

# 山梨県内の河川における原虫類調査(1)

堀内雅人 小林 浩

Survey of protozoa in River Waters in pref. Yamanashi (1)

Masato HORIUCHI and Hiroshi KOBAYASHI

キーワード：クリプトスポリジウム, ジアルジア, 河川

水系感染症の原因となる原虫類には、水道浄水処理等に広く用いられている塩素消毒に耐性を持つものが知られている。

特にクリプトスポリジウムやジアルジアは、感染したヒトや動物の糞便とともにオーシスト及びシストと呼ばれる殻に覆われた状態で排出され、河川水等の環境中では増殖しないが、通常の水道水処理で行われている塩素消毒では殺滅は困難である<sup>1)</sup>。

クリプトスポリジウムは、経口による水系感染症を引き起こす代表的原虫であり、我が国でも過去飲用水を介した大規模集団感染例<sup>2,3)</sup>や、プール施設を介した集団感染例がある<sup>4)</sup>。また、感染被害には至らなかったものの水道水からのオーシスト検出事例も散発的に見られる<sup>5)</sup>。クリプトスポリジウムは感染・発症すると下痢・腹痛等を引き起こすが、健常者の場合は免疫により自然治癒する。しかし何らかの理由で免疫不全となっている場合は、下痢が続くことによる脱水症状により致命的となる場合がある<sup>1)</sup>。

一方、ジアルジアも水系感染症の主要な原虫として知られ、我が国では水系感染事例の報告はないが、各地の水道水や河川水よりシストが検出されている<sup>5)</sup>。ジアルジアは感染・発症するとやはり下痢、腹痛等を引き起こすが、成人の場合は感染しても発症しないことが多い<sup>1)</sup>。

我が国では前述したクリプトスポリジウムによる水道水原因の大規模感染発生以後、水道水、河川水等で全国的にこれら原虫類の調査が行われている<sup>6)</sup>。本県では平成9年度から平成17年度まで県内の水道水延べ207件(原水7件 浄水200件)について、クリプトスポリジウムオーシスト及びジアルジアシストの検査が行われ、結果は全て不検出であった<sup>7)</sup>。この結果から本県の水道水に関しては、今のところこれら原虫類による差し迫った脅威は少ないと考えられる。

一方、本県の河川水については調査例が少なく、その実態は明らかになっていない。河川水中のクリプトスポリジウムオーシスト、ジアルジアシストの実態調査は、排出源の推定や河川水に触れるレクリエーション等のリスク評価に活用で

きる基礎データとなる。

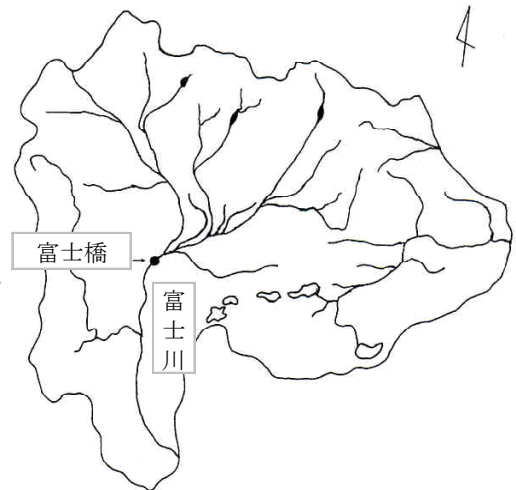


図1 調査地点

ここでは実態調査の手始めとして、本県河川の中でもこれら原虫類の存在する可能性が高いと予想される地点の調査を行ったので報告する。

## 調査地点と項目

調査地点を図1に示す。富士川の富士橋地点は、県内最大の人口を擁する甲府盆地内を流れる河川群の流末であると考えられるため調査地点(採水場所は左岸)とした。

項目は、原虫類(クリプトスポリジウムオーシスト、ジアルジアシスト)、水温、pH、電気伝導度について行った。

## 調査方法

採水は降水量の少ない晩秋期から早春期(平成18年11月

表1 調査結果一覧

年月日／項目	オーシスト*	シスト*	EC** (mS/m)	pH	水温(°C)
2006.11.13	1	9	21.1	7.55	11.2
2006.12.18	1	6	20.9	7.63	9.7
2007.1.15	0	11	22.1	7.47	5.8
2007.3.15	3	10	24.7	7.47	7.7

