

水環境中の病原微生物の汚染実態の解明と 下水疫学研究の推進

山梨大学大学院総合研究部附属
国際流域環境研究センター 教授
原本 英司

eharamoto@yamanashi.ac.jp

限られた水資源・・・世界の水問題に挑戦！

ICRE 山梨大学 国際流域環境研究センター

Interdisciplinary Center for River Basin Environment

水資源の保全・最適配分

持続的な食料生産

先端的環境研究

飲料水・排水の
浄化・資源回収

大学院強化で
研究を活性化

洪水・渇水

医工農融合で
地域を活性化

汚染の発生源
・仕組み

大学院教育

ICRE

地域貢献

国際連携

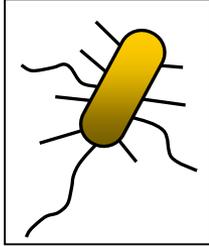
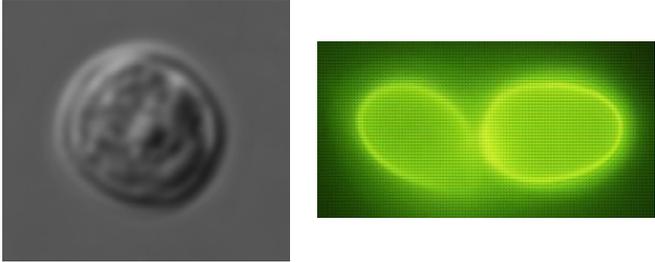
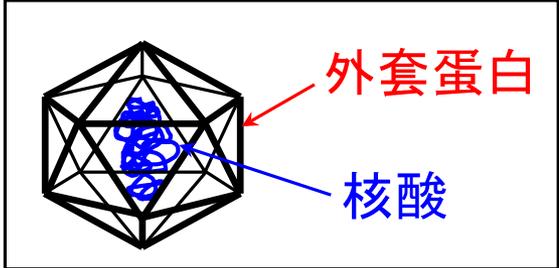
健康・
社会経済



多様で実践型の学習環境



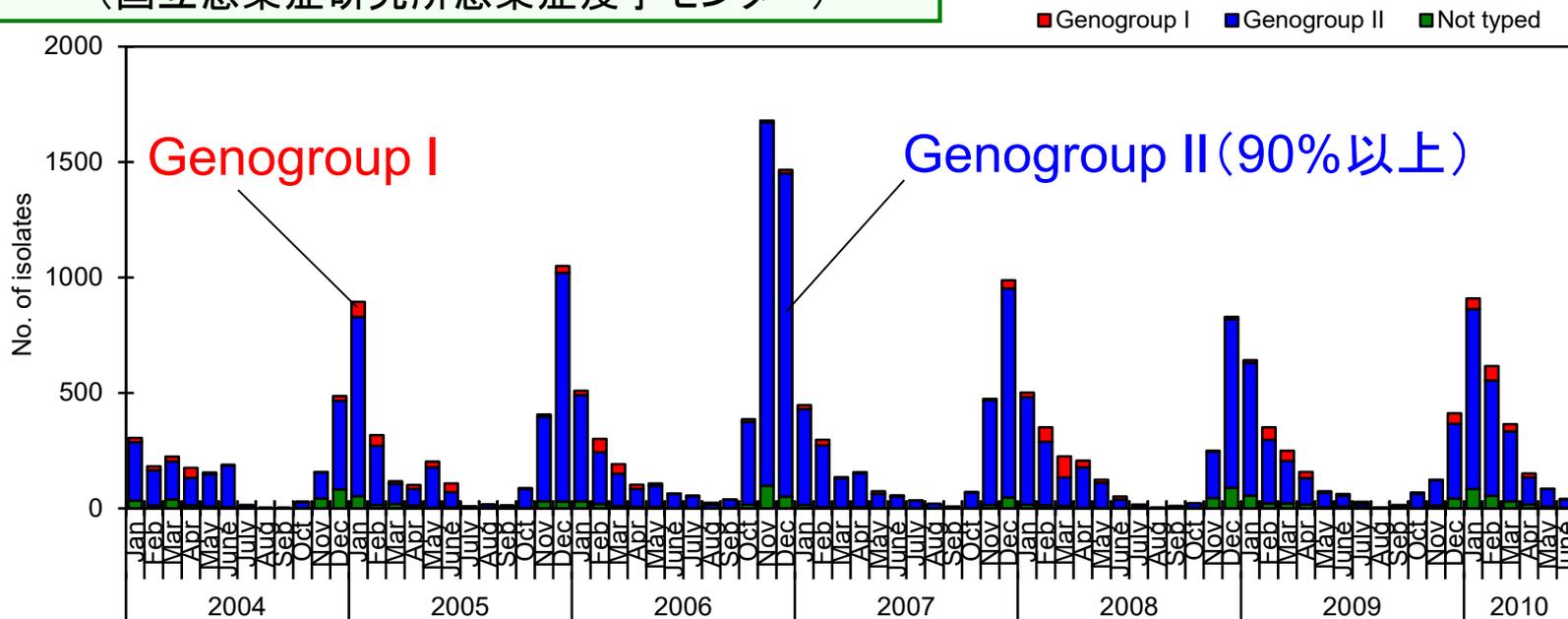
研究対象：水系感染性の病原微生物

種類	大きさ	例	イメージ
細菌	1~10 μ m	大腸菌(O157など) コレラ サルモネラ	
原虫 (寄生虫)	4~20 μ m	クリプトスポリジウム ジアルジア サイクロスポーラ	
ウイルス	0.02~0.1 μ m	ノロウイルス アデノウイルス エンテロウイルス ロタウイルス サポウイルス A型肝炎ウイルス E型肝炎ウイルス	

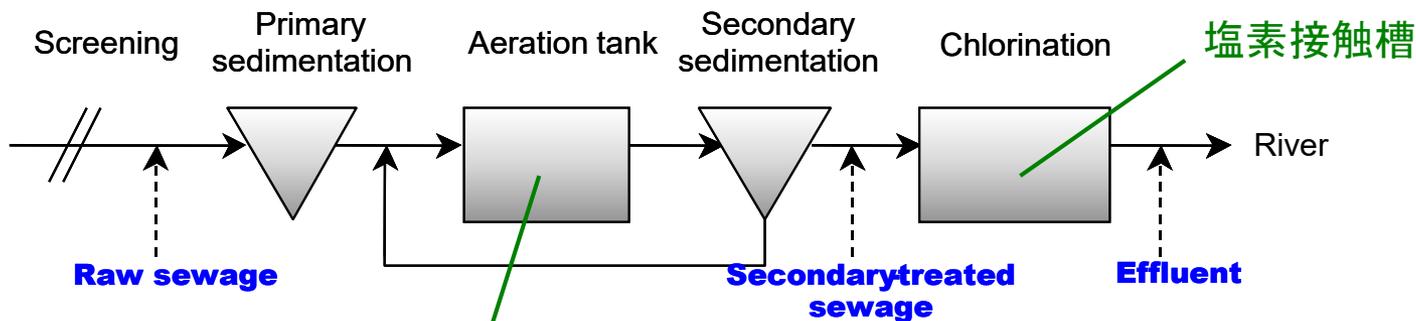
代表的な病原微生物：ノロウイルス

- 冬期の急性胃腸炎の主要な病因（世界的に冬期に流行）
- 2004年末に広島県福山市の特別養護老人ホームで死亡事例が発生
- 2005年3月に秋田県の集落で水系感染事例が発生

