

都市の水循環と病原微生物

東京大学
大学院工学系研究科 都市工学専攻
片山浩之

自己紹介

片山浩之 講師

研究テーマ

1. 水の微生物学的安全性に関する研究

病原微生物の検出法、水の消毒法、リスク評価、
東南アジアの水中ウイルス検索

目標的

2. 調和型上下水道システムの提案

塩素に頼らない配水システム、紫外線消毒、
光触媒水処理、活性炭と膜の複合浄水システム

技術的

3. 水環境中の遺伝子組み替え

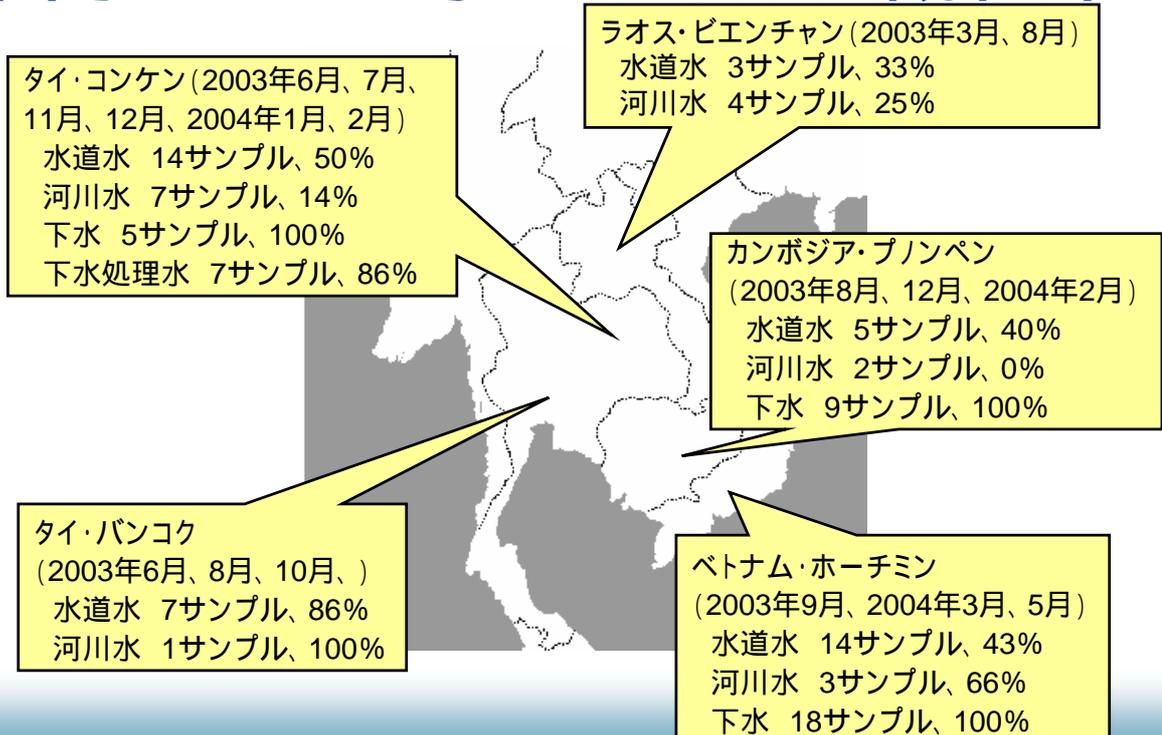
活性汚泥中のファージの検索

Email: katayama@env.t.u-tokyo.ac.jp

本日の発表内容

- ◆ 水中病原微生物の現状
 - 病原微生物と上下水道
 - ヒト腸管系ウイルス
- ◆ 水中ウイルス調査
 - ウイルス濃縮法の開発
 - 水道におけるノロウイルスの存在状況
 - 下水道におけるノロウイルスの存在状況
- ◆ 水の消毒法
- ◆ まとめ

東南アジアの水のウイルス陽性率



病原微生物と上下水道

感染症の歴史

- ◆ ペスト(黒死病)
 - 14世紀の感染流行ではヨーロッパ人口の25% (2500万人)の命を奪う
- ◆ 炭疽病
 - 微生物が病気を引き起こす(コッホ、パスツール、1877)
- ◆ コレラ
 - 水系感染する感染症の病原体(コッホ、1884)

