

7. 病原性微生物の発生源および対策に関する調査

下水道処理研究室 室長 中島英一郎
主任研究官 山下 洋正
研究官 齋野 秀幸

1. はじめに

下水道の普及や水利用の高度化に伴い、取排水系統が複雑化して下水処理場の放流点の下流で水道取水が行われていたり、特に都市河川等において下水処理水が河川流量の大きな割合を占めたりするようになってきている。また、水資源の有効利用、新規水需要の抑制の観点から、高度に処理した下水処理水を再利用水として様々な形態で利用する事例も近年増加傾向にある。このように、都市・流域の水循環における下水処理水の影響が今後ますます重要となってくるものと考えられる。

下水道にはヒトの排泄物が流入するため、ヒト腸管系の疾患をもたらす様々な水系感染症の原因微生物が下水中に存在することが想定される。その中には、細菌のみならず、塩素消毒により強い耐性を持つウィルス、原虫類等の新たな病原微生物が存在することが報告されており¹⁾²⁾³⁾、下水道においても制御が重要となっている。

よって、本調査においては、このような病原微生物等に関して発生源を明らかにするとともに、負荷削減手法等の対策の検討を行うものである。

10年度は、クリプトスポリジウムの測定方法並びに活性汚泥処理法による除去能力の把握及び除去効率の向上に関する検討を行うとともに、下水中からのウィルスの検出方法について検討した。

11年度は、パイロットプラント等を用いてクリプトスポリジウムの活性汚泥法による除去能力の把握並びに凝集剤添加及び砂ろ過による除去効率の向上に関して検討を行った。

12年度は、パイロットプラント等を用いてウィルスの消毒耐性の把握および、砂ろ過による除去に関して検討を行った。

13年度は、下水処理中のクリプトスポリジウム存在量の全国的なモニタリング調査を実施し、その存在量を把握して定量的リスク評価を行った。

2. 調査方法

調査にあたり、まずクリプトスポリジウムの測定手法について検討し、全国モニタリング調査を行うための測定法を決定した。次に、下水処理中のクリプトスポリジウム存在量の全国的なモニタリング調査を実施し、その存在量を把握した。このデータに基づいてクリプトスポリジウム存在量分布を統計的に推定し、下水処理水によるクリプトスポリジウムのヒト健康リスクの現状について、定量的評価を実施した。

3. 結果と考察

3. 1 クリプトスポリジウム測定法の検討

クリプトスポリジウムのオーシストの測定法について、これまでに開発した手法を整理し、回収率の確認、新たな染色試薬の使用による手法改善を検討した。

クリプトスポリジウムの測定は、試料水中よりオーシストを分離し、顕微鏡により観察して定量することを基本としているが、その具体的手法については、平成10年度に開発した測定法²⁾をベースとして試薬等の改良を行った測定法を標準とした。本測定法は、図-1に示す通り、ふるいとろ紙によるろ過、遠心分離による濃縮、免疫磁気ビーズによる分離、直接抗体染色蛍光試薬によるオーシスト壁染色、DAPI 試薬によるスポロゾイト核染色、プレパラート調製、落射蛍光顕微鏡及びノマルスキー微分干渉顕微鏡による検鏡・内部観察を行うものである。本測定法に要する作業時間は、2試料を同時に処理する場合、前処理で約3時間半、検鏡で約2～3時間であった。

本測定法によるクリプトスポリジウムのオーシストの回収率は、これまでの調査結果より、表-2に示す通り流入下水で27.5%、二次処理水で35.1%と設定し、測定値をこの回収率で換算することにより真のクリプトスポリジウム濃度を算出した。

表-1 クリプトスポリジウム測定法の回収

試料番号	試料種別	量(ml)	クリプトスポリジウム添加量(個)	回収数(個)	回収率(%)	平均回収率
1	流入水	200	910	286	31.4%	27.5%
2		200	910	285	31.3%	
3		200	910	179	19.7%	
4		200	910	251	27.6%	
5	二次処理水	2.5L	910	293	32.2%	35.1%
6		2.5L	910	348	38.2%	
7		10L	910	316	34.7%	