感染者からのノロウイルスの分離報告数 (国立感染症研究所感染症疫学センター)



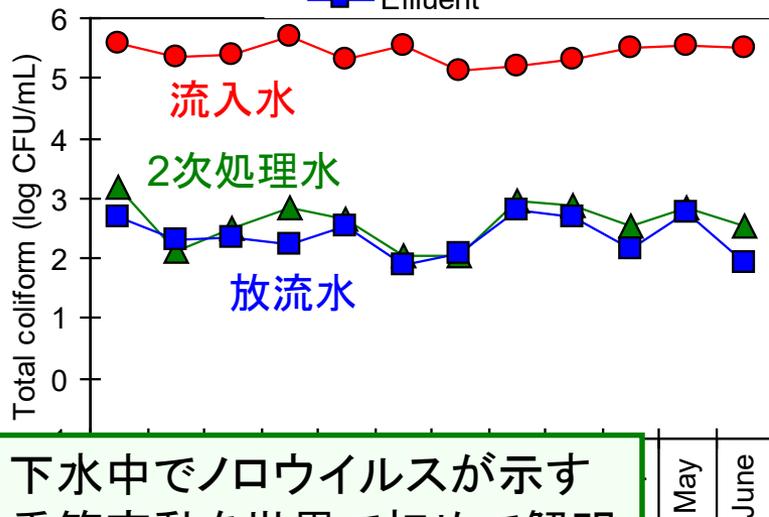
下水処理場におけるノロウイルスの濃度変動



① 流入水 ② 2次処理水 ③ 放流水

大腸菌群

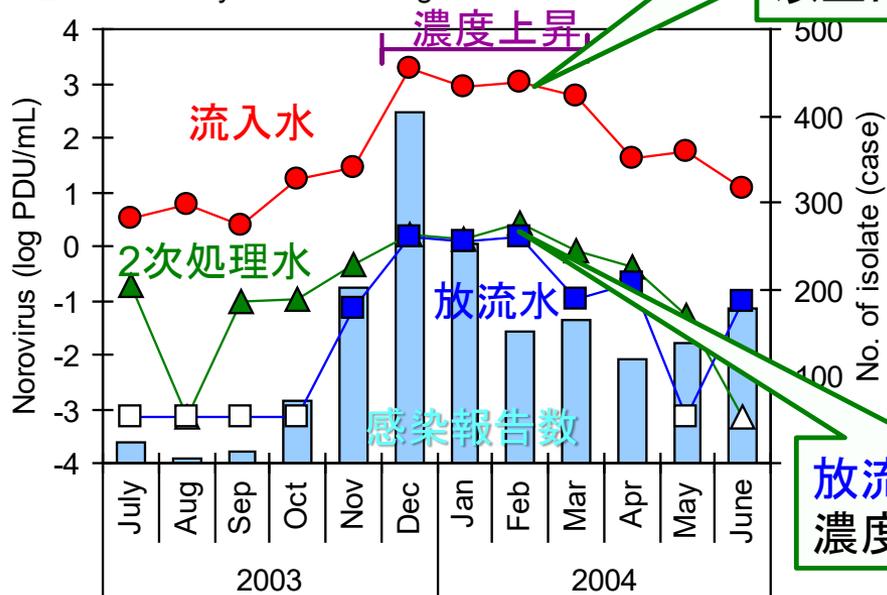
● Raw sewage
▲ Secondary-treated sewage
■ Effluent



下水中でノロウイルスが示す季節変動を世界で初めて解明

ノロウイルスGII

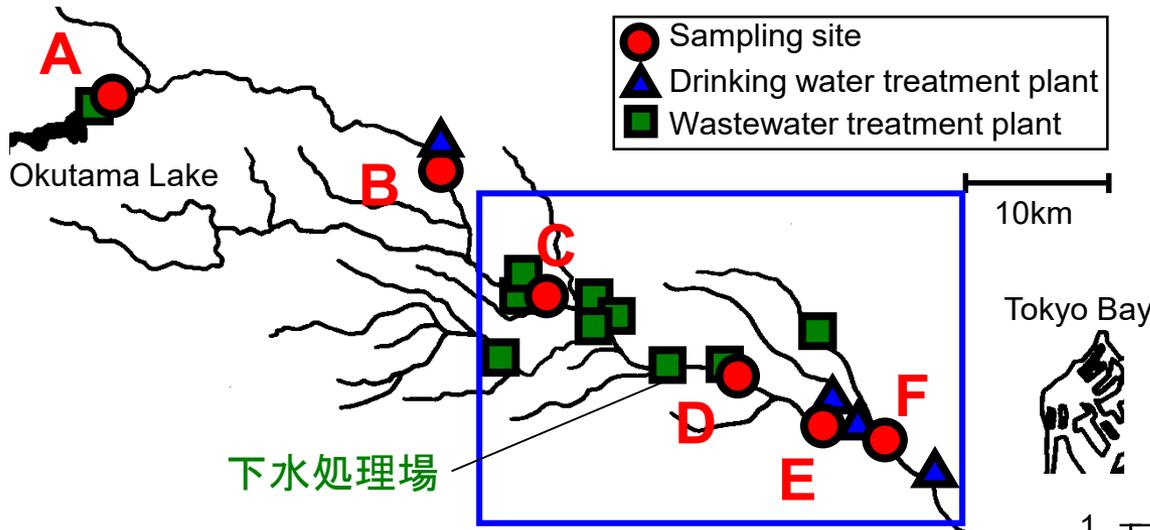
■ Isolate ● Raw sewage
▲ Secondary-treated sewage ■ Effluent



流行期(冬期)に流入水中の濃度が100倍以上に上昇

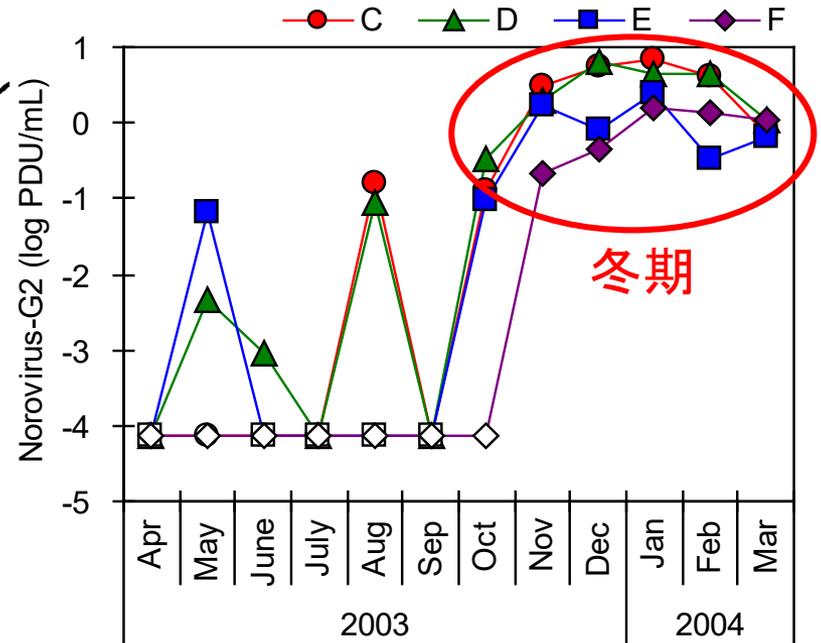
放流水中の濃度も上昇

都市河川におけるノロウイルスの濃度変動



- A 奥多摩湖
- B 羽村取水堰
- C 多摩大橋
- D 稲城大橋
- E 砧浄水場
- F 二子玉川(二子橋)

