特集 1・水のクリプトスポリジウム汚染と対策

水中のクリプトスポリジウムの存在量

平 田 強*・橋 本 温**

1. は じ め に

1994年に平塚市の雑居ビルで、1996年には埼玉県越生町でクリプトスポリジウム症の集団発生があった。越生町の事例は水道水が直接の原因となったもので¹⁾、これを受けて厚生省は“水道におけるクリプトスポリジウム暫定対策指針²⁾”を策定し、1996年10月に全国の都道府県宛に通知した。そのなかで、クリプトスポリジウムによる汚染のおそれのある水源から原水を取水している水道では、適切な浄水処理方法を採用すること、適正な運転管理によってろ過池出口での濁度を0.1度以下に保つことなどが要請されている。急速ろ過法や緩速ろ過法によるクリプトスポリジウムの除去は99～99.9% ($2 \sim 3 \log_{10}$)程度で、1～0.1%はろ過池から漏出するおそれがあるうえに塩素消毒はほとんど効果がないといわれているので、現時点で水道事業者がとるべき最優先事項は浄水プロセスにおける除濁機能を確実に発現させてクリプトスポリジウムの除去を可能な限り高めることであることは当然であるが、水道水の微生物的安全性の適正な評価と今後の対応策の検討を進めるためには、水道水源のクリプトスポリジウム汚染レベルの実態、汚染源の特定とその排出量についての把握が重要である。

クリプトスポリジウム汚染実態の調査は米国、英国等では積極的に行われてきているが、我が国ではほとんど行われていなかった。しかし、越生町でのクリプトスポリジウム集団感染事例の発生と厚生省の暫定対策指針が契機になって、我が国でも水道水源と下水を対象にした実態調査が各種の機関で行われるようになり、有用な情報が集まりつつある。そこで本稿では、これらの情報をもとに、諸外国と我

が国の下水および環境水の汚染実態を紹介する。

2. クリプトスポリジウム試験方法と測定値の解釈上の注意

クリプトスポリジウムオーシスト存在量の測定方法は別稿で述べられているので本稿では詳細説明は省略するが、後述するデータの解釈上重要な事項なので、試験方法の概略と測定値の意味について簡単に述べておく。

一般に水中のクリプトスポリジウムオーシスト存在量は大きな汚染源が近傍に存在する場合を除けば非常に少ないが、感染力が強いことと浄水プロセスでの除去性が低いことから、低濃度レベルの汚染を把握しなければならず、大量の水を試験しなければならない。試験方法の概要は次のとおりである。

第1段階：ろ過、遠心分離、凝集などの方法で大量の水試料中の懸濁物質を集める（粗濃縮）。

第2段階：集めた懸濁物質の中から、密度勾配遠心法や免疫磁気ビーズ法などによりクリプトスポリジウムを選択的に分離・濃縮する（選択濃縮）。

第3段階：クリプトスポリジウムに特異的に反応する蛍光抗体を利用した間接蛍光抗体染色法により蛍光染色する（蛍光抗体染色）。

第4段階：落射蛍光顕微鏡で観察して、クリプトスポリジウムと推定される粒子を特定する（推定試験）。

第5段階：推定試験陽性粒子の内部構造を微分干渉装置または位相差装置により観察し、クリプトスポリジウムオーシストを確定的に特定して計数する（確定試験）。

この方法は、粗濃縮、選択濃縮の段階でロスが生じることが多いうえ、ロスの多寡が試験水の水質に依存するため最終的な回収率が不安定で、時として10%を割り込むほど低いことがある。また、蛍光抗

* 麻布大学環境保健学部 Tsuyoshi HIRATA

** 麻布大学大学院環境保健学研究科 Atsushi HASHIMOTO

体染色でクリプトスポリジウム以外の一部の生物や生物性粒子が非特異的に反応するため、試験者の判定能力によっては、推定試験、確定試験段階で誤陽性、誤陰性問題が発生する可能性がある。加えて、確定試験の際に他の生物性、非生物性粒子が多数共存すると微分干渉像や位相差像の観察を著しく妨害することとなり、確定試験そのものが不可能となることも多い。このため、推定試験で多数のクリプトスポリジウム様粒子が検出されても、確定試験ができないために“不検出”と報告されている場合も少なくない。さらに、この試験方法では生育活性測定できないので、検出されたオーシストが“生きているのか、死んでいるのか”わからないばかりか、“人に感染しうる種”なのか、“感染性”が残っているのかなど、公衆衛生上最も重要なヒトへの感染の可能性に直接関連する情報は得られない。本稿で紹介するクリプトスポリジウムオーシストの濃度はこのような制約条件下で得られたものであり、その数値の解釈には十分な注意が必要である。

