

B-43 定量的微生物リスク評価における検出限界以下データに対する濃度補間方法

○周 靚^{1*}・伊藤 禎彦^{1,2}

¹京都大学大学院 工学研究科 都市環境工学専攻 (〒615-8540 京都市西京区京都大学桂C1棟)

²京都大学大学院 地球環境学堂 (〒615-8540 京都市西京区京都大学桂C1棟)

* E-mail: zhou@urban.env.kyoto-u.ac.jp

1. はじめに

飲料水の微生物的安全性を管理するための手法として定量的微生物感染リスク評価(Quantitative Microbial Risk Assessment ;QMRA)がある。QMRAにおいては、しばしば微生物濃度データに対する分布形のフィッティングが難しい場合がある。大きな要因の1つは、多くの微生物濃度が検出限界以下であり、測定値が得られない点である。

QMRAの第一段階は浄水処理プロセスの除去・不活化能を評価することである。残存率 π は次式(1)によって計算する：

$$\log_{10}\pi = \log_{10} \frac{C_{out}}{C_{in}} \quad (1)$$

ここで、 C_{out} は流出水濃度で、 C_{in} は流入水濃度である。この式で、 C_{out} あるいは C_{in} が0なら、除去率は計算できない。0データの割合が大きくなると、評価結果にも大きく影響することになる。浄水処理プロセスにおいて、急速砂ろ過後、オゾン処理後、緩速砂ろ過後、塩素消毒処理後等処理水中では、微生物濃度は低く、測定値が0となる場合が多いと予想される。この時微生物濃度は本当に0ではなく、検出限界以下の可能性が高いと考えておく必要がある。

本研究では、QMRAの推定値の精度向上を目的として、測定値が0であるデータの取り扱い方法について考察した。検出限界以下の値が出現することに対する考え方・方法には幾つかの種類があるが、ここでは、簡便な方法として、微生物濃度がポアソン分布に従うことを利用して、検出限界以下にデータ補間する方法を考案した。

別報で、伊藤はオランダの浄水場を対象として *Campylobacter* の年間感染リスクを評価した¹⁾。本研究も同じ浄水場の微生物データを使用する。まず、0データの影響が大きいと考えられる急速砂ろ過、オゾン処理段階の0データを補間した。次に、補間し

たデータを使って、モデル浄水場における4つの処理ステップの総合除去能を推定するとともに、年間感染確率を計算した。さらに、補間データを使うケースとベースケースの計算結果で差異が生じる原因について考察した。

2. 方法

*E. coli*を対象微生物として取り上げた。一般に、*E. coli*濃度はMPN法(最確数法)によって測定する。使用するデータを見ると、標準試料水量100mLの時、*E. coli*濃度の検出限界は0.2 *E. coli* /100mLであった。

水や食物のような媒体における微生物存在量分布を記述する際は、ポアソン分布を基本とする。*E. coli*の平均濃度 μ (*E. coli*/100mL)の水から、試料100mLをランダムに取れば、N個の*E. coli* (N=0を含む)を含む試料を見つける確率Pは、ポアソン分布によって式(2)で与えられる。

$$P(N) = \frac{(100\mu)^N}{N!} e^{-(100\mu)} \quad (2)$$

この分布ではパラメータは1つだけであるため、平均濃度 μ が求まると分布は完全に特定される。

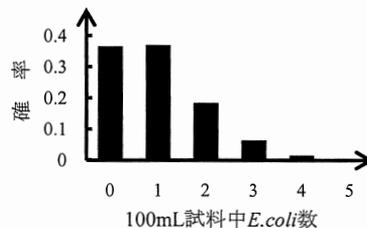


図1 平均濃度 $\mu=1$ のポアソン分布

図1は水中*E. coli*の平均濃度 $\mu=1$ の時、試料水量が100mLの場合のN個の*E. coli*を含む試料を見つける確率を示す。*E. coli*の個数が0から5となる確率を示しており、0となる可能性も高い。

式(2)より、試料水量100mLにおいて0個の*E. coli*を含む試料を見つける確率は：

$$P(N=0) = \frac{(100\mu)^0}{0!} e^{-(100\mu)} = e^{-(100\mu)} \quad (3)$$

この指数関数の分布図を図2に示す。(3)式によって、任意の平均濃度値 μ を与える時、0個の *E. coli* を含む試料を見つける確率 $P(N=0)$ が求まる。図2から、水中 *E. coli* の平均濃度が低ければ、0個を取る確率も高いことがわかる。

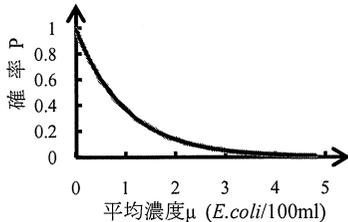


図2 任意の平均濃度 μ を与える時、100mL 試料水量において0個の *E. coli* を含む試料を見つける確率

ここで、標準試料水量 100mL の時、*E. coli* の検出限界は 0.2 *E. coli* /100mL であることに基づき、測定値 0 の水の平均濃度はすべて 0.2 *E. coli* /100mL 以下と仮定する。

