

〈特集〉

個別施設における下水サーベイランスと社会貢献に向けた課題

八十島 誠

(株)島津テクノリサーチ 環境事業部

(〒604-8436 京都市中京区西ノ京下合町1番地 E-mail: m_yasojima00@shimadzu-techno.co.jp)

概要

下水中の新型コロナウイルスのモニターによる感染状況把握や早期検知への期待から、下水サーベイランス (SV) が積極的に行われてきた。本稿では、我々が実施してきた個別施設での下水 SV 技術や活用事例を示す。また、下水 SV を適用した個別施設からは、より迅速な検査結果の提示が求められたため、従来法と同程度の感度でより迅速なウイルス濃縮法として固相抽出法を検討してきたので、これを紹介する。最後に、個別施設での下水 SV の経験に基づいて、今後も下水 SV が必要な社会インフラとして利用されるための期待について述べる。

キーワード：新型コロナウイルス、WBE、京都モデル、早期検知、固相抽出

原稿受付 2023.12.21

EICA: 28(4) 50-53

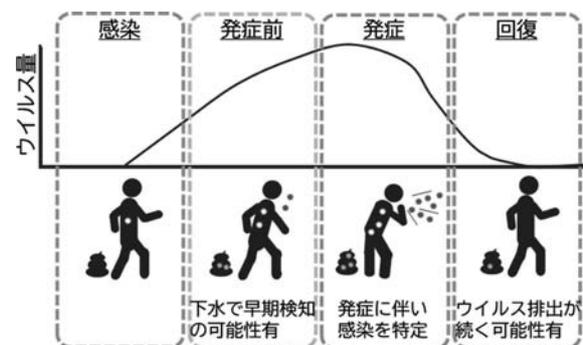
1. はじめに

新型コロナウイルス (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2: SARS-CoV-2) の世界的蔓延を契機に、市中の新型コロナウイルス感染症 (COVirus Infectious Disease, emerged in 2019: COVID-19) の感染者モニタリングや感染者の早期検知への期待から、下水疫学 (WBE: Wastewater-based Epidemiology) に基づく下水サーベイランス (以下、下水 SV) が世界中で活発に実施されてきた。下水 SV の適用は2箇所で大別される。一つは、広域の下水を集めて処理する下水処理場であり、他方は高齢者介護施設などの個別施設である。本稿では、著者が主として取り組んで来た個別施設での下水 SV に焦点を当て、下水 SV 適用に向けて開発してきた技術やその結果を概説する。さらに、経験してきた調査事例の中で浮かび上がってきた個別施設における下水 SV の更なる社会貢献に向けた課題について整理する。

2. 下水 SV の実用化に向けた技術開発

2.1 京都モデル

下水には、既に発症している有症状の COVID-19 感染者に加えて、感染しているものの発症に至っていない感染者、および無症状感染者のウイルスが排出されている。ウイルス排出経路は、排便に加え、うがいや歯磨きなど唾液を経由したものが含まれ¹⁾、感染から回復のステージごとに、あるいは人ごとにウイルス排出量が異なると考えられている (Fig. 1)²⁾。従って、個別施設においては、タイミング良く下水を検査する



* 「下水サーベイランスの活用に関する実証事業」個別施設実証レポート²⁾より引用

Fig. 1 体内のウイルス量と排泄の関係に関する模式図

ことで、当該施設が感染者を認識する前にそのシグナルが得られる可能性がある。さらに、下水で得られたシグナルを元に、施設利用者の臨床 PCR 検査を行えば、感染者個人を特定でき、特定された感染者を適切に隔離することで施設内の感染拡大を防止できると考えた。この2階建て検査システムを「京都モデル™」(Fig. 2)と名付け、概念実証 (PoC: Proof of Concept) を行ってきた。

2.2 個別施設での下水 SV に適したサンプラーの開発

個別施設の下水は、インバート枡、塩ビパイプ型の枡などに排出されており、施設によって大きさや深さ、流量などが異なる。このため、施設ごとの汚水枡の特徴に合わせたサンプラーのデザインが必要になる。そこで、1948年に下水中のサルモネラ菌を調査するために開発された Moore スワブを参考に、現代の汚水枡に適用可能なサンプラー (PoP-CoV サンプラー: Portable Passive Cotton Virus Sampler) (Fig. 3 左)

