

# 県内の水源河川におけるクリプトスポリジウム及びジアルジアの実態調査 (2012-2015)

山田亨 福留智子 阿波野祥司 萩平敦朗 元明秀成

## Investigation of Water Source Rivers by *Cryptosporidium* and *Giardia* in Miyazaki Prefecture (2012-2015)

Tohru YAMADA, Tomoko FUKUDOME, Shoji AWANO, Aturou HAGIHIRA, Hidenari GANMYO

### 要旨

人獣共通感染症の病原体であり、上水道の衛生管理上重要視されているクリプトスポリジウム及びジアルジア(以下クリプトスポリジウム等と略記)について、平成24年度から平成27年度に大淀川をはじめとする県内の主な水源となる5河川14地点の河川水を対象に計8回、延べ84検体について調査を実施した。その結果、今回調査した何れの河川からもクリプトスポリジウム等は検出されなかった。しかしながら、農畜業の盛んな本県の現状を踏まえ、今後も水源となる河川についての定期的なモニタリング調査が必要であると思われる。

キーワード：水源河川, *Cryptosporidium*, *Giardia*

### はじめに

クリプトスポリジウム等は、ヒトをはじめ様々な家畜や野生動物等に寄生し、激しい腹痛や水様性下痢を発症させる人獣共通の腸管寄生性原虫である<sup>1)</sup>。感染経路は主に水系感染で、感染源であるクリプトスポリジウム等のオーシスト及びシスト(以下オーシスト等と略記)は、耐塩素性病原生物で、塩素系の消毒薬等に強く耐性を示し<sup>2)3)</sup>、水源がこれらに汚染された場合、浄水施設での塩素処理等では除去は難しく<sup>4)5)6)</sup>1993年米国ウィスコンシン州ミルウォーキーにおける水道汚染事故(患者数403,000人)<sup>7)</sup>や、1994年神奈川県平塚市で雑居ビルの受水槽の汚染事故(感染者461人)<sup>8)</sup>、また1996年埼玉県越生町で町営水道水の汚染事故(患者数8,812人)<sup>9)</sup>など、水道水を介しての集団感染事例が報告されており<sup>2)</sup>上水道の衛生管理上クリプトスポリジウム等の対策が強化されている<sup>1)</sup>。

このような背景を踏まえ、本県の主な水源である5河川を対象に、平成24年度から平成27年度にかけてクリプトスポリジウム等の実態調査を実施したので報告する。

### 材料と方法

#### 1 調査地点

今回対象とした調査河川及び調査地点を図1に示す。大淀川上流域の都城市市内①十五橋、②志比田橋、③今平橋、④王子橋、⑤樋渡橋、大淀川下流域の宮崎市内⑥相生橋、⑦宮崎大橋、⑧赤江大橋、⑨大淀川河口、一ツ瀬川流域⑩宮崎市佐土原柳瀬取水口、⑪新富町金丸堰取水口、小丸川流域⑫高鍋町古瀬取水口付近、耳川流域⑬日向市中野原取水口付近、五ヶ瀬川流域⑭延岡市古城取水口付近の計5河川14地点において、表流水のサンプリングを行った。



図1 調査河川及び調査地点位置

## 2 調査期間及び検体の内訳

平成24年6月から平成28年11月までの期間に、各調査地点からサンプリングした延べ84検体について検査を行った。

1)平成24年度：平成24年6月と9月の2回、大淀川上流域①～⑤の5地点、大淀川下流域⑥～⑨の4地点、計18検体。

2)平成25年度：平成25年12月と平成26年1月の2回、大淀川上下流域①～⑥の6地点、一ツ瀬川流域⑩～⑪の2地点、小丸川流域⑫の1地点、耳川流域⑬の1地点、五ヶ瀬川流域⑭の1地点、計22検体。

3)平成26年度：平成26年6月と10月、大淀川上下流域①～⑥の6地点、一ツ瀬川流域⑩～⑪の2地点、小丸川流域⑫の1地点、耳川流域⑬1地点、五ヶ瀬川流域⑭の1地点、計22検体。

