

令和元年度厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
「化学物質等の検出状況を踏まえた水道水質管理のための総合研究」
分担研究報告書

指標ウイルスを用いたリスク管理方法の検討
－ 微生物（ウイルス）分科会 －

研究分担者	秋葉道宏	国立保健医療科学院 生活環境研究部
	片山浩之	東京大学 大学院工学系研究科
	白崎伸隆	北海道大学 大学院工学研究院
	三浦尚之	国立保健医療科学院 生活環境研究部
研究協力者	北澤弘美	（公社）日本水道協会 工務部
	小田琢也	神戸市 水道局事業部 水質試験所
	佐野大輔	東北大学 大学院環境科学研究科
	鳥居将太郎	東京大学 大学院工学系研究科
	板持雅恵	富山県衛生研究所 ウイルス部

研究要旨

表流水を水源とする国内 21 箇所の浄水場において原水試料を収集し、ノロウイルス GII，ロタウイルス A およびトウガラシ微斑ウイルス（PMMoV）の汚染実態を調査した。その結果，ノロウイルス GII は，胃腸炎の非流行期に 10% の試料から検出され（濃度の幾何平均値：2.9 log copies/L），流行期は 48% で陽性だった（3.8 log copies/L）。ロタウイルス A は，非流行期・流行期に関わらず比較的高い検出率であり（それぞれ 67%，81%），濃度の幾何平均値はそれぞれ 3.8，4.3 log copies/L だった。PMMoV は，高頻度（81–95%）かつ高濃度（4.9–5.1 log copies/L）で表流水試料に含まれ，病原ウイルスよりも濃度が概ね高かった。表流水を水源とする浄水場におけるウイルス除去指標として有用であることをサポートするデータが蓄積された。

凝集–MF 膜ろ過処理を実施している国内の浄水場 B における PMMoV の処理性を評価した。その結果，ウイルスの除去率は 0.6–1.5 log であり，5 回の採水において得られた平均値は 1.0 log だった。この値は，浄水場 B の凝集–MF 膜ろ過処理を模した室内実験において得られた PMMoV の除去率と同程度であったことから，実浄水場におけるウイルスの除去率を室内実験により再現できることが示された。

2002–2018 年に富山県内の下水処理場の流入水，河川水中から検出されたコクサッキーウイルス B3 型（CVB3），CVB4，CVB5，エコーウイルス 11 型（E11）の野生株，およびそれぞれの基準株を用いて，遊離塩素，紫外線，およびオゾンによる処理性を評価した。その結果，基準株からの遺伝的な変異に伴い遊離塩素耐性やオゾン耐性も株間で異なることが明らかになった。遊離塩素では基準株と比して 2.3 倍，オゾンでは 2 倍程度高い耐性を有す株が存在した。実験室株データを用いて遊離塩素及びオゾンによるウイルス不活化効率を推定する際は，実プラントの除去率が過大評価される可能性が示された。

A. 研究目的

水道における病原ウイルスのリスク管理に資するデータを蓄積し，指標ウイルスを用いたリスク管理方法を提案することを目的として，1) 水源

における病原ウイルスおよびトウガラシ微斑ウイルス（PMMoV）の濃度変動，2) 凝集–MF 膜ろ過処理における PMMoV の除去性，および 3) 遊離塩素，紫外線，オゾン処理によるウイルスの不

活化効率を調査した。これら3つのタスクの具体的な目的・概要を以下に示す。

A1. 水源における病原ウイルスおよびPMMoVの濃度変動

PMMoVはヒトの糞便中に高濃度で含まれ、下水や下水処理水、河川水や地下水からも検出されることが報告され始めている植物ウイルスであるが¹⁾、水道水源におけるPMMoVの存在実態は十分に把握されていないのが現状である。胃腸炎の非流行期(2019年10月)および流行期(2020年1月)に表流水を水源とする国内21箇所の浄水場の原水試料を収集し、感染性胃腸炎を引き起こすノロウイルスおよびロタウイルス、そして浄水処理プロセスにおける指標ウイルスとして検討しているPMMoVによる汚染実態を明らかにすることを目的とした。さらに、上記のうち水源に都市排水を含む3箇所の浄水場においては、春季および夏季にも原水試料を収集し、ウイルス濃度の季節変動を調べた。

A2. 凝集-MF膜ろ過処理におけるPMMoVの除去性

これまでに室内実験において、代表的な物理的処理である凝集沈澱-砂ろ過処理、MF膜ろ過処理、凝集-MF膜ろ過処理、およびUF膜ろ過処理におけるPMMoVの除去率と水系感染症ウイルスの除去率の間に高い相関関係が認められた。また、PMMoVの除去率は、水系感染症ウイルスの除去率と同程度、あるいはやや低く^{2,3)}、水系感染症ウイルスの凝集沈澱-砂ろ過処理性、膜ろ過処理性を評価する上での挙動指標としてのPMMoVの有効性が示された。

