

第 111 回雑誌会

(Oct 29, 2010)

(1) Global *Pseudomonas aeruginosa* biodiversity as reflected in a Belgian river

Pirnay, J., Matthijs, S., Colak, H., Chablain, P., Bilocp, F., Eldere, J. V., Vos, D. D., Zizi, M., Triest, L., and Cornelis, P.

Environmental Microbiology 7, 969-980 (2005).

Reviewed by S. Kajii

緑膿菌は、水、土、植物あるいは動物を経由して生態環境に広く生息している。ヒトの体内に生息する緑膿菌は、嚢胞性線維症、火傷および癌などの病気に関係してくる日和見細菌の一種であり、易感染性患者にとって重大な問題となっている。しかしながら、病院内以外での緑膿菌の発生が世界中で報告されてきている。既往の研究では、世界中の臨床または環境から単離された緑膿菌の生物学的多様性の分析を行い、異なった地域、環境においても生物学的多様性がほぼ同じであることがわかった。そこで本研究では、サンプル地点をベルギーのWoluwe川に限定して、緑膿菌の生物学的多様性を分析して、比較検討した。

7カ所のサンプリング地点のうち、多くの下水管が合流する地点において、緑膿菌は最大濃度 134cfu/ml であった。選択培養にて緑膿菌と判定された株について、ランダムに選んだ 100 株を *oprL* PCR 試験した結果、65 株が緑膿菌と確認された。また、この 65 株について、AFLP pattern, serotype および PVD type を用いて分析したところ、35 タイプに分類することができた。さらに、既往の研究の緑膿菌と比較を行った結果、本実験で得られた緑膿菌の母集団の生物学的多様性は、ほぼ同一であった。加えて、薬剤耐性試験を行った結果、院内で単離された薬剤耐性緑膿菌と比較すると、1 株を除いて、MIC 値は比較的低いものであった。

(2) *Cryptosporidium* Source Tracking in the Potomac River Watershed

Yang, W., Chen, P., Villegas, E. N., Landy, R. B., Kanetsky, C., Cama, V., Dearen, T., Schultz, C. L., Orndorff, K. G., Prelewicz, G. J., Brown, M. H., Young, R. K., and Xiao, L. *Applied and Environmental Microbiology*, **74**, 6495-6504 (2008).

Reviewed by A. Hiramatsu

先進国において水系クリプトスポリジウム症は、公衆衛生の大きな問題の一つである。*Cryptosporidium* oocyst は水環境中で生存が可能であり、検出の感度や水環境中の *Cryptosporidium* oocyst の分類が、水資源管理やリスク評価に極めて重要である。アメリカ中部太平洋地域に位置する重要な給水源であるポトマック川の水処理プラントすべてに共通した懸念の一つが *Cryptosporidium* である。そこで本研究では、*Cryptosporidium* をターゲットに水資源保護の取り組みを改善していくため、*Cryptosporidium* oocyst の主な発生源を特定する目的で、ポトマック川流域のモニタリング研究プロジェクトが実施された。ポトマック川流域の *Cryptosporidium* oocyst 源を追跡するため遺伝子型解析（PCR-RFLP とシーケンシング解析）を用いた。

2006年の10月から2008年の2月までの間、晴天時に64試料、荒天時に28試料を採水し、顕微鏡法及びSSU rRNA ベースのPCR法で *Cryptosporidium* 陽性試料数を調べた。顕微鏡法では8試料でしか検出されなかったが、PCR法では50の水試料で検出が確認された。さらに、陽性試料では陰性試料より濁度、大腸菌数ともに高い結果となった。畜産農場の下流の4か所の採水地点すべてで *C. andersoni* が優占種と認められ、畜産農場が河川の *Cryptosporidium* oocyst 源であることが推察された。現在の標準法は、病原種か非病原種かどうかを区別することはできない。そのため、ヒトへの健康影響を過大評価してしまう可能性があると考えられた。

第 112 回雑誌会

(November 4, 2010)

(1)無菌病棟における自動おしぼり機に関連した *Stenotrophomonas maltophilia* によるアウトブレイク

三宅 典子, 下野 信行, 前原 依子, 権藤 多栄, 長崎 洋司, 内田 勇二郎,
村田 昌之, 林 純

環境感染誌 **24**(6), 381-387(2009).

