

第 235 回雑誌会

(Nov. 11, 2015)

(1) 元素分析による細粒土砂輸送割合の推定方法開発

石田 哲也, 早川 博, 中山 恵介, 岡田 知也, 丸谷 靖幸, 駒井 克昭, 堀田 伸之,
藤井 博司, 加藤 淳子

土木学会論文集 **68**, 637- 642 (2012).

レビュー：板清 智也

北海道オホーツク地方における常呂川は、流域全体に細粒土砂が分布しており、河口からの濁水および土砂流出に起因したホタテの斃死が問題となっている。そこで本研究では、常呂川における細粒土砂の生産場において土砂輸送割合を推定するモデルの開発を試みた。調査は、常呂川流域の小河川であるオロムシ川を対象とし、流域下流端に設置した三角堰において、濁度を計測した。また、流域の大部分を占める森林地および畑地への降雨の影響を考慮するために、両地点の雨量観測所で雨量を測定した。濁度から換算した SS 濃度に、降雨量と流域面積の積から算出した流量を乗じて土砂流出量を算出し、降雨による細粒土砂の生産・流出の特性を評価した。細粒土砂輸送の割合を推定するモデルは、流域に分布する細粒土砂試料の元素組成をもとに開発した。試料は、流域全体の表層土壌（18 地点）とオロムシ川下流端付近の河岸堆積物（1 地点）の計 19 試料とした。全試料について、蛍光 X 線（XRF）分析を行い、元素組成を調査した。また、強熱減量試験を実施し、求められた強熱減量の値を直接炭素（C）として測定した。その後、各地点の元素組成と河岸堆積物の差の平方和からモデルを作成し、各地点からの土砂輸送の割合を評価した。なお、土地利用を考慮するため、作成したモデルには輸送割合係数を新たに導入した。

土砂流出量を算出した結果、森林地の総流出土砂量 (2.36×10^8 mg h km²/L) は、畑地の総流出土砂量 (1.06×10^8 mg h km²/L) の 0.45 倍と算出され、畑地において土砂生産が顕著であった。そこで、土砂輸送割合を推定するモデルには、森林地に対する畑地の比（0.45 倍）を考慮した輸送割合係数を導入した。XRF 分析と強熱減量試験による各地点の元素組成についてみると、いずれの地点においても Al₂O₃、SiO₂、Fe₂O₃、および C の含有率が高い傾向を示し、全体の 85~93% を占めた。このことから、各地点における細粒土砂の特性は、類似していると考えられた。元素組成の結果をもとに作成したモデルを用いて推定した結果、各地域から河岸への土砂輸送割合は同程度と推定された。そこで、各地点における単位面積あたりの土砂輸送割合を求めたところ、上流域（5 地点）、中流域（4 地点）、下流域（3 地点）からの土砂流出が卓越していることがわかった。以上のことから、元素分析と土地利用を考慮した輸送割合係数を用いることによって、細粒土砂輸送割合を推定できると考えられた。

(2) 水道水中の従属栄養細菌の同定における DNA 塩基配列解析法と表現性状試験との比較

猪又 明子, 千葉 隆司, 保坂 三継
水環境学会誌 **31**(10), 609-614 (2008).

レビュー：今福 夕貴

従属栄養細菌の菌種同定には表現性状試験が広く用いられているが、分類できる菌種は少なく、従属栄養細菌を分類する新たな手法が必要である。近年、細菌の 16S rDNA 塩基配列を利用した菌種同定が数多く行われている。そこで本研究は、浄水場の浄水および給水栓水から単離した従属栄養細菌について、16S rDNA 塩基配列解析と表現性状試験を行い、両手法の菌種同定の精度を比較した。試料は、平成 18 年 5 月～6 月に採取した東京都内浄水場の浄水 28 検体、給水栓水 9 検体の合計 37 検体とした。各検体中の従属栄養細菌は、R2A 寒天培地 (22.5 °C, 7 日間培養) を用いて計数した。計数後、菌株を単離し、体温下における従属栄養細菌の増殖性を調査するため、再度、R2A 寒天培地に画線して 37 °C で 24 時間培養した。次に、羊血液寒天培地を用いて、37 °C で増殖した菌株を培養し、溶血性の有無を判定した。溶血性を示した菌株のうち、11 株から DNA を抽出し、MicroSeq 500 16S rDNA Bacterial Identification Sequencing Kit を用いて遺伝子解析を行った。得られた遺伝子配列は、既存のデータベース (Genbank) と照合し、細菌種を同定した。そして、表現性状試験による結果と、16S rDNA に基づく菌種同定の結果を比較した。

