

## 第 351 回雑誌会

(Jun. 4, 2021)

### (1) Horizontal gene transfer of antibiotic resistance from *Acinetobacter baylyi* to *Escherichia coli* on lettuce and subsequent antibiotic resistance transmission to the gut microbiome

Maeusli, M., Lee, B., Miller, S., Reyna, Z., Lu, P., Yan, J., Ulhaq, A., Skandalis, N., Spellberg, B. and Luna, B.

mSphere, 5(3), e00329-20, 2020.

Reviewed by H. Xie

植物の葉面や根系は、環境微生物の生息地および動植物病原性細菌の宿主として機能している。*Acinetobacter baylyi* は非病原性のレタスから分離され、プラスミドを搭載した小胞を環境中に分泌することで、多様な細菌にプラスミドを転移することが明らかになっている。しかし、非病原性細菌から病原性細菌への遺伝子の移動については、もっと注目されるべきである。本研究では、野菜に定着した環境細菌における薬剤耐性菌の生存や薬剤耐性遺伝子の水平伝播についての仮説を立てた。ドナー株となるゼオシン耐性遺伝子のプラスミドを保有する *A. baylyi* と、レシピエント株となる ESBL 産生または非 ESBL 産生の大腸菌を①in vitro、②レタス、および③BALB/c ネズミを用いた in vivo で共培養した。①では、*A. baylyi* 株と ESBL 産生大腸菌または非 ESBL 産生大腸菌を液体培地で in vitro 培養した後 (37°C, 24 時間)。②では、滅菌したレタスの葉状ディスクを風乾し、ドナー株とレシピエント株の菌体懸濁液を 1:1 として 20 $\mu$ l ずつ葉ディスクの表面に滴下接種し、30°C で一日培養した。③では、②においてゼオシン耐性が伝播された大腸菌をレタス汁と混合し、ネズミに与え、その 1 週間の排泄物から単離された大腸菌をアンピシリン (100ug/ml) とゼオシン (50ug/ml) 含有 EMB 培地に 3 枚ずつ 37°C で培養した。最後に、ゼオシン耐性遺伝子のプライマー PN0041 と PN0042 (165bp) による PCR 解析でプラスミドの移動を確認した。

非病原性の環境型 *A. baylyi* から大腸菌の ESBL と非 ESBL 産生株への薬剤耐性遺伝子の伝播を in vitro で検証した。伝播率は  $1.24 \times 10^{-1}$  から  $9.85 \times 10^{-7}$  と大きく異なった。ESBL と非 ESBL 産生株の伝播率は、統計的に有意な差はなかった。また、*A. baylyi* はレタスの葉ディスク上で大腸菌に薬剤耐性プラスミドを移動することが可能であった。葉の表面が栄養不足になると、プラスミド伝播率は  $6.58 \times 10^{-9}$  に減少した。ゼオシン耐性遺伝子のプラスミドは、ネズミの腸内に存在する *Klebsiella pneumoniae* に in vivo で移動することが確認された。すなわち、*A. baylyi* 菌保有するゼオシン耐性遺伝子がレタスの葉面で大腸菌に伝播し、さらにレタスを経由してネズミの腸内細菌叢に伝播することがわかった。抗菌薬にさらされた環境細菌は、野菜の摂取によって非病原性細菌と病原性細菌の間で水平伝播し、哺乳類の腸内細菌に耐性遺伝子を伝達する可能性を示している。

## (2) Comparative analysis of various pretreatments to mitigate fouling and scaling in membrane distillation

Hsieh, I., Thakur, A, K., Malmali, M.

Desalination, **509**, 115046 (2021).

Reviewed by T. Yadaï

油または天然ガスの抽出中に副産物として生産される Produce Water (PW) の新たな処理方法として、エネルギー効率の良い膜蒸留 (MD) が検討されている。しかしながら、PW 中の膜汚染物質による MD の膜閉塞が問題となっている。そこで本研究では、PW の前処理法として、5 種類の水処理法について、PW 中に存在する膜汚染物質の除去を検討した。さらに、前処理を行った PW 処理水を MD に適用し、MD 流束を測定することによって、前処理法の実用性を確認した。実験試料には、テキサス州ミッドランドのシェールオイル貯水池から採取した PW を用いた。5 種類の前処理法は次の通りである：UF 膜、ポリ塩化アルミニウム (PAC) による凝集沈殿法、加圧浮上法、PAC+加圧浮上法、二酸化塩素 ( $\text{ClO}_2$ ) 加圧浮上法。PW の水質測定項目は、膜汚染物質である全懸濁物質 (TSS)、濁度、全有機体炭素 (TOC)、およびスケール原因物質であるカチオン (カルシウム (Ca)、マグネシウム (Mg)、ストロンチウム (Sr)、鉄 (Fe)、ケイ素 (Si)) とした。

5 種類の前処理法をそれぞれ PW に適用し、PW 中の TSS、濁度、TOC、Fe、および Si 濃度の除去率を比較した。その結果、UF 膜、PAC+加圧浮上法、および  $\text{ClO}_2$  加圧浮上法において、TSS、濁度、および Fe の除去率が 79%以上となった。その中でも、UF 膜処理を適用した場合には、TSS、濁度、および Fe の除去率がそれぞれ 98%、98%、および 99%となり、最高除去率を得た。しかしながら、これらの前処理法では、Fe 以外のカチオン (Ca, Mg, Sr) を除去することができなかった。次に、処理性が良好であった 3 種類 (UF 膜、PAC+加圧浮上法、 $\text{ClO}_2$  加圧浮上法) の PW 処理水を MD に適用し、MD 流束を測定した。その結果、UF 膜ならびに  $\text{ClO}_2$  加圧浮上法を用いた際に、高い MD 流束 ( $30 \text{ L/m}^2 \cdot \text{h}$ ) を得た。一方、PAC+加圧浮上法を用いた際には、UF 膜および  $\text{ClO}_2$  加圧浮上法と比較して、MD 流束が約 10%減少した。これは、水酸化アルミニウムによる膜の汚染が原因であると考えられる。以上の結果から、PW を UF 膜または  $\text{ClO}_2$  加圧浮上法で前処理することによって、膜閉塞や MD 流束の減少を防止できることが明らかとなった。しかしながら、Fe 以外のカチオン (Ca, Mg, Sr) を除去することができないため、長期的な運転の際、スケールによる膜閉塞が発生する可能性がある。したがって、今後の課題として、PW 中のスケール原因物質の除去に注目する必要がある。

## 第 352 回雑誌会

(Jun. 11, 2021)

### (1) **Multidrug-resistant bacteria and microbial communities in a river estuary with fragmented suburban waste management**

Ho, Y. J., Jong, M., Acharya, K., Liew, X. S., Smith, D., Werner, D. and Eswaran, J.  
Journal of Hazardous Materials, **405**, 124687 (2021).

Reviewed by M. Katafuchi

東南アジアの開発途上国や新興国では、河川水に依存して生計を立てるコミュニティが多く存在している。しかしながら、これらの地域では、一貫性の無い廃棄物処理や汚染水の放出による水質汚染が生じており、水環境における薬剤耐性細菌の出現ならびに拡散のリスクが高いとされている。そこで本研究では、マレーシア半島ジョホール州の複数の下水処理施設を備えた河川について、水質の包括的な調査を行った。試料は、2018年4月から6月において、上流から河口にかけて合計8地点(M1~M8)採取した。採取した試料について、DNAを抽出後、NGS技術を用いて菌叢解析を行った。続いて、qPCR法を用いて試料中に含まれる細菌の16S rRNA、大腸菌遺伝子、およびヒト由来の大腸菌遺伝子を定量した。得られたデータについて、主成分分析(PCA)ならびにクラスター解析を行い、採取地点と水質データの関係性を確認した。また、それぞれの平板選択培地を用いて、試料中の培養可能な総大腸菌群数、総ブドウ球菌数、および総球菌数を測定した。さらに、適切な量の抗菌薬を添加したHiCrome™寒天培地を用いて、ESBL産生大腸菌群ならびに大腸菌を単離した。得られた単離株について、9種類の抗菌薬に対する薬剤感受性試験ならびにMIC試験を行い、最後にPCR法を用いてESBL発現遺伝子の存在を調査した。

菌叢解析におけるPCAおよびクラスター解析の結果、上流側の3地点(M1~M3)と下流側の5地点(M4~M8)は、異なる微生物群集で構成されていた。qPCR法の結果、ヒト由来の大腸菌はM1およびM5で検出されなかった。さらに、培養可能な細菌の総数は、M4からM8の間では有意差が見られなかったが、M2とM3では他地点よりも有意に高いことが示された( $p < 0.05$ )。これらの結果は、M2とM3に近接する下水処理施設の排水が原因であると考えられる。ESBL産生大腸菌は、非耐性大腸菌と同様にM2とM3で最も多く単離され、M6からM8の間では確認されなかった。薬剤感受性試験とMIC試験の結果、ESBL産生大腸菌群ならびに大腸菌は、全ての単離株がテトラサイクリンおよびセフトキシムに対して耐性を示した。また、ESBL発現遺伝子が検出された単離株の77.8%は、M3からの分離株であった。これらの結果から、上流側の水質は下水処理施設の排水によって局所的に悪化したが、下流側では改善された。河川に関する総合的な健康リスクを判断するためには、流域全体を見て評価する必要がある。

## (2) Performance evaluation of powdered activated carbon for removing 28 types of antibiotics from water

Zhang, X., Guo, W., Ngo, H. H., Wen, H., Li, N., and Wu, W.

Journal of Environmental Management, **172**, 193-200 (2016).

Reviewed by Y. Ito

現在、河川や下水などの水域環境への抗菌薬の流出は、生態系やヒトの健康に影響を与える可能性があるため、非常に深刻な問題となっている。したがって、水中から抗菌薬を除去する技術への関心が高まっている。これまで、活性炭による抗菌薬の吸着研究が行われてきたが、対象とする抗菌薬の種類は限られている。そこで、本研究では、28種類の抗菌薬を対象として、粒径 75  $\mu\text{m}$  の粉末活性炭 (PAC) を用いて、除去率と吸着性能を求めた。また、実験データは、等温線モデルと速度論モデルを用いて評価した。本研究では、テトラサイクリン (TC)、マクロライド (MC)、クロラムフェニコール (CP)、ペニシリン (PN)、スルホンアミド (SA)、およびキノロン (QN) のグループに属する 28 種類の抗菌薬を対象とした。吸着実験に用いた原水は、脱イオン水で各抗菌薬濃度が 5000 ng/L になるように調整した。吸着平衡実験では、1 L 三角フラスコに原水 600 mL を入れ、続いて、PAC (5, 10, 15, 20, 30, 50 mg/L) を添加した。その後、PAC を添加した溶液をスターラーで 300 rpm の速度で攪拌し、48 時間後に、フラスコ内の溶液を真空ろ過した。同様に、吸着速度実験も 1 L 三角フラスコに 600 mL の原水を入れ、PAC 20 mg/L 添加後、25°C で攪拌した。攪拌時間は、10, 20, 30, 60, 120, および 180 分とし、所定時間攪拌後、溶液を分取した。抗菌薬の濃度は、UPLC/MS/MS によって測定した。また、吸着データを分析するために、Freundlich モデルによって吸着平衡を評価した。さらに、吸着速度は、擬似一次、擬似二次および Elovich のモデルを用いて評価した。

吸着平衡実験の結果は、PAC 添加量 30 mg/L 以上で、すべての抗菌薬が 90% 以上の除去率を示した。また、Freundlich モデル ( $R^2 > 0.9$ ) によると、吸着係数  $n$  の値は 23 種類の抗菌薬において  $n < 1$  となった。吸着速度実験では、抗菌薬の除去率は、開始 10 分ですべて 70% 以上を示した。また、PAC の最大平衡吸着量は、攪拌時間 120 分と 180 分において、それぞれ 249 ng/mg と 250 ng/mg であった。そして、速度論モデルでは、擬似二次モデル ( $R^2 = 0.99$ ) が最も適していた。以上のことから、今回、対象とした 28 種類の抗菌薬において、90% 以上の除去率が得られたことから、PAC が、抗菌薬の除去に適した吸着剤であることがわかった。今後の課題としては、より多種類の抗菌薬を用い、PAC への吸着性能を評価する必要がある。

## 第 353 回雑誌会

(Jun. 18, 2021)

### (1) $\beta$ -lactam resistance genes in bacteriophage and bacterial DNA from wastewater, river water, and irrigation water in Washington State

Zhang, A., Call, D., Besser, T., Liu, J., Jones, L., Wang, H., Davis

Water Research, **161**, 335-340, (2019).

