

Fig. 1. Reported cases of cryptosporidiosis in the Bradford Metropolitan District. ■, Resident: elsewhere; ▨, resident: suspect zone.

図3 英国ヨークシャー州ブラッドフォードの事例

Atherton et al., *Epidemiol. Infect.* (1995) 115:123-131

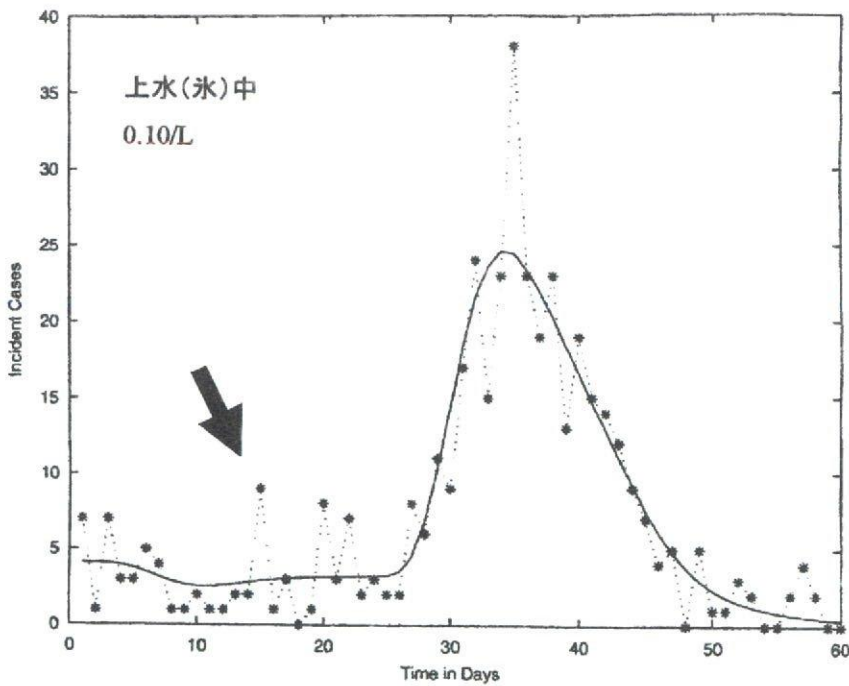


Figure 2. Maximum likelihood fit of outbreak where the solid line is the predicted number of cases and the dotted line is the observed number of cases.

図4 ミルウォーキーの事例

Brookhart et al., *Statistics in medicine* (2002) 21, 3627-3638

Date of onset of diarrheal illness within the Battlefords health service area / Date d'apparition des cas de maladie diarrhéique dans la région sanitaire des Battlefords

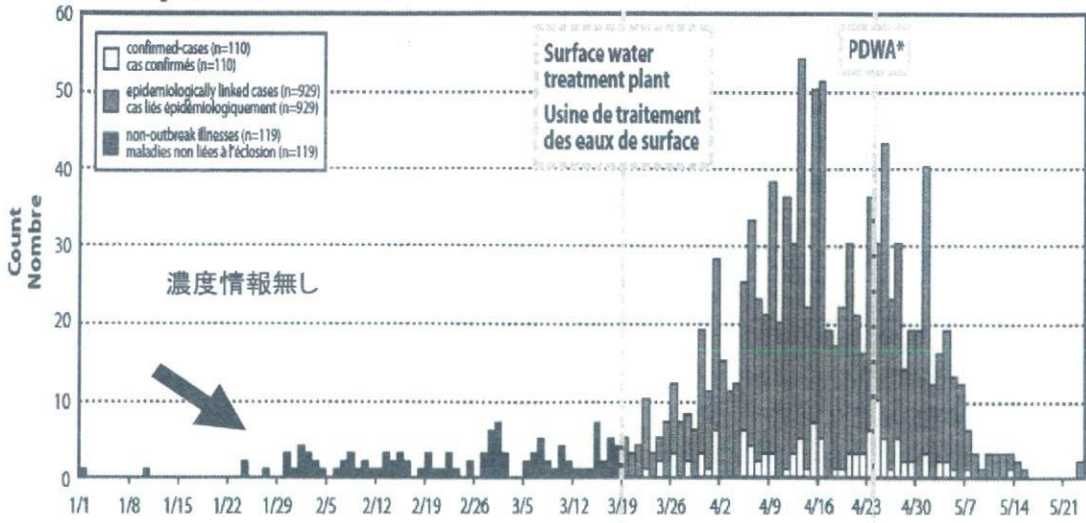


図5 カナダノースバトルフォードの事例

CCDR (2001) Vol.27 No.22

Figure Cases of cryptosporidiosis reported to CCDCs in North West region: 5 April to 10 May 1999 (provisional data)

