

水の安全性確保のための ウイルス測定



東京大学大学院工学系研究科
都市工学専攻 片山浩之



目次

1. 水の微生物学的安全性
2. 水中ウイルスの研究紹介
 1. 下水処理場
 2. 浄水場
 3. 下水の飲用再利用

水道の大切さ

- 途上国では、
 - 女性・子供の時間を大きく左右する。
 - 女性の自立、貧困、教育などを改善できる。
 - 下痢症を減らし、健康になる。
- 先進国からの介入が可能。
- 清潔な暮らしに必要。
手洗い、うがい。
- 災害時に大切さを痛感。

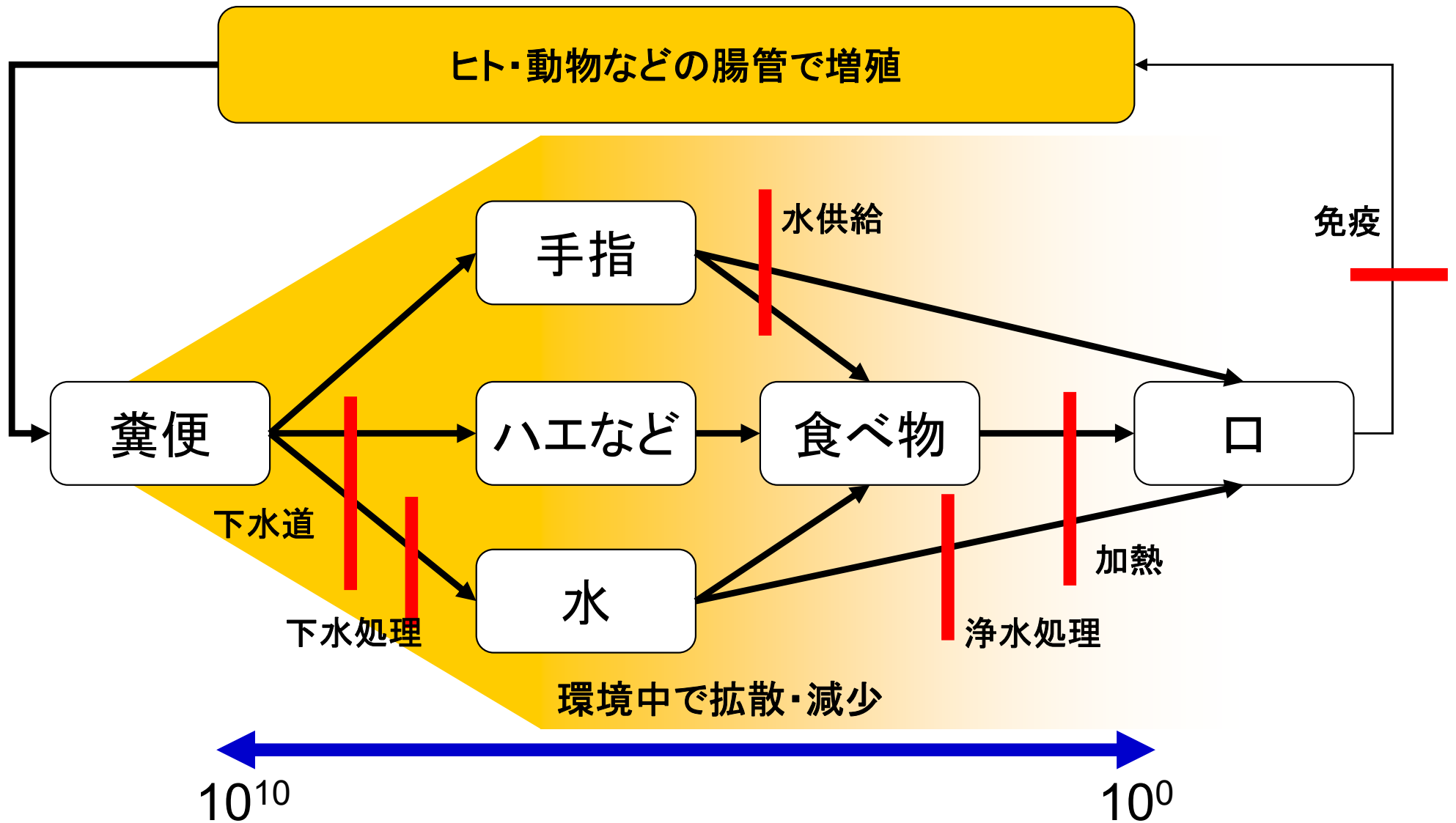


2050年の未来会議「食料・水・環境」を本気で考える
Newspicks <https://newspicks.com/live-movie/2677>

下痢（ゲリ）症の影響

- 世界の乳幼児の**2**番目に高い死因
 - 毎年、**50**万人以上の乳幼児が死亡
- 多くは**安全な飲料水**と適切な衛生で予防できる
- 世界では毎年**17**億人の子供が下痢症にかかっている
- 下痢症は乳幼児の栄養失調の主たる原因でもある

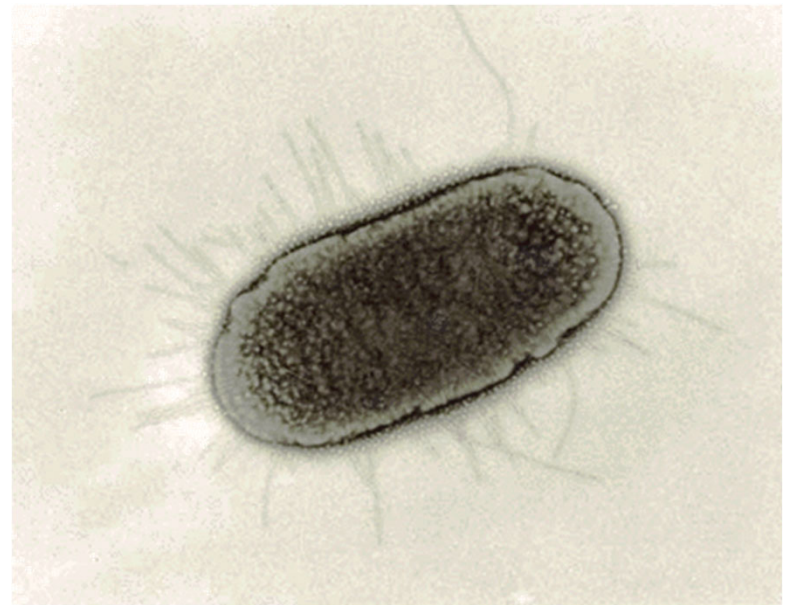
WHO, May 2 2017



糞便一経口感染する病原微生物の生活環

大腸菌 うんちのサイン

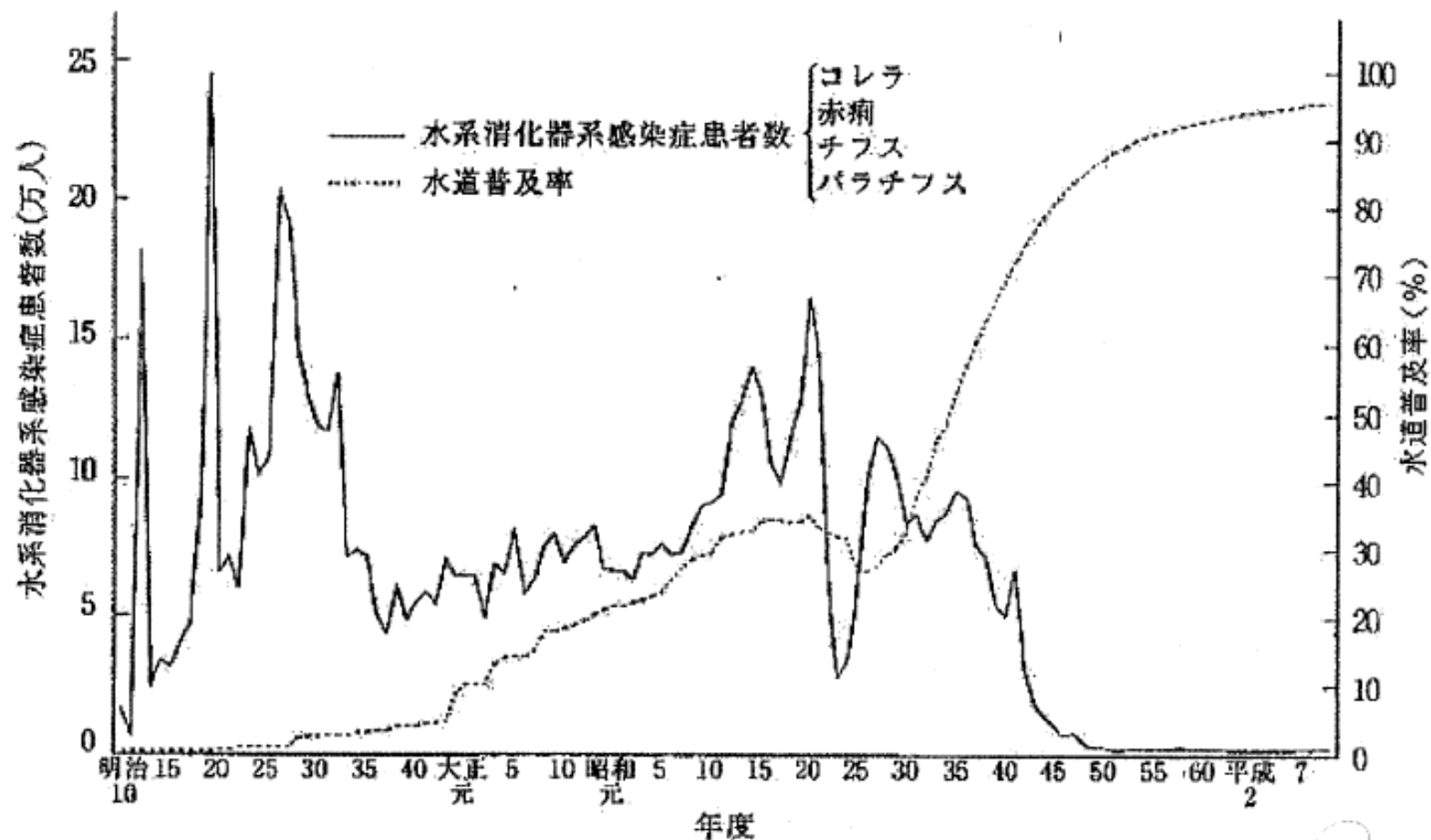
- 腸（おなか）には多くの微生物
- 動物（ヒトも）の腸にいる
- 外に出ても死なない（酸素に強い）
- 測定が簡単



衛生工学 感染症の抑止システム

- 近代水道の成立
 - ろ過と塩素で細菌を抑え、大腸菌群の不在を確認
 - 圧力送水により水質を保持
 - 明治後の日本の防疫の基本路線となる。塩素の徹底は2次大戦後。ただし、下水道整備が遅れる原因にも。
- 下水道
 - 衛生面より環境浄化の手段として重視される
 - 日本では水洗化と同時に導入（もしくは浄化槽の義務付け）
 - 支払い意思について、納得が得やすい
↔ 途上国と異なる状況

水道の普及と衛生状況の改善



水道のあらし 2008 日本水道協会編

微生物リスク管理の現状

- 大腸菌の時代：微生物リスクをゼロにする
- クリプトスポリジウム・ウイルス
→ゼロリスクは無理、リスク管理
- 10^{-4} Infection／人・年
- 実際には難しい⇔ゼロリスクとのギャップ
- 化学物質のリスク管理よりも難しいことも

クリプトスポリジウムの感染 リスク

- Dose Response Modelより

1個の摂取により0.4%から20%の感染率

(Risk Assessment of Cryptosporidium in Drinking Water, WHO 2009)

仮定：

非加熱飲用1日1L、1個の摂取で1%の感染率

→年間感染リスク 10^{-4} ≒1個の摂取確立1%

→36500L中に1個

水安全計画

- WHOにより推奨
- HACCP（危害分析重要管理点）の考え方に基づく
 - 水質基準とは異なり、最終製品の品質チェック以外の方法で品質を担保する
- クリプトスポリジウム対策として有効
 - 各国はそれぞれ取り入れている
 - アメリカの場合は直接的：ウイルスにも流用可能