Reviewed by S.Tamai

基質特異性拡張型  $\beta$  ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌の蔓延は、国際的な問題となっている。中でも CTX-M 型酵素は最も検出頻度が高く、2007 年のアメリカでは、地理的に分散した 15 の医療機関の 80% から *bla*CTX-M 遺伝子を保有する大腸菌・肺炎桿菌の存在が確認されている。ESBL 産生遺伝子は薬剤耐性プラスミド上に存在し、様々な伝達方法を介して、異なる細菌間に広がり得る可能性があるため対策が必要であるが、その伝達経路は不明である。そこで本研究では、バクテリオファージによって ESBL 産生遺伝子が伝播していると仮説を立て、排水や河川水中に存在するバクテリオファージが ESBL 産生遺伝子を保有しているかの調査を行った。試料として、ワシントン州のヤキマ川から河川水と灌漑用水を合計 82 サンプル採取した。さらに、ヤキマ川に処理水を放出する 2 つの下水処理場から下水流入地点、物理的処理後、および処理水を合計 63 サンプル採取した。採取後、排水サンプル 1 L ならびに河川サンプル 2 L を、ナイロンフィルターで粗ろ過後にタンジェンシャルフローろ過によって 40~50 mL に濃縮した。濃縮サンプルをフィルターによって細菌分画とファージ分画に分け、それぞれ DNA 抽出と精製を行った。

PCR 法によって ESBL 産生遺伝子 (*bla*TEM, *bla*CTX-M, *bla*PSE, *bla*CMY-2) とカルバペネマーゼ耐性遺伝子 (*bla*KPC, *bla*OXA-48, *bla*NDM-1) の存在を調査した結果、全ファージ分画から、*bla*TEM (64.0%), *bla*OXA-48 (57.3%), *bla*PSE (52.8%), *bla*CTX-M (52.2%), *bla*KPC (42.7%), *bla*CMY-2 (38.8%), および *bla*NDM-1 (7.3%) が検出された。一方の細菌分画からは、*bla*OXA-48 (36.8%), *bla*TEM (34.6%), *bla*CTX-M (32.4%), *bla*PSE (32.4%), *bla*CMY-2 (30.8%), *bla*KPC (25.4%) および *bla*NDM-1 (5.4%) が検出された。河川水サンプルは排水サンプルと比較して、各遺伝子の検出頻度が有意に低いことが確認された。また、河川水サンプルでは、細菌分画と比較してファージ分画の各遺伝子の検出頻度が有意に高いことが確認された。一方において、排水サンプルでは細菌分画とファージ分画の各遺伝子の検出頻度に有意な差は見られなかった。本研究によって、ファージが薬剤耐性遺伝子 (ARG) を保持することが確認されたことから、形質導入によって細菌間に ARG が伝播することが示唆された。

## (2) Antibiotic and heavy metal resistance in enterococci from coastal marine sediment

Vignaroli, C., Pasquaroli, S., Citterio, B., Cesare, A. D., Mangiaterra, G., Fattorini, D., Biavasco, F.  
*Environmental Pollution*, **237**, 406-413, (2018).

Reviewed by W. Sugiyama

海洋沿岸環境では、病院や都市部の排水に由来する抗生物質耐性（AR）腸球菌が検出されている。また、重金属は農業や工業からの排水によって海洋環境へ拡散しており、海洋堆積物に抗生物質と重金属が蓄積することによって、AR 株の供給源となる可能性がある。本研究では、沿岸海洋堆積物中の AR と重金属耐性の存在実態を調査した。また、堆積物中の重金属の存在と、AR および重金属耐性の関連性を分析し、重金属が AR 腸球菌の選択に与える影響を評価した。調査は、2012 年 3 月から 2013 年 5 月の期間において、アドリア海の海岸 2 地点（海岸 1, 2）と河口 1 地点から堆積物試料を採取した。堆積物中の重金属の Cd と Cu は、原子吸光分析法で測定した。また、Hg は低温蒸気原子吸光分析法で測定した。堆積物中の腸球菌は、Slanetz-BARTley (SB) 寒天培地を用いて計数した。その後、腸球菌陽性株を単離し、ddl 配列を標的とした PCR 法によって種を同定した。次に、腸球菌と同定された株について、8 種類の抗生物質（アンピシリン、クロラムフェニコール、シプロフロキサシン、エリスロマイシン (ERY)、テトラサイクリン (TET)、ストレプトマイシン、バンコマイシン (VAN)、キヌプリスチン/ダルフォプリスチン (Q/D)) と 3 種類の重金属 (Cd, Cu, Hg) に対する最小発育阻止濃度 (MIC) 試験を行った。

堆積物の化学分析の結果、重金属の濃度は Cd が 0.07~0.13  $\mu\text{g/g}$ 、Cu が 1.00~7.64  $\mu\text{g/g}$  であり、Hg は検出されなかった。腸球菌数は各地点において全体的に少なく、海岸 1 と 2 では、それぞれ  $0.93\pm 0.62$  CFU/g と  $2.2\pm 1.8$  CFU/g であり、河口では  $5.0\pm 6.9$  CFU/g であった。腸球菌陽性株の 123 株が PCR 法によって腸球菌と同定され、このうち 48 株 (39%) が抗生物質耐性を示した。全ての地点において、ERY, TET, Q/D 耐性株が検出された。TET 耐性株が最も多く検出されたのに対して、VAN 耐性株は検出されなかった。重金属に対しては、84 株 (68%) の菌株が Cd または Cu に耐性を示したが、Hg 耐性株は検出されなかった。さらに、AR 株の 75% が Cd または Cu に耐性を示した。そこで、重金属と AR の関連性を評価するために、ERY, TET, Q/D 耐性株における Cu または Cd 耐性の割合を地点ごとに算出したところ、河口の Q/D 耐性株と Cu 耐性の間に有意な関連性が確認された。海洋堆積物中の腸球菌における特定の抗菌薬耐性と重金属耐性との有意な関連は、AR 腸球菌の選択に重金属が寄与することを示唆している。

## 第 354 回雑誌会

(Jun. 25, 2021)

### (1) Detection of ESBL/AmpC-Producing and Fosfomycin-Resistant *Escherichia coli* From Different Sources in Poultry Production in Southern Brazil

Gazal, L. E. S., Medeiros, L. P., Dibo, M., Nishio, E. K., Koga, V. L., Goncalves, B. C., Grassotti, T. T. and Pinheiro, J. J.

Frontier in microbiology, **11**, doi:10.3389/fmicb.2020.604544 (2021).

Reviewed by T. Horita

近年、世界中で基質拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼ (ESBL) を産生する *Enterobacteriaceae* が、家畜腸内から確認されている。特にブロイラーにおいては、抗菌薬が選択圧として働くことにより、薬剤耐性細菌が増加する可能性がある。実際にブロイラーの枝肉から、ESBL と AmpC を産生する大腸菌や、ホスホマイシン耐性大腸菌が確認された報告がある。そこで本研究では、ブロイラー生産過程における ESBL 産生大腸菌、AmpC 産生大腸菌、およびホスホマイシン耐性大腸菌をモニタリングし、これらの細菌の存在実態を明らかにすることを目的とした。調査は、ブラジルのリオグランデドスル (RS) 州とパラナ (PR) 州で実施した。各肥育期間中に、合計 3 回にわたって、家禽敷料、ブロイラー、家禽用飼料、養鶏場内のタンク水、および甲虫 (*Alphitobius sp.*) の採取を実施した。MacConkey 寒天培地 (MC) ならびにセフトキシムを 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の濃度で添加した MacConkey 寒天培地 (MC  $\cdot$  CTX) に、前処理した各試料を塗布し、ESBL ならびに AmpC 産生大腸菌陽性株を選択的に単離した。続いて、単離株について、ディスク拡散法による薬剤感受性試験を行った。さらに、単離株の ESBL と AmpC の産生遺伝子 (*bla*<sub>CTX-M</sub> groups-1, 2, 8, 9, 25, *mob*, *fox*, *ebc*, *acc*, *dha*, *cit*) ならびにホスホマイシンとコリスチン耐性遺伝子 (*fosA3*, *mcr-1*) について、PCR 法を用いて検出した。

PR 州と RS 州の全試料から単離された ESBL 産生性大腸菌の薬剤耐性率は、それぞれ 84% (49/58 株) と 49% (29/59 株) であった。また、すべての家禽敷料と昆虫試料から ESBL 産生大腸菌陽性株が検出された。薬剤感受性試験の結果、単離株における多剤耐性 (MDR) の割合は、PR 州と RS 州で、それぞれ 90% と 73% であった。最も多く検出された遺伝子は *bla*<sub>CTX-M</sub> group 2 であり、ESBL 産生大腸菌株の約 55% に存在した。また、AmpC 型決定基である *cit* 遺伝子は、ESBL 産生大腸菌株の約 13% に認められた。さらに、*fosA3* 遺伝子は ESBL 産生大腸菌株の 16% で検出されたが、*mcr-1* 遺伝子は RS 州から単離された 1 株であった。以上のことから、家禽生産における抗菌薬の使用は、薬剤耐性菌の選択に大きな影響を与え、公衆衛生に重大な影響を及ぼすため、家禽生産の管理技術を向上させる必要がある。

## (2) 秋田県内の環境水からの *Escherichia albertii* の検出と分離株の性状

高橋 志保, 今野 貴之, 檜尾 拓子, 鈴木 純恵, 熊谷 優子

日本食品微生物学会雑誌, 37(2), 81-86, (2020)

レビュー: 加藤 優貴

*Escherichia albertii* は、2003年に新種として発表された新規の食中毒原因菌であり、公衆衛生上の新たな問題となっている。現在、*E. albertii* によるヒトへの健康被害の発生が注目されているが、原因食品やその汚染経路は未だ解明されておらず、過去の食中毒事例より様々な食品が原因と推定されている。秋田県では、2011年に *E. albertii* による食中毒疑い事例の検査が確認されてから、*E. albertii* の感染経路の究明が求められている。そこで本研究では、秋田県内の環境水における *E. albertii* の汚染実態を明らかにするため、秋田県内の河川等の環境水全 52 検体（河川 16 地点 45 検体、湖沼 3 地点 4 検体、公園の堀 1 検体、湧水 2 検体）からの *E. albertii* の検出を行った。まず、アルカリ熱抽出法で検体中の DNA を抽出し、*E. albertii* に特異的なプライマーを用いて、real-time PCR で検出した。そして *E. albertii* の遺伝子が検出された菌株について、*clpX*, *lysP*, および *mdh* を標的とした PCR によって *E. albertii* を同定した。同一検体から *E. albertii* の集落が複数分離された場合は、プライマー-1283 (5'-GCG ATC CCC A-3') を用いた random amplified polymorphic DNA (RAPD) PCR により、菌株の選別を行った。さらに、選別した菌株に対し、11 種類の抗菌薬を用いて薬剤感受性試験を行い、病原因子 *stx*, *eae* および *cdt* を確認した。最後に、個々の菌株について、Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) によって分子疫学解析を行った。

調査の結果、環境水 9 検体から食中毒原因菌である *E. albertii* が全 13 株分離され、*E. albertii* が秋田県内の環境水中に広く生息していることが示された。続いて、11 種類の抗菌薬に対する薬剤感受性試験の結果、全ての分離株の中で、菌株 No. EC17264 の 1 株が、アンピシリン (ABPC) に対して耐性を示すのみだった。また、分離された *E. albertii* 全 13 株は、全ての分離株が病原因子である *eae* と *cdt* を所持しており、ヒト由来株が持っている病原因子が、環境水由来の菌株からも検出された。しかしながら、*stx* はどの分離株からも検出されなかった。PFGE による分子疫学解析では、*E. albertii* の PFGE パターンは多様であったが、一部の環境水由来の菌株において、ヒト由来株と近縁な株が存在した。環境水由来の菌株のうち、ヒト由来株と同一のクラスターを形成したのは、菌株 No. EC17263 (クラスター III) と EC17264 (クラスター IV) の 2 株であり、相似係数はそれぞれ 83.3% と 81.7% であった。以上のことから、環境水は *E. albertii* のヒトへの感染経路の一端を担っている可能性が示唆された。

## 第 355 回雑誌会

(Jul. 2, 2021)

### (1) Aluminium sulfate as coagulant for highly polluted cork processing wastewaters:

#### Removal of organic matter

Domínguez, J. R., González, T., García, H. M., Sánchez-Lavado, F., Heredia, J. B.

