

第 61 回雑誌会

(Aug 8, 2008)

(1) 首都圏・真間川の水質と流域の土地利用との関係

丁 長梅, 大森 博雄, 高森 弘毅

日本水文科学会誌, 36 pp219-233 (2006).

レビュー: 川崎雄紀

1960年代以降の都市化地域の商業・工業地等への土地利用の変化は、生活用水や農業用水として利用されていた多くの河川の流量や水質を大きく変化させ、飲料用水や用水としての使用を不可能にし、水辺の環境悪化を引き起こした。河川水質を観測する際には、「水質の時間変動」と「水質の空間的差異」という2つの観点から検討する必要がある。これら2つの観点に基づいて、無機イオンを対象に、真間川の水質の実態を把握するとともに、流域の土地利用と水質との関係を考察した。

現地では、39地点において、水質調査のための水サンプルを採取した。また、湧水を12地点で採取した。現場では、ECとpH (HCO_3^- 濃度)を測定した。採集した試料は実験室に持ち帰り、 $0.20\mu\text{m}$ のフィルターで濾過を行った後に、主要無機イオン濃度(Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-})を測定した。なお、無機イオン濃度と HCO_3^- の濃度の合計をTMIと呼ぶ。また、各地域の土地利用と水質との関係を検討するにあたって、各地域の土地利用の主成分分析を行った。

流域の土地利用の主成分分析を行った結果、3主成分が抽出された。第一主成分は、「緑地残存度」、第二主成分は、「宅地化度」第三主成分は、「非工業地化度」の3つである。そして、土地利用と水質との関係では、主成分ごとに、それぞれ特徴あるイオン構成の水が流出した。第一主成分は Ca^{2+} , Mg^{2+} , NO_3^- と正の相関を示し、他のものとは、負の相関を示した。第二主成分が大きいと NO_3^- は減少し、 SO_4^{2-} や K^+ は増加し、工業化の進展は Na^+ , Cl^- を増加させ、ECやTMIの値を高めることがわかった。真間川は2幹川で、国分川と大柏川にわけられる。国分川では、上流でイオン濃度が高く、下流へ行くにしたがって、水質が変化する(EC, TMI濃度は特に大きく減少する)。大柏川では、イオン濃度が一定であった。それぞれの河川における水質とその変化は、合流してくる支流の土地利用に規定されていることがわかった。

(2) 沿岸海域における浮遊細菌類の現存量, 生菌率, 生産

長沼 毅

日本プランクトン学会報 46, pp43-49 (1999).

レビュー: 田中 昭彦

海洋表層の物質循環とエネルギー流における主要経路には, 古典的食物連鎖 (grazing food chain; 植物プランクトン起点), 微生物ループ (microbial loop; 溶存態有機物→細菌起点), 沈降フラックス (sinking flux; 植物デトリタスなど) がある。このうち, 微生物ループは古典的食物連鎖から派生したもので, 古典的食物連鎖の予備の働きをする一方, 古典的食物連鎖と競争をすることもある。事実, 地中海東部では植物プランクトン生産の 85% が微生物ループに流れている。

本研究では微生物ループの起点である浮遊細菌の現存量・生菌率・生産についての調査を行った。その結果, 現存量は比較的狭い範囲で変動し, 現存量の低い方は植物プランクトン生産に依存し, 高い方は細菌捕食による制限を受けていることがわかった。生死判別については, 「細胞膜の健全性; integrity」に基づいた BacLight LIVE/DEAD 試薬による性生死判別方法が用いられてきている。この BacLight LIVE/DEAD 試薬を用いた測定と増殖速度測定法による全菌数の内訳 (生菌, 死菌) を瀬戸内海と伊勢湾のサンプルについて比較したところ, 両者は極めてよく一致した。BacLight LIVE/DEAD の方法が従来の方法と違うため, 従来の全細菌ベースの細菌生産の見積もりを見直すことが必要かと思われていたが, BacLight LIVE/DEAD を応用した方法により, 全細菌の数が同じであったためその心配はなくなった。しかしながら, BacLight LIVE/DEAD 試薬で死菌とみなされた細胞が増加していたことから, 死菌とみなされた細胞全てが死菌ではないという問題点が浮き彫りになった。また, 近年浮遊細菌の生産や増殖を支える有機物源は光合成生産より大きいのではないかという問題がある。実際の瀬戸内海における浮遊細菌の生産は光合成生産だけでは説明できないほど大きい。別由来の有機物に依存した細菌生産, すなわち植物プランクトンと細菌の相互依存による細菌生産について考慮しなければならない。

第 62 回雑誌会

(September 1, 2008)

(1) Fecal indicator bacteria and Salmonella in ponds managed as bird habitat, San Francisco Bay, California, USA

Shellenbarger, G. G., Athearn, N. D., Takekawa, J. Y. and Boehm, A. B.

Water Research 42, 2921-2930 (2008)

Reviewed by T. Furukawa

今日、沿岸域資源の管理者は、崩壊した湿地帯や池における生態系の回復に努めている。多くの沿岸域は、都市域に隣接しており、人間のレクリエーションの場となっていると同時に、鳥類等の生息場所でもある。したがって、野生生物が沿岸域の水質に及ぼす影響を把握することは重要である。本研究では、2つの池におけるふん便指標細菌 (FIB) 濃度、サルモネラの有無、鳥類の存在量、および物理化学的水質パラメータの測定を行った調査期間は2006年の夏季と冬季の各4週間とした。また、各項目について水質基準と比較し、FIB、鳥類存在量、および各水質パラメータとの相関を分析した。さらに、FIBについてはbox modelによって、季節によって池がFIBのソース (発生源)、もしくはシンク (吸収源) のどちらになるかを解析した。

鳥類の存在量は、冬季のほうが夏季の10倍の存在量であった。FIB濃度は、調査期間を通して水質基準以上で検出され、特に夏季において高濃度であった。特に、調査対象である池に流入する沼地のFIB濃度は、両調査期間においても極めて高かった。このことから、夏季における池のFIB濃度の増加は水鳥の利用よりも、沼地水の流入が原因である可能性が高い。Box modelの解析では、鳥類の存在量が高い冬季では、両池において3つのFIB (大腸菌群、大腸菌、腸球菌)のうち大腸菌と腸球菌がソースとなることを示した。サルモネラは、池と沼地のいずれにおいても検出されたが、その起源は鳥類由来ではないことが示唆された。以上のことから、池におけるFIB濃度の変化は鳥類の存在量よりもほかの因子が関連していることが考えられる。

(2) 水中クリプトスポリジウムの検出に関する検討

都築 秀明, 奥村 正直, 富田 伴一

愛知衛所報 56, 9 - 15 (2006)

レビュー: 平松 暁紀

クリプトスポリジウム (*Cryptosporidium*; 以下 *Cr*) は動物の消化管内で増殖し, 人に下痢を引き起こす腸管寄生性原虫である。この原虫のオーシスト (以下, *CrO*) は水道法で定められた残留塩素濃度では死滅しない。2006年1月末現在, *Cr* 自体を検出する検査法としては1996年時の厚生省が策定した暫定試験方法からほとんど変更されておらず, 未だに最良の方法は見出されていない。そこで本研究では, *CrO* を環境水から効率的に回収するための前段階として, 試験水に *CrO* を含む蒸留水を使用し, 厚生省が示す暫定指針に沿った方法 (暫定法) と, 現在日本水道協会が推奨する方法 (推奨法) を, 濃縮と精製の2つの工程において比較検討した。

濃縮試験における暫定法 (CA膜使用, 142mm径, 孔径1 μ m) を用いた3回の回収率の平均は20.7 \pm 4.3%となる結果が得られた。一方, 推奨法 (PTEE膜使用, 142mm径) での回収率の平均は, 孔径1 μ mでは35.2 \pm 4.6%, 5 μ mでは48.2 \pm 10.5%であった。精製試験における暫定法 (ショ糖遠心浮遊法) での回収率は平均19.0 \pm 3.1%を示した。一方, 推奨法 (磁気ビーズ法) では平均92.4 \pm 8.4%の回収率が得られ, 暫定法と比べ約5倍高い回収率であった。濃縮・精製を行う採水容器からの回収では, 暫定法での回収率は平均5.2 \pm 2.3%と低い結果であったのに対し, 推奨法では平均35.1 \pm 9.2%を示し, 推奨法の方が約6倍高い回収率が得られた。以上のことから, 鉄成分や沈渣の濁度による問題が発生しない水道水などの飲用水からの *CrO* の回収に関しては, 水道協会の推奨法は厚生省が示した暫定法よりも高い回収率を得ることのできる方法であることが示唆された。

第 63 回雑誌会 (Sep 5, 2008)

(1)Development of real-time RT-PCR methods for specific detection of F-specific RNA bacteriophage genogroups : Application to urban raw wastewater

Ogorzaly, L. and Gantzer, C.

Journal of Virological Methods, 138, 131-139(2006).

Reviewed by S.Narimatsu

F-特異 RNA バクテリオファージの検出は、しばしば糞便性汚染源特定の目的のために使用されてきた。F-特異 RNA バクテリオファージは 4 つの遺伝子グループに分類される (G I, G II, G III, および GIV)。また, G II および G III は頻繁にヒトの糞便から検出され, G I および GIV は頻繁に動物の糞便から検出される。これら 4 つの遺伝子グループの検出のため, 近年, Taq Man MGB プローブを用いたリアルタイム RT-PCR 法が開発された。また, それぞれの遺伝子グループの特異 RT-PCR 検出のためのプライマーおよびプローブは, 他の遺伝子グループとの交差反応を防ぎ, ある遺伝子グループに特定できるように設計されている。本研究では, 4 つの遺伝子グループの特異検出のための, 新規リアルタイム RT-PCR 法の開発を目的とした。さらに, この方法を用いて都市生下水を対象として検出を行い, 環境水サンプルへの実用性・有効性についての検討を行った。

TaqMan MGB プローブを用いた, TaqMan PCR 法による 4 つの遺伝子グループの検出限界の範囲は, 0.01~10 PFU (Plaque Forming Units) /mL であった。また, 増幅効率の範囲は 87~95% であった。さらに, 都市生下水を対象として 3 週間にわたって, 計 7 回のサンプリングを行い, バクテリオファージ種の検出を行った。その結果, 7 つのサンプルのうち G I と G II が 7 サンプルすべてから検出された。また, G III は 6 サンプル検出され, GIV は検出されなかった。また, 1 つのサンプルから G I が高濃度で検出された。さらに, この G I が高濃度で検出されたサンプルからは, *Cryptosporidium* と *Giardia* がそれぞれ 19044 oocysts/L, 10211 cysts/L と高濃度で検出され, それぞれ, 7 回のサンプリングにおける平均濃度の 8 倍と 3 倍であった。G I は主に動物の糞便から検出されるため, この増加は動物の糞便汚染水の流入によるものと仮定される。この結果から, 本研究での F-特異 RNA バクテリオファージを使用した方法は, 糞便性汚染源の特定に有効であるといえる。

(2) Comparison of enterococcal populations in animals, humans, and the environment

- a European study-

Kuhn, I., Iversen, A., Burman, L., Olsson-Liljequist, B., Franklin, A., Finn, M.

Aarestrup, F., Seyferth, A., Blanch, A., Vilanova, X., Taylor, H., Caplin, J.,

Moreno, M., Dominguez, L., Herrero, I. and Mollby R.

Food Microbiology, 88, 133-145(2003).

Reviewed by H.Takahashi

食用動物に与える成長促進剤の使用により、食用動物由来の腸球菌は抗生物質に対する耐性を持つことがわかっている。また、抗生物質耐性は人間由来の腸球菌にも流行している。これは、特定の毒性決定因子を有する *Enterococcus faecalis* および *E. faecium* が人間への感染を引き起こしているという事実がある。したがって、人間、動物および環境中の腸球菌属を知ることが必要となる。

本研究では、異なる地理的地域における腸球菌と異なる食物連鎖の1部の過程における腸球菌間の多様性の測定し、それぞれの地域の腸球菌属との相同性の測定を行った。2868 サンプルはヨーロッパの4カ国、スウェーデン、デンマーク、イギリスおよびスペインの人間(健康な人、入院患者および臨床株)、動物(食肉加工場の死骸と牧場の動物)、環境(養豚場、下水、最終沈殿池の表面水)から採取し、腸球菌属に関して特徴づけを行った。サンプルごとの8(ふん便サンプル)あるいは24(環境サンプル)株を表現型で示し、PhenPlate typing(PhP-RF)システムで同定した。20000株以上のサンプルの大多数(77%)は腸球菌であった。環境サンプルの腸球菌の多様性は一般に高く、通常のふん便サンプルもまた1種類以上の腸球菌株の存在を示した。検出されたほとんどの共通種は *E. faecium*(33%), *E. faecalis*(29%), *E. hirae*(24%)であった。しかし、各地域の腸球菌集団は種分布の点で異なることが示唆された。スウェーデンの臨床株、入院患者、病院廃水は *E. faecalis* が優占していること(それぞれ 80%, 57%, 54%)が示唆された。その一方、都市下水および健康な人のふん便には、*E. faecalis* が含まれていた(それぞれ 39%と 40%)。食肉加工場の分離株の種分布は動物種間、国間で異なったが、*E. faecalis* は主にプロイラーに関係し、*E. hirae* はウシおよびブクに関係することが示唆された。

(3)臨床材料からの Enterococcus 属の分離状況について

山岡 一清, 岩田 幾世, 奥田 清保, 松川 洋子, 沢村 浩樹, 上野 一恵
岐阜医療技術短期大学紀要 20, pp107-113(2004).

