

都市河川における F 特異 RNA フェージ濃度と水質の関係

岐阜大学工学部 非会員 ○田中大貴 正会員 吉村千洋

岐阜大学大学院工学研究科 非会員 笹島康宏 岐阜大学流域圏科学研究センター 正会員 李富生

1.はじめに

ヒト腸管系ウイルスは細菌と比較し浄水処理プロセスで不活化および除去されにくく、また、環境中で細菌より長時間生残することが知られている。実際、国内外の水道水中からヒト腸管系ウイルスが検出された事例や河川などの環境中からの検出事例が報告されている。

病原性を有するヒト腸管系ウイルスの汚染から水道水を守るには、河川水など原水となる環境中のウイルス存在量を把握することが重要である。

そこで本研究ではヒト腸管系ウイルスの代替指標である大腸菌ファージを用い、環境中に存在する大腸菌ファージ濃度について調査を行う。

2.調査方法

2.1 対象河川と調査項目

岐阜市およびその周辺を流れる伊自良川、糸貫川を調査対象河川とし、各河川に調査地点を5ヶ所設定した。調査は2007年12月から2008年4月及び10月に無降雨日に各地点で4回ずつ行った

調査項目は、F 特異 RNA フェージ濃度、大腸菌濃度、水温、pH、EC、溶存有機炭素濃度 (DOC)、紫外外部吸光度 (UV260)、SUVA (UV260/DOC)、濁度、微粒子濃度とした。

2.2 大腸菌ファージについて

大腸菌ファージは大腸菌に感染するウイルスであり、大きさや形態がヒト腸管系ウイルスと似ていること、消毒プロセスに対してヒト腸管系ウイルスと同程度の抵抗性を示すこと、ヒト腸管系ウイルスに比べて水環境中に多く存在していること、非病原性であるため簡便かつ経済的な方法で検出できるなどの点からヒト腸管系ウイルスの代替指標として広く用いられている。また、病原ウイルスに対する指標については、水中の病原ウイルス濃度と大腸菌ファージ濃度の間に相関関係があることが示されている研究がある。

2.3 大腸菌ファージおよび大腸菌の定量方法

大腸菌ファージ濃度はブラック形成法に基づいて定量し、100mL あたりのブラック形成数 (PFU) を求める。宿主大腸菌には *E.coli* K12F+ を用いる。F 特異 RNA フェージは大腸菌の F 繊維にしか吸着できないためこれを有する *E.coli* K12F+ を用いて検出する。

ただし菌体表面吸着ファージも同時に検出されるため、F 特異 RNA フェージの増殖を阻害する RNA 分解酵素 (RNase A) を添加した系と添加しない系の差から F 特異 RNA フェージを求めた。



図 1-対象河川と調査地点

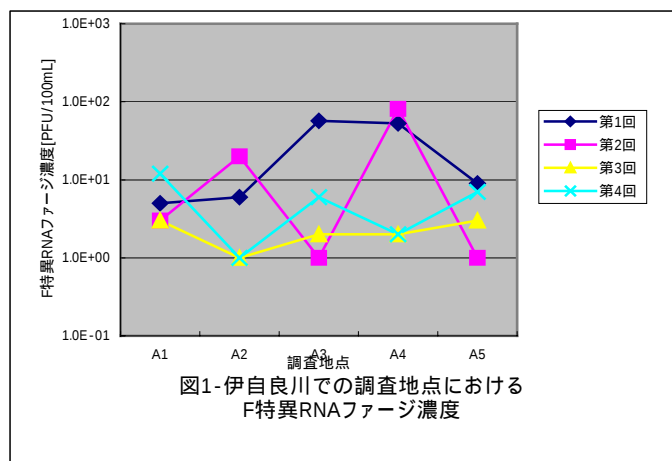
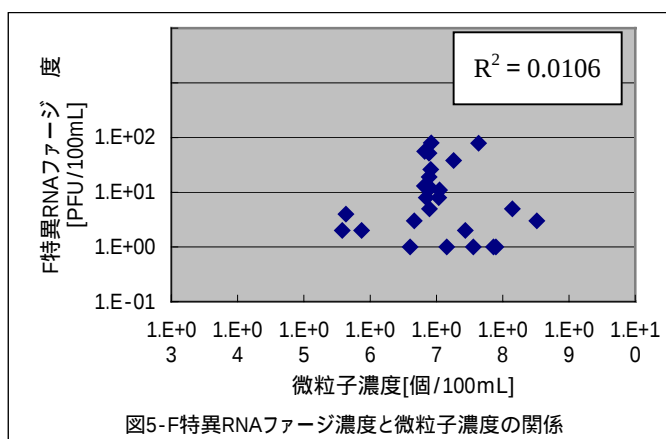
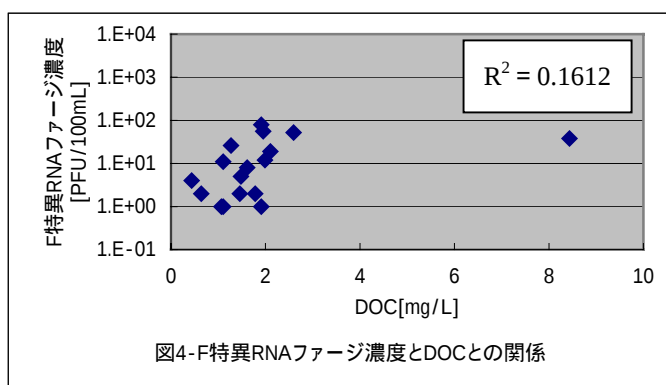
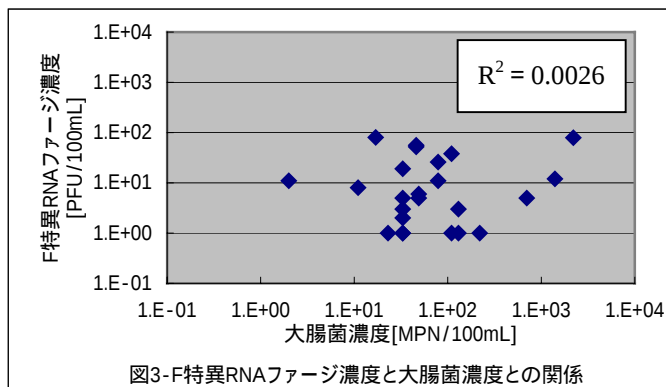
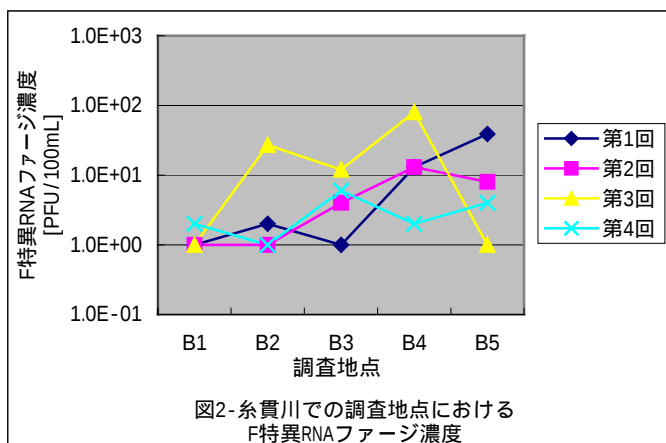


