

施設排水調査マニュアル

Ver 1.0

2022年3月

目次

| | |
|--|----|
| 1. はじめに | 1 |
| 2. 施設排水調査にあたっての留意点 | 1 |
| 2.1 採水方法・場所（ガイダンス4. 1節の詳細） | 1 |
| 2.1.1 採水方法 | 1 |
| 2.1.2 マンホール等の排水設備用の蓋の取り扱い | 2 |
| 2.1.3 採水地点の検討（排水の配管、汚水柵（インバート柵）の蓋、マン ホール形状確認） | 2 |
| 2.1.4 採水頻度・時間、採水量の決定 | 3 |
| 2.1.5 人員の確保・養成 | 4 |
| 2.2 採水作業の安全確保（ガイダンス4. 2節の詳細） | 5 |
| 2.2.1 検体の不活化処理 | 5 |
| 2.2.2 検体の輸送法 | 6 |
| 2.3 バイオセーフティ・交差汚染防止（ガイダンス4. 3節の詳細） | 8 |
| 2.4 検出方法の指定（検出方法）（ガイダンス4. 7節の詳細） | 9 |
| 2.5 信頼性の確保（ガイダンス4. 8節の詳細） | 9 |
| 2.6 結果の解釈 | 10 |
| 3. 採水法のプロトコル | 11 |
| 3.1 準備 | 11 |
| 3.1.1 共通 | 11 |
| 3.1.2 グラブサンプリング | 12 |
| 3.1.3 トラップ（パッシブ）サンプリング | 13 |
| 3.2 プロトコル | 16 |
| 3.2.1 採水：グラブサンプリング | 16 |
| 3.2.2 採水：トラップサンプリング | 16 |
| 3.2.3 採水後の処理（不活化処理） | 21 |
| 4. 参考文献 | 23 |
| 5. 執筆者一覧 | 25 |

1. はじめに

本マニュアルは、施設排水調査にあたっての留意点と採水法のプロトコルを示したものであり、具体的には、調査概要を示した「施設排水調査ガイダンス」の第4章「調査実施計画項目の留意点」に対応した詳細事項を示している。なお、サンプリングは施設の状況に応じて採水方法を使い分けることが望ましく、参考までにトラップ（パッシブ）法による採水用具の準備と採水方法を「3.採水法のプロトコル」に示した。

2. 施設排水調査にあたっての留意点

2.1 採水方法・場所（ガイダンス4.1節の詳細）

2.1.1 採水方法

採水方法は、Grabサンプリング（Grab法）とトラップ（パッシブ）サンプリング（トラップ法あるいはパッシブ法）に大別される。いずれの場合も、採水容器を満水にせず、8割程度の水検体を入れることで、容器破損を防止する。

(1) Grabサンプリング（Grab法）

Grabサンプリングは、比較的容易に実施可能で、短時間で採水作業が完了し、濃度情報が得られる点¹⁾で優位な採水法であるが、糞便が流れてくるタイミングを見計らって採水する必要がある。プラスチック製のバケツや柄杓を使って、排水を採水する。地上から排水水面までの距離が長い場合は、バケツの取っ手に紐を付けて採水するが、排水の重量でバケツが歪み、バケツと取っ手が分離してバケツが落下することがあるため、注意する。

(2) トラップ（パッシブ）サンプリング（トラップ法あるいはパッシブ法）

トラップ（パッシブ）法は、断続的なトイレ排水の流れを連続的に捉えることが出来る点で優位な採水法であるが、採水作業に時間を要し、またサンプラーの設置に注意が必要である。脱脂綿を吸着材とし、ウイルスを脱脂綿に吸着させる。新型コロナウイルス²⁾をはじめ、多様なウイルスを捉えることが出来る可能性がある³⁾と報告されている。脱脂綿の絞り液を得るほか、誘出液に浸してウイルスを溶出させ、これを分析対象とする。

2.1.2 マンホール等の排水設備用の蓋の取り扱い

マンホール等の排水設備用の蓋は、施設や場所によって様々な種類が存在する。マンホールのタイプごとに開封法が異なるため、種類に応じた開封を行う。鉄製マンホール（60cm サイズ）は 40kg 程度の重量物となるので、開封時には安全な作業に注意する。

