

水道水源におけるクリプトスポリジウム等調査

本 田 俊 郎 吉 國 謙 一 郎 上 野 伸 広*
 下 堂 蘭 正 弘**

1 はじめに

クリプトスポリジウム症(以下「クリプト症」という。)は、*Cryptosporidium parvum*(以下「*C. parvum*」という。)の経口感染に起因する、激しい下痢、腹痛を主徴とする原虫性の感染症である。本疾患に有効な薬剤は確立されていないが健常人では自然治癒する¹⁾。*C. parvum*のオーシストは直径4.5~5.4μmで、次亜塩素酸溶液などの各種消毒剤には極めて強い抵抗性を示し、また、オーシスト数個から10数個での経口摂取で、感染が成立すると言われている²⁾。

これらの特性より、欧米では1980年代から水道水によるクリプト症の集団感染が多発しており、さらに食品・プール・湖等での集団感染も発生している。

平成8年6月に埼玉県越生町で発生した水道水による集団下痢症の原因として本原虫が注目されて以来、同年10月厚生省は緊急に「水道水におけるクリプトスポリジウム暫定対策指針」(平成10年6月、平成13年11月改正)を策定し、各都道府県に早急な対応をとるよう通知した。

本県ではこの通知に基づき平成9年度から分析機器を中心とした環境保健センター(旧衛生研究所)、保健所の水質検査体制の整備を行い、翌年度から県内各水道水源のクリプトスポリジウム等の実態調査を実施してきた。

本報では、平成13年度までの調査結果と若干の検査方法の検討を行ったので報告する。

2 調査方法

2.1 調査対象水源

県内の水道水源のうち汚染を受けやすい表流水、伏流水等の水道原水から、平成10~11年度各20か所、12年度10か所、13年度5か所計55か所(表1)を選定し、調査を実施した。

2.2 試料採水方法

対象水源より直接採取できる場合、清浄20リットルポ

リ容器(アジ化ナトリウム入り)に直接採水後、当日当センターに搬入、冷暗所に保存し、なるべく早く検査に供した。

なお、採水の際、天気・気温・水温・pHを計測記録した。

表1 年度別調査対象水源種類等

水源種類	年度	10	11	12	13	計(か所)
表流水		14	11	7	3	35
伏流水		3	2	1	1	7
深・浅井戸		2	1	1		4
湧水		1	4			5
ダム水			2		1	3
湖沼水				1		1
		20	20	10	5	55

2.3 クリプトスポリジウムオーシストの検査方法

厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課長「水道に関するクリプトスポリジウムのオーシストの検出のための暫定的な試験法」《(以下「暫定試験法」という。)平成10年6月19日付け衛水第49号通知》に準じて検査したが、この方法はその名の通り、暫定的に定められた方法であり、多くの機関で様々な改良工夫がされており³⁾、当センターでの検査フローを図1に示す。

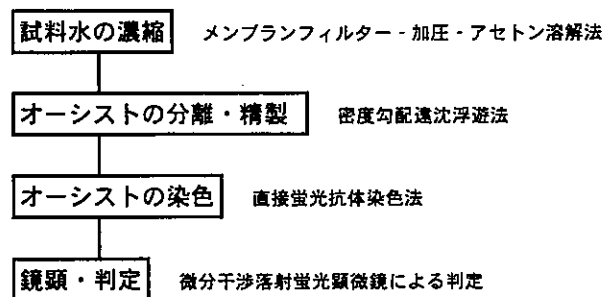


図1 クリプトスポリジウム検査フロー

* 鹿児島県立大島病院 〒894-0015 名瀬市真名津町18-1
 ** 鹿児島県保健福祉部生活衛生課 〒890-8577 鹿児島市鴨池新町10-1

2. 3. 1 試料水の濃縮

水源種類(濁度の高低)に関係なく、メンブランフィルター(混合エステル 孔径 $1.2\mu\text{m}$, 直径 142mm)で試料水を加圧濾過し、アセトンでフィルターを溶解後、95%アルコール、次いでPBS(リン酸塩緩衝食塩水 pH7.4)で処理し、濃縮試料とした。

