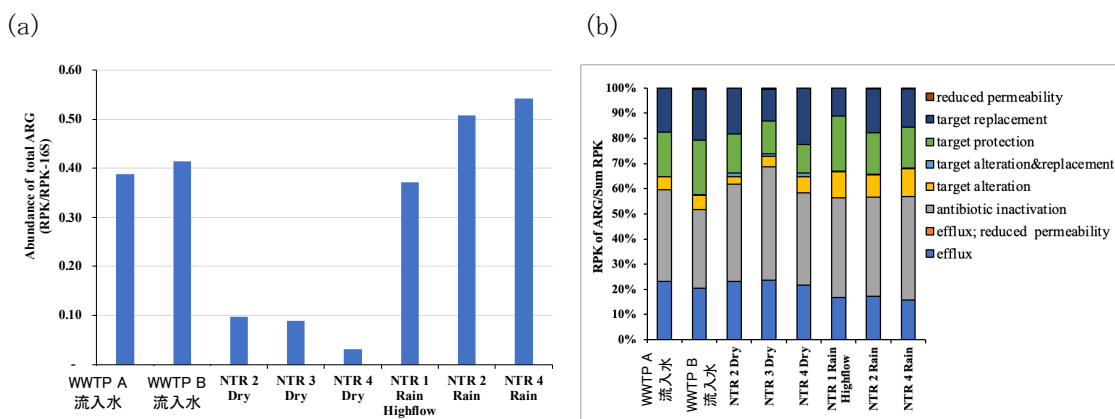


図 4.1-1 各河川水サンプルにおける晴天時と雨天時の (a) 薬剤耐性遺伝子比率と (b) 薬剤耐性機構の割合。

晴天時と雨天時の薬剤耐性遺伝子の組成を主成分分析 (PCA) で比較した結果、PC1 によって下水と河川水、PC2 によって天候による差異が表現された (図 4.1-2b)。晴天時の試料は PC2 スコアが負になり、PC2 負荷量が負となる上位 20 の耐性遺伝子のうち、17 は薬剤排出機構に関連するものであった。また、晴天時にはマクロライド系 (MexF, MexB, MexD, MexY, MexK, MexQ, *arnA*)、フルオロキノロン系 (*mdtB*, *acrB*, *mdtC*) に対する耐性遺伝子が多く含まれることが特徴的であった。一方、雨天時の下水越流水出水時は PC2 スコアが正值で推移し、PC2 負荷量が正となる上位 20 の ARG のうち 14 が薬剤不活化機構と関連していた。その中でも、アミノグリコシド系 (AAC(6'), *cm1A4*, *aadA6*)、セファロスポリン系 (OXA(209), NPS(1), AC1(1), OXA(347), OXA(45)), テトラサイクリン系 (*tet*(32), *tet*(S)) 薬剤に対する耐性遺伝子が多く含まれており、これらが雨天時の下水越流水出水時に河川水に多く流出していることが示唆された。

雨天時に検出された可変遺伝因子 (MGE) 数は、晴天時の 2~3 倍に相当しており、雨天時には多くの MGE が下水越流水より対象河川に放流されていることが明らかになった。内訳をみると、晴天時・雨天時ともプラスミドの割合が最も大きいですが、雨天時の下水越流水出水時には Prophage の割合が増加することがみてとれた。Prophage は下水処理場流入水でも 20%前後の割合を占めていることから、その影響が雨天時に表れていたと考えられる。また、遺伝子の転移に



