

琵琶湖・淀川水質保全機構 R2年度成果報告会

2021.3.18

淀川水系における 各種ふん便汚染源追跡指標 (微生物遺伝子マーカー)の調査

大阪健康安全基盤研究所
衛生化学部 生活環境課 肥塚利江

・河川水等は、水道原水やレクリエーション水として用いられており、そのふん便汚染状況を把握することは、地域住民の健康保全上重要

・河川水等には、下水処理場や浄化槽の処理水、動物飼育施設の廃水、また野生動物の排泄物等、ヒトをふくめ種々の動物由来のふん便汚染源がある

・クリプトスポリジウム等のふん便由来の病原微生物は宿主特異性があり、汚染源によりヒトへの感染性に違いがあるため、ふん便汚染の汚染源の判別も重要

・ふん便汚染の指標 水道基準:大腸菌数
環境基準:大腸菌群数(環境省⇒大腸菌数を導入を検討)
水浴場の基準:ふん便性大腸菌群数

→ いずれにしても、ふん便汚染の由来を知ることはできない

・近年、腸内細菌・腸内ウイルスの各種微生物遺伝子マーカーをふん便汚染源追跡指標(Microbial source tracking markers for detection of fecal contamination)として利用し、汚染源の推定を行う手法が用いられるようになってきている。

・このような腸内微生物の遺伝子マーカーでふん便汚染源を推定できるとする根拠は、それらが食事や生理機能の違いにより、人間や動物の腸に特有であるということによっており、海外や他の地域で有用であったものが有用であるかどうかは不明である。

→ 今回、いくつかの微生物遺伝子マーカーのふん便汚染源指標としての有用性の確認を行ったうえで、淀川水系の河川水の調査を行った。

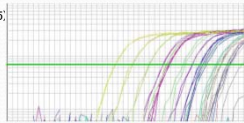
使用した微生物遺伝子マーカー

以下のprimer/probeを用いたRealTimePCR

ヒト用マーカー; 細菌系マーカー(HF183/ BacR287)¹⁾
ウイルス系マーカー(CrAssphage CPQ_056)²⁾

動物用マーカー
反芻動物用マーカー; 細菌系マーカー(Bac_R)³⁾
ブタ用マーカー; 細菌系マーカー(Pig2_Bac)⁴⁾

全てのふん便用マーカー; 細菌系マーカー(All_Bac)⁵⁾



1) Shanks OC, et al. (2016)
2) Ahmed W, et al. (2019)
3) Geong H, et al. (2006)
4) Mizukita S, et al. (2009)
5) Layton A, et al. (2006)

- ①各種汚染源追跡指標の有用性の確認
- ②淀川水系猪名川上流域の浄化槽面整備地域の浄化槽処理水流入前後において1年を通じて調査
- ③淀川本流3地点において調査

①各種汚染源追跡指標の有用性の確認

ヒト用マーカー; 細菌系マーカー(HF183/BacR287)
ウイルス系マーカー(CrAssphage CPQ_056)