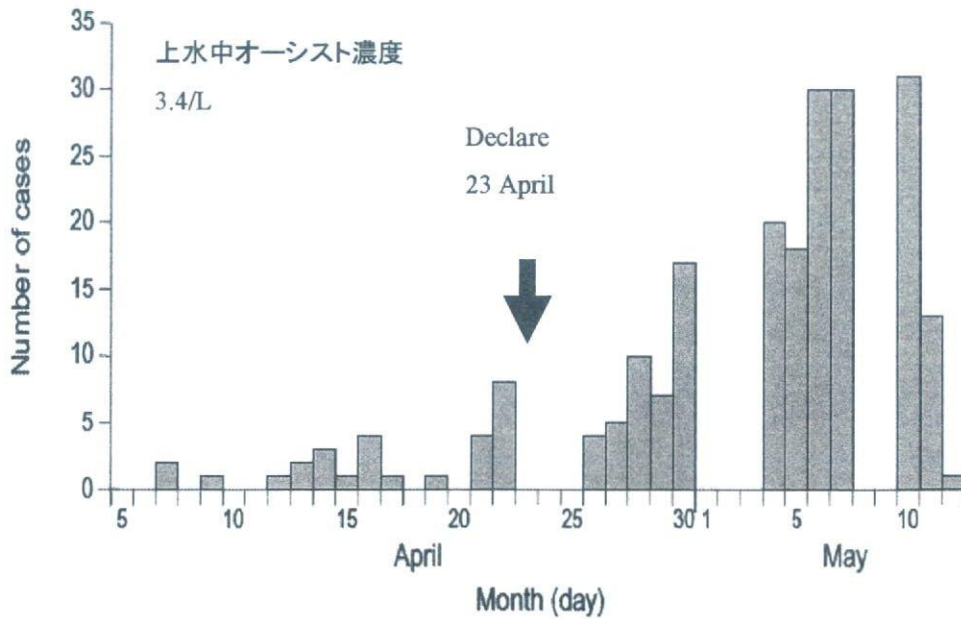


図6 ロンドン北西部事例

CDR weekly (1999) Vol.9 No.20

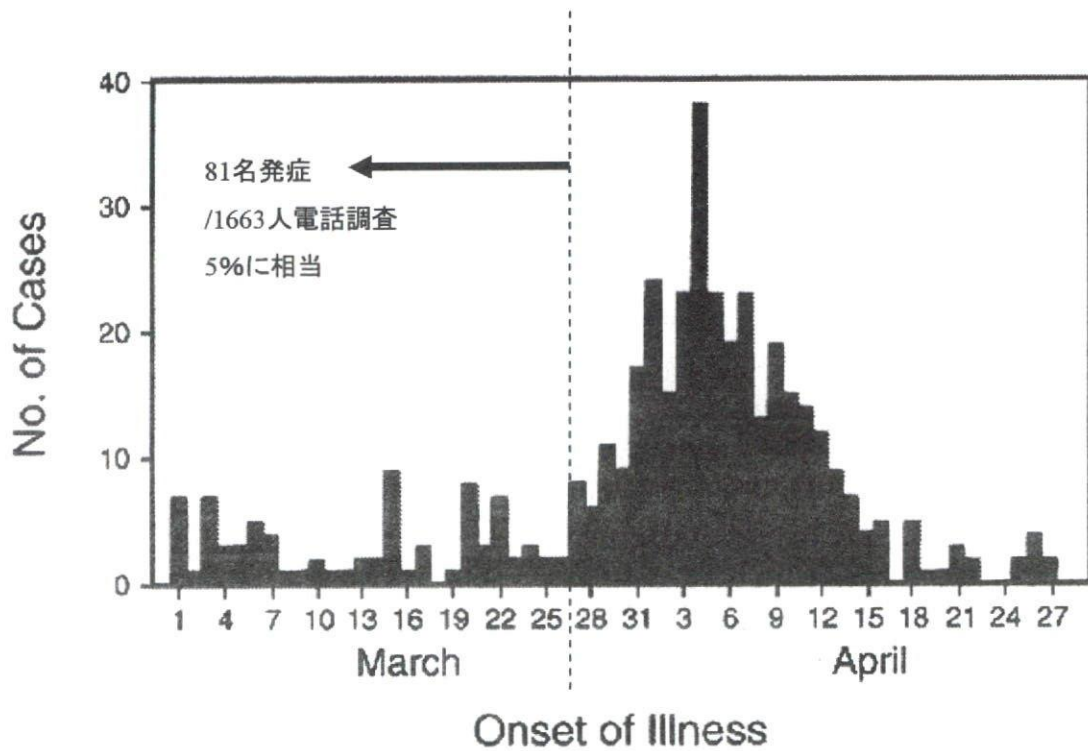


図7 ミルウォーキーの電話調査による発症の申告数

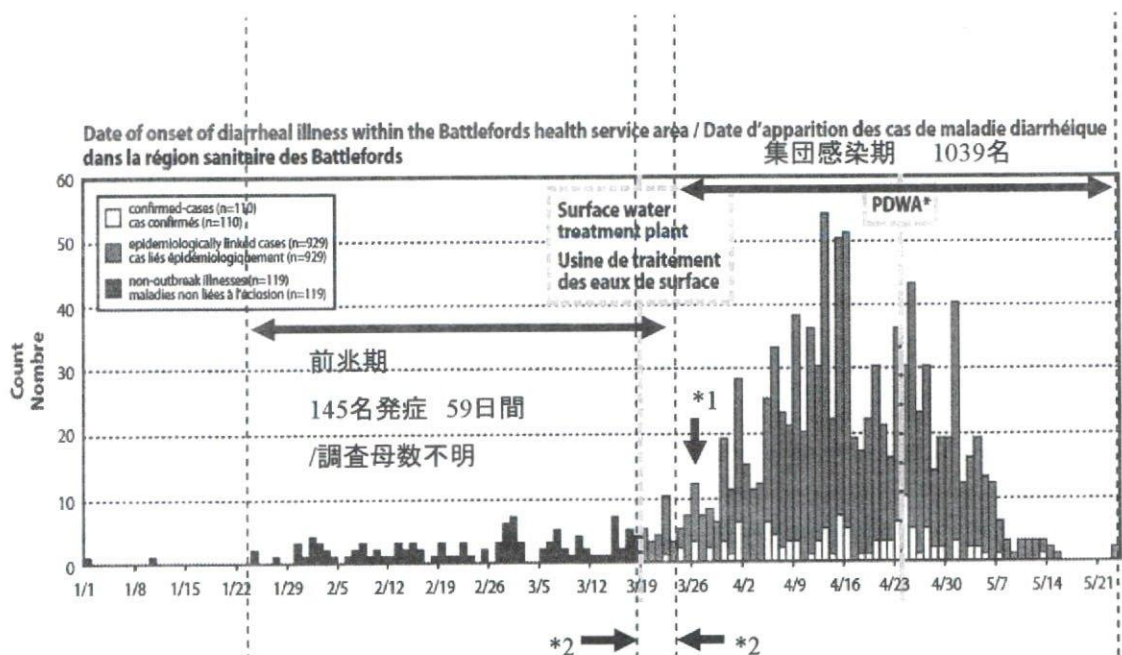


図8 カナダノースバトルフォードの事例で報告された調査結果

3/19の傾斜版を外した後に配水された水道水に対応する患者発生は3/26のピーク(*1)と考え、潜伏期間4日未満(*2)を前兆期と見なした。

集団感染	飲水量仮定	オーシストの推定濃度(個/L)			
		上水中濃度	浄水処理の能力に対応した原水中濃度		
			1-log	2-log	3-log
Milwaukee, US	1L	0.02	0.2	2	20
North Battleford, Canada	1L	0.01	0.1	1	10
越生町	20ml	0.4	4	40	400

