

都内下水中の新型コロナウイルス検出状況（2020年度）

熊谷 遼太^a, 河上 麻美代^a, 林 真輝^a, 糟谷 文^a, 山崎 貴子^a, 加来 英美子^a, 吉田 勲^b
 山田 欣司^c, 樫原 慎久^c, 森田 健史^c, 兼安 智也^c, 土屋 葉月^c, 石井 裕樹^c, 浅倉 弘幸^a
 永野 美由紀^a, 北村 有里恵^a, 矢尾板 優^a, 原田 幸子^a, 根岸 あかね^a, 鈴木 愛^a, 小杉 知宏^a
 藤原 卓士^a, 長谷川 道弥^a, 三宅 啓文^a, 森 功次^a, 長島 真美^c, 千葉 隆司^d, 鈴木 淳^a, 貞升 健志^e

東京都では、2020年1月から新型コロナウイルス感染症（COVID-19）患者の発生が報告され、2021年6月現在、累計15万人以上の感染者が報告されている。COVID-19は呼吸器症状を主徴とするが、稀に下痢等の消化器症状を引き起こすことが報告されており、感染者の糞便からも新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）が検出される。そのため、SARS-CoV-2の感染状況のモニタリング方法として下水の検査が注目されてきた。今回、都内水再生センターの下水（流入水及び放流水）を対象に、定点調査（2020年7月～8月、2地点）・広域調査（2020年11月第3週、20地点）を実施し、SARS-CoV-2の遺伝子検査・分離培養試験を試みた。その結果、全ての放流水ではSARS-CoV-2遺伝子が検出されず、定点調査の連続した期間の流入水、広域調査の20地点中6地点の流入水の主として遠心沈渣からSARS-CoV-2遺伝子が検出されたが、ウイルスは分離されなかった。

キーワード：下水，新型コロナウイルス，SARS-CoV-2，沈渣，リアルタイムPCR法，ウイルス分離

はじめに

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）を原因とする感染症で、国内のみならず世界的な感染拡大が発生し、現在においても収束には至っていない。都内では2020年1月にCOVID-19患者が初めて報告された以降、2021年1月をピークに15万人以上の感染者が確認されている（2021年6月現在）¹⁾。

COVID-19は発熱や呼吸器症状等を主徴とし、鼻咽頭や喀痰、唾液からウイルスが多く検出されるのが特徴である。一方で、稀に下痢等の消化器症状を引き起こすことが確認されており、一部の感染者の糞便からSARS-CoV-2遺伝子が検出されることが報告されている^{2,3)}。また、糞便からSARS-CoV-2遺伝子が検出された場合で、呼吸器検体より長い間検出され続けた事例も報告されている^{4,7)}。

糞便中にウイルスが排出されるA型肝炎ウイルスやノロウイルス等では、正確な流行状況の把握や流行の早期探知を目的とし、下水を対象としたウイルスモニタリングがスウェーデンやイタリア等で試みられている⁸⁾。同様に、下水中のSARS-CoV-2のモニタリングが近年注目されており、国外ではドイツやイタリア、国内では山梨県等で調査が実施され、下水（未処理）からSARS-CoV-2遺伝子が検出されている⁹⁻¹¹⁾。一方で、下水のウイルス濃縮やRNA抽出等の検査法は画一化されておらず、十分な検討が求められている。

東京都では、2019年度から下水試料を対象に陰電荷膜

法によるウイルス濃縮を用いて、ポリオウイルスサーベイランス（感染症流行予測調査・感染源調査）を実施している。本調査においてポリオウイルスは検出されていないものの、下水試料からエンテロウイルス等の遺伝子検出やウイルス分離ができており、検査の有用性が確認されている¹²⁾。今回、本検査法及び下水中の新型コロナウイルス検出マニュアル（国立感染症研究所）¹³⁾を参考に、下水からのSARS-CoV-2の遺伝子検出・ウイルス分離試験を試みたので、検出状況を報告する。