レビュー: 福村 剛史

Enterococcus 属(腸球菌)は、殆どの人や動物の腸内細菌叢を構成している細菌種であるが、日和見感染を引き起こす病原細菌でもあり、致命的な重症感染症や病院内感染の原因菌としても重要視されている。本研究では、岐阜県内の3病院における Enterococcus 属の分離状況および薬剤感受性状況を集計し、バンコマイシン耐性遺伝子の検索を、vanA, vanB, vanC1, vanC2 遺伝子の有無について検査を行った。

臨床材料別分離状況については、3病院とも *E.faecalis*, *E.faecium*, *E.avium* の順に多く分離された。臨床材料別の分離頻度では、尿が多く、次いで膿、呼吸器系、生殖器系など幅広い種類の材料から分離された。薬剤感受性試験に関しては、県立岐阜病院では、*E.faecalis* に対する PCG が7株耐性であり、CEZ に対してはほとんどが耐性を示し、県立多治見病院でも同様の傾向が見られた。県立岐阜病院で尿と膿から分離された *E.faecalis* の2株、膿から分離された *E.avium* 1株が VCM 中間耐性であった。岐阜大学病院では、糞便材料から分離された *E.faecium* 1株が中間耐性であり、1株が VCM 高度耐株であった。PCR 法による遺伝子検索を行った結果、岐阜大学病院の糞便材料から分離された、*E.faecium*(GU2 株)が、vanA 遺伝子を保有していることが判明した。その他の4株(GP1, 2, 3 株, GU1 株)については再検査の結果、同定検査は誤っていなかったが、感受性検査では、4株全てが感受性となり、vanA, vanB, vanC1, vanC2 遺伝子を保有していないことが確認された。

第 64 回雑誌会

(Sep 19, 2008)

(1) Foam fractionation efficiency in particulate matter and heterotrophic bacteria removal from a recirculating seabass (*Dicentrarchus labrax*) system

Brambilla, F., Antonini, M., Ceccuzzi, P., Terova, D. and Saroglia, M.

Aquaculture Engineering, 39, 37-42 (2008).

Reviewed by Y. Sagisu

閉鎖循環式養殖システムにおける循環水は、養殖対象魚を健康に成長させるために良好な水質を維持しなければならない。閉鎖循環式養殖システム中での粒状物質（糞、残餌、寄生虫、細菌フロック）の存在や蓄積は、水質低下の原因となり養殖対象魚へのストレスを増加させる要因となる。さらに、従属栄養細菌が粒状物質を分解することによって魚への毒性が強いアンモニアが生成される。したがって、閉鎖循環式養殖システムでの粒状物質および従属栄養細菌の管理は、水質維持のために重要とされている。泡沫分離法は、浮遊物質や細菌を除去するための水処理技術であり、閉鎖循環式養殖システムへ容易に適用することが可能である。そこで本研究では、閉鎖循環式のシーバス (*Dicentrarchus labrax*) 養殖システムにおける粒状物質および従属栄養細菌に対する泡沫分離法の除去効果について研究を行った。

本システムは、10 個の飼育水槽、泡沫分離システム (SKIM[®])、バイオフィルター装置および紫外線消毒装置で構成されている。泡沫分離装置の性能は、3 つの異なる稼働時間 (on/off: 5 分/15 分, 15 分/15 分, 30 分/30 分で各 90 分間) で処理された飼育水をそれぞれ採水し、異なる孔径のフィルター (60 μm , 8 μm , 1.2 μm , 0.22 μm) で濾過したそれぞれのサンプルを用いて、粒状物質濃度および従属栄養細菌濃度の測定を行って比較検討した。泡沫分離システムは、粒状物質および従属栄養細菌を除去し、本システム中の粒状物質の蓄積を低下させた。粒状物質の除去率は、粒径が >60 μm と 1.2-0.22 μm のとき、それぞれ 96.8% と 100% と高い除去率を示し、粒状物質の除去には、粒子の大きさが影響することがわかった。しかしながら、この二つの大きさの粒状物質が全粒状物質中に占める割合 (>60 μm は 7.14 \pm 2.78%, 1.2-0.22 μm は 18.27 \pm 2.50%) は、低い割合であった。従属栄養細菌に関しては、処理時間や粒状物質の大きさの違いによる泡沫分離プロセスの除去との関連性は見られず、従属栄養細菌の除去率は、32-88% の範囲であった。

(2) Coastal Strategies to Predict Escherichia coli Concentrations for Beaches along a 35 km Stretch of Southern Lake Michigan

Nevers, M. B., Whitman, R. L.

Environmental Science & Technology, 42, 4454-4460(2008).

Reviewed by : H. Kawabata

レクリエーションビーチの水質モニタリング精度や能率を改良することが可能な方法として、経験的モデリングという方法が挙げられる。これまで、この方法を用いた研究は、1つのビーチを対象に実施されることが多かった。しかしながら、現在ではこの方法が発展し、特定汚染源やこの影響を受けるビーチを含む多数のビーチを対象に実施できるようになった。そこで本研究では、広範囲における環境因子が大腸菌濃度に与える影響を理解するため、ミシガン湖の5つの排水路を含む35kmにわたる海岸線上にある12のビーチの大腸菌数を調査した。このとき、同時に水文気象条件（気温、湿度、露点、日射、降雨、気圧、波高、濁度など）や土地条件（水温、風速、波高など）、水化学（濁度、特異的伝導性、色度など）も記録した。

これまで、排水路などの特定汚染源との距離が糞便性指標細菌 FIB による負荷と関係すると考えられてきた。しかしながら、今回の測定では、大腸菌濃度と排水路からの距離との間に有意な相関は見られなかった。一方で、波高や風向、入り江の濁度と大腸菌数に相関関係が見られた。このように、調査規模を拡大することによって、大腸菌濃度や作用因子を特徴づけることができる。また、得られた結果から経験的モデリングとして次の式が導かれた。

$$\text{Log}E.coli = \text{湖の波高の}Z\text{値} + (\text{Burns水路と}k\text{int zele水路の平均の}Z\text{値} \times \text{風向}) + \text{error}$$

(陸上の風: 315-360°, 0.44°=1.0, 海岸沿いの風: 45°-134°, 225°-314°=0.5, 沖合の風: 135-224°=0)
近似式による幾何の精度評価の指標として使われる RMSE (2乗平均平方根誤差) は有意な値 (0.42) となった。

第 65 回雑誌会

(Sep 29, 2008)

(1) Impact of urban stormwater runoff on estuarine environmental quality

Jeng, H. A. C., Engle, A. J., Baker, R. M. and Bradford, H. B.

Estuarine, Coastal and Shelf Science, 63, pp.513-526 (2005)

Reviewed by T. Suzuki

都市雨水の流出は、水域の水質悪化を引き起こす要因となる。アメリカのルイジアナ州ニューオーリンズ市にあるポンチャトレーン湖では、都市雨水の流入後糞便性細菌が高濃度で発生することにより、ビーチなどのレクリエーションエリアの利用を禁止する。そこで本研究では、都市雨水の排出によるポンチャトレーン湖の細菌汚染の実態調査を行った。指標細菌としては、糞便性大腸菌 (*Fecal coliform*)、大腸菌 (*Escherichia coli*)、および腸球菌 (*enterococci*) を対象とした。サンプリングポイントは、ポンチャトレーン湖の Jahncke 排水路 (都市雨水排水路) と、その東 2.4km~3.2km に位置するリンカーンビーチ周辺とし、日照りまたは雨天後における水 (13 地点) と砂 (3 地点) をサンプリングし、水質および細菌濃度の変化を比較・検討した。

日照りの時期のリンカーンビーチは、指標細菌は基準濃度以下で検出され、レクリエーションエリアの利用としては十分な水質であった。しかしながら、雨天後においては水と砂の指標細菌濃度は増加していた。水のサンプルを 5 時間静置させ、水と沈殿物質の細菌濃度をそれぞれ測定した結果、沈殿した懸濁粒子に細菌が付着 (9.8~27.5%の糞便性大腸菌, 21.8~30.4%の大腸菌, 8.4~11.5%の腸球菌) していることがわかった。付着した細菌は、懸濁粒子の沈殿作用により水中から容易に除去することが可能であるが、全指標細菌の 75~80%が水中に残存していたことから、死滅する前に Jahncke 水路河口からリンカーンビーチまで移動していたことがわかった。さらに、沈殿した懸濁物は細菌の貯留物として働くため、細菌が水中へ再懸濁する可能性も示唆された。したがって、レクリエーションエリアとして利用可能な安全性を得るためには、水と同様に、砂中の細菌のモニタリングを実施することが必要である。

(2) カキのノロウイルス汚染経路に関する検討

斉藤 幸一, 佐藤 直人, 高橋 朱実, 堤 玲子, 佐藤 成大
感染症学会誌, 80(4), pp.399-4041 (2006).

レビュー: 石川 貴之

ノロウイルス(Norovirus:NV)は、乳幼児から成人に至る全年齢層に急性胃腸炎を起こす病原体である。NVの感染は主に糞口感染で、食品を介する場合は食中毒として取り扱われる。NVによる食中毒では、生カキを推定原因食品とする事例が多く発生しており、カキのNV汚染対策が公衆衛生上の課題となっている。そこで本研究では、カキがNVに汚染される経路について検討することを目的として、カキ養殖が行われている岩手県沿岸中部のY湾を対象地域として、2001年10月~2004年3月までの30ヶ月間、下水処理施設の下水、河川水、海水、カキ及び胃腸炎小児の糞便からPCR法によりNVを検出し、その塩基配列の比較を行った。

PCR法による検出の結果、調査期間中に総計208株のNVが検出された。NVは下水処理施設への流入水からほぼ年間を通して検出され、他の検査材料からは主に流行シーズン(11月~3月)に検出された。下水処理施設においては、完全に除去されなかった放流水中のNVが河川水、海水、カキからも検出されることが塩基配列の解析から証明された。遺伝子解析の結果では、検出されたNVは遺伝子的に多様で、検出数の多かった下水、河川水、カキには優勢株が認められた。優勢株は検査材料間に共通するものが多く、2002/03流行シーズンにおいては、環境水及びカキの優勢株と胃腸炎小児の糞便の優勢株は遺伝子的に同一の株であった。一方、検出された株にはシーズンによりその種類に入れ替わりがみられた。以上のことから、胃腸炎小児から検出されたNVと環境水及びカキから検出されたNVとの間に明瞭な関連性が認められ、ヒトから排泄された糞便中のNVが下水処理施設や河川を経て海に到達し、カキがNVに汚染されることが確認された。

(3) Population similarity analysis of indicator bacteria for source prediction of faecal pollution in a coastal lake

Ahmed, W., Hargreaves, M., Goonetilleke, A. and Katouli, M.

Marine Pollution Bulletin 56, 1469-1475 (2008)

Reviewed by T. Furukawa

現在のふん便指標細菌の汚染源追跡手法 (MST 法) は Database-Dependent (DD 法) と Database-Independent (DI 法) の二つに大別される。DD 法は、抗生物質抵抗性分析 (ARA), 生化学フィンガープリント法 (BF), および rep-PCR などがあり, DI 法は, 主に PCR 法に基づいて行われている。これらの方法はそれぞれ利点と欠点があり, 現在ではこれらの方法を 2 つあるいはそれ以上組み合わせて MST 法として用いることで, より信頼性の高い分析が可能になると考えられている。そこで本研究では, ARA 法と BF 法をそれぞれ単独, さらに両者を組み合わせた ARA-BF 法の三つの方法を用いて, オーストラリアの小規模な湖沼の腸球菌と大腸菌を対象に, MST 法としてのパフォーマンス能力について検討した。

調査対象の湖沼周辺には, ゴルフ場, ペット飼育場, および下水処理場があり, それぞれから水鳥, イヌ, およびヒト, さらに湖沼周辺からニワトリ由来の大腸菌と腸球菌を単離した。これらの菌について ARA, BF, および ARA-BF 試験を実施し, データベースを作成した。そして, 湖沼の 5 地点 (T1~T5) の表層水から単離した腸球菌と大腸菌について, ARA, BF, および ARA-BF 試験を実施し, 個体群相同性値 (Sp , 1.0 に近ければ二菌間の相同性が高い) から汚染源を予測した。BF 法に基づいたデータベースと湖沼表層水の試料を比較すると, いずれの地点においても水鳥との相同性が最も高かった ($Sp=0.46\pm 0.09$)。また, 下水処理場が隣接する T2 と T3 の試料はヒトとの相同性が高かった。一方で, ARA 法に基づいたデータベースとの比較では, すべての地点においてヒトとの相同性が最も高く (平均 $Sp=0.27\pm 0.07$), 次いで水鳥 (平均 $Sp=0.16\pm 0.07$) であった。ARA-BF 法では, それぞれ単独で用いた場合と比較して Sp 値が極端に小さかった。これは, 両者を組み合わせたことでより識別能力が高まったが, 今回の調査で用いた菌株数が十分でなかったためであると考えられる。したがって, 組み合わせ法を用いる場合は多くの菌株を分析する必要がある。

第 66 回雑誌会

(Oct 3, 2008)

(1) 環境基準未達成河川内にある停滞水域が河川水質に及ぼす影響

下田 美里, 須藤 和久, 小菅 香苗, 山口 貴史, 大谷 仁己

群馬県衛生環境研究所年報第 39 号, (2007).