ヒトふん便を含む試料; 浄化槽処理水等
ヒトふん便を含まない試料; 野生動物(シカおよびイノシシ)のふん便

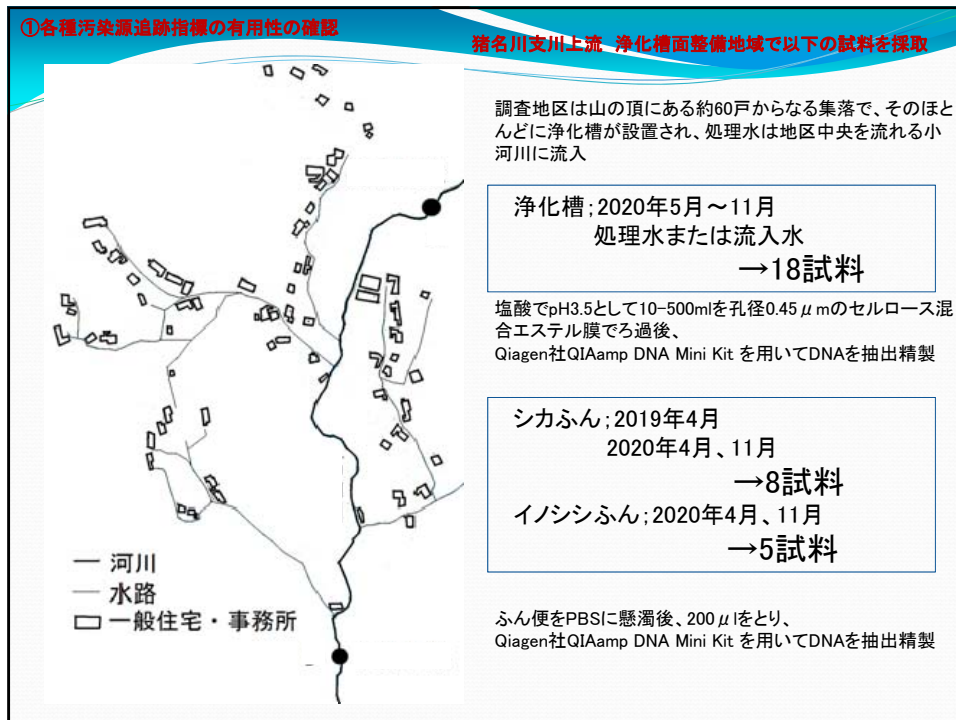
動物用マーカー; ・シカ→反芻動物用マーカー(Bac_R)
・イノシシ→ブタ用マーカー(Pig2_Bac)

各種動物ふん便を含む試料;
野生動物(Bac_Rについてはシカ、 Pig2についてはイノシシ)のふん便
各種動物ふん便を含まない試料; 浄化槽処理水等および
野生動物(Bac_Rについてはイノシシ、 Pig2についてはシカ)のふん便

感度(真陽性率; 陽性を陽性と判定した割合)
= A/(A+C)

特異度(真陰性率; 陰性を陰性と判定した割合)
= D/(B+D)

		対象物	
		あり	なし
検査	+	A(真陽性)	B(偽陽性)
	-	C(偽陰性)	D(真陰性)



