ウイルス感染症流行制御のための下水疫学調査のエッセンス

大石 若菜¹⁾
斉藤 繭子³⁾

Zhu Yifan²⁾
北島 正章⁴⁾

丸尾 知佳子¹⁾
佐野 大輔^{1, 2), ¶}

Wastewater-based Epidemiology for Infectious Diseases: The Foundations and Future Perspectives

Wakana OISHI¹⁾, Yifan ZHU²⁾, Chikako MARUO¹⁾,
Mayuko SAITO³⁾, Masaaki KITAJIMA⁴⁾ and Daisuke SANO^{1, 2), ¶}

¹⁾ Department of Civil and Environmental Engineering, Graduate School of Engineering, Tohoku University, Aoba 6-6-06, Aramaki, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8579, Japan

²⁾ Department of Frontier Sciences for Advanced Environment, Graduate School of Environmental Studies, Tohoku University, Aoba 6-6-06, Aramaki, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8579, Japan

³⁾ Department of Virology, Graduate School of Medicine, Tohoku University, 2-1 Seiryō-machi, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8575, Japan

⁴⁾ Division of Environmental Engineering, Faculty of Engineering, Hokkaido University, North 13 West 8, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido 060-8628, Japan

Abstract

Wastewater-based epidemiology may be a promising approach to capturing the dynamics of the spread of diseases as well as emerging mutants in a catchment. Herein, we describe the key components of the wastewater-based epidemiology of viral infectious diseases, including the optimization of the methodology of the detection and quantification of viral genomes and the development of a back-calculation model to estimate the number of infected individuals. Early warning based on the influent viral concentration in a wastewater treatment plant may be feasible when it takes longer than one week to tally the number of patients of the target infectious disease by the currently used sentinel surveillance under the infectious diseases control law. The variables of a back-calculation model are categorized into two types: common variables irrespective of the type of infectious disease and variables specific to the infectious disease including shedding profiles of viruses. Greater effort is required to develop a robust back-calculation model against variability and uncertainty due to environmental, geological, and personal differences.

Keywords: COVID-19; Wastewater-based epidemiology; Early warning

1. はじめに

下水はヒトの代謝で排出された物質を運んでおり、食品、医薬品、使用された違法薬物、罹患している感染症の情報などが豊富に含まれている。下水疫学調査は、下水中の化学物質や病原体を調査することで、処理区域の住民の健康に関する状況を把握するための方法である。病原体が感染者の排泄物に排出される感染症の場合、下水を調べることで処理区域の流行状況を顕性・不顕性にかかわらず把握できるため、臨床検査では得られない実際の感染流行規模を推定することが可能であると考えられている。最近、新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) をもたらす新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) にも下水疫学調査を適用できるかどうか国内外で検討が進められている。本稿では、SARS-CoV-2 への応用例として

取り上げながら、ウイルス感染症を対象とした下水疫学調査の実装に必要な要素と課題を解説する。

2. 下水疫学調査の実装事例

水環境の汚染を防止する目的で、下水中の有害物質の監視や調査は長らく行われている。1990年代から、農薬、溶剤、重金属、医薬品やパーソナルケア製品に含まれる有害物質が監視されている¹⁾。2000年代になると、合成麻薬 MDMA やコカイン・ヘロインの摂取状況の調査手段として、下水の監視が注目されるようになった^{2, 3)}。下水中に含まれる薬物やその代謝産物を測定し、使用頻度や使用場所を推測することで、違法薬物対策を講じる上で有益な情報や、犯罪捜査のための手掛かりを提供することが可能である。欧州諸国で結成された SCORE (Sewage Analysis CORE group Europe) は、2011年か

1) 東北大学大学院工学研究科 〒980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-06

2) 東北大学大学院環境科学研究科 〒980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-06

3) 東北大学大学院医学系研究科 〒980-8575 宮城県仙台市青葉区星陵町 2-1

4) 北海道大学大学院工学研究院環境工学部門 〒060-0813 北海道札幌市北区北 13 条西 8 丁目

¶ 連絡先: daisuke.sano.el@tohoku.ac.jp

ら下水の監視による違法薬物使用状況調査を実施しており、現在ではオーストラリア、ニュージーランド、中国でも導入が検討されている⁴⁻⁶⁾。特に、国連条約で規制対象に定められていない新精神作用物質（New Psychoactive Substances：NPS）の早期検知が期待されている⁶⁾。下水中の抗生物質の調査は、処理区域における抗生物質の使用状況調査に応用される^{7, 8)}。抗生物質の購入に処方箋が要らず、ドラッグストアで購入できる地域における不適切な服用状況の調査に有用である⁹⁾。

薬物や医薬品の使用状況の監視以外を目的とした試みもされている。大気中のPM2.5およびPM10と下水中の気管支拡張薬濃度に有意な相関が見出されていることから¹⁰⁾、季節性の大気汚染による喘息やアレルギー症状への影響調査に下水疫学調査を適用できる可能性がある。

下水疫学調査は、公衆衛生的介入のための科学的知見としても利用された実績がある。WHOは、ポリオウイルス根絶計画の一環として、環境水や下水を調査することで地域の感染者の存在を把握するポリオ環境水サーベイランスを実施している¹¹⁾。2013年には、イスラエルにおける下水調査で野生株が検出され、不活化ワクチンの使用によるキャッチアップキャンペーンが実施された。下水調査を強化した結果、感染伝播が止まっていなかったことが判明したため、生ワクチンの接種が行われた¹²⁾。

3. 下水疫学調査で期待されていること

3.1 感染流行規模の把握

下水中ウイルス濃度に基づき、処理区域の感染流行状況を把握する試みが行われてきた。下水中ウイルス核酸濃度と患者数に相関があることがノロウイルス^{13, 14)}、およびA型肝炎ウイルスとE型肝炎ウイルス^{15, 16)}に関し報告されている。A型肝炎ウイルスとノロウイルスについては、下水中ウイルス核酸濃度に基づくアウトブレイクの早期検知の可能性が示されている¹⁷⁾。仙台市では、ノロウイルス患者数の増加に先立ち、下水処理区域でのノロウイルス濃度が上昇することを確認した成果¹⁴⁾をもとに、下水調査を利用したノロウイルス早期検知システムが運用されている。流入下水中のノロウイルスGIIゲノムRNA濃度を継続的に測定し、増加が認められたら警報を発信し、衛生的な行動を呼びかけることで、感染性胃腸炎の流行を未然に防ぐ。情報発信については、東北大学が情報発信サイトをインターネット上¹⁸⁾に開設して行っている。

