

2025年度 分析トライアル サマリー

日本下水サーベイランス協会 技術委員会

分析トライアルの目的

新型コロナウイルスのパンデミック時に検査技術が著しく進展し、下水を対象としたSARS-CoV-2等のウイルス検出が国の実証事業等で行われた結果、下水処理場、個別施設の双方において、その有用性が確認された。現在は、新型コロナウイルスの蔓延が収束し、我々の生活は日常を取り戻してきたが、一方でSARS-CoV-2に係る検査ニーズが激減しており、COVID-19蔓延期に確立した技術の応用の機会が減少している。しかし、我々が培ってきた検査技術の維持は、次なるDisease Xの蔓延への備えとして、必要不可欠であると考えられる。そこで、日本下水サーベイランス協会技術委員会では、SARS-CoV-2等を検査可能な協会会員を公募し、同一の下水試料の分析を行うことで、技術の維持を図るとともに、現時点での課題等について整理するために、分析トライアルを実施するものである。

分析トライアルの概要

下水試料：実際の下水処理場の流入下水（1試料）を譲渡いただき、試験試料とした。

参加機関：本協会会員に分析トライアル実施を呼びかけ、これに応じた4機関で実施した。

検査方法等：参加機関で採用されている方法（複数法も可）を用いて1試料（3回繰り返し分析）で検査いただいた。対象は、SARS-CoV-2、PMMoVを必須とし、その他可能なものがあれば追加いただくようにした。また、同一検査機関において同一検査法で別の方が検査を実施する事も許容した。

結果の考察：技術委員会による評価に加えて、本協会特別会員の学識者にご講評いただいた。

適用した分析手法

参加4機関における分析手法は、下表のとおりであった。

機関名	A	B	C			D
手法	PEG沈殿法	EPISENS-S法 (北大シオノギ法)	東芝・DC法 (手分析)	東芝・DC法 (自動分析※)	東芝・DC法 (手分析)	SPE法
備考	A	B	C1※※	C2※※	C3※※	D
試料量	80	40	40	40	40	30
下限値	7000	93	1000	1000	1000	2400
CDC-N1	○	○	○※※※	○※※※	○※※※	○
CDC-N2	○	×	×	×	×	○
PMMoV	○	○	○	○	○	○
備考	—	—	検査着手日までは-20℃保存、検査前日に解凍			—

