

平成 29 年度厚生労働科学研究（健康安全・危機管理対策総合研究事業）

水道水質の評価及び管理に関する総合研究

研究代表者 松井 佳彦（北海道大学大学院工学研究院）

分担研究報告書

微生物に関する研究 - 微生物分科会 -

研究分担者	泉山 信司	（国立感染症研究所寄生動物部）
研究分担者	松下 拓	（北海道大学大学院工学研究院）
研究分担者	秋葉 道宏	（国立保健医療科学院）
研究分担者	春日 郁朗	（東京大学大学院工学研究科）
研究協力者	栗田 志広	（神奈川県内広域水道企業団）
研究協力者	大谷 喜一郎	（元神奈川県内広域水道企業団）
研究協力者	江原 和宏	（東京都水道局）
研究協力者	中嶋 健二	（浜松市上下水道部浄水課水質管理グループ）
研究協力者	渡邊 洋大	（神奈川県企業庁水道水質センター）
研究協力者	庭山 秀一	（新潟市水道局）
研究協力者	浅野 峰子	（横浜市水道局）
研究協力者	黒木 俊郎	（神奈川県衛生研究所）
研究協力者	安藤 正典	（元山梨大学工学部）
研究協力者	橋本 温	（県立広島大学生命環境学部）
研究協力者	大河内 由美子	（麻布大学生命環境科学部）
研究協力者	片山 浩之	（東京大学大学院工学研究科）
研究協力者	白崎 伸隆	（北海道大学大学院工学研究院）
研究協力者	三浦 尚之	（国立保健医療科学院）
研究協力者	島崎 大	（国立保健医療科学院）
研究協力者	遠藤 卓郎	（国立感染症研究所細菌第一部）

研究要旨

従属栄養細菌数の応用として、旧簡易水道配水池の従属栄養細菌数を測定した。配水池内部の水面上と下の内壁面より従属栄養細菌数を測定した結果、水面下の水道水が触れている部分は少なく、水面より上の触れていない部分の方が多数であった。残留塩素は有効と改めて認識できた。消毒効果を低下させないように、適切な清掃と、塩素濃度の管理を徹底しなければならないと考えられた。

トウガラシ微斑ウイルスの凝集沈殿-砂ろ過による除去率は各種水系感染症ウイルスと同程度であり、水道におけるウイルス指標としての活用が期待されている。大容量の試料水に対応可能な、ナノセラム陽電荷膜とタンジェンタルフローUF 膜を併用したウイルス濃縮法を構築した。浄水場 A において、トウガラシ微斑ウイルスは、凝集沈殿-砂ろ過処理により 1.6-Log 減少し、塩素消毒により 0.2-Log (PCR 法評価) 減少した。この結果は、水系感染症ウイルスの 1.6-Log の減少と、4.7-Log 以上の不活化 (PFU 法評価) に相当し、合計で 6.3-Log 以上の処理性があったと推察された。

クリプトスポリジウム対策を目的とした、濁度 0.1 度以下の管理に否定的な意見が聞かれることがあり、現状を確認した。水道水質データベースによれば、浄水場出口の最高値濁度で 0.1 度の超過がわずかに認められた (3.9%、24 系統/611)。9 割以上は目標を達成できており、問題のある系統を丁寧に対応すべきと考えられた。高感度粒子計を用いたリアルタイムな処理工程の把握と、後 PAC を用いたいわゆる二段凝集の実施例について検討した。実際に小雀浄水場ではきめ細やかな制御を行い、清明な浄水の供給を達成していた。二段凝集と高感度粒子計の活用は、他の浄水場にも提案できる方法と考えられた。

A. 研究目的

微生物分科会では水道の微生物汚染に係る問題として、従属栄養細菌、腸管系ウイルス、そして耐塩素性病原微生物を検討し、水道の微生物学的な安全性向上を目指している。

A1 配水池の従属栄養細菌数

水道水は、塩素消毒が消失すると雑菌が増殖するが、このことにあまり注意が払われてこなかった。この雑菌を捕食増殖する自由生活性アメーバが存在し、さらにヒトに重篤な肺炎やポンティアック熱を引き起こすレジオネラ属菌 (*Legionella*) が増殖することから、問題となる。この汚染は塩素消毒が無くなると生じてしまい、途中配管、貯水槽、末端給水栓等の衛生的な管理が必要である¹⁾。従属栄養細菌数は、こうした汚染の程度を評価する指標となる。その応用として、本研究では旧簡易水道配水池内の従属栄養細菌数を測定した。

工事関係者の協力を得て、2 つの配水池の清掃に立ち会うことができた。当該の配水池はいずれも簡易水道の管理下にあったが、近年に上水道に統合されたものであった。中山間地域に設置されて数十年が経過し、今回が初めての清掃とのことであった。

A2 ナノセラム陽電荷膜とタンジェンタルフロー UF 膜を併用した大容量試料水からのウイルス濃縮法の構築

ウイルスによる水系感染症の制御に資するため、浄水工程におけるウイルス除去率を検討している。米国環境保護局 (USEPA) は、

汚染物質の候補 (Contaminant Candidate List 4: CCL4) として、アデノウイルス、エンテロウイルス (ポリオウイルス、コクサッキーウイルス、エコーウイルスを含む)、A 型肝炎ウイルス、カリシウイルス (ノロウイルス、サポウイルスを含む) の 4 種のウイルスを挙げている²⁾。しかし培養・定量の難しさ等の理由から、これらの水系感染症ウイルスの特に凝集やろ過といった物理的な処理性に関する知見は少ないのが現状である³⁻⁶⁾。実浄水場における水系感染症ウイルスの処理性を評価した事例が見られるものの⁷⁻⁸⁾、処理水中のウイルス濃度は非常に低く、数百~数千 L の処理水を濃縮した場合であっても不検出/定量下限以下となることが少なくない。そのため、浄水場におけるウイルスの処理性を、水系感染症ウイルスを直接定量することにより正確に把握することは事実上困難な現状にある。