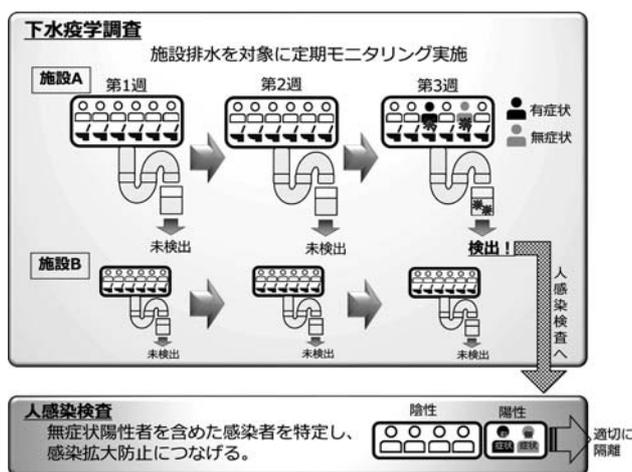


Fig. 2 2階建て検査システム「京都モデル」



左：完成写真 右：20 kg 耐荷重試験の様子

Fig. 3 PoP-CoV サンプラー

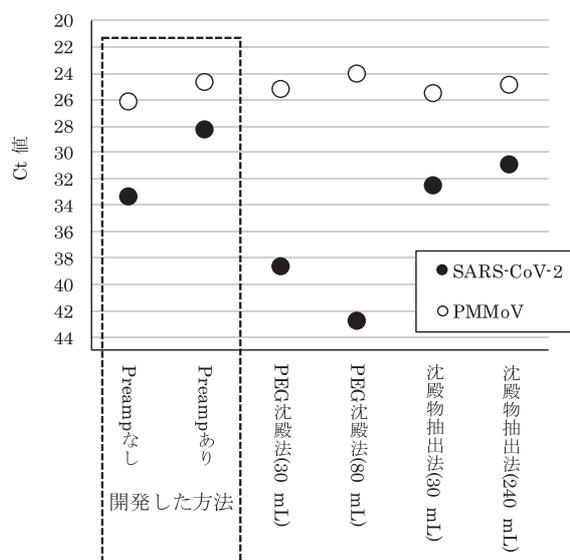
を開発した³⁾。PoP-CoV サンプラー (600 cm²) は、汚水枡の形状に応じて可変であり、あらゆる汚水枡に対応出来る点が特徴である。また、汚水枡にはトイレフラッシング排水だけでなく、洗面台の排水や、単位時間当たりの流量が非常に多い大型の浴槽排水の排出が想定されるため、これらの排水によってサンプラーが脱落・流出しない工夫が必要である。想定される流量に耐えるサンプラーを構築するため、単位時間あたりにある面を通過する液体の質量 (質量流量) を算出し、耐荷重実験によってサンプラーの強度を確認してきた (Fig. 3 右)。これらの開発により、個別施設での下水 SV の適用に向けた採水が実行可能となった。ただし、数多くの後の調査経験からは、サンプラーの表面積はさらに小型化しても同等の結果が得られる可能性があり、将来に向けての検討課題である。

2.3 迅速・安価かつ拡張性のあるウイルス濃縮法の開発

マニュアル^{4,5)}に記載のある下水中の SARS-CoV-2 の濃縮法としては、PEG 沈殿法や沈殿物抽出法などがある。これらの方法は、世界で広く使われている方

法であり、一般的であるものの、遠心分離によって分画された一部のみを試料として利用する点、また濃縮に時間を要する点で、迅速に検査結果を知りたいとする社会のニーズに必ずしも十分に答えられない可能性が指摘される。これらの課題の解決に向けて、下水等に含まれる化学物質の濃縮に頻繁に使用される固相抽出法に着目した。固相抽出法は、ファンデルワールス力や極性相互作用、イオン交換等を原理として化学物質を保持・溶出させるものであり、ウイルス種によってはこの原理で濃縮できる可能性があると思われた事による。

