

分担研究報告書 5

浄水処理によるウイルスの除去・不活化に関する検討

分担研究者 片山浩之

分担研究報告書

「浄水処理によるウイルスの除去・不活化に関する検討」

主任研究者 国包章一 国立保健医療科学院水道工学部

分担研究者 片山浩之 東京大学大学院工学系研究科

要旨

文献調査から浄水工程におけるウイルスの除去能および不活化について調べた。ウイルスは結合塩素に耐性があるが、凝集沈殿・砂ろ過や塩素消毒などの通常処理によってもウイルス濃度は低減する。膜ろ過やオゾン、紫外線などによってもウイルスを除去・不活化することが可能である。

A. 研究目的

上水道では、1)ろ過などによって微小固体成分を除去し、2)塩素消毒によって微生物を不活化して、3)大腸菌群(現在、わが国では大腸菌)の不在を証明する、というシステムによって水系感染症を抑制してきた。この近代水道システムは、コレラを代表とする水系感染性の病原細菌に対しては非常に有効である。たとえば食中毒事例として世間を騒がせた病原大腸菌 O157 についても、日本では水道水の汚染事故は報告されていないことから、このシステムは健在であることがうかがえる。

本研究では、新たな脅威となりつつあるヒト腸管系ウイルスに焦点を当て、浄水工程におけるウイルスの挙動について調べることを目的とした。

B. 研究方法

国内外の水中ウイルスに関する文献調査を行った。

C. 研究と考察

1) 浄水工程におけるウイルス除去

(ア) 凝集沈殿・急速砂ろ過

ウイルス粒子は、通常の浄水工程においても除去される。ただし、他の汚染物質とは異なり、病原微生物については 99%の除去でも不十分とされる場合があることと、常に安定した除去が求められることに注意しておく必要がある。

ウイルスは他のコロイド粒子と同様、中性域の水中では負に帯電していることが多い。浄水の凝集沈殿においては、多価の陽イオンを含む薬剤を用いて凝集を促進するため、このような負に帯電した粒子を中和して静電的斥力を弱めてフロックの形成を行うため、水中ウイルスについても効率よく除去されていると考えられる。

リスク管理の観点からは、除去率の大きさもさることながら除去の安定性が重要であり (Masago et al., 2002, Teunis et al., 1997) 凝集沈殿急速砂ろ過処理が安定的に行われていることを確認することが重要であると考えられる。そのため、濁度の連続監視などにより、常に一定以上の除去が達成されるような運転管理が望まれる。

(イ) 膜処理

膜処理によってもウイルスは除去される。膜による水処理においては、膜の孔径と粒子の大きさによるふるい作用と、膜の電荷と粒子の電荷の関係で除去される。ウイルスの除去においては、主に膜孔径がウイルスよりも小さな限外ろ過膜 (UF) を用いて除去することが可能であるとされている。しかし、膜孔径がウイルスよりも小さい場合でも、ウイルスを完全に除去することは困難であることが実験的に知られている。限外ろ過 (Urase et al., 1993) ナノろ過 (Urase et al., 1996) においても、ほとんどのウイルスは除去されるものの、ごくわずかながら膜を透過するウイルスが存在する (残存率として 10^{-5} から 10^{-6}) という報告がある。また、ウイルス粒子よりも大きな孔径をもつ精密ろ過膜 (MF) を用いる場合でも、水処理を継続する過程で膜面上に形成されるケーキ層によってウイルスが除去されることが知られている (Otaki et al., 1998)。膜処理の利点は、ウイルス除去率の高さではなく、安定した除去が達成しやすいことにあると考えられる。また、後段において消毒を行う場合、膜処理によって得られた水に対しては一定の消毒効果が安定的に達成されると期待される。このことは、微生物学的安全性を確保するために重要な利点であると考えられる。

2) 浄水工程におけるウイルス不活化

(ア) 塩素消毒

塩素消毒に対しては、腸管系ウイルスは大腸菌に比べて抵抗性があり、原虫類ほど強くはない (Sobsey 1989)。ポリオウイルスは凝集しやすい性質を持っているため、消毒剤が効きにくい可能性がある (Young et al., 1977)。クロラミンはウイルスに対してはあまり効果的な消毒剤ではなく、 2mg/L では 3 時間程度の接触時間では 90% の不活化にとどまることが報告されている (Shin et al., 1998)。

残留塩素の微生物抑制効果について、水道配水管に存在する残留塩素により大腸菌は速やかに不活化するものの、ウイルスにはあまり効果がないという実験結果が報告されている (Payment 1999)。

