

平成19年7月15日
みちのくウイルス塾



ノロウイルスによる 水環境汚染とその対策



東北大学大学院工学研究科
土木工学専攻 教授
大村達夫




ノロウイルス感染症の大規模な集団発生事例

年月	発生場所	患者数*	推定感染経路
2001.2	小学校・幼稚園	260	食品(不明)
2001.11	給食センター/事業所	528	複合調理食品
2003.1	小・中学校	659	きなこねじりパン
2003.10	幼稚園	288	人→人感染
2004.1	給食センター/事業所	359	食品(不明)
2004.2	旅館・ホテル	259	食品(不明)
2004.3	小学校	282	人→人感染
2004.3	飲食店	372	食品(不明)
2004.12	給食センター/事業所	498	弁当
2004.12	旅館・ホテル	260	食品(不明)
2005.1	不明	291	人→人感染
2006.12	小・中学校	366	パン
2006.12	旅館・ホテル	436	人→人感染

*患者数260名以上の事例のみ。
出典: 感染症情報センターIASR

水が直接原因と考えられるノロウイルス 感染症の集団発生事例

事例1
新潟県のカラオケハウスで、飲料水として利用している井戸水がノロウイルスに汚染され、利用者227名のうち151名が感染。浄化槽から漏出した汚水によって井戸水が汚染されたと推測される。(2003年3月)

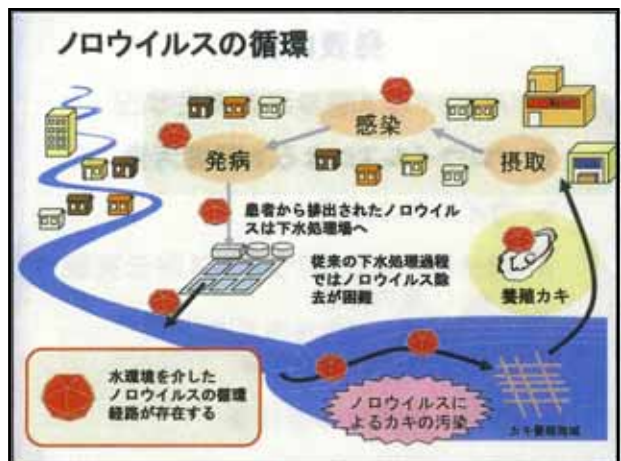
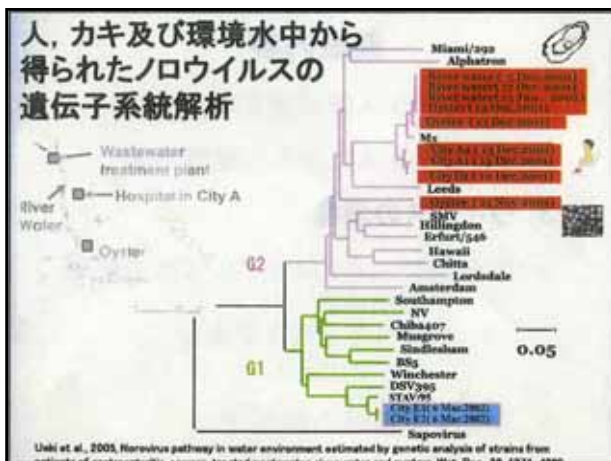
事例2
秋田県の山間部の集落で簡易水道がノロウイルスに汚染され、集落の14世帯29名が感染。簡易水道の水源の井戸が浅く、ここに生活排水を含んだ河川水が流れ込んだことが原因と見られる。(2005年3月)

