

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 29 日現在

機関番号：25406

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23760508

研究課題名(和文)嫌気性芽胞菌の毒素遺伝子および生化学的性状による分類とより高度な指標としての利用

研究課題名(英文) Anaerobic spores (*C. perfringens*) as a possible new fecal source tracking indicator of human fecal pollution.

研究代表者

橋本 温 (HASHIMOTO, Atsushi)

県立広島大学・生命環境学部・准教授

研究者番号：30332068

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：嫌気性芽胞菌(ウェルシュ菌)は保存性の高い糞便汚染指標および原虫の汚染指標として使用されている。本研究では、ヒトの糞便汚染をソーストラッキングする指標としての有効性を評価した。下水および牛、豚の糞便試料から嫌気性芽胞菌を分離して、ウェルシュ菌毒素遺伝子をマルチプルPCR法で検索した。すべての試料で、検出された嫌気性芽胞菌のほとんどがA型のウェルシュ菌であった。A型ウェルシュ菌のうち、エンテロトキシン(cpe)遺伝子陽性株はヒト排水では約30%の割合で分離されるのに対して、牛豚の試料からは1株(牛)のみであった。このcpe陽性ウェルシュ菌はヒトのソーストラッキング指標として有効と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Clostridium perfringens survive in various aquatic environments than current traditional fecal indicator. Therefore, *C. perfringens* considered as suitable indicator for fecal pollution. This research described that the new possibility of *C. perfringens* as a useful source tracking indicator of human fecal pollution using distributions of cpe positive *C. perfringens*. To evaluate the efficacy of source tracking indicator of *C. perfringens*, distributions of *C. perfringens* spores and there toxin type in sewage and livestock fecal samples were analyzed. *C. perfringens* spores were isolated from sewage, effluents and fecal samples of cattle and pig by multiplex PCR. Almost all isolates were classified type A. From human sewage and effluents, cpe positive *C. perfringens* were detected at 30%. Whereas only 1 cattle isolate were positive cpe gene from livestock samples. Distributions of cpe positive *C. perfringens* were important as a potential source tracking indicator for human fecal pollution.

研究分野：工学

科研費の分科・細目：土木環境システム

キーワード：嫌気性芽胞菌 クリプトスポリジウム 指標 ウェルシュ菌 下水

1. 研究開始当初の背景

申請者は、水道原水である河川水や下水等の水環境を対象に、塩素消毒に耐性を有し、水道を介した集団感染を引き起こす原虫クリプトスポリジウムの汚染実態、水処理による除去や不活化、環境水中からの検査法、汚染や環境中での挙動の代替指標細菌の検討などの研究に従事してきた。これらの研究を通して、従来より環境での生残性が高い糞便汚染指標として提案されていたウェルシュ菌(*C. perfringens*) [平田ら 1986, Medema et al., 1997]を含む細菌群である「嫌気性芽胞菌」が河川水等でのクリプトスポリジウムの挙動と近いこと[橋本ら 1999]、下水処理の除去性が類似すること[橋本ら 1997]を明らかにし、厚生労働省クリプトスポリジウム等対策指針[2007]において、水道原水の「クリプトスポリジウムの汚染のおそれの判断の指標」として用いることへの基礎的な情報の一つを提供した。

嫌気性芽胞菌の検査・定量の公定法[上水試験方法/厚労省指針]は選択培地による培養法であることから、指標としての有効性の高いウェルシュ菌のみを検出することは困難であり、他のクロストリジウム属も含む細菌群として計測しているのが現状である。効果的な水域対策のためには、嫌気性芽胞菌のうちウェルシュ菌や他のクロストリジウム属の構成やその動態を明らかにし、特異的な検出法を用いることが重要であるが、水分野において嫌気性芽胞菌は、原虫の汚染の指標としての実用化以降ほとんど研究が進んでいない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、水道水源の“クリプトスポリジウム(原虫)汚染のおそれの判断の指標”である嫌気性芽胞菌の各種水域における毒素遺伝子型・生化学的性状による分類・構成とその動態を明らかにすることで、その指標としての意義を飛躍的に向上させ「汚染源の推定できる指標」と「原虫の汚染をより適切に判断できる指標」として利用可能にすることである。同時に、その成果を水道水源の原虫汚染のリスク評価や適切な水域対策へ利用できるようにすることである。