狂牛病

- ◆ クロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD)
- ◆ クールー病
 - ニューギニアの人食い
- ◆ 肉骨粉: 究極のマテリアルリサイクルシステム
 - 水のリサイクルにおいても病原微生物が最大の問題になる可能性がある

SARS流行の環境条件(仮説)

- ◆ 病原微生物の発生
 - 混合家畜ファーミングシステムの問題?
- ◆ 人口の集中
- ◆ 加熱に頼る防御システム
 - 中国の食文化: 水を飲まずにお茶を飲む、生野菜を食べない
 - その他は比較的無頓着

感染経路－微生物にとっては危ない橋－

◆ 接触感染

- 性行為感染・母子感染 梅毒、HIV、HBVなど
- 土壌 破傷風

◆ 経口感染

- 水系感染・食物感染 コレラ、大腸菌O157、ノロウイルス

◆ 空気感染

- 飛沫感染 インフルエンザ、SARS?
- 空気感染 結核など

◆ 媒介動物感染 ペスト、黄熱病など

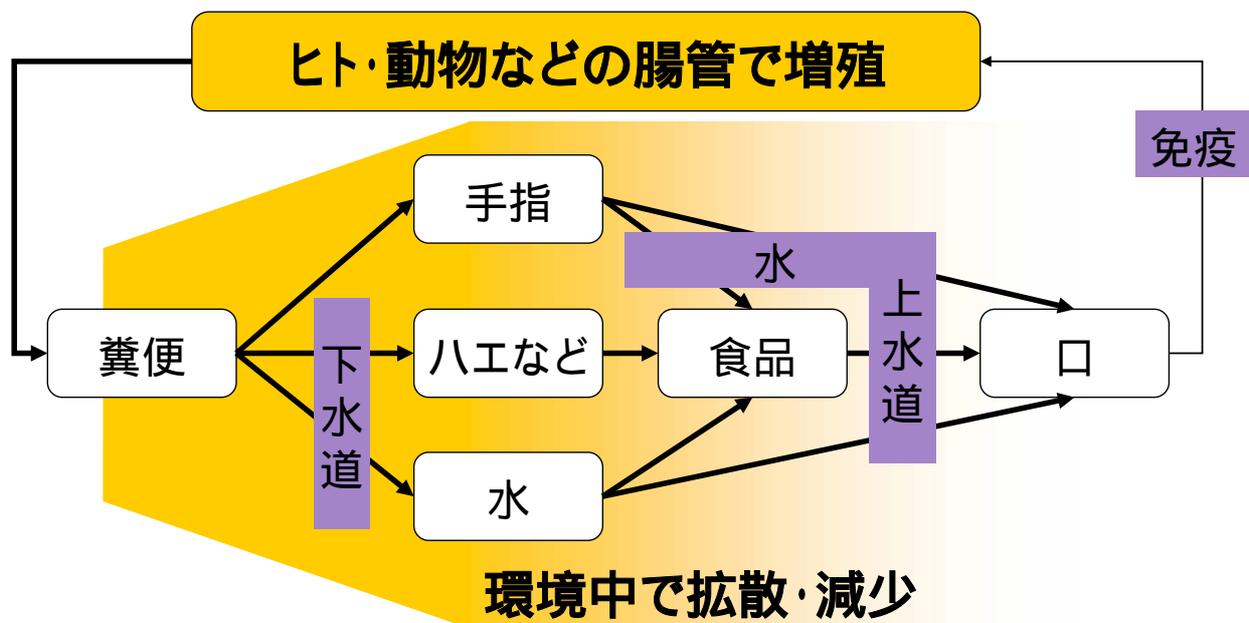
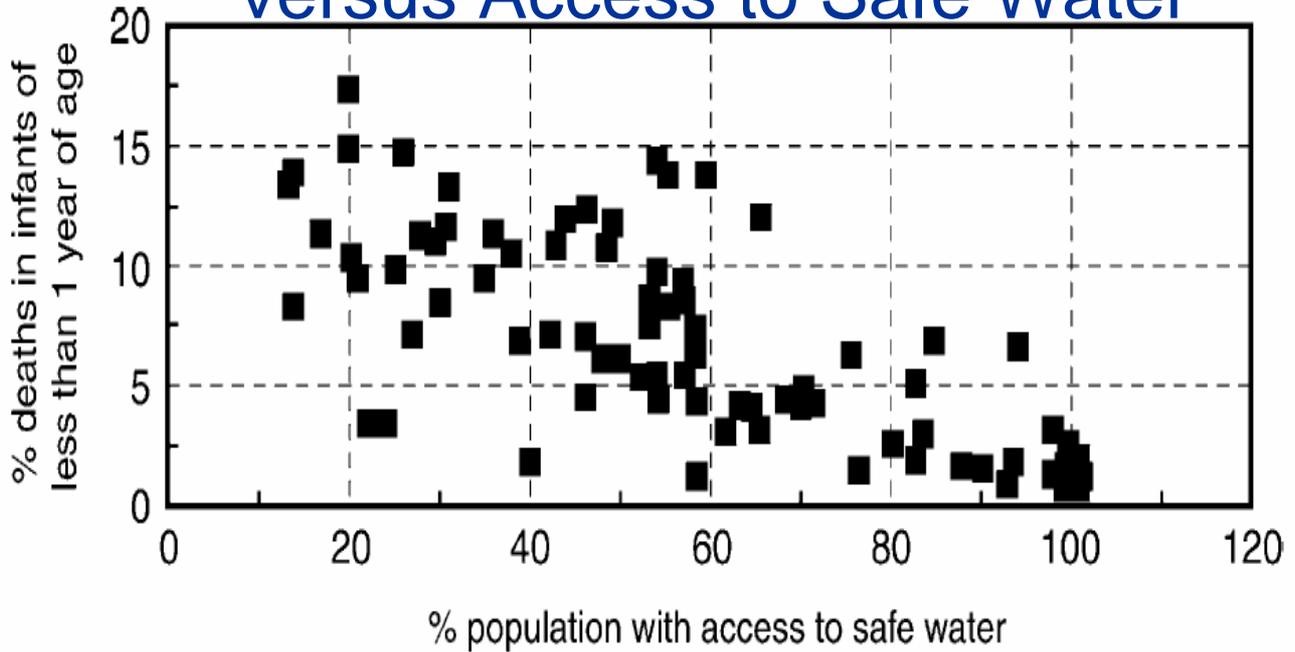


