

第 165 回雑誌会

(Jun. 4, 2013)

(1) Relationship of human-associated microbial source tracking markers with *Enterococci* in Gulf of Mexico waters

Gordon, K. V., Brownell, M., Wang, S. Y., Lepo, J. E., Mott, J., Nathaniel, R., Kilgen, M., Hellein, K. N., Kennedy, E. and Harwood, V. J.

Water Research, **47**, 996-1004 (2013).

Reviewed by H. Shimauchi

メキシコ湾水域の糞便汚染は、隣接する国々の水質の悪化や養殖業、漁業に対して経済的損失をもたらす。そのため、糞便汚染源を特定し、改善することが水質管理や経済の向上につながる。汚染源追跡には、糞便指標細菌（大腸菌や腸球菌など温血動物や冷血動物の糞便中に存在する細菌）が利用されており、さらに詳細な情報を得るために病原体を検出する手法の開発が積極的に推進されている。しかしながら、メキシコ湾水域における調査は少ないため、汚染の実態を把握できていない。そこで本研究では、メキシコ湾に隣接する4つの州（フロリダ州、ミシシッピ州、ルイジアナ州、テキサス州）の5大学（南フロリダ大学：USF、西フロリダ大学：UWF、南ミシシッピ大学：USM、ニコルズ州立大学：NSU、テキサス A&M 大学コーバスクリスティ：TAMUCC）が共同して各大学付近の水域の河口、海水、および淡水における病原体検出状況を2009年3月から2010年7月の間、毎月調査した。その際、ヒト糞便中に存在し、ヒトに対して影響を及ぼす病原体である human-associated *Bacteroides* (HF183), human polyomaviruses BK and JC (HPyVs), および *Methanobrevibacter smithii* を対象とした。病原体は、各病原体の指標マーカーを用いた PCR 法で検出した。また、調査地点のサンプル中におけるマーカーの検出頻度、腸球菌濃度とマーカーとの関連性を評価した。サンプル数は、それぞれ（USF：186, UWF：175, USM：165, NSU：90, TAMUCC：155）の合計 771 サンプルを採取した。

全サンプル中のマーカー検出頻度に関して、1つのマーカーを使用した場合では、HF183 が最も頻繁に検出され（20.3%）、続いて *M. smithii*（17.8%）となり、HPyVs（12.4%）は最も低い検出率であった。2つ以上のマーカーを使用した場合では、1つのマーカーを用いた検出頻度結果よりも検出頻度は高かった。平均腸球菌濃度に関して、USM と USF は海水の水質基準（104 CFU/100 mL）を超え、NSU では水質基準と同程度であった。これに対して、UWF と TAMUCC のサンプルは水質基準を下回った。3つの地域（USF, USM, NSU）において、水質基準値を超過した際に採取されたサンプルは各地域で検出されたマーカーと関連性があった。

(2) Vancomycin resistant enterococci: From the hospital effluent to the urban wastewater treatment plant

Varela, A. R., Ferro, G., Vredenburg, J., Yanik, M., Vieira, L., Rizzo, L., Lameiras, C. and Manaia, C. M.

Science of the Total Environment, **450-451**, 155-161 (2013).

Reviewed by M. Nishiyama

バンコマイシンは、グリコペプチド系抗生物質であり、グラム陽性菌による感染症治療に使用される。現在、バンコマイシンを過度に使用した結果、バンコマイシン耐性腸球菌（vancomycin resistant enterococci: VRE）が出現し、VREによる院内感染が世界的な問題となっている。人間活動の中でも、特に多数の抗生物質を使用する病院は、薬剤耐性菌の発生や選択性の原因となる地点である。さらに、病院からの排水を処理する都市下水処理場は、臨床に起因する薬剤耐性菌の発生や耐性遺伝子を獲得する主な起源として考えられている。そこで本研究では、病院排水と都市下水処理場を対象としてVREの発生状況とその特徴について調査した。試料は、病院排水と都市下水処理場流入水、およびその放流水から採取した。採取後、腸球菌選択培地にバンコマイシン（VCM）、およびシプロフロキサシン（CIP）を含む培地と無添加の培地を使用して菌株の計数を行った。また、単離した菌株について、16S rRNA遺伝子に基づく菌種同定試験、薬剤感受性試験およびvan遺伝子保有の判定を行った。さらに、臨床分離された腸球菌を加え、各試料水から単離された腸球菌との薬剤耐性パターンの類似性を、クラスター解析によって評価した。

病院排水と都市下水流入水中の腸球菌数は、それぞれ $1.0 \times 10^2 \sim 2.6 \times 10^4$ CFU/mLと $2.4 \times 10^2 \sim 1.7 \times 10^4$ CFU/mLであり、同程度であった。その一方で、VCMとCIPを含む培地を使用した腸球菌数は、流入水より病院排水が高い傾向を示した（病院排水中の腸球菌数：流入水中の腸球菌数、VCM 9:1, CIP 3:1）。各選択培地から単離した菌株に対して菌種同定試験を行った結果、腸球菌として65株（病院排水: 33株, 流入水: 19株, 放流水: 13株）が同定された。さらに、臨床患者から分離された28株を加えた全93株を用いたクラスター解析の結果、vanA遺伝子有無とアモキシリン耐性の有無の4つのグループに分類された。vanA陽性と判定された56株のうち分けは、臨床28株, 病院排水19株, 流入水6株, および放流水3株であった。また、vanA陽性、アモキシリン耐性に分類されたクラスターのうち、薬剤耐性パターンが、臨床分離株と放流水からの単離株間で類似した腸球菌が存在した。以上のことから、病院排水、都市下水処理場の流入水、およびその放流水にはVREが存在し、病院から都市下水処理場へのVREの拡散が示唆された。

第 166 回雑誌会

(Jun. 11, 2013)

(1) Sediment tracing in the upper Hunter catchment using elemental and mineralogical compositions

Fryirs, K., Gore, D.

Geomorphology, **192**, 112-121 (2013).

Reviewed by Y. Arao

河床間隙水域は、河川水と地下水が砂礫間に浸透する水域であり、底生動物や魚類などの生息域の一つである。また、河川生態系における栄養塩の循環や有機物分解の場として重要な環境要素である。しかしながら、オーストラリアのハンター川河床下では、浮遊堆積物が砂礫間に堆積することによってコルマティッチ層を形成し、河床間隙水域の減少を引き起こしている。そこで本研究では、蛍光 X 線 (XRF) 分析と粉末 X 線回折 (XRD) 分析により、コルマティッチ層と浮遊堆積物の地質学的な特徴を比較し、浮遊堆積物の発生源を特定した。発生源の候補となる試料は、コルマティッチ層に流入する 12 の河川における氾濫原 (全 34 地点) から採取し、合計 161 試料とした。コルマティッチ層は、上層と下層またその層周辺の氾濫原から採取し、合計 38 試料とした。

XRF 分析による各試料の成分組成を比較した結果、コルマティッチ層と層周辺の氾濫原から採取した堆積物は、6 つの河川 (Rouchel Brook, Davis Creek, Hunter tributaries, Dart Brook, Middle Brook, Kingdon) の氾濫原から採取した堆積物と成分組成が類似した。12 の河川における全 161 試料の X 線回折ピーク強度比 (%) についてクラスター分析を行った結果、河川は 9 つのクラスターに分類された。なかでも、成分組成の類似している 6 つの河川は、クラスター 1 (Dart Brook, Middle Brook), クラスター 3 (Rouchel Brook, Davis Creek, Hunter tributaries), およびクラスター 4 (Kingdon) に分類された。さらに、XRD 分析によって鉱物の同定を行った結果、コルマティッチ層と層周辺の氾濫原から採取した堆積物の主要な鉱物は、Albite と Muscovite であった。同定された Albite と Muscovite は、クラスター 3 に分類された河川の鉱物と一致したことから、浮遊堆積物の発生源は、Rouchel Brook, Davis Creek, および Hunter tributaries であると示唆された。しかしながら、Hunter tributaries から発生する浮遊堆積物の大部分は、Hunter tributaries に位置する Glenbawn ダムに堆積しているため、コルマティッチ層への堆積物の供給量は少ないと考えられる。したがって、コルマティッチ層を形成する浮遊堆積物の大部分は、Hunter tributaries を除く Rouchel Brook と Davisn Creek に点在する氾濫原から発生していることが推察された。

(2) Prevalence, antimicrobial resistance and relation to indicator and pathogenic microorganisms of *Salmonella enterica* isolated from surface water within an agricultural landscape.

Economou, V., Gousia, P., Kansouzidou, A., Sakkas, H., Karanis, P. and Papadopoulou, C. International Journal of Hygiene Environmental Health, **216**(4), 435-444 (2013).

Reviewed by M. Ushijima

沿岸域には、ヒトや産業活動からの排水に含まれる腸内細菌やその他の病原性微生物が河川を通じて流入している。海水中の腸内細菌は魚介類を汚染し、ヒトに対して感染症を引き起こす要因となる。また、食中毒や水系感染症を引き起こすサルモネラやその他の腸内細菌の薬剤耐性化は、感染症を治療する際に深刻な健康被害をもたらす危険性がある。そこで本研究では、水環境中のサルモネラ属とその他の病原性微生物（シュエドモナス属、ブドウ球菌、カンピロバクター、リステリア属、大腸菌 O157:H7、クリプトスポリジウム、ジアルジア、菌類）、および汚染指標細菌（従属栄養細菌、大腸菌群、糞便性大腸菌、大腸菌、腸球菌）を測定し、病原性微生物と汚染指標細菌との相互関係を調査した。また、単離されたサルモネラ属とリステリア属について薬剤感受性試験（アンピシリン、アミカシン、アモキシシリン・クラブラン酸、セフトキシム、シプロフロキサシン、セフトキシム、テトラサイクリン、チカルシリン・クラブラン酸、アンピシリン・スルバクタム、合計 9 薬剤）を行った。試料は、ギリシアの北西部に位置し、農業と畜産が盛んな地域を流れるカラス川（10 地点）、アケロン川（6 地点）、および両河川の河口沿岸（5 地点）において、1 年間、毎月 1 回採取した。

全調査地点において、カンピロバクター、大腸菌 O157:H7、クリプトスポリジウム、およびジアルジアは検出されなかった。その一方で、サルモネラ属が 28 株、リステリア属が 42 株検出された。アケロン川では、都市からの排水が流入していないにもかかわらず、高い細菌汚染が確認された。これは、アケロン川に畜産排水、または家畜の糞便を肥料として利用している農業地域からの排水が流入していることに起因していると考えられる。単離されたサルモネラ属 28 株とリステリア属 42 株について薬剤感受性試験を行った結果、多剤耐性サルモネラが 10 株検出された。その一方で、リステリアの全ての株が使用した全ての薬剤に対して感受性を示した。本研究において検出された病原性微生物と汚染指標細菌との間に有意な相関はなかった。したがって、本研究で対象とした病原性微生物による汚染は、汚染指標細菌によって予測することが困難であると示唆された。

第 167 回雑誌会

(Jun. 18, 2013)

(1) 合流式下水処理施設の雨天簡易処理時における消毒機能の評価

上門 卓矢, 山下 尚之, 田中 宏明

学会誌「EICA」 14(2-3), 19-27 (2009).

レビュー：宇野 瑞穂

近年、合流式下水道からの雨天時の未処理・簡易処理放流による病原性微生物汚染が懸念されている。そこで本研究では、雨天時における簡易処理放流水の実態を明らかにするため、SS、NH₄-N、大腸菌群数および大腸菌数を測定した。また、塩素消毒実験を行い、消毒効果低下に影響を与える水質因子の検討と、消毒時間の遅滞を表す Collins-Selleck 式によって、現状の塩素量の評価および放流水質基準を満たすための必要塩素量について推定した。試料は、降雨開始直後の最初沈殿池流出水（簡易処理放流水）と二次処理水を対象とした。また、塩素消毒実験における試料は、雨天時の水質をもとに、最初沈殿池流出水と二次処理水を混合し、SS、NH₄-N 濃度をそれぞれ 4 段階に調整した。各試料に対しての塩素注入率および接触時間に関しては、消毒操作上重要な因子である CT 値（C：T 分後の残留塩素濃度，T：接触時間）と大腸菌群不活化率の関係を調査して決定した。その際、消毒実験に用いる試料において最初沈殿池流出水の割合が異なる場合、大腸菌群の不活化が大きく異なる傾向が現れたときの CT 値を 10～20 mg・min/L の範囲にするため、塩素注入率（2.5 mg/L）、接触時間（10 分）を設定した。

簡易処理放流が発生したときの消毒対象水中には、晴天時と比較して、SS（平均 20.1 mg/L）、NH₄-N（平均 5.1 mg/L）、大腸菌群（平均 1.6×10^4 個/mL）、大腸菌（平均 4.1×10^4 個/mL）の各濃度は高くなった。そのため、放流水質基準を満たすためには、約 1log 程度の大腸菌群を除去する消毒量が必要であった。また、塩素消毒実験において、大腸菌群の不活化率と不活化速度に対する NH₄-N、SS 濃度の影響を検証した結果、NH₄-N 濃度の変化による違いは見られなかった。その一方で、SS 濃度の低下に伴い、不活化率と不活化速度はいずれも増加した。したがって、消毒効果は懸濁物質による影響が大きく、濁度等を連続的にモニタリングし、水質変動に応じた塩素注入量を決定すべきである。さらに Collins-Selleck 式から、雨天時の簡易処理放流水における大腸菌群を 1log 不活化させるのに必要な CT 値を算出したところ、13.1 mg・min/L となった。調査対象処理場では、注入率を一定とする流量比例制御方式によって、雨天時の簡易処理放流水への消毒を制御しているため晴天時と同様に CT 値は 5 mg・min/L である。このことから、調査対象処理場において、雨天時の簡易処理放流水中の大腸菌群数は、十分に不活化されていないと推定された。

(2) 中小河川からの栄養塩負荷の流出特性

岩田 杉夫, 遠藤 忠嗣, 井上 隆信, 横田 久里子, 大久保 陽子

水環境学会誌 36(2), 39-47 (2013)

レビュー：木原 浩助

内湾や湖沼の富栄養化現象の解明には、流域から流入する栄養塩負荷量の算定が必須である。しかしながら、降雨時の観測が少ないため、栄養塩の正確な流入負荷量の算定が困難である。また、総量規制では、原単位や除去率を用いて排出負荷量を算定するが、原単位の値が小さいとの問題も指摘されている。特に降雨時には、面源や農耕地から懸濁態の栄養塩が大量に流出していることが報告されており、降雨時も含めた年間の流出負荷量を正確に求めることが重要である。そこで本研究では、降雨時と平水時における河川水質と栄養塩負荷量の特徴について調査し、年間の流出負荷量を把握する手法を検討した。定期調査は、愛知県豊橋市を流れる浜田川の佐久良橋を対象とし、2009年5月から2011年7月の期間において月1回実施した。降雨時調査は、降雨量20 mm以上と予想される場合において合計10回実施した。測定項目は、流量、SS、T-N、D-TN、P-TN、T-P、D-TP、P-TP、NO₃-N、NO₂-N、PO₄-P、およびNH₄-Nとした。また流出負荷量は、実測濃度と10分間隔の平均比流量を乗じた実測値、流量と負荷量の関係式であるL-Q式の対数法と直接法を用いた推計値を算定した。

T-NとT-Pはそれぞれ、5.8~14 mg/L、0.37~1.1mg/Lの範囲であった。平水時のT-NとT-Pは、D-TNとD-TPが支配的であるが、降雨時には懸濁物が増加し、P-TNとP-TPが増加した。流出負荷量を算定した結果、窒素の懸濁態の割合は、実測値では定期採水時の約3%、降雨時の約61%（対数法による推定値：40%、直接法による推定値：38%）であった。また、リンの懸濁態の割合は、実測値では定期採水時の約7%、降雨時の約69%（対数法による推定値：61%、直接法による推定値：61%）であった。このことから、降雨時における懸濁態の割合は、平水時と比較して非常に高い値を示した。L-Q式を用いて、比流量連続データから年間比流出負荷量を算定した結果、対数法ではT-N比流出負荷量とT-P比流出負荷量はそれぞれ、 $13.5 \times 10^3 \text{ kg/km}^2/\text{y}$ 、 $2.49 \times 10^3 \text{ kg/km}^2/\text{y}$ であり、直接法では、T-N比流出負荷量とT-P比流出負荷量はそれぞれ、 $17.1 \times 10^3 \text{ kg/km}^2/\text{y}$ 、 $3.65 \times 10^3 \text{ kg/km}^2/\text{y}$ であった。さらに、原単位法を用いて算定した排出負荷量の推定値と比較して、全窒素ではそれぞれ、4.0倍と5.1倍、全リンではそれぞれ、4.8倍と7.0倍高い値を示した。これらのことから、中小河川における面源からの排出負荷量は、原単位法では、降雨時の負荷量が反映されていないため、過小評価されている可能性があるかと推察された。

第 168 回雑誌会

(Jun. 25, 2013)

(1) 東京湾お台場海浜公園における雨天時合流式下水道越流水の影響調査

鯉渕 幸生, 小野澤 恵一, 中村 格之, 原本 英二, 片山 浩之, 古米 弘明,
佐藤 慎司, 岡安 章夫, 磯部 雅彦
海岸工学論文集 52, 886-890 (2005).