結果

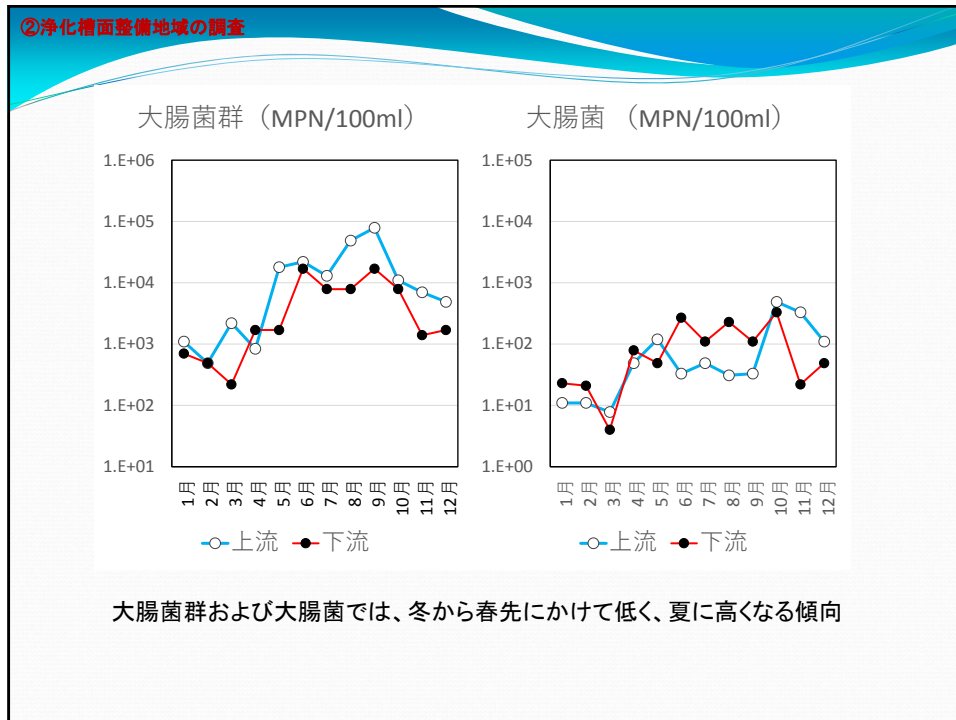
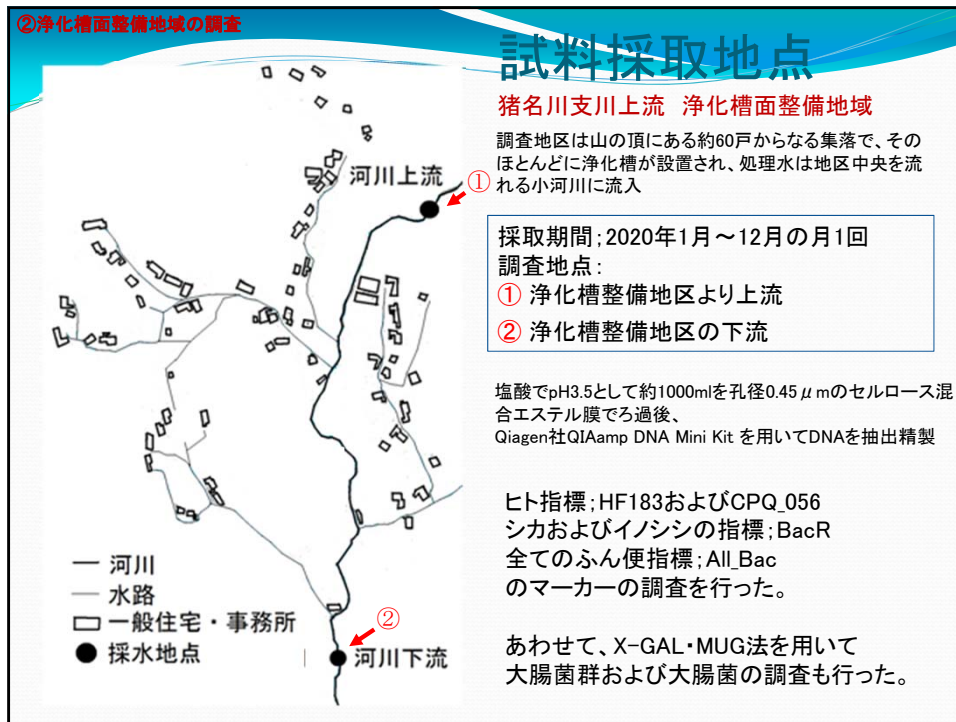
①各種汚染源追跡指標の有用性の確認