図. 糞便 - 経口感染する病原微生物の生活環

Infant Mortality versus Access to Safe Water



感染防御のシステム

- ◆ 免疫システム
- ◆ 身のまわりを清潔に保つ
 - 手洗い、沐浴
- ◆ 加熱する
- ◆ 病原微生物を遠ざける
 - 墓地の位置、葬式の儀式化...
- ◆ 上水道、下水道



古典的感染症

- ◆ 細菌によって引き起こされる
- ◆ 致命的 医学分野で研究が進む
- ◆ 1900年代に多くが単離された
- ◆ コレラ、カンピロバクター、病原大腸菌、サルモネラ、赤痢菌など

古典的感染症の特徴

- ◆ 糞便一経口感染
- ◆ 塩素によって不活化される
- ◆ 温血動物の体内において生育
- ◆ 大腸菌などが良い指標になる
 - 糞便の到達度を示す
 - 大腸菌がなければ安全

疫学的な知見の蓄積

- ◆ テムズ川上流の水を飲んでいる人より下流の水を飲んでいる人のほうが8倍高い死亡率(J.スノウ、1854年のロンドンのコレラ流行時)
- ◆ 上水のろ過の効果を確認(ラインケ、1892年のハンブルグのコレラ流行時)
- ◆ 産婦人科医の塩素水の手洗いによって産褥熱を抑える(ゼンメルワイス、1847)

衛生工学 感染症の抑止システム

- ◆ 近代水道の成立
 - ろ過と塩素で細菌を抑え、大腸菌群の不在を確認
 - 明治後の日本の防疫の基本路線となる。塩素の徹底は2次大戦後。ただし、下水道整備が遅れる原因にも。
- ◆ 下水道
 - 衛生面より環境浄化の手段として重視される
- ◆ バキュームカー
 - 阪神大震災で活躍

