

B-2 Contaminant Candidate Listに掲載された 水系感染症ウイルスの凝集処理性評価

○白崎 伸隆^{1*}・丸林 拓也¹・村井 一真¹・松下 拓¹・松井 佳彦¹

¹北海道大学大学院工学研究院環境創生工学部門（〒060-8628北海道札幌市北区北13条西8丁目）

* E-mail: nobutaka@eng.hokudai.ac.jp

1. はじめに

近年の気候変動や人口増加に伴う世界的な水不足の顕在化により、これまで使用されてこなかった低水質の環境水や排水等をも水道原水として利用（再利用）する必要が生じてきている。このような水は、水系感染症を引き起こすウイルスによる汚染レベルも高いことから、浄水処理におけるウイルスの処理性を詳細に把握した上で、効果的且つ効率的な処理を施し、ウイルスによる水系感染症を制御していくことが重要となる。このような中で、米国環境保護局（USEPA）は、将来水道水質基準に組み込むべき項目（Contaminant Candidate List 3: CCL3）として、アデノウイルス、A型肝炎ウイルス、ノロウイルスを含むカリシウイルス、ポリオウイルスを含むエンテロウイルスの4つのウイルス（CCL3ウイルス）を挙げている¹⁾。しかしながら、培養・定量の難しさ等から、これら水系感染症ウイルスの浄水処理性、特に凝集やろ過といった物理的な処理性に関する知見はほとんど得られていないのが現状である。そこで、本研究では、凝集沈澱-砂ろ過処理を実施している全国の浄水処理場から取り寄せた原水（水質の異なる全国12箇所の環境水）に、CCL3ウイルスを人工的に添加し、回分式凝集沈澱処理実験を実施することにより、CCL3ウイルスの物理的な浄水処理性を詳細に把握することを目的とした。また、水系感染症ウイルスの代替指標ウイルスとして広く用いられている大腸菌ファージMS2及びφX174との処理性比較も行い、これら大腸菌ファージのCCL3ウイルスに対する代替指標としての有効性についても議論した。

2. 実験方法

(1) 使用したウイルスの培養及び定量

本研究では、CCL3ウイルスとして、培養可能なアデノウイルス40型Dugan株（AdV、2本鎖DNAウイルス、直

径 90–100 nm）及びポリオウイルス1型LSc2ab株（PV、1本鎖RNAウイルス、直径 24–30 nm）を実験に使用した。また、水系感染症ウイルスの代替指標ウイルスとして広く用いられている大腸菌ファージMS2（1本鎖RNAウイルス、直径 24–27 nm）及びφX174（1本鎖DNAウイルス、直径 23–27 nm）を実験に使用し、上述したCCL3ウイルスとの処理性の比較を行った。

AdV、PVは、それぞれA549細胞、BGM細胞を用いて培養し、ブラック形成法及びリアルタイム定量PCR法にて濃度を定量した。一方、MS2、φX174は、それぞれの宿主大腸菌を用いて培養し、濃度の定量にはブラック形成法及びリアルタイム定量PCR法を用いた。

(2) 凝集沈澱処理

本研究では、回分式凝集沈澱処理におけるAdV、PV、大腸菌ファージMS2及びφX174の処理性を評価した。精製したAdV、PVのいずれかを 10^{23} PFU/mLになるように、また、MS2及びφX174を 10^{56} PFU/mLになるように同時添加した環境水A～L（凝集沈澱-砂ろ過処理を実施している全国12箇所の浄水処理場原水：pH 6.3–8.0、濁度 1–27 NTU、DOC 0.4–3.9 mg/L、UV260 0.01–0.08 cm⁻¹）を実験原水とし、角型ビーカーに300 mL添加した。ここに、凝集剤としてポリ塩化アルミニウム（PACl：塩基度 50%、硫酸 3%、多木化学）を1.08–5.4 mg-Al/L（環境水採水時の各浄水処理場における凝集剤添加濃度）になるように添加し、直ちにHClあるいはNaOHにてpHを7に調整した。これを急速攪拌1分、緩速攪拌10分、静置60分にて処理した。原水および静置後の上澄水を採取し、それぞれの試料のウイルス濃度を定量することにより、ウイルスの凝集沈澱処理性を評価した。加えて、上澄水をメンブレンフィルター（膜材質 PTFE、膜孔径 0.45 μm、Advantec）にてろ過した試料のウイルス濃度を定量することにより、凝集沈澱-砂ろ過処理を模した凝集沈澱-膜ろ過処理におけるウイルスの処理性を評価した。

