第 101 回雑誌会

（July 16, 2010）

(1) Suboptimal chlorine treatment of drinking water leads to selection of multidrug-resitant *Pseudomonas aeruginosa*

Shrivastava, R., Upreti, R. K., Jain, S. R., Prasad, K. N., and Seth, P. K.

Ecotoxicology and Environmental **58**, 277-283 (2004).

Reviewed by S. Kajii

一世紀以上にわたって，飲料水には塩素処理が行われており，これにより飲料水の安全性が保たれてきた。塩素処理は現在でも，飲料水の殺菌に使用されている。しかしながら既往の研究によって，いくつかの細菌は，塩素や水処理で使用されるさまざまな化学物質に対して，耐性を示してきていることが報告されている。緑膿菌は偏在的に存在する日和見性の病原菌として知られており，多くの薬剤に対して耐性を示す。また，その性質から，院内感染を引き起こす一因となっている。本研究では，Gomti 川水中と飲料水の浄化工程間の細菌分布の調査を行い，また，単離された緑膿菌については，抗生物質感受性試験を行った。

Gomti 川と飲料水精製施設には，緑膿菌を含むさまざまな細菌が存在することが確認された。また，緑膿菌について抗生物質感受性試験を行ったところ，塩素処理後の試料中にはノロフロキサシンとシプロフロキサシン以外の薬剤（ゲンタマイシン，アミカシン，セフォタキシム，ナリジスク酸）に耐性を示す株が存在した。また，塩素処理後の試料においてノロフロキサシンとシプロフロキサシン以外の薬剤に耐性を示した緑膿菌株は，塩素濃度が 500μg/L でも生き残る株が存在した。Gomti 川流域の 7 カ所でサンプリングを行い，試料を塩素処理した後に，細菌を調査した結果，7 カ所中 3 カ所で緑膿菌が単離された。Gomti 川より塩素処理前と処理後から単離された緑膿菌 2 株について，アガロースゲル電気泳動法を用いてプラスミドのスクリーニングを行った結果，2 株とも 22kb の位置で同じバンドを示した。しかしながら，塩素耐性の原因となるようなプラスミドは発見されなかった。

(2) Effect of tertiary sewage effluent additions on *Prymnesium parvum* cell toxicity and stable isotope ratios

Lindehoff, E., Graneli, E. and Graneli,W

Harmful Algae **8**, 247-253 (2009).

Reviewed by S. Kurosawatsu

ハプト藻は，淡水から海水までの水域に生息している藻類である。この種は，有害藻類ブルーム（Harmful Algae Blooms，HABs）を形成する藻類であり，その毒性は，世界中の漁業に生態的，または経済的に大きな損失をもたらす。HABs の増殖は，富栄養化と強い相関があり，人由来の主な原因物質は，下水である。ハプト藻が HABs を形成する理由は，有機的と無機的の両方の栄養物質を利用する能力があるからであると言われているが，この能力を立証する知見は少ない。そこで本研究では，有機物が含まれる下水処理場からの放流水を用いて，ハプト藻である *Prymnesium parvum* の有機物の利用について安定同位体分析を用いて評価した。さらに，放流水を添加した場合における，ハプト藻の濃度と毒性における影響を調べた。

実験は，窒素とリンの濃度条件をかえた 3 つの培地条件（N:P=16:1，1.6:1，160:1）を設定した。有機物の影響を確認するため，無機イオン（NO_3-N，PO_4-P）を添加したコントロールと下水放流水中に含まれる無機物から上記の濃度に調整した放流水を添加した培地を比較した。陸上生物由来の安定同位体値の性質から，放流水中の有機物摂取は，摂取した生物のδ13Cが低くなり，δ15Nが高くなることが知られている。放流水を添加した培地で培養したハプト藻は，有機物質が入っていないコントロールと比較して，すべての培地でδ13C値は 3~8‰低く，δ15N値は約 10‰高くなっていた。したがって，ハプト藻が無機物質と同様に有機物質を利用していることが示唆された。また，ハプト藻の濃度は，コントロールと放流水を添加した培地に有意差は見られず，窒素とリンを十分に添加している培地（N:P=16:1）において，最も生長量が大きくなった。さらに，毒性は，共にリンが不足している培地（160:1）において最も高くなった。これは，既往の研究と同じ結果となったが，その毒性は，既往の研究結果と比較して，有機物利用が原因で高くなることが確認された。

第 102 回雑誌会

（July 23，2010）

(1)御手洗水試験場における粘土鉱物と斜面傾斜角の関係

脇山　義史，井手　淳一郎，大槻　恭一，江頭　和彦

九州大学演報 **89,** 127-136(2008)

レビュー：川野 翔

蛇紋岩で構成される山地・丘陵の特徴は，高度が高い，斜面が緩傾斜で滑らかであり，クリープや浅い地滑りが多発する一方，露岩・落岩・崩落および土石流が少ないなどの特徴が挙げられる。これまで，蛇紋岩山地における地形形成の要因については，崩壊や地すべりといったマスムーブメントを中心に研究が行われてきた。蛇紋岩は，主にカンラン岩が熱水変質作用を受け形成されるため，変成の際の温度・圧力により不規則な鉱物組成になるという特徴もある。しかしながら，こうした土壌の不規則な鉱物組成が，地形形成にどのように関係しているか調査した研究は少ない。そこで本研究では，土壌中の粘土鉱物に着目して，蛇紋岩山地における地形形成と土壌中の粘土鉱物の関係を明らかにすることを目的とした。

蛇紋岩を母岩とする御手洗水流域の 13 地点から土壌を採取し，X 線回析による土壌の粘土鉱物分析を行ったところ，この地域の土壌に含まれる粘土鉱物は蛇紋岩，緑泥岩，タルク，および石英であった。また，土壌採取地点においてクリノメーターを用いた簡易な方法によって局所的な斜面傾斜角を測定し，斜面傾斜角は最大で 33.5°であり，下流部において急傾斜，上流部において緩傾斜であることがわかった。採取地点の斜面傾斜角と粘土鉱物含量を比較すると，斜面傾斜角と蛇紋石含量との間に正の相関関係(r=0.48)があった。蛇紋石を多く含む土壌は，同じく蛇紋岩地帯に見られるタルクや緑泥岩を多く含む土壌に比べせん断抵抗角が大きいため，蛇紋石が多い土壌からなる斜面では崩壊や地すべりが起こりにくく，平らな地形になりにくいと推測される。以上のことから，蛇紋岩山地では，土壌中に蛇紋石を多く含む場合，急傾斜の斜面が形成されうることが示唆された。

(2) Enumeration and speciation of enterococci found in marine and intertidal sediments and coastal water in southern California

Ferguson, D. M., Moore, D. F., Getrich, M. A. and Zhowandai, M. H.