SARS-CoV-2は、主に呼吸器系の細胞で増殖するが、ヒトの腸の細胞でも増殖しうることが示されている¹⁹⁾。患者の糞便からの検出が確認されているほか、下水試料からのウイルス核酸の検出が相次いで報告されており、COVID-19患者数と流入下水中^{20, 21)}と初沈汚泥中²²⁾のウイルス核酸濃度に有意な相関が見出されている。さらに、下水汚泥中のウイルス核酸濃度は、検査サンプル採取日でも検査陽性の数より0～2日²²⁾、入院患者数より1～4日²²⁾もしくは3～5日²³⁾、感染者数公表より6～8日²²⁾先行して増加すると推定された。世界的な流行初期には検査・診断体制の不備に加え、宿主側の不顕性感染の割合、糞便中へのウイルス排出時期、病態のメカニズム（感染後、症状が悪化する日数等）について十分な知見が得られなかったため、感染者の把握が遅れ、結果として下

水における検知が先んじているように観察された可能性があるため、下水中からの検出と発症の時間的関係性は今後精査される必要があるが、検査・診断体制の不備により感染者の把握に遅れが生じている地域では、下水疫学調査が有用であることが示唆された²²⁾。以上の報告から、下水疫学調査による感染流行の早期検知への期待が高まっている。

不顕性感染者や発症前の感染者は感染症の伝播に関与するが、発症前に診断を受けることは稀である。COVID-19については、健常者が旅行前あるいはイベント参加前に自主的に検査を受ける動きがあるが、通常の感染症では発症しなければ受診しないので、感染から診断までにタイムラグがある。そのため、病院での診断結果に基づき感染症流行の予兆を捉え、流行前に公衆衛生的介入を行うことは難しい。感染しているが発症していない状態の感染者の排泄物からウイルスが排出され、発症・診断前に下水から検出できれば、下水中のウイルス濃度の増加を検知することによってアウトブレイクを早期検知することが可能である。下水疫学調査に基づきアウトブレイクを早期検知できれば、都市のロックダウンや外出自粛要請を発令する際の科学的根拠として下水中ウイルス濃度データを活用できるだろう。すでに感染が流行している地域においては、下水中ウイルス濃度から感染者数の増減を診断に先立って推定できれば、医療機関への負荷を予測し、必要物資や人的資源を効率的に分配することも可能になるかもしれない。また、定期的な調査によって下水中ウイルス濃度の減少傾向を監視し、検出限界値以下になる状況を確認することは感染者数の減少を表し、必ずしも集団免疫の獲得を意味しないが、収束判断のひとつの指標となりうる。

3.2 変異解析による地域間流行株の比較

ウイルスを対象としたメタゲノム解析手法を下水試料に適用することで、下水中ウイルスを網羅的に検出できる可能性がある。全国に散在する下水処理場から下水試料を採取し、下水中ウイルスゲノムを定期的に解析することで、空間的・時系列的なウイルスゲノム解析が可能になり、地域間の流行株の比較やウイルス集団の進化の様相を明らかにするための手掛かりとなる。大村（2020）は、全国の下水処理場におけるゲノム配列レベルの早期検知によるウイルス感染症流行防止策を提言している²⁴⁾。全国の下水処理場で流入下水を採取し、次世代シーケンサーで下水中に存在する病原ウイルスのゲノムの塩基配列を解読し、ウイルスの種類に加えて感染性・病原性に関わる遺伝子配列に基づき、ウイルスゲノム配列がクラスター分類されたデータベースを作成する。SARS-CoV-2に関しては、変異株のまん延が懸念されている、レセプター結合に係るN501Y遺伝子が挙げられる²⁵⁾。定期的な下水分析において、以前に検出されていないゲノムをもつ変異株が検出された場合、同じクラスターに属する株の感染性・病原性の特徴に基づき、未知の変異株の特徴を推定することで、ワクチンや治療薬の効果への影響を予め評価する等、感染症流行を未然に防ぐための対応に貢献できる可能性がある²⁰⁾。

4. 下水疫学調査実装のための要素

本章では、ウイルス全般を対象とし、下水疫学調査を

実装するための要素として、下水からウイルスを検出する手法の最適化および検出結果から感染流行状況（感染者数の増減）を推定するためのモデルの構築について解説する。

4.1 安定、迅速かつ簡便な下水試料からのウイルス検出

下水疫学調査の実現のための第一の要素は、下水中ウイルスの検出および定量である。下水中ウイルス濃度の定量は、試料採取、下水試料濃縮、ウイルス核酸抽出、逆転写（RNAウイルスの場合のみ）およびリアルタイムPCRによる定量の順に行われる（図1）。下水中ウイルス濃度は極めて低い。正確な下水中ウイルス濃度データを得るためには、下水試料の採取方法と濃縮方法の最適化が必須である。

4.1.1 採取法の最適化

下水の採取法には、連続的に採取する方法（Composite サンプルング）と単発的に採取する方法（Grab サンプルング）がある。Composite サンプルングで採取された試料はすべて混合してから分析されるのに対し、Grab サンプルングで採取された試料は1つ1つ別々に分析される。一般的に、下水中ウイルス濃度は対数的に変動する。Composite サンプルングでは、調査時間内の下水中ウイルス濃度の算術平均をとるため、下水中ウイルス濃度が低く、かつ時間的な変動が大きい場合にも高い濃度でウイルスを検出しやすい²⁶⁾。Grab サンプルングではウイルス濃度が検出可能なレベルにまで上昇する瞬間を逃す可能性があるため、事前に日内変動を調査することが望ましい。感染者数が少なく、下水中ウイルス濃度が低いことが予想される場合に、まず Composite サンプルングを行うことが選択されうる。一方で、Composite サンプルングでは調査時間内に採取した下水をすべて混合するため、下水中ウイルス濃度の日内変動に関する情報が得られない。Grab サンプルングでは、サンプルング時刻におけるウイルス濃度が得られるので、サンプルングと分析の回数を増やすことができれば、ウイルス濃度の日内変動に関する情報を得ることも可能である。サンプルング

と下水分析にかかるコストや労力を考慮し、目的に応じて最適な採取方法を検討する必要がある。

サンプルング地点は下水疫学調査の目的に応じて決定される。下水処理場の処理区域全体の感染流行状況を調査する場合、下水処理場の流入水を採用する。処理区域をさらに地域ごとに区分けして感染流行状況を調査する場合、マンホールやポンプ場から採取することになる。下水処理場の最初沈殿池の汚泥中ウイルス濃度を測定し、結果を感染流行の時系列的な解析に適用する場合には、沈殿池内での汚泥の滞留時間を考慮する必要がある。