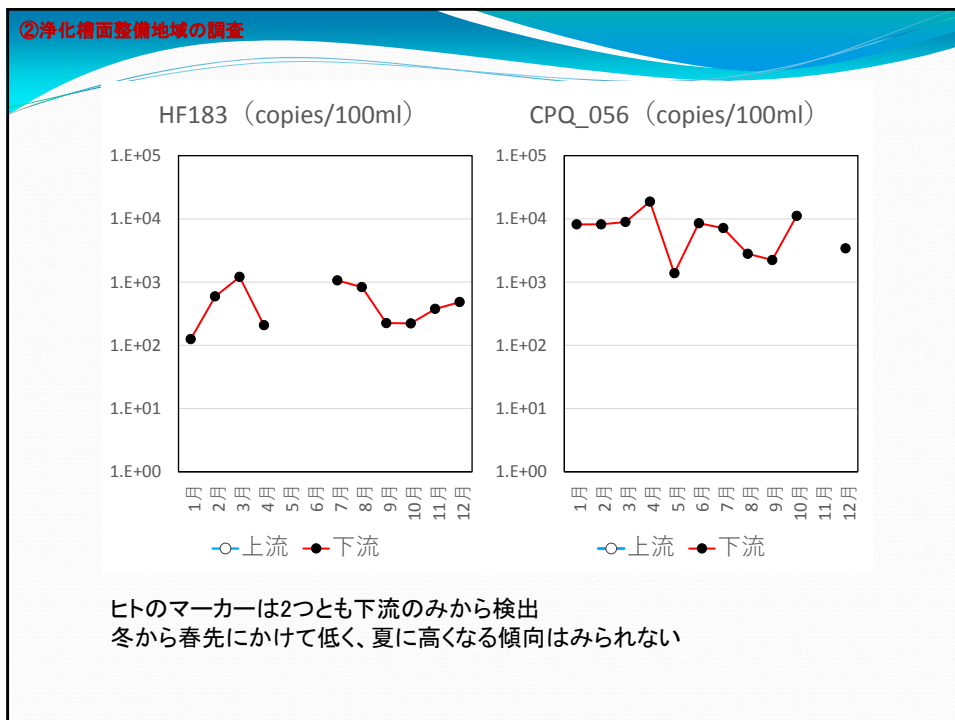
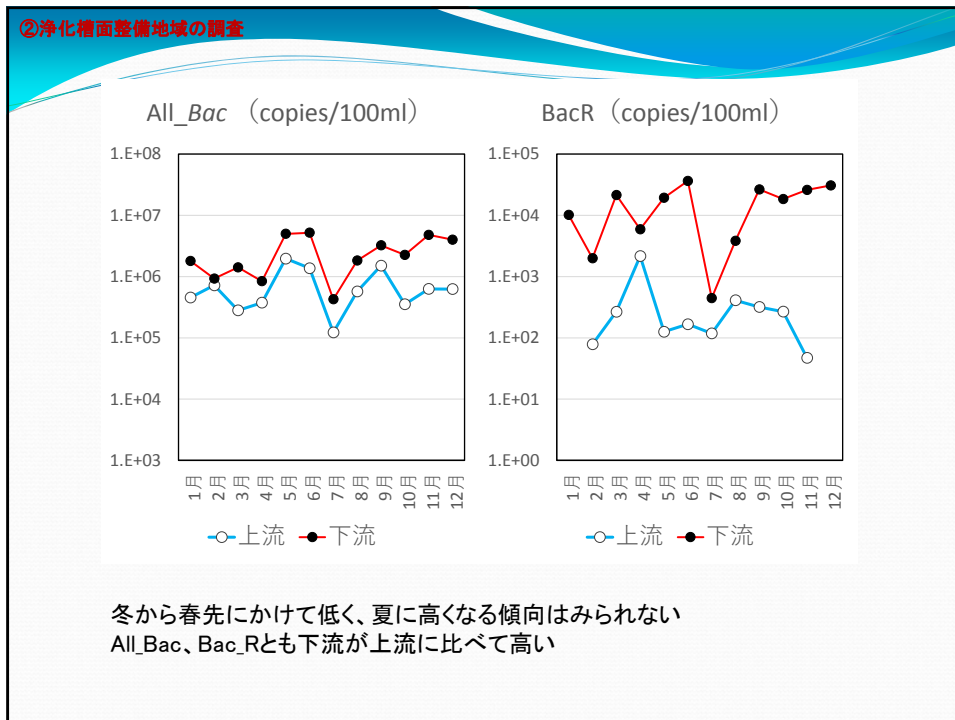
試料		ヒト特異			反芻動物特異	ブタ特異
		AllBac	HF183	CPQ_056	BacR	Pig2
浄化槽 処理水・流入水	陽性数/試料数	18/18	18/18	8/18	0/18	-
	陽性率(%)	100%	100%	44%	0%	-
シカ糞	陽性数/試料数	8/8	5/8	0/8	8/8	0/6
	陽性率(%)	100%	63%	0%	100%	0%
イノシシ糞	陽性数/試料数	5/5	2/5	0/5	5/5	0/3
	陽性率(%)	100%	40%	0%	100%	0%