Journal of Applied Microbiology **99**, 598–608 (2005).

Reviewed by N.Kanda

USEPA では糞便性汚染の指標菌として，腸球菌，大腸菌，および糞便性大腸菌群が使用されている。これらの指標菌が基準を超過するレクリエーションビーチは警告，もしくは閉鎖されなければならない。しかしながら，カリフォルニア州において夏期に基準を超過するビーチが多くみられた。ビーチの糞便汚染について，下水や河口などは汚染源として明白である。しかしながら，汚染源として可能性はあるものの明確に関連性が示されていないものもある。その中に，潮の干満の影響を受ける地点である潮間帯および海洋の堆積物がある。本研究では， カリフォルニア州の 2 ヵ所のビーチで潮間帯および海洋堆積物に指標菌が含まれることを調査することを目的とした。また，堆積物とビーチ水中の腸球菌およびその関連菌の陽性率および菌種の存在割合を比較することによって，堆積物がビーチ水に影響を与える可能性を調査した。今回の研究で扱われた南カリフォルニア州の Huntington State Beach と Dana Point Harbor Baby Beach の 2 ヵ所のビーチは，指標菌が基準を超過し続けているビーチの代表である。

サンプリングを行った期間のうちで，基準が満たされなかった日は多く，特に腸球菌が原因である場合が多かった。指標菌について調査した結果，Huntington State Beach と Dana Point Harbor Baby Beach の両地点において大腸菌，糞便性大腸菌群，および腸球菌が検出された。腸球菌は雨水管の出口の近くの潮間帯堆積中や河川中から高濃度に検出された。一方，海域では，深層と海洋堆積物中から腸球菌が低濃度で検出された。次に，API 20 Strep によって腸球菌を同定した。菌種が大きい割合を占める順に *Enterococcus faecalis*，*E. faecium*，*E. hirae*，*E. casseliflavus*，および *E. mundtii* であった。また，mEI 培地により腸球菌として単離された菌のうち，少なくとも 11%が腸球菌ではなかった。これらの特徴は堆積物とビーチ水で類似していた。以上の結果から，堆積物，ビーチ水の高濃度の腸球菌は堆積物の再懸濁がビーチ水に影響を与えている可能性を示している。

第 103 回雑誌会

（August 5，2010）

(1)人工リーフへのカジメ藻場移植と群落の拡大に関する研究

木下 淳司

水産工学 **45,** 169-178（2009）.

レビュー：濱崎 祥大

現在, 沿岸環境の保全や水産資源の保護育成等のため, 藻場の保全と修復が重要となっている。遊走子の不足が生育制限要因である海域では，遊走子の供給源を人為的に設ける必要がある。そこで考えられることは，天然群落の周囲に大型の人工基盤を設置し，ここにカジメ・アラメが繁茂した後，人工基盤ごと移設することである。そこで本研究は砂浜域に設置された人工リーフにカジメを大量に移植して長期モニタリングを行い，母藻の大量移植による藻場造成が有効であること，ならびにカジメ群落の分布に影響する諸要因を明らかにすることを目的とした。また藻場造成による，藻場の水質浄化，CO_2固定等の効果を定量的に評価した。さらに，人工リーフの設置により生じた多面的機能を把握するため，藻場および磯根資源分布を調査した。また，人工リーフに形成されたカジメ群落が，食植生（雑食性）魚類アイゴによって摂食された際に，局所的に残存したカジメ群落の流動環境を数値解析により検証を行った。

人工リーフにおけるカジメ群落の拡大距離は 20~48m/年となった。また密度においては，天然に近い群落が形成されたと考えられる。人工リーフに設置した母藻区は，遊走子の供給源として効果が高かったと考えられる。炭素含有量と含水率は，葉状部と茎状部で近い値であったが，窒素およびリン含有量は葉状部で高かった。人工リーフは漁獲量増加だけでなく，侵食対策として築磯と同様の効果があることがわかった。また侵入路をふせぐ人工リーフの両端の突堤と人工リーフにより発生した循環流と振動流が複合して，岸側のカジメ群落の摂食を防いだ可能性があることがわかった。

(2)利根川流域における原虫の検出と遺伝子型の同定及び指標菌との相関

原本 英司，與那城 雄司，西澤 博，浅見 真理，秋葉 道宏，国包 章一

水道協会雑誌　**78**(3), 14-19 (2008)

レビュー：瀧田 敏之

病原性原虫であるクリプトスポリジウムとジアルジアは，塩素に対して高い耐性を示すため，水道水への原虫汚染による影響は広範囲かつ深刻になる可能性を有している。したがって，原虫の存在に関する多くの知見を蓄積していくことが重要である。そこで本実験では，水道水源となる河川における原虫の汚染実態を明らかにすることを目的とし，利根川の 6 地点を対象に，河川水と底泥を同時に採取し，原虫の有無，遺伝子型の同定の調査を実施した。そして，原虫の指標菌として提案されている大腸菌と嫌気性芽胞菌に加え，水環境の糞便汚染の指標として広く用いられる大腸菌群も測定し，原虫とこれら指標菌との相関性についても検討した。

河川水を検査した結果，クリプトスポリジウムおよびジアルジアの両方が検出され，陽性試料中の濃度はそれぞれ 2～40 oocysts/40L および 1～29 cysts/40L であった。また底泥も同様に，クリプトスポリジウムとジアルジア両方が検出され，濃度はそれぞれ 1.1～5.2 oocysts/g-dry および 1.3～3.3 cysts/g-dry であった。原虫の検出結果は大きく異なり，底泥では長期間にわたる河川水の汚染の履歴が反映されていると推察された。指標菌として測定された大腸菌群，大腸菌および嫌気性芽胞菌は，河川水と底泥から高い陽性率で検出された。しかしながら，これらの指標菌と原虫の濃度との間に正の相関は認められず，指標菌の測定のみでは原虫の濃度を予測できないと判断された。単離した原虫を Nested PCR または，Seminested PCR とダイレクトシーケンシングに供した結果，クリプトスポリジウムは 140 試料中 60 試料（43%），ジアルジアは 75 試料中 20 試料（27%）について遺伝子型の同定に成功した。限定された遺伝子型は，すべてがヒトへの感染報告が存在するものであった。

第 104 回雑誌会

（August 6，2010）

(1)炭素，窒素安定同位体自然存在比による河川環境の評価

高津 文人，川口 洋一，布川 雅典，中村 太士

応用生態工学 **7,** 201-213 (2005).