4)平成27年度：平成27年8月と11月、大淀川上下流域①～⑥の6地点、一ツ瀬川流域⑩～⑪の2地点、小丸川流域⑫の1地点、耳川流域⑬の1地点、五ヶ瀬川流域⑭の1地点、計22検体。

### 3 検査方法

厚生労働省が定める水道におけるクリプトスポリジウム等対策指針「水道に関するクリプトスポリジウム等の検出のための検査方法の見直し等について」平成24年3月2日(健水発0302第2号)の通知<sup>10)</sup>に基づき検査を行った。

1)検体の採取：検体容器(ユニオンコンテナ)を用いて、調査地点の河川水約10Lを採取して検体とした。

2)懸濁粒子の捕捉・濃縮：親水性PTFEメンブレンフィルター(孔径5 $\mu$ m)を用いて、検体約10Lを吸引濾過し検体中の懸濁粒子をフィルター上で捕捉する。そのフィルターを攪拌子とともに50mL遠沈管に挿入し、試験管ミキサーで激しく攪拌を行いフィルター上の捕捉物を洗い出した後、1,050 $\times$ gで10分間遠心濃縮し上清の吸引除去を行った。

3)オーシスト等の選択的分離・精製・回収：懸濁粒子の捕捉、濃縮によって得られた濃縮物にシスト等に対する特異抗体を吸着させた、免疫磁気ビーズ「Dynabeads GC Combo」(ベリタス)を反応させ、多量の夾雑物を含む濃縮物からオーシスト等を選択的に分離した後、更に解離

液を加えオーシスト等と磁気ビーズとの結合を解き、オーシスト等の精製、回収を行った。

4)遺伝子検査：オーシスト等を精製した回収液を用いて、クリプトスポリジウム等の18S rRNA遺伝子の検出をターゲットとした検出キット「Cycleave RT-PCR *Cryptosporidium* (18S rRNA) Detection Kit」及び「Cycleave RT-PCR *Giardia* (18S rRNA) Detection Kit」(タカラバイオ)を用いて検査を行った。

5)蛍光抗体染色及び顕微鏡観察：遺伝子検査において判定が出来なかった検体については、

「EasyStain<sup>TM</sup> CG20+DAP」キットを用いて蛍光抗体染色を行い、その標本を微分干渉装置付蛍光顕微鏡にてオーシスト等の検出を行った。

## 結果

クリプトスポリジウム等の調査について、平成24年6月と9月の期間に、大淀川9地点から採取した計18検体の検査結果を表1に、平成25年12月から平成27年11月までの期間に、大淀川6地点、一ツ瀬川2地点、小丸川1地点、耳川1地点、及び五ヶ瀬川1地点の11地点から採取した計66検体の検査結果を表2にそれぞれ示す。今回調査した5河川14地点の計84検体の検体からは、クリプトスポリジウム及びジアルジアについて何れの検体からも検出されなかった。

表1 クリプトスポリジウム及びジアルジアの調査結果 平成24年度(18検体)

採取地点	採取期間	
	平成24年度	
	6月	9月
①都城市十五橋	不検出	不検出
②都城市志比田橋	不検出	不検出
③都城市今平橋	不検出	不検出
④都城市高城王子橋	不検出	不検出
⑤都城市有水樋渡橋	不検出	不検出
⑥宮崎市相生橋	不検出	不検出
⑦宮崎市宮崎大橋	不検出	不検出
⑧宮崎市赤江大橋	不検出	不検出
⑨宮崎市大淀川河口	不検出	不検出

表2 クリプトスポリジウム及びジアルジアの調査結果  
平成25年度から平成27年度(66検体)

採取期間 採取地点	平成25年度		平成26年度		平成27年度	
	12月	1月	6月	10月	8月	11月
①都城市十五橋	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
②都城市志比田橋	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
③都城市今平橋	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
④都城市高城王子橋	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
⑤都城市有水樋渡橋	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
⑥宮崎市相生橋	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
⑩宮崎市佐土原柳瀬	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
⑪新富町金丸堰	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
⑫高鍋町老瀬	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
⑬日向市中野原	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
⑭延岡市古城	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出