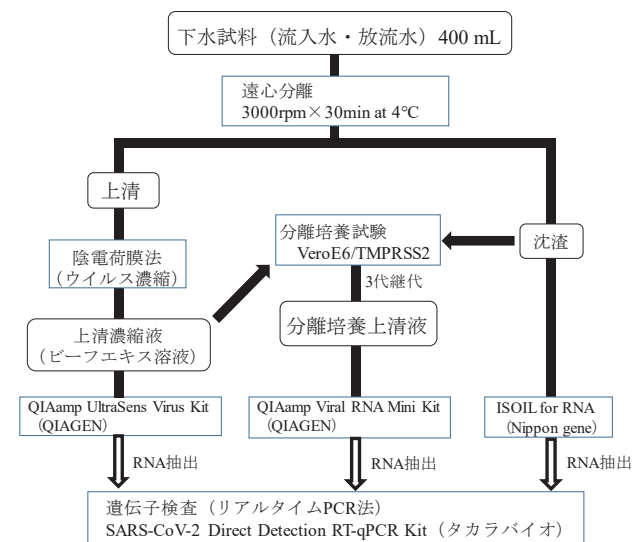


図1. 下水試料からの核酸抽出及びSARS-CoV-2遺伝子検査、分離検査の流れ

- ^a 東京都健康安全研究センター微生物部ウイルス研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1
- ^b 東京都健康安全研究センター微生物部病原細菌研究科
- ^c 東京都下水道局施設管理部環境管理課
- ^d 東京都健康安全研究センター企画調整部健康危機管理情報課
- ^e 東京都健康安全研究センター微生物部

実験方法

1. 供試材料

1) 定点調査 (2020年7月～8月)

2020年7月第1週～第5週, 8月第1週～第4週において, 都内2か所の水再生センター (処理場A, B) より流入水を週1回 (計9回), 放流水を隔週1回 (計4回) の頻度で下水400 mLをスポット採水し, 供試した。

2) 広域調査 (2020年11月第3週)

広域調査として, 2020年11月第3週に都内水再生センター20地点 (PL-1～PL-20) の流入水および放流水を400 mLスポット採水し, 供試した。

2. 下水試料の前処理

下水試料400 mLを4℃で3,000 rpm×30分間遠心分離を行い, 沈渣4 mL及び上清に分離した後, それぞれ回収した (図1)。

3. 上清試料の濃縮 (陰電荷膜法)

Ozawaら¹⁴⁾および熊谷ら¹²⁾の報告を参考に上清400 mLを1.0 μm孔径グラスファイバーフィルターによりろ過を行った。塩化マグネシウムを終濃度0.05 Mになるよう添加し, 塩酸でpH3.5に調整後, 上清を陰電荷膜 (0.45 μm孔径フィルター) でろ過吸着した。陰電荷膜を裁断した後, 3%ビーズエキスを8 mLを用いてウイルス誘出を実施し, 上清濃縮液 (50倍濃縮液) を得た。

4. 各種検体からの核酸抽出

1) 沈渣

沈渣 800 μL から ISOIL for RNA (Nippon gene) を用いて核酸抽出を行い, RNA 抽出液 40 μL を得た。

2) 上清濃縮液

上清濃縮液 2 mL から QIAamp UltraSens Virus Kit (QIAGEN) を用いて核酸抽出を行い, RNA 抽出液 60 μL を得た。

5. SARS-CoV-2遺伝子検査

1) 標準コントロールの調製

SARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR Kit (タカラバイオ) 付属のPositive Control RNA (1.0×10^7 copies/μL) を10段階希釈し, 1.0×10^7 copies/μLから 1.0×10^5 copies/μLまでの希釈系列を作製した。

2) 遺伝子検査 (リアルタイムPCR法)

SARS-CoV-2 遺伝子検出・ウイルス分離マニュアル Ver.1.1¹⁵⁾ 及び熊谷ら¹⁶⁾の報告を参考に, SARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR Kit (タカラバイオ) を用いて定量検査を実施した。RNA抽出液5 μLとRT-qPCR反応液45 μLを混合し (最終反応量50 μL), 52℃5分, 95℃10秒反応させた後, 95℃5秒, 60℃30秒のサイクルを45回繰り返した。

