

消毒工程に流入する水中のピコ植物プランクトン数は、もっともピコ植物プランクトンが増殖する夏季を想定して、 $10^4 \sim 10^6$  cells/ml と考えられ、これが塩素により可溶化して AOC を生成する量は、 $7.7 \sim 77 \mu\text{g/l}$  となる。

貯水池水をサンプルとして、ピコ植物プランクトン及び細菌の AOC 生成原単位を求めたところ、残留塩素  $1.0 \text{ mg/l}$  の塩素処理でそれぞれ  $0.77 \times 10^{-6} \mu\text{g/cell}$ ,  $0.27 \times 10^{-7} \mu\text{g/cell}$  となった。両者を比較すると細菌の AOC 生成原単位は、ピコ植物プランクトンの  $1/30$  程度であった。この違いは、細胞サイズに由来するのではないかと考えられる。

浄水場以降の配水システム中の AOC の挙動について調査した結果、給配水は浄水場出口水より高い場合が多い傾向を示していた。AOC と細菌増殖能の関係を詳細に調査した結果、従属栄養細菌は AOC  $0.011 \text{ mg-C/L}$  以下で増殖しなくなり、一般細菌は  $0.022 \text{ mg-C/L}$  以下で増殖しなくなる結果であった。塩素が存在する場合の細菌の挙動を調査した結果、遊離残留塩素を保持すれば細菌増殖は抑制できるという結果であった。

浄水工程および配水系における一般細菌や従属栄養細菌の増殖能を把握する指標として、試験菌株が利用できる AOC だけではなく AOC 前駆体を含めた AOC 生成能の指標の有効性を明らかとし、その試験方法を提案した。

NOX 株の炭素濃度換算には、従来の酢酸収率係数に比較してシュウ酸収率係数を用いることが有効であることが示され、従来の算出方法に比べ理論的な最大細菌増殖潜在能を評価することができた。また、水道原水中には多くの AOC 前駆物質が存在していることが明らかとなった。さらに、試験水に懸濁成分を含んでいる場合、試験

菌株が効率的に AOC を利用できていない可能性が示された。実験の対象とした浄水処理システムでは、全有機炭素 (TOC) 中に高い割合で AOC およびその前駆物質が含まれて、AOC 生成能と TOC には相関のある可能性が示唆された。

従属栄養細菌増殖能については概ね AOC と比例関係を示し、一般細菌増殖能とともに炭素濃度に依存して増殖能が高くなる傾向が見られた。本研究の結果より、従属栄養細菌が増殖できない浄水の AOC は  $0.003 \text{ mg/L}$  程度以下で、原水が異なる浄水であっても同様の結果が得られる傾向を示した。一般細菌増殖能が増殖できない浄水の AOC は  $0.02 \text{ mg/L}$  程度以下で、原水が異なる浄水であっても細菌増殖能は AOC で評価できる可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) T. Nishimura, S. Iizuka, N. Kibune and M. Ando, Study of 1,4-dioxane in the total diet using the maeket-basket method. J. Health Sci., 50, 100-107, 2004.
- 2) T. Umemura, Y. Kitamura, K. Kanki, S. Maruyama, K. Okazaki, T. Imazawa, T. Nishimura, R. Hasegawa, A. Nishikawa and M. Hirose, Dose-related changes of oxidative stress and cell proliferation in kidneys of male and female F344 rats exposed to potassium bromate, Cancer Sci., 95, 393-398, 2004.
- 3) 金志勲, 許春蓮, 秋葉道宏, 宮川徹也, 千葉信男, 西村修, 西村哲治, 安

- 藤正典,  
水道水源における同化性有機炭素の動態に関する基礎的研究, 水道協会雑誌, 第 73 卷 第 11 号 p11-p18, 2005.
- 4) T. Nishimura, S. Iizuka, N. Kibune, M. Ando and Y. Magara. Study of 1,4-dioxane intake in the total diet. *J. Health Sci.*, 51(4), 514-517, 2005..
- 5) 秋葉道宏、国包章一：水道における利水障害の発生状況とその対策、水環境学会誌、28(5)、296-300, 2005.
- 6) 押見誠則、藤本尚志、鈴木昌治、大西章博、秋葉道宏、国包章一：かび臭産生藻類 *Phormidium tenue* を溶解する細菌の分離と溶藻特性に関する研究、水環境学会誌、28(6)、25-30, 2005.
- 7) Ogawa Y., Kawamura Y., Wakui C., Mutsuga M., Nishimura T. and Tanamoto, K.. Estrogenic activities of chemicals related to food contact plastics and rubbers tested by the yeast two-hybrid assay. *Food Additives and Contaminants*, 2006, 23(4), 422-430.
2. 口頭発表
- 1) 秋葉道宏、安藤正典、西村哲治、新垣和一；水道水の官能試験法に関する一考察、第 55 回全国水道研究発表会、p654-655, 京都, 2004.
- 2) 金志勲、中野和典、宮川徹也、秋葉道宏、千葉信男、西村修、西村哲治、安藤正典；塩素処理による藻類由来同化性有機炭素の除去性の解析、第 55 回全国水道研究発表会、p568-569, 京都, 2004.
- 3) 宮川徹也、安藤正典、西村修、秋葉道宏、西村哲治；全国の水道における同化性有機炭素の調査、第 55 回全国水道研究発表会、p562-563, 京都, 2004.
- 4) 島崎大、相澤貴子、西村哲治、安藤正典、国包章一、眞柄泰基；水道原水及び浄水における臭素酸イオンの実態調査、第 55 回全国水道研究発表会、p618-619, 京都, 2004.
- 5) 眞柄泰基、安藤正典、秋葉道宏、西村哲治；水道水質基準としての有機物の指標化に関する研究、第 55 回全国水道研究発表会、p632-633, 京都, 2004.
- 6) 西本尚文、西村哲治、高木博夫、加藤信弥、大石克則、嶋田俊夫、並木繁夫、塩出貞光、嶋津治希、中野淑雄、安藤正典；水質基準改正等に伴う検査方法の検討 (IV) -1,4-ジオキサンの検査方法-, 第 55 回全国水道研究発表会、p640-641, 京都, 2004.
- 7) 嶋田俊夫、西村哲治、高木博夫、加藤信弥、大石克則、並木繁夫、塩出貞光、西本尚文、嶋津治希、中野淑雄、安藤正典；水質基準改正等に伴う検査方法の検討 (VI) -かび臭物質の検査方法-, 第 55 回全国水道研究発表会、p644-645, 京都, 2004.
- 8) 加藤信弥、西村哲治、高木博夫、大石

- 克則, 嶋田俊夫, 並木繁夫, 塩出貞光, 西本尚文, 嶋津治希, 中野淑雄, 安藤正典; 水質基準改正等に伴う検査方法の検討 (VII)  
 -フェノール類の検査方法-, 第 55 回全国水道研究発表会, p646-647, 京都, 2004.
- 9) 中野淑雄, 西村哲治, 高木博夫, 加藤信弥, 大石克則, 嶋田俊夫, 並木繁夫, 塩出貞光, 西本尚文, 嶋津治希, 安藤正典; 水質基準改正等に伴う検査方法の検討 (IV)  
 -水道用資機材等の浸出液の検査方法-, 第 55 回全国水道研究発表会, p650-651, 京都, 2004.
- 10) 田原麻衣子, 中島彩子, 斉藤貢一, 中澤裕之, 西村哲治; 化学物質の光化学反応の解明に向けた光安定性評価法の開発, 第 10 回創薬工学シンポジウム, 東京, 2004.
- 11) Maiko Tahara, Ayako Nakajima, Jun-ichi Kimura, Tetsuji Nishimura, Yoshihiro Yoshimura, Hiroyuki Nakazawa; Elucidation of photodynamic action for ketoprofen. The XI<sup>th</sup> International symposium on luminescence spectrometry-detection techniques in biomedical and environmental analysis., p141, Beijing, China, 2004.
- 12) 山下孝光, 坪上雄一, 中西正治; 村野浄水場における粒状活性炭吸着池からの生物漏出対策, 第 49 回研究発表会 (日本水道協会 関西地方支部), p126-129, 2005.
- 13) 金志勲, 千葉信男, 許春蓮, 許仕榮, 秋葉道宏, 中野和典, 西村修, オゾン処理による同化性有機炭素生成能の測定方法の開発, 第 39 回日本水環境学会年会, p. 528, 千葉, 3 月, 2005.
- 14) 金志勲, 中野和典, 千葉信男, 宮川徹也, 秋葉道宏, 西村修, 西村哲治, 安藤典, オゾン処理による同化性有機炭素とトリハロメタン生成能の解析, 第 56 回全国水道研究発表会, p. 610~611, 米子, 5 月, 2005.
- 15) Jihoon Kim, Shunhwa Lee, Shirong Xu, Michihiro Akiba, Munehiro Nomura, Nobuo Chiba, Kazunori Nakano, Osamu Nishimura, Assimilable organic carbon formation from algogenic organic matter and its variation by chlorination, International Water Association (IWA) - Asia Pacific Regional (ASPIRE) Conference, July, 2005 (Singapore).
- 16) D. Shimazaki, M. Asami, T. Nishimura, S. Kunikane, T. Aizawa and Y. Magara; Occurrence of 1,4-dioxane and MTBE in drinking water sources in Japan. 1<sup>st</sup> IWA-ASPIRE Conference and Exhibition, 3B-2, (2005) Singapore
- 16) Osamu Nishimura, Ji-Hoon Kim, Michihiro Akiba, The Problem of Eutrophication Control in Water Resources: Formation of Assimilable Organic Carbon from Algogenic Organic Matter and Its Variation by Chlorine Oxidation, The First International Conference on Sustainable Water Environment: Water Resource and Quality Management, November, 2005 (Taiwan, R.O.C.).
- 17) Tetsuji Nishimura, Eri Ayano, Maiko Tahara, Reiji Kubota, Kumiko Shimizu,