レビュー：福田 彩子

高度経済成長期以降，大幅な河川改修に伴い河川環境は大きく変化してきた。北海道の標津川では，過去 40 年間で急速に変化した自然環境の復元を目的として，試験的な蛇行復元の実験が行われた。同時に，この復元事業の河川生態系への影響を，事業実施前と後で比較を行い評価することが求められた。現在，河川環境は河川の生物だけでなく物理構造，水質，生物という相互作用しあう各環境要素の総体として捉えられている。したがって，河川環境の診断を総合的に行うには，これらすべての環境要素の変化を解析しうるパラメーターが望ましい。安定同位体比測定法はこれらの要求を満たしているため，生態系のモニタリングの最も簡便で正確な方法の一つとなりうる可能性を十分に保持している。そこで，蛇行復元実験が行われた標津川を例に同位体比による解析の有効性を調査した。

対象は，実験以前から存在する直線河川である標津川と，標津川の河跡湖である。解析を行った結果，川跡湖には植物プランクトンからはじまる食物連鎖が存在し，それが魚類群集を支えている。一方，標津川本川の魚類群集は，付着藻類や流下粒状有機物を餌資源とする水生昆虫によって支えられていることがわかった。標津川本川では，河口からの遡上や，上流から移動してきたと考えられる魚類個体が見られた。また，水草や大型藻類からはじまる食物連鎖が川跡湖には存在するが，本川には存在しなかった。以上のことから，止水生態系と流水生態系という物理環境の大きく異なる 2 つの食物網構造の評価には，同位体解析が有効であることが示された。

(2) 二症例より分離された多剤耐性緑膿菌に関する細菌学的検討

本田 雅久，関 洋之，麻生 啓子，田邊 忠夫，荒谷 清，大田 俊行，池野 貴子，李 静香，村谷 哲郎

産業医科大学雑誌 **27**, 209-217,(2005).

レビュー：林 みゆき

近年，多剤耐性緑膿菌（multiple-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* : MDRP）が国内外の施設で分離されてきている。緑膿菌は病院内では水回りなどに生息しており，重要な日和見感染の原因菌の一つとして認識されている。最近, 院内感染や集団感染による死亡事例も報告されており，社会的にも関心が集まっている。そこで本研究では，産業医科大学病院における MDRP の分離状況を調査し，検出された症例の臨床経過と細菌学的検討を行った。

2003 年 1 月～10 月に分離された緑膿菌のうち, 薬剤感受性試験の依頼があった 848 株を対象とした。MDRPは 2 つの症例から分離され，症例 1 はカテーテル尿より 2 株，症例 2 は膿より 5 株分離された。2 つの症例について疫学的解析を行ったところ，血清型において症例 1 から分離された菌株はB型，症例 2 から分離された菌株はE型であった。また，パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）についても異なったバンドパターンが示され，2 症例には交叉性がないことが確認された。そして，PCRを行った結果，症例 1 から分離された 2 株はどちらもメタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子（bla_{IMP}）を保有していたが，症例 2 から分離された株はbla_{IMP}を保有していなかった。この遺伝子は院内感染原因菌として警戒されているため，保有が見つかった場合，十分な伝搬防止対策が必要である。さらに，症例 2 から分離された株において，同じクローンと考えられるピオメラニン産生株のimipenem（IPM）およびmeropenem（MEPM）のMIC値を時系列的に観察したところ，徐々に耐性化していることが確認され，この要因として，カルバペネム系抗菌薬の長期使用による外膜の変異などの耐性機構の関与が考えられた。

(3) Cryptosporidium surveillance and risk factors in the United States

Yoder, J. S. and Beach, M, J.

Experimental Parasitology, **124**, 31-39 (2010).

Reviewed by A. Hiramatsu

クリプトスポリジウムは，少ない摂取量で発症し，長期にわたって感染力を保持する。その上，塩素に高い耐性を持つことから人や動物の間において伝染する能力が非常に高く，大きな問題となっている。アメリカにおいて，1994 年に初めてクリプトスポリジウム症の一年間を通したデータが収集された。そこで本論文では，この収集されたデータからクリプトスポリジウム症の特徴や危険因子について検討した。

クリプトスポリジウム症の調査結果において，2004 年までは比較的に安定していたが，2005 年から感染件数が著しく増加していた。この増加の原因としては，発生率の実質的な増加の他に，調査の改善やクリプトスポリジウム症の認知などが挙げられる。地域差はあるものの，クリプトスポリジウム症は，アメリカ全域で増加していることが示された。さらに，クリプトスポリジウム症の発症は夏季の間の特に低年齢の幼児に対して頻発する傾向があった。また，クリプトスポリジウム症の危険因子としては，汚染されたレクリエーション水域，飲料水や食物の摂取，感染した動物への接触，あるいは病気が流行している地域への旅行が関係していると考えられた。クリプトスポリジウム症の防止と管理には，水，食物，感染した人，もしくは動物との接触によるクリプトスポリジウム症の伝染を遮断する継続的な取り組みが必要である。特に，飲料水処理におけるモニタリング，処理構造や作用を進歩させていくこと，公共のプールやレクリエーション水域のマネジメントを改善していくことが重要となってくる。

第 105 回雑誌会

(Sep 10, 2010)

(1) Concentration of viruses from environmental waters using nanoalumina fibers filters

Li, D., Shi, H. C., and Jiang, S. C.

