

利根川大堰地点及び小山川下流地点における河川水中の濁度、硝酸態窒素 ( $\text{NO}_3\text{-N}$ )、大腸菌群 (TC)、糞便性大腸菌群 (FC)、大腸菌 (*E.coli*)、嫌気性芽胞菌 (As)の濃度をそれぞれ表3、4に示した。

河川水中のオーシストの指標水質項目として、いくつかの微生物指標、化学指標が提案されている。平成13年に改定された「水道水中のクリプトスポリジウム暫定対策指針」(厚生労働省、2001年)の中で、水道原水のクリプトスポリジウム汚染の可能性の有無を判定するための指標として、大腸菌、嫌気性芽胞菌を上げている。TC、FC、*E.coli*、Asは、年間をとおして、利根川大堰地点ではそれぞれ  $10^3\sim 10^5$ (MPN/100ml)、 $10^2\sim 10^5$ (MPN/100ml)、 $10^1\sim 10^3$ (MPN/100ml)、 $10^1\sim 10^2$ (CFU/100ml)、小山川下流地点ではそれぞれ  $10^4\sim 10^5$ (MPN/100ml)、 $10^3\sim 10^4$ (MPN/100ml)、 $10^2\sim 10^3$ (MPN/100ml)、 $10^1\sim 10^3$ (CFU/100ml)であった。小山川下流地点は、利根川大堰地点と比較してそれぞれの濃度が高い傾向にあった。TC、FCは、利根川大堰地点では季節変動が大きく、日内の濃度が2オーダーの変動する月(2005年9月)が見られた。オーシスト濃度が低い値を示した月(例えば利根川大堰地点2005年9、10月)でもTC、FC、*E.coli*濃度が高い値を示したのに対して、Asは低い値のままであったことから、Asは、オーシストの指標として他の微生物指標より優れていることがわかった。

濁度については、降雨が河川水中のクリプトスポリジウム濃度を変動させる要因の1つと考えられているため、クリプトスポリジウム汚染指標の1つとして選定されている。本調査では、採水時の3日以内で降雨が観測された月は6月であり、前々日1(mm)、前日10(mm)、当日26(mm)であった。ここで、雨量は、小山川近傍の三峰雨量観測所のデータ(雨量年表、国土交通省河川局監修)を用いた。小山川下流地点の6月の濁度は、20.1度であり、他の月1.5~5.3度と比べると約4倍以上の値を示し、降雨に伴い濁度が上昇した。また、As濃度も高い値を示した。一般に、Asは水中に微粒子と付着した状態で存在する細菌とは異なり、単独で存在することから、濁度と同じような挙動と示すといわれており、本調査でもこのような傾向が見られた。降雨の有無により濁度、As濃度とオーシスト濃度との間には、相関が見られなかった。従って、小山川流域は、河川水中のオーシスト及びシストの濃度変動は、降雨ではなく、家畜飼育施設排水、生活排水処理水の点源負荷による影響が大きいことが示唆された。

#### D. 結論

本研究では、水道水源河川水中のクリプトスポリジウム、ジアルジア汚染レベルの上昇の要因を明らかにするため、利根川とその上流に位置する支流の小山川の表流水を採取し、クリプトスポリジウム及びジアルジアの個数を測定し、濃度変動を明らかにした。その結果、以下のことが明らかになった。

- (1) 支流の小山川のクリプトスポリジウム及びジアルジアの汚染レベルは、本川の利根川に比べ高い傾向を示した。

- (2) 小山川では、クリプトスポリジウムの月別の平均濃度は、最大 807(oocysts/100L)を示し、本川に比べ2 オーダ高い月もあった。月別で最大濃度を示した月で、日内の濃度変動を見ると、最小2~最大 3214(oocysts/100L)であり、非常に大きな変動を示した。
- (3) 単離したクリプトスポリジウムの種・遺伝子型は、*Cryptosporidium parvum* bovine genotype (ヒトへの感染性あり)、*C. meleagridis* (同あり)、*C. muris* (同あり)、*C. parvum* pig genotype I (同なし)、*C. parvum* pig genotype II (同なし)、*C. baileyi* (同なし)、*C. andersoni* (同なし) であり、ヒトへ感染を示す種・遺伝子型の存在が明らかになった。各月でクリプトスポリジウムの種・遺伝子型の相対比はことなり、クリプトスポリジウムが高濃度で検出された2、11月で、ヒトへの感染性を示す *C. parvum* bovine genotype が検出された。
- (4) 小山川流域は、河川水中のクリプトスポリジウム及びジアルジアの濃度変動は、家畜飼育施設排水、生活排水処理水の点源負荷による影響が大きいことが示唆された。

#### E. 文献

Morgan UM, Constantine CC, Forbes DA and Thomson RC, Differentiation between human and animal isolates of *Cryptosporidium parvum* using rDNA sequencing and direct PCR analysis, *J Parasitol*, 83(5), 825-830, 1997

平田強、金子光美、クリプトスポリジウム等による水系感染症に係わる健康リスク評価及び管理に関する研究 平成17年度総括・分担研究報告書、2006

T.Kistemann, T.Claßen, C. Koch, F. Dangendorf, R. Fischeder, J. Gebel, V. Vacata and M. Exner, Microbial Load of Drinking Water Reservoir Tributaries during Extreme Rainfall and Runoff, *Applied and Environmental Microbiology*, 2188-2197, 2002

Zhou L, Kassa H, Tischler ML, Xiao L.: Host-adapted *Cryptosporidium* spp. in Canada geese (*Branta canadensis*). *Appl Environ Microbiol*. 2004 ;70:4211-5.