Journal of Hazardous Materials, **148**, 15-21, (2007)

Reviewed by M. Kanai

コルクの工業的処理では、消毒（菌類、爬虫類、ポリフェノールに含まれるタンニンの除去）や機械的特性（弾力性、質感、密度）の改善のために、沸騰した水でコルクを1～1.5時間ゆでる。この際に、多量の有機物や有害物質（有機塩素化合物、タンニンなど）を含む排水が発生する。そこで本研究では、凝集剤に硫酸アルミニウム ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ ) を用いて、汚染されたコルク加工排水を凝集処理した。そして、最適処理条件（凝集剤添加率、攪拌時間、攪拌速度、pH）を決定した。実験試料には、スペインのコルク加工産業から提供された COD 濃度が異なる 3 種類のコルク加工排水（排水I: 1,060 mg/L, 排水II: 1,855 mg/L, 排水III: 3,047 mg/L）を用いた。原水 1 L を 1 L ビーカーに取り、ジャーテスターで攪拌しながら、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$  (33-166 mg-Al/L) を添加した。続いて水酸化カルシウム ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) を用いて pH を 4～11 に調整した。攪拌条件は次のとおりである：攪拌速度、60-300 rpm；攪拌時間、5-30 分。そして、静置後に上澄み水を採取し、各項目を測定した。測定項目は、芳香族化合物、ポリフェノール、および化学的酸素供給量 (COD) とした。

排水Iの凝集処理では、攪拌時間 5 分、攪拌速度 300 rpm、pH 5、および凝集剤添加率 83 mg-Al/L で最適処理条件となった。この条件下における COD、芳香族化合物、およびポリフェノールの除去率は、それぞれ 56%、87%、および 83%であった。排水IIの最適処理条件は、攪拌時間 5 分、攪拌速度 300 rpm、pH 5、および凝集剤添加率 100 mg-Al/L となった。この条件下での COD、芳香族化合物、およびポリフェノールの除去率は、それぞれ 53%、84%、および 83%であった。排水III最適処理条件は、攪拌時間 5 分、攪拌速度 300 rpm、pH 5、および凝集剤添加率 166 mg-Al/L となった。この条件下での COD、芳香族化合物、およびポリフェノールの除去率は、それぞれ 54%、83%、および 82%であった。したがって、凝集剤の  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$  を用いたコルク加工排水の凝集処理では、攪拌時間 5 分、攪拌速度 300 rpm、pH 5 が最適処理条件であることがわかった。また、COD 濃度が増減した場合には、凝集剤添加率を変化させることによって、処理性を維持することができる。以上のことより、コルク加工排水に凝集処理を用いることで、COD だけでなく、芳香族化合物とポリフェノールも除去することが可能である。

## (2) Turbidity removal by conventional and ballasted coagulation with natural coagulants

V, T, Gaikwad., G, R, Munavalli.

Applied Water Science 9, 130 (2019).

Reviewed by K. Takahashi

*Moringa oleifera* (MO) と *Strychnos potatorum* (SP) の種子は、植物由来の凝集剤として使用されている。また、Gulmire ら (2017) は、植物由来の高分子凝集剤として *Aloe Vera* (AV) を用いた凝集沈殿処理を行い、試料水中の濁度 (20-30 NTU) を約 60% 除去することに成功している。そこで本研究では、凝集剤に MO または SP、高分子凝集剤に AV を併用した凝集沈殿処理を行い、植物由来の凝集剤の実用性を調査した。さらに、バラストとしてマイクロサンドまたは粉末活性炭 (PAC) を使用したバラスト凝集沈殿処理を行うことで、処理性の向上を試みた。実験試料には、河川水 (濁度 : 5-50 NTU) を使用し、沖積土の添加または蒸留水による希釈によって、3 種類の濁度 (低濁度 : 12 NTU 未満, 中濁度 : 13-24 NTU, 高濁度 : 25-35 NTU) に調整した。攪拌条件は、凝集沈殿処理の場合、原水 1 L に MO (10-100 mg/L) または SP (0.2-1 mg/L) を加えて 120 rpm で 1 分間攪拌した。続いて 10 分間 40 rpm で攪拌し、さらに 10 分間 20 rpm で攪拌した後、30 分間静置した。バラスト凝集処理の場合、原水 1 L に MO (10-100 mg/L) または SP (0.2-1 mg/L) を加えて 300 rpm で 2 分間攪拌した。続いて、AV (10-100 mg/L) を注入し 300 rpm で 1 分、さらに、マイクロサンド (4 g/L) または PAC (0.8 g/L) を加えて 200 rpm で 2 分間攪拌した後、30 分間静置した。そして、静置後の上澄み水を採取し、濁度を測定した。

MO を使用した凝集沈殿処理の結果、低濁度原水では MO の投与により残留濁度が増加した。一方、中濁度原水と高濁度原水では、最適 MO 添加量が 50 mg/L と 100 mg/L で濁度除去率 80.95% と 88.57% を得た。また、低濁度、中濁度、および高濁度原水に対する最適 SP 添加量はそれぞれ 0.2, 0.6, および 0.8 mg/L であり、この際の濁度除去率はそれぞれ 71.42, 64.28, および 57.14% であった。中濁度原水と高濁度原水に関しては、SP は MO と比較して濁度除去率が中濁度で約 10%、高濁度約 30% 減少した。MO または SP, AV, およびマイクロサンドを使用したバラスト凝集沈殿処理では、MO または SP を単独で用いた凝集沈殿処理と比較して、濁度除去率が 5-10% 向上した。また、MO, AV, PAC を使用したバラスト凝集沈殿処理では、処理水濁度が 1 NTU 以下となった。以上の結果、MO または SP をそれぞれ単独で用いた場合より、AV とバラストを加えることによって、より良好な処理を行うことが可能となった。

## 第 356 回雑誌会

(Jul. 9, 2021)

### (1) 下水流入水および二次処理水中の大腸菌および大腸菌群の紫外線耐性

大瀧 雅寛, 鴻田 真璃亜

水環境学会誌, **42**, 155-161 (2019).

レビュー: 山田 佳奈

下水処理場の消毒プロセスにおいて、残存性の高い塩素に代わり、紫外線照射を用いた消毒方法が注目されている。しかしながら、特に大腸菌と大腸菌群の紫外線消毒耐性を評価し、比較した研究は少ない。そこで本研究では、下水処理場における大腸菌・大腸菌群の紫外線消毒耐性について、季節や日間変動を考慮して検討した。また、紫外線照射後の大腸菌・大腸菌群について、その光回復量も同様に調査した。試料として、2016年7月から2017年1月の期間に、都市部の下水処理場3か所から流入下水、二次処理水の上清を採取した。はじめに、試料の大腸菌濃度、大腸菌群濃度、および紫外線透過率を測定した。細菌濃度はXM-G寒天培地で培養し、計数した。紫外線透過率は分光光度計を用いて測定した。続いて、試料を10 mLずつペトリ皿に分注し、回分式紫外線照射装置を用いて紫外線照射を行った。紫外線を照射した後、試料水から1 mL採取し、大腸菌と大腸菌群の濃度を測定した。最後に、同様に試料に一定時間の紫外線照射を行った後、可視光下において攪拌しながら60分照射し、大腸菌、大腸菌群の光回復量を測定した。

試料中の大腸菌ならびに大腸菌群濃度は、季節変動、処理方式、および降雨時においても各試細菌濃度に有意差は見られなかった。紫外線照射実験の結果、大腸菌と大腸菌群は、二次処理水においては紫外線照射直後であれば、いずれも5 mJ/cm<sup>2</sup>の紫外線を照射することで大腸菌群濃度が基準値未満まで減少した。また、合流式ならびに分流式下水処理場の放流水における水質基準値では、いずれも大腸菌濃度は設定されていないが、同様に5 mJ/cm<sup>2</sup>の紫外線を照射することによって、大腸菌濃度は10%以下まで減少した。二次処理水はどの処理場においても、大腸菌群濃度に対して大腸菌濃度の方が減少し難く、紫外線耐性が高い傾向にあった。流入下水、二次処理水における大腸菌と大腸菌群の紫外線耐性をそれぞれ比較したところ、生活排水が多く流入する処理場において、大腸菌群の紫外線耐性に有意な差が見られた。光回復量測定の結果、光回復によって大腸菌と大腸菌群濃度はどちらも増加した。光回復効果を考量する場合、紫外線照射によって大腸菌群濃度を基準値未満まで減少させるためには、10 mJ/cm<sup>2</sup>以上の紫外線量が必要であることがわかった。以上の結果より、下水中の大腸菌と大腸菌群の存在濃度には、季節変動や日内変動の影響は見られなかった。しかしながら、集水域における排水の種類が、下水中に存在する大腸菌群の紫外線耐性に影響している可能性がある。

## 第 357 回雑誌会

(Jul. 16, 2021)

### (1) Plasmid- and strain-specific factors drive variation in ESBL-plasmid spread in vitro and in vivo.

Benz F., Ackermann M., Huisman S. J., Bakkeren A. E. E., Herter A. J., Stadler T., Ackermann M., Diard M., Egli A., Hall R. A., Hardt W. and Bonhoeffer S.

The ISME Journal, **15**, 862–8785, 2021.

Reviewed by H. Xie

プラスミドによって媒介される遺伝子の水平伝播は、世界的な薬剤耐性の増加の主要な要因であり、特に ESBL のようなプラスミドにコードされた耐性決定因子が注目されている。そこで本研究では、臨床的な ESBL 産生 *E. coli* 株を用いて、in vivo と in vitro の両方で、異なる細菌とプラスミドの組み合わせの間でプラスミドの広がりが増加するかどうかを検証した。ドナー株は、8 つの ESBL 産生 *E. coli* (D1~D8) を使用した。レシピエントは、Chloramphenicol (Cm) 耐性又は Kanamycin (Kan) 耐性持つ 4 株を使用し、そのうち 3 株は *E. coli* (RE1-RE3)、1 株は標準株 *Salmonella Typhimurium* (RS) である。ドナー株は Ampicillin (Amp) あり、レシピエント株は Amp なしの培地で一晚培養し、それぞれ 1  $\mu$ L の菌液を 150  $\mu$ L の LB 液体培地に加え、24 時間混合し、Amp が伝播された株を選択した。第 2 世代の in vitro 実験では、第 1 世代の in vitro 実験からの伝播された株を新ドナー株として、Kan 耐性持つ *E. coli* の RE1, RE2 と標準株 RS 用いて混合実験を行い、Amp が伝播された株を選択した。また、in vivo 実験では、Cm 耐性持つ *E. coli* の RE2 または RE3 を用いてネズミに感染させて、24 時間後抗菌薬なしの場合に ESBL 産生 *E. coli* (D4, D7, D8) をネズミに与えた後、毎日糞便から *E. coli* を単離した。最後に、すべてのドナー株、レシピエント株、第 1 世代及び第 2 世代の in vitro 実験からの伝播された株及び in vivo 実験から単離した *E. coli* 株について、Illumina MiSeq などのシーケンス方法を用いて遺伝子解析した。

ドナー株は系統群 B1, B2, D または F に属し、レシピエント株は B2 または A のいずれかに属しており、系統的に大きな多様性があることがわかった。すべてのドナー株は、プラスミド IncI またはプラスミド IncF のいずれかの ESBL プラスミドを保有し、耐性表現型を示した。8 つの ESBL プラスミドのうち 6 つは、複数のレシピエント株に伝播した。ドナー株とレシピエント株の両方が標準株 RS である場合には、最終的な伝播率が上昇した。このことは、第 2 世代のドナー株から伝播されたプラスミドは、第 1 世代のドナー株から伝播されたプラスミドと伝播率が大きく異なることを示唆している。In vivo での ESBL プラスミド拡散の変化は、第 1 世代の in vitro 実験の変化とほぼ同じであり、p4A\_IncI が最も高い伝播率を示し、p7A\_IncF の伝播が見られなかった。伝播率は、プラスミド、ドナー、レシピエントの組み合わせによって異なり、抗菌薬がない場合においても、レシピエント株のプラスミドの存在がプラスミド伝播を決定する重要な要素となる。

## **(2) Fouling investigation of a full-scale seawater reverse osmosis desalination (SWRO) plant on the Red Sea: Membrane autopsy and pretreatment efficiency**

Fortunatoa, L., Alshahria, A. H., Farinhaa, A. S. F., Zakzoukb, I., Jeongc, S., Leiknesa, T. Desalination, **496**, 114536 (2020).

Reviewed by T. Yadaï

紅海を原水とするサウジアラビアの海水淡水化プラントでは、海水の前処理にメディアフィルター (SMF) とカートリッジフィルター (CF) を併用した方法が用いられている。CF は、長期間運転することで処理性が減少するため、適切な頻度で交換する必要がある。したがって、使用経過日数ごとの CF の処理性のデータを蓄積することによって、CF の交換時期を見極めることが重要となる。しかしながら、長期間運転を行った CF の処理性の変化と CF 膜上に発生する膜汚染物質を調査した研究は少ない。そこで本研究では、海水の前処理に SMF (ろ材: アルミナ ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) + マグネタイト ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )) と長期間 (3.5 ヶ月間) 使用した状態の CF (孔径  $5\ \mu\text{m}$ ) を併用した方法を用い、得られた処理水を分析することで処理性を評価した。また、CF をエネルギー分散型 X 線分光法 (SEM-EDX) で分析し、膜上に存在する膜汚染物質を特定した。実験試料には、紅海を原水とするサウジアラビアの海水淡水化プラントから採取した。処理性の比較のため、採取した試料水は、海水取水後 (原水)、SMF 処理後、および CF 処理後の 3 地点とした。その後、溶存有機炭素 (DOC)、全懸濁物質 (TSS)、およびアデノシン三リン酸 (ATP) を分析した。

DOC の除去率は、原水の SFM 処理後と CF 処理後で、4.5%と 7%であった。したがって、SMF と CF は、DOC の除去に効果的でないことがわかった。また、TSS 濃度は、原水、SFM 処理後、CF 処理後において、それぞれ 16 mg/L, 7 mg/L, 14 mg/L となった。SMF 処理後では、TSS 濃度を 56%除去できたが、CF 処理後では、SMF 処理後と比較して、TSS 濃度が 2 倍に増加した。ATP 濃度は、原水、SFM 処理後、CF 処理後で、それぞれ 750 pg/mL, 460 pg/mL, 640 pg/mL となった。SMF 処理後では、ATP 濃度を 39%除去できたが、CF 処理後では、SMF 処理後と比較して、ATP 濃度が 39%増加した。CF 処理後の TSS と ATP 濃度の増加は、CF の長期間使用による膜の孔径の拡大や膜の破損などの劣化が原因であると考えられる。これらの膜劣化によって、CF に捕捉されていた懸濁物質や有機物が流失した可能性がある。また、CF の膜汚染物質を分析した結果、膜上に有機物汚染やバイオフィームだけでなく、スケールの生成が確認された。このスケールは、SMF に含まれる  $\text{Al}_2\text{O}_3$  や  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 、および原水に含まれるケイ素に起因する可能性がある。以上のことから、CF の膜閉塞の防止や処理性を保つためには、最適な交換時期を評価する研究が必要である。

**(1) Distribution and association of antimicrobial resistance and virulence traits in *Escherichia coli* isolates from healthy waterfowls in Hainan, China**

Zhang, S., Chen, S., Yang, H., Wang, M., Rehman, U, M., Yang, Z., Jia, R., Chen, S., Liu, M., Zhu, D., Zhao, X., Wu, Y., Yang, Q., Huan, J., Sun, D., Wang, M. and Tian, B. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **220**, 112317 (2021).