ノロウイルスGII

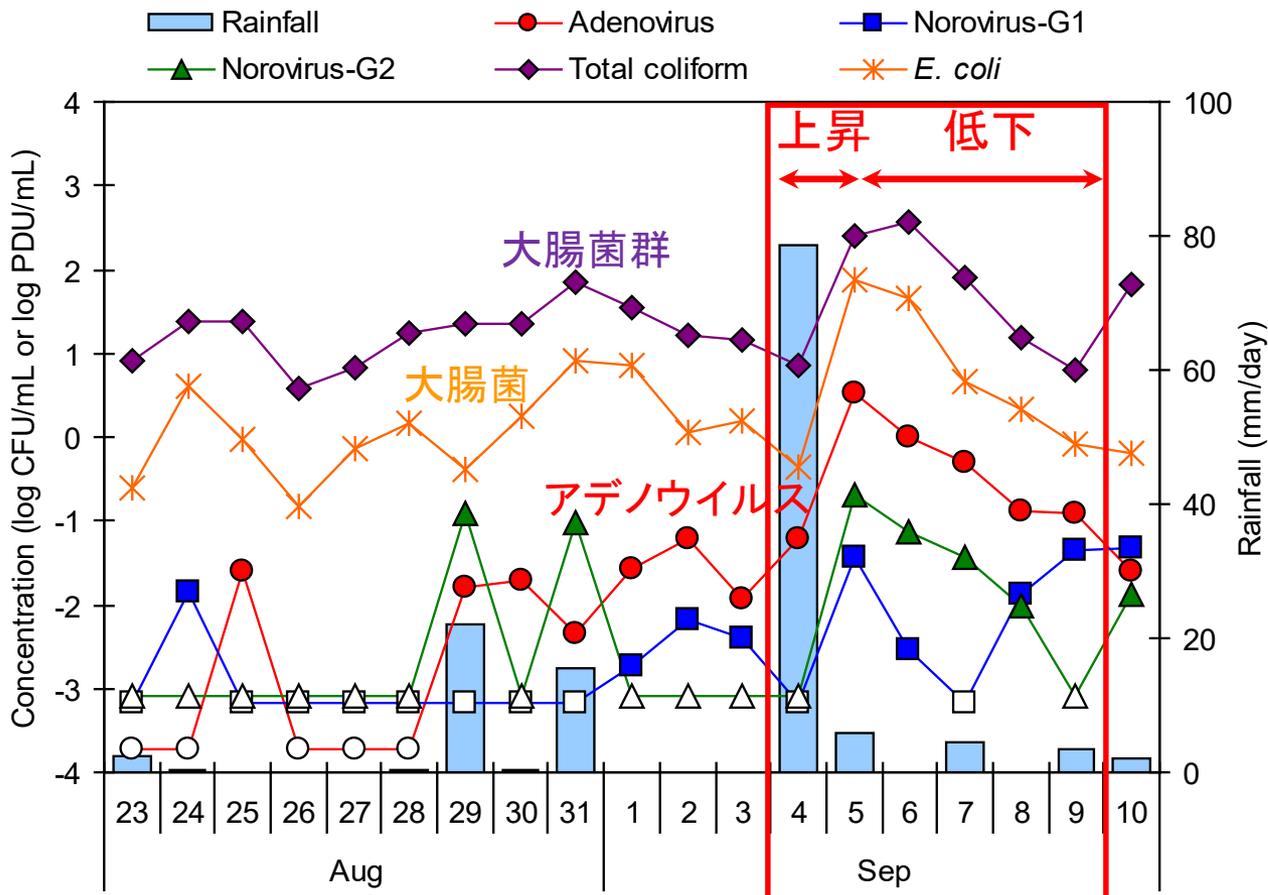


- 下水処理場の放流水を受容する都市河川では、下水と類似した濃度変動（疫学的流行期である冬期に上昇）を示した

河川水でノロウイルスが示す季節変動の定量に世界で初めて成功

降雨時の海域における微生物の濃度変動

- 海水(東京湾)中のウイルスと指標微生物の濃度は、降雨によって10~100倍程度上昇し、降雨後に晴天時の濃度まで低下するのに数日間を要することを明らかにした



微生物の濃度上昇量

- アデノウイルス: $1.7 \log_{10}$
- ノロウイルスGI: $>1.7 \log_{10}$
- ノロウイルスGII: $>2.3 \log_{10}$
- 大腸菌群: $1.6 \log_{10}$
- 大腸菌: $2.2 \log_{10}$

Haramoto *et al.* (2006) *Water Science and Technology*.
54(3):225-230.