アメリカのクリプト対策

LT2ESWTR (2006) —処理レベルの基準

- 原水の病原微生物濃度を見積もる
- 処理によって達成可能な微生物除去率 (LRV)を示す施設基準を策定
- 処理水の病原微生物レベルを工学的に保証する
- 平常時は、処理が機能しているかを調べる
⇔ 微生物のモニタリングは不要

[Environmental Protection Agency 40 CFR Parts 9, 141, and 142](#)
[National Primary Drinking Water Regulations:](#)
[Long Term 2 Enhanced Surface Water Treatment Rule; Final Rule](#)

処理プロセスの必要要件

クラス分け	原水中平均クリプト濃度 (oocysts /L)	高度処理の必要性
Bin 1	< 0.075	追加処理不要
Bin 2	0.075- 1.0	1.5 Log
Bin 3	1.0 - 30	2.5 Log
Bin 4	> 30	3 Log

カリフォルニアの飲用再利用

- オレンジ郡では海水侵入対策として、1970年代から処理した下水を地下に涵養
- 帯水層を経由して処理水を水道水の水源として利用
- 2008年にはこれを間接飲用再利用と認め、基準を強化
- 2014年、カリフォルニア州水資源管理委員会の飲料水部門は、病原体に対する高い対数減少値（LRV）を要求する規制を制定
- 2024年、DPR（直接飲用再利用）に対してウイルス20Log除去を要求

パラメータ	ウイルス	ジアルジア	クリプトスポリジウム
最終水中の最大濃度(単位/L)	2.2×10^{-7}	6.8×10^{-6}	3×10^{-5}
原水中の最大濃度(単位/L)	10^5	10^5	10^5
必要除去率	4.6×10^{11}	1.5×10^{10}	3.3×10^9
必要除去率(Log)	11.7	10.2	9.5
提案されたLRV	12	10	10

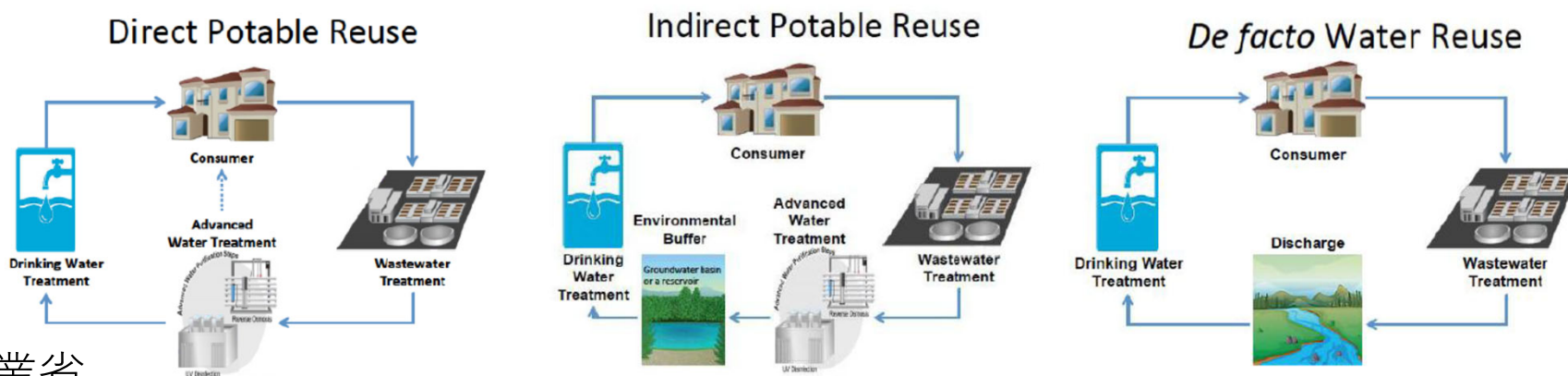
Required Log₁₀ Reduction Values for IPR as Determined by the State of California (CCR, 2015)¹⁴

いくつかの論点

- Log Creditの付与においては、最悪の事態においても除去できることを求めている
- Multiple Barrierの考え方に基づき、1処理あたり最高で6Logまでしか付与されない
 - 一つの処理に頼りすぎた場合、それが失敗したときのリスクが大きくなりすぎる
 - オレンジ郡のUV促進酸化の強度は微生物除去6Logを大幅に上回るが、Log Creditとしては6Logのみ。
- 直接飲用再利用：
ウイルス20Log、ジアルジア14Log、クリプト15Logの除去を要求

飲用再利用の三形態

- 直接飲用再利用
 - 下水処理水を高度処理し、それを浄水場に管路輸送する方式
- 間接飲用再利用
 - 下水処理水を貯水池や地下水に涵養し、上水水源として用いる方式
- De facto 再利用
 - 上流に下水処理場があり、下流において水道原水として取水されて利用されている事実上の再利用



経済産業省

オランダの水質基準

- 感染確率が年間 10^{-4} 以下であること
- 浄水場ごとに定量的微生物リスク評価をすることを義務付ける
 - 単位処理ごとに微生物（ウイルス、細菌、原虫）の除去率を確率分布として与える
 - 原水の微生物レベルから、浄水の微生物濃度をモンテカルロ法によって算出
 - リスクレベルを計算し、 10^{-4} 以下であることを確認
 - 超過している場合は、追加の処理を加える

WHO飲料水水質ガイドラインの変遷

- 第2版（1993年）指標生物として大腸菌を推奨
- 第3版（2004年）健康に基づく目標、水の安全性に対する総合的なアプローチ
 - 1990年代のクリプト水系感染への対応
 - 水安全計の導入が提唱される
 - 水源から消費者までの給水システムの全段階を網羅する包括的なリスク評価およびリスク管理
 - 処理による水質改善
 - 最終産物の水質試験でなくとも水の安全性を保証
- 第4版（2011年）水安全計画の実施を強化
 - 定量的微生物リスクアセスメント（QMRA）
 - 新興・再興病原体を含む様々な微生物のモニタリング
 - 処理による安全性管理（パフォーマンスターゲット）を導入

日本の状況

- 水道水質基準として、一般細菌と大腸菌
WHO第2版（1993年）に対応
- 水道法施行規則の衛生上必要な措置として、残留塩素を規定
- 厚生労働省健康局水道課長の通知の別添として
「水道におけるクリプトスポリジウム等対策指針」
WHO第3版（2004年）に追いついていない

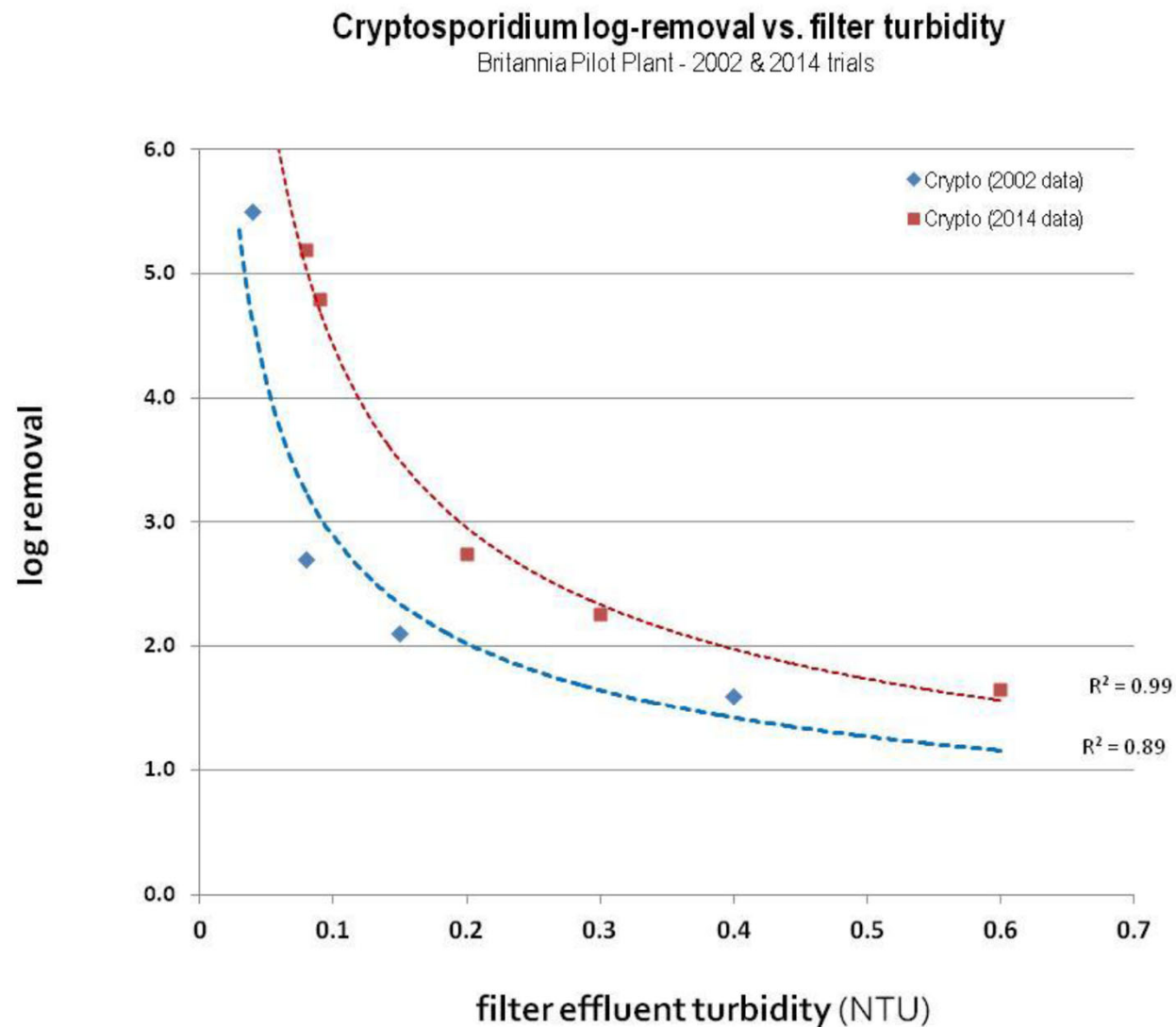
水道におけるクリプトスポリジウム等 対策指針（平成19年4月）

- 水道原水に係るクリプトスポリジウム等による汚染のおそれの判断　　考え方は不変
 - レベル1-4、地下水・・地表水
 - 大腸菌（E.coli）及び嫌気性芽胞菌
- ろ過池（ろ過膜）の出口の濁度：0.1 度以下
 - 濁度管理について実現可能性が確立しており、そのまま継続
- 紫外線も可
 - 当初は地下水のみ
 - 2019年に地表水も可能となった

濁度管理の有効性

カナダのパイロット研究

Huck M et al., Filter operation effects on pathogen passage. AWWAR; 2001



水道の微生物規制の課題

- 濁度管理の有効性はあるそうだが、定量的な議論が必要
 - 濁度0.1度以下にすることは、どれだけのLog Creditに相当するか
- 原水のクリプト濃度を無視
- 処理後のクリプトを測定できない問題
- 事実上の再利用である普通の水道の水質基準と再生水に求められる基準の乖離が大きすぎる

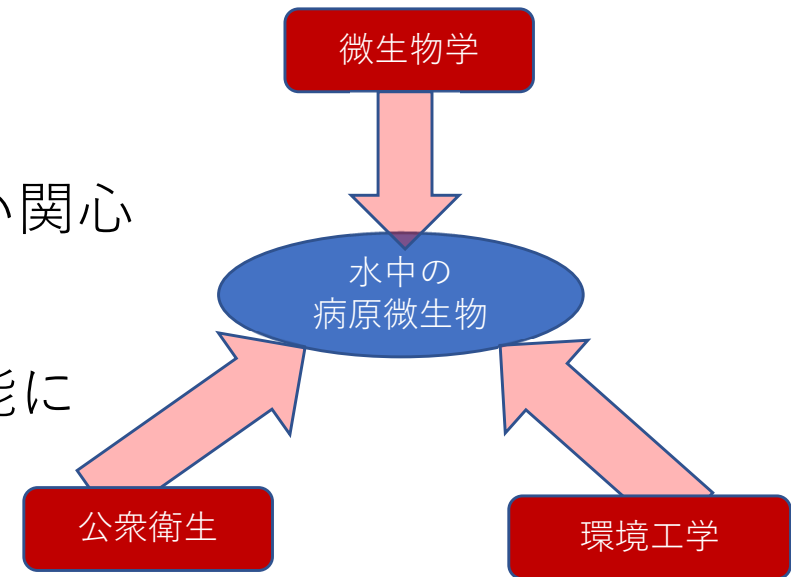
PCR：工学系の研究者がウイルスを測定

■PCRの発明まで

- 培養法による測定
- ウイルス学の専門家が測定
- 環境試料から測定するも、同定に強い関心

■PCRの発明以降

- 1990年代から、環境試料にも適用可能に
- 環境工学者が測定することも可能
- 定量値に関心



大腸菌の測定

⇒ 病原微生物、
ウイルスの測定が
可能に

Water Research 135 (2018) 168–186



Contents lists available at ScienceDirect

Water Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/watres



Review

A review on recent progress in the detection methods and prevalence of human enteric viruses in water



