

令和5年度第1回水道における微生物問題検討会

日時：令和5年12月8日（金）15:00～17:00

場所：オンライン会議室

出席者：（委員）秋葉座長、泉山委員、枝川委員、片山委員、金見委員、佐野委員、
茂野委員、島崎委員、吉田委員
（関係者）浅田氏、三浦氏

○野澤室長補佐 委員の皆様におかれましては、年末の大変お忙しいところを御参加いただきまして、誠にありがとうございます。

初めに、開催に当たりまして、厚生労働省健康・生活衛生局水道課水道水質管理官の柳田より御挨拶を申し上げます。

○柳田管理官 水道水質管理官の柳田でございます。

委員の皆様におかれましては、年末のお忙しい中、検討会に御参加いただきありがとうございます。また、日頃から水道行政の推進に御協力いただきまして、誠にありがとうございます。

本日は昨年に引き続きオンライン会議という形でさせていただいております。検討会の様子はライブ配信をしております。

本検討会では、令和4年3月に更新されましたWHO飲料水水質ガイドライン第4版において新規に設定されました藻類由来の毒性物質シアノトキシンや水道におけるウイルス等に関する話題を提供しているところでございます。

本日の検討会では、シアノトキシンやウイルスに関する話題に加え、従属栄養細菌の指標性等についての話題を提供いただく予定としております。

今後の水道水の微生物対策について忌憚のない御意見を頂戴できればと存じますので、本日はどうぞよろしく願いいたします。

○野澤室長補佐 本日の委員の出席状況でございますが、9名の委員全員に御参加いただいております。参考資料1に委員名簿がございます。恐縮ですが、お1人ずつの御紹介は控え、委員名簿をもって御紹介に代えさせていただきます。

また委員以外に国立保健医療科学院の三浦主任研究官と京都大学の浅田准教授に御参加いただいております。

そして事務局からは先ほど挨拶を申し上げた柳田、室長補佐の渡邊、私、室長補佐の野澤が出席しておりますので、どうぞよろしく願いいたします。

本日の資料については事前に委員の皆様にお送りさせていただいているところですが、議事の進行中も当該の資料を画面上に表示させてまいりますので、画面を御覧いただければと思います。

御発言の際はZOOMの機能のミュートを解除していただき、御発言が終わりましたらオフ

にさせていただきますようお願いいたします。

次に、参考資料2の運営要領に基づきまして座長を選出させていただきます。

座長は第1回検討会において構成員の中から選出することとしております。事務局としては、これまでの検討会で座長を務めていただいた秋葉先生にお願いしたいと思いますが、よろしいでしょうか。

(「異議なし」と声あり)

○野澤室長補佐 どうもありがとうございます。

それでは、ここからの進行は秋葉座長にお願いしたいと思います。よろしく申し上げます。

なお、ビデオの設定はオフにさせていただいても差し支えありませんが、御発言なさる場合はまずビデオをオンにさせていただき、座長から指名を受けた後に御発言をお願いいたします。

それでは、秋葉座長、よろしくお願いいたします。

○秋葉座長 座長を拝命しました国立保健医療科学院の秋葉です。

皆様方におかれましては、年末のお忙しい中、お集まりいただきましてありがとうございます。皆様方に闊達な議論をしていただきまして取りまとめてまいりたいと思います。御協力のほどよろしくお願いいたします。

それでは、早速議題に入りたいと思います。

議題に入る前に、検討会の公開の取扱いについて、事務局より御説明をお願いいたします。

○野澤室長補佐 参考資料3を御覧ください。

本検討会の公開の取扱いにつきましては、参考資料2の運営要領にあるとおり、検討会において決定することとされております。個人情報保護等の特別な理由がない限り、基本的に公開するとしておりますので、本日の検討会も公開とし、また、委員の氏名等、会議資料、議事録についても併せて公開いたします。

ただし、資料においては、著作権の問題で一部の資料を非公開としたいと考えております。

○秋葉座長 特によろしいですね。

それでは、そのような取扱いをお願いいたします。

では、議事に入ります。

まず、議題1といたしまして「水道における微生物対策の実施状況について」、事務局から資料1の御説明をお願いいたします。

○渡邊室長補佐 それでは、資料1の「水道における微生物対策の実施状況について」に関しまして、事務局の渡邊から説明させていただきます。

まず、水道における遊離残留塩素濃度に関する事故事例、次に水道におけるクリプトス

ポリジウム等対策及びその実施状況、クリプトスポリジウム等の検出による給水停止等の対応状況について御説明させていただきたいと思っております。

1 ページ目の水道における遊離残留塩素濃度に関する事故事例についてです。

厚生労働省では、水質事故情報等の提供を水道事業者等の皆様をお願いしているところですが、報告された水道水質関連事故事例のうち、令和3年1月～令和5年11月までに発生しました遊離残留塩素濃度が0.1mg/Lを下回る等の塩素消毒に関する事故事例を表-1に示しております。

前回、昨年度の本検討会以降追加となった令和4年の山口県の小規模貯水槽水道の事例以降の6例について御説明させていただきます。

1 例目は、令和4年6月に山口県の小規模貯水槽水道、こちらは学校になりますが、ここで発生した事故事例になります。これは、貯水槽の規模が需要に対して大きかったことから水が滞留し、残留塩素濃度が水道法で規定する0.1mg/Lを下回ったという事故事例になります。本件では、給水方式を受水槽方式から直結給水方式へ変更する等の対応が取られております。

2 例目については、令和4年7月に大阪府の専用水道、こちらはホテルになります、ここで発生した事故事例になります。これは、次亜塩素酸ナトリウムの不適切な管理により有効塩素濃度が減少し、残留塩素濃度が水道法で規定する0.1mg/Lを下回ったという事故事例になります。本件では、次亜塩素酸ナトリウムをより品質のいい製品へ変更する等の対応が取られております。

続いて3例目になりますが、こちらは令和4年10月に香川県の簡易専用水道、学校になります、ここで発生した事故事例になります。これは施設の長期不使用により水が死に水状態になっている中、施設利用開始時の放流量が不足していたことにより、残留塩素濃度が水道法で規定する0.1mg/Lを下回ったという事故事例になります。本件では、清掃を実施する等の対応が取られております。

4 例目になります。こちらは令和5年7月に三重県の簡易専用水道、学校になります、ここで発生した事故事例になります。これは、貯水槽の規模が需要に対して大きかったことから水が滞留し、定期的水質検査において、残留塩素濃度が水道法で規定する0.1mg/Lを下回ったという事故事例になります。本件では、貯水槽貯留量を減らすことによる滞留時間の短縮等の対応が取られております。

続いて5例目になりますが、こちら6例目も同様の事象となりますので、併せて報告させていただきます。5例目は令和5年7月に静岡県で発生した事故事例、6例目は令和5年8月に山口県の簡易水道で発生した事故事例になります。これらはいずれも、塩素注入設備の不具合により次亜塩素酸ナトリウムが注入されておらず、残留塩素濃度が水道法で規定する0.1mg/Lを下回ったという事故事例になります。本件では、いずれについても、塩素注入設備の点検・調整を行う等の対応が取られております。