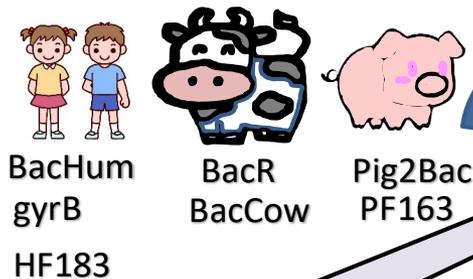
微生物遺伝子マーカーを活用した水環境中の糞便汚染源解析手法の開発

- 上流に人為汚染源のない河川源流域で大腸菌が検出される場合がある

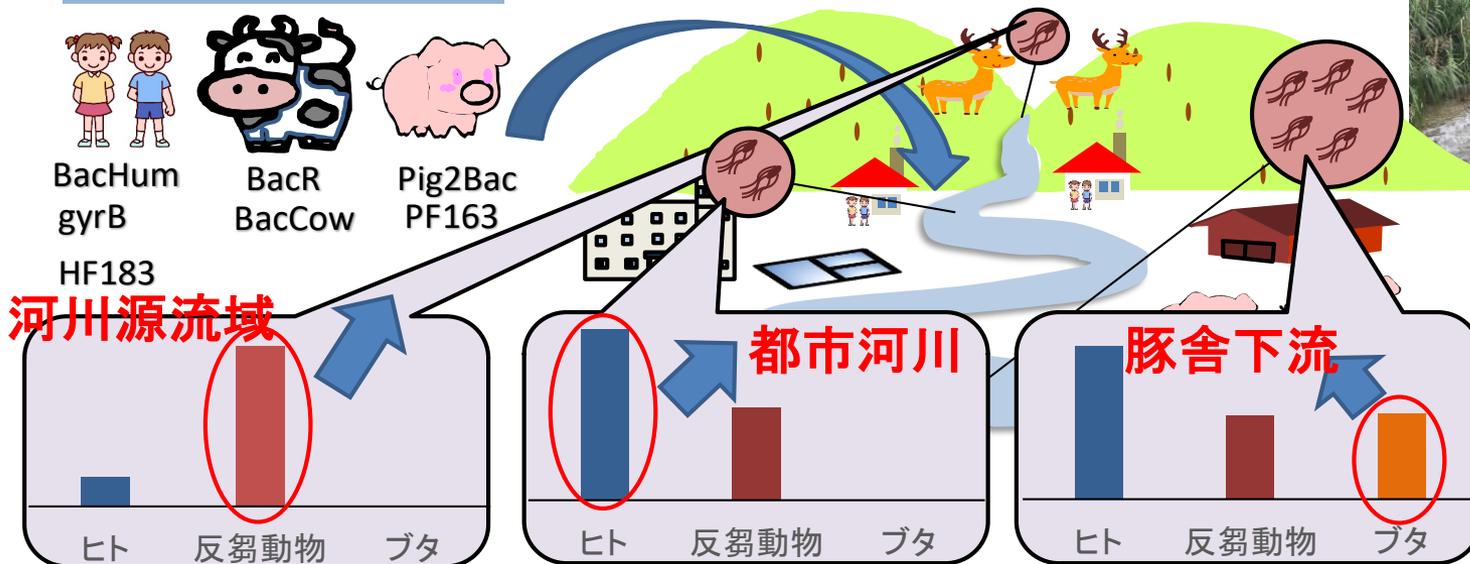
野生動物の糞便汚染？

- 宿主(ヒト, ブタ等) 特異的な微生物遺伝子マーカーを検出することで糞便汚染源を可視化

遺伝子マーカーの決定



汚染源の解析



糞便汚染の発生源対策に活用可能な知見の取得

微生物と水文水質学を融合させたネパールカトマンズの水安全性を確保する技術の開発

水量

水不足ストレスを解消

- ・水資源の需要・利用・供給量の把握と将来予測
- ・水量モデルの作成



水質

水汚染ストレスを解消

- ・水資源 (地下水・河川水・雨水) の汚染調査
- ・水質汚染マップの作成



微生物

病原微生物
水質汚染 ストレスの解消

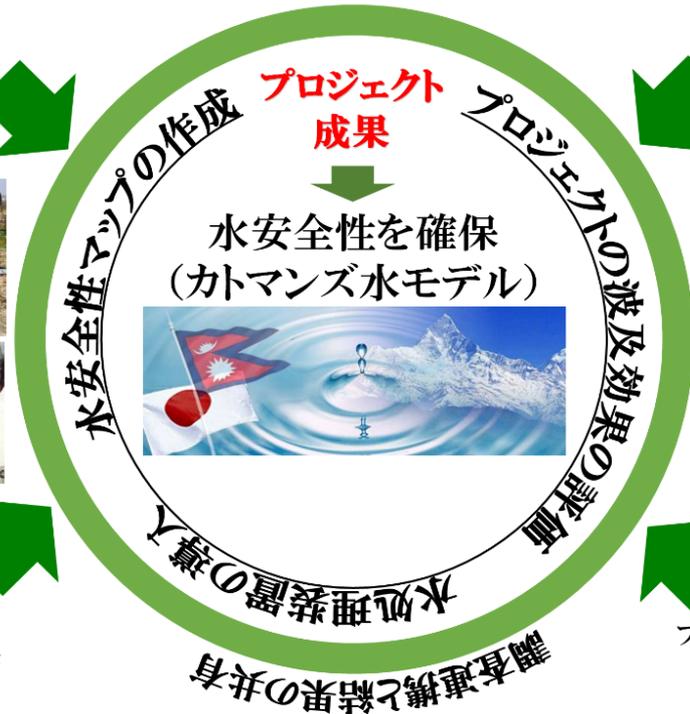
- ・病原微生物の汚染状況の把握
- ・環境微生物を使った最適な水処理装置の検討



社会影響評価

プロジェクトの社会影響を評価

- ・住民の健康影響、水需給量などへのアンケート調査
- ・プロジェクトの成果を評価



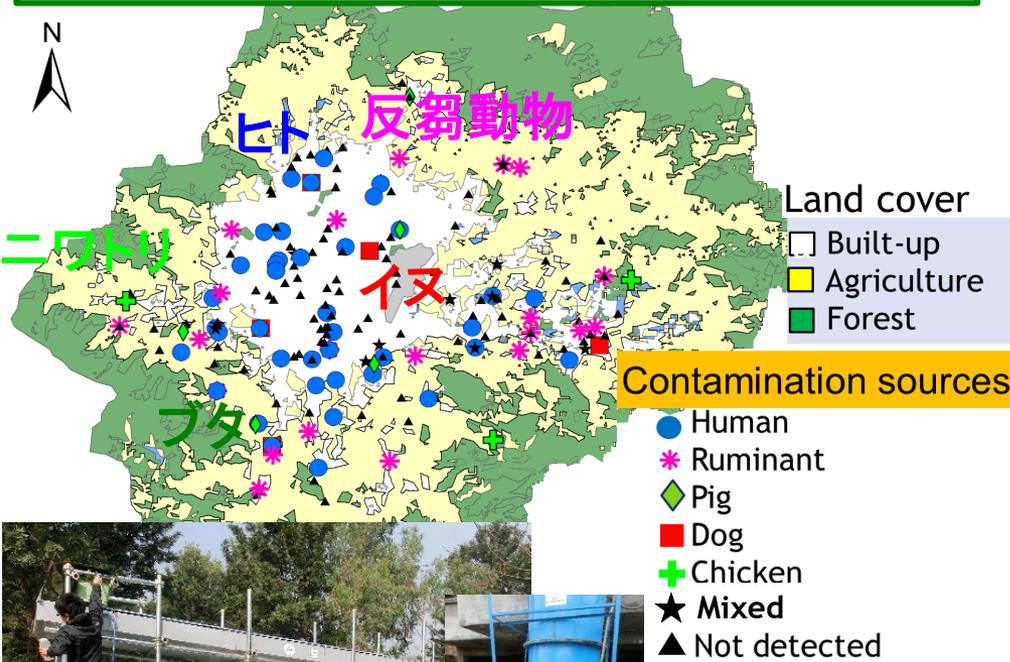
ネパール
カウンターパートと連動



CREW
Center of Research for Environment, Energy and Water
Harmonize Research and Development with Nature