レビュー：清水 則年

合流式下水道が整備された都市の汚染物質には、平常時の排水流入や下水処理水に加えて、雨天時合流式下水道越流水 (Combined Sewer Overflow: CSO) 由来の栄養塩類や病原性微生物が含まれる。しかしながら、受水域における CSO に由来する汚染物質の挙動や時間変動に関する情報は少なく、特に、ウイルスを対象とした観測例はほとんどない。そこで本研究は、お台場海浜公園を対象として、受水域における CSO 起源の汚濁物質に関連する栄養塩類と健康関連微生物の環境動態を定量的に評価した。調査は 2004 年 8 月 4 日から 10 月 15 日の期間において、晴天時では週 2 回、降雨後では一週間毎日実施した。測定項目は、CSO 起源物質である栄養塩類 ($\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$), 大腸菌数, 大腸菌群数およびアデノウイルスとした。

栄養塩類の変動を観測した結果、 $\text{NO}_3\text{-N}$ の濃度は間欠的な降雨時 (8 月から 9 月上旬) では、降雨に比例して増加し、連続的な降雨時 (9 月下旬から 10 月中旬) では一定であった。その一方で、 $\text{NH}_4\text{-N}$ と $\text{PO}_4\text{-P}$ の濃度は降雨時では常に減少した。したがって、 $\text{NO}_3\text{-N}$ は降雨起源、 $\text{PO}_4\text{-P}$ や $\text{NH}_4\text{-N}$ は底泥起源や処理場からの影響が大きいと推測された。大腸菌数とアデノウイルスの変動を観測した結果、晴天時と比較して大腸菌とアデノウイルスの濃度は、降雨時では晴天時の約 100 倍に増加した。しかし、大腸菌数とアデノウイルスの濃度は、降雨後数日で晴天時と同程度まで減少したことから、下水管路内に蓄積された微生物が降雨に伴い放出されていると考えられた。さらに、大腸菌群数、アデノウイルスおよび大腸菌数の関係を比較すると、大腸菌群数と大腸菌数は高い相関を示したのに対して、アデノウイルスと大腸菌数は低い相関を示した。これらのことから、大腸菌群数によって大腸菌数の挙動を把握することは可能であるが、大腸菌数からアデノウイルスの数を把握することは困難であると示唆された。以上のことから、ウイルスによる感染リスクの評価を行う場合には、ウイルスを直接計測する必要があるため、今後さらにアデノウイルス等のウイルスの観測データを蓄積することが重要である。

(2) RAPD - PCR を用いた林内放牧牛由来大腸菌汚染の新しい評価法の検討

三澤 尚明, 小山田 正幸, 守屋 和幸, 杉本 安寛

日本畜産学会報 74(4), 531-536 (2003).

レビュー：新名 晃宜

九州の中山間地帯では、黒毛和種繁殖牛の放牧に伴った糞によって、放牧地付近の溪流水の糞便汚染が懸念されている。そのため、放牧を重要な産業として普及させるためには、放牧地周辺の環境への影響に関する調査・研究を実施する必要がある。以前の調査では、放牧地付近の溪流水において、大腸菌群数の測定を行ってきた。しかしながら、大腸菌群の中には、変温動物の腸管内に常在するものや、植物、その他自然界にも分布する菌種を含んでおり、大腸菌群は、必ずしも糞便汚染指標細菌とは言えない。また、検出された細菌が糞便由来であっても、放牧牛由来のものと鑑別する直接的な証拠にはならない。そこで本研究では、放牧牛の糞便中と溪流水中の大腸菌群数を測定した。また、放牧牛の糞便と溪流水から大腸菌を単離し、randomly amplified polymorphic DNA based polymerase chain reaction (RAPD-PCR) によって増幅された遺伝子断片のサイズに基づくクラスター分析によって、溪流水と牛糞便由来の大腸菌の関連性を評価した。糞便試料は、2001 年 5 月初旬から 4 頭 (No.1~4) の黒毛和種雌牛を放牧させ、同年 6 月には、個体識別を行わず放牧地内の 1 頭から糞便を採取し、8 月には個体ごとに糞便を採取した。溪流水試料は、放牧地付近の溪流水から上流 1 箇所と下流 3 箇所から試料を約 200 mL 採水した。

放牧地の糞便ならびに溪流水の大腸菌群数の測定は、公定法に準拠し、LB 培地発酵管を用いた Most Probable Number (MPN) 法で行った。その結果、糞便からは、6 月に 10^4 個/g, 8 月に $10^2 \sim 10^7$ 個/g の大腸菌群数が計数された。溪流水は、上流では、6 月と 8 月でそれぞれ 93 MPN/100 mL と $\geq 2,400$ MPN/100 mL の大腸菌数が検出された。下流においても、6 月と 8 月でそれぞれ 93~1,100 MPN/100 mL と 240~460 MPN/100 mL の大腸菌群数が検出された。また、放牧牛の糞便と溪流水から単離した大腸菌において、RAPD-PCR による遺伝子の解析を行った結果、それぞれ複数のバンドパターンが確認された。しかしながら、バンドパターンのクラスター分析では、糞便由来の株と溪流水由来の株が完全に異なるクラスターを形成し、両由来株の一致する遺伝子型は検出されなかった。このことから、牛糞便が溪流水を汚染している可能性は低いと考えられる。今回調査に応用した遺伝子判別法は、放牧牛の糞便由来細菌の遺伝子マーカーを指標とした環境汚染の評価法として有用であることが示唆された。

第 169 回雑誌会

(July 2, 2013)

(1) 海洋性発光細菌および動物プランクトンを用いた製鋼スラグ溶出水のバイオアッセイ

三木 理, 加藤 敏朗, 楠井 隆史

水環境学会誌 **33**, 141-146 (2010).

レビュー: 平山 翔太

製鋼スラグは、陸上用途のリサイクル製品として広く用いられており、海域環境改善の有用資材としての適用も検討されている。したがって、製鋼スラグは海域への適用の際に、溶出試験とバイオアッセイ試験を用いた海産生物の影響を評価する必要がある。しかしながら、スラグなどの再生材料を海洋で利用する場合、どのような海産生物を用いて試験を実施するか明確になっていない。そこで本研究では、海洋性発光細菌と海産種の動物プランクトンを対象とした製鋼スラグ溶出水のバイオアッセイ試験を実施し、海産生物への影響の有無とバイオアッセイ手法で評価する際の課題について検討した。供試試料として、3種類のスラグと砂を用いて、4種類の溶出水（A；炭酸化製鋼スラグ，B・C；製鋼スラグ，D；砂）を作成した。また、溶出水のpHが高いことによって影響を受ける可能性があるため、pHを7.5～8.0に調整した溶出水（E；炭酸化製鋼スラグ，F・G；製鋼スラグ，H；砂）も作成し、8種類の溶出水と対照系である人工海水を加えた計9種類について検討した。また、全溶出水のpH，Ca，Mg，および電気伝導度を測定した。

発光細菌を用いた発光阻害試験の結果、人工海水に対する炭酸化製鋼スラグ系溶出水（AのpH9.3，EのpH7.5）と砂系溶出水（DのpH8.2，HのpH8.0）の相対発光度の変化は認められなかった。これに対して、pHが12程度を示した高pHの製鋼スラグ系溶出水（B，C）では発光阻害が認められた。しかし、これらの高pHの製鋼スラグ系溶出水（B，C）のpHを調整したところ（F，G），相対発光度が上昇したことから、発光阻害の要因は高pHであると考えられる。また、溶出水中の硬度成分であるCa濃度の増加は、相対発光度の上昇に影響することが明らかとなった。一方の動物プランクトンを用いた遊泳阻害試験では、溶出水（A・E；炭酸化製鋼スラグ，D・H；砂）と人工海水では遊泳阻害は認められなかった。しかし、製鋼スラグ系溶出水（B，C）において遊泳阻害が認められた。さらに、製鋼スラグ系溶出水（B，C）ではpHを調整した溶出水（F，G）においても遊泳阻害が認められた。このことから、pH以外にも阻害要因があることが推定された。そこで、硬度成分と遊泳阻害の関係を調べると、遊泳阻害率は硬度成分のCa濃度と正の相関を示した。以上の結果から、海産生物を用いた溶出水の毒性評価を行う場合、溶出水のpHの上昇と、それに伴うCa濃度の変化が重要であることが示唆された。

(2) 浄化槽から排出される汚濁負荷とその河川・沼水質への影響

田中 恒夫, 荻原 健史, 小林 幸夫, 木下 恵理, 杉山 英行

水環境学会誌 30(4), 219-225 (2007).

レビュー：福留 健太

生活系排水は、河川や湖沼への主要な汚濁源である。生活系排水由来の汚濁負荷は、都市部では主に下水道、農村部では農業集落排水処理施設や浄化槽などの整備によって低減化が図られている。下水道システム等については、汚濁負荷やその地域の水環境への影響に関して比較的よく調査検討されている。しかしながら、浄化槽については、処理性能の調査や浄化槽整備による汚濁負荷削減効果に関する検討が十分とはいえない。そこで本研究では、浄化槽排出負荷原単位を把握するため、4つの合併処理浄化槽（タイプ 1-1：構造例示型，タイプ 1-2：性能評価型，タイプ 1-3：高度処理型，タイプ 1-4：農業集落排水処理施設）と2つの単独処理浄化槽（タイプ 2-1：旧構造，タイプ 2-2：新構造）の6処理区分において、その放流水の BOD，全窒素，全リンの濃度および水量をそれぞれ測定した。また、浄化槽排出負荷による水質汚染が懸念されている河川、沼およびその集水域において、河川水質や土地利用等を詳細に調査し、汚濁負荷の発生源を推定した。さらに、集水域で発生した汚濁負荷が河川や沼の水質へ与える影響について検討した。調査は、群馬県の東毛地区に存在する阿左美沼とその集水域を対象とした。サンプルは、6 処理区分の浄化槽放流水、沼とその集水域を流れる河川（計 10 箇所）において定期的に採水した。

浄化槽放流水の水質と排水量から算出した排出負荷原単位と生活下水基本原単位によって、各処理区分における BOD，TN および TP の排出率（%）を算出した結果、排出率は BOD，TN，TP の順に、タイプ 1-1：8.6%，62%，72%，タイプ 1-2：10%，48%，68%，タイプ 1-3：6.6%，32%，63%，タイプ 1-4：5.0%，20%，30%，タイプ 2-1：17%，45%，76%，タイプ 2-2：12%，53%，90%であった。このことから、BOD，TN および TP の各排出率は単独処理浄化槽で高い傾向にあり、特に、TP の排出率は 70%～90%と高く、浄化槽に流入したリンの多くは除去されずに流出していると考えられる。また、原単位法によって、汚濁負荷の発生源別の割合を算出した結果、窒素に関しては畑地 33%，浄化槽 25%，牛 18%，リンに関しては浄化槽 40%，豚 28%，牛 23%の順で高かった。さらに、集水域において発生した汚濁負荷が沼へ流達する割合（流達率）を計算したところ、窒素：1.09，リン：0.52 となった。そのため、集水域で発生した汚濁負荷が河川や沼の水質へ与える影響は大きいと考えられる。

第 170 回雑誌会

(July 9, 2013)

(1) Discrimination and characterization of environmental strains of *Escherichia coli* by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS)

Siegrist, T. J., Anderson, P. D., Huen, W. H., Kleinheinz, G. T., McDermott, C. M. and Sandrin, T. R.

Journal of Microbiological Methods, **68**, 554-562 (2007).

Reviewed by H. Shimauchi

近年では、腸球菌や大腸菌などの糞便指標細菌を用いて様々な表現型別法や遺伝子型別法による汚染源追跡が検討されているが、いずれの手法も時間と労力を要する欠点を有している。質量分析法の一つである Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) 法は、迅速かつ正確に細菌の分類・同定が可能であるとされる。しかしながら、MALDI-TOF MS 法を汚染源追跡に適用した事例は見当たらない。そこで本研究では、米国ウィスコンシン州のビーチと下水処理場から、ヒト、イヌ、ウシ、および鳥類（アヒル、カモメ、カナダガン）由来の大腸菌を単離した。そして、MALDI-TOF MS 法を用いて、大腸菌の解析の再現性と宿主ごとの識別能力を評価した。また、汚染源追跡の検討に利用されている遺伝子型別法の中でも、特に信頼性の高い Repetitive sequence based-PCR (rep-PCR) 法についても同様の評価を行い、両手法の能力を比較することによって、汚染源追跡としての MALDI-TOF MS 法の有用性を評価した。大腸菌株はそれぞれ、ヒト：4 株、イヌ：2 株、ウシ：3 株、鳥類：各 2 株の計 15 株を用いた。また、再現性については、同一菌株内の 20 コロニーをフィンガープリント化して類似した割合を求めた。識別能力については、クラスター分析を用いた。

rep-PCR 法によって得られたフィンガープリントの再現性の全体平均は、91.3%であった。これに対して、MALDI-TOF MS 法によって得られたフィンガープリントの再現性の全体平均は、82.2%であった。クラスター分析によると、rep-PCR 法では、イヌと鳥類の宿主は識別することができたが、ヒトとウシについては識別することができなかった。これに対して、MALDI-TOF MS 法では、イヌ、ウシ、および鳥類の 3 種類について宿主を識別することができた。以上のことから、再現性を比較すると rep-PCR 法のほうが優れており、識別能力を比較すると MALDI-TOF MS 法のほうが優れていた。このことから、MALDI-TOF MS 法は、従来の汚染源追跡手法よりも迅速かつ正確に環境由来菌株を宿主ごとに識別可能であり、汚染源追跡手法として適用できることが示唆された。

(2) Host range of enterococcal *vanA* plasmids among Gram-positive intestinal bacteria

Werner, G., Freitas, A. R., Coque, T. M., Sollid, J. E., Lester, C., Hammerum, A. M., Garcia-Migura, L., Jensen, L. B., Francia, M. V., Witte, W., Willems, R. J. and Sundsfjord, A.

Journal of Antimicrobial Chemotherapy, **66**, 273-282 (2011).

Reviewed by M. Nishiyama

バンコマイシンに耐性を示す遺伝子型の一つである*vanA*は、*Enterococcus faecium*の伝達性プラスミド上に位置する*Tn1546*、またはその誘導体にコード化されている。近年、*vanA*を獲得した*E. faecium*は、世界中の臨床現場で多く検出されている。しかしながら、*vanA*遺伝子群の伝達性や、*vanA*が伝達することのできる菌種は明らかとなっていない。そこで本研究では、腸球菌に存在する*vanA*を含むプラスミドが、腸管内を構成する多種類のグラム陽性細菌へ水平伝播する可能性を評価した。供試菌株は、供与菌として14種類の*vanA*保有の腸球菌である *E. faecium* (n=9), *E. faecalis* (n=4) , および*E. raffinosus* (n=1) とし、受容菌として複数のグラム陽性腸内細菌 (*E. faecium*, *E. faecalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacteria bifidum*, *B. breve*, および*B. lingum*) を使用した。受容菌には、抗生物質の耐性マーカー (リファンピン> 32 µg/mL, フシジン酸> 64 µg/mL) を導入し、filter mating法によるin vitro試験によって*vanA*の伝達性を評価した。*vanA*の伝達性は、供与菌、または受容菌の数に対する接合完了体の割合によって評価した。

filter mating法による*vanA*を含むプラスミドの伝達性を評価した結果、供与菌と受容菌に同一の腸球菌種 (*E. faecium*, *E. faecalis*) を用いた場合、伝達性は $\geq 10^{-6}$ per donor or recipientであった。その一方で、供与菌に*E. faecium*、受容菌に*E. faecalis*と異なる腸球菌種を用いた場合、伝達性は100倍以上低下した ($\leq 10^{-8}$ per donor or recipient)。また、受容菌に*Lactobacillus*, *Lactococcus*, または*Bifidobacteria*と腸球菌と異なる属を用いた場合、*vanA*の伝達は確認されなかった。さらに、接合完了体である受容菌の*E. faecium* 64/3における表現型の特徴を調べた結果、耐性プラスミドを獲得した受容菌は、抗生物質の選択圧のない状態でも、宿主内で安定して存在することが確認された (4週間以上)。以上のことから、腸球菌に存在する*vanA*を含むプラスミドの伝達は、異なる腸球菌種間と比較して、同一の腸球菌種間では高頻度で発生し、腸管内を構成する*Lactobacillus*, *Lactococcus*, および*Bifidobacteria*など腸球菌以外の細菌への伝達は容易ではないことが示唆された。

第 171 回雑誌会

(July 16, 2013)

(1) Vegetation effects on sediment connectivity and process in an ephemeral channel in SE Spain

Sandercock, P. J., Hooke, J. M.

Journal of Arid Environments, **75**, 239-254 (2011).