下水中の新型コロナウイルス検出マニュアル¹³⁾を基に, トウガラシ微斑ウイルス (Pepper mild mottle virus, PMMoV) の検出をプロセスコントロールとした。RNA抽出液3 μL, 各プライマー100 μM 0.5 μL, プローブ10 μM 0.5 μLおよびQuantiTect Probe RT-PCR Kit (QIAGEN) を使用し (最終反応量25 μL), 50℃40分, 95℃15分反応させた後, 94℃15秒, 60℃1分のサイクルを45回繰り返した。なお, これらリアルタイムPCR法は, 検出機器としてQuantiStudio 12K Flex Real-time PCR System (サーモフィッシュャー) を使用した。

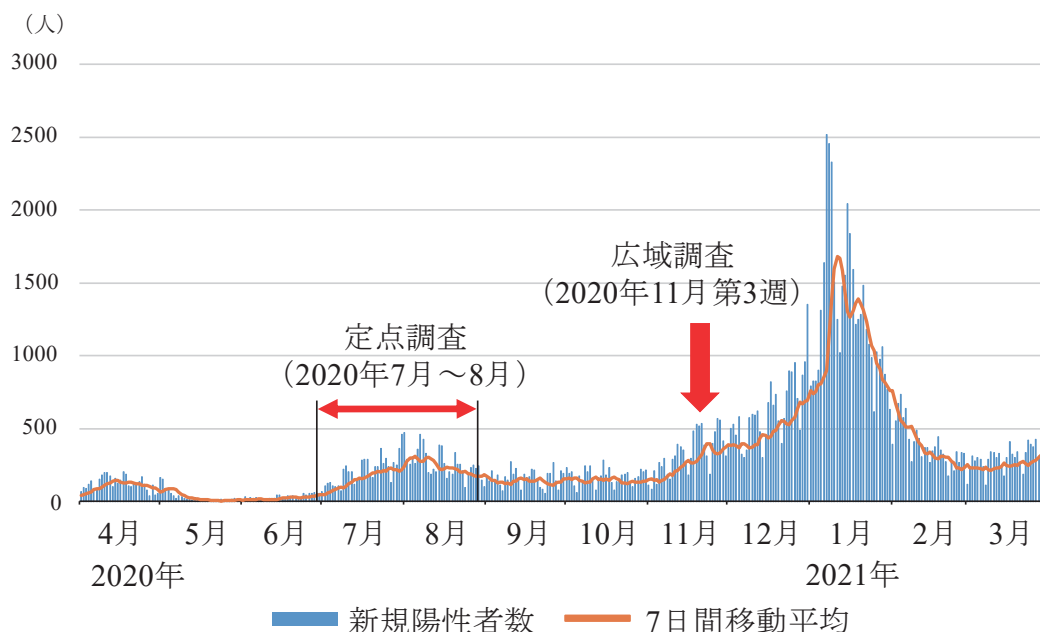


図2. 東京都の新規陽性者数及び7日間移動平均 (2020年度)

6. SARS-CoV-2 分離培養検査

定点調査（2020 年 7 月～8 月）の全検体，広域調査（2020 年 11 月）における遺伝子検査の陽性検体を対象として，SARS-CoV-2 遺伝子検出・ウイルス分離マニュアル Ver.1.1¹⁵⁾を参考に，VeroE6/TMPRSS2 細胞を用いてウイルス分離試験を行った．24 ウェルプレートを用いて，沈渣は 2 ウェルに各 160 μ L ずつ，上清濃縮液は 2 ウェルに各 100 μ L ずつ接種し，3 代継代を行った後，細胞変性効果（CPE）の有無に関わらず，培養上清液を回収した．さらに，培養上清液 140 μ L から QIAamp Viral RNA Mini Kit（QIAGEN）を用いて核酸抽出を行い，RNA 抽出液 60 μ L を得た後，前述 5. で示した SARS-CoV-2 遺伝子検査を実施した．

