

# 東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	Comprehensive genomic survey of antimicrobialresistance bacteria in the sewage tank replacement with hospital relocation
別タイトル	病院移転に伴う下水槽交換における抗菌薬耐性菌の包括的ゲノム調査
作成者（著者）	秋山(片桐)美和
公開者	東邦大学
発行日	2022.08.03
掲載情報	東邦大学大学院医学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨.
資料種別	学位論文
内容記述	主査：松瀬厚人 / タイトル：Comprehensive genomic survey of antimicrobialresistance bacteria in the sewage tank replacement with hospital relocation /著者：Miwa Katagiri, Makoto Kuroda, Tsuyoshi Sekizuka, Norihide Nakada, Yukitaka Ito, Masanobu Otsuka, Manabu Watanabe, Shinya Kusachi /掲載誌：Infection and drug resistance /巻号・発行年等：14:5563 5574, 2021 /
著者版フラグ	none
報告番号	32661乙第2965号
学位記番号	乙第2801号
学位授与年月日	2022.08.03
学位授与機関	東邦大学
メタデータのURL	<a href="https://mylibrary.toho u.ac.jp/webopac/TD21562453">https://mylibrary.toho u.ac.jp/webopac/TD21562453</a>

# 博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

秋山（片桐）美和より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号乙第 2801 号

学位申請者 : あき 秋 やま 山 かたぎり (片桐) み 美 わ 和

学位論文 : Comprehensive genomic survey of antimicrobial-resistance bacteria in the sewage tank replacement with hospital relocation

(病院移転に伴う下水槽交換における抗菌薬耐性菌の包括的ゲノム調査)

著者 : Miwa Katagiri, Makoto Kuroda, Tsuyoshi Sekizuka, Norihide Nakada, Yukitaka Ito, Masanobu Otsuka, Manabu Watanabe, Shinya Kusachi

公表誌 : Infection and Drug Resistance 14: 5563–5574, 2021

論文内容の要旨 :

背景:

WHOによって起草された抗菌薬耐性に関する世界行動計画は、環境に対する人間の活動の影響、特に抗菌薬耐性遺伝子 (ARG) と菌の拡散・移動を理解する必要があると述べている。実際、日本を含む複数の国において、拡張スペクトル β-ラクタマーゼ (ESBL) 産生大腸菌や、カルバペネマーゼ産生物が、廃水処理プラント、処理水、病院下水などの水環境から検出されている。更に、残留抗菌薬で汚染された病院下水は、薬剤耐性菌 (ARB) の発生に選択圧をかける可能性があり、ARB の成長と増殖のホットスポットと見なされている。病院下水は、一般的な下水システムと同様に公共の廃水処理プラントに排出され、ろ過、微生物学的、および生化学的処理が施された後、近くの川に排出される。病院下水の ARB が水環境に拡散するかは明らかではないが、ARB は人の健康に有害である。近年、病院から排出される ARB / ARG と残留抗菌薬の管理戦略が、複数の国で研究されている。

目的:

当院の汚水に存在する ARB / ARG を包括的メタゲノム解析し、汚染状況を把握する。汚水と臨床サンプルから分離された拡張スペクトル β-ラクタマーゼ産生菌 (EPO) の関係を解析し、院内感染株の早期探知モニタリングとしての可能性を検討する。そして、環境負荷軽減を想定した病院汚水処理のあり方について議論するための情報を得る。

方法：

東邦大学医療センター大橋病院は、1973年に開設され、中央、管理、西棟が増築拡張された。棟ごとに扱う診療科や重症度が異なり、病床数は430床、スタッフ数は2,000人であった。老朽化のため、新たに建設された新病院は、すべての診療部門が1つの建物に統合され、病床数は319床となり、2018年6月20日に開業した。新旧どちらの病院も、便や尿は他の排水と混ざらず地下の汚水タンクに貯蔵され、1日に数回下水システムに汲み上げられる。旧病院では、棟ごとに汚水タンクがあり、新病院においては、一つの貯蔵タンクにすべての汚水が排出・貯留されている。

