

第 410 回雑誌会

(May. 31, 2024)

(1) Temporal and spatial relationships of CrAssphage and enteric viral and bacterial pathogens in wastewater in North Carolina

Wu, H., Juel, M. A. I, Eytcheson, S., Aw, T. G., Munir, M., Molina, M.

Water Research, **239**, 120008, 2023.

Reviewed by R. Nakamura

下水に起因する腸管疾患は、公衆衛生における重要な懸念事項の一つである。近年、新たなヒト関連糞便汚染指標として cross-assembly bacteriophage (crAssphage) が注目されている。メタゲノム解析によって crAssphage が人の腸内から大量に検出され、人の糞便汚染と強く関連していることが報告された。しかし、下水中の crAssphage と腸内病原微生物との相関や季節および地理的な影響に関する報告はない。そこで本研究では、流入下水中の腸内病原ウイルス (HAdV : human adenoviruses, Enterovirus, Norovirus) および病原細菌 (*stx2*, *Campylobacter*, *Salmonella*) の微生物水質指標としての crAssphage の有用性を検討した。また、crAssphage, 腸内病原ウイルス, および病原細菌の時間的・空間的変動を調査することを目的とした。流入下水は、2021 年 1 月~2022 年 2 月の期間、ノースカロライナ州にある 4 つの下水処理場から毎週採水した (147 samples)。採水された流入下水 3 L をデットエンド中空糸限外ろ過装置で濃縮し、溶出液 200 mL を得た。病原細菌は溶出液 20 mL を 0.45 μm フィルターでろ過し、Qiagen PowerLyzer PowerSoil kit を用いて DNA を抽出した。crAssphage および腸内病原ウイルスは、ビーフェキス・セライト法を用いて二次濃縮し、0.2 μm フィルターでろ過した後、Qiagen All Prep PowerViral Kit を用いて DNA と RNA を抽出した。各 DNA および RNA 抽出液は、qPCR 法および逆転写 qPCR 法を用いて遺伝子数の定量を行った。

crAssphage は、すべての流入下水試料から高濃度 (2.46×10^8 gc/L) に検出され、腸内病原ウイルスおよび病原細菌の濃度と比較して、 $10^2 \sim 10^4$ gc/L 高いことが確認された。crAssphage, 腸内病原ウイルス, および病原細菌についてスピアマンの順位相関を行った結果、crAssphage は HAdV, Enterovirus, Norovirus, *Campylobacter*, *Salmonella* と有意な相関が確認された ($p < 0.05$)。しかし、crAssphage は *stx2* と有意な相関は確認されなかった ($p = 0.77$)。さらに、調査したすべての微生物の季節と空間変動について一元配置分散分析を行った結果、季節間で微生物濃度に有意差が確認された ($p < 0.01$)。特に、crAssphage は春から夏の濃度と比較して秋から冬の濃度が有意に高かった ($p < 0.05$)。しかし、crAssphage, HAdV, Enterovirus, Norovirus, *Campylobacter*, *Salmonella* は下水処理場間で有意差は確認されなかった。これは、crAssphage が下水処理場の規模、下水集水域の都市化のレベルによる影響を受けず、空間変動が小さいことを示している。以上の結果から、crAssphage は水環境中の微生物水質指標として適していることが示唆された。

(2) Horizontal gene transfer in activated sludge enhances microbial antimicrobial resistance and virulence

Fang, G.Y., Liu, X.Q., Jiang, Y.J., Mu, X.J. and Huang, B.W.

Science of the Total Environment, **912**, 168908, 2024.

Reviewed by S. Tamai

活性汚泥処理は、下水中の有機物を除去する上で重要な技術である。しかしながら、下水処理場には薬剤耐性遺伝子（ARG）や病原遺伝子（VFG）を保有する細菌が存在することから、下水処理場における遺伝子の水平伝播（HGT）が懸念されている。特に、活性汚泥中は細菌密度が極めて高く、水中に存在する重金属や抗菌薬によって HGT が促進されることから、ARG や VFG を保有する細菌が蔓延するリスクが極めて高い。そこで本研究では、活性汚泥サンプルのメタゲノム解析を実施し、下水中の細菌における ARG と VFG の拡散の実態を調査することで、ヒトの健康に対するリスクを評価した。メタゲノム解析には、香港の下水処理場の活性汚泥処理地点から 9 年間にわたって収集された 97 個のゲノムデータを使用した。DNA 抽出には Fast DNA spin kit for soil を使用し、Illumina HiSeq 4000 で配列を取得した。全てのゲノムから 478 個のメタゲノムアセンブリゲノム（MAG）を作成し、MAG から HGT の履歴、ARG、および VFG の検出を行った。

HGT の履歴について解析したところ、1056 例の HGT イベントが確認され、その内の 59 例（5.6%）は伝播後の経過時間が少なく、伝播履歴の新しいことが明らかになった。活性汚泥中の伝播履歴の新しい遺伝子の割合は、既往の研究における海水やヒト腸内細菌叢での割合（<1%）よりも有意に高かった。活性汚泥処理槽では、細菌のストレス因子が多いことから、頻繁に HGT が起こっていると推察される。また、HGT に関連した主要な細菌は Alphaproteobacteria（35.4%）、Gammaproteobacteria（19.5%）、および Bacteroidia（13.4%）であり、ほとんどの HGT は、同一の分類群の細菌の間で行われ、異なる分類群での伝播は稀であった。伝播した遺伝子の機能を検索したところ、糖質・アミノ酸代謝や遺伝子の保存・伝達にかかわる遺伝子が頻繁に検出された。すなわち、細菌はこれらの遺伝子を獲得することによって、活性汚泥中での生存が有利になることが示唆された。続いて、ARG と VFG の伝播イベントを検索したところ、それぞれ 30 例と 27 例の伝播イベントが確認された。また、ARG と VFG は水平伝播した遺伝子中での存在量が多く、活性汚泥中において ARG と VFG の伝播が促進されたことを示している。一部の細菌が HGT に深く関連していたことから、薬剤耐性菌や病原細菌の蔓延を防ぐためには、活性汚泥中の細菌叢の高度な管理が重要である。