表3 オーシスト推定濃度の一覧

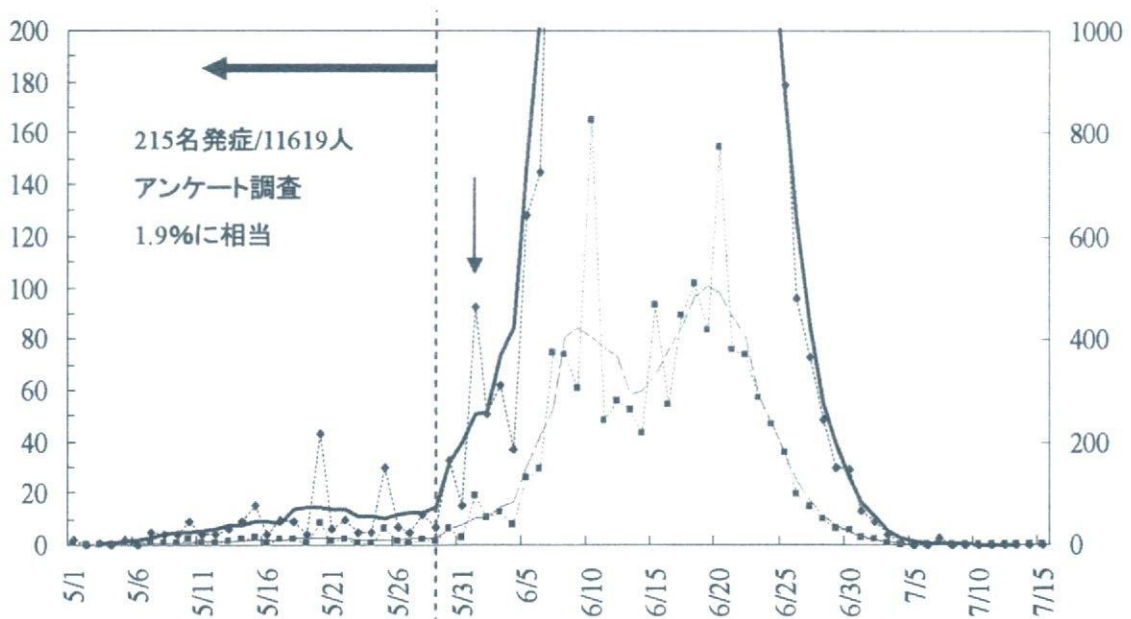


図9 越生町での前兆現象

飲水行動の変化による患者発生を6/1とし、5/29以前を前兆期とした。埼玉県衛生部報告書(平成9年)の集計値を使用した。

分担研究報告書 7

水道水中の感染リスクの評価

分担研究者 片山浩之

研究協力者 真砂佳史

水道水中のクリプトスポリジウムによる感染リスクの評価

分担研究者： 片山 浩之 東京大学大学院 工学系研究科

研究協力者： 真砂 佳史 東北大学大学院 工学研究科

要旨

昨年度に実施した現地調査では、水中のクリプトスポリジウムの定量と同時に、その試料に含まれているクリプトスポリジウムの種・遺伝子型の判定も行った。そこで、水道水摂取による感染リスクを評価するにあたり、その種や遺伝子型の違いによるヒトへの感染性の違いを考慮したシナリオを作成した。既存の水道水中の病原微生物による感染リスクの評価手法は、様々な点で未完成な部分が残っている。また、昨年度に実施した現地調査の結果得られたデータの特性により、これまでの手法をそのまま使用することができない点も存在する。そこで、水道水中のクリプトスポリジウム摂取による感染リスクを評価するにあたり、それらの問題を解決あるいは改善した、新しいリスク評価手法を開発した。

A. 研究目的

昨年度に実施した利根川河川水中のクリプトスポリジウムの現地調査結果を用いて、河川水を水道水源として利用した場合に、水道水の飲用によって生じるクリプトスポリジウム症の感染リスクを評価することを目的とする。

B. 研究方法

相模川を水源とした浄水工程におけるクリプトスポリジウムの浄化残率のデータ、およびそこで実測されているクリプトスポリジウムの定量データ (Hashimoto et al., 2002) を用いて、クリプトスポリジウムの濃度分布の決定方法の評価を行った。さらに、評価された手法を用いて、昨年度に実施した利根川河川水中のクリプトスポリジウムの現地調査結果から、リスクを計算した。

C. 結果と考察

1. 水中の濃度分布推定

1. 1. 水中のクリプトスポリジウムの濃度分布

クリプトスポリジウムに限らず、水中の微生物濃度は、一般に連続分布をとる。一方、測定値である試料中の微生物数は、非負の整数値であり、したがって、ある濃度の水試料に対して検出を行った結果得られる微生物数の分布は、離散分布となる。したがって、水中のクリプトスポリジウムの濃度分布を推定する際、得られた離散分布を連続分布に適合させる、という作業が必要となる。しかし、離散値を連続分布に適合させる場合、特にその濃度が非常に低い時、得られた測定結果をそのまま当てはめるのに問題を生じる場合がある。例えば、100 [L]の試料水中に1 [oocyst]検出された場合、それ

は必ずしも濃度として 0.01 [oocyst/L]であることを意味しない。さらに、水中の微生物濃度を表現するのに用いられる濃度分布は、正の実数に対して定義されていることが多い。この場合、 $x=0$ を代入することができないため、非検出サンプル (0 [oocyst/sample]) を扱うことができない。これまでの研究例では、非検出試料に対しては、何らかの仮定を行って代替値 (例えば、1 [oocyst] 検出された場合の「検出数/試料水量 (検出限界と呼ばれることが多いが、必ずしもそうではない)」の半分の値など) を用いることが多い。しかし、この手法の是非について検討された報告はあまり多くない。

離散的な計数データのとる分布形は、理論的には連続分布である濃度分布と、ポアソン分布との混合分布形となる。本節では、そのような混合分布形として、以下の3つを候補として考え、水中のクリプトスポリジウムの濃度分布を表現するのに最適な分布形を選択した。そして、選択された分布形を利根川の現地調査結果に適用することで、利根川河川水中のクリプトスポリジウム濃度分布を推定した。

・ポアソン分布

水中のクリプトスポリジウムの濃度分布として一定値を仮定した場合、計数データの取る分布形はポアソン分布となる。その確率密度関数は次式で表される。

$$Poisson(X, V : \lambda) = \frac{(\lambda V)^x \exp(-\lambda V)}{X!}$$

式 (1)

X : 試料中のクリプトスポリジウム数[oocysts], V : 検査水量[L],

λ : クリプトスポリジウム濃度[oocysts/L]

・負の二項分布

ポアソン分布と比較して、よりばらつきのあるデータを表現するための分布として、負の二項分布がある。負の二項分布は、水中の濃度分布がガンマ分布であると仮定できるときに、ある水量の試料中に存在するクリプトスポリジウム数の分布を与える。この分布形は、計算が比較的容易であるため、これまでに水中のクリプトスポリジウム濃度の分布形としても用いられている (Haas and Rose, 1996, Teunis *et al.*, 1997)。

$$NB(X, V : \alpha, \beta) = \frac{\Gamma(x + \beta)}{\Gamma(\beta)x!} \left(\frac{\alpha V}{1 + \alpha V} \right)^x (1 + \alpha V)^{-\beta}$$

式 (2)

X : 試料中のクリプトスポリジウム数, V : 検査水量[L],

α, β : パラメータ

・ポアソン-対数正規分布 (PLN 分布)

濃度分布として、水中の微生物濃度分布を表現するときに広く用いられている対数正規分布を用いる場合を考える。対数正規分布の確率密度関数は以下の式で表される。

$$LN(X : \mu, \sigma) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} \exp\left(-\frac{(\log X - \mu)^2}{2\sigma^2}\right) dx$$

式 (3)

X : クリプトスポリジウム濃度[oocysts/L], μ, σ : パラメータ

このとき、計数データの取る分布形としては対数正規分布とポアソン分布の混合分布である、ポアソン-対数正規分布を用いることになる。データを PLN 分布に適合させた結果として得られるパラメータ (μ および σ) は、水中のクリプトスポリジウム濃度の分布である、対数正規分布のパラメータとしてそのまま用いることができる。

PLN 分布の分布関数は下式で与えられる。

$$PLN(X, V; \mu, \sigma) = \int_0^{\infty} \frac{(mV)^X \exp(-mV)}{X!} \frac{1}{m\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left[-\frac{(\ln(m) - \mu)^2}{2\sigma^2}\right] dm \quad \text{式 (4)}$$

X : 試料中のクリプトスポリジウム数[oocysts], V : 検査水量[L],
 μ, σ : パラメータ

1. 2. 現地調査で得られた測定結果の特徴

昨年度行った現地調査では、クリプトスポリジウムの全ての種・遺伝子型を定量対象としたため、それぞれの種・遺伝子型がどの程度存在していたのかについての情報が存在しない。また、得られた定量値も、QProbe PCR 法の定量下限が 2.5 [oocysts/PCR tube] であったため、定量値が存在しない「陽性」試料も存在している。こういったデータから、水中の濃度分布を推定する手法は、これまでのところ開発されていない。

今年度は、このクリプトスポリジウムのデータのように、検出/非検出しか情報として得られていないような測定結果から、水中の濃度分布を定量的に評価する手法を開発した。そして、その手法を用いて、河川水中のクリプトスポリジウム濃度分布を推定した。

2. 水中のクリプトスポリジウム濃度の分布形の選択

2. 1. 相模川での測定データ

離散値である測定データを連続分布にあてはめるということを前提としているため、評価に用いるデータは、測定結果が定量値として与えられている必要がある。しかし、昨年度の調査で得られたデータは、その条件を満たしていないため、本節で使用することはできない。また、実際にリスク評価に用いるデータを用いて、評価手法を検証することは、あまり望ましいとはいえない。