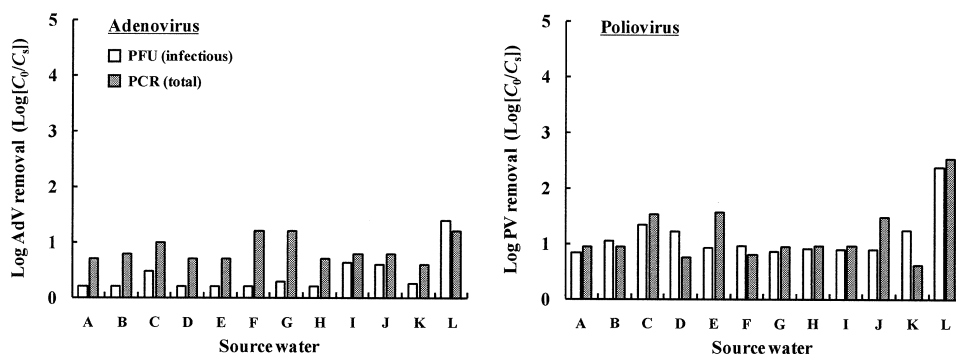


図-1. 凝集沈澱処理におけるAdV及びPVの処理性

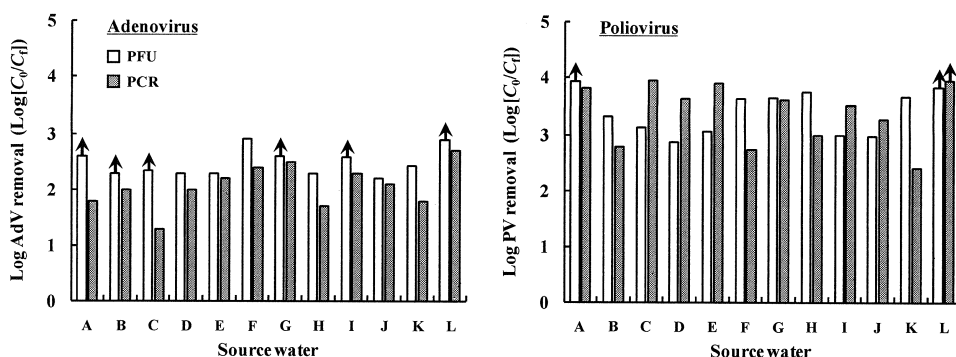


図-2. 凝集沈澱-膜ろ過処理におけるAdV及びPVの処理性

3. 結果と考察

(1) AdV及びPVの凝集処理性

凝集沈澱処理におけるAdV及びPVの除去率を図-1に示す。図の縦軸は $\text{Log}[C_0/C_i]$ (C_0 : 原水のウイルス濃度, C_i : 上澄水のウイルス濃度) にて表記した。凝集剤を添加しない場合は、いずれのウイルスも除去できなかったのに対し、凝集剤を添加した場合、ブラック形成法にて評価したAdV及びPVの除去率は、それぞれ0.2-1.4 log, 0.8-2.4 logとなった。また、リアルタイム定量PCR法にて評価した場合においては、それぞれ0.6-1.2 log, 0.6-2.5 logの除去率が得られた。なお、いずれの環境水を用いた場合であっても、濁度の除去率は83-99%であったのに対し、AdVの除去率については、0.2 log程度に留まる環境水も見られた。従って、PACIを用いた凝集沈澱処理により、AdV及びPVを除去することは可能であるものの、それぞれの除去率は、環境水の水質によって大きく異なることが確認された。また、AdVの除去率は、PVの除去率に比べて低い傾向にあることが明らかとなった。

凝集沈澱-砂ろ過処理を模した凝集沈澱-膜ろ過処理におけるAdV及びPVの除去率を図-2に示す。図の縦軸は $\text{Log}[C_0/C_i]$ (C_0 : 原水のウイルス濃度, C_i : 膜ろ過水のウイルス濃度) にて表記した。凝集沈澱処理後の上澄水をメンブレンフィルターにてろ過することにより、いずれの環

境水を用いた場合においても、凝集沈澱処理後に比べて除去率が向上し、ブラック形成法にて評価したAdV及びPVの除去率は、それぞれ2.2→2.9 log, 2.9→3.9 logとなった。また、リアルタイム定量PCR法にて評価した場合においても、ブラック形成法にて評価した場合と同程度の除去率が得られた。AdV及びPVの粒径は、本研究で使用したメンブレンフィルターの膜孔径よりも小さいため、これらのウイルスが水中において凝集塊を形成せずに単分散している場合は、0.45 μm のメンブレンフィルターでは除去することができないと考えられる。実際に、凝集剤を添加しない場合は、いずれのウイルスも除去できなかったことから、凝集沈澱処理によって分離しきれなかったAdVあるいはPVを含むマイクロブロックが、後段の膜ろ過処理によって効果的に抑止されたために凝集沈澱処理に比べて除去率が向上したものと推察された。

(2) 大腸菌ファージの指標性

凝集沈澱処理及び凝集沈澱-膜ろ過処理におけるAdVの除去率と大腸菌ファージMS2及び ϕX174 の除去率を比較した(図-3)。図より、いずれの定量法にて評価した場合においても、AdVの除去率と大腸菌ファージの除去率の間に正の相関関係が認められた。また、大腸菌ファージに対する相関係数は、濁度、DOC、UV260の除去率に対する相関係数 ($R = -0.19-0.47$) に比べて高い値とな