このような状況の中、植物ウイルスであるトウガラシ微斑ウイルスが着目されている。同ウイルスは、ヒトの糞便中に最も多量に存在する RNA ウイルスで⁹⁾、水道原水を含む水環境中において、他の水系感染症ウイルスよりも大幅に高い濃度で存在し¹⁰⁻¹²⁾、そのほとんどがヒト糞便由来とされていることから^{10,11)}、水道のウイルス指標として期待されている。これまでに水系感染症ウイルスとトウガラシ微斑ウイルスの凝集沈殿-砂ろ過処理における除去率は、同程度との結果が得られている。

そこで、本研究では、大容量の試料水から

トウガラシ微斑ウイルスを効果的に濃縮・回収可能なウイルス濃縮法を構築し、これを水道原水及び浄水処理水に適用することにより、実浄水場におけるトウガラシ微斑ウイルスの処理性を評価することを目的とした。具体的には、ナノセラム陽電荷膜とタンジェントフローUF膜を併用したウイルス濃縮法を構築し、大容量の試料水からのトウガラシ微斑ウイルスの濃縮・回収への有効性を評価した。浄水場の協力を得て、実際の原水及び処理工程水中のウイルスを測定し、実浄水場における水系感染症ウイルスの処理性を推察した。

A3 クリプトスポリジウム対策を目的とした二段凝集と高感度粒子計活用の提案

現在のクリプトスポリジウム等の対策は、厚生労働省水道課からの通知により汚染の恐れが高い施設では、ろ過池またはろ過膜の出口の濁度を0.1度以下に維持することが可能なろ過設備（急速ろ過、緩速ろ過、膜ろ過等）を整備し、濁度を常に0.1度以下に維持することが求められている（水道におけるクリプトスポリジウム等対策指針、健水発第0330005号、平成19年3月30日）。ところが、この0.1度の維持に否定的な意見が聞かれることがある。具体的には、0.1度を達成できない、凝集剤のアルミニウムがアルツハイマー病の一因の可能性があると、といった内容である。それらの懸念の確認と、具体的な対策について、検討を行うこととした。

B. 研究方法

B1 配水池の従属栄養細菌数

平成28年度に実施した配水池をA配水池、29年度に実施した配水池をB配水池とする（図1）。これらは、H地域の中山間地に位置する小規模配水池である。以下、それぞれの仕様を示す。

A 配水池

- ・設置年度...昭和55年
- ・容量...22t

・流入水...県水道用水供給事業からの受水および深井戸による自己水源

- ・次亜添加装置...有
- ・配水ポンプ...地上型
- ・清掃の有無...記録なし
- ・調査日の残留塩素...0.27 mg/L

B 配水池

- ・設置年度...昭和48年
- ・容量...48t
- ・流入水...県水道用水供給事業からの受水および深井戸による自己水源
- ・次亜添加装置...無
- ・配水ポンプ...水中型
- ・清掃の有無...記録なし
- ・調査日の残留塩素...0.18 mg/L

配水池の内壁面およそ2cm四方を、市販の拭き取り検査キット（BD ラスパーチェックふき取り検査用スワブ）にて拭き取りした。底面に関しては、排水限界が存在して拭き取りが不可能だったので、滅菌したポリチューブに残水を採取した。

試料水は、定法に従い、R2A寒天培地にて培養した。拭き取りの場合は、拭き取り検査キットに含まれるりん酸緩衝生理食塩水10mLに、滅菌済み1% Tween 80を20μL添加し、一分ほどよく懸濁した後の1mLを培養した。ポリチューブに採水した試料の場合は、五分ほどよく攪拌した後、1mLを培養した。必要により試料を希釈した。

B2 ナノセラム陽電荷膜とタンジェントフローUF膜を併用した大容量試料水からのウイルス濃縮法の構築

トウガラシ微斑ウイルス pepIwate-Hachiman1株（1本鎖RNAウイルス、直径20nm長さ300nm）、アデノウイルス40型 Dugan株（2本鎖DNAウイルス、直径90-100nm）、コクサッキーウイルスB5型 Faulkner株（1本鎖RNAウイルス、直径20-30nm）、A型肝炎ウイルスIB型

HM175/18f 株 (1 本鎖 RNA ウィルス, 直径 20–30 nm)、マウスノロウィルス I 型 CW1 株 (1 本鎖 RNA ウィルス, 直径 30–40 nm)、大腸菌ファージ MS2 (1 本鎖 RNA ウィルス, 直径 20–30 nm) を実験に使用した。各ウィルスはそれぞれ *Nicotiana benthamiana*、A549 細胞、BGM 細胞、FRhK-4 細胞、RAW264.7 細胞、大腸菌を用いて培養し、リアルタイム定量 PCR 法にて濃度を定量した。

大容量試料水に適用可能なウィルス濃縮法として、ナノセラム陽電荷膜を用いたウィルス濃縮法を検討した。まず、ウィルスの添加回収試験を行った (トウガラシ微斑ウィルスを 10^{7-10} copies/mL になるように添加)。試料水には、浄水処理工程水 40 L (浄水場 A における原水, 沈殿水, 砂ろ過水, 浄水)、あるいは水道水 100–5,000 L を用いた。残留塩素は、チオ硫酸ナトリウムの添加により中和した。4–7 L/min の初期流速にて専用ハウジングに収容されたナノセラム陽電荷膜 (膜孔径: 2 μ m) を用いて、試料水をろ過した。

pH 9.5 の 1.5% (w/w) ビーフエキス溶液 (0.05 M グリシン含有) 350 mL をウィルス溶出液として膜に添加し、1 分間浸漬後、追加の 150 mL をポンプで送液し、ハウジング内の溶液を回収した。溶出操作を更に 3 回繰り返し (2 回目の浸漬時間は 15 分、3 回目及び 4 回目は 30 分) 合計 2 L にウィルスを濃縮した (一次濃縮)。