2. 3. 2 オーシストの分離・精製

濃縮試料から比重 1.1 のpercoll-ショ糖混合液、PBSによる密度勾配遠沈浮遊法により、目的オーシストを回収した。

2. 3. 3 オーシストの蛍光染色(直接蛍光抗体染色)

精製・回収試料を沸騰水中で加熱処理した後、メンブランフィルター(セルロースアセテート製 孔径 $3\mu\text{m}$, 直径 25mm)で吸引濾過しながら、DAPI(4',6-diamidino-2-phenylindole)による核染色、染色キット(AquaGlo G/C Direct)を用いたFITC(Fluorescein-5-isothiocyanate)によるオーシスト壁の染色を実施した。

2. 3. 4 オーシストの顕微鏡・判定

蛍光染色したプレパラートは、微分干渉落射蛍光顕微鏡(Nikon製ECLIPSE E600)で顕微鏡し、「暫定試験法」に示されたオーシストの染色像および微分干渉像に基づいて判定した。

なお、平成13年度よりG励起フィルター導入による、微細藻類との鑑別も行った。

特に、雨天時採水の原水・ダム水など濁りの多い水の場合、夾雑物が多量に含まれるため、その後の操作に手間がかかり、蛍光染色して顕微鏡する際にかなり時間を要した。また、精製・回収試料を蛍光染色する前処理に沸騰水中で加熱処理すると、確かに核の染まりは良くなったが、過度(5分以上)の加熱はオーシストの形状が歪になり、判定困難を招くおそれがある。

さらに、平成13年度は、顕微鏡・判定の際にG励起フィルターを用いることで、オーシストと判定困難な微細藻類の鑑別が容易になった。

4 まとめ

平成10年度から13年度に選定調査した県内55か所すべての水道水源原水から、クリプトスポリジウム及びジアルジアは検出されず、クリプトスポリジウム等の汚染が進んでいないことをうかがわせた。しかし、本県水道水源の地理的条件等を考慮すると、引き続き水道水源水質の実態把握に努める必要がある。

今後、厚生労働省による「暫定試験法」による検出を基本としつつ、最新の知見を踏まえ、検出方法の簡素化とオーシストの回収が効率的で迅速な試験法の検討を実施したい。

5 おわりに

この調査にあたり、水道水源原水試料採取等にご協力頂いた、県内各水道事業体担当の方々へ深く感謝する。

3 結果及び考察

3. 1 調査結果

平成10年度から13年度までに実施したクリプトスポリジウム等検査結果を、表2に示す。

調査した水源原水55か所すべての検査試料から、クリプトスポリジウムのオーシスト及びジアルジア(鞭毛虫類に属する原虫)⁴⁾のシストは、検出されなかった。

3. 2 検査法の検討

まず、試料水の濃縮の際に、混合エステルフィルターを使用しているため、アセトンで溶解処理をしなければならず、廃液処理の問題が生じた。また、その膜の構造上、オーシストの回収率が低下する⁵⁾ことも報告されており、今後検討したい。

次に、分離・精製の際の術式熟練と丁寧な操作が、陽性コントロールを用いた回収率試験に、影響を与えた。

参考文献

- 1) 井関基弘; 検査と技術 vol. 28 No. 2 (2000): 108-114
- 2) 山本徳栄; 埼玉県衛生研究所所報 35号 (2001): 70-75
- 3) 保坂三継; 東京都立衛生研究所年報 (1999): 264-268
- 4) 国立感染症研究所感染症情報センター; 病原微生物検出情報月報 vol. 22 No7 (2001): 1-7
- 5) 関文威; 生態学研究法講座11, 水界微生物生態研究法 (1976): 22-23

