

資料 5

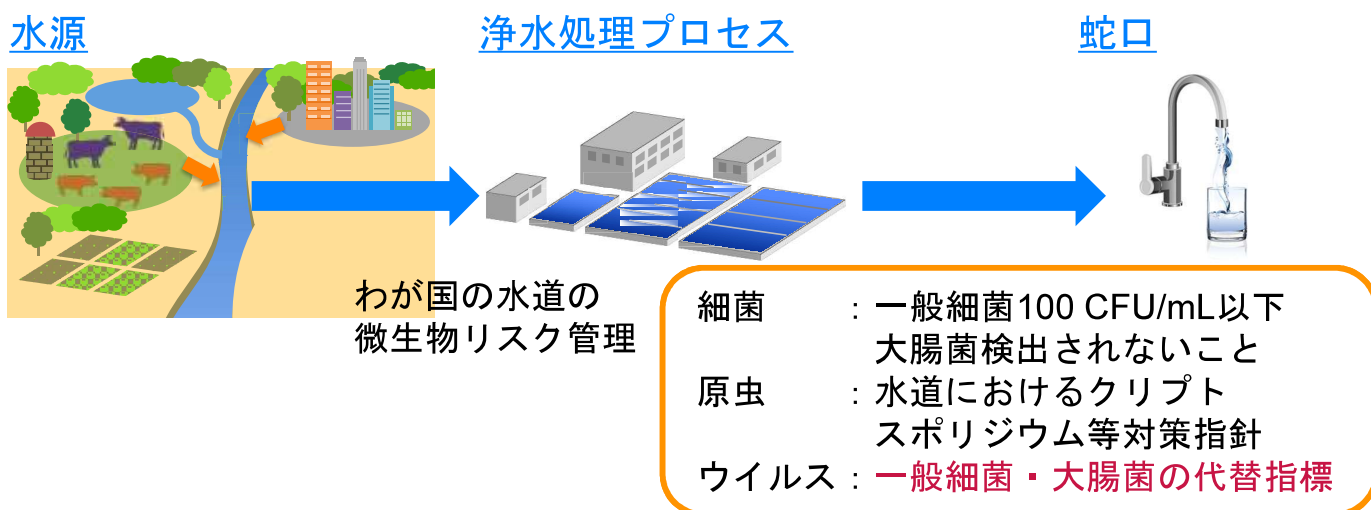
トウガラシ微斑ウイルスの原水・水道水における実態 および浄水処理プロセスにおける除去性

国立保健医療科学院 生活環境研究部
三浦 尚之



研究の背景

わが国の水道における微生物リスク管理



浄水処理における濁度除去の徹底，塩素注入率と配水管網における残留塩素の適切な管理，それらを可能とする水道施設の健全性の維持



1996年の埼玉県越生町におけるクリプトスポリジウム集団感染事故以降，わが国において上水道事業における集団感染は発生していない

水道におけるウイルスのリスク管理（EU指令）

L 435/44

EN

Official Journal of the European Union

23.12.2020

運転上の監視計画において、微生物学的リスクに対する浄水処理プロセスの効率を制御するために、原水における以下のパラメーターを監視に含めてもよい
 The operational monitoring programme shall also include the monitoring of the following parameters in raw water to control the efficacy of the treatment processes against microbiological risks:

Operational parameter	Reference value	Unit	Notes
Somatic coliphages 体表面吸着 大腸菌ファージ	50 (for raw water)	Plaque Forming Units (PFU)/100 ml	This parameter shall be measured if the risk assessment indicates that it is appropriate to do so. <u>If it is found in raw water at concentrations > 50 PFU/100 ml, it should be analysed after steps of the treatment train in order to determine log removal by the barriers in place and to assess whether the risk of a breakthrough of pathogenic viruses is sufficiently under control.</u>

※原水において体表面吸着大腸菌ファージが>50 PFU/100 mLの濃度で検出される場合は、浄水処理によるlog除去効率を求め、病原ウイルス漏出のリスクが十分に抑えられているか評価するために分析すべきである

DIRECTIVE (EU) 2020/2184 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2020 on the quality of water intended for human consumption (recast)
 ANNEX II, MONITORING, Part A, General objectives and monitoring programs for water intended for human consumption

