

**(1) Wastewater-based prediction of COVID-19 cases using a highly sensitive SARS-CoV-2 RNA detection method combined with mathematical modeling**

Ando, H., Murakami, M., Ahmed, W., Iwamoto, R., Okabe, S., Kitajima, M.

Environment International, **173**, 107743, 2023.

Reviewed by R. Nakamura

近年世界的に大流行した *SARS-CoV-2* は、罹患者の糞便中から下水中に排出されることが報告された。現在、下水中の *SARS-CoV-2* RNA ( $C_{RNA}$ ) を検出することによって、下水道集水域の COVID-19 感染者数を予測する、下水疫学 (WBE) が注目されている。下水沈殿物から  $C_{RNA}$  を高感度で検出する EPISENS-S 法が既往の研究で開発されたが、雨水等の影響で希釈された下水には効果的ではなかった。また、流入下水中の  $C_{RNA}$  濃度から将来の COVID-19 新規感染者数を予測することができる精度の高い数理モデルの開発が望まれる。そこで本研究では、下水から高感度かつ簡便にウイルスを濃縮・検出できる EPISENS-M 法を開発し、感染者からのウイルス排出メカニズムを考慮した独自の数理モデル (PRESENS モデル) を開発した。EPISENS-M 法は、陰電荷膜 (孔径 0.8  $\mu\text{m}$ ) で *SARS-CoV-2* を捕捉し、ろ過膜から直接  $C_{RNA}$  を抽出した。その後、逆転写 qPCR を用いて  $C_{RNA}$  を定量した。流入下水試料は、2020 年 5 月~2022 年 6 月の期間、札幌市内の 2 つの下水処理場から毎週採水した (207 サンプル)。EPISENS-M 法の最適化のため、下水 300 mL と MilliQ 水 500 mL に、熱不活化 *SARS-CoV-2* を添加して最終濃度を  $1.12 \times 10^5$  copies/L に調整したものを試料水とした。この試料水に  $\text{MgCl}_2$  の最終濃度が 25 mM になるように調整した後、EPISENS-M 法を用いて  $C_{RNA}$  濃度を測定し、回収率を算出した。本法を 2 つの下水処理場の下水に適用し、 $C_{RNA}$  とトウガラシ微斑ウイルス RNA (PMMoV<sub>RNA</sub>) の濃度を測定した。その後、測定した  $C_{RNA}$  濃度の長期的データを用いて、PRESENS モデルの新規感染者数の予測精度を評価した。

EPISENS-M 法による  $C_{RNA}$  回収率は、流入下水 : 95.4~99.5%, MilliQ : 98.7~99.1% であり、極めて回収率が高かった。2021 年 3 月 3 日~2021 年 6 月 2 日の期間に、2 つの下水処理場から採水された 37 サンプルの PMMoV<sub>RNA</sub> の平均濃度は、EPISENS-M 法 :  $1.25 \times 10^8$  copies/L, EPISENS-S 法 :  $5.05 \times 10^7$  copies/L であり、EPISENS-M 法が有意に高かった。*SARS-CoV-2* の陽性率は、EPISENS-M 法と EPISENS-S 法で、それぞれ 100% (37/37) と 91.9% (34/37) であったが、両者の  $C_{RNA}$  濃度に有意な差は認められなかった。新規感染者数に基づいた、本法の  $C_{RNA}$  検出確率を推定すると、人口 10 万人あたりの新規感染者数が 0.69 人/日の場合、下水から  $C_{RNA}$  を 50% の確率で検出できることが判明した。また、開発した PRESENS モデルは、採水日から 5 日後までの新規感染者数を高い精度で予測可能であると実証された。本研究で確立した EPISENS-M 法と PRESENS モデルの組み合わせによる一連の感染者数予測手法は、感染動向の予測ツールとして、社会的活用が期待される。

## (2) Titanium Ions Inhabit the Bacteria in Vase Solutions of Freshly Cut *Gerbera jamesonii* and Extend the Flower Longevity

Li, C.X., Fan, Y.F., Luan, W., Dai, Y., Wang, M.X., Wei, C.M., Wang, Y., Tao, X., Mao, P. and Ma, X.R.

*Microbial Ecology*, 77, 967-979 (2019).

Reviewed by M. Ogori

チタンは殺菌・静菌作用を有し、植物の成長促進効果をもたらす。しかし、チタンは土壌中では酸化物と結合した状態であり、植物に作用しないことから、安定性を有するイオン性チタンがチタンの代替物として考えられている。そこで本研究では、チタンイオンの添加によるガーベラの切り花の寿命とチタンイオンによる抗菌活性を検討した。試料のガーベラは、中国の成都市の花市場で購入した。次に、対照群（CK 群）とチタンイオン処理群（Ti 群）をそれぞれ 3 サンプルずつ作成した。約 30cm に切断したガーベラ 10 本について、対照群（CK 群）は、脱イオン水（200 mL）を添加した三角フラスコで 10 日間（5 日目に脱イオン水 100 mL を追加）培養した。Ti 群は、脱イオン水中のチタンイオン濃度が 8 mg/L になるように調整した。10 日間の培養後、溶液 1 mL を採取し、LB 培地を用いて 5 日間培養し、細菌数を計数した。さらに、花器水から DNA を抽出し、16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域を標的とした菌種同定を実施した。

茎の萎れ具合から寿命の違いを比較したところ、室温（23–25 °C）で 7 日間培養後の Ti 群（満開：8±1 輪、萎れ：2±1 輪）は、CK 群（満開：6±1 輪、萎れ：4±1 輪）と比較して、ガーベラの寿命が長かった。また、CK 群の細菌数（ $3.78 \pm 1.45 \times 10^8$  CFU/mL）は、Ti 群の細菌数（ $2.2 \pm 0.2 \times 10^5$  CFU/mL）と比較して約 1700 倍と有意に高かった。CK 群と Ti 群の細菌叢を比較したところ、CK 群の菌叢は多様であり、 $\beta$  多様性解析を実施したところ、CK 群と Ti 群の類似度は低く、CK 群間での類似度も低かった。Ti 群の 3 サンプルは、CK 群と比較して、プロットの距離が近く、チタンイオンが細菌に選択圧を与えることが示唆された。CK 群と Ti 群において優占的であった細菌は、腸内細菌科（CK 群：20.2%，Ti 群：23.2%）、*Pseudomonas veronii*（CK 群：16.0%，Ti 群：20.0%）、*Pseudomonas* sp.（CK 群：5.84%，Ti 群：15.8%）であった。また、Ti 群では、*Flavobacterium succinicans* の存在割合が約 53 倍（CK 群：0.06%，Ti 群：3.18%）、*Pseudomonas* sp. が 2.7 倍（CK：5.84，Ti 群：15.8%）になった。一方で、Ti 群は、ほとんどの細菌分類群（37/58）で存在割合が減少し、チタンイオンによる細菌の抑制は効果的であった。これらの結果から、チタンイオンは、細菌数を減少させることでガーベラの寿命を延ばし、細菌の多様性を低下させることが明らかとなった。