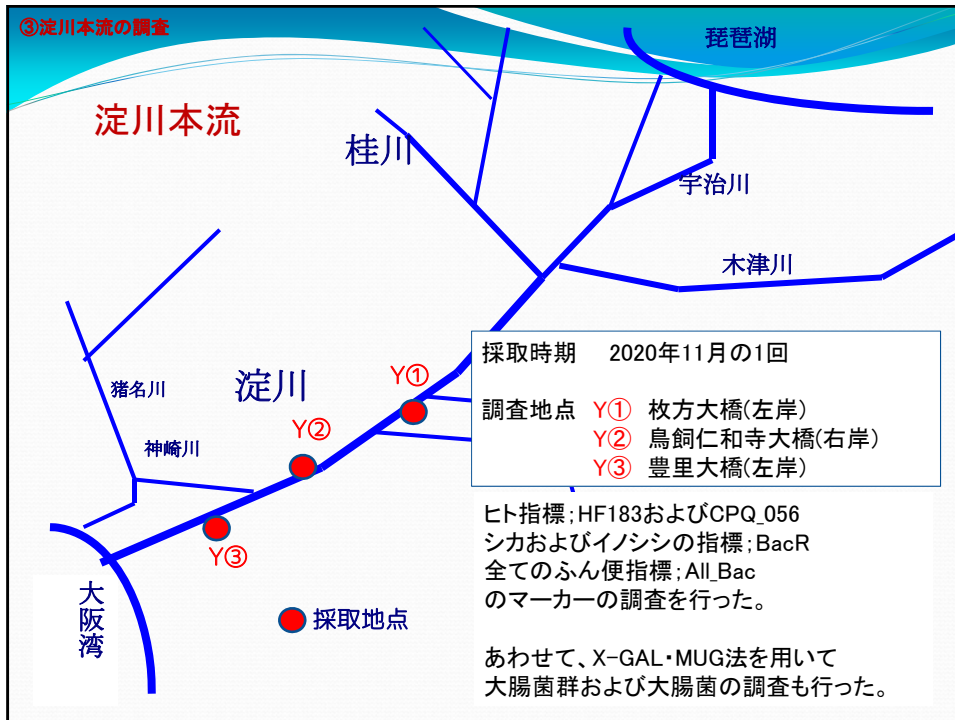
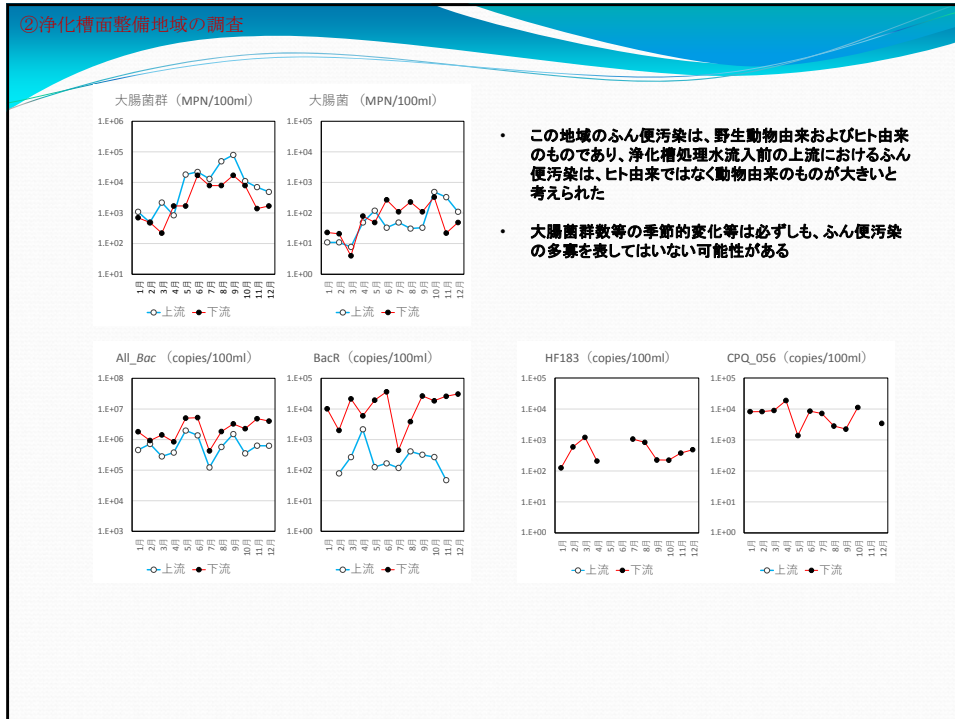
	AllBac	HF183	CPQ_056	BacR	シカ+イノシシ
感度	100%	100%	44%	100%	100%
特異度	-	46%	100%	78%	100%

