

## 別紙1 一般細菌、従属栄養細菌、大腸菌群

### 1. 一般細菌

水道における微生物学的な管理は、19世紀末の Robert Koch の業績によるところが大きい。コレラやチフスの集団感染は砂ろ過により細菌聚落数(現在の一般細菌に相当)が <100 個/ml に制御された水道水を介して発生しない、という観察事実に依拠したものであった。ドイツでは、その後この値が緩速ろ過の基準に採用された。わが国においても 1904 年に導入され、緩速ろ過池の運転管理に用いられてきたことは周知のことである。

当初の培養技術は現在のそれと比べるべくもないが、培地成分にゼラチン(25℃付近でゾル化)が用いられており、培養温度は 20℃付近に設定されていた。その後の培養方法の変遷を見ると、必ずしも指標細菌としての一般細菌の位置付け(理解)が一様ではなかったとの印象がある。

まず、大きな変化として、培地成分として寒天の利用があげられるが、これにより培養温度を高温域まで広げることが可能となり 1929 年から 37℃(24 時間)が採用された。培養温度を温血動物の体温に近づけた真の理由は明らかではないが、病原微生物あるいは糞便汚染の把握を企図したものと推測される。ここで注意すべきは、後述するようにこの時点ですでに糞便汚染の指標として別途大腸菌群の導入が図られていた点で、糞便汚染あるいは病原微生物汚染の代替指標が重複化する傾向を見せている点である。1950 年に、水道協会協定の上水判定標準と日本薬局方による常水判定標準が厚生省の飲料水検査指針に統一され、「一般細菌数は 1ml 中 100 を超えてはならない」ことが定められた。1978 年の「第 4 条に基づく水質基準に関する省令」(厚生省令第 56 号)により、それまでの普通寒天培地から標準寒天培地に変更されて現在に至っている。この改訂では培地の組成が統一されただけでなく、それまでの糞便性細菌の検出に適した高栄養で食塩含量の多い培地から低塩濃度のものに改められ、従属栄養細菌の検出に向けた修正がはかられた。しかしながら、この培養条件では従属栄養細菌のうち、中温(37℃付近)で短時間に集落を形成し、比較的高濃度の栄養条件で増殖する細菌類が検出対象となっている。従属栄養細菌分離用の培地(PGY 培地、R2a 培地等)が考案されてより以降は、基準項目として従属栄養細菌を採用する国が多くなっている。

と

ところで、わが国では一般細菌を一貫して水質基準として採用してきたという経緯があり、浄水の現場ではこの指標を有効活用すべく創意工夫がなされてきた。その結果、検出に要する時間が 24 時間程度と短く、検査方法も簡便であることから、工程管理的要素を加味した指標として活用している浄水場も少なくない。上水試験方法(日本水道協会)等の記載によれば、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

現存量指標として意味付けされているが、一方では塩素消毒が確実に行われているか否かをチェックするために用いられるとされている。さらに、糞便や下水等に見られる従属栄養細菌は比較的高栄養（現行の標準寒天培地）の培地に成育し、36℃付近で比較的速やかに生育するのに対して、多くの環境由来の従属栄養細菌は生育し難く、増殖速度も遅いことが知られている。そのため、糞便等の汚染がある場所では一般細菌数の増加が認められるとし、糞便汚染の指標となり得るとも説明されている。また、場合によっては、本来の指標、すなわち水処理工程における細菌学的水質改善効果の判定等に有効であるとの解説もある。

上述のように、現在のところ一般細菌の位置付けは一義的には細菌の現存量指標とされる現存量とは浄水の保有する生物（細菌）量を指すもので、この概念の中にはろ過等の処理で除去できなかった残存細菌数のみならず、配管系を含む上水システム全体での微生物の再増殖（regrowth）した菌量も含まれる。

この様に一般細菌検査の目的は不明瞭となっているが、いずれの説明も正当性があるものと考えられる。導入当時と今日とでは上水施設における処理技術は大きく変容を遂げ、また、「一般細菌」という項目名こそ変わっていないが培養方法そのものも大きく様変わりしている。それにもかかわらず、一般細菌の指標性について正面から再評価してこなかったことが今日の状況を招いているものと考えられる。

## 2. 従属栄養細菌

従属栄養細菌とは生育に有機物を必要とする多様な細菌のことで、浄水処理過程や消毒過程での細菌の挙動を評価するのに適している。また配水系における塩素の消失や滞留に伴い増加することから、配水系の微生物学的状態を把握するには有用である。