Eiji Haramoto^{a,*}, Masaaki Kitajima^b, Akihiko Hara^c,
Yoshifumi Masago^e, Daisuke Sano^f, Hiroyuki Katayama^g

Water Research 2018 review

2006年(平成18年)1月16日 月曜日 14 版

処理下水中のノロウイルス

冬の残留夏の60倍

冬の「おなかに来る風邪」(感染性胃腸炎)の主犯格であるノロウイルスが、この時期は下水処理しても放流水中に夏の60倍もの濃度で含まれていることが、片山浩之・東京大講師(都市工学)と国土交通省国土地技術政策総合研究所の調査で分かった。下水処理後の濃度を夏並みに下げられれば、冬の流行を軽減できる可能性がある。

片山さんらは03年～04年に関東、近畿の6下水処理場で、流入水と処理後の放流水に含まれるノロウイルスのリボ核酸(RNA)を抽出・処理し、平均濃度を調べた。

その結果、流入水も放流水も、感染性胃腸炎の流行傾向に似て夏に底を打ち、冬にピークがあった。図。寒いとノロウイルスが長生きするため。

ノロウイルスの循環経路
 感染 → 2次感染 → 便中への排出 → 下水処理場 → 放流水 → 河川・海
 カキなど 蓄積

ノロウイルスの濃度 (個/mL)
 流入水 (○) 放流水 (●)

月	7月 (03)	8月	9月	10月	11月	12月	1月 (04)	2月	3月	4月	5月	6月
流入水 (個/mL)	10	10	10	10	100	100	100	100	100	100	100	100
放流水 (個/mL)	0.1	0.1	0.1	0.1	10	10	10	10	10	10	10	10

成田空港反対
 熱田派元代表

千葉県成田空港建設を巡り、地権者らが結成する「三里塚・芝山連合空港反対同盟」熱田派の元代表・熱田一氏(86)が、同空港用地内に所有する土地を成田国際空

1 通月 5 は

は1リットル当たり約555個で、夏(6・8月)の同14個の約40倍。通年では下水処理で平均100分の1程度に減るが、冬の放流水には同11個残り、夏(同0・18個)に紫外線殺菌した海水で(個)の約60倍だった。

ノロウイルスは人の腸で増え、患者の便や吐物、下水道・川・海と流れ、カキなど貝類に蓄積される。生食用として出荷前

浄化するなどの取り組みもあるが、一般的には汚染された食物を加熱が不十分なまま食べて感染が循環する。食品の加熱や手洗いの徹底のほか、川や海にウイルスを流さない工夫が重要だ。

片山さんは「放流先にはカキの養殖場などがある場合は、膜処理などでさらにウイルスを除くことが望ましい」といっている。(桜井林太郎)

先に
 である
 ござ
 いて
 郎一

は5地に側熱な題

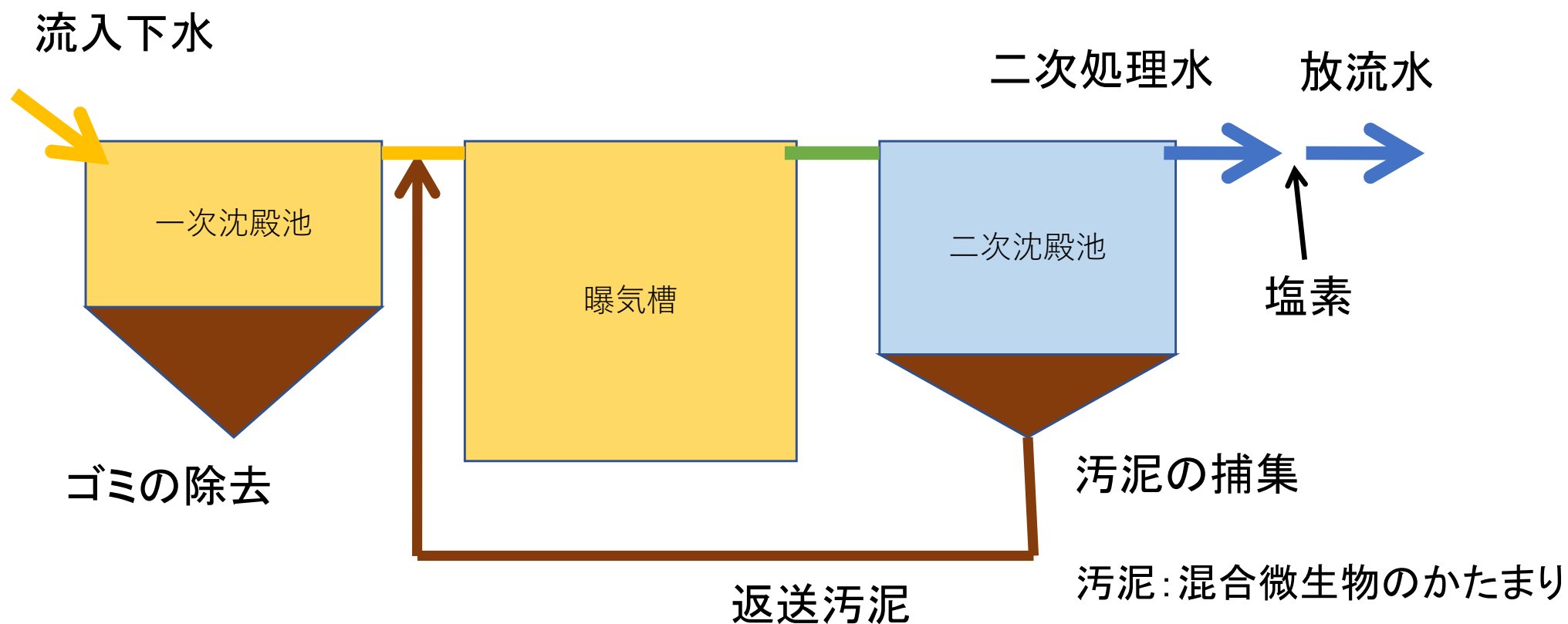
今出が、でわ、クは、25日、社が、れ、ない、が多、の主、の年、始

気
 東京 13.6 13.9
 最高 8.4 16.3 9
 最低 湿度
 曇

君の柳

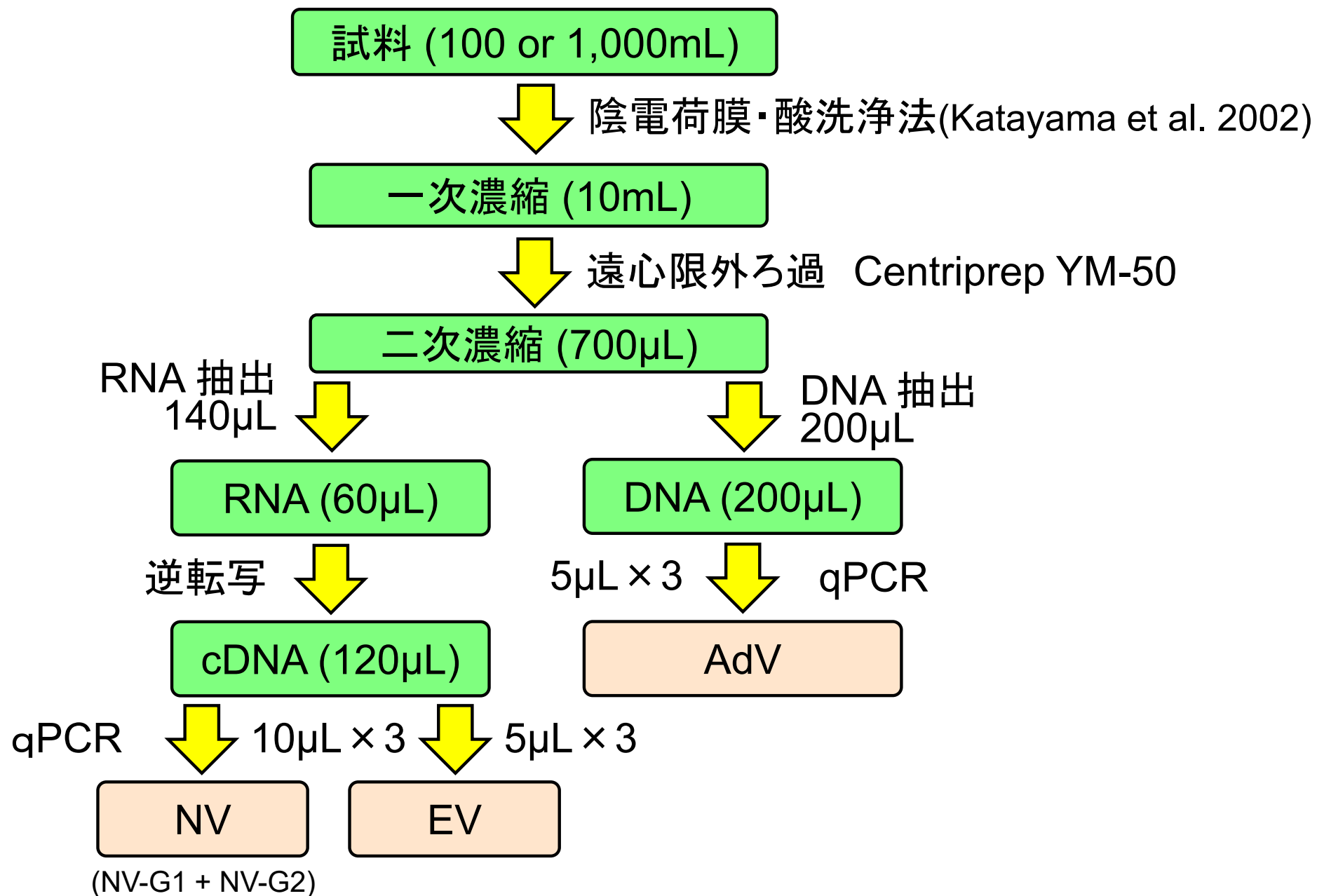
日本の6下水処理場における調査

- 東京、埼玉、茨城、大阪、京都、滋賀にある下水処理場
- 2003年7月から2004年6月まで、毎月試料採取
- 流入水、二次処理水(塩素消毒前)、放流水(塩素消毒後)



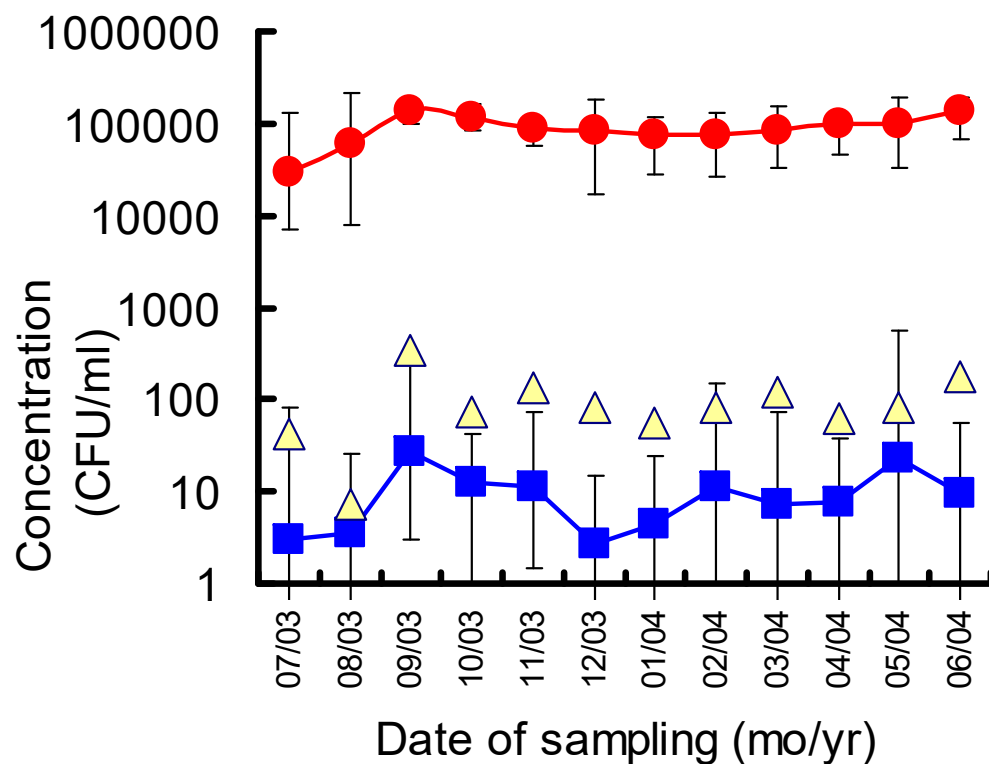
下水処理のフロー (標準活性汚泥法)

