

## 第 230 回雑誌会

(Oct. 7, 2015)

### (1) Differential Decay of Wastewater Bacteria and Change of Microbial Communities in Beach Sand and Seawater Microcosms

Zhang, Q., He, X., and Yan, T.

Environmental Science and Technology, **49**(14), 8531-8540 (2015).

Reviewed by K. Teranishi

近年、レクリエーション水域において、海水と比較して、砂浜から高濃度でふん便指標細菌が検出されている。しかしながら、海水と砂浜における細菌数や生残性を比較した調査は見当たらない。そこで本研究では、ラボ内に人工ミニビーチを作成し、海水と砂浜におけるふん便指標細菌の生残性の違い、ならびに時間経過に伴う細菌叢の挙動を調査した。ハワイのクアロアビーチを対象として、砂浜は波打ち際から 0.5 m の地点で採取した。また、砂浜への人為的汚染を評価するために、ビーチ周辺に流入する下水処理施設の下水をミニビーチに添加した。そして、ミニビーチから日光を遮断した状態で、最大 24 日間連続して海水と砂浜を採取した。対象とするふん便指標細菌は、大腸菌、腸球菌、およびウェルシュ菌とし、ANCOVA 検定を用いて、海水と砂浜中における各ふん便指標細菌の生残性を比較した。また、各試料中の細菌叢の挙動を、リアルタイム PCR 法と次世代シーケンサー (Illumina) によって調べた。得られた細菌遺伝子は、類似した遺伝子配列を基に分類し、分類単位として Operational Taxonomic Units (OTUs) で表した。

海水と砂浜の各ふん便指標細菌数を測定した結果、腸球菌とウェルシュ菌は、全期間を通して、海水と比較して、砂浜から高濃度で検出された (平均  $9,789 \pm 7,689$  CFU/100 g,  $13,500 \pm 3,822$  CFU/100 g ; n=17)。また、全ふん便指標細菌の生残性を、ANCOVA 検定を用いて評価したところ、海水と比較して、砂浜は有意に高かった ( $P < 0.001$ )。このことから、砂浜中は海水と比較して、ふん便指標細菌が長期間生残することが明らかとなった。次に、リアルタイム PCR 法を用いて、各試料中の全細菌数を測定した結果、砂浜の細菌数は海水と比較して、全期間を通して高い値を示した (砂浜 ;  $8.8 \sim 10.6$  log コピー/g, 海水 ;  $7.4 \sim 9.1$  log コピー/mL)。さらに、次世代シーケンサーを用いて、海水、砂浜、および下水の菌叢を解析した結果、合計 986 OTUs が同定された。そのうち、各試料中の大部分 (51~76%) を占める OTUs は 54 OTUs であり、その他の 932 OTUs は非常にマイナーであった。メジャーな 54 OTUs のうち、下水、砂浜、および海水由来の細菌種は、それぞれ 7 種、17 種、および 19 種であった。中でも、砂浜由来であった 17 の細菌種は、経日変化に伴って、存在量は一定あるいは増加傾向を示した。以上の結果から、砂浜の細菌は海水の細菌と比較して高濃度で存在し、砂浜中で長期間生残していることが明らかとなった。

## (2) 幌内平野の風化変質と劣化

林 謙二, 山 真典, 米田 哲朗

応用地質 **46**(4), 198-206 (2005).

レビュー：板清 智也

近年、堆積軟岩である泥岩を対象とした物理的性質や風化による化学組成の変化についての研究がなされている。しかしながら、泥岩の風化変質による鉱物・化学組成や組織・構造の変化と工学特性を関連付けた研究は少ない。そこで本研究では、古第三系幌内層泥岩を対象とし、粘土鉱物の性質変化と泥岩の化学組成の変化を調べるとともに、泥岩劣化と風化との関係について検討した。試料は、露頭試料（中風化岩，弱風化岩，未風化岩；計 9 試料），トンネル試料（未風化岩；1 試料），およびボーリングコア試料（強風化岩，中風化岩，弱風化岩，未風化岩；12 コア計 46 試料）を採取し，計 56 試料とした。各試料は，粉末 X 線回折（XRD）と蛍光 X 線分析（XRF）によって，層泥岩の未風化岩と風化岩の鉱物組成と化学組成を比較した。また，超音波速度計測とスレーキング実験によって，泥岩劣化と風化の関係について検討した。サイクル数に対する耐久性は，スレーキング耐久度指数（%）によって評価した。