Reviewed by Y. Arao

水路の土壌浸食によって発生する多量の浮遊堆積物は、水路の保全状態の悪化や貯水池の堆砂問題を引き起こす。その一方で、水路に密生する植物は、基盤強度や水路底の摩擦の増加に寄与するため、水路の浸食や浮遊堆積物を減少させる効果を有する。そこで本研究では、スペイン南東部の一過性水路である Carcavo 水路を対象とし、2006 年 1 月に発生した洪水後の砂防ダムの状況、および植物の分布と種類を調査した。さらに、水路に密生する植物の分布や種類の違いが砂防ダムと浮遊堆積物に及ぼす影響を調査した。Carcavo 水路の縦断面図は、Differential Global Positioning System (DGPS) によって測定した。また、裸地帯と植生帯の分布は、画像解析ソフト (ERDAS IMAGINE) で調査した。洪水時の裸地帯と植生帯の流速は、自記水位計と圧力変換器によって測定した。

Carcavo 水路の縦断面を調査した結果、砂防ダムの堆砂量は、上流域では低い傾向を示し、下流の大部分では、浮遊堆積物の影響で堆砂が進行していた。また、Carcavo 水路の裸地帯と植生帯の分布を調査した結果、上流域は下流域と比較して植生密度が非常に高く、流下にとまって露出した岩盤が多く確認された。このことから、上流域では植生帯によって妨げられた浮遊堆積物が植生周辺に堆積し、下流域では浮遊堆積物が低下し、砂防ダムに堆積すると推察された。洪水時における上流域の裸地帯と植生帯の流速を比較した結果、植生密度の高い植生帯では、流速は、植生密度の低い裸地帯と比較して、最大で 0.88 m/s 減少した。さらに、各植物上を流下する流速を比較した結果、*Lygeum spartum* の密生する流域では、他の植物と比較して、流速が最大で 0.34 m/s 減少した。*Lygeum spartum* は多年生植物の一種であり、斜面や粘土質地盤、乾燥地域などの多様な条件下で生息できる特徴がある。したがって、*Lygeum spartum* を含む植生帯は、下流域へ流出する浮遊堆積物を抑制する効果があると推察された。以上の結果から、浮遊堆積物の抑制には、砂防ダムに加えて植生帯の利用が有効的な手法であることが示唆された。

(2) *Salmonella enterica* serotype Kentucky associated with human infections in Switzerland: Genotype and resistance trends 2004-2009

Bonalli, M., Stephan, R., Käppeli, U., Cernela, N., Adank, L., and Hächler, H.
Food Research International, **45**, 953-957 (2012).

Reviewed by M. Ushijima

サルモネラは O 抗原と H 抗原の組み合わせによって、約 2500 種類の血清型が存在する。2002 年以前のヨーロッパにおいて、*Salmonella enterica* serotype Kentucky (S. Kentucky) がヒトから検出されることは稀であった。しかしながら、近年ではヒトから高頻度に検出されている。また、サルモネラ感染症の治療に用いられる第 3 世代セファロスポリン系薬剤やフルオロキノロン系薬剤に耐性を示す S. Kentucky の存在が報告されている。そこで本研究では、2004 年から 2009 年のスイスにおいて、異なるサルモネラ感染者から単離された S. Kentucky 106 株について薬剤感受性試験を行った。そして、pulsed-field gel electrophoresis (PEGE) 法を用いて単離株間の関連性を評価した。さらに、第 3 世代セファロスポリン系薬剤を無効化する基質拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) を産生する S. Kentucky について調査した。薬剤感受性試験は 13 薬剤（アンピシリン、アモキシリン・クラバン酸、セファロチン、セフォタキシム、シプロフロキサシン、ゲンタマイシン、テトラサイクリン、ストレプトマイシン、クロラムフェニコール、カナマイシン、ナリジクス酸、スルファメトキサゾール、トリメゾプリム）についてディスク法を用いて行った。また、単離株の ESBL 産生の有無は、市販の Etest ESBL を用いて判定した。

薬剤感受性試験の結果、薬剤耐性株（1～3 剤耐性）：30 株（28%）、多剤耐性株（4 剤耐性以上）：48 株（45%）、感受性株：28 株（27%）であった。また、58%の株はフルオロキノロン系薬剤（シプロフロキサシン）に耐性を示した。さらに、第 3 世代セファロスポリン系薬剤（セフォタキシム）に耐性を示した 1 株は ESBL 産生 S. Kentucky であった。PFGE によって得られたバンドパターンについてクラスター解析を行った結果、多剤耐性株の大部分はクラスター A と C に、薬剤耐性株と感受性株はクラスター B と D に分類された。また、クラスター C に分類された S. Kentucky 感染者の海外渡航先に着目すると、エジプトやモロッコであった。このことから、スイスにおける多剤耐性 S. Kentucky の出現は、北アフリカへの渡航に関係していると推察された。その一方で、海外渡航歴のない多剤耐性 S. Kentucky 感染者も存在していたことから、スイスにおける多剤耐性 S. Kentucky の蔓延が考えられた。

第 172 回雑誌会

(July 23, 2013)

(1) 紫外線照射処理および紫外線-光触媒処理における細菌の光回復

大瀧 雅寛, 鹿島田 浩二, 石渡 淳, 赤井田 悟史, 大垣 眞一郎

環境工学研究論文集 **34**, 75-82 (1997).

レビュー：宇野 瑞穂

紫外線照射による水の消毒技術は、従来の塩素注入による消毒手法と比較して、化学薬品の添加がなく過剰注入の心配がない。また、トリハロメタン等の消毒副生成物も発生せず、塩素消毒の代替法として期待されている。その一方で、紫外線照射によって不活化された細菌が、その後、自然光等の可視光照射を受けると遺伝子損傷が修復され、増殖機能を回復するという光回復の問題がある。そこで本研究では、波長の異なる中圧紫外線ランプと低圧紫外線ランプを用いて、大腸菌の不活化と可視光照射（蛍光灯）による光回復効果について比較を行った。さらに、光触媒として二酸化チタンを紫外線照射装置に導入した場合と導入しない場合における、紫外線照射後の大腸菌の不活化と可視光照射による光回復効果についても比較した。また、光回復は Dulbecco による一次反応式に従うと仮定した上で、光回復速度定数（大腸菌が回復する速さの程度）を算出した。そして、可視光強度と光回復速度定数を比較し、光回復速度への影響を調査した。中圧と低圧ランプの比較実験においては、下水処理場流入水から大腸菌を単離し、液体培地で培養させ、大腸菌濃度が $10^8 \sim 10^9$ CFU/mL となった培地を、滅菌済み純水で約 100 倍に希釈して単離大腸菌溶液を作成した。また、光触媒実験においては、同じ下水処理場流入水の大腸菌群を対象とした。なお、殺菌に有効な紫外線線量（殺菌効果紫外線線量）は、生物学的線量計測定法を用いて算出した。最大光回復生残率（不活化された大腸菌のなかで回復する割合）は既往の研究において得られた関係式を用いて算出した。

低圧と中圧の紫外線ランプにおいて、紫外線照射直後と光回復後の殺菌効果紫外線線量に対する大腸菌の生残率を比較すると、ほぼ一致する結果が得られた。また、低圧と中圧ランプともに、可視光強度と光回復速度定数は、正の比例関係を示した。これらの結果から、二つのランプによる大腸菌の不活化と光回復の効果は同程度であると考えられる。また、光触媒を導入した場合において、可視光照射 180 分後の大腸菌群の最大光回復生残率は 0.066 であった。その一方で、光触媒を導入しない場合において、最大光回復生残率は、0.13 となった。したがって、紫外線装置に光触媒を導入することによって、光回復を抑制できることが示唆された。

(2) 貯水池底層部における鉄とリンの挙動について

原田 加奈子, 岩崎 健次, 古里 栄一, 浅枝 隆

水環境学会誌 29(6), 327-332 (2006).

レビュー：木原 浩助

湖沼や貯水池に代表される閉鎖性水域では、富栄養化による水質の悪化が進行しており、利水や環境保全へ影響を及ぼす可能性がある。窒素やリンといった栄養塩の負荷は、生活雑排水や畜産排水・工場排水、山林、および農地からの流入が大部分を占めている。しかしながら、嫌気状態となった貯水池の底層では、鉄は溶解性の二価鉄に還元され、鉄と結合していたリンが底泥から溶出する。また、比較的水深の深い貯水池では、水温や溶存酸素等の条件が水深方向に大きく変化するため、貯水池内の水質特性について理解した上で、底泥からのリンの溶出を評価する必要がある。そこで本研究では、例年夏季に底層が嫌気化する奈良県木津川水系宇陀川の室生ダムを対象とし、嫌気化した貯水池底層部における鉄とリンの挙動と富栄養化への寄与について検討した。調査は、2002年7月22日、8月21日、9月18日の3回行い、水温、DO、ORP、濁度、pHについて水深1mごとに測定した。調査結果に基づいて採水層を定め、全リン(T-P)、懸濁態リン($\text{PO}_4\text{-P}$)、溶解性リン(S-P)、全鉄(T-Fe)、懸濁態鉄(P-Fe)、溶解性鉄(S-Fe)について分析した。室内実験は、鉄へのリンの吸着過程を考慮して、水酸化鉄が存在する好気条件とリンの共存化で水酸化鉄を生成させる嫌気条件において、濁度、SS、溶解性鉄、溶解性リンについて分析した。

現地調査において、酸化-還元電位(ORP)が0 mVとなる酸化-還元層の境界では、SS、濁度が高い傾向を示し、懸濁態のリンと懸濁態の鉄が多く存在した。また、酸化-還元層の境界付近では、ピーク時のP- $\text{PO}_4\text{-P}$ とP-Feの比率は、0.01 (mg-P/mg-Fe)であった。室内実験において、嫌気条件では、好気条件と比較して、鉄に対するリンの吸着量が大きかった。また、好気条件と嫌気条件における鉄に対するリンの吸着特性は、Langmuir型の吸着等温式で近似することができた。さらに、現地調査によって得られた吸着比は、室内実験における嫌気条件での等温吸着曲線の吸着比に近い傾向を示した。このことから、室生ダムの底層で確認された懸濁態の鉄とリンは、底泥から溶出した還元態の鉄が酸化される過程において、底泥から拡散するリンを吸着して形成されたものであると推察された。したがって、底泥から溶出したリンは水酸化鉄への吸着作用が生じることから、貯水池表層に達する可能性は低いと考えられた。

第 173 回雑誌会

(July 30, 2013)

(1) 内湾に発達した干潟や砂浜における波による土壌中への海水の浸透

鄭 正朝, 李 正奎, 西嶋 渉, 馬場 栄一, 岡田 光正

水環境学会誌 23(10), 619-623 (2000).

レビュー：清水 則年

干潟や砂浜等の潮間帯は、潮の干満によって露出と水没を繰り返す場所であり、底生微生物を中心とした生物類の活動が極めて盛んである。これらの生物類は、主に海水から供給される栄養塩や有機物等を摂取して生きているため、波や潮汐による土壌内部への海水の浸透は、底生生物や細菌類の生存に重要な意味を持つ。しかしながら、内湾に発達した干潟や砂浜などへ到達する数 cm～数十 cm の穏やかな波による海水の浸透に関する報告はされていない。そこで本研究では、内湾に発達した干潟や砂浜に打ち寄せる波高数 cm の穏やかな波による土壌中への海水の浸透メカニズムの解明と浸透量の定量化を目的とし、海水の浸透機構の把握、勾配と碎波波高の違いによる浸透速度の変化、および浸透に及ぼす波と潮汐の影響を検討した。実験には、干潟実験装置内において海水の浸透を可視化するために、土壌と海水の代わりに、透明なガラスビーズと過マンガン酸カリウム溶液（赤色素）を用いた。また、広島湾内に存在する典型的な人工干潟と自然干潟と同様の特性を持つ人工干潟（自然－人工干潟）を対象とし、実際の干潟における海水の浸透量を測定した。なお、波による海水の浸透量は、色素を用いた可視化実験の結果から算出し、潮汐による海水の浸透量は、実際の干潟において土壌の含水量の変化から算出した。

穏やかな波による海水の土壌内部への浸透を可視化した結果、色素はビーズ内部へ半円形状に浸透した。海水の浸透量を推定する場合、従来の方法では、土壌中に海水が楔状で浸透すると仮定していることから、穏やかな波環境下での新たな浸透メカニズムが示された。また、波の碎波波高 50 mm, 周期 0.8 sec で一定とし、干潟斜面の勾配を変えて海水の浸透速度の変化を求めた結果、勾配の大きさに比例して浸透速度が増加した。さらに、周期 0.8 sec, 勾配 10/100 で一定とし、碎波波高を変えた結果、碎波波高の高さに比例して浸透速度は増加する傾向を示した。実際の干潟における海水の浸透量に与える波と潮汐の影響を比較した結果、人工干潟における波と潮汐による浸透量は、それぞれ $0.065 \sim 0.104 \text{ m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{d}$, $0.007 \text{ m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{d}$ であり、波による浸透量が潮汐による浸透量よりも 1 オーダー大きかった。その一方で、自然－人工干潟における両作用の浸透量は、共に $0.003 \text{ m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{d}$ 程度と同等であった。このことから、人工干潟への海水浸透は、潮汐と比較して、波による影響が大きいと考えられる。

(2) PCR 法による水、食肉および野菜中の大腸菌と大腸菌群の検出に関する検討

刑部 陽宅, 田中 大祐, 清水 美和子, 磯部 順子, 木全 恵子, 香取 幸治,
永井 美之

日本食品微生物学会雑誌 **21**(3), 187-192 (2004).

レビュー：新名 晃宜

食品の製造施設では、糞便汚染状況を調べるために、水や食品の大腸菌群数や大腸菌の検査を実施している。検査の公定法として、食品については選択培地を用いた培養法、水については特定酵素基質法が示されている。選択培地と特定酵素基質法による検査では、大腸菌群に存在する酵素 β -galactosidase, 大腸菌に存在する酵素 β -glucuronidase の分解反応を利用する。しかしながら、腸管出血性大腸菌 O157:H7 を代表とする、 β -glucuronidase 非産生性大腸菌を見逃す場合がある。そこで本研究では、大腸菌群と大腸菌を対象として複数の遺伝子をターゲットとした PCR 法による検出を試みた。さらに、食品検体と水検体を用いて、大腸菌の検出と遺伝子の検出との関連性を調べた。また、標的とした遺伝子は、腸内細菌に共通な抗原の合成に関与する transferase (*wecF*), 大腸菌の β -galactosidase (*lacZ*), および 16S rRNA (*E.coli* 16S rRNA) とした。供試菌株として、以前に分離した大腸菌群 274 株 (大腸菌 97 株, 6 属からなるその他の菌種 177 株) と下痢患者由来の毒素原性大腸菌 O148:H28 と腸管出血性大腸菌 O157:H7 をそれぞれ 1 株ずつ用いた。また、食品 69 検体 (食肉 4 種類 23 検体, 野菜 32 種類 46 検体), 水 153 検体 (表流水 19 検体, 井戸水 22 検体, 伏流水 10 検体, 湧水 102 検体) も検査に供した。食品からの大腸菌群と糞便性大腸菌群の検出には BGLB 培地と EC 培地を用い, 大腸菌の同定は IMViC 試験と API 20E で実施した。また, 水からの大腸菌の検出にはコリラートを用いた。

腸管出血性大腸菌 O157:H7, 毒素原性大腸菌 O148:H28 を含めた大腸菌 99 株の *wecF*, *lacZ* および *E.coli* 16S rRNA の遺伝子検出率は、いずれも 100%であった。また、BGLB 培地で培養した食品 69 検体における *wecF*, *lacZ* および *E.coli* 16S rRNA 遺伝子の検出率はそれぞれ、73%, 65%, 37%であった。この中で、*E.coli* 16S rRNA 遺伝子に対して陽性を示した食品検体のうち、85%以上と高い確率で大腸菌が検出された。また、水の検体では、コリラートを用いて陽性と判定された大腸菌に対する *E.coli* 16S rRNA の遺伝子検出率は、100%であった。したがって、食品検体と水検体を対象とした *E.coli* 16S rRNA の遺伝子検出率と大腸菌の検出率には、高い関連性が確認された。このことから、*E.coli* 16S rRNA 遺伝子を標的とした PCR 法は、食品検体および水検体から大腸菌を特異的に検出できることが示唆された。

第 174 回雑誌会

(Aug. 27, 2013)

(1) 下水処理水中に含まれるレボフロキサシン，クラリスロマイシンの分析と藻類生長への影響

八十島 誠，山下 尚之，中田 典秀，小森 行也，鈴木 穰，田中 宏明

水環境学会誌 27, 707-714 (2004).

レビュー：平山 翔太

近年、医薬品による水環境の汚染が世界的に問題となっている。特に、下水処理水に残留した抗生物質による、放流水域に生息する水生生物への影響が懸念される。しかし、抗生物質の生態系への影響に関する研究は極めて少ない。そこで本研究では、下水処理水中の抗生物質を同定・定量するための分析法の確立とその妥当性を評価した。また、抗生物質が藻類の増殖性に及ぼす影響を把握することを目的とし、藻類生長阻害試験を行った。さらに、本研究で確立した抗生物質を同定・定量する分析法を用いて、二次処理水中に残留した抗生物質を調査した。対象物質は、レボフロキサシン (LVFX) とクラリスロマイシン (CAM) とし、同定・定量は高速液体クロマトグラフ/タンデム質量分析 (LC/MS/MS) 法を用いた。また、供試藻類は、*Pseudokirchneriella subcapitata* (*P.subcapitata*) を用い、各抗生物質の半数影響濃度 (EC_{50})、無影響観察濃度 (NOEC) および最小影響濃度 (LOEC) を求め、NOEC と LOEC から無影響濃度 (NEC) を算出した。

二次処理水中の LVFX と CAM の検出下限値と定量下限値はそれぞれ、LVFX: 41.4 ng/L, 138 ng/L, CAM : 43.5 ng/L, 145 ng/L であった。この値は、光学検出による分析の下限値と比較して低い値であった。そのため、LC/MS/MS による分析は、高感度測定が可能であると判断された。また、二次処理水を用いた添加回収試験の平均回収率 ($n=5$) は、LVFX では 82%, CAM では 55% であった。CAM の回収率は低かったが、標準偏差 (1.2%) は小さく、試験結果は安定していた。そのため、検出感度と回収率の結果から、本法は下水中に含まれる LVFX と CAM のいずれの物質に対しても適用が可能であると判断された。また、藻類生長阻害試験から、LVFX と CAM の EC_{50} , LOEC, NOEC はそれぞれ、LVFX : 1,200 μ g/L, 630 μ g/L, 310 μ g/L, CAM : 11 μ g/L, 6.3 μ g/L, 3.1 μ g/L であった。CAM は LVFX と比較して藻類に対する毒性が強い。さらに、二次処理水中に残留した LVFX と CAM の実態調査を行った結果、LVFX は 152~323 ng/L, CAM は 303~567 ng/L の濃度範囲で検出された。そこで、*P.subcapitata* に対する LVFX, CAM の影響を評価すると、NEC (LVFX : 440 μ g/L, CAM : 4.4 μ g/L) は検出濃度と比較して高いことから影響は無いと判断された。また、NOEC を藻類の種間の安全係数 10 で除した値を用い、藻類への影響を評価すると、LVFX は影響無し、一方の CAM は放流先河川での希釈倍率 2 倍以下で影響有り と判断された。

(2) 主成分分析を用いた下水道普及に伴う河川水質の変化に関する検討

平山 公明, 藤村 昌紀, 今岡 正美, 平山 けい子, 金子 栄廣, 坂本 康
環境工学研究論文集 **40**, 151-160 (2003).