Journal of Microbiological Methods, **81**, 33-38 (2010)

Reviewed by T. Kobayashi

人の健康に被害を及ぼすウイルスをモニタリングするためには，環境水中からウイルスを迅速かつ高効率で検出する方法を開発することが必要である。しかしながら，ウイルスは極低濃度で環境水中に存在するため，ウイルス検出は困難となる。したがって，ウイルス検出の感度を高めるためには，多量の水からウイルスの濃縮が必要不可欠である。そこで本研究では，ナノアルミナファイバー陽電荷膜とセルロース膜である HAWP 陰電荷膜を比較し，ウイルス濃縮に関する評価を行なった。対象として，遺伝子組み換えアデノウイルスを使用した。異なる濃度のウイルス液を添加した海水（最大 10L），逆浸透膜処理海水（RO 水，1L）および下水二次処理水（1L）を通水し，ナノアルミナファイバー膜では 3%ビーフエキスを，HAWP 膜ではビーフエキスと NaOH（pH 10.8）を用いて抽出を行った。感染性ウイルスの測定は蛍光標示式細胞分取（FACS），ウイルスゲノムの測定は定量 PCR 法で行なった。

0.1pfu/ml と 1pfu/ml のウイルスを添加した場合，1pfu/ml を添加した方が，ナノアルミナファイバー膜による感染性ウイルスの回収率（回収率）は高かった。1pfu/ml ，3%ビーフエキス（pH 6.0）の条件で RO 水が最も高い回収率値を示し，91±12%であった。また，ウイルスゲノム回収率（ゲノム回収率）は他のサンプルと比較して，RO 水が最も高く 36±10%であった。ナノアルミナファイバー膜と同様に, HAWP 膜も 1pfu/ml を添加した条件において高い回収率の結果が得られた。3%ビーフエキス（pH 9.0）と NaOH（pH 10.8）はいずれも他のサンプルよりも RO 水における回収率が最も高く，それぞれ 82±7 および 90±8%であった。NaOH（pH 10.8）を用いた条件において，RO 水のゲノム回収率は最も高く，66±14 %であり，ビーフエキスを使用した条件よりも高い結果が得られた。

⑵閉鎖性海域における水環境分析～陸域の荒廃による沿岸海域の水環境汚染～

蛭間　豊春

東亜大学紀要 **7,** 27-36 (2006).

レビュー：甲斐　竜輔

閉鎖性海域の水環境は，周辺陸域の生活や生産活動の影響を最も受けやすい。2000 年の 12 月末，有明海に異変が起き，養殖のりの色落ち被害が発生した。その原因が当時の諫早湾の締め切り工事が影響で有明海の流況メカニズムに変化を与え，生態系や水環境に影響を及ぼしたものと有職者による議論が沸騰した。しかしながら，この施設が主原因であるといったことも解明されていない。本研究では，有明海の水環境の悪化が陸域側の生活や社会生産活動からの定常的な汚濁負荷量の排出と，自然災害や流域開発による非定常的な汚濁負荷量の排出にあるものとして捉えて影響因子を抽出した。これらの要因と海域の水環境との関連を重回帰分析および主成分分析を用いて影響を明らかにした。

有明海の沿岸流域の生活，社会産業活動，さらには社会状況変化，自然環境変化，大規模公共施設の建設等による影響因子を分析し，これらの要因の数量化を試みた。数量化された要因をもとに多変量解析によって閉鎖性海域に及ぼす陸域からの影響因子を抽出し，その影響度を明らかにした。その結果，有明海の水環境に強く影響を及ぼしている生活・社会産業活動因子に，自然災害，社会変動が重なり，水環境の形成に大きく影響を及ぼしたことが明らかになった。

(3) Effects of chloramphenicol, florfenicol, and thiamphenicol on growth of algae *Chlorella pyrenoidosa, Isochrysis galbana,* and *Tetraselmis chui*

Hong-thih, L., Jung-Hsin, H., Chyong-Ing, S., and Chun-Lang,C.

Ecotoxicology and Enviromental Safety. **72**, 329-334 (2009).

Reviewed by S. Kurosawatsu

抗生物質は，古くから農業や水産の分野において広範囲で使用されている。しかしながら，病気の予防や成長促進などのメリットがある一方で，その毒性が懸念されている。現在，農業排水に含まれる抗生物質が環境中に流出しているため，過度の使用や乱用が環境へ及ぼす影響に対する社会的関心が高まってきている。環境中の微細藻類は，どの生物よりも環境汚染に対して高い影響を受けることが知られている。抗生物質が，水環境中の一次生産者である微細藻類の生長や増殖を抑制するならば，河川や海洋における生態系に悪影響を与えることになる。そこで本研究では，淡水性のクロレラ，海水性のイソラリンスとテトラセルミスの 3 種類の藻類について，さまざまな分野で使用されている抗生物質である chloeamphenicol（CAP），florfenicol（FF）および thiamphenicol（TAP）のそれぞれが含まれる環境で藻類の種類ごとに培養し，その影響について検討した。

すべての抗生物質は，3 種類の藻類の生長を抑制した。また， TAP の増殖抑制濃度をクロレラとテトラセルミスで比較すると，それぞれ 1283mg/L と 38mg/L であり，藻類の種類によって抑制濃度が異なることがわかった。さらに，クロレラにおいて増殖抑制濃度を CAP と FF で比較すると，それぞれ 14mg/L と 215mg/L であり，抗生物質の違いによっても抑制濃度が異なることもわかった。したがって，抗生物質の使用に伴って，水環境中における影響について増殖抑制テストなどのモニタニング調査を注意深く行う必要であることが示唆された。

第 106 回雑誌会

（Sep 17, 2010）

(1) The Occurrence of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* on Hydrocarbon-Contaminated Sites

Kaszab, E., Kriszt, B., Atzel, B., Szabo, G., Szabo, I., Harkai, P., and Szoboszlay, S.

Environmental Microbiology **59**, 37-45 (2009).