高齢者介護施設は、アパート、マンションのような建築物と同様の排水設備を有する場合がある。小規模な 100 名程度の施設では、公共下水道に接続する屋外排水管の途中に設けられている汚水柵が採水ポイントとなる。プラスチック製のマンホール蓋を使用している場合はドライバーで開けることができる。

2.1.3 採水地点の検討（排水の配管、汚水柵（インバート柵）¹の蓋、マンホールの形状確認）

(1) トイレ排水のみの場合

ビル等の地下に設置された汚水槽を対象としウイルス監視に最も適したマンホールである。当該マンホールに接続可能な人数を明らかにしておくことが望ましい。

（例）オフィスビル、マンションなど比較的大きな建築物

(2) トイレ排水管と雑排水（台所排水や浴場排水等）管が接続している場合

トイレからの排水管と雑排水管が施設の地下に敷設された排水管から公共下水道に接続している場合である。排水管の点検目的に設置された汚水柵の蓋の形状はプラスチック製の汚水蓋、金属製のマンホールなど様々な形状、種類が用いられており、調査開始前に開閉方法、使用工具、作業人数の確認が必須である。

また台所排水や浴室洗浄排水に含まれる洗剤は、PCR での阻害を起こす可能性があるため事前に当該個別施設で使われている洗剤を用いて PCR 阻害の状況を確認すること、採水作業時に洗剤の使用を極力控えることが望ましい。浴場排水は、グラブサンプリングではウイルス濃度の減少の原因となり、トラップサンプリングでは脱脂綿に吸着したウイルスを脱着させる可能性がある。このため、可能な限り浴場排水が排出されるタイミングを外して採水する²⁾。

（例）小規模の高齢者介護施設等

¹柵の底に配管と同型の溝を切った柵のこと。管の詰まりを避け清掃や点検のために敷地内の要所に設置されている

(3) 次亜塩素酸接触等の消毒が行われている場合

医療施設の排水設備では公共下水道に排水する前に消毒が行われる。用いられる次亜塩素酸ナトリウム等は、その濃度と接触時間によってウイルスの感染価の減少、不活化効果が認められている^{4) 5)}。このため、次亜塩素酸と接触した排水を採水し、qPCR 検査を行った場合、偽陰性の結果となる可能性がある。このため、このようなマンホールでの採水は避けるか、次亜塩素酸接触前の排水を採水できる地点とする。

(例) 医療施設

(4) 浄化槽が設置されている場合

浄化槽内で処理が進むとウイルスの存在状態が変化し、正しい測定結果が得られなくなる恐れがあるため、流入後の槽に溜まった排水を採水する。特に消毒槽を持つ場合は、偽陰性の結果を生じる可能性があるため、消毒槽からの採水は行わないように注意する。

2.1.4 採水頻度・時間、採水量の決定

施設排水の場合、施設利用者や、居住者の生活サイクルに合わせた調査をデザインする必要がある。即ち雑排水（キッチン、浴槽）が排水されるタイミングを考慮して採水頻度・採水時間帯を設定することが望ましい。採水頻度を増やすことで生活サイクルで排水に含まれる糞便量の変動バイアスの影響を小さくできるが、調査コストが増大する要因となる。

採水量は、施設利用者数と検出下限値との関係を考慮し設定する。下水処理場では定量値を得る場合、比較的大容量（200～500ml）を用いることが必要となるが、施設排水の場合、グラブ、トラップ（パッシブ）法とも採水できる容量は少ない。

採水量（～100ml）が少なくなると、検体処理は容易になるが検出下限値が大きくなるため定性的（排水中のウイルスゲノム断片有無の判定）な調査目的が適当である。

2.1.5 人員の確保・養成

採水作業については、施設管理者自らが行う場合（直営）、調査一式を行う外部の調査実施機関（事業者）が実施する場合、採水作業のみ別の外部事業者に委託する場合が想定される。

(1) 施設管理者自らが行う場合と外部の調査実施機関が行う場合

建築物の構造やマンホールの開閉作業のワークロード等を確認の上、採水時の安全対策、役割分担（採水作業との収容等）を考慮して人員を確保する必要がある。採水作業は1カ所あたり2名以上で実施することが望ましい。特定建築物²、病院等の採水作業にはマンホールリフター等の専用工具を用いることが想定され、汚水槽の構造、維持管理、排水についての専門知識に加えバイオセーフティの知識が必要となる。このため採水作業人員は、選択された採水法における採水操作を実施出来るための教育ならびに採水作業時の感染防止対策について教育を受けたうえで採水作業を行う。事前に標準作業手順書（SOP）や動画等の教育資料を準備しておくことが望ましい。