Reviewed by M. Katafuchi

現在、食糧としての水鳥の生産は、世界中で急速に発展している産業である。水鳥の保有する大腸菌からは、薬剤耐性遺伝子 (ARG) や病原関連遺伝子 (VAG) が確認されており、これらは潜在的な健康リスクとして考えられている。そこで本研究では、中国海南省の農場で飼育されている水鳥から大腸菌株を単離し、保有する ARG ならびに VAG 間の関連性について調査を行った。試料として、中国海南省に存在する 20 の農場において、臨床的に健康なアヒルとガチョウから、合計 311 株の大腸菌を単離した。採取した単離株について、Mueller-Hinton 寒天培地を用いたディスク拡散法によって、10 種類の抗菌薬に対する薬剤感受性試験を行った。続いて、単離株の DNA を抽出し、PCR 法を用いて、単離株中に含まれる 30 種類の ARG ならびに 28 種類の VAG を対象とした遺伝子解析を行った。最後に、得られたデータについて、ピアソンの  $\chi^2$  二乗検定ならびに Z 検定を行い、単離株の保有する ARG と VAG 間の関係性を確認した。

大腸菌の耐性率が最も高かった抗菌薬はアモキシシリン (79.7%) であった。また、単離株の 80.7% (251/311 株) は、3 種類以上の抗菌薬に耐性を示す多剤耐性 (MDR) 菌であった。さらに、単離株からは全 25 種類の ARG が検出され、キノロン耐性に関連する *qnrS* 遺伝子が最も多く検出された (99.4%)。検出された各 ARG において、ARG 間に有意な関連性 ( $p < 0.05$ ) が見られ、特にクロラムフェニコール耐性に関連する *floR* 遺伝子と、テトラサイクリン耐性に関連する *tetA* 遺伝子に、最も強い正の関連が認められた。続いて、単離株からは全 23 種類の VAG が検出され、毒性因子であるアエロバクチンの合成に関連する *iucD* 遺伝子が最も多く検出された (99.7%)。検出された VAG は、ARG と同様に、各種の VAG との間に有意な関連性 ( $p < 0.05$ ) が見られ、特に腸沈着因子である *ehaA* 遺伝子と血清耐性に関連する *iss* 遺伝子において最も強い正の関連が認められた。ARG と VAG の関係性を検定した結果、有意な関連 ( $p < 0.05$ ) が見られる遺伝子が存在し、特に ARG である *qnrS* 遺伝子と VAG である *iss* 遺伝子は、最も強い正の関連を示した。以上の結果から、大腸菌の保有する ARG と VAG には、その存在に強い関連が見られる遺伝子の組み合わせが存在し、将来的に人間の健康に対する大きな脅威になる可能性がある。

## **(2) Seasonal variation of antibiotics in surface water of Pudong New Area of Shanghai, China and the occurrence in typical wastewater sources**

Chenyuan, P., Yangyang, B., and Bentuo, X.

*Chemosphere*, **239**, 124816 (2020).

Reviewed by Y. Ito

近年、抗菌薬は、世界中の河川や下水、および地下水中から頻繁に検出されている。これらの抗菌薬が水環境中に存在すると、高い生態毒性リスクを引き起こす可能性がある。中国の浦東新区に位置する河川は、産業活動や農業用水として利用されているため、重要な水資源である。そこで本研究では、中国の浦東新区の主要河川に含まれる抗菌薬の濃度を調査した。調査対象は、スルホンアミド系、キノロン系、およびマクロライド系に属する 26 種類の抗菌薬とした。試料採取は、2017 年 3 月（乾季）と 6 月（雨季）に浦東新区の河川 10 地点で実施した。試料は、0.45 mm グラスファイバーフィルターでろ過し、分析を行うまで 5°C に保存した。その後、ろ過した試料（500 mL）を、メタノールで固相抽出（SPE）した後、さらに、メタノールとアセトンを 1 : 1 で混合した溶媒を用いて、固相抽出した。抽出液の抗菌薬分析は、UPLC-MS/MS を用いた。

乾季では、調査地点におけるスルホンアミド系、キノロン系、およびマクロライド系の検出率は、それぞれ 20%、81%、56% であった。一方、雨季の検出率は、それぞれ 20%、56%、25% であった。また、スルホンアミド系、キノロン系、およびマクロライド系の合計濃度は、乾季では ND（不検出）~9.73 ng/L、30~344 ng/L、14~107 ng/L、雨季では ND~14 ng/L、32~92 ng/L、ND~22 ng/L となった。したがって、キノロン系とマクロライド系の抗菌薬は、雨季と比較して乾季の方が抗菌薬の濃度が高かった。これは、雨季の抗菌薬の濃度低下は、降雨による抗菌薬の希釈が原因と考えられる。実際に、浦東新区の 2017 年 6 月の月降水量は 192 mm/月で、2017 年 3 月の月降水量は 87 mm/月であった。また、雨季に抗菌薬の濃度が低くなったもう 1 つの理由は、夏（6 月）の高温と強い日差しで、水中の抗菌薬の生物分解や光分解が促進されたためと考えられる。一方で、スルホンアミド系の抗菌薬は、雨季と比較して、乾季の方が抗菌薬の濃度が低い結果となった。これは、養豚場、医薬品製造工場（PMF）、および都市下水処理場（STP）などの典型的な排水源からの抗菌薬の排出量が、乾季よりも雨季の方が多く、降雨による希釈以上に影響が生じたためと考えられる。以上のことから、季節的な抗菌薬の変動をみると、雨季と比較して乾季の方が抗菌薬の濃度が高いことがわかった。また、養豚場や PMF、STP の排水は、河川中の抗菌薬濃度の供給源となる可能性があり、抗菌薬の発生と運命に焦点を当てたさらなる研究が必要である。

## 第 359 回雑誌会

(Aug. 6, 2021)

### (1) Free-floating extracellular DNA: Systematic profiling of mobile genetic elements and antibiotic resistance from wastewater

Calderon-Franco, D., van Loosdrecht, M.C.M., Abeel, T. and Weissbrodt, D.G.

Water Research, **189**, 116592, (2021).

Reviewed by S.Tamai

水環境における薬剤耐性遺伝子 (ARG) と可動遺伝因子 (MGE) の拡散は、公衆衛生上の問題となっている。水平伝播による遺伝子の拡散を未然に防ぐため、ARG と MGE を分析の対象とした研究が行われているが、それらの多くは細菌から抽出されたゲノムの DNA 解析に基づくものであり、細胞外部に存在している DNA (exDNA) における ARG と MGE は考慮されていない。そこで本研究では、排水中の細胞内 DNA (inDNA) と exDNA を回収し、両分画に含まれる ARG と MGE の解析を行った。調査は、オランダの下水処理場において、①最初沈殿池 (物理処理)、②生物処理タンク (活性汚泥)、③処理水放流地点の 3 地点から採取した。試料中の exDNA は、0.45  $\mu\text{m}$  ならびに 0.2  $\mu\text{m}$  のフィルターを用いてろ過した後、陰イオン交換カラムに通水し、溶出バッファーによって回収した。回収された exDNA は、エタノール沈殿と Proteinase K 処理後、キットを用いて精製した。続いて、試料中の inDNA は、ろ過後のフィルターから、キットを用いて抽出を行った。その後、qPCR 法によって標的遺伝子の定量と、Miseq PE300 を用いた遺伝子解析を行った。

陰イオン交換カラムを用いた回収法によって、1,000 mL の各試料から、①12.5  $\mu\text{g}$ 、②12.3  $\mu\text{g}$ 、③8.6  $\mu\text{g}$  の exDNA が回収された。続いて、メタゲノム解析によって、活性汚泥サンプル中の各 DNA の機能解析を行い、相対的存在量を算出したところ、exDNA 中にファージやプラスミドなどの MGE が極めて多く (65.1%) 存在した。さらに、qPCR 法によって、inDNA と exDNA 中の標的遺伝子を定量したところ、*ermB* と *qnrS* を除くすべての遺伝子で exDNA のコピー数が有意に低かった。通常、exDNA は環境中に存在する DNA 分解酵素の影響によって、inDNA よりも存在量が少ない。しかしながら、exDNA 中には MGE が多く存在しているため、MGE にコードされている *ermB* と *qnrS* は inDNA と exDNA において有意差が生じなかったと考えられる。また、メタゲノム解析によって各 DNA 中の ARG を分類したところ、exDNA では 5 系統 12 種類、inDNA では 15 系統 289 種類に分類され、exDNA 中の ARG の存在量は少なかった。したがって、環境中における ARG の伝播において、exDNA は形質転換の主要なメカニズムではない可能性があるため、環境中における ARG の伝播機構の解明には更なる研究が必要である。

## 第 360 回雑誌会

(Aug. 27, 2021)

### (1) Isolation and characterization of human pathogenic multidrug resistant bacteria associated with plastic litter collected in Zanzibar

Rasool, F. N., Saavedra, M. A., Pamba, S., Perold, V., Mmochi, A. J., Maalim, M., Simonsen, L., Buurf, L., Pedersen, R. H., Syberg, K., Jelsbak, L.

Journal of Hazardous Materials, **405**, 124591, (2021).

Reviewed by W. Sugiyama

廃棄物管理が不十分な発展途上国においては、環境中のプラスチック汚染が問題となっている。また、水環境中のプラスチックには微生物がコロニー形成していることから、プラスチックが感染症や多剤耐性菌を媒介し、人間の健康に影響を与える可能性がある。しかし、プラスチックの環境中への拡散と病原菌や薬剤耐性菌の蔓延との関連性は解明されていない。そこで本研究では、プラスチックにおける病原菌および多剤耐性菌の関連性を明らかにすることを目的とした。調査は2018年9月にザンジバル諸島ウングジャの農村部4地点で行い、各地点からプラスチック試料を採取した。プラスチック試料は4地点で合計20試料採取した。プラスチック試料は、FTIRによって化学組成を分析した。プラスチックに付着した多剤耐性菌は、4種類の抗菌薬（アンピシリン、シプロフロキサシン、カナマイシン、テトラサイクリン）を添加したLB寒天培地を用いて単離した。また、VibrioChrom寒天培地およびTCBS寒天培地を用いて *Vibrio* 株を単離した。単離した株について、16S rRNA 遺伝子を標的としたPCR法によって同定した。続いて、各単離株について、3種類の抗菌薬（アンピシリン、シプロフロキサシン、カナマイシン）に対する最小発育阻止濃度試験（MIC）を行った。さらに、各単離株からDNAを抽出し、次世代シーケンシング（NGS）法によって抗菌薬耐性遺伝子を特定した。

各試料から単離された多剤耐性株において、*Klebsiella pneumoniae* (2株)、*Enterobacter cloacae* (1株)、*Citrobacter freundii* (6株) が同定された。一方で、*Vibrio cholerae* は1株のみが単離・同定された。なお、単離された株の菌種とプラスチック試料の化学組成の間に関連は見られなかった。また、アンピシリンとシプロフロキサシンに対して全ての *C. freundii* 株が耐性を示した。そして、*K. pneumoniae* 株の1つから16種類の抗菌薬耐性遺伝子が検出された。さらに、*V. cholerae* 株からは複数の抗菌薬耐性遺伝子に加えて、ヒト病原性遺伝子も検出された。今回の調査から、プラスチックごみが多剤耐性菌の供給源として機能し、感染症と多剤耐性菌の伝播に関わる可能性は明らかになった。

## (2) Population genomics and antimicrobial resistance dynamics of *Escherichia coli* in wastewater and river environments

Delgado-blas, F. J., Ovejero, M. C., David, S., Montero, N., Calero-Caceres, W., Garcillan-Barcia, P. M., Cruz, F., Muniesa, M., Aanensen, M. D. and Gonzalez-zorn, B.