Reviewed by S. Kajii

臨床環境において，抗生物質に耐性を有する細菌の一つに緑膿菌が存在する。緑膿菌は多数の抗生物質に耐性を示し，世界中の臨床環境で検出されている。また，臨床環境の緑膿菌の重要性に加えて，自然環境中の緑膿菌にも注意する必要がある。その自然環境中では，限られた環境において，緑膿菌が大幅に増殖する可能性がある。例えば，炭化水素に汚染された環境があげられる。しかしながら，この炭化水素汚染域での緑膿菌の発生率を調査した報告は少なく，炭化水素汚染環境中の重要性について一般的な結論は出されていない。そこで本研究では，ハンガリーの炭化水素汚染域における緑膿菌の発生率の評価を行った。また，検出された緑膿菌の抗生物質の耐性状況を調査した。

調査した炭化水素汚染域 26 地点のうち，16 地点で緑膿菌が検出された。また，炭化水素汚染土壌，および地下水の 156 サンプル中の 36 株が緑膿菌であった。薬剤耐性試験によって，緑膿菌 36 株中 11 株が少なくとも 2 系統の抗生物質に耐性を有していることがわかった。この複数の抗生物質に耐性を示した緑膿菌株が 8 つの違った炭化水素汚染域から単離されたことから，多剤耐性緑膿菌は臨床だけでなく，自然環境中にも広まってきていることが明らかとなった。

（2）ダム堆砂の河川還元材利用における環境影響

大矢 通弘，角 哲也，嘉門 雅史

ダム工学 **14(1),** 4-9 (2004).

レビュー：川野 翔

ダム堆砂のリサイクルを考える場合において，従来の骨材などの建設材料としての利用以外に，河川還元材などの環境材料としての利用拡大が期待されている。しかしながら，河川還元材として利用する場合の課題として，下流河道の局所的な堆積による治水面への影響や，排砂に伴う水質変化や微細粒子の堆積による河川環境面への影響などが考えられる。本研究では，ダム堆砂のうち，粘土・シルト分主体の細粒材を対象として，リサイクルする場合の環境影響について，主に水域の濁度発生およびセメント添加によるアルカリ溶出の 2 つを，室内試験によって調べた。なお，河川還元手法としては，一般的な浚渫−運搬−下流仮置の方法を取り上げ，細粒材は，セメント系固化剤を用いて濁水発生の少ない粗粒材料に変換したものを使った。

ロサンゼルス試験機を用いて水中すりへり試験を行った結果，回転数によって濁度・pH・水温のそれぞれが上昇した。特に試験前後では，粒子の破砕形態が粒度分布に影響を与え，濁度や pH の発生状況に差異を及ぼす可能性が示された。また，流水による浸食試験を行った結果，粒状化処理の場合は塊状粒子が転がる形で下流に流出し，濁度発生が抑制されることがわかった。特に，下流方向に 100ｍの長さで仮置きして河川還元する場合，推定される 100ｍ当たりの発生濁度は，無処理の場合は約 40,000ppm に対して，粒状化処理をした高圧脱水処理の場合は濁度の発生はみられなかった。また，ダム堆砂を通常の高圧脱水処理したものは 6,000ppm 程度，低圧脱水処理でも 9,000ppm 程度に発生濁度を抑制できることがわかった。以上の結果から，適切な処理によって細粒材の河川還元リサイクルの可能性が大いに高まることが明らかとなった。

第 107 回雑誌会

(Sep 24, 2010)

(1) Comparative evaluation and economic assessment of coprological diagnostic methods and PCR for detection of *Cryptosporidium* spp. in bovines

Paul, S., Chandra, D., Tewari, K. A., Banerjee, S. P., Ray, D. D., Boral, R., and Rao, R, J. Vaterinary Parasitology, **164**, 291-295 (2009).

Reviewed by A. Hiramatsu

クリプトスポリジウム症は，健康悪化につながる，下痢，発熱，けん怠感，食欲不振に関係する急性の胃腸障害を特徴とする病気である。この病気の従来の診断法として，染色したふん便標本の顕微鏡検査を基本にする方法が挙げられる。クリプトスポリジウム症に対する従来の診断法に関するこれまでの研究は，主に，ふん便試料 1g あたりの検出限界が報告されている。標準試験と比較して，精度に関して研究所で用いられる診断検査の能力を評価することは必要不可欠である。そこで本研究では，標準参考試験として 18S SSU rRNA 遺伝子を標的とする PCR 分析と従来法として，direct faecal smear staining (DFSS)，normal saline sedimentation staining(NSSS)，Sheather’s floatation (SF)そして Sheather’s floatation sedimentation staining (SFSS)の 4 つのふん便診断法の精度を比較することとそれぞれの手法の効率性を評価した。

新生児の子牛から採取された 457 のふん便試料の中で, PCR において 138 試料が陽性を示した。それに対して，DFSS では 65 試料，NSSS では 92 試料，SF では 82 試料，そして SFSS では 109 試料でそれぞれ陽性を示した。また，費用については DFSS が最も安価であり，続いて NSSS ，SF そして SFSS の順に費用が高くなった。さらに，４つの従来法それぞれに用する時間は，100 分以内に完了した。4 つ従来法の中で，SFSS が最も感度と特異性が高いことがわかった。

（2）Validation ad field testing of library-independent microbial source tracking methods in the Gulf of Mexico

Harwood, V. J., Brownell, M., Wang, S., Lepo, J., Ellender, R. D., Ajidahun, A., Hellein, K. N., Kennedy, E., Ye, X. and Flood, C.

Water Research, **43**, 4812-4819 (2010)

Reviewed by T. Furukawa

ふん便汚染源追跡手法（MST）の開発は，水環境における主要な汚染源の特定が可能となり，健康リスク評価の改善につながる。本研究では，標準化および正当化されたMSTの手法の開発を目的として, Library-independent法に分類される 3 種のMSTマーカー（human-associated *Bacteroidales*, human polyomavirus（HPyVs），および*Methanobrevibacter smithii*）を用いて感度，特異性，および検出下限値を評価した。下水流入水を用いた感度実験において，すべてのマーカーが 100%の検出感度を示した。また，特異性実験では，HPyVsマーカーにおいて非ヒト起源のふん便試料に陽性を示すことはなく，特異性 100%と評価された。*Bacteroidales*および*M. smithii*の特異性は，それぞれ 96%および 98%であった。検出下限値実験では，*Bacteroidales*が最も低く 10^{-5}～10^{-6}の希釈倍率においても検出された。HPyVsおよび*M. smithii*の検出下限値は，よりも 1～2 オーダー高く，いずれも 10^{-3}～10^{-4}であった。本実験で用いた 3 種類のMSTマーカーは，十分な正確性および信頼性を示すことができた。各種MSTマーカーは特異性や検出下限値に若干の違いがあったため，実際にフィールド調査を実施する際には，複数のマーカーを同時に適用することが必要であると考えられる。

(3) Identification of plant-associated enterococci

Muller, T., Ulrich, A., Ott, E. M. and Muller, M.

