

## 第 292 回雑誌会

(Jun. 29, 2018)

### (1) 漂着ごみから推定される日本から流出する海洋浮遊ごみ

岡野 多門, 加藤 郁美

廃棄物資源循環学会論文誌, **26**, 25-37 (2015).

レビュー: 黒田 貴洋

海岸に漂着した人工素材のごみは、海洋生物に深刻な影響を与える。また、海岸におけるごみの漂着量は、各国のごみの固形廃棄物の管理体制の指標となる。そこで本研究では、日本で発生したごみの排出を抑制するために、海岸におけるごみの漂着実態の把握、および投棄地からの漂流過程を調査した。そして、得られた結果からごみの排出防止対策を提案した。調査は、2005年1月から2013年6月において、鳥取県に位置する8つの海岸で毎月実施した。漂着ごみの試料は、各海岸の汀線500m区間から採取した。試料採取後、洗浄と乾燥を行い、漂着重量を測定した。また、事前に作成した浮遊可能なごみリストを用いて、漂着ごみの排出分野、および排出場所などからごみ種を細分化し、150種類から調査対象とするごみ種を決定した。決定した漂着ごみについて、年間平均漂着重量と月間平均漂着数を算出した。得られた結果は、土地利用と季節変動を考慮することで投棄地を推定した。さらに、小型ペットボトルを目的変数とした重回帰分析によって、漂着数を推定し、投棄排出防止対策を検討した。

全ての調査地点で最も漂着したごみは、漁業由来(約65 kg/(hm・y))であり、次いで民生由来(約28 kg/(hm・y))、農業由来(約0.8 kg/(hm・y))であった。漁業由来のごみの多くは、外国産であった。これに対して、民生由来と農業由来のごみは、それぞれ41%と50%が日本産であった。そこで、民生由来9種類と農業由来2種類のごみに着目し、各ごみ種の年間平均漂着数を調べたところ、民生由来では小型ペットボトル(85.3個/(hm・y))が最も多く漂着していた。次に、各調査地点における年間平均漂着数を調べたところ、すべてのごみ種が河口付近に多く漂着したことがわかった。中でも、小型飲料容器に属するごみが多く漂着しており、その割合は6~45%であった。このことから、河川流域で投棄された小型飲料容器が海岸へ流出していることが示唆された。また、小型飲料容器に属するごみについて、季節変動における月間平均漂着数を調べたところ、9月において77%と最も高い割合でごみが漂着した。これは、9月において最多降雨量が観測されたことが原因として考えられる。そこで、小型飲料容器のうち、最も漂着していた小型ペットボトルについて重回帰分析を行ったところ、各調査地点、あるいは各月における漂着数を推定することができた。以上の結果から、日本から海へ排出されるごみの多くは小型飲料容器であり、重回帰分析を用いた漂着数の推定は排出防止対策として有用である。

## (2) 蛍光 RT-multiplex PCR 法を用いた食中毒起因微生物の包括的検出

重本 直樹, 谷澤 由枝, 山田 裕子, 大原 祥子, 松尾 健, 福田 伸治

日本食品微生物学会雑誌, 29(1), 11-17 (2012).

レビュー：清水 宏樹

厚生労働省の食中毒統計によると、食中毒は多くの病原微生物を原因として発生している。食中毒発生時には迅速な病原微生物の検出がその拡大防止につながるため、非常に重要となる。近年では、Multiplex PCR 法によって多種の病原微生物を迅速かつ高感度に検出することが可能となった。しかしながら、細菌およびウイルスを包括的あるいは網羅的に同時検出する方法は確認されていない。そこで本研究では、食中毒の原因となる細菌およびウイルスを対象とし、蛍光標識プライマーを用いることによって、対象微生物を識別することができる蛍光 RT-multiplex PCR 法の開発を試みた。対象微生物は 10 種の細菌および 3 種類のウイルスとし、18 種類の病原遺伝子を標的とした。検出の特異性を確認するため、標準株から細菌 DNA およびウイルス RNA を抽出後、ウイルス RNA については逆転写反応を行い、以下の 3 つのプライマーセットを用いて蛍光 RT-multiplex PCR 法を行った：A セット (*Diarrheagenic Escherichia coli*), B セット (*Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *Vibrio parahaemolyticus*), C セット (*Clostridium perfringens*, Norovirus, Sapovirus, Astrovirus)。また、各プライマーセットの検出限界は、細菌株の菌数あるいは DNA のコピー数およびウイルスの cDNA のコピー数を基に測定した。さらに、2009 年から 2010 年における食中毒患者のふん便から細菌 DNA およびウイルス RNA を同時抽出後、上記と同様の手順で蛍光 RT-multiplex PCR 法を実施し、常法（培養法あるいは monoplex PCR 法）の結果と比較した。