固形分への吸着割合の多いウイルスの場合、下水の液相からの検出に加え、浮遊物質からの検出も検討すべきである。Kitamura ら（2020）は、下水試料を遠心分離し、得られた沈殿物および上清中のウイルス核酸濃度を調査している。トウガラシ微斑ウイルスは、沈殿物よりも上清から継続的に高濃度で検出された一方で、SARS-CoV-2 は、上清から検出されない場合でも、同一試料の沈殿物からは検出されている²⁷⁾。SARS-CoV-2 と同じくエンベロープウイルスであるマウス肝炎ウイルス（MHV）とバクテリオファージφ6 が非エンベロープウイルスと比較して、液相内よりも浮遊物質内に分配されやすいことが報告されていること²⁸⁾ からも、エンベロープウイルスの下水からの検出では浮遊物質も調べるべきである。

4.1.2 濃縮方法の最適化

下水中のウイルス濃度は低いため、下水試料からのウイルス核酸の検出やウイルスゲノム解析を実施するためには、まず下水を濃縮する必要がある。下水の濃縮方法については様々な方法が考案されており、先行研究²⁹⁾ に詳しい。SARS-CoV-2 の検出では、陰電荷膜吸着-直接RNA抽出法^{30~32)}、陰電荷膜破碎型濃縮法³¹⁾、限外ろ過^{20, 30, 32, 33)}、PEG沈殿法^{32, 34)}、アルミニウム凝集^{21, 35)}などが報告されている。汚泥試料から検出する場合、濃縮操作は行われず、固形分から直接核酸を抽出するキットを使用する²²⁾。日本下水道新技術機構は、日本水環境学会 COVID-19 タスクフォースと共同で、2020 年 12 月に下水中の新型コロナウイルス遺伝子検出マニュアル（暫定版）を公表した。

下水の濃縮で注意すべき点は、ウイルス粒子の構造の違いによって最適な濃縮方法が異なることである。ノロウイルスや A 型肝炎ウイルスなどの多くの腸管系ウイルスは、核酸がタンパク質の殻で覆われた構造をしている。一方で、SARS-CoV-2 の最外殻構造は脂質二重膜と糖タンパクから成る被膜（エンベロープ）である。濃縮には、ウイルス表面の性状（疎水性の度合いや電荷など）や pH 安定性などが影響する。そのため、検出の対象ウイルスの最外殻構造を考慮し、最適な濃縮方法を検討する必要がある。

4.1.3 逆転写と定量

濃縮試料から抽出されたウイルス核酸は、リアルタイム PCR で定量される。RNAウイルスの場合、逆転写反応により合成した cDNA をリアルタイム PCR で定量する。逆転写と定量の工程では、下水に含まれるフミン酸によって逆転写およびポリメラーゼ反応が阻害され、最終的な定量値が過小評価されることがある²⁹⁾。RNA 抽出液を希釈してから逆転写することで、RNA 抽出液中の阻

図1 下水分析工程

害物質の影響を低減できる²⁹⁾が、下水試料中の検出対象ウイルス濃度が非常に低い場合には、ウイルス核酸を検出限界未満まで希釈してしまい検出できない恐れがある。逆転写酵素とポリメラーゼへの阻害の影響を予め評価しておき、阻害の影響を受けづらい試薬を選択することが望ましい。

リアルタイム PCR では、ウイルス核酸の全領域のうち、一部の限定的なゲノム領域を標的として検出を行う。検出に用いるプライマー・プローブセットには様々な配列が用意される。使用するプライマー・プローブセットによって検出感度が異なることがあるため、複数のプライマー・プローブセットを事前に評価するべきである。例えば、SARS-CoV-2 についてはスクレオタンパク領域を対象とした検出用プライマー・プローブセット 3 種類 (CDC N1, N2, および N3) を下水からの検出に適用した場合、これらの間で検出感度が異なることが報告されている²⁰⁾。ノロウイルス GI および GI 下水中濃度の定量においても、US.EPA, ISO および厚生労働省で標準化された検出プロトコル間で検出感度に有意な差があることが報告されている³⁶⁾。

4.1.4 プロセスコントロール

濃縮、ウイルス核酸抽出、逆転写および定量の過程では、何らかの原因で検出対象ウイルス核酸の物理的損失または検出阻害が生じるため、下水中に存在するウイルスを 100% 回収して定量することは困難である。まず、下水試料の濃縮時およびウイルス核酸抽出時の損失がある。逆転写反応における cDNA 合成効率の低下、および PCR における遺伝子増幅効率の低下も生じうる。濃縮・検出過程で著しい阻害が生じた場合には、正確なウイルス核酸の定量を行うことができないため、濃縮操作からのやり直しやデータの不採用 (破棄) 等が行われる。

下水中ウイルス核酸濃度を正確に評価するために、プロセスコントロールを使用し、各過程で生じた損失および阻害を検出する。濃縮、ウイルス核酸抽出、逆転写・リアルタイム PCR それぞれの過程であらかじめ試料にプロセスコントロールを既知量添加し、最終的に何% 回収されたか (回収率) を計算することで検出プロセスの有効性を評価する。一般に、全体の回収率が 10% 以上であれば、大きな損失や阻害は生じていなかったと判断するが、1% 以上の回収率が得られていれば問題ないと判断する場合もある²⁹⁾。

濃縮から定量までのプロセスコントロール (Whole process controls: WPCs) は、最外殻構造や粒子の大きさ、疎水性 / 親水性、pH 安定性等の性質が目的ウイルスと類似のウイルスが使用される。また、プロセスコントロールの回収率は試料の種類によっても異なる³⁷⁾。検出対象ウイルスごと、試料ごとに最適なプロセスコントロールの検討が必要である。

外因性コントロールは、下水濃縮前に下水試料中に既知量を添加し、添加量に対する回収量を計算することで回収率を評価するために使用される。ノロウイルスと E 型肝炎ウイルスの下水試料からの検出には、それぞれ、非エンベロープウイルスであるマウスノロウイルスとメンゴウイルスが使用されている^{14, 15)}。SARS-CoV-2 については、エンベロープウイルスである MHV やバクテリオファージ $\phi 6$ が使用されている^{32, 38)}。