- Masanori Ando and Hiroshi Tokunaga. Identification of chlorinated polycyclic aromatic hydrocarbons. 25<sup>th</sup> International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs. August, 2005 (Toronto, Canada)
- 18) 西村哲治, 久保田領志, 田原麻衣子, 清水久美子, 徳永裕司; 多環芳香族炭化水素類の塩素処理における塩素置換体生成, 第 42 回全国衛生化学技術協議会年会プログラム, p160-161, (2005) 東京.
- 19) 西村哲治, 田原麻衣子, 長岡 (浜野) 恵, 久保田領志, 清水久美子, 徳永裕司; 塩素処理により生成する多環芳香族炭化水素置換体の解析, 第 40 回日本水環境学会年会講演集, p370, (2006) 仙台.
- 20) Nishimura T, Tahara M, Kubota R, Shimizu K, Magara Y, Tokunaga H: Formation of The Chlorinated Forms of Six Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Chlorination in The Water. The 26<sup>th</sup> International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs. 2006.8.
- 24) 西村哲治, 清水久美子, 久保田領志, 田原麻衣子, 徳永祐司: マウス ES 細胞分化系を用いた環境汚染物質の評価系の確立, 第 12 回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会, p57, 2006.9.
- 25) 吉田俊幸, 高橋惇, 千葉信男, 中野和典, 西村修: 同化性有機炭素生成能を用いた浄水処理システムの評価, 日本水処理生物学会第 43 回大会, 2006.11.
- 26) 大村香織, 安達玲子, 西村哲治, 奥直人, 鈴木和博: 化学物質が免疫系食細胞の分化に及ぼす影響について, 2007.3.
- 27) Nishimura T, Tahara M, Kubota R, Shimizu K, Ema M., Tokunaga H: Toxicity of Chlorinated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting and ToxExpo of Society of Toxicology. 2007.3.
- 28) 吉田俊幸, 高橋惇, 千葉信男, 野村宗弘, 中野和典, 西村修: 同化性有機炭素生成能の提案と試験方法について, 第 58 回全国水道研究発表会, 2007.05.
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし

厚生労働科学研究費補助金（地域健康危機管理研究事業）

総合分担研究報告書

最新の科学的知見に基づく水質基準の見直し等に関する研究

— 微生物分科会 —

主任研究者 眞柄泰基 北海道大学大学院  
分担研究者 遠藤卓郎 国立感染症研究所

研究概要

当該研究班では水道水の微生物汚染にかかる諸問題を包括的に検討し、微生物学的な安全性の確保・向上に向けての提言を目的としている。

従属栄養細菌・一般細菌の検査法にかかるガイドライン値について検討し、水質管理目標設定項目として採用される従属栄養細菌数を培養時間7日間として概ね 2,000cfu/mL とすることを提案した。

水道水の水質基準では糞便汚染の指標として大腸菌が用いられるが、本検査法の結果の意図にして統計学的な見地から評価を行った。大半の浄水場では毎日の大腸菌検査が不検出である。しかしながら、このことは水中に大腸菌がないことを示すものではなく大腸菌の真の濃度がある値を下回る可能性が高いことを示すと解釈される。毎日の検査が全て陰性であった場合、統計学的には 0.01462 個/100mL 以下であることを意味する。

クリプトスポリジウム等の耐塩索性病原微生物による集団感染の防止に向けた監視システムの提案を行った。『水系集団感染は原水に病原体が存在する状況で、浄水処理に問題が生じたか施設に瑕疵があるときに発生する』ことを前提とし、過去に発生したクリプトスポリジウム水系集団感染事例における原水中のオーシスト量を算定した。仮に、浄水場の粒子除去能力が 2.7log 程度とした場合、集団感染に先立って原水中のオーシスト量は～10 個/L 程度に達していたものと計算され、さらに、このような状態が1ヶ月以上続いていたことを示した。これを基にすれば、少量（200～1,000ml 程度）の原水を対象に1～2週間に1回程度の頻度で検査することで、集団感染につながるおそれのある状況を把握することが可能となり、集団感染の発生を未然に防ぐとともに、必要に応じて浄水処理の強化や煮沸勧告が可能となる。さらに水源管理に向けたデータの整備（trend 解析）が進むものと期待される。併せて、耐塩索性病原微生物対策として紫外線照射の導入が検討されているが、その際には浄水を毎日1回 20L を採取して14日間保存することが勧奨されている。そこで、小型で、多量のろ過能力を有し、オーシスト等の分離が容易な可溶性粒子を用いたケーキろ過装置を開発した（特願 2006-211340）。

WHO 飲料水水質ガイドラインに『線虫』に関するファクトシートの追加が検討されていることから、水道水から分離される線虫類の遺伝子分類と、線虫からの病原微生物の分離試験を行った。その結果、検出された線虫類中に人体寄生性線虫類は認められなかった。またこれら線虫類から病原性を有する細菌ならびにウイルスも分離されなかった。併せて、水道水を介したノロウイルスの感染リスク評価と、ウイルス汚染除去方法の検討を行った。

A. 研究目的 当該研究班では水道水の微生物汚染にか  
かる諸問題を包括的に検討し、微生物学的  
な安全性の向上・確保に向けての提言を目

的としている。対象とすべき微生物は従属栄養細菌から耐塩素性病原微生物、ならびに腸管性ウイルスに及ぶ。従属栄養細菌は一般細菌に替わる指標細菌として検討されてきたが、全国規模で十分な情報が得られていないことから水質管理目標設定項目に取り入れられることとなっている。当該研究においては検査方法ならびにガイドライン値の設定に資すべき資料を整理する。クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物対策の一環として、新たなモニタリングシステムに関する提言を行う。また、WHO飲料水水質ガイドラインのファクトシートに線虫に関する記事が掲載される予定であることから、わが国の水道水中に認められる線虫類の分類と線虫によって媒介される可能性のある他の病原体（細菌、ウイルス）の有無についての調査を行う。近年では腸管性ウイルス汚染が懸念されており、水道を介した感染リスクの評価と除去方法の検討の必要性が生じている。

## B. 研究方法

- ・ 従属栄養細菌と一般細菌との相関の検討、培養方法（接種方法、時間等）、水質管理目標設定項目としての目標値等の検討を行った。
- ・ 現行の大腸菌試験の結果の解釈として、統計学的な見地から大腸菌の真の濃度がどの程度の値を示すものか検討した。
- ・ 過去の集団感染事例の解析から、クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物による集団感染を防止に向けた監視システムの構築を行った。また、紫外線照射装置の導入に関連して浄水資料の保存が求められており、小型で、多量のろ過、オーシストの迅速回収が可能な一次保存に適したろ過装置の開発を行った。
- ・ 水道水中から分離される線虫類ならびに線虫が媒介する可能性のある病原微生物（細菌、ウイルス）の調査を行った。併せて、水道水を介したノロウイルスの感染リスク、ならびに MF膜と凝集剤の併用によるウイルス除去方法を検討した。

## C. 研究成果ならびに考察

### 1. 一般細菌/従属栄養細菌

わが国における病原微生物に関する水質項目には大腸菌と一般細菌の検査が規定されている。水系感染の主な原因が人を含む温血動物の糞便に由来することから、水道水の品質保証という観点から糞便汚染の検知には高い精度が求められる。わが国では大腸菌群を代替指標として用いてきたが、大腸菌群には広範な細菌類が含まれ、これらの中には外界で増殖する細菌類が含まれる。そのため、大腸菌群では糞便汚染の高い指標性が望めないというのが今日の国際的な理解である。一方、迅速・簡便な大腸菌の培養技術が確立された今日にあっては腸管内の常在細菌のなかで $10^8 \sim 10^9$ 個/gと最も数の多い大腸菌 (*Escherichia coli*) を糞便汚染の指標に充てることが妥当と判断される。上水試験方法（日本水道協会）等によれば、一般細菌の指標性に関して幾つかの異なった機能が解説されている。一義的には細菌の現存量指標とされているが、塩素消毒の有効性の判定や、場合によっては処理工程における水質改善の効果判定に有効であるとの説明もある。また、糞便等の混入がある場所では一般細菌数の増加が認められるとし、糞便汚染の指標にもなり得ると説明されている。しかしながら、糞便汚染の指標としては大腸菌が採用されており、一般細菌にあらためて糞便汚染の指標性を意味付ける必要性はない。また、微生物の現存量把握にはより広範な微生物を対象とする従属栄養細菌数測定（Heterotrophic Plate Counts: HPC）等を用いる方が適当である。HPCは混入細菌に加え、配水系等での生物膜やスライムの形成など水道施設の微生物学的劣化を端的に表現する指標としても期待される。たとえば、レジオネラ属菌 (*Legionella spp.*, 肺炎の起因菌)は $20 \sim 45^\circ\text{C}$ 付近を好適な生息温度とする寄生性の細菌で、環境中において原生動物（アメーバ類等）に寄生して増殖する。特に滞留水や水温の上昇が見込まれる構造を有する部分ではレジオネラ等の定着・増殖防止が必要である。今日まで、レジオネラの挙動と相関性を有する指標生物は知られていないが、