そこで、検証用データとして、Hashimoto ら (2002) が、神奈川県某浄水場の水道原水と浄水に対して行った調査結果を使用した。

この浄水場は、2つの処理系列（以下系列 A、系列 B と呼ぶ）を持っており、それぞれ急速濾過法で原水を処理している。試料はそのそれぞれの系列に対して採取された。調査期間は、1998年7月から2002年8月までで、おおよそ月1回のペースで合計27試料を採取した。採取した試料数は、原水、系列 A の処理水、系列 B の処理水それぞれ27試料ずつであった。表1に、測定結果の概要を示す。

2. 2. ポアソン対数正規分布の確率関数計算プログラムの作成

PLN 分布の確率関数 (式 (4)) は、解析的に積分することができない。また、この確率分布を扱えるソフトウェアも存在しない。これが、上記の問題に対して、これまで絶対的な解決策が示されな

表 1 相模川水系の浄水場での調査結果

Sample	No. of tested	No. of positive	Sample Volume [L]	Conc. Range [oocysts/1000L]
Source water	27	27	100	$1.1 \times 10^2 - 1.9 \times 10^3$
Treated water - A	27	15	500.0 - 2882.4	<0.4 - 8.0
Treated water - B	27	12	500.0 - 4275.6	<0.2 - 8.0

った一つの要因でもある。そこで、本節では、PLN 分布の確率変数を計算するプログラムの開発を行った。

式 (4) は解析的には解けないため、確率を計算するためには数値積分を行う必要がある。数値積分を行う手法としては、補間法（台形公式やシンプソン公式、エルミート補間公式等）、補外法、モンテカルロ法などが存在するが、ここでは比較的演算が容易である、シンプソン公式を用いた補間法を採用した。

シンプソン公式は、積分区間を n 個の区間に分け、そのそれぞれの区間（連続する 3 点 ($x = x_1, x_2, x_3$) の部分) を、二次曲線で近似する方法である（図 1）。これにより、区間 $[x_1, x_3]$ の部分の積分値を、以下の式で近似することができる。

$$\int_{x_1}^{x_3} f(x) dx \approx \frac{f(x_1) + 4 \times f(x_2) + f(x_3)}{3} \times (x_3 - x_1) \quad \text{式 (5)}$$

この公式を用いて、式 (4) の数値積分を行った。演算には C 言語で作成したプログラムを使用した。

上式での近似において、分割区間の幅を十分小さくすると、近似の精度を上げることができるが、あまり細かくし過ぎると、計算に時間がかかる。また、式 (4) の値を計算するには、非負の全実数範囲で積分する必要があるため、 x が非常に大きい／小さい区間で区間の幅を調整する必要がある。それらの点に注意しつつ、十分な精度をもったプログラムを開発した。算出結果を、既存の PLN 分布の表 (Brown and Holgate, 1971) と照合することで、その精度と正確さを確認した。

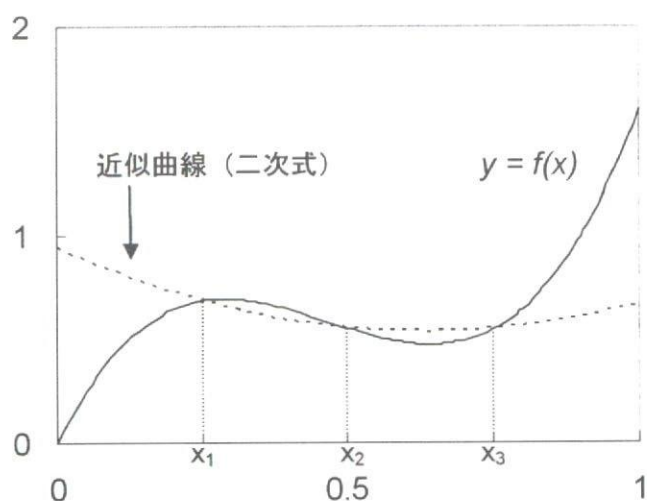


図 1 シンプソン公式を用いた近似の概略図

2. 3. 水中のクリプトスポリジウム濃度分布推定手法の比較

作成したプログラムを用いて、水道原水および浄水中のクリプトスポリジウム濃度分布を推定した。最適なパラメータの推定には、最尤法を用いた。以下の式において、LF の値を最小にするパラメータを求め、最適なパラメータとした。

$$LF(\theta) = -2 \times \sum_i \ln(P(x_i, V_i; \theta)) \quad \text{式 (6)}$$

$P(x_i, V_i; \theta)$: 確率関数, x_i : i 番目の試料中のクリプトスポリジウム数[oocysts]

V_i : i 番目の試料の検査水量[L], θ : パラメータ

(1) 二つの系列の取り扱い

今回対象とした浄水場は、二つの処理系統（系列 A, B）を持ち、サンプリングはそのそれぞれに対して行われた。仮にこの2つの処理系統で、処理能力等に差がある場合、同じ原水を用いていても、浄水濃度に差を生じる可能性がある。しかし、処理能力に差がない場合は、二系列のデータを合わせてデータ数を増やすことで、浄水中のクリプトスポリジウム濃度をより精密に推定することができる。

そこで、各系列での測定結果を用いて、浄水中のクリプトスポリジウム濃度分布をそれぞれ推定し、その分布に差があるかどうかを検定した。このとき、浄水中のクリプトスポリジウム濃度は対数正規分布に従うと仮定し、測定データを PLN 分布にあてはめた。その結果を用いて、二つの系列で得られた測定結果の、本リスク評価モデルにおける扱いについて検討した。分布の差の評価には、等分散性の検定と、平均値の差に関する検定（スチューデントの t 検定）を用いた。それぞれ有意水準を 5% とした。

表 2 に、それぞれのデータを用いて推定された対数正規分布のパラメータを示す。

等分散性の検定、t 検定共に帰無仮説は棄却されなかった（それぞれ $p = 0.25, p = 0.08$ ）。従って、これらの二つの処理系統には処理能力の差はないと判断し、以下の調査では、両系統のデータを併せて「浄水に対する測定結果（試料数 = 54）」として使用した。図 2 に、原水、浄水のそれぞれの測定データを対数正規確率プロットしたものを示す。

表 2 処理場の系列ごとの濃度分布

	Line A	Line B	Line A&B	Unit
推定分布のパラメータ				
μ	-7.7	-8.4	-8.0	ln[oocysts/L]
σ	1.5	2.0	1.7	ln[oocysts/L]
Arith. Mean	1.4	1.6	1.4	[/1000L]
Geom. Mean	0.44	0.24	0.33	[/1000L]