ウィルス濃縮液の pH を HCl にて 3.5 に調整した後、スターラーで 30 分間攪拌することにより、タンパク質を凝集した。これを $2,500 \times g$ にて 15 分間遠心分離することにより、上澄みと凝集物を得た。上澄みは、タンジェンタルフロー UF 膜 (分画分子量: 300 kDa) を用いて 20 mL まで精製・濃縮した (二次濃縮 [上澄み])。凝集物は、pH 9 の 0.15 M リン酸バッファーに溶解後、 $4,000 \times g$ にて 10 分間遠心分離した上澄みを pH 7.0 に調整することで、20 mL まで精製・濃縮した (二次濃縮 [フロック])。メンブレンフィルター

(膜孔径: 0.45 μ m) にてろ過した各二次濃縮物を、ウィルス濃度の定量に供した。

PCR 阻害の評価を目的に、二次濃縮後の試料に人工的にマウスノロウィルス及び MS2 を添加し、滅菌蒸留水に添加した場合との PCR 法による定量結果を比較した。

実浄水場におけるトウガラシ微斑ウィルスの処理性を評価するため、本研究で構築したウィルス濃縮法を、ウィルス未添加の試料に適用した。2017 年 10 月, 11 月, 12 月に浄水場 A 内において、原水 100–250 L, 沈殿水 100–500 L, 砂ろ過水 100–1,000 L, あるいは浄水 100–1,500 L よりウィルスを濃縮し、トウガラシ微斑ウィルスの濃度を定量した。

B3 クリプトスポリジウム対策を目的とした二段凝集と高感度粒子計活用の提案

論文、書籍、厚生労働科学研究費補助金による報告、インターネット公開の資料等を参照した。いずれも出典を明記した上で必要に応じて引用した。水道水中のアルミニウム及びその化合物の濃度分布、それから濁度の分布は、日本水道協会の水道水質データベースを参照した (<http://www.jwwa.or.jp/mizu/list.html>)。内容は参照時点で最新の H26 年度 (2014) を用いた。すなわち、平成 26 年度に行われた水質検査について、各浄水場系統ごとに集計した結果が掲載されている PDF から、アルミニウムと濁度の項目を抜粋して再掲した。結果の重複を避けるため、水道用水供給事業ではない、上水道事業の結果を参照した。分布の母集団が、濁度 0.1 度を守るレベル 4 施設の割合が高くなるように、原水の種別を表流水とダム湖沼に絞り、地下水他は含めなかった。配水途中の汚れによる影響を除外するため、ここでは浄水場出口の分布を確認し、給水栓水の測定値は参照しなかった。表では分布の状態が分かりにくいので、同じ内容から図も作成した。

C. 研究結果および考察

C1 配水池の従属栄養細菌数

設置されてから数十年が経過する A、B 配水池の内部は、ともに内壁面が茶色の膜で覆われて、層状になっていた（図 2A）。層が厚いため、拭き取り検査キットの綿棒で力強くぬぐっても、すぐに内壁面には到達しなかった（図 2B）。また、ぬぐった綿棒も茶色に変色する状態であった。清掃の方法に関して、ただ単に中の水を入れ替えたり、沈殿物を除去するだけでなく、可能な限り内壁面の膜を除去する方が望ましいと言えた。

流入管や流出管などの金属製の設備は、経年により錆つき瘤状に肥大していた。（図 2C、D）。経年により底面には堆積物が見られた。両配水池ともに、わずかに動くだけで鉄錆のような赤茶色のものが巻き上がり、ひどく濁った。清掃後に採取された堆積物は、A 配水池は容量 3L のバケツに四分の一ほど、B 配水池も同程度ではあったが、より形状がはっきりした大きいものが多かった（図 2E、F）。それらは、内壁面や塗装からはがれたであろう小さな鉱物や砂利のようなものおよび鉄錆で構成され、有機物等は見られなかった。

配水池の内壁面の状態および水位がどのあたりで運用されているか等に関しては、調査のため中に入るまでは不明の状態であったため、従属栄養細菌数の試料採取方法は現場で判断した。

A 配水池で特徴的だったのは、流入管側壁面であった（図 3A）。いずれの壁も一様に濃淡の差が見られない茶色の膜で覆われていた。中央の青丸が上向きに設置された流入管で、その下の従属栄養細菌数が顕著に高かった（ $> 1,000 \text{ CFU/cm}^2$ ）。流入管横は左右ともに非常に少なく（0 ないし 3 CFU/cm^2 ）内部の水流で洗われていたと考えられた。つまり、流入管から天井側へ向かって、絶えず水流が発生し、比較的新鮮な水が絶えず接触し、検出数が少なかったと考えられた。流入管下は、流入管自体が水の流れを障害して滞留が発生し、同じ壁面にも関わらず検出数に大きな差

が生じたと考えられた。

底面においても、同様の傾向が見られた。流入管から配水池内部への水の流れが発生している（図 3B、白い矢印）。そのため、絶えず新しい水が触れる中央部の検出数は少なめであった。逆に、流入管すぐ下は、水流の湍みが発生し、検出数が多いと考えられた。

B 配水池については、内壁面の茶色の膜の状態から 6 割ほどの水位で運用されていたことが推察された。膜のある部分は、先に示した写真のとおり拭き取り綿棒が茶色に着色するような状態であった。水位面でどの程度検出に差が生じるか調査を試みた。上部の内壁面は膜が存在せず、拭き取りをしても見た目は綿棒そのものの状態であった。水面下の膜部分の方が、検出数が多いと予測していたが、結果はまったくの逆で、綿棒の着色のなかった上部（図 3C の 、 、 ）の方が顕著に多かった。茶色の着色があった（膜が綿棒に付着した）方が、検出が少なかった（図 3C の 2、3、6、8、9）。沈殿物が近いであろう内壁面の底部でも検出数は少なかった（図 3C の 3、6、9）。内壁面の東西南北で拭き取りを実施し、特徴的であった北内壁面をとりあげているが、他の内壁面についても同様の傾向が見られた。