3.2 クリプトスポリジウム存在量の全国調査

平成13年10月より平成14年3月までの6ヶ月間、全国8下水処理場(A~H)において、月1回流入下水、二次処理水及び再生水のクリプトスポリジウム濃度測定を行った。調査対象の処理場の概要を表-2に、水処理方法について表-3にそれぞれ示す。

表-2 調査処理場の規模

	処理面積(ha)	処理人口(千人)
最大	10,543	770
平均	5,262	411



図-1 クリプトスポリジウム測定法の概要

表-3 調査処理場の水処理方法

処理方法	処理場数
生物的二次処理	8
+砂ろ過	4
+凝集剤+砂ろ過	2

試料の採取にあたっては、24時間コンポジット採水(流量比混合)を原則としたが、一部の試料についてはコンポジットの均等混合又はスポット採水であった。測定結果を、流入水について図-2に、処理水について図-3にそれぞれ示し、データの概要を表-4に示す。

測定データ数がそれほど多くないため、測定値の傾向について現時点で確定的な判断をすることは難しいが、冬期において濃度が上昇する傾向が若干見受けられるとともに、処理法が二次処理のみ→砂ろ過→凝集剤+砂ろ過と高度になるほどクリプトスポリジウム濃度が減少しており、下水処理によりクリプトスポリジウムが除

去されていることが確認できる。

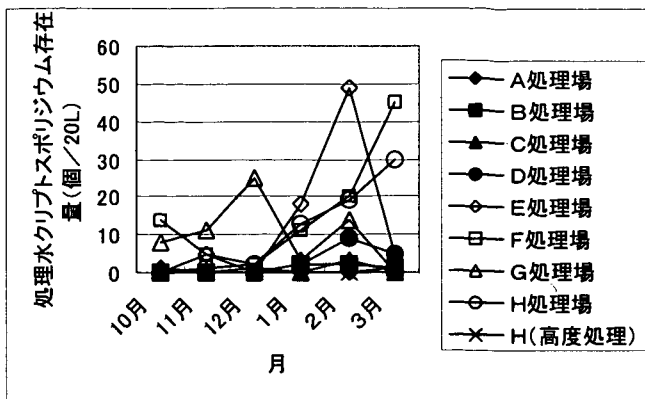
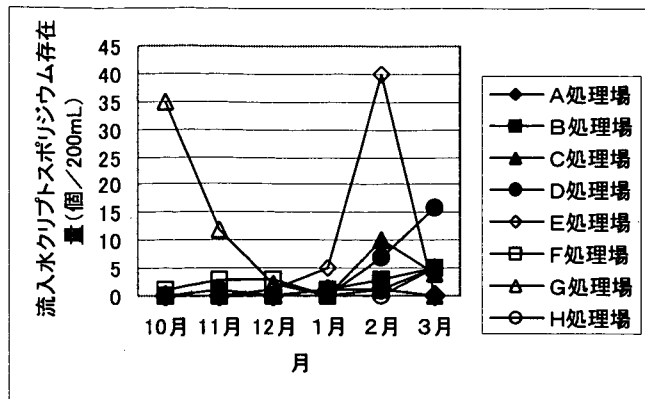


図-2 クリプトスポリジウム測定値（流入下水）

図-3 クリプトスポリジウム測定値（処理水）

表-4 下水試料中の Cryptosporidium 測定結果

	流入下水 (個/200ml)	二次処理水 (個/20L)	砂ろ過水 (個/20L)	凝集剤+砂ろ過水 (個/20L)
試料数	47	29	12	12
算術平均	3.5	10.4	1.5	0.25
分散	75.1	276.0	9.3	0.83
標準偏差	8.7	16.6	3.1	0.91
最小値	0 (23件)	0 (6件)	0 (7件)	0 (10件)
最大値	40 (1件)	49 (1件)	9 (1件)	3 (1件)

注：二次処理水及び凝集剤+砂ろ過水の3試料は18.5~19L当たりの個数である。

3.3 クリプトスポリジウム濃度の確率分布の推定

生物の計数値は非負値であるため、経験的に正規分布よりも正にひずんだ対数正規分布によく従うとされている。そこで本測定データについても、下水中のクリプトスポリジウム濃度が従う確率分布として対数正規分布を仮定した。