3. 水道水源等の水環境におけるクリプトスポリジウム存在量

水道水源がどの程度クリプトスポリジウムに汚染されているかを調査することは水質衛生上極めて重要であり、米国・英国などではよく調査されている。米国で行われた河川調査によると、111カ所の調査で57カ所から2～4,400個/100ℓ（幾何平均43個/100ℓ）¹⁰⁾、35カ所の調査で34カ所から15～6,350個/100ℓ¹¹⁾、11カ所の調査で全ての調査地点から2～11,200個/100ℓ¹²⁾のクリプトスポリジウムオーシストが検出されている。また、米国およびカナダの85カ所での調査では74カ所から7～48,400個/100ℓ（幾何平均270個/100ℓ）¹³⁾が検出されている。その他にも湖¹²⁾や運河¹⁴⁾などからの検出の報告がなされている。また、南アフリカの表流水でも最高2,500個/100ℓ（平均60個/100ℓ）検出されている¹⁵⁾。このように、河川などの表流水のクリプトスポリジウム濃度は各国とも広い濃度範囲で存在しており、汚染の程度の高いところでは10³～10⁴個/100ℓオーダーのクリプトスポリジウムが検出されている。

わが国では埼玉県越生町でのクリプトスポリジウム症集団感染¹⁾以降、各地で調査が開始され、オーシストの存在が報告されるようになってきた。もっとも大規模な調査は厚生省厚生科学研究事業として水

表1 全国調査の水源種別および調査結果³⁾（一部改訂）

水源種別	調査済水域数	検出された水域数
河川表流水	36	5
ダム直接	13	0
ダム放流水	25	1
湖沼放流水	1	0
湖沼直接	5	0
伏流水	14	0
計	94	6

道技術研究センターが窓口となって行った水道水源のクリプトスポリジウム汚染実態に関する全国調査があり、平成9年8月19日に確定試験結果を厚生省が公表した³⁾。調査対象は河川表流水、ダム、湖沼、伏流水からなる全国94水源水域、282地点（1水源水域につき3地点ずつ）で、試験水量は5ℓ（一部の試料については10ℓ）である。クリプトスポリジウムが検出されたのは、秋田、山形、群馬、栃木、熊本、沖縄の6県の計6水源水域8地点で、確定された個体数はいずれも2～4個/10ℓであった。検出された水域を種類別にみると、河川表流水36水域中5水域（14%）、ダム放流水25水域中1水域（4%）で、河川からの検出率が有意に高く、ダム直接、湖沼放流水、湖沼直接、伏流水からは検出されていない（表1）。

都道府県や各地の水道事業体も独自に水源の調査を行っており、千葉県鋸南町の保田川⁴⁾、東京都青根市の多摩川⁵⁾で検出されたほか、神奈川県藤野町⁶⁾でも検出されている。また、神奈川県衛生研究所の行った河川表流水、地下水、伏流水等の水道水源25地点での調査⁷⁾では、河川表流水11地点のうち4地点（37%）からクリプトスポリジウムオーシストが検出されており、その濃度は、相模川の寒川（表流水）で10個/50ℓ、社家（表流水）で30個/50ℓ、酒匂川の飯泉（表流水）で5個/50ℓ、酒匂川水系皆瀬川の栃谷沢（伏流水）で1個/50ℓと報告されている（表2）。

一方、著者らは相模川とその支流について試験水量を100ℓとした調査を行っているが、多くの地点でクリプトスポリジウムが検出されており、濃度は推定値（蛍光抗体染色でオーシストに特異的な染色像が認められたもの）は1～10,000個/100ℓ、確定値（推定値のうち、蛍光像で縫合線が観察されたか、微分干渉像でオーシスト特有の内部構造が観察され

表2 神奈川県内の水道原水のクリプトスポリジウム汚染状況⁷⁾ (一部改訂)