水道における遊離残留塩素濃度に関する事故事例については以上になります。

続きまして、2ページ目の水道におけるクリプトスポリジウム等対策についてです。

図-1は、「水道におけるクリプトスポリジウム等対策指針」に書かれているもので、汚染のおそれの判定基準、それに対する必要な予防対策をまとめたものでございます。

2ページ目の下、それから、3ページ目の表-2には、令和4年3月末時点のクリプトスポリジウム等対策の実施状況を示しております。水道事業、水道用水供給事業及び専用水道における対策指針に基づく浄水施設でのろ過、または紫外線処理施設の整備や水源変更等によるクリプトスポリジウム等対策の実施状況について調査した結果になります。

表-2ですが、全量受水を除く表流水、伏流水、浅井戸または深井戸を水源とする浄水施設の施設数としましては、20,170施設ございまして、そのうち、水道原水のクリプトスポリジウム等による汚染のおそれがある施設、つまり予防対策の必要なレベル4の施設が4,263施設ございます。このうち約90%に当たる3,864施設では、既に対策施設設置等の予防対策について実施済みでありました。

同様に予防対策の必要なレベル3の施設が3,742施設ございまして、このうち約51%に当たる1,905施設では対策実施済みでありました。残る1,837施設、レベル3施設の約半数が対応を検討中というような状況になっております。これらの施設では、当面の措置としまして、対策指針に基づき原水の水質監視を徹底し、クリプトスポリジウム等が混入するおそれが高まった場合には取水停止を行うこととされております。

なお、クリプトスポリジウム等の汚染のおそれの判断を行っていない施設数、レベル未判定の施設が1,082施設ございまして、調査対象の浄水施設数の約5%となっており、こちらは減少傾向になっております。

4～5ページ目は、クリプトスポリジウム等の検出による給水停止等の対応状況について、平成8年～令和5年11月末までに厚生労働省水道課に報告された事例をお示しております。

平成8年の埼玉県越生町上水道における事故以降、水道事業、水道用水供給事業及び専用水道が供給する水を原因とするクリプトスポリジウム等による感染症発生事例は報告されておられません、平成22年度に千葉県成田市において貯水槽での汚染が原因と見られるジアルジア症が発生しております。昨年度の本検討会以降、新たな報告事例はございません。

資料1の説明は以上になります。

○秋葉座長 どうもありがとうございました。

では、ただいまの御報告に対しまして御質問、御意見、お気づきの点等がございましたらよろしくお願いたします。オンラインの方は声を上げていただければと思います。

では、島崎委員、お願いします。

○島崎委員 保健医療科学院、島崎でございます。

表-1、残留塩素濃度に関する事故事例ということで、やは昨年度、今年度と毎年、塩素の注入不具合など不適切な残留塩素の管理によって不検出の事例が結構見られているよう

です。幸い、患者等は令和3年度を除いては無いのですけれども。

一点、今年の8月でしたか、石川県で流しそうめんの店舗に由来するカンピロバクターによる結構な患者数の食中毒事例がありました。これは飲用井戸等に当てはまらない整理でよろしいでしょうか。

○渡邊室長補佐 そのとおりでございます。

○島崎委員 ありがとうございます。

○秋葉座長 私のほうから、貯水槽水道の残留塩素が不検出という事例が学校でいくつか見られます。今、科学院で食品衛生監視指導研修を開講しております。その研修生から学校の給食センターの受水槽の衛生管理について質問がありました。学校の場合、管理体制といえましょうか、教育委員会などの指導など、衛生行政以外の別口でも管理しており、学校は他の施設より徹底していると思います。今回は学校が幾つかありますけれども、そのようなことで、この報告事例として分かったことがあるのでしょうか。

○渡邊室長補佐 学校において、残留塩素の不検出になぜ気が付いたのかということでしょうか。

○秋葉座長 最近HACCPが法制化され、受水槽の衛生管理が重要視されているようです。食品衛生監視員の方が学校の給食センターを調べたところ、残留塩素も毎日きちんと検査していて、それは教育委員会からの指導もあって徹底しているとのことでした。これが、今回の報告事例で他の施設に比べて学校の事例が多くなっている一因ではないかと思いました。

○渡邊室長補佐 今回新たに報告させていただいたものの中には学校に関連するものが3つございまして、まず1例目の山口県で6月に発生した事例になりますけれども、こちらについては水道局で検査した結果、確認された事例になります。

○秋葉座長 それはちゃんと指導しているということなのですね。

○渡邊室長補佐 水道局が検査を行ったのは、学校側からの電話連絡に基づきまして現地確認したというような形で報告を受けておりますので、これは学校側において残留塩素濃度の測定を行っていたものと思われまして。

○秋葉座長 学校のほうはともかくとして、検査機関が初め気づいたということになって、1例目は学校で測っていて気づいたということですね。

○渡邊室長補佐 2例目、三重県の例ですと、法定検査を受検した際に残留塩素が不検出であったということが確認された事例になります。

3例目の香川県の事例については施設利用開始時に水質検査を行っておりますので、これは定期的なというよりは開始に当たっての検査で発覚した形になってございます。

○秋葉座長 分かりました。ありがとうございました。

では、そのほか資料1に対しまして何かございますでしょうか。

よろしいでしょうか。

では、次に議題2に参りたいと思います。議題2の「シアノトキシンに関する知見につ

いて」ということで、浅田准教授から御説明をお願いいたします。

○浅田准教授 秋葉座長、御紹介ありがとうございます。京都大学の浅田と申します。

今回シアノトキシンに関する情報提供といたしまして、私から御説明させていただきます。

まずこちらのシアノトキシンですが、令和4年3月に新たに更新されましたWHO飲料水水質ガイドライン第4版の第2補遺が公表されました。

そこでシアノトキシンに関する変更点がございまして、今までのガイドライン値といたしましてはマイクロキスチン-LRのみという形で記載されておりましたが、マイクロキスチン-LRにつきましてはトータルマイクロキスチンズという形に変更となります。

またシアノバクテリアルトキシンズということで、アナトキシン、シリンドロスペーモプシン、サキシトキシンのガイドラインが追加となりました。

またシアノバクテリアルトキシンズに対しましては、今までは長期曝露のガイドライン値の設定でしたが、短期曝露のガイドライン値につきましても新たに設定されました。

ガイドライン値につきましてはこちらの表でまとめさせていただいております。それぞれマイクロキスチン、シリンドロスペーモプシン、アナトキシン、サキシトキシンの4つが設定されておりまして、このAL1が長期曝露を想定したガイドライン値、AL2につきましては短期曝露を想定したガイドライン値になっております。しかしながら、このほとんどがpGVということとして、まだ暫定のガイドライン値での設定となっております。これらはまだ毒性評価が十分でないことから暫定のガイドライン値という形を取られていることになっております。