3. 研究の方法

(1)嫌気性芽胞菌の存在量の把握

調査地点

ヒト、家畜の糞便由来試料、および河川水、海水をサンプリングした。ヒトの糞便が主な汚染源である試料として、広島県内の3か所の下水処理場(S, M および H 処理場)の流入水・放流水(塩素消毒後)を、家畜糞便由来の試料として、広島県内の養豚場排水および二か所の牛舎の糞便をサンプリングし、試料とした。

また、広島県庄原市の2か所の河川水およ

び広島湾の海域10カ所を調査対象とした。

下水処理場試料の流入水は、採水当日中の水処理プロセスに入る前の下水を、放流水は、塩素消毒をした後に河川や海に放流する前の処理水を約1L採水した。養豚場排水は、採水当日にブタが排泄した尿尿混合物を水で洗い流しプールしたスラリー状の排水を試料とした。牛舎糞便は、採水当日に堆肥舎に集積された固形糞便を採取した。

河川試料は表流水を、海水試料は表層水をそれぞれ1L採水した。サンプリング回数は、S下水処理場で12回、M下水処理場では3回、H下水処理場では2回実施した。また、家畜系試料として養豚場では10回、牛舎では5回、牛舎では4回のサンプリングを、環境水では庄原市国兼川で14回、同戸郷川では4回、広島湾では6回の採水を行った。

嫌気性芽胞菌の定量・分離

試料をねじ口試験管(硬質ガラス製)に分注し、75℃の恒温水槽に20分間浸して加熱した後、氷水で直ちに放冷した。標準濃度ハンドフォード改良寒天培地74.0gを蒸留水1Lに溶かし、110℃、10分間高圧蒸気滅菌した。滅菌した培地を約15mLずつ分注して平板に固めた。検水1mLを先にハンドフォード培地の平板を作製したシャーレに分注し、培地約10mLを用いて混釈した。最後に、標準濃度ハンドフォード改良寒天培地約5mLを重ねて三重層平板とした。

固化した後、これらを倒置して嫌気ジャーにアネロパック・ケンキ(三菱ガス化学(株))と合わせて入れて密封した後、恒温器に収め、45℃で、24時間培養した。

培養後、形成された黒色集落を嫌気性芽胞菌と判定し、計数し、1mLあるいは1gあたりの菌数を算出した。

ハンドフォード培地上に形成された黒色コロニーを嫌気性芽胞菌と判定し、計数した後、ランダムに釣菌し、コロソビア5%羊血液寒天培地(シスメックス・バイオメリユー株式会社)に塗布し、36℃で24時間嫌気培養して増菌した。増菌処理した後、火炎滅菌した白金耳で、生育したコロニーを採取し、TE緩衝液1mL中に懸濁して、PCR操作を行うまで-35℃で凍結保存をした。

毒素遺伝子の検索

嫌気性芽胞菌の毒素遺伝子保有状況を把握するために、毒素型の分類に利用される、および毒素をコードするcpa、cpb、etx、およびiap遺伝子、ウェルシュ菌食中毒の起因毒素となるEnterotoxinをコードするcpe遺伝子、2毒素をコードするcpb2遺伝子の6種類の毒素遺伝子についてマルチプレックスPCR法を用いて遺伝子検索を行った。

凍結保存した嫌気性芽胞菌溶液5μLをPCRチューブに分注し、2% TritonX 2.5μL、DDW 2.5μLを加え、サーマルサイクラーで、95℃

5分間加熱、溶菌し、鋳型DNAとして用いた。

ウェルシュ菌の産生する主な毒素遺伝子をコードする以下の6種類のプライマー(van Asten et al., 2009)を使用した。

溶菌した試料の入ったPCRチューブに、PCR反応液40 μ l(Quick TaqTM HS DyeMix(東洋紡)25 μ l, 0.4 μ M 2 primer pairs, 0.2 μ M other primer pairs)を加え、熱変性を95で15分加熱後、熱変性94、30秒、アニーリング53、90秒、伸長反応72、90秒の条件でのサイクルを40回繰り返し、さらに再伸長を72で10分の温度条件で反応させ、遺伝子増幅を行った。