Journal of Applied Microbiology **91**, 268–278 (2001).

Reviewed by N.Kanda

腸球菌はヒトや温血動物の腸内の支配菌であり，レクリエーションエリアにおける指標菌である。また，院内感染の原因となる菌として，その薬剤耐性は注目されている。これらのことから，すでに多くの都市排水や臨床における腸球菌は研究されている。しかしながら，植物に関連する腸球菌のコロニーについては比較的研究されていない。そこで本研究では植物関連の腸球菌種の特徴を調査・分類した。また，腸球菌臨床株と比較することによって薬剤耐性を調査した。

植物をミキサーで均質化した後，SB 寒天培地を使用し単離した。単離された菌株について腸球菌試験を行った。ほとんどの菌株は 45℃で成長しないことを除けば，一般的な腸球菌の特徴を示した。次に全細胞タンパク質分析によって菌種を同定した。しかしながら，単離株の約半分が全細胞タンパク質分析では分類できなかったため，16SrDNA 解析を行った。16SrDNA 解析では遺伝子型Ⅰ～Ⅷに分類され，遺伝子型Ⅰ，Ⅲ，Ⅳ，Ⅴ，Ⅷはそれぞれ *Enterococcus faecium*，*E. mundtii*，*E. casseliflavus*，*E. faecalis*，*E. sulfureus* に分類された。全細胞タンパク質分析では特定できなかった菌株の遺伝子型Ⅵは，*E. faecalis* と強い類似性を示した。遺伝子型Ⅶは多くの腸球菌種と類似性を示したが，特定の菌種との関連性を示さなかった。次に薬剤耐性試験を行った。すべての菌株にバンコマイシンに耐性がなく，ほとんどの菌株はゲンタマイシンとストレプトマイシンに耐性があった。以上の結果から，植物関連の腸球菌はまだ不明な点が多いといえる。

第 108 回雑誌会

(October 1, 2010)

(1)ホルスタイン種新生子牛とその親牛，ならびに飼育環境から分離された多剤耐性大腸菌株の分子疫学的解析

岩崎 健，金城 千順，日越 博信

琉球大学農学部報告 **51**, 9-16,(2004).

レビュー：林 みゆき

子牛の下痢症は，新生子牛に多発し，家畜の生産性を阻害する。筆者らはホルスタイン種の新生子牛に対する多剤耐性大腸菌の汚染源や伝播様式を探るため，新生子牛とその親牛，ならびに子牛房内設備や子牛房近傍で飼育された成牛や子牛から分離された薬剤耐性大腸菌の薬剤耐性型をもとに，由来の異なる各菌株間の関連性を調査した。その結果，生後 7 日齢の子牛は，飼育環境に存在する耐性菌の影響を受け薬剤耐性を獲得すると推定された。しかしながら，従来の表現型別法による菌株の識別方法では，細菌の識別能力，再現性，および安全性の観点から，確実な菌株の識別が困難である。そこで今回，詳細な解析が可能なプラスミドプロファイルおよびパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)法による分子疫学的解析を行い，汚染源の特定を試みた。

プラスミドプロファイル解析では，I 型からIX型の 9 種類に分類できたが，プラスミド DNA を保有していない菌株が認められた。PFGE 法では供試した 120 株から 49 種類の泳動パターンが認められ，プラスミドファイルと比較して高い識別力を示した。分析の結果，A 子牛由来の菌株と非常に近縁度の高い菌株が，床，飼槽，おがくず，および給水器などの子牛房内設備や，子牛房近傍で飼育されている子牛から分離された。一方，B 子牛由来の菌株と近縁関係にある菌株は，今回調査した B 親牛，A 子牛，A 親牛，子牛房内設備のいずれからも分離されなかった。また，A，B 各親子間に近縁度の高い菌株は認められなかった。これらのことから，新生子牛に対する多剤耐性大腸菌の汚染源として，子牛房内設備や飼育環境が関与することが示唆された。

(2)湖底堆積物中の有機炭素含有率と湖水中の生物生産性，および気象要素との関係—長崎県，木崎湖における 21 年間の湖沼観測からの検証—

公文 富士夫，金丸 絹子，田原 敬治，角田 尚子，山本 雅道，林 秀剛

地質学雑誌 **111,** 599-609（2005）.

レビュー：濱崎 祥大

湖沼堆積物の有機炭素（TOC）および全窒素（TN）の含有率は，気候の変動をよく反映していることが最近の研究で判明しつつある。しかしながら，どのようなメカニズムで気候の変動が湖沼堆積物中の有機炭素含有率の変動に反映するか，という点については十分に検証されていない。そこで本研究では，長野県北西部にある木崎湖において，過去 21 年間の観測データから，堆積物中の TOC 含有率，湖沼生産性および気象要素との関係を予察的に検討した。

TOC 含有率の経年変化，クロロフィル a 量，および冬の平均気温の経年変化は，よく似た変動を示した。冬季のクロロフィル a 量の多少が，年間クロロフィル a 量を支配しており，そのことから冬の気温が年間のクロロフィル a 量に影響を与えると考えられた。TOC 含有率，クロロフィル a 量，および気象要素との相関においては，前 2 者の間の相関係数は 0.50 であった。また，TOC 含有率と冬の平均気温との間にも相関係数 0.44 が得られた。TOC 含有率の 3 年ごとの移動平均，冬の平均気温とは相関係数 0.67 の高い正の相関が認められた。冬の平均気温が TOC 含有率との間に安定して正の相関があることから，冬の気温が湖底堆積物中の TOC 含有率に影響をおよぼすプロセスのあることが示唆された。

(3)FISH 法－蛍光抗体染色法を併用したクリプトスポリジウムの判別の容易化

橋本 温，森田 重光，平田 強

水環境学会誌　**32**(5)：267～272 (2009).