レビュー：福留 健太

下水道の普及に伴う河川水質の変化を把握することは、河川の水質管理と下水道事業の成果を確認する上で重要である。また、河川水質の経年的な変化を評価する際、BODなどの個々の指標だけではなく、総合的な指標で判断することが必要である。複数の指標を総合的な指標に集約する方法として主成分分析がある。そこで本研究では、経年的な水質データをもとに、下水道の普及が河川に及ぼす影響を評価した。さらに、水質データを対象とした主成分分析を実施し、得られた主成分と下水道普及経過との関連性を考察することによって、複数の指標を一つの総合的な指標として表す有用性について検討した。調査は、山梨県甲府市の市街地を流れる中小河川（計18地点）を対象とし、1971年度から2000年度まで、年6回の頻度で実施した。水質項目は、水温、pH、DO、BOD、COD、アンモニア性窒素、リン酸態リン、SS、溶解性物質、濁度、塩素イオン、導電率、および大腸菌群の13項目とした。

下水道普及率とBODの変化を調査した結果、下水道の普及経過や普及以前のBODの違いは見られるが、下水道の普及に伴い、BODの値は減少する傾向を示した。測定した水質項目において、各水質項目間の相関係数を求めた結果、BODとCOD ($r=0.79$)、SSと濁度 ($r=0.66$)、溶解性物質と塩素イオン ($r=0.76$)、溶解性物質と導電率 ($r=0.92$)、塩素イオンと導電率 ($r=0.84$)、アンモニア性窒素とリン酸態リン ($r=0.66$) の間で高い相関を示した。また、各水質項目の測定結果を用いて主成分分析を実施した。その分析結果から、総合的な汚れを示す指標（第1主成分）、溶解性と懸濁性のバランスを表す指標（第2主成分）、水温に関連する指標（第3主成分）を表す3つの主成分が得られた。これらのうち、第1主成分、第2主成分には下水道普及率に伴う経年的な変化が見られたが、第3主成分では見られなかった。さらに、下水道普及率と第1主成分得点、および各水質指標との相関を比較したところ、下水道普及率は、単独の水質指標よりも第1主成分得点と高い相関を示した。以上のことから、下水道の普及効果を評価する際、BODやCODに加えて、溶解性物質やイオン性の物質を組み合わせた複数の水質項目を用いることが有用であると示唆された。

第 175 回雑誌会

(Sep. 3, 2013)

(1) Temporal stability analysis of the microbiota in human feces by denaturing gradient gel electrophoresis using universal and group-specific 16S rRNA gene primers

Vanhoutte, T., Huys, G., De Brandt, E. and Swings, J.

FEMS Microbiology Ecology, **48**, 437-446 (2004).

Reviewed by H. Shimauchi

ヒトや動物の腸内細菌叢の解析には細菌培養方法が多く利用されているが、多大な労力や時間を要することが問題視されている。また、少なくとも 400 種類以上ある腸内細菌のうち、培養可能な細菌は、10~50%程度である。そのため近年では、細菌培養方法は腸内細菌叢の解析には不適切であると言われている。培養を必要としない方法の一つとして Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) 法がある。近年、DGGE 法を用いて、ヒトや動物の腸内の優占細菌の時系列的安定性の調査が行われている。しかしながら、広範囲におよぶ腸内細菌を対象とした調査事例はない。そこで本研究では、DGGE 法を用いて、ヒト糞便中の多様な腸内細菌の時系列的安定性を調査した。被験者は 22~55 歳の健康な成人（男性 3 人、女性 1 人）を対象とし、各被験者由来の糞便サンプルを B~E で表した。対象とする腸内細菌は、優占的な細菌である *Bacteroides fragilis* 群、*Bifidobacterium* 属、ならびに優占的な細菌ではない *Enterococcus* 属と *Lactobacillus* 属である。サンプルから標的とする腸内細菌を検出するために、各細菌群および属特有のプライマーを用いた。時系列的安定性の解析には、クラスター分析によって各個人間の類似性を算出した。尚、サンプルは 14 日間隔で採取し、6 週間実施した。この期間に採取した 4 つのサンプルを 1~4 とした。さらに、被験者 C と E に関しては、実験開始 3 か月後のサンプル (C5, E5) も採取した。

Bacteroides fragilis 群については、各個人間のサンプルは、いずれも類似性レベル 91.2%以上で各クラスターに分類された。また、*Bifidobacterium* 属について、B, C, および D の各個人間では、類似性レベル 90.0%以上で各クラスターに分類された。しかしながら、被験者 E に関しては、E1 と E2, E3 と E4 が各クラスターに分類され、E5 はいずれのクラスターに分類されなかった。さらに、*Lactobacillus* 属では、E1 と E3 が類似性レベル 91.31%以上でクラスターに分類された。しかしながら、その他の E サンプルとの関連性はなかった。また、B, C, および D の各個人間では、クラスターを形成するサンプルがあったが、全体的に不安定であった。*Enterococcus* 属は、全被験者サンプルの半分しか検出されなかったため、時系列的安定性の評価はできなかった。以上のことから、DGGE 法を用いて、腸内の優占細菌および *Lactobacillus* 属の時系列的安定性を評価できた。*Enterococcus* 属の調査については、今後、さらに多くの被験者が必要である。

(2) Pyrosequencing of antibiotic-contaminated river sediments reveals high levels of resistance and gene transfer elements

Erik, K., Jerker, F., Anders, J., Roman, G., Carolin, R., Birgitta, W., Hanna, S. and Joakim, L.

PLoS One, **6(2)**, e17038 (2011).

Reviewed by M. Nishiyama

ヒトや動物に対する抗生物質の酷使や不適切な処方、薬剤耐性菌の発生と拡散を促進する主な原因である。体外に排出された抗生物質は、環境中から低濃度で検出されており、細菌叢が抗生物質の選択圧を受けることによる耐性遺伝子の獲得が懸念されている。さらに、環境中では細菌叢の獲得した耐性遺伝子が、病原性細菌へ水平伝播する可能性がある。そのため、耐性遺伝子の獲得を促進させる要因と耐性遺伝子が水平伝播する可能性を明らかにすることは重要である。そこで本研究では、培養に依存しないメタゲノム解析を行い、製薬工場からの排水によって暴露された河川底泥中の抗生物質濃度、ならびに底泥を構成する細菌叢と耐性遺伝子について調査した。試料は、インドの製薬工場から排出される排水直下、処理水が流入する河川の上流域と下流域における底泥を採取した。各底泥試料中の塩基配列は、454パイロシーケンシング法によって決定した。得られた塩基配列情報をもとに、BLAST解析によって底泥中の微生物と耐性遺伝子を分類した。さらに、底泥中の抗生物質は、フルオロキノロン系薬剤8種とスルホンアミド系薬剤46種を対象として、LC/MS/MSを用いて分析した。

全ての河川底泥において抗生物質濃度を測定した結果、6種のフルオロキノロン系薬剤が検出された。中でも、シプロフロキサシンは、河川上流、排水直下、および河川下流の底泥からそれぞれ最大で、7.1 µg/g, 529 µg/g, および914 µg/gで検出された。その一方で、スルホンアミド系薬剤はいずれの底泥からも検出されなかった。底泥を対象としてメタゲノム解析を行った結果、底泥中を構成する微生物は、細菌 (85.5%), ウイルス (9.5%), 真核生物 (2.9%), およびアーキア (2.1%) であった。また、様々な耐性遺伝子 (*sul2*, *strA/B*, および *Qnr*) が検出され、特に下流域の底泥からは、スルホンアミド系薬剤に耐性を示す遺伝子である *sul2*, ならびにストレプトマイシン系薬剤に耐性を示す *strA/B* が高濃度で検出された。さらに、インテグロン、トランスポゾン、およびプラスミドといった水平伝播する要素を含む可動性遺伝子が同定された。以上のことから、抗生物質の汚染は、環境中の微生物に対して耐性遺伝子の獲得を促進させる要因となり、環境中で他の菌種へ耐性遺伝子の伝播する可能性が示唆された。

第 176 回雑誌会

(Sep. 11, 2013)

(1) Sand sources and transport pathways for the San Francisco Bay coastal system, based on X-ray diffraction mineralogy

James, H. R., Kira, M., Patrick, B. L.

Marine Geology, in press (2013).

Reviewed by Y. Arao

アメリカ合衆国西海岸に位置するサンフランシスコ湾沿岸では、約半世紀の間で 1 億 5 千万 m^3 の海浜砂が失われ、沿岸線の急速な後退が問題となっている。この原因として、湾内の土砂の浚渫による沿岸への土砂供給の減少が示唆されているが、直接的な関連性は報告されていない。そこで本研究では、粉末 X 線回折 (XRD) 分析によって、サンフランシスコ湾沿岸における土砂の供給源と輸送経路を特定し、沿岸線の後退の原因を調査した。調査地域は、土砂の供給が予測される地域を 4 つに分類した (北部海岸地域、南部海岸地域、ゴールデンゲート橋地域、およびサンフランシスコ湾地域)。試料は、全地域の海浜 (27 試料)、湾底と海底 (61 試料)、露頭 (18 試料)、および河床 (13 試料) からそれぞれ採取し、合計 119 試料とした。

XRD 分析による各試料の鉱物組成を同定した結果、全調査地域に顕著な差は見られず、石英と長石が多く同定された。全地域における各試料の X 線回折ピーク強度比 (%) についてクラスター分析を行った結果、北部海岸地域上部に位置するドレイク湾の湾底の堆積物は、北部海岸地域中部の沖合の堆積物と最も高い類似性を示した。さらに、北部海岸地域上部に位置するロシアン川の河床および河川周辺の露頭の堆積物は、ドレイク湾の湾底の堆積物および南部海岸地域の沖合の堆積物と類似性を示した。これらのことから、ロシアン川からドレイク湾へ流入した土砂は、南部海岸地域へと輸送されと考えられた。その一方で、サンフランシスコ湾地域におけるセントラル湾の湾底の堆積物は、サンフランシスコ湾に流入するサクラメント川、サンホアキン川、およびナパ川の河床の堆積物と高い類似性を示した。さらに、セントラル湾の湾底の堆積物は、ゴールデンゲート橋地域の湾底の堆積物および海浜砂と類似性を示した。これらのことから、サクラメント川、サンホアキン川、およびナパ川からサンフランシスコ湾へ流入した土砂は、湾内で堆積した後に、ゴールデンゲート橋を通過してサンフランシスコ湾沿岸を形成するとわかった。したがって、土砂の輸送方位はサンフランシスコ湾から沿岸域に向かっていることから、サンフランシスコ湾沿岸線の後退は、湾内の土砂の浚渫などが原因となり、土砂の供給が妨げられたと推察された。

(2) 河川下流域の土砂動態に着目した富栄養化湖沼の流入負荷特性に関する検討

二瓶 泰雄, 大関 雅丈, 福地 正宗

水工学論文集 **51**, 1111-1116 (2007).

レビュー：木原 浩助

富栄養化が著しい湖沼において水環境管理を行う場合、流域から河川を経由して流入する流入負荷を適切にモニタリングやモデリングすることが極めて重要である。そのため、河川と湖沼の接続点において、流量や水質濃度を実測することが必要であるが、接続点では湖沼の水位変化や水質の影響を直接的に受ける。特に、懸濁態物質の輸送量を算定する際には、接続点と湖沼への影響の小さい上流側の地点（一般観測点）に、大きな違いが生じる場合がある。また、降雨時イベント、月、年などの様々な時間スケールにおいて、湖沼への流入負荷特性の変化は不明な点が多い。そこで本研究では、湖沼へ流入する河川下流における懸濁態物質について、様々な時間スケールでの流入負荷量の把握を行うとともに、そのモデリング手法について検討した。調査は、富栄養化湖沼である千葉県手賀沼に流入する大堀川流域を対象とし、2005年6月3日から2006年6月3日までの1年間行った。水位と濁度は、自記式測器により連続データを取得し、水位データを用いて、水位-流量（H-Q）曲線から流量の算定を行った。また、濁度の連続データはSSと濁度の検定曲線からSSに変換し、調査期間の降雨時において、表層バケツ採水を行い、ガラス繊維ろ紙法によってSSを求めた。さらに、接続点の上流側5地点において、現地直接計測型巻上げ装置によって、底質巻上げ量を算定した。

上流側の一般観測点と下流側の接続点におけるSSフラックスを時間スケールで比較した結果、降雨時や月という短い時間スケールでは、一般観測点と接続点との間に非常に大きい差が生じた。その一方で、年間の時間スケールでは大きな差は生じなかった。このことから、降雨時毎や月間の総負荷量の算定に関して、一般観測点を対象として、モニタリングを行うことは、大きな誤差を生むことが明らかとなった。次に、河川下流域における底質巻上げ特性を評価した結果、接続点の近傍と比較して、接続点の上流側（1.5km）では、1オーダー以上の差異が見られた。そのため、土砂動態を考慮して流入負荷モデルを構築する場合は、河床における底質巻上げ量の底面せん断力モデルや底面せん断力の高精度評価が極めて重要である。また、湖沼への流入負荷のモデリングでは、底層巻上げ量の空間分布を適切に与え、十分な格子解像度を確保する必要がある。

第 177 回雑誌会

(Sep. 18, 2013)

(1) 紫外線照射後の水中における細菌増殖抑制効果に関する栄養塩の役割

酒井 宏治, 片山 浩之, 大垣 眞一郎

環境工学研究論文集 **40**, 213-220 (2003).

レビュー：宇野 瑞穂

上下水処理で一般的に用いられる塩素消毒は、副生成物として発ガン性物質であるトリハロメタンが生成される。また、1996 年の埼玉県越生町で発生したクリプトスポリジウムの集団感染によって、塩素消毒では十分に不活化されない病原性微生物が問題となり、塩素消毒の代替法として紫外線消毒が注目されている。紫外線消毒は、消毒効果の残留性が無く、放流先の生態系に及ぼす影響は小さいことが知られている。しかしながら、近年、紫外線照射後の水中において藻類や細菌の増殖が抑制されることが報告がされており、細菌の増殖抑制効果に関する検討例は少ない。そこで本研究では、試料の組成と濃度を変化させ、紫外線照射後における消毒効果の残留性を調査した。試料は、組成を変化させ（栄養塩のみ投入、有機物のみ投入、および有機物と栄養塩の両方を投入）3 種類作製し、さらに、栄養塩濃度を、1/20 倍、1 倍、および 10 倍に変化させた計 6 種類の試料を用いた。栄養塩には、 β グリセロリン酸ナトリウム、 KNO_3 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 、および MgSO_4 を用いた。紫外線照射後の全試料について、*E.coli* K12F⁺ (A/λ) を混合させ、0 時間、24 時間、および 48 時間後の微生物濃度を測定した。

栄養塩と有機物を投入した試料における微生物濃度の減少は、最大でそれぞれ 0.26 Log, 2.0 Log となった。その一方で、有機物と栄養塩の両方を投入した試料では微生物濃度が減少し、最大で 3.3 Log となった。このことから増殖抑制効果は、光増感剤となる有機物が存在し、栄養塩が存在する場合に増大されることがわかった。また、栄養塩濃度を変化させた試料に紫外線照射を行った結果、1/20 倍濃度と 1 倍濃度において微生物濃度は減少し、最大でそれぞれ 0.71 Log, 3.3 Log となった。さらに、栄養塩濃度を増加させた 10 倍濃度の試料では最大 2.0 Log となった。これらのことから、増殖抑制効果には最適な栄養塩濃度が存在することが示された。各栄養塩の増殖抑制効果を検討した結果、 β グリセロリン酸ナトリウムおよび MgSO_4 と比較して、 KNO_3 と $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ をそれぞれ加えた試料において、増殖抑制効果の増大が認められた。したがって、 KNO_3 と $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ に共通する硝酸イオンは、増殖抑制効果の増大に寄与している可能性が示唆された。

(2) 水環境中における VNC 状態の細菌の挙動について

沢谷 圭介, 金子 伸一郎, 矢口 淳一

環境工学研究論文集 **43**, 551-558 (2006).

