

図4 オンライン地図、左から順にDNU勧告が解除されていく様子が示されている。薄い色の部分はDNU解除区域（水色）、濃い色の部分（赤色）はDNU継続中区域を示す。DNUが全地域で解除となるまでインターネット上で公開された。

くるかもしれない。

また、我々の配水区域全体には175の圧力区域（pressure zone）がある。圧力区域とは、ある配水タンクから次の配水タンクまでの圧力がかかる給水区域のことと示すが、この浄水場の給水区域は山々で構成されており、アップダウングがとても多いという特徴を持っている（地図などでご確認いただきたい）。そのため圧力区域が多い。我々の給水区域には、175の圧力区域と107の配水タンク、そして120の昇圧所がある。例えば、ローガン郡まで配水するには9つの山脈を越えないといけない。

さらに他の問題も起こるかもしれない。我々は控えめに見積もって、システム再起動には45日かかると推算した。もし、この事故が夏に起きていたら、話しあは完全に違っていただろう。

また、MCHMを飲むことで重病になる可能性があれば、浄水場を止めていたと思う。今回は公衆衛生局との協議の結果、DNU指示をすることに決めた。我々にその権限はなく、健康に関する機関が決定することだ。もし、公衆衛生局から「水道システムを止

めなさい」と言われば、上記のような結果になるとわかっているとしても、止めた可能性がある。なぜなら、公衆衛生局がその種の責任を持っているのだから。

6. DNU時の住民への広報

広報については、ジョーダン氏から主に話を聞いた。

DNU指示を発表する時、地元と州の全メディアに資料を送り、彼らを緊急記者会見に招待した。メディアは迅速に集合してくれた。WVAW社長、州知事と州国土安全保障局長がメッセージを出した。

また、録音メッセージを契約者に送る自動電話システムを起動させ、その晩のうちに全契約者に電話をかけた。ホームページに情報を掲載し、フェイスブックやツイッターなどのSNSにも情報を流した。DNU指示を出した後、ジョーダン氏と社長はほぼ1時間毎にインタビューを行った。

(Q. ビラの配布は?) ビラの配布は一切行わなかった。10万の契約者にはビラを配

るよりも、メディアやウェブサイト、SNS、そして近所の人からの口伝えの方が情報は伝わると考えた。そして、その通りうまくいったと考えている。

(Q. 資料は事前に準備していた?) 報道発表資料のひな形は準備しており、日付と場所を入れれば良いだけの状態になっていた。自動電話システムはAW全社で導入しているもので、本社に原稿を渡せば良いことになっている。

(Q. それはAW社が大企業だからできたのでは?) 確かにWV州の他の事業体ではできないことかもしれない。しかし、郡の自治体には似たような電話システム、特に学校での連絡システムがある。また、私たちも郡の緊急警報システム（無線、スピーカーやサイレン）を活用させてもらった。さらに、ラジオでメッセージを出すシステム、テレビの画面の下に緊急バナーを出して伝えるシステムもある。それらも活用させてもらった。

7. DNU解除までの広報

州からの依頼に応える形で、10日の午前中には疾病予防管理センター（CDC）がMCHMの飲料水助言値^{注)}（1 ppm）を公表した⁸⁾。このおかげでDNU解除の目安ができた。最初の目標は浄水場出口水が1 ppmを下回ることであった（11日9時に達

成）。その後、175の圧力区域を統合して、DNU解除用の24区域を作成した。

DNU解除の際には配管システムの洗い流し（フラッシュ）を住民にお願いした。この洗浄方法に関しては図3の説明図を含めた3ページの資料を作成、インターネットと報道機関を通じて、DNU解除に先立つて配布した。具体的には、初めに温水の全蛇口を15分間開き、次に冷水の全蛇口を5分間、その後、図3に示すその他の給水装置について5分間の洗い流しを行うように、具体的な方法を含めて説明した。（後の住民アンケート調査⁸⁾では、94%の住民がこの資料はわかりやすかったと回答している。）この資料もDNU指示中にWVAW社が原案を作成、州公衆衛生局などと協議し修正を行った後に公表した。

なお、配管洗浄を依頼する際に、全顧客に1,000ガロン（3.8m³）の水道料金を免除することを広報した。配管システムの洗浄に要する水量は500ガロンなので十分だと考える。なお、平均的な世帯の使用量は3,300ガロン（12.5m³）である。それから、商業ユーザーには2,000ガロン分を免除した。

DNUの解除は13日から、配水管サンプルが全て1 ppmを下回った区域から順番に行った。解除の際、各戸が同時に配管洗浄をすることにより、大量の水需要が起ることが予想された。これと圧力区域があることの2つの理由により、DNU解除は24区域に区切って順番に行う必要があっ

注) 飲料水助言値 (drinking water advisory) の役割: WV州からの依頼に応答する形で、(事故後1日以内に) 計算された短期スクリーニングレベルの値。計算については国立環境保健研究所 (NIEHS)、国家毒性プログラム (NTP)、国立衛生研究所 (NIH)、環境保護庁 (EPA) およびCDC/ATSDR (毒性物質疾病登録局) からなる関係機関ワーキンググループによるレビューと承認を受けた¹⁰⁾。なお、助言値には規制権限はない。MCHMの助言値は純MCHMだけではなく粗MCHMとしての毒性も考慮した値であり、また体重10kgの子供を考慮した値となっている。詳細についてはCDCのウェブサイト⁸⁾を参照されたい。

た。そして1つの区域でDNU解除するたびに、報道発表を行った。

この解除区域が非常に複雑なことから、ウェブ上にオンライン地図（図4）を掲載することにした。リアルタイムでDNUが解除された所は青色、DNU継続の所は赤色で表示した。この地図システムはAW社のITとGISの技術者が48時間で開発してくれた。ただし、圧力区域のシェープファイルは、社内の水質監視の目的ですでに利用していたので援用することができた。この地図はWVAW社ウェブサイトのみならず、各社報道機関のウェブサイトでも掲載してもらった。この地図には計200万のアクセスがあった。

また、我々は全AW社で共有の24時間コールセンターがあり、常に顧客からの質問に答えるスタッフがいる。我々は全ての最新情報をコールセンターに送った。AW社が持つ2つのコールセンターはこの期間WV州の顧客を一番に優先してくれ、平均19秒で電話に応答してくれた。

また、DNU解除区域に該当しているかどうかの質問だけに答えるための特別な24時間ホットラインをWVAW社オフィスに設置した。これは主にインターネットを使わない、特に年配の方にも配慮したものである。

これらの対応を行ったうえでも、やはり「なぜ自分のところはDNU解除にならないのか」、という質問が多かったため、他のよくある質問とあわせて、随時FAQ集を作成し、ウェブサイトに掲載した。特に圧力区域の考え方に関する説明は、図を作成して詳しく掲載した。

8. 応急給水について

州に2つあるA級緊急外傷センターの1つが市内にあり、28m³の水を至急必要としていた。ペンシルバニア州のAW社に電話をし、外傷センターの件も含めタンクローリー14台分の水を次の日の朝までに運んでもらった。それもあり、外傷センターは閉鎖せずに済んだ。さらに、FEMA、州兵なども応急給水を行った。バルク水に加えて、ボトル水を周辺州の巨大スーパーなどから購入して運び、無料で住民に配布した。水の配布は、関係機関チームに加え、地元の消防局、郡、教育委員会が共同で行った。配布場所は、消防署、教会、学校、大学キャンパス、葬儀場、役場、ショッピングセンターなどである。配布量は飲料水と調理用水としては十分量だったと考える。

9. DNU解除後の動向

DNU解除後に起こったことについて、簡単に箇条書きでまとめる（表2も参照）。

- ・DNU解除後に、PPHとDiPPHが含まれていたことが発表されたため、再度測定メソッドの作成と保存していたものも含め検体の測定を行わなければならなかつた。
- ・GACフィルターの交換は、浄水量が減少する春まで待たねばならなかつた。
- ・苦情は4月まで続いた。2月は70件、3月は15件、4月は5件だった。
- ・事故前はコスト削減のため、浄水場にあった中央ラボをAW社の中央ラボに統合し、イリノイ州のラボに一晩かけてサンプルを送っていた。しかし、事故後新

しい州の法律もでき、いくつかの分析は再び浄水場に中央ラボを設置して行うようになった。現在2台のGCMSと技術者を導入して分析を行っている。また、MCHMの濃度測定は続けている。