環境水中においては従属栄養細菌等の増殖が宿主アメーバ類の繁殖につながり、やがてレジオネラ汚染へと発展する構図は明らかである。加えて、その他にも水系内で増殖する病原微生物が知られており、WHO飲料水水質ガイドラインでは、アエロモナス、バチルス、シュードモナス、マイコバクテリア等々の細菌類およびアカンソアメーバ、ネグレリア等のアメーバ類が列挙されている。従って、混入細菌に加え、配水系等での生物膜やスライムの形成などいわば水道施設の微生物学的劣化を端的に表現する指標が必要と判断される。我が国ではHPCは限られた水道施設において試験的に測定されているに過ぎず、十分な基礎データの蓄積がない。したがって、当面は一般細菌を水質基準に据え置き、従属栄養細菌数を水質管理目標設定項目にすることが妥当と判断される。従属栄養細菌に関しては日本水道協会水質試験方法等調査専門委員会が従属栄養細菌に関する詳細な調査を行っている。当該研究では同調査専門委員会による平成17年8月の調査結果を基に、従属栄養細菌と一般細菌の相関、水源による分布・濃度の違い、浄水処理の前後での菌数比較などについて検討した。提供を受けた調査結果は以下のとおりであった。

1. 従属栄養細菌の試料を採水する場合は、5L/分の放流速度で5分以上の放水を行うことが必要であった。(図1)
2. 河川水と湖沼水における従属栄養細菌数と一般細菌数との間で相関が認められ ( $R^2=0.63\sim 0.77$ ) (図2)、一般細菌数 100cfu/ml に相当する従属栄養細菌数 (培養7日間) は 2,000cfu/ml 程度と算定された、また、

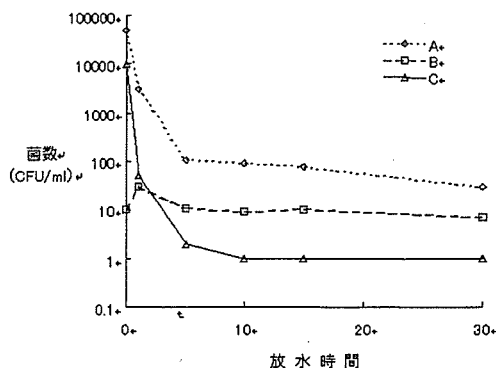


図1. 従属栄養細菌と放水時間の関

従属栄養細菌は一般細菌の約16倍程度の菌数が得られた。(表1)

3. 浄水と給水における出現状況は、従属栄養細菌で58%、一般細菌で3%であった。
4. また、従属栄養細菌の検出率は浄水の46%に対して給水では64%と配水システムにおいて高くなっており、配水系での増殖が伺われる。

従属栄養細菌数は増殖の遅い細菌類が含まれており、培養時間によって測定値が大きく異なる。培養時間48時間では検出菌数が大きく増加している過程で測定することとなり、安定した測定結果を得ることが困難である。従属栄養細菌測定を行うメリットはその感度にあるが、十分に感度が発揮されない時点で観察を止めることは合理性を欠くものと判断される。従属栄養細菌測定には少なくとも7日間程度の培養期間が必要と考える。ところで、欧米では培養時間を48時間とし、ガイドライン値を100~500cfu/mL未満に定めている国が散見されるが(表2)、研究資料にそって培養時間7日目の値を外挿により求めると概ね2,000cfu/mLに相当する(図3)。従って、当面はこの値を水質管理目標設定項目の目標値とすることを提案した。今後、集積される情報、知見を踏まえて再検討することが必要と考える。また、培養時間を7日間のみとせず、同一プレートを用いて可能な限り2日目および14日目にも測定することが望ましいと考える。いずれにしても、従属栄養細菌数は単に目標値と比較して多寡を論ずるのではなく、継続的な測定により異常な増加が生じないことを確認する利用方法が重要で、その周知をはかる必要がある。統計学的観点からみた微生物関連の水質基準の評価

現在、水道水の水質基準では糞便汚染の指標として大腸菌が用いられる。大半の浄水場では毎日の大腸菌検査が不検出である。しかしながら、このことは水中に大腸菌がないことを示すものではなく、統計学的見地からは大腸菌の真の濃度がある値を下回る可能性が高いことを示していると解釈される。

以下では、全ての測定において異常値が

表1 一般細菌100CFU/mLに相当する従属栄養細菌数

試料区分	対象試料	相関式の係数		相関係数	従属栄養細菌への換算	
		a	b		対数表記	実数表記 (cfu/ml)
全数	349	0.9518	1.302	0.7738	3.2	1605
塩素なし	99	0.8021	1.7494	0.7179	3.4	2257
塩素あり	19	1.1744	0.7711	0.6260	3.1	1318

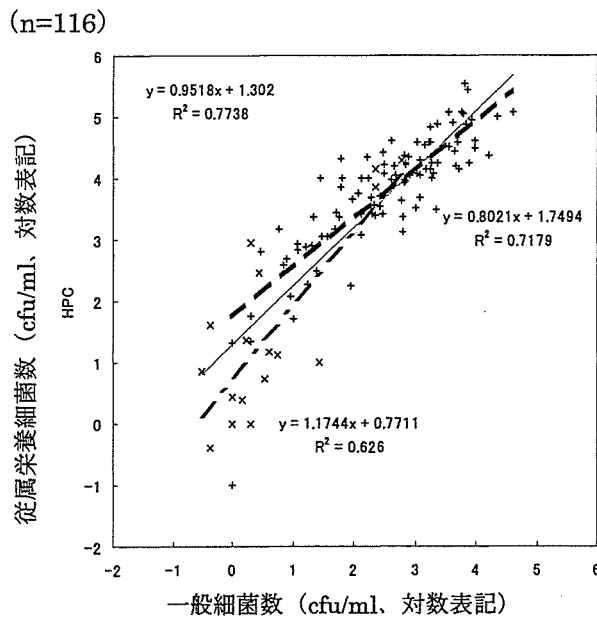


図2 一般細菌と従属栄養細菌の相関  
全測定値 (n=349) での相関図 (A) より、有効な測定値 (n=116) を抜粋して相関を検討した (B)。不検出の測定は軸上にプロットした。xは残留塩素が検出された測定値、+は残留塩素が検出されない試料での測定値を表す。相関式とR<sup>2</sup>値は左上が全数、右が塩素なし、下が塩素有りの測定にそれぞれ対応する。

表2. 諸外国における従属栄養細菌数の基準値またはガイドライン値

	基準値またはガイドライン値
WHO	なし
EU指令	なし
米国EPA	Maximum Contamination Goal : なし Maximum Contamination Level : なし。 ただし、500cfu/mL 以下に処理すること (試験方法指定なし)
ドイツ	100cfu/mL未満 (20°Cおよび36°C、48時間培養)
オランダ	100cfu/mL未満 (20°C、48時間培養)
オーストラリア	消毒あり : 100cfu/mL未満 (35、37°C、48時間培養) 消毒なし : 500cfu/mL未満 (35、37°C、48時間培養)
カナダ	500cfu/mL未満 (試験方法指定なし)