レビュー：清水 則年

近年、自然界における微生物生態工学では、Viable but Non Culturable (VNC：生きているが培養できない) 状態で多くの微生物は存在するという概念が注目されている。これまで顕微鏡で観察できる菌を全菌数、寒天培地で培養される菌を生菌数として、培養できない菌は死んでいると見なされていた。しかし、生理的活性を顕微鏡によって直接検出した最近の研究では、生理的活性を維持している VNC 状態の細菌の存在が認識されてきた。従来、病原菌やその代替指標である大腸菌群の検出は培養法に依存してきたため、VNC 状態の細菌は不活性と見なされ、飲料水や水環境からの感染リスクを過小評価してきた可能性がある。そこで本研究では、生理的活性のある細菌を計測する方法として、直接蛍光顕微鏡下で計測できる 4 つの蛍光染色法を検討し、河川や排水処理施設の細菌数の計測を行った。試料は青森県内の 6 水域にて 2004 年冬から 2005 年秋にかけて 3 回採水した。また、八戸工業高等専門学校生活排水処理施設と青森県内の M 浄化センターの曝気槽流入水、最終沈殿地流出水、および処理水を採水した。生菌数の計測は PGY 培地と R2A 培地を用い、全菌数はろ過捕集後、蛍光染色剤 DAPI 溶液で染色し落射蛍光顕微鏡で計数した。

6 水域ではいずれも全菌数が 1×10^7 個/mL 前後であり、生菌数は $1 \times 10^4 \sim 10^5$ 個/mL の範囲で全菌数より 2~3 : オーダー低くなった。全菌数に対する生菌数の比率は 0.08~2.16% であり、自然界では DAPI で検出されるほとんどの細菌が平板培養出来ない状態にあることが確かめられた。一方、曝気槽流入水、最終沈殿地流出水および処理水については、いずれも 1~2 オーダー程度生菌数の方が全菌数より少なかった。これは、有機物濃度が高い生活排水が流入する処理施設の方が河川水に比べ細菌が生存しやすいためと考えられる。また、生理的活性のある細菌の数は、河川水も排水処理施設内の排水も生菌数と全菌数の中間に位置し、生菌数よりかなり多く検出された。したがって、水環境中には生理的活性はあるが培養できない細菌、つまり VNC 状態にある細菌が多数存在することが示された。また、消長実験の結果、これらの細菌は比較的長期間にわたって活性を維持できることが明らかになった。河川水や排水の衛生学的評価を行うには VNC 状態の細菌の挙動を考慮することが必要であると考えられる。

第 178 回雑誌会

(Sep. 24, 2013)

(1) Occurrence and antibiotic resistance of multiple *Salmonella* serotypes recovered from water, sediment and soil on mid-Atlantic tomato farms.

Micallef, S. A., Rosenberg Goldstein, R. E., George, A., Kleinfelter, L., Boyer, M. S., McLaughlin, C. R., Estrin, A., Ewing, L., Jean-Gilles Beaybrun, J., Hanes, D. E., Kothary, M. H., Tall, B. D., Razeq, J. H., Joseph, S. W. and Sapkota, A. R.

Environmental Research, **114**, 31-39 (2012).

Reviewed by M. Ushijima

近年、トマトの摂取に起因するサルモネラへの感染が度々発生している。特に、包装や調理時などトマトの収穫後におけるサルモネラ汚染に起因する感染が報告されている。しかしながら、トマトの収穫前におけるサルモネラ汚染が原因となる可能性も考えられる。そこで本研究では、トマト農場におけるサルモネラの生息環境と汚染のメカニズムを調査し、単離したサルモネラについて薬剤感受性試験を行った。調査地点は、アメリカの中部大西洋に位置する 14 のトマト農場（大規模農場：9 カ所、小規模農場：5 カ所）を対象とし、2009 年～2010 年に調査を行った。試料として、トマトの果実と葉、土壌、地下水、灌漑用池の水と堆積土、灌漑用水路の水と堆積土、および砂ろ過装置のバックウォッシュ水を採取した。また、トマトの収穫時に使用する瓶と農場内にある公衆トイレの便器等は、綿棒を用いて拭き取ることによって採取した。薬剤感受性試験は、市販のキットを用いて 15 薬剤を対象として行った。

サルモネラは、大規模農場の 4 カ所で採取された灌漑用池の水と堆積土、灌漑用水路の水と堆積土、バックウォッシュ水、および土壌から検出された。また、検出された株の血清型は Newport, Javiana, Braenderup, Typhimurium などであり、以前にトマトの摂取によって発生したサルモネラ感染の原因となった血清型と一致した。単離した 63 株について薬剤感受性試験を行った結果、バックウォッシュ水から単離した Newport 1 株は 4 剤耐性（アンピシリン、セフォキチン、アモキシシリン・クラブラン酸、スルフィゾキサゾール）、灌漑用水路の水から単離した Tennessee 1 株は 3 剤耐性（テトラサイクリン、セフォキチン、スルフィゾキサゾール）、灌漑用池の水から単離した Newport 1 株は 2 剤耐性（セフォキチン、スルフィゾキサゾール）を示した。

以上の結果から、収穫前におけるトマトのサルモネラ汚染は、サルモネラに汚染された灌漑用水や土壌がトマトに接触することによって発生していると考えられる。また、今回の調査でトマトからサルモネラが検出されなかった要因として、対象とした大規模農場において灌漑用水の砂ろ過処理や土壌表面への点滴灌漑を行っていることが挙げられる。

(2) ショウガ科植物から分離された青枯病菌の系統とそれらの寄主範囲

矢野 和考, 川田 洋一, 堀田 光生, 曳地 康史, 土屋 健一

日本植物病理学会報, 77, 88-95 (2011).

レビュー：新名 晃宜

植物病原細菌 *Ralstonia solanacearum* によって引き起こされる青枯病は、ショウガ科植物やナス科植物など 50 科 200 種もの植物に感染することが知られている。近年、ショウガ科植物から単離された青枯病菌は、repetitive sequence-based polymerase chain reaction (rep-PCR) 法によるフィンガープリント解析によって、DNA パターンの異なる 2 つの系統（Ⅰ型とⅡ型）に分かれることが報告されている。さらに既往の研究から、ショウガ科植物であるショウガとミョウガのそれぞれから単離された青枯病菌株の病原性は、ショウガ科植物とナス科植物で異なることが明らかになっている。しかしながら、ショウガとミョウガから単離された青枯病菌株の rep-PCR による系統識別と、その病原性との関係は明らかになっていない。そこで本研究では、3 種のショウガ科植物（ショウガ、ミョウガ、クルクマ）から単離した系統の異なる青枯病菌株を用いて、ショウガ科植物やナス科植物に寄生する菌株の系統とその病原性との関連性について解析した。供試菌株は、ショウガ科植物（ショウガ、ミョウガ、クルクマ）から単離した青枯病菌（Ⅰ型 14 菌株とⅡ型 4 菌株）とした。断根灌注接種試験と穿刺接種試験の供試植物として、ショウガ科 4 検体、ナス科 7 検体、キク科 3 検体、マメ科 1 検体、およびゴマ科 1 検体を用い、病原性検定を行った。

断根灌注接種試験では、Ⅰ型の菌株は、ショウガ、ミョウガ、クルクマに対して強い病原性を示したが、ゴマやラッカセイに対する病原性は弱かった。その一方で、Ⅱ型の菌株は、ショウガ、トマトなどで強い病原性を示したが、ミョウガやクルクマに対する病原性は弱かった。また、穿刺接種試験では、ショウガとミョウガは、Ⅰ型とⅡ型の菌株でいずれも高い発病率を有し、両系統による違いは見られなかった。そこで、上記の供試菌株とともに、1995～2009 年にショウガ科植物から単離した青枯病菌株（Ⅰ型：54 株、Ⅱ型：6 株）を用いて、分離源と系統との関連性を rep-PCR 法で系統解析をした。その結果、ミョウガとクルクマに感染した青枯病菌は、全てⅠ型に分類され、ショウガに感染した青枯病菌は、Ⅰ型とⅡ型の両系統が分類された。このことから、Ⅰ型の青枯病菌は、ショウガ、ミョウガ、およびクルクマに対して病原性を示し、Ⅱ型の青枯病菌は、ショウガに対してのみ病原性を示した。以上の結果から、ショウガ科植物から単離した青枯病菌株は、寄生する植物に対して、病原性が異なり、その病原性は、rep-PCR 法による系統識別との関連性が認められた。

第 179 回雑誌会

(Oct. 1, 2013)

(1) 底質のバイオアッセイと好気処理によるその毒性変化

隅倉 光博, 兒島 敏一, 岡村 和夫, 堀内 澄夫

土木学会論文集 **68**, 129-137 (2012).

レビュー: 平山 翔太

河川や湖沼の底質では、有機物等による水質悪化や生態系への影響が問題となっている。その対策として、微生物を用いた好気処理が検討されている。しかしながら、底質の毒性に関する報告例や好気処理過程における毒性変化に関する検討例は少ない。そこで本研究では、バイオアッセイ試験による河川底質の毒性評価、好気処理過程における毒性変化、および好気処理後の毒性について検討した。底質試料は、ベトナムのホーチミンを流れる河川の上流側と下流側からそれぞれ採取した。また、バイオアッセイ試験の検体には、底質試料の間隙水を用いた。供試生物には *Daphnia magna* を用い、急性遊泳阻害試験における 48 時間後の半数影響濃度 EC_{50} （ここでは、間隙水原液比率：％）を求め、 TU_{50} （毒性単位）を算出した。好気処理過程における毒性変化の評価は、密閉瓶とエアレーションの 2 種類の条件で行い、間隙水中の pH, ORP, 各物質濃度（全 22 種）、および各イオン濃度（硫酸イオン、ナトリウムイオン、塩化物イオン、アンモニウムイオン、亜硝酸イオン、および硝酸イオン）を測定した。

Daphnia magna に与える影響を検討した結果、間隙水中から検出された有害性の各物質濃度は、アンモニア、塩素、および鉄が米国環境保護庁（U.S.EPA）の提唱している EC_{50} と比較して、10～100 倍程度の高濃度で存在した。このことから、アンモニア、塩素、および鉄が毒性に寄与していると考えられた。しかしながら、間隙水に *Daphnia magna* を暴露した時の EC_{50} は、上流側と下流側ではそれぞれ 22.8%, 38.3% であり、推測された EC_{50} の値（1～10% 程度）よりも高かった。そのため、アンモニア、塩素、および鉄の毒性は何らかの複合作用によって消滅することが示唆された。また、好気処理実験による底質の毒性変化を評価した結果、好気処理経過時間と TU_{50} の関係から、底質が好気処理の過程で再毒性化する傾向が確認された。このことから、好気処理によって有機物が分解される中間代謝物が再毒性化に関与していると考えられた。そこで、底質の好気処理過程における TU_{50} の変化と窒素化合物（アンモニウムイオン、亜硝酸イオン、および硝酸イオン）の濃度変化を分析したところ、 TU_{50} と亜硝酸イオンの推移が同調する傾向にあった。このことから、亜硝酸イオンの存在が、底質の毒性変化に影響を及ぼす要因の一つであると推察された。したがって、底質の好気処理過程で現れる再毒性化には、窒素化合物の形態変化が関与していることが示唆された。

(2) 土地利用と河川の大腸菌ファージ濃度の関係

笹島 康宏, 吉村 千洋, 李 富生

環境工学研究論文集 45, 379-387 (2008).

レビュー：福留 健太

近年、糞便汚染の指標の 1 つとして大腸菌ファージが着目されており、大腸菌ファージのなかでも特に、F 特異 RNA ファージや菌体表面吸着ファージを指標とした微生物汚染の調査が国内外で行われている。しかしながら、調査の大部分は特定の場所からの排水を対象としており、河川水中の大腸菌ファージと流域の土地利用との関係についての評価例は少ない。また、水環境中の感染リスクの評価には、下水道を介した発生源からの流出過程を対象とするだけでなく、下水道の未整備地域を含めた面的な調査も重要である。そこで本研究では、都市河川を対象として大腸菌ファージの濃度を調査し、土地利用や河川水質との関係性について検討した。また、水質データを対象として主成分分析を実施し、大腸菌ファージの指標の関連性についても検討した。調査は、岐阜市内とその周辺を流れる 4 河川を対象とし、2007 年 12 月から 2008 年 4 月において、土地利用形態別に各河川の調査地点でそれぞれ 3 回採取した。測定項目は、水温、pH、EC、大腸菌ファージ濃度（F 特異 RNA ファージ、菌体表面吸着ファージ）、大腸菌濃度、DOC、紫外吸光度（UV260）、SUVA、および濁度とした。また、同様に対象とした河川の流域に位置している下水処理場の放流水についても調査した。

土地利用別（森林、農地、都市区間）に F 特異 RNA ファージ、菌体表面吸着ファージ、および大腸菌濃度を比較した結果、いずれも農地区間で最も高い値を示した。また、下水処理水が流入する都市区間では、他の区間と比較して、大腸菌ファージと大腸菌の濃度が低く、流下距離当りの濃度変化（log/km）は減少傾向を示した。さらに、下水処理水流入区間の F 特異 RNA ファージ濃度は、上流の調査地点より低く、下水処理水中の濃度と同程度であったことから、下水処理水による希釈や残留塩素による不活化が影響していると考えられる。以上の結果から、下水道が整備されている都市中心部と比較して、都市周辺部において河川水の水系感染リスクが高い可能性が示された。水質データの各測定値を用いて主成分分析を行った結果、第 1 主成分は EC、DOC、UV260、および濁度と関連性が深かった。さらに、第 1 主成分と F 特異 RNA ファージ濃度との間のみ有意な相関関係が示されたことから、菌体表面吸着ファージよりも F 特異 RNA ファージの方が環境中の糞便汚染の指標として適していると考えられる。

第 180 回雑誌会

(Oct. 8, 2013)

(1) Composition and temporal stability of gastrointestinal microbiota in irritable bowel syndrome – a longitudinal study in IBS and control subjects

Matto, J., Maunuksela, L., Kajander, K., Palva, A., Riitta Korpela, Anna Kassinen and Saarela, M.

FEMS Immunology and Medical Microbiology, **43**, 213-222 (2005).

Reviewed by H. Shimauchi

過敏性腸症候群（IBS）は、連続的または再発性のある腸の痛みや不快感といった症状を引き起こす一般的な腸疾患である。既往の研究では、IBS の症状は腸内細菌叢と関連があると指摘されており、IBS 患者と健常者の各腸内細菌叢の数に違いのあることが報告されている。しかしながら、腸内細菌の培養に基づく方法に依存した研究がほとんどであり、ヒトの腸内細菌叢のメカニズムの詳細は解明されていない。そこで本研究では、培養に基づく方法による腸内細菌の計数および PCR 増幅に基づく変性勾配ゲル電気泳動法（PCR-DGGE）を用いて、IBS 患者と健常者の各腸内細菌叢の多様性および時系列的安定性を比較検討した。被験者として、IBS 患者 26 人と健常者 25 人を対象とした。糞便試料の採取は、3 ヶ月間隔で 3 回実施した（初日、3 ヶ月後、および 6 ヶ月後）。対象とする細菌は、全嫌気性細菌、*Bacteroides fragilis* 群、ビフィズス菌、*Clostridium difficile*、乳酸菌、全好気性細菌、大腸菌群、腸球菌、酵母、および芽胞形成菌である。また、被験者のうち、時系列的安定性の評価に供した人数は、IBS 患者 21 人と健常者 17 人である。

採取初日において培養された *Bacteroides fragilis* 群、ビフィズス菌、乳酸菌、腸球菌、酵母および芽胞形成菌の各細菌数は、IBS 患者と健常者の間で有意差はなかった。一方で、大腸菌群と全好気性細菌の各細菌数は、いずれも健常者より IBS 患者の方が多かった。採取 3 ヶ月後と 6 ヶ月後に関して、IBS 患者と健常者の各個人間における細菌数に顕著な差は観測されなかった。また、*Clostridium difficile* は検出されなかった。PCR-DGGE 法によるプロファイルから、個人間の腸内細菌叢を比較したところ、時系列的に不安定であった被験者は、IBS 患者の方が多かった（IBS 患者：9/21 人、健常者：5/17 人）。IBS 患者 21 人中 12 人は試験期間に抗生物質を使用しており、6 人が時系列的に不安定であった。そのため、抗生物質の投与が腸内細菌叢の構成変化に影響を与えていると考えられる。ソフトウェア解析によって個人間の類似率を評価すると、初日と 3 ヶ月後のサンプル間（IBS 患者：89.0 ± 7.6、健常者：85.6 ± 13.8）と比較して、初日と 6 ヶ月後のサンプル間（IBS 患者：84.5 ± 15.5、健常者：82.8 ± 16.1）のほうが低い類似率を示した。以上の結果から、IBS 患者の腸内細菌叢は健常者よりも時系列的に不安定であることがわかった。

(2) Detection of vancomycin-resistant enterococci (VRE) at four U.S. wastewater treatment plants that provide effluent for reuse

Rosenberg Goldstein, RE., Micallef, SA., Gibbs, SG., George, A., Claye, E., Sapkota, A., Joseph, SW. and Sapkota, AR.

Science of the Total Environment, **466-467**, 404-411 (2014).