- ・規制物質以外の物質の早期発見とモニタリングに関して多くの議論がなされ、現在、pH、水温、電気伝導度、薄層クロマトとUV、ORPでモニターする検知システムの導入を検討している。
- ・これまで州に地下タンクの登録と規制はあったが、地上タンクにも州の法律で登録義務が課せられるようになった。
- ・さらに事故後に州の法律で、全ての水道事業体が副次的な水源を持つ必要があることになった。しかし、費用的には困難を極める。水道料金の値上げは自分たちで決めるることはできず、州の委員会の決定事項である。今回の事故対策費用の回収もあわせて、見通しは不透明である。
- ・州公衆衛生局とCDCにより、1月9日から23日までの緊急医療施設の受診記録に関する調査が行われた⁵⁾。30万人の住民のうち、流出事故に関連して受診した人数は369人（0.12%）と少なかった。そのうち13名が入院したが、その人たちには元々、他の慢性疾患があった。症状は吐き気、発疹、腹痛、下痢、頭痛、かゆみなど。53%がシャワーや皮膚接触、44%が直接摂取（飲食）、15%がミストや蒸気等の吸入による曝露であった（重複あり）。
- ・同じく州公衆衛生局とCDCは、4月8日から10日にかけて住民に対してアンケート調査を行い、結果を7月7日に公表した⁸⁾。この171世帯に対する調査によると、住民の多くは当日のうちに

DNU指示を知っていたこと、情報源の多くはテレビであり、またテレビの情報を信頼していること、しかし電話やウェブサイトなど他の情報も活用していることなどが示されており、興味深い。なお、調査世帯の約37%はDNU指示中も水道水を使用していたと答えている。

- ・2014年11月時点では、WVAW社は58の民事訴訟を提起されている。

10. おわりに

本稿では、MCHM流出事故時のDNU意思決定に至る過程や事故に関する広報を中心に報告した。本稿では十分に記すことができなかつたものの、徹夜作業でのMCHM測定メソッドの開発、関係機関で連携し組織的に行ったサンプリング、-18°C以下の環境下での消火栓からの配水管洗浄作業の大変さ、ベテラン職員が圧力区域を含めた複雑なシステムのことを熟知していたことが事故対応に役立ったこと、また、WVAW社の対応に対する様々な異議や反論があったこと、などに関する話も伺った。

この水質事故はいわゆる大都市ではなく、給水人口30万人、給水面積7,800km²の中規模都市地域で起きた。また、水質規制値に含まれている物質ではなく、そもそも物性も毒性もよくわからない物質であり、意思決定までの猶予も数時間しかないような状況であった。毒性自体は助言値が1ppmとそれほど大きな物質ではなかったものの、においによる不快感、吐き気や皮膚への刺激があるなど、特徴のある物質だったことも問題を大きくした要因の一つ

であろう。また、事故時は、浄水場の中央ラボも廃止してしまっており、外部ラボにサンプル分析を依頼しなければならない状態だった。

日本においても水源の水質事故は頻発している。大規模な浄水場を持つ事業体のみならず中小規模の浄水場を持つ事業体なども、水源水質事故の原因となる可能性のある因子に関する調査や監視対策について、水安全計画の手法などを用いて継続的な検討を行うことは重要なと思われる。

それでも想定外の事は起こるかもしれない。想定される範囲の水質異常時だけではなく、想定外の事態が起こった場合にどのような対応を取るかについて検討しておくこと、特に関係機関との連携体制やメディア対応などについての確認や訓練が行われるべきであろう。さらには、いざというときに取水停止をしても、給水停止や断水にしなくともすむような時間的猶予を持たせるため、配水池など施設の整備について検討することも重要であろう。

最後に、米国では本水質事故のあとに州の機関が中心、国の研究機関が補佐をする形で、病院施設や住民へのアンケート調査などが行われ、今後の類似事例への対応に寄与できるような報告が行われている。日本においても、このような事後調査と情報収集ができるような体制や費用の整備なども危機管理面からは重要なと思われる。

謝辞

ヒアリング調査にご協力いただいたマッキンタイア氏はじめウエストバージニア・アメリカンウォーター社のみなさま、および、ヒアリング調査に際して紹介の労をとつて下さった米国環境保護庁のレズリー・ダ

ングラーダ氏に感謝する。なお、本報告の一部は、厚生労働科学研究費補助金（H25-健危-一般-007およびH26-健危-一般-003）により行われた。伊藤聖依子氏は平成26年度東京都海外研修「政策課題プログラム」によりヒアリングに参加した。

参考文献

- 1) Alan Roberson, An Overview of Communicating with the Public about Drinking Water Quality, in *AWWA WQTC Conference Proceedings*, November 16-20, New Orleans, LA, USA, 2014.
- 2) WVAW (West Virginia American Water), News - Kanawha Valley Customers - Water Alert, <http://www.amwater.com/wvaw/about-us/news.html> (2015年1月閲覧、2015年4月時点では一部のリンクが切れている)
- 3) Public Notification of Drinking Water Violations, Federal Register 65 FR 26035, May 4, 2000.
- 4) EPA, Revised Public Notification Handbook, EPA 816-R-09-013, March, 2010.
- 5) DHHR Bureau for Public Health, Elk River Chemical Spill Medical Data, <http://www.dhhr.wv.gov/News/chemical-spill/Documents/PRFindings.pdf>
- 6) EASTMAN, Safety Data Sheet, http://ws.eastman.com/ProductCatalogApps/PageControllers/MSDS_PC.aspx?Product=71014291
- 7) WVAW, Operation Log as of 18 Jan at 1800.
- 8) CDC (Centers for Disease Control and Prevention), 2014 West Virginia Chemical Release, <http://emergency.cdc.gov/chemical/MCHM/westvirginia2014/>
- 9) WVAW, How to Flush Your Plumbing System, <http://www.dhhr.wv.gov/News/chemical-spill/Documents/HowFlushPlumbingSystem.pdf>
- 10) CDC, CDC/ATSDR Activities: Response to the chemical spill in West Virginia <http://emergency.cdc.gov/chemical/MCHM/westvirginia2014/cdc-atsdr-activities.asp>
(ウェブサイトは原則2015年4月閲覧)

第7回

続：米国ウエストバージニア州における化学物質 河川流出事故時の対応－事故後の調査について

国立保健医療科学院生活環境研究部
上席主任研究官 大野 浩一

1. はじめに

本連載の第5回（2015年5月号、以下前稿¹⁾とする）では、2014年1月9日に米国ウエストバージニア（WV）州にて発生した、石炭洗浄剤MCHM（4-メチルシクロヘキサンメタノール）の河川流出による水道原水汚染事故の概要と水質事故時の水道会社などの対応について紹介した。

前稿では、現地の水道会社であるウエストバージニア・アメリカンウォーター（WVAW）社へのヒアリング内容を中心にして整理を行った。物性も毒性も未知の物質が上流から流れてきて時間に猶予がない中の対応、消防用水と基本的な衛生状態を確保するため、また管路凍結によるリスクなどを考慮した結果、取水・給水停止措置ではなくDNU指示（Do Not Use: トイレ洗浄と消防以外の目的に使用しないこと）を行うことを関連部局間で協議して決定したこと、DNU発令時からDNU解除時までの住民への広報などについて紹介した。詳細は前稿をご覧いただきたい。

本稿においては、前稿で十分に紹介できなかった部分として、事故後におこなわれた調査報告をもとに、事故時の住民側の対応状況や健康影響、また住民が広報の情報などをどのようにうけとったのかについて

整理する。また、事故後に行われた慢性毒性に関する試験について、本年6月に最終報告がなされたことについても紹介したい。

2. CDCと州公衆衛生局が共同して 行った調査について

MCHM流出事故を受けて、米国保健福祉局所属の疾病管理予防センター（CDC）とWV州保健福祉部所属の公衆衛生局が協力して、3つの調査を行っている。そのうち2つは医療機関への受診記録を解析した調査であり、もう1つはCASPER（キャスパー）調査と呼ばれる疫学的アンケート調査である。これらの調査について以下にまとめる。

3. 事故直後の受診状況に関する調査

前稿でも一部紹介したが、事故直後の緊急医療施設の受診記録に関する調査²⁾が行われた。その結果、約30万人の住民のうち流出事故由来の水道水に関連して受診した人数は369人（0.12%）と判断された。369名が訴えた症状（複数の場合あり）としては、吐き気・むかつき（38.2%）、発疹

(28.5%)、嘔吐 (28.2%)、腹痛 (24.4%)、下痢 (24.4%)、頭痛 (21.9%)、かゆみ (19.8%)、のどの痛み (14.9%)、眼の痛み (14.6%)、咳 (12.7%) の順であった。MCHMとの接触経路（複数の場合あり）は、お風呂・シャワーなどの皮膚接触 (52.6%)、飲食 (43.9%)、蒸気などの吸入 (14.6%) となっている。皮膚接触や吸入により症状を訴えている人の割合が多いことが、この物質特有の特徴であったといえる。