出典: 感染症情報センターIASR

河川水からのノロウイルス検出最新事例

サンプル量	サンプル採取時期	ノロウイルス遺伝子検出方法	結果	文献
200~800L	冬季 (12月~3月)	RT-PCR	0.004~4.9 PDU/ml	Lodder et al., 2005
500mL	12ヶ月間連続	RT+定量PCR	Negative ~ 10 copy/ml	Iwanami et al., 2005
15L	配達日L	RT+定量PCR	Negative ~ 16 copy/ml	Lawerick et al., 2004
1L	冬季 (11月~2月)	RT-PCR	陽性率63% (10/16)	Ueki et al., 2005
800mL	17ヶ月間連続	RT+定量PCR	Negative ~ 16 copy/ml	山本ら, 2005
200~500L	冬季 (12月~1月)	RT-PCR	0.28~8 PDU/ml (95%IC)	Jestroff et al., 2008

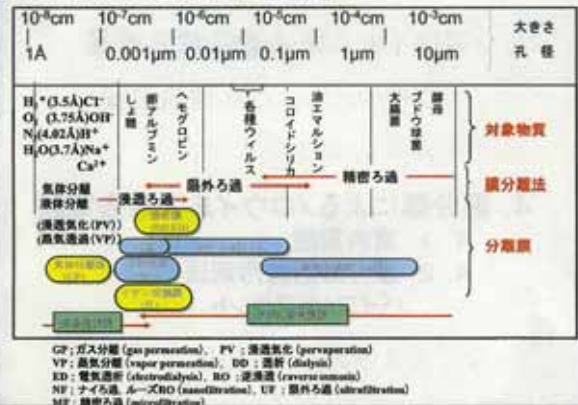
*: 検出及び陽性の検出なし。



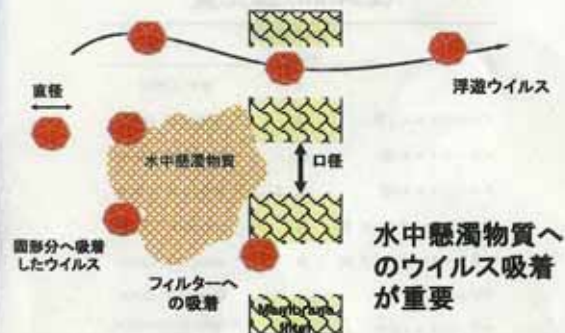
膜ろ過の特長

- ★ 広範囲の標的微生物に除去効果が期待
- ★ 副生成物の問題なし
- ★ 維持管理が容易
- ★ BODの99%以上除去, CODの91~94%除去
- ★ T-Nの82~85%除去, T-Pの95%以上除去
- ★ 維持管理費は2,000m³/dayまではOD法と同程度

分離膜の種類と適用範囲



膜によるウイルス除去



実験室内での膜ろ過実験

用いた膜の種類

1. UF: UF膜 (再生セルロース) 分画分子量 100,000
2. MF0.1: 精密ろ過膜 (混合セルロースエステル) 孔径 0.1μm
3. MF0.45: 精密ろ過膜 (混合セルロースエステル) 孔径 0.45μm

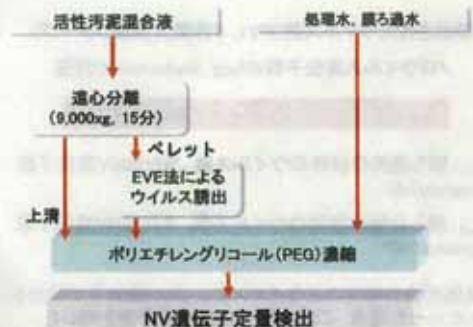
ろ過圧

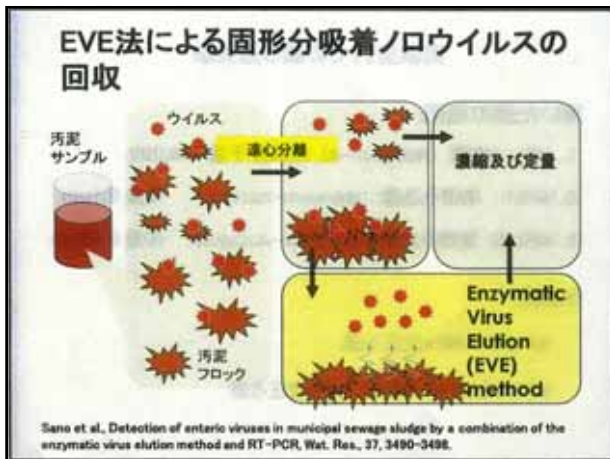
- UFは 0.5 MPa定圧ろ過
- MF0.1とMF0.45は 0.1 MPa定圧ろ過