本日の話題提供につきましては主に2つあります。

シアノトキシンの分析について、そしてシアノトキシンの安定性についての2つにつきまして話題提供させていただきます。特にシアノトキシンの安定性につきましては、昨年度微生物問題検討会で話題提供をさせていただいたときに、委員の皆様から御質問いただいた環境水中の安定性や塩素処理後の毒性といった点につきまして文献調査を行いましたので、そちらについての御説明となります。

それでは、まずシアノトキシンの分析につきまして御説明させていただきます。

シアノトキシンの分析方法につきましては、各国で様々な分析方法が取られております。こちらに示させていただいておりますのがUS EPAの手法、そしてヨーロッパ、EU各国で用いられている手法となっております。それぞれマイクロキスチン、シリンドロスペーモプシン、アナトキシン、サキシトキシンという順番で記載されておりまして、主にはLC-MS/MSを用いた分析方法が中心となっております。

国際基準といたしまして、ISOでもマイクロキスチンはこのような形で測定方法につきまして設定されておりますが、これらはやはり単体ごとの測定がベースとなっております。

一方で、こちらはNIESと書かれておりますが、国立環境研究所ではこれらの物質の一斉分析方法につきまして検討を進められております。特にマイクロキスチン、シリンドロスペー

一モプシン、アナトキシンの3つと、サキシトキシンを含んだ4つの分析方法につきまして国立環境研究所で開発が進められました。サキシトキシンの標準品の取得と使用が難しいという観点から、今回はマイクロキシチン、シリンドロスパーマプシン、アナトキシンの3つの分析につきまして国立保健医療科学院でも試みてみました。

また分析方法につきまして改めて考えましたところ、ガイドライン値の対象がマイクロキシチン-LRからトータルマイクロキシチンズという形に変更となっております。そのためトータルマイクロキシチンズを測定する方法につきましてそれぞれ文献調査を行いました。その結果、マイクロキシチンに共通部分がございます、こちらに着目した測定方法が幾つか構築されております。US EPAのメソッドではELISA法を使った測定方法でトータルマイクロキシチンズの濃度を測定しております。一方、LC-MS/MSによる方法につきましても開発が進んでおりまして、日本におきましてLC-MS/MSによるトータルマイクロキシチンズの迅速分析方法につきましても実際に測定方法が構築されております。

しかしながら、各国それぞれがトータルマイクロキシチンズで測定を行っているわけではなく、やはり実際に測定し、頻度多く検出する物質を対象として、それぞれLC-MS/MSを用いて高感度に分析を行うという手法が実際には取られています。US EPAにおきましてはこちらに示しましたマイクロキシチンのLA、LF、LR、LY、RR、YRの6種類を同時に測定するという測定方法を設定しております。一方、日本におきましてはマイクロキシチンのLR、YR、RRにつきまして実際の測定が行われている事例がございます。国立環境研究所におきましてはそのほかにもWRも同時に測定することが可能と確認されております。このような形でトータルマイクロキシチンズとありますが、各国では主として出てくるものを中心にLC-MS/MSで測定しているところが現状となっております。

では、実際に分析の試みを行いました。こちらは国立環境研究所で行った手法となっております。実際の試料につきましては凍結保存で保存することが可能でして、その後、融解・超音波を繰り返すことにより、細胞内に含まれているシアノトキシンを同時に分析する形を取っております。その際に5%になるように酢酸を添加し、サロゲート物質を添加することによって、より正確に分析可能な条件をつくっております。そして凍結・融解を繰り返した後、フィルターろ過をし、LC-MS/MSで一斉分析を行う手法となっております。

国立環境研究所で実際に湖沼2サンプル、浄水1サンプルにつきまして測定を行いましたところ、そのときには我々がターゲットとした物質群のシアノトキシンは検出されませんでした。しかしながら、別途調製したアオコ試料からはマイクロキシチンとシリンドロスパーマプシンが検出したということで、手法自体は間違いないことが確認されました。

そこで、これらの分析方法を用いまして科学院で一斉分析を試みました。まずマイクロキシチンにつきましては3種類、シリンドロスパーマプシンにつきましては以下の2種類、そしてアナトキシンの合計6物質につきまして、こちらの示すLC-MS/MSの機械を用いまして実際の分析条件を検討した結果、定量下限値がそれぞれ大体100ng/Lのレベルまで測

定可能ということで、おおよそガイドラインの10分の1程度までは測定できる結果となりました。

この分析条件を用いまして、浄水場の原水試料を19種類、湖沼アオコ試料を1種類、河川付着物、河川の岩に付着している藻体につきまして1試料、そして単離株、すなわち実際に藻類を単離培養した株につきまして、国立環境研究所から頂きました7株と国立保健医療科学院で保管しております17株、計24株につきまして分析を試みました。

測定結果がこちらとなります。浄水場原水の19試料からは1試料のみ検出となりました。こちらの検出した物質がマイクロキスチン-RRとなっております。しかしながら、湖沼アオコ、実際にアナベナやアフアニゾメノンといったものがたくさん確認された試料ではございますが、こちらの試料を用いた結果では、我々がターゲットとしているシアノトキシンは不検出でありました。また河川の岩に付着している試料からも、藻類から抽出したものにつきましては不検出でありました。そのほか単離株につきましては、NIES関係の株は全ての株で検出いたしました。マイクロキスティスエルギノーサにつきましてはマイクロキスチン-RR、LR、YRという形になっております。アフアニゾメノンにつきましてはアナトキシンがしっかりと検出されました。そしてラフィドプシスラシボルスキーにつきましては7-デオキシシリンドロスパーモプシンとシリンドロスパーモプシンの両方が検出されました。一方、科学院で保有しております様々なカビ臭を産生する株が中心なのですが、こちらにつきましては対象物質が検出しなかったことが確認されました。

ここで分析を行いまして非常に重要な点といたしましては、サロゲート物質として安定同位体含有しているターゲット物質を使用しております。そしてこれらが各シアノトキシンと同じリテンションタイムで、ピーク位置で出てくるということで、こちらはサロゲート物質の位置を見ることにより実際のターゲットとしているマイクロキスチンを正確に把握することが可能となります。今回の試料では非常に近い位置でピークが確認されましたが、サロゲート物質と比較しますとピークがずれていることが確認できました。そのためこれらは測定対象の物質ではないことが明らかとなりました。これらを踏まえまして、LC-MS/MSの分析におきましては、やはりサロゲート物質をきちんと添加することが非常に重要であるということが改めて確認されました。

以上がシアノトキシンの分析に関する御説明となります。

続きまして、シアノトキシンの環境中の安定性につきまして御説明させていただきます。

シアノトキシンの安定性、まずマイクロキスチンになります。比較的存在量が高いものと言われているものがマイクロキスチンのLA、LR、LF、LY、RR、HtyR、YR、WRとまとめられておりました。