Communications Biology, 4(457), 2021.

Reviewed by Y. Kato

アミノグリコシドに対する細菌の耐性は、多様なメカニズムによって引き起こされる。アミノグリコシド耐性の原因酵素である 16S-RMTases にはいくつかの酵素 (*armA*, *RmtA-RmtH*, *NpmA*) が含まれており、これらの産生・拡散の重要な貯留地として、下水処理場 (WWTP) や河川などの水環境があげられる。そこで、本研究では、WWTPs および河川から採取した 16S-RMTase を保有する大腸菌のゲノム構造と個体群多様性を解明し、異なる水環境における遺伝子やプラスミドの出現—進化—拡散を明らかにすることを目的とした。バルセロナ地域の河川水と下水から 8 つのサンプルを採取した。試料はセルロース膜 (0.45  $\mu\text{m}$ ) でろ過し、ゲンタマイシン (200 mg/l) とアミカシン (200mg/l) 含有 MacConkey 寒天培地で培養した。そして、全陽性株について、MALDI-TOF MS を用いて菌種を同定した。16S-RNTase 遺伝子は PCR 法で検出し、Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) および Multi-locus sequence typing (MLST) によって 16S-RMTase 陽性大腸菌の類似性とクローン性を確認し、全ゲノムシーケンス方法を用いて遺伝子を解析した。

下水と河川水で確認されたアミノグリコシド耐性腸内細菌の中では、大腸菌が最も優勢であった。PFGE の結果から、下水には 2 つのパルスタイプがあり、河川水には 5 つの特徴的なパルスタイプがあることが示された (類似性 $\geq 90\%$ )。MLST の解析によって、下水から分離されたほとんど全ての大腸菌は、OXA-48-carbapenemase の産生に関連するシーケンスタイプ (ST) である ST1196 と多剤耐性菌 ST である ST224 の 2 つの主要な ST に属すること、河川からの大腸菌が 6 種類の大腸菌 ST であることがわかった。16S-RMTase 遺伝子は、全ての下水および河川分離株のプラスミドに存在した。WWTPs では、*rmtB* は IncFII プラスミド、特に ST1196 に属する株は IncFII プラスミドタイプ内の pHN7A8 プラスミドに組み込まれており、多剤耐性大腸菌に関連していることがわかった。また、河川水では、*armA* は 4 種類の STs に属していた。以上のことから、下水環境ではプラスミドの変化と拡散が大腸菌の増長と耐性遺伝子の伝播を促進し、特定のプラスミド-ST 結合が生じた。一方、人為的な影響が少なく、環境条件が一定の河川環境における大腸菌の多様化と保有はプラスミドが握っており、遺伝子とプラスミドの関連性が維持されることが示唆された。

## 第 361 回雑誌会

(Sep. 3, 2021)

### (1) Prevalence and antimicrobial-resistance phenotypes and genotypes of *Escherichia coli* isolated from raw milk samples from mastitis cases in four regions of China

Yu, Z. N., Wang, J., Ho, H., Wang, Y. T., Huang, S. N., Han, R. W.

Journal of Global Antimicrobial Resistance, 22, 94-101 (2020).

Reviewed by T. Horita

牛の乳房炎は、乳房に病原微生物が侵入することで起こる病気であり、経済的損失と乳生産量の減少をもたらす。特に大腸菌は、乳房炎の主要な原因として知られ、世界中で乳房炎に罹患した牛から単離された大腸菌について薬剤耐性と遺伝子の多様性が研究されている。しかしながら、1つの国内において、異なる地域での研究は行われていない。そこで本研究では、中国の4つの地域（北部、東北部、西部、および南部）の乳房炎に罹患した牛から生乳サンプルを採取し、単離された大腸菌の検出率、薬剤耐性、ならびに抗菌薬耐性遺伝子の比較を目的とした。調査は、春（2016年3月～4月）と秋（2016年9月～10月）に、中国11省の主要な酪農場から、合計で生乳750試料を採取した。血液寒天培地トリプチケースソイ5%ヒツジ血液寒天培地、マッコンキー寒天培地、ならびにEMB寒天培地を用いて、生乳試料から大腸菌を単離した。単離株の大腸菌の同定は、16S rRNAシーケンシングで判定し、トリプチケースソイブロス（10%グリセロール）で冷凍保存した。そして、大腸菌株について、ディスク拡散法による薬剤感受性試験を行った。さらに、合計27個の薬剤耐性遺伝子を選択し、単離株に対してPCR法を用いて検出した。

生乳750試料中83試料（11%）から大腸菌が単離され、存在率は、春（10.7%）よりも秋（11.4%）の方がやや高かった。また、中国東北部の200試料中42試料（21%）から大腸菌が単離され、4つの地域の中で存在率が最も高かった。南部では、210試料中13試料（6.2%）であり、南部の存在率が最も低かった。薬剤感受性試験の結果、単離されたすべての大腸菌株は、少なくとも3種類の抗菌薬に耐性を示し、83株中2株（2.4%）は8種類の抗菌薬に耐性を示した。薬剤耐性遺伝子検査の結果、*bla*<sub>TEM</sub> 遺伝子が69株（83.1%）検出され、検出率が最も高かった。最も多かった遺伝子の組み合わせは、*bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX-M</sub>, *sulI*, および *sulIII* の4つの遺伝子を保有するパターンであり、13株（15.7%）から確認された。薬剤感受性試験の結果とPCR法で得られた結果について比較すると、アミノグリコシド系抗菌薬とマクロライド系抗菌薬において、耐性率と耐性遺伝子の有無で矛盾が生じた。

以上のことから、中国政府は、大腸菌の検出率と地域や季節の特徴に基づいて、抗菌薬の使用を見直し、食品供給の工程における公衆衛生への脅威を軽減する必要がある。

## **(2) The impact of polymer selection and dose on the incorporation of ballasting agents onto wastewater aggregates**

Murujew, O., Geoffroy, J., Fournie, E., Gioacchini, E. S., Wilson, A., Vale, P., Jefferson, B., and Pidou, M.

Water Research, **170**, 1-9, (2020)

Reviewed by M. Kanai

下水中のリン濃度を管理する方法として、生物学的リン除去法（EBPR）や凝集沈殿法が用いられている。ヨーロッパにおいて、下水処理水のリン濃度は通常 1~2 mg-P/L であるが、0.1 mg-P/L 以下にして水環境中に排出することが望まれている。また、米国では下水からのリン除去に、高速沈降プロセスであるバラスト凝集法を用いており、リン濃度を 0.1 mg-P/L 以下まで除去できることが報告されている。そこで本研究では、下水に 7 種類の高分子凝集剤をそれぞれ単独で用いてバラスト凝集を行い、リン除去率を比較した。実験試料には、英国の下水処理場から二次処理後の下水処理水を採取した。また、凝集剤として塩化第二鉄 ( $\text{FeCl}_3$ )、バラスト材としてマグネタイト、高分子凝集剤として 4 種類のアニオン系ポリマー (A1, A2, A3, A4) と 3 種類のカチオン系ポリマー (C1, C2, C3) を使用した。高分子凝集剤は、主成分がポリアクリルアミドで、分子量の異なるものを選択した。実験にはジャーテスターを用い、5 種類の条件で凝集沈殿処理を行った：凝集剤のみを用いた場合 (Co)、バラスト材のみを用いた場合 (B)、凝集剤とバラスト材を用いた場合 (CB)、高分子凝集剤とバラスト材を用いた場合 (BP)、凝集剤、バラスト材、高分子凝集剤をすべて用いた場合 (BCP)。分析項目はオルソリン酸である。

アニオン系ポリマーである A1, A2, および A4 とカチオン系ポリマーである C3 をそれぞれ単独で 1 mg/L 用い、凝集剤を 5 mg-Fe/L、バラスト材を 5 g/L 添加した BCP では、処理水中のリン濃度が比色法における検出下限値の 0.05 mg-P/L 以下になった。また高分子凝集剤 C3, A1, および A4 では、BCP 後、静置時間 30 秒で、最大リン除去率 (88-98%) を記録したのに対し、A2 では静置時間 3~5 分で最大リン除去率 (88-98%) を記録した。さらに凝集剤を 8 mg-Fe/L 添加した時の Co では、リン除去率が 94% だったのに対し、凝集剤を 8 mg-Fe/L、バラスト材を 5 g/L 添加した CB では、リン除去率が 70% であった。この原因として、バラスト材によって、リンを含んだフロックの形成を阻害されたことが考えられる。5 mg-Fe/L の凝集剤と A1 を 0.3 mg/L 添加した時は、95.7% のリン除去率を得られた。したがって、高分子凝集剤は BCP の 1 mg/L も添加する必要がないと考えられる。以上の結果から、アニオン性ポリマーは下水二次処理水において、1 mg/L 以下の用量で最も効果的に作用し、凝集剤添加率は 5~8 mg-Fe/L で 90% 以上のリン除去率を達成できる。

## 第 362 回雑誌会

(Sep. 10, 2021)

### (1) Selection of media for the design of ballasted flocculation processes

Lapointe, M. and Barbeau, B.

Water Research, **147**, 25-32 (2018).

Reviewed by K. Takahashi

バラスト材 (BM) を注入してフロックの比重と粒径を大きくするバラスト凝集処理は、従来法と比較して優れた処理性能を有する。しかし、BM の種類や比重、粒径といった要素が凝集性能へ、どのような影響を与えるのかを調査した研究は不足している。そこで、本研究では、比重の異なる 5 種類の BM {粒状活性炭 (GAC), 無煙炭 (ANT), 珪砂 (SS), チタン鉄鉱砂 (IL), 磁鉄鉱砂 (MS), 比重はそれぞれ 1.24, 1.45, 2.62, 3.70, 5.08} をそれぞれの種類ごとにふるいにかけて 80-125 $\mu\text{m}$ , 125-160 $\mu\text{m}$ , 160-212 $\mu\text{m}$  の粒径に分け、バラスト凝集処理に用いて処理性能を比較した。実験試料には、カナダのミル＝イル川を水源とする Sainte-Rose 浄水場に流入する地表水 (濁度:  $10 \pm 2$  NTU, pH6.9) を用いた。なお、無機凝集剤にはミョウバン (注入率: 2.73 mg-Al/L) とポリ塩化アルミニウム (注入率: 0.40 mg-Al/L) を、高分子凝集剤にはポリアクリルアミド (注入率: 0.4 mg/L) を用いた。また、BM は 0.4–7 g/L の注入率で試験した。攪拌条件は、急速攪拌 (回転速度: 300 rpm) を 2 分間行い、緩速攪拌 (165–275 rpm) を 1 分間行った後、静置した。測定項目は、静置開始 12 秒後、60 秒後、180 秒後の上澄み水の濁度とフロックの粒径とした。粒径は、ビーカーに取り付けたカメラを用いて測定した。

粒径が最も小さく比重の軽い GAC (80-125 $\mu\text{m}$ ) と最も大きく重い MS (160-212 $\mu\text{m}$ ) をバラスト凝集処理に用いて、同一の静置時間 (180 秒) で比較すると、残留濁度を 1 NTU 以下にするために必要な BM 注入率は、GAC と MS において、それぞれ 0.57 g/L と 4.22 g/L であった。しかし、BM の注入率について総表面積濃度 ( $\text{m}^2/\text{L}$ ) で比較すると、残留濁度を 1 NTU 以下にするためには両者とも同程度の総表面積濃度 (0.027  $\text{m}^2/\text{L}$ ) を必要とすることがわかった。つまり、比重が小さく、面積の広い BM を使用することによって、必要となる BM の添加量を減らすことができる。また、粒径の異なる SS (80-125, 125-160, 160-212 $\mu\text{m}$ ) を用いて静置後のフロックの粒径を比較した結果、SS 注入率を面積濃度で 0.045  $\text{m}^2/\text{L}$  に固定した場合、それぞれ 425, 454, 478  $\mu\text{m}$  となった。また、SS 注入率を 0.0089  $\text{m}^2/\text{L}$  に小さくした場合、389, 379, 366  $\mu\text{m}$  となった。したがって、バラスト凝集処理において、静置後の最終的なフロックの粒径は、注入した BM の総表面積によって支配されることがわかった。また、粒径や BM の粒数は、フロックの成長に影響を受けないことが示された。

## (2) Prevalence and characteristics of ESBL-producing *E. coli* in Dutch recreational waters influenced by wastewater treatment plants

Blaak, H., Kruijff, D. P., Hamidjaja, A. R., Hoek, H. A., Husman, A. and Schets, M. F. *Veterinary Microbiology*, **171**, 448-459, (2014).