レビュー：林 みゆき

Stenotrophomonas maltophilia は、緑膿菌と同じグラム陰性ブドウ糖非発酵菌の一種で、環境の水周りに多く存在する。また、悪性疾患や長期入院、広域抗菌薬投与などの危険因子を持つ免疫抑制患者においては、一旦発症すると致死的となる日和見病原体として重要である。2007年6月、九州大学病院において、無菌病棟に入院中の5人の患者の血液およびその他の部位から *S.maltophilia* が分離され、そのうち2名から菌血症が認められた。そこで今回は、無菌病棟の水周りを中心とした環境調査の実施と分子疫学的解析を行い、その感染経路について検討した。

無菌病棟内の水周りの環境調査を行った結果、風呂場の椅子、シャワーヘッド、および自動おしぼり機から同菌が分離された。そこで、患者から分離された *S.maltophilia* の4株と、環境調査で分離された *S.maltophilia* の4株に対して分子疫学的解析を行った。すると、菌血症を発症した2名の血液分離株、および自動おしぼり機内の貯留水の分離株が一致し、自動おしぼり機に関連した医療関連感染が考えられた。また、院内30か所に設置されたすべての自動おしぼり機に貯留していた水の培養の結果、すべての自動おしぼり機から $1 \times 10^3 \sim 10^7$ cfu/ml以上のブドウ糖非発酵菌を含めた多くの菌種が分離された。今回のアウトブレイクによって、自動おしぼり機が医療関連感染の原因となり得ることが判明した。

(2) ダム湖におけるマンガンの付加源と低湿からの溶出因子の推定

伊藤 歩, 遠田 和弘, 相澤 治郎, 海田 輝之

水環境学会誌 **31**, 635-641 (2008) .

レビュー：濱崎 祥大

水源として利用される湖沼や貯水池では、マンガンが水道水質基準値や水質環境基準の要監視項目指針値を超過して検出されることがある。高濃度のマンガンが検出される原因としては、マンガンを含む地下水の湖底からの湧出や、底質からのマンガンの溶出が考えられる。そこで本研究では、水質および底質調査の結果に基づき、綾里川ダムの底層部における溶解性マンガンと関連性の高い金属の抽出と、そのマンガンの負荷源の推定を行った。さらに、底質を構成する岩石と堆積物からの金属の溶出実験を行い、底質からのマンガンの溶出に及ぼす共存金属イオンの影響について検討した。

綾里川ダム底層部において溶解性マンガン濃度と相関の高い金属は、鉄を除くと、カルシウムであった。底質を構成する岩石と堆積物の双方からマンガンとカルシウムが溶出した。堆積物と岩石を混合した場合、それぞれ単独の場合と比較して、マンガン溶出量は増加するが、カルシウムと鉄(Ⅱ)イオンの溶出量は減少することがわかった。さらに、鉄(Ⅱ)イオンの共存によって、岩石からのマンガン溶出が増加した。また、比較的高濃度のカルシウムイオンとのイオン交換が生じ、堆積物からのマンガンの溶出が促進することがわかった。以上のことから、岩石から溶出するカルシウムや堆積物から溶出する鉄(Ⅱ)イオンは、底質からのマンガンの溶出を促進することが明らかになった。

第 113 回雑誌会

(November 19, 2010)

(1)消光型蛍光プローブを用いたリアルタイム PCR 法による水中のクリプトスポリジウムの定量および種別判定手法の開発

真砂 佳史, 小熊 久美子, 片山 浩之, 大垣 眞一郎

環境工学研究論文集 41(3), 14~19 (2004)

レビュー：瀧田 敏之

水中のクリプトスポリジウムの検出において、ヒトへの感染リスク評価の観点から、定量だけではなく、その種や遺伝子型に関する情報を同時に得ることが強く望まれている。そこで本研究では、クリプトスポリジウムの 18SrDNA を対象とした Quenching Probe PCR 法（以下 QP-PCR 法）による、水中のクリプトスポリジウムを高精度・高感度で定量する手法の開発について試みた。また、得られた PCR 産物を Restriction Fragment Length Polymorphism(RFLP)法に適応することによって、クリプトスポリジウムの種を判別した。QP-PCR 法は既存のリアルタイム PCR 法で用いられる TaqMan PCR 法と比較して、さらに長い塩基配列に対して適応できるとされている。