採水作業のみ外部事業者に委託する場合、調査実施機関等が委託先の能力を確認し、必要に応じて教育を行うことで適切な対応が可能となる。施設管理者が採水作業を行う際には、排水設備の取り扱いには慣れているものの、採水作業には不慣れであるため、採水作業の実績を有する調査実施機関等から採水時における留意事項等の教育を受ける必要がある。

このため、調査実施機関では採水方法及び採水時におけるバイオセーフティ等、採水作業を行う人員に対して分かり易い教育資料の整備が必要である。採水作業を委託する場合は、排水に関する専門知識を有していないケースも想定されるため、排水に関する基礎知識の教育を受けてから採水作業を行う。また、有事の際の連絡体制についても事前に構築しておく必要がある。

²特定の用途に使用される相当以上の規模を有する建築物。興行場、百貨店、集会場、図書館、博物館、美術館、遊技場、店舗、事務所、学校（研修所を含む。）、旅館

2.2 採水作業の安全確保（ガイドンス4. 2節の詳細）

2.2.1 検体の処理

採水した検体は、輸送及び操作中のバイオハザード対策のためウイルスを不活化して輸送する場合と不活化せず輸送する場合がある。

(1) ウイルスを不活化しない場合

容器からの検体の漏洩、採水作業時に容器表面に付着した排水・汚物による汚染に対して、対策を講じる必要がある。

採水作業後、容器から検体が漏れ出ないように蓋をしっかりと閉める。容器表面をアルコールや次亜塩素酸ナトリウム等で消毒を行い、汚物等の固形物が付着した場合には、消毒の前に水で洗い流し水気を拭き取り汚染の拡大の可能性を最小限とする。また、洗い流した水は直接排水設備へ流すよう配慮が必要である。

(2) ウイルスを不活化する場合

① 熱処理法

輸送あるいは操作中のバイオハザード対策のため、検体を不活化する事例が報告されている。新型コロナウイルスは56–60℃ 1時間程度で不活化されることが示されている^{5) 6)}。しかし熱処理によりゲノム量の減少も報告されている。

② 界面活性剤を用いた処理

新型コロナウイルスはエンベロープウイルスのためアルコールの他、界面活性剤でも不活化できる可能性が指摘されている。物品に対する新型コロナウイルスの消毒の有効性を検証した結果、界面活性剤との接触によって新型コロナウイルスは感染価が減少あるいは不活化される可能性⁴⁾のあることが報告されている。ただし、界面活性剤の種類や濃度によっては不活化効果が認められなかったケース^{3) 4)}もある。このため採水した排水に適切な界面活性剤を適切な濃度で混入させることで、ウイルス感染価の減少や不活化させる可能性はあるが、現時点では十分なエビデンスは得られていない⁴⁾。

2.2.2 検体の輸送法

検体の採水場所から検査する場所まで、安全に効率よく検体を輸送しなければならない。輸送に係る人や物流に関連するあらゆるものに漏洩して、汚染が広範囲に拡散しないように留意しなければならない。輸送の方法に応じた留意事項を以下に示す。

また、排水中のウイルス遺伝子は常温保存では減衰すると報告されているため、採水した検体は、採水後 24 時間以内に分析に供する場合には氷上、または冷蔵庫にて保存・輸送する。それ以降に分析を行う場合は冷凍保存を行う。

(1) 検体の漏洩防止

容器の蓋が確実に締まっていることを確認し、搬送用のケース内に蓋を上にして入れ、急ブレーキ等の衝撃で容器が転倒しないように緩衝材等により固定し、漏洩の防止を図ることに留意する。

(2) 宅配便を利用して輸送する場合

検査室までの検体の輸送について、公用車や社有車等の自動車の利用が第一選択となるが、採水場所と検査室が遠方の場合、貨物自動車運送事業者（以下、「宅配便」という。）に依頼することになる。

検体の発送に際しては、通常の下水検体と同様に宅配便を利用することが可能である。しかしながら、新型コロナウイルス有無の検査が目的の検体であり、検体にウイルスが含まれる可能性を念頭に、「漏れない梱包」「容器表面を汚染しない」「万一のことを考える」「ルールを守る」の原則に基づき、検体の漏洩及び感染拡大を防止する措置に留意が必要である。また、宅配便において、梱包の誤りによる事故等の責任は荷送人にあり、不適正な事例が発生した場合には、宅配便システムの利用全体に影響を及ぼすこともあり得ることに留意が必要である。

