

下水中の病原ウイルス調査

小宮義人* 藤原隆司** 小越眞佐司***

1. はじめに

近年、水の安全性への関心が高まるなか、下水道の普及拡大にともなう水循環における下水処理水の重要性が増している。下水道でもその役割に応じた衛生学的安全性を確保することが求められており、下水道の病原微生物の実態とともに健康リスク低減の効果を明らかにし、必要に応じて対策を取ることが重要となる。

下水処理研究室では昨年度発生した新型インフルエンザウイルスの流入状況及び下水処理場の流入水のノロウイルス濃度と感染性胃腸炎患者数との関係について調査したので報告する。

2. 下水道における新型インフルエンザウイルスの実態調査

2.1 経緯

新型インフルエンザ(図-1)は2009年4月24日、WHOより初めて発生が報告されるとともに世界中に感染が拡大し、6月11日にパンデミックが宣言された。

インフルエンザウイルスは感染者の体内で増殖したあと、くしゃみ、鼻水、咳などとともに体外に排出される。また、報告例は少ないものの感染者の糞便からインフルエンザウイルスが検出された例²⁾もあることから、下水道においてもこれらの排泄物とともにインフルエンザウイルスが流入していることが考えられる。

WHOでは高病原性鳥インフルエンザの国のパンデミック対策についてヒトから高レベルでウイルスが排出されるようなアウトブレイク地域における下水の管理方法について考慮すべきであるとしている³⁾。

国内の下水道事業における新型インフルエンザ対策では自治体等で事業継続計画の策定がすすめられている。しかしながら下水そのものの流入状況や下水処理施設での除去効果は、高病原性イン

フルエンザウイルスの感染例が少ないため知見は乏しく、季節性インフルエンザウイルスにおいてもヒトでの水系感染が発生していないことからこれまで国内外において調査例がなく不明であった。

一方で今回発生した新型インフルエンザは多くの方が免疫をもっておらず、これまでの季節性インフルエンザより感染規模が大きくなり、下水道においてはより高い濃度でインフルエンザウイルスが流入してくることが予想された。

そこで下水道及び放流先への影響を検討するために、国内の下水処理場の流入水及び放流水中の新型インフルエンザウイルスの濃度について調査した。

2.2 調査方法

2.2.1 調査期間及び対象処理場

当初、国内における流行は秋以降に初期の流行規模を超える2回目の流行が想定されていた。そこで、この時期に該当する2009年10月から2010年1月にかけて下水処理場の流入水、放流水をそれぞれ5回、採水・分析した。

調査対象施設は、国立感染症研究所感染症情報センター及び地方衛生研究所で公開しているサーベイランス情報でインフルエンザ患者発生報告数を確認しながら、各自治体の協力のもと、対象下水処理場2カ所を決定した。対象処理場のA処理場は処理人口が約50万人、処理方式が標準活性汚泥法+ろ過+塩素消毒であり、B処理場は処理人口が約20万人、処理方式が(標準活性汚泥法及び高度処理活性汚泥法)+ろ過+塩素消毒となっている。

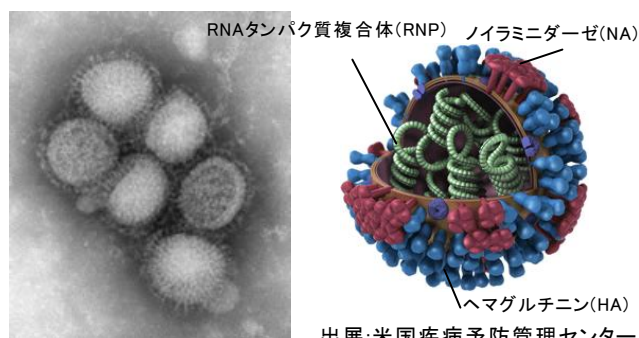


図-1 新型インフルエンザウイルス

Prevalence of Novel influenza A (H1N1) virus and Norovirus in wastewater treatment plants