特性といたしましては、非常に安定性が高い化学物質ということでして、室温で保存しても何年も維持することが確認されております。

一方、環境中に太陽光に当たって光分解が起こる可能性がございますが、マイクロキスチンにつきましてはゆっくりとした光分解と異性化しか起こさないということで、フィコビ

リタンパク質、こちらは藻類で光を吸収するタンパク質なのですが、こちらがありますと光の吸収が強くなることから反応速度が向上するということではございますが、90%以上分解するのに最短で2週間、最長で6週間ということで、長期間構造を維持することが可能であることが確認されております。

続きまして、シリンドロスペーパーモプシンとなります。シリンドロスペーパーモプシンで確認されておりますのが、主にこの5つの物質となります。シリンドロスペーパーモプシン、7-エピーシリンドロスペーパーモプシン、7-デオキシシリンドロスペーパーモプシン、7-デオキシデスルホーシリンドロスペーパーモプシン、7-デオキシデスルホー12-アセチルシリンドロスペーパーモプシンという5つの物質となっております。

これらの物質ですが、やはり安定性が高い化学物質となっております、50℃以上でアルカリ条件下、この2つが重なることでゆっくり分解すると記載されております。

また明暗の両条件でも安定して存在しているということでした。しかしながら、先ほどありましたとおり細胞の色素が存在しますと分解が少し進みますが、90%以上分解するには23日とかなり長期間かかることが確認されております。

続きまして、アナトキシンとなります。アナトキシンはメジャーとしてこの3つが確認されております。アナトキシン-a、ホモアナトキシン、ジヒドロアナトキシン-aの3つとなります。

今までの2物質と違いまして、こちらは太陽光によって急速に分解することが確認されております。先ほどは数週間あるいは1か月という単位でございましたが、アナトキシンにつきましてはpH6以上では光分解により、半減期といたしましては1.6~11.5時間と、ほかの2物質に比べると分解がかなり早いことが確認できます。また暗所でpH9の条件下での半減期といたしましては4~10日となっております。

アナトキシンの安定性につきましては、pHが低いほど安定することが確認されておりますが、実際にはpH2~3というかなり酸性条件下でようやく安定するところとなっております。

最後にサキシトキシンとなります。こちらの表に示しておりますのがサキシトキシンとそのほかの各部位のサキシトキシン類の物質群となります。相対毒性につきましては、サキシトキシンを1とした場合の毒性がそれぞれどの程度かを示しておりますが、やはりサキシトキシンの毒性が非常に高く、それ以外のものにつきましてはおよそ低い値を示す結果となっております。

環境中の安定性ですが、暗所、室温ではゆっくり加水分解する傾向があり、半減期につきましてはこちらもやはり1週間~10週間で、90%以上分解するには3か月以上かかることが確認されています。

また表層水中では1か月~2か月残留したケースもあることが確認されておまして、サキシトキシンにつきましても非常に安定性が高い物質であることが確認されております。

続きまして、シアノトキシンを実際に酸化処理した場合の分解効果につきましてはこちら

にまとめさせていただいております。こちらは『エンバイロメンタル・サイエンス・アンド・テクノロジー』という科学雑誌で公表されているものとなっております。こちらを説明させていただきます。

緑がオゾンで、黄色がOHラジカルというところで、促進酸化処理やオゾン処理の自己分解等が出てくる酸化力の強い物質となっております。やはりこのように酸化力が高いものにつきましては、それぞれの物質につきまして分解性が高いと見えますが、塩素処理につきましてはそれぞれシリンドロスペーモプシン、サキシトキシシンやマイクロキシチンは高い一方、アナトキシシンにつきましては分解性が低いところの確認されました。

過マンガン酸処理につきましては、マイクロキシチン等では一定の効果が確認される一方、シリンドロスペーモプシンやサキシトキシシンでは少し効果が低いところになります。

またクロラミンやそのほかの処理につきましては分解性が低いという結果となっております。

では、実際に塩素処理を行った際にその毒性がどのように変化するかにつきまして、最後に御紹介させていただきます。

マイクロキシチン-LRにつきましては、塩素処理のみの場合、処理前後で細胞毒性に変化があまりないことが実験で確認されました。塩素処理が行われて分解しているということであれば、実際には細胞毒性が下がるという結果でございまして、シリンドロスペーモプシンとサキシトキシシンにつきましては毒性が減少することが確認されております。一方、マイクロキシチン-LRにつきましては変化がないということで、どのようなことが起こっているかにつきまして、下の図でまとめさせていただいています。

簡単に御説明いたしますと、マイクロキシチン-LRにつきまして塩素が反応いたしまして、クロロホルムやジクロロアセトニトリル、トリクロロアセトニトリルにつきまして消毒副生成物として生成することが確認されております。そのほかに抱水クロラールにつきましても確認されておまして、その影響があり細胞毒性に変化がない結果となったと考えられます。このような形で近年少しずつですがシアノトキシシンに関するこういった分解経路等につきましてはの検証も進みつつあるというところで、私からの御紹介とさせていただきます。

私からの御説明は以上となります。御清聴ありがとうございました。

○秋葉座長 どうもありがとうございました。

では、ただいまの御報告に対しまして御質問、コメント等を承りたいと思います。いかがでしょうか。

茂野委員、お願いいたします。

○茂野委員 茂野でございます。

マイクロキシチンは、今まで私どもは塩素で分解するから問題ないというような認識を多くとっていたのですけれども、細胞毒性ということから評価するとあまり変わらないよということなので、今後は考え方を変えていく必要があるということですのでよろしいでしょう

か。

○浅田准教授 ありがとうございます。こちらにつきましては確かにこのような結果は出てはいるのですが、マイクロキスチン自体の毒性構造を分解するという意味では、塩素処理をさらに長時間続けますと毒性も少しずつ下がってくるところも確認されている事例もありますので、しっかりと塩素処理して分解していくということであれば、毒性自体もしっかりとコントロールできるのではないかと私自身は考えております。

○茂野委員 どうもありがとうございました。

○秋葉座長 そのほかにごございますでしょうか。

私のほうから、今回重要な知見が得られた、全国の水道供給の実態調査の中でNIES株でやったもので、今回エルギノーサだったのですけれども、たしか昔、現行の水質基準でシアノトキシンを検討しているときに、マイクロキスチンの場合は種によって毒性が、エルギノーサ、ビリディス、ベーゼンベルギーでかなり変わることがあって、ビリディスのほうはエルギノーサよりかなり高いという知見が昔あったと思うのです。今回そんなような知見等々はあるのですか。

○浅田准教授 先生の御指摘はそのとおりです。種ごとに毒性の違い、産生量の違いもございます。

ただ、今回マイクロキスティスエルギノーサなのですけれども、実は先生のおっしゃられた名前なのですが、全部マイクロキスティスエルギノーサにまとめられたということで、もしそれを確認する場合は昔の名前を見て判断しなければならないということになります。今はそれら全てまとめてマイクロキスティスエルギノーサという形になっておりまして、そのため国立環境研究所では遺伝子の分析によって産生する群と産生しない群を解析する手法を開発するところを取られたことになっています。