今年度は、これまでに構築したウイルス濃縮法を適用することにより、凝集-MF膜ろ過処理を実施している国内の浄水場におけるPMMoVの処理性評価を実施した。また、実浄水場の処理工程水を用いた凝集-MF膜ろ過処理の室内添加実験を実施し、室内実験の有効性を評価した。

A3. ウイルス遺伝子型内の耐性分布幅を考慮した遊離塩素、紫外線、オゾン処理の不活化評価

消毒剤のウイルスに対する不活化効果は、これまで基準株を対象に評価されてきた⁴⁻⁶⁾。ウイル

スは核酸変異率が極めて高い⁷⁾ため、野生のウイルス株は基準株と遺伝的に乖離しており、不活化速度に差がある可能性がある。USEPAのContaminant Candidate List 4 (CCL4)に掲載されているエンテロウイルスの野生株を対象に、野生株と基準株の消毒剤(遊離塩素、紫外線、オゾン)への耐性の違い、および種内や遺伝型内での分布幅を評価することを目的とした。

B. 研究方法

以下にタスクごとの研究方法の概要を示す。より詳細な方法は、研究分担者による研究報告書を参照されたい。

B1. 水源における病原ウイルスおよびPMMoVの濃度変動

(1) 試料の収集

河川、湖沼、ダムを水源とする国内21箇所の浄水場の協力を得て、水道原水試料(10L)を収集した。試料の採水は、2019年10月および2020年1月に実施し、計42検体を収集した。対象は、国内の主要な河川流域をカバーする北海道から九州・沖縄地方の浄水場とした。21箇所のうち水源に都市排水を含む3箇所の浄水場においては、2019年4月および7月にも採水を行い、3ヶ月毎の季節変動も調査した。試料は、地下水試料と同様に冷蔵状態で輸送し、採水から48時間以内に分析に供した。

(2) 試料からのウイルス濃縮とRNA抽出

病原ウイルスおよびPMMoVの汚染レベルを調査することに加えて、ウイルスの存在形態を明らかにするために、試料を孔径の異なるろ過膜を用いて分画し、懸濁態と溶存態画分に含まれるウイルスを測定した⁸⁾。すなわち、試料1LにマウスノロウイルスS7-PP3株をおよそ 10^8 copies 添加・混合し、孔径10 μm 、直径90mmの親水性PTFE膜(JCWP09025, Merck)でろ過し、回収したる液を孔径0.45 μm 、直径90mmのMCE膜(HAWP09000, Merck)でろ過した。それぞれの膜を回収し、 $>10\mu\text{m}$ および0.45–10 μm 懸濁態画分とした⁸⁾。続いて、回収したる液を陰電荷膜法により10mLまで濃縮し、溶存態画分とした^{8,9)}。回収したそれぞれの画分から、NucliSENS mini

MAG (bioMérieux)を用いてウイルス RNA を抽出・精製した。

(3) ウイルス遺伝子の定量検出

マウスノロウイルス，ノロウイルス GII，ロタウイルス A，およびトウガラシ微斑ウイルスの RNA 濃度は，既往のプライマー・プローブ，RNA UltraSense One-Step Quantitative RT-PCR System (Thermo Fisher Scientific)，および LightCycler 480 System II (Roche)を用いたリアルタイム RT-PCR 法により定量した。

B2. 凝集-MF 膜ろ過処理における PMMoV の除去性

(1) 使用したウイルスの培養および定量

PMMoV pepIwate-Hachiman1 株，ヒトノロウイルスの代替として広く用いられているマウスノロウイルス I 型 CW1 株，水系感染症ウイルスの代替として広く用いられている大腸菌ファージ MS2 をそれぞれ *Nicotiana benthamiana* RAW264.7 細胞，大腸菌を用いて培養し，実験に使用した。QIAamp MinElute Virus Spin Kit (Qiagen) を用いてウイルスの RNA を抽出し，High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit with RNase Inhibitor (Applied Biosystems) を用いた逆転写反応により cDNA を合成した。この後，合成した cDNA を，TaqMan Universal Master Mix II, no UNG (Applied Biosystems)，Distilled water，それぞれのウイルスに特異的なプライマー・プローブと混合した後，リアルタイム定量 PCR 装置 (Applied Biosystems 7,300, Applied Biosystems) に供することにより，ウイルス濃度を定量した。

(2) 実浄水場の浄水処理工程水へのウイルス濃縮法の適用

実浄水場における PMMoV の処理性を評価するため，これまでに構築したウイルス濃縮法を適用し，浄水場 B の原水および浄水処理工程水 100–2,000 L における PMMoV の濃度を定量した。2018 年 5 月，7 月，11 月，2019 年 1 月，7 月に浄水場 B 内において原水 100–200 L，チオ硫酸ナトリウムのインライン添加により残留塩素を中和した前塩素処理水 100–200 L，マンガ接触ろ過水(凝集-MF 膜ろ過前水)100–400 L，および浄水(凝集