これは、残留塩素の有効性を示していると考えられた。 と の違いは、水に触れているか否かの差である。たとえ膜が存在し、汚れているように見えていても、残留塩素が有効な範囲では細菌に対する相当の抑止が作用し、一方の水面境界より上部は塩素の効果が及ばず、湿気は確保され、細菌にとって生育しやすい環境であったと考えられた。細菌を抑えるには、配水池を満水に近い水位とし、そして水位を安易に変動させるべきではないと示唆された。ただし、水道水の有効残留塩素濃度が低い場合は、消毒が困難かもしれない。

検出数の多かった境界より上部（上図の 、 、 ）から検出された従属栄養細菌は、コ

ロニーのひとつひとつが非常に微小で、顕著に検出数が多く、特徴的であった。検出数は数日で 1,000 CFU/cm² を超えたため、百倍希釈、千倍希釈にて追加検査を実施した。結果、いずれの希釈倍率においても二週間後に 1,000 を超えて、10⁶ CFU/cm² を超過した(ただし、図では検査の感度を揃えるために、>1,000 と表記している)。

配水池を含める浄水施設に関する法規等について、下記を確認した。

水道法...第 5 条第 3 項「水道施設の構造及び材質は、水圧、土圧、地震力その他の加重に対して十分な耐力を有し、かつ、水が汚染され、又は漏れるおそれがないものでなければならない。」

水道維持管理指針(2016年版)...「清掃・点検」の中に、「浄水池の内部には、水あかが付着したり沈殿物が堆積したりするので、定期的に清掃を実施する。」

水道事業ガイドライン JWWA Q100... 5002 配水池清掃実施率「清掃した配水池容量の全配水池容量に対する割合(%)を示す。5年で全配水池を一巡するのを目標にしている」

指針やガイドラインでは、具体的な清掃の手段や方法、清掃間隔を示していたが、これらは目標であり、必要性について言及しているに留まった。また、実施率は全配水池容量に対する割合であるため、小規模配水池ほど優先順位が低くなってしまうことが考えられた。一方で、今回の調査により、数十年経過した配水池からは多数の従属栄養細菌が検出されたことも事実である。これらは、残留塩素の抑止効果により、結果的に水道水からの検出は確認されないという状態にあるように推察された。

中山間地域の現状について現状を記す。H地域では平成 17 年の合併により、過疎が進

んだ中山間地の上水道施設を管理下に含むようになった。今回の調査により中山間地の一部の施設は、人口流出および減少に伴い、過剰スペックになっている実状を知り得た。たとえば B 配水池の当初の役割は、低区利用者への配水と、更に数十メートル高地にある高区配水池への送水の 2 つがあった。しかし現在は、単に高区配水池へ送水するだけの施設となっている。その利用者は 3 世帯のみで、利用者数に対する施設が過剰であった。

かつては林業や農業などで、施設内容に見合った利用者数が存在し、適切なスペックだったと思われる。しかし、利用者は点在した状態で次第に減少し、配水が不可能な状態になりつつあると推察された。過剰な施設があり、維持管理に費用がかかり、清掃にまで手が及ばなかったと考えられた。わずか 3 世帯しかない現状では、施設の更新費用を捻出することすら叶わないことが計算できる。

C2 ナノセラム陽電荷膜とタンジェントルフローUF膜を併用した大容量試料水からのウイルス濃縮法の構築

大容量の試料水からウイルスを濃縮するため、ナノセラム陽電荷膜を用いたウイルス濃縮法を検討した。当初はビーフエキスの凝集フロックをウイルス濃度の定量対象としたが、トウガラシ微斑ウイルス(及び MS2)は、他のアデノウイルス等と異なり、上澄みに残留することが判明した(図 4)。以上の結果から、トウガラシ微斑ウイルスは、凝集後の上澄みを定量対象とし、タンジェントルフローUF膜を用いて更に濃縮する手法を構築した。

トウガラシ微斑ウイルスを添加した試料水からの、回収率を評価した(図 5)。浄水処理工程水 40 L、並びに脱塩素水道水 100 L を濃縮した場合は、93%以上と高い回収率が得られた。試料水間の回収率に大きな差異も見られなかった。水道水 1,000 L 及び 5,000 L を濃縮した場合は、容量の増加に伴って回収率が低下したものの、50%以上の回収率を維持

した。本研究で構築したウイルス濃縮法は、大容量の試料水からトウガラシ微斑ウイルスの濃縮が可能であり、応用が期待された。

PCR 阻害（遺伝子抽出工程・逆転写反応・PCR 反応における阻害）を評価した（図 6）。二次濃縮[フロック]の試料で PCR 阻害が生じて、添加したマウスノロウイルス（及び MS2）の濃度は、20–50%程度となった。特に、原水を濃縮した試料における PCR 阻害が顕著であった。一方、二次濃縮[上澄み]の試料では、添加したマウスノロウイルス（及び MS2）の濃度は 100%に近い結果であった。指標として活用を予定するトウガラシ微斑ウイルスは、二次濃縮[上澄み]に濃縮され、阻害の影響を受けないことが判明した。

浄水場 A において本濃縮法を適用し、トウガラシ微斑ウイルスを測定した（図 7）。原水、沈殿水、ろ過水、塩素処理後の濃度はそれぞれ $10^{1.3}$ copies/mL, $10^{0.4}$ copies/mL, $10^{-0.3}$ copies/mL, $10^{-0.5}$ copies/mL であった。