ウイルス測定法の流れ

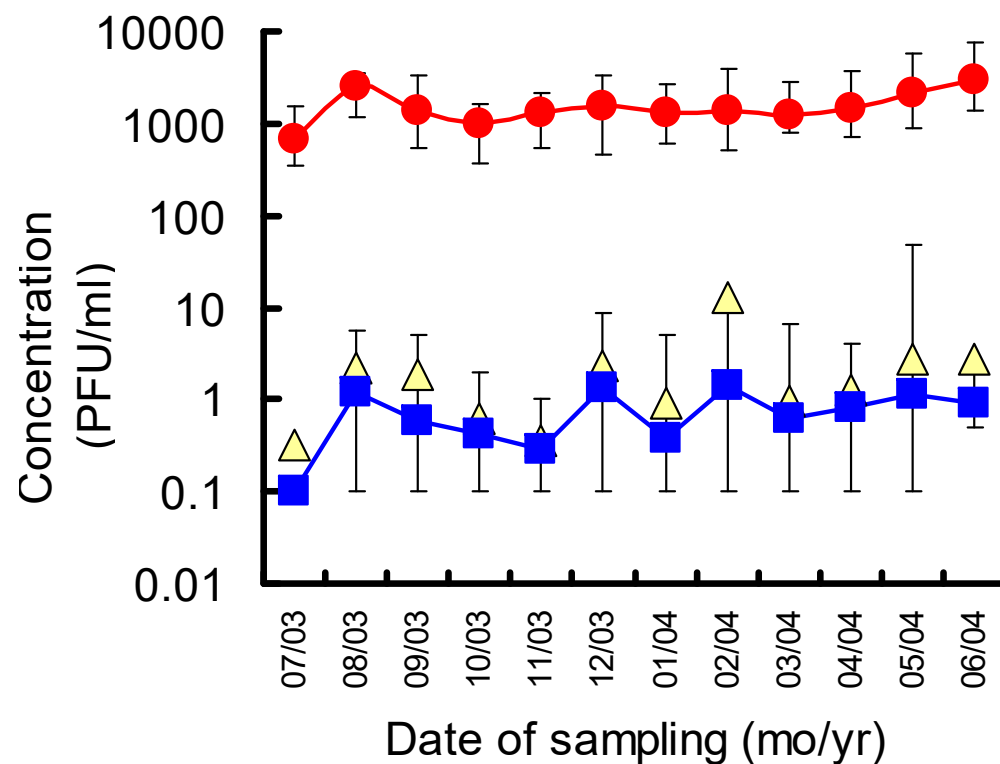


ウイルス指標の濃度

糞便性大腸菌群



大腸菌ファージ



● 流入水 ■ 放流水 ▲ 二次処理水

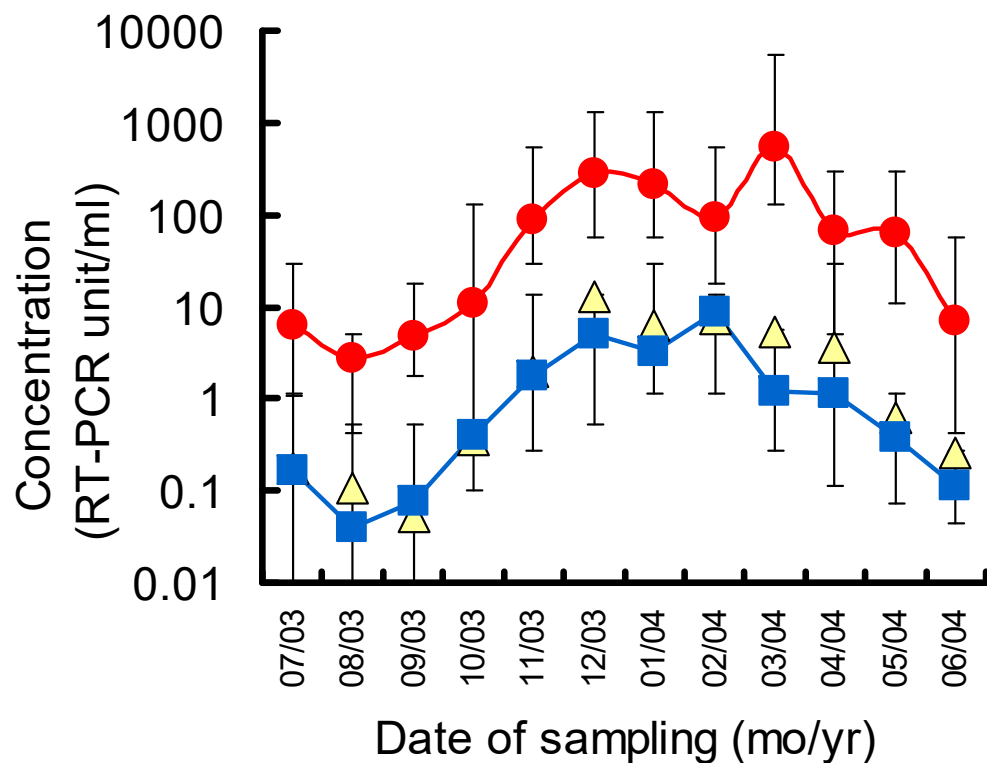
㊦ 年間で変動が少ない

㊦ 処理効率: 糞便性大腸菌 3.04 Log, ファージ 3.01 Log

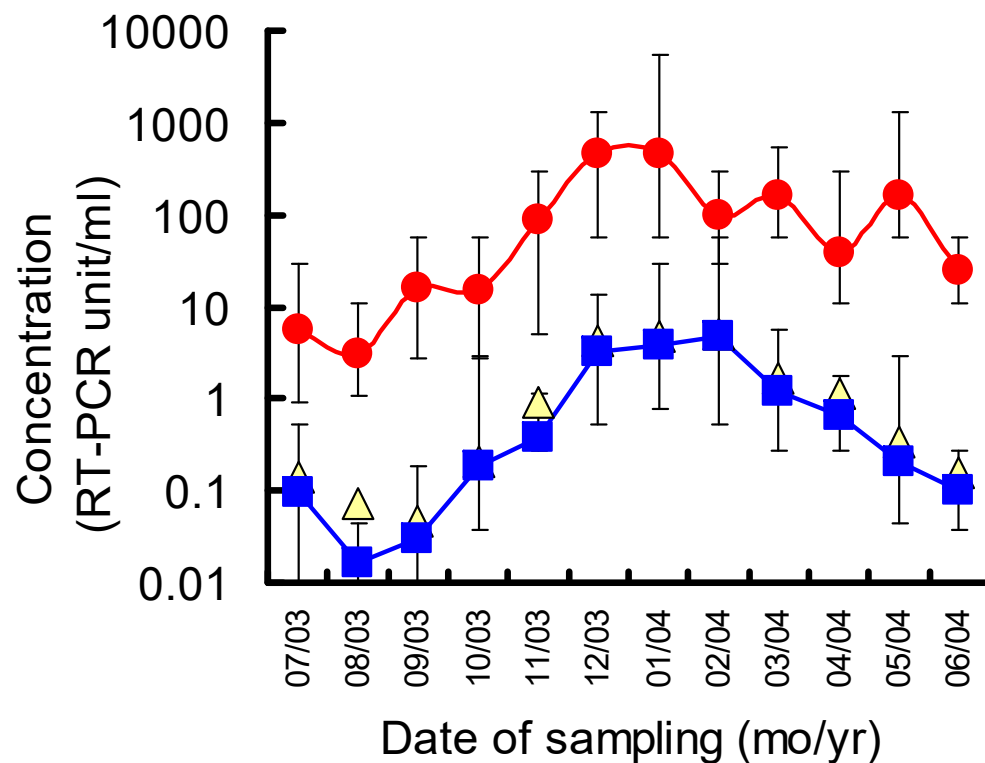
㊦ ファージには塩素が効かない傾向

ノロウイルスの測定結果

NV-GI



NV-GII



● 流入水 ■ 放流水 ▲ 二次処理水

❷ 冬には夏の100倍の濃度

❷ 除去率: NV-GI 1.56 Log, NV GII 1.94 Log

ノロウイルスの季節変動

幾何平均 (copies/ml)		夏季(6-9月)	冬季(11-3月)
Influent	NV-GI	4.9	190
	NV-GII	13	360
Effluent	NV-GI	0.18	5.7
	NV-GII	0.069	3.6

冬の処理水は夏の流入水と同程度

東京都水道局との共同研究

－実浄水場におけるウイルス除去率－

Water Research, 2018

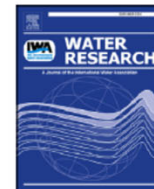
Water Research 132 (2018) 61–70



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Water Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/watres



Pepper mild mottle virus as a process indicator at drinking water treatment plants employing coagulation-sedimentation, rapid sand filtration, ozonation, and biological activated carbon treatments in Japan

Ryuichi Kato ^a, Tatsuya Asami ^a, Etsuko Utagawa ^a, Hiroaki Furumai ^b,
Hiroyuki Katayama ^{a, c, *}

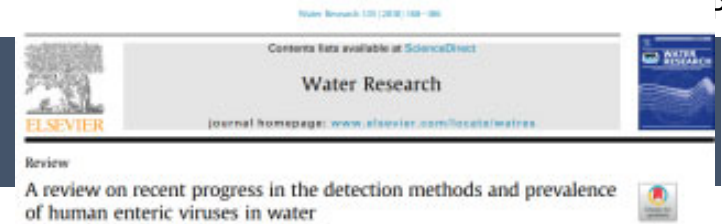


Why PMMoV?

野生のウイルスを水処理工程で計測する

178

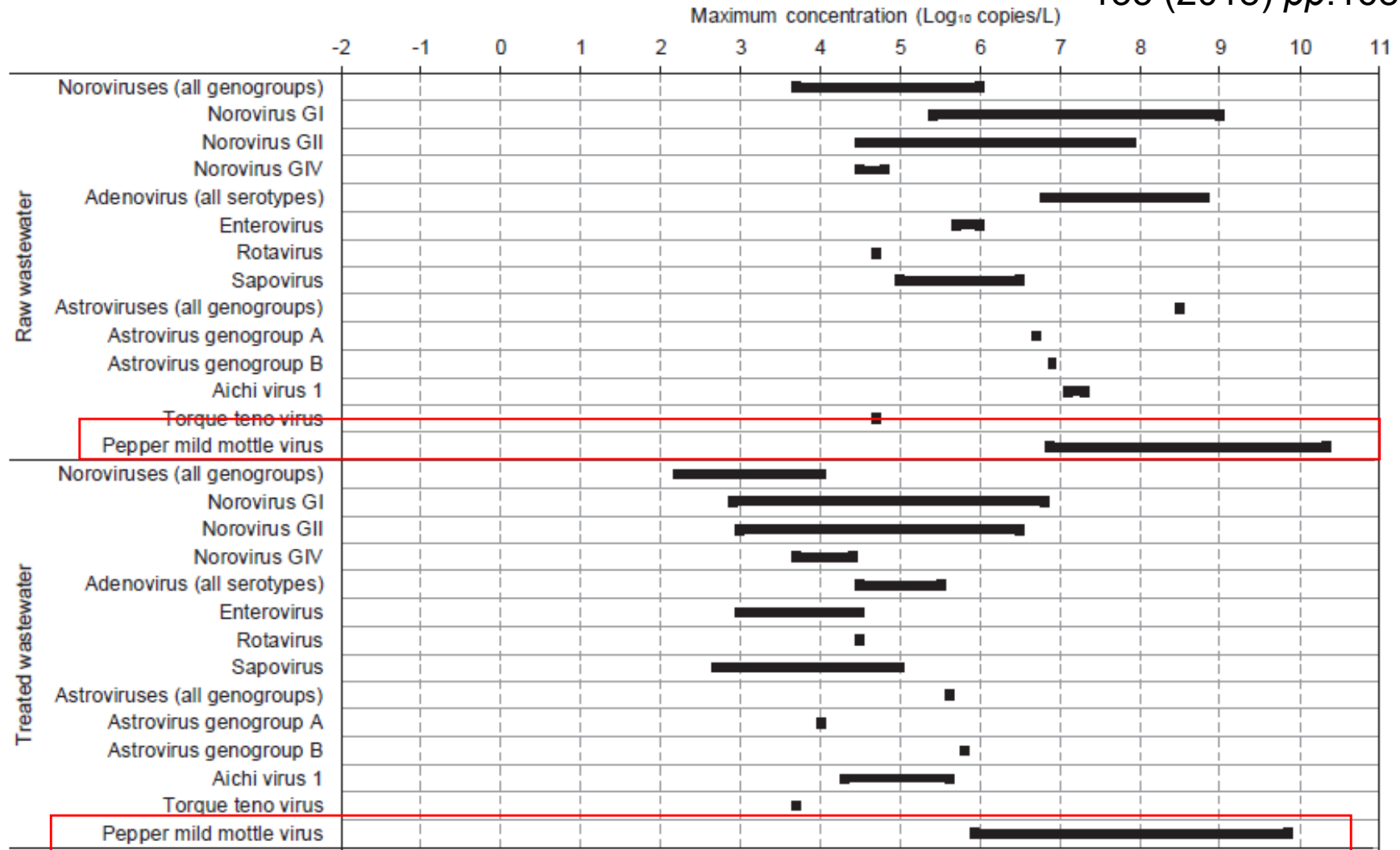
E. Haramoto et al. / Water Research 135 (2018) 168–186