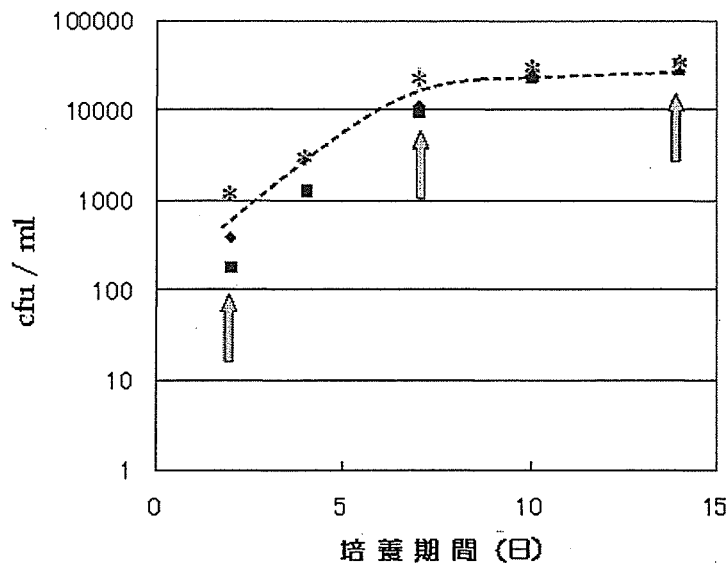


図3. R2A培地による従属栄養細菌数と培養時間との関係

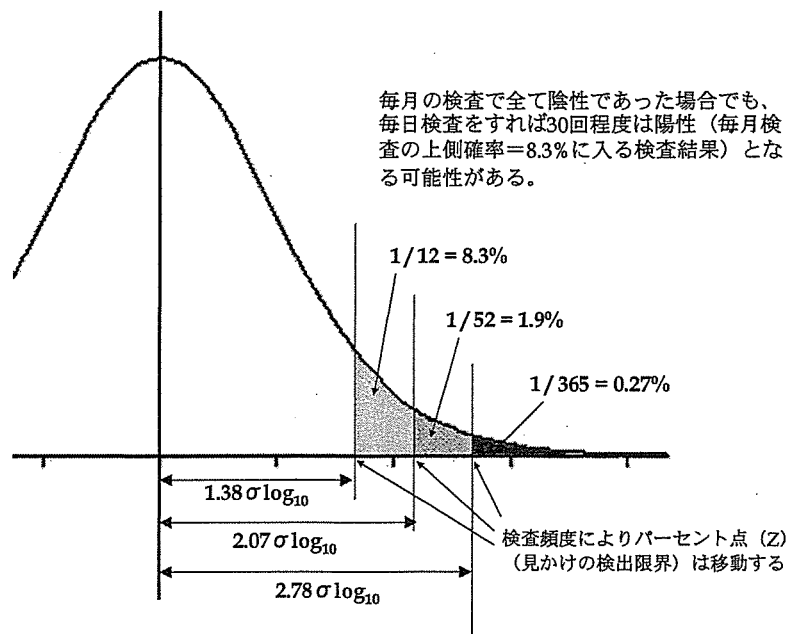


図4. 検査回数と統計学上の真の大腸菌数との関係  
正規分布における出現確率1/12、1/52、1/365の値（パーセント点=Z）は、平均確率値（=出現確率50%）からそれぞれ1.38σ、2.07σ、2.78σずつ大きくなる。

在しないものとし、さらに一定の対数正規分布に従う試料から採取していると仮定した。また、得られる測定値はもっぱら試料の採取におけるサンプリング誤差に起因するものとして、検出限界濃度（1 cfu/100ml）よりも低い場合は不検出、それより高い場合は必ず検出されるものと仮定した。

繰り返しの測定において一度も検出限界を超えない場合を想定すると、そのような試料では真の大腸菌濃度は検出限界の値よりも低いところにある可能性が高いものと考えられる（図4）。その場合、一定の確率でその試料に含まれる真の大腸菌濃度のとり得る最大値を推定することができる。ここ

で、大腸菌濃度の平均値は不明であるが、上述の仮定からその濃度分布は標準偏差  $\sigma$  が 0.66 ( $\log_{10}$ ) の対数正規分布に従う。また、全ての試験において不検出であったことからその試料における大腸菌は一定の出現確率を下回ったとみなされる。正規分布において、上側確率 1/12 (8.3%)、1/52 (1.9%)、1/365 (0.27%) の値は、平均値 (上側確率 50%) からそれぞれ標準偏差 ( $\sigma$ ) の 1.38 倍、2.07 倍、2.78 倍ずつ大きくなる (各上側確率表から求めたパーセント点 (Z))。したがって、年平均濃度 (分布の中央値) は、

$$\begin{aligned} & \text{毎月不検出の場合} \\ & 1.38 \times 0.66 (\log_{10}) = 0.911 \log_{10} \text{ 以上} \\ & \text{毎週不検出の場合} \\ & 2.07 \times 0.66 (\log_{10}) = 1.366 \log_{10} \text{ 以上} \\ & \text{毎日不検出の場合} \\ & 2.78 \times 0.66 (\log_{10}) = 1.835 \log_{10} \text{ 以上} \end{aligned}$$

それぞれ検出限界よりも低いことになる。以上の計算より、100ml から毎日不検出の場合の年平均値は、検出限界が 10 個/L であることから、大腸菌数は  $10[\text{個/L}] \times 10^{-1.835} = 0.1462 \text{ 個/L}$  (0.01462 個/100mL) 以下となる。

ところで、浄水池出口において遊離塩素 0.1mg/L 以上が確保されているとすると、大腸菌に対して 20Log 以上の不活化を行っていることになり、原水の大腸菌濃度から

計算される浄水中の菌数は、 $10^{-17}[\text{CFU/mL}]$  よりも低い値をとるものと推定される。この値は、毎日の検査で大腸菌が不検出であることにより保障される濃度 (0.01462 個/100mL) に比べて、非常に低いことが想定される。すなわち、現行の水質基準に沿って行う大腸菌測定は、給水管・配水管等における汚染の検知と、残留塩素が確実に存在するように水質管理を行うことをうながす意味が大きい。

## 2. クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物対策 (集団感染防止に向けた監視システムの構築) :

一般に、『水系集団感染は原水に病原体が存在する状況で、浄水処理に問題が生じたか、あるいは施設に瑕疵があるときに発生する』ものとされている。しかしながら、その一方で水を介した集団感染は『一過性の汚染が原因する』とする既成概念が支配的であったことも事実で、一過性の汚染に対する連続監視が困難なことからそれ以上に監視システムの検討がなされずにきた。しかしながら、他の研究事業 (「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 (平成 17 年度新興・再興感染症研究事業) による過去の事例の検討では、水系集団感染において一過性の汚染を原因としたとされる証拠は得られていない。すなわち、過去の水系

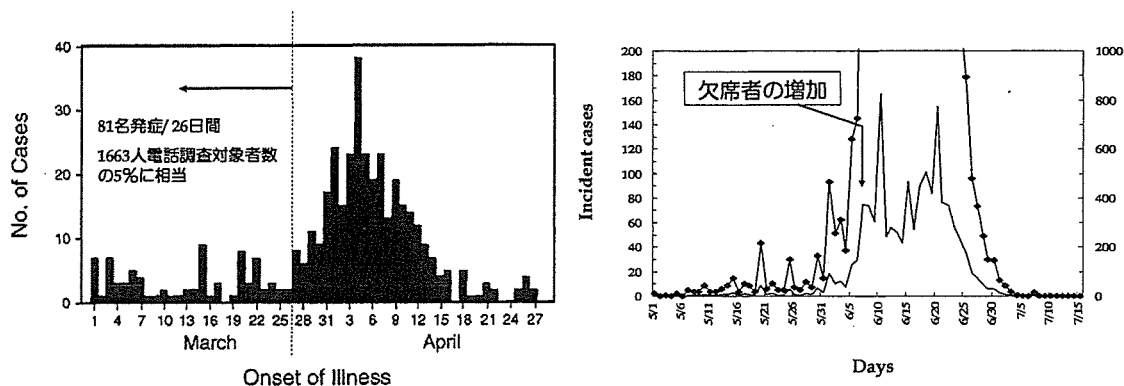


図5. 米国Milwaukeeおよび埼玉県越生町におけるクリプトスポリジウム集団感染時における患者発生状況： 集団感染以前におよそ1ヶ月にわたり散発的に下痢患者が発生していることがわかる。Milwaukeeの事例では凝集剤の交換時に凝集の不具合が生じており、これが集団感染の直接原因となった。越生の事例では、一定の汚染が続く中、気候の変化 (気温上昇) により飲水量の変化が著直接原因と推定された。

表3. クリプトスポリジウム集団感染の発生前の原水中のオーシスト濃度の推定

Outbreak Cases	Amount of tapwater consumed daily	Number of oocyst estimated (/L)			
		in tapwater	in source water with varying removal rate of the treatment plant		
			1-log	2-log	3-log
Milwaukee, US	200 ml	0.1	1.0	10	100
	1,000ml	0.02	0.2	2	20
North Battlefords, Canada	200 ml	0.05	0.5	5	50
	1,000ml	0.01	0.1	1	10
Ogose, Japan	20ml	0.5	5.0	50	500
	1,000 ml	0.01	0.1	1	10

集団感染の報告を精査すると、いずれの事例でも集団発に先立って長期間にわたり散発的な下痢症（クリプトスポリジウム症）が発生していたことが明らかとなっている（図5）。集団感染に先立って、散発患者が増加するという現象は、量的には少ないものの浄水中にオーシストが漏出した結果と考えられ、遡って、原水中のオーシスト量が浄水処理能力を超える程度にまで達していたことを示している。このような状況下で浄水処理に不具合が生じたり

（Milwaukee その他の事例）、飲水量が幅に増えるような状況（越生事例、その他）が生じて集団感染へと発展したものと考えられる。そこで、集団感染の発生前の地域住民における下痢症の発生状況から Haas らの計算式を用いて浄水中のオーシスト数を算定すると、いずれの集団感染事例においても浄水中のオーシスト数は 0.01~0.02 個/L 程度と推定された（表3）。さらに、一人当たりの飲水量を 1,000mL/日とし、浄水場の粒子除去効率を  $1\sim 3\log_{10}$  除去として原水中のオーシスト数を逆算すると、おおむね 0.2~20 個/L 程度と算出される。水道水の飲水量を 200ml（コップ一杯程度）と仮定すれば原水中のオーシスト数はさらにその 5 倍量となる。仮に浄水場の粒子除去効率を  $2.5\log_{10}$  程度とした場合、浄水中のオーシストの 500 倍量が原水に含まれることになり、原水を対象としてオーシストの検査を想定すれば、200~1,000mL 程度の検査水量で十分に検出が可能と考えられる。この程度に検査水量を減らすことができれば、検査時