水道事業者	採水場所	水源種別	結果(個/50ℓ)
神奈川県営水道	相模川水系相模川寒川	表流水	10
	相模川水系相模川谷ヶ原	表流水	不検出
	花水川水系大山川	表流水	不検出
	相模川水系支流栃谷川落合	表流水	不検出
	滝沢	湧水	不検出
	相模川水系道志川飽子	表流水	不検出
	生田	地下水(浅)	不検出
川崎市水道	相模川水系相模川社家	表流水	30
横須賀市水道	相模川水系中津川半原	表流水	不検出
	相模川水系中津川半原	表流水	不検出
広域水道企業団	酒匂川水系酒匂川飯泉	表流水	5
	酒匂川水系酒匂川高田	表流水	不検出
小田原市水道	米神	地下水(深)	不検出
	根府川	地下水(深)	不検出
秦野市水道	沼代	地下水(浅)	不検出
山北町水道	酒匂川水系皆瀬川	伏流水	不検出
	酒匂川水系皆瀬川栃谷沢	伏流水	1
開成町水道	第一水源	地下水(深)	不検出
	第二水源	地下水(深)	不検出
	第三水源	地下水(深)	不検出
	第四水源	地下水(深)	不検出
	第七水源	地下水(深)	不検出
愛川町水道	相模川水系相模川滝の沢	表流水	不検出
	相模川水系相模川塩川添	表流水	不検出
	中津	地下水(深)	不検出
	戸倉	地下水(浅)	不検出

たもの)は1~4,500個/100ℓであった⁸⁾(表3)。そのうち、相模川水系小鮎川片原橋付近とその下流の小鮎川厚木市元町付近の採水地点からはその後も10³個/100ℓレベルの高濃度のクリプトスポリジウムオーシストが繰り返し検出されている。このうち、片原橋付近では上流約50mに養豚場があり、その畜舎廃水処理施設からの排水が放流されていた。

このように、相模川水系では、家庭排水や畜舎排水の流入する地点のみならず、特別の汚染源が見あたらない支流の上流部においても、濃度は低いものの、クリプトスポリジウムオーシストが検出されており、その後の調査結果を加味すると、13地点のう

表3 相模川水系の100ℓ当たりのクリプトスポリジウム存在量⁸⁾ (一部改訂)

採水場所	調査日	推定値	確定値
相模川上野原	4/16/97	4	3
相模湖公園	11/11/96	<1	—
	4/16/97	<1	<1
相模川小倉橋	11/11/96	<1	—
相模川昭和橋	11/11/96	<1	—
相模川金田	11/19/96	1	—
相模川宮山	11/19/96	5	—
	12/24/96	9	—
	5/14/97	15	13
	5/21/97	11	5
中津川半原	12/3/96	11	—
	5/14/97	<1	<1
	5/21/97	<1	<1
中津川才戸橋	12/3/96	11	—
	12/24/96	12	—
	5/14/97	10	8
	5/21/97	15	5
中津川鮎津橋	11/25/96	3	—
荻野川中荻野	11/25/96	11	—
小鮎川片原橋	12/3/96	550	—
	12/24/96	2,500	—
	5/14/97	10,000	2,600
	5/21/97	7,300	4,500
小鮎川元町	11/25/96	26	—
	12/24/96	110	—
新玉川酒井	11/19/96	13	—

—:試験せず

ち実に10地点から検出されている(未発表)。また、全国調査では試験水量がわずか5ℓで行われているにもかかわらず、282調査地点のうち8地点から検出されており、水道事業体や地方の衛生研究所等の行った調査でも各地でクリプトスポリジウムオーシストが検出されているようなので、環境水100ℓレベルでの検出の有無でみた場合は、わが国でも、米国などと同様に広範囲の水環境で高率にクリプトスポリジウムが検出されることが予想される。

4. 下水および下水処理水中の存在量

1) 流入下水

1人の感染者が排出するオーシスト数は症状のピーク期には1日当たり10⁹個にも達するといわれている¹⁶⁾。下水には感染者の糞便も流入している可能性が高いことから、もし感染者が集水域内に存在していれば、下水中からクリプトスポリジウムが検出されることになる。