Review
A review on recent progress in the detection methods and prevalence of human enteric viruses in water

Eiji Haramoto ^{a,*}, Masaaki Kirajima ^b, Akihiko Hata ^c, Jason R. Torrey ^d, Yoshifumi Masago ^e, Daisuke Sano ^f, Hiroyuki Katayama ^{a, b}

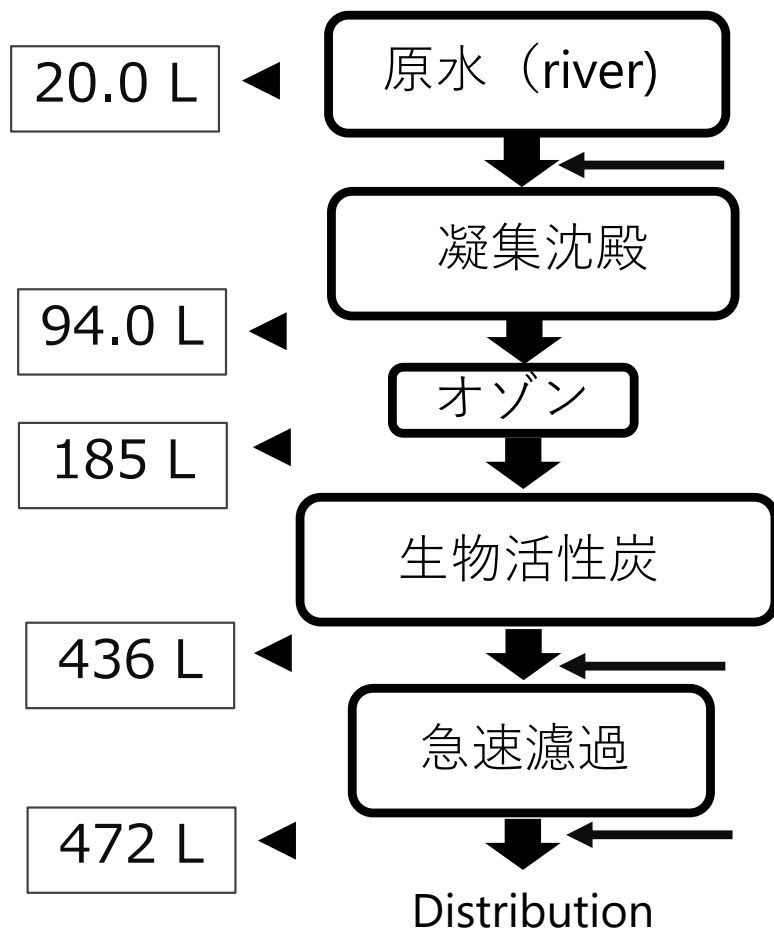
Quote: Water Research
135 (2018) pp.168-186.



調査地概要と採水地点

濃縮水量(平均)

Plant A



濃縮水量(平均)

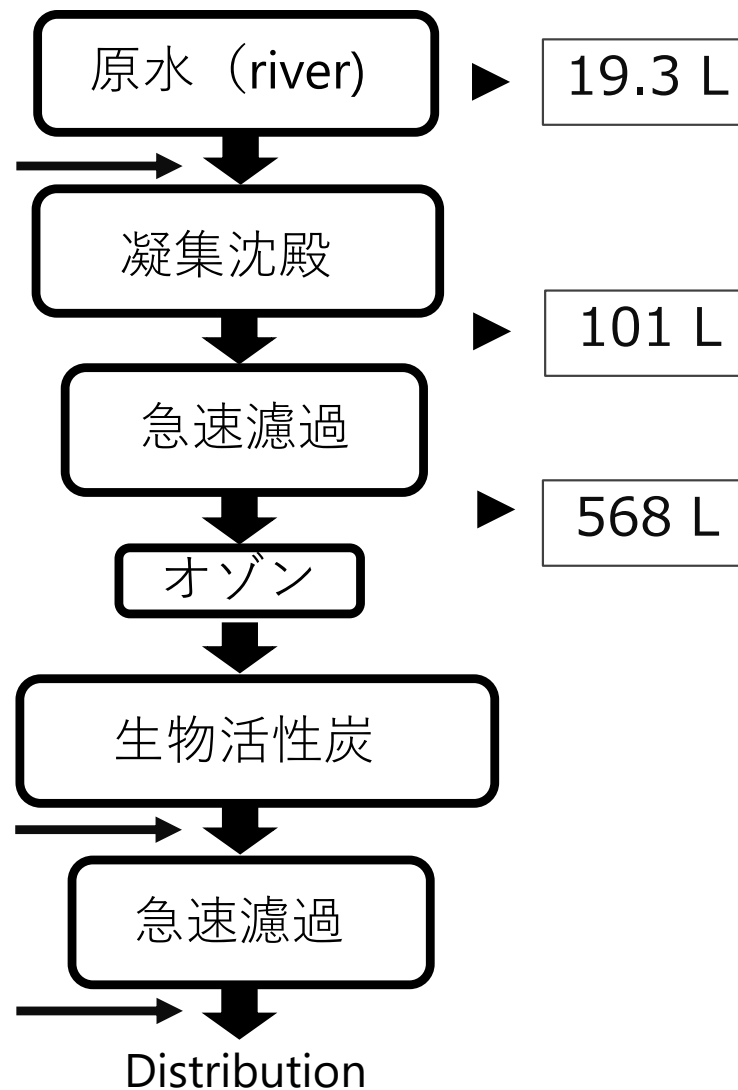
Plant B

(塩素)