### 考察

クリプトスポリジウムは、孢子虫類に属し、ヒトをはじめとする哺乳類、鳥類、爬虫類および魚類まで広範囲の脊椎動物に寄生する<sup>11)</sup>。ヒトへの感染は主に *C.hominis* (従来の *C.parvum* genotype I またはヒト型) で、哺乳類には主に *C.parvum* (従来の *C.parvum* genotype II またはウシ型) が感染する<sup>12)</sup>。

ジアルジアは、鞭毛虫類に属しヒトに感染する *G.lambliia* (別名ランブル鞭毛虫) は、8つの遺伝子型 (Assemblage A~H) に分類され、ヒトからは A, B が検出される<sup>12)</sup>。

宿主への感染は、これらのオーシスト等の経口感染によるもので、消化管上皮で発育増殖を繰り返し、腹痛や水様性下痢等の症状を伴って再び糞便とともに外界へ排泄され、水や食品に混入して新たな感染源となる。特に、水源がクリプトスポリジウム等に汚染されると高度塩素耐性のため水道水に混入する恐れがあり、事実国内でも水道からクリプトスポリジウム等が検出され、給水停止等の措置が取られている<sup>13)</sup>。

今回調査した採取地点のうち、大淀川上流域は特に畜産業の盛んな地域で、各支流の流域等に多くの農場が点在する地点や、終末処理施設からの排水が流入する地点等を選定して調査を行ったが、クリプトスポリジウム等は検出され

なかった。

しかしながら、大淀川下流域では宮崎市上下水道局が平成17年度から毎月行っているクリプトスポリジウム等の検査において、平成20年度を除き毎年度(1/12ヶ月~2/12ヶ月)検出されていることから<sup>13)</sup>、今回の調査だけでは県内の水源河川におけるクリプトスポリジウム等の実態を詳細に把握するには不十分であると思われるため、今後も採取地点の変更や採取時期等の調査方法も検討しながら継続的な調査を行い、本県の水道事業のさらなる安全性の構築に貢献していきたいと考えている。

### 文献

- 1) 厚生労働省健康局水道課長通知：水道水中のクリプトスポリジウム等対策の実施について、平成19年3月30日付け健水発第0330005号
- 2) 保坂三継：水源河川と水道水の原虫汚染，モダンメディア，52，222-229，(2006)
- 3) 国立感染症研究所：クリプトスポリジウム症およびジアルジア症，病原微生物検出情報，Vol.22 No.7(No.257) (2001)
- 4) 田栗利紹：水道クリプトスポリジウム及びジアルジア汚染調査の概要(2001年度)，長崎県衛生公害研究所報 47，(2001)資料

- 5) 井関基弘：クリプトスポリジウム症の集団発生とその対策，モダンメディア，43，431-437，(1998)
- 6) 井関基弘：水と食品によるクリプトスポリジウムおよびサイクロスポーラの集団感染，日本食品微生物学会雑誌，14，179-185，(1998)
- 7) 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，東京都健康安全研究センター年報，57，31-42，(2006)
- 8) 黒木俊郎他：神奈川県で集団発生した水系感染クリプトスポリジウム症，感染症誌，70，132-140(1996)
- 9) 埼玉県衛生部：クリプトスポリジウムによる集団下痢症－越生町集団下痢症発生事件－報告書，埼玉県，(1997)
- 10) 厚生労働省健康局水道課長通知：水道に関するクリプトスポリジウム等の検出のための検査方法の見直し等について，平成24年3月2日付け，健水発0302第2号
- 11) 黒木俊郎 他：クリプトスポリジウムの最近の知見，モダンメディア，51，75-80，(2005)
- 12) 国立感染症研究所：<特集>クリプトスポリジウム症およびジアルジア症 2014年7月
- 13) 国立感染症研究所:<特集関連資料>クリプトスポリジウム等検出状況と対応の事例（給水停止等の対応を行ったもの），病原微生物検出情報，Vol.35 No.8(No.414)，(2014)
- 14) 宮崎市上下水道局：水質試験年報，指標菌及びクリプトスポリジウム等の検出状況，宮崎市，(平成17年度-平成26年度)