下水試料に添加した外因性コントロールの回収率は、下水の液相からの検出対象ウイルスの回収率を代表するが、浮遊物質からの抽出効率を表さないため、浮遊物質に吸着して存在している検出対象ウイルスの回収率を必ずしも表さない。下水の浮遊物質中ウイルス濃度を測定する場合には、浮遊物質中に元々存在するウイルスを内在性コントロールとして測定し、抽出効率を評価することが推奨される。内在性コントロールとしては、F ファージやトウガラシ微斑ウイルスが用いられる。F ファージについては感染価を測定することで、濃縮工程のみの回収率を算出できる。濃縮工程においてウイルスと共に濃縮される有機物等による感染価測定阻害が懸念される場合は、F ファージ培養液を濃縮下水および緩衝液や滅菌水に既知量添加し、感染価を比較評価することが望ましい。下水中でのトウガラシ微斑ウイルスの存在濃度は明確な季節変動を示さず、比較的一定であること³⁹⁾から、下水試料中に元々存在するトウガラシ微斑ウイルスを測定することで、一連の検出工程に大きな問題が生じていないかどうかを確認することができる。F ファージやトウガラシ微斑ウイルスを内在性コントロールとして用いることのデメリットは、エンベロープをもたないため、その濃縮回収率は SARS-CoV-2 の濃縮回収率を十分に反映していないと考えられることが挙げられる。それぞれのプロセスコントロールの特徴を理解した上で、複数のプロセスコントロールを併用することも推奨される。

4.2 下水中ウイルス濃度を用いた感染症流行の早期検知

4.2.1 ウイルス検出情報の公表と感染者把握に関する制度

下水疫学調査により自治体による感染者数公表に先立つ早期検知を試みる場合、感染症の診断から自治体が警報を発令するまでに下水分析結果を得られるかどうかが第一の論点となる (図 2)。国内における感染症発生事例の報告システムは、COVID-19 を含む新型インフルエンザ等感染症と感染性胃腸炎を含む 5 類定点把握疾患では対応が異なることを考慮しなければならない。現行の感染症法において、インフルエンザやノロウイルス感染症を含む感染性胃腸炎は、患者数が多数で全数を把握する必要のない疾患 (定点把握疾患) に分類されており、指定医療機関は患者数を週単位で保健所に届け出ることが規定されている⁴⁰⁾。自治体は、患者数を集計し、指定医療機関からの患者報告数が一定レベルを超えた場合に注意喚起を促すために警報を発信する。つまり、患者が発生して医療機関を受診してから自治体が警報を発信するまでにおよそ 1 週間を要する (図 2)。ノロウイルスに関しては、下水処理場の流入下水中ウイルス濃度が感染性胃腸炎患者報告数と遅れが ± 0 週末未満で相関し、下水処理場への流入下水の分析によって医療機関の報告よりも早期に感染の流行を検知可能であることが確認されている¹⁴⁾。一方、COVID-19 は患者数の全数を把握する必要があり、現状では患者数を毎日集計し、報告することが規定されている¹⁴⁾。したがって、24 時間以内に下水のサンプリングから分析が完了して警報発令に関する意思決定が行われない限り、下水処理場の流入下水中ウイルス濃度に基づく早期の警報発令は難しいと考えられる。今後、COVID-19 が仮に定点把握疾患になり、自治体による患者数の把握から警報発令がインフルエンザや感染性

図2 診断に基づく感染症流行警報システムと下水中ウイルス濃度の時系列的な比較。図に示したデータは実際の値ではない。

図3 感染者数推定モデルで考慮すべき事項

胃腸炎と同じ体制で実施されるようになった際には、集計および報告の頻度が週単位となるため、警報発令のための根拠として下水処理場の流入下水中ウイルス濃度を利用する優位性は高まると考えられる。

したがって、特に新型インフルエンザ等感染症を対象とする場合、感染症がまだ流行していない地域で感染症の流行を早期に検知するためには、少数の感染者（発症者）に由来する糞便を含む下水を確実に捕らえるために、なるべく排出源に近いところでサンプリングすることが望ましいだろう。例えば、処理区域が広い下水処理場ほどウイルスを含む下水が居住地域から下水処理場に到達

するまでに希釈されるため、下水処理場への流入水よりも、居住地域付近のマンホールや建物敷地内に設置された浄化槽からのサンプリングの方がウイルスを捕らえるには望ましい可能性がある。サンプリング位置をよく検討した上でのマンホールや浄化槽からのサンプリングによる感染症流行地域の早期特定が期待される。また、ウイルスを糞便中に排出し始めるのが、感染、発症、検査、および検査結果の公表のどのタイミングにあたるのかを把握する必要がある（図3①）。発症するより前にウイルスが糞便中（下水中）に排出されない場合、臨床検査の結果に先立って感染流行を捉え、早期に対策を講じる、

という下水疫学調査に「早さ」のアドバンテージを求めることは難しくなるであろう。

4.2.2 下水中ウイルス濃度を用いた感染者数推定モデル

アウトブレイクの早期検知において検出可能な最少感染者数は、下水試料中のウイルス濃度が検出限界値を超えときの感染者数である。アウトブレイクの早期検知を実用化するためには、下水試料中のウイルス濃度で検出可能な最少感染者数を調査対象地域ごと事前に把握する必要がある。最少感染者数をなるべく少なく設定するために、下水中ウイルス濃度が低濃度でも高感度に検出可能な検出手法を確立することが望ましい。

感染者数の増減を推定するためには、下水中ウイルス濃度と感染者数の関係を表すモデルが必要になる。感染者数推定モデルは、基本的には、下水中ウイルス濃度から逆算して処理区域の感染者数を割り出す数式になる。簡単に記述すると、下水中ウイルス粒子数を感染者1人が糞便中に排出するウイルス粒子数で除算することで感染者数を推定することになる¹⁷⁾。このとき、感染者が糞便に排出するウイルス粒子数が希釈されることを考慮するために下水流量で補正を行う必要がある。実際には、上記の逆算過程に下水道やサンプリングと分析に起因する感染症に共通の変数と感染症ごとに異なる変数が存在し、複数の変数に対して仮定を置く必要があり、それら変数の時間的・空間的変動性と不確実性をどう扱うかが課題となる(表1)。

(1) 感染者に起因する要素

まず、臨床検査によって得られるデータに基づき、ウイルスを糞便中に排出する感染者の割合を設定する必要がある。さらに、感染してから糞便中にウイルスが排出されるまでにかかる時間や、糞便中ウイルス濃度の時間的推移といった糞便中ウイルス排出プロファイルが必要である(図3①)。ノロウイルスに関しては、感染者からの糞便中ウイルス排出期間は平均6.9日であり、不顕性