塩素

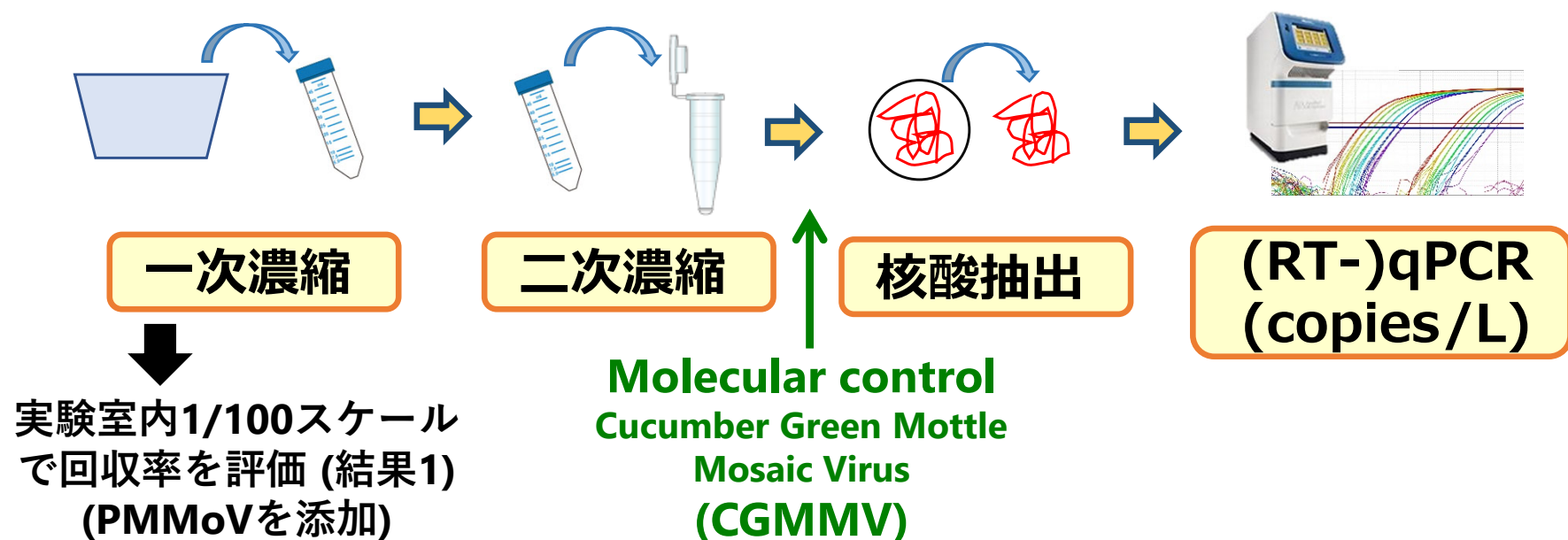
塩素

塩素



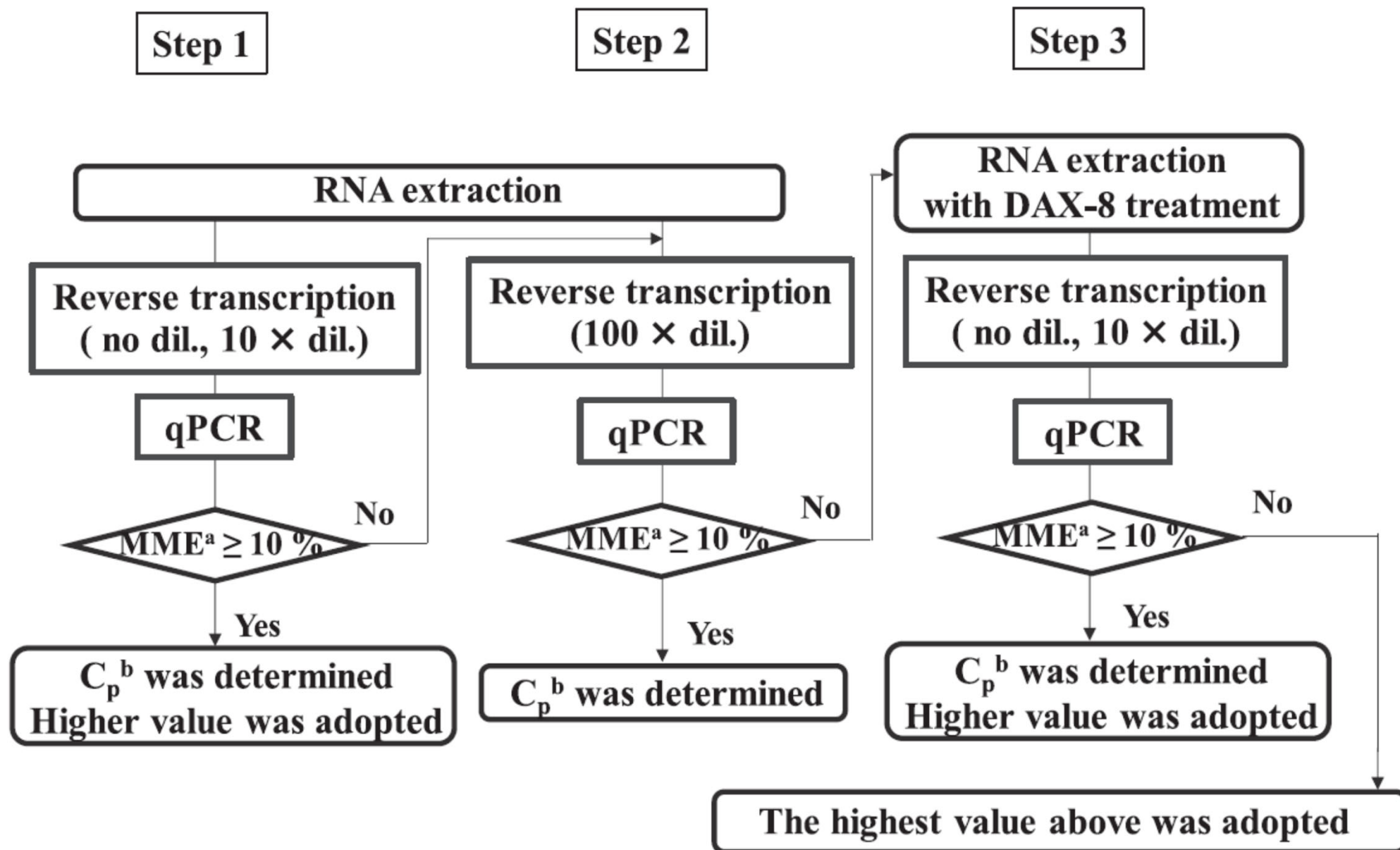
*前塩素処理:12月 - 3月

ウイルス定量方法



- 一次濃縮はカートリッジ型MF膜を用いた酸洗浄・アルカリ誘出法
- 二次濃縮は限外ろ過膜を用いた、遠心ろ過
- 二次濃縮試料に対してコントロールウイルスとしてCGMMVを添加。以降の工程において、回収率 10 % を基準として検出阻害を評価した。
- 阻害が見られた試料に対しては適切な阻害緩和・除去処理 (次スライド)

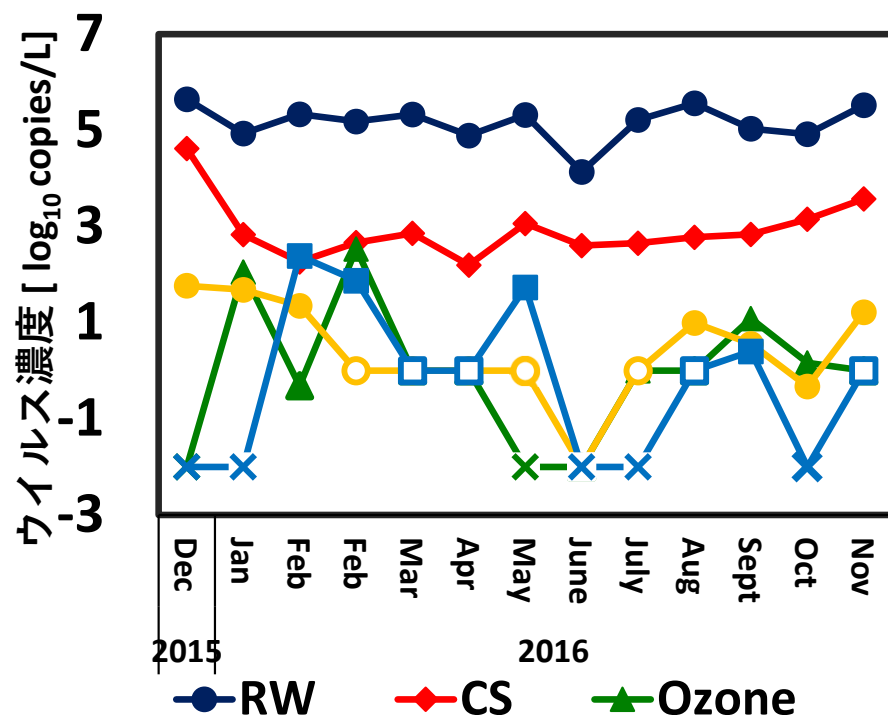
測定値の採用ポリシー



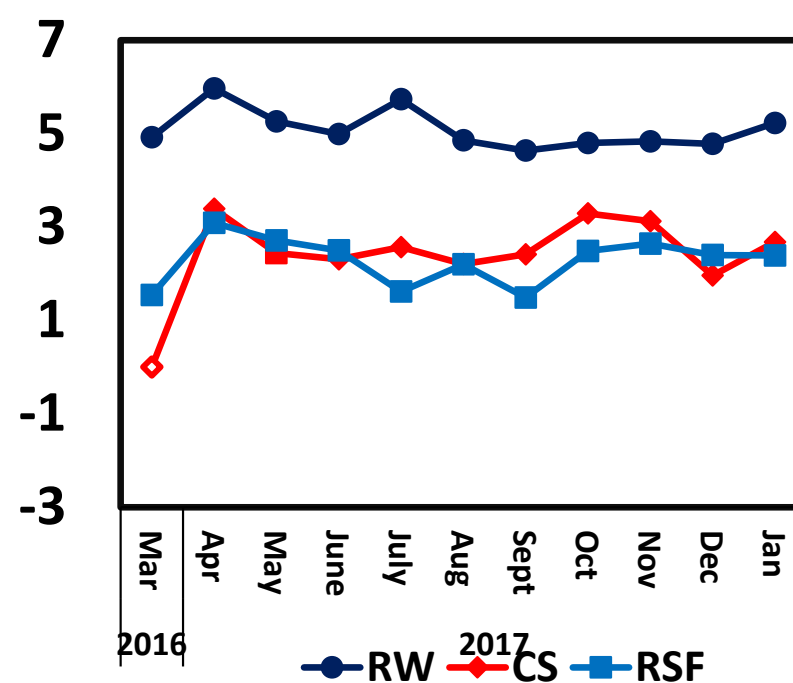
浄水処理工程におけるPMMoVの定量結果

縦軸 1000 = 10^3 を 3 と示す。1,2,3 と数えるのではなく、1,10,100 と数える感じ。

浄水場 A



浄水場 B



RW: 原水 CS: 凝集沈殿水 Ozone: オゾン処理水
急速ろ過水 白抜き: 定量下限以下、×: 不検出

BAC: 生物活性炭処理水 RSF:

まとめ 浄水場におけるウイルス測定

- PMMoVは環境中に高濃度で存在し、季節変動も少ないため、実浄水場における測定対象として利用可能であることが示された
- 浄水処理工程でのウイルス除去は凝集沈殿、オゾンによるものが大きい可能性

この研究のすごいところ

普通は、実験室でビーカーの中にウイルスを入れて実験する。

浄水場では？

- 野生のウイルスを測定、そのため、高濃度に存在するものに絞る
- 大量の水の中にいるウイルスを濃縮
- ウイルスを測定、その測定値が正しいかどうかを検証

下水の飲用再利用における ウイルス除去の実態調査

Water Research 206 (2021) 117735



Contents lists available

Water Research, 2021

Water Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/watres



Applicability of pepper mild mottle virus and cucumber green mottle mosaic virus as process indicators of enteric virus removal by membrane processes at a potable reuse facility

Midori Yasui^a, Hikaru Iso^a, Shotaro Torii^a, Yasuhiro Matsui^b, Hiroyuki Katayama^{a,*}

^a Department of Urban Engineering, School of Engineering, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan