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 5件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Honda Ryo, Tachi Chihiro, Noguchi Mana, Yamamoto-Ikemoto Ryoko, Watanabe Toru	4. 巻 18
2. 論文標題 Fate and seasonal change of Escherichia coli resistant to different antibiotic classes at each stage of conventional activated sludge process	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Water and Health	6. 最初と最後の頁 879 ~ 889
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2166/wh.2020.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kumar Manish, Sulfikar, Chaminda Tushara, Patel Arbind K., Sewwandi Himaya, Mazumder Payal, Joshi Madhvi, Honda Ryo	4. 巻 188
2. 論文標題 Prevalence of antibiotic resistance in the tropical rivers of Sri Lanka and India	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Environmental Research	6. 最初と最後の頁 109765 ~ 109765
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.envres.2020.109765	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Honda Ryo, Tachi Chihiro, Yasuda Keisuke, Hirata Tatsuki, Noguchi Mana, Hara-Yamamura Hiroe, Yamamoto-Ikemoto Ryoko, Watanabe Toru	4. 巻 3
2. 論文標題 Estimated discharge of antibiotic-resistant bacteria from combined sewer overflows of urban sewage system	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 npj Clean Water	6. 最初と最後の頁 15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41545-020-0059-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kumar Manish, Chaminda G. G. Tushara, Honda Ryo	4. 巻 3
2. 論文標題 Seasonality impels the antibiotic resistance in Kelani River of the emerging economy of Sri Lanka	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 npj Clean Water	6. 最初と最後の頁 12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41545-020-0058-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kumar Manish, Ram Bhagwana, Sewwandi Himaya, Sulfikar, Honda Ryo, Chaminda Tushara	4. 巻 183
2. 論文標題 Treatment enhances the prevalence of antibiotic-resistant bacteria and antibiotic resistance genes in the wastewater of Sri Lanka, and India	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Environmental Research	6. 最初と最後の頁 109179 ~ 109179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.envres.2020.109179	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kumar Manish, Ram Bhagwana, Honda Ryo, Poopipattana Chomphunut, Canh Vu Duc, Chaminda Tushara, Furumai Hiroaki	4. 巻 693
2. 論文標題 Concurrence of antibiotic resistant bacteria (ARB), viruses, pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in ambient waters of Guwahati, India: Urban vulnerability and resilience perspective	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Science of The Total Environment	6. 最初と最後の頁 133640 ~ 133640
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.scitotenv.2019.133640	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sulfikar, Sovannlaksmy Sorn, Honda Ryo, Chaminda Tushara, Kumar Manish	4. 巻 1
2. 論文標題 A Review on Antibiotic Resistance Gene (ARG) Occurrence and Detection in WWTP in Ishikawa, Japan and Colombo, Sri Lanka	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Emerging Issues in the Water Environment during Anthropocene: A South East Asian Perspective	6. 最初と最後の頁 1 ~ 14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-981-32-9771-5_1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 S. Sovannlaksmy, Sulfikar, M-Y. Lin, M. Shuto, M. Noguchi, R. Honda*, R. Yamamoto-Ikemoto, T. Watanabe	4. 巻 xx
2. 論文標題 Potential impact factors on the enhancement of antibiotic resistance in a lake environment.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Water and Health	6. 最初と最後の頁 accepted
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 森祐哉, 西山正晃, 澁木理央, 馬場啓聡, 金森肇, 渡部徹	4. 巻 77
2. 論文標題 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	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 土木学会論文集G (環境)	6. 最初と最後の頁 111_131-111_139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ma Chih-Yu, Ihara Masaru, Liu Siyao, Sugie Yoshinori, Tanaka Hiroaki	4. 巻 8
2. 論文標題 Tracking the source of antibiotic-resistant Escherichia coli in the aquatic environment in Shiga, Japan, through whole-genome sequencing	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Environmental Advances	6. 最初と最後の頁 100185 ~ 100185
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.envadv.2022.100185	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ma Chih-Yu, Sugie Yoshinori, Yu Zaizhi, Okuno Yoshiki, Tanaka Hiroaki, Ihara Masaru	4. 巻 301
2. 論文標題 Occurrence of E. coli and antibiotic-resistant E. coli in the southern watershed of Lake Biwa, including in wastewater treatment plant effluent and inflow rivers	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemosphere	6. 最初と最後の頁 134372 ~ 134372
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2022.134372	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計19件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 13件)