汚水サンプルを、週に一度タンクから採取し（2018年5月8日から6月12日までの期間は旧病院各棟から、2018年6月6日から7月17日までの期間は新病院から）、メタゲノム解析を行った。続いて汚水及び臨床から分離されたEPOの全ゲノムシーケンスを行い、そのうち、すべての大腸菌株に対しコアゲノムの一塩基多型系統発生分析を実施した。更に、汚水タンク内の残留抗菌薬濃度の測定も行った。

結果：

タンクごとに細菌構成の割合が異なっていたが、ICU、HCUを含む旧病院西棟と新病院においては、細菌叢は類似していた。新しい汚水タンクの細菌構成は、移転後1か月以内に古いタンクの構成と同等となり、短期間で排泄物の影響を受けていた。CHROMagar ESBLの選択により、すべての汚水タンクで *bla<sub>TEM-27</sub>* およびカルバペネマーゼ遺伝子を保有する extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing organism (EPO) が検出された。汚水と臨床株から分離したEPOの全ゲノムシーケンス及び比較コアゲノム解析から、同一クローンの *bla<sub>TEM-27</sub>* を持つST393大腸菌株を同定した。一方で、多くの汚水EPO株は患者株とは異なっていた。汚水EPO株のうち、カルバペネマーゼ遺伝子 (*bla<sub>IMP-11</sub>*) は *Pseudomonas monteilii* でのみ同定された。

タンク内の残留抗菌薬濃度を測定すると、レボフロキサシンとクラリスロマイシンのレベルは、それぞれ0.0325と0.0135  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であり、それらの濃度は最小発育阻止濃度のブレイクポイントを下回った。

考察：

病院汚水は多くのARB / ARGによって汚染され、その細菌構成は棟ごとに異なっていたが、患者の疾患の重症度に強く影響される可能性がある。汚水及び臨床分離したEPOをコアゲノムの一塩基多型系統発生分析を行った結果、汚水由来のESBL産生大腸菌株の一部が、患者株に由来した可能性が示唆されたが、幸いにも研究期間中、EPOに関連する院内感染は認めなかった。汚水タンクから検出されたEPOの多くは、臨床分離株とは異なり、これらが健康な保因者によって排泄されたのか、汚水タンクでARGを獲得することで発生したのかは明らかではない。しかし、病院汚水に含まれるARB / ARGを監視することは、潜在的な保菌者や院内感染のモニタリングが可能になると期待できる。

病院汚水は、低濃度であっても、細菌に対する高い選択圧によって薬剤耐性の発生を促進し、環境での拡散に関連する遺伝子の水平伝播に最適な条件を提供する。腸内細菌叢は、ARGおよび水平プラスミドの貯蔵庫として機能することが知られているが、汚水タンクは排泄物の蓄積で構成されており、耐性の獲得が頻繁に発生する可能性がある。

日本では、廃水処理プラントの排水からKPC-2産生 *Klebsiella* やNDM5産生 *E. coli* が検出されており、オゾンやUV処理、限外ろ過などの高度な廃水処理プロセスを含む効果的な措置を講じる必要がある。この廃水処理プラントにおけるARBの負荷を低減するため、病院汚水にも処理プロセスを導入することが有用であると期待する。

結語：

この研究は、メタゲノムおよび全ゲノム解析を使用した病院環境でのARBの最初の包括的な説明である。

## 1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号乙第 2801 号	氏 名	秋 山 (片桐) 美 和
学位審査担当者	主 査	松 瀬 厚 人
	副 査	高 橋 啓
	副 査	石 井 良 和
	副 査	片 桐 由 起 子
	副 査	村 上 義 孝