厚生労働省、水道におけるクリプトスポリジウム暫定対策指針、2001

#### F. 健康危機管理情報

なし

#### G. 研究発表

誌上発表

なし

学会発表

李華芳、秋葉道宏、国包章一：Survey of Contamination with *Cryptosporidium* in the Tone River、第40回日本水環境学会年会（2006.3、仙台）

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表3 利根川大堰地点におけるクリプトスポリジウム、ジアルジア、指標水質項目の調査結果

Date	Turbidity[NTU]		NO <sub>3</sub> -N[mgN/L]		TC(×10 <sup>3</sup> )/[100mL]		FC(×10 <sup>3</sup> )/[100mL]		E. coli(×10 <sup>3</sup> )/[100mL]		AS(×10 <sup>3</sup> )/[100mL]		Crypto[100L]		Giardia[100L]															
	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Ave.													
2004-2005																														
1216	13.7	5.5	9.8	8	3.20	2.65	2.85	8	246.3	70.3	140.1	8	4.8	2.5	3.8	8	1.83	0.53	6.13	0.15	0.24	8	38	11	23	8	36	10	19	
0127	5.7	3.3	4.3	8	2.50	2.30	2.41	8	8.6	3.0	5.4	8	1.1	0.1	0.4	8	0.11	0.01	0.11	0.16	0.19	8	48	10	30	8	89	32	58	
0227	2.9	2.2	2.5	8	2.25	2.00	2.15	8	11.8	2.7	7.3	8	1.2	0.4	0.8	8	0.05	0.01	0.03	0.13	0.17	8	15	2	9	8	68	20	38	
0329	8.6	3.0	4.4	8	2.35	2.15	2.24	8	41.3	3.4	10.3	8	5.1	1.6	3.4	8	0.09	0.02	0.05	0.17	0.24	8	7	0	3	6	33	6	26	
0629	15.7	5.5	9.3	8	0.93	0.72	0.79	8	136.3	13.2	30.6	8	31.1	4.2	8.1	8	1.50	0.05	0.26	0.30	0.43	8	21	1	7	8	59	28	40	
0724	6.6	4.0	5.6	8	1.31	1.26	1.29	8	15.2	8.4	11.0	8	6.8	2.9	4.0	8	0.18	0.02	0.06	0.15	0.22	8	8	0	2	8	26	8	19	
0831	7.7	5.2	6.5	8	2.80	2.00	2.43	8	17.9	6.4	12.8	8	14.2	7.6	9.9	8	0.29	0.11	0.20	0.19	0.24	8	4	0	1	7	39	18	28	
0929	4.9	3.7	4.1	8	3.71	2.77	3.21	8	266.7	9.5	77.7	8	148.0	8.2	54.4	8	2.25	0.31	0.93	0.09	0.07	0.08	8	1	1	1	1	32	13	20
1024	6.4	4.0	4.8	8	3.83	3.18	3.41	8	613.3	23.0	145.6	8	25.3	2.3	6.9	8	0.49	0.11	0.26	0.11	0.05	0.08	8	4	2	3	2	29	13	20
1108	7.6	3.1	5.8	8	2.67	2.43	2.55	8	122.7	27.4	49.3	8	11.1	1.7	4.0	8	1.35	0.35	0.63	0.17	0.05	0.11	8	24	12	18	2	18	5	11

表4 小山川下流地点におけるクリプトスポリジウム、ジアルジア、指標水質項目の調査結果

Date	Turbidity[NTU]		NO <sub>3</sub> -N[mgN/L]		TC(×10 <sup>3</sup> )/[100mL]		FC(×10 <sup>3</sup> )/[100mL]		E. coli(×10 <sup>3</sup> )/[100mL]		AS(×10 <sup>3</sup> )/[100mL]		Crypto[100L]		Giardia[100L]															
	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Ave.													
2004-2005																														
1217	2.3	1.9	2.1	3	7.60	6.90	7.20	3	43.0	14.0	25.3	3	2.3	1.6	1.9	3	0.88	0.37	0.55	0.26	0.29	3	83	56	70	3	145	130	138	
0128	3.6	2.2	2.6	4	6.00	5.80	5.90	4	23.0	15.0	18.5	4	3.9	3.0	3.3	4	1.70	0.63	1.05	0.44	0.52	4	58	7	30	4	256	99	185	
0228	3.7	2.5	3.1	4	4.70	4.40	4.48	4	-	-	-	4	-	-	-	4	-	-	-	-	-	4	62	1	25	4	79	18	58	
0303	6.3	4.2	5.3	4	4.60	4.20	4.43	4	-	-	-	4	-	-	-	4	-	-	-	-	-	4	18	3	8	4	124	43	79	
0629	31.4	13.1	20.1	4	1.40	0.90	1.25	4	200.0	130.0	157.5	4	51.0	37.0	43.3	4	6.30	3.20	4.80	2.10	1.10	1.60	4	100	9	44	4	414	113	271
0728	6.7	3.5	5.2	4	2.40	2.20	2.30	4	950.0	110.0	325.0	4	30.0	18.0	22.0	4	2.50	0.79	1.42	0.44	0.25	0.33	4	33	9	19	4	811	97	356
0901	3.5	2.5	3.0	4	5.05	4.15	4.50	4	25.4	22.1	23.3	4	16.2	9.2	12.6	4	0.43	0.22	0.30	0.38	0.28	0.32	4	3214	2	807	4	168	92	132
0903	3.2	2.3	2.6	4	7.14	5.36	6.50	4	23.5	14.7	20.6	4	7.4	4.0	5.3	4	0.71	0.31	0.51	0.21	0.07	0.13	4	14	8	13	4	52	46	48
1025	1.6	1.3	1.5	4	8.45	7.02	7.66	4	94.3	23.3	59.8	4	11.5	1.7	5.0	4	5.44	0.46	2.40	0.10	0.06	0.09	4	16	3	9	4	150	74	110
1109	3.0	1.7	2.2	4	7.11	5.44	6.16	4	67.3	13.1	34.1	4	6.0	1.2	3.1	4	1.57	0.32	0.78	0.52	0.10	0.23	4	1782	12	617	3	3723	517	2031