感染者の排出期間が5.8日間であったのに対し、顕性感染者では9.8日間であったことが報告された⁴¹⁾。ウイルス排出濃度の個人差も重要である。感染者の糞便中の核酸濃度は、SARS-CoV-2の場合、糞便1gあたり $10^4 \sim 10^8$ コピー⁴²⁾であり、個人差が大きいことが報告されている。ノロウイルスの場合、 $10^5 \sim 10^9$ コピーと報告されており⁴³⁾、SARS-CoV-2よりおよそ1 Log高濃度で排出される。問題は、このような感染者の糞便中ウイルス濃度データは、通常、病院での臨床検査で得られるものであり、受診しない感染者や不顕性感染者については得られないことである。モデル上は仮定を置くことになるが、感染者の個人差に起因する不確実性は大きいことが予想される。

(2) 下水および下水道に起因する要素

処理区域の人口をモデルの変数とする場合、特に都市部においては通勤者や旅行者が含まれるので、日内の人口変動を無視できない(図3②)。また、下水道は家庭雑排水、雨水、工場排水も受け入れることから、トイレ排水は下水処理場に流入する時点で希釈されている(図3③)。人口の変動と希釈の影響は、ヒトの排泄物の負荷を反映する指標を測定することで推定できると考えられる。指標として満たすべき条件は、定量が容易であること、下水中濃度と人口に相関があること、安定であること(24時間で分解率10%未満)、下水道中における平均滞留時間内の分解が10%未満であることとされている⁴⁴⁾。ヒトが摂取する特定の食品・医薬品の代謝産物(Exogenous marker)では、アルコールやイブプロフェンが適当であるが、地域ごとの消費習慣に影響を受けることから、有用なデータが得られないことや地域ごとに偏ったデータになってしまう懸念がある⁶⁾。一方で、アンモニアと5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA)は、安定して排出される代謝産物(Endogenous marker)である⁶⁾。アンモニアは測定も容易で、リアルタイムに測定可能である⁴⁵⁾。5-HIAAは、1人1日当たり尿中に3.44 mg排出されることがわかっている⁴⁶⁾。トウガラシ微斑ウイルスは多くの地域・試料から高い濃度で検出されていることから、環境水の糞便汚染の指標として提案されている⁴⁷⁾。トイレ排水の希釈率を推定するための標準化マーカーとしても有用かもしれないが、まだ実用化には至っていない。人口の変動については、スマートフォンから得られる位置情報データを利用することで、処理区域における人口の流入を把握できるが、取得可能なデータの量は、デバイスの保有状況やプライバシー設定に制限される点に注意すべきである。

(3) ウイルスの下水中での挙動に起因する要素

ウイルス核酸が下水中で分解されることも考慮すべきである(図3④)。SARS-CoV-2の場合、ウイルス核酸が未処理下水中で1 Log減少するのにかかる日数は、20℃では3.3日から26.2日⁴⁸⁾、37℃で8.04日、および4℃で27.8日であり⁴⁹⁾、水温の上昇に伴い減少速度は増大することが報告されている。内在性コントロールとして使用されるFファージの場合、20℃では7.2日であり、4℃では21.2日と報告されている(ただし、初沈越流水中、暗条件)⁵⁰⁾。ノロウイルスGIIの場合、36℃で46日間、21℃と3℃で115日間であり⁵¹⁾、SARS-CoV-2よりも長期間残存する。ウイルス核酸の分解速度は、下水

表1 感染者推定モデルで考慮すべき変数またはパラメータ

感染症ごとに異なる項目
感染者に起因する項目
糞便中にウイルスを排出する感染者の割合
感染してから糞便中にウイルスを排出するまでの時間
糞便中ウイルス濃度の時間的推移
糞便中にウイルスを排出する期間
ウイルスの下水中での挙動に起因する項目
ウイルス核酸の下水中分解速度
分析対象(例:汚泥, 流入下水)
下水試料濃縮後の分析対象(例:液相のみか固形分を含めるか)
感染症ごとに共通の項目
下水・下水道に起因する項目
処理区域人口の日内変動
家庭雑排水, 工場排水, 雨水による希釈率
管路の継ぎ目などからの地下水の流入量
下水流量
サンプリングと分析に起因する項目
下水中ウイルス濃度の日内変動と試料中ウイルス濃度の関係
サンプリングから分析までにかかる時間

の性状に影響を受けるので、地域ごとの下水試料中におけるウイルス核酸の分解速度を調査すべきである。

(4) サンプリングと分析に起因する要素

ウイルスが下水中に排出されてからサンプリング地点まで到達するまでにかかる時間は、居住地域とサンプリング地点間の下水管路の距離や下水流量で決まるので、地域ごとに異なるが、流量の測定によって推定可能と考えられる。Grab サンプリングではサンプリングした試料を1つ1つ別々に分析するため、1日のある時点におけるデータが得られる。1日の下水中ウイルス総量を求める場合には、下水中ウイルス濃度の日内変動を事前に調査しておき、不連続的な下水試料中ウイルス濃度から下水中ウイルス総量を推定するための換算式が必要である。サンプリングから定量結果を得るまでに要する時間は、サンプル輸送手段や試料調整の方法によって異なる。

先行研究では、すべての感染者がウイルスを糞便中に排出するという仮定のもとに、下水中ウイルス核酸量から感染者数が推定されている³⁰⁾。筆者らの最新の研究では、糞便中にウイルス核酸を排出する感染者の割合、感染期間における糞便中ウイルス排出濃度推移および下水流量に正規分布を仮定し、公表された感染者数から下水中ウイルス核酸濃度が推定されている⁵²⁾。感染者推定モデルには多数の変数が存在する(表1)。さらに、処理区域内の人口推移、感染者数の推移、感染者の糞便中ウイルス排出プロファイル、降雨や家庭雑排水および工場排水の流入量はすべて短期的に変動する。加えて、個々の感染者の免疫など感染の特徴の違いに起因する不確実性を含む。つまり、それらの関数である感染者推定モデルは時間的変動とパラメータの不確実性を含んだ動的なモデルとなる。

5. おわりに

本稿では、ウイルス感染症流行制御に下水疫学調査を活用する上で必要な検討事項を解説した。まず、対象とするウイルス感染症の感染症法上の分類(新型インフルエンザ等感染症と5類定点把握疾患)および報告制度に留意すべきである。新型インフルエンザ等感染症を対象とする場合、下水処理場の流入下水の分析によって、現行の警報発信システムに先立つ流域レベルの早期検知は難しいため、下水処理場よりも感染者の発生場所付近でのサンプリングが望ましい。感染者数推定モデルは、感染症に共通の変数と感染症ごとに特有の変数を用いて構築される。COVID-19に関しては、感染者数推定モデルの構築に必要な知見の蓄積が十分でない。特に、感染者のウイルス排出プロファイルは、モデルに重要なパラメータであるため、臨床現場での生体試料の収集・分析に併せて、個人差に起因する変動を表現可能なモデルの開発が要になる。下水試料からのウイルス検出手法についても検討を継続し、最適な方法を確立すべきである。特に、我が国のように感染者数が少ない地域への適用のためには、検出の感度向上と下水処理場よりも発生源付近を対象とするサンプリング計画が重要であり、COVID-19への下水疫学調査適用可能性は、引き続き慎重に検討されるべきである。