1. 発表者名 Rongxuan Wang, Norihisa Matsuura, Hiroe Hara-Yamamura, Ryo Honda
2. 発表標題 Removal Mechanisms of Antibiotic Resistance Genes in Membrane Bioreactor
3. 学会等名 International Conference on Challenges in Environmental Science & Engineering (国際学会)
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 Ryo Honda
2. 発表標題 Fate of Antibiotic Resistant Bacteria from Wastewater to Water Environment: From Asian Perspectives
3. 学会等名 6th International Forum on Sustainable Future in Asia, National Institute for Environmental Studies, Japan (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 Ryo Honda
2. 発表標題 Fate and Control of Antibiotic Resistant Bacteria from Domestic Wastewater
3. 学会等名 Pre-conference Workshop on Antibiotic Resistance in Wastewater in IWA-MEWE2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ryo Honda, Lin Mengyu, Tatsuki Hirata, Hiroe Hara-Yamamura, Ryoko Yamamoto-Ikemoto, Toru Watanabe
2. 発表標題 Assessment of elevated risk by antibiotic resistance in indirect reuse of treated livestock wastewater for irrigation
3. 学会等名 12th IWA International Conference on Water Reclamation and Reuse (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ryo Honda, Norihisa Matsuura, Sorn Sovannlaksmy, Yalkhin Masakke, Hiroe Hara-Yamamura, Toru Watanabe
2. 発表標題 Transition of antibiotic resistome in wastewater treatment process
3. 学会等名 IWA Microbial Ecology and Water Engineering 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sulfikar, Sorn Sovannlaksmy, Hiroe Hara-Yamamura, Ryoko Yamamoto-Ikemoto, Toru Watanabe, Ryo Honda
2. 発表標題 Aeration induces antibiotic resistance gene expression in wastewater treatment plant.
3. 学会等名 IWA Microbial Ecology and Water Engineering 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西山正晃, 馬場啓聡, 金森肇, 渡部徹
2. 発表標題 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
3. 学会等名 土木学会東北支部技術研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西山正晃, 馬場啓聡, 金森肇, 渡部徹
2. 発表標題 in vitro伝達実験を用いたバンコマイシン耐性遺伝子のグラム陽性細菌に対する伝播ポテンシャルの評価
3. 学会等名 第56回日本水環境学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroaki TANAKA, Masaru IHARA, Norihide NAKADA, Han ZHANG, Hiromasa YAMASHITA, Seiya HANAMOTO, Andrew JOHNSON, Monika JURGENS
2. 発表標題 Prediction and management of emerging chemicals in the water environment
3. 学会等名 The 21st UK-Japan Annual Scientific Workshop on Research into Environmental Endocrine Disrupting Chemicals (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉江由規, 湯鈺, 趙博, 五味良太, 西村文武, 田中宏明, 馬織宇, 井原賢
2. 発表標題 琵琶湖、及び周辺河川における薬剤耐性大腸菌の存在実態と起源推定
3. 学会等名 第56回日本水環境学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Jia Miao, Eri Tsubakizaki, Akira Kazama, Junwon Park, Naoyuki Yamashita, Hiroaki Tanaka
2. 発表標題 Predicted Environmental Concentrations and Removal Performances of Pharmaceuticals in Membrane Bioreactor (MBR) and Conventional Activated Sludge (CAS) Processes in Japan
3. 学会等名 The 5th Asian Symposium on Water Reuse -Technology Renovation and Risk Management (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Chih-Yu Ma, Masaru Ihara, Siyao Liu, Yoshiki Okuno, Yu Zaizhi, Taichi Tamura, Naoyuki Yamashita, Hiroaki Tanaka