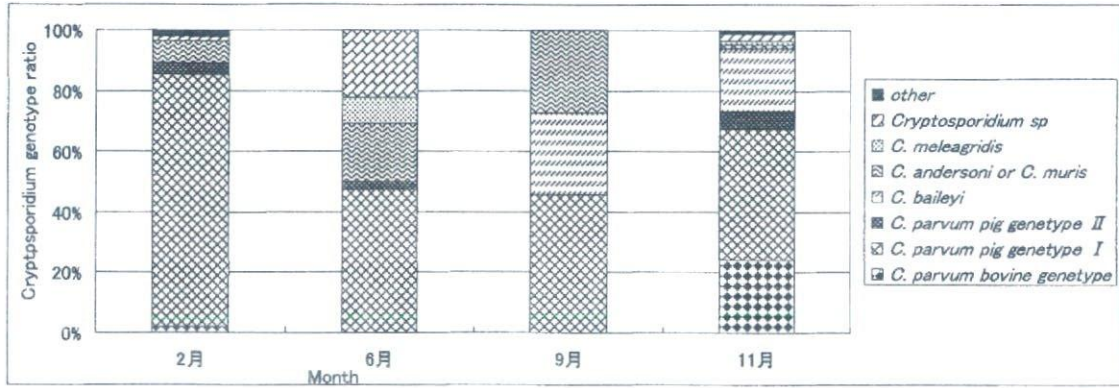


図2 クリプトスポリジウムの種・遺伝子型の相対比

## 分担研究報告書 5

### 河川および内湾底泥中のクリプトスポリジウム存在量調査

分担研究者 大村達夫

研究協力者 渡部 徹、真砂佳史

# 河川および内湾底泥中のクリプトスポリジウム存在量調査

分担研究者 大村達夫 東北大学大学院工学研究科

協力研究者 渡部 徹 東北大学大学院工学研究科

真砂佳史 東北大学大学院工学研究科

## 研究要旨

河川水中のクリプトスポリジウム濃度は、降雨により引き起こされる濁度上昇に伴い上昇することが知られている。本研究では、その濃度上昇は、河川底泥の再懸濁により引き起こされると仮定し、河川およびその河川が流入する内湾の底泥中のクリプトスポリジウムの存在量を調査した。その結果、クリプトスポリジウムは、河川底泥（陽性率33%）、内湾底泥（同30%）の双方から検出され、その最大濃度は、それぞれ1660 oocysts/g、154 oocysts/gと非常に高かった。一方、河川水試料からはクリプトスポリジウムが検出されなかった。これにより、底泥の再懸濁により、河川水中のクリプトスポリジウム濃度が急激に上昇する可能性が示された。さらに、内湾の測定地点の中で、河口に近い地点の方が、遠い地点より高濃度であったことから、汚染源から排出されたクリプトスポリジウムが、河川を経由して内湾に移動する中で、拡散しながら沈降し、底泥に蓄積している可能性が示された。

## A. 研究目的

昨年度、利根川においてクリプトスポリジウムの存在状況調査が行われ、河川水中のクリプトスポリジウム濃度が大きな変動を持つことが示された。その濃度変動について量的および検出された遺伝子型の面から考察を行い、以下の知見が得られた。

降雨によって引き起こされる時間レベルの濃度変動に着目すると、降雨に伴い濁度が上昇した試料から、高頻度でクリプトスポリジウムが検出される傾向が見られた。降雨に伴う濃度上昇の原因としては、底泥の再懸濁、表面流出による面減汚染負荷の増加、下水の雨天時越流水などが考えられる。しかし、降雨による濃度上昇が、濁度の上昇とともに、降雨初期から起こっていることと、降雨期に検出されたクリプトスポリジウムの遺伝子型と、同時期の晴天時の試料から検出された遺伝子型とに大きな差異が見られなかったことから、降雨期に発生するクリプトスポリジウムの濃度上昇は、底泥の再懸濁がその要因である可能性が高いといえる。

以上の知見は、河川底泥が、河川水中のクリプトスポリジウムの存在状況に大きな影響を与えていることを示唆している。そこで、本研究では、河川水中のクリプトスポリジウムの起源およびその挙動について、以下のような仮説を立てた。

河川水中のクリプトスポリジウムは、主に畜産排水や下水およびその処理水に由来する。その多くは直接流下して河口に到達するものの、一部は沈降して底泥中、主にその表面に蓄積する。

そして、降雨による流量増加時には、低泥の巻き上げとともに河川水中に再懸濁し、河川水中のクリプトスポリジウム濃度を押し上げる要因となる。

本年度は、上記の仮説を検証するため、河川およびその河川が流入する内湾の底泥中に存在するクリプトスポリジウムの存在量を調査した。そして、河川底泥が河川水中のクリプトスポリジウムのシンクとして機能している可能性を調査した。

## B. 研究方法

### 1) 試料の採取

2005年10月から2006年2月までの5ヶ月間に、高城川下流3地点(St. 6~8)および高城川が流入する松島湾内5地点(St. 1~5)において、採泥器により底泥を採取した。試料採取地点の位置を図1に示す。採取した底泥の表層部分をミクロスパーテルで2mLマイクロチューブに回収した。また、12月および1月の試料採取の際、河川底泥を採取した3地点(St. 6~8)にて河川水を20L採取し、河川水からのクリプトスポリジウムの検出を行った。

### 2) 底泥および河川水からのクリプトスポリジウムの検出

底泥0.5gからISOIL for Beads Beating(ニッポンジーン)を用いてDNAを抽出した。抽出DNA濃度をNanoDrop(Nanodrop inc.)で測定した。クリプトスポリジウムの検出および定量は、QProbe PCR法で行った。10月に採取した試料は、得られた抽出DNA溶液100 $\mu$ LをMicrocon YM-100(Millipore)でさらに濃縮し、液量を10 $\mu$ Lにしたものを全量検出に供した。その他の試料は、Microconによる再濃縮は行わず、抽出で得た100 $\mu$ Lのうち10 $\mu$ Lを供した。DNAの増幅および定量はライトサイクラー(Roche)を用いて行い、実験条件等は既報(真砂ら, 2004, 2005)に従った。ただし、増幅に用いたフォワードプライマー配列は、設計者の訂正にしたがい変更した(Xiao et al., 2000)。

