

32. 兵庫県内の小規模下水処理場排水の耐塩素性原虫調査

○井上 亘、鈴木 雅和、栃本 なお子、荻田 堅一、野村 素行

(旧名称：兵庫県立健康生活科学研究所 新名称：兵庫県立健康科学研究所)

【はじめに】

クリプトスポリジウムはヒトや家畜に感染すると激しい下痢を引き起こす原虫で、水道で用いる塩素に強い抵抗性があり、これまでに多くの集団感染の原因となっている。アメリカのミルウォーキーをはじめとして、水道が原因の多数の集団感染が報告されており、我が国でも、1996年に埼玉県越生町で水道が原因の集団感染が発生した。そのため、厚生労働省は、予防対策として浄水場のろ過水の濁度管理を徹底するよう指導し¹⁾、これ以降、明らかに水道が原因であるという集団感染は発生していない。一方、アメリカでは、年間748,000人の感染者が存在すると推定されており、15,000件のクリプトスポリジウム症が報告されている²⁾。それに比べてわが国での症例報告は、年間10件程度と非常に少ない。感染性胃腸炎については多数報告されているが、すべての症例の原因が明確になっているわけではなく、特に検便と検鏡が必要である原虫の検査についてはほとんど実施されておらず、見過ごされている可能性はある。著者は過去に、小規模下水排水等で相当量の耐塩素性原虫を確認しており、供用区域内の感染者の存在が推定された。その推定人数は、国に報告されている症例数とは乖離があった。^{3,4)}クリプトスポリジウムやジアルジアはほとんどの河川から見つかっており、環境水中に広く存在すると考えられているが、その濃度は低い。特に水道水中の濃度は非常に低く、検出するには数十立方メートル以上の試料を濃縮する必要があると考えられ、現実的に調査することが不可能である。それに比べ、感染者は多数のオーシストやシストを排出するので、これを集めた下水処理場の流入水や排水では、その濃度は環境水中で最も高くなっており、下水の試料を調査することは効率的であると考えられる。

本研究では県内のより広範囲で下水の調査を実施し、感染実態を確認する。感染原因としては、接触、飲料水、食品、遊泳、海外感染など様々な可能性があるが、水道が関係していれば公衆衛生上重大な問題であるので、特に水道水に着目し、それらの区域に供給されている水道水の状況との関係を調査する。

また、WHOはオーシスト1個摂取の感染確率を0.4%から20%へ大幅に引き上げた²⁾。このことから、これまで評価されていた水道のリスクは見直される可能性があり、それに寄与するデータが必要となっている。

【方法】

(1) 調査地点の選定

感染実態を推定するだけならば、どの下水で調査してもデータは得られるが、水道との

関連性を考慮する必要があることからいくつかの条件が想定された。まず、下水の供用区域と水道の給水区域がうまく重なるところ、次にそこに供給されている水道の想定される感染リスクが異なる箇所、さらに畜舎や動物施設の影響のないところである。また、継続的に調査するために、アクセスも考慮した。これらの検討のためにさまざまなデータを調査した。すなわち、下水処理場の位置と供用区域のデータ。浄水場の位置と取水方法、処理方法および給水区域のデータ。さらに、畜産施設の位置データ等である。下水の供用区域と水道の給水区域が重なるかどうかを全県で網羅的に調べるには、電子化されたデータが必要となる。

浄水場の位置とその給水区域および下水処理場の位置のデータは国土地理院が提供しているものを活用できる。しかし、下水の供用区域のデータで電子化されたものはないことから、今回、県下水道課の紙ベースの「兵庫県下水道計画図」⁵⁾および各自治体のホームページの図面などを参照し、GISソフトで作成した。また、浄水場の取水方法や浄水処理方法などのデータは、書籍や各水道事業体の水道ビジョンや水質検査計画などから収集した。(図1)

このように収集したデータをもとに水道の給水区域と下水の供用区域の重なり具合、浄水場の取水と処理方法、畜産施設の有無、アクセスの利便等を考慮し、県中央部の2市および県南西部の1市1町を選定し、それぞれの市町の2箇所の下水処理場から試料を採取することとした。調査地点一覧を表1に示す。試料採取頻度は月1回とし、期間は2018年6月から2019年5月のおおむね1年とした。