安全を確保するために、カテゴリーB³等の検体の輸送を取り扱う日本郵政株式会社の「ゆうパック」（陸上輸送）のルールに極力準拠することを推奨する。

ゆうパックにおいてカテゴリーB 等の検体を発送する場合、適切な包装であることを証明する包装責任者を定めることになっている。包装責任者は、検体送

³世界保健機構（WHO）の「感染性物質の輸送規制に関するガイダンス」においてカテゴリーAの基準に該当しない感染性物質。カテゴリーAとは、その物質への曝露によって、健康なヒトに恒久的な障害や生命を脅かす様な、あるいは致死的な疾病を引き起こす可能性のある状態で輸送される感染性物質。

付の安全性確保のために必要な知識と技能を習得し、作業者への指導の能力を有する必要がある。そのため、原則、都道府県等による研修を受けた者と規定されているが、新型コロナウイルスの感染拡大につき、資料の内容確認で代用し、その内容を遵守する誓約書等を都道府県等に提出することとなっている。

検体の包装は、教育を受けた作業者が行う。包装責任者が適正包装を確認し、その旨を表示する。ゆうパック受付の担当者に対して、安全性の担保について説明し、担当者からの問いには包装開封を含めて速やかに応じ、また、事前に通知なく開封される場合もある。

検体の梱包は、3重包装⁴が基本となる。排水の検体を直接入れる1次容器は防水性と密閉性を有する容器とし、破損時に排水の検体が漏洩しないよう吸収材で覆う。2次容器は、一つの1次容器に対して一つとし、密閉性を有する容器とする。また、保冷剤、氷、ドライアイス等の温度変化によって容器を破裂させる冷却材等を入れてはならない。3次容器は、輸送中の衝撃等から2次容器を守るための容器であり、検体の送付状を入れる。ドライアイス等は2次容器の外側で外装容器の中に入れ、保冷剤等へ付着する水滴が漏れないよう密閉性のある容器に入れる。

(3) 病原体輸送専用業者に依頼して輸送する場合

本マニュアルが対象としている新型コロナウイルスについて、カテゴリーBに分類される病原体の取扱い可能な輸送業者へ検体の輸送を依頼することも可能である。

これら輸送専用業者での運搬では、即日の配送に対応し荷物の管理を個別に行う等のメリットがある。一方で、荷物の受け渡し方法、トラック、鉄道、飛行機の利用等の輸送方法に応じて運送費が異なり、数万円～十数万円、二十万円を超えるケースもある。

輸送専用業者と検体の内容、包装方法、費用、検体の受渡と受取の日時と場所について、都度十分に打合せを行うことが必要である。

⁴病原体等の輸送を安全に行うための基本的な包装の方法であり、1次容器（病原体等を入れるための強固な防漏性容器）、2次容器（1次容器を入れるための防漏性かつ気密性の高い容器）、3次容器（2次容器を入れて輸送時の衝撃から保護する壊れにくい容器）を用いて包装する。

2.3 バイオセーフティ・交差汚染防止（ガイダンス4. 3節の詳細）

作業員、周囲の者、施設外のすべての人が安全でなければならない。下水の曝露により新型コロナウイルスへ感染した事象は現在のところ報告されていないが、本マニュアルで対象としている施設排水は排出源に近いので、バイオセーフティへの適切な配慮が必要である。また、採水現場では交差汚染に十分に留意する必要がある。特に、調査実施機関が直営で採水を行わない委託の場合には、バイオセーフティおよび交差汚染について十分な研修を行う必要がある。