レビュー: 川崎雄紀

群馬県の利根川水系は、県土の 99% の流域を形成している。この水系の BOD (生物化学的酸素要求量) を調べたところ、坂東大橋下流から値が高くなる傾向にあった。これは、都市部や南東地域の中小支川で環境基準の達成率が低いことに大きく関係していると推察される。環境基準未達成の地域が南東地域に集中していることから、この地域の水質改善が利根川本川の水質保全の上で重要と考えられる。本研究では、県内ワースト 1 位の鶴生田川の上流と下流の水質を調査すると同時に、城沼に繁殖するハスが水質にどのように影響するかも調査した。

鶴生田川流域にある城沼は、1 年を通じて内部生産が活発で、河川水が城沼を通過することによって、有機系の汚濁物質が生産され、年間総流入負荷量に対する流出負荷量の増加割合は、BOD では 1.65 倍、COD では 1.67 倍、TOC では 1.24 倍、SS では 2.11 倍、濃度を増加させていた。TN と TP は内部生産に利用されたり、脱窒、沈殿することで下流への影響はなかった。停滞水域を持った河川では、その流入水質、環境条件によっては、水質を大きく変え、下流の環境負荷を増大させる。河川内に調整池等停滞水域を整備するような場合、調整池を復断面化し、平常時は速やかに河川水を流下させ、洪水時のみ河川水が滞留するような構造とすることが考えられる。しかしながら、城沼の利用形態から、沼をすぐに復断面化することは難しいため、本流域汚濁負荷の 63% を占める生活系未処理水の対策さらには、下水道への接続率 88% を 100% に引き上げる等の河川流入水質の改善が必要である。

(2)三重県内の河川における大腸菌群の数種の培地による生育比較

岩崎誠二, 地主昭博, 松井孝悦

三重県環境科学センター研究報告, 19, (1999).

レビュウ: 田中昭彦

河川の汚染の指標として, Brilliant Green Lactose Bile (BGLB) 培地を用いて計測された大腸菌群が設定されている。しかしながら, BGLG 法では人畜由来による汚染を明確にできないという問題があった。そこで, 河川における汚染の実態を明確にするために, BGLG 培地を含む全 6 種の培地{BGLB 培地, Lactose Broth- Brilliant Green Lactose Bile (LB-BGLB)培地, 特定酵素基質培地 (MMO-ONPG), m-Faecal Coliform(m-FC)培地, Escherichia Coli(EC)培地, 特定酵素基質培地 (MMO-MUG)}にて生育試験を行ない, それぞれの培地を比較した。

本研究では常時監視地点である三重県内の 8 河川 10 地点で採取した河川水を用いて, デソキシコーレート寒天平板培地による混積培養で単離した 180 株の大腸菌群を使って生育試験を行なった。その結果, LB 培地, BGLG 培地, MMO 培地は陽性 (大腸菌と判断した株数) が 70~80%程度, m-FC 培地, EC 培地, MUG 培地は陽性が 10~20%程度であった。そのうち, EC 培地と MUG 培地は陽性と陰性の違いが少なかった。EC 培地と MUG 培地は SN 比 (大きいほどエラー[陽性と陰性の違い]が少ない) の計算でも最も高い計算結果であり, EC 培地と MUG 培地は検出される大腸菌が類似していた。また, 180 株の大腸菌群をコロニーが 1~2mm 以上の大型のもの Large(L)とコロニーが 1mm 以下のもの Small(S)とコロニーが広く色が薄いもの Faint(F)の 3 種に分別した。LB 培地, BGLG 培地, MMO 培地と m-FC 培地のコロニーを比較すると L, S, F で育成状況の比率に違いが見られ, EC, MUG では S の大部分が陰性であった。このことから, 培地の種類とコロニーの形状で大腸菌群の内容をある程度推定できることが示唆された。

第 67 回雑誌会

(October 10, 2008)

(1) Use of salinity mixing models to estimate the contribution of creek water fecal indicator bacteria to an estuarine environment: Newport Bay, California

McLaughlin, K., Ahn, J., Litton, R. and Grant, S.

Water Research, 41, 3595-3604(2007).

Reviewed by H. Takahashi

リクリエーション水域の Fecal Indicator Bacteria(FIB: ふん便性指標細菌)は、人間の健康リスクを脅かし、さらにはビーチの閉鎖によって経済へも多大な損失を与える。これらの原因から現在では、ふん便性指標細菌汚染源特定が注目されており、生態系の管理および修復に重要なものとなっている。細菌汚染源追跡手法は分子的特徴付けによって汚染源特定が可能であり、ふん便汚染の改善計画に貢献している。本研究では、Newport Bay における河口環境への FIB の淡水影響評価を実施した。また、塩分-淡水割合の関数(横軸: 塩分値, 縦軸: 淡水の割合)において、小河川の End-Member の座標{小河川 End-Member=(小河川の 5 日間の平均塩分値, 淡水割合=1)}と海の End-Member の座標{海の End-Member=(海洋地点の塩分値, 淡水の割合=0)}の 2 つの点を直線で結び、検量線を作成した。検量線から淡水の割合(F)の式を求めた後、淡水割合から塩分混合モデル式を作成した。

Newport Bay の小河川の塩分値と FIB 濃度を 1 年間観測した結果、塩分値はほぼ一定の変動であり、FIB 濃度は年間を通して高い変動を示した。得られた小河川および海の塩分 End-Member 値から検量線を作成した。この検量線から、各採取場所の塩分値から湾内の淡水割合(F)を導出し、塩分混合モデルを作成した。

$$FIB = F \times \text{Creek FIB End-Member 値} \cdots (1)$$

FIB: 湾内の予測される FIB 濃度

F: 湾内の淡水割合

Creek FIB End-Member: 3 つの小河川の平均 FIB 濃度

塩分混合モデルから算出された湾内の FIB 予測濃度と湾内の FIB 実測濃度を比較すると、相違が 1 オーダー内であった。さらに、塩分混合モデルの回帰分析では、説明率 R^2 値は低い値を示したが、有意水準 P-値は 0.05 以下の値(ほとんどの P-値が 0.0001)であったことから、塩分混合モデル式(1)は FIB 濃度を予測する式で有意であることが示唆された。

(2)メンブレンフィルターを利用した増菌 PCR 法による農業環境からのイネもみ枯細菌病菌の検出

小原 達治, 澤田 宏之, 畔上 耕次

日本植物病理学会報, 70, 115-122 (2003)

レビュー: 平松 暁紀

イネもみ枯細菌病の病原である *Burkholderia glumae* は、イネの根に対するもみ枯症の原因細菌であるとともに、育苗箱で育成されるイネ苗の腐敗症の原因細菌でもある。*B. glumae* は農業環境における巨視的な分布・挙動については不明な点が多く、生態学的研究に適した高精度で効率的な検出法が求められている。そこで本研究では、農業環境における本細菌の分布および挙動を調査するための手法として、メンブレンフィルターを用いた濾過法と、増菌後に PCR を行う enrichment PCR とを組み合わせた方法 (MF 増菌 PCR 法) について検討するとともに、本法を用いて水田地域における水圏環境および雑草からの *B. glumae* の高感度検出を試みた。

B. glumae の増菌を行うときの増菌培養条件を検討した結果、増菌培養に CCNT 液体培地 5 倍液を用い、培養温度を 39℃とし、25~30 時間を培養時間の基準とした。MF 増菌 PCR 法の増菌時間は、試験結果より 25~30 時間が適当であると考えられ、この条件下における人工汚染農業用水からの検出限界濃度は 10^0 cfu/L であった。MF 増菌 PCR 法を用いて、水田地域ならびに水田地帯における田面水、農業用水、農業排水、河川水、湖沼水等 *B. glumae* の 123 試料中の 39 試料から *B. glumae* の特異的な増幅産物が検出された。また、*B. glumae* が検出されもみ枯症の発生が認められた水田の周辺に自生する植物 34 株について、MF 増菌 PCR 法を応用して *B. glumae* の検出を試みた。*Monochoria vaginalis var. plantaginea* (ミズアオイ科コナギ) のみから、*B. glumae* の特異的な増幅産物が検出された。*B. glumae* の農業環境における分布・挙動を調査する目的で用いた本研究の手法は、定性的な検出法である。今後、さらに詳細に調査するためには、定量的検出法の開発が必要である。

(3) Concentration of Enteroviruses, Adenoviruses, and Noroviruses from Drinking Water by Use of Glass Wool Filters

Lambertini, E., Spencer, S. K., Bertz, P. D., Loge, F. J., Kieke, B. A. and Borchardt, M. A. Applied And Environmental Microbiology, 74, 2990-2996(2008).

Reviewed by S.Narimatsu

水系ウイルスの濃縮ろ過法は、大量のサンプルの場合に高コストとなり、かつ長時間必要となる。さらに、濃縮法の種類も多様に存在し、手順も複雑である。濃縮法の一つであるガラスウールフィルターを用いた方法は、低コストかつ簡単な操作でウイルスを回収できることが知られている。しかし、ガラスウールフィルターを利用したウイルスの回収法、および回収率についての知見は少ない。そこで本研究では、米国環境保護庁の汚染対象リストに記載されている4つのウイルス種（エンテロウイルス科コクサッキーウイルス B 群5型、エンテロウイルス科エコーウイルス 18群、カリシウイルス科ノロウイルス (GI型, GII型)、アデノウイルス科 41型) とエンテロウイルス科ポリオウイルス 3型の合計5種類を対象として、ガラスウールフィルターを用いた濃縮法の回収率および回収速度について実験的考察を行った。また、高ろ過速度による大量の水道水サンプルのろ過実験を行い、エンテロウイルス（コクサッキーウイルス種、エコーウイルス種、エンテロウイルス種等の総称）とアデノウイルスの回収率の検討を行った。

対象サンプルは、アメリカ合衆国ウィスコンシン州の水道水および2か所から採水した地下水 (Well 1, Well 2) の合計3種類とした。各種サンプル水にウイルスを植種して回収率を測定した。ウイルス濃度の測定は qRT-PCR (quantitative reverse transcription-PCR) 法で測定した。ガラスウールフィルターを用いた平均回収率は、ポリオウイルスで70%、コクサッキーウイルスで14%、エコーウイルスで19%、アデノウイルスで21%、ノロウイルスで29%であった。また水道水中のポリオウイルスは平均回収率が最も高く (98%)、Well 2におけるアデノウイルスは最も低い回収率 (8%) を示した。回収における最適 pH は 6.5 であった。さらに、長期間におよぶ水道水の連続ろ過実験において、ポリオウイルスの回収率を測定した結果、16日後、および30日後においても、十分にポリオウイルスが検出された。ガラスウールフィルターを用いて、高ろ過速度 (4L/min) による大量の地下水 (Well 2) サンプル (1000L) のろ過を行い、エンテロウイルスおよびアデノウイルスの検出を行った結果、2種類とも存在の確認が可能であった。以上のことから、ガラスウールフィルターは、大量の水道水サンプルのウイルスろ過回収法に適しているということがわかった。

第 68 回雑誌会

(Oct 20, 2008)

(1) バイオリクターによる冷水病菌 *Flavobacterium psychrophilum* の生物防除 (バイオコントロール)

伊藤 敬, 前田昌調

海の研究 16, pp305-312(2007).

レビュー: 福村 剛史

生物防除(生物防除法, バイオコントロール, Biological control, Biocontrol) は自然界に進行している生物間の競争の中で, 主として拮抗作用を利用した方法で, 天敵生物を増殖させることによって病原生物の防除を行う目的で開発された。しかしながら, 生物防除法を用いた養殖魚の飼育では, 有用細菌の培養と供給とを恒常的に行う際には, 労力とコスト負担がしばしば問題となる。本研究では, 安価で簡便な生物防除法の実用化を目的として, 付着担体(基盤)と病原菌 *Flavobacterium psychrophilum* に対して拮抗作用を保持する有用細菌 LMC9 株からなるバイオリクターを作製し, *F. psychrophilum* に対する増殖抑制効果を追求した。

本研究において, 拮抗細菌 LMC9 株は付着基盤上においても冷水病菌に対する阻害生活を維持していることが明らかとなった。また, 付着担体(基盤)ゼオライトと拮抗細菌 LMC9 株とで作製したバイオリクターによって, *F. psychrophilum* の増殖能を 2 週間以上抑制することができた。しかしながら, カラムからの流出液を PCR 法によって調べたところ, 流出液中から *F. psychrophilum* が検出された。これは, 流入した *F. psychrophilum* は, バイオリクター内に留まらず, バイオリクター外に排出されてはいるが, その増殖活性は平板培地で増殖できない程度に低下していることを示唆している。また, バイオリクターに滅菌蒸留水を流入した場合と滅菌河川水を流入した場合とを比較すると, 後者のほうが長時間バイオリクター中の LMC9 株の増殖を維持することができた。これは, 滅菌河川水内に LMC9 株の増殖に必要な少量の栄養源(蛋白質や糖類など)があり, この栄養源によって LMC9 株が増殖したことを示唆している。このようなバイオリクターによって養殖水の疾病防除効果が期待でき, 有用細菌の培養および供給の労力とコストを大幅に軽減できる。また, 天然河川における冷水病への対策としての実用化も期待できる。

(2) Bacteriological indicators of anthropogenic impact prior to and during the recovery of water quality in an extremely polluted estuary, Golden Horn, Turkey

Yilmaz, A. A., Okus, E., Ovez, S.