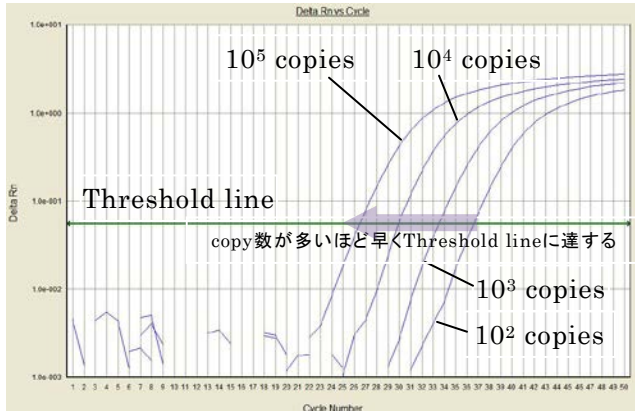
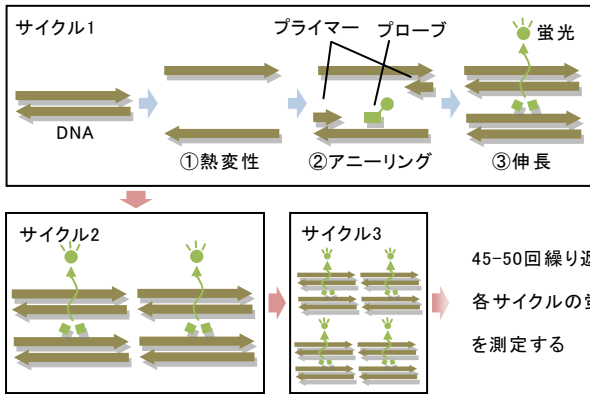


図-2 リアルタイムPCR (TaqMan法)の概略

2.2.2 分析方法

試料水中の新型インフルエンザウイルスの濃縮には陰荷電膜法⁴⁾を用いた。市販のキットでウイルスのゲノムRNA^{*}を抽出し、逆転写反応によりゲノムRNAに相補的なDNAを合成した後、リアルタイムPCR法で新型インフルエンザウイルス濃度を測定した。

図-2にリアルタイムPCRの概略を示す。リアルタイムPCRはPCRの増幅量をリアルタイムで計測して定量する方法であり、指数関数的に増幅が起こる領域での一定の増幅産物量に達するサイクル数を測定し、既知濃度のサンプルと比較して目的のDNA量を算出する。

新型インフルエンザウイルス検出用のプライマー及びプローブの設計は「CDC protocol of real time RT-PCR for influenza A(H1N1)」⁵⁾に従った。

2.3 調査期間における流行状況

国内における流行は5月の集団感染以降、小康状態を経たのち、晩夏から初秋にかけ次第に患者報告数が増加しはじめた。第40週前後から急速に増加して11月から12月にかけて、流行のピークを形成した(図-3)。季節性インフルエンザの流行ピークは年によって違いがあるが、1月下旬から2月に集中する。今回の新型インフルエンザの流行は例年とは異なる流行パターンであった。調査対象地域の定点あたりのインフルエンザ患者報告数の推移は全国的な流行の傾向とほぼ一致していた。A処理場の地域では2008/2009シーズン(季節性インフルエンザの流行)と比較して流行ピークは高くないものの流行が長期間続いた。B処理場の地域では2008/2009シーズンと比較してやや流行ピークが高く流行が長期間続き、どちらの地

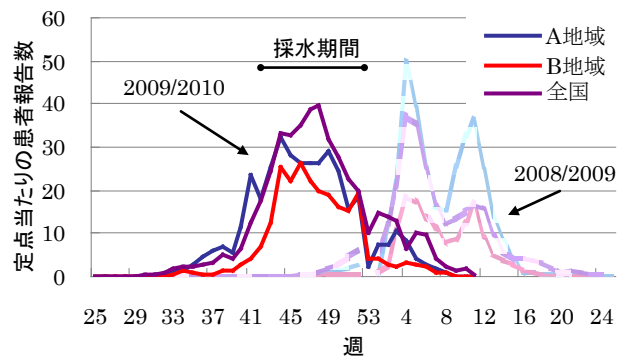


図-3 定点辺りの患者報告数(感染症情報センター及び衛生研究所の公開データを図化)

域も2008/2009シーズンと比べて流行規模が大きかったことが窺えた。2009/2010シーズンの流行株はほぼ新型インフルエンザウイルスに置き換わっており、今回の調査期間は国内初の大規模流行と一致するため、本調査の結果は下水中の新型インフルエンザウイルス濃度が最も高くなる時期の流入及び処理状況を示していると考えられる。