\*単位:個/10<sup>2</sup>ℓ \*\*電気伝導度

から平成19年3月)にかけて計4回行った。各回とも現地で水温測定後、原虫類用試料は袋状ポリ容器(ユニオンコンテナ)に10ℓ採水し、電気伝導度、pH用試料はポリ容器(250ml)に採水した。

## 試験方法

### 原虫類

文献<sup>8~12)</sup>を参考に次の方法で行った。

試料水をポリカーボネート製フィルター(直径:47mm、孔径:3.0μm)でろ過し、フィルターをPET液(ピロリン酸ナトリウム10水塩:20g、エチレンジアミン四酢酸3ナトリウム:30g、Tween80:10gを精製水に溶かし1ℓとし、用時精製水で100倍希釈する)中でピンセットで軽くもみ洗い後超音波処理(1分間)を行い、その後再びピンセットによるもみ洗いを行いフィルター捕捉物を回収した。回収液をポリ遠沈管(50ml)に移し遠心分離(2500rpm 10分間)を行い沈査及び液下部3mlを残して上澄液を除去した。沈査及び残液を界面活性剤添加PBS溶液によりポリ遠沈管(15ml)に洗い移し、液量を12mlとした。これを遠心分離(2500rpm 10分間)し沈査及び液下部3mlを残して上澄液を除去した。

これをシヨ糖溶液(比重:1.20)により密度勾配分離により精製し(一次精製)、一次精製試料に四倍量以上のシヨ糖溶液(比重:1.03)を加え遠心分離(2800rpm 10min)を行い沈査及び液下部5mlを残して上澄液を除去した(二次精製)。二次精製試料を加熱処理(容器ごと沸騰水中に5分間浸す)後、親水性PTFEフィルター上で蛍光染色(FITC:EASY-STAIN C&G[バイオテクノロジーフロンティア社]とDAPI[同仁化学])後、プレパラートを作製し検鏡した(顕微鏡:Nikon社製OPHTHIPHOTO2)。

クリプトスポリジウムオーシスト、ジアルジアシストの判定は「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方法」<sup>12)</sup>に従った。

### 電気伝導度とpH

上水試験方法<sup>13)</sup>に従い行った。

## 結果

調査地点における原虫類、電気伝導度、pH及び水温の

調査結果を表1に示した。ジアルジアシストは毎回検出され、クリプトスポリジウムオーシストは1月調査時を除き検出された。ジアルジアシストはクリプトスポリジウムオーシストと比較して検出頻度、検出数とも多かった。電気伝導度とpHは大きな変動は見られなかった。

## 考察

河川水のクリプトスポリジウムオーシスト、ジアルジアシストの調査は、我が国でも多数の報告<sup>14~32)</sup>があり検出事例も多いが、本県ではほとんど行われていなかった。

今回の調査では、県内河川でもこれら原虫が存在する可能性が高いと考えた富士川の富士橋地点(甲府盆地内河川の流末地点)を調査した。その結果、ジアルジアシストは毎調査10ℓあたり6~11個、クリプトスポリジウムオーシストは1月の調査を除き10ℓあたり1~3個検出され、県内河川水にもこれら原虫が存在することが明らかとなった。

水系へのクリプトスポリジウムオーシスト、ジアルジアシストの主な排出源として、畜産排水、下水処理放流水等糞便に関係するものが挙げられる<sup>1)</sup>。

富士橋上流で合流して富士川となる釜無・笛吹両河川には、県内でも大規模な複数の下水処理場からの放流水をはじめ、その支流からも浄化槽放流水等の生活排水が流入している。