^b Yokogawa Electric Corporation Japan

飲用再利用の三形態

■直接飲用再利用

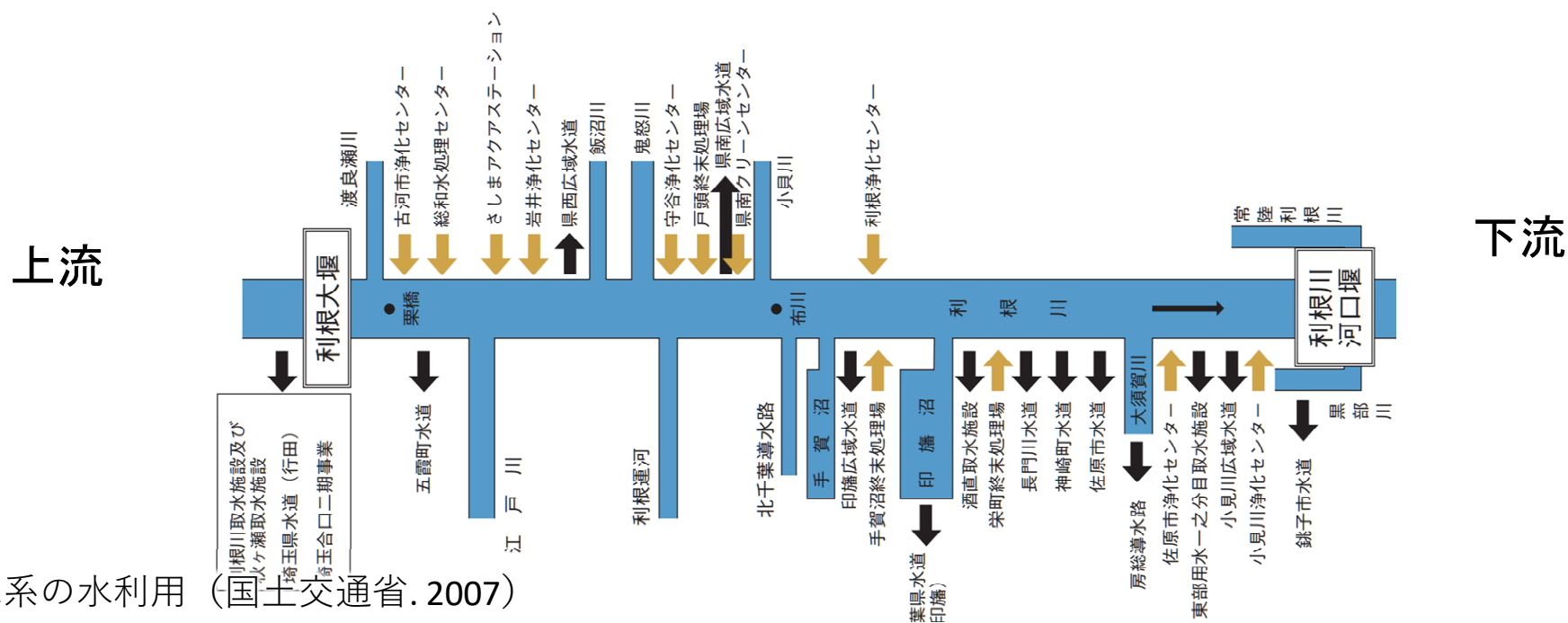
- 下水処理水を高度処理し、それを浄水場に管路輸送する方式

■間接飲用再利用

- 下水処理水を貯水池や地下水に涵養し、上水水源として用いる方式

■De facto再利用

- 上流に下水処理場があり、下流において水道原水として取水されて利用されている事実上の再利用



米国カリフォルニア州オレンジ郡

下水処理水を高度処理して地下水へ
地下水への海水の侵入を防ぐ目的
→ 間接飲用再利用としてルールを見直す。



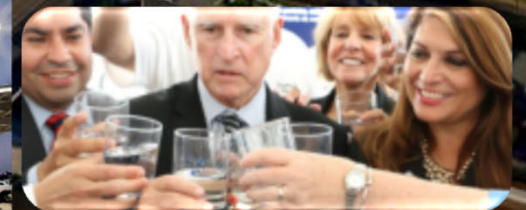
1976 Water Factory 21



2004-2008 Interim Water
Factory MF/RO/UV

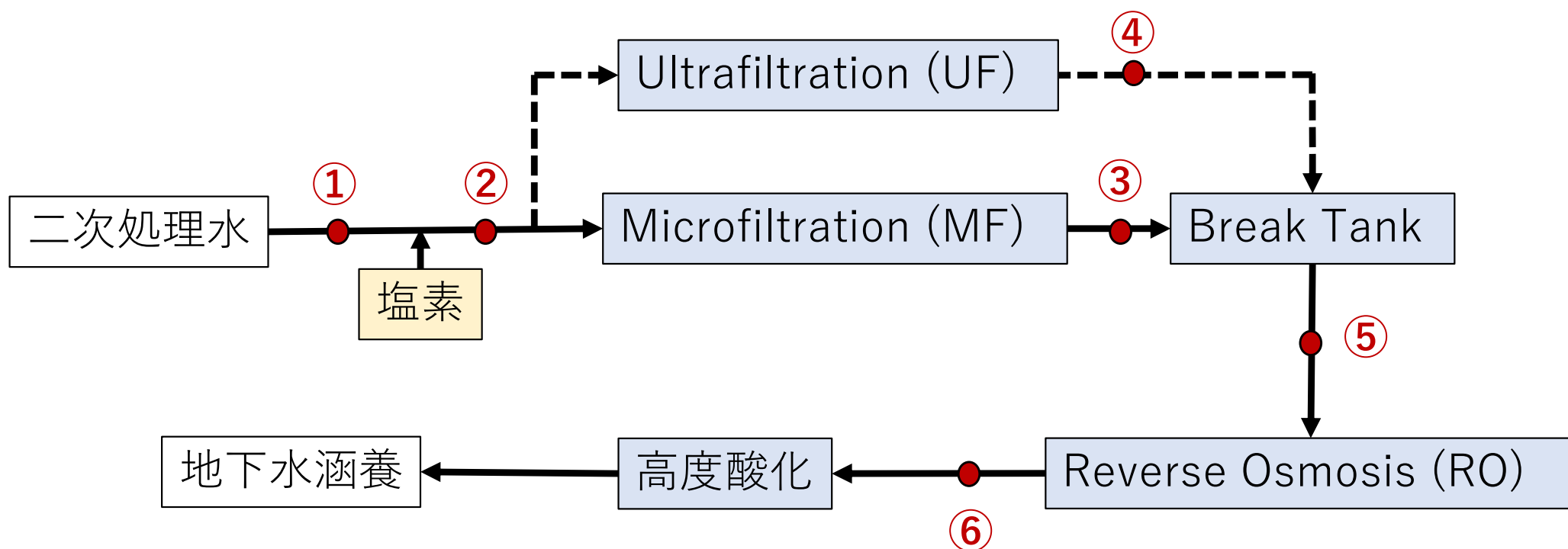


2008 Advanced Water
Purification Factory



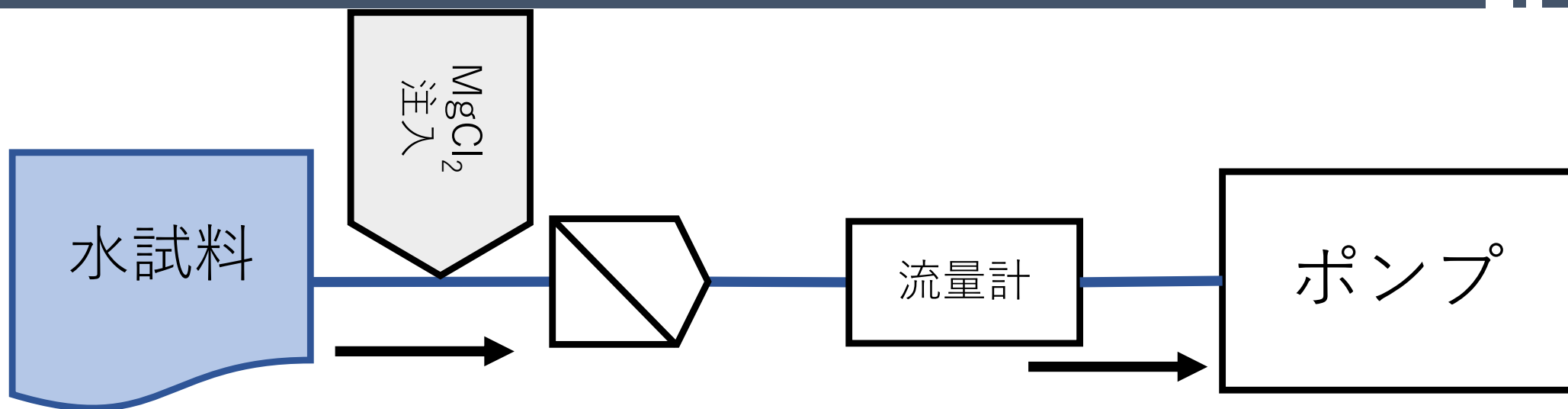
処理法とサンプル地点

最大処理能力：約37万m³/日 世界最大規模の間接的飲用再利用



① MF前(No Cl) ② MF前 + Cl ③ MF後 ④ UF後 ⑤ RO前 ⑥ RO後

濃縮液量

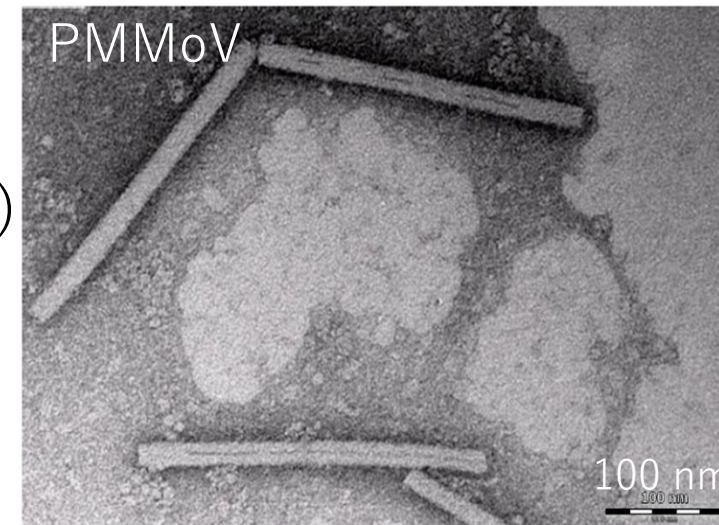


Sample Point No.	Sample Point Name	Quantity of Sample		
		Sep. 2019	Nov. 2019 I	Nov. 2019 II
①	MF前 (No Cl)	20L	16.5L	25L
②	MF前 + Cl	30L	14L	15L
③	MF後	100L	100L	100L
④	UF後	100L	100L	100L
⑤	RO前	100L	100L	100L
⑥	RO後	1000L	1000L	1000L

測定したウイルス種

Tobamovirus Group (竿型)

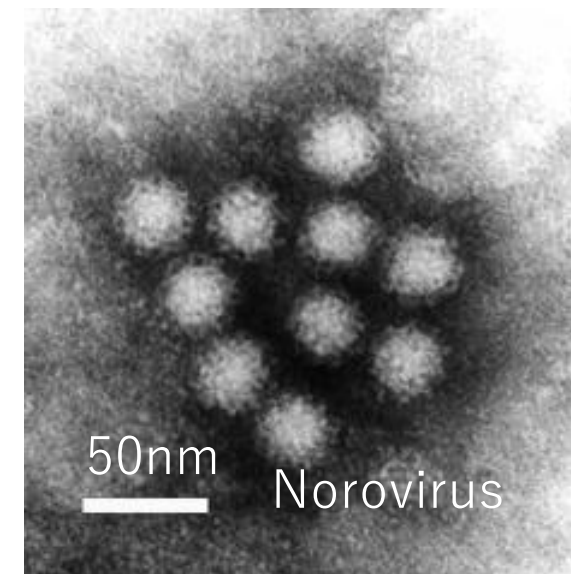
- Pepper Mild Mottle Virus (PMMoV)
- Cucumber Green Mottle Mosaic Virus (CGMMV)



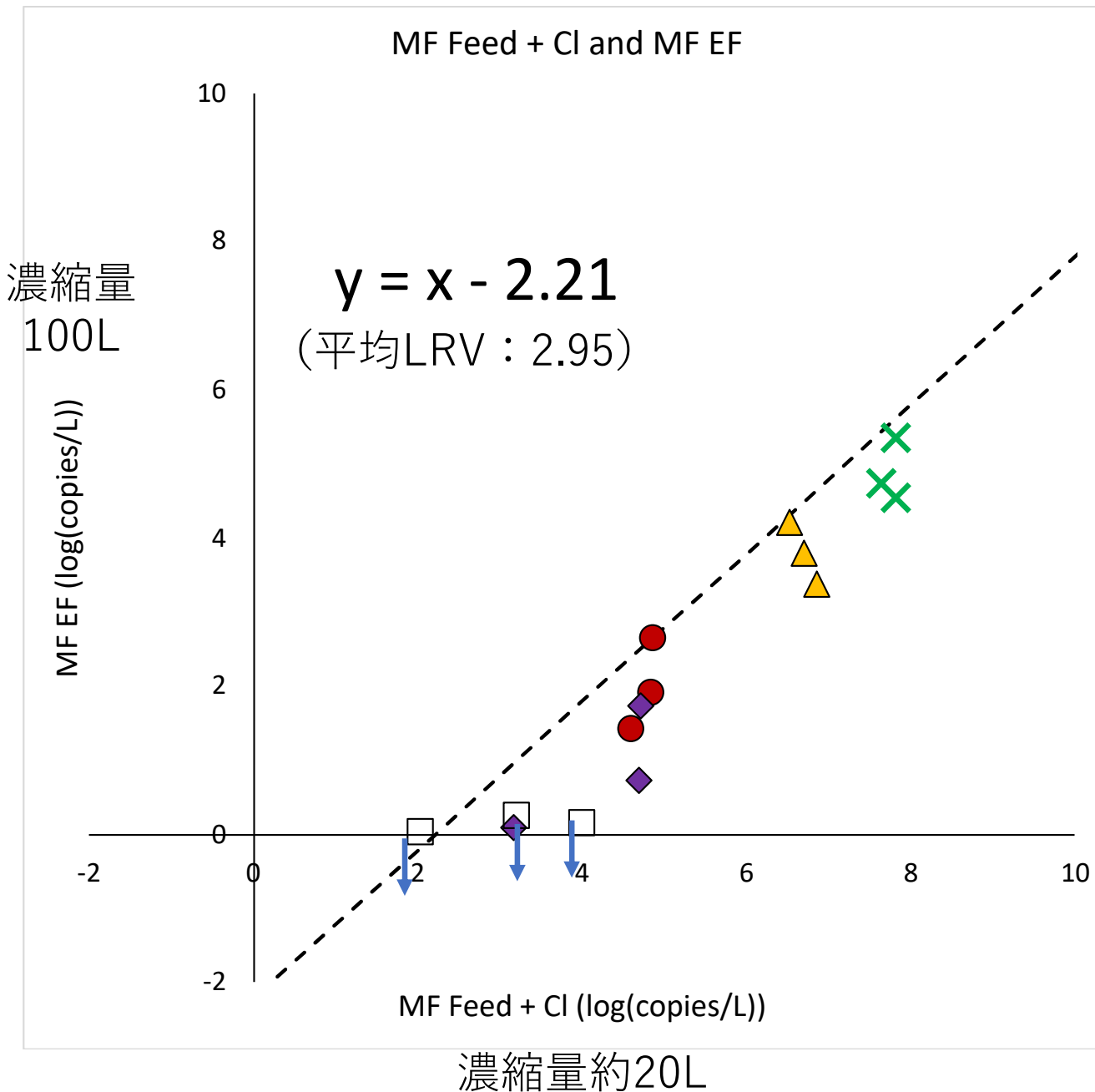
ヒト腸管系ウイルス (正二十面体)

- Aichi Virus (AiV)
- Human Noro Virus GI (GI)
- Human Noro Virus GII (GII)

