

# 水系感染症の病原微生物の特性とリスク評価

## Characteristics and risk assessment of waterborne pathogenic microorganisms

大瀧雅寛  
Masahiro OTAKI

### 1 はじめに

水を飲んで病気になる確率はどの位なのだろう。この問に答えるにはいくつか明らかにしなければいけないことがある。それらを並べると、

- 1) どのような病気になることが考えられるのか。(例、下痢症、肺炎、肝炎、小児マヒetc.)
- 2) それらを引き起こす微生物はどんな物か。(例、赤痢菌、レジオネラ菌、ポリオウイルス etc.)
- 3) それらがどの位、水の中に存在しているのか。
- 4) 人の体内に入ってくる確率はどの位か。
- 5) それが、どれだけ入れれば感染するのか。
- 6) 発症率はどれだけか。(感染しても発症しない場合がある)

ただこの中には明らかになっている事項もあれば、不明な事項もある。即ち確実な答えは出すことが出来ないが、ある程度確からしい答えは出すことができる。これをリスク評価と呼ぶ。水系感染の微生物リスク評価はある程度確からしい答えを出せる手法なのだが、その場合にはどの位の確かさなのかを明らかにしておくことを忘れてはいけない。

本稿は上記について明らかになっている例やリスク評価の計算例などを例示して、水系感染のリスク評価について解説するものである。

### 2 病原微生物の特性

#### 2.1 細菌

水系感染症としては最も古くから知られている。一般に塩素などの消毒剤に対する感受性が比較的高いため、適正な浄水処理と消毒を行うことによって安全な水を確保することができる。Table 1 に主な水系感染症を起こす細菌とその症状について示す。

#### 2.1 ウイルス

ウイルスはDNAもしくはRNAをタンパク質で包んだだけの単純な構造をしている。その分12~500nmと非常に小さく、電子顕微鏡が実用化されるまで発見されなかった。また特定の生物(宿主)の生きた細胞の中でしか増殖できないため検出も困難である。人や動物を宿主にするウイルスを動物ウイルスといい細菌を宿主にするウイルスを細菌ウイルス

Table 1 Waterborne pathogenic bacteria<sup>1)4)</sup>

種類	症状・疾患
微好気性グラム陰性螺旋菌 カビ <sup>0</sup> 01 <sup>0</sup> クア <sup>0</sup> ジ <sup>0</sup> エ <sup>0</sup> エ <sup>0</sup>	カンピロバクター腸炎(食中毒)
好気性グラム陰性桿菌 緑膿菌 レジオネラ	尿路、耳、眼の炎症 レジオネラ症(在郷軍人病:急性肺炎症)
通性嫌気性グラム陰性桿菌 腸内細菌科 病原大腸菌 赤痢菌 チフス菌 サルモネラ菌 食中毒	日和見感染症、下痢症など 赤痢 腸チフス、パラチフス
ビブリオ科 コレラ菌	コレラ

Table 2 Waterborne pathogenic viruses<sup>4)10)</sup>

種類	タイプ(サイズ, nm)	症状
腸管系ウイルス ポリオウイルス	一本鎖RNA(25-30)	小児マヒ
コクサッキーウイルス	一本鎖RNA(25-30)	心筋炎、胸間筋肉痛、風邪様症状等
A型肝炎ウイルス	一本鎖RNA	A型肝炎
アデノウイルス	二本鎖DNA(70-90)	呼吸器系疾患、咽頭結膜熱(プール熱)結膜炎、胃腸炎
ロタウイルス	二本鎖RNA(60-80)	嘔吐、下痢(旅行者下痢症)
ルノウィーク因子群 カリシウイルス	一本鎖RNA(35-40)	嘔吐、下痢、胃腸炎

Table 3 Waterborne pathogenic Protozoa<sup>4)</sup>

原虫	環境中での耐性型(大きさ、μm)	症状・疾患
アメーバー類		
<sup>1</sup> Entamoeba histolytica	シスト(10-20)	下痢症 (アメーバー赤痢)
<sup>2</sup> Naegleria fowleri	シスト	髄膜炎様症状
Acanthamoeba castellanii	シスト	髄膜炎様症状・眼疾患・呼吸器疾患
鞭毛虫		
Giardia lamblia	シスト(8-15)	下痢症 (ジアルジア症)
繊毛虫類		
Balantidium coli	シスト(45-65)	下痢症
孢子虫類		
Cryptosporidium parvum	オーシスト(3-8)	下痢症
Toxoplasma gondii	オーシスト(10-12)	発熱症、脳炎
Sarcocystis	オーシスト(8-10)	下痢症
微孢子虫類		
Enterocytozoon bieneusi	孢子(1-3)	下痢症
Enterofitosis acicularis	孢子	下痢症 肺及び肝臓疾患