Reviewed by M. Nishiyama

バンコマイシン耐性腸球菌（vancomycin-resistant enterococci, VRE）は、グラム陽性菌による感染症治療の特効薬であるバンコマイシンに耐性を獲得し、院内感染で問題となる薬剤耐性菌である。近年、VREは病院排水や下水の処理プロセスから検出され始めている。さらに、下水放流水中にVREが存在したことから、環境中へのVREの拡散が懸念されている。しかしながら、下水放流水を再生水として利用する下水処理場を対象としたVREの発生を評価した研究例は少ない。そこで本研究では、下水処理水を灌漑用水として再利用する下水処理施設を対象とし、各処理過程におけるVREの発生、細菌濃度、および薬剤感受性について検討した。試料は、アメリカの東海岸地域と中西部地域に位置する処理方法の異なる4つの下水処理施設を対象に、流入水から処理水に至る各処理過程（流入下水、活性汚泥槽、二次処理水、および放流水）から採取し、合計44試料とした。採取後、腸球菌選択培地にバンコマイシン（16 µg/mL）を添加した培地と無添加の培地を使用して、全腸球菌とVREを計数した。VREはカタラーゼ試験を実施した後、multiplex PCR法によってバンコマイシン耐性遺伝子の保有を確認した。VRE陽性と判定された菌株について、微量液体希釈法による薬剤感受性試験を実施した。

下水処理施設の各処理過程から採取した試料を分析した結果、44試料のうち12試料（27%）からVREが検出された。さらに、全ての下水処理施設から検出された全腸球菌数に対するVREの割合は、約3%であった。単離したVREについて薬剤感受性試験を実施したところ、全てのVREは多剤耐性であり、アミノグリコシド系薬剤に対して55%が耐性を示した。次に、下水の各処理過程における全腸球菌とVREの動態を調査した結果、全腸球菌数は流入下水から処理水に至るまでに6オーダー減少した。その一方で、VREは活性汚泥処理プロセスで増加し、全腸球菌数に対するVREの割合は最大で41%となった。したがって、活性汚泥中においてバンコマイシン耐性遺伝子の伝搬の可能性が示唆された。また、VREは塩素消毒後の放流水から検出されなかったが、塩素未消毒である放流水から検出された。以上のことから、下水放流水の消毒法には塩素消毒を使用することで、環境中へのVREの拡散は抑制できると考えられる。

第 181 回雑誌会

(Oct. 22, 2013)

(1) Clay mineral distribution in surface sediments of the northeastern South China Sea and surrounding fluvial drainage basins: Source and transport

Zhifiei, L., Christophe, C., Xiajing, L., Yulomg, Z., Shouting, T., Zhong C., Fernando, P. S., James, T. L., Huang, C, -Y., You. C, -F., and Huang, K, -F.
Marine Geology, 277, 48-60 (2010).

Reviewed by Y. Arai

西太平洋の最大の縁海である南シナ海（SCS）北東部は、多量の碎屑性堆積物が海底に堆積している。近年、碎屑性堆積物の供給源の特定に関する研究が報告されているが、正確な供給源は明らかになっていない。さらに、SCS 北東部は複雑な海流の影響を受けるため、土砂の輸送経路の特定は困難である。そこで本研究では、SCS 北東部の海底（海底盆地、大陸棚、および大陸斜面）の碎屑性堆積物と、その供給源の候補である SCS 北東部周辺の流域から採取した堆積物について粉末 X 線回折（XRD）分析を実施し、粘土鉱物学的な視点から碎屑性堆積物の供給源および輸送経路を検討した。試料は、SCS 北東部の海底（71 試料）、中国南部の珠江（56 試料）、台湾の沖合と河川群（151 試料）、およびルソン半島（39 試料）から採取し、合計 317 試料とした。

XRD 分析によって、SCS 北東部の海底の主要な粘土鉱物は、イライト、カオリナイト、クロライト、およびスメクタイトと同定された。各鉱物の平均含有率を求めた結果、海底盆地および大陸棚では、イライト（海底盆地：50%、大陸棚：40%）とクロライト（海底盆地：32%、大陸棚：24%）が高い割合で存在した。スメクタイトは大陸斜面において最も高く、45%であった。カオリナイトは海底全域で 6~10%と低い割合で存在したが、西側の大陸棚のみで 25%存在した。また、堆積物の供給源と考えられる候補地域の粘土鉱物を同定した結果、台湾の沖合と河川群における粘土鉱物の含有率は、海底盆地および大陸棚と類似した。このことから、台湾の沖合と河川群の堆積物は、海底盆地および大陸棚へ流れる広東沿岸流と深層流によって輸送され堆積すると考えられた。ルソン半島の堆積物は、粘土鉱物の含有率が大陸斜面と類似したことから、大陸斜面へ流れる黒潮と表層流による輸送の堆積と考えられた。さらに、中国南部の珠江では、珠江東部と北部において、カオリナイトの含有率が 68~72%に達する場所が確認された。これらのことから、西の大陸棚における堆積物の供給源は珠江であり、沿岸潮流によって輸送されると推定された。以上の結果より、SCS 北東部の碎屑微粒堆積物は、対象とした全候補地域から供給されているが、各地域の堆積物は別々の海流によって輸送されることが示唆された。

(2) Distribution of antibiotic resistance in urban watershed in Japan.

Ham, Y., Kobori, H., Kang, J., Matsuzaki, T., Iino, M., and Nomura, H.
Environmental Pollution, **162**, 98-103 (2012).

Reviewed by M. Ushijima

ヒトや動物に対する過剰な薬剤の処方に起因し、薬剤耐性菌がヒトの排泄物、食肉、養殖場、河川、および湖沼から頻繁に検出されている。特に、都市河川において、薬剤耐性大腸菌による汚染が度々報告されており、飲料水の安全性や公衆衛生が脅かされている。しかしながら、薬剤耐性大腸菌を対象とした水質評価法は未だ確立していない。そこで本研究では、都市河川における薬剤耐性大腸菌の拡散状況を調査し、薬剤耐性大腸菌による水質評価を検討した。調査地点は、日本の東京都を流れる多摩川の上流：3 地点、中流：2 地点、下流：2 地点、支川：3 地点の計 10 地点を対象とした。試料は、各調査地点を流れる河川水とし、2003 年 7 月から 2004 年 11 月の間に、月 1 回のサンプリングを行った。また、単離した大腸菌について、12 薬剤を用いて薬剤感受性試験を行った。

各調査地点における大腸菌数の平均は 4~647 CFU/100 mL であり、流域別の平均値は下流で最も高かった（上流：5 CFU/100 mL, 中流：25 CFU/100 mL, 下流：228 CFU/100 mL, 支川：204 CFU/100 mL）。また、各調査地点における薬剤耐性大腸菌の平均検出率は 22~75%であり、流域別の平均検出率は上流で最も高かった（上流：60%, 中流：20%, 下流：38%, 支川：33%）。さらに、大腸菌数と薬剤耐性大腸菌数は、降雨量の多い 8 月から 10 月にかけて劇的に増加した。ここで、各調査地点における大腸菌数と薬剤耐性大腸菌の検出率（単離した株に占める薬剤耐性株の割合）について相関分析を行った結果、両者には有意な関係は認められなかった（ $R=-0.389$, $p=0.205$ ）。その一方で、大腸菌数と薬剤耐性大腸菌の菌数には、有意な関係が認められた（ $R=0.963$, $p<0.001$ ）。したがって、薬剤耐性大腸菌によって、薬剤耐性大腸菌による汚染と糞便汚染を評価する場合、検出率ではなく菌数を用いる必要があると示唆された。薬剤感受性試験を行った結果、薬剤耐性大腸菌の大部分は、ST 合剤、アンピシリン、およびテトラサイクリンに耐性を示した。一方で、ミノサイクリン、アモキシリン・クラブラン酸、シプロフロキサシン、およびオフロキサシンに対して耐性を示す株は少なく、全て多剤耐性株であった。このことから、多剤耐性株の有する薬剤耐性遺伝子の伝搬によって、ミノサイクリン、アモキシリン・クラブラン酸、シプロフロキサシン、およびオフロキサシンに耐性を示す株が蔓延する可能性が考えられた。

第 182 回雑誌会

(Oct. 29, 2013)

(1) 光触媒，過酸化水素，紫外線の組み合わせによる海水殺菌

野口 寛，五ノ井 浩二，花輪 剛，角谷 祐公，磯和 俊男，橋本 和仁
水環境学会誌 26, 649-654 (2003).

レビュー：宇野 瑞穂

魚介類を扱う市場等で利用する洗浄水は，殺菌済み海水が用いられている。海水の殺菌方法として，塩素剤，オゾン，および紫外線の各処理法が挙げられる。塩素処理法やオゾン処理法は，人体に悪影響を及ぼす副生成物を生成するため，副生成物の生成のない紫外線処理法が急速に普及しつつある。しかしながら，紫外線処理法は不活化した細菌の光回復が問題視されている。既往の研究において，下水や河川を対象とした場合，紫外線処理に光触媒（酸化チタン）処理を加えることによって，光回復を抑制できるという報告がある。そこで本研究では，海水を対象とし，紫外線と光触媒処理に加えて，食品の殺菌剤として使われている過酸化水素を用いた殺菌法の処理条件を検討した。また，得られた殺菌処理条件において，実験プラントを構築し，紫外線処理（低圧紫外線ランプ），過酸化水素処理（過酸化水素試薬），および光触媒処理（酸化チタン）による連続運転試験を 2001 年 11 月 12 日～17 日の計 6 日間行い，殺菌処理の安定性を検討した。光回復後の大腸菌群数から処理条件を比較するため，蛍光灯による可視光照射を行った。測定項目は，水温，吸光度，大腸菌群数，一般細菌数，過酸化水素濃度，および臭素酸濃度とした。

紫外線処理後に光触媒による処理を行った結果，光回復後の大腸菌群数は，光触媒接触時間 1.3 h において不検出レベルまで抑制され，5 L/h の殺菌海水を得ることができた。次に，過酸化水素を用いて 2 通りの処理順序（紫外線処理→過酸化水素処理→光触媒処理→可視光照射，過酸化水素処理→光触媒処理→可視光照射）を比較したところ，紫外線処理→過酸化水素処理→光触媒処理→可視光照射の方が低濃度の過酸化水素水で光回復を抑制することがわかった。また，紫外線処理→過酸化水素処理→光触媒処理→可視光照射を行った結果，大腸菌群数の光回復は，光触媒処理時間 2.6 min 以上において不検出レベルまで抑制され， 3.2×10^3 L/d（約 133 L/h）の殺菌海水を得ることができた。さらに，実験プラントにおける連続処理試験では，光回復後における大腸菌群数の不活化率を 76%以上に維持した。したがって，紫外線処理→過酸化水素処理→光触媒処理の組み合わせによる殺菌処理によって，光触媒処理時間が最も短く，光回復を抑制した殺菌海水が得られることがわかった。

(2) 多点濁度観測による筑後川水系の SS 流出・輸送特性に関する研究

横山 勝英, 藤塚 慎太郎, 中沢 哲弘, 高島 創太郎

水工学論文集 52, 553-558 (2008).

レビュー：木原 浩助

山地流域における土砂生産や河道における流砂の問題は、防災や環境の面から重要である。しかしながら、ウォッシュロードは、生産源や生産過程が明確でないため、力学的なモデルの確立が困難である。また、現地観測に基づいた研究は報告されているが、生産量の増加する洪水時において、多数の流域を比較した研究例は少ない。さらに、土地利用とウォッシュロードの生産・輸送の関係は明らかとなっていない。そこで本研究では、筑後川水系を対象とし、源流域のウォッシュロードの生産、および河口域を含めた水系全体の輸送の特徴について検討した。現地観測は、2002 年～2006 年において、筑後川水系の 17 地点に濁度計を設置し、10 分間隔で濁度のモニタリングをするとともに、洪水時にはバケツによる採水も実施した。そして、濁度と SS 濃度のデータから相関式を算出し、SS 濃度の時系列を作成した。また、洪水期間における SS 輸送量、および比流量と比輸送量の関係式について検討した。

洪水期間における筑後川の SS 輸送量を算出した結果、最上流部の中でも急峻かつ降雨量の多い地点において、SS 生産量が卓越していた。また、上流の治水ダムにおける SS の流入量と放流量は、それぞれ 71×10^6 kg と 39×10^6 kg であり、流入した SS の 55% が放流されていた。感潮河道を通過する SS は、 602×10^6 kg であり、上流域における SS 生産量の 156×10^6 kg と比較すると、約 4 倍に増加していた。そこで、感潮河道の区間において河床底泥の浸食を仮定して（平均浸食深さ 1 m, 浸食幅 150 m, 浸食区間 13 km, 含水比 200%）浸食底泥を算出した結果、浸食底泥量は 820×10^6 kg であった。以上の結果より、SS 増加量と浸食底泥量はオーダー的に一致することから、筑後川の感潮河道区間における、河床底泥の浸食によって、SS を下流域に供給していると推察された。各地点における比流量と比 SS 輸送量の相関式を算出した結果、山地流域では、洪水時に最も急激に地表浸食が進んでいることがわかった。一方で、低平地流域では、山地流域と比較して洪水時の影響は小さく、地表浸食は進みにくい傾向にあった。また、降雨・起伏量を用いたモデルによって流域浸食深さを算出した結果、低平地における浸食深さの予測値が過小評価される傾向にあり、降雨量や起伏量のみでは、浸食深さの算出は不十分であることがわかった。したがって、土砂生産の活発な田畑・密集市街地が隣接する流域における SS 生産を見積もる場合は、流域の面積や土地利用などを考慮する必要があると推察された。

第 183 回雑誌会

(Nov. 5, 2013)

(1)金目川, 鶴見川, 多摩川における薬剤耐性大腸菌の分布

清野 敦子, 長谷川 泰子, 益永 茂樹

水環境学会誌 27(11), 693-698 (2004).

レビュー: 清水 則年

抗生物質が感染症の治療に使用され始めたことによって, 以前と比較して細菌感染症による死亡者数は大幅に減少した。しかしながら, 抗生物質に対して耐性を獲得した薬剤耐性菌による感染症が世界的に問題となっている。近年, 人のふん便, 食用肉, 養殖魚, および河川などにおいても薬剤耐性菌の分離が報告され, 一般環境への拡散が懸念されている。そこで本研究では, ふん便汚染指標細菌である大腸菌を対象として, 河川中の薬剤耐性大腸菌数の分布と河川水から単離された大腸菌株の薬剤感受性について調査した。試料は, 畜産排水が流入する金目川水系の河川と下水処理場放流水の寄与が大きい都市河川(多摩川, 鶴見川)から採取した。大腸菌数の測定は, 合成発色基質酵素培地を使用し, 青色コロニーを大腸菌数とした。薬剤耐性大腸菌数の測定は, アンピシリン (ABPC), テトラサイクリン (TC), およびスルファメトキサゾール (ST) を各培地に添加し, 形成した青色コロニーを薬剤耐性大腸菌数とした。さらに, 各試料から薬剤無添加の培地を用いて単離した大腸菌株について, 薬剤感受性をディスク法によって評価した。

金目川水系の河川水と下水処理場放流水, および農業排水路における全大腸菌数は, 0.1~124 CFU/mL の広い範囲で検出され, 大根川における河川水が最も高かった。また, ABPC, TC, およびSTの薬剤耐性大腸菌数も地点によって大きく異なった。鶴見川から分離した全大腸菌数は, 1回目, 2回目の採水でそれぞれ, 21.3 CFU/mL, 38.7 CFU/mL であり, ST耐性大腸菌の割合が最も高く, それぞれ 35.3 %, 31.0 %であった。その一方で, 多摩川の河川水と多摩川上流下水処理場放流水における大腸菌は, それぞれ, 1.0 CFU/mL~5.0 CFU/mL, 0.1 CFU/mL で検出され, ABPC耐性大腸菌の割合が 12.6 %と最も高かった。金目川水系の河川から単離した大腸菌株の薬剤感受性は, 動物用医薬品や抗菌性飼料添加物を使用している家畜のふん便から単離した大腸菌株の薬剤感受性と類似した。このことから, 金目川水系に存在する薬剤耐性大腸菌は, 畜産排水の流入による影響が高いと考えられた。また, 鶴見川と多摩川の河川水から単離した大腸菌株の薬剤感受性は, ヒト用医薬品の抗生物質販売量や臨床から分離された大腸菌株の薬剤感受性と類似する傾向を示した。このことから, 鶴見川と多摩川に存在する薬剤耐性大腸菌は下水処理場放流水の流入によるヒトのふん便由来である可能性が高いと考えられる。以上の結果から, 大腸菌の薬剤耐性パターンは, 河川へ流入する排水起源の違いによって異なることが示唆された。

(2) プールした糞便検体を使用したマルチプレックス PCR 法によるサルモネラ，腸管出血性大腸菌，赤痢菌のスクリーニング法の開発

荒川 拓，東 隆寛，萩原 直樹，西井 重明，加藤 文男，井上 浩明

日本食品微生物学会雑誌 29(2), 101-107 (2012).

レビュー：新名 晃宜

調理従事者を対象とする検便検査では，多数の検体を処理する必要がある。全ての検体を培養法で行うことは，多大な労力と培地を要するため，陽性検体を簡便にスクリーニングする方法の開発が望まれている。近年では，多種の菌種を一度に検出できる方法として，マルチプレックス PCR が知られている。しかしながら，試料由来の検出妨害物質の影響を避けるため，増菌や核酸の抽出が必要となる。さらに，死菌由来の標的 DNA が存在する場合でも陽性と判定されるため，生菌との区別ができないことが問題となっている。そこで本研究では，多数の検体から効果的に陽性検体をスクリーニングするため，検体を混合（プール）する方法について検討した。プールした検体は，増菌や核酸の抽出工程を行わず，マルチプレックス PCR を用いて病原菌の検出を行った。また，その検出感度を培養法と比較した。さらに，病原菌のゲノム DNA を糞便に添加したモデル試料を作製し，死菌を検出する可能性についても検討した。供試菌株は，糞便検体から単離されたサルモネラ，腸管出血性大腸菌，および赤痢菌のそれぞれ 1 株を使用した。

培養法による各試料の検出限界の濃度は，サルモネラと腸管出血性大腸菌で 7×10^4 cfu/g，赤痢菌で 4×10^5 cfu/g であった。一方，マルチプレックス PCR では，サルモネラと腸管出血性大腸菌で 7×10^3 cfu/g，赤痢菌で 4×10^2 cfu/g の濃度であった。培養法による各細菌の検出限界濃度以下（サルモネラと腸管出血性大腸菌： 7×10^4 cfu/g，赤痢菌： 4×10^4 cfu/g）に調整した各陽性検体を用いて，陽性検体 1 検体と陰性検体 99 検体をそれぞれプールした試料についてマルチプレックス PCR による検出を行った結果，各試料ともに陽性と判定された。また，マルチプレックス PCR による死菌の検出は，確認されなかった。さらに，実際の検便検体 2000 検体（サルモネラ 8 検体，腸管出血性大腸菌 4 検体，陰性検体 1988 検体）からランダムに 50 検体ずつ選定し，プールした試料 40 サンプルについてマルチプレックス PCR によって各細菌の検出を行った。その結果，培養法による検出結果との相関は，陽性一致率 100% (12/12)，陰性一致率 99.95% (1987/1988) であった。以上の結果から，プールした検体についてマルチプレックス PCR を用いるスクリーニング法は，培養法と比較して高感度で検出でき，擬陽性を検出する確率が低いことから，多数の検体から陽性検体をスクリーニングする方法として有効であると考えられた。

第 184 回雑誌会

(Nov. 15, 2013)

(1) 海産甲殻類アミを用いた抗菌剤トリクロサンおよびトリクロカルバンの生態影響評価

三浦 苑子, 内田 雅也, 平野 将司, 山内 良子, 吉津 伶美, 草野 輝彦,
古賀 実, 有蘭 幸司

環境と安全 4(3), 195-201 (2013).