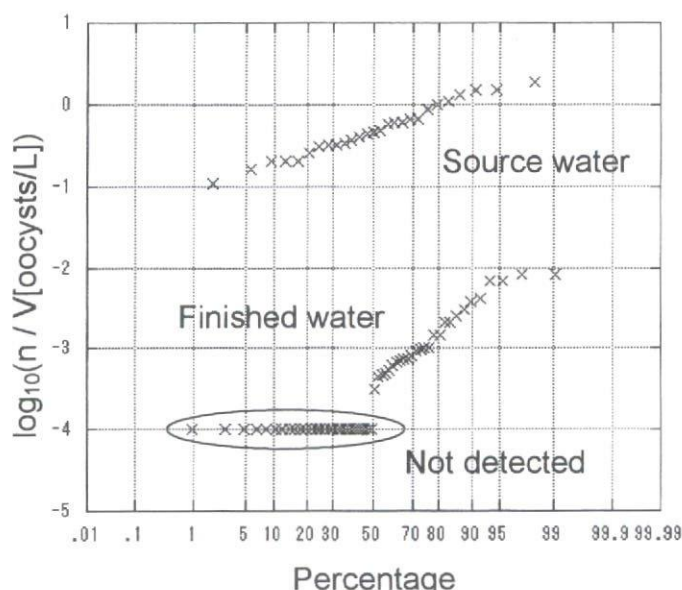


図2 原水および浄水に対する測定結果の対数正規確率プロット

(2) 最適な分布形の選択

次に、2. 1節で候補とした3つの分布形に対して、原水、浄水の測定結果をあてはめ、それぞれの分布形について最適なパラメータを決定した。そして、得られた分布の適合度を比較することで、最適な分布形を選択した。分布への適合度の指標として、最適パラメータにおいて式(6)で与えられる対数尤度を用い、この値を最も小さくする分布が、最適であると判断した。

表3に、それぞれの分布から得られた最適なパラメータと、その時の対数尤度を示す。また、図3に、原水に対する測定結果の累積確率と、それぞれの分布に適合させて得られた水中のクリプトスポリジウム濃度分布（それぞれの離散分布からポアソン分布の部分を取り除いたもの）の累積確率密度関数を示す。

ポアソン分布の対数尤度が、残りの2種類の分布の対数と比較して非常に大きな値となった。また、図3を見ても、明らかに測定値からのずれが見られた。これは、水中のクリプトスポリジウム濃度分布は、一定値ではなく、分散を持った分布をとっていることを示している。

負の二項分布と PLN 分布を比較すると、原水では PLN 分布が、浄水では負の二項分布がそれぞれよ

表3 各分布の最尤パラメータ

Distribution	Source water		Finished water	
	Parameter(s)	LF(θ)	Parameter(s)	LF(θ)
Poisson	$\lambda = 0.624$	978.7	$\lambda = 1.23 \times 10^{-3}$	410.1
PLN	$\mu = -0.720, \sigma = 0.709$	268.9	$\mu = -8.01, \sigma = 1.71$	207.4
NB	$\alpha = 0.293,$ $\beta = 2.14$	270.6	$\alpha = 3.48 \times 10^{-3},$ $\beta = 0.333$	205.6

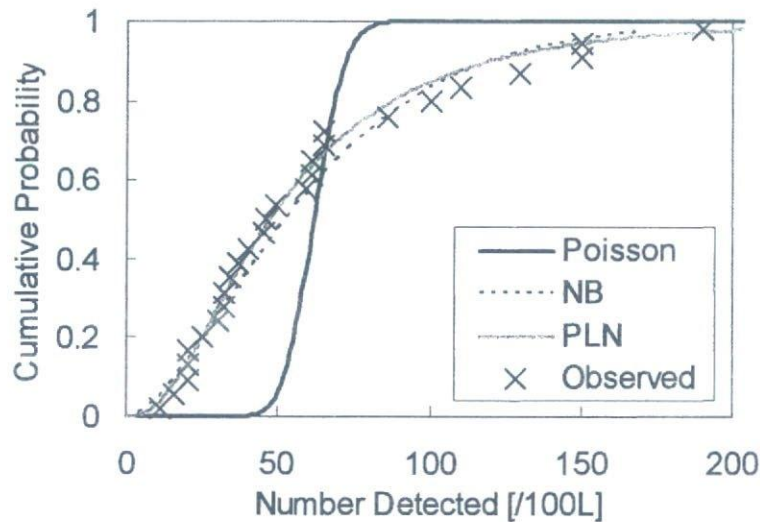


図3 それぞれの確率分布と実測値
(NB：負の二項分布、PLN：ポアソン対数正規分布)

い適合度を示した(表3)が、その差はわずかであった。図3を見ても、この二つの分布は、実測値によく適合していた。以上より、この2つの分布は、よく測定値に適合しており、その適合度合にはほとんど差がないといえる。本章では、以下の解析に PLN 分布を用いることとした。

(3) 非検出データに対する種々の「あてはめ」方法の効果

PLN 分布を使用する意義を評価するため、これまで用いられてきた手法である、測定値を対数正規分布に直接あてはめる方法でもパラメータの推定を行った。そして、得られたパラメータを、PLN 分布のパラメータと比較することで、それぞれの「あてはめ」による適合度を比較した。この時、試料中のクリプトスポリジウム濃度として「検出数/試料水量 [oocysts/L]」を用い、非検出データの代わりに値として、以下の2つの値を用いた。

- 1) 1 [oocyst]検出された場合の「検出数/試料水量」の半分の値
- 2) 対数正規分布を、区間[0, 1/V] で積分した値

これは、濃度として 1/V [oocyst/L]以下であれば、V[L]の試料からクリプトスポリジウムを検出できない、と仮定し、「非検出」という結果を、「1/V [oocyst/L]未満」と読み替えた場合に相当する。

表4 検出限界以下のデータにあてはめた値が推定結果に及ぼす影響

		Source water			Finished water		
		μ	σ	Arith. Mean [oocysts/L]	μ	σ	Arith. Mean [oocysts/L]
LN	1) 0.5 oocyst	-0.731*	0.727*	0.627*	-7.39	1.14	1.18×10^{-3}
	2) Cum. Prob.				-7.67	1.46	1.35×10^{-3}
PLN		-0.720	0.709	0.626	-8.01	1.71	1.44×10^{-3}

*：非検出試料がなかったため、どちらの手法でも同じ結果となる

表4に、それぞれの手法で得られたパラメータを示す。

原水の測定データにそれぞれの分布をあてはめたところ、PLN分布を用いた場合と、LN分布に直接あてはめた場合で、ほとんど差が見られなかった。これは、原水データには非検出のデータが含まれていなかったためである。またこの結果は、この程度の検出数（1試料あたり：11～190 [oocysts/sample]）では、「検出数/試料水量」をその時の水中の「濃度」として扱っても、結果として推定される濃度分布に影響を与えない、ということの意味している。

浄水の測定データを用いた結果を比較すると、両手法とも、PLN分布と比較して対数正規分布の μ は小さく、 σ は大きくなった。また当てはめた分布の算術平均値は、PLN分布の方が最大約50%高くなった。 σ の値が、PLN分布より直接対数正規分布にあてはめた方が小さくなった理由は、「非検出」となったデータ（54試料中27試料）を全て同じ濃度として扱ったためであると考えられる。

以上より、非検出が多く見られるようなデータでは、離散値である測定データを直接連続分布にあてはめても、正しい結果は得られないことが示された。2つの「あてはめ」方法を比較すると、1/V [oocyst/L]までの累積確率で置き換えた方が、分布のパラメータ、算術平均値共に、よりPLN分布の結果に近い値となった。

（4）原水並びに浄水中のクリプトスポリジウム濃度分布

表5に、原水および浄水のクリプトスポリジウム濃度分布（対数正規分布）の、パラメータ（ μ および σ ）と、統計値を示す。また図4に、それぞれの分布の累積確率密度関数を示す。クリプトスポリジウム濃度の中央値と95%値は、原水で487、1,562 [oocysts/1000L]、浄水で0.33、5.54 [oocysts/1000L]と