すまたはバクテリオファージと呼ぶ。現在では動物培養細胞を用いた細胞培養法（ポリオウイルスなど）でも検出できるが、非常に限られる。各種の酵素抗体法を用いたウイルスの検出法が一般的であるが、検出限界が高いなど問題点も多い。Table 2 に主な水系感染症を起こすウイルスとその症状について示す。

### 2.3 原虫

井戸水、水道水での感染が起こる可能性のある原虫はTable 3 に示すとおりである。これらは全世界に広く分布しているが、主に熱帯、亜熱帯の衛生状態の悪い地域に流行が見られる。多くの原虫は環境中でシスト、オーシストなどの耐性型で存在し一般的に塩素抵抗性が高い。このため塩素消毒に頼るよりも懸濁物質とみなして凝集ろ過を適切に行う等の対応が求められている。原虫の中で話題になっているのがクリプトスポリジウムである。我が国でも1996年にこの原虫により水道を介して約8000人の集団感染事故が起きた。米国では40万人が感染する事故も起きている。従って、決して発展途上国だけの話ではないことに注意すべきである。

### 3 病原微生物のリスク評価

もともとリスク評価（リスクアセスメント）は、化学物質の影響評価を行うために確立された手法であり、一般に以下のステップを踏んで行う<sup>1)11)</sup>。

- 1) Hazard Identification 危険性の同定：何が悪影響を及ぼすのか、またどんな悪影響なのか
- 2) Dose-Response assessment 用量反応評価：用量と人への影響の相関関係
- 3) Exposure assessment 暴露評価：どれくらい暴露を受けるのか、どんな状況が設定されるのか

4) risk characterization リスクの判定：人口に対してのリスク率はいくらか、また許容されるレベルか

この結果をうけて行政的な規制（基準の策定など）が行われる。これをリスク管理（リスクマネジメント）という。病原微生物のリスク評価においても全く同じステップを踏んで行うことになる。

1)の危険性については、対象とする病原微生物は何なのかを考え、さらに感染、罹患、死亡というリスクレベルのどのレベルで行うかを明確にする。

2)については一般の化学物質とは考え方が異なる。化学物質は継続的な暴露による慢性的、長期的な影響が問題とされるのに対し、病原微生物では、一回一回の暴露つまり急性の影響を基に議論しなければならない。また化学物質は主に動物実験から人へ外挿して用量反応関係を類推するが、病原微生物の場合はそのような動物実験は無効であり、ボランティアによる投与実験もしくはこれまでの発生事故を基に人と微生物の直接的な関係データを基にすることになる。化学物質に比べて大きく異なる点は、病原微生物の場合は2次・3次感染が重要になることであり、この点は慎重に考慮すべきである。

次に低用量、低感染確率の推定に用いられるモデル及びそれを用いた計算結果を示す。ここに示す以外にも提唱されているが、パラメータが推定されているのはこの2つのモデルが主である。なお、このようなモデルにおいては無作用量（閾値）は存在しない。

・ 指数モデル (exponential model)

$$P(D) = 1 - \exp(-D)$$

P：一回の暴露で感染する確率

D：暴露量、：パラメータ

・ベータ分布感染モデル (beta model)