レビュー：瀧田 敏之

クリプトスポリジウム試験では，水試料を濃縮・選択分離した後，蛍光抗体染色と DAPI 染色を施し，落射蛍光顕微鏡による染色像と微分干渉象の観察が行われる。しかしながら，判別の制度が顕微鏡観察者の熟練度に大きく依存することや，種や遺伝子型の情報や生活活性に関する情報が得られないことなど, 試験法上の限界が存在するうえで運用されてきた。そこで本研究では，FISH(Fluorescence *in situ* Hybridization)法を現行の試験法に併用し, 遺伝子の一致性と生育活性に関する情報を得ることを可能にし，判別の精度および操作性の向上を目的とした。FISH 法は，蛍光色素を付加したプローブを用い，目的の遺伝子とハイブリダイゼーションさせ蛍光顕微鏡を用いて検出する方法で，微生物の群衆構造を解析する手法である。そこで，現行の染色との併用を確認した後，オーシストへの染色性から生育活性の評価について考察を行った。

今回試験した条件で実用可能なプローブは，クリプトスポリジウム属の検出同定用の PCR 法で配列プライマーとして用いられている配列のプローブ(DIAG-CRYR1)であり，プローブ濃度は 100ng/µl，反応温度は 25℃とした。FISH 法の後，蛍光抗体染色と DAPI 染色を施したところ，クリプトスポリジウムに特異的な配列の RNA が染色された。G 励起で観察すると赤色の蛍光が観察され，検査者の負担を染色性という一つの客観的な結果を加えることで軽減できた。FISH 法による生育活性の評価については，核酸の減衰と細胞の生死にタイムラグが確認された。そのため，死滅直後のオーシストを生存と判定してしまうおそれがあるが，これを考慮した上で有用な情報を得る手段として有効である。今後は，遺伝子型識別用のできる FISH 用プローブを作成することで，遺伝子型ごとの分布の汚染源に関する情報や，ヒトへの感染性に関する情報などを得ることができ，水中のクリプトスポリジウム対策の極めて重要なツールとなりうることが示唆された。

第 109 回雑誌会

（October 8, 2010）

(1)炭素，窒素安定同位体分析による河川底生動物群集の栄養構造の解明
－宮城県広瀬川流域を例として－

山本 直樹，渡辺 幸三，草野 光，木村 達夫

水環境学会誌 **28,** 385-392 (2005).

レビュー：福田 彩子

河川底生動物の生息種や個体数は，環境中に存在する餌資源の種類や量により異なる。河川では上流から下流にかけて餌環境が大きく変化するため，群集の栄養構造は流域内の地点間で違いが生じる。上流の森林域では落葉の増加や，日射の遮蔽により藻類の生産が制限され，落葉等の外来性有機物にエネルギー依存した栄養構造が形成される。逆に，中流から下流の河川が開けた地点では，河川水中で生産された藻類等の内部生産有機物に依存した栄養構造へと変遷していく。また，ダム直下などは人為的影響により餌環境が変化することも多い。本研究では，宮城県広瀬川の上流から下流の 3 地点とダム直下において，河川底生動物とそのエネルギー源（藻類・落葉・Course Particulate Organic Matter（CPOM）・Fine Particulate Organic Matter（FPOM））の炭素・窒素安定同位体比を測定し，各地点の外来性および内部生産有機物の量的変化とそれに伴う群集のエネルギー依存の関係を調べた。また，各地点のバイオマスピラミッドの形状から，群集内のエネルギー分布の特徴について考察した。

測定結果は，ダム直下のFPOMの内部生産依存率が 4 地点の中で最低となった。これに起因して，ダム直下の底生動物群集の総内部生産依存率も最も低かった。また，上流・中流・下流に生息する底生動物群集の内部生産依存率は，3 地点共にFPOMの内部生産依存率が最も高かった。これは，FPOMを捕食する濾過摂食者のバイオマスが，総バイオマスの約 80%を占めたためであると考えられる。δ^{15}Nをもとに推定された底生動物群集のバイオマスピラミッドから解析すると，中位の栄養段階のバイオマスが下位のバイオマスよりも高くなっていることがわかった。これは，下位の消費者や生産者が中位の消費者より高い生産速度や高い回転率を持っているからであると考えられる。

(2)八代海における植物プランクトンの増殖に与える水温，塩分および光強度の影響

紫加田　知幸，櫻田　清成，城本　祐助，生地　暢，吉田　誠，大和田　紘一

日本水産学会誌 **76(1),** 34-45 (2010).

レビュー：甲斐　竜輔

近年，八代海において，夏季にはラフィド藻(*Chat-tonella antique)*や過鞭毛藻(*Cochlodinium polykry-choides*)などの有害プランクトンの赤潮による養殖魚介類の斃死，冬季には *Skeletonema* 属や *Rhizosolenia* 属などによるノリの色落ちなど, 植物プランクトンの大増殖に起因する漁業被害の発生が問題となっている。これらの被害を防除し，八代海において持続的な漁業生産を行うために，まず植物プランクトンの発生機構を解明することが重要である。そこで本研究では 2008 年度の現場調査の情報をもとに，室内において異なる水温，塩分および光強度下での植物プランクトンの増殖特性を調べ，環境条件と植物プランクトンの関係について解析を試みた。

八代海において，水温や塩分は植物プランクトンの季節的動態を制御する重要な環境条件である。しかしながら，塩分が極めて低くなる場合を除けば短期的な動態を強力に規制する環境条件は他に存在する可能性が示唆された。また，限界水深 *HIa* が高く，水中深くに強い光が透過した直後に珪藻の細胞密度が増加し，逆に *HIa* が低く水中に光が透過しにくい時期に珪藻は直ちに衰退した。このことから，降雨による急激な塩分低下に加え，水中の光強度が珪藻類の短期的変動を引き起こす重要な環境条件の一つであると考えられる。本研究およびこれまでの研究から，八代海の植物プランクトンの季節的動態には水温や塩分が影響し，短期的変動の場合には，急激な塩分の変化および水中の光強度の変動が影響することが示された。

第 110 回雑誌会

（October 22, 2010）

（1）Genetic diversity of *Escherichia coli* isolates in irrigation water and associated sediments: implications for source tracking

Lu, L., Hume, M. E., Sternes, K. L., and Pillai, S. D.