2.4 下水処理場における流入及び処理状況

調査結果を表-1に示す。A処理場では流入水5検体中2検体が陽性であり、濃度はそれぞれ3.4、5.0 copies/mlであった。放流水5検体はすべてが陰性であった。B処理場では流入水サンプル5検体中4検体が陽性であり、陽性検体の濃度の範囲は1.1~5.0 copies/mlであった。放流水は5検体すべてが陰性であった。下水処理場における除去率は放流水中の濃度が全て検出下限値以下であり正確な値は不明であったが、流入水が陽性であった検体の濃度と、同日の採水日の放流水の検出下限値の濃度を比較した結果、下水処理による除去効果は98%以上であったと推察される。

今回の調査は流行期に実施したため、流入水の

*土木用語解説：ゲノムRNA

表-1 下水処理場の流入水及び放流水における新型インフルエンザウイルス濃度

処理場	採水日	単位:copies/mL		処理場	採水日	単位:copies/mL	
		流入水	放流水			流入水	放流水
A	2009/10/22	5.0	N.D.	B	2009/10/14	4.4	N.D.
	2009/11/05	N.D.	N.D.		2009/11/06	3.9	N.D.
	2009/12/05	3.4	N.D.		2009/11/10	5.0	N.D.
	2009/12/08	N.D.	N.D.		2009/12/15	1.1	N.D.
	2009/12/22	N.D.	N.D.		2010/01/05	N.D.	N.D.
陽性数		2/5	0/5	陽性数		4/5	0/5

N.D.: Not Detected

新型インフルエンザウイルス濃度が最も高かったと考えられるが、陽性検体の濃度は同時に調査したアデノウイルス濃度($6.4 \times 10^3 \sim 1.7 \times 10^4$ copies/ml)と比較して1/1,000～1/10,000程度の低濃度であった。また今回の濃度は検出したゲノムの濃度であるため、感染力を失ったウイルスのゲノムを含んでいる可能性があり、感染力があるウイルス濃度は更に低い値となることも考えられる。

3. 感染性胃腸炎報告者数とノロウイルスの下水流入濃度の関係

3.1 経緯

ノロウイルスは感染性胃腸炎の原因となる病原微生物のひとつであり、2006/2007シーズンの大流行により国内において広く認知されるようになった。

感染性胃腸炎は「細菌又はウイルスなどの感染性病原体による嘔吐、下痢を主症状とする感染症」と定義されており、ノロウイルス以外にもロタウイルス、腸管アデノウイルス等のその他のウイルスによるものや、サルモネラ菌、カンピロバクターなどの細菌類によるものが含まれている。

感染性胃腸炎の年間傾向は例年11月より患者報告数が増え始め、12月にピークを迎えたのち、3月頃まで緩やかな流行が続き、徐々に減少することが多い。各時期の主な原因は12月のピークがノロウイルス、晩冬から春にかけてはノロウイルスとロタウイルス、夏は細菌によるものが多いと考えられている。

下水中のノロウイルス濃度は感染者が増える冬期に上昇することが明らかとなっている⁶⁾。そこで流入下水中のノロウイルス濃度と感染性胃腸炎患者報告数の関係について調査した。

3.2 調査方法

3.2.1 調査期間及び対象処理場

B下水処理場の一部の幹線の流入水を対象とし、2008年05月から2009年06月の期間調査を実施した。分析は2008年05月から2008年09月まではほぼ1回/月(8月は未実施)、2008年10月以降は2回/月の頻度で実施した。

3.2.2 分析方法

基本的な操作は2.2.2と同様である。ノロウイルス検出用のプライマー及びプローブの設計は「ノロウイルスの検出法について」⁷⁾に従った。ノロウイルス濃度は遺伝子群GI型とGII型の合計とした。

3.3 感染性胃腸炎患者報告数と流入水中のノロウイルス濃度

感染性胃腸炎の報告者数と流入水のノロウイルス濃度の推移を図-4に示す。感染性胃腸炎患者報告数が比較的少ない時期においても下水中からはノロウイルスが検出された。感染性胃腸炎患者報告数が増加し始める44週(2008)以降は下水中のノロウイルス濃度も高くなっており、調査期間中で約1,000倍の濃度差があった。

ノロウイルスは感染後2日程度で発症し、症状が収まってからも数週～1ヶ月程度は感染者の糞便中にウイルスの排出が続く。したがって、下水中のノロウイルス濃度は試料水を採取した週に発生した感染者だけでなく、数週間前の感染者の影響も受けていると考えられる。

図-5は相関性が最も高かった、採取前2週間の患者報告数と流入下水中のノロウイルス濃度との比較である。A点は医療機関の休みが多い、2009年1週目を含むデータであるため、実際の相関はより高いと思われる。この結果は患者数の情報と排出特性(排出期間・濃度)から下水中の濃度の推