下水疫学調査の社会実装に向けて、他にも議論すべきことがある。例えば、日常的な下水分析の実施体制があ

る。未処理の下水試料を採取・分析する際には、試料取扱者や近隣の安全に配慮し、保護具の着用等の適切な対策を行うことが望ましい。試料の輸送に関しては、感染性物質の輸送規則⁵³⁾に規定される病原体の種類に応じた適切な梱包・発送方法に従うことが推奨される。試料数にも依るが、下水の採取から試料の前処理、定量、データ処理に必要な人的資源と予算の用意を要する。筆者らは、分析にかかるコストを試薬代のみで1試料あたり約5,000円(核酸抽出、逆転写、定量PCR)と概算しており、人件費や機器費用等も併せると日常的な下水分析は決して安くはない。下水疫学調査を行う機関に対して、予算状況に見合う最適な方法を提供できるように、複数の下水中ウイルス核酸検出プロトコルを開発することは、下水疫学調査の実装のための一つの手段である。また、下水疫学調査で得られた結果を効果的に活用するための仕組みも重要である。公衆衛生部門との連携のもと、意思決定部門や住民への有効な発信方法の開発や効果的な介入策を講じる必要がある。

謝 辞

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)の令和2年度新興・再興感染症研究基盤創生事業(海外拠点研究領域)「フィリピン研究拠点における感染症国際共同研究」(課題番号:JP20wm0125001)の一環として行われました。

(原稿受付 2021年1月20日)

(原稿受理 2021年5月7日)

参 考 文 献

- 1) Daughton, C.G., Ternes, T.A., 1999. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? *Environmental Health Perspectives* 107(SUPPL. 6), 907-938.
- 2) Zuccato, E., Chiabrando, C., Castiglioni, S., Calamari, D., Bagnati, R., Schiarea, S., Fanelli, R., 2005. Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor community drug abuse. *Environmental Health: A Global Access Science Source* 4, 1-7.
- 3) Zuccato, E., Chiabrando, C., Castiglioni, S., Bagnati, R., Fanelli, R., 2008. Estimating community drug abuse by wastewater analysis. *Environmental Health Perspectives* 116(8), 1027-1032.
- 4) Ort, C., van Nuijs, A.L.N., Berset, J.D., Bijlsma, L., Castiglioni, S., Covaci, A., de Voogt, P., Emke, E., Fatta-Kassinos, D., Griffiths, P., Hernández, F., González-Mariño, I., Grabic, R., Kasprzyk-Hordern, B., Mastroianni, N., Meierjohann, A., Nefau, T., Östman, M., Pico, Y., Racamonde, I., Reid, M., Slobodnik, J., Terzic, S., Thomaidis, N., Thomas, K.V., 2014. Spatial differences and temporal changes in illicit drug use in Europe quantified by wastewater analysis. *Addiction* 109(8), 1338-1352.
- 5) Australian Criminal Intelligence Commission, 2019. National Wastewater Drug Monitoring Program.
- 6) Choi, P.M., Tschärke, B.J., Donner, E., O'Brien, J.W., Grant, S.C., Kaserzon, S.L., Mackie, R., O'Malley, E., Crosbie, N.D., Thomas, K.V., Mueller, J.F., 2018. Wastewater-based epidemiology biomarkers: Past, present and future. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 105, 453-469.
- 7) Coutu, S., Wyrsh, V., Wynn, H.K., Rossi, L., Barry, D.A., 2013. Temporal dynamics of antibiotics in wastewater treatment plant influent. *Science of the Total Environment* 458-460, 20-26.