Water Research, **38**, 3899-3908 (2004)

Reviewed by T. Furukawa

河川や湖沼におけるふん便汚染の汚染源を特定することは，環境保全や食品の安全性を確保するために極めて重要である。これまでの研究において，灌漑用水中にはふん便由来の病原性微生物（*Escherichia coli*，クリプトスポリジウム等）の存在が確認されている。灌漑用水は，農業生産物の細菌学的な安全性に直接的に影響するため，用水におけるふん便汚染の汚染源を特定することは必要である。本研究では，灌漑用水路の用水と堆積物から単離した大腸菌について，PFGE 法を用いた遺伝子型解析を行った。さらに，灌漑用水中における大腸菌の遺伝子型の時間的な変化についても検討した。

11 地点の灌漑用水路の用水と堆積物から単離した大腸菌 50 株は，多様な遺伝子型を示した。同地点から異なる採取日に採取した試料から単離した大腸菌が遺伝的に類似の PFGE 型を示す一方で，同地点・同日の試料から単離した大腸菌が，遺伝的に相違な PFGE 型を示す場合もあった。実験室において行った灌漑用水に大腸菌を接種し，細菌数と PFGE 型の変化を検討した大腸菌生存性試験では，細菌数は平均で 4 オーダー減少したものの高い生残性を示した。また，試験に供した大腸菌 3 株中 1 株において，8 週目で PFGE 型の変化が認められた。この変化は，遺伝子型の突然変異あるいは再結合が原因として考えられる。したがって，水環境において長期間生存した大腸菌は PFGE 型が変化する可能性があり，汚染源追跡において考慮する必要がある点である。

(2) Comparison of different concentration methods for the detection of hepatitis A virus and calicivirus from bottled natural mineral waters

Pasquale, S. D., Paniconi, M., Auricchio, B., Orefice, L., Schultz, A. C. and Medici, D. D.
Journal of Virological Methods, **165**, 57-63 (2010)

Reviewed by T. Kobayashi

腸内ウイルスは胃腸炎の主な原因であり，水を介した感染が多く報告されている。近年，市販のミネラルウォーターからウイルスの検出が報告されており，人間の健康に影響を及ぼす可能性が増加している。ミネラルウォーター中に低濃度で存在するウイルスを正確に測定するためには，高感度で迅速な検出法が重要である。そこで本研究は，4 種類の膜と 2 種類の濃縮操作を用いて，ミネラルウォーター中のウイルスの濃縮・回収に関する評価を行なった。

モデルウイルスとして hepatitis A virus（HAV）と feline calicivirus（FCV）を使用した。濃度の異なるウイルスを添加したミネラルウォーターを陽電荷膜（ポリアミド膜，孔経 0.45μm，ダイアトマイト膜，孔経 0.20μm）および陰電荷膜（ニトロセルロース膜，孔経 0.45μm，ニトロセルロース膜，孔経 0.22μm）に通水した後，濃縮操作として遠心分離と限外ろ過を行なった。続いて，遠心分離後に QIAamp viral RNA mini kit（Qiagen）を，限外濾過後に MiniMag（BioMerieux）を用いて RNA を抽出した。ウイルスの定量には RT-rt-PCR 法を用い，得られた立ち上がりサイクル数（Ct 値）から回収率を評価した。

高濃度の HAV を添加した条件では回収効率は，陽電荷ポリアミド膜（Ct 値 21.79±0.75）と陰電荷ニトロセルロース膜（Ct 値 21.17±0.57：0.45μm，21.42±0.49：0.22μm）の間に有意差は認められなかった。しかしながら，陽電荷ダイアトマイト膜（Ct 値 22.21±0.46）は，他の膜と比較して回収効率が低かった。また，遠心分離によるウイルスの回収率は，HAV と FCV でそれぞれ 0.32%と 0.49%であり，限界ろ過による回収率は，HAV と FCV でそれぞれ 0.02%と 0.03%であった。これらの結果より，膜の帯電と孔経はウイルスの回収効率に関係がなく，濃縮操作には遠心分離を用いると回収率が高いということが示唆された。

(3) Characterization of enterococci populations in livestock manure using BIOLOG

Graves, A., Weaver, R. W., Entry, J.

Microbiological Research **164**, 260–266 (2009).

Reviewed by N.Kanda

家畜の糞便による表流水域の汚染はかなり深刻である。腸球菌は，糞便汚染の指標として広く利用されており，腸球菌の単離株を利用した多くの汚染源を追跡する手法が発展されている。これらの手法の多くは過去のデータに依存しているため，データベースとなるライブラリのデータを増やす必要がある。ライブラリにはハト特有の *Enterococcus columbae* やロバ特有の *E. asini* といった腸球菌種についてのデータがある。しかしながら，ウシ，ヒツジおよびウマ等の家畜特有の腸球菌種についてのデータはない。そこで本研究では，家畜特有の腸球菌種について，追跡の精度が高い方法とされる BIOLOG による菌種の特定を行った。また，乾燥した糞便が水域汚染の原因であるとの報告もあるため，試料にはウシ，ウマおよびヒツジの新鮮な糞便と乾燥した糞便を用いた。

試料はリン酸緩衝液に混合後，ろ過を行い，mE 培地で培養した。培養後，エスクリン培地によって培養した菌株を単離株とした。次に腸球菌試験を行い，単離株がグラム陽性，カタラーゼ陰性を示し，6.5%NaCl，45℃，pH9.6 に耐性があることを確認した。その後，BIOLOG を行い，菌種を特定した。家畜動物全体では新鮮な糞便において，*E. casseliflavus* と *E. mundtii* がそれぞれ 36%と 35%，乾燥した糞便においてそれぞれ 51%と 28%と大きな割合を占めた。これに対してその他の菌種の割合は 10%未満であった。また，ウシ，ウマおよびヒツジを個別に見ても，それぞれ *E. casseliflavus* と *E. mundtii* が主要な菌種であった。さらに，放牧されたウシの糞便と牛舎のみで飼育されたウシの糞便を比較すると，牛舎のみで飼育されたウシの新鮮な糞便においてのみ *E. casseliflavus* と *E. gallinurum* が主要な菌種であった。