○秋葉座長 初めの御説明で海外で出てくるものを測定しているということですが、やはり一番初めは結局全部スクリーニングというか、全部測ってから、これとこれが出るからこれについて特定して測定、検査しているということでもいいのですか。もう初めから決め打ちをやっているのですか。

○浅田准教授 恐らくその場で測って、マイクロキスチンとかですと大分標準品も安価に手に入れますので、恐らく測って日常的に高いものと観察結果を踏まえて恐らくこれだろうというところで、単離を行って毒性が出たという形で見ているのかなと思います。

○秋葉座長 検査に関しては、別にまだこれは厚労省の基準とかになっているわけではないのですが、検査検討会、五十嵐先生のところで情報提供といいたいでしょうか、今、微生物問題検討会ではこのようなことが議題となっているということをご報告した方がよろしいでしょうか。

○渡邊室長補佐 微生物に関する検査方法については、微生物問題検討会の中で検討を進め、その結果を水質基準逐次改正検討会に上げるというのが今の体制にはなっています。

○秋葉座長 以前、大腸菌の培地のときは五十嵐先生の検討会で検討していたようですが。

茂野委員、検査に関して今回の浄水試験法からLC-MS/MSが生まれたと思うのですけれども、この辺について今回結構充実したと思うのですけれども、シアノトキシンについては何か検討するとかいう話はあるのですか。浄水とかで。

○茂野委員 茂野からお答えしますが、検討するというようなお話は出ていません。三浦先生もいらっしゃるのですけれども、今、どちらかという分類の話とウイルスの話のほうが進んでいます。

○秋葉座長 どうもありがとうございました。

そのほかにありますか。

島崎委員。

○島崎委員 ガイドライン値や基準値の考え方なのですけれども、3ページ目はWHOの暫定的なガイドライン値ということですが、単純にそれぞれの物質の濃度を合算したものという理解でいいのでしょうか。先ほどのスライドでは、サキシトキシンの場合は相対毒性がかなり違い、もとのサキシトキシンと比べて近いものもあればかなり小さいものもあり、毒性に幅があるようなのですけれども、そのように各物質の毒性を考慮して全て合算したほうがいいのか、それとも毒性の高い代表的な物質のみを考慮した方がいいのか、浅田先生のお考えはいかがでしょう。

○浅田准教授 御質問ありがとうございます。こちらの点につきましては、実際に中の様々な情報を確認させていただきましたところ、記載されておりますのが全体、様々な異性体やそういったものも含めた形での濃度で実際には記載されております。

しかしながら、これらの毒性につきましては、マイクロキスチンを例に挙げますと、いろいろな調査を行いましたところマイクロキスチン-LRがマイクロキスチンの中で毒性が最も高いと確認されてきていることから、毒性評価も少し情報としては多いことを踏まえまして、マイクロキスチン-LRをベースに一応このようなガイドライン値を設定しているという形になっています。

ですが、やはり全体としてほかのものも一応毒性があるということでもありますので、それらを総量として見て、全体としてこのような形で評価すべきではないかと記述されているところではございます。これから恐らく毒性について、先ほどのサキシトキシンの相対評価みたいなデータも少しずつ出てくることになるかと思っておりますので、今後そういった情報が出てきましたら、先ほど言われた毒性に合わせた濃度計算もできてくるのではないかと考えられております。

○島崎委員 ありがとうございます。

○秋葉座長 佐野委員、お願いいたします。

○佐野委員 このガイドライン値と先ほどの実際の検出結果のところでお聞きしたかったのですけれども、何検体かやられて検出・不検出両方あった中で、検出といってもこういう濃度が出ているわけではない、11ページ目ですが、これは要は定量しようと思えばできる状況なのだけれども、定量限界値以下の検出という状態だったという理解でよろしいの

ですか。

○浅田准教授 御質問ありがとうございます。御指摘のとおりでして、今回MC-RRは定量下限値が100ng/Lということでした。実際の検出下限につきましては50 ng/Lにつきまして、ピーク比を含めまして検出自体は確認されていますが、正確な定量という観点からは難しいということで、実際の測定の基準に合わせまして定量下限を設定させていただいております。今回のマイクロキスチン-RRにつきましては50 ng/Lより少し高い値で出てきておりますが、定量下限より下ということで今回は検出という形で表記させていただいております。

○佐野委員 その下のNIES関係の7株全て検出です。これも定量限界値以下だったということですか。

○浅田准教授 こちらは培養株ですので、非常に濃度が高いということですので、分析のところで希釈で我々が検量線を引いている範囲よりも高いところに出てきてしまったので、検出という形で定量値をしっかりと書くことができなかったという結果となります。

○佐野委員 科学院保有株の検出なしというのは不検出とは違う。

○浅田准教授 不検出のことです。

○佐野委員 分かりました。ありがとうございます。

○秋葉座長 よろしいですか。

そのほかにありますでしょうか。

よろしいですか。

では、浅田准教授、どうもありがとうございました。

次に議題3に入ります。「ウイルスに関する知見について」はオブザーバーの三浦主任研究官から御説明をお願いいたします。

○三浦主任研究官 国立保健医療科学院の三浦でございます。

私からは水道におけるウイルスのリスク管理の国際動向についてと水源流域、浄水処理、排水処理プロセスにおけるPMMoV遺伝子マーカーの実態について説明いたします。

まず研究の背景についてですけれども、我が国の水道水源は取水量ベースでおよそ4分の3が河川やダム、湖沼等の表層水を使用しております。ヒトや動物のふん便に由来する病原微生物に汚染されている場合が多いという特徴がございます。

そのような状況の中、近年においては微生物リスクが高まる気候変動影響としまして、洪水や渇水の被害が発生しております。例えば令和元年の台風第19号、東日本台風ですけれども、国土交通省によりますと国内で16か所の下水処理場で浸水被害等が発生しております。処理が一時的に停止することがございました。このような場合には復旧までの間、未処理で、または簡易処理で下水が放流されることとなります。また今年の夏は渇水の被害も発生しております。例えば利根川上流の矢木沢ダムでは貯水率が顕著に低くなったということで、異常な暑さの中で節水と水分の適切な摂取が同時に呼びかけられるという状況でございました。このような渇水被害の場合には、例えば河川の下流域においては下水処理水の割合が高まることも懸念されております。

このように豪雨や台風による水災害の激甚化・頻発化はもはや明らかではありますけれども、積雪量の減少や無降水期間の増加による渇水被害の深刻化も問題視されております。

このような洪水や渇水時においても安全な水道水の供給を維持するためには、指標細菌よりも生残性が高く、浄水処理での除去性が低いウイルスのリスクを適切に管理する必要がありますと考えております。

こちらの表には水道におけるウイルスのリスク管理の国際的な動向について整理した結果を示しております。EUや米国、カナダ、オーストラリアにおける飲料水の水質に関する規制やガイドラインでの記載を整理したものです。