生成したPCR増幅産物にethidium bromideを添加した1%アガロースゲルにアプライし、0.5 \times TBE bufferで電気泳動を行い、紫外線照射下でそれぞれの鋳型DNAによる増幅産物の確認をした。

本研究では6種類の遺伝子を同時に検出したため、cpaおよびcpe遺伝子についてはDNAの塩基配列の決定を行うためにアガロースゲルから切り出して、DNAの精製を行った。DNAの精製はNucleoSpin[®] Gel and PCR Clean-upキットを使用した。精製したcpa, cpe遺伝子はタカラバイオ(株)にプレミックスシーケンス解析を委託し、決定後、サンプルごとの相同領域の解析をClustalX2(<http://www.clustal.org/>)で確認しアライメントした。その後、近隣結合法により系統樹を作製し、試料ごとの塩基配列の相違を比較検討した。

(2)大腸菌の定量

上水試験方法に準じて、特定酵素基質培地法(MMO-MUG法)であるIDEXX Colilert[®]検査キットを用いて大腸菌の最確数を算出した。

滅菌済みのプラスチック製の専用計量容器に試料100mLとコリラート試薬1包を加え、十分に攪拌した。攪拌後、専用トレイ(Quanti-Tray[®]/2000, Idexx labo, Tokyo)に入れ、試料の入ったトレイをゴム製シートにセットし、専用の加温シーラー(Quanti-Tray[®]/2000)により密閉した。密閉後、トレイを恒温器に入れ、36、24時間で培養した。

培養後、紫外線照射下で蛍光を示すウェルを計数し、最確数を算出するソフトであるIDXX MPN Generator3.0(Idexx labo, Tokyo)を用いて、大腸菌の最確数(Most Probable Number; MPN)を算出した。

4. 研究成果

(1)ヒト・家畜糞便試料の嫌気性芽胞菌および大腸菌の存在量

水を介して人に健康被害を与える病原微生物は主に腸管系の微生物であり、多くは糞便による水の汚染により伝播する。そのため、本研究では、糞便による汚染の発生源として

考えられる下水処理場流入水、養豚場排水および牛舎の糞便由来試料を対象として嫌気性芽胞菌を定量した。また、同時に糞便汚染指標である大腸菌についても定量し、比較した。

試料の形状は、下水処理場流入水試料は液体、養豚場排水はスラリー状、牛舎の糞便は固形物とサンプルごとに異なるため、懸濁物質を計測し、乾燥重量1gあたりの細菌数を算出した。

下水試料および家畜糞便由来試料中の嫌気性芽胞菌と大腸菌の1gあたりの存在量を図1に示した。

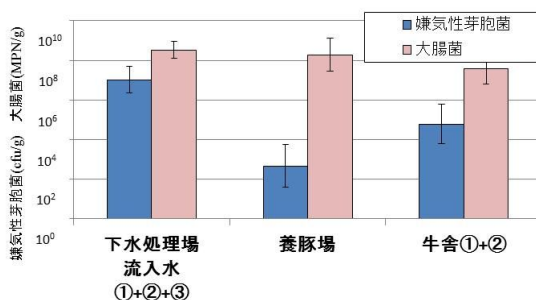


図1 下水および家畜試料の指標菌濃度

大腸菌は、ヒト糞便由来試料下水処理場流入水で $1.6 \times 10^8 \pm 1.2 \times 10^8 \sim 7.2 \times 10^8 \pm 2.5 \times 10^8$ MPN/gであった。一方、家畜糞便由来試料である養豚場排水では $1.9 \times 10^8 \pm 4.5 \times 10^8$ MPN/g、牛舎では $1.8 \times 10^7 \pm 4.2 \times 10^7 \sim 8.1 \times 10^7 \pm 7.0 \times 10^7$ MPN/gと、ヒト由来の下水流入水の試料とほぼ同様のオーダーであり、統計的有意差は認められなかった($\alpha = 0.05$)。