### 学位論文の審査結果の要旨 :

世界的に、環境に対する人間の活動が抗菌薬耐性遺伝子 (ARG) と菌の拡散・移動にどのように影響するかが問題となっている。病院下水からは、各種薬剤耐性菌 (ARB) と残留抗菌薬が検出され、ARB の成長と増殖のホットスポットと見なされている。本研究は、病院下水中に存在する ARB / ARG を包括的メタゲノム解析し、汚染状況を把握するとともに、汚水と臨床サンプルから分離された拡張スペクトルβ-ラクタマーゼ産生菌 (EPO) の関係を解析し、院内感染株の早期探知モニタリングとしての可能性を検討することを目的として行われた。2018 年 6 月の東邦大学医療センター大橋病院の新病院への移転に際して、新旧病院のそれぞれの汚水サンプルを、週に一度タンクから採取し、メタゲノム解析を行った。続いて汚水及び臨床から分離された EPO の全ゲノムシーケンスを行い、すべての大腸菌株に対しコアゲノムの一塩基多型系統発生分析を実施した。更に、汚水タンク内の残留抗菌薬濃度の測定も行った。旧病院においては、タンクごとに細菌構成の割合が異なっていたが、ICU、HCU を含む旧病院と新病院においては、細菌叢は類似していた。新しい汚水タンクの細菌構成は、移転後 1 か月以内に古いタンクの構成と同等となった。すべての汚水タンクで *bla<sub>TEM-27</sub>* およびカルバペネマーゼ遺伝子を保有する EPO が検出された。汚水と臨床株から分離した EPO の全ゲノムシーケンス及び比較コアゲノム解析から、同一クローンの大腸菌株が一部同定されたが、多くの汚水 EPO 株は患者株とは異なっていた。タンク内の残留抗菌薬濃度を測定すると、最小発育阻止濃度のブレイクポイントを下回るものがあった。病院汚水は多くの ARB / ARG によって汚染され、その細菌構成は棟ごとに異なっていたが、患者の疾患の重症度に強く影響される可能性がある。汚水タンクから検出された EPO の多くは、臨床分離株とは異なり、これらが健康な保因者によって排泄されたのか、汚水タンクで ARG を獲得することで発生したのかは明らかではないが、病院汚水に含まれる ARB / ARG を監視することは、潜在的な保菌者や院内感染のモニタリングが可能になると期待できる。病院汚水は、低濃度であっても、残留抗菌薬を含有しており、環境での拡散に関連する耐性遺伝子の水平伝播に最適な条件を提供する。汚水タンクは排泄物の蓄積で構成されており、腸内細菌の耐性の獲得が頻繁に発生する可能性がある。日本では、廃水処理プラントから耐性菌が検出されており、高度な廃水処理プロセスを含む効果的な措置を講じる必要があり、本研究の結果から病院汚水にも同様な処理プロセスを導入することが有用であることが期待される。

2022 年 6 月 28 日に開催された学位審査会において、研究要旨をプレゼンテーションした後、内容について活発な質疑応答がなされた。新病院への移転にあたって両病院の汚水を比較するという着想に至った経緯、旧病院の一部と新病院で結果が共通であった理由、測定毎に結果が変わる可能性、本研究の結果から病棟の配置など実臨床へのフィードバック、基礎的な実験手技を多く含む本研究における臨床医である申請者の関与の仕方、培養や遺伝子同定法等に関する技術的質問、統計解析方法などについて主査および副査から申請者に質問がなされた。それらの質問すべてについて、自身の研究や参考文献を基にして申請者は適切かつ論理的に返答した。質問にとどまらず、今後の研究の発展にむけての多くの示唆に富む助言もなされた。

以上より、病院の移転という千載一遇の機会を捉え、メタゲノムおよび全ゲノム解析を使用した病院環境での ARB の最初の包括的な報告であり、臨床応用への大きな可能性も有する本研究の意義は高く、本論文は学位に値するとの結論に審査委員の満場一致で達し、学位審査会を終了した。