7. 沈渣試料を対象とした遺伝子検査迅速化の検討

1) 試料調製

下水試料から前述2. の方法で回収し，前述5. で示した SARS-CoV-2 遺伝子検査で陰性となった沈渣を供試した．

東京都における SARS-CoV-2 分離株 2 株として TKYT 78062_2021（アルファ株：Accession No. LC606022），TKYT7134_2021（デルタ株：LC632066）の培養上清液を 90℃5 分の加熱により，不活化処理を行った．それぞれ，培養上清液を 10⁴ 倍から 10⁶ 倍までの希釈系列を作製した後，沈渣 2 mL に培養上清希釈液 200 μ L を添加・混和し，ウイルス含有沈渣を得た．

2) 核酸抽出試薬を用いた遺伝子検査法

ウイルス含有沈渣 400 μ L から ISOIL for RNA（Nippon

表 1. 都内水再生センター（処理場 A 及び B）の下水（流入水・放流水）試料からの SARS-CoV-2 検出状況
（定点調査：2020 年 7 月～8 月）

			7 月					8 月			
			第1週	第2週	第3週	第4週	第5週	第1週	第2週	第3週	第4週
処理場 A	流入水	遺伝子検査 ウイルス量 (copies/L)	沈渣	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
			上清	(-)	(-)	<5.0×10 ²	<5.0×10 ²	<5.0×10 ²	<5.0×10 ²	<5.0×10 ²	<5.0×10 ²
	放流水	分離培養検査	沈渣・上清	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
		遺伝子検査 ウイルス量 (copies/L)	沈渣	NT	(-)	NT	(-)	NT	(-)	NT	NT
			上清	NT	(-)	NT	(-)	NT	(-)	NT	NT
		分離培養検査	沈渣・上清	NT	(-)	NT	(-)	NT	(-)	NT	NT
処理場 B	流入水	遺伝子検査 ウイルス量 (copies/L)	沈渣	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
			上清	(-)	(-)	(-)	<5.0×10 ²	<5.0×10 ²	(-)	(-)	(-)
	放流水	分離培養検査	沈渣・上清	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
		遺伝子検査 ウイルス量 (copies/L)	沈渣	NT	(-)	NT	(-)	NT	(-)	NT	NT
			上清	NT	(-)	NT	(-)	NT	(-)	NT	NT
		分離培養検査	沈渣・上清	NT	(-)	NT	(-)	NT	(-)	NT	NT

NT : not tested

表 2. 都内水再生センター 20 地点における下水（流入水・放流水）試料からの SARS-CoV-2 検出状況
（広域調査：2020 年 11 月第 3 週）

			PL-1	PL-2	PL-3	PL-4	PL-5	PL-6	PL-7	PL-8	PL-9	PL-10
流入水	遺伝子検査 ウイルス量 (copies/L)	沈渣	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
		上清	<5.0×10 ²	<5.0×10 ²	3.0×10 ³	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	分離培養検査	沈渣・上清	(-)	(-)	(-)	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
放流水	遺伝子検査 ウイルス量 (copies/L)	沈渣	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
		上清	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	分離培養検査	沈渣・上清	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
			PL-11	PL-12	PL-13	PL-14	PL-15	PL-16	PL-17	PL-18	PL-19	PL-20
流入水	遺伝子検査 ウイルス量 (copies/L)	沈渣	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
		上清	(-)	8.4×10 ²	<5.0×10 ²	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
	分離培養検査	沈渣・上清	NT	(-)	(-)	NT	NT	NT	1.1×10 ³	NT	NT	NT
放流水	遺伝子検査 ウイルス量 (copies/L)	沈渣	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
		上清	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	分離培養検査	沈渣・上清	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT

