

アデノウイルスの濃縮法確立と土壌浸透処理による除去・不活化能の定量化

伊藤 慎吾

キーワード： 水再生利用、土壌浸透処理、アデノウイルス、濃縮法、
不活化率、ウイルス感染試験

1. 研究背景

気候変動にともなう気象の極端化による、都市における水資源の量的・質的不安定化が懸念される。その緩和手法の一つとして下水処理水の再利用が行われているが、コストやエネルギー消費の観点から改善すべき点は多い。本研究では、高度リスク管理手法を用いた土壌浸透処理 (SAT) プロセスに着目し、病原微生物の除去・不活化の評価を行った。特に、土壌浸透処理において除去性が低いと想定されるウイルスについて評価を行った。

2. 目的

本研究は、定量的微生物リスク評価 (QMRA)を想定したアデノウイルス (AdV)の除去・不活化データ蓄積のための手法確立に取り組む。具体的には、1)低濃度の AdV を含む水試料の濃縮手法の確立、2) パイロットスケールの SAT カラムを用いた AdV 除去能の評価、3) 同じく SAT における AdV の不活化能評価を行う。

3. 方法

1 L の SAT 流入水(下水処理水)と 50 L の SAT 流出水を採水し、アデノウイルス濃縮法の検討に用いた。SAT 流入水はポリエチレングリコール(PEG)沈殿により濃縮し、SAT 流出水は MWCO 50,000 の限外ろ過により 1 L に一次濃縮した後、この一次濃縮試料を PEG 沈殿によりさらに濃縮した。限外ろ過については、ポリリン酸ナトリウム(NaPP)によるブロッキングおよび Tween 80 による溶出操作を加えることで濃縮法の改善を試みた。なお、それぞれの濃縮過程におけるウイルス回収率を AdV40 添加試験により求めた。AdV 濃度は定量的 PCR 法を用いて測定し、感染性 AdV の濃縮による不活化については Caco-2 株化細胞を用いたウイルス培養とその後の細胞内ウイルスゲノムの PCR 検出からなる感染試験により把握した。最後に、確立したアデノウイルス濃縮法を用いて、SAT 流入水、流出水のアデノウイルスを、感染性も含め定量し、SAT の除去・不活化能を推定した。

4. 結果と考察

PEG 沈殿では、遠心分離終了後のブレーキ出力を下げる等の操作上の問題を改善したこと、また限外ろ過では、NaPP によるブロッキングと Tween 80 による溶出操作 (Tween 80 法)を加えたことで、それぞれ濃縮によるアデノウイルスの回収率が向上した(表 1)。また、Tween 80 法を用いて土壌浸透処理流出水を濃縮した場合、感染性アデノウイルスを不活化させることなく回収が可能であることから、土壌浸透処理流出水中アデノウイルス濃縮において Tween 80 法が有用であることが示された。

確立した濃縮法(PEG 沈殿, Tween 80 法)を適用し、土壌浸透処理によるアデノウイルスの除去・不活化能を定量した結果、除去 \log_{10} 数は 0.7~1.2 \log_{10} となり、除去・不活化 \log_{10} 数は 1.6 \log_{10} となった。そして同一試料で得られた除去能(1.2 \log_{10})ならびに除去・不活化能(1.6 \log_{10})を比較した結果、除去・不活化能の方がわずかに大きいことが確認され、土壌浸透処理中にアデノウイルスが若干ではあるが不活化されている可能性があることが示された。

表 1 限外ろ過及び PEG 沈殿による流出水中アデノウイルス回収率

	1 回目 (%)	2 回目 (%)	3 回目 (%)	4 回目 (%)	平均 (%)	CV(%)
旧法	0.0007	-	0.0588	0.159	0.0728	89.8
NaPP 法	0.558	21.3	17.9	9.31	12.3	65.4
Tween 80 法	28.7	33.0	15.3	21.9	24.7	27.2