-MF 膜ろ過水；膜材質: PVDF，膜孔径: 0.1 μm) 100–2,000 L を，ポンプを用いて 4–6 L/min の初期流束にて専用ハウジングに収容されたナノセラム陽電荷膜(膜孔径: 2 μm)に通水した。通水後，pH 9.5 の 1.5% (w/w) ビーフエキス溶液(0.05 M グリシン含有)合計 2 L を用いてウイルスを回収し，濃縮した(一次濃縮)。pH を HCl にて 3.5 に調整した後，攪拌することにより，溶液中のビーフエキスを凝集した。これを 2,500 × g にて 15 分間遠心分離することにより，上澄水と凝集フロックを分離した。上澄水については，タンジェンタルフローUF 膜(分画分子量: 300 kDa)を用いて 20 mL まで精製・濃縮した(二次濃縮[上澄み])。一方，凝集フロックについては，pH 9 の 0.15 M リン酸バッファーを添加し，溶解した(二次濃縮[フロック])。二次濃縮[上澄み]試料および二次濃縮[フロック]試料それぞれの PMMoV を定量することにより，浄水場 B の原水，前塩素処理水，マンガ接触ろ過水，浄水の PMMoV 濃度を算出し，除去率 (Log 除去率 (Log[C₀/C]；C₀: 処理前の PMMoV 濃度，C: 処理後の PMMoV 濃度)) を算出した。

B3. ウイルス遺伝子型内の耐性分布幅を考慮した遊離塩素，紫外線，オゾン処理の不活化評価

(1) エンテロウイルス株の分離

2002–2018 年にかけて富山県内の下水処理場の流入水，河川水中から分離したエンテロウイルス B を 30 株 (CVB3: 8, CVB4: 9, CVB5: 12, E11: 1) 用いた。各株の全ゲノム配列は，ディープシーケンスにより決定した。

(2) ウイルスの培養，精製，感染価測定

分離株を BGM 細胞により培養し，濃縮した後，塩化セシウムを使用した等密度勾配遠心¹⁰⁾により精製した。感染価は，96 穴プレートを用いた 5 連 MPN 法¹¹⁾により測定した。

(3) 消毒試験

本研究では，野生株に加え，CVB3，CVB5，E11 の基準株の計 33 株を消毒試験に供した。遊離塩素および UV₂₅₄ 消毒試験は回分式で実施した。1 試験では，経時的に 4 試料(初期濃度測定用を含める)を採取した。本試験を各消毒剤および各ウイ

ルス株に対して2連で実施した。遊離塩素試験では、初期遊離塩素濃度を0.3 mg/L程度とした。全ての試験において、試験終了時に遊離塩素濃度が83%以上維持されていることを確認した。紫外線照射には低圧水銀ランプを用いた。オゾン試験は連続流式反応槽(Continuous quench flow system)にて実施し、手法はTorii et al. under review(論文発表1))に従った。消毒試験では、ウイルス分散媒として10 mMリン酸緩衝液(pH 7.0)を使用した。水温は 22 ± 1 °Cであった。初期濃度は $5 \times 10^5 - 10^5$ MPN/mLであった。

C. 結果及び考察

以下にタスクごとの研究結果の概要を示す。より詳細な結果は、研究分担者による研究報告書を参照されたい。

C1. 水源における病原ウイルスおよびPMMoVの濃度変動

(1) 全国21箇所の浄水場原水中のウイルス濃度

ノロウイルスGIIは、胃腸炎の非流行期(2019年10月)に0.45–10 µm懸濁態画分および溶存態画分から検出され(検出率はそれぞれ10%、5%)、濃度はそれぞれ2.1–3.4、3.2 log copies/Lだった。胃腸炎の流行期(2020年1月)には、48%の試料から検出され、濃度の幾何平均値は3.8 log copies/Lだった。非流行期と比較して、検出率および濃度が高かったが、平成30年度の調査結果¹²⁾よりも小さくなっていた。2019–2020年冬季は、ノロウイルスによる胃腸炎患者数が全国的に少ないこと¹³⁾が原因として考えられた。ノロウイルスGIIが検出された画分は、溶存態画分が多かったが、濃度は0.45–10 µm懸濁態画分と同程度だった。

ロタウイルスAは、胃腸炎の非流行期・流行期に関わらず比較的高い頻度で検出された(それぞれ、67、81%)。流行期の濃度の幾何平均値(4.3 log copies/L)は非流行期(3.8 log copies/L)よりも高く、ヒト集団から排出されたロタウイルスA株による水源の汚染を示していた。また、非流行期においても濃度が比較的高かったことから、収集した表流水試料にはウシやブタなどの動物由来のロタウイルスA株も含まれていたことが考えられた。それぞれの画分に検出されたロタウイルス