Marine Pollution Bulletin, 42, 951-958(2004).

Reviewed by : H. Kawabata

トルコにあるゴールデンホーンという入り江は、数世紀にわたり人気のあるレクリエーションエリアであるが、1950年代前半からの定住者や工業施設の増加に伴い、その排水などの影響を受け汚染されてきた。そこで、この入り江内部の水質改善計画が考案され、改修工事が行われた。最初に、入江内部の無酸素堆積物の除去が実施された。その後、2000年5月には近くのダムから入り江に淡水が流し込まれ、入り江内部にある浮橋が開放されるなど、水循環が改善された。本研究では、この水質改善期間の前後（1998年～2002年）における糞便性大腸菌（FC）数や糞便連鎖球菌（FS）数の変動、同時にこれらに関係する物理的要因（温度、塩分）、化学的要因（pH、溶存酸素、オルトリン酸塩）に注目し、それぞれの関連性を調査した。

表層水のFC濃度は強い減少傾向を示し、モニタリング開始時の最大 1.1×10^6 CFU/100mlから、2002年の夏には 5×10^3 CFU/100ml以下にまで減少した。FS濃度もFC濃度と同様の傾向を示し、 5×10^3 CFU/100ml以下にまで減少し、短期間で有意な水質改善が達成された。しかし、雨期にはFC数が増加する傾向が見られた。また、表層水のFC数は、塩分（相関係数 $R=-0.49 \sim -0.35$ ）と溶存酸素（ $R=-0.65 \sim -0.45$ ）と負の相関関係、pHとは反比例、リン酸塩とは正の相関関係（ $R=-0.50 \sim -0.70$ ）が見られ、温度とは有意な関係は見られなかった。これらの結果から、雨水が河川からの流入し、入り江内部の水が希釈され、塩分濃度が減少することによって糞便性細菌が増加したと考えられる。水質改善のためには表層水の良好な水循環が重要であることが示唆された。

(4)The effects of dissolved oxygen concentration and stocking density on growth and non-specific immunity factors in Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*

Li, Y., Li, J. and Wang, Q.

Aquaculture, 256, 608-616 (2006).

Reviewed by Y.Sagisu

中国でのエビ養殖は、市場価格の上昇や食料の安定供給の観点から拡大してきた。また、エアレーターやポンプ性能の向上により、これまでの粗放的システムから集約的、超集約的システムの導入が可能になった。集約的、超集約的システムのようなシステムでのエビの生産は、主に飼育密度と溶存酸素(DO)濃度に制限されている。その一方で、過去数十年間の中国のエビ養殖は、養殖池の飼育環境の悪化が原因とされる病気の発生に悩まされてきた。そのため、エビの免疫増進に対する関心が高まっている。本研究では、*Fenneropenaeus chinensis* (大正えび) を対象として、エビの成育と非特異的免疫因子に対する DO 濃度と飼育密度の影響について比較・検討した。DO 濃度 (LDO:4~6mg/L, MDO:6~10mg/L, HDO:10~18mg/L) と飼育密度 (LSD:20 尾/m², MSD:200 尾/m², HSD: 600 尾/m²) は、それぞれ異なる 3 つの濃度と密度の条件において、計 9 通りの実験を行った。エビの成育指標は、エビの成長 (体重増加量, 体長増加量), 生存率, 脱皮率, 酸素消費量, 摂餌量, および飼料変換効率(FCE)を対象とした。非特異的免疫因子は、フェノールオキシダーゼ(PO), スーパーオキシドジスムターゼ(SOD), ペルオキシダーゼ(POD), 抗菌活性(Ua), 溶血素活性, およびリゾチーム(UI)を対象とした。

エビの成長, 生存率, 脱皮率, 摂餌量, および FCE に対する, DO 濃度の違いによる有意差は見られなかった。SOD, Ua, UI, および溶血素は, 飼育水中の DO 濃度の低いときに活性化した。POD は, 飼育水中の DO 濃度の高いときに活性化した。酸素消費量は, 中 DO 濃度(MDO)および低 DO 濃度(LDO)と比較して高 DO 濃度(HDO)で高い値を示した。エビの成長, 生存率, FCE と溶血素活性は, 飼育密度の増加に伴い減少した。摂餌量と PO 活性は, 中密度(MSD)および低密度(LSD)における飼育条件と比較して, 高密度(HSD)の飼育条件では高い値を示した。これらの結果から, エビ養殖における DO 濃度と飼育密度の影響は, 生産量において重要な役割を持っていることが示唆された。

(3) Characterization of water quality factors during intensive raceway production of juvenile *Litopenaeus vannamei* using limited discharge and biosecure management tools

Cohen, J. M., Samocha, T. M., Fox, J. M., Gandy, R. L. and Lawrence, A. L.

Aquacultural Engineering, 32, pp.425-442 (2005)

Reviewed by T. Suzuki

近年のエビ養殖業は、市場における高い需要や天然資源の枯渇によって急速に発展してきている。この発展をよそに、ウイルス性の疾病の蔓延による養殖業経済への被害が頻発している状況にある。したがって、市場向けのエビのウイルスによる感染を低減するために、適切かつ有益な感染防止対策が必要となっている。現行の集約的エビ養殖場では、毎日飼育水を大量に交換することから、換水による水由来のウイルス感染が最も危惧されており、さらには飼育水の流出による環境負荷が問題となっている。そこで本研究では、少量の換水（塩素消毒済みの海水を使用）による養殖水路内での幼生エビの養殖試験を行い、飼育期間中における様々な水質要因（溶存酸素、pH、塩分濃度、水温、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、TP、COD、 cBOD_5 、TSS、VSS）の時間的変化を調査した。また、バイオセキュリティ管理として、二週間に一度ランダム抽出した個体 25 尾においてウイルス検査を行なった。さらにその結果を用いて、市場向けのエビの生産のためには、本研究のシステムを今後どのようにして管理する必要があるかを検討した。試験の対象個体として *Litopenaeus vannamei* を用いた。

50 日間の飼育を行なった結果、エビの生存率はほぼ 100%を示し、さらに飼育期間中にエビからウイルスが検出されることはなかった。 $\text{NH}_4\text{-N}$ については、植物プランクトンや硝化菌の同化・硝化の働きによって変動（0.001~2.030mg/L）し、 $\text{NO}_2\text{-N}$ または $\text{NO}_3\text{-N}$ については、試験後半に生じた硝化反応によって、指数的に増加した。TSS や VSS、あるいは cBOD_5 （炭素系有機物の分解による BOD）については、システム外部に取り付けた加圧砂ろ過装置を用いて飼育水をろ過することで適度に除去・抑制できた。本試験のシステムを用いて、市場用の飼料の給餌とバイオセキュリティ管理の条件下において少量の換水による養殖を行なったところ、ウイルスフリーの幼生エビを大量に生産することができた。また、植物プランクトンによる水中の溶存態窒素の同化が重要であるため、同化作用を阻害する過度な C/N 比（炭素率）は、加圧砂ろ過や泡沫分離による有機物の除去、あるいは飼料の窒素含有量の削減によって管理できると考えられる。

第69回雑誌会

(Nov 6, 2008)

(1) 2004年における世界遺産熊野古道伊勢路を主とした河川、湧水の水質
浅岡 聡, 畑野 祥久, 青野 求
日本土壤肥料学雑誌, 79, 27~36 (2008) .

レビュー：川崎雄紀

熊野古道は、紀伊半島南端に位置する紀伊山地の霊場である熊野三山への参詣道である。近年、世界遺産に登録された場所で、来訪者は年々増加傾向にある。それにより、し尿や生活排水の流入負荷の増大やごみ問題が顕在化すると予想されている。熊野古道の普遍的価値の保護、保全およびそれらを管理し文化的景観や自然環境を将来に継承するためには、観光客の増加や地域振興策としての開発の手が及ぶ以前の水環境の初期値、すなわちバックグラウンドデータが必要である。しかしながら、この地域の熊野古道沿線においては矢の川から尾呂志川の間は、公共用水域水質測定地点は全く存在しない。本研究では、熊野古道の水環境のバックグラウンドデータを収集することを目的とし、世界遺産登録初年度の来訪者数が比較的少ない時期に、主として伊勢路において公共用水域水質測定地点に指定されていない地域を対象として水質調査を行った。

伊勢路の pH, 栄養塩類の濃度 (一部を除く), 主要イオンの濃度 Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-} は、日本の渓流水の年平均値と比較して高い値はなかった。溶存酸素 (DO) は、一部を除き飽和状態であった。重金属類は期間を通じて、全ての採水地点において、検出限界を下回った。これらの結果から総合的に見ると、伊勢路周辺の水質は良好といえる。しかしながら、今回の調査は伊勢路周辺に集中していることから、熊野古道全域の水環境を把握するには不十分である。今後は、まだ調査されていない地域においても調査が必要となる。

(2) 水道中の従属栄養細菌の同定における DNA 塩基配列解析法と表現性状試験との比較

猪俣 明子, 千葉 隆志, 保坂 三継

水環境学会誌, 31(10), pp.609-614 (2008).

レビュー: 石川 貴之

平成 20 年 4 月から, 従属栄養細菌が厚生労働省の水質管理目標設定項目に追加された。従属栄養細菌の中には日和見感染菌が含まれることが示唆されており, 諸外国では数多くの調査が行われ, 病原性状を示す細菌の分離が報告されている。しかしながら, わが国では水道水中の従属栄養細菌の病原性及び菌種の同定に関する調査は極めて少ない。そこで本研究では, 浄水場浄水および給水栓水から分離した従属栄養細菌について, 病原因子の指標として 37°C での生育能及び溶血性を調査した。また, 溶血性を示した菌の簡便な同定法として, MicroSeq 500 16S rDNA Bacterial Identification PCR Kit (Applied Biosystems) を用いた 16S rDNA 塩基配列解析法と細菌の生化学的性質から細菌の種類を決定する表現性状試験とを比較した。さらに, 同定された菌のヒトへの健康影響について考察した。

都内小規模浄水場の浄水 28 検体, 給水栓水 9 検体を採取し, 調査を行った。従属栄養細菌は 34 検体から検出された。従属栄養細菌の病原因子の指標として, 37°C での生育能および溶血性の保有状況を調査した結果, 調査した 120 株中 91 株が 37°C で増殖可能であり, このうちの 39 株に溶血性が見られた。溶血性を持つ従属栄養細菌 11 株を 16S rDNA 塩基配列解析法と表現性状試験により同定した。両検査法の結果が一致したのは 1 株のみであった。表現性状試験で同定された菌種名で登録されている 16S rDNA 塩基配列を, 分離された菌株の塩基配列と比較した結果, 両者の塩基配列は異なっていたことから, 表現性状試験による従属栄養細菌の同定は困難であり, 塩基配列解析法による同定が有効であることが示された。16S rDNA 塩基配列解析法により同定された 11 株は, いずれも食中毒原因菌あるいは日和見感染菌であった。従属栄養細菌の中にこのような日和見感染菌等が存在することを前提として, 水道水の水質管理を実施していく必要があると考えられる。

第70回雑誌会
(November 10, 2008)

(3)春期の溪流における安定同位体を用いた食物網解析

阿部 俊夫, 布川 雅典

日林誌, 87, 13-19 (2005).