3

WHO GDWQにおける大腸菌ファージの位置づけ

7. MICROBIAL ASPECTS (p.161)

Table 7.9 Use of indicator organisms in monitoring

Microorganism(s)	Type of monitoring		
	Validation of process	Operational	Verification and surveillance
<i>E. coli</i> (or thermotolerant coliforms)	Not applicable	Not applicable	Faecal indicator
Total coliforms	Not applicable	Indicator for cleanliness and integrity of distribution systems	Not applicable
Heterotrophic plate counts	Indicator for effectiveness of disinfection of bacteria	Indicator for effectiveness of disinfection processes and cleanliness and integrity of distribution systems	Not applicable
<i>Clostridium perfringens</i> ^a	Indicator for effectiveness of disinfection and physical removal processes for viruses and protozoa	Not applicable	Not applicable ^b
大腸菌ファージ Coliphages <i>Bacteroides fragilis</i> phages Enteric viruses	<u>Indicator for effectiveness of disinfection and physical removal processes for viruses</u>	Not applicable	Not applicable ^b ウイルスの消毒および物理的除去プロセスの有効性の指標

^a Use of *Clostridium perfringens* for validation will depend on the treatment process being assessed.

^b Could be used for verification where source waters are known to be contaminated with enteric viruses and protozoa or where such contamination is suspected as a result of impacts of human faecal waste.

WHO GDWQにおける大腸菌ファージの位置づけ

11. MICROBIAL FACT SHEETS (p.323)

Significance in drinking-water

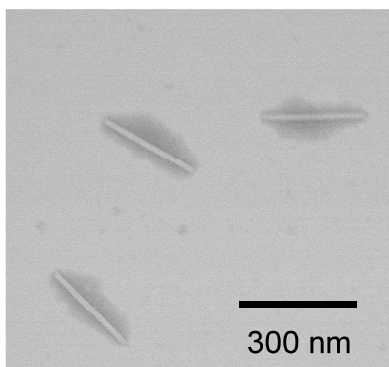
As coliphages typically replicate in the gastrointestinal tract of humans and warm-blooded animals, their presence in drinking-water provides an indicator of faecal pollution and hence the potential presence of enteric viruses and possibly also other pathogens. The presence of coliphages in drinking-water also indicates shortcomings in treatment and disinfection processes designed to remove enteric viruses. F-RNA coliphages provide a more specific indicator for faecal pollution. The absence of coliphages from treated drinking-water supplies does not confirm the absence of pathogens such as enteric viruses and protozoan parasites.

※水道水から大腸菌ファージが検出されないことは、腸管系ウイルスや原虫が存在しないことを裏付けるものではない

WHO. Guidelines for drinking-water quality: Fourth edition incorporating the first and second addenda, 2022 5

浄水処理におけるウイルス除去遺伝子マーカー：トウガラシ微斑ウイルス

Pepper mild mottle virus (PMMoV)



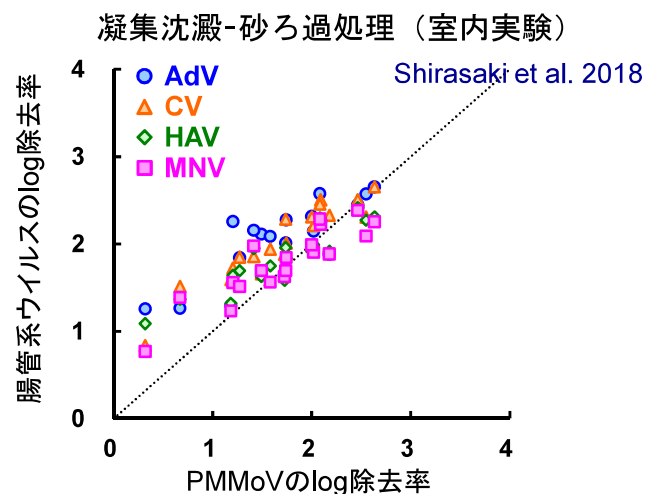
PMMoVの電子顕微鏡画像



Shirasaki et al. 2020

- ピーマンやトウガラシ類に感染する植物ウイルス
 - チリペッパーソース中濃度： $10^8 \sim 10^9$ copies/mL
 - 食品や調味料を介して摂取したヒトの糞便中に高濃度で排出される
 - 流入下水中濃度： $10^8 \sim 10^{10}$ copies/L
- ヒトふん便汚染を示すウイルス指標