表2 年度別クリプトスポリジウム等検査結果

平成10年度 クリプトスポリジウム等検査結果

No	水道名	採水地	水源の種類	浄水方法	天気	気温	水温	pH	検査結果
1	指宿市上水道	玉利水源	浅井戸	消毒のみ	—	—	—	—	検出せず
2	枕崎市上水道	金山浄水場	表流水	急速ろ過	晴れ	30.1	24.2	7.5	検出せず
3	吹上町中央簡易水道	中央第2水場	表流水	緩速ろ過	晴れ	30.1	26.5	7.6	検出せず
4	串木野市上水道	山之神水源	伏流水	急速ろ過	晴れ	29.5	30.2	8.5	検出せず
5	下飯村長浜簡易水道	藤里川	表流水	急速ろ過	小雨	18.9	17.5	7.6	検出せず
6	上飯村簡易水道	江石水源	表流水	緩速ろ過	曇り	25.4	18.7	7.6	検出せず
7	川内市上水道	丸山浄水場	表流水	急速ろ過	曇り	16.7	17.8	7.8	検出せず
8	宮之城町上水道	西手水源	伏流水	消毒のみ	雨	23.0	22.8	6.7	検出せず
9	阿久根市尻無簡易水道	尻無第2水場	表流水	緩速ろ過	晴れ	33.5	25.0	7.5	検出せず
10	恰良町上水道	山田水源	地浅井戸	消毒のみ	晴れ	30.5	22.0	6.6	検出せず
11	国分市上水道	台明寺水源	伏流水	消毒のみ	晴れ	30.5	18.3	6.6	検出せず
12	有明町東部地区簡易水道	土橋水源	伏流水	消毒のみ	晴れ	29.5	18.6	—	検出せず
13	鹿屋串良上水道	高牧水源	表流水	緩速ろ過	曇り	25.6	19.7	7.1	検出せず
14	佐多町中央簡易水道	四谷水源	表流水	緩速ろ過	雨	20.4	17.2	7.5	検出せず
15	吾平町簡易水道	恰良川	表流水	緩速ろ過	雨	19.4	17.6	7.6	検出せず
16	西之表市上水道	甲女川	表流水	緩速ろ過	曇り	—	—	—	検出せず
17	屋久町高平・麦生簡易水道	高平麦生地区水源	表流水	緩速ろ過	曇り	—	—	—	検出せず
18	瀬戸内町手安簡易水道	山田川	表流水	急速ろ過	曇り	25.2	19.7	7.8	検出せず
19	知名町上水道	田皆暗川	表流水	急速ろ過	晴れ	24.8	21.5	7.8	検出せず
20	徳之島町上水道	大瀬川	表流水	緩速ろ過	晴れ	19.2	19.7	8.4	検出せず