下水、牛およびブタ由来の試料はそれぞれその形状が異なり、糞便の含有量が不明であるため一概に比較できないが、本研究では、大腸菌はヒト糞便由来試料、ブタ糞便由来試料、ウシ糞便試料いずれの試料中にも 10^8 MPN/g程度存在し、ヒト糞便由来試料と家畜糞便由来試料では差異はみられなかった。

一方、嫌気性芽胞菌は、ヒト糞便由来試料である庄原浄化センター流入水で $3.3 \times 10^6 \pm 3.0 \times 10^6 \sim 3.4 \times 10^7 \pm 4.4 \times 10^7$ cfu/gであったのに対して、家畜糞便由来試料である養豚場排水では $4.7 \times 10^2 \pm 3.8 \times 10^3$ cfu/g、牛では $3.9 \times 10^4 \pm 7.6 \times 10^3 \sim 9.5 \times 10^4 \pm 1.0 \times 10^6$ cfu/gであり、家畜糞便由来試料と比べてヒト糞便由来試料では2オーダー高い濃度で存在していた。また、ヒト糞便由来試料と家畜糞便由来試料の間には統計的有意差が認められた($\alpha = 0.05$)。

試料中の糞便含有量は、家畜糞便由来の試料はほぼすべてが尿尿であると推測されるのに対して、ヒト由来の試料は下水であり、糞便以外の食物残渣などの固形成分の混入も考えられるため、下水試料の糞便含有量の割合は、家畜試料よりも少ないと推察される。このため、ヒト糞便中の嫌気性芽胞菌の濃度は、上述の乾燥重量の値よりさらに高い値を

示すと考えられる。このことから、ヒトと家畜の糞便中の嫌気性芽胞菌の濃度は、少なくとも2オーダー以上、ヒト糞便中の方が高いと考えられる。

現在、嫌気性芽胞菌は水道水源の原虫の汚染指標としてのみ用いられている。本研究では、糞便中の嫌気性芽胞菌の濃度は、家畜よりヒトで有意に高いことが示された。このことは、嫌気性芽胞菌の水の指標としての意味を単に糞便汚染もしくは原虫汚染という点にとどまらず、ヒトの糞便汚染を表す指標としての意味を有するものと考えられる。このようなヒトの糞便汚染を強く示す指標としての意味は従来の大腸菌を中心とする指標系には見られないものであり、嫌気性芽胞菌はその点においても従来の指標を補完する有効性を持っていると考えられる。

(2) 河川における大腸菌と嫌気性芽胞菌の存在量

農業、畜産の盛んな地域である広島県庄原市に流れる国兼川と戸郷川における1Lあたりの大腸菌と嫌気性芽胞菌の定量し、その結果を図2に示した。

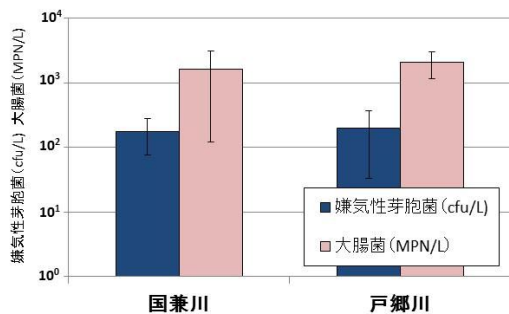


図2 河川水中の指標菌濃度

国兼川では、嫌気性芽胞菌の存在量は $1.8 \times 10^2 \pm 9.9 \times 10$ cfu/L、大腸菌の存在量は $1.6 \times 10^3 \pm 1.4 \times 10^3$ MPN/L であり、戸郷川では、嫌気性芽胞菌の存在量は $2.0 \times 10^2 \pm 1.6 \times 10^2$ cfu/L、大腸菌の存在量は $2.0 \times 10^3 \pm 9.3 \times 10^2$ MPN/L であった。どちらの河川も大腸菌の存在量と比べると嫌気性芽胞菌濃度は1オーダー低い値となった。