全国8ヶ所の浄水場原水を用いた腸管系ウイルスとPMMoVの除去実験

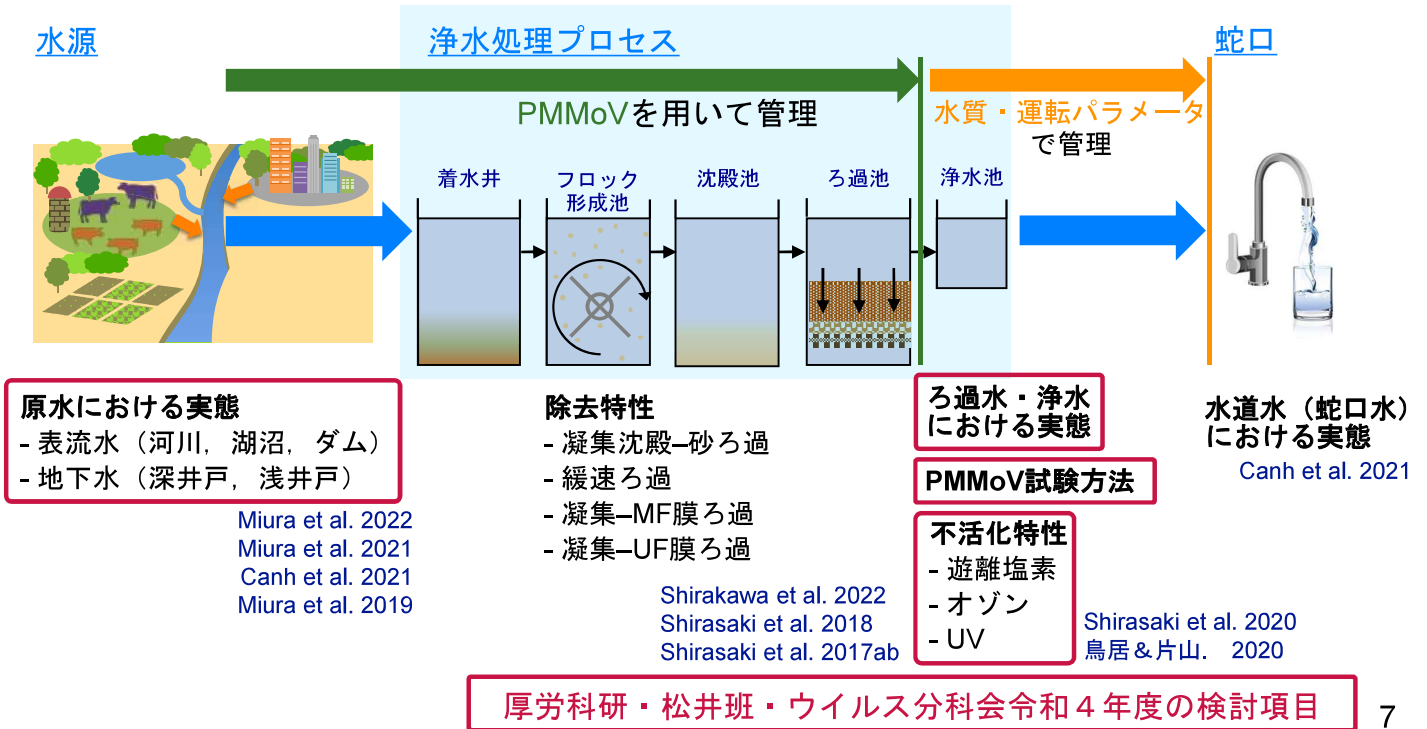


- 浄水処理における除去性が腸管系ウイルスと類似
- 塩素消毒に耐性があり、浄水試料から $10^{1 \sim 2}$ copies/Lの濃度で検出されることから、除去指標として有用である可能性