上水道の水処理工程

◆ 凝集・沈殿

- Al等を用いた荷電中和により、懸濁成分を凝集して沈降性を高める。アルカリ剤の補充を行なうことが多い。

◆ 急速ろ過

- 処理水量：～150m³/m²・日、
- 日本では標準的

◆ 塩素注入

◆ 大腸菌の不在を確認

指標微生物の測定 培地と培養

◆ 糞便汚染の指標

- 糞便に大量に含まれるもの
- 病原性でないほうが良い、取り扱いやすいもの
- 病原微生物より生残性が高いもの

◆ 37度で培養

- 腸管を模擬した培養法
- 操作定義から微生物学的定義へ

測定法による分類

- ◆ 従属栄養細菌
 - 有機物の酸化を行ないながらエネルギーを得て、その炭素をそのまま炭素源として利用する細菌。
- ◆ 一般細菌
 - カゼイン(ペプトン)、酵母エキス、ブドウ糖の寒天培地で37度24時間培養して得られる細菌
- ◆ 大腸菌群
 - グラム陰性の無芽胞性の桿菌で、乳糖を分解して酸とガスを生ずるすべての好気性または通性嫌気性の菌
- ◆ 大腸菌
 - 微生物学上の分類。
 - 酵素基質培地法 で測定可能。

指標に関する議論

- ◆ 糞便汚染の到達の指標
 - 大腸菌、大腸菌群、糞便性大腸菌群、腸球菌、大腸菌ファージ
 - コプロスタノール、アンモニアイオン、塩化物イオン
- ◆ 処理性能の指標
 - 一般細菌、大腸菌群、大腸菌、大腸菌ファージ
 - 濁度、SS、pH、残留塩素

戦後最大の水系感染症

- ◆ 埼玉県越生町 人口 約13,800人
- ◆ 平成8年 6月
- ◆ 小中学校、児童の多数欠席
- ◆ 集団食中毒の検査
- ◆ 一般家庭でも同様な症状 水道水？
- ◆ 残留塩素は0.1mg/L以上 塩素耐性の高い原虫類の可能性
- ◆ 患者糞便の原虫の検査 クリプトスポリジウムの検出

検査結果と現場対応

- ◆ 有症状者の便 34検体中24検体からクリプトスポリジウムの検出
- ◆ 市の浄水場の水を給水することを停止し、県の水道から供給する。
- ◆ 越生町内の3つの小中学校の給食室の給水栓から、クリプトスポリジウムが検出された

クリプトスポリジウム

- ◆ 5月中旬以降に下痢等の症状があったものについて罹患状況調査
 - ◆ 回答者12,345人中、8,812人(71.4%)に症状あり
 - ◆ 症状 水様性下痢が中心
 - ◆ 仕事や学校を休んだ 2,878人
 - ◆ 医療機関受診者 2,856人(32.4%)
 - ◆ 入院者 24人(受診者の0.8%)
- 

アメリカでの事例

- ◆ 1980年代 AIDS患者の病気として有名に
 - ◆ Wisconsin州 Milwaukee 1993年
 - ◆ 推定患者数 403,000人
 - ◆ 入院患者数 4,400人
 - ◆ 死者数 不明
 - ◆ 下痢止め薬が品切れになったことが発覚の発端
 - ◆ クリプトスポリジウムの検出数は10程度
 - ◆ 流行時に作成された氷からクリプトスポリジウムを検出
- 

水系の新興・再興感染症

- ◆ 先進国においても問題となっている
- ◆ 古典的感染症に比べて致死率は低いが、免疫不全者は死に至る。
- ◆ 社会・経済的には重要な問題
- ◆ 医者はあまり興味がない

新興・再興感染症を 引き起こす病原微生物

- ◆ クリプトスポリジウム、ジアルジア
 - 下痢を起こす病原原虫、塩素耐性が高い
 - 人畜共通感染症
- ◆ レジオネラ
 - 日和見感染症、吸引すると肺炎を引き起こす
 - エアコンの冷却塔、温泉でのアウトブレイク
- ◆ 腸管系ウイルス
 - 感染事例の情報が少ない