レビュー: 金丸 祐加

河川生態系では、藻類のような現地性有機物のほか、陸上から供給される落葉リターなどの外来性有機物も、食物連鎖の起源物質になると考えられるため、河川に対するリター供給は、森林に期待される重要な機能の一つである。河川連続体仮説によると、河川生態系のエネルギー源として、中流域の開けた河川では藻類生産が重要であるのに対し、上流域の溪流ではリターが重要と考えられている。近年、我が国では、森林が河川生態系に与える影響に期待が高まっており、河川生態系に対する森林の機能に関する情報は、森林・河川の管理方針を構築する上で不可欠と考えられる。本研究では、茨城県北部のブナ・コナラなどの落葉広葉樹からなる自然林を流れる小渓流において、炭素・窒素安定同位体を用いた食物網の解析を行い、森林からのリター供給の重要性について検討した。

動物の体を構成する炭素、窒素の同位体比は、基本的にエサの同位体比に支配されるが、軽い同位体が排泄物として体外に放出されやすいため、食物連鎖に沿った重い同位体の濃縮がおこる。したがって、 $\delta^{13}\text{C}$ - $\delta^{15}\text{N}$ グラフを描くと、栄養段階1の生物を始点として、その食物連鎖に関係する生物が右上がりに連なる。食物連鎖の起源となりうる物質として、付着藻類、溪流内の草本、CPOM (粒径 8mm 以上の有機物)・FPOM (粒径 1mm 以下の粒状有機物) の調査を行った。また、上位の栄養段階の生物として、底生動物や魚類の解析も行った。CPOM は、溪床の付着藻類よりも $\delta^{13}\text{C}$ が低い結果となった。FPOM は、CPOM に極めて近い同位体比を示したことから、大部分はリターが細かく分解した有機物と考えられた。 $\delta^{13}\text{C}$ - $\delta^{15}\text{N}$ グラフを描くと、底生動物の多くの分類群とイワナはCPOM やFPOM を起点として右上がりに連なっており、炭素・窒素源をCPOM やFPOM に依存していると考えられた。藻類の近くにプロットされたのは、一部の底生動物のみであった。これらのことから、調査した溪流の食物網は、藻類による現地性有機物生産よりも、森林からの外来性有機物供給に強く依存していると考えられた。溪畔域の落葉広葉樹林は、溪流や河川生態系への資源供給源として極めて重要であり、可能なかぎり保全すべき存在といえる。

第 70 回雑誌会
(November 10, 2008)

(1) Quantification of enterococci and bifidobacteria in Georgia estuaries using conventional and molecular methods

Morrison, C. R., Bachoon, D. S. and Gates, K.W.
Water Research 42, 4001-4009 (2008)

Reviewed by T. Furukawa

今日の沿岸環境におけるふん便性細菌による汚染が深刻であり、アメリカの Georgia 沿岸域では多くのビーチが閉鎖されている。したがって、沿岸環境におけるふん便性細菌のモニタリングや汚染源追跡に関して研究が進められている。現在、ふん便性指標細菌として腸球菌が主に用いられているが、腸球菌は浜砂やプランクトン様有機物からも検出されることが報告されており、指標細菌としての有効性が疑問視されている。そこで、ヒトや動物の腸管内に存在し、沿岸環境において非増殖性と高生残性を示すことがわかっているビフィズス菌の代替菌としての可能性に注目している。しかしながら、ビフィズス菌は偏成嫌気性菌であることから培養条件の設定が困難であり、培養に適切な培地も不足している。本研究では、Georgia 沿岸域の 8 地点において quantitative PCR (qPCR) を用いて腸球菌とビフィズス菌を定量した。また、腸球菌については従来法である培地による定量法 (CFU) も同時に実施し、qPCR 法と比較して定量性を評価した。

腸球菌の CFU と qPCR による定量は極めて高い相関を示し ($r=0.925$)、それぞれ 3~449 CFU/100mL と 4.58~5.39 Log₁₀ gene copy/100mL であった。ビフィズス菌は、qPCR によって 3.62~4.14 Log₁₀ gene copy/100mL の範囲で検出され、腸球菌の qPCR の結果との間に $r=0.46$ の相関係数を示した。また、ヒト特有のビフィズス菌とされている *Bifidobacteria adolescentis* を qPCR を用いて定量した結果、8 地点中 5 地点において検出された。また、*B. adolescentis* と腸球菌、ビフィズス菌との相関係数はそれぞれ 0.796, 0.678 と高い値を示した。以上の結果から、qPCR を用いたビフィズス菌の定量、さらには *B. adolescentis* の定量によってヒト由来のふん便性細菌による汚染の迅速かつ正確なモニタリングが可能になることが示唆された。

(2)東京湾 2 定点における栄養塩類濃度の経年変動

神田 稯太, チョム タイソン, 堀本 奈穂, 山口 征矢, 石丸 隆
水環境学会誌, 31, 559-564(2008).

レビュー: 田中昭彦

東京湾は、人口および産業活動が稠密な流入域を持つ閉鎖的内湾であり、人為的富栄養化の著しい進行が問題とされてきた。特に、高度経済成長期には流入域からの窒素・リンの負荷が著しく増加したが、現在では減少していると推定されている。そこで、本研究では東京湾 2 定点における約 16 年間毎月 1 回、5m 深度ごとの栄養塩類（硝酸態窒素、亜硝酸態窒素、アンモニア態窒素、リン酸態リン、ケイ酸態ケイ素）の観測データによる解析を行った。

鉛直分布と季節変化について解析した結果、溶存態無機窒素（硝酸態窒素、亜硝酸態窒素、アンモニア態窒素）は 2 定点間の濃度差が表層部ほど大きく、冬季において濃度が高い傾向が見られた。リン酸態リンは底層ほど春から秋にかけて高濃度を示し、表層では冬季に高濃度を示した。ケイ酸態ケイ素は 1 月から 3 月にかけて全層で濃度が低下し、4 月以降に上昇した。時系列変動について解析した結果、2 定点のうち湾奥側の定点においては、全層での窒素栄養塩類（硝酸態窒素、亜硝酸態窒素、アンモニア態窒素）、表層でのリン酸態リンおよびケイ酸態ケイ素の減少が有意であった。湾口側の定点においては、全層でのアンモニア態窒素および表層での硝酸態窒素以外の栄養塩類の減少が有意であった。2 定点の結果からは、東京湾中央部の表層において、ほとんどの栄養塩類の濃度が経年的に低下していることがわかった。また、栄養塩類濃度低下については、同時に測定したクロロフィル濃度が全層で有意に低下していることから、光合成の増加によるものとは考えにくく、東京湾自体への負荷量の減少したためと考えられる。

第 71 回雑誌会 (November 19, 2008)

(1)腸球菌と大腸菌を指標とした新たなモニタリング手法

小出 拓, 伊予 亨, 岩堀 恵祐

用水と廃水 49, pp43-49(2007).

レビュー: 福村 剛史

わが国における水環境の微生物学的規制は水質汚濁防止法による大腸菌群のみであり、諸外国と比較して親水エリアにおけるリスク管理が不十分であると考えられる。近年、特定酵素基質技術によって大腸菌や腸球菌を測定することが可能になり、わが国の水道水質基準は大腸菌群から大腸菌に移行されたが、環境基準の変更には至っていない。本研究では、諸外国の情勢を踏まえ、水環境におけるバイオモニタリングのあり方について考えるとともに、新たに腸球菌を加味した評価方法を提案する。

わが国では、水環境においてはふん便性大腸菌群とふん便性連鎖球菌を併せて測定することにより、双方の指標性の欠点を補い、ふん便による汚染をより正確に判断できるとされてきた。一方、WHO（世界保健機関）では、大腸菌群をふん便汚染の指標として使用することについて限界があるとしながらも、処理された水道水に検出されてはならず、飲料水の微生物学的リスク管理に依然として有効であるとされている。また、USEPA（米国環境保護庁）では、腸球菌が最も重要な指標生物とされており、次いで大腸菌となっている。さらに OECD（経済協力開発機構）においても、ふん便汚染指標の一つとして腸球菌や腸球菌を含むふん便性連鎖球菌を採用したバイオモニタリングが行われており、それ以外の国々においても腸球菌に焦点を当てた研究が進められている。

国民の健康を担保するうえで、単一指標のみをふん便汚染の指標とすることは非常に危険な考え方である。また、指標を闇雲に増やすことも経済的に多くの負担となる。大腸菌群は優れたふん便汚染指標ではあるが、現在の試験方法の不備や指標生物の案件からも最良とは言い難い。したがって、目標に応じた指標を組み合わせ、高い安全性を保つ必要がある。

(2) Water quality and health status of the Senegal River estuary

Troussellier, M., Got, P., Bouvy, M., Boup, M., Arfi, R., Lebihan, F., Monfort, P., Corbin, D., Bernard, C.

Marine Pollution Bulletin, 48, 852-862(2004).

Reviewed by H. Kawabata

沿岸河川は、沿岸地域の多くの居住者が排出する都市下水の影響を受けやすく、しばしば大量の栄養物や汚染物質を運ぶことがある。その結果として、多くの沿岸地域で富栄養化や、微生物による汚染が発生し、人間の健康被害も報告されてきている。特に、アフリカの沿岸地域では、居住者が増加しているにもかかわらず、河川や河口における調査が少なく、下水の処理も不十分である。そこで、2002年春にアフリカ北西部の沿岸で一番大きいセネガル川でのサンプリング調査を行った。河川沿いに12地点を横断しながら2回にわたって、物理的、化学的、微生物的変数を測定した。

調査エリア内には、2つの大きなダム（ジャマ・ダム、マナンタリ・ダム）があり、河川水の流れが悪くなっている。また、無機栄養素が他の沿岸地域のデータと比較して低い値を示したのに対して、植物プランクトン存在量 ($5.8 \times 10^4 \sim 1.8 \times 10^5$ cells ml⁻¹)、細菌数 ($2.7 \times 10^6 \sim 8.1 \times 10^7$ cells ml⁻¹)、および細胞の増殖量は、それぞれ高い値を示した。これらの結果から、河川水の長い滞留時間が微生物による無機栄養素の消費を助長しているという関係性が示唆される。しかしながら、糞便指標細菌（耐熱性大腸菌、糞便性連鎖球菌）数を計測したところ、ヨーロッパの海水浴場水質基準値と同等、もしくはそれ以下の値を示し、下水処理が不十分であるにもかかわらず、河川水の汚染レベルはそれほど高くなかった。一方で、糞便指標細菌は下流においても、上流と同レベルで検出された。そこで、太陽光と塩分の条件の変化に対する耐性について、2種類の大腸菌株（調査エリア内から検出された現地の株と、実験用の株）を用いて、追加実験を行った。両株とも共通して、海水中で太陽光に曝されるという条件下で検出数が激減した。また、海水中という同一の条件下でも、現地の株のほうが実験用の株よりも強い耐性を示した。したがって、この河口中の大腸菌の生存能力は強化されているということが確認された。

第 72 回雑誌会
(December 1, 2008)

(1) Growth inhibition of selected aquatic bacteria by tannic acid and related compounds

Chung, K. T., Zhao, G., Stevens, E. J., and Simco, B. I.

Journal of Aquatic Animal Health, 7, 46-49(1995).

Reviewed by T.Ishikawa

タンニンとは、木、葉、果物または多くの植物の根に存在する水溶性のポリフェノールであり、古くから、植物染料、生薬等として利用されてきた。近年、タンニンとそれに関連する化合物によるウイルスの不活化や微生物の成長抑制効果が報告されてきている。本研究では、水産養殖産業にとって重要な水生の細菌に対するタンニンの成長抑制効果について調査した。

タンニンに関連する化合物には、タンニン酸、プロピル没食子酸塩、メチル没食子酸塩および没食子酸の4つの薬品を用い、対象菌種には、魚病の主な原因菌である6菌種 (*Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *Edwardsiella ictaluri*, *Edwardsiella tarda*, *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli*) を用いた。薬品は脱イオン水中で溶解し、ディスク拡散法によって感受性を測定した。また、自然の池水中での抑制効果を調査するために、研究所近くの水産養殖池の水で薬品を希釈し、接種菌 (*P. fluorescens*, *E. coli*) の菌数を 10^3 - 10^4 CFU/mL (低菌数) と 10^7 - 10^8 CFU/mL (高菌数) に調整し、感受性を測定した。その結果、脱イオン水中のタンニン酸、プロピル没食子酸塩およびメチル没食子酸塩は、全ての菌の成長を抑制したが、没食子酸には、抑制効果はみられなかった。自然の池水においては、低菌数の場合には、プロピル没食子酸塩、メチル没食子酸塩および没食子酸は、*P. fluorescens* と *E. coli* の成長を抑制したが、タンニン酸においては、*E. coli* の成長抑制はみられなかった。高菌数の場合、*E. coli* に対して、没食子酸のみ池水中で重要な成長抑制を引き起こした。本調査によって、タンニン酸とその派生物が水産養殖池水の中の魚病原体の制御における重要な要因であることが示唆された。

(2)PCR による *Cryptosporidium parvum* の特異的検出法の開発と環境水への適応

保坂 三継, 高田 千恵子, 落合 由嗣

東京都健康安全研究センター研究年報 55, 259~264 (2004)

レビュー: 平松 暁紀

Cryptosporidium 属はほ乳類を宿主とする偏性細胞内寄生原虫であり, このオーシストは塩素に対する耐性が強く, 水道の塩素消毒では十分に不活化することが困難である。その中でも, *Cryptosporidium parvum* は小腸微絨毛に感染し, 人に激しい水様下痢を引き起こすため, *C. parvum* オーシストの存在を調査することは極めて重要である。本研究では, *C. parvum* の nested PCR に用いるプライマーを新たに設計し, このプライマーを用いた nested PCR による検出感度および種特異性について検討した。さらに, 河川水から懸濁物を濃縮回収した高濁度試料に *C. parvum* オーシストを添加して, 免疫磁気ビーズ法による回収操作を行い, 本検出方法の環境試料への適用性も検討した。

新たに設計したプライマーでの nested PCR は, 1 オーシストに相当する 5×10^{-13} g の DNA 量まで増幅産物が認められた。この結果は, 今回の PCR 法が *C. parvum* の最小存在単位である 1 オーシストに対応した検出感度を持つことを示している。また, 種特異性を検討した結果では, *C. parvum* に対して高い特異性を有した。さらに, 本 PCR 法は, 高濁度の河川水や水道原水から免疫磁気ビーズ法によって最低 50 個の *C. parvum* オーシストを回収できれば, 検出が可能であることが分かった。本 PCR 法では, 最終的に 50 μ L の DNA 抽出液を得た後, 1 反応系あたり 1 μ L の DNA 抽出液をテンプレートとして添加している。回収オーシストが 50 個の場合は, 1 反応系あたり 1 個のオーシストに相当する DNA 量を添加していることになる。すなわち, サンプルが高濁度であっても, 検出下限である 1 オーシストの検出感度を保っていることになる。今後は, 回収オーシストがさらに少量でも検出できる方法を検討するとともに, 今回開発した PCR 法を用いて水環境中に出現するオーシストの遺伝子型による分別, さらにオーシストの排出源推定のための情報を蓄積する必要がある。

第 73 回雑誌会

(Dec 8, 2008)

(1) Occurrence and Mass Flows of Fluorochemicals in the Glatt Valley Watershed, Switzerland

Huset, C.A., Chiaia, A.C., Barofsky, D.F., Jonkers, N., Kohler, H.E., Ort, C., Giger, W. and Field, J.A.