検体の採水方法や採水器具の使用法の不備による容器の汚染や破損、汚染された手を介した接触感染、ルールの逸脱等によって、感染のリスクが増大する。

ここでは、採水作業時における作業員の保護、周辺環境、輸送時の汚染防止対策および交差汚染防止について述べる。

採水作業によって本来存在しないところへ排水を漏洩し、感染リスクおよび交差汚染を発生させない配慮が必要である。

- 採水作業に使用した器具については、採水場所にて洗浄し、移動時に作業員、車両及びその他機器等へ汚染を拡大させない。
- 採水の器具を洗浄した排水は、そのまま排水管に放流する。
- 採水場所で生じた手袋等の廃棄物は、ナイロン製のゴミ袋にて密封する。
- 少なくとも採水現場ごとに手袋を新しいものに交換する。
- 同一採水現場であっても、次の採水現場で使用する器具類等に触れる場合は、次亜塩素酸ナトリウム等の消毒等を通じて、ウイルスゲノムの付着を防止する。
- 管理された検査を行う検査室内であっても交差汚染は頻りに起こり得る。採水現場では現場ごとに様子が異なり、決められた手順通りに作業が行えないケースもあるため、特に交差汚染に注意し、正しい検査結果を得る。
- 検体容器の蓋を確実に締め、輸送方法に応じて適切に容器の保護、包装を行う。
- 無関係な物品を介して汚染の可性能を拡大しないため、検体の包装に無関係の物品を同封してはならない。

2.4 検出方法の指定（検出方法）（ガイダンス4. 7節の詳細）

新型コロナウイルス検出のための qPCR 系としては、日本水環境学会タスクフォースが作成した「下水中の新型コロナウイルス遺伝子検出マニュアル」、厚生労働科学研究班が作成した「下水中の新型コロナウイルス検出マニュアル」にも記載されているアッセイ系（CDC-N1、CDC-N2）等が利用可能である。

Grabサンプルでは排水中のウイルスゲノム濃度が得られるが、RT-qPCR で得られた Ct 値も併記することが望ましい。トラップ（パッシブ）サンプルでは排水の通液量や溶出液量が定容出来ないため、正確な排水中のウイルス遺伝子濃度は得られないため、Ct 値を表記することが適当である*。なお、異なる装置メーカーの PCR 装置から得られた Ct 値を比較する場合は、Ct 値の同等性について留意する。

*ただし用いたコットン等の吸着剤の重量及び絞って回収した液量から目安となるウイルス濃度及び検出下限値を求めることができる。

また、糞便に極めて高濃度に存在するトウガラシ微斑ウイルス⁵（PMMoV）⁷⁾を同時に測定し、糞便の負荷を把握することを推奨する。変異株の検査や次世代シーケンサによる全ゲノム解析を行う場合は、一定量のウイルスゲノムが必要となるが、個別施設排水ではウイルス量が比較的高濃度になることが期待されるため、これらの調査にも適用できる可能性がある。

2.5 信頼性の確保（ガイダンス4. 8節の詳細）

排水中の新型コロナウイルス検査にも人の検査と同様に一定の信頼性確保が求められるため「検査施設における病原体等検査の業務管理要領」（健感発 1117 第2号平成 27年 11月 17日）等を参考に検査を行うことが望ましい。

(1) 温度

4℃保存では 28 日間でウイルス遺伝子濃度が線形減衰することが報告⁸⁾されているため、検査室では速やかに濃縮操作を行い、測定結果の信頼性を確保する。-20℃、-75℃では 58 日間以内にウイルス遺伝子濃度の減衰は見られなかった

⁵PMMoV（Pepper mild mottle virus）。ピーマン・トウガラシ類やタバコに感染する 300nm の棒状のノンエンベロームウイルス。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る。

と報告⁸⁾されている。このため、長期保存が必要な場合は、-20℃以下、可能な限り-75℃以下で凍結保存する。

(2) 測定系

陽性コントロールの増幅曲線の立ち上がりが見られ、かつ陰性コントロールの増幅曲線の立ち上がりが見られないときに試験が成立したとみなす^{9) 10)}。陽性コントロールを 10 copy/well 以下を最低濃度とし、3～5 点の希釈系列で検量線溶液を調製し、検量線を作成する。横軸に陽性コントロールコピー数の常用対数値、縦軸にサイクル数を取った検量線の傾きや決定係数を確認する^{9) 10)}。また、グラブサンプル、トラップ（パッシブ）サンプルにおける定量下限値、検出下限値を設定する。