実験室内での膜ろ過実験



活性汚泥混合液, 下水処理水, 膜ろ過水からのNVの回収





ノロウイルス遺伝子定量

ウイルスRNAの抽出
 QIAamp Viral RNA mini kit (QIAGEN)

NV遺伝子の定量
 定量PCR法 (Kageyama, et al.)
 G I 型: COG1F/R RING1-TP(a),(b)
 G II 型: COG2F/R RING2-TP
 PRISM7900 (Applied Biosystems) で定量

ウイルスの除去効果の評価

検出されたウイルス数 (PV1, F特異大腸菌ファージ), ノロウイルス遺伝子数の Log Reduction で評価.

Log Reduction = $-\log(N_{m2}/N_{m1})$

N_{m1} : 膜ろ過前の検体のウイルス数, またはNV遺伝子数 (copies/ml)
 N_{m2} : 膜ろ過後の検体のウイルス数, またはNV遺伝子数 (copies/ml)

膜処理後の検体からウイルスおよびNV遺伝子が検出されなかった場合, この実験での検出限界値を用いた.

室内実験結果

膜ろ過による活性汚泥混合液中のNV遺伝子の Log Reduction

試行	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
UF	>4.44	>3.00	>2.91	>1.93	>3.01	>2.48	>3.58	>3.58	>2.17	>1.90	>1.04
MF0.1	>4.44	>3.00	>2.91	>1.93	>3.01	>2.48	>3.58	>3.58	>2.17	>1.90	>1.04
MF0.45	2.23	2.07	2.10	>1.93	0.47	>2.48	1.58	>3.58	>2.17	>1.90	0.44

不等号付きの数字は, 膜ろ過後のサンプルからNV遺伝子が検出されなかったため検出限界の値を用いて算出したLog Reduction
 赤数字は膜ろ過前後のサンプルから共にNV遺伝子が検出された際のLog Reduction

UF, MF0.1処理のろ液からはNV遺伝子は検出されなかった.
 MF0.45処理のろ液からは8回(11回中)検出され, 検出時のLog Reductionの平均は1.48log

NV分子量 約800万 ← MF孔径 100~450nm
 NV粒子直径 38nm

室内実験結果

膜ろ過による下水処理水中のNV遺伝子の Log Reduction

試行	1	2	3	4	5	6	7
UF	>3.19	>2.20	>2.86	>3.31	>3.37	>1.76	>2.90
MF0.1	3.28	>2.20	>2.86	>3.31	>3.37	>1.76	>2.90
MF0.45	0.82	0.04	>2.86	1.32	2.26	-0.83	>2.90

不等号付きの数字は, 膜ろ過後のサンプルからNV遺伝子が検出されなかったため検出限界の値を用いて算出したLog Reduction
 赤数字は膜ろ過前後のサンプルから共にNV遺伝子が検出された際のLog Reduction

UF処理ろ液からはNV遺伝子は検出されず.
 MF0.1からは1回(7回中)検出, その際のLog Reductionは3.28log.
 MF0.45からは5回(7回中)検出, 検出時のLog Reductionの平均値は0.72log.

室内実験結果

膜ろ過による活性汚泥混合液中のNV遺伝子, PV1およびF特異大腸菌ファージの Log Reductionの最大・最小値

		UF	MF0.1	MF0.45
ノロウイルス	最大	>4.44	>4.44	>3.59
	最小	>1.04	>1.04	0.44
ポリオウイルス1型	最大	>5.1	5.2	3.5
	最小	>3.3	2.7	0.9
F特異大腸菌ファージ	最大	>4.89	>4.89	>4.89
	最小	>3.23	>3.23	2.59

NV遺伝子に関しては>4.44log以上の除去効果がUF及びMF0.1で期待される.