A濃度は、懸濁態よりも溶存態画分が有意に高かった(対応のあるt検定、 $P < 0.01$)。すなわち、表流水中においてロタウイルスAは、フリーで或いは溶存有機物と吸着して存在する割合が多いことが示された。

PMMoVは、胃腸炎の非流行期・流行期に関わらず、水道原水として取水された表流水試料に高頻度(81–95%)かつ高濃度(4.9–5.1 log copies/L)で含まれていた。また、PMMoVの濃度は、ロタウイルスAと同様に懸濁態よりも溶存態画分の方が有意に高かった(対応のあるt検定 $P < 0.01$)。

PMMoVとノロウイルスGIIまたはロタウイルスAの濃度の関係を調べるために2019年10月、2020年1月を含めて2018年1月以降に採水されたすべての試料(N=105)の濃度をプロットした(図1)。その結果、PMMoVは、水道水源においてノロウイルスGIIよりも濃度が高く、ノロウイルスGIIが陽性だった試料はすべてPMMoVが陽性だった。一方でロタウイルスAに対しては、PMMoVが概ね高い濃度で検出されたが、一部の試料では胃腸炎の非流行期・流行期に関わらずロタウイルスAの方が濃度が高かった。これらの試料が採水された水源上流域には都市が含まれないため、リアルタイムRT-PCRで検出されたロタウイルスA株の多くは動物由来と考えられた。今後、遺伝子型を解析し、ヒト/動物由来株の存在比など、これまで報告が皆無だった水道水源で検出されるロタウイルスA株に関する情報を蓄積する必要がある。

(2) 3箇所の浄水場原水中のウイルス濃度変動

21箇所の浄水場のうち、水源に都市排水を含む3箇所の浄水場においては、ウイルス濃度の3ヶ月毎の季節変動も調査した。懸濁物質に吸着したウイルスを分画する操作を行った場合と行わなかった場合について、ノロウイルスGII、ロタウイルスA、PMMoV濃度を測定した(図2)。一部の濁度が高かった試料では、分画を行わなかった場合に、マウスノロウイルス回収率が低く、またロタウイルスAおよびPMMoVの濃度が低く測定される傾向が確認された。3箇所の浄水場I、J、Nにおける分画を行った場合のPMMoV濃度は、それぞれ5.4–5.9、5.7–6.2、5.7–6.4 log copies/Lであり、共通して冬季に最高値となるものの変動の

幅は最大で 0.5 log と小さかった。以上の結果から、PMMoV は、水系感染症ウイルスと処理性が類似しているという微生物分科会のこれまでの研究成果と共に、ウイルス除去指標として有用であることをサポートする結果が得られた。

C2. 凝集-MF 膜ろ過処理における PMMoV の除去性

(1) 実浄水場における PMMoV の処理性

浄水場 B において上述した濃縮法を適用し、PMMoV の処理性を評価した(図 3)。PCR 法にて評価した原水における PMMoV 濃度は $10^{0.4-2.1}$ copies/mL となり、濃縮との組み合わせにより定量可能な程度の高濃度で PMMoV が存在していることが明らかとなった。また、前塩素処理水及びマンガン接触ろ過水における PMMoV 濃度はそれぞれ $10^{0.3-2.1}$ copies/mL、 $10^{-0.1-1.7}$ copies/mL となり、原水と比べて濃度の低減は確認されなかった。本研究で PMMoV の定量に用いた PCR 法は、ウイルス粒子内部の遺伝子の一部を検出・定量の標的としていることから、前塩素処理及び塩素添加を伴うマンガン接触ろ過処理においてウイルスが不活化した場合であっても標的の遺伝子の一部が残存していれば検出・定量されるため、これらの処理におけるウイルスの不活化効果を過小評価している可能性がある。従って、PCR 法にて評価された前塩素処理及びマンガン接触ろ過処理における除去率(低減率)の解釈には注意が必要である。一方で、マンガン接触ろ過処理による PMMoV 濃度の低減が確認されなかったことから、マンガン接触ろ過処理によるウイルスの物理的な除去効果は期待できないものと推察された。これに対し、浄水、すなわち、凝集-MF 膜ろ過水における PMMoV 濃度は $10^{-1.1-0.6}$ copies/mL となり、マンガン接触ろ過水(凝集-MF 膜ろ過前水)に比べて濃度の低減が確認された。従って、凝集-MF 膜ろ過処理はウイルスの除去に有効であることが示された。また、得られた除去率は、0.6-1.5 log (平均: 1.0 log)であった(図 4; マンガン後と MF 後の差)。

二次濃縮後の試料に人工的にマウスノロウイルス及び MS2 を添加し、滅菌蒸留水に添加した場合との PCR 法による定量結果を比較することにより、PCR 阻害性(遺伝子抽出工程・逆転写反