XRD による風化岩と未風化岩の鉱物組成を比較した結果，層泥岩の風化が進行するにつれて緑泥石，黄鉄鉱および方解石が減少する傾向を示した。XRF による化学組成の深度分布をみると，風化は表層部に近づくほど進行しており，同時に黄鉄鉱起源である  $\text{SO}_3$  成分と方解石起源である  $\text{CaO}$  成分の溶脱も進行した。さらに，表層部付近の風化岩については，広範囲でスメクタイトの存在が確認された。一般に，黄鉄鉱の溶脱が著しい箇所では，緑泥石の減少とスメクタイトの増加が同時に確認される。このことから，黄鉄鉱から  $\text{SO}_3$  が溶脱することによって，緑泥石の鉱物学的な性質変化が生じたと考えられる。また，溶脱した  $\text{SO}_3$  は方解石の溶解を促進させることから，泥岩の強度に関する物性が低下し，空隙や亀裂を発達させる可能性が考えられた。そこで，超音波速度測定による未風化岩と風化岩の P 波速度を比較すると，未風化岩の P 波速度（2450 m/s 以上）に対して，風化岩の P 波速度（856 m/s）は著しく低下しており，風化による亀裂の発達が示唆された。また，スレーキング実験の結果，風化岩のスレーキング耐久度指数（75%）は，未風化岩（85%以上）と比較して低く，サイクル数の増加に伴って急激に減少した。このことから，岩石の風化によってスレーキングに対する耐久性が低下することが明らかとなった。以上の結果から，幌内層泥岩は風化による黄鉄鉱起源の  $\text{SO}_3$  成分の溶脱によって，空隙や亀裂の発達によるスレーキングに対する耐久性の低下と緑泥石の変化を引き起こすことが明らかとなった。

### (3) 我が国における水道原水中の水系感染性ウイルスおよび原虫の存在実態と指標微生物の有効性

岸田 直裕, 今野 祥顕, 原本 英司, 浅見 真理, 秋葉 道宏  
水道協会雑誌 **82**(10), 2-10 (2013).

レビュー：今福 夕貴

ウイルスや原虫による水系感染症が世界中で問題となっている。しかし、ウイルスと原虫を対象とした調査は観測範囲が限定されており、同一の測定法を用いた事例はほとんどない。そこで本研究では、国内 30 地点の水道原水を対象に、ウイルス（腸管系アデノウイルス、ノロウイルス G I 型, G II 型）、ならびに原虫（クリプトスポリジウム、ジアルジア）の存在実態を調査し、水道原水中におけるウイルス・原虫の検出率・濃度を測定した。さらに、水道原水における水系感染症の指標微生物として用いられている大腸菌、大腸菌群、嫌気性芽胞菌、および F 特異大腸菌ファージの有用性を評価した。試料は、2010 年 6, 10, 12 月、および 2011 年 2 月に、国内浄水場 30 地点から水道原水 2 L を採取し、合計 120 試料とした。ウイルスは、試料から抽出した DNA と相補的 DNA (cDNA) を、リアルタイム PCR によって定量した。原虫は、試料を直接蛍光抗体法と DAPI 染色法に供してプレパラートを作製し、蛍光顕微鏡を用いて計数した。指標微生物は、大腸菌群と大腸菌はクロモカルトコリフォーム寒天培地、嫌気性芽胞菌はハンドフォード改良培地を用いた三重層法、F 特異大腸菌ファージは、*Salmonella enterica* serovar Typhimurium WG49 を用いたブラック法によってそれぞれ測定した。また、ウイルス・原虫濃度と指標微生物濃度の相関関係を、スピアマンの順位相関解析によって評価した。