ここで、測定値が対数正規分布に従うとは、測定値の対数値が正規分布（式-1）に従うことを意味する⁵⁾。

$$f(t) = \int_{-\infty}^{\infty} \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} e^{-\frac{(t-m)^2}{2\sigma^2}} \dots \text{(式-1)}$$

対数正規分布の確率密度関数 $f(x)$ は次の通りとなる。

$$f(x) = \int_{-\infty}^{\infty} \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} e^{-\frac{(\log(x)-m)^2}{2\sigma^2}} \dots \text{(式-2)}$$

ここで、 σ は対数標準偏差、 m は対数平均となる。また、算術平均 μ 及び算術分散は次の通りである。

$$\text{算術平均 } \mu = e^{\left(m + \frac{\sigma^2}{2}\right)} \dots \text{(式-3)}$$

$$\text{算術分散} = \mu^2 \left(e^{\sigma^2} - 1 \right) \dots \text{(式-4)}$$

表-4に示す測定値の算術平均と対応するのが算術平均パラメータ μ であり、対数平均パラメータ m は測定値の幾何平均値と対応することになる。

測定値を対数平均分布に当てはめる手法は、正規確率紙と原理的に同じであり、次の通りである⁶⁾⁷⁾。

測定値の対数値を取り、それを小さい順に並べ直して得られる非超過確率（トーマスプロット法）を経験的な累積分布関数値とみなすと、その値の「標準正規分布の累積分布関数の逆関数値」が「観測値の正規化値」に相当することから、縦軸を観測値、横軸を逆関数値としてプロットすると、y切片が平均、傾きが標準偏差の回帰直線が得られる。具体的には、

(1) 観測値 X_i → 非超過確率 P_i → 累積分布関数の値 F_{xi} の算出

(2) 観測値の正規化値 Z_i → 標準正規分布の累積分布関数の値 F_{zi} の算出

を実施し、ここで F_{xi} と F_{zi} が等しいことから、

(3) 観測値の正規化値 Z_i ← F_{xi} について標準正規分布の累積分布関数の逆関数の値 であり、

$$Z_i = (X_i - m) / \sigma \rightarrow X_i = \sigma Z_i + m \dots (式-5)$$

より、縦軸に観測値 X_i 、横軸に観測値の正規化値 Z_i すなわち「観測値 X_i の非超過確率 $P_i (= F_{xi})$ について標準正規分布の累積分布関数の逆関数の値」をプロットすると、回帰直線 $y = \sigma x + m$ より、平均 m 及び標準偏差 σ が求められる。