(3) 妥当性の評価

プロセスコントロールとして PMMoV や φ6⁶⁾等の代理ウイルスの濃縮操作における回収率を評価することを推奨する。

2.6 結果の解釈

施設排水での調査では、陽性者存在の指摘を主目的とする場合、必ずしも濃度情報を必要とせず、バイナリーな結果（陽性/陰性）が求められる。感染者は必ずしも糞便中にウイルスを排出せず¹¹⁾、人ごとに、あるいは発症日からの経過日数ごとに糞便中のウイルス濃度は異なる^{11) 12) 13)}と報告されている。なお先行研究ではおよそ 100 人程度に 1 名の感染者がいる場合に検出されたと報告がある^{14) 15)}。施設内の感染者数が少ない場合は、ウイルス量も相対的に少なくなる可能性があるため、測定結果はポアソン分布に従うと考えられる。このため、1 検体を 2 ウエル以上の複数で測定し、いずれかのウエルで増幅が見られた場合には陽性と判定する。また少なくとも 1 つの標的遺伝子を含むサンプルで増幅がみられた場合、結果は陽性と判定する。

⁶⁾エンベロープウイルスであり、新型コロナウイルスに構造が類似した二重鎖 RNA バクテリオファージ。グラム陰性菌 *Pseudomonas phaseolicola* を宿主とし、25℃を最適温度として感染、増殖する。

3. 採水法のプロトコル

本章では主にトラップ（パッシブ）サンプリングの際の手法の例を示す。

3.1 準備

3.1.1 共通

1) 準備するもの

蓋の開閉に必要なもの

- ・ マイナスドライバー（汚水柵の場合）
- ・ マンホールリフター（マンホールの場合）

PPE（個人用保護具：Personal Protective Equipment）

- ・ ディスポーザル手袋
- ・ 作業着
- ・ 靴
- ・ N95 マスク

その他の物品

- ・ 消毒用アルコール（70%）
- ・ 霧吹き（消毒用アルコール容器）
- ・ 次亜塩素系消毒剤（作業に用いる柄杓、はさみ等の道具の消毒用）
- ・ ビニール袋（大、中、小）
- ・ 紙ウエス
- ・ ラベル（ワッペン）
- ・ カッター
- ・ 巻き尺
- ・ マジック
- ・ ビニールテープ
- ・ ガムテープ
- ・ 紙袋（採水用具持ち運び用）
- ・ バケツ 3 つ（加熱用、採水道具の運搬用、消毒等用）
- ・ ヒーター（家庭用低温調理器等⁷）
- ・ フローター

⁷家庭用低温調理器は、鍋に固定するためにねじ式とクリップ型がある。いずれもバケツに取り付ける際に、バケツの深さと厚さを事前に確認しておく必要がある。本マニュアルにおいては、クリップ式の低温調理器を用いた。

輸送用備品

- ・ 採水ボトル
- ・ バイオハザードパウチ（病原体輸送用の二次容器）
- ・ 吸収材
- ・ 病原体輸送用三次容器

2) 想定される採水地点

- ・ 公共下水道へ接続する前の地点
- ・ 汚水枡（インバート枡）
※ただし、調理室排水のみが流入する枡は除く

3) 作業スペースの確認事項

- ・ 水道の有無
- ・ 流し台（シンク）等の排水設備の有無
- ・ 電源が得られる場所の有無

3.1.2 グラブサンプリング

1) 準備するもの

- ・ 柄杓やピストン式採水器等の採水器具

2) 留意事項

- ・ 入浴時間を避けて採水する。

3.1.3 トラップ (パッシブ) サンプルング

1) 準備するもの

トラップ採水用器具 (以下作り方参照)