レビュー: 平山 翔太

トリクロサン (TCS) やトリクロカルバン (TCC) は、抗菌剤として薬用石鹸やシャンプーなど様々な製品に使用される化学物質である。近年、各種排水に残留した TCS や TCC による、水生生物への影響が危惧されている。しかしながら、TCS や TCC が生態系に及ぼす影響を評価した事例は少なく、特に、排水の放流先である海域の生物に対する評価例は極めて少ない。そこで本研究では、TCS と TCC を対象化学物質として、海産甲殻類のアミを用いた生態影響評価試験を実施した。生態影響評価試験は、急性毒性試験ならびに成長・成熟試験の 2 つの方法によって行った。急性毒性試験は TCS に対して 4 濃度区 (30, 45, 67, および 100 $\mu\text{g/L}$), TCC に対して 5 濃度区 (10, 12, 14, 17, および 20 $\mu\text{g/L}$) をそれぞれ設定し、96 時間暴露したときの半数致死濃度 (LC_{50}) を算出することによって評価した。その一方で、成長・成熟試験は TCS と TCC に対して、それぞれ 3 濃度区 (TCS : 0.5, 5, および 50 $\mu\text{g/L}$, TCC : 0.05, 0.5, および 5 $\mu\text{g/L}$) を設定し、14 日間暴露したときの脱皮数、体長、頭胸甲長、湿重量、および雌雄比をエンドポイントとして評価した。また、雌雄を判別する際、未成熟な生殖腺を呈する個体は未成熟個体とした。

急性毒性試験の結果、TCS と TCC の LC_{50} 値はそれぞれ 70 $\mu\text{g/L}$ と 12 $\mu\text{g/L}$ であり、これまで水環境中で検出された濃度 (TCS : 0.9 $\mu\text{g/L}$, TCC : 0.25 $\mu\text{g/L}$) と比較して高い値であった。そのため、TCS ならびに TCC のアミに対する急性毒性影響は弱いと判断された。14 日間の成長・成熟試験の結果、総脱皮数は TCS では全ての暴露濃度区、TCC では最小暴露濃度区以外の濃度区 (0.5 $\mu\text{g/L}$, 5 $\mu\text{g/L}$) において、濃度の増加に伴って脱皮数の減少が認められた。体長ならびに頭胸甲長は、TCS では全ての暴露濃度区、TCC では最大暴露濃度区において、有意な低下が認められた。湿重量は、TCS では最大暴露濃度区、TCC では 0.05 $\mu\text{g/L}$ と 5 $\mu\text{g/L}$ の暴露濃度区において有意な低下が認められたが、濃度の増加に伴った減少は認められなかった。雌雄比ならびに未成熟個体の割合は、TCS, TCC とともに最大暴露濃度区において未成熟個体の割合が高かった。以上のことから、TCS ならびに TCC の急性毒性影響は弱い、長期的に暴露されることによって、生態系に影響を及ぼすことが示唆された。

(2) 紫外線－光触媒処理による水中細菌の不活化

田中 卓実, 相沢 貴子, 浅見 真理

水環境学会誌 24(4), 233-239 (2001).

レビュー：福留 健太

浄水過程における紫外線処理は装置が単純であり、副生成物が生成し難いから、塩素消毒の代替技術として普及し始めている。しかしながら、紫外線処理によって不活化された細菌等は、近紫外線や可視光線によって再活化（光回復）する問題があり、光回復を抑制する技術として紫外線－光触媒処理が検討されている。そこで本研究では、鳥取市の都市河川水について、二酸化チタンを用いた紫外線－光触媒処理を実施し、消毒効果指標細菌（一般細菌、従属栄養細菌）に対する不活化効果、および光回復の抑制効果を調査した。さらに、河川水、地下水、および水道水について、紫外線－光触媒処理によって生成する副生成物（アルデヒド類）を明らかにし、飲用水や生活用水への適用について検討した。不活化効果の検討は、試料に紫外線（UV）、およびブラックライト（BL）を照射し、光触媒の有無や照射時間等の条件を変化させて細菌数を測定した。光回復の検討は、UV を照射（5 min, 1 hr）して指標細菌を不活化させた試料に、1～2 日間可視光を照射した後に細菌数を測定した。

指標細菌の不活化効果について検討したところ、光触媒の有無に関わらず、UV 照射（照射時間：120 sec）では、指標細菌の 99%が不活化した。その一方で、BL 照射（照射時間：3hr）では、一般細菌は 74%、従属栄養細菌は 88%程度不活化した。このことから、UV 照射は BL 照射と比較して、指標細菌の不活化効果が大きいとわかった。また、光触媒を併用することによって、不活化率は、最大で 0.5log 程度に増加した。光回復の抑制効果について検討した結果、一般細菌を UV 照射（照射時間：1 hr）した場合、可視光照射を受けた 2 日後に光回復が確認された。また、従属栄養細菌を同様の条件で暴露した場合、光触媒を併用し、暗所で保存した細菌を除き、不活化後 1～2 日後に光回復した。一般細菌と従属栄養細菌の光回復は、光触媒を併用した場合では、UV 照射単独の場合と比較して、光回復した細菌数が少なかったことから、光触媒処理の併用により、光回復を抑制することがわかった。しかしながら、紫外線－光触媒処理によって、UV・BL 照射、光触媒の有無に関わらず、副生成物（ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、およびプロピオンアルデヒド）が生成した。これらの副生成物の濃度は、健康影響上の指針値と比較すると十分に低い濃度であるため、人体への影響は小さいと考えられる。以上の結果から、紫外線－光触媒処理は飲用水に利用する水の消毒に有効であると示唆された。

第 185 回雑誌会

(Nov. 26, 2013)

(1) Inactivation of indicator micro-organisms from various sources of fecal contamination in seawater and freshwater

Noble, R. T., Lee, I. M. and Schiff, K. C.

Journal of Applied Microbiology, **96**, 464-472 (2004).

Reviewed by M. Uno

水系感染症を引き起こす恐れのある病原体の存在を推定するために、指標微生物である大腸菌、大腸菌群、腸球菌、および F⁺特異大腸菌ファージが用いられている。既往の研究において、指標微生物の生存は生物的や非生物的要因によって影響すると考えられている。しかしながら、実際の環境水を用いて、指標微生物の生残性に影響を及ぼす要因について検討した事例は少ない。そこで本研究では、米国カリフォルニア州における下水流入水、下水流出水、および都市雨水流出水を用いて、海水や淡水と混合させた場合の指標微生物の挙動を調査し、指標微生物の不活化に影響を与える環境要因（水温、全浮遊懸濁物質、栄養塩濃度、初期微生物濃度、日射量）について検討した。実験は、1999 年 12 月、2000 年 4 月と 8 月の計 3 回行った。試料を 2 L の容器に入れ、一定時間（0 h, 6 h, 12 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h）ごとに大腸菌、大腸菌群、および腸球菌数を測定した。また、3 回目の実験においては、F⁺特異大腸菌ファージ数も測定した。

海水と下水流出水の混合溶液において、大腸菌、大腸菌群、および腸球菌を 90%不活化するために必要な時間は、水温 14℃の場合、それぞれ、121.2 h, 109.7 h, 177.1 h であった。一方、水温の高い 20℃の条件では、それぞれ、85.2 h, 79.4 h, 115.1 h となった。異なる 3 つの指標微生物は、水温 14℃と比較して、20℃において急速に不活化したことから、水温が指標微生物の不活化に影響を与えていると考えられた。また、海水と栄養塩、全浮遊懸濁物質、および初期微生物濃度をそれぞれ段階的に変化させても、指標微生物の不活化速度との間には有意な差は認められなかった ($p > 0.05$)。さらに、海水または淡水と下水流入水の混合溶液において、日射量を増加させた方が大腸菌、腸球菌、および F⁺特異大腸菌ファージは急速に不活化した。

以上の結果から、対象とする指標微生物によって不活化速度は異なり、水温や日射量が指標微生物の不活化に影響を与えることが示唆された。

(2) An assessment of the suspended sediment rating curve approach for load estimation on the River Bandon and Owenabue, Ireland

Harrington, S.T and Harrington, J.R.

Geomorphology, **185**, 27-38 (2013).

Reviewed by K. Kihara

浮遊懸濁物質（SS）の山地流域からの輸送に関する研究は、貯水池、河床、港などの堆砂問題を解決するために広く実施されている。一般に SS の負荷量は、SS 濃度（SSC）と流量（Q）のデータを組み合わせることによって推定される。しかしながら、流量の増大する洪水時のデータが少ないため、推定した負荷量は、過小評価されている可能性がある。そこで本研究では、アイルランド南西部を流れるバンドン川とオーウェンボーイ川を対象とし、SSC と Q の関係式から推定した負荷量を評価した。調査は、2009 年 9 月 15 日から 2010 年 9 月 15 日と 2010 年 2 月 10 日から 2011 年 2 月 10 日において実施した。また、バケツ採水によって得られた濁度と SSC（バンドン川：n=72，オーウェンボーイ川：n=66）の関係式を用いて濁度を SSC に換算し、推定した SS 負荷量（SSL）を実測値とした。一方で、2004 年から 2011 年における SSC と Q のデータを 3 つの場合（全期間、夏期/冬期、流量の上昇/下降期）に区分して、それぞれについて対数曲線とべき乗曲線を算出し、15 分ごとの流量データを用いて SSL を推定した。また、流量のモニタリング頻度による SSL の違いを比較するために、流量データの全期間における対数曲線とべき乗曲線については、日平均流量データを用いた SSL も推定した。さらに、実測値と推定値の SSL を年間と月ごとにそれぞれ比較し、SSC-Q 曲線の適合性について評価した。

バンドン川とオーウェンボーイ川において、SSC と濁度は高い相関を示し、($r^2=0.87$, $r^2=0.97$) 濁度の連続モニタリングによる年間 SSL は、それぞれ 6,012 t/yr と 2,636 t/yr と見積もられた。年間 SSL について SSC-Q 曲線と実測値で比較した結果、バンドン川では、上昇/下降期データのべき乗曲線を用いた方法によって 5,985 t/yr となり、実測値に近い値で推定された。一方で、オーウェンボーイ川では、全期間データのべき乗曲線を用いた方法によって 2,646 t/yr となり、実測値に近い値で推定された。また、SSC-Q 曲線を用いた SSL と実測値を月ごとに比較した結果、月平均の実測値と推定値の誤差は、バンドン川とオーウェンボーイ川でそれぞれ、-12%と 87%であった。実測値と比較してバンドン川では、SSC-Q 曲線を用いた SSL は過小評価され、逆に、オーウェンボーイ川では、過大評価された。以上のことから、SSC-Q 曲線を用いた SSL の年間推定は、べき乗曲線によって可能であるが、月ごとでは大きな誤差が生じることが考えられた。

第 186 回雑誌会

(Dec. 3, 2013)

(1) Prevalence and distribution of fecal indicator organisms in South Florida beach sand and preliminary assessment of health effects associated with beach sand exposure

Bonilla, T. D., Nowosielski, K., Cuvelier, M., Hartz, A., Green, M., Esiobu, N., McCorquodale, D. S., Fleisher, J. M. and Rogerson, A.

Marine Pollution Bulletin **54**, 1472-1482 (2007).

Reviewed by N. Shimizu

沿岸域におけるレクリエーションビーチのふん便汚染を評価するため、沿岸海水のふん便指標細菌が計数されている。近年、ビーチの砂からふん便指標細菌が検出されており、ビーチ利用者の砂との接触による健康被害が懸念されている。しかしながら、ふん便性細菌が蓄積している可能性があるビーチの砂に関して、定期的な観測は行われていない。そこで本研究では、沿岸海水、潮汐の影響を受けるビーチの砂、およびビーチ上部の乾いた砂において、ふん便指標細菌の分布を調査した。また、疫学調査によって、ビーチ利用者に関連する潜在的な健康リスクを評価した。試料は、南フロリダに位置する3つのビーチ（ハリウッドビーチ、ローダーデールビーチ、ホビービーチ）から2年間毎月1回採取した。砂は、リン酸緩衝生理食塩水中で振とう後、その上澄み液をメンブランフィルター法によって、腸球菌、大腸菌、およびふん便性大腸菌群を計数した。また、大腸菌ファージは、溶融トリプシン大豆寒天を用いたブランク法によって計数した。さらに、ビーチ利用者の滞在時間を調査し、滞在時間と胃腸疾患の発症との関係から用量-応答曲線を作成し、ビーチでの活動位置における胃腸疾患の発症リスクを評価した。

3つのビーチにおける潮汐の影響を受ける湿った砂とビーチ上部の乾いた砂からのふん便指標細菌数は、海水中のふん便指標細菌数と比較して、それぞれ、2~23倍、30~460倍高く検出された。同様に、海水と比較して、大腸菌ファージ濃度も砂の方が高濃度で検出された。これらのことから、全てのビーチにおいて、ふん便指標細菌は、海水よりも砂に高濃度で存在することが明らかとなった。また、沿岸海水、潮汐の影響を受ける湿った砂とビーチ上部の乾いた砂のそれぞれの地点において、滞在時間とビーチ利用者の胃腸疾患の発症との関係を調査した結果、乾いた砂の地点における滞在時間との間には相関が得られなかった。これに対して、沿岸海水と湿った砂の地点における滞在時間では、胃腸疾患との間に有意な相関が得られた。したがって、ビーチにおける胃腸疾患の発症には水が重要な因子であることが推察された。このことから、ビーチ上部の乾いた砂から高濃度でふん便指標細菌が検出されたが、潮汐などの水による影響を受けない地点であるため、胃腸疾患の発症リスクは低下していることが示唆された。

(2) Comparison of five rep-PCR genomic fingerprinting methods for differentiation of fecal *Escherichia coli* from humans, poultry and wild birds

Mohapatra, B. Broersma, K., and Mazumder, A.

FEMS Microbiology Letters **277**, 98-106 (2007).

Reviewed by K. Niina

水環境中におけるふん便汚染の汚染源として、都市下水道から流出した排水、野生生物の糞、および農業排水などが挙げられ、多種多様な細菌が環境中に排出される。その中でも温血動物の腸内細菌の一つである大腸菌は、水環境中のふん便汚染を評価する指標細菌として用いられている。近年、同一種内の遺伝子を識別する際に用いられるフィンガープリンティング法によって、ふん便汚染の起源を特定する方法がいくつか開発されている。そこで本研究は、遺伝子の繰り返し配列間を増幅させるためのプライマーを用いた5つの異なるPCR法(rep-PCR, (GTG)₅-PCR, BOX-PCR, ERIC-PCR, ERIC2-PCR)によって、ヒトとヒト以外の生物(家禽, 野鳥)から単離した大腸菌の区別を行い、その精度を比較した。また、水環境から単離した大腸菌の宿主を(GTG)₅-PCRを用いて特定し、その精度を評価した。供試菌株は、単離した大腸菌の計232株とした。その内訳は、ヒト48検体、家禽112検体(鶏36検体、アヒル32検体、七面鳥44検体)、野鳥72検体(カナダガチョウ42検体、カモメ30検体)である。さらに、水環境中のサンプルとして、池から40サンプルを採水し、単離した大腸菌の計113株についても検討した。

5つの異なるPCR法から得られたバンドパターンをクラスター分析によって解析した結果、(GTG)₅-PCRとBOX-PCRは、類似性レベル80%で大腸菌株を宿主ごとに区別することが可能であった。その一方で、rep-PCR, ERIC-PCR, およびERIC2-PCRは、類似性レベル80%でヒトとヒト以外の起源である大腸菌株を区別することができなかった。また、重判別分析によって、各PCR法ごとに異なる宿主から単離した大腸菌株の分類の精度について検討した。他の4つのPCR法と比較して、(GTG)₅-PCRは、大腸菌株における宿主判定の精度が最も高く、七面鳥、鶏、アヒル、カナダガチョウ、カモメ、およびヒト由来の一致率は、それぞれ94.1%, 79.8%, 80.5%, 74.4%, 86.7%, および88.6%であった。さらに、(GTG)₅-PCRによって、池から単離した大腸菌株の72.5% (82/113) が、野鳥起源として分類された。

以上の結果から、(GTG)₅-PCRを用いたゲノムのフィンガープリンティング法は、水環境中で糞便性汚染の疫学調査のための有用な手法であることが示唆された。

第 187 回雑誌会

(Dec. 10, 2013)

(1) Comparison of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* Strains Isolated from Water and Clinical Samples: Antimicrobial Susceptibility and Genetic Relationships

Castillo-Rojas, G., Mazari-Hiríart, M., Ponce de León, S., Amieva-Fernández, R.I., Agis-Juárez, R.A., Huebner, J. and López-Vidal, Y.