嫌気性芽胞菌はヒト糞便中での存在量が、大腸菌に比べて少ないことが指標細菌として利用する際の課題の一つと指摘されているが、ヒト、家畜由来の糞便由来試料での大腸菌と嫌気性芽胞菌の存在量は最小で2オーダーの差異が確認されたが、河川水ではその差異は1オーダーとなり、差が減少した。嫌気性芽胞菌は環境水中での生残性が高いとされるため、本実験で採水した地点よりも下流域では存在量の差異はさらに減少していき、嫌気性芽胞菌と大腸菌の存在量は同等になると考えられる。このことから嫌気性芽胞菌は環境水で大腸菌と同様に糞便汚染指標として十分に有効であると推察された。

糞便汚染源では嫌気性芽胞菌は糞便汚染

源識別指標としての有意性が認められたが、今後は河川の上流域および下流域での嫌気性芽胞菌の分布などを調査することで環境水中での嫌気性芽胞菌の消長を確認し、大腸菌と比較することで、指標としての機能性を向上させるべきである。

(3) 海域における大腸菌と嫌気性芽胞菌の存在量

広島湾での採水地点および大腸菌と嫌気性芽胞菌の存在量を図3に示した。

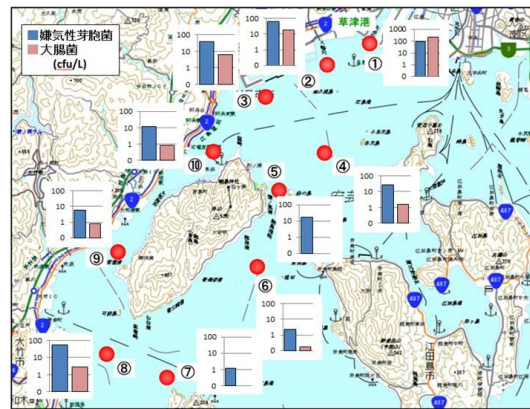


図3 広島湾採水地点と指標菌濃度

人口密集地である広島市市街地を流れる河川である太田川の河口付近を採水地点とし、宮島を一周する形でサンプリングした採水地を ~ 地点とした。

広島湾では、採水地点 ~ で大腸菌濃度が 2.1×10^2 cfu/L であり、嫌気性芽胞菌濃度が 9.8×10^1 cfu/L と広島県庄原市の河川と類似した結果となり、嫌気性芽胞菌濃度に比べ大腸菌濃度が1オーダー高い値となった。

一方で、採水地点 ~ では大腸菌濃度に比べて嫌気性芽胞菌濃度の方が高い値を示した。例えば採水地点 より沖合の採水地点 ~ では大腸菌濃度が 2.0×10^0 cfu/L、嫌気性芽胞菌濃度は 2.7×10^1 cfu/L となり、さらに沖合の採水地点 ~ では大腸菌濃度が 1cfu/L 未満、嫌気性芽胞菌濃度は 2.0×10^2 cfu/L となった。このように、沖合に行くにつれて大腸菌の存在量は減少していくのに対して、嫌気性芽胞菌の存在量は同様に減少傾向ではあるが、その量は大腸菌のそれと比べるとはるかに緩やかに減少した。

嫌気性芽胞菌は海域でも十分に保存性のある糞便汚染指標として有効であると推察され、環境基準として利用されている大腸菌を含む大腸菌群を補完する指標として有効である可能性が示唆された。

(4) 嫌気性芽胞菌が保有する毒素遺伝子の検索

ヒト・家畜糞便由来試料から分離した嫌気性芽胞菌の毒素遺伝子保有状況

本研究では、下水処理場流入水、養豚場及び牛舎の糞便から嫌気性芽胞菌を分離した。

分離株は、増菌処理をした後、ウェルシュ菌の4種類の主要毒素(cpa, cpb, etx, iap)をコードするcpa, cpb, etx, iap 遺伝子、2毒素をコードしたcpb2、食中毒の起因子であるエンテロトキシンをコードしたcpe 遺伝子、計6種類の毒素遺伝子について、マルチプレックスPCR法を用いて検査した。

一般に、ウェルシュ菌は、いずれの菌型も毒素を産生することから、本研究では、毒素をコードしたcpa 遺伝子保有株をウェルシュ菌と判定し、嫌気性芽胞菌のうちウェルシュ菌の割合を把握した(図4)。