平成11年度 クリプトスポリジウム等検査結果

No	水道名	採水地	水源の種類	浄水方法	天気	気温	水温	pH	検査結果
1	串木野市上水道	山之神浄水場	伏流水	急速ろ過	雨	25.1	24.3	7.2	検出せず
2	東市来町上水道	皆田浄水場	伏流水	緩速ろ過	雨	25.1	23.3	6.0	検出せず
3	祁答院町藺牟田簡易水道	藺牟田横石水源	湧水	消毒のみ	晴れ	29.7	17.5	6.8	検出せず
4	吉田町北部簡易水道	北部浄水場	表流水	緩速ろ過	晴れ	29.4	20.0	6.8	検出せず
5	喜入町瀬々串簡易水道	瀬々串浄水場	浅井戸	消毒のみ	曇り	26.3	19.5	5.8	検出せず
6	枕崎市上水道	深浦浄水場	湧水	消毒のみ	雨	23.0	20.2	5.8	検出せず
7	上飯村中飯簡易水道	平良浄水場	ダム	緩速ろ過	雨	25.0	22.2	7.2	検出せず
8	東町片側簡易水道	片側配水池	ダム	急速ろ過	雨	25.6	19.8	6.5	検出せず
9	上屋久町小瀬田地区簡易水道	小瀬田浄水場	表流水	緩速ろ過	曇り	22.5	20.5	7.6	検出せず
10	屋久町安房地区簡易水道	安房第1浄水場	表流水	緩速ろ過	曇り	22.2	19.4	7.6	検出せず
11	西之表市田之脇簡易水道	田之脇浄水場	表流水	急速・緩速	晴れ	29.5	22.9	7.7	検出せず
12	中種子町中上水道	古房浄水場	表流水	急速・緩速	晴れ	25.6	21.9	7.6	検出せず
13	南種子町上水道	上中浄水場	表流水	急速・緩速	晴れ	28.9	21.2	7.5	検出せず
14	財部町上水道	城山配水池	湧水	消毒のみ	晴れ	30.1	19.1	6.8	検出せず
15	垂水市上水道	内之野浄水場	表流水	急速ろ過	晴れ	28.5	22.0	7.7	検出せず
16	佐多町島泊地区簡易水道	島泊浄水場	表流水	緩速ろ過	晴れ	30.1	22.9	7.8	検出せず
17	大根占町簡易水道	上之宇都配水池	湧水	消毒のみ	晴れ	33.2	20.9	7.3	検出せず
18	高尾野町上水道	鳥越浄水場	表流水	緩速ろ過	晴れ	11.4	11.0	7.2	検出せず
19	入来町山之口簡易水道	山之口浄水場	表流水	緩速ろ過	晴れ	11.6	13.3	7.3	検出せず
20	鶴田町中央簡易水道	中央配水池	表流水	緩速ろ過	晴れ	11.8	12.4	7.5	検出せず

平成12年度 クリプトスポリジウム等検査結果

No	水道名	採水地	水源の種類	浄水方法	天気	気温	水温	pH	検査結果
1	川内市上水道	丸山浄水場	表流水	急速ろ過	曇り	24.9	21.4	7.3	検出せず
2	東郷町上水道	利根川浄水場	表流水	急速ろ過	曇り	23.3	17.6	7.1	検出せず
3	名瀬市上水道	平田浄水場	表流水	急速ろ過	雨	29.0	23.8	6.8	検出せず
4	大和村名音簡易水道	名音浄水場	表流水	緩速ろ過	雨	31.6	23.1	7.1	検出せず
5	喜入町宮坂簡易水道	宮坂浄水場	伏流水	緩速・急速	晴れ	32.5	19.3	6.9	検出せず
6	指宿市上水道	池田浄水場	浅井戸	消毒のみ	曇り	27.6	19.7	7.0	検出せず
7	山川町上水道	小雁渡浄水場	湖沼	緩速・急速	曇り	28.9	19.0	6.7	検出せず
8	垂水市上水道	内之野浄水場	表流水	緩速・急速	雨	25.7	21.9	7.1	検出せず
9	吾平町上水道	吾平浄水場	表流水	緩速ろ過	雨	27.2	21.1	7.1	検出せず
10	内之浦町北方南方簡易水道	水尻浄水場	表流水	急速ろ過	雨	23.8	21.3	6.2	検出せず

平成13年度 クリプトスポリジウム等検査結果

No	水道名	採水地	水源の種類	浄水方法	天気	気温	水温	pH	検査結果
1	枕崎市上水道	金山浄水場	表流水	急速ろ過	晴れ	33.0	23.0	7.1	検出せず
2	東市来町上水道	皆田浄水場	伏流水	緩速ろ過	曇り	29.0	21.0	6.5	検出せず
3	吹上町中央簡易水道	中央第2浄水場	表流水	緩速ろ過	晴れ	32.0	23.5	7.0	検出せず
4	笠利町第1東部簡易水道	須野浄水場	ダム	急速ろ過	晴れ	28.7	28.1	7.0	検出せず
5	龍郷町龍南簡易水道	龍南浄水場	表流水	急速ろ過	晴れ	29.0	22.9	7.0	検出せず