ウイルス・原虫

- ◆ 糞便一経口感染経路
- ◆ ウイルス
 - アデノウイルス、アストロウイルス、ノロウイルス、エンテロウイルス、A型肝炎ウイルス、E型肝炎ウイルス、ロタウイルス
- ◆ 原虫類
 - サイクロスポーラ、クリプトスポリジウム、ジアルジア

先進国の感染症－免疫の変化？

- ◆ 致死的でない 医者が調べない 感染流行の証明が困難
- ◆ クリプトスポリジウム、ジアルジア
 - 塩素耐性をもつ下痢症の原虫
 - 人畜共通感染症の可能性が高い
- ◆ レジオネラ
 - 日和見感染症、1976年フィラデルフィアにて集団肺炎を引き起こす。在郷軍人病。
 - 24時間風呂や加湿器、冷房などが主たる感染源
- ◆ 腸管系ウイルス
 - 感染ルートを食品由来と区別できないので疫学情報が少ない。
 - 下痢症(最も一般的)、小児麻痺(ポリオウイルス)、肝炎(A型肝炎ウイルス)

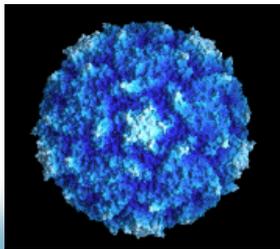
水系感染症

- ◆ 古典的水系感染細菌 コレラ
 - インドを発生源として、世界に広がる
- ◆ 発展途上国では、最大の死亡要因
 - 幼児死亡率が高い
 - 多産の直接的原因
 - 女性の自立を妨げている
- ◆ 先進国では、一時期下火になったが、新興・再興感染症が発生している
 - ただし、死亡者は少ない(例外:免疫不全者)

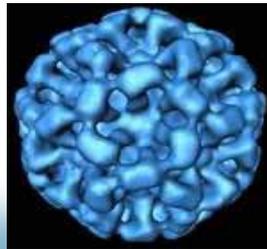
ヒト腸管系ウイルス

腸管系ウイルスとは

- ✓ 直径20～100nmで核酸(RNA, DNA)が蛋白質に覆われた構造
 - ✓ 宿主生物の腸管内で増殖し, 糞便と共に体外に排出される
 - ✓ 100種類以上がヒトを宿主としている
 - ✓ 主な症状 下痢, 嘔吐, 発熱, 麻痺
 - ✓ 感染経路 食品(貝類), 飲料水, 遊泳行為, 感染者との接触
- 水系感染**



Poliovirus



Adenovirus



Norovirus

水系感染が報告されているウイルス

ピコルナウイルス科

A型肝炎ウイルス
(ヘパトウイルス属)

ポリオウイルス
コクサッキーウイルス
エコーウイルス
(エンテロウイルス属)

アストロウイルス科

ヒトアストロウイルス
(アストロウイルス属)

E型肝炎ウイルス

カリシウイルス科

ノーウォークウイルス
(ノロウイルス属)

レオウイルス科

ロタウイルス
(ロタウイルス属)

アデノウイルス科

ヒトアデノウイルス
(マスタデノウイルス属)

ノロウイルス

- ◆ カリシウイルス科
- ◆ SRSV、ヒトカリシウイルス、ノーウォークウイルスなどの呼称を経てICTVが名称確定
- ◆ ウイルス下痢症の因子として最も多い
- ◆ 致死的でない
- ◆ 培養できない

ノロウイルスの特徴

- ◆ ヒトを唯一の宿主とする
- ◆ 酸耐性 (pH2.7 3時間)、熱耐性 (60 30分) (Dolin R. et al., 1972 Proc. Soc Exp Biol Med 140: 578-583.)
- ◆ 塩素耐性が高い(初期濃度 3.75-6.25mg/L、遊離残留塩素0.5-1.0mg/L) ただし、10mg/Lであれば不活化した (Keswick B.H. et al., 1985 Appl. Environ. Microbiol. 50:261-264.)