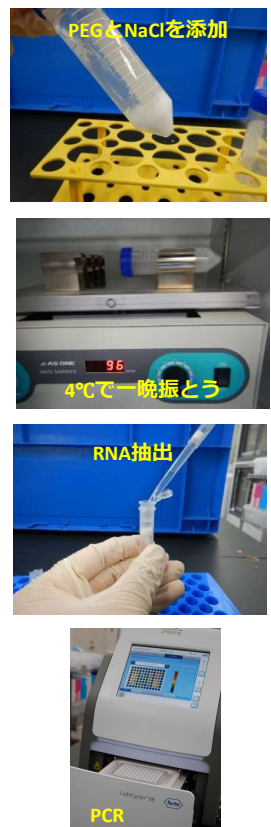
mL
copies/L

※東芝・DC法の分析ステップを自動化した装置を用いてRNA抽出までを自動で実施。PCRはC1と同様に実施。

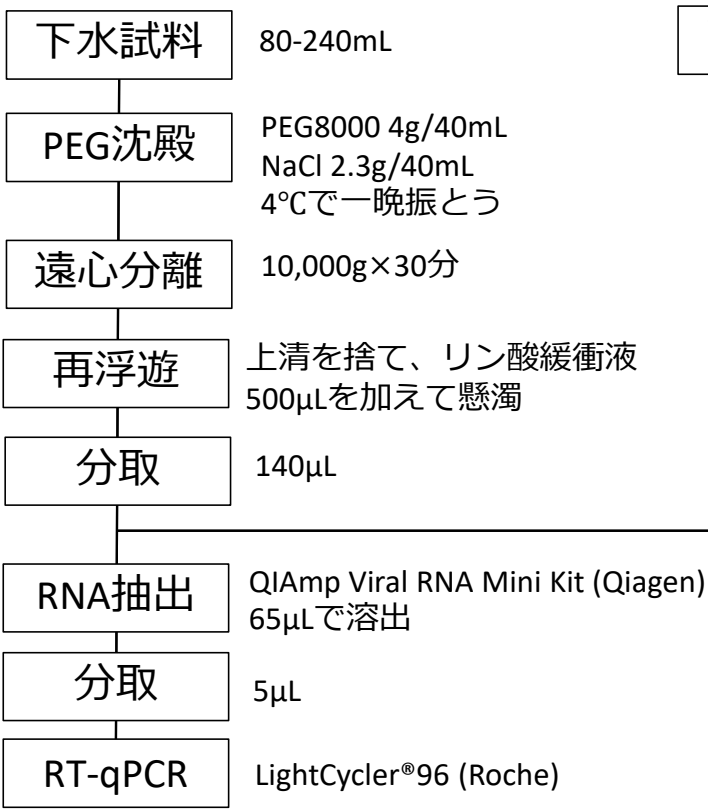
※※C1、C2、C3は夫々、別の担当者が試験実施

※※※「病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver.2.9.1 (p.9)」のNセットNo.2 (N2セット)

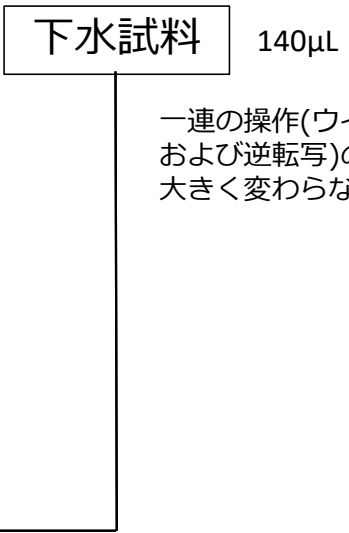
分析手法の概要 (PEG沈殿法)



SARS-CoV-2・PMMoV (濃縮あり)