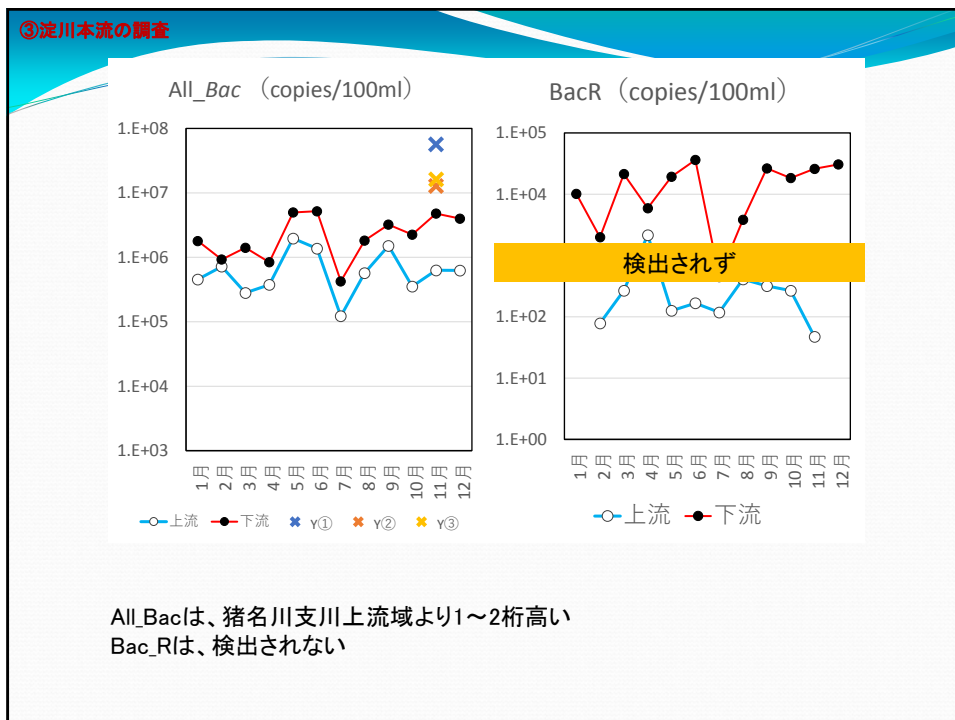
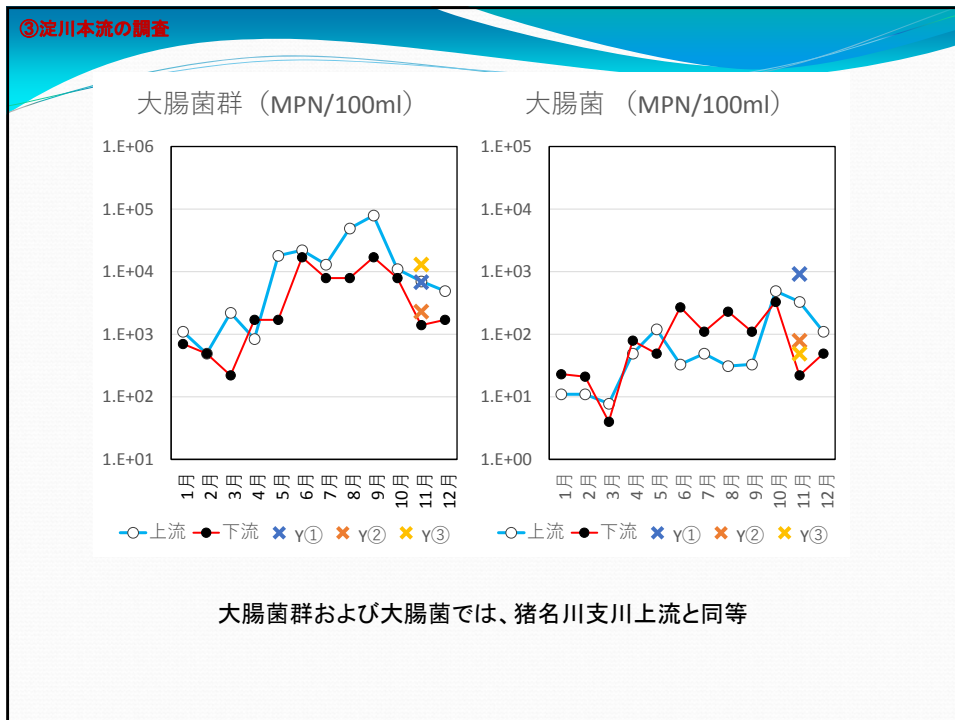
ヒトふん便マーカーとしては、
HF183およびCPQ_056を併用

