

降雨後の東京湾沿岸域におけるウイルス及び指標微生物の消長

東京大学大学院工学系研究科	学生会員	端 昭彦
同 上	正会員	○片山 浩之
同 上		春日 郁郎
横浜国立大学大学院環境情報学府		真名垣 聡
東京大学大学院工学系研究科	フェロー会員	大垣 眞一郎

1. 研究の背景及び目的

汚水と雨水を同一の管渠で集める合流式下水道では、激しい降雨により流入水量が受け入れ可能量を上回った場合、受け入れきれない分量の下水・汚水は未処理のまま環境中に放流される。この未処理の放流水は合流式下水道雨天時越流水（CSO）と呼ばれるものである。CSOの水質は通常の処理水よりも劣り、腸管系ウイルス等のリスク因子も高濃度で存在すると考えられる。東京湾は合流式下水道からの放流水を受けており、CSOによる生態系への悪影響が懸念されている。

上記のような背景に立ち、本研究では降雨によるCSO影響下にある東京湾沿岸域のウイルス及び指標微生物を経時的に測定することにより、降雨後の東京湾沿岸域におけるウイルス・指標微生物の消長に関する知見を得るとともに、ウイルスによる感染リスクの空間的・時間的な分布を明らかにすることを目的とした。

2. 測定試料と測定項目

1) 測定試料

CSOの影響のあるものとして、東京湾沿岸域における複数地点でのCSO発生1日後、2日後、4日後、11日後、18日後の試料を用いて指標微生物及びウイルスの検出を試みた。試料数は、CSO発生1日後のものが45試料、2日後のものが23試料、4日後のものが13試料、11日後のものが13試料、18日後のものが23試料である。これらのうち、24試料が中層水（表層と底層の中間位置の水）であり、24試料が底層水（底から2m上位置の水）、残り66試料が表層水である。

また、CSOの影響がないものとして東京湾沿岸域の11試料、お台場海浜公園の4試料を用いて指標微

生物及びウイルスの検出を試みた。上記試料は全て表層水である。

2) 測定項目

測定した指標微生物は、大腸菌・大腸菌群（クロモカルト・コリファージ培地法による）、体表面吸着ファージ（E.coli WG5を用いた重層法による）、F特異大腸菌ファージ（WG49を用いた重層法による）である。

また、Real Time TaqMan PCR法により腸管系アデノウイルスの検出を試みた。腸管系アデノウイルス検出の手順は以下の通りである。HA膜（孔径0.45μm, Millipore）で試料約1Lをろ過し、試料中のウイルスを膜に吸着させ、H₂SO₄で膜を洗浄し、NaOHをろ過してウイルスをHA膜から誘出することで、約15mlの濃縮液を得た（1次濃縮）。遠心濃縮式フィルターユニットであるCentriprep YM-50を用いて1次濃縮液を2回の遠心操作に供し、600～700μLの濃縮液を得た（2次濃縮）。次に、QIAamp DNA mini kitを用い、得られた2次濃縮液から200μLのウイルスDNA抽出液を得た。ここで得られたDNA抽出液及び、腸管系アデノウイルスのみを特異的に検出できるとされているプライマーとTaqManプローブを使用し、ABI PRISM 7500 Sequence Detection systemを用いたPCR反応を行うことで、アデノウイルスを検出・定量した。

3. 結果と考察

1) 東京湾におけるCSO発生後の微生物濃度経時変化

東京湾の表層水試料のCSO発生後の指標微生物経日変化は図2のようになった。なお、各プロットには対象日の全採水地点の測定結果の幾何平均値を用いた。図2より、CSO発生以降各指標微生物濃