ネパール・カトマンズ盆地における病原微生物・糞便汚染実態の解明

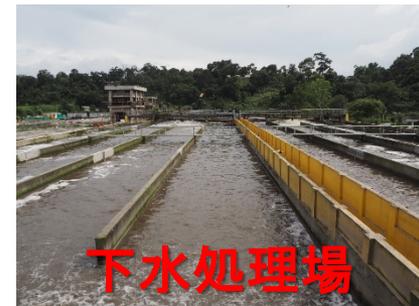
盆地全域の地下水中の糞便汚染源解析



様々な飲料水源中の汚染実態



既存の浄水場・下水処理場での病原微生物の低減効果



プロジェクトで設置した浄水装置による微生物低減効果

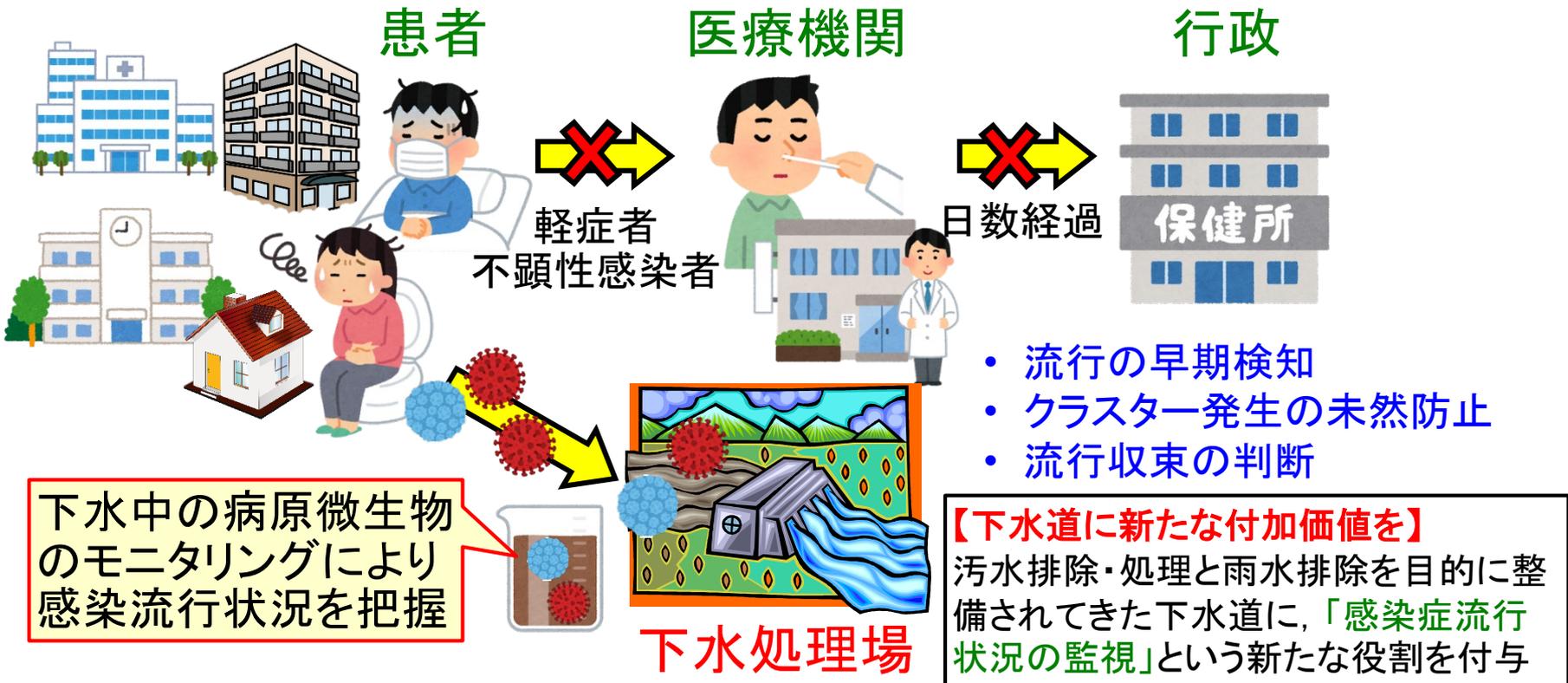
6 安全な水とトイレを世界中に



SDG6「安全な水とトイレを世界中に」の達成に貢献すべく、人材育成(留学生の受入)も含めて活動

「下水疫学調査」による新型コロナウイルスの感染流行状況の監視

- **下水疫学(調査)**: Wastewater-Based Epidemiology (WBE) の日本語訳として原本と北島正章助教(北海道大学)が考案し, 公式文書中で初めて使用
 - 下水疫学: 学問分野
 - 下水疫学調査: 調査する行為



新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 関連
国際緊急共同研究・調査支援プログラム (J-RAPID)

下水疫学調査による新型コロナウイルスの 感染流行状況のリアルタイム監視

- 研究代表者: 原本英司 (山梨大学・教授)
- 研究分担者: 北島正章 (北海道大学・助教), 瀬川高弘 (山梨大学・特任助教)
- カウンターパート: Kyle Bibby 准教授 (米国・ノートルダム大学)

新型コロナウイルスが不顕性感染者も含めた感染者の糞便からも検出されることに着目し、下水中の新型コロナウイルスを定期的にモニタリングすることで、真の感染流行状況を捉えることができるリアルタイム監視システムの構築を目指す

国際コンソーシアムのウェブサイト

Home Collaborators Publication Map Resources News Join COVID19WBEC.ORG

COVID-19 WBE Collaborative

Welcome to COVID-19 WBE Collaborative! The purpose of this site is to provide a global scale for wastewater based surveillance of the etiologic agent of COVID-19. We are currently working on the Wastewater Analysis CoRe group Europe and the Wastewater Pathogen Project.