米国での調査によると、流入下水中に850~13,700個/ℓ(算術平均2,700個/ℓ)¹⁴⁾ものクリプトスポリ

表4 米国を中心とした諸外国のクリプトスポリジウム検出例^{10-15),20)}

国名	クリプトスポリジウム存在量	陽性数/試料数 (陽性率%)	水域種別	文献
米国	2-4,400個/100ℓ (平均43個/100ℓ)	57/111(51%)	河川	10)
	1-380個/100ℓ (平均44個/100ℓ)	39/70(56%)	湖	10)
米国	0.15-63.5個/ℓ	34/35(97%)	河川	11)
米国	2-112個/ℓ (平均14個/ℓ)	11/11(100%)	河川	12)
米国およびカナダ	7-48,400個/ℓ (平均270個/100ℓ)	74/85(85%)	河川	13)
米国	5,300-5,800個/ℓ (平均5,500個/ℓ)	2/2(100%)	運河	14)
	2-290個/ℓ (平均41個/ℓ)	3/3(100%)	河川	14)
	0.8個/ℓ	1/1(100%)	小川	14)
南アフリカ	0-25個/ℓ (平均0.6個/ℓ)		表流水	15)
米国	850-13,700個/ℓ (平均2,700個/ℓ)	4/4(100%)	流入下水	14)
	4-3,960個/ℓ (平均320個/ℓ)	11/11(100%)	処理水(活性汚泥)	14)
カナダ	0.6-74個/ℓ (平均7個/ℓ)	2/6(33%)	流入下水	20)
	333個/ℓ	1/3(33%)	処理水(ラグーン)	20)
南アフリカ	0-50個/ℓ (平均3個/ℓ)		流入下水	15)
	0-45個/ℓ (平均3個/ℓ)		処理水	15)

表5 わが国の下水中のクリプトスポリジウム検出例¹⁸⁻¹⁹⁾

	存在量(個/ℓ)	陽性数/試料数	検出限界
都市部の9カ所の処理場			
流入下水	28	1/29	16個/ℓ以下
最初沈殿池流出水	不検出	0/28	16個/ℓ以下
	1-13(3)	5/9	1個/ℓ以下
放流水	不検出	0/33	2-6個/ℓ以下
全国67カ所の処理場			
流入下水	8-50	7/73	3-33個/ℓ以下
処理水	0.05-1.60	9/74	0.04-0.50個/ℓ以下

ジウムオーシストが検出されている(表4)。ところが、わが国の下水のクリプトスポリジウム汚染状況(表5)は米国とはかなり異なっている。

著者らは、都市部を集水域とし標準活性汚泥法で処理を行っている9カ所の下水処理場で、流入下水29試料と最初沈殿池流出水28試料について検出限界16個/ℓレベルでの調査を行った。クリプトスポリジウムオーシストは最初沈殿池流出水1試料からしか検出されず、しかもその濃度は28個/ℓと低く、上記の米国での調査と比較すると、検出の頻度も濃度も明らかに低かった^{17),18)}。そこで、9カ所の下水処理場の最初沈殿池流出水を再度1回ずつ採水し、試験水量を1ℓ(検出限界1個/ℓ)とした調査を行ったところ、9試料中5試料からクリプトスポリジウムオーシストが検出され、その濃度は1~13個/ℓ(幾何平均3個/ℓ)であった¹⁸⁾。建設省が公表した下水処理場におけるクリプトスポリジウム実態調査結果¹⁹⁾によると、全国67カ所の下水処理場の流入下水73試

料のうち9.6%に当たる7試料からクリプトスポリジウムオーシストが検出されており、濃度は8~50個/ℓであった(検出限界3~33個/ℓでの調査)。下水に関する公表された調査結果はこの2つの報告しかないが、それによると、わが国の下水中のクリプトスポリジウム濃度は高いところで $10^1 \sim 10^2$ 個/ℓレベルにあると考えられる。これはカナダの0.6~74個/ℓ²⁰⁾とほぼ同様のレベルと考えられるが、米国で行われた調査結果¹⁴⁾(850~13,700個/ℓ)と比較すると1~2桁低い。我が国の下水中のクリプトスポリジウム濃度が米国に比べて低い理由は明らかでないが、我が国では居住者や野生動物・家畜などのクリプトスポリジウム感染率がまだ低いレベルにあるのかもしれない。国際化に伴うボーダーレス社会の進展により病原微生物の国際化もより一層進むと予想されるので、我が国の居住者や動物のクリプトスポリジウム感染率も高まり、結果として近い将来、下水中のクリプトスポリジウム濃度が高くなってくる

