

## 第 341 回雑誌会

(Oct. 9th, 2020)

### Fecal indicator bacteria, fecal source tracking markers, and pathogens detected in two Hudson River tributaries.

Brooks, M, Y., Bae, S, J., Epstein, L, J., Anderson, R, Renee. and Richardson, E, R.  
Water Research, **171**, (2020).

Reviewed by M. Katafuchi

現在、流域中の水系病原体のリスクを推定するために、ふん便汚染指標細菌の濃度測定や、リアルタイム PCR (rt-PCR) 技術を用いた微生物源追跡 (MST) マーカーの定量化が行われている。しかし、これらの方法はリスクを確実に推定することはできない。そこで本研究では、ナノスケール qPCR (ns-qPCR) 技術を用いて水系病原体の定量を行い、推定されたリスクと水系病原体の存在との関連性を調べた。試料は、米国の Wallkill River と Rondout Creek から採取した。試料水中の大腸菌濃度と腸球菌濃度は、それぞれ Collilert と Enterolert Quanti-Tray<sup>®</sup>/2000 (IDEXX) を用いて測定した。続いて、試料水をフィルターに通水し、DNA 抽出キット (Qiagen) を用いてフィルターから核酸を抽出した。そして、5 種類のふん便汚染に関する MST マーカー {ヒト関連 [*Bacteroides thetaiotaomicron* specific a-1-6 (以下 *B. theta*) と HF183], トリ関連 [GFD], ウシ関連 [CowM3], ウマ関連 [HorseBact]} を対象として、rt-PCR アッセイを行った。また、得られた細菌濃度と MST マーカーの存在との関連性について、線形混合モデル分析を実施した。さらに、試料水を接線流限外ろ過で濃縮して核酸を抽出した後、15 種類の DNA マーカー (水系病原体 12 種類, MST マーカー 3 種類) を対象とした ns-qPCR アッセイを行った。定量された対象 DNA は、ピアソン相関行列を用いて対象 DNA 濃度間の相関を調べるとともに、線形混合モデル分析を実施し、細菌濃度および MST マーカーの存在との関連性を調べた。

rt-PCR の結果、定性的な評価 (存在もしくは不在) では、GFD マーカーが最も頻繁に検出された (59.7%), 次いで HF183 (33.3%), *B.theta* (22.2%), CowM3 (7.6%) の順で検出された。このとき、*B.theta* マーカーの存在する地点は、存在しない地点と比較して、水中の大腸菌濃度が増加する傾向にあった ( $p=0.135$ )。ns-qPCR の結果、12 の水系病原体のうち、ロタウイルス、大腸菌 *eae*, およびアデノウイルスを検出定量することができた。MST マーカーでは、ヒト関連マーカー (HumM2) が最も頻繁に検出された (96.7%)。検出された病原体の一部は、特定の MST マーカーと強い相関を示した (大腸菌 *eae* と HumM2, ロタウイルス ANPS3 と CowM3)。以上のことから、ns-qPCR 技術によって流域中のリスクが評価できる。また、Wallkill River におけるふん便汚染の緩和のためには、一貫して観測されたヒトによる汚染に焦点を当てるべきである。