河川水試料(20L)は、採水容器に採取し、研究室に持ち帰った後、MF中空糸膜(孔径0.1 $\mu$ m、

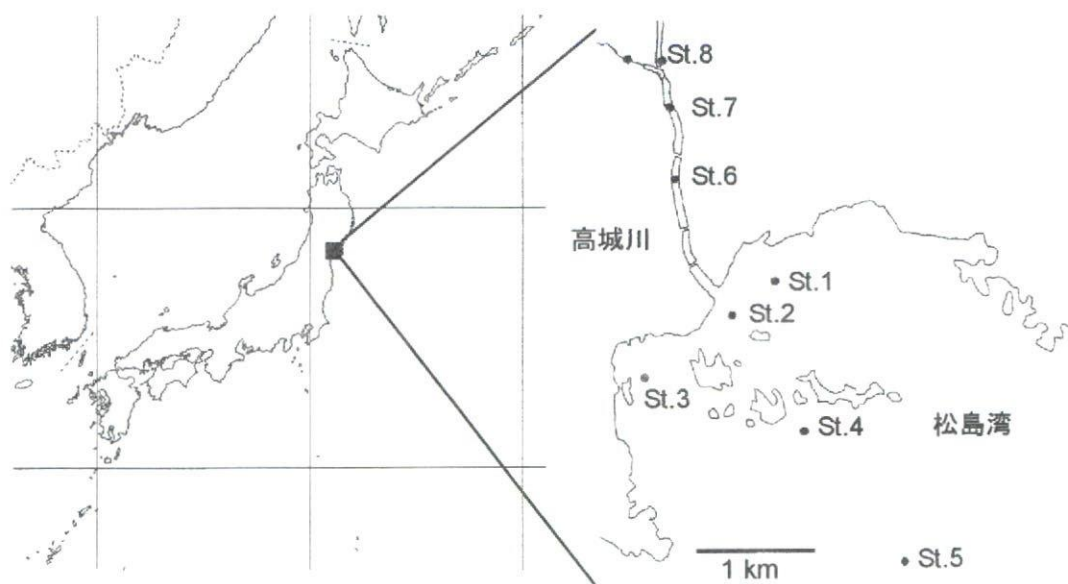


図1 調査対象地域と試料採取地点



有効濾過面積 3,000cm<sup>2</sup>、三菱レイヨン)にて濾過した。濾過速度は、U.S.EPA Method1623 (U.S.EPA, 1999) に倣い、2L/min を超えないように調整した。試料濾過後、U.S.EPA Method1623 に記載されている溶出バッファーを 100mL 添加し、膜モジュールを手でよく振って懸濁物質を再懸濁させ、50mL 遠沈管に回収した。膜モジュール中の懸濁物質を回収するため、上記操作を 3 回繰り返した。得られた濃縮液を遠心分離 (1,100×g、15min) によりさらに濃縮し、最終的に 1 つのペレットにまとめた。このペレットに対し、底泥からの検出と同じ手法でクリプトスポリジウムの検出および定量を行った。

### 3) 水質指標の測定

水質指標として、当該地点の河川水の大腸菌群 (M-FC 培地による培養法) および糞便性大腸菌群 (デソキシコレート培地による培養法) を測定した。

## C. 測定結果および考察

クリプトスポリジウムは、河川底泥 12 試料中 4 試料 (33%)、内湾底泥 10 試料中 3 試料 (30%) から検出された (表 1)。河川底泥中および内湾底泥中の最大濃度は、それぞれ 1660 oocysts/g、154 oocysts/g であった。このことより、河川底泥中には高い濃度でクリプトスポリジウムが存在していることが示された。一方、河川水試料 (6 試料) からクリプトスポリジウムが検出されなかった。仮に、河川水中の濁質がそのまま堆積しているのであれば、河川水中の懸濁物質にも、河川底泥と同程度にクリプトスポリジウムが存在しているはずである。今回の結果は、これに反したものであり、クリプトスポリジウムオーシストが、河川水中の他の懸濁物質と比較して沈降しやすいか、沈殿したオーシストが再懸濁しにくいという性質を持っている可能性が示された。

測定地点ごとの陽性率と、クリプトスポリジウム濃度の算術平均値を図 2 に示す。河川底泥には、内湾底泥より高濃度でクリプトスポリジウムが存在した。さらに、内湾の測定地点を比較すると、河口に近い地点 (St. 1,2,3) の方が、河口から離れた St. 4 および 5 より高濃度であった。したがって、汚染源から排出されたクリプトスポリジウムが、河川を經由して内湾に移動する中で、拡散しながら沈降し、底泥に蓄積していることが示された。

底泥中のクリプトスポリジウム濃度と、その他の測定項目 (抽出 DNA 濃度、河川水の大腸菌群数および糞便性大腸菌群数) との間には関連は見られなかった。

## D. 結論

本調査により、河川底泥中には、河川水中の懸濁物質よりはるかに高濃度でクリプトスポリジウムが存在していることが明らかとなった。今回調査対象とした底泥の表層部分は、河川流量の変化により容易に再懸濁される。したがって、この結果は、河川底泥が河川水中のクリプトスポリジウムの蓄積の場となっているという先の仮説を裏付ける結果であるといえる。今後は、本研究で対象とした高城川の上流域や、他の河川において同様の調査を行い、河川規模の違いや、底泥の質と底泥中のクリプトスポリジウム濃度の関連を調査することが望ましい。これにより、河川水系におけるクリプトスポリジウムの挙動解明という、公衆衛生の面で重要な知見を得ることができると考えられる。