QP-PCR法では、初期DNA添加量 $6 \times 10^1 \sim 6 \times 10^3$ [oocyst/tube] の試料について、全ての鋳型 DNA を検出することができた。また今回行った濃度域全域において、検量線の精度を示す決定係数が 0.998 と非常に高かった。これらのことから、QP-PCR法によって、水中のクリプトスポリジウムを高精度・高感度で定量できることが示された。QP-PCR法で得られたPCR産物を用いたRFLP法による種および遺伝子型の判別では、制限酵素 *Ssp I*, *Vsp I*, および *Sty I* を用いた結果、8 種について断片長パターンから種の判定が可能であり、現存する種の多くを判別できることが示唆された。以上の結果から、QP-PCR法とRFLP法を併用することで、定量と種および遺伝子型に関する情報を同時に得ることが可能である。

(2)茶栽培の振興地域における市街地中小河川のN・P・大腸菌群

山本 富久, 中曽根 英雄, 黒田 久雄, 加藤 亮

水環境学会誌 7, 389-394 (2008).

レビュー：甲斐 竜輔

これまでの都市の中小河川の主な汚濁原因は、生活雑排水であるとされ、下水道整備が進められてきた。しかしながら、湖沼などの公共用水域では、水質改善が予測されたほど順調には進んでいない。その要因として農業などの一次産業由来や規制対象外の産業排水、生活排水処理水などによる汚染であることが指摘されている。そこで本研究では、茶の栽培が盛んな地域において、都市部からの排水による影響を受ける市街地中小河川を対象とし、水質および排出負荷量を解明することを目的とした。

河床における藻類の炭酸同化作用によって、pHは7.1~9.8

第 114 回雑誌会

(Dec 8, 2010)

(1) Detection of rotavirus A in sewage samples using multiplex qPCR and an evaluation of the ultracentrifugation and adsorption-elution methods for virus concentration

Fumian, T. M., Leite, J. G., Castello, A. A., Caillou, M. L. and Miagostovich, M. P.

Journal of Virological Methods, **170**, 42-63 (2010)

Reviewed by T. Kobayashi

病原性ウイルスは環境水中に極低濃度で存在する。現在、環境水中からのウイルス濃縮法として、吸着・溶出法などが一般的である。しかしながら、この方法は2段階の濃縮操作が必要であり、多量の浮遊物質が存在するサンプルからのウイルス濃縮が困難である。そこで本研究は、陰電荷膜を用いた吸着・溶出法（陰電荷膜法）と2次濃縮を必要としない遠心分離法による、下水からのロタウイルスAの回収率の評価を行なった。下水は、ウイルスに感染した患者の糞便試料を添加したものを使用した。ウイルスの検出には、バクテリオファージPP7を内部標準としたmultiplex qPCRを使用した。また、 10^7 、 10^5 、 10^3 および 10^1 copiesのロタウイルスAおよびPP7遺伝子をmultiplex qPCRあるいは、monoplex qPCRを用いて検出し、得られたCt値を比較し、検出感度および有用性に関する評価を行なった。

ロタウイルスAは陰電荷膜法で 1.8×10^5 copies/L、遠心分離法で 1.9×10^6 copies/L検出された。陰電荷膜法および遠心分離法によるロタウイルスAの回収率は、それぞれ3.5%および47%であった。multiplex qPCRおよびmonoplex qPCRの結果を比較すると、いずれの結果も同様なCt値を示した。このことより、multiplex qPCRはmonoplex qPCRと同程度の有用性があることが示唆された。以上の結果より、遠心分離法とmultiplex qPCRを用いることで、検出時間を短縮でき、実験コストを下げることができると考えられる。

(2) Antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from hospital wastewater and superficial water ;Are they genetically related?

Fuentefria, B. D., Ferreira, E. A., and Corcao, G.

Journal of Environmental Management **92**, 250-255 (2011).

