

環境水中の病原微生物の濃度変動測定手法の開発

東京大学大学院	学生会員	真砂 佳史
東京大学大学院	正会員	小熊 久美子
東京大学大学院	正会員	片山 浩之
東京大学大学院	フェロー会員	大垣 眞一郎

1. 研究の背景

近年、水道水中の病原微生物による感染症の集団発生が問題とされており、特に塩素消毒に対して耐性のあるクリプトスポリジウムに対する対応が求められている。わが国においても、1996年に越生町で水道水起因のクリプトスポリジウム症の集団発生が発生し、8,812名が発症したと報告されている（埼玉県坂戸保健所、1997）。

こういった大規模な感染症の集団発生は、降雨等により水源中の病原微生物濃度が急激に上昇することが引き金になっているという知見が疫学調査から得られている（Rose *et al.*, 2000, Curriero *et al.*, 2001, Kistemann *et al.*, 2002）。したがって、水道水源中において病原微生物がどの程度存在し、またその濃度がこういった要因でどれくらい変動するかを評価する必要がある。

短期間の濃度変動を調査するためには、短い時間間隔で試料を採取する必要がある。しかし、環境水中の病原微生物濃度は非常に低く、一試料あたりの必要水量が多い（数十[L]オーダー）ことや、測定手法上採取した試料を長期間保存することが不可能であるため、実際には非常に困難を伴う。そこで本研究では、水道水源中の濃度変動を評価することを目的として、短い時間間隔で試料を採取する装置の開発を行い、クリプトスポリジウムおよびジアルジアを対象微生物として、多摩川にて評価を行った。

2. 装置の概略

開発した装置の概略図を図1に示す。1つの試料は、病原微生物試料採取用の膜モジュールと、水質指標測定用の採水瓶からなり、一定の時間間隔で順番に通水することで、合計8つの試料を得られるようになっている。今回は、この装置を多摩川下流部の調布取水堰（東京都玉川浄水場の取水口、現在は水道としては停止中）に設置した。試料採取は2時間間隔とした。

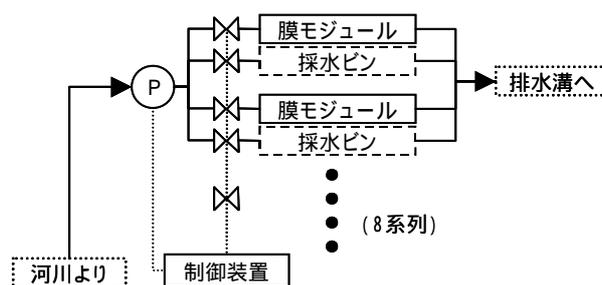


図1 試料採取装置の概略図

3. 病原微生物および各水質指標の測定方法

河川水の濃縮にはセルローズ繊維製 MF カートリッジフィルター（有効濾過面積 4,000cm²、孔径 1μm、ADVANTEC）を用い、濾過後の膜モジュールを持ち帰って以下の試験に供した。また試料採取時に各膜モジュールの濾過水量を記録した。

持ち帰ったモジュール内に誘出液を適量添加してよく振とうすることによりオーシストおよびシストを膜から剥離し、250mL 遠沈管に回収した。その後遠心分離（1,050 × g, 10min）により濃縮を行い、免疫磁気ビーズ法の前段に高比重の Percoll-ショ糖溶液による密度勾配遠心を行う手法（真砂ら、2002）により精製を行った。そして直接蛍光抗体（Crypto-a-Glo および Giardi-a-Glo, Waterborne）で染色し、顕微鏡観察により検出・計数した。

また水質指標として、濁度（2100N Turbidimeter, Hach）、大腸菌群（以下 TC）、糞便性大腸菌群（以下 FC）の測定（共にデスオキシコーレイト寒天培地、栄研）を行った。

4. 多摩川における運転結果

測定は2002年5月から6月にかけて行った。測定試料数は29であった。1試料あたりの濾過水量は原水濁度によって大きく異なったが、中央値は97[L]であった。この時の濁度は2.5[NTU]であり、本調査期間内において水質の安定した期間であったといえる。

図2に、6月16日17時から翌17日5時までの測定結果と、6月19日17時から翌20日5時までの測定結果を示す。クリプトスポリジウムは全29試料中9試料から検出され（試料陽性率31%）、ジアルジアは全

キーワード：クリプトスポリジウム、ジアルジア、濃度変動

連絡先：〒113-8656 東京都文京区本郷7-3-1（電話：03-5841-6242、Email：masago@env.t.u-tokyo.ac.jp）

ての試料から検出された（同 100%）。また、検出された試料の濃度を比較すると、クリプトスポリジウム濃度はジアルジア濃度と比較しておよそ 1LOG 低い結果となった。

6月19日からの結果を除き、ジアルジア、TC、FC とともに 1 サンプルング期間内での変動幅はおよそ 1LOG 以下であった。濁度も同様に、6月19日の結果を除くと変動幅は小さかった。

6月20日午前1時を境に、TC、FC はそれぞれ 10～数十倍、濁度はそれまで 2[NTU]前後であったのが 30[NTU]以上へと、それぞれ急激に上昇した。クリプトスポリジウムは、それまで検出限界以下であったものが、10[oocysts/100L]前後へと増加し、またジアルジア濃度も 10 倍以上増加した。以上より、2 時間以内に、すべての項目が 1 桁以上変動していることが確認された。