$$P(D) = 1 - [1 + (D/\alpha)]^{-\beta}$$

P : 一回の暴露で感染する確率

D : 暴露量、 $\alpha, \beta$  : パラメータ

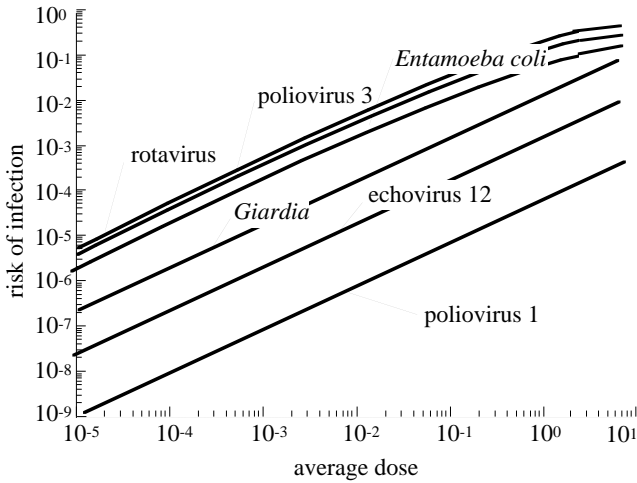


Fig. 1 Risk of infection at low dose<sup>12)</sup>

3.1 飲料水中のリスクアセスメント

前述の3)暴露評価にあたっては、対象が飲料水なのか下水処理水なのか、はたまた再利用水なのかによってその考え方は異なる。まずは飲料水の場合について考えてみる。

飲料水中には消毒耐性が強いウイルスや原虫が含まれる場合があるが、これらは感染力も一般的に強い。また飲料水中の濃度は変動が大きく一般的にポアソン型の分布をする。これらの条件を考慮して、EPAは飲料水における水系感染をおこす微生物の制御に必要な浄水システムを、このリスク評価手法を用いて決定している。

注目すべき点は許容感染リスクを年間で $10^{-4}$ のレベルとしていることである。これは化学物質による発癌リスクの場合とは異なり、致命的となる率で考えると、そのリスクはさらに低くなり感染後の致死率はおおむね1%であろうと推測されることにもよっている。TABLE 4 は人が毎日 2 Lの飲料水を飲むと仮定して、年間感染リスクが $10^{-4}$ となる飲料水中濃度を示している。ここから言えることは例えば病原原虫である *Giardia* についての安全性を飲料水において、測定して確かめる場合に必要水量は  $10^5 \sim 10^6$  L となりとても現実的とはいえない。そこで現実には、飲料水よりは高濃度に存在する原水を測定し、これに浄水プロセスにおける除去率を考慮して安全性確保を行うべきことになる。つまりこの考え方から求められる原水中濃度と必要とされる上水処理中の除去率が定められることになる。

TABLE 4 Allowable concentration of pathogen for annual risk <math>10^{-4}</math> <sup>12)</sup>

pathogen	allowable conc. (unit/L)
rotavirus	$2.22 \times 10^{-7}$
poliovirus 3	$2.65 \times 10^{-7}$
<i>Entamoeba coli</i>	$6.25 \times 10^{-7}$
<i>Giardia</i>	$6.75 \times 10^{-6}$
poliovirus1	$1.51 \times 10^{-5}$
echovirus 12	$6.85 \times 10^{-5}$

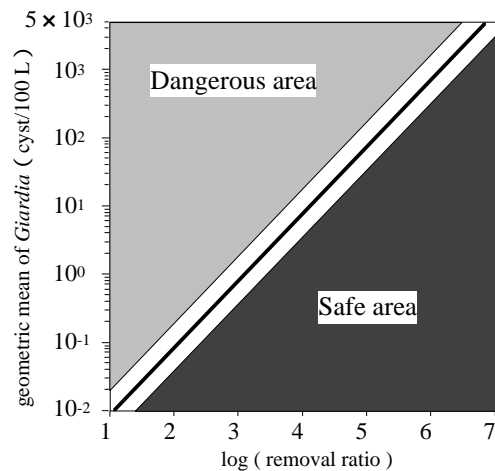


Fig.2 Allowable concentration in source water and required removal ratio for annual risk <math>10^{-4}</math> (95 % confidential area)<sup>1)</sup>

TABLE 5 Required removal ratio in purification plant intaking from river water (by EPA)<sup>1)</sup>

average conc. of microorganisms (unit/100 L)	required removal ratio	
	<i>Giardia</i>	virus
1	3 log	4 log
1 ~ 10	4 log	5 log
10 ~ 100	5 log	6 log

3.2 下水処理水中のリスクアセスメント

下水処理放流水のリスクの場合は、環境中に放流された後の人への感染リスクについて考慮しなければいけない。Fig.3 にその手順をまとめた。しかし実際の処理水の病原微生物濃度に関するデータが不十分であることや、また流入下水などの実測値もしくは推定値を用いて処理プロセスでの除去率を基にして計算することも行われるが、その変動が2オーダー以上になることもしばしばであるため、非常に取り扱いにくい。