上記より、トウガラシ微斑ウイルスの除去率は、凝集沈殿処理が 0.9-Log、砂ろ過処理が 0.7-Log、合計で 1.6-Log と算出された。昨年度の室内実験において、トウガラシ微斑ウイルスの除去率は、水系感染症ウイルスの除去率と同程度であった⁹⁾。すなわち、実浄水場においてトウガラシ微斑ウイルスが 1.6-Log 除去された場合、水系感染症ウイルスも 1.6-Log 程度除去されると推察された。

塩素処理によるトウガラシ微斑ウイルスの減少率は 0.2-Log（PCR 法評価）であった。この時の浄水場 A における塩素処理の CT 値（塩素濃度と接触時間の積）は約 20 mg-Cl₂・min/L であった。塩素処理の室内実験において、トウガラシ微斑ウイルスの濃度が 0.2-Log 減少（PCR 法評価）するのに必要な CT 値の 25 mg-Cl₂・min/L¹³⁾ と概ね一致した。CT 値 25 の塩素消毒は、比較的高い塩素耐性を有するコクサッキーウイルスで、4.7-Log 以上の不活化（PFU 法評価）に相当することが分かっている¹³⁾。

以上を総合すると、水系感染症ウイルスは、浄水場 A の凝集沈殿-砂ろ過処理により物理的に 1.6-Log 除去され、消毒により 4.7-Log 以上が不活化され、合計で 6.3-Log 以上の処理性があったと推察された。

C3 クリプトスポリジウム対策を目的とした二段凝集と高感度粒子計活用の提案

C3-1 アルミニウムに対する懸念

食品安全委員会のアルミニウムに関する情報では、

「アルツハイマー病の発症とアルミニウムには、何らかの関係がある可能性は否定できませんが、今のところ、アルミニウムの摂取が原因でアルツハイマー病が発症するとは言えないとされています。」とあった。

（https://www.fsc.go.jp/sonota/alumi/alumi_201010.pdf、2018/3/29 現在）

また、アルミニウムとアルツハイマー病の関連については、アルミニウムとアルツハイマー病の関連情報（国立健康・栄養研究所、「健康食品」の安全性・有効性情報、<http://hfnet.nih.go.jp/contents/detail970.html>、2018/3/29 現在）に詳細があり、

「アルツハイマー病の原因には遺伝的素因のほか、様々な環境因子の影響が考えられていますが、まだ不明な点が多く、話題になっているアルミニウム摂取との因果関係についてもよく分かっていません。アルミニウムとの関連を現時点で完全に否定することはできませんが、少なくともアルミニウム製の容器から溶出するアルミニウムや、日常生活で摂取する量での影響（リスク）については、その量が明らかに少ないため、日常生活において過度に心配する必要はないと言えます。・・・中略・・・情報をよく吟味し、過剰に反応しないことが大切です。」とあった。

アルツハイマー病のアルミニウム仮説については 1965 年にまでさかのぼり、繰り返される議論の詳細が文献にまとめられている¹⁴⁾。水道水中のアルミニウム濃度が 0.11mg/L

の地域では、0.01mg/L に比べて 1.5 倍のアルツハイマー病のリスクがあるとの疫学調査があった¹⁵⁾。ただし、後に同じ著者の別の論文では、病気とアルミニウム濃度に関連がなく、0.2mg/L 未満の濃度ではアルツハイマー病のリスクが小さいことが示され、先の論文は否定された¹⁶⁾。一方で、腎機能の低下や透析患者といった、アルミニウムの排出に異常を来して（現在は解決されている、アルツハイマーとは異なる病気の）透析痴呆に至るような健康弱者に配慮し、濃度は低いほうが良いと考えられた。

水道水質データベースより、H26 年度の浄水場出口のアルミニウム測定値の分布を検討した（表 1、図 8）。表流水とダム湖沼の原水の種類にかかわらず、最高値と平均値のいずれにしても、0.2mg/L の基準値超過はなく、半数は 0.02mg/L 以下であった。成人 2L/day の飲水量で 0.4mg が上限となり、実際ははるかに低い摂取にとどまり、水道の寄与は少ないことが想像された。身の回りでは、胃薬の制酸剤、解熱剤、食品のふくらし粉（ミョウバン）、ワクチンのアジュバント、歯磨き粉にも水酸化アルミニウムが含まれ、酸に溶解するアルミ製の鍋や缶もあり、“通常平均 1 日摂取量は大人で 1～10 mg”に達し（国立健康・栄養研究所）水道水以外の寄与が大きいと考えられた。

C3-2 濁度への懸念

浄水場における濁度の分布を確認した（表 2、図 9）。ろ過池出口の濁度の統計はないので、浄水場出口の濁度で代用した。平均値の分布で 0.1 度を超えたのはわずか 1 系統（各浄水場系統ごとの集計結果）であり、99.8%（=610/611 系統）は 0.1 度以下で管理されていた。最高値の分布では、24 系統（3.9%、24/611）に超過があり、大部分の 96.1%（587/611）は 0.1 度以下であった。この 24 系統が、濁度 0.1 度の維持に苦慮している施設と考えられた。この 24 系統の困難さを理由に、0.1 度の管理を止めようとするのは、

日本の水道水質にとって損失と考えられた。繰り返しになるが、大部分の系統では濁度の維持ができています。クリプトスポリジウム問題が生じてからは、水道水は相当に綺麗になったと聞く（私信、神奈川県内広域水道企業団）。配水系の配管の汚れにならないように、浄水場では可能な限り、濁質を除くことが望ましい。凝集沈殿ろ過を適切に管理し、凝集剤の再凝集が生じさせないことも求められる。水道事業にとって埋設された長大な水道配管は財産であり、浄水処理に係る費用は多くなく、管路の財産を毀損しないための管理と努力は重要と考えられた。