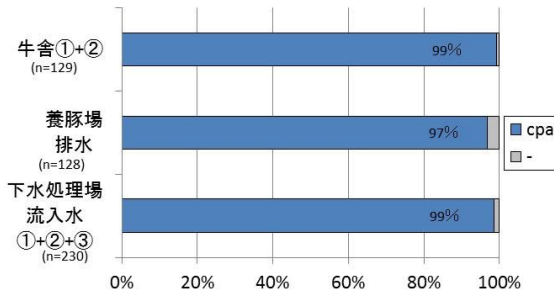
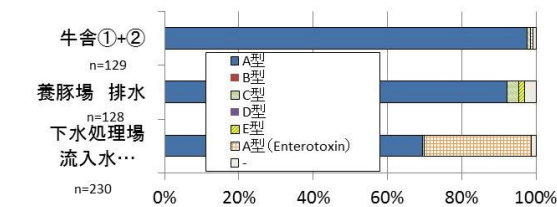


図4 嫌気性芽胞菌中のウェルシュ菌の割合

下水処理場流入水、養豚場排水および牛舎糞便の分離株 90%以上が 毒素遺伝子を保有しており、ウェルシュ菌と判定された。このことから、糞便由来試料中の嫌気性芽胞菌の多くはウェルシュ菌で構成されており、本選択培地による嫌気性芽胞菌の検出方法は、ウェルシュ菌を的確に分離していると考えられる。

ウェルシュ菌は毒素産生能によって A~E 型に分類されるが、これに代替して毒素遺伝子の保有状況によって分類すると、ほとんどが A 型菌であった。それぞれのタイプの検出状況は、A 型が下水処理場流入水の分離株 230 株中 226 株 (98%)、養豚場排水の分離株 128 株中 118 株 (92%)、牛舎糞便の分離株 129 株中の 126 株 (98%) であった。他のタイプとしては、C 型が下水試料 230 株中 1 株、ブタ糞便由来試料 128 株中 4 株、ウシ糞便由来



	下水処理場 流入水 ①+②+③	養豚場 排水	牛舎①+②
A型	160	118	126
B型	0	0	0
C型	1	4	1
D型	0	0	0
E型	0	2	0
A型(Enterotoxin)	66	0	1
-	3	4	1

図5 嫌気性芽胞菌の毒素遺伝子

試料 129 株中 1 株から検出され、E 型はブタ糞便由来試料から 2 株検出された。B 型、D 型は検出されなかった(図5)。

さらに、A 型の中にはウェルシュ菌食中毒の原因因子である Enterotoxin をコードした cpe 遺伝子を保有している株が存在する。本研究では、ヒトを主な汚染源とする下水試料からは 230 株のうち約 30%にあたる 66 株から検出された。一方で、ウシ糞便試料では 129 株中 1 株、ブタ糞便由来試料から分離した 128 株からは検出されず、エンテロトキシン遺伝子保有株は明らかにヒト由来の試料に偏っていた。

これらのことから、嫌気性芽胞菌は宿主によって構成菌の菌型が異なる傾向があり、ウェルシュ菌は宿主ごとに異なる毒素を産生する株が生息している傾向が確認された。なかでも、Enterotoxin をコードした cpe 遺伝子保有株が家畜糞便由来試料よりもヒトの糞便由来試料から特異的に検出されたことから、ウェルシュ菌あるいは嫌気性芽胞菌の cpe 遺伝子保有株はヒトの糞便汚染を示す新たなソーストラッキング指標として高い可能性を有していると考えられる。すなわち、本研究の極めて大きい成果として、嫌気性芽胞菌の従来から指摘されている指標としての意義である保存性の高い糞便汚染指標、並びにクリプトスポリジウム等の原虫の汚染の恐れ判断の指標に加えて、ヒト由来の糞便汚染を強く示す指標という新たな機能をここに提案するものである。