採取した浄水および給水栓水試料の 92 % (34/37) から従属栄養細菌が検出され、合計 120 株単離した。単離した 120 株のうち、37 °C で生育したのは 91 株 (75.8 %) であった。このことから、従属栄養細菌の多くは、体温下で増殖することが示唆された。37 °C で増殖が確認された 91 株のうち、39 株 (42.9 %) が溶血性を示した。全菌株に占める溶血性株の割合は 32.5 % であり、既報値 (36 %) と同程度であった。次に、溶血性を示した 39 菌株のうち 11 株について、16S rDNA 塩基配列解析を行ったところ、食中毒原因菌または日和見感染菌である *Staphylococcus* 属 4 株、*Micrococcus luteus* 3 株、*Bacillus* 属 2 株、*Mycobacterium fortuitum* subsp. *fortuitum* 1 株、*Cupriavidus metallidurans* 1 株が同定された。16S rDNA 塩基配列解析と表現性状試験による菌種同定を比較した結果、両検査の結果が一致した菌株は 1 株のみであった。このことから、表現性状試験による従属栄養細菌の同定は困難であり、16S rDNA 塩基配列に基づく菌種同定法は、従属栄養細菌を分類する有効的な手法であることが示唆された。

(3) *stx1* または *stx1+stx2* 遺伝子を保有する腸管出血性大腸菌 O157 による集団食中毒事例

村田 敏夫, 柳生 裕子, 三瓶 美香, 青木 敏也

日本食品微生物学会雑誌 31(1), 36-40 (2014).

レビュー: 上田 卓矢

腸管出血性大腸菌 (*enterohemorrhagic Escherichia coli*; EHEC) 感染症は、溶血性尿毒症症候群や脳症などの重篤な合併症によって死亡する可能性のある重要な疾患である。我が国においても、EHEC 感染症は、年間約 3000~4000 例報告されている。そこで本研究では、2011 年に山形市で発生した EHEC O157 による集団食中毒事例について、汚染源を調査した。本事例は、ある製造元が販売している団子または柏餅を喫食した 287 名が下痢、腹痛、血便などを呈する胃腸炎を発症した事例である。試料は、ふん便 464 検体 (患者 161 検体, 患者家族 300 検体, 従業員 3 検体) とした。各試料から、CT-SMAC 寒天培地とクロモアガー O157 寒天培地を用いて、EHEC O157 株を単離した。なお、1 検体から 2 コロニーずつ単離した。その後、PCR 法によって、*stx* 遺伝子を検出した。また、*stx* 保存の 39 株 [EHEC O157 (*stx1*); 10 株, EHEC O157 (*stx1+stx2*); 29 株] について、パルスフィールドゲル電気泳動法 (Pulsed-field gel electrophoresis; PFGE 法) によって遺伝子型を取得し、菌株間の類似性を評価した。さらに、EHEC O157 (*stx1+stx2*) 株を用いて、室温環境中での *stx* 遺伝子の脱落実験も行った。

ふん便 464 検体のうち、9 検体から EHEC O157 (*stx1*) が検出され、152 検体から EHEC O157 (*stx1+stx2*) が検出された。また、7 検体からは、EHEC O157 (*stx1*) と EHEC O157 (*stx1+stx2*) が 1 株ずつ検出された。次に、PFGE 法によって各菌株の遺伝子型を取得した結果、EHEC O157 (*stx1*) 株と EHEC O157 (*stx1+stx2*) 株は、類似パターンを示した。*stx* 遺伝子の脱落実験では、1 ヶ月後に EHEC O157 (*stx1+stx2*) 25 株中の 1 株で *stx2* 遺伝子の脱落株が確認され、3 ヶ月後には、8 株の *stx2* 遺伝子の脱落株と、1 株の *stx1* 遺伝子の脱落株が確認された。さらに、*stx2* 遺伝子脱落株 EHEC O157 (*stx1*) と患者由来の EHEC O157 (*stx1*) の遺伝子型は一致した。このことから、本事例において分離された EHEC O157 (*stx1*) 株は、EHEC O157 (*stx1+stx2*) 株から *stx2* 遺伝子が脱落した株であることが推測された。それに加えて、従業員のふん便検体から単離した全 59 株は EHEC O157 (*stx1+stx2*) であり、患者由来の EHEC O157 (*stx1+stx2*) の遺伝子型と一致した。しかしながら、従業員が最初から菌を保有していたのか、汚染された食品を喫食し感染したのかを判断することはできず、汚染源の特定には至らなかった。