## 3. 大腸菌群

主な水系感染の原因菌は人を含む温血動物の糞便を由来とすることから、糞便汚染を検知することで病原体混入の危険性を探知する、といういわゆる代替指標菌を用いた検査手段が導入された。糞便汚染の指標として、温血動物の腸管内に常在する菌の中で最も数の多い（ $10^8\sim 10^9$ 個/g）大腸菌、*Escherichia coli*、が選択された。しかしながら、当時の培養技術では大腸菌を直に検出する技術はなく、菌の同定には高度な細菌学的知識と複雑な培養技術が要求されていた。そこで、大腸菌が有する生化学性状のうち5つに着目し、その性状をすべて備える細菌群をもって大腸菌を代替させた。この細菌群が大腸菌群で、それ以降、今日まで代替指標菌として用いられている。

時経列的に見ると、大腸菌群の検査が検討された時期は 1911 年頃にまでさかのぼることができる。1926 年に協定上水試験法の附則として採用され、1932 年に判定基準(常水判定基準及試験方法)が設けられた。

その後、1966 年の水質基準に関する省令(厚生省令第 11 号)で「大腸菌群は検出してはならない」と規定された(検水量は 50ml)。周知のごとく、大腸菌群には *Escherichia* 属、*Citrobacter* 属、*Enterobacter* 属、および *Klebsiella* 属などが含まれており、その中には外界でも増殖可能な細菌類が含まれる。また、これら細菌類の構成比率は常に流動的である。したがって、大腸菌群には糞便汚染の指標性は低いという認識が今日の国際的な理解である。

## 別紙2 WHO の提起する Reference Level of Acceptable Risk (参考許容値)

WHO はクリプトスポリジウムを含む微生物による汚染に対しては、原水の汚染状況の把握と汚染量を許容できる範囲 (Reference Level of Acceptable Risk: 参考許容値) にまで低減できる浄水処理工程の導入により対応するよう提言している。WHO の水質基準にクリプトスポリジウム等に関する項目は含まれない。

疾病ごとの健康影響は多様で、比較に際しては共通の尺度が必要となる。WHO では感染症に限らず全ての疾病における健康影響度を『Disable Adjusted Life Years (DALYs: 障害調整生存年数)』という指標を用いて表現し、それぞれの疾病毎に健康影響度を算出することで比較を行っている。その際用いる疾病毎の健康への影響度は0から1の間の値をとり、影響が全くないものを0、死を1と規定している。

DALYs 値は疾病によって失われた余命 (Years of Life Lost: YLL) と障害を持って過ごす時間 (Years of Life Lived with a Disability: YLD) の和で、以下の式で表される。

$$\text{DALYs} = \text{YLL} + \text{YLD}$$

クリプトスポリジウム症に関する DALYs 値の計算は、以下の手順で算出されている。

クリプトスポリジウム症の主な症状は下痢 (水様便) で、疾病による負荷量の研究 (Murray、1996) によると水様便の平均加重は 0.066 とされている。本症では下痢症状が平均 7.2 日 (0.020 年) 続く。米国ミルウォーキーにおけるクリプトスポリジウム集団感染事例より、健常者での死亡は 10 万人当たり 1 名 (40 万人のうち 4 名死亡) と推定される。オランダの 1993~1995 の統計資料によると、下痢症が原因の死亡は 75 歳以上に認められ、その余命は 13.2 年となる。本症の発症者は感染者の 71% とされる。損失生存余命 (YLL) および障害をもって過ごす時間 (YLD) は以下の通りとなる。

$$\text{有症者 1000 人あたり YLL} = 1 \times 1000 \times 1/10^5 \times 13.2 = 0.13$$

$$\text{感染者 1000 人あたり YLL} = 0.13 \times 0.71 = 0.0923$$

$$\text{有症者 1000 人あたり YLD} = 0.066 \times 1000 \times 0.020 = 1.32$$

$$\text{感染者 1000 人あたり YLD} = 1.32 \times 0.71 = 0.937$$

上記の結果より、健康影響度は以下の通りとなる。

$$\text{感染者 1000 人あたり: } 0.0923 + 0.937 \approx 1.03 \text{ DALYs}$$

1回のクリプトスポリジウム感染による健康影響度は感染者 1000 人あたり、1.03 DALYs と計算される。

わが国における現行の「水道におけるクリプトスポリジウム暫定対策指針」では、原水の汚染濃度把握のために、概ね 10L の試料水よりオーシスト数を測定している。仮に、原水 10L 中に 1 個のオーシストが存在するものとして、無処理あるいは上水処理後の水道水に潜むクリプトスポリジウム症のリスクを試算した(表)。クリプトスポリジウムによる感染確率は後述の Haas らの式(別紙 3 Equ (1))より求められ、オーシスト 1 個の摂取による感染率は  $4.0 \times 10^{-3}$  となる。