さらには、このエンテロトキシン保有のウェルシュ菌は細菌性食中毒の起因子として極めて重要なウェルシュ菌食中毒の原因菌である。本研究では、下水処理場の放流水についてもエンテロトキシン保有株の存在状況を調査した。調査対象のうち、最も大規模な都市下水を処理する下水処理場の放流水中(塩素消毒後)の嫌気性芽胞菌の存在量は 5.0cfu/mL でありこのうち分離株 10 株中 4 株が Enterotoxin をコードした cpe 遺伝子保有株であった。本処理場の一日最大処理水量は約 300,000m³/日であり、これらから推測される本処理場のエンテロトキシン保有ウェルシュ菌の負荷量はおおよそ 5 × 10⁸cfu/日と極めて大きい値である。ウェルシュ菌食中毒の原因食品と下水処理場放流水を直接的に結び付けることは現状のデータでは困難であるが、塩素消毒後の放流水中にエンテロトキシン保有ウェルシュ菌が高い負荷量で存在することは、重要な問題である。新たな付加的な処理や消毒の導入、大腸菌を補完するような指標系の確立が必要と考えられる。

cpe 遺伝子の塩基配列の決定

cpe 遺伝子保有株と判明した 153 検体の中から H 処理場分離 15 株、M 処理場分離株 15 株、H 処理場分離株 6 株それぞれの試料ごとにランダムに選出した計 36 株を用い、その塩基配列を特定した。cpe 遺伝子全塩基配列

957塩基のうち436塩基に塩基配列を決定し、アライメントした。cpe 遺伝子は2つのクラスターを形成した。このうち、M 処理場分離1株のみがクラスターに分かれ、残る35株は全て同じ塩基配列となった。cpe 遺伝子の塩基配列の多くはクラスターと同じ塩基配列を示し、ウェルシュ菌は、調査した範囲では、処理場域の違いによる変異は認められなかった。

cpa 遺伝子の塩基配列の決定

全てのウェルシュ菌が保有するとされる毒素をコードしたcpa 遺伝子の塩基配列を決定し、宿主ごとの遺伝学的変異を確認し比較した。

cpa 遺伝子保有株と判明した785株中、S 処理場分離株54株、三次水質管理センター分離株49株、養豚場排水分離株69株、牛舎分離株71株それぞれの試料ごとにランダムに選出した計243株を用いた。cpa 遺伝子全塩基配列1110塩基のうち242塩基についてアライメントした。

cpa 遺伝子による系統樹解析の結果、複数の変異がみられ、多くは試料ごとに分かれ大きく4つのグループに分かれた。

ウシの糞便試料では、Group4が45%であったがグループごとに大きく偏ることはなかった。一方で、ブタの糞便由来試料ではGroup1が88%を占めており、更に、ヒトの糞便由来試料ではGroup3が95%を占め、試料ごとに一つのグループが過半数を占める結果となった。

ウェルシュ菌は、ヒト、ブタ、ウシ、その他宿主や生息場所によって、cpa 遺伝子に変異が見られ、cpa 遺伝子のヒトもしくは宿主ごとの特異的な遺伝子領域を検索することで、cpa 遺伝子による糞便汚染源の識別が出来る可能性が推察され、現行の嫌気性芽胞菌検査に毒素遺伝子検査を付加することで、宿主ごとの糞便汚染の寄与を示す指標としての意義を有し、指標としての機能が向上できると示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計4件)

土岡宏彰, 住吉佑介, 原田浩幸, 橋本温 (2014) 海域における糞便汚染指標としての嫌気性芽胞菌の有効性 第48回日本水環境学会年会, 仙台

住吉佑介, 金川慎之輔, 橋本温 (2013) 糞便汚染指標としての嫌気性芽胞菌とその毒素遺伝子による分類, 第47回日本水環境学会年会, 大阪

住吉佑介, 橋本温 (2012) ヒト・豚由来排水から分離した嫌気性芽胞菌の毒素遺伝子による分類, 第63回全国水道研究発表会, 松江

住吉佑介, 七種健一郎, 河村俊輔, 橋本温 (2011) 各種水環境から分離した嫌気性芽胞菌の分類, 第11回環境技術学会研究発表大会, 大阪

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

橋本 温 (HASHIMOTO, Atsushi)
県立広島大学・生命環境学部・准教授
研究者番号: 30332068