

第 398 回雑誌会

(Jul 12, 2023)

(1) Transition of antimicrobial resistome in wastewater treatment plant: impact of process configuration, geographical location and season

Honda, R., Matsuura, N., Sorn, S., Asakura, S., Morinaga, Y., Huy, T. V., Sabar, M. A., Masakke, Y., Yamamura, H. H. and Watanabe, T.

npj Clean Water, 46 (2023).

Reviewed by K. Tsuda

下水処理場 (WWTP) は薬剤耐性 (AMR) の貯蔵庫として機能し、処理放流水には一定量の薬剤耐性菌 (ARB) や薬剤耐性遺伝子 (ARG) が含まれることから、WWTP から水環境への AMR の拡散が懸念されている。また、流入下水と処理放流水の ARG 特性は異なる可能性がある。そのため、下水処理過程の違いが水環境へ異なる影響を及ぼすことは否定できない。そこで本研究では、地域、季節、および生物学的処理構成の異なる WWTP に着目し、下水処理過程の違いによる ARG の存在割合と組成、およびその変遷に影響を及ぼす主要因を検討した。調査対象は、日本の自治体が管理する生物学的処理の異なる 5 つの WWTP とし、各 WWTP の流入下水、活性汚泥、および処理放流水を夏季と冬季に採取した。その後、流入下水 50 mL と活性汚泥 50 mL を遠心分離し、ペレットから DNA を抽出した。また、処理放流水 200 mL をフィルターでろ過し、DNA を抽出した。その後、リアルタイム PCR を用い、16S rRNA を定量した。また、MiSeq により配列情報を取得し、細菌を分類した。さらに、HiSeq を使用したショットガンメタゲノム解析により各試料の ARG の存在量と組成を特定した。

下水処理過程を通じて細菌数は減少した。一方で、細菌が保有する ARG の存在割合は、5 つの WWTP に共通して流入下水 (32-50 %) から活性汚泥 (5-19 %) にかけて減少したが、処理放流水では活性汚泥と顕著な差は認められなかった。各処理過程における多剤耐性遺伝子の存在割合に着目したところ、全ての WWTP で活性汚泥中の存在割合が高かった。また、冬季よりも夏季において存在割合が顕著に高かった。ARG の組成を確認したところ、5 つの WWTP に共通して流入下水は臨床的に重要な ARG、活性汚泥は多剤耐性 ARG を多く含み、処理過程が ARG の組成を区別する主要因であると考えられた。この ARG の組成変化は、生物学的処理と最終沈殿処理水で発生していることが考えられる。また、流入下水においては、ARG の組成の季節差が確認されたことから、季節が二次要因であることが示唆された。これらの結果から、WWTP における ARG の存在量と組成は、処理過程で異なることが明らかになった。その中で、流入下水は季節性の影響を受けており、臨床における抗菌薬の季節的使用に起因する可能性がある。

(2) Optimization and performance evaluation of an automated filtration method for the recovery of SARS-CoV-2 and other viruses in wastewater

Angga, M.S., Malla, B., Raya, S., Kitajima, M., Haramoto, E.
Science of The Total Environment, **882**, 163487, 2023.

Reviewed by R. Nakamura

近年世界的に大流行した *SARS-CoV-2* は、罹患者の糞便中に存在することが報告された。そのため、下水中の *SARS-CoV-2* を検出することによって、地域感染の予防措置を講じる、下水疫学 (WBE) アプローチが広く検討されている。下水中のウイルス検出には、迅速かつ高効率なウイルス濃縮技術が必要である。そこで本研究では、高感度で迅速かつ簡便なウイルス濃縮技術である CP-Select 法の最適化を行い、PEG 沈殿法 (JSWE PEG 法・IDEXX PEG 法) と Direct capture 法との性能の比較を行った。CP-Select 法は、中空糸フィルターチップでウイルスを捕捉した後、CO₂ が注入された溶出液から発生するマイクロバブルを利用し、数秒で高濃度の溶出液を得ることができる。下水試料は、日本の 7 つの下水処理場と COVID-19 検疫施設の浄化槽から採水した。下水試料 40 mL に *SARS-CoV-2*, *Coliphage MS2* (MS2), *Pseudomonas phage φ6* (φ6) を添加したものを原水とした。原水の遠心分離の有無, Protease の添加の有無, Protease のインキュベート時間 (10 分間・30 分間), フィルターチップの孔径 (0.05 μm, 0.2 μm, 0.45 μm) の各条件を検討し、CP Select 法を最適化した。その後、下水試料 40 mL を最適化された CP Select 法, JSWE PEG 法, IDEXX PEG 法, および Direct capture 法で濃縮し、*SARS-CoV-2*, *Enteroviruses*, *NoVs-GI*, *NoVs-GII*, *PMMoV* の検出率, ならびに添加した MS2, φ6 の回収率から各手法の性能を比較した。QIAamp Viral RNA Mini Kit を用いて、140 μL 濃縮サンプルから 60 μL のウイルス遺伝子抽出液を得た。そして、RT-qPCR 法を用いてウイルス遺伝子の検出・定量を行った。

CP Select 法は、遠心分離後の上澄液に Protease を 500 μL 添加後に、10 分間インキュベートし、0.05 μm の中空糸フィルターチップで濃縮する方法が最も高い回収率を示した。また、最適化された CP Select 法を JSWE PEG 法, IDEXX PEG 法, および Direct capture 法と比較した結果、*SARS-CoV-2* は CP Select 法で 75% (6/8), その他の手法では 100% (8/8) で検出された。*PMMoV* と *NoVs-GII* は全ての手法で 100% (8/8) 検出された。*NoVs-GI* では、CP Select 法および Direct capture 法の検出率は 88% (7/8) であり、PEG 沈殿法 (JSWE PEG 法 : 50%, IDEXX PEG 法 : 75%) よりも高かった。また、CP Select 法における MS2 と φ6 の回収率は、それぞれ 9.4±7.4% と 2.1±1.1% となり、他の手法と比較して有意に低かったが、処理時間は約 5 分であり、他の手法より著しく短くなった。CP Select 法のウイルスの検出性能は既存の手法とほぼ同等であり、処理時間も極めて短時間であったことから、更なる最適化を図ることで、WBE に適用できることが示唆された。