**下水からの検出法
や検出事例に関する
情報交換サイト**



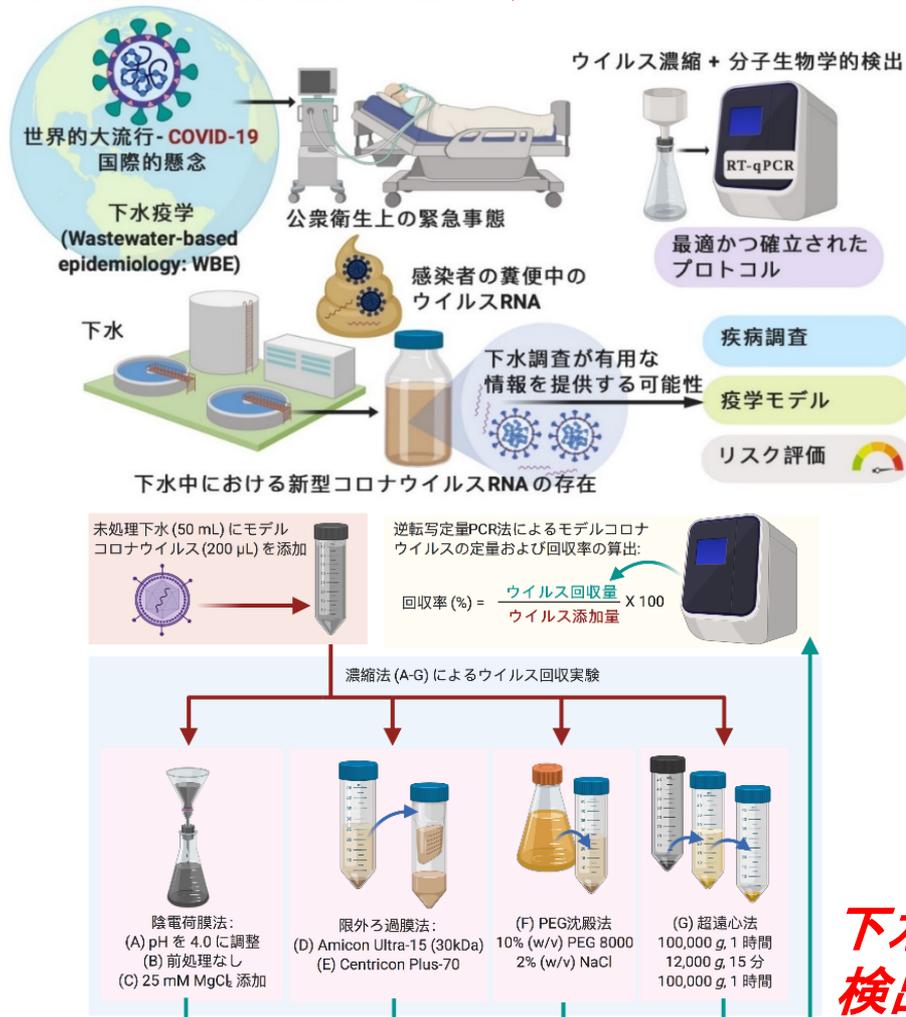
JSTnews (2020年9月号)

<https://www.jst.go.jp/pr/jst-news/>

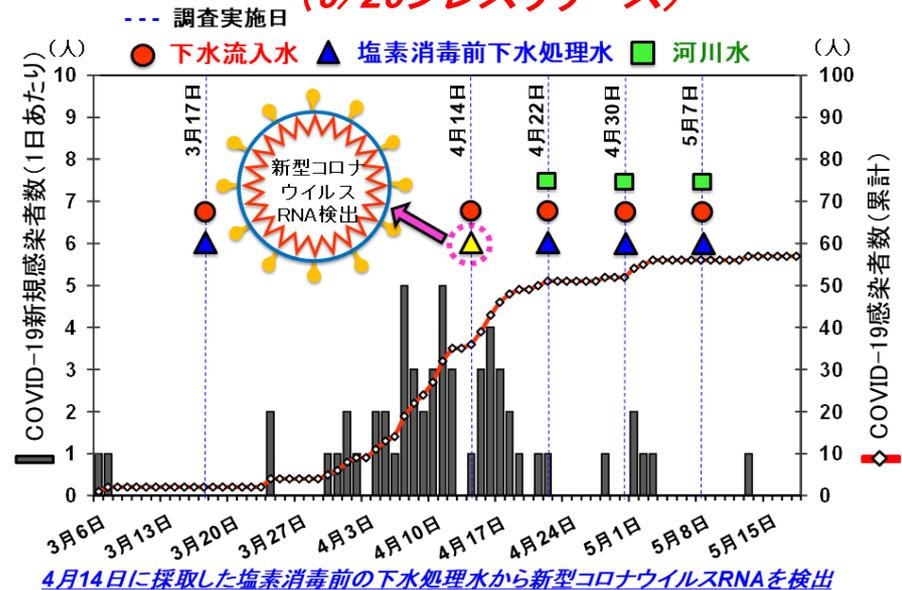


新型コロナウイルスの下水疫学調査研究 (山梨大学・北海道大学共同プレスリリース)

下水中の新型コロナウイルスに関する
世界初の総説論文を発表(5/15プレスリリース)



国内初となる下水試料からの
新型コロナウイルスの検出に成功
(6/26プレスリリース)



PRESS RELEASE 2020/5/14



下水中の新型コロナウイルスに関する世界初の総説論文を発表
～COVID-19の流行状況を把握する上での下水疫学調査の有用性を提唱～

ポイント

・下水中における新型コロナウイルスの存在実態に関連する知見を体系的に整理。

下水中の新型コロナウイルスの
検出法の開発(7/10プレスリリース)

下水中の新型コロナウイルスに関する 世界初の総説論文を発表

- 下水中の存在実態からリスク評価までの知見を網羅
 - COVID-19における胃腸炎症状と新型コロナウイルスの糞便中への排出
 - 下水中におけるコロナウイルスの存在実態
 - 下水調査によるCOVID-19の疫学の把握
 - 下水中の新型コロナウイルスの検出方法
 - 水中における新型コロナウイルスの生残性と不活化
 - 下水中の呼吸器系ウイルスとその下水道従事者へのリスク
 - 呼吸器系ウイルス及び新型コロナウイルスに対する定量的微生物リスク評価
 - コロナウイルスの用量反応関係