こうして測定値を対数正規分布にあてはめた結果を、流入下水について図-4に、処理水について図-5に、二次処理水について図-6に、砂ろ過水について図-7に示す。

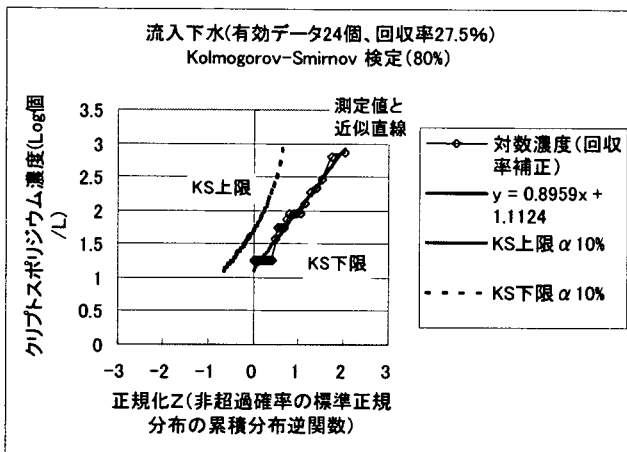


図-4 クリプトスポリジウム濃度測定値の対数正規分布への適合性（流入下水）

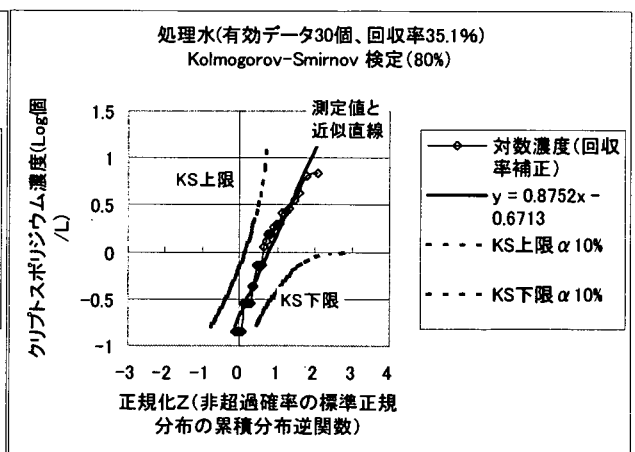


図-5 クリプトスポリジウム濃度測定値の対数正規分布への適合性（処理水（全部））

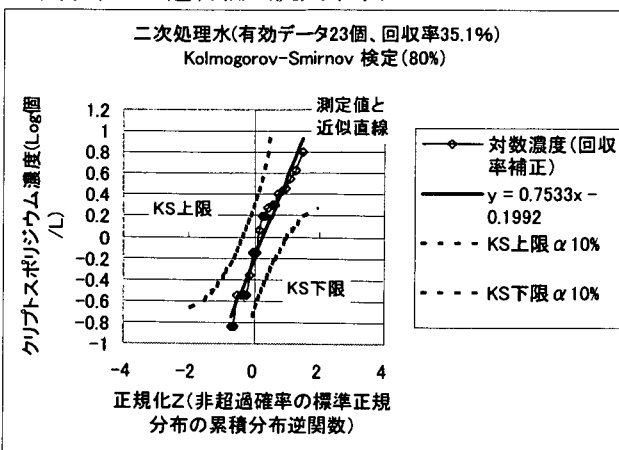


図-6 クリプトスポリジウム濃度測定値の対数正規分布への適合性（二次処理水）

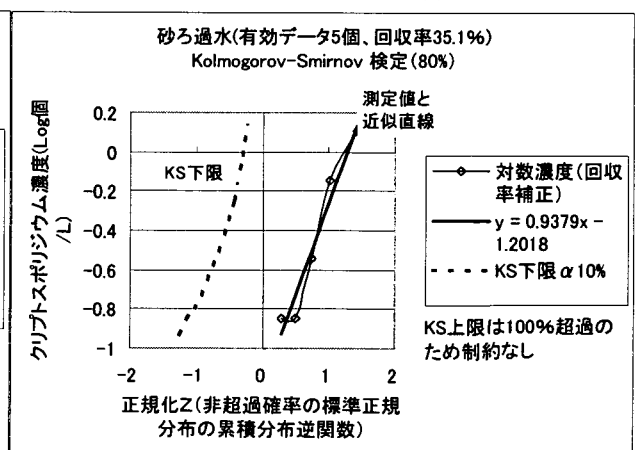


図-7 クリプトスポリジウム濃度測定値の対数正規分布への適合性（砂ろ過水）

また、測定値の対数正規分布への適合性を検証するために、統計テストの一種であるコルモゴロフスミルノフ検定 (Kolmogorov – Smirnov test) を実施した⁶⁾。図中でKS 上限及びKS 下限として示す曲線は、いずれも信頼区間 10%の限界を示しており、いずれの場合においても測定値及び得られた近似直線は信頼区間内であり、80%の信頼性で対数正規分布に従うことが示された。

こうして得られた対数正規分布のパラメータ (対数平均及び対数標準偏差、但し常用対数) に基づいて、流入下水、処理水 (全部)、二次処理水及び砂ろ過水について、その分布状況を試算した結果を図-8 に示す。

流入下水、二次処理水及び砂ろ過水中のクリプトスポリジウム濃度は、幾何平均値でそれぞれ約 13 個/L、約 0.6 個/L 及び約 0.06 個/L であった。

流入下水のクリプトスポリジウム濃度と比較して、処理水は全般的に概ね 2 Log 程度除去され、対数平均値で比較すると流入下水から二次処理水で約 1.3Log、二次処理水から砂ろ過水で約 1Log の除去となっていた。