表5 原水と浄水の濃度分布パラメータと統計値

	Source	Purified	Unit
μ	-0.720	-8.01	
σ	0.709	1.71	
A.M.	626	1.44	[oocysts/1000L]
5%	152	0.020	
25%	302	0.11	
Median	487	0.33	[oocysts/1000L]
75%	785	1.05	
95%	1562	5.54	

なった。

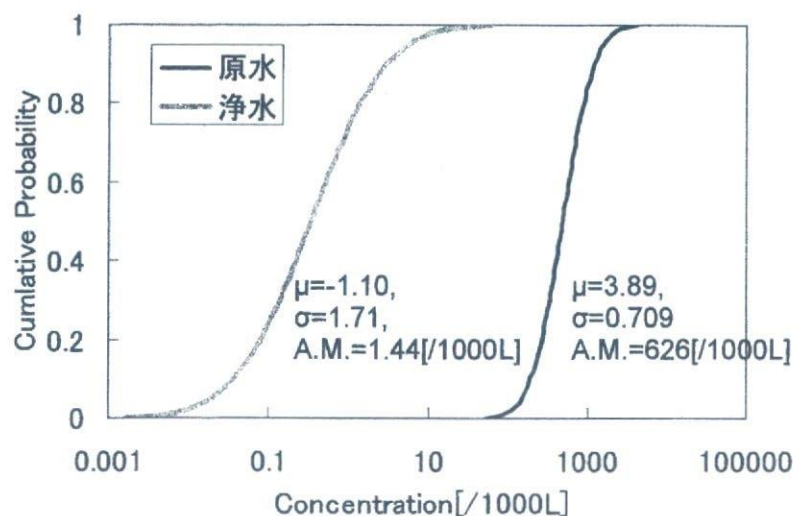


図4 推定された原水、浄水中の濃度 (A.M.: 算術平均値)

2. 4. 浄水処理効率の評価

表5において、原水と浄水のクリプトスポリジウム濃度分布の σ を比較すると、浄水の濃度分布の方が大きい値になっていることがわかる。つまり、浄水中のクリプトスポリジウム濃度分布のほうが、より大きな分散を持っていることになる。これは、浄水処理における浄化残率が一定値ではなく、変動幅を持っていると考えることで説明がつく。そこで、今回得られた濃度分布を用いて、浄水処理による浄化残率の分布を推定した。

水中のクリプトスポリジウム濃度の分布形として、対数正規分布を用いている。正規分布の再生性により、二つの独立な対数正規分布AおよびBからそれぞれ生じた乱数を掛け合わせた値Cは、対数正規分布に従い、そのパラメータは以下の式で与えられる。

$$\begin{aligned} \mu_C &= \mu_A + \mu_B \\ \sigma_C^2 &= \sigma_A^2 + \sigma_B^2 \end{aligned} \quad \text{式(7)}$$

$\mu_A, \mu_B, \mu_C, \sigma_A^2, \sigma_B^2, \sigma_C^2$: 分布A, B, Cのパラメータ

したがって、浄水処理における浄化残率は対数正規分布に従うと推定することができる。また、そのパラメータは、浄水、原水の濃度分布のパラメータから計算することが可能である。

図5に、式(7)を用いて得られた、浄化残率の分布の累積確率密度関数を示す。得られたパラメータは、 $\mu = -7.29$ 、 $\sigma = 1.55$ であった。また中央値は $10^{-3.16}$ (除去率 約99.93%)となったが、約14%の確率でそれより10倍以上上下に外れた値となることがわかった。また算術平均値は $10^{-2.64}$ 、95%値は $10^{-2.05}$ となった。

これまで、浄水処理による浄化残率の評価については、実験施設で、高濃度のクリプトスポリジウムを添加して算出した例や(Niemenski and Ongert, 1995)、指標微生物あるいは指標粒子を用いた例(Teunis *et al.*, 1997)が報告されている。本研究では、実際に稼動している浄水施設で、クリプトスポリジウムを添加せずに行った調査結果を用いることで、より現実に近い状態で評価することができた。

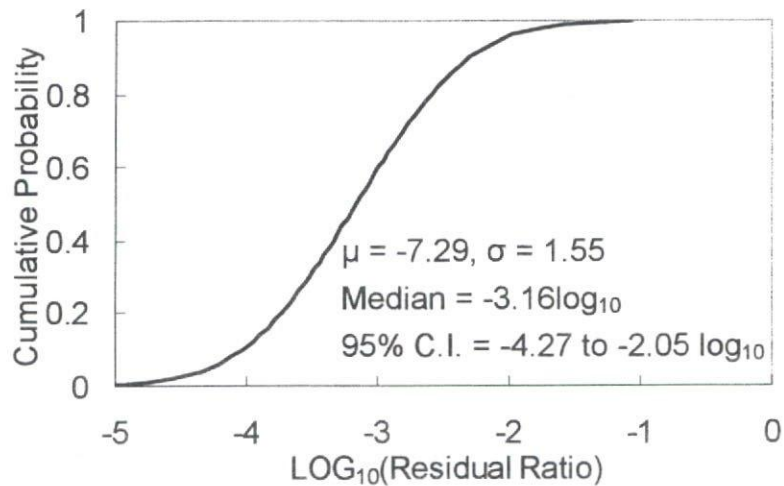


図5 浄水処理による浄化残率

また、浄水中のクリプトスポリジウム濃度のように、非常に濃度の低いデータを適切に扱う手法を用いたことにより、通常は一定値としてしか評価できなかった浄化残率を、分布の形で得ることができた。この結果は、浄水摂取による感染リスクを評価する上で、重要な知見となると考えられる。

3. 利根川河川水中のクリプトスポリジウム濃度分布の推定

3. 1. 定性的な測定結果からの濃度分布パラメータの推定手法

本節では、昨年度に行った利根川での現地調査結果のように、定量値ではなく、定性的な（検出／非検出しか情報として与えられていない）測定結果から、水中の濃度分布を推定する手法を開発した。また、その手法により、どの程度の精度で濃度分布を推定することができるかを評価した。

定性的な測定結果から定量的な評価をする手法の例として、最確数法（MPN法）が挙げられる。この手法は、ある水量の試料中に含まれる対象微生物の数を推定する手法である（図6）。採取してきた試料を、例えば3段階の検査水量（例えば0.01mL、0.1mL、1mL）、各5本ずつの計15本にわけ、それぞれに対して定性的な検出を試みる。採取したサンプル中の微生物濃度はある固有の値（一定値）であるため、ポアソン分布を用いることで、得られた結果から最確数を計算することができる。しかし今回の場合、推定する対象である水中のクリプトスポリジウム濃度は、一定値ではなく、対数正規分布に従う変動を持つ。そのため、このままの方法では濃度（分布）を推定することができない。また、検出に供した水量が毎回異なるという点でも、既存のMPN法とは違う前提に立った手法を必要としている。

前節までの結果から、水中のクリプトスポリジウム濃度の分布形として、対数正規分布を仮定できることがわかっている。したがって、MPN法において用いているポアソン分布を、PLN分布に置き換えることで、水中の濃度分布のパラメータの最確値を求めることができると考えた（図7）。以下この手法をPLN-MPN法と呼ぶ。

そこで、実際に得られた測定結果に対して上記の手法を適用し、濃度分布のパラメータの最確値の算出を試みた。そして、得られたパラメータを、2.4節で算出した、定量データから得られたパラ