検出限界 $\mu=0.2$ *E. coli* /100mL の時、

$$P(N=0) = e^{-(100 \times 0.2)} = 0.81873 \quad (4)$$

すなわち、 μ が検出限界以下 $0 < \mu < 0.2$ *E. coli* /100mL の時、 P が取る範囲は $0.81873 < P < 1$ となる。したがって、 $0.81873 \sim 1$ の間で P 値に乱数発生させると、対応する μ は次式(5)で求まる：

$$\mu = \frac{-\ln P}{100} \quad (5)$$

(ただし、 $0.81873 < P < 1$)

3. 結果および考察

対象とした浄水場における主な微生物のバリアは、凝集一貯水、急速砂ろ過、オゾン処理、緩速砂ろ過であり、感染リスクの評価対象はこれら4段階とする¹⁾。4段階中、0データの影響が大きいの急速砂ろ過、オゾン処理、緩速砂ろ過の3段階である。緩速砂ろ過の場合、定量数は1回だけで他はすべて0であったので、除去能を評価するために、パイロットスケールで行われた *E. coli* の添加実験の結果を用いた²⁾。そこで上記の方法は急速砂ろ過とオゾン処理2段階の測定データに適用した。

使用した *E. coli* 濃度データの概要を表1に示す。オ

表1 *E. coli* 濃度データ概要

	全データ数	0データ数	0データ割合
原水	46	1	2%
凝集一貯水後	91	1	1%
急速砂ろ過後	556	313	56%
オゾン処理後	300	285	95%
緩速砂ろ過後	1393	1392	99.9%

ゾン処理水の定量数は15回のみである。なお、15回の定量のうち4回は大容量サンプリングによって測定され、0.009 *E. coli* /100mL以下という低い値であった。

(1) 検出限界以下へのデータ補間結果

急速砂ろ過の場合は、 P 値を $0.81873 \sim 1$ の間で 313 回乱数発生させて、313 個の 0 データを検出限界 0.2 *E. coli* /100mL 以下へ補間した。オゾン処理の場合は、 P 値を $0.81873 \sim 1$ の間で 285 回乱数発生させて、285 個の 0 データを補間した。図3は急速砂ろ過水について補間前と補間後の *E. coli* 濃度のヒストグラムを示す。

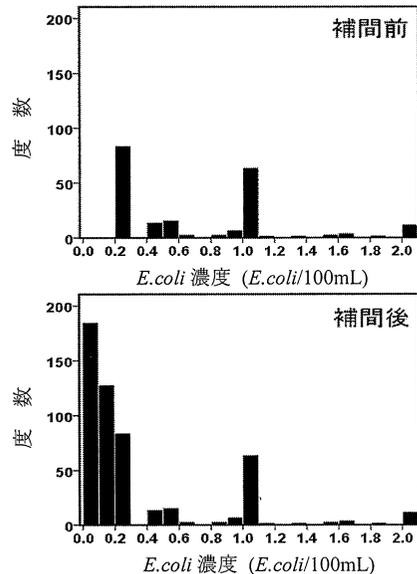


図3 急速砂ろ過水における補間前後の濃度分布

(2) 年間感染確率の推定結果

急速砂ろ過水とオゾン処理水に対して補間した *E. coli* 濃度を用いて、各処理プロセスにおいてランク法によって除去・不活化能を評価した。除去・不活化 \log_{10} 数は式(1)によって計算した。そして除去・不活化能に対して適合する分布を選択し、適合分布の確率密度関数をもとにモンテカルロシミュレーション (10 万回) を行い、4 処理ステップの総合除去・不活化能を計算した。*E. coli* の1日当摂取量は、水道水中 *E. coli* 濃度と非加熱飲料水消費量データから計算した。次に、*E. coli* に対する *Campylobacter* の比率 (C/E) を用いて *E. coli* 摂取量を *Campylobacter* 摂取量に換算した。*Campylobacter* に関する用量反応モデルである指数モデル ($P_d = 1 - \exp(-0.686 \times D)$, D:用量) を用い1日当感染確率 P_d を計算した。これより式 $P_y = 1 - (1 - P_d)^{365}$ によって年間感染確率を計算した。

除去・不活化能と年間感染確率の推定結果を表2、3、4に示す。ケース1はベースケース¹⁾で、急速砂ろ過とオゾン処理段階の0データを除去しないままベアリングして推定している。ケース2は急速砂ろ

過とオゾン処理水の 0 データに対して補間した後、推定した結果である。

表 2 急速砂ろ過の除去能評価結果

ケース	使用データ		除去能評価結果	
	流入水データ数	流出水データ数	適合分布形	除去 log ₁₀ 数最頻値
1	90	(313)+243	ワイブル	1.27
2	90	[313]+243	ロジスティック	1.35