NT : not tested

gene)を用いてRNA抽出液20 µLを得た後、前述の5. で示した遺伝子検査を実施した(以降、IFR法: ISOIL for RNA抽出検査法)。

3) 全自動遺伝子検査装置(パンサーシステム)を用いた遺伝子検査法

全自動遺伝子検査装置(パンサーシステム、HOLOGIC社)専用の検体チューブ(Aptima Specimen Transport Tube)の保存液2.9 mLから1 mL除去した後、ウイルス含有沈渣1mLを添加した。これを十分に転倒混和した後、2,500 rpm×5分で遠心分離し、アプティマSARS-CoV-2キットを用いて全自動遺伝子検査装置による遺伝子検査を実施した(以降、PS法: パンサーシステム検査法)。

結果及び考察

1. 定点調査(2020年7月～8月)

流入水においては、処理場Aの沈渣7検体(7月第3週～8月第4週)、処理場Bの沈渣2検体(7月第4週・第5週)でSARS-CoV-2遺伝子が検出された(表1)。陽性9検体については、全て 5×10^2 copies/L未満であり、分離培養検査は陰性であった。新規陽性者は7月第5週から8月第1週において7日間移動平均(1日あたり約300人)がピークを迎えており(図2)より、今回の定点調査で処理場A及びBの両方で遺伝子が検出された時期(7月第4週・第5週)と概ね一致していた。また、沈渣からSARS-CoV-2遺伝子が検出される傾向が認められた。

放流水においては、全ての検体で遺伝子が検出されず、処理場の下水処理によりウイルスが十分に除去されたものと考えられた。

2. 広域調査(2020年11月第3週)

水再生センター20地点を対象とした調査において、流入水では6地点(PL-1～PL-3, PL-12, PL-13, PL-17)からSARS-CoV-2遺伝子が検出され、さらに分離培養試験を実施した結果、全て陰性であった(表2)。一方で、放流水では全ての地点で遺伝子が検出されず、処理場の下水処理によりウイルスが十分に除去されたものと考えられた。

遺伝子が検出された各地点の下水中のSARS-CoV-2遺伝子量は、PL-3(沈渣)で 3.0×10^3 copies/L、PL-12(沈渣)で 8.4×10^2 copies/L、PL-17(上清)で 1.1×10^3 copies/Lであり、PL-1(沈渣)、PL-2(沈渣)、PL-13(沈渣)では 5×10^2 copies/L未満であった。このことから、定点調査と同様に、沈渣からより効率的に遺伝子が検出されることが確認された。また、遺伝子が検出された検体の一部については変異株解析を試みたが、下水中のウイルス遺伝子量が少なかったため、リアルタイムPCR法等による遺伝子解析は困難であった(データ非公表)。

新規陽性者数の7日間移動平均は、2020年7月第4週・第5週付近で約200人から300人、11月第3週付近は約400人で推移していたが、検出された遺伝子量は11月第3週でやや多い傾向があったものの、大きな差異は認められなかった

(図2)。また、11月第3週以降、都内では大きな感染拡大が認められたが、本調査では20地点中14地点で遺伝子は検出されず、地域差が認められることから、下水中のウイルス量モニタリングによる広域的な流行の早期探知は困難であると推察された。

今回の調査において、下水(流入水)から検出された遺伝子量は、最大で 3.0×10^3 copies/Lで、多くの検体で定量限界未満(5×10^2 copies/L)であった。一方で、検査方法は異なるものの、フランス(パリ)では最大で約 10^6 copies/L、アメリカ(モンタナ州、マサチューセッツ州)では約 $10^4 \sim 10^5$ copies/Lとウイルス量が多く検出されている⁶⁾。調査時の東京では、これら諸外国と比較し人口当たりの感染者数が少なく、これに相関し下水中のウイルス量が少なかった可能性が推察された。また、大規模下水処理場の検体は、感染者糞便の希釈される割合が非常に高いことも要因として考えられ、本検査法の感度では早期の流行状況を把握できないことが示唆された。