固相としては、親水性・親油性をバランス良く持つ高親水性逆相水湿潤性ポリマーの HLB を用いた。採取した下水は遠心分離による分画を行わず、SS を含む全量を HLB に負荷させる事を目的に、化学物質の濃縮で最も頻繁に使われる粒子径 30 μm、ヘッドボリューム 6 cc ではなく、粒子径 60 μm、ヘッドボリューム 20 cc を採用した。qPCR で得られた Ct 値を比較すると HLB 単体での濃縮 (試料量 30 mL) では、PEG 沈殿法よりも Ct 値が低いものの、沈殿物抽出法よりも Ct 値が高かった (Fig. 4)。このため、イソプロパノールによる HLB 溶出液を RNA 精製後に Preamp 処理 (5cycle) したところ、沈殿物抽出法と同等以下の Ct 値が得られる事を確認した (Fig. 4)。濃縮されるウイルスは、SARS-CoV-2 のようなエンベロープウイルスに留まらず、PMMoV のようなノンエンベロープの濃縮にも有効であった (Fig. 4) 事は特筆すべき点であると考えられる。また本法での濃縮に係る作業時間 (5.1 h) は、PEG 沈殿法 (20.6 h)、沈殿物抽出法 (6.6 h) より 1.5~15.5 h 短縮された (著者のラボでの所要時間。結果を得るためにはさら



* 試料量を 30 mL に揃えた場合 (開発法に揃えた場合) とマニュアル記載の試料量を用いた場合の 2 パターンで比較した

Fig. 4 開発法と従来法の感度比較

に qPCR とデータ整理の時間が必要になる。)。民間検査機関によるウイルス濃縮の費用のほとんどは、それに係る人件費であり、作業時間の短縮は結果提示の迅速性の向上だけでなく、コスト低減にも貢献できると期待される。さらに当然のことながら、HLB 溶出液を用いる事で、ウイルス濃縮に加えて化学物質の分析も可能になるため、方法論の拡張性も高まると考えられる。

3. 個別施設における下水 SV

3.1 京都モデルの適用

特別養護老人ホームにおいて京都モデルを適用した事例⁶⁾を紹介する (Fig. 5)。当該施設では、PoP-CoV サンプラーを 24 h 連続で下水に浸し (パッシブサンプリング)、24 h 後にサンプラーを手で絞り、得られた絞り液中の SARS-CoV-2 を沈殿物抽出法で濃縮した。採水は 1 回/週の頻度で実施したが、day35 以降は毎営業日とした。調査開始時は下水陰性であり、施設内の感染者は報告されていなかった。day15 に下水で陽性となり、day24 に施設内感染者が報告された。施設内感染者の報告がゼロとなった day34 の直後 (day35) は陽性であったが、その後は基本的に陰性であった。ただし、不定期に陰性だが増幅あり (グレー判定) の結果が得られた。

day24 以前に毎日、ヒト検査を実施していたかは明らかではないため、確かな事は不明だが、京都モデルの適用により少なくとも始めの感染者報告よりも先に下水から感染者の情報を得ていたものと考えられる。また、感染者の報告がゼロとなった後にも、不定期にグレー判定の結果が得られたのは、ヒト検査で陰性となった後にも糞便にはウイルス排泄が続くとの報告⁷⁾を反映したものであると推測される。