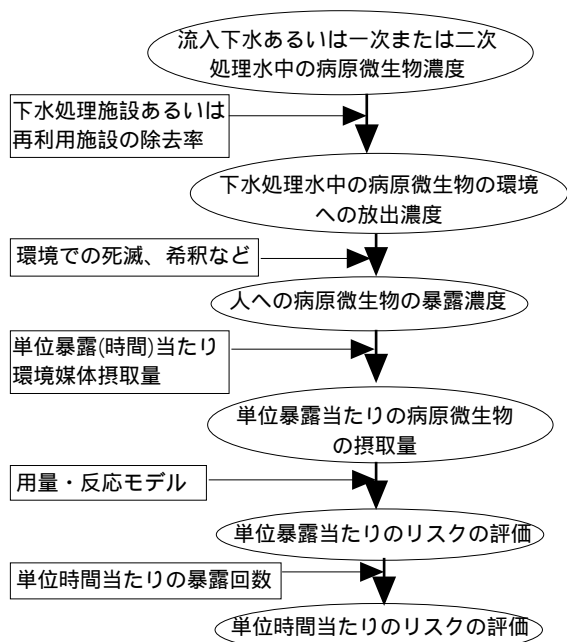


Fig. 3 Process for risk assessment in case of wastewater treatment and reused water<sup>1)</sup>

また下水処理水の場合は再利用水の場合と異なり環境中への放流後にどのような形で人と接触するのかについて、その場所の特有な状況を考慮しなければならない。例えば、放流後の下流域で浄水原水として取水されている様な場合と、水浴場所に近接して

いる場合では、その暴露評価が大きく異なってくる。

一例を挙げると、Haas<sup>16)</sup>は下水処理水が河川に放流され、その下流で水泳した場合のenterovirusの発病リスクを試算した。下水中のウイルス幾何平均 5,560 unit/Lを基にして、最初沈殿池までで 67.5 %、活性汚泥で 86 %の除去を仮定し、塩素消毒で 90 %不活化とした場合には処理水中に 25.7 unit/L となる。河川での希釈率を100 倍として、河川が流下する時間を 2 日とした。河川中でのウイルスの死滅速度を 0.69 /日と仮定した場合、水泳者が100 mL水を飲み、感染者の内 1 %が発病すれば、一回当たりの発病リスクは $6.5 \times 10^{-5}$ となり、消毒がなければ $6.5 \times 10^{-4}$ となると推定している。

### 2.2.3 再利用水のリスクアセスメント

リスク評価手順はFig. 3 に示した通りであり、下水処理水と同様であるが、その利用目的がはっきりしていることから人への暴露評価も相対的に行いやすい。ここでは信頼性の高い実測データを用いたAsanoら<sup>13)</sup>によるCalifornia州のケーススタディ例を紹介する。再利用水の利用目的により4つのシナリオを設定している。TABLE 6 にシナリオの詳細を示す。

以上のシナリオから、いくつかの下水処理による

TABLE 6 Case study scenario for risk assessment of reused water<sup>13)</sup>

利用目的	対象グループ	暴露回数	1暴露当たりの摂取水量	環境での減衰及び使用条件
シナリオ1 ゴルフコース散水	ゴルファー	週2回	1 mL	ゴルフを行う1日前に散水
シナリオ2 食物用作物灌漑用水	消費者	毎日	10mL	収穫2週間前に散水停止
シナリオ3 リクレーション用修景用水	水泳者	年間40日間 夏期のみ	100mL	日光によるウイルスの死滅減衰無し
シナリオ4 地下水の灌漑	使用者	毎日	1000mL (人の一日飲料2Lをもとに地下水で50%に希釈されるとした)	深さ3mの地下水層を仮定、6ヶ月滞留した後汲み上げられるとした。

TABLE 7 Results of risk assessment in each case<sup>13)</sup>

処理のシナリオ	ゴルフコース	作物灌漑	リクレーション	地下水涵養
500/100Lの二次処理水を5logの除去率で三次処理する	$1.14 \times 10^{-8}$	$5.11 \times 10^{-11}$	$8.77 \times 10^{-7}$	$9.73 \times 10^{-15}$
73400/100Lの二次処理水を5logの除去率で三次処理する	$1.68 \times 10^{-6}$	$7.49 \times 10^{-9}$	$1.29 \times 10^{-4}$	$1.46 \times 10^{-12}$
三次処理水で検出された最大のウイルス濃度111/100 Lの場合	$2.51 \times 10^{-2}$	$1.13 \times 10^{-4}$	$8.44 \times 10^{-1}$	$2.27 \times 10^{-4}$
検出限界のウイルス濃度1/100 Lの場合	$2.29 \times 10^{-4}$	$1.02 \times 10^{-6}$	$1.74 \times 10^{-2}$	$2.04 \times 10^{-8}$