また救急医療施設以外の診療所に関して、2014年1月9日から5月31日までの受診記録を調査した報告も行われた³⁾。事故の影響を受けた9郡800以上の診療所に問い合わせた結果、事故に関連したと考えられる症例として8つの郡から63件の報告を受けた⁴⁾。その症状の傾向は、緊急医療施設への受診者と同様であった。

興味深いのは緊急医療施設への受診日である。図1に受診日²⁾とWVAW社のプレスリリースより抽出した日別の累積DNU解除世帯割合¹⁾を示した。DNU発令中のみならずDNU解除期間中も受診者があまり変わらない傾向にあった。これは一つには、後述するようにDNU発令中もシャワーなどを中心に水道水を使用していた家庭があったことが考えられる。MCHMには皮

膚や眼への刺激性があることから、発疹やかゆみ、眼の痛みなどの症状が起こった可能性がある。また揮発性があることとリコラス（甘草）臭がすることから、不快感やのどの痛み、吐き気などの症状もあったと思われる。さらに、もう一つの理由として、Wheltonら⁵⁾は、給水システムの洗い流し（フラッシング）に原因があった可能性を指摘している。前稿の図3と本文で示したとおり、家庭内配管のフラッシングに関する説明書はわかりやすいという評判であった。しかしながら、指示として初めに温水の蛇口を15分間開くことになっていたため揮発性のMCHMにより刺激を受けた可能性があるという指摘である。WVAW社は限られた時間でこの文書を準備したため、MCHMの揮発による刺激には十分な配慮が回らなかったのかもしれない。このあたりの点も含めて、突発的な想定外の事故の場合に、完璧な対応を期待することは難しい。しかしながら、事前の準備や次に示すようなCASPER調査など事故対応に関する住民調査などを行い、事故復旧時や将来の緊急事態への備えに役立てることが重要だと考えられる。

4. CASPER調査

CASPER調査とは、英語で“Community Assessment for Public Health Emergency Response”（公衆衛生に関する緊急事態対応のためのコミュニティ評価）の略であり、1970年初頭から世界保健機関（WHO）を中心に世界中で開発されてきた疫学的手法である災害時迅速評価（RNA: Rapid Needs Assessment）をベースにCDCが作成した

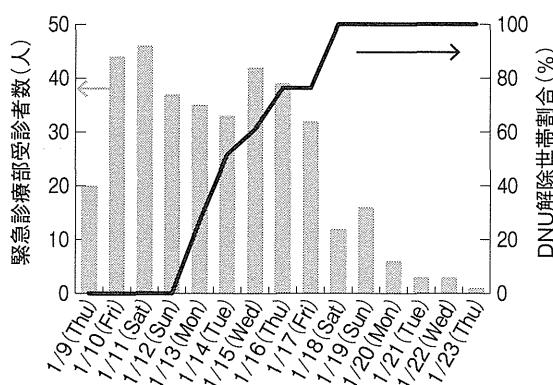


図1 緊急診療部受診者数の経日変化²⁾およびDNU解除世帯割合¹⁾

ツールである。RNAは災害時に地域コミュニティの情報を収集し、損害や健康リスクの程度を評価することで、意思決定者に対して適切な対応について提言するための比較的安価で実践的な標準化されたツールである。それに対してCASPERは迅速・安価に情報を提供できることは同じであるが、独自のものとして、世帯をベースにした調査であること、及び標本のサンプリング手法が科学的に妥当なものであることから信頼性の高い情報が得られるという特徴がある。また、CASPERのもう一つの特徴として、災害直後のみだけではなく、災害の4段階である「事前準備」(preparedness)、「災害応急対応」(response)、「復旧・復興」(recovery)、「被害抑止」(prevention / mitigation) のいずれの段階にも適用できること、つまり、災害時以外にも利用できる評価手法である、ということがある⁶⁾。

MCHM流出事故に対するCASPER調査は、事故発生から約3ヶ月後の2014年4月8～10日に行われた。調査の目的⁷⁾は、(1)世帯において感知された影響を評価する、(2) DNU発令前、発令中および解除後の世帯での水の使い方に関する情報を州公衆衛生局に提供する、(3) コミュニケーションについて評価することで、現在や将来の災害事象に対して有効な手法を特定する、という3つであった。以下に、報告書⁷⁾の概要をまとめると。

4-1. 調査手法

専門家間で2ページの質問票を作成した(注：2ページとはいっても、質問票は字がかなり小さく、質問項目は枝間を除いても33問もある)。質問票の項目は主に(1)人口動態関連、(2) 化学物質流出・DNU発令・

DNU解除の際における情報源、(3) 代替とした水、(4) 化学物質流出の影響、(5) 流出事故後の水道水に関連した身体的・精神的健康影響、(6) 公共水道への信頼に関するものであった。

調査対象世帯の選択は地理情報システム(GIS)とCASPERツール⁶⁾を用いて行った。なお、DNU解除のクラスターに関するシェイプファイル(前稿の図4参照)はWVAW社より入手し、2段階クラスターサンプリング法に従い30のクラスターを選択、各クラスターから7世帯へインタビューするよう試みた。この手法により、DNU指令が発令された対象地域に住む122,339世帯から、210世帯へのインタビューを行うことを目標とした。

インタビュー用に18のチームを結成した。各チームには最低1人は州公衆衛生局の職員が参加するようにした。チームは調査前日に警察官からの安全訓練を含む、調査に関する講習を8時間受けたうえで、インタビューを実施した。

インタビューの結果は、生データとともに各クラスターの世帯数などで重み付け調整をした割合を95%信頼区間と共に推定した。ただし本稿では95%信頼区間にについては議論しない。

4-2. 結果と考察

(1) 調査件数

調査件数は210件の目標に対して171件であり、達成率は81.4%だった。また訪問時に応答があった世帯(在宅世帯)のうちインタビューに協力した割合は63.3%だった。想定外だったのは、171件のうちDNU指令の影響を受けた世帯は75%(128件)しかなかったことであった(数が合わない

ので詳細は不明だが、他の公共水道の使用が33件、WVAW社の他の浄水場からの水が4件、井戸水が3件であった)。このことは、DNUの影響に関する調査に対しては、十分な件数に達していない可能性はあるものの、本調査ではCASPERの調査枠組に一致していると仮定して解析を行った。

(2) コミュニケーション

化学物質の流出事故について、約80%の世帯が事故当日1月9日(木曜日)に最初の情報を得ており、翌日までには93.3%の世帯が情報を得ていた(図2)。特に9日の夕方から10日の午前中に情報を得た世帯が多くいた。DNU発令については、発令当日1月9日に情報を得ていたのは約66%であった。

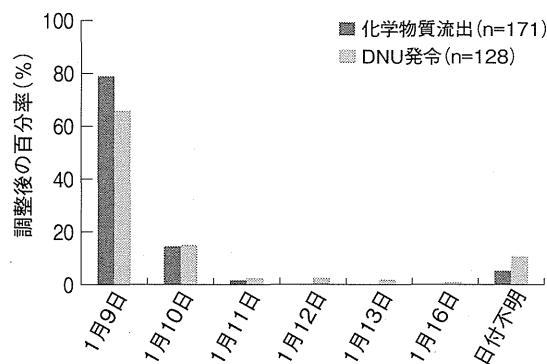


図2 化学物質流出事故及びDNU発令をいつ知ったか⁶⁾

流出事故に関する「最初の」情報源(図3)は、テレビが最も多く(54.3%)、その後は直接の会話(12.5%、職場での会話が最多)、携帯電話での通話(9.3%、家族・親戚からが最多)、固定電話(8.2%、家族・親類からが最多)であった。DNU発令に関する最初の情報源も類似の傾向であった。ただし直接会話の相手は職場の同僚ではなく、家族・親戚からが最多だった。

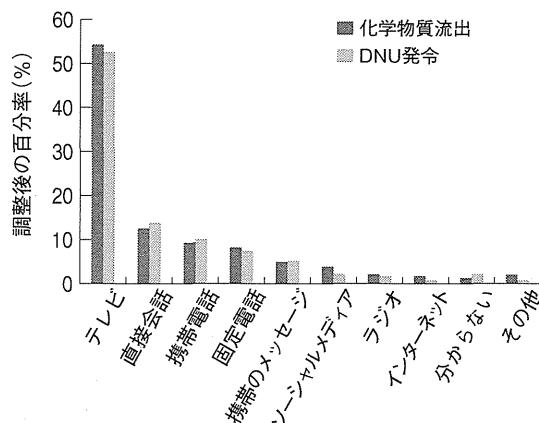


図3 最初の情報源について⁶⁾

DNU発令が18:00ごろで終業付近だったためと思われる。

これらのうち、テレビ、携帯電話、固定電話での情報入手は、通信インフラに障害がない場合の、米国での他の災害や緊急事態のときと同様であった。直接会話の割合が多かったのは、事故が起きたのが平日(木曜日)であったためと推測された。