- 8) Golovko, O., Kumar, V., Fedorova, G., Randak, T., Grabic, R., 2014. Seasonal changes in antibiotics, antidepressants/psychiatric drugs, antihistamines and lipid regulators in a wastewater treatment plant. *Chemosphere* 111, 418-426.
- 9) Fahrenfeld, N., Bisceglia, K.J., 2016. Emerging investigators series: sewer surveillance for monitoring antibiotic use and prevalence of antibiotic resistance: urban sewer epidemiology. *Environmental Science: Water Research & Technology* 2, 788-799.
- 10) Fattore, E., Davoli, E., Castiglioni, S., Bosetti, C., Re Depaolini, A., Marzona, I., Zuccato, E., Fanelli, R., 2016. Wastewater-based epidemiological evaluation of the effect of air pollution on short-acting beta-agonist consumption for acute asthma treatment. *Environmental Research* 150, 106-111.
- 11) Lickness, J.S., Gardner, T., Diop, O.M., Chavan, M., Jorba, J., Ahmed, J., Gumede, N., Johnson, T., Butt, O., Asghar, H., Saxentoff, E., Grabovac, V., Avagyan, T., Joshi, S., Rey-Benito, G., Iber J., Henderson, E., Wassilak, S.G.F., Anand, A., 2020. Surveillance to Track Progress Toward Polio Eradication — Worldwide, 2018-2019. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 69, 623-629.
- 12) Anis, E., Kopel, E., Singer, S.R., Kaliner, E., Moerman, L., Moran-Gilad, J., Sofer, D., Manor, Y., Shulman, L.M., Mendelson, E., Gdalevich, M., Lev, B., Gamzu, R., Grotto, I., 2013. Insidious reintroduction of wild poliovirus into Israel, 2013. *Eurosurveillance* 18(38), pii=20586.
- 13) Farkas, K., Marshall, M., Cooper, D., McDonald, J.E., Malham, S.K., Peters, D.E., Maloney, J.D., Jones, D.L., 2018. Seasonal and diurnal surveillance of treated and untreated wastewater for human enteric viruses. *Environmental Science and Pollution Research* 25(33), 33391-33401.
- 14) Kazama, S., Miura, T., Masago, Y., Konta, Y., Tohma, K., Manaka, T., Liu, X., Nakayama, D., Tanno, T., Saito, M., Oshitani, H., Omura, T., 2017. Environmental surveillance of norovirus genogroups I and II for sensitive detection of epidemic variants. *Applied and Environmental Microbiology* 83(9), e03406-16.
- 15) Miura, T., Lhomme, S., Le Saux, J.C., Le Mehaute, P., Guillois, Y., Couturier, E., Izopet, J., Abranavel, F., Le Guyader, F.S., 2016. Detection of hepatitis e virus in sewage after an outbreak on a French island. *Food and Environmental Virology* 8(3), 194-199.
- 16) Bisseux, M., Colombet, J., Mirand, A., Roque-Afonso, A.M., Abranavel, F., Izopet, J., Archimbaud, C., Peigue-Lafeuille, H., Debroas, D., Bailly, J.L., Henquell, C., 2018. Monitoring human enteric viruses in wastewater and relevance to infections encountered in the clinical setting: a one-year experiment in Central France, 2014 to 2015. *Eurosurveillance* 23(7), pii=17-00237.
- 17) Hellmér, M., Paxéus, N., Magnus, L., Enache, L., Arnholm, B., Johansson, A., Bergström, T., Norder, H., 2014. Detection of pathogenic viruses in sewage provided early warnings of hepatitis a virus and norovirus outbreaks. *Applied and Environmental Microbiology* 80(21), 6771-6781.
- 18) 東北大学・山形大学・仙台市・日水コン共同研究体, 2021. 下水中ノロウイルス濃度情報発信サイト. URL. <https://novinsewage.com/> (2021年3月時点).
- 19) Lamers, M., Beumer, J., van der Vaart, J., Knoop, K., Puschhof, J., Breugem, T., Ravelli, R., van Schayck, J.P., Mykytyn, A., Duimel, H., van Donselaar, E., Riesebosch, S., Kuijpers, H., Schipper, D., van de Wetering, W., de Graaf, M., Koopmans, M., Cuppen, E., Peters, P., Haagmans, B., Clevers, H., 2020. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. *Science* 369(6499), 50-54.
- 20) Medema, G., Heijnen, L., Elsinga, G., Italiaander, R., Brouwer, A., 2020. Presence of SARS-Coronavirus-2 RNA in sewage and correlation with reported COVID-19 prevalence in the early stage of the epidemic in the Netherlands. *Environmental Science and Technology Letters* 7(7), 511-516.
- 21) Randazzo, W., Cuevas-Ferrando, E., Sanjuán, R., Domingo-Calap, P., Sánchez, G., 2020. Metropolitan wastewater analysis for COVID-19 epidemiological surveillance. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 230 (September), 113621.
- 22) Peccia, J., Zulli, A., Brackney, D.E., Grubaugh, N.D., Kaplan, E.H., Casanovas-Massana, A., Ko, A.I., Malik, A.A., Wang, D., Wang, M., Warren, J.L., Weinberger, D.M., Arnold, W., Omer, S.B., 2020. Measurement of SARS-CoV-2 RNA in wastewater tracks community infection dynamics. *Nature Biotechnology* 38(10), 1164-1167.
- 23) Kaplan, E.H., Wang, D., Wang, M., Malik, A.A., Zulli, A., Peccia, J., 2021. Aligning SARS-CoV-2 indicators via an epidemic model: application to hospital admissions and RNA detection in sewage sludge. *Health Care Management Science* 24(2), 320-329.
- 24) 大村達夫, 2020. ウイルス感染症流行防止と下水道を基軸とした学際的取り組みの必要性. 月刊下水道 43(10), 12-16.
- 25) 国立感染症研究所, 2021. 感染・伝播性の増加や抗原性の変化が懸念される新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の新規変異株について (第6報). URL. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/10169-covid19-35.html> (2021年3月時点).
- 26) Ahmed, W., Bivins, A., Bertsch, P.M., Bibby, K., Gyawali, P., Sherchan, S.P., Simpson, S.L., Thomas, K.V., Verhagen, R., Kitajima, M., Mueller, J.F., Korajkic, A., 2021. Intraday variability of indicator and pathogenic viruses in 1-h and 24-h composite wastewater samples: implications for wastewater-based epidemiology. *Environmental Research* 193, 110531.
- 27) Kitamura, K., Sadamasu, M., Muramatsu, M., Yoshida, H., 2020. Efficient detection of SARS-CoV-2 RNA in the solid fraction of wastewater. *Science of The Total Environment* 763 (1), 144587.
- 28) Ye, Y., Ellenberg, R.M., Graham, K.E., Wigginton, K.R., 2016. Survivability, partitioning, and recovery of enveloped viruses in untreated municipal wastewater. *Environmental Science and Technology* 50(10), 5077-5085.
- 29) Haramoto, E., Kitajima, M., Hata, A., Torrey, J.R., Masago, Y., Sano, D., Katayama, H., 2018. A review on recent progress in the detection methods and prevalence of human enteric viruses in water. *Water Research* 135, 168-186.
- 30) Ahmed, W., Angel, N., Edson, J., Bibby, K., Bivins, A., O'Brien, J.W., Choi, P.M., Kitajima, M., Simpson, S.L., Li, J., Tschärke, B., Verhagen, R., Smith, W.J.M., Zaugg, J., Dierens, L., Hugenoltz, P., Thomas, K.V., Mueller, J.F., 2020. First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: a proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. *Science of The Total Environment* 728, 138764.
- 31) Haramoto, E., Malla, B., Thakali, O., Kitajima, M., 2020. First environmental surveillance for the presence of SARS-CoV-2 RNA in wastewater and river water in Japan. *Science of The Total Environment* 737, 140405.
- 32) Torii, S., Furumai, H., Katayama, H., 2020. Applicability of polyethylene glycol precipitation followed by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction for the detection of SARS-CoV-2 RNA from municipal wastewater. *Science of The Total Environment* 756, 143067.
- 33) Nemudryi, A., Nemudraia, A., Wiegand, T., Surya, K., Buyukyoruk, M., Cicha, C., Vanderwood, K.K., Wilkinson, R., Wiedenheft, B., 2020. Temporal detection and phylogenetic assessment of SARS-CoV-2 in municipal wastewater. *Cell Reports Medicine* 1(6), 100098.
- 34) Zhang, D., Ling, H., Huang, X., Li, J., Li, W., Yi, C., Zhang, T., Jiang, Y., He, Y., Deng, S., Zhang, X., Wang, X., Liu, Y., Li, G., Qu, J., 2020. Potential spreading risks and disinfection challenges of medical wastewater by the presence of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) viral