送付先： 北海道教育庁記者クラブ、山梨県政記者会、文部科学記者会、科学記者会

PRESS RELEASE 2020/5/14



北海道大学
HOKKAIDO UNIVERSITY



山梨大学
UNIVERSITY OF YAMANASHI

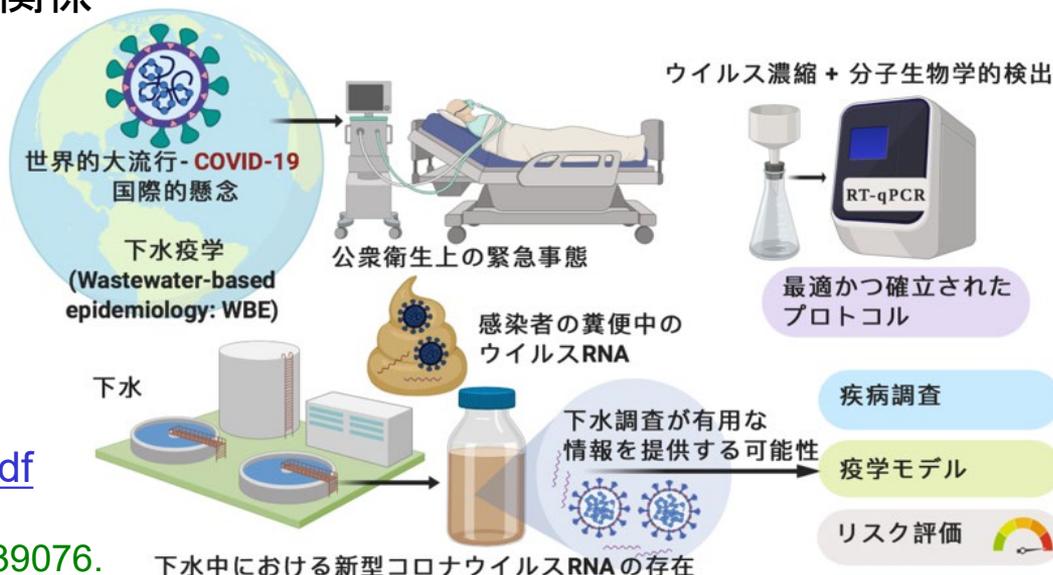
下水中の新型コロナウイルスに関する世界初の総説論文を発表

～COVID-19の流行状況を把握する上で下水疫学調査の有用性を提唱～

ポイント

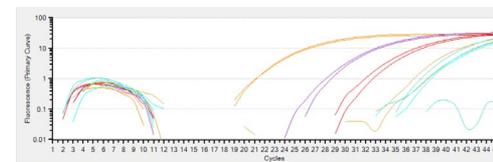
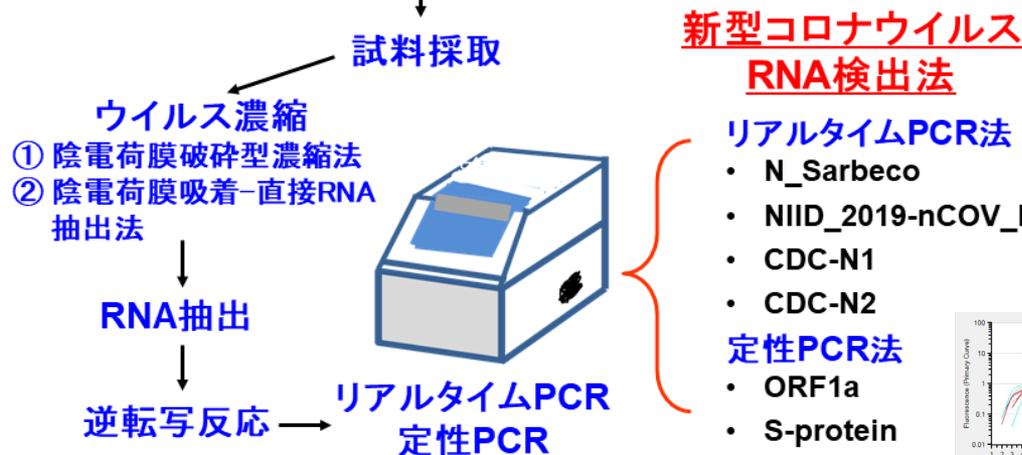
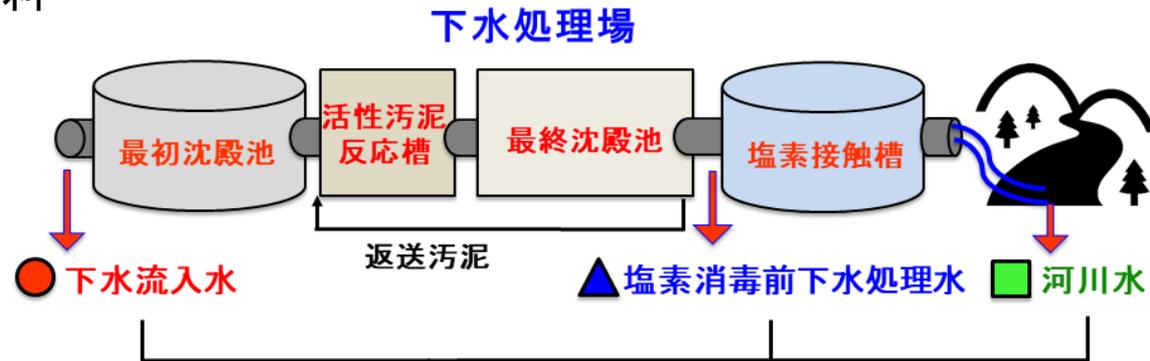
- ・下水中における新型コロナウイルスの存在実態に関する知見を体系的に整理。
- ・COVID-19の流行状況を把握する上で下水疫学調査データが重要な情報となる可能性を提示。
- ・感染拡大防止と社会経済活動再開に向けた適切な政策決定のための判断材料としての活用を期待。

<https://www.yamanashi.ac.jp/wp-content/uploads/2020/07/20200710pr.pdf>



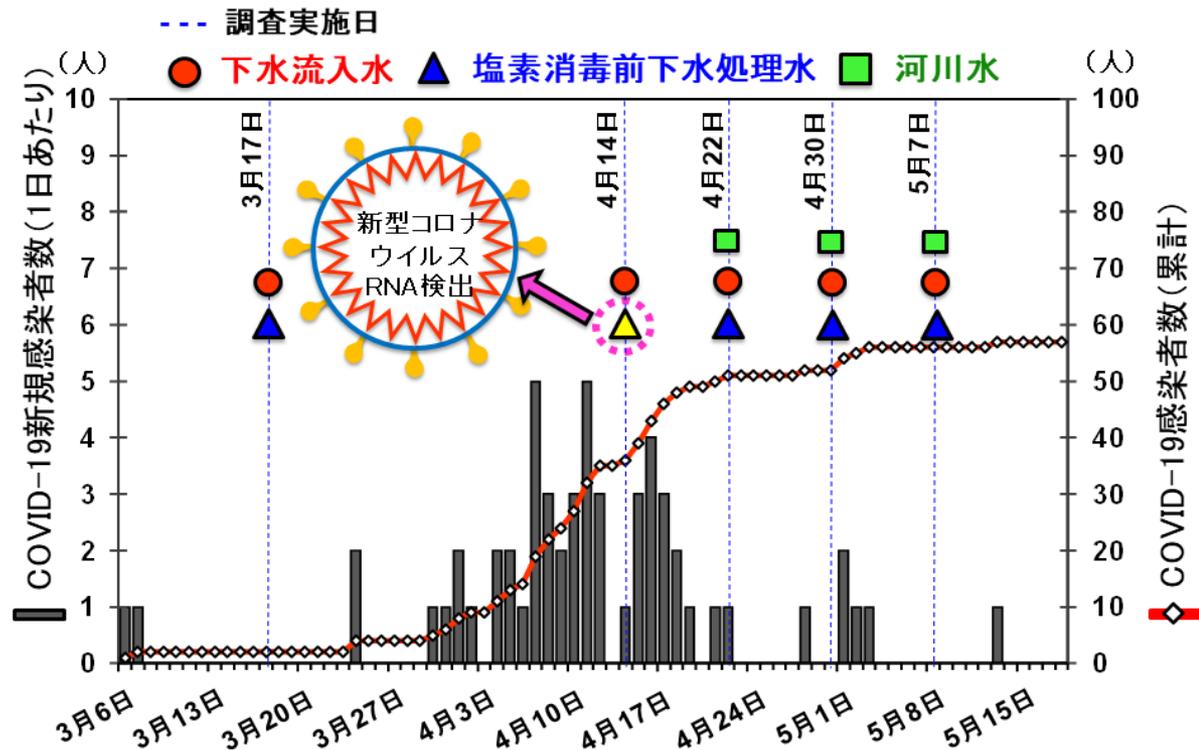
国内の下水処理場における 新型コロナウイルスRNAの検出調査

- 調査地点: 山梨県内の下水処理場(標準活性汚泥法)
- 調査期間: 2020年3月17日~5月7日(5回) ※現在も継続中
- 採取試料: 13試料



下水からの新型コロナウイルスRNAの検出 結果とCOVID-19感染報告者数との関係

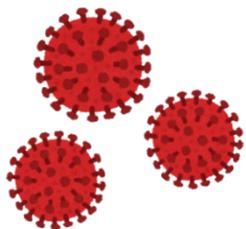
- 4月14日に採取した下水試料(塩素消毒前の下水処理水)から新型コロナウイルスRNAの検出に成功(国内初, 世界でも5例目)
- 4月14日時点での山梨県内のCOVID-19累計感染者数は36名(人口10万人あたり4.4名)であり, 県内での感染流行がピークを迎えている時期であった