昨年度の微生物問題検討会においても御報告いたしました。EUにおいては、水道の原水において体表面吸着大腸菌ファージを監視することとしておりまして、100mL当たり50PFUを超える場合には、処理プロセスにおいても測定し、log除去効率を把握することとしております。2020年のEUの飲料水指令は今年EUの飲料水規則として公表されたところでございます。

また米国においては、具体的な種類の記載はありませんが、腸管系ウイルスについて水道水中において最大汚染レベル目標値をゼロと記載しておりまして、それを達成できるように、4 logのウイルスの除去、不活化を達成できる処理システムを導入することと記載しております。

またカナダでも同様に腸管系ウイルスにおいて、こちらでは4 log以上のシステムを求めることが記載されております。

オーストラリアにおいては、水道水中の大腸菌ファージが100mL当たりゼロPFUであること、そしてこのファージがウイルスのろ過及び消毒の効率の検証に有用であるという記載がされております。

また昨年度御紹介しましたけれども、WHOの飲料水水質ガイドラインにおいては、大腸菌ファージ、バクテロイデスフラジリスファージ、さらに腸管系ウイルスそのものは、ウイルスの消毒や物理的除去プロセスの効果指標となり得ることが記載されております。

このように大腸菌ファージの監視ですとかウイルスの処理性能を有するシステムを求めることでウイルスのリスクを管理することが言及されているような状況でございます。

諸外国の状況を整理しますと、指標細菌として大腸菌や腸球菌等を監視しつつも、腸管系ウイルスがこれらの指標細菌よりも環境水中で生残性が高い点、ろ過処理で除去性が低い点、塩素消毒で不活化されにくい点を留意している状況です。

したがって、大腸菌の不検出が必ずしも腸管系ウイルスが存在しないことを示すものではないと認識されており、大腸菌ファージ等を用いたウイルスのリスク管理が重要であると考えられております。しかしながら、昨年度も申しましたとおり、水道水から大腸菌ファージが検出されないことは、腸管系ウイルスや原虫が存在しないことを裏づけるものではないとWHO飲料水水質ガイドラインに記載がございまして。

すなわち例えばコクサッキーウイルスB5型のようにファージよりも塩素消毒耐性が高い

腸管系ウイルスが存在するため、ファージを指標とすることは水道水の安全性を保証するには不十分であると考えられます。

そこで北海道大学の松井佳彦名誉教授が代表を務められております厚労科研のウイルス分科会では、浄水処理のウイルス除去指標としてPMMoV遺伝子マーカーを活用できないかと考えております。このPMMoVはピーマンやトウガラシ類に感染する植物ウイルスでして、ヒトへの感染性はないものになります。チリペッパーソースなどに非常に高濃度で含まれておりますので、食品や調味料を介して摂取したヒトのふん便中に高濃度で排出されるものです。その結果、流入下水中の濃度では1L当たり $10^8 \sim 10^{10}$ copiesと非常に高濃度であるため、環境水のヒトふん便汚染を示すウイルス指標として提案されているものになります。

こちらのグラフは全国8か所の浄水場原水を用いた除去試験の結果ですけれども、凝集・沈殿と砂ろ過処理のプロセスにおいて、横軸がPMMoVのlog除去率、縦軸が腸管系ウイルスのlog除去率を示しておりますけれども、PMMoVは種々の腸管系ウイルスと除去性が類似している特徴がございます。

さらに塩素消毒に耐性があるため、浄水試料から $10^1 \sim 10^2$ copies/Lの濃度で検出されるという特徴もございまして、除去指標としても有用である可能性が指摘されているものになります。

ウイルス分科会ではPMMoV遺伝子マーカーを表層水を水源とする水道におけるリスク管理に活用できないかと考えております。すなわち、PMMoV遺伝子マーカーを用いて水源の汚染実態から物理的な除去までのプロセスを監視すること、そしてPMMoVですと病原ウイルスが不活化されているかどうかは調べることができませんので、この部分については水質・運転パラメータを用いて管理する手法を検討しているところでございます。

それを達成するために原水における実態ですとか除去特性、ろ過水や浄水における実態、PMMoVの試験方法、不活化特性、さらに水道水における実態についてこれまで調査研究を重ねてきておりまして、昨年度までのこの検討会においても結果を御報告してきたところでございます。今年度につきましてはこの赤枠で示したところを集中的に進めている状況でございます。

本日はPMMoV遺伝子マーカーのろ過水にける管理目標値案を検討している結果について御報告させていただきます。こちらの検討に際しましては、WHOの飲料水水質ガイドラインにおいてこのようなリスク評価を行う際の参照病原ウイルスとして記載されており、またこれまでの国立保健医療科学院で行ってきた実態調査の結果、原水中に非常に高濃度で含まれる場合がある病原ウイルスの1つであることから、ロタウイルスを用いてこのようなリスク計算を行ってみました。このロタウイルスは原水中において最大で1L当たり $10^5 \sim 10^6$ の濃度で観測されております。

これまでの研究によって凝集・沈殿およびろ過のプロセスにおいてPMMoVはおおよそ1～2 logは除去されることが確認されておりますので、ろ過水中には最大で $10^3 \sim 10^4$ の濃度で

含まれるものと試算されます。

浄水中のロタウイルスの濃度として、WHOの飲料水水質ガイドラインにおいて許容感染リスクとして記載のある 10^{-6} DALY/人/年に相当する 10^{-5} PFU/Lを達成するためには、塩素消毒において8～9 log不活化させることが求められるわけですが、こちらにつきましては腸管系ウイルスの中でも特に塩素消毒耐性が高いコクサッキーウイルスB5型を用いて北海道大学の白崎先生のグループが実験を行った結果、CT値が40mg/L・minで達成できるということが分かりました。したがって、このロタウイルスでは前塩素や中間塩素処理が行われている場合は実際に観測することが難しい濃度になりますけれども、PMMoV遺伝子マーカーを用いますと、ろ過水において $10^3 \sim 10^4$ copies/L以下であれば、ロタウイルスは許容感染リスク以下であることが確認できると考えております。このようにウイルス分科会では、ろ過水におけるPMMoVの管理目標値を 10^4 copies/L以下と設定することができないかと、現在、検討しているところでございます。

こちらは国立保健医療科学院において行った全国21浄水場を対象にしたPMMoVの実態調査の結果で、オレンジが原水試料中のPMMoV濃度を示しております。黄色がろ過水、緑が浄水試料になっております。御覧いただいておりますようにろ過水の中では最大でも浄水場Nにおいて3.4logという濃度が観測されてはおりますけれども、ろ過水においては 10^4 copies/L以下であるという結果が得られているところでございます。したがって、 10^4 という濃度は管理可能な目標値と考えているところでございます。

こちらの浄水場E、F、Iのように、原水中では 10^6 を超える濃度が観測されておりますけれども、このような地点においてもろ過水中では最大 10^3 のオーダーで検出されておりますので、ウイルスが十分に除去されていることが確認できております。