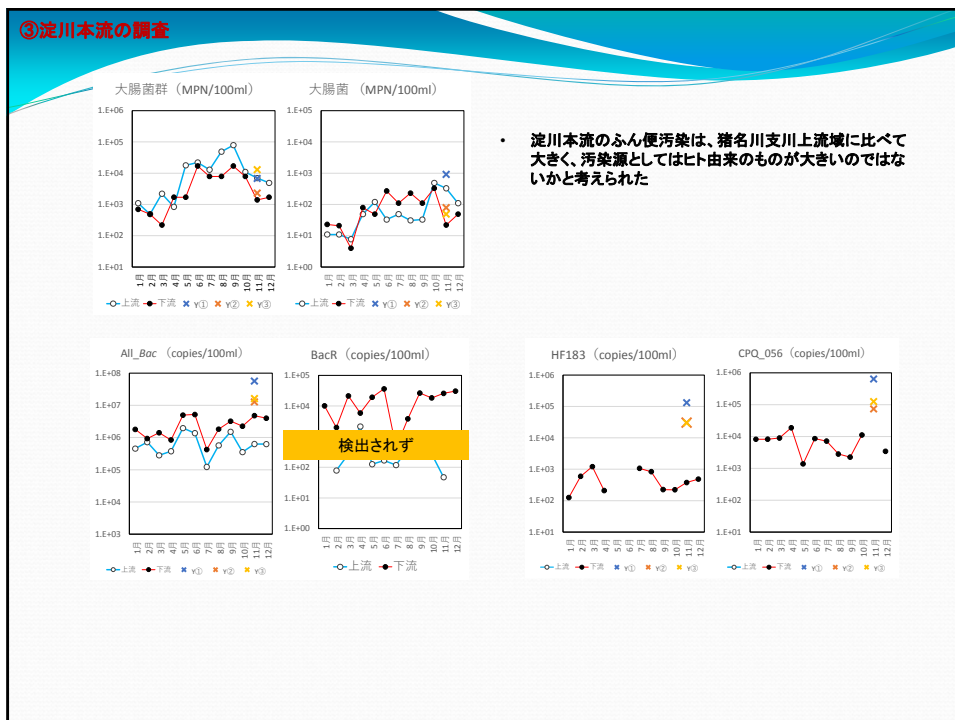
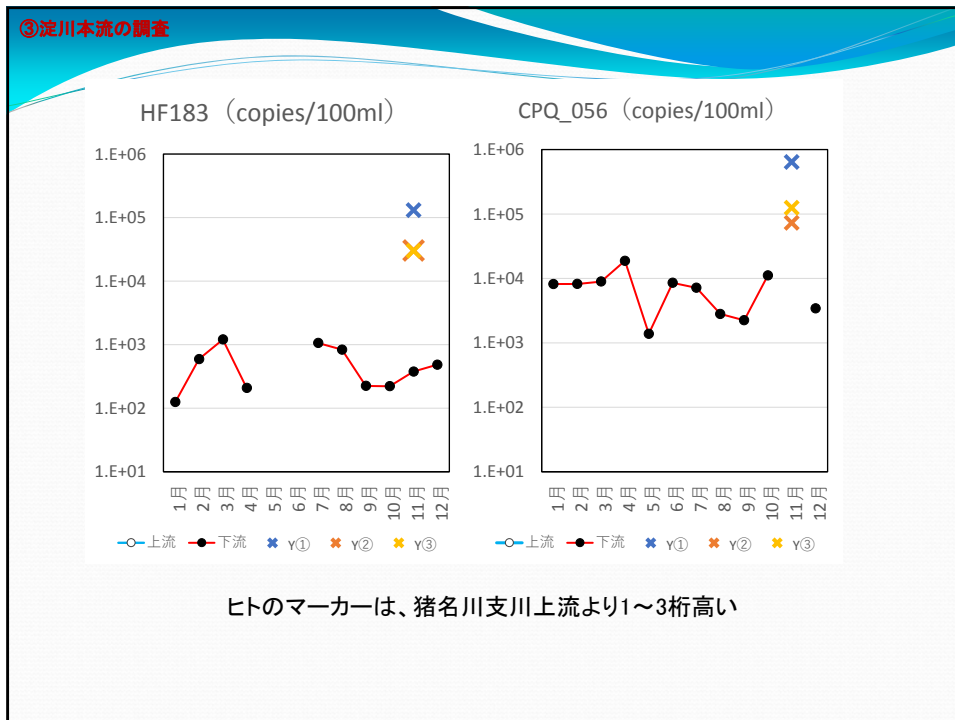
BacRは、ここではシカおよび
イノシシのマーカーとして使用











まとめ

①各種汚染源追跡指標の有用性

- ブタ用マーカー(Pig2_Bac)は、イノシシ用としては使用不可
- 反芻動物用マーカー(Bac_R)は、シカおよびイノシシ用として使用可
- 2つのヒト用マーカー(HF183およびCPQ_056)は、併用

②猪名川支川上流域の浄化槽面整備地域の浄化槽処理水流入前後における調査

- この地域のふん便汚染は、野生動物由来およびヒト由来のものであり、浄化槽処理水流入前の上流におけるふん便汚染は、ヒト由来ではなく動物由来のものが大きいと考えられた
- 大腸菌群数等の季節的変化等は必ずしも、ふん便汚染の多寡を表してはいない可能性がある

③淀川本流の調査

- 淀川本流のふん便汚染は、猪名川支川上流域に比べて大きく、汚染源としてはヒト由来のものが大きいのではないかと考えられた

謝辞

本研究は、公益財団法人 琵琶湖・淀川水質保全機構「令和2年度水質保全研究助成」により行った。ここに記して、感謝いたします。

河川、浄化槽および動物ふん便の採取に多大なるご協力いただきました、豊能町の中野仁 様、百合竜三 様に感謝いたします。

ご静聴ありがとうございました。