ところで WHO は水道水中の臭素酸の摂取による腎細胞癌(Renal cell cancer)の許容発生率を  $10^{-5}$  (1/100,000 人)としている。腎細胞癌は平均 65 歳で発生し、その平均余命は 19 年である。このときの死亡確率を 60% とし、症状の重さは致死であることから 1 とする。損失生存余命(YLL)は以下の通りとなる。

$$YLL = 1 \times 0.60 \times 19 = 11.4 \text{ DALYs}$$

本症より派生する障害をもって過ごす時間(YLD)は YLL に比べて十分に小さく、YLD は無視できる。人の寿命を 80 年と仮定した腎細胞癌の年間の DALY は、以下の通りである。

$$10^{-5} \times 11.4 \div 80 = 1.4 \times 10^{-6} \text{ DALYs}$$

すなわち、WHO の発癌物質(臭素酸)による癌の年間許容発生率は、障害調整生存年数  $1.4 \times 10^{-6}$  DALYs に相当する。

表に示した試算によると、無処理( $1.5 \times 10^{-4}$ )では WHO の参考許容値を大幅に上回る。一方、2log 除去が保障された上水処理( $1.5 \times 10^{-6}$ )であれば、概ね WHO の参考許容値と同程度のリスク水準にあるといえる。

なお、旧建設省土木研究所資料第 3533 号(1998 年 1 月)によれば全国 67ヶ所の下水処施設におけるオーシストの調査では処理水中のオーシスト数は 0.05~1.6 個/L であったとされている。この数値に、河川における希釈率(10 倍)を加味すれば概ね 1 個/10L 以下と推測される。また、同調査における河川水でのオーシスト数は 0.05~3.2 個/L で(最大値の 3.2 個/L は越生町におけるクリプトスポリジウム集団感染直後の越辺川の値で、これを除くと最大値は 0.1 個/L)、両者のデータはよく符合する。

表 1 クリプトスポリジウムの年間リスク

原水中のオーシスト濃度	1 個/10L			
上水処理における除去率	3 log	2.5 log	2 log	無処理
水道水中の濃度	$10^4$ 個/L	$3 \times 10^4$ 個/L	$10^3$ 個/L	$10^1$ 個/L
飲用日量	1L/日			
曝露量/日	$10^4$ 個/日	$3 \times 10^4$ 個/日	$10^3$ 個/日	$10^1$ 個/日
1 オーシスト摂取による感染確率	$4 \times 10^{-3}$			
DALYs/case 1 感染あたりの健康影響度	$1.03 \times 10^{-3}$ DALYs (発症率 71%を採用)			
1 日あたりの感染率 (年間)	$4 \times 10^{-7}$ /日 ( $1.5 \times 10^{-4}$ /年)	$1.3 \times 10^{-6}$ /日 ( $4.7 \times 10^{-4}$ /年)	$4 \times 10^{-6}$ /日 ( $1.5 \times 10^{-3}$ /年)	$4 \times 10^{-4}$ /日 ( $1.5 \times 10^{-1}$ /年)
1 人あたりの年間健康影響度	$1.5 \times 10^{-7}$ DALYs	$4.8 \times 10^{-7}$ DALYs	$1.5 \times 10^{-6}$ DALYs	$1.5 \times 10^{-4}$ DALYs

### 別紙 3 微生物許容感染リスクに基づく評価

Haas らによれば、クリプトスポリジウムの用量-作用 (infection probability/particle) に関する計算式は、次のとおり与えられる。

$$P(N) = 1 - \exp(-N/k) \quad \text{Equ(1)}$$

N: 摂取オーシスト個数

k: パラメータ (= 238.6)

$$P_n = 1 - (1 - P_1)^n \quad \text{Equ (2)}$$

P<sub>n</sub>: 反復暴露による感染確率

n: 反復回数

P<sub>1</sub>: 単回暴露による感染確率

上記式によるとオーシスト 1 個を摂取した時の感染確率は Equ (1) より

$$P(1) = 1 - \exp(-1/238.6) = 0.0042$$

Haas CN et al., Accessing the risk posed by oocysts in drinking water. Journal of American Water Works Association 88(9):131-136,1996.