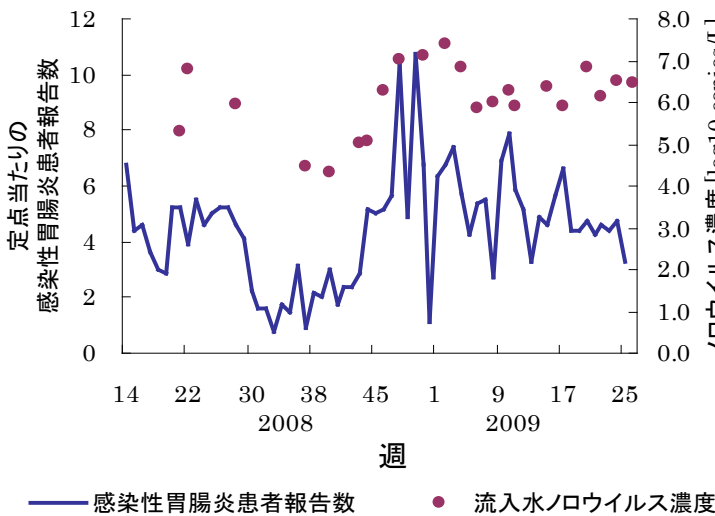


図-4 下水流入水のノロウイルス濃度と感染性胃腸炎患者報告数の推移

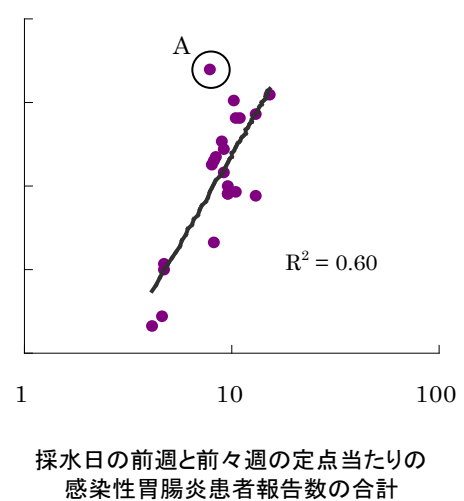


図-5 下水流入水のノロウイルス濃度と感染性胃腸炎患者報告数の関係

定が可能であることを示唆しており、また、逆に濃度から流行状況を推測できると考えられる。

4. まとめ

下水中の新型インフルエンザウイルス濃度は流行期においても極めて低く、下水処理により、さらに98%以上除去されて放流されていた。

下水中のノロウイルス濃度の年間変動は約1,000倍であったが、この濃度の対数は感染性胃腸炎患者報告数の対数と相関が認められた。

謝 辞

本調査にご協力いただいた各自治体関係者の皆様に感謝申し上げます。

参考文献

1) WHO: Influenza-like illness in the United States and Mexico, 2009
 2) Martin C.W. Chan M., Lee N., Chan P., Leung

T.F., Joseph and Sung J.: Fecal detection of influenza A virus in patients with concurrent respiratory and gastrointestinal symptoms, Journal of Clinical Virology Vol.45 pp.208-211 2009
 3) WHO: QUESTIONS AND ANSWERS ON AVIAN INFLUENZA In relation to animals, food and water, 2007
 4) Katayama, H., Haramoto, E., Oguma, K., Yamashita, H., Tajima, A., Nakajima, H. and Ohgaki S.: One-year monthly quantitative survey of noroviruses, enteroviruses, and adenoviruses in wastewater collected from six plants in Japan, Water Research, Vol.42 pp.1441-1448, 2008
 5) WHO: CDC protocol of realtime RTPCR for influenza A(H1N1), 2009
 6) 国土技術政策総合研究所：処理水、再生水の衛生学的水質検討プロジェクト活動報告書、国土技術政策総合研究所資料、第460号、pp.16～17、2008
 7) 厚生労働省：ノロウイルスの検出法について、食安監発第1105001号、2003

小宮義人*



日本ヘルス工業株式会社ジェネラルマネジメント本部水処理管理室 (前 国土交通省国土技術政策総合研究所下水道研究部下水処理研究室交流研究員)
 Yoshihito KOMIYA

藤原隆司**



国土交通省国土技術政策総合研究所下水道研究部下水処理研究室 研究官
 Takashi FUJIWARA

小越眞佐司***



国土交通省国土技術政策総合研究所下水道研究部下水処理研究室室長、工博
 Masashi OGOSHI Ph.D.