除去率のシナリオを加えてリスク評価を行った結果がTABLE 7である。対象微生物はデータがあるウイルスの中で最も感染力の高いechovirus 12を用いている。

この中で人体接触が直接行われるレクリエーションの水浴ではEPAの定めた水道での許容リスクである $10^{-4}$ を上回るリスクとなることが示された。これは大きな波紋を呼んだが、結論としては現時点でのデータ量では確かなことが言えないということ、Los Angeles市の処理場でのデータの平均値を使うと、さらに一万分の一のリスクになること、変動性が非常に高いため、リスク評価に用いる微生物の代表濃度をどうとるかについてはコンセンサスが取れていない、等いろいろ議論はつきない。

#### 4 指標微生物について <sup>1)14)</sup>

前述の各微生物基準において指標微生物としての大腸菌群の意義、役割については説明した。この大腸菌群が指標微生物として果たしてきた役割は衛生管理の上で非常に大きい。しかし近年、新たな病原微生物の確認と検出技術の進歩による原因確定率の上昇に伴い、大腸菌群ではまかなえない側面も現れてきた。指標微生物は以下の点を備えておく必要がある。

- 病原体が存在するところには必ず存在すること
- 病原体と同程度もしくはそれ以上の数が存在すること
- 糞便汚染を明確に示すこと
- 水処理及び消毒過程において、病原体と同程度もしくはそれ以上の耐性を持つこと
- 非病原性であり、簡便、迅速、廉価な方法であることが望ましい。

大腸菌群は次のような問題点が指摘されている。

- 糞便に由来しない大腸菌群の存在：前述のように糞便由来以外の大腸菌群は土壌などに存在するため、大腸菌群の検出が、即糞便汚染と判断されるおそれがあり、上のa)とc)に関して不十分である。
- 定量生の問題：現在の大腸菌群試験方法の中にはストレス損傷を受けた大腸菌群が検出されなかったり、腸内細菌科に含まれない細菌が誤陽性を示すこともあると指摘されている。
- ウイルスや原虫への指標性の問題：以前は病原といえば細菌しか対象とされなかった（というよりできなかった）が、近年水系感染症はウイルスと原虫による感染症の割合が細菌のものを凌ぐ勢いである。ウイルス、原虫はそのサイズ、生活環が細菌とは大きく異なるため、環境

中の挙動及び処理プロセスにおける挙動が大腸菌群とも大きく異なることがある。従って上のd)に関して不十分である。

#### 2.3.1. 大腸菌以外の指標生物について

##### 1) 大腸菌

大腸菌はヒト糞便中の大腸菌群の90%以上を占める。また糞便以外にはほとんど存在しないので、糞便汚染の指標としては非常に有効である。近年、迅速に大腸菌のみを特定する試験方法（MMO-MUG法：特定酵素基質培地法）が開発されている。この方法では従来法よりも高濃度に検出されるが大腸菌群も同時に測定できるという特徴をもつ。米国のいくつかの州では既に大腸菌を環境水中の糞便汚染の指標として導入しているところもある<sup>7)</sup>。

##### 2) 糞便性大腸菌群

培養温度を45℃付近に設定して、温血動物に生息する大腸菌群のみを選択しようと導入された指標である。大腸菌以外の細菌も含まれるが、糞便汚染の指標としては大腸菌群よりも指標性としては高いと言われている。特に糞便性大腸菌群/大腸菌群の比と汚染の程度の関連性が認められている。日本でも水浴場の基準として導入されている。

##### 3) 糞便性連鎖球菌・陽球菌

腸管内に常在する連鎖球菌のうちの数種の細菌群であり、特定培地を用いて糞便性大腸菌群と同様に45℃で培養する。主としてStreptococcus属の細菌群からなる。この細菌群の特徴は大腸菌に比べて存在量が1~2オーダー少ないものの、・消毒耐性が大腸菌よりも強い、・環境中で増殖が少ない、という点で優れている。この観点から、ウイルスを含めた指標としての可能性も高いと考えられている。