表 1 底泥および河川水試料からのクリプトスポリジウムおよび各種水質指標測定結果

採取日	採取地点	河川および内湾底泥				河川水			
		DNA 濃度 ng/ $\mu$ L	クリプトスポリジウム oocysts/g 湿重	大腸菌群 CFU/mL	糞便性大腸菌群 CFU/mL	DNA 濃度 ng/ $\mu$ L	クリプトスポリジウム oocysts/g 湿重	大腸菌群 CFU/mL	糞便性大腸菌群 CFU/mL
10月12日	St.1	54	$1.5 \times 10^2$						
	St.2	31	11						
	St.3	49	4.0						
	St.4	28	非検出						
	St.5	34	非検出						
	St.6	20	$7.4 \times 10^2$						
	St.7	13	$1.6 \times 10^3$						
	St.8	53	非検出						
12月20日	St.6	31	$1.4 \times 10^3$	$1.2 \times 10^2$	2.3	$3.5 \times 10^2$			非検出
	St.7	27	非検出	$1.1 \times 10^2$	3.3	$5.1 \times 10^2$			非検出
	St.8	94	非検出	$1.1 \times 10^2$	0.67	$8.3 \times 10^2$			非検出
1月26日	St.1	54	非検出						
	St.2	27	非検出						
	St.4	$1.7 \times 10^2$	非検出						
	St.5	56	非検出						
	St.6	37	非検出	66	1.7	52			非検出
2月23日	St.7	2.0	$1.6 \times 10^3$	19	<1	54			非検出
	St.8	60	非検出	33	2.3	78			非検出
	St.6	6.2	非検出						
	St.7	54	非検出						
	St.8	$2.2 \times 10^2$	非検出						

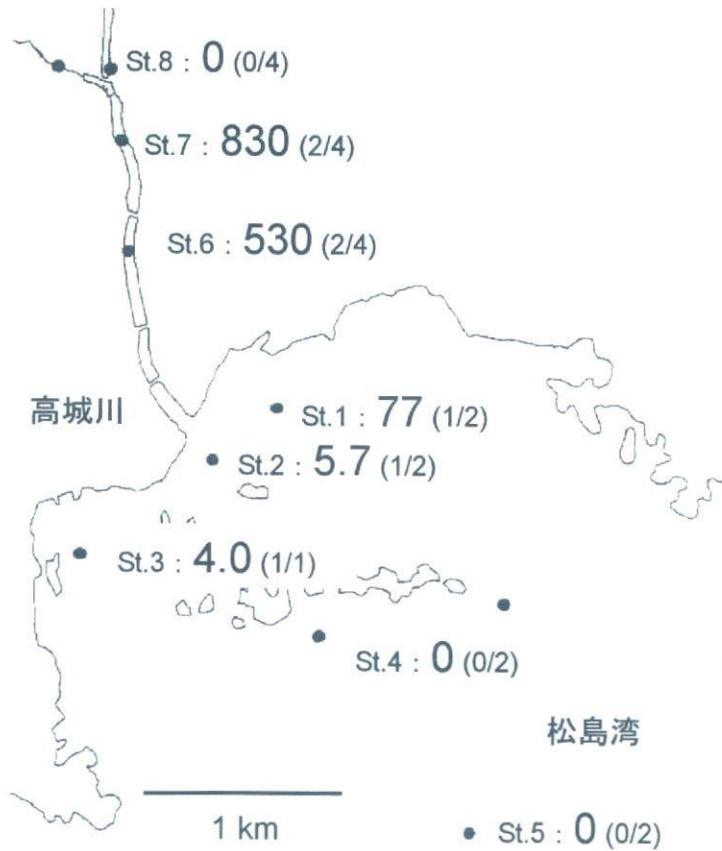


図2 測定地点ごとのクリプトスポリジウム濃度の算術平均値  
(括弧内は 陽性試料数/総試料数)

#### 参考文献

真砂佳史, 小熊久美子, 片山浩之, 大垣眞一郎: 消光型蛍光プローブを用いたリアルタイム PCR 法による水中のクリプトスポリジウムの定量および種別判定手法の開発, 環境工学研究論文集, Vol. 41, pp. 311-319, 2004.

真砂佳史, 小熊久美子, 片山浩之, 大垣眞一郎: Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) 法による水中のクリプトスポリジウムの種・遺伝子型判別手法の開発, 環境工学研究論文集, Vol. 42, pp. 591-600, 2005.

Morgan, U.M., Constantine, C.C., Forbes, D.A. and Thompson, R.C.A.: Differentiation between human and animal isolates of *Cryptosporidium parvum* using rDNA sequencing and direct PCR analysis. Journal of Parasitology, Vol. 83, Iss. 5, pp. 825-830, 1997.

U.S.EPA: USEPA Method 1623: *Cryptosporidium* and *Giardia* in Water by Filtration/IMS/FA. United States Environmental Protection Agency. Office of Water, Washington, DC. EPA 821-R-99-006, 1999.

Xiao, L., Alderisio, K., Limor, J., Royer, M. and Lal, A.A.: Identification of species and sources of *Cryptosporidium* oocysts in storm waters with a small-subunit rRNA-based diagnostic and genotyping tool. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 66, Iss. 12, pp. 5492-5498, 2000.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権出願・登録状況

なし

分担研究報告書 6

クリプトスポリジウム集団感染の前兆現象

分担研究者 遠藤卓郎

研究協力者 泉山信司

平成 17 年度厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業  
「クリプトスポリジウム等による水系感染症に係わる健康リスク評価  
及び管理に関する研究」 分担研究報告書

クリプトスポリジウム集団感染の前兆現象

分担研究者 遠藤卓郎 国立感染症研究所 寄生動物部  
協力研究者 泉山信司 国立感染症研究所 寄生動物部

概要

一般に感染事故は病原体の存在、施設等の不備、病原体の摂取の3つが同時に発生した際に生じるが、これをクリプトスポリジウム等耐塩素性病原微生物にあてはめると、原水中の病原体の存在、浄水処理の不備、非加熱飲料水の摂取に対応する。クリプトスポリジウム集団感染のきっかけとして浄水処理における問題がしばしば論じられて来たが、事故が顕在化する以前に前兆を捕らえることができれば事故を未然に防ぐことができる。事実、過去の報告によれば、急激に患者数が増加するしばらく前から原因不明の下痢症患者の発生が認められ、その一部はクリプトスポリジウム感染であったことも示されている。本報告は集団感染の前兆現象に焦点を当て、原水中の病原体の存在とその濃度を推計した。その結果、いわゆる前兆現象と見られる期間の水道水中のオーシスト数は0.01～0.02個/L算出され、仮に、2～3log程度の粒子除去が保障されている浄水施設を想定すれば、この間の原水中のオーシスト濃度は1～20個/Lに達しているものと推定された。