続きまして、PMMoV遺伝子マーカーを用いることで、水源流域におけるふん便汚染の実態についても把握可能であることを示すデータを御紹介したいと思います。

こちらは近畿地方の主要な水道水源であります琵琶湖・淀川水系において調査を行った結果になります。琵琶湖南湖でこちらの4地点、その後、瀬田川、宇治川、桂川、木津川、そして淀川で2つの橋の右岸と左岸でそれぞれ2地点ずつ試料を収集いたしました。こちらのグラフは、左から順に上流から下流になっているのですが、観測されたウイルス濃度、ヒトや反芻動物、ブタの腸内細菌に特異的な遺伝子マーカー濃度のそれぞれ平均値を示したものになっております。琵琶湖南湖では1L当たりPMMoV遺伝子マーカーは 10^4 のオーダーで検出されておまして、その後、宇治川・桂川・木津川が合流する地点で 10^5 を超え、最後淀川においては 10^6 の濃度まで上昇する様子が観測されました。

そのような中、病原ウイルスは宇治川・桂川・木津川の地点から検出されるようになってきて、ロタウイルスAやノロウイルスGⅡの濃度が下流に行くにつれて増加する傾向が観測されました。

このようにPMMoV遺伝子マーカーは環境水中において病原ウイルスよりも非常に高濃度で含まれておりますので、流域におけるふん便汚染の実態も把握することが可能であると

いう結果になっております。

また次のグラフは、高度浄水処理や排水処理プロセスにおいて試料を採水して、PMMoV遺伝子マーカーを測定することで、システムにおけるウイルスの挙動を把握できるという結果を示したものになります。浄水場の原水、着水井、沈殿処理水にかけて測定を行うことで、こちらの浄水場の場合はこのプロセスでPMMoVがおよそ2 log除去できていることを把握することができました。その後、グラフの数値は検出濃度の平均値を示しておりますけれども、検出された試料数自体はオゾン処理や活性炭処理水において少なくなっていく様子が観測されました。

こちらの青の四角で示したプロットはロタウイルスAの濃度になるのですが、着水井までは検出されておりますけれども、その後のプロセスでは定量下限値以下で不検出となるという結果でございます。PMMoV遺伝子マーカーは排水処理プロセスから採取した試料からも検出することができまして、およそ 10^4 のオーダーで含まれていることが分かりました。

こちらの測定された濃度、排水処理プロセスを含めた採水当日の処理水量をベースに負荷量を計算することも可能でございます。着水井におけるPMMoVの負荷量は1日当たり 10^{14} と計算されます。その後、凝集沈殿池を経た後にはおよそ 10^{12} まで負荷量が低減します。大半のPMMoVは汚泥として排水処理プロセスに移行されることとなります。その後、排水は排水池を経て着水井に返送されるのですが、返送水に含まれるPMMoVの負荷量は 10^{10} または 10^{11} というオーダーになっておりますので、大部分のPMMoVは脱水後の汚泥に含まれる形で系外に排出されるという挙動をとることが把握可能になります。

このシステムにおいては、原水に対する返送排水のPMMoVの負荷量は 10^{14} に対して 10^{10} ～ 10^{11} というオーダーですので、およそ0.06%で非常に小さいことがわかり、このような処理システムにおいてウイルスのリスクが十分に低減されていることを定量的に把握することが可能になります。

以上、まとめますと、本日はまず水道におけるウイルスのリスク管理に関する最新の国際動向について御報告いたしました。

2つ目としましては、PMMoV遺伝子マーカーの水源流域、浄水処理、排水処理プロセスにおける実態について御報告いたしました。

最後に、この研究について受けた助成を記して御説明を終わりにいたします。どうもありがとうございました。

○秋葉座長 どうもありがとうございました。

それでは、ただいまの御報告に関しまして御質問、コメント等を承りたいと思っておりますがいかがでしょうか。

佐野委員、お願いいたします。

○佐野委員 御説明ありがとうございました。大変分かりやすく説明していただき、ありがとうございました。7ページ目なのですが、そこもすごくよく理解できましたが、

PMMoVの不活化ということで、でもqPCRでやっているというところの、このページとしてはロタウイルスのほうでPFUが出てきたり、あとはコピーだったりというところで検出方法が違う中で、右下の3つ*がある塩素消毒ではほとんど不活化されないというところは、コピー数で評価しているところを不活化と表しているところがちょっと誤解を与えかねないかなと思ったので、表現の問題で、言わんとされていることは十分理解しておりますけれども、必要であれば表現の変更が必要かなと思ったところでございます。いかがでしょうか。

○三浦主任研究官 御意見ありがとうございます。こちらはcopiesで示した状態で不活化と記載しておりましたが、実際に植物を用いてプラーク法で感染性を検討した結果も含めて記載しているものでして、PMMoVの感染価はわずかには減少するそうなのですが、塩素消毒を経てもほとんど減少しないことが確認できたという、こちらは北海道大学の研究成果になります。

○佐野委員 分かりました。そうすると表現は問題なくて、濃度の表現的なところも変わらなくていいのですか。ここはコピーのままでもよろしいわけですか。

○三浦主任研究官 コピーでも確認しておりますし、植物の葉を用いて感染性も確認した結果となりますので、両方記載できると考えております。PFUの場合には数値は変わってきますけれども、わずかに減少するだけだということが記載できると思います。

○佐野委員 分かりました。ありがとうございます。

○秋葉座長 そのほかにもございますでしょうか。

金見委員のほうに先に手が挙がってましたので、金見委員、よろしくお願ひいたします。すみません、吉田委員、その後でお願いします。

○金見委員 すみません、ちょっと先取りしてしまいました。東京都の金見です。

管理目標値として 10^4 と御提案があったのですが、水道事業者側としては、どう管理するかなというのをすぐ考えてしまうところです。ただ、見ると当該ウイルスの除去が凝集・沈殿のところではほとんどなされているところなので、その数値を管理しようとする、結局凝集・沈殿のところでは管理できないのかなと考えます。ちょっと超えましたといったら凝集剤を増やしましょうというような感じの管理をするのかなとも思いますが、一方でロタウイルスなどは塩素消毒でかなりの不活化がされているところなので、目標値化するのであれば、PMMoVが 10^4 を超えたときに水道事業者としてはどうするのが良いかというのを併せて考えていかなければいけないのかなと思います。

○三浦主任研究官 どうもありがとうございます。そちらにつきましてはウイルス分科会においても議論している段階でありまして、例えば超えた場合にはどういう処理の強化が必要かですとか、併せてどんな病原ウイルスについて試験する必要があるかですとか、そちらについて今後しっかり検討を重ねてまいりたいと思います。御指摘ありがとうございます。

○金見委員 よろしくお願ひいたします。ありがとうございます。

○秋葉座長 金見委員の質問に関連して、今、クリプトの管理において、現行ではろ過水がクリプトで0.1度ということで管理されているわけですが、これは凝集剤が入ってきちんとろ過処理されていればほとんど問題ないですよというようなことで濁度0.1度を指標として使っていますが、ウイルスの場合、この指標の位置付けはいかがでしょうか。