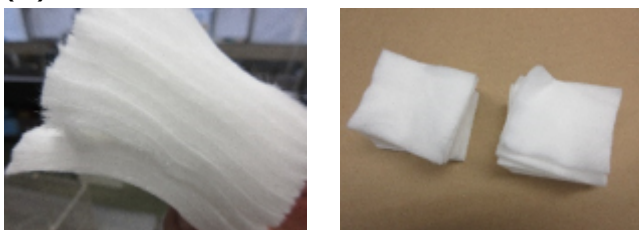
- ・ コットンパフ
- ・ ネット
- ・ タコ糸

その他の物品

- ・ 麻紐
- ・ 紙コップ
- ・ ジップロック
- ・ ハサミ

2) トラップ採水用器具のつくり方

(1) コットンを 10 枚 1 組にまとめる (重さを確認)。2 組用意する。



(2) コットンをネットに入れる。



(3) ネットの上部を結ぶ。



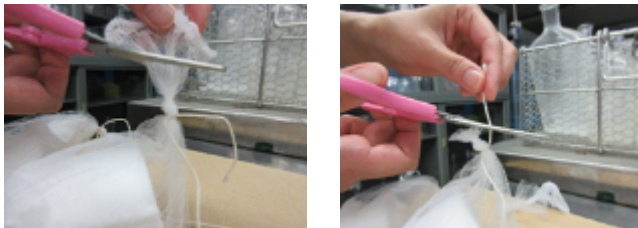
(4) 結び目の真下をタコ糸で縛る。



(5) 結び目から 30 cm くらいの長さでタコ糸を切る。

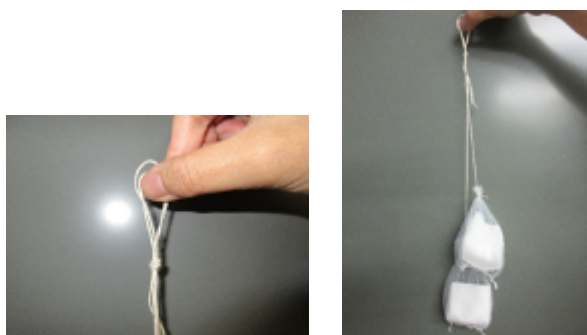
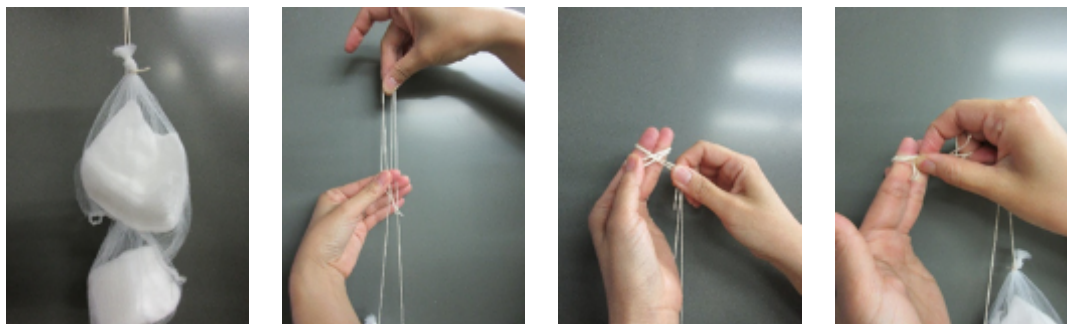


(6) ネット上部の余りと、縛ったタコ糸の余りを切り取る。

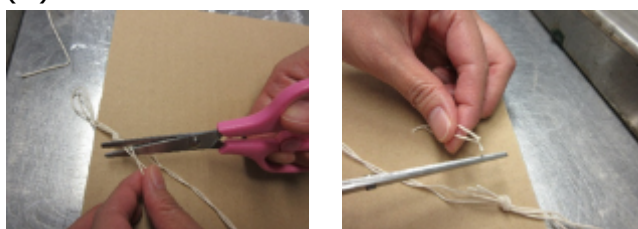


(7) 2組のコットンが重ならないようにずらして持ち、上部のコットンから 20 cm くらいのところで 2組を結び合わせる。

※指で持つ部分が出来るとよう輪を作って結ぶ。



(8) 結んで余ったタコ糸を切り取る。



3) 留意事項

- ・ トラップサンプリングは、グラブサンプリングに比べて検出感度が高いが定量性はない。
- ・ トラップ採水用器具は採水の前日に設置し、翌日回収する。

3.2 プロトコル

3.2.1 採水：グラブサンプリング

(1) マンホールリフター等の専用工具でマンホールを開け、柄杓を用いて採水する。



3.2.2 採水：トラップサンプリング

(1) 麻紐で輪を作る。



(2) トラップ採水用器具の輪に麻紐を通し、先端を麻紐の輪に通し連結する。



(3) マイナスドライバーで汚水枳の蓋を開け、トラップ採水用器具を汚水枳へ挿入する。



(4) 2つのコットンが重ならないよう注意しながら挿入する。



(5) トラップ採水用器具が水に浸かるまで挿入し、適当なところで麻紐を結び付けて固定する。



(6) 翌日、トラップ採水用器具を回収する。固定していた麻紐を切る。



(7) トラップ採水用器具をゆっくりと引き上げ、紙コップに回収し、余分な紐を切る。



(8) ジップロックに移し入れ、チャックを閉めて密閉する。



加熱なしの場合（9）へ

加熱ありの場合、3.2.3 採水後の処理へ

(9) コットン部分をジップロックごと揉み、吸収している排水を絞り出す。



(10) 絞り出した排水を採水ボトルに入れる。



- (11) 採水ボトルの蓋を閉め、ビニールテープで口の部分を固定する。
※およそ 100mL の排水回収が可能である。



3.2.3 採水後の処理（不活化処理）

- (1) 低温調理器具で温めた温水中に検体が浸かるようにして浮かべ、静置する。
(60℃、1 時間)