応・PCR 反応における阻害性)を評価した。二次濃縮[フロック]の試料においては、添加したマウスノロウイルス及び MS2 の定量効率は、滅菌蒸留水に添加した場合(定量効率: 100%)に比べて幾分低下したものの、30-60%程度の値となった。一方、二次濃縮[上澄み]の試料においては、添加したマウスノロウイルス及び MS2 の定量効率は、二次濃縮[フロック]の試料に添加した場合に比べて大きくなり、50-80%程度の高い値となった。以上の結果から、本研究においては、PMMoV 濃度の定量における阻害の影響は小さく、上述した浄水場 B における PMMoV 濃度の定量結果、更には、評価された PMMoV の除去率は妥当であると判断した。

(2) 実浄水場における水系感染症ウイルスの処理性の推定

上述したように、計 5 回の採水において得られた除去率の平均値(図 4; マンガン後と MF 後の差)は 1.0 log となった。また、これまでに実施した凝集-MF 膜ろ過処理の室内実験において、PMMoV の除去率は、水系感染症ウイルスの除去率と同程度、あるいはやや低かったことから²⁾、PMMoV が凝集-MF 膜ろ過処理により 1.0 log 除去される浄水場 B においては、水系感染症ウイルスは少なくとも 1.0 log 程度除去されるものと推察された。一方で、浄水場 B における物理的処理(凝集-MF 膜ろ過処理)によるウイルスの除去率は 1 log 程度であり、昨年度報告した凝集沈澱-砂ろ過処理を実施している浄水場 A の場合と同様に、水道水の微生物学的安全性の確保においては、塩素処理に大きく依存していることが確認された。従って、塩素処理における水系感染症ウイルスの処理性の詳細な把握、並びに、物理的処理におけるウイルス除去の高度・高効率化に向けた取り組みの重要性が再確認された。

C3. ウイルス遺伝子型内の耐性分布幅を考慮した遊離塩素、紫外線、オゾン処理の不活化評価

各株の 4 log 不活化に必要な遊離塩素 CT 値は CVB3, CVB4, CVB5 では 0.5 - 2.4 mg・min/L の範囲であったが、E11 は 0.5 mg・min/L 以下であり、コクサッキー B 型が塩素に耐性が高いことが示された。エンテロウイルス全体では、4 log 不活

化に必要な遊離塩素 CT 値が 0.14–2.4 mg・min/L であり、株間で最大 17 倍以上の差が観察された。また、遊離塩素耐性が高いことで知られる CVB5 に関して、基準株より 2.3 倍耐性の高い野生株の存在も明らかになった。また、遊離塩素耐性は CVB5 > CVB3 ≈ CVB4 > E11 であり、塩素耐性が遺伝子型に依存することが示唆された。一方で、4 log 不活化に必要な UV₂₅₄ 線量は 23–30 mJ/cm² と、互いに最大 1.3 倍程度の差であり、分布幅は遊離塩素より小さかった。4log 不活化に必要なオゾンの CT 値は塩素に比べて非常に小さく、0.10–0.45 mg・sec/L で、エンテロウイルス内で 4.5 倍程度の差があった。以上から、多様なウイルスが含まれる環境水を消毒する際には、特に、遊離塩素において、耐性分布幅を算入した不活化予測モデルを使用する必要がある。

E. 結論

ウイルスの表流水中存在形態に着目して、全国の水道水源における病原ウイルスおよび PMMoV 濃度を調査した。その結果、ノロウイルス GII が胃腸炎の非流行期は 10% の試料から検出され（濃度の幾何平均値：2.9 log copies/L）、流行期は 48% の試料で陽性だった（3.8 log copies/L）。ロタウイルス A は、非流行期・流行期に関わらず比較的高い検出率であり（67, 81%）、濃度の幾何平均値はそれぞれ、3.8, 4.3 log copies/L だった。PMMoV は、高頻度（81–95%）かつ高濃度（4.9–5.1 log copies/L）で含まれており、病原ウイルスよりも濃度が概ね高かった。PMMoV は、都市排水を含む水源において濃度の季節変動が小さかった。以上の結果から、PMMoV は表流水を水源とする浄水場のウイルス除去指標として有用であることをサポートするデータが蓄積された。

浄水場 B において、PCR 法にて評価した凝集–MF 膜ろ過処理による PMMoV の除去率は 0.6–1.5 log であり、除去率の平均値は 1.0 log であった。この値は、浄水場 B の凝集–MF 膜ろ過処理を模した室内実験において得られた PMMoV の除去率と同程度であったことから、実浄水場におけるウイルスの除去率を、室内実験により再現できることが示された。