間の短縮や検査労力の軽減化につながり、検査回数を増やすことも可能となる。また、原水におけるクリプトスポリジウムの汚染は少なくとも 1ヶ月程度は持続しており、1~2週間に 1 回程度の検査によって状況の把握が可能と考えられる。そこで、下図のようなオーシストのモニタリングシステムを提案した（図6）。

本システムではクリプトスポリジウムの形態観察に替えて遺伝子検査を採用した。すなわち、『~1L 程度の原水の濃縮、補足粒子からの DNA 抽出、特異 DNA の増幅』とする一連の検査法を提案するもので、遺伝子検出法としては後述の LAMP（Loop-mediated Isothermal Amplification）法を採用し、クリプトスポリジウムおよびジアルジアに対する特異プライマーの開発を行った。さらに LAMP 法に最確法（MPN: Most Probable Number）を組み合わせるにより定量性を持たせた。この検査法により、集団感染の発生を防ぐとともに、浄水処理の強化や煮沸勧告が可能となり、さらに水源管理に向けたデータ収集（trend 解析）が可能となるものと期待される。ちなみに、クリプトスポリジウムのオーシストには標的遺伝子が 20 コピー、ジアルジアに関しては 250 コピー程度が含まれる。一方、LAMP 法における定量限界は 6 コピーである。現在、陽性限界濃度につき検討している。

クリプトスポリジウムおよびジアルジアの遺伝子検査法：

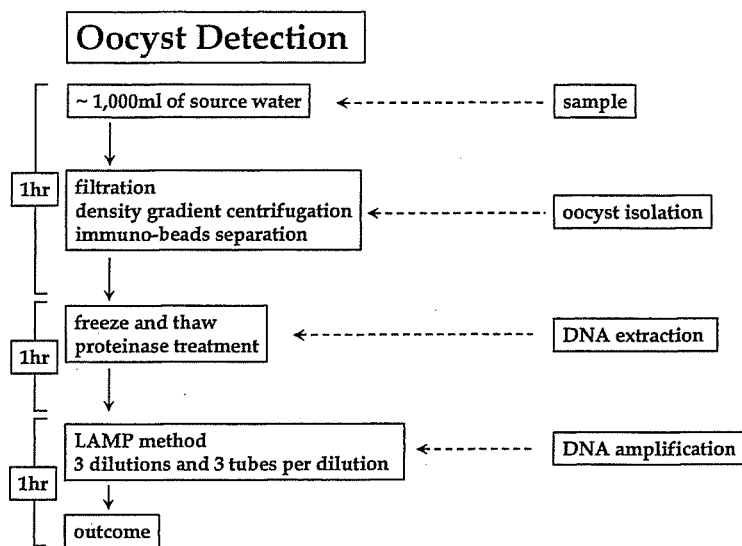


図6. 原水を検査試料としたオーシストの監視システム

クリプトスポリジウムおよびジアルジアの迅速遺伝子検出法の開発を行った。わが国における水道水の耐塩素性病原生物対策は、もっぱらクリプトスポリジウムおよびジアルジアを対象に行われている。対策の骨子は浄水処理による濁度管理と定期的な原虫検査であるが、後者の原虫検査は操作が煩雑で時間を要することから水道事業体にとって負担は小さくない。このため、現行の検査法に変わる簡便・迅速な検査方法の開発が望まれている。当該研究事業では *Cryptosporidium* 属および *Giardia* 属を対象とする遺伝子検出法の開発を行った。遺伝子診断法としては Polymerase Chain Reaction (PCR 法) およびその応用技術である Realtime PCR など多くの方法が知られており、研究も進んでいるが、当該研究では LAMP 法を取り上げ、クリプトスポリジウムおよびジアルジアの検出を目的としたプライマーセットの開発を行った。本方法はわが国で独自に開発された手法で、特異遺伝子が短時間のうちに極めて多量に増幅されることから陽性反応を濁度の上昇として検知することができる。

#### *Cryptosporidium* 属に特有な LAMP プライマーセット

*Cryptosporidium* 属の 18S rRNA 遺伝子を

標的遺伝子とし、LAMP 法のプライマー候補の塩基配列を選択し *Cryptosporidium* 属内種での相同性、他の原生生物の塩基配列からの独立性に注意してプライマーの設計を行った。上記プライマー領域を含む 18SrRNA の部分配列を組み込んだプラスミドを鋳型として感度試験を行い、6 コピー (6 分子) を最少単位として 40 分以内に陽性反応を濁度計で検出した (図 7)。本プライマーセットの特異性の検証には *C. parvum* および *C. hominis* (*C. parvum* human genotype) を中心とした 6 種類の鋳型を用いた。また、*Cryptosporidium* と同時に検出対象となっている *Giardia* とは交差反応しないことも確認した。本プライマーセットを用いて得られた真正の LAMP 産物の塩基配列には制限酵素 *SacII* の標的配列が含まれていることから、得られた LAMP 産物が *SacII* で消化されることで特異反応であることの確認も可能である (図 8)。*Giardia* 属に特有な LAMP プライマーセット:

上記と同様に *Giardia* 属検出用のプライマーの設計を行った。*Giardia* 属に対して特異性を持つプライマーを目的とすることから、対象遺伝子は 18S rRNA 遺伝子とした。*Giardia* の種(株)間の遺伝子配列の相同性、他の原生生物からの独立性に注意して設計にあたった。標的遺伝子領域を挿入したプ

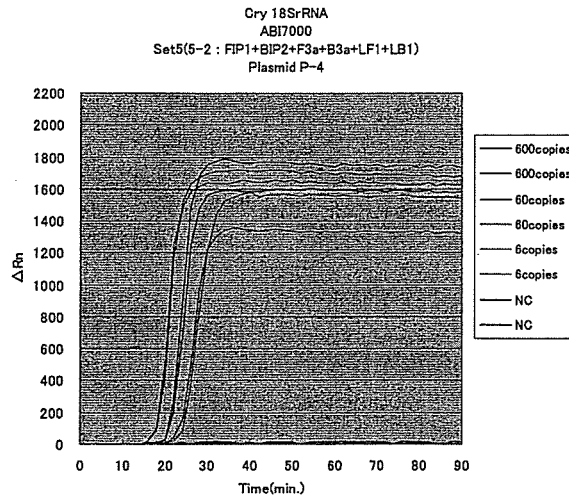


図7. 制限酵素 *Sac* II によるLAMP産物解析

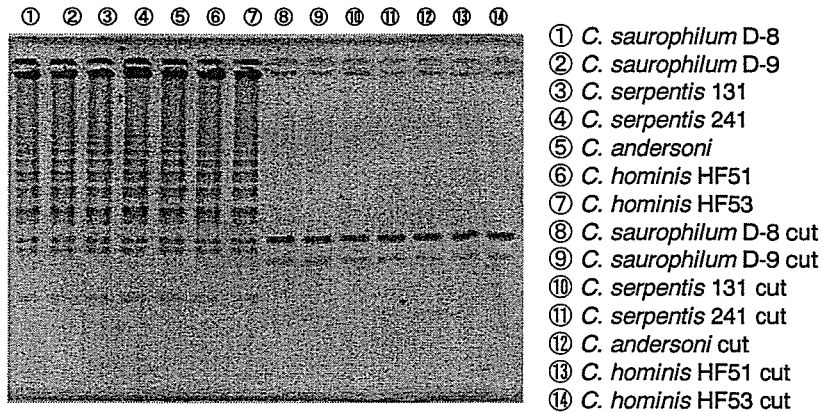


図8. 制限酵素 *Sac* II によるLAMP産物解析

ラスミドを作製し、これを鋳型として感度試験を行った。その結果、最少6コピーのプラスミドを含む反応液で50分以内に濁度計で陽性反応を確認した。得られたLAMP産物は制限酵素 *Mva*I や *Ban*II による切断パターンにより特異性が確認できる。また、クリプトスポリジウムとの交差反応性がないこと、その他の特異反応が最小限に抑えられていることを確認した。以上の結果より、LAMP法を用いたクリプトスポリジウムおよびびリアルジウム検出は、感度、特異性、迅速性など目標の性能に十分達しているものと判断された。

#### Lamp-MPN法の検討

本来、Lamp法の用途は定性試験に限られている。一方、微生物の存在様式は対数正規分布を示し、存在の有・無で判断することは適当ではない。当該研究ではLamp法

を用いた定量試験の確立に向けてMPN法 の概念を組み込んだ。具体的には図10に示すように検体量を段階的に減らした3本/3系列の反応系、計9本のLAMP反応を行い、得られた結果を添加資料濃度ごとに集計してMPN法により濃度を推計することとした。