流出事故に関する「主要な」情報源(図4)はテレビ(83.1%)、直接会話(49.5%)、新聞(45.6%)の順で、WVAW社ウェブサイトを主要な情報源としていたのは25%の世帯だけであった。「最も信頼できる」情報源についても、テレビ(58.0%)が最

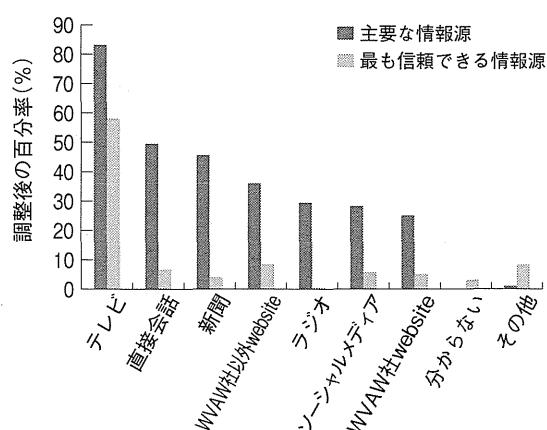


図4 流出事故に関する主要な情報源(複数回答あり)と最も信頼できる情報源(複数回答無し)⁶⁾

多であり、その他は割合が大きく減るもの、WVAW社以外のウェブサイト(8.5%)、直接会話(6.7%)、ソーシャルメディア(5.6%)、WVAW社のウェブサイト(5.1%)となった。その他(8.4%)には、171の調査世帯中16世帯が回答し、14世帯は「信頼できる情報源はなかった」と回答、1世帯が「医者」、1世帯は「WVAW社社長」と回答した。

DNU発令中の応急給水地点に関する情報源について質問したところ(図5)、テレビ(38.1%)、直接会話(28.2%)、ラジオ(13.8%)、ソーシャルメディア(12.1%)の順であった。流出事故やDNU発令に関する情報と比較して、ラジオ、ソーシャルメディア、インターネットの活用が相対的に増えているのが特徴であった。

DNU発令時の情報とは対照的に、DNU解除時の情報を初めて聞いた日付については日付不明という回答が70.5%を占めた。これは地域によって解除の日がバラバラだったことが一因かもしれない。DNU解除に関する最初の情報源は、テレビ(52.2%)、WVAW社websiteに掲載された地図(前稿の図4で示したもの)、固定電話(8.5%)の順であった。固定電話の比率

が高かったのは、そのうち約半分がWVAW社からの電話連絡であったためである。

前稿の図3において、DNU解除時の給水システムの洗浄(フラッシュ)方法に関する説明書をWVAW社が作成したことを説明した。この資料があるという情報をどこで得たかという質問もあり、回答は図5の通りである。これもテレビからの情報入手が58.0%でトップ、その後36.9%でWVAW社website、12.3%で直接会話という順で続いた。この説明書がわかりやすかったかどうかという質問では94.1%がわかりやすかったと回答していた。

(3) 事前準備と代替水

米国国土安全保障省(DHS)の連邦緊急事態管理庁(FEMA)は、自然災害、あるいはテロや事故などの人工的危険などを含めたあらゆる非常事態に対する準備に関する情報サイト“Ready.gov”を作成している。その中には水の準備に関するサイト⁸⁾もあり、そこでは飲料、調理および公衆衛生用の水として最低1人1日1ガロン(約3.8L)を3日間分備蓄しておくべきである旨が伝えられている。

今回の調査では、これだけの量の水を備蓄していなかったと、約3/4(74.4%)の世帯が回答している。家族に対してのみ備蓄していた世帯は14.1%、家族と動物(ペットなど)用に備蓄していた家庭は9.7%であった。

DNU中に使用した代替水源(重複あり)としては、89.7%が購入した水(ボトル水など)、56.3%は応急給水地点で得たボトル水、42.5%が友人や親戚からの水、17.2%が給水地点で容器に入れた水、16.2%が雨水、

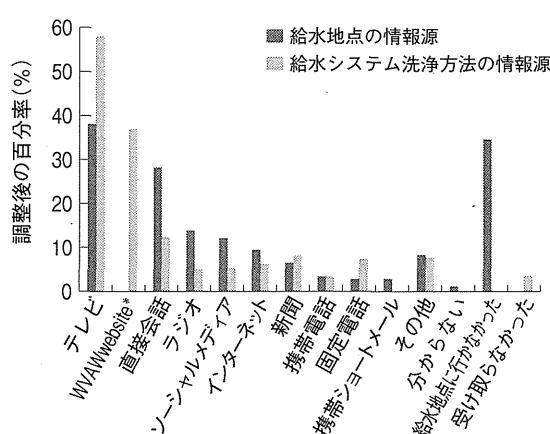


図5 給水地点に関する情報源およびDNU解除時の給水システム洗浄方法に関する情報源⁶⁾*WVAW websiteは給水地点の情報源に関する質問の選択肢には含まれていない

5.6%が敷地内にある井戸水、11.1%がその他であった。

また、代替水を得ようと試みた世帯は97.5%、初めて試みようとした日は事故当日（1月9日）が36.1%、10日が40.0%、11日が11.0%、それ以降が9.0%、日付不明が4.0%であった。3/4以上の世帯でははじめの2日のうちに代替水の入手を試みていた。そして、代替水入手を試みてから実際に入手できた期間については、当日が83.6%、1日後が8.7%、2日後1.5%、3日後0.8%、4日後0.7%、不明4.8%ということであり、多くが1日以内に代替水を入手できていた。入手までに1日以上かかった世帯でその理由を聞いたところ、約半分の世帯が、お店で水が売り切れていたためと回答した。

(4) 健康影響

DNUの影響を受けたか否かに関わらず（=171世帯中）、21.7%の世帯において、世帯内の誰かが流出事故によるものと思われる健康影響があったと回答している。健康影響があったと答えた世帯では、その89.6%が18歳以上の人、14.9%が18歳未満の人が影響を受けていた。症状は、救急診療部の受診者と類似のものであった。症状が起こった時期については、15.4%はDNU発令前、48.9%がDNU発令中、45.2%がDNU解除後ということであった。また、健康影響があった世帯（39世帯）の半分強（22世帯）においては、特に診療所には行っていない。その理由の多く（15世帯）は治療を受けるほど深刻な症状ではなかったため、ということであった。

(5) 水の使用状況と水道への信頼について

DNU指示の影響を受けた世帯がDNU発令中、DNU解除から1月末まで、調査時点（2014年4月上旬）のそれぞれの期間にWVAW社の水道水を使用したかどうか、という質問への回答を図6に示す。DNU発令中でも37.4%の世帯（127世帯中47世帯）で水道水を使用していた。DNU解除後から1月末までの間の使用率は66.8%で、おそらく臭いが残っていることもあり使用率の回復が遅かったと思われる。4月上旬の時点では98.3%の家庭（2世帯以外）で水道水を使用している。図7にはそれぞれの期間に「水道水を使用していた人」が使用した用途を示している。DNU発令中はシャワー/水浴が（80.1%）、手洗い（45.9%）、洗濯（37.7%）などと皮膚および吸入曝露

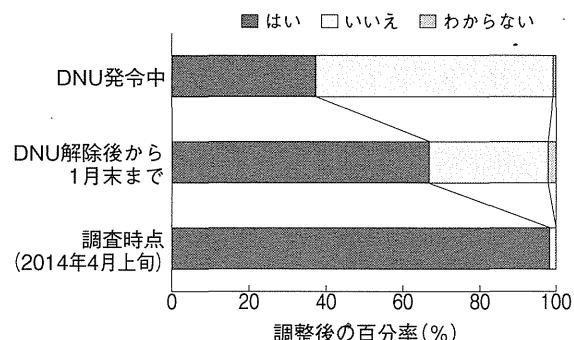


図6 影響を受けた世帯においてWVAW水道を使用したかどうか⁶⁾

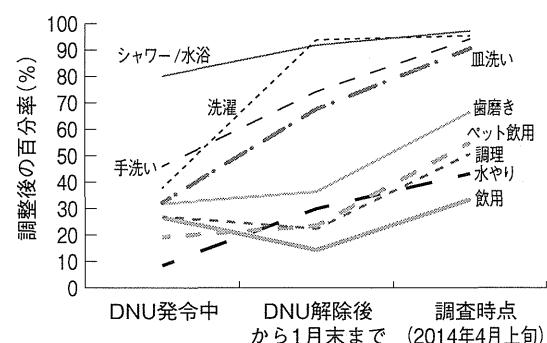


図7 影響を受けた水道水を使用していた世帯での各用途の使用割合⁶⁾

を受けたことが考えられる。さらに、調理(26.9%) や飲用(26.6%) にも使用されていたことは留意すべき点であろう。

DNU解除直後の期間は経口摂取する用途で使用率が下がっている。これは、水道水を使用する世帯の割合が増えた(47→86世帯)ことによる影響が大きい。ただし、経口摂取以外の用途は割合自体も増えていることから推測すると、まだこの時期はMCHMのにおいが残存していたため経口摂取は控えていた可能性もある。4月の調査時点では、全ての用途での使用率が回復している。とはいっても飲用(33.5%)、調理(50.7%)、歯磨き(66.6%)など経口摂取での使用率は相対的に低い。ただし、この調査ではDNU前の使用用途についての調査は行っていなかったことから、経口摂取の割合が下がったままなのか、あるいはこれが通常の状態なのかは不明である。