調査期間内に採取した全 120 試料のうち、腸管系アデノウイルス、ノロウイルス G I、および G II の検出率は、それぞれ 18、16、および 30% であり、検出濃度はそれぞれ 110~2500、88~970、および 310~2900 コピー/L であった。クリプトスポリジウムとジアルジアの検出率は、それぞれ 27、20% であり、検出濃度はそれぞれ 0.5~17 oocysts/L、0.5~2 cysts/L であった。全てのウイルスと原虫が、全 30 地点から検出されたため、ウイルス・原虫は地域・時期を問わず、水道原水中で広範囲に存在していることが明らかとなった。次に、ウイルス・原虫濃度と指標微生物濃度の相関関係を評価したところ、相関関係は総じて低かった ( $r = -0.01 \sim 0.52$ )。したがって、指標微生物濃度からウイルス・原虫濃度を予測することは困難と推測された。一方、嫌気性芽胞菌濃度と原虫における検出率の間には有意な差 ( $\chi^2$  検定,  $P < 0.01$ ) は認められた。指標微生物の中でも、嫌気性芽胞菌は水道原水中における原虫汚染の有効な指標細菌であることが示唆された。

#### (4) 1990年から2012年までに分離された腸管出血性大腸菌の臨床微生物学的特徴

小林 治, 磯崎 将博, 北川 真喜, 江成 博

日本臨床微生物学会 **25**(1), 34-41(2015).

レビュー：上田 卓矢

感染症の原因菌である腸管出血性大腸菌 (*enterohemorrhagic Escherichia coli* ; EHEC) の検出・同定は、次の2段階に分けられる：①生化学性状の違いを利用した EHEC 株の分離、②Shiga toxin (Stx) の検出。しかしながら、Stx の検出が必要な EHEC 株を効率よく分離する手順は不明確である。そこで本研究では、EHEC 株の微生物学的特徴から、効率的な毒素検出に至る手順を検討した。供試菌株は、臨床分離された EHEC 43 株 (O157 ; 19 株, O26 ; 3 株, O111 ; 3 株, その他 ; 16 株, 群別不能株 ; 2 株), 対照株として、*E.coli* の Stx 陰性 1 株, Stx 産生 1 株を用いた。全供試菌株について、PCR 法によって、EHEC の病原遺伝子 (*stx<sub>1</sub>*, *stx<sub>2</sub>*, *eaeA*, *aggR*, *bfpA*, *astA*, *hlyA*) の検出を試みた。また、EHT 寒天培地を用いた腸管溶血素 E-hly の検出と、EHEC の主要な血清型を識別するセフィキシムと亜テルル酸カリウムを添加した CT 培地での発育状況を確認した。さらに、ID32 E API と CLIG 寒天培地を用いて EHEC 株の生化学性状を調査した。なお、CT 培地に発育不良であった EHEC 株は、CT 添加濃度を調整した培地を用いて、CT 感受性を評価した。

PCR 法による病原遺伝子の検出を行った結果、*stx<sub>1</sub>*, *stx<sub>2</sub>* のいずれかは、EHEC の全菌株から検出された。*astA* は、O157 14 株と O26 1 株から検出され、*aggR* と *bfpA* は、全菌株から検出されなかった。また、*hlyA* は群別不能株 1 株を除く全ての株から検出された。EHT 寒天培地で検出された E-hly 産生株からの *hlyA* の検出率は高いことから、E-hly を指標とする EHT 寒天培地を用いたスクリーニングは有用であると考えられた。*eaeA* は、O157 19 株, O26 3 株, O111 3 株を含む 36 株から検出され、そのうち、O157 2 株と O26 2 株を含む 10 株は、CT 培地に発育しなかった。さらに、CT 濃度調整培地を用いた発育能試験において、O157 と O26 に対して亜テルル酸カリウムによる発育阻止が確認された。生化学性状の調査においては、O157 株に関して、ソルビトール分解能に異型株は見られなかったが、ラムノース非分解性を示す異型株が確認され、分離・収集した EHEC 43 株中の 18 株 (41.8%) が異型株であった。以上のことから、EHEC を分離する際、特定の血清型や生化学性状を指標とする検出方法では限界があると考えられる。したがって、O157 検出と O157 以外の検出法として、それぞれ、ソルビトール分解能を指標とする培地と *E.coli* を特定する培地から釣菌し、各株を E-hly を指標とする培地を用いて EHEC をスクリーニングした後、E-hly 陽性株から Stx の検出を行うことを提案する。