クリプトスポリジウムのオーシストには複数の遺伝子が含まれていること、Lamp法の感度は1コピーから反応が成立するとは限らないことから、MPN法で得られた数値を単純にオーシスト数に換算することはできない。本研究で得たMPN値を理論オーシスト数で除すと、7回試験の単純平均では3.3という値が得られ、21本/3系列とみなして得られるMPN値では1.9と計算された(表4)。以上のことから、MPN値を2~3の係数で除することでオーシスト濃度に換

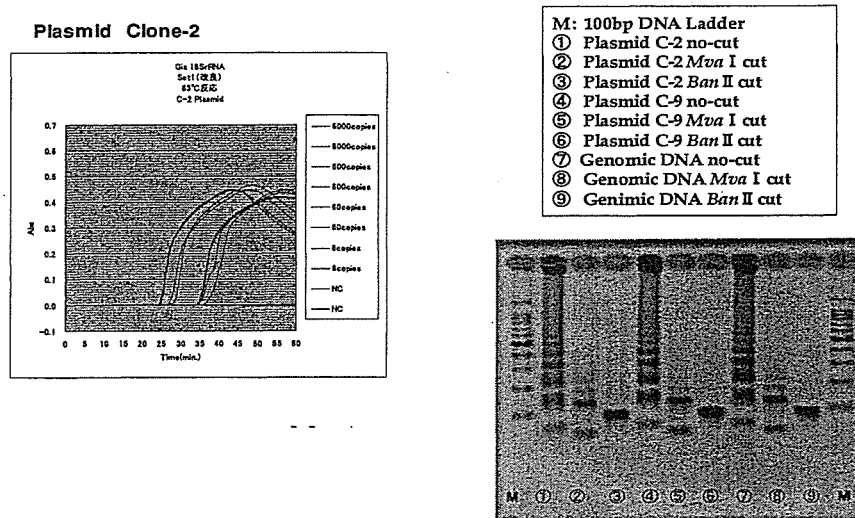


図9. LAMP 法を用いた ジアルジア特異遺伝子の検出

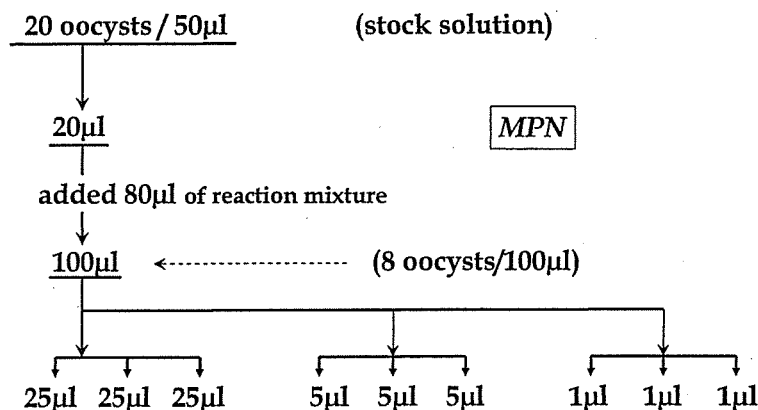


図10. LAMP-MPN法の実験手技

算できることが求められた。ゲノム解析の結果として Lamp 標的の 18S rDNA 遺伝子のコピー数は *C. hominis*, *C. parvum* が共にゲノム当たり 5 コピーと報告されている (Abrahamsen et al. 2004, Xu et al. 2004)。原虫類の倍数性については情報が無いが、オーシスト内で減数分裂するものと考えられていることから  $n=1$  と仮定し、オーシスト内に 4 つのスポロゾイトがあることから計算すると、1 オーシストは少なくとも 20 コピーの rDNA を有することになる。一方、Lamp 法の感度試験では 6 コピーから陽性結果が得られることを既に報告しているが、この関係から 1 オーシスト中には Lamp 反応に必要なコピー数の 3 倍量程度が含まれていることになり、前述の MPN からオーシスト数への換算に必要な係数が 2~3 であったことと対応していると思われた。同

様にジアルジアのシストでは 1 シスト当たりおよそ 260 コピーの rDNA が存在するものと計算される。シスト 20 個/50µl に相当する DNA 抽出液を準備し、その 100 倍希釈を用いて LAMP-MPN を実施した結果は、陽性本数/試験本数が 3/3、1/3、0/3 となった。このときの各濃度系列あたりのシスト数 (コピー数) はそれぞれ 0.02 個 (5)、0.004 個 (1)、0.0008 個 (0.2) となり、コピー数から見た反応結果と矛盾しない結果であった。

当該研究では DNA 抽出後の試料に対する MPN の適用を検討し、Lamp 試験における定量の可能性を示した。本方法の導入により検査の繰り返しによるトレンド評価に関連した濃度算出が可能となるものと期待される。

表4. CryptosporidiumのLamp-MPN法の結果一覧

試験番号	DNA抽出操作のオーシスト数	計算濃度(オーシスト数/ul)	反応結果(陽性本数/試験本数)			MPN/ul (95%CI)	MPN/鑄型濃度 倍数
			鑄型量(3段階) 5ul	1ul	0.2ul		
1	20個/50ul	0.4	2/3	2/3	1/3	0.5 (0.16 ~ 1.4)	1.2
2	20個/50ul	0.4	3/3	3/3	1/3	3.0 (0.92 ~ 9.8)	7.5
3	20個/50ul	0.4	3/3	1/3	0/3	0.5 (0.17 ~ 1.6)	1.3
4	20個/50ul	0.4	3/3	2/3	0/3	0.9 (0.28 ~ 2.8)	2.2
5	6個/20ul	0.3	2/3	0/3	0/3	0.2 (0.04 ~ 0.6)	0.5
6	6個/20ul	0.3	3/3	3/3	0/3	1.8 (0.56 ~ 5.7)	6.0
7	6個/20ul	0.3	3/3	2/3	1/3	1.3 (0.41 ~ 4.3)	4.4
小計	20個/50ul	0.4	11/12	8/12	2/12	0.7 (0.42 ~ 1.3)	1.9
小計	6個/20ul	0.3	8/9	5/9	1/9	0.6 (0.30 ~ 1.1)	1.9
合計	両方	0.36	19/21	13/21	3/21	0.7 (0.43 ~ 1.0)	1.9
平均						1.2	3.3

表5. ケーキろ過におけるろ材粉体量とオーシストと同等の大きさの粒子の回収率

粉体使用量 kg/m2	2回実験の回収率(%)		平均回収率
	1	2	
0.25	61	68	64
0.5	83	93	88
1.0	104	104	104

表6. 粉体粒径とオーシストと同等の大きさの粒子回収率

粉体粒径 μm	3回の実験の回収率			平均回収率
	1	2	3	
40	72%	95%	97%	88%
20	105%	114%	109%	109%
10	90%	101%	99%	97%

3. 多量のろ過を可能とする可溶性粒子を用いたケーキろ過法の開発:

クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物対策として紫外線照射の導入が図られるが、その際、浄水を毎日1回20Lを採取して14日間保存することが勧奨されている。そこで、クリプトスポリジウム等の回収方法と浄水試料保存を目的とした小型(40mmΦ程度の容器)で多量のろ過能力を有し、オーシスト等の分離が容易な可溶性粒子を用いたケーキろ過装置を開発した(特願2006-211340)。本方法の特徴は、多量の水のろ過が可能で、ろ過後の充填剤を溶解することでろ過捕捉物が迅速に回収できること、および一次保存に適していることである。提案のケーキろ過による

クリプトスポリジウム等のオーシスト捕捉率は、充填する粉体量(表5)および粉体の粒径(表6)に依存する。ちなみに、均一な粒子を充填剤とした場合、それによって捕捉される粒子の大きさはフィルター粒子の15.5%程度以上と計算される。

5 水道水中から分離される線虫類について  
WHO 飲料水水質ガイドラインに『水道水中の線虫』に関するファクトシートの追加が検討されている。本来、人体寄生性線虫類の生活環から、水道水に混入するおそれはほとんど無い考えられる。しかしながら、水道水の安全性を保證する観点から水道水から分離される線虫類の同定と、線虫類により媒介される細菌あるいはウィルス

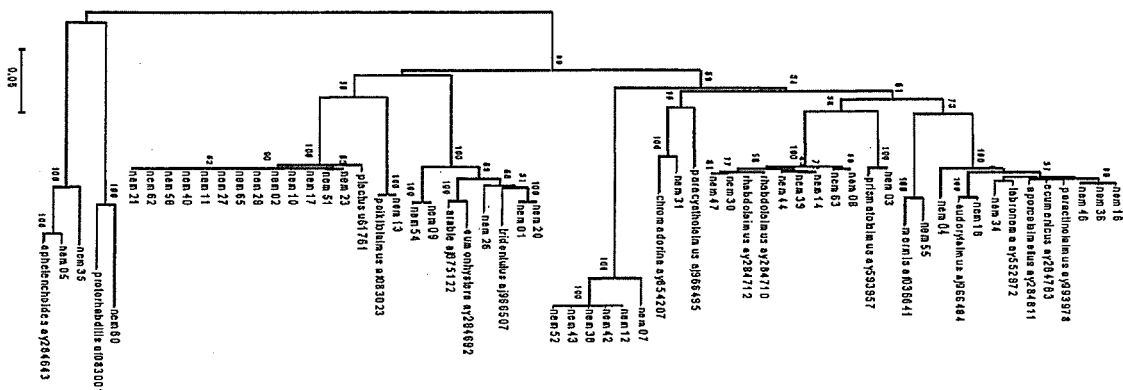


図11. 水道水から分離された線虫類の系統樹  
 水道水から分離された線虫類は極めて多様で、遺伝子解析により得られた配列から土壌線虫として登録されている遺伝子配列に近縁のものが多く認められた。