- RNA in septic tanks of Fangcang hospital. *Science of The Total Environment* 741, 140445.
- 35) Randazzo, W., Truchado, P., Cuevas-Ferrando, E., Simón, P., Allende, A., Sánchez, G., 2020. SARS-CoV-2 RNA in wastewater anticipated COVID-19 occurrence in a low prevalence area. *Water Research* 181, 115942.
 - 36) Masago, Y., Konta, Y., Kazama, S., Inaba, M., Imagawa, T., Tohma, K., Mayuko, S., Suzuki, A., Oshitani, H., Omura, T., 2016. Comparative evaluation of real-time PCR methods for human noroviruses in wastewater and human stool. *PLoS ONE* 11(8), e0160825.
 - 37) Hennechart-Collette, C., Martin-Latil, S., Guillier, L., Perelle, S., 2015. Determination of which virus to use as a process control when testing for the presence of hepatitis A virus and norovirus in food and water. *International Journal of Food Microbiology* 202(2), 57–65.
 - 38) Ahmed, W., Bertsch, P.M., Bivins, A., Bibby, K., Farkas, K., Gathercole, A., Haramoto, E., Gyawali, P., Korajkic, A., McMinn, B.R., Mueller, J.F., Simpson, S.L., Smith, W.J.M., Symonds, E.M., Thomas, K.V., Verhagen, R., Kitajima, M., 2020. Comparison of virus concentration methods for the RT-qPCR-based recovery of murine hepatitis virus, a surrogate for SARS-CoV-2 from untreated wastewater. *Science of The Total Environment* 739, 139960.
 - 39) Kitajima, M., Iker, B.C., Pepper, I.L., Gerba, C.P., 2014. Relative abundance and treatment reduction of viruses during wastewater treatment processes-identification of potential viral indicators. *Science of The Total Environment* 488–489, 290–296.
 - 40) 厚生労働省. 感染症法に基づく医師の届出のお願い. URL: https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/kenkou/kekkaku-kansenshou/kekkaku-kansenshou11/01.html#h2_free3 (2021 年 3 月時点).
 - 41) Wu, Q., Xuan, Z., Liu, J., Zhao, X., Chen, Y., Wang, C., Shen, X., Wang, Y., Wang, L., Hu, Y., 2019. Norovirus shedding among symptomatic and asymptomatic employees in outbreak settings in Shanghai, China. *BMC Infectious Diseases* 19, 592.
 - 42) Wölfel, R., Corman, V.M., Guggemos, W., Seilmaier, M., Zange, S., Müller, M.A., Niemeyer, D., Jones, T.C., Vollmar, P., Rothe, C., Hoelscher, M., Bleicker, T., Brünink, S., Schneider, J., Ehmann, R., Zwirgmaier, K., Drosten, C., Wendtner, C., 2020. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature* 581(7809), 465–469.
 - 43) Teunis, P.F.M., Sukhrie, F.H.A., Vennema, H., Bogerman, J., Beersma, M.F.C., Koopmans, M.P.G., 2015. Shedding of norovirus in symptomatic and asymptomatic infections. *Epidemiology & Infection* 143(8), 1710–1717.
 - 44) O'Brien, J.W., Banks, A.P.W., Novic, A.J., Mueller, J.F., Jiang, G., Ort, C., Eaglesham, G., Yuan, Z., Thai, P.K., 2017. Impact of in-sewer degradation of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) population markers on a population model. *Environmental Science and Technology* 51(7), 3816–3823.
 - 45) Been, F., Rossi, L., Ort, C., Rudaz, S., Delémont, O., Esseiva, P., 2014. Population normalization with ammonium in wastewater-based epidemiology: application to illicit drug monitoring. *Environmental Science and Technology* 48(14), 8162–8169.
 - 46) Joy, T., Walsh, G., Tokmakejian, S., Van Uum, S.H.M., 2008. Increase of urinary 5-hydroxyindoleacetic acid excretion but not serum chromogranin a following over-the-counter 5-hydroxytryptophan intake. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology* 22(1), 49–53.
 - 47) Symonds, E.M., Nguyen, K.H., Harwood, V.J., Breitbart, M., 2018. Pepper mild mottle virus: a plant pathogen with a greater purpose in (waste) water treatment development and public health management. *Water Research* 144, 1–12.
 - 48) Bivins, A., Greaves, J., Fischer, R., Yinda, K.C., Ahmed, W., Kitajima, M., Munster, V.J., Bibby, K., 2020. Persistence of SARS-CoV-2 in water and wastewater. *Environmental Science and Technology Letters* 7(12), 937–942.
 - 49) Ahmed, W., Bertsch, P.M., Bibby, K., Haramoto, E., Hewitt, J., Huygens, F., Gyawali, P., Korajkic, A., Riddell, S., Sherchan, S.P., Simpson, S.L., Sirikanchana, K., Symonds, E.M., Verhagen, R., Vasan, S.S., Kitajima, M., Bivins, A., 2020. Decay of SARS-CoV-2 and surrogate murine hepatitis virus RNA in untreated wastewater to inform application in wastewater-based epidemiology. *Environmental Research* 191(August), 110092.
 - 50) Skrabber, S., Ogorzaly, L., Helmi, K., Maul, A., Hoffmann, L., Cauchie, H., Gantzer, C., 2009. Occurrence and persistence of enteroviruses, noroviruses and F-specific RNA phages in natural wastewater biofilms. *Water Research* 43(19), 4780–4789.
 - 51) Kauppinen, A., Miettinen, I.T., 2017. Persistence of norovirus GII genome in drinking water and wastewater at different temperatures. *Pathogens* 6(4), 48.
 - 52) Zhu, Y., Oishi, W., Saito, M., Kitajima, M., Sano, D., 2021. Early warning of COVID-19 in Tokyo via wastewater-based epidemiology: How feasible it really is? *Journal of Water and Environment Technology* 19(3), 170–183.
 - 53) 国立感染症研究所, 2013. 世界保健機関 感染性物質の輸送規則に関するガイダンス 2013–2014 版 (日本語版). URL: https://www.niid.go.jp/niid/images/biosafe/who/WHOguidance_transport13-14.pdf (2021 年 4 月時点).

[論 文 要 旨]

新型コロナウイルス感染症の世界的な大流行の中、下水疫学調査による感染流行規模の把握や変異株の早期検知が期待されている。本稿では、ウイルス感染症対策における下水疫学調査の実装に必要な要素および課題を解説した。下水疫学調査の実装のためには、下水試料の採取方法と濃縮方法の最適化および下水中ウイルス濃度に基づく感染者数推定モデルの構築が必須である。日本国内においては、感染症が定点把握疾患に分類される場合において、下水処理場の流入下水の分析結果を用いて早期検知が可能である。感染者数推定モデルの構築においては、感染症に共通の変数と感染症ごとに特有の変数が存在する。感染者のウイルス排出プロファイル等の個人差や処理区域人口の日内変動等に起因する変数の変動性や不確実性に対応可能なモデルの構築に引き続き取り組んでいく必要がある。

キーワード：新型コロナウイルス感染症；下水疫学；早期検知