3. 全自動遺伝子検査装置を用いた検査

本調査では沈渣からSARS-CoV-2遺伝子が検出される傾向が認められたことから、多検体処理を目的とし、沈渣検体を対象とした簡便かつ高感度な検査法の検討を試みた。その結果、SARS-CoV-2分離株であるTKYT78062_2021、TKYTK1734_2021共に、IFR法で 10^4 倍希釈、PS法で 10^4 倍希釈、 10^5 倍希釈で遺伝子が検出された(表3)。このことから、PS法はIFR法と比較し、同等以上の感度であることが示された。

表3. IFR法及びPS法におけるSARS-CoV-2含有沈渣に対する検出感度

分離株	TKYT78062_2021			TKYTK1734_2021		
希釈倍率	10^4	10^5	10^6	10^4	10^5	10^6
IFR法	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
PS法	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)

IFR法はウイルス定量検査が可能なものの、試薬や消耗品の消費が多く、また、核酸抽出操作において煩雑な工程が多いため、コンタミネーションのリスクが高い等の欠点がある。一方で、PS法は専用の検査機器を必要とするが、沈渣を専用チューブに直接添加するため、コンタミネーションのリスクは著しく低い。さらに、操作が遠心分離のみと簡便なため、多検体処理に有用な手法であると考えられた。特に、高齢者施設や病院、学校等の特定の施設を対象とした下水調査を行う場合には、有効な手法となり得る可能性が示唆された。実際に、東京都においても、都立学校等周辺の下水を採水し、SARS-CoV-2遺伝子検査を実施した結果、SARS-CoV-2遺伝子が検出された例がある¹⁷⁾。こういった事例を踏まえ、PS法等を活用した簡便かつ迅速な検査法の構築を進めることが必要である。

本検討では、加熱処理されたウイルスを沈渣に添加し実施しており、実際の下水中環境とは異なることが推察され

る。そのため、今後、下水試料を対象に本検査法を実施し、検査の有効性を確認する等、十分な検討を行っていく必要がある。

ま と め

都内水再生センターの下水（流入水・放流水）を対象に、定点調査（2地点）、広域調査（20地点）を実施し、SARS-CoV-2の遺伝子検査・分離培養試験を試みた。その結果、定点調査では、新規陽性者数と一部連動した形で流入水から遺伝子が検出され、広域調査では20地点中6地点の流入水から遺伝子が検出された。さらに、下水からの遺伝子検査の迅速化と自動化を検討した結果、全自動遺伝子検査装置を用いた方法（PS法）は、核酸抽出キットを用いた遺伝子検査法（IFR法）と比較し同等以上の検出感度であった。