(2) 試料の処理

試料は各下水処理場の最終処理水あるいは放流水を10L、ポリ容器(ウォータータンク:アイリスオオヤマ)に採取した。1~5Lの試料を水道協会推奨法⁶⁾に基づき処理した。すなわち、直径142mmの親水性PTFEメンブレンフィルター(Millipore, Bedford, USA)でろ過、2000gで10分遠心沈殿、免疫磁気分離キット(Dynal, Oslo, Norway)を用いて分離、精製産物の半量を蛍光抗体染色(Easy Stain, BTF, Australia)し、ビニールフレームスライドを用いて、オーシスト及びシストを計数した。精製産物の残りの半量は遺伝子検査用に冷蔵保存した。



図1 下水処理場(丸)と供用区域(領域)

【結果】

現在までに、28 試料を調査した。その結果、クリプトスポリジウムは 1 試料 (3.6%) で、ジアルジアは 6 試料 (21.4%) で陽性であった。また、検出したオーシスト、シストの数は、

表 1

市町	下水処理場	位置	処理能力 (m ³ /日)	区域内 人口	下水処理区域へ給水する浄水場	
					原水	処理方法
A 市	A1	県中央	632	2340	浅井戸	急速ろ過、紫外線
A 市	A2	県中央	2270	5800	浅井戸	膜
B 市	B1	県中央	111	390	貯水池	膜
B 市	B2	県中央	281	850	川	急速ろ過
C 市	C1	県南西	265	620	浅井戸	膜
C 市	C2	県南西	103	380	浅井戸	塩素処理
D 町	D1	県南西	445.5	1650	浅井戸	塩素処理
D 町	D2	県南西	135	500	浅井戸	膜

それぞれ 0.4 個/L、0.5-40 個/L であった。(表 2)

【考察】

環境水中のほとんどにクリプトスポリジウムやジアルジアは存在するが、表流水、伏流水、浅井戸、深井戸など、水源の種類でその濃度は大きく異なる。すなわち、下水や畜産排水などの汚染から物理的にどれだけ離れているかが影響しているのである。また、これらの水を原水として浄水処理した場合、その処理方法によってこれら原虫の除去率は異なる¹⁾。したがって、原水の種類(取水方法)および浄水処理方法の組み合わせで、水道水へ原虫が漏洩する量が異なると考えられる。しかし、最も漏洩する量が多いと考えられる水道水でも、水道水から原虫を検出することは非常に困難である。また、検出できたとしても、その生死、感染能などは不明である。近年、原虫不活化の方法として安価な紫外線処理を採用する浄水場も増えている。紫外線は生きたまま感染力をなくす効果があるとされているが、このような水道水では、その感染リスクを評価するためのモニタリングは不可能である。下水調査であれば感染者を反映した結果が得られると考えられるが、感染原因の推定は困難である。感染の原因を推測するためには、その下水の供用区域における感染リスクを評価分類し、多数のデータを蓄積する方法が考えられる。そこで、本研究では下水の供用区域を給水される水道の原水の種類および浄水処理方法によって分類し、その結果が蓄積される下水の排水を調査した。現段階ではデータが少なく、想定していたより陽性率も低かったので、明確に考察するにはいたらなかった。今後、データを集積することで、何らかの傾向が明らかになると考えられる。

クリプトスポリジウムには 30 以上の種が報告されているが⁷⁾、主にヒトに感染するのは、*C. hominis*、*C. parvum*、*C. meleagridis* の 3 種である。特に *C. hominis* は主にヒトにだ

け感染する。下水で検出される病原体がどのようなルートで供用区域のヒトに感染したかを明確にするためには、種を明確にすることが重要で、そのためには、遺伝子検査が必要である。現在、厚生労働省が提案したリアルタイム PCR 法のためのキットが入手可能であり、今後このキットを用いての検査を予定している。しかし、この方法では *C. hominis* を鑑別することはできない。Hadfieldら⁸⁾はリアルタイム PCR 法で種を区別する方法を報告しており、この方法も併せて行う予定である。