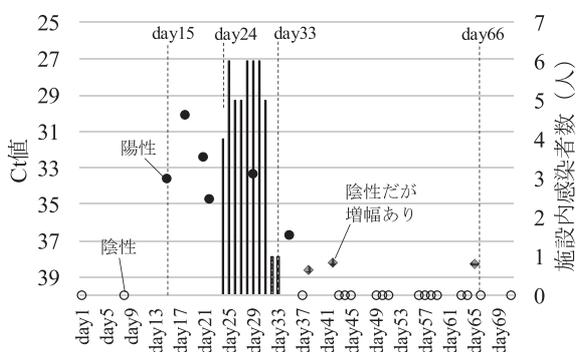


Fig. 5 京都モデルの適用事例⁶⁾

3.2 下水 SV の活用に関する実証事業

全国 22 施設を対象に、2022 年度に内閣官房が主導して、大規模な下水 SV の活用に関する実証事業が行われた²⁾。本実証では、① 下水検査結果とヒト検査の

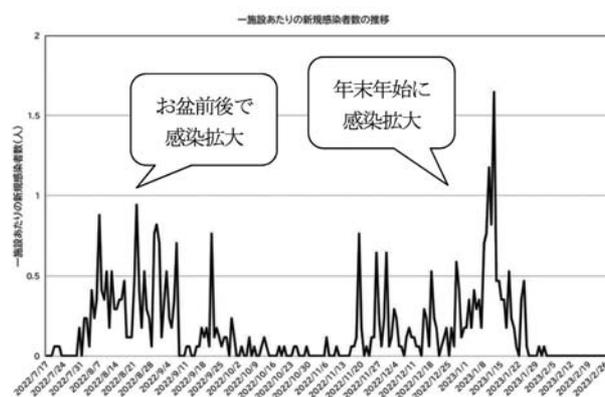
整合性、② 最適な検査手法、③ 費用削減・迅速化について検討が行われた。

下水検査結果と施設内の感染者情報を突合せ検証したところ、感度 (陽性の人が出た場合、正しく陽性と検知する確率) は 75.7~91.4%、特異度 (陰性の人が出た場合、正しく陰性と検知する確率) は 65.9~94.2% であり、有症状者に加えて無症状感染者も検知できたと報告されている。これらより、感染者が少ない段階での初期検知に有用で、感染対策に活用できる可能性があると考えられた。また、施設あたりの平均新規感染者数のトレンドからは、お盆前後、年末年始に感染が拡大する傾向 (Fig. 6) が示されており、これらの期間に特化した下水 SV の適用も想定される。

ただし信頼性のある下水 SV 実施に向けて、施設ごとに職員や利用者の特性、行動パターン、生活時間等の情報収集を行うほか、調査開始前に現地での排水経路調査が必要とされている。また、個別施設での下水 SV 普及にあたっては、以下が課題とされた。

- ・迅速な下水検査結果の提示
- ・費用低減 (採水および検査)
- ・品質確保に向けた人材教育、技術トレーニング
- ・疫学的観点、公衆衛生的観点からの施設へのコンサルテーション

さらに、検査業者によって陽性、グレー、陰性の判定基準が必ずしも同一ではなく、また検出下限値の考え方に統一性がない事が示唆されており (Table 1)、同等の下水 SV を提供する観点からは、これらの統一化が必要になると考えられる。なお、個別施設における下水 SV の注意点等は、施設排水調査マニュアル⁸⁾および施設排水調査ガイダンス⁹⁾として整理されており、これらを参考に下水 SV を実施する事が望ましい。



* 「下水サーベイランスの活用に関する実証事業」個別施設実証レポート²⁾を引用

Fig. 6 施設あたりの平均新規感染者数

Table 1 「下水サーベイランスの活用に関する実証事業」における検査機関ごとの下限値と判定基準

検査事業者	陽 性	グ レー	陰 性
検査機関 A	3 ウェル測定し、1 ウェルでも検出下限以上検出した場合は陽性 (LOD=2,500 copies/L)	検出下限値以上の増幅は無いが、1 ウェル以上、検出下限値未満の増幅があったもの	1 ウェルも増幅が見られなかったもの
検査機関 B	Positive=検出 (Ct 値が得られている)	—	Negative=検出せず
検査機関 D	2 ウェル測定し、1 ウェルでも検出下限値以上の場合陽性 (LOD=83 copies/L)	検出下限値以上の増幅は無いが、1 ウェル以上、検出下限値未満の増幅があったもの	1 ウェルも増幅が見られなかったもの
検査機関 E	6 ウェル測定し、1 ウェルでも検出下限値以上の場合陽性 (LOD=200~400 copies/L)	—	検出下限値未満のウェルのみ
(参考) 速報段階では、6 ウェル測定し、検出下限値以上が1 ウェルあれば「疑わしき」として仮報告。再分析でも同様に検出された場合「陽性」、検出されなかった場合「陰性」として報告。			