表 7. 水道水由来の線虫類の遺伝子による分類(属名と分離回数)

属名	分離回数	(分離頻度)	一致率	(一致塩基数)
Plectus	13	(30%)	99%	899/908
Rhabdolaimus	7	(16%)	99%	847/850
Paracytholaimus (unknown)	6	(14%)	92%	268/291
Tridentulus	4	(9%)	96%	867/903
Ecumenicus	3	(7%)	99%	902/909
Aphelenchoides	2	(5%)	98%	865/880
Chromadoridna	1	(2%)	95%	851/888
Eudorylaimus/Prodorylaimus	1	(2%)	99%	896/900
Eumonhystera	1	(2%)	92%	793/856
Labronema	1	(2%)	98%	884/898
Mermis	1	(2%)	96%	861/896
Paractinolaimus	1	(2%)	97%	894/916
Poikilolaimus	1	(2%)	99%	910/911
Pristmatolaimus	1	(2%)	99%	906/912
Protorhabditis (unknown)	1	(2%)	94%	380/401

の有無について検討した。

関東地域にある Y 浄水場の配水池 (浄水) において 12L を 5 試料採取し、直ちにチオ硫酸ナトリウムを加えた (同浄水場の浄水の測定値: 水温 24.6°C、濁度 0.01 度、残留塩素 0.8mg/L)。5 試料は個別に全量をフィルターろ過し、1 試料のろ過物中の線虫の測定用、1 試料を線虫の形態学的同定用、1 試料を線虫の遺伝子型別用、1 試料を病原細菌の分離用、1 試料をウイルス分離用とした。

試料 12L から、計 74 隻の線虫が得られ、その内、生存虫体は 30 隻、生死判定不可個体

18 隻、死亡虫体 26 隻であった。18S rRNA 遺伝子の配列の一部を標的とした遺伝子解析を行い分類を行った。現在まで 44 配列を取得した。これを Blast 検索の結果に従い、近縁の属名を用いて分類した (表 7)。分離株のうち 30% が *Plectus* 属に分類された。水道水由来の線虫類は多様で (図 11)、多くの属は土壌線虫の登録配列と類似性が高いものであった。その中で、*Mermis* 属の線虫は昆虫 (バッタの類) の寄生虫として知られるがヒトへ寄生性は無い。併せて、線虫が他の病原細菌やウイルスの伝播に参与する可能性について検討した。次亜塩素酸ナト



リウムによる薬浴処理を施した線虫と無処理の線虫のホモジェネートを作製しそれぞれから細菌ならびにウイルスの検出を試みた。細菌の分離には SS 培地、DHL 培地、TCBS 培地、血液寒天培地、HI 寒天培地にそれぞれホモジェネートを接種し、25℃および36℃、好気および微好気で48時間培養した。また、凍結融解処理後の線虫を用い、アデノ40、およびアデノ41ウイルスを標的とした遺伝子検出を行った。その結果、次亜塩素酸ナトリウム処理後の虫体のホモジェネートからは細菌類は分離されず、線虫の腸管等の組織内に多量の細菌類が存在する可能性は否定的であった。一方、次亜塩素酸ナトリウム処理を施さなかった虫体のホモジェネートからわずかに非病原性の *Bacillus* 属菌が分離された（定性試験）。また、アデノ40、およびアデノ41ウイルスを標的とした遺伝子検出を行ったが、いずれも不検出であった。これまでの結果から、水道水中に混入する線虫類により病原微生物が媒介される可能性は否定的であった。

#### 4. 水道水を介したノロウイルスの感染リスク評価と、ウイルス汚染除去方法の検討：

ノロウイルスは、わが国で重要な下痢症の原因微生物にあげられる。水道水を介したノロウイルス感染のリスクについて、定量的リスク評価により感染確率および障害調整生存年 (DALYs) を検討した。ノロウイルスの濃度は定性的な実測データ

(Haramoto et al., 2004) に対してポアソン対数正規分布を仮定した MPN 法により求めた。この方法の妥当性について、クリプトスポリジウムの実測データの定量値 (Hashimoto et al., 2002) を用いて検証した。なお、リスクの算出において、半数感染量として10個および100個の値を用いた。また、PCRによる陽性判定=感染性のあるウイルスの存在、と仮定している。ここで用いた仮定は、水道水中の塩素による消毒効果を計算にいていないため、実際のリスクは算出されたリスクよりも小さいと考えられるが、ノロウイルスの塩素耐性に関する知見がほとんどないため、当該研究によって得られるリスクは最大値にあたるものを示している。その結果、ノロウイルスの感染リスクはアメリカEPAの受容可能リスク [ $10^{-4}$  infection/人・年] を上回るものの、生涯調整生存年はWHOの示す [ $10^{-6}$  DALYs/人・年] に同等な水準であることがわかった。また、水中の病原微生物濃度の算術平均値を用いることにより、年間感染リスクをかなりの程度まで近似できることがわかった (Masago et al., 2006)。

併せて、高フラックスでの運転が期待できるMF膜処理を用いてのウイルス除去を試みた。通常、MF膜の孔径は、水系感染ウイルスの直径より大きいため、MF膜単独ではウイルスの除去は期待できない。そこで、本研究では、凝集処理をMF膜の前処理とすることによりウイルスの凝集粗大化を図り、MF膜での効率的な除去法の確立を

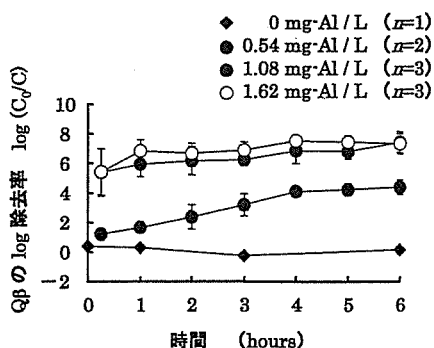


図12. PACl添加濃度の影響：PACl添加量の増加につれて、ウイルス粒子の除去率が向上した。

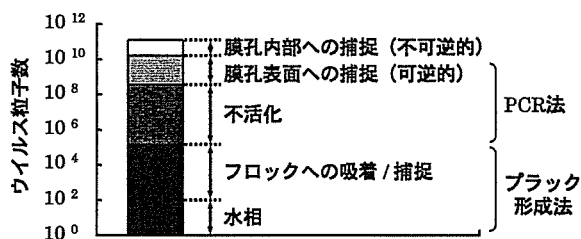


図13. MF膜エレメント内のウイルス粒子の存在：アルミニウムフロックへの吸着・捕捉に加え、PACl処理に伴うウイルスの不活化が観察された。

目指した。実験で使用したウイルス（大腸菌ファージ Q $\beta$ ）は直径約 23 nm と MF 膜の孔径よりも小さいため、MF 膜処理のみではウイルス粒子の除去は期待できない。そこで、凝集処理を前処理として導入した『凝集—MF 膜処理』において、実験に用いた PACI 添加濃度範囲においてウイルスの除去が確認された（図 12）。同様に、凝集時間、MF 膜孔径がウイルス除去に与える影響について検討した結果、ウイルス除去には凝集時間、MF 膜孔径に比べて凝集剤添加量の影響が最も大きいことが分かった。また、1.08 mg-Al/L 以上の PACI 添加濃度では、2.4 秒程度の短い凝集時間であっても 6.4 log 以上の除去率が得られたことから、MF 膜処理の前処理には必ずしも従来の凝集沈澱処理が必要ではないということが示唆された。さらに、プラーク形成試験により、ウイルスの除去はアルミニウムフロックに吸着・捕捉されることによる除去に加え、PACI 処理に伴うウイルスの不活化も貢献していることが観察された（図 13）。

#### D. 結論

今般、従属栄養細菌が水質管理目標設定項目として採用されることから、培養条件とガイドライン値を検討し、培養時間 7 日間として概ね 2,000cfu/mL とすることを提案した。今後、集積されるデータに基づいて管理目標値が決定されるものと期待する。クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物対策として、ろ過施設あるいは紫外線照射装置の設置が進むものと期待されるが、さらに、試料水の保存（14 日間）、新たに提案した原水を対象としたモニタリングシステムの導入により水道を介した集団感染の発生防止、水源管理強化など水安全計画に沿った対応が可能となる。水道水中から分離される線虫類は多様であるが、それ自体に病原性は認められず、また、病原細菌やウイルスの伝播に関与する証拠も得られなかった。一方、水道水への腸管系ウイルスの混入が憂慮されるところから、水道水中のノロウイルスの感染リスク評価を行った。その結果、ノロウイルスの感染リスクは米国 EPA の受容可能リスクを上回るものの、生涯調整生存年は  $10^{-6}$  (DALYs/人・年) の WHO の基準に同等な水準であることが