A. 目的

クリプトスポリジウム等耐塩素性微生物は塩素に強い抵抗性を示し水系感染を引き起こすことから問題となっている。凝集沈殿ろ過による物理除去では2ないし3-log程度の除去が達成され、リスク評価では適正なリスクの範囲内にあると考えられている。しかしながら、オーシスト濃度の突然の増加や降雨などにより多量のオーシストの流入が起これば(Extreme event)、水系集団感染につながり、その発生を防ぐことは困難であると考えられてきた。ところで、

水道を介した集団感染が生じる条件は、原水中にオーシストがあること、浄水処理に不備があること、水を摂取することの3つで、これらが同時に発生して初めて事故に発展する。これまでに報告されている集団感染の多くは濁度上昇で説明されて来たが、それが全てではないことを昨年度の報告にまとめた。すなわち、越生町では濁度と患者数の間に相関は認められず、むしろ飲水行動の変化が大規模集団感染を顕在化させるきっかけとなったことである。また、越生町では浄水処理に瑕疵があったことも報

告されている。すなわち、越生の事例では、いわゆる Extreme event は発生していないことから、これらの集団感染事例ではオーシストによる汚染はいつ始まったのかを知ることが重要とある。当該研究はこの集団感染が大規模になる以前の状況を明らかにすることを目的に、報告資料の収集検討を行い、越生町の事例、世界最大の集団感染として知られる米国ミルウォーキーの事例、並びに越生町にほぼ匹敵する規模のカナダのノースバトルフォードの事例についてオーシスト濃度の計算を行ったので報告する。

## B. 方法

大規模集団感染以前に発生していた原因不明の下痢症患者の存在を前兆現象と設定し、発症者数より上水中のオーシスト濃度を推定した。すなわち、発症者数、調査母数、発生した期間より一日あたりの発症割合を求めた。これにオーシストと発症確率の関係である、1オーシストあたり9%の発症確率（EPA、2003）を用いて上水中のオーシスト濃度を逆算した。一日毎の発症者数など、実数が掲載されていない値については報告書のグラフから数値を読み取った。

## C. 結果および考察

クリプトスポリジウム集団感染の発生直前

これまでクリプトスポリジウム等の水系集団感染は一過性の汚染によるもので、予測が困難であるとされてきた。しかしながら、クリプトスポリジウムの水系集団感染に関する報告から、汚染は必ずしも一過性ではないことが伺える。1996年6月10日に発覚した埼玉県越生町の水系集団感染の調査報告書によれば、越生町では集団感染

の発覚する1ヶ月前の5月初旬から下痢症患者が継続的に発生していた事実が記載されている。それによると、下痢症患者は5月の1ヶ月だけでおよそ270名に達し、1日に10~40名程度の患者が見られた日が5月15日以降に8日あった。6月上旬には患者が爆発的に増加し、集団感染が顕在化した。大規模集団感染の引き金は必ずしも明らかでないが、越生町の水道水では5月初旬からすでにクリプトスポリジウムの汚染があったことが伺える（図1）。昨年度の研究では気温の変化に着目し、飲水行動の変化が集団感染に至ったものと推測した。1個のオーシストを摂取した際の感染率を9%、飲水量は最高気温<25℃で20ml、最高気温≥25℃で200mlと仮定した際の、発症率と飲水量から水道水中のオーシスト濃度を求めた結果、5月25日前後の水道水中のオーシスト濃度は1Lあたりおおむね0.4個と計算された（図2）。

同様の集団感染以前に下痢症患者が継続する現象は他のクリプトスポリジウム集団感染においても見られており、1992年の英国ヨークシャー州ブラッドフォードでは集団感染の数週間前から（図3）、1994年4月の米国ウィスコンシン州ミルウォーキーの集団感染では3月の始めより（図4）、2001年3-4月に発生したカナダのバトルフォードでの集団感染では1月下旬から下痢症あるいはクリプトスポリジウム症が持続的に発生している（図5）。また、ロンドン北西部での事例では、1999年4月初旬からクリプトスポリジウム症患者が散見されていたところ、同月20日の上水中からオーシストが検出（3.4個/L）された（図6）。これを機に行った健康調査により多数の患者が確認

された。

すなわち、大規模な集団感染に至る直接の引き金はそれぞれの事例で異なるが、いずれにおいても集団感染が顕在化する以前からクリプトスポリジウム症あるいは下痢症患者が観察されており、その時点ですでに水道水のオーシスト汚染があったことが強く示唆される。また、汚染水が利用されている期間（曝露期間）はかなりの数日におよんでいる点も共通している。

#### 米国ミルウォーキーの事例

報告によると、大規模な集団感染が始まる1993年3月27日以前にも患者の発生が存在した（図7）。この患者発生の推移は電話調査に基づくもので、1,663名中に81名が下痢症の発症を申告し、この割合は5%に達した。この報告では平常時の下痢症のバックグランド値として1ヶ月あたり0.5%を採用していたが、3月1日から26日までの26日間（約1ヶ月）に10倍以上の発症率で原因不明の下痢症がミルウォーキーで発生していたことになり、正常を超えた患者発生と考えられた。加えて、この一部患者はクリプトスポリジウム症であった事が診断されている。

ここで、集団感染が始まった日を3月27日と設定したが、濁度上昇が記録されたのがその7日前で、潜伏期間6日と浄水処理と配水に1日要するとすれば良く対応した日数となる。3月26日以前の一平均発症者数は平均3名となるが、健常者を1,663名と仮定した初期の発症確率は0.0018と計算される。これから、オーシスト1個の発症確率9%として一人あたりのオーシスト摂取量に換算すると、0.02個となる。一

日の非加熱上水の摂取量を1Lと仮定した場合、上水中のオーシスト濃度は0.02個/Lと推定された。ちなみに、0.02個/Lのオーシスト濃度は上水処理が適正に行われていた時期の濃度で、浄水場が2ないし3-log程度の除去率で稼動していたとすれば、原水中のオーシスト濃度は2~20個と推定される（表1）。この間、ミルウォーキー南浄水場では凝集剤の切り替えが行われており、その際に不具合が生じて浄水濁度の上昇が記録されている。仮に除去率が1-log除去程度にまで低下していたとすれば、上水中の濃度は0.2個/Lと計算される。一方、報告によると同時期に製造された氷の中から検出されたオーシスト数は平均10個/100Lで、回収率50%程度の検査精度と仮定すれば両者は極めてよく一致した値となる。