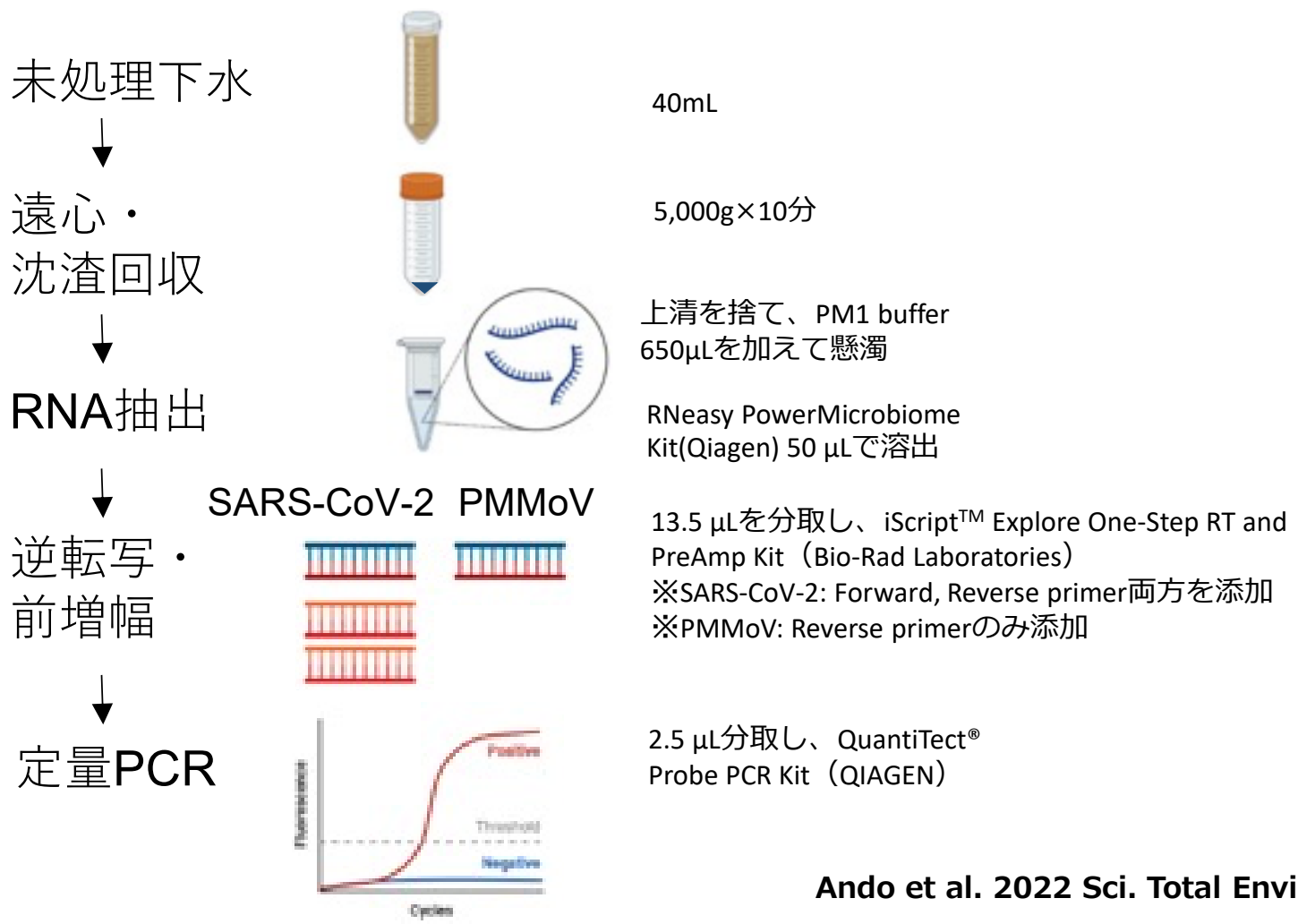
PMMoV (濃縮なし)



一連の操作(ウイルス濃縮、RNA抽出、および逆転写)の効率がサンプル間で大きく変わらないことを確認する。

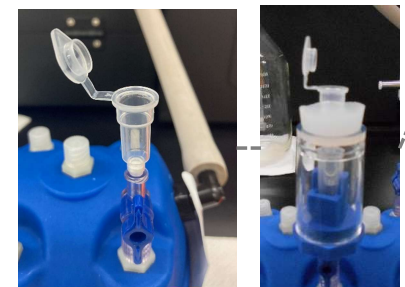
PMMoV (Pepper mild mottle virus)
 トウガラシ微斑ウイルス。ピーマン・トウガラシ類やタバコに感染する300nmの棒状のウイルス。葉や果実に不明瞭なモザイク斑や退緑症状を生じる「モザイク病」になる。糞便中に多く含まれ、糞便汚染指標として使われる。

分析手法の概要 (EPISENS-S法)