検討中のリスク管理手法

表層水を水源とする水道における病原ウイルスに対して

ウイルスの除去を示す遺伝子マーカー（PMMoV）および
ウイルスの除去・不活化を保証する水質・運転パラメータを用いたリスク管理



原水における実態

- 表流水（河川，湖沼，ダム）
- 地下水（深井戸，浅井戸）

Miura et al. 2022
Miura et al. 2021
Canh et al. 2021
Miura et al. 2019

除去特性

- 凝集沈殿-砂ろ過
- 緩速ろ過
- 凝集-MF膜ろ過
- 凝集-UF膜ろ過

Shirakawa et al. 2022
Shirasaki et al. 2018
Shirasaki et al. 2017ab

ろ過水・浄水における実態

PMoV試験方法

不活化特性

- 遊離塩素
- オゾン
- UV

Shirasaki et al. 2020
鳥居&片山. 2020

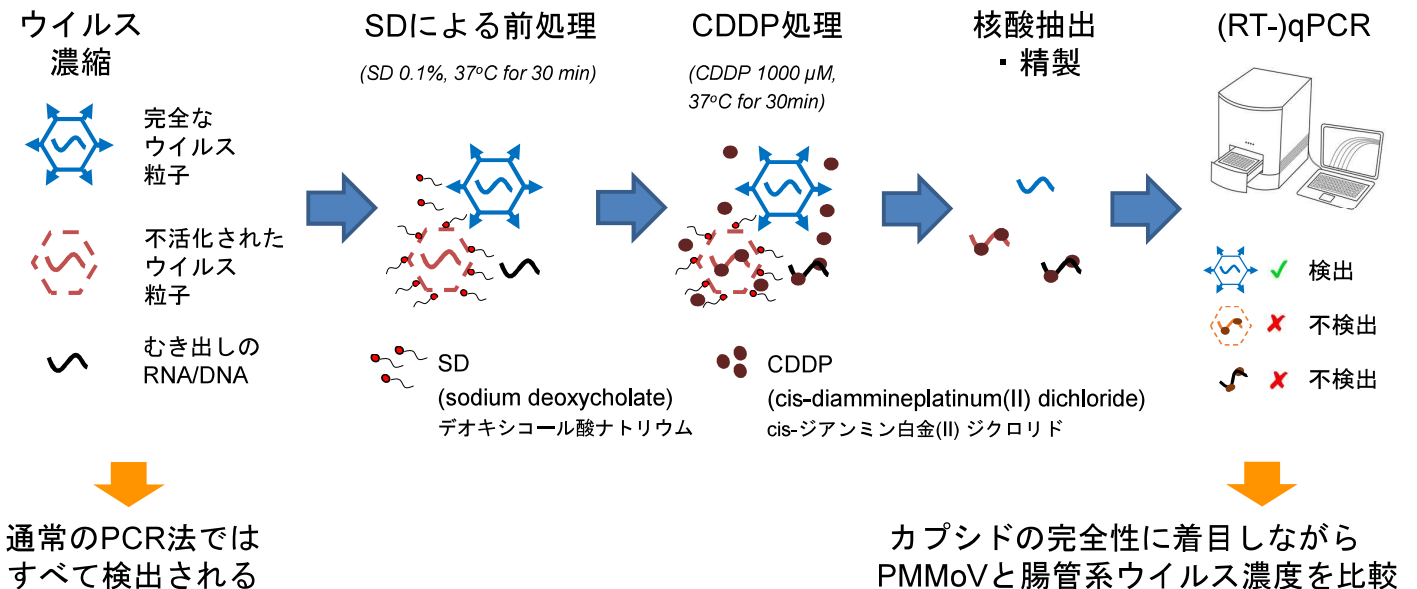
水道水（蛇口水）における実態

Canh et al. 2021

Viability PCR法によるカプシドが完全なウイルスの遺伝子検出

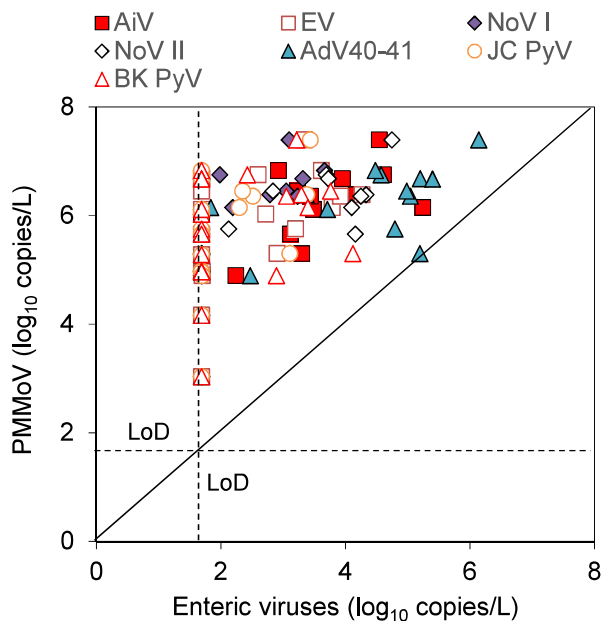
SD-CDDP-(RT-)qPCR法の開発と適用

カプシドが完全な（不活化されていない）ウイルス粒子に由来する遺伝子を選択的にリアルタイムPCR法で検出



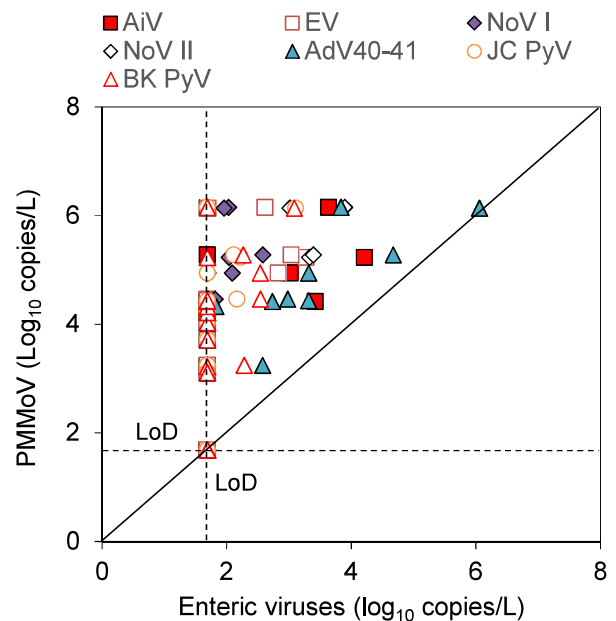
水道原水として利用される表流水におけるPMMoVの実態

Conventional (RT-)qPCR (n = 20)



通常のリアルタイムPCR法による遺伝子濃度:
PMMoV > 腸管系ウイルス

SD-CDDP-(RT-)qPCR (n = 20)



Viability PCR法による遺伝子濃度:
PMMoV > 腸管系ウイルス

Canh et al. 2021 9