最後に、DNU指令前後でWVAW社の水道水を安全と思うか、という質問が行われた。流出事故前は「はい」85.6%、「いいえ」9.5%、「わからない」4.9%だったが、DNU解除後においては「はい」36.1%、「いいえ」50.6%、「わからない」13.3%と減少していた(図8)。調査は事故の4ヶ月後ということもあり、信頼はまだ十分に回復していない。信頼回復への継続した努力が必要である。

4-3. CDCから州公衆衛生局に対する提案

報告では、調査結果を受けて最後に以下の提案を行っている。

- ・災害中の公衆へのメッセージは(通信環境に被害がなければ)テレビに焦点を当てること。同時に、他の複数のコミュニケーション方法を用いた補足も行うこと。

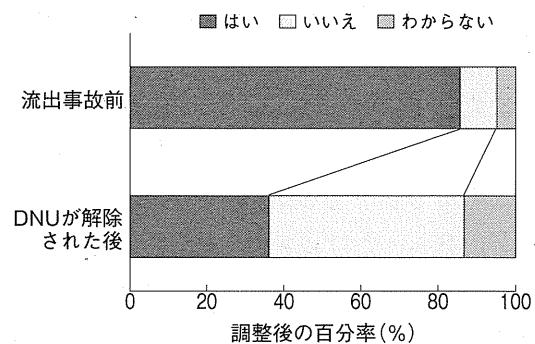


図8 DNU指令前後においてWVAW社の水道を安全と思うかどうか⁶⁾

- ・将来の緊急事態に備えて、住民が3日間分の水を備蓄するように働きかけること。
- ・給水のために交通手段を使用しなくとも済むように、さらなる応急給水方法を検討すること。例えば、ボランティア組織に水を配達してもらうなど。
- ・影響を受けた住民が健康や精神衛生状態に関する必要なサービスが利用できるよう、地域の行動保健センター(local behavioral health centers)などの存在について広報すること。
- ・現在の水の安全性に関するコミュニティへの教育を増やして、利用者の不安をやわらげること。

5. 慢性毒性試験の最終報告とMCHMの健康助言値に関して

MCHM摂取による長期的な健康影響に関する住民の不安などから、米国国家毒性プログラム(NTP)は当該事故後に、MCHMの長期曝露に関する毒性試験を行っていた。その最終報告が2015年6月に行われた。試験結果の詳細はNTPのウェブサイト⁹⁾に掲載されている。NTPのJ.ブシェール博士は、「NTPの結果は、流出事

故の際に設定された飲料水助言値のレベルの妥当性を支持するものとなった。NTPは最新の包括的な毒性学ツール一式を用いてMCHM等の流出した化学物質について調査した。その結果、長期の健康に関してほとんどなにも心配することができないことを明らかにした」と述べた¹⁰⁾。

ただしそれと同時に、NTPとCDCは、化学物質流出の影響を受けた地域で事故の時期に生まれた低体重児に対する分析を州の保健福祉部に対して推薦し、保健福祉部はこの研究を立ち上げることにした¹⁰⁾。ここで、健康助言値に関して前稿に書きそびれた内容として、CDCが妊婦に対する助言を遅れて出していいた点を補足しておく。前稿の表2で示したように1月10日の午前中に、CDCはMCHMに対する健康助言値として1 ppmを提示した。ただし、このときは妊婦に対する助言などの特記は含まれていなかった。その後1月15日の午前中になって、「現時点において、科学者たちは健康への悪影響を予防するレベルとして1 ppmの推奨を続ける。しかしながら、データ利用性が限られていること及び十分な注意の観点から、MCHMが検出限界未満になるまでの間、妊婦については代替飲料水を検討した方がよい」という発表¹¹⁾を行った。このことが現地で大きな混乱を巻き起こした、と筆者はWVAW社へのヒアリングの際に聞いている。一般的な成人と比べて影響を受けやすい集団としては、例えば、乳児、幼児、妊婦、高齢者、患者、免疫不全者などが想定される。これらの集団に対する検討と配慮は十分に安全側の立場で行わなければならない。このことも将来に向けた改善点の一つであろう。

6. まとめ

2014年1月に米国ウエストバージニア州エルク川で発生したMCHM流出事故に関して、事故後の疫学調査および住民アンケート調査の報告結果を中心に整理を行った。

これらの調査結果から改めてわかる一つに、MCHMという化学物質の特殊性があげられる。CDCはMCHMの毒性に関する健康助言値として1 ppmを提案し、事故後1年をかけて行われた長期毒性試験結果でも、この1 ppmの助言値を支持している。つまり、毒性自体はそれほど大きな物質ではなかった。しかしながら、おおいによる不快感や皮膚への刺激性があるなどの特徴がある物質だったことが問題を大きくした要因の一つであり、注意しなければならない点であろう。

今回のMCHM水質事故で得られた調査結果は、その他の水質事故対応に対しても示唆を与えるものである。例えば、情報源としてはテレビが最も多いという結果であった。これに関しては、筆者らが2012年に行ったwebアンケート調査においても同様の結果が得られている。日本全国754世帯の代表者に対し、飲用制限などの緊急情報がより確実に伝わると思う方法を質問したところ、テレビ(59%)、広報車(46%)、携帯メール(41%)、自治体の屋外スピーカー(25%)などという結果であった¹²⁾。

情報の伝達速度については、MCHM流出事故やDNUに関する情報は、事故当日か遅くとも翌日には大部分の世帯に伝わっていた。

代替水の準備については、約3/4の世帯で十分な量の水を備蓄していなかったとい

う結果であった。また、DNU発令中においても約37%の世帯で水道水を使用していた。特に、シャワー、水浴などの目的で使用されていたことから、指示の有効性については留意すべきであろう。指示の情報が十分に伝わったとしても、指示に従うかどうかは別の問題なのかもしれない。今後、もし摂取制限等の対応を取った場合に、万一飲用したとしても、短期間の摂取において感知できる健康影響が起きない程度の余裕を見ておくことも重要であろう。水質事故緊急対応期間のような比較的短期間の摂取に対する、健康影響に関する毒性情報が利用可能になることも望まれる。

謝辞

本報告の一部は、厚生労働科学研究費補助金（H25-健危-一般-007およびH26-健危-一般-003）により行われた。記して謝意を示す。

参考文献

- 1) 大野浩一（2015）米国ウエストバージニア州における化学物質河川流出事故時の対応、水道, 60 (3), 24–34.
- 2) Collaborative Investigation by the West Virginia Bureau for Public Health (WVBPH) and the Agency for Toxic Substances Disease Registry (ATSDR), Elk River Chemical Spill Health Effects Findings of Emergency Department Record Review, 2014年4月23日, <http://www.dhhr.wv.gov/News/chemical-spill/Documents/ElkRiverMedicalRecordSummary.pdf>
- 3) West Virginia Department of Health & Human Resources (WV-DHHR), Elk River Chemical Spill Medical Data, 2014年6月, <http://www.dhhr.wv.gov/News/chemical-spill/Documents/PRFindings.pdf>
- 4) WV-DHHR, News and Announcements, Provider Reports Are Consistent With Earlier Findings, 2014年6月27日, <http://www.dhhr.wv.gov/news/2014/Pages/default.aspx>
- 5) Andrew J. Whelton et al. (2015) Residential Tap Water Contamination Following the Freedom Industries Chemical Spill: Perceptions, Water Quality, and Health Impacts, *Environmental Science and Technology*, 49, 813 – 823
- 6) Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2012) Community Assessment for Public Health Emergency Response (CASPER) Toolkit: Second edition. Atlanta, GA, USA.
- 7) CDC (2014) Disaster Response and Recovery Needs of Communities Affected by the Elk River Chemical Spill, West Virginia, 2014年7月7日, <http://www.dhhr.wv.gov/News/2014/Documents/WVCASPERReport.pdf>
- 8) Federal Emergency Management Agency, Ready.gov, <http://www.ready.gov/ja/water> (日本語サイトあり)
- 9) National Toxicology Program (NTP), West Virginia Chemical Spill, <http://ntp.niehs.nih.gov/results/areas/wvspill/index.html>
- 10) WV-DHHR, 2015 News and Announcements, <http://www.dhhr.wv.gov/News/2015/Pages/NTP-Findings-Consistent-with-Actions-Taken-During-Chemical-Spill.aspx>
- 11) CDC, Letter to WV-DHHR, 2014年1月15日, <http://www.wvdhhr.org/CDCGuidance.pdf>
- 12) 大野浩一, 浅見真理, 松井佳彦 (2012) 給水停止対策に対する住民のパーセプション－アンケート結果より, 日本リスク研究学会第25回年次大会講演論文集, 155 – 158. (ウェブサイトは原則2015年9月閲覧)