Environmental Science & Technology 42, 6369-6377 (2008).

Reviewed by Y.Sagisu

フッ素化合物は、大気や水域、堆積物、生物相など世界的に広く存在する難分解性の物質であり、ごみの埋め立て処分場から高濃度でしばしば検出される。また、下水処理場は、都市からの水域および陸域への汚染物質負荷を低減する重要な役割を果たしている。その一方で、従来の下水処理では、フッ素化合物を有効的に処理することは難しく、処理によりフッ素化合物前駆物質を減少させフッ素化合物を増加させると考えられている。そのため、下水処理場はフッ素化合物の負荷源として考えられている。これらのことから、下水処理が関係している水域のフッ素化合物負荷の現状を理解することが重要である。そこで本研究では、スイスの Glatt 川へ放流を行っている下水処理場の放流水および流入水 (7 地点) と河川水 (3 地点) について 1 週間サンプリングを行い、LC/MS/MS を用いて 11 種類のフッ素化合物を測定し、それぞれの結果を比較検討した。

下水処理場において、フッ素化合物の効果的な除去は見られなかった。下水処理場の放流水中では、フッ素化合物であるパーフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)が高濃度で検出された。続いて、パーフルオロヘキサンスルホン酸(PFHxS)とパーフルオロオクタン酸(PFOA)が高濃度で検出された。また、PFOS 中でも Duebendorf では、他の地点と比較して 2~20 倍の高い値をとった。河川中のフッ素化合物の質量流量を上流から下流にかけて比較すると、フッ素化合物は分解されることなく蓄積することがわかった。また、一人当たり一日のフッ素化合物の排出量は、下水処理場の放水量と居住者数より算出した。濃度の 1 番高かった PFOS に注目したところ、本研究では 57($\mu\text{g}/\text{day}/\text{person}$)、アメリカの報告では 42($\mu\text{g}/\text{day}/\text{person}$)であり、比較的等しい値をとった。他のフッ素化合物においても、これまでの報告と比較的等しい値をとった。今後は、下水処理場以外からの Glatt 川への流入水やフッ素化合物の前駆物質、生物分解の可能性について検討していく必要があると考える。

(2) Nitrate pollution of surface water induced by agricultural non-point pollution in the Pochay watershed, Chile

Ribbe, L., Delgado, P., Salgado, E. and Flugel, W. A.

Desalination, 226, 13-20(2008).

Reviewed by: Y.Kawasaki

ポコチャイ水系とは、チリのバルパライソ地方にあるアコンカグア川の水系である。近年、地表水や地下水が農業に含まれる硝酸性窒素によって汚染されている。この流域において、数年前から硝酸性窒素で汚染された水を飲用することによって発症すると考えられている、青色児症候群や下痢になる子供たちが増加している。そこで主水系の水質を調査し、汚染の程度について検討した。

ポコチャイ水系において、2003年12月～2006年6月にわたって、週2回の採水をおこなった。亜硝酸性窒素は $0.005\sim 0.055\text{mgL}^{-1}$ 、硝酸性窒素は $1.25\sim 10.07\text{mgL}^{-1}$ 、アンモニア性窒素は $0.002\sim 0.621\text{mgL}^{-1}$ 、全窒素は $1.65\sim 10.15\text{mgL}^{-1}$ の値を示した。調査期間において、硝酸性窒素が最も高い値を示した時期は、梅雨の時期であった。この値は、飲料水としては許容範囲内の値であった。河川の窒素負荷量は農業地域で使われる分を差し引くと、 $36.8\sim 67.7\text{kg ha}^{-1}\text{a}^{-1}$ となった。その中でも、比較的高い窒素負荷量を示したのは、溶解性の高い窒素肥料を使用している場所や、灌漑の水を多量に使用している場所であった。硝酸塩濃度や窒素負荷量は、地下水においてすでに高い濃度を示しており、仮に、このまま肥糧を使い続ければ、濃度や負荷量はさらに増加するとされる。今後は、調査地域を継続して調査し、窒素汚染の発生源を水文学や窒素循環から特定し、水系の環境改善をしていかなければならない。

(3) Quantification of in vitro and in vivo *cryptosporidium parvum* infection by using real-time PCR

Godiwala, N., Vandewalle, A., Ward, H., Brett, A., Leav, B.

Applied and Environmental Microbiology 72, 4484-4488(2006).

Reviewed by A.Hiramatsu

Cryptosporidium 種は人にさまざまな病気を引き起こす水系の寄生原生動物である。その中の *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*) の研究は思うように進んでいない。したがって、正確で客観的、かつ再現可能な定量化の方法が必要である。半定量的な PCR と定量的リアルタイム PCR (q-PCR) は糞便サンプルなどから *C. parvum* の発見に利用されている。そして近年、この手法が生体外感染実験に適用されている。そこで本研究は、生体内と生体外の *Cryptosporidium* 感染実験 (マウスとヒト由来の腸細胞を感染させる) の測定に q-PCR を用いて、確立されている方法である immunofluorescence assays (IFA) と組織学的測定との関連性を調べた。

まず、生体外の *Cryptosporidium* 感染実験を行い、IFA と統計的手法による比較を行った。その結果、m-IC₁₂ の細胞では $r^2=0.959$ と $P<0.0001$ (P 値は有意水準で結果の正当性を表す。低いほど良い)、Caco_{2A} の細胞では $r^2=0.853$ と $P<0.0001$ という値が得られ、q-PCR と IFA の関連性が示された。次に、生体内の *Cryptosporidium* 感染実験を行う。ここでは組織学的測定を用い、比較を行った。その結果、 $r^2=0.761$ と $P=0.001$ という値が得られた。また、統計学的に有意な正相関を示した。以上の結果より、q-PCR は *C. parvum* の感染実験に使用される確立された方法と比べても劣らないことが分かった。この方法は、将来の研究に有効であるかもしれない。

(4) Genotype diversity of *Escherichia coli* isolates in natural waters determined by PFGE and ERIC-PCR

Casarez, E.A., Pillai, S.D., Giovanni, G.D.D.

Water Reseach, 41, 3643-3648 (2007).

Reviewed by A.Tanaka

BST (Bacterial Source Tracking : 細菌源追跡) には人畜由来の糞便汚染源にて抽出した大腸菌 (*Escherichia coli* : *E. coli*) 遺伝子の既知データが用いられている。しかしながら、BST 法は実験方法によって遺伝子識別能力に差がある。また、水中の細菌種の多様性に関する知見はほとんどない。そこで、本研究では自然に存在する大腸菌個体群をさらに理解するため、高い遺伝子識別能力を持つ PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis : パルスフィールドゲル電気泳動法) と中程度の遺伝子識別能力を持つ ERIC-PCR (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Sequence Polymerase Chain Reaction) を用い、自然の表層水から抽出した大腸菌遺伝子の変化を調査した。

Texas 州の Waco 湖と Belton 湖について9ヶ月にわたって11地点、計650サンプルを採水した。650サンプルのうち大腸菌に陽性を示した412サンプルから1サンプルあたり1~12株を分離し、613株の大腸菌分離株を単離した。このうち、PFGE と ERIC-PCR を用いて555株のパターン解析に成功した。PFGE では555分離株から461種類のPFGE 遺伝子型を示し、そのうちの386種類が全て異なる分離株(386株)から検出された。ERIC-PCR では175種類のERIC-PCR 遺伝子型を示し、そのうちの109種類が全て異なる分離株(109株)から検出され、2種類(83株と124株)が全株の37%を占めていた。また、PFGE の結果から、水中の大腸菌個体群が汚染源由来の大腸菌に支配されていないことがわかった。今回の実験で、細菌の多様性と地理的安定性を調査する際に細菌源追跡方法の識別能力を考慮する重要性について示唆された。

第 75 回雑誌会
(December 15, 2008)

(1) Effects of glufosinate on antioxidant enzymes, subcellular structure, and gene expression in the unicellular green alga *Chlorella vulgaris*

Qian, H., Chen, W., Sheng, D., Xu, X., Liu, W. and Fu, Z.

Aquatic Toxicology, 88, 301-307 (2008).

Reviewed by Y.Kanemaru

大量の除草剤散布は、環境や動植物に対して有害な影響を与える。非選択的除草剤の有効成分であるグルフォシネートは、植物中のグルタミン合成酵素を阻害し、アンモニア同化を阻害する。また、リブローズ 1,5 ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ(Rubisco)を阻害し、光合成に障害を引き起こす。近年、グルフォシネートの飛散、表面流出、汚染土壌の浸食による水環境汚染リスクが問題視されている。本実験では、水生単細胞藻類 *Chlorella vulgaris* を用いて、12~96 時間のグルフォシネート暴露による生態学的な変化と、6~48 時間暴露における遺伝子転写への影響を観察した。

グルフォシネートの暴露によって、*C. vulgaris* 細胞中のマロンジアルデヒド(MDA)含有量がコントロールと比較して 2.73 倍となった。スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)、ペルオキシダーゼ(POD)、カタラーゼ(CAT)の 3 つの抗酸化酵素の最大活性はそれぞれコントロールの 2.90 倍、2.91 倍、2.48 倍となった。活性酸素種(ROS)は、生物に酸化ダメージを引き起こすが、生物にはこれらの ROS ダメージに対抗する抗酸化酵素や抗酸化物質が備わっている。SOD は ROS 除去の最初のステップとなり、SOD 活性の上昇は O_2^- の上昇を示唆する。同様に、POD と CAT 活性も ROS 上昇を示唆する。高濃度の MDA の存在は、ROS を完全に除去できていないことを示している。電子顕微鏡観察では葉緑体変異も見られた。葉緑体は高度に組織化されたチラコイド膜システムを有し、光捕集のためのすべての機能を備えている。グルフォシネート暴露によって、でんぷん粒の増加がみられ、葉緑体微細構造が破壊されていた。光合成遺伝子 *psaB*, *psbC*, *rbcL*(それぞれ光化学系 I, 光化学系 II, Rubisco タンパク質をコード)の転写発現量の変化をリアルタイム PCR 解析した結果、3 つの遺伝子の最少発現量は、それぞれコントロールの 38%, 16%, 43%と大幅に減少した。グルフォシネートは *C. vulgaris* の光合成関連遺伝子の転写を減少させ、光合成機能を大きく低下させるといえる。

(2) Surfactants as Bubble Surface Modifiers in the Flotation of Algae: Dissolved Air Flotation That Utilizes a Chemically Modified Bubble Surface

Henderson, R. K., Parsons, S. A., and Jefferson, B.

Environ. Sci. Technol, 42, pp.4883-4888 (2008)

Reviewed by T. Suzuki

加圧浮上分離法は、給水源において異常発生した藻類の除去に用いられる水処理方法として、頻繁に利用されている。この方法は、凝集沈殿法と比較して高い除去率を示すが、藻類が十分に除去がされずに残存しているという報告があるため、更なる除去効率の向上が要求されている。これに対して、近年、凝集剤を用いた従来の加圧浮上分離法ではなく、界面活性剤を用いた新たな方法が注目され、これは従来の方法に比べて高い除去率を示すことがわかっている。そこで本研究では、この方法の除去機構をさらに追求するために、さまざまな界面活性剤の特性（臨界ミセル濃度、表面過剰量(mol/m^2)（界面活性剤分子の単位界面面積における存在量）、 pC_{20} （表面張力を 20mN/m まで低下させるのに必要な活性剤の濃度））と藻類の除去率を比較・検討し、除去率の向上に最適な操作パラメータ（界面活性剤添加量、加圧水循環比（加圧浮上分離に用いる加圧水のサンプル量に対する水量比））を調査した。さらに、種類やサイズの異なる藻類における除去率についても検討した。比較に用いる界面活性剤として、陽イオン界面活性剤（DTAB, MTAB, CTAB, OTAB, BKC）、陰イオン界面活性剤（DSS, OSS）、および非イオン界面活性剤（Triton X-100）を用い、指標藻類として *Microcystis aeruginosa*, *Chlorella vulgaris*, *Asterionella formosa*, および *Melosira* sp. を用いた。

各界面活性剤を用いて、加圧浮上分離法による *M. aeruginosa* の除去実験を行なったところ、陽イオン界面活性剤において高い除去率を示し、特に OTAB を使用した場合に最も高い除去率（65%）を示した。さらに、陽イオン界面活性剤の除去率と、表面過剰量、 pC_{20} には相関性が見られた。また、活性剤添加量を一定に保ち、加圧水循環比を上げることで、除去率はさらに向上し、最大 87% にまで達した。さらに、種類やサイズの異なる藻類の除去率を比較した。結果、藻類のサイズが大きくなるにつれて除去率は向上し、活性剤の必要添加量も減少した。すなわち、サイズが最も大きい *Melosira* sp. が最も効率よく除去された。

第 76 回雑誌会
(December 22, 2008)

(1) Antibiotic resistance and genotypic characterization by PFGE of clinical and environmental isolates of enterococci

Dicuonzo, G., Gherardi, G., Lorino, G., Angeletti, S., Battistoni, F., Bertuccini, L., Creti, R., Rosa, D.R., Venditti, M. and Baldassarri, L.
FEMS Microbiology Letters, 201, 205-211(2001).