濁度管理の実務については、水道技術研究センターの指針に詳しく紹介されていた（水道技術研究センター、高濁度原水への対応の手引き）。凝集沈殿ろ過には技術が必要であるが、丁寧な管理を行えば濁度 0.1 度は守れる範囲と考えられていた。例えば水泳プールのろ過でさえ、循環ろ過装置の出口濁度は 0.5 度以下であることとし、0.1 度以下であることが望ましいとされる¹⁷⁾。ろ過に熟練した水道事業体であれば、0.1 度の達成が期待されるのは自然と考えられた。

ただし 0.1 度は、これを守っても病原体がろ過池を通過する恐れがあり、病原体がろ過池を通過しないようにする努力を強調するための目標と考えられる。従って、日頃からクリプトスポリジウム等による汚染の程度を検査により把握し、濁質の内容を検討する等の、冷静で現実的な対応が考えられる。例えば藻類による濁度の上昇が問題であれば、糞便汚染とは無関係であり、濁度上昇が直ちに危険性の増加とならない。ろ過池で藻類の繁殖が問題になれば、前塩素・中塩素の実施や、光を遮断する方法もある。ダム湖での藻類の繁殖が問題であれば、選択取水や前塩素・凝集剤の増量等、浄水処理の強化がある。長期的には浄水場の更新に合わせて膜ろ過や紫外線処理の追加が望ましいが、短期的には大きな費用をかけて直ちに浄水場を作り変えるのは

現実的ではなく、当面は 0.1 度の濁度管理、すなわち凝集沈殿ろ過の徹底によりクリプトスポリジウム等の除去、汚染の実態把握等の対策をすることが現実的な対応と考えられた。濁度 0.1 度を守ることで、国内では 1996 年以来、大きな集団感染を起こしていない実績がある。

越生町で発生したクリプトスポリジウム集団感染は、急速ろ過の設備があるにも関わらず、濁度が 2 度を下回っていたので、凝集剤を使っていなかったのが問題の一つであった¹⁸⁾。もし凝集剤を使っていれば、2 ないし 3-Log (99 ないし 99.9%) の除去が出来て、患者数は 8,812 人ではなく、88 人ないし 8 人で済んだのかもしれない。

病原体の検査には相当の時間と費用と熟練を要し、結果が出た時には、すでに水道水は配水、消費されている。濁度の目標は、今なお大事な管理指標であることに変わりがない。浄水処理工程をリアルタイムに監視、管理するには、濁度や粒子数の測定が適していると考えられた。リアルタイムに結果を得て、浄水処理工程に処理の強化を反映することができる。濁度計より高価ではあるが、粒子計はより高感度な結果を得ることが出来る。パイロットプラント及び実プラントでの、凝集剤に硫酸バンドを用いた処理実験によると、浄水中のクリプトスポリジウムの存在量と最も相関が高かった指標は、粒子計による 4~7 μm の粒子の濃度であり、濁度はこれに次ぐ相関があると報告されている¹⁹⁾。

C3-3 二段凝集と高感度粒子計の活用

濁度と粒子数による運転管理はすでに多くの浄水場で行われているが、あまり注意が払われておらず、活用方法を共有する意義がある。処理の悪化を早期に見つけるには粒子数や濁度は有用であり、現場では浄水処理が強化された実感できる。一例として横浜市水道局で行われている内容を紹介する。

横浜市小雀浄水場の場合、透過散乱型濁度計を導入し、ろ過水濁度が制御値を守ってい

るかだけでなく、前方散乱/光遮断微粒子カウンタ方式の粒子計でリアルタイムに粒子数の動きを監視している。ろ過水濁度は概ね 0.03 以下、通常は 0.00 であり、処理の悪化をより早期に見つける方法として、粒子計が活用されている。粒子数と処理水濁度の安定性は常時監視され、値が少しでも悪くなれば、直ちにその場で対応がなされる。粒子数が増加傾向になると、ろ過濁度上昇時の対応と同様に、処理としては前 PAC 増量(通常の凝集沈殿処理におけるポリ塩化アルミニウムの増量)後 PAC 注入(いわゆる二段凝集)と砂ろ過²⁾原因によっては前塩素消毒の強化等々を行う(図 10)。

具体的には、(ろ過水濁度が上昇したり)粒子数が 10 個/mL を超えた場合、凝集沈殿後の処理水に PAC を添加(後 PAC)し、10 個未満となるように制御する(表 3)。しかし、そのまま後 PAC を継続するとろ過池への負荷が懸念されるため、迅速に適正注入率を求め、前 PAC を増量して沈殿処理を強化する。そして後 PAC の添加を停止し、ろ過池への負荷を避ける。ろ過閉塞には特に注意が必要で、いったん閉塞すると膨大な量のろ過池洗浄水を要し、その廃水が生じるので、処理全体として避けたい。後 PAC で処理が改善されるということは、それだけろ過池への負荷がかかっているため、前 PAC の沈殿処理を強化して、ろ過池への負荷を最小としている。

後 PAC を停止すると再び粒子数が増加に転じたり、停止できない状況となると、実際にろ過水を検鏡するなど、原因を調査する。多くの場合、原水中に生物が多くなっており、原因が生物と判明すれば前塩素強化や、前 PAC を増量し、後 PAC を停止できるか検討する。

また、凝集沈殿前の pH を若干下げて、凝集効率を高めることもある。定期的なクリプトスポリジウム検査の結果、クリプトスポリジウム等が原水から 5 個/10L 以上検出されると、相模川水系では県内 5 事業体でクリプト

スポリジウム共同監視体制を立ち上げている。それに伴い浄水処理の強化を目的として、凝集沈殿前の目標 pH を下げて、7.0 に近づける。水温により若干異なるが、15℃以下で通常 7.4 以上から、7.3 に（通常時から 0.1 以上）下げる。なお、兵庫県でも同様に、通常 pH7.2、クリプト対応時に 7.0 に調整すると聞く（私信、兵庫県担当者）。