Reviewed by S. Kajii

病院排水には、公共衛生や生態バランスにとって有害となる汚染物資や病原性細菌などが多く含まれている。ブラジルのような発展途上国では、病院排水をそのまま都市排水システムに排出し、処理されないまま河川、湖沼および海へ排出されている。緑膿菌は、自然環境中にも普遍的に存在しており、多くの院内水感染症の原因となっている。これまでの研究において、自然環境中における緑膿菌のような細菌が持つ耐性遺伝子の普及は、病院廃水が原因となっていると報告されている。そこで本研究では、ブラジルの二つ病院の排水とその排水を含む河川の表層水から緑膿菌を単離し、それらの薬剤耐性と遺伝子類似性の評価を行った。

全てのサンプル地点から合計で 396 株の緑膿菌を単離した。この 396 株について薬剤感受性試験を行った結果、両方の病院から、少なくとも 4 つ以上の異なる系統の薬剤に耐性を示す緑膿菌株が存在した。表層水よりも排水の方が、耐性を示す割合が高かった。また、少なくとも 3 つ以上の異なる系統の薬剤に耐性を示した緑膿菌株について、Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus sequence-PCR を用いて遺伝的類似性の評価を行った。両方の病院において遺伝的多様性は高く、違ったサンプル地点でも遺伝的には同一もしくは極めて近い株が存在した。したがって、調査した排水および河川中には、長期間にわたって緑膿菌株が継続的に存在していることが示唆された。

(3) Potential use of host associated molecular marker in *Enterococcus faecium* as index of human fecal pollution

Scott, T. M., Jenkins, T. M., Lukasik, J. and Rose, B. J.

Environmental Science & Technology **39**, 283–287 (2005).

Reviewed by N.Kanda

微生物汚染源追跡手法(MST)は、糞便汚染源を正確に特定することによって、水質改善やリスクアセスメントに役立つ方法である。しかしながら、多くの MST には宿主起源の菌のデータベースの構築が不可欠である。一方では、データベースの構築を必要としない手法として特定の宿主が持つ遺伝子だけに反応を示す分子マーカ―を利用する手法がある。そこで本研究では、分子マーカ―である *Enterococcus faecium* の腸球菌表面たんぱく質(esp)のヒト特有の遺伝子を検出することによって、MST としての有用性を検討した。

5 ヲ所の汚水処理設備から試料水、酪農場、および農場からそれぞれヒト、鶏およびペリカン等の糞便を採取した。試料はリン酸緩衝液で適宜希釈後、フィルターでろ過し、mEI 培地で培養した。その後、mEI 培地上に形成されたコロニーをトリプチックソイブロスで培養し、新たに構築した *E. faecium* の esp 遺伝子に反応するプライマーを使用して PCR 試験を行った。同時に、esp 遺伝子の存在を示す最小の濃度を調査するため、5 ヲ所の汚水処理設備から採取した試料をフィルターでろ過後、mEI 培地で培養し、コロニーを計数した。また、淡水中と人工海水中における esp 遺伝子の生存期間の検討として、esp 遺伝子を持つ腸球菌を淡水、人工海水中に注入し、0, 3, 5, 7, 10 日ごとに菌計数と PCR 試験を行った。PCR 試験の結果、ヒト由来の腸球菌株 65 株中 63 株が陽性であった。動物由来の 102 株はいずれも陰性を示した。また、esp 遺伝子の最小検出限界濃度は 58 ± 24 CFU/100ml であった。esp 遺伝子の生存期間は、水中では 7 日目まで検出されたが、10 日目には検出されなかった。人工海水中では 10 日目には検出されたが、15 日目には検出されなかった。以上の結果から、分子マーカ―はヒト起原の糞便汚染源追跡に有用である。

第 115 回雑誌会

(Dec 15, 2010)

(1) Potential of *Enterococcus faecalis* as a Human Fecal Indicator for Microbial Source Tracking

Wheeler, L. A., Hartel, G. P., Godfrey, G. D., Hill, L. J. and Segars, I. W.

Journal of Environmental Quality, **31**, 1286-1293 (2002)

Reviewed by M. Hayashi

宿主が人に制限されている糞便性指標菌種は、病原体の保菌者と推測されただけではなく、糞便性指標菌が存在すると思われる汚染源は、他の汚染源より水質を改善しやすい。そのため、人の糞によって汚染された流域は最優先に浄化される。人によって宿主が制限された糞便性指標細菌と温血動物種は、どんな宿主起原データベースにも必要とされるため、微生物の汚染源追跡を簡素化する。また、糞便性指標菌である *E. faecalis* は制限された宿主域を持つことから、*E. faecalis* について研究した。