Reviewed by H.Takahashi

人間の腸球菌感染症の 95%以上は *Enterococcus faecalis* と *E. faecium* が占めている。院内感染の原因菌として報告され、グリコペプチドおよび高濃度のアミノグリコシド耐性株が急増している。腸球菌は人間以外の宿主からも検出され、人間および人間以外の腸球菌の遺伝子的関係は腸球菌感染の疫学に関する有益な情報を提供している。パルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)は *E. faecalis* と *E. faecium* を含む多くの細菌種内の類似性を証明するため広く採用されている。本研究では、臨床および環境中の腸球菌株の異なる種の流行を解明するため、抗生物質耐性パターンと、PFGE パターンによる特徴を比較および検討した。

vancomycin(Va), teicoplanin(tec), ampicillin(Amp), ciprofloxacin(Cip)への耐性について、*E. faecalis* は 54 株のうち、Va が 2 株(4%), tec が 0 株(0%), Amp が 8 株(15%), Cip が 32 株(59%)検出された。*E. faecium* は、20 株のうち、Va が 2 株(10%), tec が 1 株(5%), Amp が 12 株(60%), Cip が 18 株(90%) 検出された。アミノグリコシドの高度耐性{Gentamicin(HLGm), Streptomycin(HLSm)}については、*E. faecalis* は 54 株のうち、HLGm が 19 株(35%), HLSm が 19 株(35%)であった。*E. faecium* は 20 株のうち、HLGm が 2 株(10%), HLSm が 4 株(20%)検出された。さらに、複数の薬剤耐性株は臨床と環境株の両方に検出された。共通の遺伝子タイプは、臨床と環境株の両方で確認された。しかしながら、ほとんどの分離株は独特な遺伝子タイプを示し、これらは特異的な発生源の分離株であることが示唆される。いくつかの PFGE タイプは、薬剤耐性パターンで分類された。

(2)Lack of correlation between phenotypic techniques and PCR-based genotypic methods for identification of Enterococcus spp.

David, Velasco., Sonia, Perez., Fernanda, Pena., M. Angeles, Dominguez.,
Monica, Cartelle., Francisca, Molina., Rita, Moure., Rosa, Villanueva., German, Bou.
Diagnostic Microbiology and Infections Disease 49, pp151-156(2004).

Reviewed by M. Fukumura

腸球菌を検出するのに有用で早い方法である PCR 法は、臨床に関係する 5 つの腸球菌 (*E.faecalis*, *E.faecium*, *E.gallinarum*, *E.casseliflavus*, *E.flavescens*) と、4 つのグリコペプチド耐性遺伝子 (*vanA*, *vanB*, *vanC1*, *vanC2/C3*) の同定のために開発されてきた。しかし、分子方法による同定で、臨床医療における腸球菌の同定の質と正確さの報告がされていない。本研究では、1200 床ある 3 次医療病院で行われている標準的な方法と、標準的で優れた方法である PCR 法を使用することにより、腸球菌の微生物学的分析を評価し、グリコペプチドの感受性とグリコペプチド耐性の遺伝形質の存在との相互関係の調査を行った。

本研究では、1996~2003 年の間に、異なる患者から分離された腸球菌株の 123 株を用いた。*E.faecalis* 51 株を対象とした実験では、*Ddl_{E.faecalis}* を用いた PCR で全てが陽性という結果となった。また、*E.faecium* 57 株中、48 株が陽性という結果となり、残りの 9 株は、*E.faecalis* が 4 株、*E.gallinarum* が 3 株、*E.casseliflavus*/*E.flavescens* 1 株に分類できた。*E.faecium* の同定での表現型と遺伝子型の方法間の全体的な相関は 84.2%であった。これらの調査で、*E.faecium* の最大 15.8%が誤認されていた可能性があることを示唆している。また、運動性腸球菌である *E.gallinarum* 10 株と、*E.casseliflavus* 5 株が分析された。*E.gallinarum* の 10 株は正確に同定されたが、一方、*E.casseliflavus* 5 株のうち 2 株に相違が見られた。今回の研究で、*E.faecium* の同定方法の不適切さが明らかとなった。正確な腸球菌の同定を行わなければ、臨床医療の失敗につながる可能性がある。そのため、より正確で、迅速な腸球菌の同定を行わなければならない。

第 77 回雑誌会

(Jun 26, 2009)

(1) Storm Drains are Sources of Human Fecal Pollution during Dry Weather in Three Urban Southern California Watershed

Sercu, B., Van de Werfhorst, L. C., Murray, J., Holden, P. A.

Environmental Science and Technology, 43, 293-298(2009).

Reviewed by H. Kawabata

一般的に、水質調査では、全大腸菌群、ふん便性大腸菌、大腸菌、腸球菌などのふん便指標細菌 (FIB) を測定するが、この中には人間由来のほかに、環境由来で病原菌とは違う温度で生存する細菌や培養不能な細菌なども含まれる。そのため、FIB 測定による人間由来の汚染源特定は困難であり、偽陽性に基づくビーチ閉鎖や、偽陰性に基づく安全宣言などにつながりかねない。南カルフォルニアの沿岸都市域は、夏の乾期に FIB が高濃度となり、頻繁にビーチの水質警報が出される。しかしながら、汚染源がわからないため改善が難しい。そこで、カルフォルニアのサンタバーバラにある、ミッションアンドラグーナ (ML) 流域とアロヨブーロ (AB) 流域の 2 つの流域について、サンプリング地点に過去に行われた調査記録において FIB 濃度が高い地点を本研究では選定し、Quanti-Tray/2000method (IDEXX Laboratories) を用い、水サンプル中の FIB 濃度を測定した。また、FIB に汚染された水中に人糞が含まれるかどうかを調査するため、SYBR Green I 検出器と iQ5 thermocycler (Bio-Rad) の蛍光色素を用いて、人間特有のバクテロイデス属マーカー (HBM) の定量化を行った。

ML流域では、大腸菌、腸球菌ともに排水管と小川の合流地点である M6 地点(大腸菌 約 6.0×10^3 MPN/100mL, 腸球菌 約 1.5×10^4 MPN/100mL)において、AB 流域では、排水管と小川の合流地点である A9 地点(大腸菌 約 9.0×10^3 MPN/100mL, 腸球菌 約 4.0×10^4 MPN/100mL)において、それぞれ最高濃度を示した。また、HBM 濃度も M6 地点 ($1.7 \times 10^5 \sim 1.5 \times 10^7$ targets/L) と A9 地点 ($1.5 \times 10^5 \sim 1.2 \times 10^7$ targets/L) で最大値を示した。これらの結果に基づいて、M6, A9 につながる排水管路からのサンプリングも行った。配水管路の数ヶ所において HBM 濃度が高いところがあり、排水管路への正確な汚染源は特定できなかった。しかしながら、排水溝構造基盤についての更なる調査を行ったところ、汚水渠が有力な汚染源として浮上した。HBM と FIB の関係は、常に相関があるというわけではないが、排他的に高濃度の地点であれば相関性が見られた。

第 78 回雑誌会

(July 3, 2009)

(1)奄美大島のリュウキュウアユ (*Plecoglossus altivelis ryukyuensis*) 生息河川における 付着藻類植生および一次生産力

阿部 信一郎, 井口 恵一郎, 米沢 俊彦, 四宮 明彦

藻類, 56, 9-16 (2008).

レビュー: 篠原 大介

リュウキュウアユ (*Plecoglossus altivelis ryukyuensis*) とは沖縄本島, 奄美大島に分布していた日本本土のアユの亜種である。しかしながら, 沖縄本島では現在, 天然のリュウキュウアユは確認されず, 絶滅の危惧をされている魚類として奄美大島で保全が求められている。リュウキュウアユは藻食性動物であり, 餌環境は付着藻類の種類や現存量, 一次生産力に強く依存している。本研究では, 餌環境の面からのリュウキュウアユの生息環境についての調査を目的とし, 各河川の餌となる付着藻類の現存量, 種類組成および, 河川水の溶存酸素の日周変化から一次生産力を測定し, リュウキュウアユの生息環境について考察した。調査は奄美大島を流れる 5 河川 (川内川, 役勝川, 河内川, 山間川, 嘉徳川) において実施をした。河川的环境要因として, 川幅, 水深, 流速, 流量, 水温, 開空率, pH, TN, TP, および汚濁指数を算出した。また, 測定した地点から付着藻類を採取し, 付着藻類の現存量を測定し, 種類組成を調べた。一次生産力については, 各河川で 1 地点における溶存酸素濃度の日周変化を測定し, 日間総一次生産量 (GPP)・日間群集呼吸量 (CR) を算出した。

算出された GPP は $1.9\sim 7.1 \text{ g O}_2\text{m}^{-2}\text{day}^{-1}$ の範囲にあり, 汚濁した河川である多摩川の $0.53\sim 19 \text{ g O}_2\text{m}^{-2}\text{day}^{-1}$ よりも低い値となった。原因として, リン濃度が飽和濃度以下であり, 付着藻類の増殖が制限されていることや, リュウキュウアユ以外の藻食性魚類による強い採食圧を受けたことによって, 付着藻類の現存量が低下したことが考えられる。CR に対する GPP の比 P/R 比はどの河川も 1 より小さい値になった。これは有機物の分解に対して, CR の高い汚濁の進んだ河川という評価になる。しかしながら, 各調査地点の透明度は高く, 珪藻を用いた水質判定では大河川は貧腐水性, 小河川は β -中腐水性の水質と評価された。どちらも陸域や海域で生産された有機物が河川に流入していたため, 有機物の分解に必要となる CR の値が高くなったと予測される。今後, リュウキュウアユの生息環境の調査には, 陸域から河川への有機物質の動態を知る必要がある。

(2) Species distribution and antimicrobial resistance of enterococci isolated from surface and ocean water

Moore, D. F., Guzman, J. A. and McGee, C.

Journal of Applied Microbiology 105, 1017-1025 (2008)

Reviewed by T. Furukawa

腸球菌はヒトを含む温血動物の腸管内に普遍的に存在する細菌であり、水環境におけるふん便汚染指標細菌として利用されている。沿岸域や海洋における腸球菌の種の分布は、その流域の地理的要因や土地利用に依存している。したがって、沿岸域や海洋のふん便汚染の詳細な情報を得るためには、腸球菌の種の分布を把握することが重要である。一方で、近年ではバンコマイシン耐性腸球菌や高濃度アミノグルコシド耐性菌による院内感染が問題となっており、これらの細菌が水環境中に拡散することで、ヒトへの健康リスクに多大な影響を及ぼす可能性も否定できない。本研究では、南カリフォルニアの Orange Country と Avalon の都市排水、沿岸水、海水、および下水における腸球菌種の存在割合を分析した。さらに単離した *E. faecalis* と *E. faecium* について抗生物質耐性試験を実施した。

高頻度に検出された腸球菌種は、*E. faecalis*, *E. faecium*, *E. hirae*, *E. casseliflavus* および *E. mundtii* であり、これらの菌種は沿岸水と海水中において高い割合で存在した。都市排水と下水の主要菌種は、それぞれ *E. casseliflavus* (36-65%) と *E. faecium* (53-73%) であった。都市排水における腸球菌種の分布は、沿岸水と海水における分布と類似の傾向を示したことから、沿岸域と海洋における腸球菌の汚染源は都市排水であることが示唆された。薬剤耐性試験では、複数の抗生物質に対して耐性を示す *E. faecalis* と *E. faecium* 単離株が 22% (119/536 株) 存在したが、バンコマイシンと高濃度アミノグルコシドに耐性を示す単離株は存在しなかった。

(3) 河川の水質形成と集水域の土地利用形態との関係

石井 裕, 北村 立実, 渡邊 圭司, 小松 伸行, 天野 佳正, 矢部 徹

水環境学会誌 32, 139-146 (2009).