* 「下水サーベイランスの活用に関する実証事業」個別施設実証レポート²⁾を一部編集

4. with/after コロナ時代における下水 SV

COVID-19 の蔓延により、下水 SV に関する学での研究が進展し、また、民間の参入が増えた事で下水 SV に関する様々な技術が極めて短時間に大きな飛躍を遂げてきた。さらに、この間に官も加えた産学官連携で技術開発・検証に努めてきた事は、他に類を見ないものであったように感じられる。COVID-19 の 5 類感染症移行に伴い、人々の COVID-19 への関心が急速に薄れているなかで、現在、下水 SV への期待は新たなフェーズに入っている。これまでに関係各位が積み上げ、開発・構築してきた技術は、5 類感染症移行により感染実態が掴みにくくなった COVID-19 を始め、将来発生するであろう感染症のモニタリングや早期検知にも有効に機能する可能性があると考えられる。したがって、with/after コロナ時代においては、獲得した技術の維持あるいは更なるアップグレードを進めておく事が重要である。個別施設に特化して考えると、例えば、ウイルスの体外排出経路の想定から、より採水が容易に行える採水ポイントがある可能性もあるため、これを検証する事などが想定される。併せて、下水処理場調査・個別施設調査を問わず、これまでに明らかとなってきた下水 SV の課題の解決に真摯に取り組む必要がある。将来的な法整備についても期待される。

今後の下水 SV 技術の維持・革新においては、資金調達が障壁になっていると思われるが、第三者機関等を通じて、例えばクラウドファンディングの利用や、分析レベルの維持を目的とした定期的なラウンドロビントの開催、下限値の考え方の整理と統一などを実現可能性も含めて検討していく事などが必要であると考えられる。さらに、下水 SV が社会貢献を果たす目的においては、分析結果や調査結果をより分かり易く伝える工夫を重ねる事が肝要である。また、今後開発される最新技術について学識経験者を交えて議論を重ねていく事や、依然として十分な認知度を得ていな

い下水 SV を広く国民に紹介していく啓蒙活動も必須である。これらを通じて、これまでに開発されてきた技術が維持され、さらには発展し、今なお多数の感染が続く COVID-19 や、次なる感染症が発生した際に、下水 SV がパンデミックを防ぐ一つのエッセンシャルツールとして社会貢献することを強く期待する。

謝 辞

本稿の一部は、内閣官房「ウイズコロナ時代の実現に向けた主要技術の実証・導入に向けた調査研究業務」の一環として実施した。

参 考 文 献

- 1) N. L. Fahrenfeld, W. R. M. Medina, S. D'Elia, M. Modica, A. Ruiz and M. McLane: Comparison of residential dormitory COVID-19 monitoring via weekly saliva testing and sewage monitoring, *Science of The Total Environment*, Vol.814, 151947 (2022)
- 2) 三菱総合研究所：ウイズコロナ時代の実現に向けた主要技術の実証・導入に向けた調査研究業務「下水サーベイランスの活用に関する実証事業」個別施設実証レポート (2023)
- 3) 八十島誠, 友野卓哉, 醍醐ふみ, 嶽盛公昭, 井原 賢, 本多了, 端 昭彦, 田中宏明：個別施設での SARS-CoV-2 感染者の早期発見に適したパッシブサンプラー開発と有効性の検証, *土木学会論文集 G (環境)*, Vol.77, No.7, III_179-III_190 (2021)
- 4) (公社)日本水環境学会 COVID-19 タスクフォース, (公財)日本下水道新技術機構：下水中の新型コロナウイルス遺伝子検出マニュアル (2021)
- 5) 国立感染症研究所：下水中の新型コロナウイルス検出マニュアル ver 1.1 (2021)
- 6) 八十島誠, 醍醐ふみ, 藤原英里奈, 柴山 基, 嶽盛公昭：個別施設における SARS-CoV-2 下水サーベイランス調査とその可能性, 第 57 回日本水環境学会年会, p.267 (2023)
- 7) A. Tang, Z. D. Tong, H. L. Wang, Y. X. Dai, K. F. Li, J. N. Liu, W. J. Wu, C. Yuan, M. L. Yu, P. Li and J. B. Yan: Detection of Novel Coronavirus by RT-PCR in Stool Specimen from Asymptomatic Child, China, *Emerging Infectious Diseases*, Jun, Vol. 26, No. 6, pp.1337-1339 (2020)
- 8) 国立感染症研究所：施設排水調査ガイドンス (2022)
- 9) 国立感染症研究所：施設排水調査マニュアル Ver1.0, (2022)