水環境中に存在するエンテロウイルスの遺伝子型内では、UV₂₅₄ 耐性に大きな違いは見られな

かった一方で、遊離塩素やオゾンの耐性は大きく異なることが明らかになった。実際の水環境中には多様なウイルスが含まれるため、その耐性分布幅を算入した不活化予測モデルを使用する必要がある。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 三浦尚之、儀間ありさ、徳安真理奈、秋葉道宏．水道原水中ウイルスモニタリングのための効率的なウイルス濃縮方法の検討 第 56 回環境工学研究フォーラム講演集 .B35 ,2019 .
- 2) 三浦尚之、徳安真理奈、前田暢子、吉田伸江、越後信哉、秋葉道宏．全国の水道原水における腸管系ウイルスおよびトウガラシ微斑ウイルスの存在実態調査．第 54 回日本水環境学会年会講演集、386、2020 .
- 3) Shirakawa, D., Shirasaki, N., Yamashita, R., Koriki, S., Matsumura, T., Matsushita, T., Matsui, Y. Evaluation of virus removal efficiency in an actual drinking water treatment plant by using a novel virus concentration method and pepper mild mottle virus as a process indicator. Water and Environment Technology Conference 2019, Suita, Japan, 13–14 July 2019.
- 4) 白川大樹、白崎伸隆、松下拓、松井佳彦．外来遺伝子を封入した人工合成ウイルス様粒子の創製：培養困難なノロウイルスの浄水処理性評価への適用．第 54 回日本水環境学会年会、盛岡、2020/3/16–18 .
- 5) 松村拓哉、高力聡史、白川大樹、白崎伸隆、松下拓、松井佳彦．凝集–膜ろ過処理を導入した実浄水処理場におけるウイルスの処理性評価．第 27 回衛生工学シンポジウム、札幌、2019/11/8–9 .
- 6) 鳥居将太郎、板持雅恵、片山浩之．同種ウイルスの遊離塩素消毒耐性分布幅を考慮した不活化予測モデルの提案．令和元年度水道研

究発表会 , 8-37 , 2019 .

- 7) Torii S, Itamochi M, Katayama H. Intra-Enterovirus B and intratypic variability in free chlorine resistance. 第 67 回日本ウイルス学会 学術集会 , O3-4-12 , 2019 .
- 8) 鳥居将太郎 , 板持雅恵 , 片山和彦 , 片山浩之 . エンテロウイルス野生株の遊離塩素 , 紫外線 , オゾン処理に対する耐性分布幅の評価 . 第 54 回水環境学会年会 , 1-E-12-1 , 2020 .
- 9) 鳥居将太郎 , 片山浩之 . CQFS を用いたオゾン処理によるウイルス不活化速度の解析 . 日本オゾン協会 第 29 回年次研究講演会 , 2020 .
- 10) Torii S, Itamochi M, Katayama H. Variability of free chlorine resistance among *Enterovirus B* strains leads to insufficient inactivation in drinking water, 20th International Symposium on Health Related Water Microbiology, Vienna, Austria, 2019.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む。)

1 . 特許取得

該当なし

2 . 実用新案登録

該当なし

3 . その他

該当なし

I. 参考文献

- 1) Symonds, E.M., Nguyen, K.H., Harwood, V.J., Breitbart, M. Pepper mild mottle virus: A plant pathogen with a greater purpose in (waste)water treatment development and public health management. *Water Res.* 144, 1-12, 2018.
- 2) Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y. and Murai, K. Assessment of the efficacy of membrane filtration processes to remove human enteric viruses and the suitability of bacteriophages and a plant virus as surrogates for those viruses. *Water Res.* 115: 29-39, 2017.
- 3) Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y. and Yamashita, R. Evaluation of the suitability of a plant virus, pepper mild mottle virus, as a surrogate of human enteric viruses for assessment of the efficacy of coagulation-rapid sand filtration to remove those viruses. *Water Res.* 120: 460-469, 2018.
- 4) Cromeans, T.L., Kahler, A.M., Hill, V.R. Inactivation of adenoviruses, enteroviruses, and murine norovirus in water by free chlorine and monochloramine. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 1028-1033, 2010.
- 5) Thurston-Enriquez, J.A., Haas, C.N., Jacangelo, J., Gerba, C.P. Inactivation of enteric adenovirus and feline calicivirus by ozone. *Water Res.* 39, 3650-3656, 2005.
- 6) Gerba, C.P., Gramos, D.M., Nwachuku, N., Comparative inactivation of enteroviruses and adenovirus 2 by UV light. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 5167 LP - 5169, 2002.
- 7) Sanjuan, R., Nebot, M.R., Chirico, N., Mansk y, L.M., Belshaw, R. Viral mutation rates, *J. Virol.* DOI:10.1128/JVI.00694-10.
- 8) Miura, T., Gima, A., Akiba, M. Detection of norovirus and rotavirus present in suspended and dissolved forms in drinking water sources. *Food Environ Virol.* 11(1), 9-19, 2019.
- 9) Katayama, H., Shimasaki, A., Ohgaki, S. Development of a virus concentration method and its application to detection of enterovirus and norwalk virus from coastal seawater. *Appl Environ Microbiol.* 68(3), 1033-9, 2002.
- 10) Torii, S., Hashimoto, T., Do, A.T., Furumai, H., Katayama, H. Impact of repeated pressurization on virus removal by reverse osmosis membranes for household water treatment. *Environ. Sci. Water Res. Technol.* 5, 910-919, 2019.
- 11) Meister, S., Verbyla, M.E., Klinger, M., Kohn, T. Variability in disinfection resistance between currently circulating Enterovirus B serotypes and strains. *Environ. Sci. Technol.* 52, 3696-3705, 2018.
- 12) 秋葉道宏 , 三浦尚之 . 水道水源における病原ウイルス汚染の実態調査 , 厚生労働科学研究費補助金 (健康安全・危機管理対策総合研究事業) 「水道水質の評価及び管理に関する総合研究」平成 30 年度研究報告書 , 55-63 , 2019 .