Reviewed by K. Yamada

ESBL 産生大腸菌による健康被害は世界中で増加しており、公衆衛生上の問題となっている。ESBL 産生大腸菌の環境中への拡散を抑制するには、その汚染源や感染経路を見極める必要がある。そこで本研究では、オランダの 4 つのレクリエーション水域（それぞれ A, B, C, D 水域）における ESBL 産生大腸菌の存在実態を調査し、さらに水域近隣に位置する消毒前の下水処理水も同様に調査することで、下水処理放流水がレクリエーション水域に与える影響を調べた。調査は、1 つのレクリエーション水域につき、①消毒前の下水処理排水、②下水処理場付近の地表水、③下水処理場上流の地表水、④調査対象の下水処理場からの影響を受けない地表水の全 4 地点で行った。採取した試料は、フィルターを用いてろ過した後、James 試薬を添加した栄養培地で培養し、大腸菌を単離した。その後、単離株を ChromID ESBL 寒天培地で培養し、ESBL 産生大腸菌を単離した。続いて、単離された ESBL 産生大腸菌について、CLSI ガイドラインに従い、Sendi-Disc を用いたディスク拡散法によって、12 種類の抗生物質に対する薬剤感受性試験を行った。最後に、ESBL 産生大腸菌の遺伝子を抽出した後、mPCR 法を用いて、薬剤耐性遺伝子の検査を行った。

ESBL 産生大腸菌は、4 つの全てのレクリエーション水域から検出され、D 水域は最も検出頻度が高く、100% (3/3 回) であった。これに対して、B 地域は、44% (4/9 回) であり、最も低かった。また、水域から単離された ESBL 産生大腸菌の濃度は 0.15~15 CFU/100 ml であり、これは大腸菌全体のうち 0.05~1% を占めていた。さらに、A~D 地域の全ての水域において、下水処理場付近の地表水における ESBL 産生大腸菌の濃度は、消毒前の下水処理水の ESBL 産生大腸菌濃度と同程度であり、他の地点における ESBL 産生大腸菌の濃度よりも  $10^2$ ~ $10^3$  オーダー高かった。薬剤感受性試験の結果、単離された ESBL 産生大腸菌は、多くの抗菌薬に耐性を示し、下水処理排水中の単離株の 71% (47/66 株)、水域での単離株の 41% (15/37 株) が多剤耐性菌であった。遺伝子検査の結果、レクリエーション水域から回収された ESBL 産生大腸菌は、同一地域の異なるサンプル地点と同様の ESBL 遺伝子が確認された。以上の結果より、レクリエーション水域から検出された ESBL 産生大腸菌は、下水処理場を汚染源として、海流によって移動したと考えられる。今後は、汚染源をより明確に特定するためにも、更なる調査が必要である。

## 第 363 回雑誌会

(Sep. 17, 2021)

### (1) Assessing Pretreatment Effectiveness for Particulate, Organic and Biological Fouling in a Full-Scale SWRO Desalination Plant

Abushaban, A., Salinas-Rodriguez, S. G., Pastorelli, D., Schippers J. C., Mondal, S., Goueli, S., and Kennedy, M. D.

Membranes, **11**, 167 (2021).

Reviewed by T. Yadai

膜閉塞は、RO 膜を用いた海水淡水化において主要な問題となっている。膜閉塞原因物質として、懸濁粒子、有機物、および細菌類が挙げられる。したがって、RO 膜を効率的に使用するためには、膜閉塞原因物質を除去する前処理プロセスが最重要となる。そこで本研究では、海水淡水化プラントの前処理プロセスとして、塩化第二鉄による凝集沈殿法と二段粒状濾材濾過法 (Coag + DMF) と加圧浮上法、ならびに二段粒状濾材濾過法 (DAF+DMF) についてそれらの処理性を比較検討した。Coag + DMF と DAF + DMF に用いた塩化第二鉄の添加率は、それぞれ 0.7~1.7 mg-Fe<sup>3+</sup>/L と 1~5 mg-Fe<sup>3+</sup>/L に設定した。膜閉塞は、懸濁物質を原因とする膜ファウリングの指標となるシルト濃度指数 (SDI<sub>15</sub>) と、ファウリングインデックス (MFI<sub>0.45</sub>) によって評価した。また、バイオフィアウリングの指標として、アデノシン三リン酸 (ATP)、細菌増殖可能性指数 (BGP)、溶存有機物 (DOC)、および生物高分子 (BP) を測定した。

Coag + DMF における SDI<sub>15</sub>, MFI<sub>0.45</sub>, ATP の除去率は、それぞれ 80%以上, 94%, 97%となり、懸濁物質除去による膜ファウリングの抑制に効果的であった。しかしながら、ATP の除去率は 97% と高い値を示したものの、バイオフィアウリングの指標となる BGP, DOC, BP の除去率は、それぞれ 41%, 24%, 37%となり、高い除去率は得られなかった。一方の DAF + DMF を用いた場合には、SDI<sub>15</sub>, MFI<sub>0.45</sub>, ATP の除去率がそれぞれ、76%以上, 97%, 91%となり、Coag + DMF と同等の懸濁物質の処理性が得られた。また、BGP, DOC, BP の除去率は、それぞれ 80%, 22%, 53%となり、BGP と BP の除去率において、Coag + DMF よりも、それぞれ 39%と 16%高い値となった。これは、DAF + DMF の鉄塩凝集剤の添加率が Coag + DMF よりも多いことや、加圧浮上法が BGP や BP の増加の要因となる藻類の除去に適しているため、処理性が向上したと考えられる。以上のことから、Coag + DMF と DAF + DMF は、懸濁物質によるファウリングの抑制に効果的であることがわかった。また、DAF を海水淡水化の前処理に組み込むことによって、BGP や BP によるバイオフィアウリングを低減することができる。

## 第 364 回雑誌会

(Oct. 1, 2021)

### (1) Human intestinal cells modulate conjugational transfer of multidrug resistance plasmids between clinical *Escherichia coli* isolates.

Ana Manuel Dantas Machado and Morten O. A. Sommer.

PLoS ONE, **19(6)**, e100739, 2014.

Reviewed by H. Xie

人体には多数の微生物が生息しており、その中で最も豊富なのは腸管である。腸管内では、代謝やシグナル伝達の役割に加えて、微生物群は遺伝物質を交換することができる。ヒトの腸内細菌叢における細菌の接合は、抗生物質の耐性遺伝子や病原性プラスミドの伝播に大きな役割を果たしていると考えられている。そこで本研究では、ヒトの腸管細胞と細菌の相互作用を研究し、細菌接合に及ぼす影響を明らかにするために、*in vitro* の共培養システムを構築した。ドナー株は、セフトキシム耐性を持つ ESBL 大腸菌を使用した。レシピエント株は、カナマイシン耐性遺伝子を持つ大腸菌を使用した。レシピエント菌とドナー菌を、ヒト腸管細胞の存在下または非存在下で 2 時間混合した。2 時間後、カナマイシン ( $40 \mu\text{g/ml}$ )、セフトキシム ( $2 \mu\text{g/ml}$ ) およびカナマイシン ( $40 \mu\text{g/ml}$ ) とセフトキシム ( $2 \mu\text{g/ml}$ ) をそれぞれ LB 培地に添加し、レシピエント菌とドナー菌を 37 度で 24 時間培養して計数した。その後、ヒト腸管細胞から分泌されるタンパク質やペプチドが培養中細菌の接合に及ぼす影響を調べるために、ヒト腸管細胞を  $2\text{mg/ml}$  の非特異的プロテアーゼで処理してから、上と同じ方法で、混合培養して計数した。

培養後、ヒト腸管細胞存在下での細菌接合率 ( $4.51 \times 10^{-5}$ ) は、ヒト腸管細胞の非存在下での細菌接合率 ( $8.4 \times 10^{-5}$ ) よりも 2 倍低いことがわかった。また、ヒト腸管細胞が薬剤耐性菌に感染していた場合、腸管細胞上に混合するレシピエント菌とドナー菌の接合率も低かった。これらの結果は、ヒト腸管細胞の存在により、大腸菌株のプラスミドを接合する能力が低下することを示している。腸管細胞が未知の因子を分泌して、この上に細菌の接合能力を低下させている可能性が考えられる。そこで、未知の因子を判定するために、腸管細胞を非特異的プロテアーゼで処理した。プロテアーゼで処理した細胞 ( $7.48 \times 10^{-5}$ ) では、未処理の細胞 ( $4.83 \times 10^{-5}$ ) に比べて有意に高い接合率を示した。したがって、腸管細胞から分泌され、接合率を低下させる未知の因子は、ペプチドまたはタンパク質であると考えられる。これらの結果から、ヒト腸管上皮細胞は細菌の接合を制御することができ、腸内の遺伝子交換に関連している可能性が示唆された。抗菌薬耐性のある感染症を予防・減少させるためには、タンパク質因子の特徴を明らかにするためのさらなる研究が必要である。

## **(2) Antibiotics and antidepressants occurrence in surface waters and sediments collected in the north of Portugal**

Fernandes, M, J., Paíga, P., Silva, A., Llaguno, C, P., Carvalho, M., Vazquez, F, M., and Delerue-Matos, C.

Chemosphere, **239**, 124729 (2020).

Reviewed by Y. Ito

近年、抗菌薬や抗うつ剤の消費量が世界的に注目されており、これら医薬品は、地表水など水環境中で確認されている。また、医薬品は水環境中から固相に分離する能力があるため、土壌における医薬品の汚染にも注目が集まっている。そこで本研究では、ポルトガル北部に位置する 2 つの河川（ドウロ川とレサ川）における河川水と堆積物中の医薬品濃度を調査した。試料採取は、2017 年の 11 月に実施した。採取地点は、河川水の場合、ドウロ川 4 地点、レサ川 2 地点、堆積物の場合、ドウロ川 5 地点、レサ川 1 地点とした。なお、堆積物は各地点につき上層（0～2 cm）と下層（2～10 cm）の 2 試料を採取した。試料採取後、河川水は、0.45 mm のナイロンメンブレンフィルターで真空濾過した。河川水および堆積物の前処理には、固相抽出法と QuEChERS 法 (quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe methodology) を使用し、抗菌薬と抗うつ剤に属する 27 種類の医薬品を抽出した。河川水と堆積物（上層と下層）の抽出液は、液体クロマトグラフィーとタンデム質量分析装置（UHPLCMS/MS）を用いて分析した。

ドウロ川の河川水からは抗菌薬は一切検出されず、2 種類の抗うつ剤のみが検出された。一方、レサ川の河川水では、6 種類の抗菌薬と 7 種類の抗うつ剤が検出された。また、ドウロ川の堆積物の上層とレサ川の堆積物の上層からは、抗菌薬のスルファメトキシピリダジンとアジスロマイシンがそれぞれ検出された。一方、抗うつ剤は、ドウロ川の堆積物の上層から 4 種類、下層から 3 種類、レサ川の上層と下層の両方から 6 種類検出された。河川水と堆積物で最も濃度が高かった医薬品は、アジスロマイシン（河川水：2819 ng/L、堆積物：43.2 ng/g）であった。堆積物の上層と下層における抗うつ剤の濃度を比較したところ、ドウロ川の堆積物の下層はベンラファキシンが高い濃度を示した。これはベンラファキシンが堆積物を介して上層から下層に移動したと考えられる。一方、レサ川の堆積物では、ベンラファキシンが上層で高い濃度を示した。これは、調査地域において、最近使用された医薬品による汚染が原因であったと考えられる。以上のことから、医薬品の汚染は河川に到達するだけでなく、堆積物や土壌にも影響を与えることがわかった。今後、汚染源を特定するために、農村部や工業地帯、港周辺の医薬品調査を行う必要がある。

第 365 回雑誌会  
(Oct. 15, 2021)

**(1) Potential of ozone micro-bombs in simultaneously fast removing bloom-forming cyanobacteria and in situ degrading microcystins**

Zhang, M., Wang, Y., Wu, X., Kang, Z., Zhang, D. and Pan, X.

Chemical Engineering Journal, **407**, 127186, (2021).