文 献

- 1) 東京都：新型コロナウイルス感染症対策サイト,
<https://stopcovid19.metro.tokyo.lg.jp/>（2021年6月30日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性はある）
- 2) WHO：Water, sanitation, hygiene, and waste management for SARS-CoV-2, the virus that causes COVID-19, July 29, 2020.
https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/333560/WHO-2019-nCoV-IPC_WASH-2020.4-eng.pdf（2021年6月30日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性はある）
- 3) Xiao, F., Tang, M., Zheng, X., *et al.* *Gastroenterology*, **158**, 1831-1833, 2020.
- 4) Wölfel, R., Corman, V., Guggemos, W., *et al.* *Nature*, **581**, 465-469, 2020.
- 5) Lescure, FX., Bouadma, L., Nguyen, D., *et al.* *Lancet Infect Dis*, **20**, 697-706, 2020.
- 6) Kitajima, M., Ahmed, W., Bibby, K., *et al.* *Sci Total Environ*, **739**, 139076, 2020.
- 7) Cai, J., Xu, J., Lin, D., *et al.* *Clin Infect Dis*, **71**, 1547-1551, 2020.
- 8) Hellmér, M. Paxéus, N. Magnus, L., *et al.* *Appl Environ Microbiol*, **80**, 6771-6781, 2014.
- 9) Haramoto, M. Malla, B. Thakali, O., *et al.* *Sci Total Environ*, **737**, 140405, 2020.
- 10) Westhaus, S. Weber, FA. Schiwy, S., *et al.* *Sci Total Environ*, **751**, 141750, 2021.
- 11) Rimoldi, G. S., Stefani, F. Gigantiello, A., *et al.* *Sci Total Environ*, **744**, 140911, 2020.
- 12) 熊谷遼太, 長島真美, 根岸あかね, 他：東京健安研七 年報, **71**, 79-83, 2020.
- 13) 国立感染症研究所：下水中の新型コロナウイルス検出マニュアル（ver 1.1）,
https://www.niid.go.jp/niid/images/vir2/polio/SC2_sewage_manual_1.pdf（2021年6月30日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性はある）
- 14) Ozawa, H., Yoshida, H., Usuku, S., *et al.* *Appl Environ Microbiol*, **85**, e01604-19, 2019.
- 15) 国立感染症研究所：「感染研・地衛研専用」SARS-CoV-2 遺伝子検出・ウイルス分離マニュアル Ver 1.1,
https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/SARS-CoV-2_gene_detect_and_isolation_manual_Ver1_1.pdf
（2021年6月30日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性はある）
- 16) 熊谷遼太, 長島真美, 浅倉弘幸, 他：東京健安研七 年報, **71**, 73-78, 2020.
- 17) 東京都下水道局：下水中に含まれる新型コロナウイルスの流行状況調査の結果について（最終報）,
https://www.gesui.metro.tokyo.lg.jp/news/2021/0506_4154.html（2021年6月30日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性はある）

Detection of SARS-CoV-2 RNA in Untreated Wastewater in Tokyo (July 2020– November 2020)

Ryota KUMAGAI^a, Mamiyo KAWAKAMI^a, Masaki HAYASHI^a, Fumi KASUYA^a, Takako YAMAZAKI^a,
Emiko KAKU^a, Isao YOSHIDA^a, Kinji YAMADA^b, Norihisa KASHIHARA^b, Kenshi MORITA^b,
Tomoya KANEYASU^b, Haduki TSUCHIYA^b, Hiroki ISHII^b, Hiroyuki ASAKURA^a, Miyuki NAGANO^a,
Yurie KITAMURA^a, Yu YAOITA^a, Sachiko HARADA^a, Akane NEGISHI, Ai SUZUKI^a,
Tomohiro KOSUGI^a, Takushi FUJIWARA^a, Michiya HASEGAWA^a, Hirofumi MIYAKE^a,
Kohji MORI^a, Mami NAGASHIMA^a, Takashi CHIBA^a, Jun SUZUKI^a and Kenji SADAMASU^a

In Tokyo, coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases had been reported since January 2020, and as of June 2021, 150,000 infected people had been reported. COVID-19 caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) is characterized by respiratory symptoms, fever, tiredness, and rarely, gastrointestinal symptoms, such as diarrhea. Some studies reported that SARS-CoV-2 RNA had been detected in the stools of patients with COVID-19 and in untreated wastewater at sewage plants.

In this study, we conducted a fix-point survey from July to August 2020 and a simultaneous survey in the third week of November 2020 at sewage plants in Tokyo to monitor SARS-CoV-2 in wastewater. Untreated wastewater samples were collected nine times and treated wastewater samples were collected four times from two sewage plants in the fix-point survey, and untreated and treated wastewater samples were collected from 20 sewage plants each in the simultaneous survey. The wastewater samples were surveyed for SARS-CoV-2 RNA detection using real-time PCR and subjected to infectivity test on culture cells. Therefore, SARS-CoV-2 RNA was detected in untreated wastewater samples for up to 7 weeks in the fix-point survey and was detected in 6 of 20 untreated wastewater samples in the simultaneous survey but not detected in all treated wastewater samples in both surveys. Additionally, SARS-CoV-2 was not isolated from all wastewater samples.

Keywords: wastewater, COVID-19, SARS-CoV-2, sediment, real-time PCR, virus isolation

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

^b Bureau of Sewerage, Tokyo Metropolitan Government