糞便性連鎖球菌の分離株 583 株は、カナダガチョウ、牛、シカ、犬、人間、鶏、および豚から得られた。そのうちカタラーゼ陰性の 392 株は、*Enterococcus* 種を特定するために API 20 Strep による追加試験が行われた。これらの分離株のうち、22 株は *E. durans* (25%)、61 株は *E. faecalis* (15.6%)、98 株は *E. faecium* (25.0%)、86 株は *E. gallinarum* (21.9%)、125 株は同定できなかった。ただし、*E. faecalis* は犬、人間、鶏からしか見つからなかったことから、*E. faecalis* 分離株の宿主は犬、人間、および鶏に制限された。しかしながら、犬から単離された *E. faecalis* は腸球菌の特徴であるアルギニン加水分解性を示さなかったため、菌株の個体識別を行うリボタイピング解析を行わなかった。人間、鶏の *E. faecalis* 分離株のリボタイピング解析の結果、ゲルは制限酵素 EcoR I に関しては 9~11 のバンド、制限酵素 Pvu II に関しては 11~13 のバンドが示され、人間、鶏からの分離株をはっきりと識別することができた。

(2) Iron limitation of phytoplankton in an urbanized vs. forested southeastern U.S. salt marsh estuary

Lewitus, A. J., Kawaguchi, H., K., DiTullio, G. R. and Keesee, J. D. M.

Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, **298**, 233-254 (2004) .

Reviewed by Y. Hamasaki

藻類が鉄を吸収する過程において、鉄と溶存有機物の錯体形成が重要とされている。河口では森林土壌由来の溶存有機物が主な供給源とされている。しかしながら、都市化に関連した森林伐採により、森林土壌由来の溶存有機物の供給が減少し、沿岸域生物生産が制限されている。そこで本研究では、サウスカロライナ塩湿地河口の都市化に関連した森林伐採により影響を受けた Parsonage Creek (PC) と森林で囲まれた Oyster Landing (OL) の2地点において1996~1999年に採取した試料水を用いて、栄養物、鉄、および錯体化剤に対する効果を確認するため、河川の植物プランクトンによるバイオアッセイ実験を行った。また、成長量、およびクロロフィル a 量の経時変化を確認するために *Synechococcus* によるバイオアッセイ実験を行った。これらの結果と水質調査結果をもとに、森林伐採による沿岸域生物生産への影響を評価した。

PC では、河口の植物プランクトンと *Synechococcus* どちらにおいても、鉄とともに硝酸イオンを添加したほうが著しくクロロフィル a 量が増加した。OL では、比較的低い累積降雨量が観測された採取日において、Fe-EDTA 添加によるクロロフィル a 量の増加反応があった。これより、乾燥期が原因で、森林土壌生産の鉄と、その錯体化物質は、土壌からの溶出を制限されることが示唆された。以上の結果から、森林伐採と鉄制限とのつながりに関してさらなる研究が必要であると考えられる。

第 116 回雑誌会

(December 24, 2010)

(1) $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ in the Mondego estuary food web : Seasonal variation in producers and consumers

Baeta, A., Pinto, R., Valiela, I., Richard, P., Niquil, N., and Marques, J.

Marine Environmental Research, **67**, 109-116 (2009).

Reviewed by A. Fukuda

近年、人類起源による水環境の富栄養化が広がっており、増加した窒素の負荷は水環境の生物の食物連鎖や栄養サイクルを変化させる可能性がある。 $\delta^{15}\text{N}$ は水環境に含まれる窒素のトレーサーとして有益であり、食物連鎖を説明するためのより有効なツールとして利用されている。しかしながら、安定同位体比は季節により変動するかもしれないという報告もある。そこで本研究では、モンデゴ河口における食物網の中で生産者と消費者の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ の安定同位体比を測定し、気温や降水量などの季節変動との関連性について検討した。

サンプルはモンデゴ河口内の植物プランクトン、Particulate Organic Matter (POM)、Sediment (SOM)、大型無脊椎動物、魚類、動物プランクトン、およびメイオファウナ類の計 45 種として、安定同位体測定を行った。測定の結果、ほとんどの有機体が季節変動に関する同位体値の変化を示さなかった。しかしながら、春と夏で違いを示した種も存在しており、大型水生植物などは5月から7月にかけて $\delta^{15}\text{N}$ 値がどれも 8‰程上昇した。7月は気温が最も高かったことが特徴としてある。これは、微生物の脱窒素作用のようなものが働き $\delta^{14}\text{N}$ が大幅に減少したためではないかと考えられる。しかし、季節変動による同位体比の明確な変化は認められず、ほとんどの種の同位体比は季節変動においては影響を受けないことが示唆された。