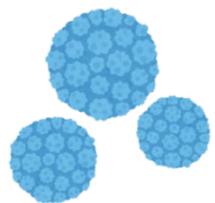
新型コロナウイルスの検出(濃縮)法の開発

- 7種類のウイルス濃縮法の利点, 欠点および改善の余地について, モデルウイルス(マウス肝炎ウイルス)の回収率に加えて, 操作の容易さや汎用性, コスト等の観点から体系的に整理

新型コロナウイルス
(エンベロップウイルス)



腸管系ウイルス
(非エンベロップウイルス)



未処理下水 (50 mL) にモデル
コロナウイルス (200 μL) を添加



逆転写定量PCR法によるモデルコロナ
ウイルスの定量および回収率の算出:

$$\text{回収率 (\%)} = \frac{\text{ウイルス回収量}}{\text{ウイルス添加量}} \times 100$$



濃縮法 (A-G) によるウイルス回収実験

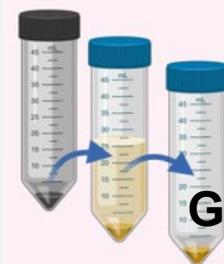
A: 26.7%
B: 60.5%
C: 65.7%



D: 56.0%
E: 28.0%



F: 44.0%



G: 33.5%

手法の標準化に向けた
研究を継続中

陰電荷膜法:
(A) pH を 4.0 に調整
(B) 前処理なし
(C) 25 mM MgCl₂ 添加

限外ろ過膜法:
(D) Amicon Ultra-15 (30kDa)
(E) Centricon Plus-70

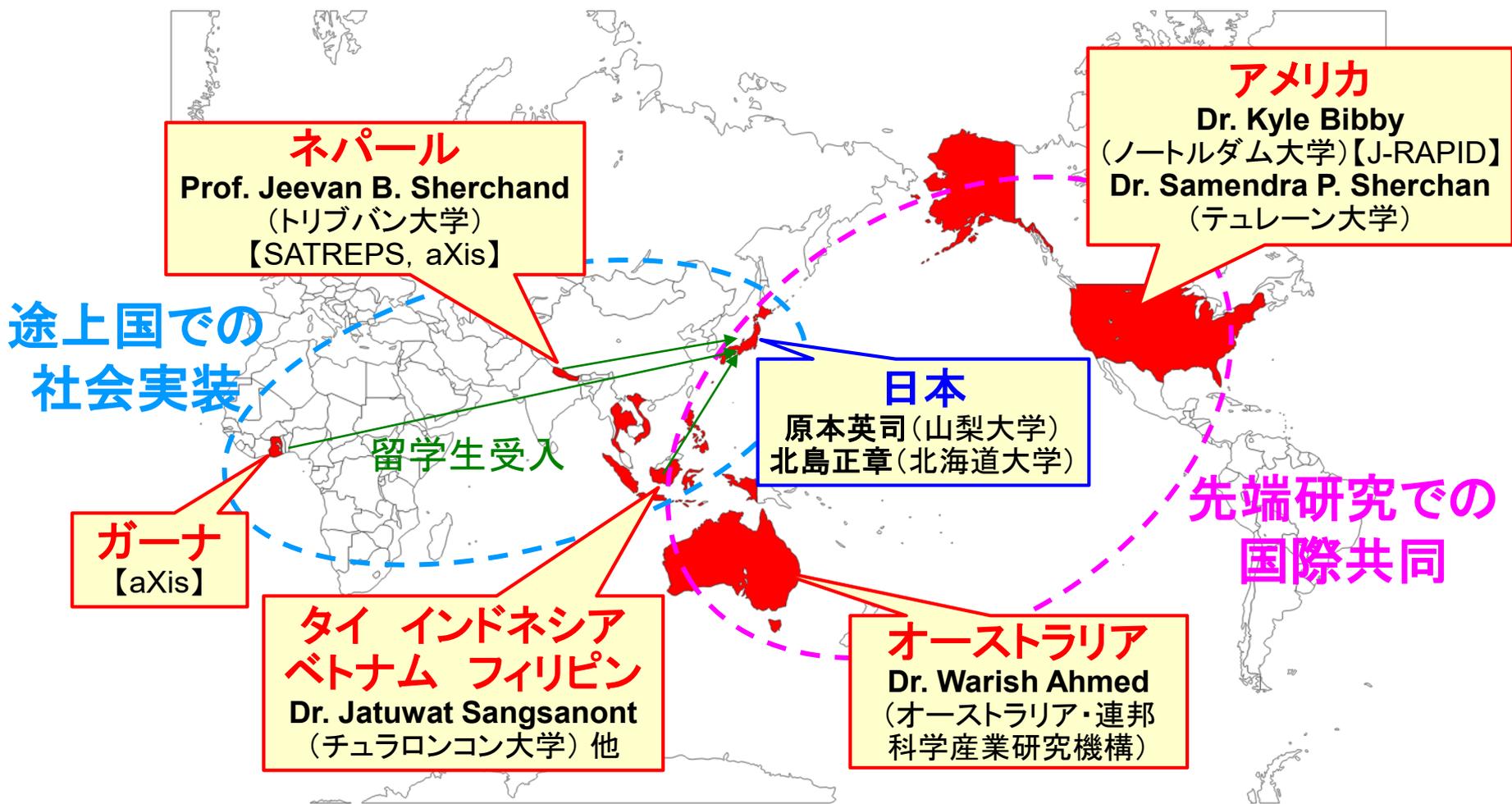
(F) PEG沈殿法
10% (w/v) PEG 8000
2% (w/v) NaCl

(G) 超遠心法
100,000 g, 1 時間
12,000 g, 15 分
100,000 g, 1 時間

新型コロナウイルスの下水疫学調査における 今後の研究課題と展望

- 下水中の新型コロナウイルス検出法の確立
 - 感染者数が少ない状況でも高感度・迅速に検出可能な技術の開発
- 下水の安全性の評価
 - 下水中の新型コロナウイルスの感染性の有無
 - 下水処理での除去・不活化効果（特に、消毒の効果）
- 将来起こり得るパンデミックに備えた下水疫学研究の推進
 - ポストコロナ社会を見据えた調査研究体制の整備（下水採取、試料分析、データ解析・発信）
 - 未知の病原体の出現への迅速な対応

下水疫学研究の拠点に！



J-RAPID: 国際緊急共同研究・調査支援プログラム (JST)
SATREPS: 地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム (JST, JICA)
aXis: 持続可能開発目標達成支援事業 (JST)

下水疫学研究の展開～小区域・施設への適用～