レビュー：黒沢津 翔

湖沼や内湾などの閉鎖性水域は、その集水域の土地利用と開発によって流入汚濁負荷量が増加し、水質汚濁や富栄養化が進行している。集水域内で発生した汚濁物質は、集水域と閉鎖性水域を結ぶ主要な経路である河川から湖沼へと流入することから、河川からの流入負荷は、その集水域の規模や土地利用形態の影響を受けている。この影響による水質汚濁や富栄養化の原因としては森林、農地、または市街地の面源負荷や集水域で営まれている畜産業などの点源負荷の寄与が挙げられ、河川の水質は面源、点源からそれぞれは排出される負荷の複合要因によって形成される。そこで本研究では、我が国の代表的な富栄養湖の一つである霞ヶ浦の流入河川における Geographic Information System (GIS) および水質・流量調査結果を用いて見積もった情報に基づき、各河川の水質形成と集水域内の土地利用形態との関係を検討した。

主に、リンと窒素成分である $\text{NO}_3\text{-N}$ のもっとも影響をうけている土地利用形態を明らかにした。リン、有機物および粒子状物質は、水田および市街地面積と正の相関性を有した。リンに関しては、水田での稲の栽培による湛水に伴い嫌気層が形成され、嫌気化された泥からリンが溶出されるのが原因と考えられ、リンは水田と市街地面積の影響を受けていると推察される。窒素成分は、平水時には養豚数、畜牛数、畑地面積および森林地面積と正の相関性があり、特に養豚数との高い相関が認められた。また、増水時には養豚数のみが高い相関性を示したことから、河川水中の窒素濃度は集水域内の養豚業の影響を強く受けていることがわかった。その中でも $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度については、集水域内の養豚飼育頭数密度の増加に伴って $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度が対数的に増加した。また、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度に関しては、平水時に高濃度であった河川で増水時には減少した。これは、土壤が $\text{NO}_3\text{-N}$ 飽和状態にあり基底流出水中の高濃度の $\text{NO}_3\text{-N}$ が降雨によって希釈されたと考えられる。このことから、河川への $\text{NO}_3\text{-N}$ 負荷は土壤の性質や養豚地域の糞尿の処理形態の影響を受けていると推察された。

第 79 回雑誌会
(July 10, 2009)

(1) An immunomagnetic separation - real-time PCR method for quantification of
Cryptosporidium parvum in water samples

Fontaine, M., and Guillot, E.

Journal of Microbiological Methods, 54, 29-36 (2003).

Reviewed by A.Hiramatsu

Cryptosporidium parvum (*C.parvum*) は胃腸病に関与する寄生原生動物である。ここ数十年の間に、世界中で多数の水系発生が報告されている。この寄生虫を検出する従来の方法には、顕微鏡の取り扱いが難しいなどの問題点があった。そこで、polymerase chain reaction (PCR) に基づく分子検出法の開発が数多く報告されてきている。報告された方法は、より迅速で高感度な *C.parvum* の検出が可能であるとされている。しかしながら、PCR に基づく方法は反応終了後の測定で結果を示すことによって、定量には不適當であるといった点も存在する。一方、real-time PCR 法は蛍光検出システムを使用し、増幅反応の間の連続測定によって定量を行うことが可能である。そこで本研究では、real-time PCR を行う際の効果的なサンプル処理の開発を行い、処理した水サンプルを用いた real-time PCR がどの程度適応するのかを検討した。

孔径 1 μ m の被膜ろ過で濃縮し、免疫磁気分離法、そして 25%の Chelex 存在下で熱溶解を行い、GHP MF centrifugal devices による DNA 精製を行うことによって real-time PCR 法における oocyst 数と Ct 値 (サイクル数) の間に高い相関関係を得ることができた。上記の組み合わせで、水サンプルの分析を行った。水サンプルは水道水 (20L, 100L) とセーヌ川の水 (5L) のどちらにも 5-8, 78, 775oocyst を添加したものをを用いた。水道水の回収率は 20L の場合、平均 69.7 \pm 22.3% (添加量 78oocyst) と 71.1 \pm 14.0% (添加量 775oocyst), 100L の場合、84.5 \pm 9.7% (添加量 78oocyst) と 78.5 \pm 20.4% (添加量 775oocyst) であった。これに対して、セーヌ川の水 (5L) は、平均 46.4 \pm 7.3% (添加量 78oocyst) と 57.6 \pm 10.7% (添加量 775oocyst) となった。いずれの回収率も USEPA 法の評価 (試薬水 47 \pm 19%と河川水 12 \pm 6%) と比較して高い値を示した。さらに、検出限界は水道水の場合 20L で 5 oocyst, 100L で 8oocyst, セーヌ川の水の場合 5L で 8oocyst であった。以上の結果から、今回示した real-time PCR 法は *C.parvum* oocyst を水道水のような処理水, 河川水のような未処理水サンプルから信頼性のある定量が可能であるということが示唆された。

(2) パルスフィールド核酸電気泳動法によるサルモネラ食中毒の分子疫学調査

北元 憲利, 加藤 陽二, 濱田 加奈子, 甘庶 志帆乃, 大中 隆史, 横田 正春,
田中 智之

感染症誌 79, 122-128 (2004).

レビュー: 梶井 翔太

サルモネラ属菌(SE 菌)はグラム陰性の通性嫌気性桿菌で腸内細菌科に属し, 現在 2500 種類以上もの血清型が知られている。日本では, 1989 年頃から SE 菌による食中毒事例が多発するようになった。一方, 分子疫学の解析では, 分子生物学的な手法の導入によって, さらに詳細な疫学的解析ができるようになってきている。現時点で最も信頼における技術はパルスフィールド核酸電気泳動法(PFGE)である。この PFGE により院内感染や食中毒の原因食材の特定に威力を発揮している。本研究では, 1983 年から 1999 年の 17 年間に, 大阪府堺市内で発生した 61 件の集団あるいは散発食中毒事例において分離された SE 菌 120 検体の DNA を, 制限酵素 *Xba*I あるいは *Not*I で切断したのち, PFGE を行った。それぞれの DNA 切断パターンを比較し, 遺伝型の分類を行うとともに, 分子疫学的解析を試みた。その結果から分子疫学的解析による疾病の予防に役立つことを目的とした。

制限酵素 *Xba*I を用いた場合には, X1(115 株)および X2(1 株)の 2 種類のタイプに, *Not*I を用いた場合は, N1(91 株), N2(3 株)および N3(1 株)の 3 種類のタイプに分類することができた。分類は, Tenover らの分類基準に従った。のタイプ X1 については, さらに 8 つ(X1a~X1h)のサブタイプに, N1 については 6 つ(N1a~N1f)のサブタイプに細分化することができた。しかし, これらのサブタイプの菌株は, いずれもバンドの相違数が 0~4 本で, 一致率(類似度)が少なくとも 0.75 以上であることから, 同一か近縁種, あるいはきわめて関連の深い SE 菌であることがわかった。特に, 各集団食中毒事例からの分離菌株は, ほぼ同一のパターンを示したため, 感染源あるいは感染経路を推定することができた。これらの長期間にわたる疫学調査から, 堺市内において, 同一か近縁種の SE 菌, あるいは同一・近縁種ではないが, わずかの遺伝的変異を起こしたと考えられる関連の深い SE 菌が常在していることが示唆された。

第 80 回雑誌会

(July 17, 2009)

(1) Air Injection in Water with Different Nozzles

Neto, I. E. L., Zhu, D. Z. and Rajaratnam, N.

Journal of Environmental Engineering 134, 283-294 (2008).

Reviewed by Y.Sagisu

気泡ブルームは、湖沼や貯水池、下水処理場などの曝気や混合に幅広く利用されており、気泡ブルームを利用したときの気泡に関して、これまで多くの研究がされてきた。その研究のほとんどは、比較的小規模の装置（直径 40cm 未満）を使用した気泡の大きさや速度に関するものである。そのため、気泡の特性（気泡の大きさ分布、気泡滑り速度、界面面積等）や流動構造に関する情報はほとんどない。また、発生した気泡に対して、影響の多いと考えられる小規模な水槽と比較的影響の少ない大規模な水槽では、気泡が違った動きをするという報告もある。本研究では、ノズルの違いによる影響を詳細に調べるため、水道水を溜めた角型水槽（1.2m×1.2m×0.8m）を用いて空気噴射実験を行い、気泡の大きさや速度、界面面積のような気泡の特性におけるノズルタイプの実験的影響、および大きな水槽中での乱流液体の流動構造について検討した。

ノズルは孔の数と直径を組み合わせ、1×0.6mm, 1×3.0mm, 4×1.5mm, 9×1.0mm およびエアーストーンのノズルを使用した。気泡速度のノズルの違いによる有意な変化は見られなかった。しかしながら、1×3.0mm のノズルを用いたときの気泡径は、エアーストーンを用いた場合よりも約 50% 小さくなった。その一方で、平均流や乱流の界面面積、エントレインメント率および運動エネルギーは、大径孔のノズルよりエアーストーンを用いたときの方が大幅に増加した。さらに、9×1.0mm のノズルの測定結果は、エアーストーンを用いたときの結果と同様な値を示した。すなわち、目詰まりの影響を受けやすいシステムにおいて、エアーストーンよりも 9×1.0mm のノズル（小径の多孔ノズル）を利用する方が適していることを意味している。また、気泡特性と流動構造の解析によって、気柱中心からの長さや気泡速度の相関が得られ、様々な曝気や混合のシステムへの利用が期待される。

(2) 水道水中の従属栄養細菌の同定における DNA 塩基配列解析法と表現性状試験との比較

猪又 明子, 千葉 隆司, 保坂 三継
水環境学会誌 31, 609-614 (2008).

レビュー：神田 直樹

従属栄養細菌は水道水中に一般細菌よりも著しく多く存在することから、浄水処理過程や消毒過程での挙動を知る上で一般細菌よりも優れている。また配水施設内での水の滞留や塩素の消失に伴って増加することから、排水施設における水質管理上の指標としても利用できる。しかしながら、従属栄養細菌の質的な面に関しては、きわめて情報が乏しい。従属栄養細菌の中には日和見細菌が含まれていることが示唆されているが、従属栄養細菌のヒトへの健康影響を評価するためには、病原性状だけでなく、菌種名の同定が必要である。

本研究では、浄水場の浄水および給水栓水から分離した従属栄養細菌について、病原因子の指標として37℃での生育能および溶血性の有無を検査し、これらの因子保有状況を調査した。また、溶血性を示した菌の簡便な同定法として、16S rDNA 塩基配列解析法と表現性状試験 (Biolog) を実施した。さらに、同定された菌種について、ヒトへの健康影響等を考察した。試料は2006年5～6月に都市小規模浄水場の浄水28検体、給水栓水9検体を採取した。採水時に現場で残留塩素濃度を測定した。すべての検体において残留塩素が検出され、一般細菌は、1検体で1cfu/ml検出された以外は、不検出であった。従属栄養細菌は34検体(92%)から検出された。溶血性を持つ従属栄養細菌11株を16S rDNA 塩基配列解析法と表現性状試験によって同定した。両検査法の結果が一致したのは1株のみであった。表現性状試験で同定された菌種名で登録されている16SrDNA 塩基配列を分離された菌株の塩基配列と比較した結果、両者の塩基配列は異なっていたことから、表現性状試験による従属栄養細菌の同定は困難であり、塩基配列解析法による同定が有効であることが示された。16SrDNA 塩基配列解析法によって同定された11株は、*Bacillus* 属といった食中毒原因菌、あるいはヒトの皮膚に常在し、カテーテル菌血症などの原因となる *Staphylococcus* 属等の日和見菌であった。従属栄養細菌の中にこれら日和見感染菌等が存在することを前提として、道水の水質管理を実施していく必要があると考えられる。

(3) Virus removal by iron coagulation-microfiltration

Zhu, B., Clifford, D. A., Chellam, S.

Water Research, 39, pp.5153-5161 (2005)

Reviewed by T. Suzuki

膜を用いた飲料水の浄水処理は、古くから行われてきている。飲料水を処理する際に対象となる病原生物として、ウイルス、細菌および原虫が挙げられるが、精密ろ過膜を使用してろ過を行うことによって、これらの病原生物を大幅に除去することができる。しかしながら、ウイルスは細菌や原虫に比べ極めて小さく、市販の精密ろ過膜で完全には除去することは困難である。凝集処理は、精密ろ過の前処理として、ウイルスおよび天然有機物の除去の向上や、膜処理を阻害する付着物質の減少、そして水質の改善が期待される。そこで、本研究の目的は、(a) ウイルス除去に対する鉄を用いた凝集・精密ろ過の有効性の検討、(b) 除去率に対する凝集・精密ろ過の各条件の影響の評価、および(c)凝集・精密ろ過によるウイルス除去のメカニズムを示すこととした。指標ウイルスには、A型肝炎ウイルスとポリオウイルスにサイズ、形状および核酸組成が類似したバクテリオファージ MS2(直径 $0.025 \mu\text{m}$)を用い、ブランク法により計数を行った。精密ろ過膜は孔径 $0.22 \mu\text{m}$ の膜を使用し、鉄凝集剤として塩化第二鉄を用いた。

人工飲料水に初期濃度 10^7 pfu/mL の MS2 を投入した模擬汚染水について凝集・精密ろ過を行った結果、鉄濃度が 2mg/L 以下の場合では MS2 の除去率はわずか 32%以下であった。しかしながら、鉄濃度を 10mg/L まで増加させることによって、処理水の濃度は 4 オーダー(99.99%)以上低下した。また、pH を 6.3 まで下げることによって、除去率は向上した。さらに、人工飲料水に含まれる不溶性シリカは、鉄と反応して形成されるフロックの濃度を高め、不溶性シリカが存在しない場合よりも多くのウイルスをフロックに吸着できるので、精密ろ過による除去率の向上に起因した。MS2 は通常負に帯電しており、正に帯電した鉄のフロックに吸着し、精密ろ過膜で除去されたと考えられる。また、精密ろ過によるウイルス除去への有効性の過大評価の可能性が考えられるため、実験過程で行われる凝集、加圧ろ過時の加圧および攪拌における不活化の有無を検討した。MS2 ファージは各操作による直接的な不活化は生じなかった。また、凝集沈殿法によるウイルスの除去率も検討した結果、凝集・精密ろ過とほぼ同様の除去率を示したことから、凝集処理がウイルス除去において極めて重要であることがわかった。