PLoS One, 8(4), e59491 (2013).

Reviewed by H. Shimauchi

メキシコシティ首都圏（MGMA）の地下水や帯水層では、腸球菌によるふん便汚染が報告されている。腸球菌は、環境中での生残性や薬剤耐性獲得能力を有することから、院内感染や環境汚染の原因菌として考えられている。しかしながら、MGMA における薬剤耐性腸球菌の実態や臨床分離株と環境分離株との関連性等についての報告がないため、ふん便汚染に関する情報が少ない。そこで本研究では、MGMA の病院および環境水（地下水、ソチミルコ湿地帯の水、下水処理水）から分離した腸球菌種に対して、生化学的性状試験、薬剤感受性試験を実施した。さらに、臨床分離株と環境水分離株の遺伝的関連性を評価した。対象とする腸球菌種は、ヒト腸管内の主要菌種である *Enterococcus faecalis* と *E. faecium* とした。菌種同定には、Multiplex PCR 法と市販キットを用いて同定した。遺伝的関連性は、パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）法を用いて遺伝子解析を行った後、系統樹を作成して解析した。

全試料から 121 株（臨床：31 株、環境水：90 株）の腸球菌株が分離された。また、121 株中の 102 株が *E. faecium* と *E. faecalis* と同定された。生化学的性状試験によって、ソルビトールに陽性反応を示した *E. faecium* は、臨床から 4 株、環境水から 6 株であった。また、環境水から分離された *E. faecium* のうち、ラフィノースに陽性反応を示した株は 15 株であった。既往の研究より、ソルビトールに陽性を示す *E. faecium* はイヌと関連性があり、ラフィノースについては鶏や家禽と関連していることが示唆された。薬剤感受性試験によって、102 株中 92 株が少なくとも 1 つの薬剤に対して耐性を示した。臨床分離株と環境水分離株について各薬剤に対する耐性割合を比較したところ、*E. faecium* は 4 つの薬剤（アンピシリン、テトラサイクリン、ゲンタマイシン、ストレプトマイシン）、*E. faecalis* は 3 つの薬剤（テトラサイクリン、ゲンタマイシン、ストレプトマイシン）に関して、臨床分離株の方が耐性割合が高く、いずれも有意に差があった。各腸球菌種に分けて系統樹を作成したところ、臨床分離株と関連の可能性を示す環境水分離株が少なくとも 1 株ずつあった。以上の結果から、MGMA の環境水には、病院だけでなく、イヌや鶏など様々な汚染源が混入している可能性が示唆された。

(2) Spread of multidrug-resistant *Enterococcus* to animals and humans: an underestimated role for the pig farm environment

Novais, C., Freitas, A. R., Silveira, E., Antunes, P., Silva, R., Coque, T. M. and Peixe, L.
Journal of Antimicrobial Chemotherapy, **68**, 2746-2754 (2013).

Reviewed by M. Nishiyama

家畜伝染病の発生は食糧生産に甚大な影響を与えるため、農場では一般的に抗菌薬が使用される。しかしながら、抗菌薬の使用に伴い、動物の消化器官内では薬剤耐性菌が発生し、直接的あるいは間接的なルートを通じてヒトへの感染が懸念されている。近年、院内感染の原因菌である腸球菌の、*Enterococcus faecium*と*Enterococcus faecalis*が臨床から多数分離されている。*E. faecium*と*E. faecalis*は、ヒトのみならず動物からも検出されており、動物を介してヒトへの感染する可能性も否定できない。そこで本研究では、ポルトガルにおける6つの養豚場を対象として、ブタからヒトへ多剤耐性腸球菌が感染する可能性について調査した。試料は、各養豚場のブタ、エサ、残渣、および設備から試料を採取し、合計82試料とした。採取後、腸球菌選択培地に異なる6種の抗菌薬をそれぞれ添加した培地と無添加の培地を使用し、菌株を単離した。単離菌株に対して、菌種同定試験を行った後、薬剤感受性試験ならびにPCR法によって耐性遺伝子の検出を行った。また、各試料における*E. faecium*と*E. faecalis*の代表株について、PFGE (pulsed field gel electrophoresis) 法とMLST (multi locus sequence typing) 法によって、菌株間の関連性について解析した。さらに、供与菌に単離した薬剤耐性株を用いたfilter mating法によって薬剤耐性の伝達率を評価した。

養豚場から採取した種類の異なる82試料のうち、80試料(98%)から腸球菌が検出され、各試料から合計473株単離した。菌種同定試験によって単離した473株は、*E. faecium* (n=171), *E. faecalis* (n=78), *E. hirae* (n=73), *E. gallinarum* (n=14), *E. casseliflavus* (n=5), および*Enterococcus spp.* (n=132) と同定された。薬剤感受性試験の結果、*E. faecium*の多くはアンピシリン、シプロフロキサシンまたはニトロフラントインに対して耐性を示した。その一方で、*E. faecalis*の多くは、テトラサイクリン、クロラムフェニコールまたはゲンタマイシンに対して耐性を示し、両菌種間で耐性を示す抗菌薬が異なった ($p<0.05$)。薬剤耐性の伝達率を評価したところ、バンコマイシン耐性の伝達率が80%であり、最も高い割合で伝達が確認された。また、PFGE法とMLST法によって*E. faecium*と*E. faecalis*の遺伝子型を解析した結果、同一の養豚場における肥料、残渣、ふん便から単離した*E. faecalis*のPFGE型と配列型が一致する菌株が、施設内の飲料水からも検出された。したがって、養豚場に存在する多剤耐性腸球菌が、ブタからヒトへ感染する可能性が示唆された。

第 188 回雑誌会

(Dec. 18, 2013)

(1) Chemical and mineralogical composition of marine sediments, and relation to their source and transport, Gulf of Carpentaria, Northern Australia

Micaela, P., Malcolm, E, C.

Journal of Marine Systems, **53**, 169-186 (2005).

Reviewed by Y. Arao

海底堆積物の鉱物学および化学的特徴は、堆積地周辺の気候と密接に関係している。したがって、両者の特徴を解析することによって、堆積物の輸送経路を推察することが可能である。現在までに、鉱物学的研究による海底堆積物中の粘土鉱物の分布に関する報告は多数なされているが、堆積物の化学的性質に焦点を置いた研究例は少ない。そこで本研究では、オーストラリア大陸北部のカーペンタリア湾の海底堆積物（100 試料）について、粉末 X 線回折（XRD）分析と高周波誘導結合プラズマ発光分光（ICP-OES）分析を実施し、海底堆積物中の鉱物と化学元素の分布を明らかにした。さらに、鉱物組成と化学組成の関係から堆積物の起源と輸送経路を検討した。

ICP-OES 分析によって検出された各試料の主要な化学元素は、Si および Ca であり、調査域内東側では両成分の平均含有率が高く（Si : 70.2% , Ca : 48.2%）、西側では低い（Si : 5.7 , Ca : 10.8）傾向を示した。また、Al, Na, K, Mg, および Mn の含有率は、合計 5%未満であった。検出された各試料における化学元素の含有率についてクラスター分析を行ったところ、全試料はカーペンタリア湾西側領域（A 群, B 群, C 群）と東側領域（D 群, E 群, F 群, G 群, H 群）の 8 つのクラスターに分類された。XRD 分析によって、カーペンタリア湾全域の海底の主要な鉱物は、燐鉄鉱、方解石、アラゴナイト、石英、長石、イライト、カオリナイト、およびスメクタイトと同定された。各鉱物の含有量を求めた結果、東側領域では、 CaCO_3 が主成分である方解石とアラゴナイトが多く分布していた。また、 SiO_2 の結晶鉱物である石英も多く存在した。石英は陸地で多量に産出されるため、東側領域の堆積物は陸源の河川由来であると考えられた。一方の西側領域では、東側領域と比較して方解石、アラゴナイト、および石英の含有量が減少し、粘土鉱物（カオリナイト、イライト）が増加した。特に、北西部に位置する A 群では平均 35%の粘土鉱物が含まれていた。海底堆積物は、輸送や堆積過程において続成作用を受けることから、西側領域では粘土鉱物の割合が増加したと考えられた。以上の結果から、海底堆積物の主要な供給源はカーペンタリア湾東側領域の周辺に位置する河川であり、東側領域に堆積後、続成作用によって鉱物学的変化が生じ西側領域に輸送されると推察された。

(2) *Salmonella*, *Campylobacter* and *Enterococcus* spp.: Their antimicrobial resistance profiles and their spatial relationships in a synoptic study of the Upper Oconee River basin

Meinersmann, J. R., Rerrang, M. E., Jackson, C. R., Fedorka-Cray, P., Ladely, S., Little, E., Frye, J. G. and Mattson, B.

Microbial Ecology, **55**, 444-452 (2008).

Reviewed by M. Ushijima

食中毒や水系感染症を引き起こす病原細菌は、様々な環境に存在し、動物の腸管内では類似した菌種に薬剤耐性遺伝子を伝播させることが報告されている。そのため、水環境中においても病原細菌間で遺伝子の伝播が起こる可能性がある。しかしながら、水環境を対象とした病原細菌の分布を調査した例はほとんどない。そこで本研究では、水環境中に存在するサルモネラ、カンピロバクター、および腸球菌の分布を調査した。また、各細菌を菌種、血清型、および薬剤耐性パターンによって分類し、分類された細菌の特徴を評価した。試料は、アメリカジョージア州北部に位置するオコニー川上流域の河川水とし、2005年4月26日に計83地点から採取した。試料から単離したサルモネラ、カンピロバクター、および腸球菌について、菌種、血清型、および薬剤耐性パターンを同定するために、マルチプレックスポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法、血清型別試験、および薬剤感受性試験を行った。薬剤感受性試験は、微量液体希釈法を用いて、カンピロバクター：9薬剤、腸球菌：17薬剤、サルモネラ：16薬剤について実施した。また、コルモゴロフ・スミルノフ検定（KS test）を用いて、3つの試験によって分類された細菌の分布を評価した。

サルモネラは、*Salmonella* Munchen, *S. rubislaw*, *S. hartford*, *S. Give* など、計19種の血清型が62地点から検出された。カンピロバクターは、主に *Campylobacter jejuni* と *C. coli* の2菌種が12地点から検出された。腸球菌は、*Enterococcus casseliflavus*, *E. faecalis*, *E. gallinarum* など計5菌種が71地点から検出された。薬剤感受性試験の結果、サルモネラの7株（10%）、カンピロバクターの3株（25%）、腸球菌の71株（100%）は、少なくとも1薬剤に耐性を示した。KS testの結果、*S. hartford*, *S. Give*, *E. casseliflavus*, および *E. faecalis* は、上流域の全域に存在していると考えられた。その一方で、*S. Muenchen*, *S. rubislaw*, カンピロバクター属、3剤（バシトラシン、リンコマイシン、およびフラボマイシン）耐性を示す *E. casseliflavus*, および *E. gallinarum* は、上流域において局所的に存在していると考えられた。以上の結果から、本研究に用いた手法によって、類似した細菌の分布を把握することが可能であることが示唆された。

第 189 回雑誌会

(Jan 14, 2014)

(1) Development of a growth inhibition test with the marine and brackish water red alga

Ceramium tenuicorne

Eklund, B.

Marine Pollution Bulletin **50**, 921-930 (2005).

Reviewed by S. Hirayama

生物応答試験は生物に与える物質の毒性を評価する有用な方法の一つである。現在までに様々な供試生物が利用され、多くの試験が開発されている。しかしながら、海域を対象として国際的に標準化された試験に関する知見は不足している。特に、沿岸域の主要な一次生産者である大型藻類を利用した試験は少ない。そこで本研究では、汽水域ならびに海域への適用が可能な生長阻害試験を開発するため、塩分濃度の異なる条件 (7‰, 20‰) に生育する海産紅藻イギス (*Ceramium tenuicorne*) を供試生物として、異なる培地での生長条件、試験の精度、および影響濃度の算出方法について検討した。異なる培地として、豊富な栄養素を加えた天然海水と主要な栄養素のみ (窒素, リン, 炭素, および鉄) を添加した人工海水を作成し、それぞれの生長量を比較した。対照実験において、試験開始 7 日後のイギス配偶体の全長を測定し、変動係数を算出して試験の精度を評価した。影響濃度 (半数影響濃度: EC_{50}) の算出方法は、イギス配偶体の全長、生物量、および全長の対数変換をエンドポイントとして実施した。なお、標準物質には、亜鉛と銅を用いた。

天然海水と人工海水を用いて作成した培地の間で、イギス配偶体の生長量に違いは見られなかった。また、各塩分の培地について、イギス配偶体の全長を測定した結果、変動係数は 14.6% ($n = 50$) と極めて小さかったため、試験の再現性は高いと考えられた。イギス配偶体の全長をエンドポイントとした場合の Zn と Cu の EC_{50} は、7‰の供試生物ではそれぞれ $20 \sim 33 \mu\text{gZn}^{2+}/\text{l}$ と $1.9 \sim 3.8 \mu\text{gCu}^{2+}/\text{l}$, 20‰の供試生物ではそれぞれ $32 \sim 61 \mu\text{gZn}^{2+}/\text{l}$ と $7.9 \sim 13 \mu\text{gCu}^{2+}/\text{l}$ であった。次に、生物量をエンドポイントとした場合の Zn と Cu の EC_{50} は、7‰の供試生物ではそれぞれ $20 \sim 33 \mu\text{gZn}^{2+}/\text{l}$ と $0.52 \sim 3.8 \mu\text{gCu}^{2+}/\text{l}$, 20‰の供試生物ではそれぞれ $32 \sim 61 \mu\text{gZn}^{2+}/\text{l}$ と $7.9 \sim 13 \mu\text{gCu}^{2+}/\text{l}$ であり、全長をエンドポイントとした場合と比較して、極めて類似した。その一方で、全長の対数変換をエンドポイントとした場合の Zn と Cu の EC_{50} は、7‰の供試生物ではそれぞれ $19 \sim 69 \mu\text{gZn}^{2+}/\text{l}$ と $2.9 \sim 5.7 \mu\text{gCu}^{2+}/\text{l}$, 20‰の供試生物ではそれぞれ $65 \sim 133 \mu\text{gZn}^{2+}/\text{l}$ と $14 \sim 27 \mu\text{gCu}^{2+}/\text{l}$ となり、他の 2 つのエンドポイントによる EC_{50} と比較して影響濃度が高く見積もられた。以上の結果から、海産紅藻イギスの配偶体を用いることによって、汽水域と海域への適用が可能な成長阻害試験を開発することができた。

(2) Occurrence, molecular characterization and antibiogram of water quality indicator bacteria in river water serving a water treatment plant

Okeke, B. C., Thomson, M. S. and Moss, E. M.

Science of the Total Environment, **409**, 4979-4985 (2011).

Reviewed by K. Fukudome

ふん便由来の微生物による水質汚染は、公衆衛生上、世界的に問題とされている。大腸菌群、大腸菌、および腸球菌は、水資源の微生物学的な安全性を評価するための指標として用いられている。一般的に指標生物は病原性を持たないが、水中で検出された場合、温血動物の腸管内に存在する病原体の存在が考えられる。そこで本研究では、アメリカアラバマ州のブラックベルト地域において、大腸菌群、大腸菌、および腸球菌について調査した。試料は、アラバマ州メイコン郡の主要な飲料水源である浄水場と井戸水を対象とし、それぞれ流入水と処理水を採取した。浄水場における採水は、季節ごとに年4回行った。また、浄水場水源のタラプーサ川から大腸菌群を単離し、16S rRNA 系統解析を用いて属を同定した。さらに、同定株について薬剤耐性プロファイル进行调查し、汚染源追跡の指標として、耐性プロファイルの有用性についても検討した。薬剤耐性は、ディスク法を用いて8薬剤（ゲンタマイシン、トリメトプリム、シプロフロキサシン、バンコマイシン、テトラサイクリン、アンピシリン、セフィキシム、およびニトロフラントイン）について調べた。

大腸菌群、大腸菌、および腸球菌は、浄水場流入水において検出されたが、浄水場処理水と井戸水では検出されなかった。また、大腸菌群と大腸菌は、冬季において最大値を示し、それぞれ 847.5 MPN/100 mL, 62.25 MPN/100 mL であった。一方、腸球菌は、秋に 99.7 MPN/100 mL の最大値を示した。大腸菌数は、米国環境保護庁（USEPA）の規制値以下であったが、大腸菌の検出によって潜在的な病原体の存在が考えられた。単離した大腸菌群株について、16S rRNA に基づき系統解析を行った結果、分離した9株の大腸菌群は、*E. coli* (5株)、*Enterobacter* sp. (3株)、*Klebsiella* sp. (1株) と同定された。さらに、大腸菌群株の薬剤耐性について調査した結果、バンコマイシンに対して、分離した全ての9株が耐性を示した。*E. coli* は、シプロフロキサシンとセフィキシムに最も感受性を示し、*Enterobacter* sp. は、3株中2株がアンピシリンに耐性を示した。また、大腸菌分離株の薬剤感受性パターンは、5株中4株が類似した薬剤感受性パターンであった。一般に共通の汚染源であれば、薬剤感受性は類似するとされていることから、今回の調査で分離した大腸菌株は、共通の汚染源であることが示唆された。