可能性は否定できない。

2) 処理水

下水処理水は、その放流先の利水状況にもよるが、水環境の主要なクリプトスポリジウム汚染源の1つである。米国では、活性汚泥法処理水から4~3,960個/ℓ検出されている¹⁴⁾(これは流入水で850~13,700個/ℓ検出されたところ)。カナダからはラグーン処理水で333個/ℓ²⁰⁾、南アフリカからは0~45個/ℓ¹⁵⁾検出されたとの報告がある。

我が国の下水処理場からの放流水については、都市部の9カ所の処理場における検出限界2~6個/ℓでの調査^{17,18)}では33試料のいずれからもクリプトスポリジウムは検出されなかった。また、全国67カ所の下水処理場の処理水74試料についての試験水量20ℓでの調査では74試料のうち9試料から検出されているものの、その濃度は0.05~1.60個/ℓと低い¹⁸⁾。わが国では流入下水のクリプトスポリジウムオーシスト濃度が低いため下水処理水のオーシスト濃度も極めて低いレベルにあるものと考えられるが、活性汚泥法による下水処理でのクリプトスポリジウムの除去率はせいぜい90~95%程度であり99%を大きく超えるようなレベルの除去はあまり期待できないので、流入下水のクリプトスポリジウム濃度が上昇してくるとそれに比例して処理水中のクリプトスポリジウム濃度も高まることになり、下水処理水が水環境の重要かつ重大な汚染源となってくる可能性がある。

5. お わ り に

前述の水道水源のクリプトスポリジウム汚染実態に関する全国調査の結果によると、水道水源のクリプトスポリジウム陽性率は低く、282試料中8試料にすぎなかったが、これは試験水量がわずか5ℓと少ないことと、2.で述べた試験方法上の制約による可能性が否定できない。試験水量を増加させ、試験に習熟した技術者が増加してくれば陽性率はもっと高まる可能性がある。飲料水中の摂取水量を2ℓ/日、クリプトスポリジウムによる許容感染確率を年間 10^{-4} としたとき、水道水中のクリプトスポリジウムオーシストの平均許容濃度は3.27個/100m³との報告がある²¹⁾。著者らは、急速ろ過法や緩速ろ過法でのクリプトスポリジウム除去率を99.9%とすると、水道原水中のクリプトスポリジウム濃度はおおむね3個/100ℓ以下でなければならないことになるとの

観点に立って、相模川水系を対象に100ℓを試験水量として水環境調査を行ったところ、特定の汚染源となりうる施設が存在する地点では10³個/100ℓレベルの汚染が認められた。また、濃度には10³倍もの開きがあるものの、汚染源となりうる特定の排水施設があるところのみならず、特に汚染源が見あたらないような地点も含めて、ほとんどの調査地点からクリプトスポリジウムが検出された。相模川水系は全国の他の水系と比較して特段に汚染源が集中している水域とは考えられないことから、すでに我が国でも広範な地域で、従来型の浄水処理で小さなミスがあると感染症問題を引き起こしかねないレベルでの恒常的なクリプトスポリジウム汚染が進行している可能性がある。

クリプトスポリジウムは広い宿主域を持ち、家畜や各種の野生動物での感染が確認されている⁹⁾。現状では、米国と比較するとわが国の流入下水のクリプトスポリジウムオーシスト濃度は低いものであったが、ボーダーレス社会の進展に伴って病原微生物の国際化もより一層進むと考えられるので、クリプトスポリジウムによる水環境の汚染レベルが上昇するのは時間の問題なのかもしれない。

感染症問題は公衆衛生上極めて大きな問題であり、重要な国民的課題である。水源のクリプトスポリジウム汚染は水道に対して最も直接的な影響を与えるので、水道水源については数個/100ℓの検出が可能なレベルの実態調査を継続的に行うべきである。また、下水、し尿、畜産排水など、クリプトスポリジウムの供給源となりうる施設での現状の排水管理がクリプトスポリジウム問題に関して充分なものとなっているかどうか、精査すべき時期に至っていると考えられる。総合的な水利用システムを念頭に置いて、それぞれの地域の特性に応じた総合的水環境管理対策の検討と推進が必要である。