Reviewed by S.Tamai

近年、淡水における有害な藻類の大量発生 (HABs) が各国で問題となっている。特に、シアノバクテリアはマイクロシスチン (MC-LR) と呼ばれる毒素を産生し、人間や動物に重篤な病をもたらすため、シアノ HABs の処理は公衆衛生上、重要な課題である。一般的に、藻類の除去には加圧浮上法や Coagulative Colloidal Gas Aphrons (CCGA) による処理が用いられている。CCGA とは、凝集剤と界面活性剤の混合溶液を攪拌することで作製され、表面が凝集剤で覆われた薄い界面活性剤の槽に囲まれている多層構造の安定した気泡である。しかしながら、これらの手法では毒素の分解を同時に行うことができない。そこで本研究では、細胞の除去と毒素の分解を同時に行うため、オゾン ( $O_3$ ) が封入された CCGA (オゾンマイクロボム, OMB) を用いた処理方法を検討した。OMB は、凝集剤としてポリ塩化アルミニウム、界面活性剤として BS-12 を使用し、オゾンを供給しながら混合溶液を 6,000 rpm で 2.5 分間攪拌し、 $O_3$  濃度が異なる (0, 9.5, 18.5, 39.2 mg- $O_3$ /L) OMB を作製した。実験は、低・中・高濃度のシアノバクテリア懸濁液 600 mL に、濃度の異なる OMB 400 mL を添加することで細胞の除去と毒素の分解を行った。シアノバクテリアの除去率ならびに細胞内と細胞外の MC-LR 除去率を 60 分間経時的に測定し、本手法の評価を行った。

低濃度の懸濁液では、OMB によって高い細胞除去効果が確認され、9.5 mg- $O_3$ /L において 5 分以内に 82.9% の細胞が除去された。総 MC-LR 除去率は 39.2 mg- $O_3$ /L において最も高く、10 分以内に 80% 以上が除去された。一方において、 $O_3$  濃度 0, 9.5, 18.5 mg- $O_3$ /L では、細胞外 MC-LR の増加が確認された。これは、 $O_3$  酸化によって細胞内 MC-LR が漏出したものと考えられる。中濃度の懸濁液においても、OMB によって 5 分以内に 93% 以上の細胞が除去された。総 MC-LR 除去率は、全  $O_3$  濃度において 5 分以内に 70~80% が除去された。一方において、全  $O_3$  濃度で細胞外 MC-LR の増加が確認された。高濃度の懸濁液では、CCGA ならびに OMB と細胞の衝突回数が多いことから、全  $O_3$  濃度において 5 分以内に 90% 以上の細胞が除去された。総 MC-LR 除去率は、最高濃度区の 39.2 mg- $O_3$ /L では、過剰な  $O_3$  によって細胞が破壊されて細胞内 MC-LR が漏出して低下したが、18.5 mg- $O_3$ /L において除去率が最も高く、10 分以内に 95% 以上が除去された。これらのことから、OMB 処理は短時間で 80~90% の細胞除去と総 MC-LR 除去が可能である。

## 第 366 回雑誌会

(Oct. 15, 2021)

### (1) Exploring prevalence of potential pathogens and fecal indicators in geographically distinct river systems through comparative metagenomics

Rajeev, C, A., Sahu, N., Arvind, K., Grace, T., Dev, A, S., Yadav, P, V., and Ghosh, I.  
Environmental Pollution, **282**, 117003 (2021).

Reviewed by M. Katafuchi

河川水中の病原微生物やふん便指標細菌を用いた健康リスクの評価は、微生物培養に基づく方法に大きく依存しているため、大規模な調査を必要とする。この課題を解決する方法として、次世代シーケンス (NGS) アプローチによる 16S rRNA のアンプリコンシーケンスが挙げられる。そこで本研究では、NGS を用いて、インドのヒマラヤならびに半島に位置する汚染の激しい河川系における、微生物群集の相違点について調査した。試料として、ヒマラヤ河川系のガンガ・ヤムナ川から 5 つ、半島河川系のペリヤール川から 6 つのポイントを選定し、川岸の表層堆積物を採取した。そして、試料からメタゲノム DNA を抽出し、キットを用いてアンプリコンライブラリを調整した。調整したライブラリは、QIIME の定めるプロトコルに従ったクオリティフィルタリングなどの前処理を行った後、データ分析を行った。続いて、得られた微生物群集のデータを元に、 $\alpha$  ならびに  $\beta$  多様性の指標を用いて、河川間のマイクロバイオームの比較分析を行った。さらに、合計 55 種類の潜在的病原属、56 種類のふん便関連属、および 6 種類の下水関連属 (F/S 指標) を汚染指標として選定し、それぞれの河川流域の健康リスクを評価した。最後に、河川を形成する多様な環境因子が、河川の微生物群集に及ぼす影響を、スピアマン相関分析を用いて評価した。

NGS の結果、2 つの河川から合計 594 の異なる系統の属が得られた。ヒマラヤ河川系では *Luteolobacter* 属ならびに *Methanosaeta* 属が優占していたのに対して、半島河川系では *Clostridium* 属ならびに *Aerobacter* 属が優占していた。続いて、比較分析の結果、両河川間の  $\alpha$  多様性に有意差は見られなかった ( $p>0.05$ )。しかしながら、 $\beta$  多様性を主座標分析で評価したところ、両河川間に有意に異なるコミュニティが存在した ( $p<0.05$ )。さらに、健康リスク評価の結果、合計 55 の潜在的病原属のうち 25 種類が、また合計 62 の F/S 指標のうち 26 種類が両河川系から検出された。両河川とも同様の属が生息していたが、その存在割合はそれぞれ異なっていた。最後に相関分析の結果、潜在的病原属の存在量は、河川中の総溶解固形物 (TDS)、電気伝導率 (EC)、および Cd などの要因と密接に関連し、また F/S 指標の存在量は、河川中の Na, Ca, Cu、および Ba などの要因と密接に関連していた。以上の結果から、NGS を用いた DNA 解析は、広範囲の環境試料を解析し、新たな微生物群集の指標を検出できる有用なアプローチと言える。

## (2) Aeolian dispersal of bacteria associated with desert dust and anthropogenic particles over continental and oceanic surfaces

Maki, T., Lee, K. C., Kawai, K., Onishi, K., Hong, C. S., Kurosaki, Y., Shinoda, M.,

Kai, K., Iwasaki, Y., Archer, S. D.J., Lacap-Bugler, D. C., Hasegawa, H., and Pointing, S. B.

Journal of Geophysical Research Atmospheres **124**, 5,579-5,588 (2018).

Reviewed by T. Yahata

大気中の塵は、微生物を長距離輸送する重要な手段として注目されている。塵とともに輸送される微生物が輸送先の生態系や人間へ影響を及ぼす可能性があるため、塵とともに輸送される微生物の調査は公衆衛生上の課題である。しかし、微生物の飛散メカニズムに関連する要因の多くは解明されていない。そこで本研究は、2015年3月から6月にかけて、東アジアの黄砂時期に黄砂の通り道である龍仁(韓国)と米子(日本)において、空気中の微生物を計164サンプル採取し、アジア中央砂漠地域から発生する黄砂が細菌飛散に与える影響や陸地・海面を通過する際に黄砂等に付着した飛散細菌が受ける影響について調査した。エアロゾルの採取は、高さ10mの地点で滅菌フィルターホルダーに取り付けた0.22 μmポリカーボネートフィルターを使用して、0.8 L/minの流量で12時間から24時間連続で行った。その後、エアロゾル粒子の種類を調べるために、0.5 μg/mlの4,6-ジアミノ-2-フェニルインドール溶液で15分間染色し、人為的粒子、有機物粒子、鉱物粒子(黄砂)、および細菌粒子をそれぞれ区別した。さらに、紫外線励起システムを備えた蛍光顕微鏡を使用して各粒子濃度を決定した。また、滅菌生理食塩水によってフィルターから微生物を溶離後に、フェノール・クロロホルム法によってDNAを抽出し、NGS法を用いた16s rRNAのV4領域を対象とした遺伝子解析によってエアロゾル中の微生物群衆を特定した。気象データは韓国気象庁、米子気象観測所、アメリカ海洋大気庁のものを用いた。

両地点の非黄砂日に採取されたエアロゾルは、淡水、海洋、植物、動物由来の局所的なものが多かった。両地点から検出された細菌種の *Bacillaceae* と *Cytophagaceae* の相対的な存在量は、鉱物粒子(黄砂)と正の相関があった。黄砂発生時には、韓国では放線菌が増加したが、黄砂が日本海に飛散した後は、日本において海洋細菌(主に *Alphaproteobacteria*)が多く検出された。東アジアの黄砂時期に、アジア中央砂漠地域から飛来する黄砂は、砂漠などに由来する空気中の細菌群集を増加させた。また、韓国と比較して、日本は空気中浮遊細菌の変動がより顕著に確認された。以上のことから、空気中の砂漠の粉塵は、細菌の重要な輸送手段であると考えられる。

## 第 367 回雑誌会

(Oct. 22, 2021)

### (1) Prevalence of ESBL, AmpC and Carbapenemase-Producing Enterobacterales Isolated from Raw Vegetables Retailed in Romania

Colosi, I. A., Baciuc, A. M., Oprea, R. V., Peca, L., Gudat, T., Simon, L. M., Colosi, H. A., Costache, C.

Foods 2020, 9, doi:10.3390/foods9121726 (2020).

Reviewed by T. Horita

$\beta$ -ラクタマーゼを産生する腸内細菌は、医療機関の範疇を超え、環境や食品の安全性にまで影響を及ぼす恐れがある。実際に、腸内細菌に汚染された冷凍野菜が原因であるアウトブレイクの発生や、野菜からの ESBL 産生菌、AmpC 産生菌が確認された報告も相次いでいる。しかしながら、ルーマニアの生鮮野菜における  $\beta$ -ラクタマーゼを産生する腸内細菌についてのデータは少ないのが現状である。そこで本研究では、ルーマニアの市場で販売されている生野菜に付着する腸内細菌のうち、ESBL 産生菌、AmpC 産生菌、およびカルバペネマーゼ産生菌の存在割合を調査した。調査は、2019 年 4 月～5 月の期間に実施し、ルーマニアのスーパーマーケットとファーマーズマーケットから、合計 11 種類 165 試料の野菜を収集した。はじめに、各野菜の果肉と表皮のそれぞれ 2 g にペプトン水 18 mL を混合し、その混合液 1  $\mu$ L を滅菌生理食塩水 1 mL で希釈した。続いて、希釈液 1  $\mu$ L を EBM 寒天培地に接種し、37°C で 24 時間培養した後、腸内細菌の計数・単離を行った。単離された腸内細菌は、マトリックス支援レーザーイオン化飛行時間型質量分析 (MALDI-TOF MS) で菌種を同定した。また、同定後の単離株は、ディスク拡散法による ESBL 産生菌と AmpC 産生菌のスクリーニング検査を行った。最後に、単離株中の ESBL 産生、AmpC 産生、およびカルバペネマーゼ産生に関する遺伝子の存在について PCR 法を用いて確認した。

生野菜のサンプルからは、合計 856 株の腸内細菌が単離された。また、ほとんどの野菜は購入した市場と腸内細菌数の間に統計的な優位性は見られなかったが、唯一トマトに付着する腸内細菌数は、スーパーマーケットと比較して、ファーマーズマーケットの方が高い傾向にあった ( $p < 0.005$ )。単離された腸内細菌株のうち、ESBL 産生株は 0.58% (5/856 株)、AmpC 産生株は 0.47% (4/856 株)、カルバペネマーゼ産生株は 0.47% (4/856 株) の割合で検出された。このうちの 46% (6/13 株) は多剤耐性菌であった。PCR 法による遺伝子検査の結果、最も多く検出された  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子は *bla<sub>SHV</sub>* が 4 株、続いて *bla<sub>CTX-M</sub>* と *bla<sub>TEM</sub>* がそれぞれ 3 株から検出された。

以上のことから、ルーマニアで販売される生野菜には、 $\beta$ -ラクタマーゼを産生する腸内細菌が存在することがわかった。これは、生食用の野菜が重大な感染症を引き起こす可能性がある。

## (2) Partial drying accelerates bacterial growth recovery to rewetting

Meisner, A., Leizeaga, A., Rousk, J., and Bååth, E.

Soil Biology & Biochemistry, **112**, 269-276, (2017).

Reviewed by W. Sugiyama

水分は、土壌中の微生物活動に影響を与える重要な要素であり、降雨や風乾などによる水分量の増減が微生物の増殖速度に多大な影響を与える。過去の研究において、乾燥-再湿潤に対する微生物の反応は、完全乾燥させた土壌について評価している。しかし、自然環境中の土壌の乾燥は部分的であり、再湿潤前の残留水分量が多い。そこで本研究では、不完全に乾燥した土壌が細菌の増殖に与える影響を評価する。実験に用いる土壌試料は、2014年8月にグリーンランドのディスコ島とイギリスのバンカーで採取した。採取した試料の水分量を最大保水量（WHC）の50%に調整し、風乾によって室温で最大4日間乾燥した。続いて、試料の水分量が50%WHCになるまで再湿潤した。その後、細菌細胞への<sup>3</sup>H-ロイシンの取り込みを測定するロイシン法によって、再湿潤前と再湿潤後48時間の細菌の増殖量を求めた。また、メタナイザーと水素炎イオン化検出器を用いたガスクロマトグラフィー分析によって、微生物の呼吸によるCO<sub>2</sub>発生量を測定した。CO<sub>2</sub>発生量は、再湿潤前の24時間と再湿潤後の0~24時間、24~48時間の区間について測定した。水分量を50%WHCに保持した土壌を対照試料として細菌の増殖量およびCO<sub>2</sub>発生量を比較した。

土壌試料は風乾によって、最大2.45%WHCまで乾燥させた。再湿潤前の試料について細菌の増殖を確認したところ、細菌の増殖量とCO<sub>2</sub>発生量の両方が土壌水分量とともに増加した。また、乾燥時水分量が30%WHC以上のとき、増殖量とCO<sub>2</sub>発生量は、乾燥-再湿潤による変動が見られなかった。次に、再湿潤後の細菌増殖についてみると、部分乾燥状態の試料の場合、細菌は再湿潤直後から増殖を開始した。一方で、乾燥時水分量が少ない（14%WHC以下）試料の場合は、細菌増殖が見られるまでに最大20時間の遅延が生じた。再湿潤前の水分量が回復時間に及ぼす影響は、グリーンランドとイギリスの試料間で差がなかった。一方で、再湿潤前の水分量が少ない試料ほど、再湿潤後の細菌増殖率が大きい傾向がみられ、対照試料の細菌増殖量と比較すると、3%WHCに乾燥させた試料が約5倍だったのに対して、7.4%WHCに乾燥させた土壌は約1.5倍であった。また、完全乾燥させた試料は、部分乾燥させた試料と比較して、再湿潤後に放出されるCO<sub>2</sub>量が増加しており、再湿潤後0~24時間に完全乾燥させた試料から放出されたCO<sub>2</sub>発生量は、対照試料よりも5倍高かった。今回の研究から、乾燥の程度が再湿潤後の細菌の回復時間や増殖率に影響を与えることが明らかになった。

## 第 368 回雑誌会

(Nov. 5, 2021)

### (1) Occurrence of antibiotic resistant bacteria and resistance genes in agricultural irrigation waters from Valencia city (Spain)

Amato, M., Dasí D., Gonzalez A., Antonia F. M. and Castillo A. M.