水道水におけるPMMoVの実態

Table 3
Display of virus concentration in the tap water samples collected in the Kanto region as determined by conventional (RT-)qPCR and SD-CDDP-(RT-)qPCR (n = 43).

Viruses	Conventional (RT-)qPCR(Log ₁₀ copies/L) ^a			SD-CDDP-(RT-)qPCR(Log ₁₀ copies/L) ^a		
	No. of positive samples	Concentration, mean	Concentration, range	No. of positive samples	Concentration, mean	Concentration, range
RNA viruses						
PMMoV	9%(4/43)	2.60	2.20-2.90	5%(2/43)	2.02	1.86-2.18
AiV	5% (2/43)	0.90	0.62-1.18	0% (0/43)	-	-
EV	0% (0/43)	-	-	0% (0/43)	-	-
NoV I	0% (0/43)	-	-	0% (0/43)	-	-
NoV II	0% (0/43)	-	-	0% (0/43)	-	-
DNA viruses						
AdV40-41	0% (0/43)	-	-	0% (0/43)	-	-
JC PyV	0% (0/43)	-	-	0% (0/43)	-	-
BK PyV	0% (0/43)	-	-	0% (0/43)	-	-

-: Not detected

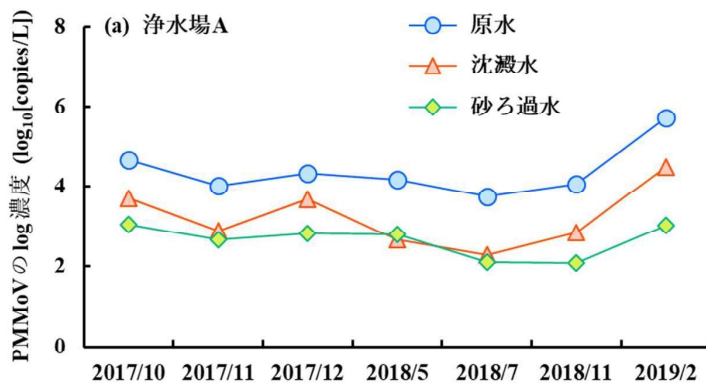
^a the virus concentrations were calculated based on positive samples only.