メータと比較することで、本手法の精度を評価した。さらに、従来の MPN 法で得られた結果と比較することで、本手法の意義について考察した。

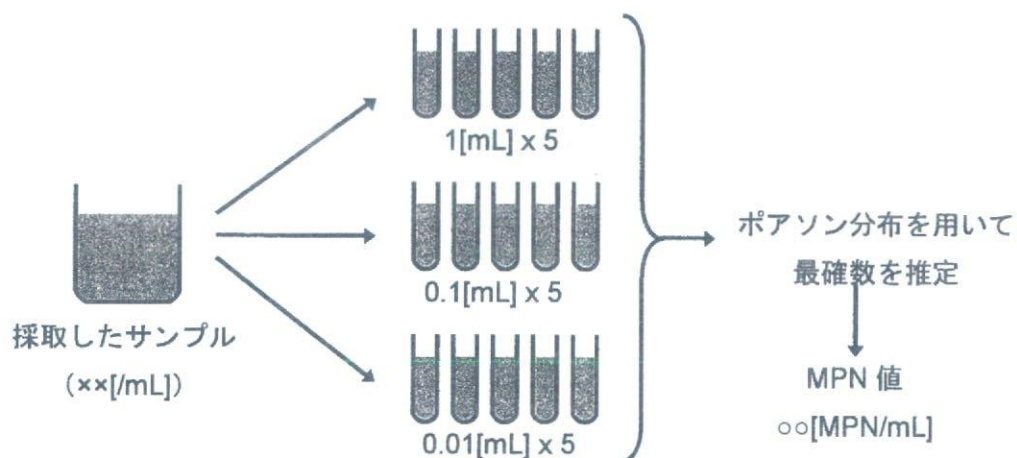


図6 MPN 法の原理

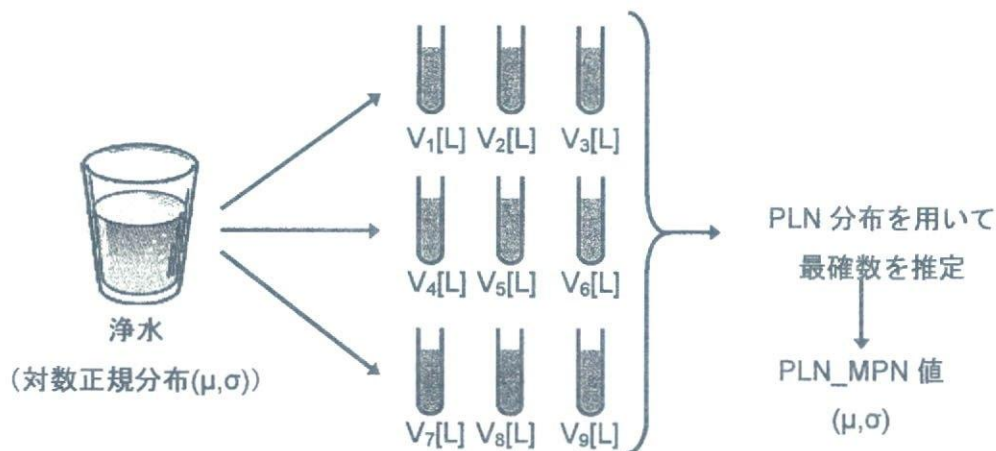


図7 ポアソン対数正規分布(PLN)-MPN 法の原理

3. 2. ポアソン対数正規分布-MPN 法による水中の濃度分布推定手法

(1) 推定に用いたデータと仮定

・使用した測定データ

本節では、クリプトスポリジウムの測定データとして、前節でも用いた Hashimoto ら (2002) による調査結果のうち、浄水に対する測定結果を使用した。原水に対する測定結果は、全ての試料でクリプトスポリジウムが検出されており、今回の目的には適さないため用いなかった。

・クリプトスポリジウムの検出下限

クリプトスポリジウム検出手法の検出下限を 1 [oocyst/sample] と仮定した。これにより、「試験結果が陽性であった」「試験結果が陰性であった」を、それぞれ「試料中にクリプトスポリジウムが 1 [oocyst] 以上存在した」「試料中にクリプトスポリジウムは存在しなかった (0 [oocyst/sample]) 」と読み替えることができる。そこで、この仮定に従い、相模川での測定値を定性試験の結果に変換した。

・クリプトスポリジウム濃度分布の分散

PLN-MPN 法では、濃度分布の推定に定量値を用いず、試験結果を「検出」「非検出」の二通りにしか区別していない。したがって、測定値の分散を表現できるパラメータとして、その試験水量しか持たないことになる。通常の MPN 法を用いる場合のように、検査水量を初めから数段階（幅広い方が望ましい）に設定しておき、そのそれぞれに対して、多数の試料を作成できれば、濃度分布の分散を推定することが可能であると考えられる。しかし、測定に際し非常に大容量の試料が必要となることを考えると、水中のクリプトスポリジウム検出に際してそのような手法を採ることは、非常に困難であろう。

そこで、本手法では、あらかじめその分散を仮定することとした。水中のクリプトスポリジウム濃度である対数正規分布において、分散を示すパラメータは σ （濃度の自然対数の標準偏差）である。ここでは、その値を 2.0 以下であると仮定した。この分散 ($\sigma=2.0$) は、濃度分布の 5% 値と 95% 値の比が 2,540 倍となるような分散に相当し、常識的に考えられる分散よりは十分大きな値であるといえる。

(2) PLN-MPN 法による濃度分布パラメータ μ の推定

パラメータ μ の推定には、最尤法を用いた。式(8)で表される対数尤度を最小にする μ の値を求め、最尤推定値とした。演算には、C 言語で作成したプログラムを使用した。 σ の値は、分布の分散が推定結果に及ぼす影響を見るため、 $\sigma=1.0$ 、1.71、2.0 の 3 種類の値を用いた。 $\sigma=1.71$ は、相模川の浄水中のクリプトスポリジウム濃度分布の σ の値である。

$$LF = -2 \times \sum_i \ln(P(x_i, V_i; \mu, \sigma)) \quad \text{式(8)}$$

$$P(x_i, V_i; \mu, \sigma) = \begin{cases} PLN(0, V_i; \mu, \sigma) & i\text{番目の試料が陰性の場合} \\ 1 - PLN(0, V_i; \mu, \sigma) & i\text{番目の試料が陽性の場合} \end{cases}$$

(3) MPN 法によるパラメータλの推定

MPN 法のパラメータλの推定には、最尤法を用いた。式 (9) で表される対数尤度を最小にするλの値を求め、最尤推定値とした。演算には、Microsoft Excel 2003 (Microsoft)のソルバーを用いた。PLN-MPN 法との比較を容易にするため、λの自然対数ln(λ)を計算した。この値は、PLN-MPN 法において、σ=0 とした場合に得られる推定値μと同値である。

$$LF = -2 \times \sum_i \ln(P(x_i, V_i : \lambda)) \quad \text{式 (9)}$$

$$P(x_i, V_i : \mu, \sigma) = \begin{cases} \text{Poisson}(0, V_i : \lambda) & \text{i番目の試料が陰性の場合} \\ 1 - \text{Poisson}(0, V_i : \lambda) & \text{i番目の試料が陽性の場合} \end{cases}$$

(4) 推定結果

表6に、それぞれの手法で得られた、濃度分布パラメータの最尤推定値と、それぞれの分布の統計値を示す。また、図8に、それぞれの分布の累積確率密度関数を示す。

μの値は、用いた手法にかかわらずほぼ同じ値となった。定量データを用いたパラメータ (PLN) から最も離れていた、PLN-MPN のσ=2.0 のときの推定値でも、その差は0.13 (元の濃度に換算して約14%の違い) でしかなかった。これは、手法によって、分布の中央値に差が生じなかったことを意味する。また、定量値を用いて推定した値が近かったことから、PLN-MPN 法は、中央値を精度よく推定することができるといえる。