小雀浄水場は河川下流から取水しており、ポンプの電気代を要するので、膜処理や紫外線処理の検討をする以前に、将来的な規模の縮小または廃止について検討がなされている。現有施設を維持しながら、濁度と粒子数によるろ過の徹底が現実的な対策となっている。

実際の粒子数は、粒子計の種類、メーカー、メンテナンス状況等により異なる可能性もあるが、平成 29 年 4 月の時点で 2 μ m 以上の粒子数はろ過水（1 池）で 3 個/mL 程度を表示し、濁度 0.00 度の良好な処理を維持できている。粒子の内訳は機械ではわからないので、採水したろ過水を遠心濃縮して検鏡すると、附着性の珪藻類や 5 μ m 程度の藍藻類、珪藻類が検出されることがある。小雀浄水場は河川水を取水しているので、藻類がそれほど多くなることはない。一方、相模湖系原水を処理している横浜市の西谷浄水場では、藻類の漏れいが若干多い。相模湖系のクリプト汚染の危険性は低いので、粒子数として 50 個/mL 程度で制御している。

以上の通り、小雀浄水場では高感度濁度計・粒子計を有効に活用している。結果が出るのが早ければ早いほど浄水処理へ直ちに反映できるので、浄水場としては大変助かっている。クリプトスポリジウム指針でも浄水処理の強化はうたわれているので、どこの事業者も同様な対応をしていると思われるが、今まで情報が共有されたことがなかった。なお、横浜市では川井浄水場が現時点で国内最大の膜ろ過を導入している。0.1 度の濁度や粒子数の測定で浄水水質を監視することは、膜ろ過や紫外線処理が導入されるまでのつなぎと

なりえるのかもしれない。

D. 結論

D1 配水池の従属栄養細菌数

配水施設の清掃に係る指針やガイドラインは存在するものの、義務的な法規等は見られなかった。配水池の水面上下の従属栄養細菌数から、残留塩素は有効と改めて認識できた。外見上は茶色の膜で汚れて見えても、水面下の水道水が触れている部分は少なく、水面より上の触れていない部分の方が多数であった。消毒効果を低下させないように、適切な清掃と、塩素濃度の管理を徹底しなければならないと考えられた。機会があれば、現状に見合うスペックへのダウンサイジングを検討すべきであろう。

D2 ナノセラム陽電荷膜とタンジェンタルフロー UF 膜を併用した大容量試料水からのウイルス濃縮法の構築

トウガラシ微斑ウイルスを効果的に濃縮・回収可能なナノセラム陽電荷膜とタンジェンタルフロー UF 膜を併用したウイルス濃縮法を構築した。トウガラシ微斑ウイルスを標的とした PCR は、阻害を受けなかった。浄水場 A において、トウガラシ微斑ウイルスは、凝集沈殿-砂ろ過処理により 1.6-Log 減少し、塩素消毒により 0.2-Log（PCR 法評価）減少した。すなわち、水系感染症ウイルスの 1.6-Log の減少と、4.7-Log 以上の不活化（PFU 法評価）に相当し、合計で 6.3-Log 以上の処理性があつたと推察された。

D3 クリプトスポリジウム対策を目的とした二段凝集と高感度粒子計活用の提案

アルミニウムとアルツハイマー病に関連はなく、凝集剤の利用を過剰に心配する理由はなかった。水道水質データベースによれば、水道水中のアルミニウム含有量は少なく、摂取に寄与する割合は低いと考えられた。最高値の濁度で 0.1 度の超過がわずかに認められたが（3.9%、24 系統/611）、問題のある系統

を丁寧に対応するべきであり、9割以上は達成できていた。高感度濁度計・粒子計を用いた、リアルタイムな処理工程の把握と処理へのフィードバックは効果的であり、他の浄水場にも提案できると考えられた。実際に、小雀浄水場ではきめ細やかな制御を行い、清らかな浄水の供給を達成していた。0.1度の濁度と粒子数の監視は、膜ろ過や紫外線処理が導入されるまでのつなぎとして、現実的な対策と考えられた。

E. 参考文献

1. 泉山信司、秋葉道宏、松下拓他、「水道水質の評価及び管理に関する総合研究 - 微生物分科会 - 」厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）（研究代表者、松井佳彦）より、平成28年度分担研究報告書
2. U.S. Environmental Protection Agency. (2016) Drinking Water Contaminant Candidate List 4, EPA-HQ-OW-2012-0217, Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.
3. Jacangelo, J. G., Adham, S. S. and Laïné, J. M. (1995) Mechanism of Cryptosporidium, Giardia, and MS2 virus removal by MF and UF, *Journal of the American Water Works Association*, **87**(9), 107–121.
4. Sobsey, M. D., Battigelli, D. A., Shin, G. A. and Newland, S. S. (1998) RT-PCR amplification detects inactivated viruses in water and wastewater, *Water Science and Technology*, **38**(12), 91–94.
5. Fiksdal, L. and Leiknes, T. O. (2006) The effect of coagulation with MF/UF membrane filtration for the removal of virus in drinking water, *Journal of Membrane Science*, **279**(1-2), 364–371.
6. Hijnen, W.A.M. and Medema, G.J. (2010) Elimination of micro-organisms by drinking water treatment processes: a review, 8-9, IWA Publishing, London, UK.
7. Albinana-Gimenez, N., Clemente-Casares, P., Bofill-Mas, S., Hundesa, A., Ribas, F. and Girones, R. (2006) Distribution of human polyomaviruses, adenoviruses, and hepatitis E virus in the environment and in a drinking-water treatment plant. *Environmental Science and Technology* **40**(23), 7416-7422.
8. Albinana-Gimenez, N., Miagostovich, M.P., Calqua, B., Huguet, J.M., Matia, L. and Girones, R. (2009) Analysis of adenoviruses and polyomaviruses quantified by qPCR as indicators of water quality in source and drinking-water treatment plants. *Water Research* **43**(7), 2011-2019.
9. Zhang, T., Breitbart, M., Lee, W.H., Run, J.Q., Wei, C.L., Soh, S.W.L., Hibberd, M.L., Liu, E.T., Rohwer, F. and Ruan, Y.J. (2006) RNA viral community in human feces: prevalence of plant pathogenic viruses. *Plos Biology* **4**(1), 108-118.
10. Rosario, K., Symonds, E.M., Sinigalliano, C., Stewart, J. and Breitbart, M. (2009) Pepper mild mottle virus as an indicator of fecal pollution. *Applied and Environmental Microbiology* **75**(22), 7261-7267.
11. Hamza, I.A., Jurzik, L., Uberla, K. and Wilhelm, M. (2011) Evaluation of pepper mild mottle virus, human picobirnavirus and Torque teno virus as indicators of fecal contamination in river water. *Water Research* **45**(3),