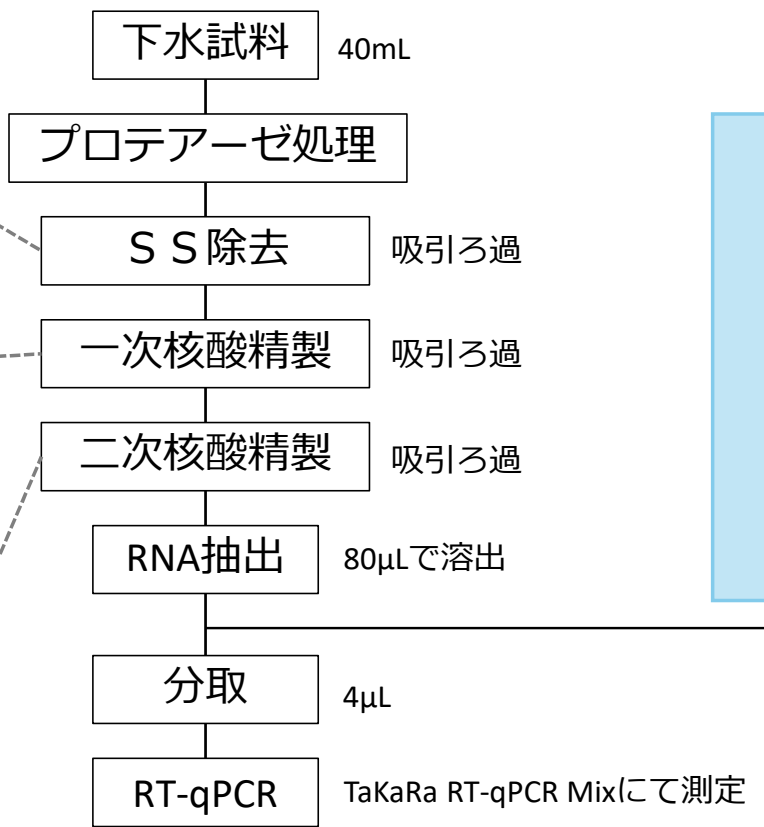


Ando et al. 2022 Sci. Total Environ.

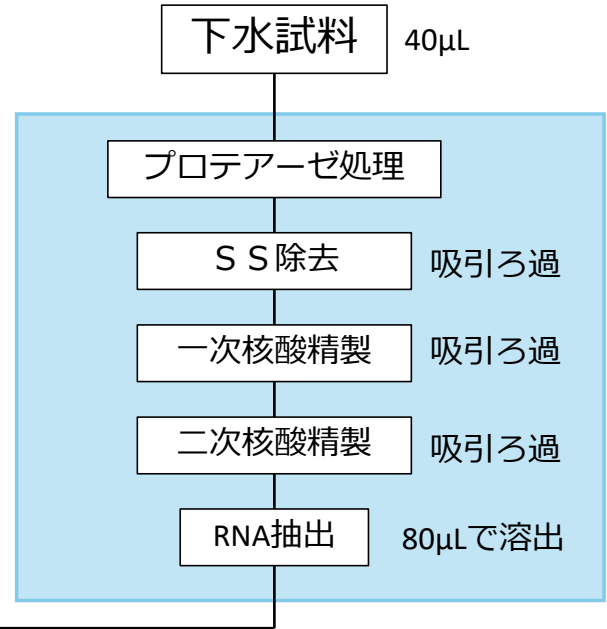
分析手法の概要 (東芝・DC法)



手分析 (C1、C3)