(2)The prevalence of *Cryptosporidium*, and identification of the *Cryptosporidium* horse genotype in foals in New York State

Burton, A. J., Nydam, D. V., Dearen, T. K., Mitchell, K., Bowman, D. D., and Xiao, L. *Veterinary Parasitology*, **174**, 139-144 (2010).

レビュー：瀧田 敏之

クリプトスポリジウムは下痢症を引き起こす原虫であり、多様な宿主特異性を持つ。過去、馬におけるクリプトスポリジウムの研究で *Cryptosporidium parvum* が検出されていた。しかしながら2003年にブラハ動物園において、野生のプルツワルスキーの子馬から *Cryptosporidium* horse genotype が同定された。当初は馬に特異的に感染すると考えられたが、英国と米国で2人のヒトに感染が確認され、アイルランドの子牛にも感染が確認された。しかしながら米国の馬では、この種の有病率は明らかになっておらず、今後、*Cryptosporidium* horse genotype を公衆衛生の観点から評価するにあたって、徹底した調査が必要である。そこで本研究では、ニューヨークの14の農場で飼育されている馬から得られた糞便試料について、直接免疫蛍光分析（DFA）および small-subunit (SSU) rRNA PCR 法で有病率を確認した。また、得られた PCR 産物を用いた PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)法により、種を同定した。

DFA と PCR 試験の両方で陽性とされたサンプルは、すべて子馬から検出され、子馬から採取した全135試料中9試料であった。したがって、本実験での有病率は5.1%となり、比較的低かった。陽性と判断された4試料から得た PCR 産物を用いた RFLP 法による種の同定では、2つの塩基配列を得た。本研究で得られた塩基配列は、以前の研究から *Cryptosporidium* horse genotype と同定された。

(3) The fate of river-borne nitrogen in the Baltic Sea – An example for the River Oder

Neumann, T.

Estuarine, Coastal and Shelf Science **73**(2007)1-7

Reviewed by R. Kai

バルト海は世界最大の汽水域の一つである。北海に浅く狭くつながっている河川とその地形は、海との水の交換が制限されている。その結果、窒素やリンなどの栄養素が30年バルト海に滞留する。この水の長い滞留時間はバルト海の生態系に深刻な影響を及ぼしている。そこで本研究では、生態系モデル(ERGOM, MOM 3.1)を使用してオーデル川の窒素を標識し、その分布を物理的および生物地球化学的プロセスにより追跡することを目的とした。

モデルのシミュレーション結果から、オーデル川からの窒素は、中間水を介して隣接する流域に広がっており、バルト海に運ばれるすべての窒素のうち、オーデル川の窒素の寄与度は約13.8%であることが予測された。また、二重指数曲線から水と堆積物によるオーデル川窒素の時間発展による割合は、速い過程では約1.4年で1.9%、遅い過程では約29年で11.9%の最終的な割合を導いた。ポメラニア湾での平均脱窒速度は $0.8 \text{ molm}^{-2}\text{d}^{-1}$ 、最大脱窒速度は約 $5 \text{ molm}^{-2}\text{d}^{-1}$ で、オーデル川河口での脱窒が顕著であった。

第 117 回雑誌会

(Feb 22, 2011)

(1) A two-phase separation method for recovery of *Cryptosporidium* oocysts from soil samples

Zilberman, A., Zimmels, Y., Starosvetsky, J., Zuckerman, U., and Armon, R.

Water, Air and Soil Pollution, **203**, 325-334 (2009).