キーワード 合流式下水道雨天時越流水, 腸管系アデノウイルス, 指標微生物, 東京湾沿岸域, 深度方向分布

連絡先 〒113-8656 東京都文京区本郷 7-3-1 E-mail:hata@env.t.u-tokyo.ac.jp



図1. 採水地点

度が低下し続けていることが読み取れる。CSO 発生 1 日後から 18 日後までに、大腸菌と大腸菌群はそれぞれ 2.0log、2.1log の減少、体表面吸着ファージと F 特異大腸菌ファージはそれぞれ 1.5log、1.4log の減少となっており、大腸菌類とファージで濃度低下の傾向に違いが見られた。また、腸管系アデノウイルス濃度は 4 日目以降低下した(図 3)。腸管系アデノウイルスも CSO 発生以降濃度が低下し続けていることが読み取れる。腸管系アデノウイルス濃度は CSO 発生 2 日後にピーク値を取っており、その後 CSO 発生 18 日後までに 2.1log 程度減少した。

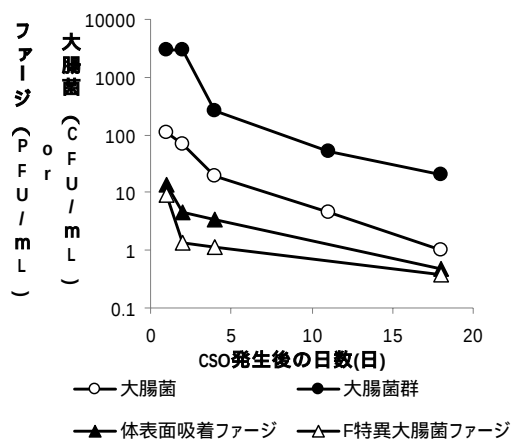


図2. 東京湾における CSO 発生後の指標微生物濃度

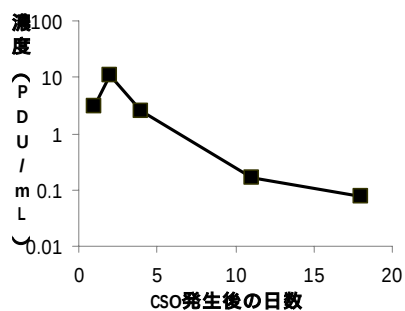
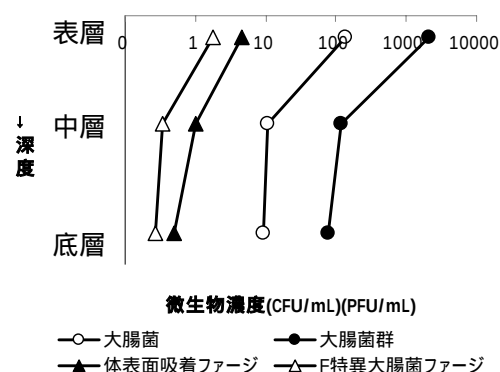


図3. 東京湾における CSO 発生後のアデノウイルス濃度経日変化

2) 指標微生物の深度方向分布

各種指標微生物の幾何平均値としての深度方向分布を図 4 に示す。指標微生物濃度は表層で高濃度であり、中層・底層で低濃度となる傾向があることがわかった。各種指標微生物の表層、中層、底層濃度についての分散分析より、表層は中層、底層と比較して有意に高濃度であり、中層・底層間に有意な濃度差はなかった。また、表層での濃度と中・底層との濃度差は、大腸菌と大腸菌群でそれぞれ 1.1log、1.3log、体表面吸着ファージと F 特異大腸菌ファージでそれぞれ 0.78log、0.77log となっており、細菌指標とファージの間で深度方向分布の傾向に違いが見られた。以上より、CSO の発生により人が主に接触すると考えられる表層部で指標微生物が高濃度となることがわかった。



表層：表層の水
中層：表層と中層の中間位置の水
底層：底面から 2m 上位置の水

図4. 指標微生物の深度方向分布

謝辞

本研究の一部は、科学研究費補助金(基盤研究(B)) 19360238(代表:古米弘明)により実施した。ここに謝意を表する