#### カナダノースバトルフォードの事例

大規模集団感染が生じたのは1992年3月19日に浄水場の傾斜板を外したことによるとされている<sup>(7)</sup>。浄水処理と配水に要する時間（1日）とし、6日間の潜伏期間を考慮すると、最初の患者のピークは3月26日と計算されるが、疫学調査においても当日にピークが観察された。そこで、ピークより3日前の3月23日以前を集団感染の前兆期と考えた。患者は1月24日以降連続的に発生しており、3月23日までの59日間を前兆期、3月24日以降を集団感染期と設定した（図8）。図より、前兆期の発症者総数を145名、集団感染期を1,039名と読み取った。

調査結果には母集団の規模が記載されていないことから、報告中の数値より比例計算を行い給水人口14,000人あたりの



発症者数を推定した。すなわち、文章中の推定発症者数 5,800~7,100 名より単純平均 6,450 名を得た。この値と図示された集団感染期の発症者数 1,039 名より、145 名の 6.2 倍にあたる 900 名を給水人口あたりの前兆期の発症者数とした。前兆期の発症率は 6%と計算された。

前兆期間中の 1 日あたりの患者発生数は 15 名となり、一日の発症確率は 0.0011 と計算される。これを、一人あたりのオーシスト摂取数に換算すると 0.01 個となる。同様に一日の飲水量を 1L と仮定すると、上水中のオーシスト濃度は 0.01 個/L と計算される。傾斜板を取り外す前の除去率が 2~3-log 保障されていたものとするれば、原水中のオーシスト濃度は 1~10 個/L と推測される (表 1)。

#### 越生町の事例

昨年度の計算結果より 6 月 1 日が最初の患者発生ピークに相当すると考え、潜伏期間と配水に要する 7 日を考慮し、5 月 28 日以前を前兆期と設定した (図 9)。アンケートの集計結果によると 5 月 1 日から 28 日までの 28 日間に 215 名が発症しており、有効回答者数の 11,619 名を母集団とすると、1.9%の発症率であった。一日平均発症者数は 7.7 名で、前兆期間中の一日発症確率は 0.00066 であった。オーシスト 1 個の発症確率 9%より、一人が一日に摂取するオーシスト数は 0.0083 個と算出された。この数値は他 2 つの計算とほぼ同じ水準にあると考えられた。上水の濃度は飲水量の仮定により大幅に変化するが、昨年度の仮定として用いた 20ml を用いた場合は 0.4 個/L が推定濃度となった。

ここで凝集沈澱処理が適正に行われている施設において、越生の前兆期と同等の集団感染が発生する原水濃度を考えると、2 ないし 3-log の高い値となる (表 1)。昨年度に報告したように、非加熱飲料水の摂取量が気温変化に伴って 10 倍の差が生じることを考慮する場合、濃度は冬季で 40~400 個/L、夏季で 4~40 個/L と計算された。なお、一日の飲水量を 1L とした場合は計算結果がカナダの事例とほぼ同じとなり、上水の濃度が 0.008 個/L、原水中の濃度が 0.8~8 個/L と計算された。

これらを踏まえれば、直接・間接的な糞便汚染が明らかな水源を持つ浄水施設においては、その危険度の高低を論ずるのあまり意味のあることではなく、集団感染に先行する持続的な原虫汚染、あるいはそれに伴う散発的な患者の発生を如何に捕らえるかが重要と考える。下痢症の集団発生に至る以前の汚染を的確に把握することで、少なくとも大規模な集団感染を回避することが出来るものと期待される。

#### D. 結論

本研究では前兆現象の検討を行った。すなわち、大規模な患者発生以前から原因不明の下痢症は存在した。3 つの集団感染より計算した前兆期のオーシスト濃度は、飲水量 1L を仮定した場合、浄水において 0.01 ないし 0.02 個/L 程度であった。除去率を 2 ないし 3-log を仮定した場合の原水において 1~20 個/L に相当した。集団感染が発生するには原水中にオーシストが存在し、これに浄水処理の不備が重なることで顕在化することがクリプトスポリジウム集団感染

が発生に至る道筋と推察された。換言すると、比較的高い濃度のオーシストの存在下で浄水処理の不備/瑕疵が生じた際に患者の発生が認識されるようになり、あたかも大規模集団感染が突然発生したような印象となる。一方、浄水処理に不備が生じなければ極わずかな患者が発生しつづける恐れも否定できない。

#### E. 参考文献

厚生労働科学研究費補助金新興再興感染症研究事業「クリプトスポリジウム等による水系感染症に係わる健康リスク評価及び管理に関する研究」(主任：国包章一)より、「わが国で発生したクリプトスポリジウム集団感染に関する考察」分担研究報告書(遠藤ら)、平成16年度

Mac Kenzie WR, Hoxie NJ, Proctor ME, Gradus MS, Blair KA, Peterson DE, Kazmierczak JJ, Addiss DG, Fox KR, Rose JB, et al. A massive outbreak in Milwaukee of cryptosporidium infection transmitted through the public water supply. *N Engl J Med.* 1994 Jul 21;331(3):161-7.

Stirling R, Aramini J, Ellis A, Lim G, Meyers R, Fleury M, Werker D. Waterborne cryptosporidiosis outbreak, North Battleford, Saskatchewan, Spring 2001. *Can Commun Dis Rep.* 2001 Nov 15;27(22):185-92.

埼玉県衛生部、クリプトスポリジウムによる集団下痢症—越生町集団下痢症発生事件—報告書、平成9年3月。

EPA、National primary drinking water regulations: Long term 2 enhanced surface

water treatment rule, 40 CFR Parts 141 and 142, 2003.