- 1358-1368.
12. Haramoto, E., Kitajima, M., Kishida, N., Konno, Y., Katayama, H., Asami, M. and Akiba, M. (2013) Occurrence of pepper mild mottle virus in drinking water sources in Japan. *Applied and Environmental Microbiology* **79**(23), 7413-7418.
 13. 高力聡史, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦 (2017). トウガラシ微斑ウイルスと水系感染症ウイルスの塩素消毒耐性の比較: 感染性評価手法とPMA-PCR法の併用による評価. 第 51 回日本水環境学会年会講演集: 622.
 14. Lidsky TI. Is the Aluminum Hypothesis dead? *J Occup Environ Med.* 2014 May;56(5 Suppl):S73-9.
 15. Martyn CN, Barker DJP, Osmond C, Harris EC, Edwardson JA, Lacey RF. Geographical relation between Alzheimer's disease and Aluminum in drinking water. *Lancet.* 1989;1:59-62.
 16. Martyn C, Coggon D, Inskip H, Lacey R, Young W. (1997). Aluminum Concentrations in Drinking Water and Risk of Alzheimer's Disease. *Epidemiology*, 8(3), 281-286.
 17. 学校環境衛生基準、文部科学省告示第 60 号 (平成 21 年 3 月 31 日)
 18. 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)
 19. Nieminski E.C.Nieminski, Ongerth J.E.(1995) ; Removing Giardia and Cryptosporidium by conventional treatment and direct filtration, *Jour.AWWA*, 87(9), 96-106
 - Y. and Yamashita, R. (2018). Evaluation of the suitability of a plant virus, pepper mild mottle virus, as a surrogate of human enteric viruses for assessment of the efficacy of coagulation-rapid sand filtration to remove those viruses. *Water Research* **120**: 460-469.
 2. Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y. and Murai, K. (2017). Assessment of the efficacy of membrane filtration processes to remove human enteric viruses and the suitability of bacteriophages and a plant virus as surrogates for those viruses. *Water Research* **115**: 29-39.
 3. Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Murai, K. and Aochi, A. (2017). Elimination of representative contaminant candidate list viruses, coxsackievirus, echovirus, hepatitis A virus, and norovirus, from water by coagulation processes. *Journal of Hazardous Materials* **326**: 110-119.
 4. 橋本温、土岡宏彰、泉山信司、中野勲、遠藤卓郎、最確数法を用いた簡便なクリプトスポリジウム計数法の開発、環境技術、46 巻 (2017) 11 号 p. 601-608

口頭発表

F. 研究発表

誌上発表

1. Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui,

1. 山下玲菜, 高力聡史, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦 (2018). 実浄水処理場におけるウイルスの処理性評価: ナノセラム陽電荷膜とタンジェンタルフローUF 膜を併用した大容量濃縮法の適用. 第 52 回日本水環境学会年会, 札幌, 2018/3/15-17.
2. 白川大樹, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦 (2018). 培養困難な水系感染症ウイルスの浄水処理性評価に向けた遺伝子封入型ウイルス様粒子の創製. 第 52 回日本水

- 環境学会年会, 札幌, 2018/3/15-17.
3. 岩本ら (2018) 二種の抗クリプトスポリジウムモノクローナル抗体によるオーシスト二重染色の試み, 第 52 回水環境学会年会、札幌
 4. 中野ら (2018) レジオネラ菌のろ過濃縮に用いるメンブレンフィルターおよびろ過法の評価, 第 52 回水環境学会年会、札幌
 5. 泉山信司、浅野峰子、クリプトスポリジウム対策を目的とした浄水場濁度管理への粒子計の活用、平成 30 年 3 月、東京
 6. 高力聡史, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦 (2017). トウガラシ微斑ウイルスと水系感染症ウイルスの塩素処理性の比較. 第 25 回衛生工学シンポジウム, 札幌, 2017/11/9-10.
 7. 高力聡史, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦 (2017). トウガラシ微斑ウイルスと水系感染症ウイルスの塩素消毒耐性の比較: 感染性評価手法とPMA-PCR法の併用による評価. 第 51 回日本水環境学会年会, 熊本, 2017/3/15-17.
 8. Vu Duc Canh, Hiroyuki Katayama, and Hiroaki Furumai (2017) Applicability of EMA-qPCR method to detect damaged virus in drinking water under presence of organic compounds, 第 51 回日本水環境学会年会 (3/15-17, 熊本)
 9. 泉山信司、従属栄養細菌数の活用・途中配管や末端蛇口の汚染実態、東京大学水環境制御研究センター (RECWET) ワークショップ「水道給配水系における細菌管理の課題と最新の動向」、平成 29 年 11 月、東京
- G. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得、2. 実用新案登録、3. その他なし