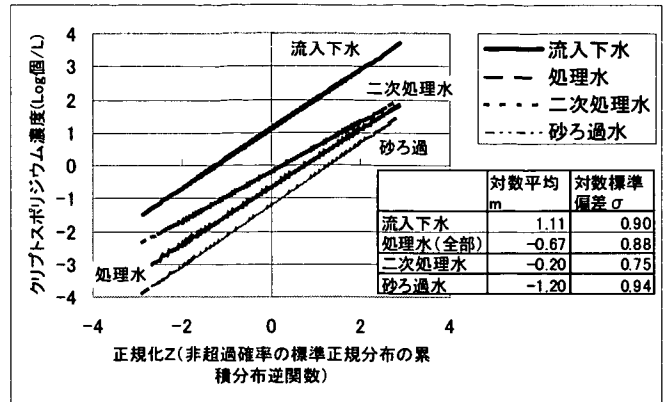


図-8 クリプトスポリジウムの分布状況の試算

3. 4 現状リスク評価

上述の検討で得られたクリプトスポリジウムの存在量に関する対数正規分布パラメータを用いて、下水処理水に関するリスク評価を行った。

リスク評価の対象とする下水処理水の放流・利用先について、仮定した摂取容量と頻度を表-5 に示す^{8) 9)}。

表-5 処理水放流及び再生水利用における曝露頻度および摂取量

接触/再利用形態	被曝者	曝露形態	曝露頻度	1回当たり摂取水量
親水用水 (公園)	公園利用者	水遊び	100 日/年	10mL/日
修景用水 (公園)	公園利用者	魚釣り	2 日/週	1mL/日
水洗用水 (Office)	勤労者	飛沫による接触	5 日/週	0.1mL/日
散水用水 (公園)	公園利用者	芝生等での接触	60 日/年	1mL/日
水浴	水浴者	水浴中の誤飲	40 日/年	100mL/日
水道利用	水道利用者	水道中の飲用利用	365 日/年	2L 又は 1L/日

クリプトスポリジウムの容量反応モデルとしては、式-6 に示す指数型モデルを用いた^{10) 11)}。

$$P = 1 - \exp(-D/k) \dots \dots \dots (式-6)$$

ここで、P：1回の曝露における感染確率

D：1回当たり曝露量 (クリプトスポリジウム個)

k：指数型モデルのパラメータ (238.6)

リスク計算は Monte Carlo 法により各 500 回試行で行い、計算には表計算ソフト (Microsoft Excel™) を用いて乱数を発生させて実施した。計算により求められたヒト一人当たりの年間感染リスク期待値について、平均値を図-9 に、95%信頼区間上限値 (97.5%値) を図-10 に、それぞれ示す。

現実的なシナリオとして、再生水に砂ろ過水、放流水に二次処理水を用いた場合に想定される年間感染リスクは、平均値及び 95%信頼区間上限値ともに $10^{-4} \sim 10^{-2}$ の範囲であると推定された。

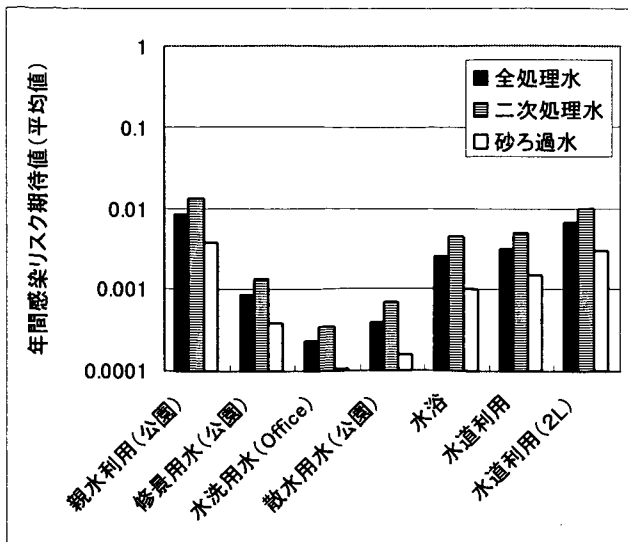


図-9 Monte Calro シミュレーションによる下水処理水の年間感染リスク期待値 (平均値)