解説

水中微生物検査のありかた

岸田 直裕¹, 秋葉 道宏²

1. はじめに

水中にはヒトに対して健康被害を与える病原微生物や、カビ臭等の原因となる藻類等の微生物が存在しうることから、飲料水や公衆浴場等の微生物学的安全性や快適性を確保する上で、微生物検査の実施は重要な位置づけにある。本稿では、筆者が専門としている水道分野における病原微生物検査を中心にそのありかたについて記述する。

2. 検査対象となる微生物の種類

水系感染する主な微生物は、細菌、ウイルス、原虫であるが、真菌類等のその他の微生物も問題となりうるとの報告もある¹⁾。表1に水系感染しうる主な微生物を示すが、これらのすべての微生物を個別に検査するには高度な検査技術や多大な検査コストが必要となるため、通常の公的検査では、表2に示す通り、病原微生物の指標となる微生物（指標微生物）を測定することが一般的である。指標微生物が満たすべき条件としては、「簡便かつ迅速に検査可能で、精度よく測定できること」、「感染性がない、または病原性が低いこと」、「病原微生物と同様の挙動を示すこと」等が挙げられる（詳細は筆者が以前まとめた総説³⁾を参照されたし）。また、指標微生物に加えて、病原微生物の存在指標となるATP、エンドトキシン、濁度等も同時に測られることがある。

一方、病原微生物自体が公的な（ルーチンの）検査項目となることも稀にある。これは、各試料水の管理において特に問題となる微生物が存在する場合である。水道水の場合、強い塩素耐性を示すために通常の塩素消毒によって不活化が期待できないクリプトスポリジウムおよびジアルジアが検査対象となっている。これらの原虫による水系集団感染は世界中で発生しており⁴⁾、我が国においても1996年に埼玉県越生町において推定8,800人以上（町民の約7割）が水道水を介して感染するという大

表1. 水系感染しうる微生物（文献²⁾より一部抜粋）

分類	主な微生物	主な感染経路
細菌	病原性大腸菌、カンピロバクター、赤痢菌	飲用（胃腸）
	レジオネラ	吸入（呼吸器）
	レブトスピラ	接触（皮膚等）
ウイルス	ノロウイルス、腸管系アデノウイルス、エンテロウイルス	飲用（胃腸）
	クリプトスポリジウム、ジアルジア	飲用（胃腸）

表2. 我が国の主な公的検査対象微生物

試料の種類	基準、指針等	微生物の種類
水道水	水質基準	大腸菌、一般細菌
	水質管理目標設定項目	従属栄養細菌
	クリプトスポリジウム等対策指針	大腸菌、嫌気性芽胞菌、クリプトspoリジウム*、ジアルジア*
下水	放流水の水質の技術上基準	大腸菌群
	下水道法施行規則第四条の三	大腸菌
環境水	水質環境基準	大腸菌群
浴槽水	公衆浴場における水質基準等に関する指針	大腸菌群、レジオネラ*
透析用水	透析液清浄化ガイドライン	生菌数

*病原微生物（その他は指標微生物）

規模な事故が発生している⁵⁾。また、浴槽水においては、レジオネラが公的検査対象となっている。公衆浴場においてレジオネラによる集団感染の発生頻度が高いためである。

集団感染が発生し、疫学調査の結果、水系感染が疑られた場合、各種病原微生物が臨時に検査されることもある。筆者らは1983年～2012年までの30年間に発生した飲料水を介した感染事故について調査しているが、病原性大腸菌、カンピロバクターが原因微生物であることが多かった⁶⁾。事故時にはこのような水系感染を起こしやすい病原微生物が検査対象となる。

3. 検査対象地点（水質監視地点）

水の微生物学的安全性を確保する上で、検査（監視）

¹国立保健医療科学院 生活環境研究部 水管理研究領域 〒351-0197 埼玉県和光市南2-3-6 ☎048-458-6274

²国立保健医療科学院 水管理研究分野 〒351-0197 埼玉県和光市南2-3-6 ☎048-458-6271

2187-431X/2016/0210-0069 \$02.00/0 © 2016 Soc. Antibact. Antifung. Agents, Jpn

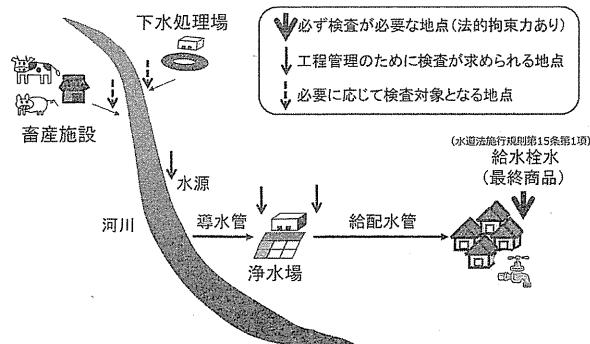


図1. 検査対象地点と工程管理～水道を例として～

対象地点を適切に設定することは重要である。水道水の水質管理を例にすると、最終商品である給水栓水（蛇口から出る水のこと）を検査することは当然である。水道法施行規則第15条第1項にも「検査に供する水の採取の場所は、給水栓を原則とし」との記載がある⁷⁾。一方、給水栓水の水質管理のみでなく、水源から給水栓に至るまでに存在する様々な工程における微生物汚染リスクの評価・管理を実施していくことも微生物学的安全性を確保する上で重要である。世界保健機関（WHO）が提唱し、我が国においても導入が推奨されている「水安全計画」においても、このような危害管理の考え方方が基本となっている⁸⁾。食品管理分野におけるHACCPの考え方と同様である。図1に示す通り、給配水過程における微生物汚染リスクを評価・管理するためには、給水栓水に加え、浄水（浄水場出口の水）の水質検査を実施することが必要であり、また浄水処理の有効性を評価する上では、水道原水（浄水場の入り口の水）の検査も同時にを行うことが不可欠である。また、検査対象地点毎に適切な検査頻度を設定することも重要であり、各水道事業者は年度毎に調査地点や頻度等を定める「水質検査計画」を策定している。

水源における微生物汚染リスクを把握するために、水源や汚染源の水も検査対象とすることがある。一般には指標微生物やクリプトスポリジウム等の特別に監視すべき微生物が検査対象となる。一方、研究レベルでは、微生物学的ソーストラッキングと呼ばれる手法を用いた水源汚染源調査が注目を集めしており、図2に示す通り、近年多くの研究報告が出ている。糞便汚染源となる宿主（ヒトや動物種）から特異的に排出される微生物遺伝子マーカーを測定することにより、水中の糞便（微生物）汚染源を明らかにする手法であり、バクテロイデス目菌（Bacteroidales）、F特異RNA大腸菌ファージ、コブウイルス等の遺伝子マーカーが利用されている⁹⁻¹¹⁾。微生物学的ソーストラッキングの詳細については、筆者らがまとめた総説を参考されたし¹²⁾。

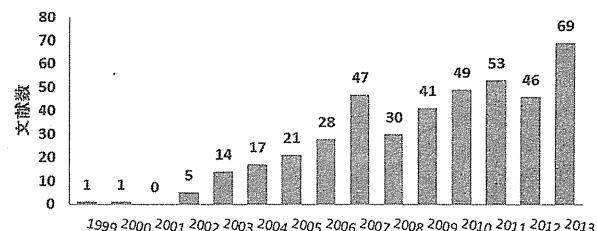


図2. 微生物学的ソーストラッキングに関する発表文献数の推移

※データベース：Elsevier社 Scopus

※検索式：((TITLE-ABS-KEY (microbial source tracking)
AND TITLE-ABS-KEY (water)))