平成8年に全国67カ所の下水処理場を対象に行われたクリプトスポリジウムオーシスト調査では、オーシストが検出された処理場は全体の1割程度であったとの報告がある<sup>33)</sup>。また、保坂<sup>5)</sup>は文献調査から過去我が国で行われた下水処理場流入水と放流水または二次処理水中の原虫検出例をまとめ、流入水は10ℓあたりクリプトスポリジウムが10<sup>1</sup>から10<sup>3</sup>個、ジアルジアが10<sup>3</sup>から10<sup>4</sup>個のオーダーで、放流水または二次処理水は10ℓあたりクリプトスポリジウムが10<sup>0</sup>から10<sup>1</sup>個、ジアルジアが10<sup>1</sup>から10<sup>2</sup>個のオーダーで含まれると考察している。

土佐は<sup>34)</sup>浄化槽流入水におけるこれら原虫類の実態調査結果はあまり見たことがないとしながらも、下水処理場流入水と処理水での検出例が報告されているため、浄化槽流入水と処理水にもクリプトスポリジウムオーシスト、ジアルジアシストが含まれる可能性を示唆している。

畜産排水については、多数のクリプトスポリジウムオーシス

ト、ジアルジアシストが検出された報告<sup>32)</sup>や畜産排水が主な排出源と推定された報告<sup>25)</sup>がある。このことから畜産排水はクリプトスポリジウムオーシスト、ジアルジアシストの排出源として重要と考えられるが、釜無・笛吹両河川に畜産排水がどれほど流入しているか不明である。

泉山<sup>31)</sup>らは相模川水系において行った原虫調査で、畜産排水が流入する河川ではクリプトスポリジウムが多く検出され、住宅地の生活排水が流入する河川ではジアルジアが多く検出される傾向を報告し、詳細な検討が必要とした上で原虫種により汚染源が異なっていることを推測している。

今回の調査では検出されたクリプトスポリジウムオーシスト、ジアルジアシストの排出源推定はできないが、泉山<sup>31)</sup>らの調査結果を参考にすると生活排水の影響が大きい可能性はある。特に浄化槽については、県内でも広く使用されており、仮に流入水にクリプトスポリジウムオーシスト、ジアルジアシストが大量に含まれる場合、維持管理が不適切であれば放流水とともにこれら原虫類の多くが放出される可能性もある。このため浄化槽における原虫類の挙動について、今後知見を集めていく必要があると考える。

今回の調査は年間でも降雨による影響が少なく比較的水質の変動が少ないと考えられる期間に行った。今後は本調査地点で通年調査を行い季節変動を見るとともに、分離されたクリプトスポリジウムオーシスト、ジアルジアシストの遺伝子解析を試み、上流域の調査と併せてこれら原虫の起源を検討する。また、富士橋下流域についても調査を行い、富士川流域のこれら原虫類による健康影響へのリスク評価を行いたいと考えている。