ノロウイルスの生活環

- ◆ ヒトの体内で増加、環境中で生き延びて、ごく一部がヒトの口に入る
- ◆ なかなか死なない、特に塩素に強い
 - 大腸菌などの指標微生物とは異なる挙動
- ◆ 下水処理場の塩素消毒、上水道の塩素消毒をすり抜ける
- ◆ 魚介類に蓄積する可能性

環境中のノロウイルス

- ◆ 下水、河川水、井戸水、海水、水道水
- ◆ ミネラルウォーター (Beuret, C. et al., 2000. J. Food Prot. 63:1576-1582, Beuret, C. et al., 2002. Appl. Environ. Microbiol. 68:1925-1931.)
- ◆ カキ等の食品
- ◆ 世界的に高い抗体保有率 (Greenberg H. B. et al., 1979 Infection and Immunity 26: 270-273, Numata K. et al., 1994 J. Clinic. Microbiol. 32:121-126, Honma, S. et al., 1998. J. Clinic. Microbiol. 36:2481-2484)

環境中のウイルス存在状況調査 by Katayama

- 水道水 (環境工学研究論文集 第39巻, pp355-364. 2002., *Appl. Environ. Microbiol.*, 70: 2154-2160, 2004.)
- 多摩川調査 (*Appl. Environ. Microbiol.*, 71(5):2403-2411, 2005.)
- 合流式下水道雨天時越流水 (CSO)調査 (*Water Science and Technology*, Vol 50 No 1 pp 259-262, 2004.)
- 東京湾沿岸域調査 (*Appl. Environ. Microbiol.*, 68: 1033-1039, 2002., *Water Science and Technology: Water Supply*, Vol 4, No 2 pp73-77, 2004.)
- 海中の大腸菌とファージ (*土木学会論文集*, No. 741/VII- 28, 123-130, 2003.)
- 日本の下水処理場、北京の下水処理場 (投稿準備中)
- 東南アジア (*1st IWA-ASPIRE Conference*, July 2005, Singaporeにて発表予定)

水道水中のノロウイルス

2002年1月 ~ 2003年2月

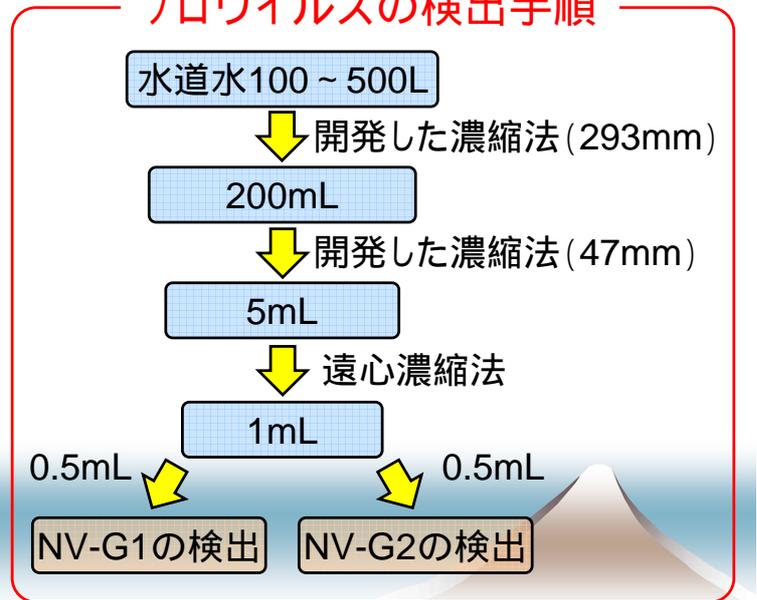
水道水中のノロウイルス (Norovirus, NV) の検出

- ✓ 冬期の生牡蠣を介した食中毒の主要な原因ウイルスとして知られており, G1型 (NV-G1) とG2型 (NV-G2) に分類されている
- ✓ 2002年1月～2003年2月の14ヶ月間, 東京大学本郷キャンパスにて水道水98サンプルを採水し, ノロウイルスの検出を試みた

水質項目の測定結果

水質項目	平均値 (最小 - 最大)
水温 ()	17.8 (10.5 - 28.0)
pH	7.4 (6.8 - 8.3)
残留塩素 (ppm)	0.6 (0.3 - 1.0)