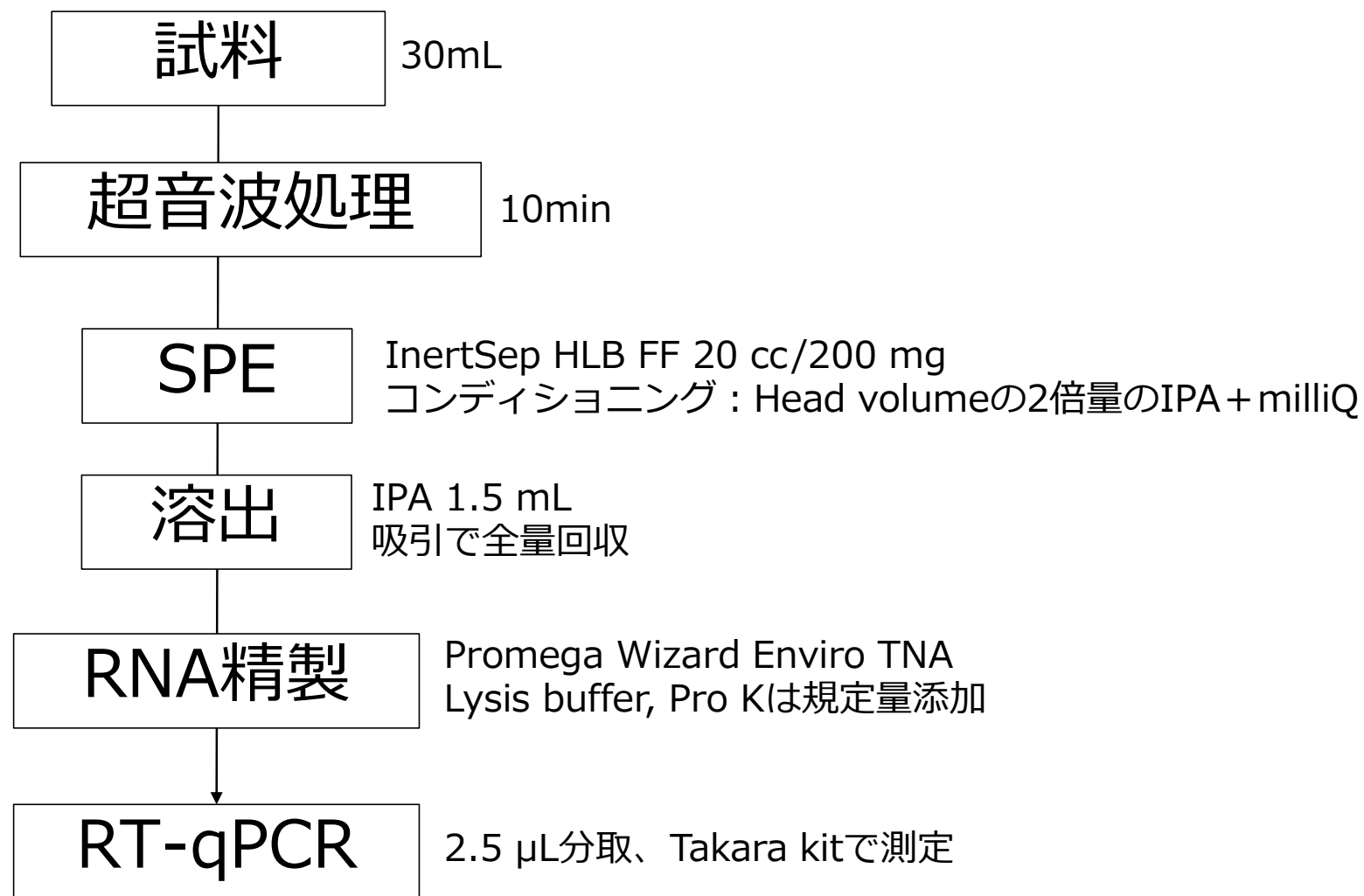
自動分析 (C2)



自動化装置により操作



分析手法の概要 (SPE法)



分析結果の評価

- 分析結果については、諸般の事情により非公開となるため、得られた分析結果をそのまま公開せず、正規化（1logで正規化）したデータで評価を実施した。
- CDC-N1、NセットNo.2の検出濃度（Log copies/L）は、0.8-1.0の範囲であった。
- 同一機関での測定値のバラツキ（CV, n=3）は概ね±20%の範囲であったが、一部でバラツキが大きいケースがあった。
- Ct値は全機関・分析方法で同等であったが、B機関のみ低いCt値であった。これはPre-Ampの効果と考えられる。
- これらの結果から、本協会会員でSARS-CoV-2分析が可能な機関は、どこに依頼しても概ね同程度の検査結果が得られると考えられる。

今後の課題

- 社会の要請にしたがって対応種の増加を検討する必要がある。
- 実運用に向けては、結果提示までの日数を最小化する必要がある。

学識者（本協会特別会員）からの全体講評

本トライアルでは、同一の実下水サンプルについて異なる参加機関がそれぞれ異なる手法を用いて分析が実施された。定量結果について、定量値は機関・手法によらず一定の範囲内に収まっており、リアルタイムPCRの検量線についても概ね精度の良い結果が得られていることから、いずれの機関・手法においても信頼できる分析が実施されたと評価できる。

一方で、得られた定量値の正規化や反復試験データの平均化について機関によって計算処理の方法に違いが見られたことから、精度保証の観点から、各機関内での振り返りや統一的な指針策定などを通じて適切なデータ処理方法について検討されることを期待したい。

<参考> 分析結果の概要