PMMoVと腸管系ウイルスの除去率
(LRV) が同じ？

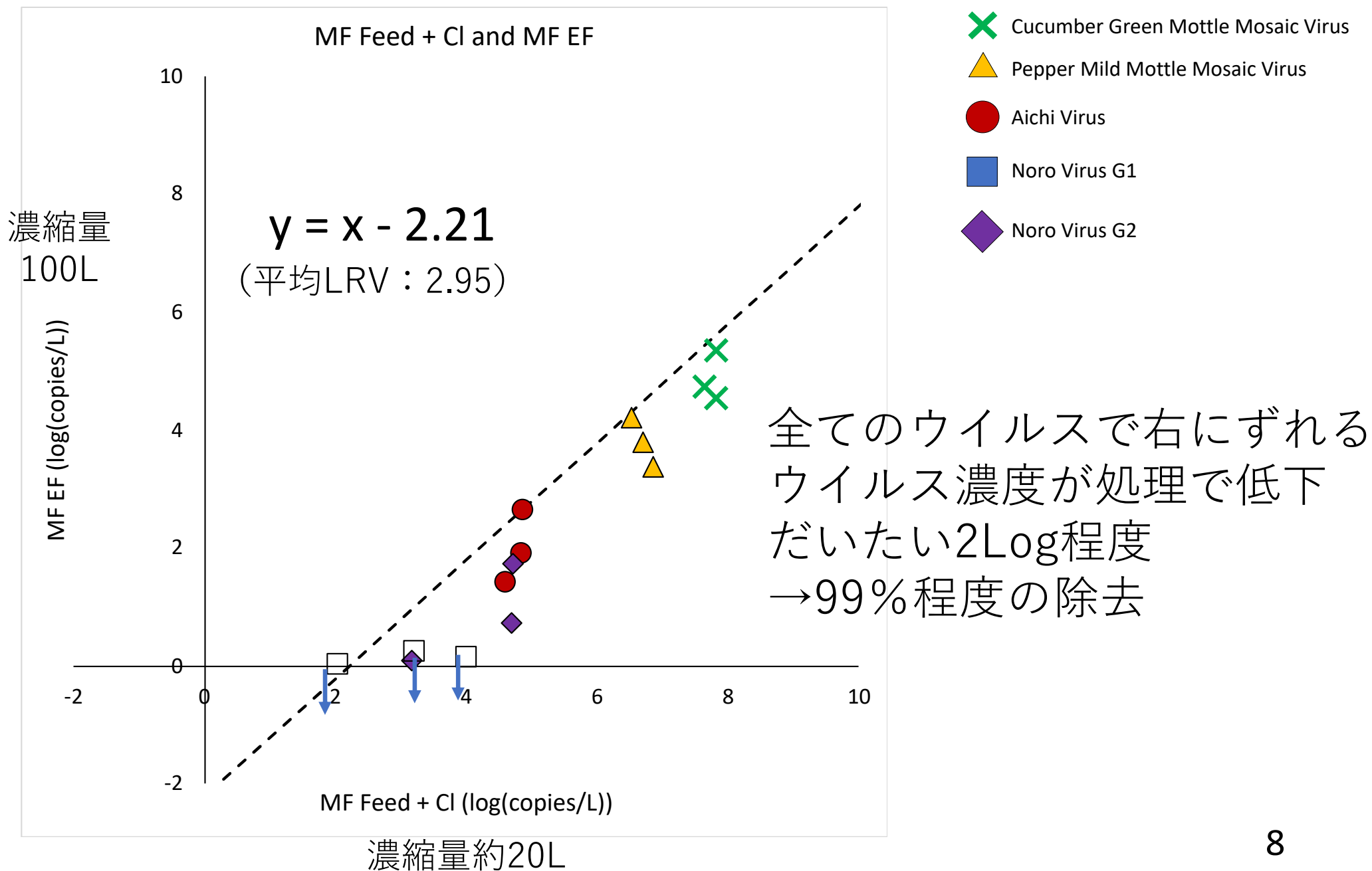


MFにおけるLRVの評価

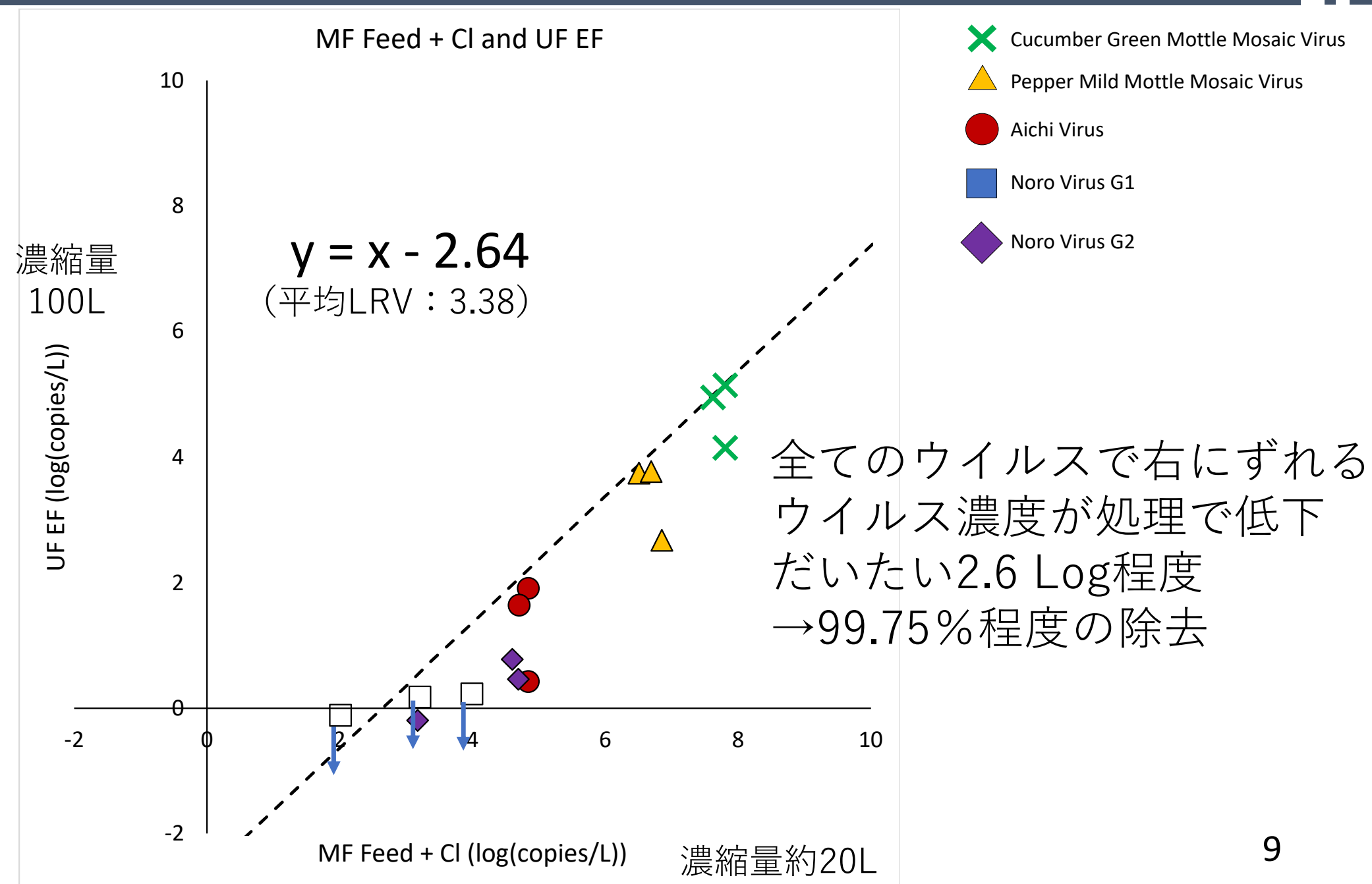


- One-way ANOVAによるp値は0.37
- San DiegoのレポートにはMFによるウイルス除去は $0 - \log_{10}$ とある.

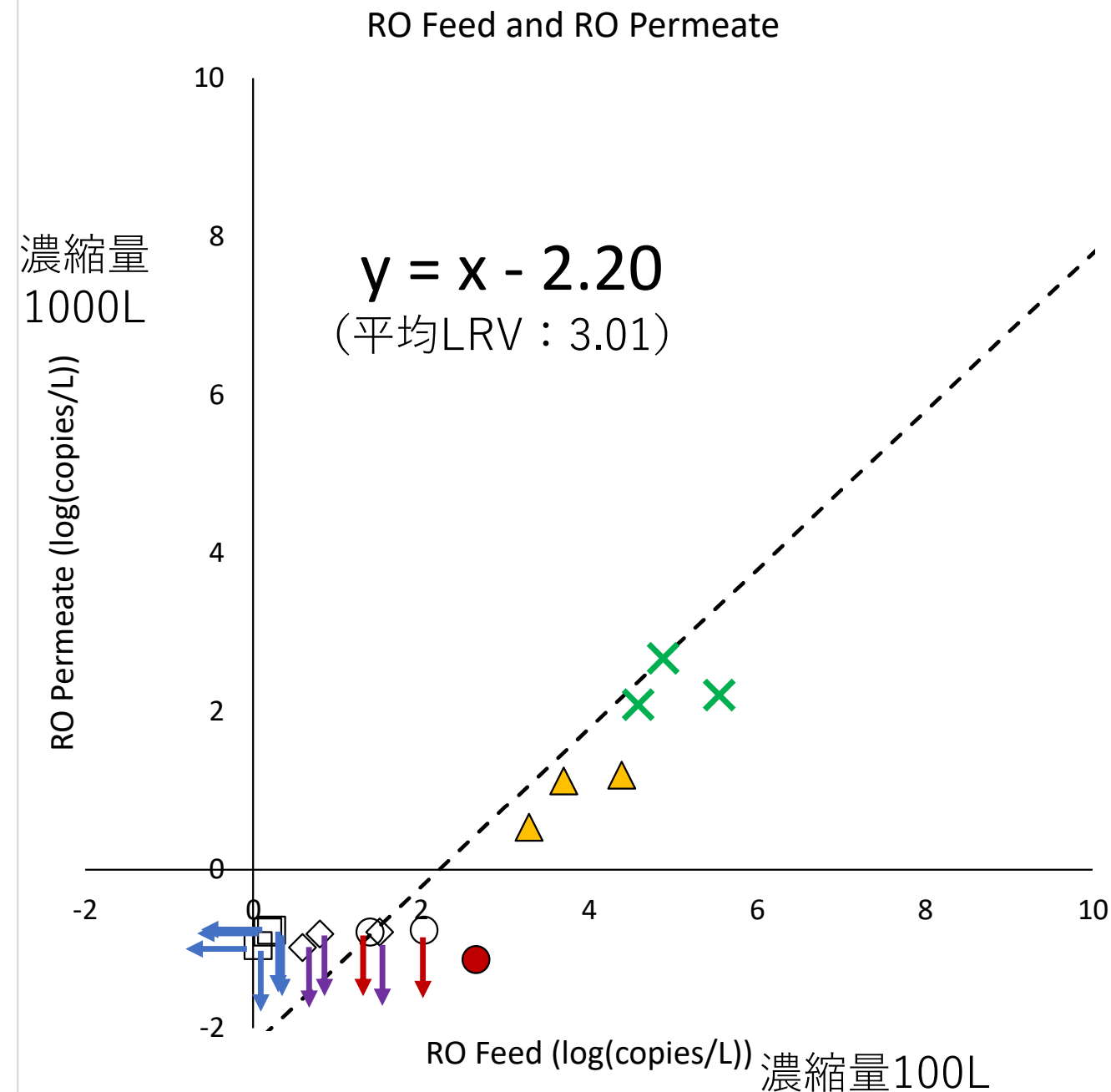
MF前後のウイルス濃度



UF前後のウイルス濃度



逆浸透膜 (RO)前後のウイルス濃度



- ✕ Cucurbit Green Mottle Mosaic Virus
- ▲ Pepper Mild Mottle Mosaic Virus
- Aichi Virus
- Noro Virus G1
- ◆ Noro Virus G2

全てのウイルスで右にずれる
ウイルス濃度が処理で低下
だいたい2Log程度
→99%程度の除去

**実処理場におけるROによる
ウイルス除去評価は今回が初
めて**

結論

これまで未知であった**飲用再生水の実処理場**における**ウイルス濃度定量化**による除去評価について、

- LRVがどの膜処理においてもウイルス種間でほとんど変わらないことを示した。

	最低LRV
MF	2.21-log_{10}
UF	2.64-log_{10}
RO	2.20-log_{10}

飲用再生水の実処理場におけるLRVの評価手法として、PMMoVを指標ウイルスとして用いることの有用性を示した。

この研究のすごいところ

アメリカの研究者を差し置いて、日本から測定しに行っていること
水中ウイルスの測定では世界一

水中ウイルス測定技術の発展に貢献

工学的見地から
定量性を追求

それまでの
水中ウイルス
研究

- 濃縮後に細胞培養
- 医学・保健学の分野
- ウイルスの同定重視

PCR阻害の克服

Kato et al., 2018 WR

ウイルスの検出感度の向上
(=大容量の水を濃縮)

Hata et al., 2015 FEV

ウイルスの定量性重視

Hata et al., 2011 AEM

ウイルス濃縮法から見直す

Katayama et al., 2002 AEM

水道、下水再生水、
水浴上等における
ウイルス感染リス
ク管理が可能に！

PCRの登場

1990年代から
環境試料に適用

ただし、PCR阻害は大きな課題

新規指標ウイルスの発見

定量的微生物リスク評価の進展