- 13) 国立感染症研究所．病原微生物検出情報，ノロウイルス等検出状況 2019/20 シーズン（2020年2月19日現在報告数，<https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr-noro.html>）

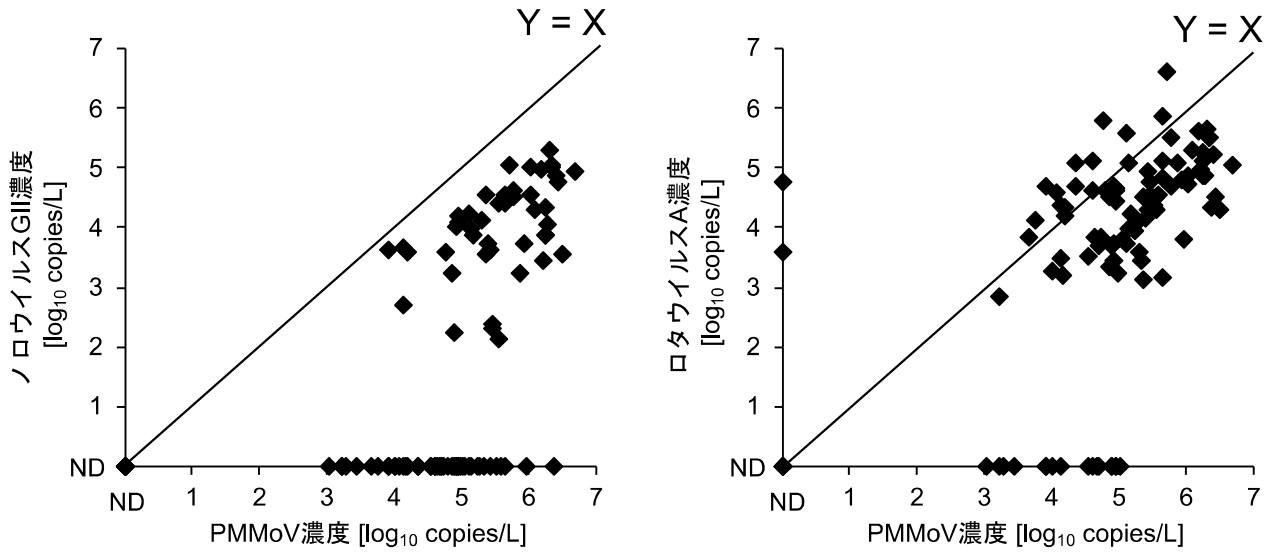


図1．水道原水中の病原ウイルスと PMMoV 濃度の関係。2018年1月から2020年1月に採水された合計105試料のデータをプロットした。

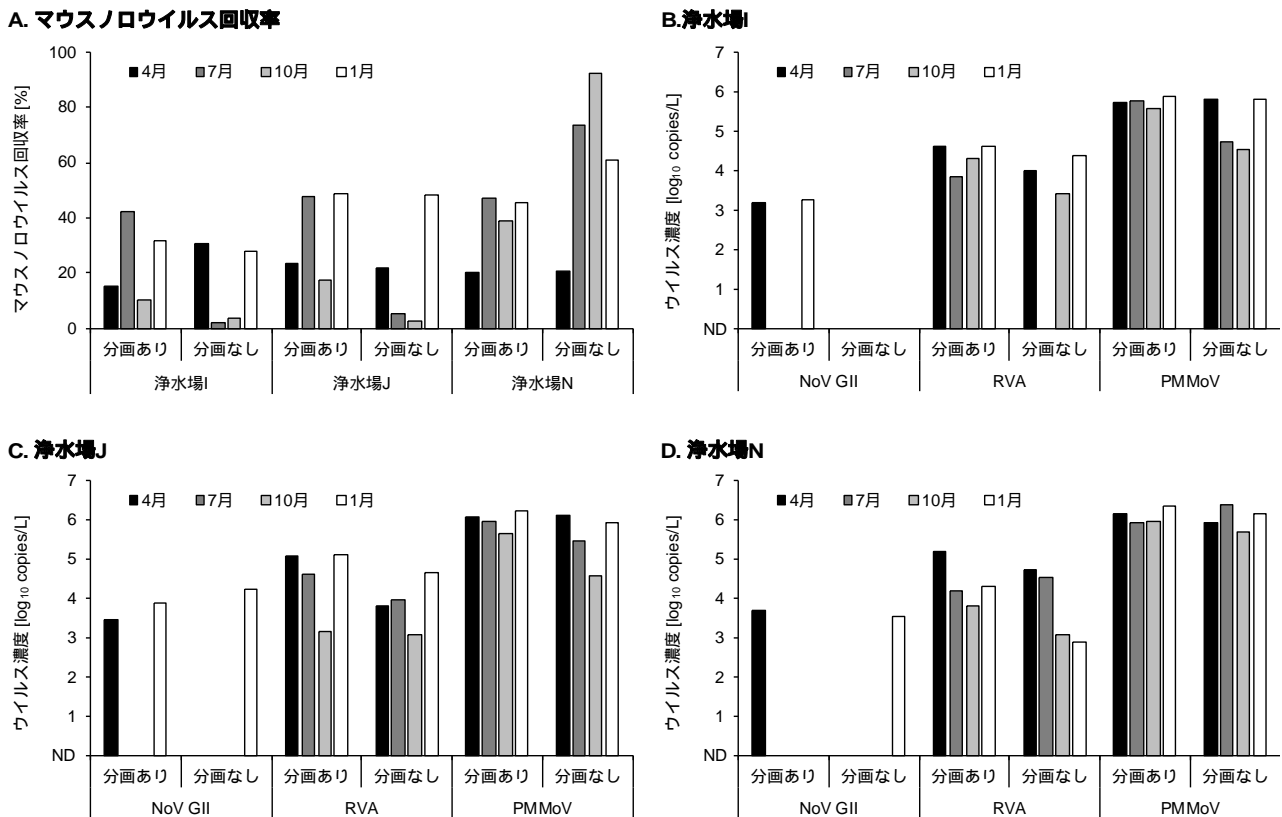