しかし、得られた分布の95%値を比較すると、MPN 法では0.323 [oocysts/1000L]であったのに対し、PLN-MPN 法の結果はσ=1のときに1.59 [oocysts/1000L]、σ=2のときには7.84 [oocysts/1000L]と、最大で約25倍の開きが見られた。また、各分布の算術平均値を比較しても、同様の傾向が見られ、その差は最大で約6.7倍に達した。

定量データを用いた手法で得られた結果と比較すると、分布の95%値、算術平均値共に、PLN-MPN 法で、σの値として1.71(定量データから得られた値)を用いた場合が、一番近い結果となった。また、σ=1.0のときの結果とσ=2.0のときの結果を併せて比較すると、σを大きく仮定することにより、分布の95%値や算術平均値が大きくなることがわかった。

以上の結果より、ここで開発した PLN-MPN 法は、MPN 法と比較して、より現実に近い推定値を与えることを明らかにした。また、パラメータの推定にあたり、σを正しく仮定することが重要であることを示した。後段でリスク評価を行うことを考慮した場合、σの値が未知であるならば、σを大きめの値として仮定し、濃度分布の95%値や算術平均値を大きめに推定する方が望ましいといえる。

表6 MPN法、PLN-MPN法で得られた推定値の比較 (A.M.: 分布の算術平均値)

	PLN	MPN	PLN-MPN			Unit
μ	-8.01	-8.04	-8.09	-8.13	-8.14	
σ	1.71	0	1	1.71	2	
A.M.	1.44	0.323	0.507	1.27	2.16	[oocysts/1000L]
5%	0.020	0.323	0.059	0.018	0.011	
25%	0.105	0.323	0.157	0.093	0.076	
Median	0.333	0.323	0.307	0.295	0.292	[oocysts/1000L]
75%	1.05	0.323	0.603	0.934	1.13	
95%	5.54	0.323	1.59	4.91	7.84	

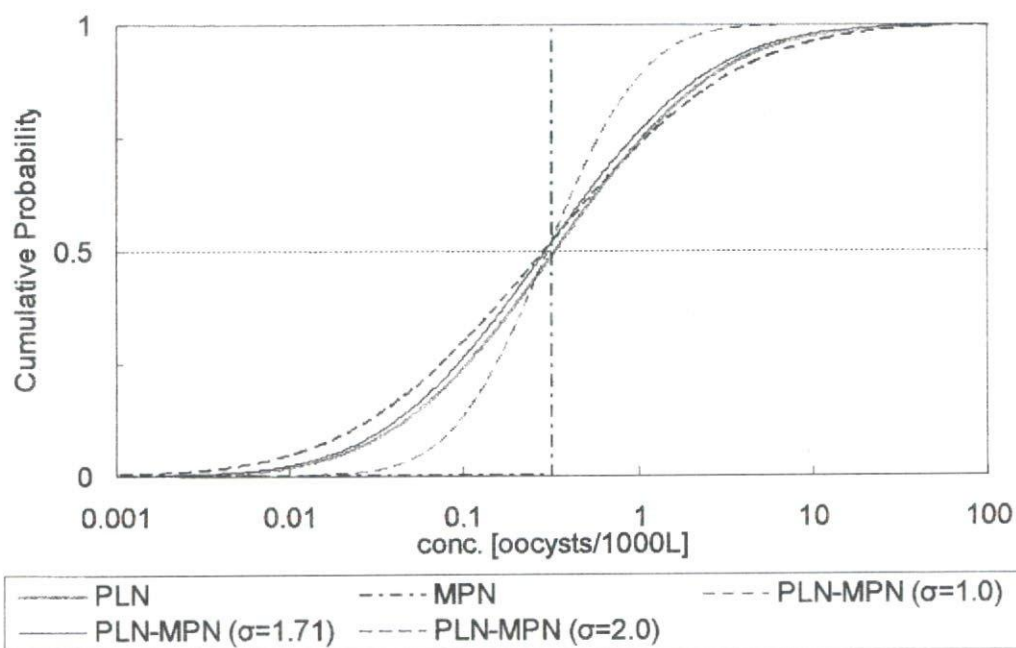


図8 MPN法とPLN-MPN法で得られた
浄水中のクリプトスポリジウム濃度の累積確率密度関数

3. 3. 利根川河川水中の濃度分布の推定

ここでは、昨年度に行った現地調査結果を用いて、利根川河川水中のクリプトスポリジウム濃度分布を推定した結果を示す。

推定した濃度分布は、以下の3つとした。それぞれについて、PLN-MPN法を用いてパラメータを推定した。その時、 σ の値として、安全側の評価を行うために $\sigma=2.0$ を用いた。

- 1) 全てのクリプトスポリジウムの種・遺伝子型を含む濃度
- 2) *C. parvum* と *C. hominis* のみの濃度
- 3) ヒトへの感染が報告されている種だけの濃度

得られた濃度分布パラメータの最尤推定値と、それぞれの分布の統計値を表7に示す。また、各分布の累積確率密度分布を図9に示す。

全てのクリプトスポリジウムの種をあわせた濃度は、算術平均値が35 [oocysts/1000L]、95%値が130 [oocysts/1000L]となった。一方、*C. parvum* と *C. hominis* のみの濃度は、算術平均値で6.8 [oocysts/1000L]、95%値で25 [oocysts/1000L]となり、クリプトスポリジウム全体の約5分の1の値であった。ヒトへの感染報告のある種だけの濃度も *C. parvum* と *C. hominis* のみの濃度とほぼ同じであった（算術平均値：7.6 [oocysts/1000L]、95%値：28 [oocysts/1000L]）。これは、検出された *C. parvum* と *C. hominis* 以外の感染可能種が、*C. felis* のみであり、1試料だけから検出されただけであったことによる。

今回の評価により、利根川河川水中のクリプトスポリジウムのうち、ヒトに感染することが可能であるオーシストの割合は約2割であり、残りの8割は、ヒトへの感染リスクを考える上では無視してもよいことが示された。

3. 4. 推定値と実測値の比較

本節で得られた濃度分布の推定結果と、昨年度に行った現地調査の測定結果から得られた実測値を比較した。

実測値に関しては、陰性試料および定量範囲内の陽性試料は、測定値をそのまま用いて濃度を計算した。定量値が得られなかった陽性試料は、定量下限が2.5 [oocysts/sample]であったことから、全て最小値である1 [oocysts/sample]であったと仮定した場合と、全て2 [oocysts/sample]であると仮定した場合のそれぞれについて算術平均値を算出した。また、推定値に関しては、PLN-MPN法により得られた分布（表7）の算術平均値と、従来のMPN法で得られた濃度（一定値）を比較した。

算出結果を表8に示す。Poisson-MPN法で得られた推定値（2.78[oocysts/1000L]）は、実測値（22.9-26.5[oocysts/1000L]）の約9分の1と、非常に小さな値となった。一方、PLN-MPN法による推定値（35.0 [oocysts/1000L]）は、実測値の約1.4倍であった。実測値を上回った理由は、分布の分散を考えられる値よりも大きく（ $\sigma=2.0$ ）見積もっているためである。