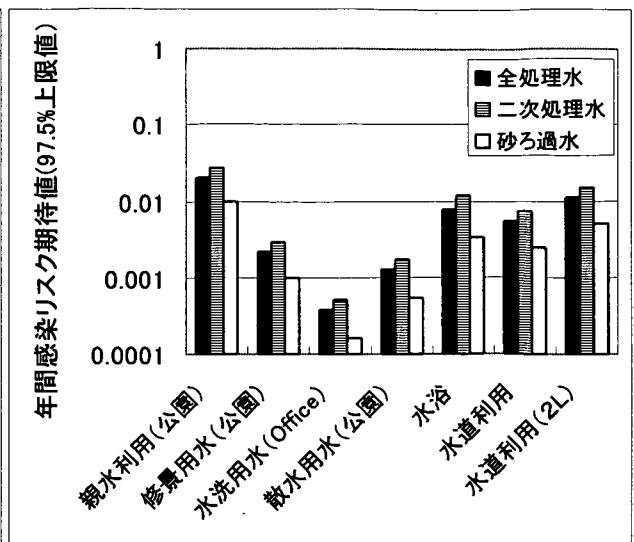


図-10 Monte Calro シミュレーションによる下水処理水の年間感染リスク期待値 (95%信頼区間上限値)

4. まとめ

下水道における病原微生物対策について、クリプトスポリジウムを対象に調査を行い、以下の結果を得た。

(1) 流入下水、二次処理水及び砂ろ過水中のクリプトスポリジウム濃度は、幾何平均値でそれぞれ約 13 個/L、約 0.6 個/L 及び約 0.06 個/L であった。

(2) 下水処理水の放流及び再利用におけるクリプトスポリジウムの年間感染リスク期待値は、現状で 10^{-4} ~ 10^{-2} の範囲と推定された。

なお、本年度のクリプトスポリジウムに関する全国調査データは、「下水道技術会議 処理水、再生水の衛生的水質検討プロジェクト」における調査により収集された。ここにメンバーの地方公共団体（茨城県、埼玉県、東京都、滋賀県、大阪府、横浜市及び京都市）、独立行政法人土木研究所北村研究員及びアドバイザー（摂南大学金子教授、東北大学大村教授、麻布大学平田教授、東京大学片山講師）各位に謝意を表す。

参考文献

- 1) 金子光美編著、水質衛生学、技報堂出版、pp.229-252、2001
- 2) 諏訪守、鈴木穰、下水処理場等におけるクリプトスポリジウムの検出方法の検討及び実態調査、土木研究所資料 3533 号、pp.20-25、1998
- 3) 橋本温、平田強他、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特性、水環境学会誌、Vol.20、No.6、pp.404-410、1997
- 4) 諏訪守、鈴木穰、下水処理過程におけるクリプトスポリジウムの除去効果等、土木研究所資料 3733 号、2000
- 5) Bilal M. Ayyub 他、Probability, Statistics, & Reliability for Engineers、CRC Press、pp.99-106、1997
- 6) Jack R. Benjamin 他、Probability, Statistics, and Decision for Civil Engineers、pp.447-469、CRC Press、1997
- 7) 東京大学教養学部統計学教室編、自然科学の統計学、東京大学出版会、pp.226-228、1992
- 8) 日本下水道協会、下水道におけるクリプトスポリジウム検討委員会最終報告、pp.5、2000
- 9) 矢野一好他、飲水量についてアンケート調査の結果から、第3回日本水環境学会シポジウム講演集、pp.159-160、2000
- 10) Dupont 他、Infectivity of Cryptosporidium Parvum in healthy volunteers., New England Journal of Medicine, 332(13), pp.855
- 11) C.N.Haas, Assessing the risk posed by oocysts in drinking water, Journal AWWA, Sept.131-136, 1996