4. 検査の正確性、信頼性、再現性

微生物検査結果は水道システム、公衆浴場等の管理運営に直結することから、信頼性の高い正確な検査を実施することは極めて重要である。特に、定性的に正しい試験結果を出すことが不可欠である（誤陽性・誤陰性の防止）。実際に、クリプトスポリジウムの誤陽性が原因で給水停止の措置が取られてしまったという事例も存在している。本事例では、誤陽性発覚までに、給水停止に加え、給水車を使用した応急給水、広報（有線放送、ビラ配り）、住民の健康状態の確認等が行われている¹³⁾。このように、誤陽性の発生は、住民の生活や産業への影響が極めて大きいため、正確な検査が求められる。このような問題を発生させないために、水道水のクリプトスポリジウムやジアルジアの検査では、クロスチェックやセカンドオピニオン体制の整備が進められている^{14, 15)}。また、検査者の技術向上を図る目的で、著者の所属機関である国立保健医療科学院において「水道クリプトスポリジウム試験法に係る技術研修」を実施している。本研修の詳細については筆者らがまとめた報告を参照されたし¹⁶⁾。また、クリプトspoリジウムやジアルジアの検査は、従来顕微鏡観察法によって実施されていたが、平成24年4月より、陽性／陰性の判断に検査者の主觀が入りづらく、また再現性が高い手法である遺伝子検出法（qPCR, real-time LAMP等）が公定検査法の一つとして採用されている¹⁷⁾。また、筆者らはより正確性の高い遺伝子定量法としてデジタルPCRを用いた水中病原微生物検査法を提案している¹⁸⁾。

検査の信頼性を確保するために、食品衛生分野等で導入されている優良試験所規範（Good Laboratory Practice : GLP）の導入も水道分野で進められている（通称：水道GLP）¹⁹⁾。管理上の要求事項（管理システム、記録や文書管理、是正処置、予防処置等）や技術的 requirement事項（施設、設備、検査方法、試料の採取、検査員等）があり、（公社）日本水道協会によって認定が行われている。また、信頼性保証システムの国際規格である

ISO/IEC 17025試験所認定の取得も一部の水道事業体を中心に進められている。

信頼性向上に向けて精度管理を実施することも重要である。自己精度管理、内部精度管理、外部精度管理に分類することができる。自己精度管理や内部精度管理の一例としては、水中クリプトスボリジウム検査における回収率の測定が挙げられる。濃度調整した市販の不活性済みのクリプトスボリジウムを試料水に添加し、回収率を測定することで、試験操作の正確性や再現性を確認することができ、試験方法の改良にも繋げることができる。個人でこのような取り組みを実施する場合は自己精度管理にあたり、職場（試験所）内で組織として実施する場合は内部精度管理にあたり。また、国や都道府県等外部の機関が水道事業体や検査機関（検査受託業者）等を対象に、濃度を秘匿した統一の試料を配布し、正確な濃度測定が行われているかどうか確認する場合は、外部精度管理にあたり、我が国では化学物質を中心に実施されている。微生物の場合、一般に配布試料の濃度管理が困難であり、外部精度管理の対象とされることは水道等の分野では稀であるが、性状が比較的安定している芽胞形成菌 (*Bacillus subtilis*) を配布することで、水道水質基準項目となっている一般細菌を対象に外部精度管理が行われたという事例も存在している²⁰⁾。

5. 検査の迅速性

微生物試験結果は水道システム、公衆浴場等の管理運転に直結することから、迅速に検査を行う必要がある。水道を例とすると、図3に示す通り、水道水等の微生物汚染が発生した場合には、給水停止や煮沸勧告が行われることとなるが、迅速な検査に基づき迅速な判断が行われれば、需要者（消費者）の感染被害を縮小させることができ。また、汚染原因を究明し、迅速に対策を行うことも可能である。さらに給水再開の判断も迅速に行うこと、生活や産業への影響を最小限に留めることができ。

一方、表2に示した微生物の公的検査は、その多くが培養法に頼っており、最低1日の検査期間を要するという問題がある。将来的に改善が必要であろう。研究レベルでは培養法に頼らない迅速な検査法が開発されており、本稿でもいくつか紹介させていただく。

春日らは、細胞膜を透過可能なSYBR® Greenと透過できないPIによる染色（Live/Dead染色）を行った後、フローサイトメーターを用いた計数を行うことで生菌（細菌現存量）を迅速に測定可能であると報告している²¹⁾。蛍光染色後に蛍光顕微鏡を用いて計数することも可能であるが、フローサイトメーターを使用した方が、人為誤差が生じづらく、また検査者の負担が少ないと

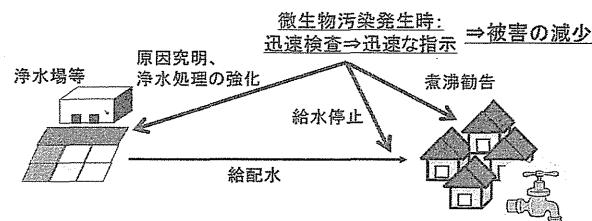


図3. 迅速検査の必要性～水道を例として～

うメリットがある。同様に、金らは、水中のクリプトスボリジウム、ジアルジアを対象として、蛍光抗体による染色を行った後に、フローサイトメーターを使用して計測するシステムを開発している²²⁾。また、蛍光検出を利用した手法としては、染色を経ずに水中の微生物にレーザー光を照射し、微生物が有する自家蛍光を検出するシステムも開発されている²³⁾。本システムでは生菌・死菌の区別を行うことは困難であるが、染色時間を必要としないため、オンラインセンサーとして使用することが可能である。

培養期間を要しないため、遺伝子検査も迅速検査法の1つと見ることもできる。先述の水道分野のクリプトスボリジウム・ジアルジアの検査や浴槽水のレジオネラの検査等に利用されている。例えば、東京都や大阪市では、浴槽水の行政検査においてレジオネラが検出された浴槽に対しては、清掃後の再検査時に限って、培養法に平行してLAMP法を行い、陰性であれば再開、陽性であれば培養法の結果を待つ、という形で遺伝子検査法を利用している²⁴⁾。培養法が確立されていないヒトノロウイルス等の検査に利用でき、また塩基配列を解析することでヒトへの感染性等を判別できるという長所もある。一般に生死判定には不向きな手法であるが、培養法と組み合わせたLC-qPCR法や細胞膜の透過性の性質を利用して生死判定を行うPMA/EMA-PCR法等も開発されており²⁴⁾、利用範囲は今後ますます広がっていくと予想される。

その他にも、抗原抗体反応、表面プラズモン共鳴(SPR)を利用した手法（バイオセンサー）²⁵⁾等の様々な迅速検査法が開発されており、今後も技術開発が継続されていくであろう。

6. 検査の高感度性

水中の指標微生物濃度は比較的高いため、感度はあまり問題とならないが、病原微生物の場合、食品検体・臨床検体と比較して濃度が著しく低いため、高感度な検査法であることが望まれる。例えば、水道原水や浄水中のクリプトスボリジウム、ジアルジアの検査では、10～20Lの水を濃縮してから顕微鏡観察法や遺伝子検出法に

供することが求められている²⁶⁾。試料の濃縮操作は煩雑であり、検査時間も要するため、濃縮後の検出系をできるだけ高感度にすることで、濃縮液量を減らす試みも必要であろう。

検出系の高感度化の一例として、筆者らが取り組んだクリプトスボリジウムの検査における RT-LAMP/PCR 法の利用を紹介する。クリプトスボリジウムは真核生物であり、当然 DNA を保有しているので、本来は逆転写反応を行わずに LAMP や PCR に供することが可能であるが、増幅領域である 18S rRNA をコードする DNA の数には限りがあるため、通常の PCR 等では検出感度が問題となる。一方、RNA 分子数は DNA の 1,000 倍程度存在することから、逆転写反応を追加し、RT-LAMP/PCR とすることで、検出感度を著しく向上させることが可能になった^{27, 28)}。

7. 検査の網羅性

先述の通り、公的な水中微生物検査では、病原微生物等を網羅的に検出することが困難なため、指標微生物の測定で代用しているが、研究レベルでは網羅性の高い検査手法が開発されている。本稿でもいくつか紹介させていただく。

Upadhye らは、1,024種の病原細菌を対象としたマイクロアレイ（ターゲット：16S rRNA）を用いた水中の病原細菌の網羅的検出を試みている²⁹⁾。また、Ishii らは、多数の病原微生物を対象としたマイクロ流体工学に基づく qPCR 系の開発を行っている³⁰⁾。本手法では、qPCR 用の各反応液が別々の微小反応チャンバーに入ることから、マルチプレックス PCR のようにプライマー・プローブ等が溶液内で混在することがなく、非特異反応も生じづらいと考えられる。次世代シークエンサを用いた水中微生物の網羅的検出に関する報告も近年増えている³¹⁻³⁵⁾。装置・試薬代等が高い、サンプル調整・シークエンス時間が長く迅速性に欠ける、得られる膨大なデータの解析が困難、等といった課題も有しているものの、網羅性の高さは著しく、今後の水中微生物検査における強力なツールとなりえる手法である。