クリプトスポリジウムの検出結果と、ジアルジアおよび各水質指標の測定結果との関係を図3に示す。ジアルジア濃度との間に若干の関連が見られたものの、今回選択した水質指標との間には関連が見られなかった。しかし、病原微生物の濃度変動と同時に水質指標も変動したことから、これらの水質項目は突発的な病原微生物の濃度変動の指標としては有効であることが示唆された。一方、今回の調査では、この変動をもたらした要因について明らかにはできなかった。

5.まとめ

水道水源中の病原微生物の短期間における濃度変動を評価するため、2 時間間隔で試料を採取する装置の開発を行い、多摩川河川水中のクリプトスポリジウムおよびジアルジアに対し適用した。その結果、病原微生物、水質指標とも 2 時間以内の時間で 10 倍～数十倍の濃度変化を起こしていることが確認され、突発的な水質変動を捉えることができた。

謝辞

試料採取および装置の設置に全面的に協力を頂いた東京都水道局に深く謝意を表す。

参考文献

Curriero F.C. *et al.*, (2001). *Am. J. Public Health*, 91(8), 1194-1199
 Kistemann T. *et al.*, (2002). *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(5), 2188-2197
 Rose J.B. *et al.*, (2000). *J. AWWA*, 92(9), 77-87
 真砂ら (2002). 第 53 回全国水道研究発表会講演集, 632-633
 埼玉県坂戸保健所, (1997). クリプトスポリジウムによる集団下痢症事件報告書

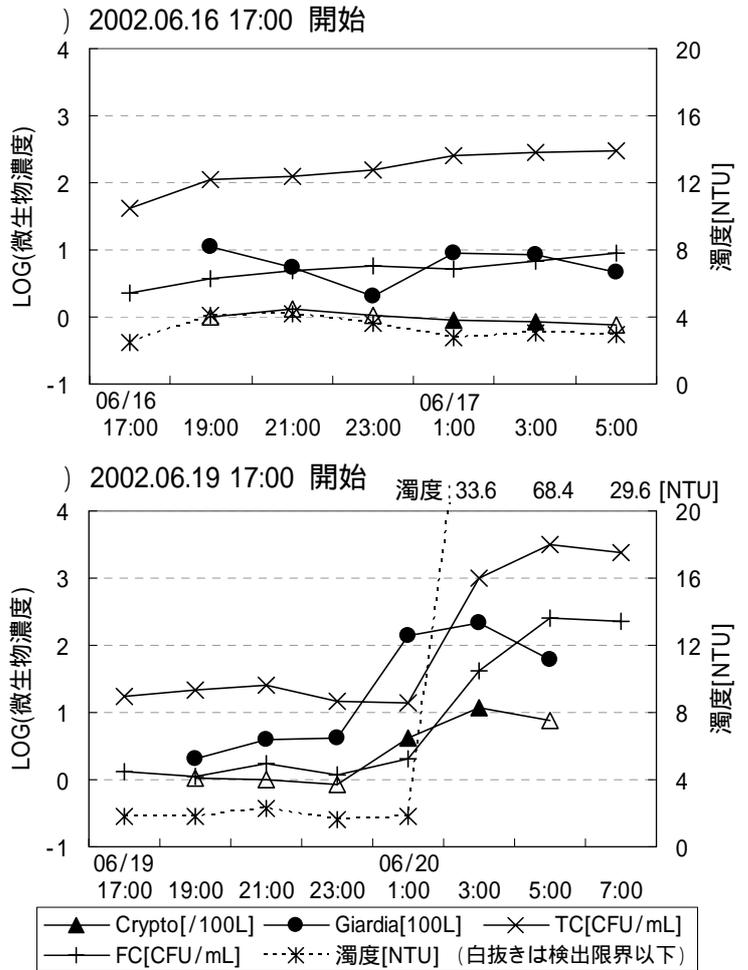


図2 多摩川におけるモニタリング結果

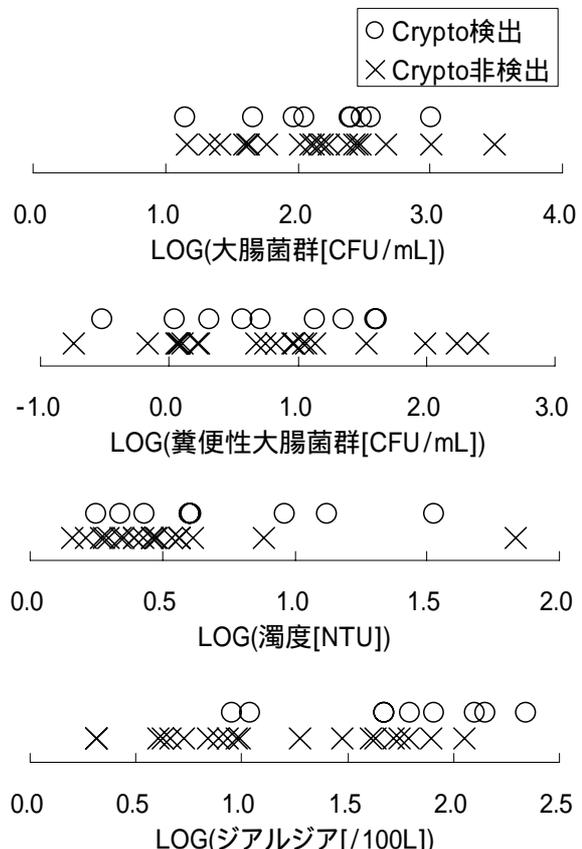


図3 クリプトスポリジウムの検出結果とジアルジア濃度および水質指標との関係