各試料についてプライマーセットごとに、それぞれの標的遺伝子で期待される増幅産物の大きさおよび蛍光色として検出した。*Diarrheagenic E. coli* は複数の病原遺伝子を保有する株から期待通りの病原遺伝子が検出され、多重検出が可能であった。また、プライマーセット A, B, および C の検出限界は、それぞれ  $10^1$ - $10^4$  cfu/反応,  $10^1$ - $10^4$  コピー数/反応, および  $10^2$  コピー数/反応の範囲であった。食中毒患者のふん便を対象に蛍光 RT-multiplex PCR 法と常法の検出結果を比較したところ、検出感度および特異度は、93.1%と 93.5%であり、高い一致率 (93.3%) を示した。本法は、3 つのプライマーセットによって 13 種の食中毒起因微生物を包括的に検出・識別でき、簡便性も高い。また、必要に応じてプライマーセットを追加することによって、他の病原微生物の検出にも拡大可能である。以上のことから、本研究で開発された蛍光 RT-multiplex PCR 法は、食中毒起因微生物の迅速なスクリーニング検査法として有効であることが示唆された。

### **(3) Mixing of Shiga toxin-producing and enteropathogenic *Escherichia coli* in a wastewater treatment plant receiving city and slaughterhouse wastewater**

Delphine B., Maryse MU., Alpha AD., Monique K., Véronique D., Pierre-Louis T., Alain BM., Eric O., and Hubert B.

International Journal of Hygiene and Environmental Health, **221**, 355-363 (2018).

Reviewed by H. Xie

Contamination of environmental water by fecal pathogens is a major public health concern. Wastewater discharge from human activities and livestock may contain Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) which can be pathogenic for humans. In this study, there were three objects as follows: (i) to evaluate the prevalences of STEC and EPEC from a wastewater treatment plant (WWTP), (ii) to determine the pathogenicities STEC and EPEC for humans and (iii) to compare STEC and EPEC from human and animal origin. The experiment took ten months to carry out the sampling from May 2009 to March 2010, except in August 2009, in France. Samples were taken from (i) the city wastewater (CW), (ii) the slaughterhouse wastewater (SW), and (iii) the treated effluent (TE) after all of the CW and the SW. After then, STEC and EPEC were tested for phylogenetic groups by multiplex PCR on 12,248 *E. coli* isolates. Finally, antimicrobial resistance of STEC and EPEC was determined by a disk diffusion method.

The prevalences of STEC in CW, SW and TE, were 0.22% , 0.07% and 0.22%, respectively. STEC, with stx subtypes linked to serious illness in humans, were isolated from city wastewater. The PCR screenings led to the isolation of 21 STEC. Most STEC strains in CW belonged to group A, whereas in SW and TE belonged to group B<sub>1</sub>. The EPEC strains were more frequently detected in the effluents than STEC strains. The prevalences of EPEC in CW, SW and TE, were 0.63%, 0.90% and 0.55%, respectively. All the EPEC strains were classified as atypical and were screened for the  $\epsilon$ ,  $\gamma_1$  and  $\beta_1$  subtypes. The PCR screenings led to the isolation of 85 EPEC. And atypical EPEC with the genetic characteristics of EHEC were isolated from SW. Most atypical EPEC in CW belonged to group B<sub>2</sub>, whereas those in SW belonged to group B<sub>1</sub>. The most frequent group in the TE was B<sub>1</sub>, followed by B<sub>2</sub>. Atypical EPEC in group D were only detected in the SW. The percentages of prevalences after treatment were not significantly different. The percentages of antibiotic-resistant and *E. coli* isolates were not impacted by the wastewater treatment process.