2. 発表標題 Antimicrobial Resistance Profiles among Escherichia Coli Strains Isolated from Lake Biwa and Wastewater Treatment Plants Effluent Revealed by Whole-genome Sequencing Analysis
3. 学会等名 The 28th KAIST-KU-NTU-NUS (KKNN) Symposium on Environmental Engineering (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Jia Miao, Eri Tsubakizaki, Akira Kazama, Junwon Park, Naoyuki Yamashita, Hiroaki Tanaka
2. 発表標題 Long-term monitoring on removal performances of pharmaceuticals in Membrane Bioreactor (MBR) and Conventional Activated Sludge (CAS) processes: statistical analysis and ecological risk assessment
3. 学会等名 The 28th KAIST-KU-NTU-NUS (KKNN) Symposium on Environmental Engineering (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中宏明
2. 発表標題 淀川流域での バイオリスク低減
3. 学会等名 特定非営利活動法人 水環境創造機構講演会「河川系の危機管理リスクとその対応、今後の方向」(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中宏明
2. 発表標題 顕在化する水循環系のバイオリスク対応のための技術開発
3. 学会等名 第15回下水文化研究発表会「健全な水循環の再生と上下水道の役割」(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuta Morinaga, Hiroe Hara-Yamamura, Norihisa Matsuura, Toru Watanabe, Ryo Honda
2. 発表標題 Global comparison of antimicrobial resistance genes in wastewater treatment plants based on metagenomic analysis
3. 学会等名 The 14th Annual Conference on Challenges in Environmental Science and Engineering (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuta Morinaga , Than Van Huy, Sawako Asakura, Sorn Sovannlaksmy, Hiroe Hara-Yamamura, Norihisa Matsuura, Toru Watanabe, Ryo Honda
2. 発表標題 Profiling and international comparison of antibiotic resistome in activated sludge by metagenomic data analysis
3. 学会等名 The 9th Microbial Ecology and Water Engineering Specialist Conference (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 本多 了, 松浦 哲久, Sorn Sovannlaksmy, Yalkhin Masakke, 朝倉 佐和子, 原 宏江, 池本 良子, 渡部 徹
2. 発表標題 メタゲノム解析を用いた下水処理プロセスにおける薬剤耐性遺伝子の挙動
3. 学会等名 令和元年度日本水環境学会年会中部支部研究発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ryo Honda
2. 発表標題 Perspectives for Control of Antibiotic Resistant Bacteria in the Water Environment in Asian Countries
3. 学会等名 Kurita Overseas Research Grant Webinar 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Manish Kumar, Daniel D Snow, Ryo Honda, Santanu Mukherjee	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Contaminants in Drinking and Wastewater Sources.	5. 総ページ数 436
3. 書名 Springer Nature, Singapore	

1. 著者名 Manish Kumar, Daniel D. Snow, Ryo Honda	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer Nature, Singapore	5. 総ページ数 365
3. 書名 Emerging Issues in the Water Environment during Anthropocene: A South East Asian Perspective	

〔産業財産権〕

〔その他〕

## 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	渡部 徹  (Watanabe Toru)  (10302192)	山形大学・農学部・教授   (11501)	
研究分担者	西山 正晃  (Nishiyama Masateru)  (10802928)	山形大学・農学部・准教授   (11501)	
研究分担者	原 宏江  (Hara-Yamamura Hiroe)  (70823524)	金沢大学・地球社会基盤学系・助教   (13301)	
研究分担者	松浦 哲久  (Matsuura Norihisa)  (90771585)	金沢大学・地球社会基盤学系・准教授   (13301)	
研究分担者	田中 宏明  (Tanaka Hiroaki)  (70344017)	京都大学・工学研究科・名誉教授   (14301)	

## 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計1件

国際研究集会	開催年
Pre-conference Workshop on Antibiotic Resistance in Wastewater in IWA-MEWE2019	2019年～2019年

## 8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
インド	インド工科大学ガンディナガル校		
スリランカ	ルフナ大学		