- 関東地方において収集した水道水試料 (N = 43) を分析
- 通常のリアルタイムPCR法では、9%の試料からPMMoV、5%の試料からアイチウイルス (AiV) の遺伝子を検出
- Viability PCRでは、5%の試料からPMMoVを検出、AiVは不検出となった
- AiVは塩素によりカプシドが損傷している (不活化されている) 可能性

Canh et al. 2021 10

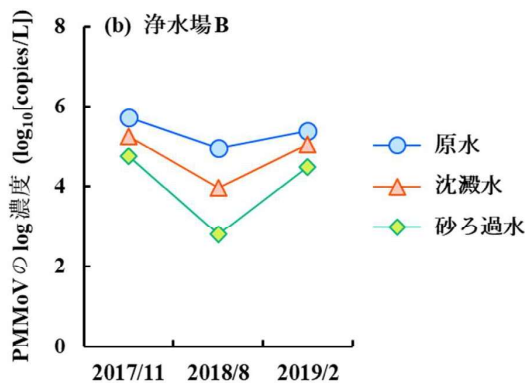
浄水処理におけるPMMoVの除去性

凝集沈澱-急速ろ過処理



PMMoVの除去率（対数減少値）

- 凝集沈澱：0.6–1.5 log
- 急速ろ過：-0.1–1.4 log
- 全体：1.3–2.7 log
(平均1.7±0.5 log)

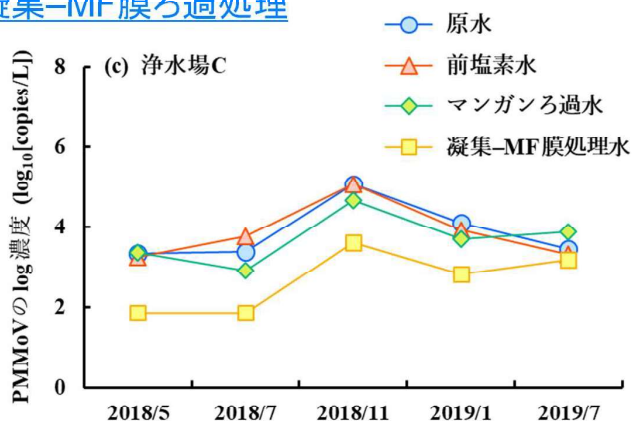


PMMoVの除去率（対数減少値）

- 凝集沈澱：0.4–1.0 log
- 急速ろ過：0.5–1.2 log
- 全体：0.9–2.2 log
(平均1.4±0.7 log)

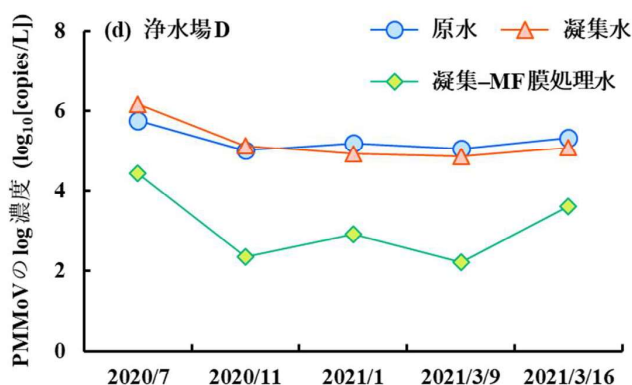
浄水処理におけるPMMoVの除去性

凝集-MF膜ろ過処理



PMMoVの除去率（対数減少値）

- 全体：0.7–1.5 log
(平均1.0±0.3 log)



PMMoVの除去率（対数減少値）

- 全体：1.3–2.9 log
(平均2.2±0.6 log)

1. PMMoVの原水・水道水における実態

- 原水として利用される表流水には種々のヒト病原ウイルス※よりも高濃度で含まれることが通常のリアルタイムPCR法とviability PCR法で確認された
※アイチウイルス, アデノウイルス, エンテロウイルス, ノロウイルス, JCウイルス, BKウイルス
- 一部の水道水試料から通常のリアルタイムPCR法により $10^{2.2\sim 2.9}$ copies/Lの濃度で検出される

2. PMMoVの浄水処理プロセスにおける除去性

- 実規模浄水場の凝集沈澱・急速ろ過処理では, 平均1.4~1.7 log除去される
- 実規模浄水場の凝集-MF膜ろ過処理では, 平均1.0~2.2 log除去される



- PMMoVは, 浄水処理におけるウイルス除去遺伝子マーカーとして利用可能である
- ろ過水におけるPMMoVの管理目標値の検討に有用なデータが蓄積された