Agricultural Water Management **256** 107097 (2021)

Reviewed by Y. Kato

水環境における抗菌薬の流出と薬剤耐性細菌 (ARB) の発生は、人間の健康だけでなく農業生態系にも悪影響を与える可能性がある。ARB は灌漑用水を介することで農作物に付着し、食物連鎖によって広域に運ばれる懸念が生じている。そこで本研究では、灌漑水路ネットワークから ARB を単離し、その存在実態を調査することを目的とした。試料は、スペインのトゥリア川、ロイヤル・モンカダ灌漑水路、ラスカーニャ灌漑水路、ヴェラ灌漑水路、およびカライシェ・ラビン川の 5 つの地点から採取した。採取した各試料は、それぞれニトロセルロース膜を用いてろ過した後、Chromocult® Coliform 寒天培地を用いて大腸菌を計数・単離した。さらに、5 種類の抗菌薬 (アンピシリン (AMP), オキシテトラサイクリン (OXY), エリスロマイシン (ERY), スルファメトキサゾール (SUL), シプロフロキサシン (CIP) ) をそれぞれ 1 種類ずつ添加した Chromocult® Coliform 寒天培地を用いて、同様の操作で培養を行い、ARB 陽性大腸菌を計数・単離した。続いて、得られた ARB 陽性大腸菌株に対し、Sensititre™ System (Thermo Fisher Scientific Inc.) を用いて、合計 14 種類の抗菌薬に対する薬剤感受性試験を行った。最後に、ARB 陽性大腸菌株の遺伝子を抽出し、PCR 法によって陽性株中に含まれる *blaTEM* (β-ラクタム系), *tetW* (テトラサイクリン系), *ermB* (マクロライド系), *sulI* (スルホンアミド系), および *qnrS* (キノロン系) の、5 つの抗菌薬系に関連する薬剤耐性遺伝子 (ARGs) を対象とした遺伝子解析を行った。

計数の結果より、OXY と SIP を入れた培地を除く全ての抗菌薬入りの培地から耐性を持つ菌が確認された。薬剤感受性試験のために単離した合計 125 株の全ての大腸菌は、少なくとも 1 種類の抗菌薬に対して耐性を示した。スルファメトキサゾール耐性が最も多く (96.8%), 次いでアンピシリン (72%), テトラサイクリン (64.8%), シプロフロキサシン (60%) の順であった。多剤耐性大腸菌が高い割合 (79.2%, 88/125 株) で検出された。PCR 法によって、全てのサンプルから薬剤耐性遺伝子が確認され、96% (120/125 株) 大腸菌から *blaTEM* が検出された。以上のことから、この汚染された水を灌漑に使用すると、周辺の農作物に薬剤耐性を広げる可能性がある。本研究の結果は、農業環境における耐性遺伝子による汚染のメカニズムの解明に役立つ。また、灌漑用水の水質を適切に管理し、薬剤耐性の拡散を防止する必要がある。

## (2) Tapping into the ballast potential of sparingly soluble salts for enhanced flocculation in algae biomass harvesting

Oladoja, N. A., Ali, J., Lei, W., Yudong, N., and Pan, G.

Separation and Purification Technology, **248**, 117150, (2020)

Reviewed by M. Kanai

凝集沈殿法は、藻類細胞を凝集沈殿処理することができるため、藻類のバイオマス資源回収ならびに、水処理場の省スペース化やコスト面からフロックの沈降速度を高めることが望まれている。さらに、藻類細胞の新たな処理方法としてアルカリ凝集沈殿法が注目されている。そこで本研究では、藻類を含む試料水に溶解度の高い  $\text{MgCl}_2$  または溶解度の低い  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  をバラスト剤として用いてアルカリ凝集沈殿処理を行い、形成されたフロックの沈降速度や発生汚泥について調査した。バラスト剤には、 $\text{MgCl}_2$ 、 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 、 $\text{nanoMg}(\text{OH})_2$  の3種類を用いた。初めに、500 mL ビーカーに200 mL の海洋クロレラ (GY-H6) を含んだ藻類懸濁液と、所定量のマグネシウム懸濁液または溶液を添加した。続いて、混合液をジャーテスターに設置し、200 rpm で攪拌した。その後、混合液に1 M の NaOH 溶液を添加し、凝集が始まるまで pH を上昇させ続けた。凝集が始まった後、200 rpm で1分間、続いて50 rpm で10分間攪拌させた。そして30分間静置させた後、上澄み水と発生汚泥をそれぞれ採取し、分析を行った。分析項目は、収穫効率 (HE%)、汚泥の沈降性を示す指標である SVI 値、フロックの沈降速度とした。

$\text{MgCl}_2$ 、 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 、 $\text{nanoMg}(\text{OH})_2$  の最適投与量は200、100、100 mg/L であり、HE は、それぞれ93~98%の範囲であった。また、 $\text{Mg}(\text{OH})_2$  または  $\text{nanoMg}(\text{OH})_2$  を用いたアルカリ凝集沈殿では、pH を11.4 に上昇させると凝集が発生した。一方で、 $\text{MgCl}_2$  を用いた場合では、pH を10.2 まで上昇させると凝集が発生した。このことから、可溶性マグネシウム塩 ( $\text{MgCl}_2$ ) と難溶性マグネシウム塩 ( $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ) では藻類のフロック形成が異なるメカニズムを有していた。フロックの沈降速度に関しては、 $\text{MgCl}_2$ 、 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 、 $\text{nanoMg}(\text{OH})_2$  の順に速くなり、それぞれ0.3156、0.6371、1.0454 L/mol/s となった。これは、バラスト剤を使用しない場合の沈降速度 (0.2155 L/mol/s) と比較して、1.5~4.9 倍大きな値であった。SVI 値に関しては、 $\text{MgCl}_2$ 、 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 、 $\text{nanoMg}(\text{OH})_2$  で、それぞれ2284.3、1718.8、1438.8 mL/g であり、バラスト剤を使用しない場合の SVI 値 (4237.29 mL/g) と比較して、46~68%減少した。以上のことから、藻類を含む試料水に溶解度の低い  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  をバラスト剤として使用することで、フロックの沈降速度の向上が見られ、藻類バイオマスの収穫効率を向上させることができる。

## 第 369 回雑誌会

(Nov. 12, 2021)

### (1) Prevalence of multidrug-resistant and extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in urban community wastewater

Schmiege, D., Zacharias, N., Sib, E., Falkenberg, T., Moebus, S., Evers, M. and Kistemann, T.

Science of the Total Environment, **785**, 147269, (2021).

Reviewed by K. Yamada

現在、抗生物質耐性 (ABR) や抗生物質耐性遺伝子 (ARG) を保有する ESBL 産生大腸菌が排水を介して環境中に拡散することは、公衆衛生上の大きな課題として世界中で問題となっている。ESBL 産生大腸菌を含む排水は、医療現場や食肉処理場、医薬品製造会社などが主な排出源として知られているが、住宅地からの下水に対して焦点を当てた研究はほとんどない。そこで本研究では、住宅地から排出された下水に含まれる ESBL 産生大腸菌を調査し、状況を把握することを目的とした。調査は 2019 年 4 月から 2020 年 3 月の間に行われた。試料として、ドイツのある都市の 3 つの地域において、①平均的な地域 A, ②住民の平均所得が高く、社会的に有利な地域 B, ③住民の平均所得が低く、社会的に不利な地域 C から、それぞれ排出される下水と、④A, B, C 地域からの下水が集まる下水処理場の流入水を採取した。採取した試料を、各試料水 1 ml ずつクロモカルトコリフォーム寒天培地に直接塗布し、大腸菌を単離した。また、同様に各試料水を 1 ml ずつ CHROMagar ESBL 寒天培地に塗布し、ESBL 産生大腸菌陽性株の単離を行った。単離された陽性株は、MALDI-TOF MS を用いて菌種の同定を行った。最後に、大腸菌と同定された陽性株について、MIC 試験を用いて 6 つの抗菌薬に対する耐性プロファイリングを行った。

大腸菌は、採取したすべての排水試料から検出され、A 地域と比較して B 地域ならびに C 地域は、住民一人当たりが一日に排出する大腸菌濃度が 1.4 倍高かった。また、どの地域も大腸菌濃度が最も高かったのは夏季であり、最も低かったのは冬季であった。一方で、ESBL 産生大腸菌濃度は、どの地域においても ESBL 産生大腸菌濃度は総大腸菌濃度の 1 %程度であり、冬季に最も高い値を示した。そこで、ESBL 産生大腸菌として単離された 112 株について MIC 試験を実施したところ、ほぼ全ての株がペペラシリン並びにセフトキシムに耐性を示した。また、単離株の 28.6% (32 株/112 株) がペペラシリン、セフトキシム、およびシプロフロキサシンに耐性を持つ多剤耐性グラム陰性菌 (3MRGN) であり、その存在割合は下水処理場において最も高く、B 地域で最も低かった。以上の結果より、住宅地からの下水には ESBL 産生大腸菌が存在し、その割合は、社会的背景の差異や空間的ならびに季節的な影響を受けて変化することがわかった。

**(2) Identifying the best coagulant for simultaneous water treatment objectives: Interactions of mononuclear and polynuclear aluminum species with different natural organic matter fractions**

Lapointe, M., Papineau, I., Peldszus, S., Peleato, N. and Barbeau, B.

Journal of Water Process Engineering, **40**, 101829 (2021) .

Reviewed by K. Takahashi

現在、水源中の消毒副生成物の原因となる天然有機物 (NOM) の増加が問題となっている。一方で、 $Al_3O$ などのカチオン性多核アルミニウム種を含む凝集剤の使用によって、NOMと凝集剤間で荷電中和を引き起こし、フロックを形成することが出来る。また、これらの凝集剤は塩基度によって、凝集剤に含まれるアルミニウム種の相対濃度が異なる。そこで本研究では、特定の NOM 画分の除去性能について、6種類の凝集剤 {硫酸第二鉄, ミョウバン (塩基度: 0%), 3種のポリ塩化アルミニウム (PAX14, PAX18, PAX XL8, 塩基度: 23, 42, 70%), アルミニウムクロロハイドレート (ACH, 塩基度: 83%)} を用い、様々な pH (4.5-7.0) 条件で比較した。各凝集剤中の Al 種の相対濃度は核磁気共鳴分光法を用いて測定した。試料は、三つの水源 (St. Lawrence River, Des Prairies River, Des Rapides Lake) から採取し、実験に供した。各実験条件においてバラスト凝集沈殿処理を行い、処理水の性質を調べた。NOM 画分除去性能の比較のために用いた指標は、腐植物質 (HS), ビルディングブロック (BB, HS の分解物), 低分子量酸 (LMWa), 低分子量中性 (LMWn) 化合物, バイオポリマー (BP), HS 画分の溶存有機窒素含有部分 (HS-DON) である。また、DOC, THM / HAA 前駆体, 濁度, pH などの従来の指標も評価した。

カチオン性の多核アルミニウム種 ( $Al_3O$ ) を多く含む ACH は、親水性の NOM 画分である BB を最大で約 50%除去できた。一方で、酸性条件下での ACH の濁度除去率は、6種類の凝集剤の中で最も低かった。逆に、単量体のアルミニウム (Al) を多く含む PAX14 は、HS を 98%以上除去することができ、濁度と DOC も pH6-7 の範囲で良好な除去率を得ることができた。酸性条件 (pH < 6) では、硫酸第二鉄がアルミニウム系凝集剤よりも、濁度および疎水性の NOM 画分 (HS, BP, HS-DON) の除去に優れていた。アルカリ性条件 (pH > 7) では ACH が親水性の高い NOM 画分 (BB, LMWa, LMWn) の除去に有効であった。本研究では、すべての指標と NOM 画分の除去を考慮した結果、pH6-7 のバラスト凝集沈殿処理において、PAX14 が最も優れた性能を発揮することが明らかになった