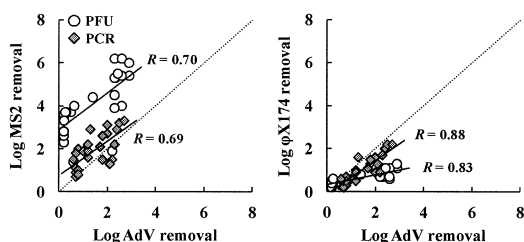


図-3. 凝集沈澱処理及び凝集沈澱-膜ろ過処理におけるAdVの除去率と大腸菌ファージMS2及びφX174の除去率の相関

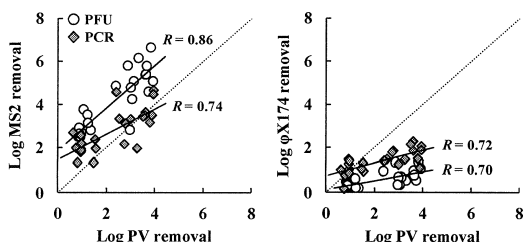


図-4. 凝集沈澱処理及び凝集沈澱-膜ろ過処理におけるPVの除去率と大腸菌ファージMS2及びφX174の除去率の相関

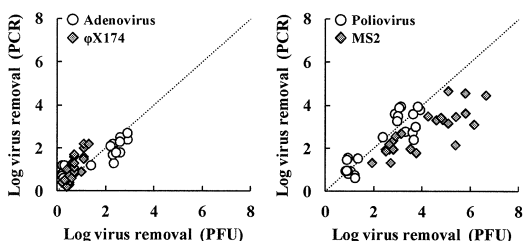


図-5. ブラック形成法により評価した除去率とリアルタイム定量PCR法により評価した除去率の差異

り、中でも、φX174に対する相関係数が最も高い値となった。従って、相関係数の観点からは、φX174がAdVの凝集沈澱-砂ろ過処理性を評価する上で有効な代替指標と成り得ることが示された。また、PVの除去率とMS2及びφX174の除去率についても比較したところ（図-4）、AdVの場合と同様に、PVの除去率と大腸菌ファージの除去率の間に正の相関関係が認められ、大腸菌ファージに対する相関係数は、濁度、DOC、UV260の除去率に対する相関係数（ $R = -0.14-0.45$ ）に比べて高い値となった。また、それぞれの大腸菌ファージに対する相関係数を比較したところ、MS2に対する相関係数の方がφX174に対する相関係数に比べて高い値となった。従って、相関係数の観点からは、MS2がPVの凝集沈澱-砂ろ過処理性を評価する上で有効な代替指標と成り得ることが示された。

一方で、リアルタイム定量PCR法にて評価したMS2の除去率は、同法にて評価したPVの除去率と同程度となったのに対し、ブラック形成法にて評価したMS2の除去率は、同法にて評価したPVの除去率に比べて1-3 log程度

高い値となった（図-4）。また、ブラック形成法とリアルタイム定量PCR法にて評価した各ウイルスの除去率を比較したところ（図-5）、AdV、PV、φX174については、両法で評価した除去率は同程度となったのに対し、MS2については、両法で評価した除去率に差が見られ、ブラック形成法にて評価した除去率の方がリアルタイム定量PCR法にて評価した除去率に比べて高い値となった。2つの定量法によって得られた結果に差が生じた原因として、感染力を失ったウイルス、すなわち、不活化したウイルスの存在と、幾つかの感染性のあるウイルスによって形成される凝集塊をブラック形成法にて評価した場合に生じる除去率の過大評価の2つが考えられた。なお、Kreisselらは、PACIを用いた凝集沈澱処理によってMS2が不活化することを報告している²⁾。従って、ブラック形成法にて評価した場合においては、凝集塊の形成のみならず、MS2の不活化により、MS2の除去率がPVの除去率に比べて高い値となった可能性が示唆された。以上の結果から、MS2をPVの安全側の代替指標として使用することは適切ではないことが示された。その一方で、MS2の除去率とPVの除去率の間には高い相関関係が認められたことから、MS2をPVの代替指標として使用する場合は、PACIによる不活化に対するウイルス間の感受性の差異にも注意を払うべきであると考えられる。

4. まとめ

- (1) 凝集沈澱処理におけるCCL3ウイルスの処理性を評価したところ、AdV及びPVの除去率は、ブラック形成法にて評価した場合、それぞれ0.2-1.4 log、0.8-2.4 logであり、また、リアルタイム定量PCR法にて評価した場合は、それぞれ0.6-1.2 log、0.6-2.5 logであった。
- (2) AdVの除去率と大腸菌ファージφX174の除去率、また、PVの除去率と大腸菌ファージMS2の除去率の間にそれぞれ高い正の相関関係が認められた。

謝辞：本研究の一部は厚労科研（H25-健危-一般-007）により行われた。記して謝意を示す。

参考文献

- 1) U.S. Environmental Protection Agency: Drinking Water Contaminant Candidate List 3, EPA815-F-09-001, Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2009.
- 2) Kreissel K., Bosl M., Hugler M., Lipp P., Franzreb M. and Hamsch B.: Inactivation of F-specific bacteriophages during flocculation with polyaluminum chloride—a mechanistic study, *Water Research*, Vol. 51, Mar., pp. 144-151, 2014.