([http://www.epa.gov/safewater/lt2/pdfs/fr\\_lt2\\_full.pdf](http://www.epa.gov/safewater/lt2/pdfs/fr_lt2_full.pdf))

厚生労働科学研究費補助金健康科学総合研究事業「WHO 飲料水水質ガイドライン改定等に対応する水道における化学物質等に関する研究」(主任：眞柄泰基)より、病原微生物にかかる水道水質基準のあり方について(遠藤ら)、平成14年

Atherton F, Newman CPS and Casemore DP. 1995. An outbreak of waterborne cryptosporidiosis associated with a public water supply in the UK. *Epidemiol Infect.* 115: 123-131.

*CDR weekly* 1999. 9: 175,178, ISSN 1350-9357.

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Tadashi Itagaki, Shisuka Kinoshita, Mikiko Aoki, Naoyuki Itoh, Hideharu Saeki, Naoto Sato, Junya Uetsuki, Shinji Izumiyama, Kenji Yagita, Takuro Endo. Genotyping of *Giardia intestinalis* from domestic and wild animals in Japan using glutamate dehydrogenase gene sequencing. *Veterinary Parasitology.*, 133, 283-287, 2005.

遠藤卓郎、黒木俊郎。クリプトスポリジウム・ジアルジア感染症—話題の疾患と治

療. 感染・炎症・免疫 35(3), 77-79, 2005.  
遠藤卓郎、八木田健司、泉山信司. いま、  
知っておきたい話題 クリプトスポリジ  
ウム症. 日本醫事新報 No.4236,  
33-36, 2005.

黒木俊郎、泉山信司、遠藤卓郎. [話題の  
感染症] クリプトスポリジウムの最近の  
知見. モダンメディア 51(4), 75-80,  
2005.

遠藤卓郎、八木田健司、泉山信司. <特集  
ヒトと動物の新興感染症> クリプトスポ  
リジウム症. Medical Science Digest  
31(1), 27-30, 2005.

## 2. 学会発表

泉山信司、遠藤卓郎：我が国で発生した  
*Cryptosporidium* 集団感染に関する考察、  
日本臨床寄生虫学会（東京）、2005年6月  
泉山信司、黒木俊郎、押部智宏、辻英高、  
八木田健司、遠藤卓郎：クリプトスポリジ  
ウム症の潜伏期間の再検討、日本寄生虫学  
会（米子）、2005年4月  
泉山信司、八木田健司、藤原正弘、遠藤卓  
郎：紫外線照射による *Cyclospora*  
*cayetanensis* の発育阻止、日本寄生虫学会東  
日本大会（東京）、2005年10月

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

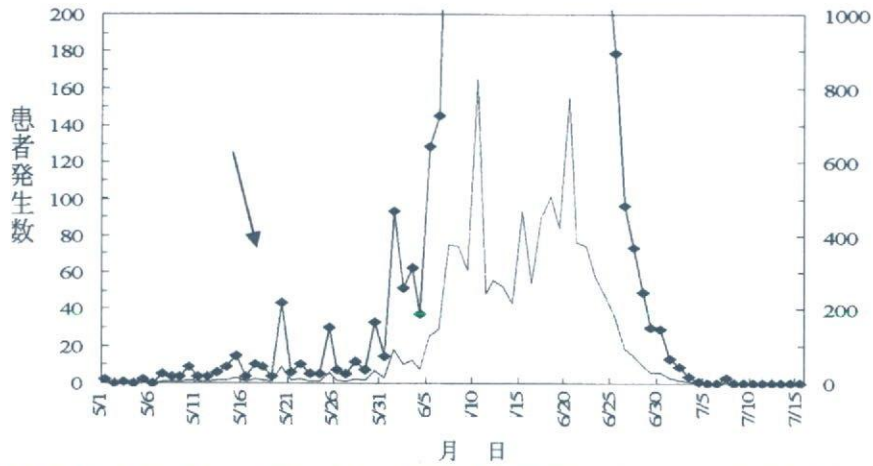


図1. 越生町のクリプトスポリジウム集団感染事例における下痢症患者の発生状況

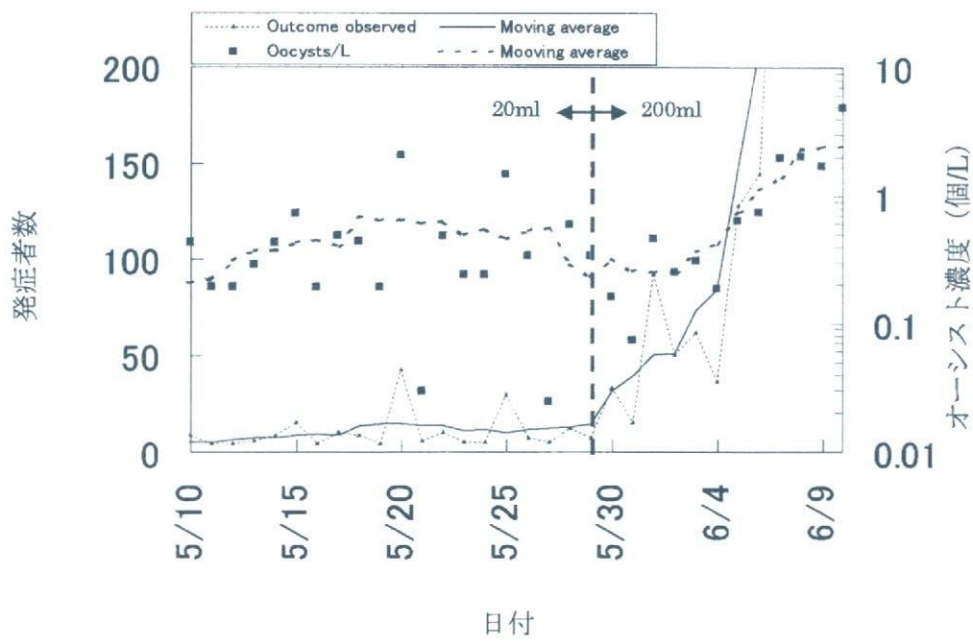


図2 発症者数より求めた患者発生に必要な水道水中のオーシスト濃度  
 発症者数（破線は実数、実線は5日移動平均）と発症者数より計算したオーシスト濃度  
 （■、一点鎖線は5日移動平均）を図示した。