- (2) 加熱後は上記 3.2.2 (9) と同じく採水ボトルに移し替える。
(3) 採水ボトルをバイオハザードパウチ（二次容器）に入れる。パウチには液漏れ防止用の吸収剤を同封する。



(4) 採水ボトルの入ったバイオハザードパウチを持ち運び用紙袋に入れる。



(5) 輸送用三次容器に入れ、輸送する。



4. 参考文献

- 1) USCDC National Wastewater Surveillance System (NWSS)
<https://www.cdc.gov/healthywater/surveillance/wastewater-surveillance/developing-a-wastewater-surveillance-sampling-strategy.html>
- 2) 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) . 2021; Vol.77 No. 7: Ⅲ_179-Ⅲ_190.
- 3) Matsuura K, Hasegawa S, Nakayama T, et al. Viral Pollution of the Rivers in Toyama City. Microbiology and Immunology.1984;28:575-588.
<https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.1984.tb00710.x>
- 4) 新型コロナウイルスに対する代替消毒方法の有効性評価に関する検討委員会. 新型コロナウイルスに対する代替消毒方法の有効性評価 (最終報告) .令和 2 年 6 月.<https://www.nite.go.jp/data/000111315.pdf>
- 5) Auerswald H, Yann S, Dul S, et al. Assessment of inactivation procedures for SARS-CoV-2. J Gen Virol. 2021 Mar;102(3):001539.
doi: 10.1099/jgv.0.001539. Epub 2021 Jan 8.
- 6) Pastorino B, Touret F, Gilles M, et al. Heat Inactivation of Different Types of SARS-CoV-2 Samples: What Protocols for Biosafety. Molecular Detection and Serological Diagnostics?. Viruses. 2020;12:735.
<https://doi.org/10.3390/v12070735>
- 7) Haramoto E, Kitajima M, Kishida N, et al. Occurrence of Pepper Mild Mottle Virus in Drinking Water Sources in Japan. Appl Environ Microbiol. 2013; 79 (23) :7413-7418.doi: [10.1128/AEM.02354-13](https://doi.org/10.1128/AEM.02354-13)
- 8) Hokajärvi A M, Rytönen A, Tiwari A, et al. The detection and stability of the SARS-CoV-2 RNA biomarkers in wastewater influent in Helsinki, Finland. Science of The Total Environment.20 May 2021; Vol. 770:145274.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145274>
- 9) (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 年 3 月.
- 10) 国立感染症研究所. 病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver.2.9.
<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/2019-nCoV20200318v2.pdf>

- 11) Wölfel R, Corman V M, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*.2020;581:pp.465-469.
- 12) Wu Y, Guo C, Tang L, et al. Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*.2020;Vol. 5 Issue 5:pp.434-435. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30083-2](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30083-2)
- 13) Zheng S, Fan J, Yu F, et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study. *BMJ*. 2020; 10.1136/bmj.m1443.
- 14) Davó L, Seguí R, Botija P, et al. Early detection of SARS-CoV-2 infection cases or outbreaks at nursing homes by targeted wastewater tracking. *Clin Microbiol Infect*. 2021;27(7):1061-1063. doi:10.1016/j.cmi.2021.02.003
- 15) Liu P, Ibaraki M, Van Tassell J, et al. A sensitive, simple, and low-cost method for COVID-19 wastewater surveillance at an institutional level *The Science of the Total Environment*.2021 Oct.; in press,
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151047>

5. 執筆者一覧

本原清彦 中外テクノス株式会社

八十島誠 株式会社 島津テクノリサーチ

吉田弘 国立感染症研究所

事務局

山口有紀 国立感染症研究所

三堀純、須賀原千明、中澤寿美江

エム・アール・アイリサーチアソシエイツ株式会社

謝辞

本マニュアル作成にあたり、社会福祉法人 共愛会職員の皆様、国立感染症研究所 喜多村晃一先生、鶴原百香様には大変お世話になりました。心より感謝いたします。