表 2

市町名	下水処理場	n	クリプトスポリジウム オーシスト		ジアルジア シスト	
			陽性数	検出数(個/L)	陽性数	検出数(個/L)
A市	A1	4	0	—	2	0.5-12.8
A市	A2	4	0	—	1	1.2
B市	B1	4	0	—	1	0.5
B市	B2	4	0	—	1	40
C市	C1	3	0	—	0	—
C市	C2	3	0	—	0	—
D町	D1	3	1	0.4	1	1.2
D町	D2	3	0	—	0	—

今回の研究の事前準備として、浄水場の位置とその給水区域のデータおよび下水処理場の位置データとその供用区域のデータを使用した。これらは重ね合わせて検討する必要があった。データ量が少なければ、計画図のような紙データでも事足りたが、県内全域で重ね合わせするためには電子データのほうがはるかに効率的であると考えられたので、それぞれの電子データを収集した。浄水場の位置、水道の給水区域および下水処理場の位置については、国土地理院のデータを使用することができた。しかし、下水処理場の供用区域の電子データは存在しなかったため、紙データを図として電子化し、GISソフトを用い、この図のデータに緯度経度を付加し、GISソフト上でトレースするという作業を行った(図1)。この作業は時間を要したため、その間に統廃合があったり、計画図自体が古く時点修正を行ったりなどで手戻りの多い作業であった。浄水場、給水区域などについては、厚労省が自治体から収集したものを電子化しており、これは国土地理院から入手できる。比較的新しいデータを簡易に入手でき、オープンデータと同様な取り扱いが可能であるが、下水のデータについては処理場の位置は公開されているものの、供用区域については公開されていない。その理由は明らかにされていないが、水道関係のデータは事故時や災害時等に復旧対応に大きく寄与するが、下水の供用区域のデータは、これらの側面がないからかもしれない。しかし、ヒトの排出物が集められている物や場所は、感染症や疫学などの分野の研究者にとっては研究材料の宝庫であると言える。本研究でも同様であるが、下水は病原体が環境水中で最も高濃度になり、効率的に検出ができる試料であり、感染性胃腸炎や薬剤耐性遺伝子等の研究にも非常に役立つものであると考える。関係部局は、公衆衛生向上のため、研究価値の高いデータのオープンデータ化という観点から、下水道供用区域

データ等の電子化を進めることを強く望むものである。

【参考文献】

- 1) 厚生労働省健康局水道課，水道におけるクリプトスポリジウム暫定対策指針改正の概要，平成13（2001）年11月
- 2) WHO. 2011. Guidelines for drinking-water quality, fourth edition.
- 3) Inoue M., Sugano J. 2012. Detection of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts from drainage of the small-scale sewage disposal plants in Hyogo Prefecture. 12th Asian-Pacific Congress for Parasitic Zoonoses in Kobe.
- 4) 井上 亘、菅野淳一. 下水処理場等の排水からのクリプトスポリジウムおよびジアルジアの検出. IASR Vol. 39 p27-28: 2018年2月号
- 5) 兵庫県. 兵庫県下水道計画図
https://web.pref.hyogo.lg.jp/wd18/wd18_000000049.html
- 6) 日本水道協会，平成14年，クリプトスポリジウム，-解説と試験方法-
- 7) Zahedi A. *et al.* 2018. *Cryptosporidium* species and subtypes in animals inhabiting drinking water catchments in three states across Australia. Water Research 134:327-340.
- 8) Hadfield S. J. *et al.* 2011. Detection and Differentiation of *Cryptosporidium* spp. in Human Clinical Samples by Use of Real-Time PCR. J. Clin. Microbiol. 49: 918-924.

【経費使途明細】

試薬費 (Cycleave RT-PCR <i>Cryptosporidium</i> Detection Kit、L-グルタミン等)	220,950 円
器具費 (ハイスピンミニ遠心器)	17,600 円
消耗品費 (ダイナル L10 チューブ、8連 0.2ml マイクロチューブ等)	61,450 円
合計	300,000 円