ノロウイルスについては、培養法が存在しないために消毒効果を推定することが困難である。また、ノロウイルスを 25 において遊離残留塩素 $0.5 - 1.0\text{mg/L}$ (注入率として $3.75 - 6.25 \text{mg/L}$) で 30 分接触させた場合に、ポランティアへの感染力が低下しなかったという報告がある (Keswick et al., 1985)。ただし、この研究ではウイルスの精製が不十分であった可能性があり、水道水のような清澄な水における不活化に直接この研究結果を適用するのは適切とは考えにくい。結局、塩素耐性については不明なところが多い。

(イ) 紫外線消毒

紫外線による不活化において、ほとんどの場合ウイルスは一次反動的に減少することが知られている (Battigelli et al., 1993)。

同じ線量率、すなわち単位面積あたりに紫外線が当たる量が同じである場合、微生物の大きさが小さければそれだけ紫外線が当たる量は小さくなる。そのため、非常に小さいという特徴を持つウイルスは、紫外線による損傷を比較的受けにくいと考えられる。事実、リスク評価の観点から紫外線の照射線量を規格化する欧米における試みの中で、ウイルス学的安全性を確保するために照射量が大きく設定されている。紫外線消毒の施設基準などを検討する場合には、ウイルスの消毒をどの程度まで保障する必要があるのかを決めれば必要な線量が決定し、細菌や原虫の不活化は十分に達成されるものと予想される。たとえば、アメリカ合衆国の紫外線のガイドライン値の決定において、A 型肝炎ウイルスの不活化率が参照されている (USEPA, 1989)。 $2\log(99\%)$ 不活化のために 21mJ/cm^2 、 $3\log$ 不活化のために 36mJ/cm^2 を必要としている。

最近になって、二本鎖 DNA を遺伝子としてもつアデノウイルスが紫外線に対して最も抵抗力があることが分かってきた (Meng et al., 1996)。 $4\log$ 不活化するためには、アデノウイルス 41 型は 111.8mJ/cm^2 、同 40 型は 124mJ/cm^2 の線量が必要であるとしている。 $3\log$ の不活化を達成するために必要な照射線量は、エコーウ

イルス 1 型、同 11 型、コクサッキーウイルス B3 型、同 B5 型、およびポリオウイルス 1 型に対して、それぞれ 25、20.5、24.5、27、23mJ/cm²であったのに対し、アデノウイルス 2 型を 3log 不活化するためには 119 mJ/cm² を要したと報告している (Gerba C. et al., 2002)。さらに、アデノウイルス 40 型を 4log 不活化するためには 226mJ/cm² が必要であるとしている (Thurston-Enriquez et al., 2003)。なお、二本鎖 DNA を遺伝子としてもつ PRD-1 ファージは RNA 一本鎖ファージの MS2 よりも 不活化されやすく、遺伝子だけでは不活化速度が決定されない (Meng et al., 1996)。

Qβ をモデルウイルスとして、水中の平均紫外線照射線量を正確に測定できることが分かっており (Kamiko et al., 1989) 生物線量計として用いられている。また、工学的には、ファージではなく細菌の *Bacillus subtilis* をモデル微生物として用いる利点もある (Sommer et al. 1993)。微生物の取り扱いが容易であり、大量に用意できるため、大規模な処理施設に対する投入実験においても比較的高濃度で実験を開始できるため、照射線量の測定可能域が広いという利点を挙げている。

(ウ) オゾンによる不活化

オゾン消毒については、その反応機構が非常に複雑であるために、複数の研究の比較をするのが困難な状況である。オゾン処理においては、オゾンを含む溶液とウイルスを混合するやり方と、オゾン発生装置で生成されたオゾンを反応槽に吹き込む方法があり、それぞれ一長一短がある。ここで問題となるのは、Ct 値として正確に測定するのが難しいことである。

水質にもよるものの、2log 不活化に必要な Ct 値は 1min・mg/L 以下であり、オゾンはウイルス不活化に有効である (Sobsey 1989)。また、オゾン消費物質を極力なくして行った研究では、大腸菌ファージ Q を 2log 不活化するために必要な Ct 値は 0.0001min・mg/L であったとしている (関谷ら、1993)。

感染性試験、普通の PCR 法、および長鎖の増幅領域を対象とした PCR 法を用いてオゾンの消毒効果を調べた研究がある (Shin et al., 2003)。ここでは、感染性試験を適用できないノロウイルスに対する不活化効果について、他のウイルスの PCR 法の結果と感染試験の結果を比較することにより推定するアプローチを採用している。ノロウイルスがオゾンに強いという可能性は低いという結果が得られている。

D. 結論

ウイルス粒子は、通常の浄水工程においても除去されるが、濁度の連続監視などにより、常に一定以上の除去が達成されるような運転管理が望まれる。膜処理の利点は、ウイルス除去率の高さもさることながら、安定した除去が達成しやすいことにあると考えられる。