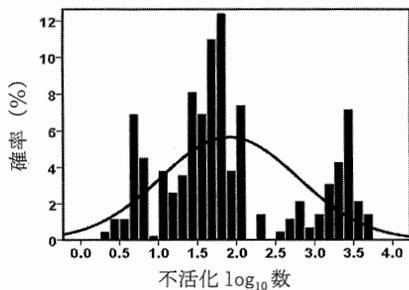
表 3 オゾン処理の不活化能評価結果

ケース	使用データ		不活化能評価結果	
	流入水データ数	流出水データ数	適合分布形	不活化 log ₁₀ 数最頻値
1	243	(285)+15	正規	1.91
2	243	[285]+15	ロジスティック	0.94

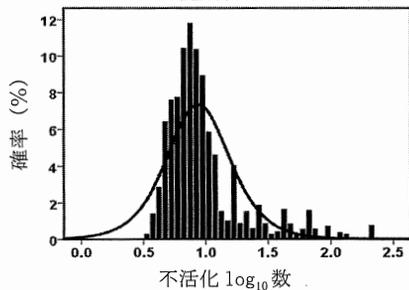
※ ()内は 0 データ数、[]内は補間データ数

表 4 総合除去・不活化能と年間感染確率推定結果

	総合除去・不活化 log ₁₀ 数中央値	年間感染確率平均値 (/人・年)
ケース 1	7.47	1.68×10^{-3}
ケース 2	6.61	2.57×10^{-3}



ケース 1 (適合分布: 正規分布)



ケース 2 (適合分布: ロジスティック分布)

図 4 オゾン処理の不活化能分布

表 2 に急速砂ろ過の除去能評価結果を示す。ケース 1 の場合、556 個の流出水データ中、313 個は 0 データであり、0 データを使った場合はすべて無効になる。最頻値 1.27 は 243 個の 0 以外のデータを使った推定結果である。ケース 2 の場合、556 個の流出水データのうち 313 個は値 0.2 以下の補間データである。補間データのみから生成する除去 log₁₀ 数は概

ね 1.2~1.6 間の値であった。一方、243 個の 0.2 以上データから生成する除去 log₁₀ 数の最頻値は 1.27 であり、全体の最頻値は 1.35 となり、ケース 1 より大きな値となった。

次に表 3 と図 4 にオゾン処理の不活化能評価結果と分布形を示す。ケース 2 の不活化 log₁₀ 数の最頻値は 0.94 であった。ケース 1 と比較すると大きな差異があり、その原因を考察してみる。図 4 をみると、ケース 1 とケース 2 の大きな差異は 2.4~4 の区間である。計算過程から、ケース 1 の 2.5~4 の間の大きな不活化 log₁₀ 数はすべて大容量サンプリング測定値からの値であった。本研究では、不活化能はランク法によって計算している。すなわち、ケース 1 の場合、流出水データのうち 285 個は 0 データであり、300 個のデータを降順ソートすると、大容量サンプリングによる 4 個の 0.009 以下の小さな値はほぼ 11~15 番目にある。流入水の同じ 11~15 番目の大きな値とペアリングすると、2.5~4 の大きな不活化 log₁₀ 数となる。ケース 2 の場合、補間データを含む、300 個のデータを降順ソートすると、4 個の 0.009 以下の値は列の後方になった。この場合、同じ後方にある小さな流入水の値とペアリングすることになり、小さな不活化 log₁₀ 数となり、大きな不活化 log₁₀ 数は見られなくなった。また、補間データから生成した不活化 log₁₀ 数は概ね 0.6~1.1 の間であった。一方、15 個の 0.2 以上のデータを使った不活化 log₁₀ 数は概ね 0.6~2.0 の間であり、全体として、ケース 2 ではケース 1 より小さな値 0.94 となった。以上の原因でオゾン処理の不活化能評価結果に大きな差が生じたと言える。

以上の結果、ケース 2 の総合除去・不活化 log₁₀ 数はケース 1 より小さく、年間感染確率もケース 1 より大きな値が得られた。このように、QMRA においては、データセットの特徴と解析過程を精査しつつ、適切な方法を選択して進める必要があると指摘できる。

4. おわりに

微生物濃度がポアソン分布に従うことを利用して、測定値 0 の取り扱い方法について考察した。検出限界以下の値が出現することに対する考え方・方法は複数ある。本文の方法以外にも統計理論を適用する方法、添加実験による方法、大容量サンプリングによる方法等がある。今後は、取り扱い方法を比較し、その妥当性について考察を行う予定である。

参考文献

- 1) 伊藤禎彦: 定量的感染リスク評価の感度分析における非加熱飲料水消費量データの影響, 用水と廃水, Vol.5 2, No.8, pp.55-65, 2010.
- 2) Dullemeont, Y.J., et al: Chapter 2 Removal of microorganisms by slow sand filtration. In Recent Progress in Slow Sand and Alternative Biofilter Processes (Gimbel, R., et al., eds.), pp.12-20, I-WA Publishing, London, UK, 2006.