Reviewed by A. Hiramatsu

Cryptosporidium は、世界中に分布する人畜共通の寄生原虫である。環境中では、oocysts と呼ばれる状態で存在し、主に、水中、食物、土壌や感染した人や動物への接触することによって感染が広がっていく。その中で、土壌は人や動物のふん便の付着や農作物との接触、さらに地下水の汚染など 2 次汚染の可能性があり、重要な要素であると考えられる。ふん便や水などにおける *Cryptosporidium* のモニタリングの報告の多くは、回収率が低いと示されている。そこで本研究では、土壌中の *Cryptosporidium* oocysts の回収と計数に効果的で簡単な方法の開発を目的とし、4 つの既知の方法（沈殿法、含水量を減らした沈殿法、シヨ糖浮遊法、水 - エーテル分離法）と細菌胞子の回収に適用されている方法（2 相分離法）を比較した。

それぞれの方法の平均回収率は、沈殿法 $18.2 \pm 7.44\%$ 、含水量を減らした沈殿法 $37.3 \pm 9.6\%$ 、シヨ糖浮遊法 $39.6 \pm 13\%$ 、水 - エーテル分離法 $27 \pm 9.77\%$ 、および 2 相分離法が $61.2 \pm 15.6\%$ であった。平均回収率の結果から、2 相分離法が選択された方法の中で最良の方法であることが示された。さらに、*Cryptosporidium* oocysts の生存と土壌からの回収率に影響を与えること、砂の含有量が高いと *Cryptosporidium* oocysts の生存性が悪くなり、回収率が減少することもわかった。

(2) The fate of river-borne nitrogen in the Baltic Sea – An example for the River Oder

Neumann, T.

Estuarine, Coastal and Shelf Science **73**(2007)1-7

Reviewed by R. Kai

バルト海は世界最大の汽水域の一つである。北海に浅く狭くつながっている河川とその地形は、海との水の交換が制限されている。その結果、窒素やリンなどの栄養素が30年バルト海に滞留する。この水の長い滞留時間はバルト海の生態系に深刻な影響を及ぼしている。そこで本研究では、生態系モデル(ERGOM, MOM 3.1)を使用してオーデル川の窒素を標識し、その分布を物理的および生物地球化学的プロセスにより追跡することを目的とした。

モデルのシミュレーション結果から、オーデル川からの窒素は、中間水を介して隣接する流域に広がっており、バルト海に運ばれるすべての窒素のうち、オーデル川の窒素の寄与度は約13.8%であることが予測された。また、二重指数曲線から水と堆積物によるオーデル川窒素の時間発展による割合は、速い過程では約1.4年で1.9%、遅い過程では約29年で11.9%の最終的な割合を導いた。ポメラニア湾での平均脱窒速度は $0.8 \text{ molm}^{-2}\text{d}^{-1}$ 、最大脱窒速度は約 $5 \text{ molm}^{-2}\text{d}^{-1}$ で、オーデル川河口での脱窒が顕著であった。

(3)The prevalence of *Cryptosporidium*, and identification of the *Cryptosporidium* horse genotype in foals in New York State

Burton, A. J., Nydam, D. V., Dearen, T. K., Mitchell, K., Bowman, D. D., and Xiao, L. *Veterinary Parasitology*, **174**, 139-144 (2010).

Reviewed by T. Takita

クリプトスポリジウムは下痢症を引き起こす原虫であり、多様な宿主特異性を持つ。過去、馬におけるクリプトスポリジウムの研究で *Cryptosporidium parvum* が検出されていた。しかしながら2003年にプラハ動物園において、野生のプルツワルスキーの子馬から *Cryptosporidium* horse genotype が同定された。当初は馬に特異的に感染すると考えられたが、英国と米国で2人のヒトに感染が確認され、アイルランドの子牛にも感染が確認された。しかしながら米国の馬では、この種の有病率は明らかになっておらず、今後、*Cryptosporidium* horse genotype を公衆衛生の観点から評価するにあたって、徹底した調査が必要である。そこで本研究では、ニューヨークの14の農場で飼育されている馬から得られた糞便試料について、直接免疫蛍光分析 (DFA) および small-subunit (SSU) rRNA PCR 法で有病率を確認した。また、得られた PCR 産物を用いた PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)法により、種を同定した。DFA と PCR 試験の両方で陽性とされたサンプルは、すべて子馬から検出され、子馬から採取した全135試料中9試料であった。したがって、本実験での有病率は5.1%となり、比較的低かった。陽性と判断された4試料から得た PCR 産物を用いた RFLP 法による種の同定では、2つの塩基配列を得た。本研究で得られた塩基配列は、以前の研究から *Cryptosporidium* horse genotype と同定された。