塩素消毒に対しては、腸管系ウイルスは大腸菌に比べて抵抗性があり、原虫類ほど強くはない。クロラミンはウイルスに対してはあまり効果的な消毒剤ではない。残留塩素の微生物抑制効果について、水道配水管に存在する残留塩素は大腸菌は速やかに不活化するものの、ウイルスにはあまり効果がないという実験結果が報告されている。紫外線による不活化において、ほとんどの場合ウイルスは一次反動的に減少することが知られている。また、アデノウイルスが紫外線に対して高い抵抗力があるという報告がある。オゾン消毒については、水質にもよるものの、2log 不活化に必要な Ct 値は 1min・mg/L 以下であり、オゾンはウイルス不活化に有効であると考えられる。

E. 参考文献

Shin GA, Sobsey MD (1998) Reduction of norwalk virus, poliovirus 1 and coliphage MS2 by

- monochloramine disinfection of water, *WATER SCIENCE AND TECHNOLOGY* 38 (12): 151-154.
- Otaki M, Yano K, Ohgaki S (1998) Virus removal in a membrane separation process, *WATER SCIENCE AND TECHNOLOGY* 37 (10): 107-116.
- Urase T, Yamamoto K, Ohgaki S 1996 Effect of pore structure of membranes and module configuration on virus retention *JOURNAL OF MEMBRANE SCIENCE* 115 (1): 21-29 JUN 26
- URASE T, YAMAMOTO K, OHGAKI S 1993 EVALUATION OF VIRUS REMOVAL IN MEMBRANE SEPARATION PROCESSES USING COLIPHAGE-Q-BETA *WATER SCIENCE AND TECHNOLOGY* 28 (7): 9-15
- Teunis PFM, Medema GJ, Kruidenier L, et al. 1997 Assessment of the risk of infection by *Cryptosporidium* or *Giardia* in drinking water from a surface water source *WATER RESEARCH* 31 (6): 1333-1346
- Masago Y, Katayama H, Hashimoto A, Hirata T. and Ohgaki S. (2002) Assessment of risk of infection due to *Cryptosporidium parvum* in drinking water, *WATER SCIENCE AND TECHNOLOGY* 46 (11-12): 319-324
- Payment P (1999) Poor Efficacy of Residual Chlorine Disinfectant in Drinking Water to Inactivate Waterborne Pathogens in Distribution Systems, *Can. J. Microbiol.*, 45: 709-715.
- Keswick, B. H., T. K. Satterwhite, P. C. Johnson, H. L. DuPont, S. L. Secor, J. A. Bitsura, G. W. Gary, and J. C. Hoff. 1985. Inactivation of Norwalk virus in drinking water by chlorine. *Appl. Environ. Microbiol.* 50:261-264.
- Young D. C. and Sharp D. G. (1977) Poliovirus Aggregates and Their Survival in Water, *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 33: 168-177.
- Shin GA, Sobsey MD (2003) Reduction of Norwalk virus, poliovirus 1, and bacteriophage MS2 by ozone disinfection of water, *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY* 69 (7): 3975-3978.
- Sobsey, M. D. 1989. Inactivation of health-related microorganisms in water by disinfection processes. *Wat. Sci. Technol.* 21:179-195.
- Battigelli D. A., Sobsey M. D. and Lobe D. C. 1993. The inactivation of Hepatitis A Virus and Other Model Viruses by UV Irradiation, *Wat. Sci. Tech.*, 27: 339-342.
- Gerba C. P., Gramos D. M. and Nwachuku N. 2002. Comparative Inactivation of Enteroviruses and Adenovirus 2 by UV Light, *Appl. Environ. Microbiol.* 68:5167-5169.
- Meng Q. S. and Gerba C. P. 1996. Comparative Inactivation of Enteric Adenoviruses, Poliovirus and Coliphages by Ultraviolet Irradiation, *Water Research*, 30: 2665-2668.
- Thurston-Enriquez J. A., Haas C. N., Jacangelo J., Riley K. and Gerba C. P. 2003. Inactivation of Feline Calicivirus and Adenovirus Type 40 by UV Radiation, *Appl. Environ. Microbiol.* 69:577-582.
- Kamiko N. and Ohgaki S. (1989) RNA coliphage Q β as a bioindicator of the ultraviolet disinfection efficiency, *Wat. Sci. Tech.*, 21, (3) 227-231.
- US EPA. 1989. Guidance Manual for Surface Water Treatment Rule (SWTR).
- 関谷毅史、大垣眞一郎 (1993) 大腸菌ファージ Q を用いたオゾンのウイルス不活化に関する研究、水道協会雑誌、62 : 21-27.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的所有権等

なし