## 文 献

- 1) 丸善:水道の病原微生物対策,(2006)
- 2) 黒木俊郎:病原微生物検出情報,15,248~249(1994)
- 3) 埼玉県衛生部:クリプトスポリジウムによる集団下痢症報告書(1997)
- 4) 高木正明,鳥海宏:プールに関連したクリプトスポリジウム集団感染事例,第9回日本水環境学会シンポジウム講演集,139~140(2006)
- 5) 保坂三継:クリプトスポリジウムとジアルジアによる水環境及び水道水の汚染,東京都健康安全センター年報,57,31~42(2006)
- 6) 保坂三継:水源河川と水道水の原虫汚染,モダンメディア,52,7,14~21(2006)
- 7) 山梨衛公研年報:業務報告(1997年度~2005年度)
- 8) 日本水道協会:クリプトスポリジウムー解説と試験方法ー
- 9) 佐野和代,三浦美浦,石田宏一:下水水処理場流入水と放流水のクリプトスポリジウム測定法,東京都下水道局技術調査年報(2002)
- 10) 猪俣明子,押味明子,田中繁樹:クリプトスポリジウムオーシストのDAPI染色法の検討,水道協会雑誌,68,4,32~36(1999)
- 11) 佐野茂ら:クリプトスポリジウムオーシストの試験方法の改良,平成9年度日水協関東地方支部水質研究発表会講演集,13~15(1997)
- 12) 厚生省生活衛生局: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について,衛水第49号(1998)
- 13) 日本水道協会:上水試験方法[2001]107~108,114~116
- 14) 保坂三継ら:水環境試料中のクリプトスポリジウムの検出方法並びに検査結果(平成9年度,10年度),東京都衛研年報,50,264~268(1999)
- 15) 保坂三継,矢野一好,眞木俊夫:水道水並びに各種環境水からの原虫類の検出状況(平成11年度),東京都衛研年報,51,248~252(2000)
- 16) 保坂三継ら:水道水並びに水源河川等における原虫類の検出状況(平成12年度調査結果から),東京都衛研年報,52,254~259(2001)
- 17) 保坂三継ら:浄水場原水・浄水等における原虫類並びに指標細菌調査結果(平成13年度),東京都衛研年報,53,223~228(2002)
- 18) 保坂三継ら:水道原水・浄水等における原虫類並びに糞便汚染指標菌類調査結果(平成14年度),東京都健安研七周年報,54,290~295(2003)
- 19) 保坂三継ら:水道原水・浄水等における原虫類並びに糞便汚染指標菌類調査結果(平成15年度,16年度),東京都健安研七周年報,56,305~311(2005)
- 20) 小野一男ら:クリプトスポリジウム汚染実態調査第1報 河川水およびシカとニワトリの糞便からのクリプトスポリジウムの検出状況,兵庫県衛生研年報,34,106~112(1999)
- 21) 対馬典子ら:青森県内におけるクリプトスポリジウム汚染実態調査,青森県環境センター研究報告,10,11~15(1999)
- 22) 伊澤茂樹,尾崎宏美,岩佐智佳:環境水中におけるクリプトスポリジウム実態調査について,徳島保環センター年報,17,21~26(1999)
- 23) 小野一男ら:河川水からの*Cryptosporidium*と*Giardia*の検出状況,感染症学雑誌,75,3,201~207(2001)
- 24) 伊澤茂樹,尾崎宏美:環境水中におけるクリプトスポリジウム実態調査について(第2報),徳島保環センター年報,19,17~20(2001)
- 25) 吉用省三,牧野芳大,帆足喜久雄:大分県主要2河川水系におけるクリプトスポリジウム及びジアルジア汚染実態調査,水道協会雑誌,69,10,11~16(2000)
- 26) 鈴木穰,諏訪守:流域における原虫類実態調査,平成

- 10年度下水道関係調査研究年次報告書集,267～268  
(1998)
- 27) 五十嵐公文ら:利根川・江戸川水系における原虫類共同調査,平成13年度日本水道協会関東地方支部水質研究発表会講演集,16～18(2001)
- 28) 猪又明子ら:秋川・盆堀川上流域におけるクリプトスポリジウム汚染源調査,水道協会雑誌,71,9,31～38(2002)
- 29) 入倉真紀ら:相模川・酒匂川における原虫汚染実態調査,平成14年度日本水道協会関東支部水質研究発表会講演集
- 30) 井上真紀ら:江戸川流域における原虫類の汚染実態,平成15年度日本水道協会関東支部水質研究発表会講演

- 集
- 31) 泉山信司ら:相模川および酒匂川流域におけるクリプトスポリジウムオーシストおよびジアリジアシストの汚染調査,環境技術,30,6,471～475(2001)
- 32) 橋本温ら:相模川水系のクリプトスポリジウムおよびジアリジア汚染とその汚染指標の検討,水環境学会誌,22,4,282～287(1999)
- 33) 鈴木穰ら:下水道におけるクリプトスポリジウムの実態とリスク管理方法,用水と廃水,44,4,46～51(2002)
- 34) 土佐光司:講座 浄化槽と微生物リスク管理[IV]寄生虫感染症,月刊浄化槽,362,33～37(2006)