また、水環境の集水域内にクリプトスポリジウム感染者や感染動物が発生してその排泄物が水環境に入ると水中のクリプトスポリジウム濃度は飛躍的に増大することになるが、患者あるいは患畜の発生は症状が現れてはじめてわかることなので、発生が把握された時点ですでに汚染は進行していることになる。したがって、昨日の原水にクリプトスポリジウムがいなかったからといって今日原水にクリプトスポリジウムがいらないという保証はない。感染症発生情報の把握とその対応における迅速性が被害の程度

に大きく影響するので、水環境管理の視点に地域住民の健康管理情報を付加する方策の検討が望まれる。

参 考 文 献

- 1) 埼玉県衛生部クリプトスポリジウムによる集団下痢症－越生町集団下痢症事件－報告書（平成9年3月）
- 2) 厚生省生活衛生局水道環境部長通知「水道におけるクリプトスポリジウム暫定対策指針」平成8年10月4日付。
- 3) 厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課報道発表資料「水道水源におけるクリプトスポリジウム等の検出状況について」平成9年8月19日付。
- 4) 千葉県衛生部報道発表資料、水質検査（クリプトスポリジウム）について（平成9年6月4日付）
- 5) 平成9年6月14日 読売新聞
- 6) 平成9年7月3日 神奈川新聞
- 7) 神奈川県衛生部報道発表資料 クリプトスポリジウムに係る水道原水調査の結果について（平成9年7月2日付）
- 8) 橋本 温，平田 強（1997）相模川水系のクリプトスポリジウムおよびジアルジア汚染レベル，水環境学会誌 投稿中
- 9) 塩田恒三（1994）クリプトスポリジウム症，*Journal of Animal Protozooses* 6, 16-37
- 10) Rose J.B., Gerba C.P. and Jakubowski W. (1991) Survey of potable water supplies for *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Environmental Science and Technology*, 25, 1393-1400
- 11) Hansen J.S. and Ongerth J.E. (1991) Effects of time and watershed characteristics on the concentration of *Cryptosporidium* oocysts in river water. *Applied and Environmental Microbiology*, 57, 2790-2795
- 12) Ongerth J.E. and Stibbs H.H. (1987) Identification of *Cryptosporidium* oocysts in river water. *Applied and Environmental Microbiology*, 53, 672-676
- 13) LeChevallier M.W., Norton W.D. and Lee R.G. (1991) Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* spp. in surface water supplies. *Applied and Environmental Microbiology*, 57, 2610-2616
- 14) Madore M.S., Rose J.B., Gerba C.P., Arrowood M.J. and Sterling C.R. (1987) Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts in sewage effluents and selected surface waters. *Journal of Parasitology*, 73, 702-705
- 15) Kfir R., Hilner C., du Preez M. and Bateman B. (1995) Studies on the prevalence of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in South African water. *Water Science and Technology*, 31 (5-6), 435-438
- 16) 井関基弘（1996）水系感染クリプトスポリジウム症の集団発生－その実状と対策－，日本水処理生物学会誌，32，67-78
- 17) 橋本 温，平田 強，土佐光司，眞柄泰基，大垣眞一郎（1997）下水中の *Giardia* シストおよび *Cryptosporidium* オーシスト濃度と下水処理における除去性，水環境学会誌，20，404-410
- 18) 橋本 温，小方直人，田村司郎，平田 強（1997）下水中の病原性原虫濃度とその除去性，第31回日本水環境学会年会講演集，356
- 19) ㈲日本下水道協会（1997）「下水道におけるクリプトスポリジウムの検討委員会」中間とりまとめ報告
- 20) Roach P.D., Olsom M.E., Whitley G. and Wallis P.M. (1993) Waterborne *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in Yukon, Canada. *Applied and Environmental Microbiology*, 59, 67-73
- 21) Haas C.N., Crockett C.S., Rose J.B., Gerba C.P. and Fazil A.M. (1996) Assessing the risk posed by oocysts in drinking water. *Jour. AWWA* 88, 131-136