図2．水道原水中の病原ウイルスと PMMoV の濃度変動。A: 各試料からのマウスノロウイルス回収率，B～D: 浄水場I，J，Nにおけるウイルス濃度。NoV GII: ノロウイルス GII，RVA: ロタウイルス A。

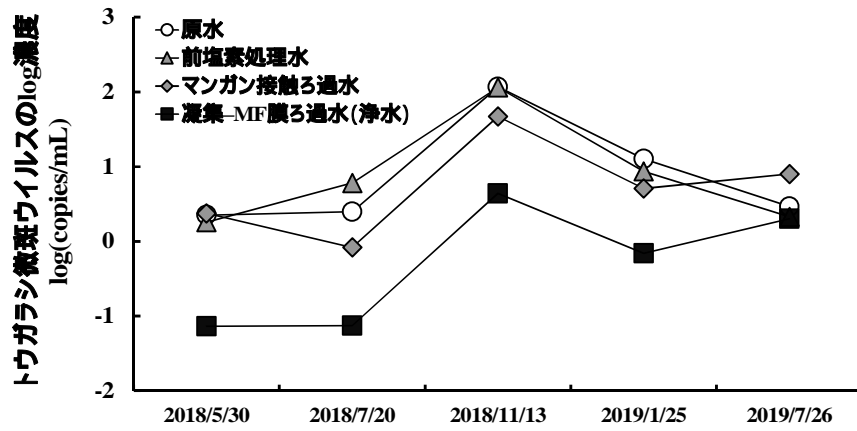


図3 . 浄水場 B の各処理工程水におけるトウガラシ微斑ウイルス濃度

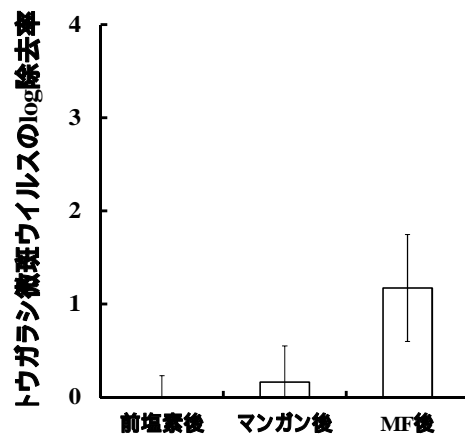


図4 . 浄水場 B におけるトウガラシ微斑ウイルスの除去率。各値は 5 回の採水の平均値を示した。