米国 EPA によれば、微生物許容感染リスク  $10^{-4}$ /年以下を満足することを目標にしている。この目標を満たすための条件を一日の水道水の飲用量を 1L として試算すると(摂取日量の分布の 97.5 パーセントイルがおおよそ 1000ml、矢野一好等、2000 年)、Equ (2) より、

$$P_n = 1 - (1 - P_1)^n \leq 10^{-4} \quad (P_1 \approx 2.7 \times 10^{-7})$$

を満たすことが求められる。Equ (1) から N を求めると、 $N \leq 6.51 \times 10^5$  となり、 $6.51 \times 10^5$  個/L 以下、すなわち 15.4t 当り 1 個 (6.5 個/100t) と計算される(飲用量を 2L/day とすれば 1 個/30t)。

ところで、クリプトスポリジウムの感染リスクを考える場合、高度に汚染された原水の流入や浄水処理における障害など様々な要因で平常時の年間感染リスクを超えるような日感染確率(特異日の感染確率)が生じることを想定する必要がある。たとえば  $10^{-4}$  を年間感染リスクとした場合、浄水中のクリプトスポリジウム濃度 2.5 個/100L で日感染リスクが  $10^{-4}$  となるが(1 日飲水量 1L、1 個摂取した場合の感染確率 0.4%として計算)、このような測定値は実際に観測され得る汚染である。

ちなみに、年間感染リスクは、感染しない確率を算出してその値を1から減じることで得られることから、次式で計算される。

$$YRisk = 1 - \prod_{日}^{年} (1 - Drisk_i) \quad \text{Equ (3)}$$

ここで、 $Yrisk$ ：年間感染リスク、 $Drisk_i$ ： $i$ 日目の日感染リスク、とする。

通常、この値は $10^{-4}$ などの値をとり、1より非常に小さい値となる。従って、 $\prod_{日}^{年} (1 - Drisk_i)$ の値はほぼ1に近似される。ここで、特異日の感染リスクを $p$ とすると

$$YRisk = 1 - \prod_{日}^{年} (1 - Drisk_i) \times (1 - p) = 1 - \prod_{日}^{年} (1 - Drisk_i) + \prod_{日}^{年} (1 - Drisk_i) \times p \quad \text{Equ (4)}$$

Equ (4) が得られる。ここで、 $p$  が通常の年間リスクよりも十分に大きな値をとるとすると、

$$YRisk = 1 - \prod_{日}^{年} (1 - Drisk_i) \times (1 - p) \approx 1 - \prod_{日}^{年} (1 - Drisk_i) + p \quad \text{Equ (4')}$$

となり、結局のところ通常の年間の「感染確率」に特異日の「感染確率」を加えればよいことがわかる。すなわち、年間感染リスクは特異日の値に大きく影響され、その値が年間リスクのほぼ全てを占めることが示される。

上記のことを念頭に入れて、仮の目標値として米国 EPA の微生物許容感染リスク  $10^{-4}$ /年以下を達成するための特異日感染リスクの排除条件を検討した研究報告がある (Masago et al., 2002)。そこでは、相模川水系におけるクリプトスポリジウムの調査結果 (Hashimoto et al., 1999) をもとにモンテカルロ・シミュレーションを用い、浄水中に、ある限度以上のオーシストが含まれている日には飲用が中止されるものとして年間感染リスクの計算を行っている。詳細は原著に譲るが、シミュレーションでは水系におけるオーシストの分布様式が概ね適合すること、非加熱の水道水の飲水量は Teunis 等 (1997) の報告を採用 (0.153L/日を中央値とした対数正規分布)、その他の変動要因として降雨による原水中のオーシスト量の変化、浄水処理効率等々が組み込まれている。その結果、対策指針に定められた条件、すなわち 20L の検水からオーシストが検出された日には給水が停止される (その日の感染リスクが0である) のものとする、年間感染リスクの 95% 値はおおよそ 1 log 程度低下することが示された。さらに、オーシスト測定の際の検水量を変化させて検討した結果、検水量をおおよそ 80 L 以上にするだけで年間感染リスクの 95% 値を許容リスク以下にすることができたとしている。

矢野一好、保坂三継、大瀧雅寛、田中愛、伊予亨、土佐光司、市川久浩 (2000) 日本水環境学会シンポジウム講演集 (摂南大学 9月13-14日)

Y. Masago, H. Katayama, A. Hashimoto, T. Hirata and S. Ohgaki (2002). Assessment of Risk of Infection Due to *Cryptosporidium parvum* in Drinking Water, *Water Science and Technology*. *Water Science & Technology* 46(11-12): 319-324.



Hashimoto A. and Hirata T. (1999). Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in Sagami river, Japan. *Proceedings of Asian Waterqual '99: 7<sup>th</sup> IAWQ regional conference*, 2: 956-961.

Teunis P.F.M., Medema G.J., L. Kruidenier and A. H. Havelaar (1997). Assessment of the risk of infection by *Cryptosporidium* or *Giardia* in drinking water from a surface water source. *Water Research*, 31(6):1333-1346.