##### 4) ウェルシュ菌 (Clostridium perfringens : 旧名C. welchii)

ヨーロッパでは古くから使われていた指標である。糞便中に存在する嫌気性有芽胞菌である。米国や日本では、検出頻度にばらつきがある、検出感度が悪い、などの理由から使われなかった。しかし近年試験方法が改良され糞便での検出率が100%となったこと、さらに糞便以外ではほとんど存在しないこと、環境中でほとんど増殖しない、ということから注目を集めている。またこの菌は消毒耐性が高いことから原虫シストの代替指標の可能性が検討されている。

##### 5) 原虫類汚染の指標

GiardiaやCryptosporidiumと言った原虫は、環境中の耐性が強く、塩素などの消毒耐性も強い。その

ため大腸菌群によってその挙動を押し量ることは現実的ではない。ただ人畜共通の病原ではあるが、下水中での濃度は高く、糞便汚染の有無によってまずは管理することが大切である。ただしこれは充分条件ではないので、消毒耐性の強い指標との組み合わせを検討しているところである。

日本では浄水処理におけるクリプトスポリジウムの除去管理方法として、適切な凝集沈殿ろ過処理を行って懸濁物質として十分な除去を行うということから、濁度で0.1度以下という暫定指針を立てている<sup>3)</sup>。

## 6) ウイルス汚染の指標

近年、米国、ヨーロッパを中心にウイルスの検出技術が進歩しており、環境水及び飲料水からの検出データも数多く見られるようになってきた。しかしこれらの検出可能なウイルスは全体の数%であると考えて置かねばならない。またこれらの検出方は、生死の判定を含んでいるものではないため、安全側の指標とはなるものの、消毒効率を確認するための指標とはなりにくい側面をもつ。そこでウイルス汚染の評価指標として大腸菌ファージが有望視されている。大腸菌ファージは大腸菌の存在下で増殖することから、し尿汚染と言うよりは下水汚染の指標と言えるであろう。また大腸菌ファージの中でも特にF特異RNAファージは形状、大きさ、その他の特性が動物ウイルスによく似ているということから、動物ウイルスの代替指標として検討されている<sup>15)</sup>。現在EPAではこのF特異RNAファージの公定法を定めており、低濃度検出法を含めてウイルス指標の一つとして推奨している。

## 参考文献

- 1) 金子光美：水質衛生学、技報堂出版、1997.
- 2) 金子光美監訳：飲料水の微生物学、技報堂出版、1992.
- 3) 厚生省：水道におけるクリプトスポリジウム暫定対策指針、1998.
- 4) Haas C.N., Rose J.B. and Gerba C.P. : Quantitative Microbial Risk Assessment, John Wiley & Sons, Inc. 1999.
- 5) 日本環境管理学会編：新水道水質基準ガイドブック、丸善、1998.
- 6) 松尾友矩編：水環境工学、オーム社、1999.
- 7) Wastewater Disinfection, Water Environment Federation, 1996.
- 8) 浅野孝他監修：水環境の工学と再利用、北海道大学図書刊行会、1999.
- 9) 大垣眞一郎：塩素代替消毒技術の現状と今後の課題、水環境学会誌、Vol.21, No.9, pp.2-7、1998.
- 10) 近畿水問題合同研究会：高度浄水処理と安全な水、自治体研究会、1994.
- 11) Asano T. et.al : Wastewater Reclamation and Reuse, Technomic publishing co.inc., 1998.

- 12) Regli S., Rose J.B., Haas C.N., and Gerba C.P. : Modeling the risk from Giardia and viruses in drinking water, J. AWWA, Vol.83, No.11, P.76 1991.
- 13) Asano T., Leong L.Y.C. Tennant A. and Sakaji R.H. : Evaluation of the California waste water reclamation criteria using enteric virus monitoring data, Water Science and Technology, vol.26, No.7-8, p.1513, 1992.
- 14) 猪又明子：水質管理の現場からみた微生物基準/指標微生物の要件、第2回日本水環境学会シンポジウム講演週、p.215、1999.
- 15) Sobsey et.al : Male-specific Coliphages as Indicators of Viral Contamination of Drinking Water, Report of AWWA research Foundation, 1995.
- 16) Haas C. : Estimation of risk due to low doses of micro-organisms : A comparison of alternative methodologies, J. of Epidemiology, Vol.18, No.4 p.573, 1983.