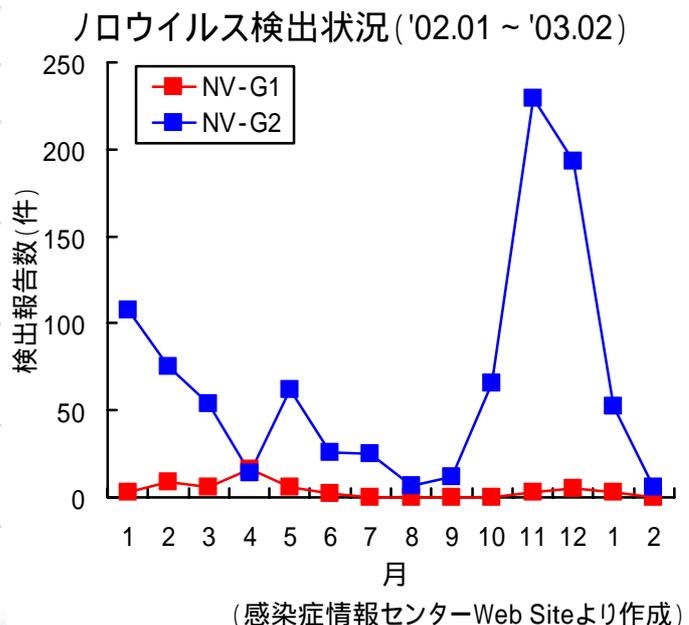
ノロウイルスの検出手順



水道水中のノロウイルスの検出結果

- ✓ 冬を中心に秋から春にかけて多く検出され, 夏はほとんど検出されなかった

季節	陽性試料数/試料数	
	NV-G1	NV-G2
春(3～5月)	0/29 (0.0%)	3/29 (10.3%)
夏(6～8月)	1/18 (5.6%)	0/18 (0.0%)
秋(9～11月)	0/19 (0.0%)	3/19 (15.8%)
冬(12～2月)	3/32 (9.4%)	1/32 (3.1%)
計	4/98 (4.1%)	7/98 (7.1%)



水道水中のウイルス濃度

平均300Lの検査水量から、10%の陽性率であった。
平均的には、1ウイルス/1000L程度と考えられる。

ただし、欧州ブランドのミネラルウォーター1Lから30%
の陽性率 (Beuret, C. et al., 2002. Appl. Environ.
Microbiol. 68:1925-1931)