図1-伊自良川での調査地点における F 特異 RNA フェージ濃度

大腸菌は IPTG 添加 ONPG-MUG 培地 (ES コリキ ャッチ) を用いて上水試験法に定める特定酵素基質 培地法に従い 100mL 当りの最確数 (MPN) を求めた。

3.結果

F 特異 RNA フェージ濃度は、すべての調査河川で 採取日時により変化が見られ、同じような傾向が見られなかった。F 特異 RNA フェージ濃度は第 2 回調査での地点 A4 で最大 (8.1×10^2 PFU/100mL) となり、地点 B1 ではほとんど検出されなかった。地点 A3 と地点 B4 では調査日時によって大きく濃度が異なった。また、調査地点によっても大きく濃度が異なった。(図 1) (図 2)



F 特異 RNA ファージ濃度と大腸菌濃度について相関分析を行ったところ両者には有意な相関関係が見られず、決定係数は 0.0026 であった。

また、F 特異 RNA ファージ濃度と水質項目の DOC、微粒子濃度と相関分析を行ったところそれぞれ有意

な相関関係が見られず、決定係数は DOC では 0.1612 となり、微粒子濃度では 0.0106 となった。

4.考察

岐阜市およびその周辺を対象とした本調査結果より、大腸菌ファージの濃度は河川水中では変動幅が $10^0 \sim 10^2$ となることが明らかとなった。大腸菌ファージはヒトだけでなくニワトリやウシなどの温血動物からも排出されるため、2 河川で検出された大腸菌ファージには、動物性由来とヒト由来の両方が含まれると考えられる。本研究の場合、地点 A1 と地点 B1 の上流においては森林地域であるため個々で検出される大腸菌ファージは動物由来が卓越していると考えられるが、下流に行くほどヒトの生活活動の影響が大きくなるためヒト由来の大腸菌ファージが卓越してくると思われる。ただし、本研究のサンプリングは無降雨日に行っているため、降雨による動物の糞便が流れ出ることがないと考えられるため動物由来の大腸菌ファージの比率は比較的低いと考えられる。今後、大腸菌ファージの指標性を高めるためには、ヒト由来の大腸菌ファージを定量することが必要であるため遺伝子タイプ別に定量を行い、ヒト由来と動物由来で区別する必要があると考えられる。

調査河川に流れ込む汚水によって大腸菌ファージ濃度が影響を受けている可能性があり、下水処理場の排水や下水処理場を介さない浄化槽、農地の堆肥肥料からの流出や農業集落排水などの面源汚染が主因であることが推測される。

また、通常、微粒子表面には細菌が付着して存在しており、大腸菌と微粒子濃度の間に相関性があることから、大腸菌が微粒子表面に吸着し存在することは十分に考えられる。また、大腸菌ファージが微粒子に吸着する可能性を示す報告¹⁾や微粒子表面に吸着している大腸菌ファージは水中を遊離しているものよりも長時間生存するという報告もある。今回の研究では微粒子表面に吸着していた大腸菌ファージを過小評価している可能性があり、今後、吸着している大腸菌ファージについて微粒子表面から脱離させ、定量する方法が必要となる。

本調査研究では、河川中にある大腸菌ファージおよび大腸菌濃度と水質項目についての関係について評価することで、大腸菌ファージおよび大腸菌が微粒子表面に吸着していることや河川周辺での土地利用、河川に流入する下水によって大きく変動している可能性が示唆された。今後、さらに定量的な糞便汚染の評価を行うためには、水中における大腸菌ファージおよび大腸菌の存在形態の解明や PCR 法による定量、浄化槽など面源汚染源からの排出量の研究などが必要となる。また、病原ウイルスを含めた水系感染リスクの評価には、大腸菌ファージと病原ウイルスの関係をより明確にすることも重要となる。

1)Characklis G.W.etc: Microbial partitioning to settleable particles in stormwater, *Water Research*, Vol. 39, pp. 1773-1782, 2005