試算された。また、MF 膜を用いた PACI 直接凝集ろ過により大腸菌ファージ Q $\beta$  は  $6\log_{10}$  以上の除去が期待できることが明らかとなった。

#### E. 健康危険情報

なし

#### F. 研究発表

1. Masago Y., Katayama H., Watanabe T., Haramoto E., Hashimoto A., Omura T., Hirata T. and Ohgaki S. Quantitative Risk Assessment of Noroviruses in Drinking Water Based on Qualitative Data in Japan, *Environ. Sci. Technol.*, 2006, 40, 7428-7433.
2. Matsushita, T., Le-Clech, P., Chen, V. and Wickramasinghe, S.R., Behavior of gold colloid as model viruses during filtration through adsorptive ion exchange membranes, *Desalination*, 199 (1-3), 105-107, 2006.
3. Matsushita, T., Matsui, Y. and Shirasaki, N., Analyzing mass balance of viruses in a coagulation-ceramic microfiltration hybrid system by a combination of the polymerase chain reaction (PCR) method and the plaque forming units (PFU) method, *Water Science and Technology*, 53 (7), 199-207, 2006.
4. T. Izumi, K. Yagita, T. Endo, T. Ohyama. Detection System of *Cryptosporidium parvum* Oocysts by Brackish Water Benthic Shellfish (*Corbicula japonica*) as a Biological Indicator in River Water. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 51, 559-566, 2006.
5. T. Izumi, K. Yagita, T. Endo, T. Ohyama. Detection System of *Cryptosporidium parvum* Oocysts by Brackish Water Benthic Shellfish (*Corbicula japonica*) as a Biological Indicator in River Water. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 51, 559-566, 2006.
6. Katsuhiko Ohata, Kanji Sugiyama, Mitsuaki Suzuki, Rieko Shimogawara, Shinji Izumiyama, Kenji Yagita, Takuro Endo : Growth of *Legionella* in Nonsterilized, Naturally Contaminated Bathing Water in a

- System that Circulates the Water. IN Legionella: State of the Art 30 Years after Its Recognition. Eds. Nicholas P. Cianciotto et al. 2006 ASM Press, Washington, D.C.
7. Kanji Sugiyama, Katsuhiko Ohata, Mitsuaki Suzuki, Rieko Shimogawara, Shinji Izumiyama, Kenji Yagita, Takuro Endo : Inhibition of *Legionella* Growth in Circulating Bathing Water by Filter Refreshment Method Using High Concentration Chlorine. IN Legionella: State of the Art 30 Years after Its Recognition. Eds. Nicholas P. Cianciotto et al. 2006 ASM Press, Washington, D.C.
  8. 遠藤卓郎. 提言—新寄生虫事情—食品衛生研究. 56(6), 5, 2006.
  9. F. Kura, J. Amemura-Maekawa, K. Yagia, T. Endo, M. Ikeno, H. Tsuji, M. Taguchi, K. Kobayashi, E. Ishii and H. Watanabe. Outbreak of Legionnaires' disease on a cruise ship linked to spa-bath filter stones contaminated with *Legionella pneumophila* serogroup 5. Epidemiol. Infect., 134, 385-391, 2006.
  10. 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.
  11. 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.
  12. 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.
  13. 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.
  14. 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.
  15. T. Izumi, Y. Itoh, K. Yagita, T. Endo, T. Ohyama. Brackish Water Benthic Shellfish (*Corbicula Japonica*) as a Biological Indicator for *Cryptosporidium parvum* Oocysts in River Water. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 72:29-37, 2004.
  16. 遠藤卓郎、泉山信司. 「病原微生物対策への理解に向けて」 Safe Drinking-Water: for the Control of Microbial Hazards. 用水と廃水 46(7), 43-49, 2004.
  17. 遠藤卓郎、黒木俊郎、泉山信司. <話題の感染症>ジアルジア症 モダンメディア 50(4), 73-77, 2004.
  18. 遠藤卓郎、八木田健司、泉山信司. レジオネラ症 Update —宿主アメーバからみたレジオネラの水系汚染対策. 臨床と微生物 32(4), 383-388, 2005.
  19. P.R.Hunter, Y.Andersson, C.H.Von Bonsdorff, R.M.Chalmers, E.Cifuentes, D.Deere, T. Endo, M.Kadar, T.Krogh, L.Newport, A.Prescott and W.Robertson. Surveillance and Investigation of Contamination Incidents and Waterborne outbreaks. Chapter 7. Assessing Microbial Safety of Drinking Water—Improving Approaches and Methods. World Health Organization, OECD, 205-236, 2003.
  20. W.Koster, T.Egli, N.Ashbolt, K.Botzenhart, N.Burlion, T.Endo, P.Grimont, E.Guillot, C.Mobilat, L.Newport, M.Niemi, P.Payment A.Prescott, P.Renaud and A.Rust. Analytical Methods for Microbiological Water Quality Testing. Chapter 8. Assessing Microbial Safety of Drinking Water—Improving Approaches and Methods. World Health Organization, OECD, 237-292, 2003.
- G. 知的財産権の出願・登録状況  
水中浮遊粒子のろ過回収用フィルタならびにこれを用いた水中浮遊粒子の固化回収方法および水質の管理方法 (特願 2006-211340)

厚生労働科学研究費補助金（地域健康危機管理研究事業）  
総合分担研究報告書

最新の科学的知見に基づく水質基準の見直し等に関する研究

—消毒副生成物分科会—

主任研究者 眞柄泰基 北海道大学創成科学共同研究機構 特任教授  
分担研究者 伊藤禎彦 京都大学大学院工学研究科 教授  
浅見真理 国立保健医療科学院 水道工学部 水質管理室長  
亀井 翼 北海道大学大学院工学研究科 助教授（平成16年度）

研究要旨

平成15年に改正された水道水質基準では、消毒副生成物として臭素酸イオン、クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、ホルムアルデヒドが追加され、水道事業体は今まで以上に高度な水質管理を要求されることとなった。また、今回の基準改正では、毒性情報・生成実態等に関する知見の不足などから基準値が設定されなかった消毒副生成物についても、今後の逐次改正を視野に入れて、毒性、生成実態、さらには制御技術に関する情報を収集・整理する必要がある。

さらに、トリハロメタン類のように飲用以外の複数の曝露経路を考慮すべき物質については、我が国の生活様式を十分に考慮した曝露量・形態に関する科学的知見ふまえて、飲用寄与率、さらには基準値を設定すべきであるが、こういった情報はほとんど存在しない。

そこで、塩素処理およびオゾン副生成物のうち、臭素酸イオン、NDMA（N-ニトロソジメチルアミン）、ハロ酢酸、塩素酸イオン、過塩素酸イオン、MXを主な対象に、制御技術、分析技術および生成状況について検討を行った。また、トリハロメタン類などの揮発性消毒副生成物の飲用以外の曝露量評価についても重点的に調査を行った。

これらについて得られた主たる成果は次のようである。

オゾン処理における臭素酸イオンの抑制に関しては、臭化物イオンが50 µg/L程度の原水に対しては、溶存オゾン・注入率制御で、オゾン処理の目的を十分に達成しつつ臭素酸イオンを低濃度に制御できることを、実施設で確認した。一方、臭化物イオン濃度が高い場合には、注入率が大幅に限定され、その他の制御手法（オゾン処理の停止も含む）をとる必要性が示された。制御手法としてはpH制御や促進酸化処理、イオン交換処理が候補であると考えられた。

次亜塩素酸ナトリウム中の臭素酸イオンの低減については、保存期間の短縮や不純物の少ない原料の使用などが重要であることが明らかとなった。また、塩素酸イオンについては、保存期間の短縮や温度管理の重要性が示された。

高精度の過塩素酸イオンの分析法について、整備を行った。また、利根川流域および利根川を原水とする水道水中に比較的高濃度（一部10 µg/L以上）の過塩素酸イオンが存在することを指摘した。

NDMAの分析法を確立するとともに、浄水中の濃度を調査し、1 ng/L前後のNDMAが存在する可能性を示した。

トリハロメタンの制御を行うことによりその他の塩素処理副生成物（ハロ酢酸など）も概ね制御できることを示した。

室内空気中のトリハロメタン類の濃度を測定し、曝露量評価を行った。吸入曝露の割合が高く、特に浴室での曝露量が多いことを明らかにした。また、飲用寄与率を試算した結果（注：食品由来の経口摂取は考慮していない）と、中央値ではいずれの物質に対しても、総曝露量に占める飲用経路の曝露量の割合が現行の20%付近であったが、TCMについては、約4割の被験者の飲用寄与率は20%以下であり、注意を要することを示した。

染色体異常試験で評価すると臭素系消毒副生成物の寄与は低濃度でも無視できないこと、また前駆体である臭化物イオンは人為起源であるものが多いがその発生源における制御は15%程度の削減効果にとどまると試算した。