流行期に水道水中にノロウイルスが存在し、水系感染
の可能性は否定できないが、他の感染経路に比べ
れば無視できる程度と思われる

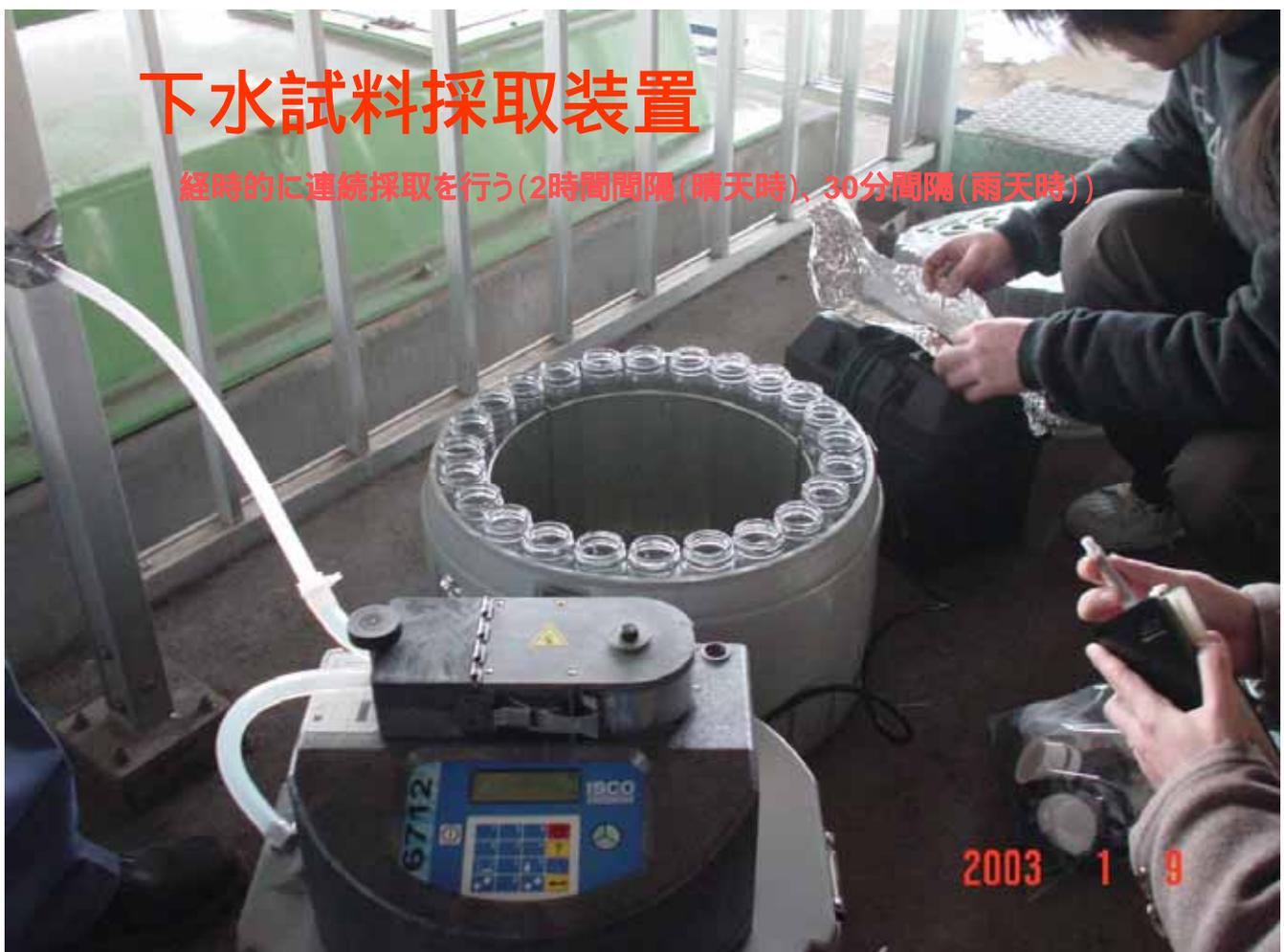
下水道におけるノロウイルスの 存在状況

雨天時越流水と平時の処理効率

(Katayama et. al., Water Science and
Technology, Vol 50 No 1 pp 259-262,
2004.)

ウイルスの測定法

- ◆ 2003年1月
- ◆ 下水試料: 100ml
- ◆ 陰電荷膜・酸洗浄・アルカリ誘出 10ml
- ◆ UF遠心濃縮 2ml (うち、300 μ lを培養)
- ◆ 300 μ lからRNA抽出 30 μ l
- ◆ そのうち、5 μ からPCR
= 元の試料の**2.5ml**相当のウイルス検出試験



晴天時におけるウイルス検出結果

	NV G1	NV G2	EV	EV CC-PCR	TC cfu/ml	SS mg/L	E260 1/cm
流入水	11/12	11/12	1/12	1/12	$10^{5.51 \pm 0.32}$	63.7	0.274
流出水	11/12	10/12	0/12	7/12	$10^{5.46 \pm 0.47}$	47.3	0.280
二次 処理水	2/12	1/12	0/12	0/12	$10^{2.29 \pm 0.36}$	1.45	0.100

雨天時におけるウイルス検出結果

	NV G1	NV G2	EV	EV CC-PCR	TC	SS mg/L	E260 1/cm
流入水	5/12	9/12	2/12	3/12	$10^{5.00 \pm 0.30}$	271	0.186
流出水	7/12	10/12	0/12	7/12	$10^{5.00 \pm 0.18}$	94	0.212
簡易 流入水	4/8	5/8	1/8	3/8	$10^{4.79 \pm 0.32}$	273	0.101
簡易 流出水	5/10	5/10	1/10	7/10	$10^{4.42 \pm 0.37}$	106	0.137

まとめ

- ◆ 下水流入水中に、かなりの高濃度(1個/2.5ml以上)でエンテロウイルス、ノロウイルスは恒常的に含まれている。
- ◆ 処理によってウイルスは低減しているが、定量的に評価する必要がある。
 - 検出率 11/12 1/12、大まかに90-99%除去？
- ◆ 下水処理でどれだけウイルスを除去すればよいか？