8. おわりに

水中微生物検査に求められる一般的な条件としては、再現性、信頼性、迅速性、高感度、網羅性等が挙げられるが、本稿で述べた通り、現場レベルではこのような理想的な条件を満たす検査は実施されていないのが現状である。研究レベルでは、現場レベルの課題を克服可能な技術が開発され、一部で実用化も進んでおり、今後も検査技術の発展が望まれる。

謝辞

本原稿は JSPS 科研費研究課題 (25289176) および厚生労働科学研究費補助金 (H26-健危一般-003) の一環としてまとめたものです。

文 献

- 1) Oliveira, B. R., Barreto Crespo, M. T., San Romãoa, M. V., Benolield, M. J., Samsone, R. A., and Pereira, V. J. (2015) New insights concerning the occurrence of fungi in water sources and their potential pathogenicity. *Water Res.*, 47, 6338–6347.
- 2) 国立保健医療科学院 (2012) WHO 飲料水水質ガイドライン第4版 (日本語版), pp.122–127, 国立保健医療科学院, 和光.
- 3) 岸田直裕 (2013) 水環境中の大腸菌等の指標微生物. 水環境学会誌, 36, 165–168.
- 4) Baldursson, S., and Karanis, P. (2011) Waterborne transmission of protozoan parasites : review of worldwide outbreaks - an update 2004-2010. *Water Res.*, 45, 6603–6614.
- 5) 埼玉県衛生部 (1997) クリプトスボ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. 埼玉県衛生部, 埼玉.
- 6) 岸田直裕, 松本 悠, 山田俊郎, 浅見真理, 秋葉道宏 (2015) 我が国における過去30年間の飲料水を介した健康危機事例の解析 (1983~2012年). 保健医療科学, 64, 70–80.
- 7) 厚生労働省 (1957) 水道法施行規則.
- 8) 厚生労働省健康局水道課 (2008) 水安全計画について.
- 9) Tambalo, D. D., Fremaux, B., Boa, T., and Yost, C. K. (2012) Persistence of host-associated Bacteroidales gene markers and their quantitative detection in an urban and agricultural mixed prairie watershed, *Water Res.*, 46, 2891–2904.
- 10) Haramoto, E., Otagiri, M., Morita, H., and Kitajima, M. (2012) Genogroup distribution of F-specific coliphages in wastewater and river water in the Kofu basin in Japan. *Lett. Appl. Microbiol.*, 54, 367–373.
- 11) 稲葉愛美, 北島正章, 片山浩之 (2010) 水中ウイルスの指標としてのさまざまなウイルス. 日本水環境学会シンポジウム講演集, 13, 117–118.
- 12) 水中の健康関連微生物研究委員会 (片山浩之, 安井宣仁, 猪又明子, 田中宏明, 岸田直裕, 原本英司, 渡部 徹, 真砂佳史, 浅田安廣, 端 昭彦, 佐野大輔, 井原 賢, 稲葉愛美) (2014) 水中の健康関連微生物に関する研究動向. 水環境学会誌, 37, 424–433.
- 13) 厚生労働省健康局水道課「平成20年 水道関連の主要な事件・事故について」
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/jouhou/dl/06.pdf> (accessed 2015-09-23).
- 14) 厚生労働省健康局水道課 (2007) 飲料水におけるクリプトスボリジウム等の検査結果のクロスチェック実施要領.
- 15) 全国給水衛生検査協会 (2014) クリプトスボリジウム検査に関するセカンドオピニオン体制の整備について.
- 16) 黒木俊郎, 泉山信司, 八木田健司, 遠藤卓郎, 岸田直裕,

- 島崎 大, 秋葉道宏 (2012) 水道クリプトスピロジウム試験法の検査体制維持・向上に係る技術研修の役割. 保健医療科学, 61, 454–463.
- 17) 厚生労働省健康局水道課 (2012) 水道に関するクリプトスピロジウム等の検出のための検査方法の見直し等について.
- 18) Kishida, N., Noda, N., Haramoto, E., Kawaharasaki, M., Akiba, M., and Sekiguchi, Y. (2014) Quantitative detection of human enteric adenoviruses in river water by microfluidic digital polymerase chain reaction. *Water Sci. Technol.*, 70, 555–560.
- 19) 日本水道協会 (2009) 水道水質検査優良試験所規範. 日本水道協会, 東京.
- 20) 川上慶子, 山岸喜信, 橋本潤子, 北川恵美子, 谷村睦美, 橋本喜代一 (2010) 平成21年度水道水等水質検査精度管理調査結果. 石川保環研報, 47, 60–64.
- 21) 春日郁朗, 尾崎奈緒, 栗栖 太, 吉米弘明, 重枝孝明 (2014) 高度浄水処理工程における細菌現存量のフローサイトメーターを用いた迅速評価. 水道協会雑誌, 83 (6), 1–14.
- 22) 金京柱, 田中良春 (2010) クリプトスピロジウム自動測定装置開発のための蛍光抗体標識法の基礎検討. 全国水道研究発表会講演集, 61, pp.516–517.
- 23) 関本一真, 藤瀬大輝, 田中和明 (2013) ピコプランクトンカウンターの開発に関する報告. 平成25年度全国会議(水道研究発表会) 講演集, pp.526–527.
- 24) 倉文明 (2013) レジオネラ症の動向, 迅速検査, 管理基準. 平成24年度生活衛生関係技術担当者研修会資料.
- 25) 坂慎有紀恵, 山田健太, 津田 収, 大森 徹, 川口俊一, 高橋正宏, 岡部 聰, 佐藤 久 (2014) 表面プラズモン共鳴を利用した病原微生物バイオセンサの開発. 日本水環境学会年会講演集, 48, p.221.
- 26) 厚生労働省健康局水道課 (2007) 水道におけるクリプトスピロジウム等対策指針.
- 27) Inomata, A., Kishida, N., Momoda, T., Akiba, M., Izumiya, S., Yagita, K., and Endo, T. (2009) Development and evaluation of a reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and high-sensitive detection of *Cryptosporidium* in water samples. *Water Sci. Technol.*, 60, 2167–2172.
- 28) 岸田直裕, 古川一郎, 黒木俊郎, 猪又明子, 泉山信司, 森田重光, 秋葉道宏 (2010) リアルタイム RT-PCR 法を用いた河川試料水中のクリプトスピロジウムの高感度定量. 日本水処理生物学会誌, 46, 181–189.
- 29) Upadhye, R. R., Inoue, D., Ishigaki, T., Sei, K., and Ike, M. (2008) Microarray analysis of eubacterial community and bacterial pathogens in leachate from three different landfills of Japan. *Environ. Eng. Res.*, 45, 195–202.
- 30) Ishii, S., Segawa, T., and Okabe, S. (2013) Simultaneous quantification of multiple food and waterborne pathogens by use of microfluidic quantitative PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, 79, 2891–2898.
- 31) Douterelo, I., Sharpe, R. L., and Boxall, J. B. (2013) Influence of hydraulic regimes on bacterial community structure and composition in an experimental drinking water distribution system. *Water Res.*, 47, 503–516.
- 32) Gomez-Alvarez, V., Revetta, R. P., and Santo Domingo, J. W. (2012) Metagenomic analyses of drinking water receiving different disinfection treatments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 78, 6095–6102.
- 33) Liu, R., Yu, Z., Guo, H., Liu, M., Zhang, H., and Yang, M. (2012) Pyrosequencing analysis of eukaryotic and bacterial communities in faucet biofilms. *Sci. Total. Environ.*, 435–436, 124–131.
- 34) Liu, G., Ling, F. Q., Magic-Knezev, A., Liu, W. T., Verberk, J. Q., and Van Dijk, J. C. (2013) Quantification and identification of particle-associated bacteria in unchlorinated drinking water from three treatment plants by cultivation-independent methods. *Water Res.*, 47, 3523–3533.
- 35) Fujimoto, N., Mizuno, K., Yokoyama, T., Ohnishi, A., Suzuki, M., Watanabe, S., Komatsu, K., Sakata, Y., Kishida, N., Akiba, M., and Matsukura, S. (2015) Community analysis of picocyanobacteria in an oligotrophic lake by cloning 16S rRNA gene and 16S rRNA gene amplicon sequencing. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 61, 171–176.