室内実験結果

膜ろ過による下水処理水中のNV遺伝子、PV1およびF特異大腸菌ファージのLog Reductionの最大・最小値

		UF	MF0.1	MF0.45
ノロウイルス	最大	>3.91	>3.37	>2.90
	最小	>1.76	3.28	-0.83
ポリオウイルス1型	最大	>4.9	2.1	2.2
	最小	>3.3	1.8	0.4
F特異大腸菌ファージ	最大	>2.16	>2.16	>1.71
	最小	>0.80	>0.80	0.36

NV遺伝子に関してはUFでは>3.91log、MF0.1では>3.37log以上の除去効果が期待される。

膜及び膜エレメントの仕様

型式: 平膜両端固定型

孔径: 0.4 μm

材質: 有機高分子(ポリオレフィン)

膜面積: 20m²/エレメント

寸法: 幅1114 X 高さ1152 X 厚さ124

構造: 10枚・膜/エレメント
一体型集水ノズル

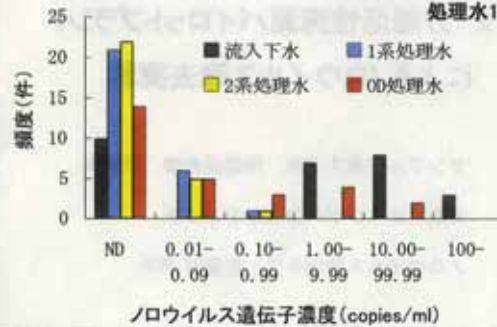


膜分離活性汚泥法における微量物質除去効果

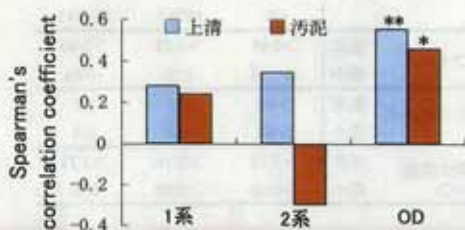
	膜洗浄前			膜洗浄後		
	原水	処理水	除去率	原水	処理水	除去率
TOC[mg/L]	100	1.7	98.30	91	3.8	95.82
一般細菌(個/mL)	8800000	11	99.999	9100000	0	100
大腸菌群数(個/mL)	36000	0	100	92000	0	100
ウイルス(バクテリオファージ)(PFU/mL)	1700	<0.01	>99.999	1700	0.04	99.996
ニルフェノール(μg/L)	6.8	0.1	98.53	6.2	0.1	98.39
ビスフェノール(μg/L)	1.3	0.02	98.46	0.92	0.07	92.39
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル(μg/L)	16	<0.2	>98.75	27	<0.2	>98.75
アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル(μg/L)	0.22	0.02	90.91	0.22	0.03	86.36
17β エストラジオール(μg/L)	0.016	<0.0005	>96.88	0.0097	<0.0005	>96.88

ノロウイルス除去効果

調査期間: 平成16年2月~平成17年3月
検体数: 各28検体
検体量: 流入下水100ml 処理水10L



汚泥混合液中のノロウイルス濃度と処理水中のノロウイルス濃度の相関



** : 有意水準1%で有意。
* : 有意水準5%で有意。

膜によるウイルス除去の長所

※ウイルスの感染能力の有無が問題とならない

物理的に除去してしまえば、他の消毒操作のようにウイルスの感染能力が本当に失われているかを懸念する必要がない。

※ウイルスの種類によらない

物理的に除去してしまえば、ウイルスごとの消毒剤に対する耐性の違いを考慮する必要がない

※消毒剤使用量の削減が可能

物理的に除去してしまえば、究極的には消毒剤が不要。