○三浦主任研究官 御質問ありがとうございます。こちら（スライドの8ページ）が浄水場の実態の調査結果で、2020年から22年にかけて5回採取した試料の平均値を示しているわけですが、全ての浄水場においてろ過水の濁度は0.1度以下で管理されているところになります。このような試料であっても $10^2\sim 10^3$ のオーダーで検出されることはあったというものになります。浄水場からご提供頂いた試料の範囲では 10^4 を超えることはなかったのですが、今後、測定を重ねていくことで、ろ過水の濁度が0.1度以下で管理された場合にはどのくらいの濃度で観測されるものなのかという知見が全国的に蓄積されていくと考えております。

○秋葉座長 クリプトの場合、耐塩素性ですので塩素が効かない。だけれども、ウイルスでは感受性があります。クリプト等はシステム管理でその安全性は保持されているわけです。ウイルスの場合も全体のシステム管理として、その辺の議論もすることになるわけですか。

○三浦主任研究官 ウイルスのリスク管理では、まず物理的除去プロセスでウイルスが除去されていることを確認することが重要で、これにPMMoV遺伝子マーカーを利用します。そして、病原ウイルスが不活化されていることの確認には、水質や運転パラメーターで管理することを検討しており、今後も議論を重ねて参りたいと思います。

○秋葉座長 クリプトの場合ですと濁度で超えてしまうと、塩素が全然効かないわけですが、ウイルスの場合、これは効くわけだから、0.1度をきちんとやっていたらほとんど問題ないということになりますか。

○三浦主任研究官 事業体においてもPMMoVを試験していくことによって、ろ過水濁度0.1度以下という管理方法がウイルスのリスク管理において意味のあるものかどうかという知見が今後集まってくるのではないかと考えているところです。

○秋葉座長 そのほか何かございますでしょうか。

吉田委員、すみません。失礼いたしました、吉田委員、お願いいたします。

○吉田委員 ありがとうございます。三浦先生にちょっと伺いたいのですけれども、6ページの原水における実態なのですが、具体的に例えば井戸とか簡易水道に使うような水源のときはどのくらいの量が入っていたのでしょうか。可能な範囲で教えていただければと思います。

以上です。

○三浦主任研究官 PMMoVはもちろん全ての地下水試料から検出されるものではございません。検出される場合には最大でも 10^2 の濃度で検出された地点は過去にございました。

○吉田委員 なるほど、そうすると 10^2 というのは恐らく先ほどお示しのあった定量下限値

ぎりぎりのところなのですね。

○三浦主任研究官　そうです。表流水試料の場合には1L程度ろ過凝縮して測定しているので、 10^2 が検出下限値と示しておりますけれども、地下水試料の場合には1けた大きい10Lや20Lを濃縮して、検出下限値が 10^1 のオーダーで試験した結果になっております。

○吉田委員　どうもありがとうございます。

○秋葉座長　そのほか何かございますでしょうか。

よろしいでしょうか。

三浦主任研究員、どうもありがとうございました。

続きまして、議題4でございまして、「従属栄養細菌の指標性について」、これも浅田准教授から御説明をお願いいたします。

○浅田准教授　改めまして京都大学の浅田と申します。

今回従属栄養細菌数の指標性に関する検討につきまして私から御説明させていただきます。

まずこちらの従属栄養細菌ですが、現在、水質管理目標設定項目という形で設定されております。現在の目標値ですが、暫定目標値となっております、2,000CFU/mLという形で目標値が設定されております。

こちらの暫定値を決める際に解析と調査等で用いられた事例といたしましては、日本水道協会水質試験方法等調査専門委員会が平成17年度夏季に実施した全国調査の結果に基づいております。こちらは河川水、湖沼水、沈殿処理水、浄水、給水等様々な試料を用いまして、従属栄養細菌、一般細菌の測定を行っております。その中で有効な116個の測定値、そのうち浄水あるいは給水のデータは4データとなっておりますが、そちらを用いまして一般細菌数と従属栄養細菌数の相関関係の評価しております。3つのケースにつきまして検証されておまして、全数、塩素消毒なし、塩素消毒ありで評価されております。

その結果、一般細菌数100CFU/mLに相当する従属栄養細菌はおおよそ1,300~2,300CFU/mLという値が計算されております。

そしてこの暫定目標値ですが、現在は暫定でありまして、今後、調査を進めていくことにより改めて検証を行う旨が記載されております。しかしながら、それ以降の調査は知見が十分に蓄積されていないということから、改めましてこちらの指標性につきまして検証を行うことといたしました。

まず取組といたしましては、従属栄養細菌数と一般細菌数、実際に従属栄養細菌の指標性を見る際に一般細菌数との関係性につきまして新たにデータの蓄積から関係性を見る取組を行いました。

こちらが水道統計を使用した解析データとなっております。こちらがその一部を解析した図となっております。このような形で原水におきましては一般細菌数と、こちらはHPCと書いてありまして従属栄養細菌数を意味することとなりますが、こちらにつきまして関係性がある結果となりました。

こちらが表にまとめた結果となっております。それぞれ年1回測定を行った地点でのデータと、一般細菌数と従属栄養細菌数を測定して、その平均値を用いて解析を行った結果となっております。それぞれにつきまして十分なデータを確保しており、それぞれ関係性につきまして評価いたしまして、相関関係があるという結果が示されました。

一方、こちらのデータは全てやはり原水のデータということもありますので、実際の調査という観点で原水、ろ過水、浄水の3つにつきまして、全国の21浄水場で年2回、2年間、合計4回の調査を行いました。こちらは全てのデータ252データをまとめた結果となっております。このような形で重回帰分析を行った結果、決定係数が0.827という結果が得られたこともあり、関係性があると確認されました。

一方で、こちらの図を見ますところ、右側の濃度が高い集団と低い集団でデータのプロットのばらつきが確認されております。こちらはそれぞれ原水側、そして浄水とろ過水側と分かれておりますので、改めましてこの2つにつきまして分けて関係性の評価を行いました。その結果、原水につきましては一般細菌数と従属栄養細菌数にある一定の関係性があることが確認されました。一方で、ろ過水・浄水につきましてやはり従属栄養細菌数のばらつきが大きく、一般細菌数と従属栄養細菌数の関係性が低い結果となりました。そのため従属栄養細菌におきましては一般細菌数の指標性としては少し合わないのではないかとこの点が考えられました。

それらを踏まえまして、改めまして世界の諸外国で従属栄養細菌数自体をどのように活用しているかという点につきまして調査を行いました。

こちらが調査で確認された4つの国で従属栄養細菌数がどのように活用されているかをまとめたものとなっております。US EPAにおきましては、水道システムのしっかりとした維持管理がなされているかという点から500CFU/mLという値が確認されました。一方、そのほかの諸外国におきましては、2000年前半のときには基準値という形で数値が設定されていましたが、現在は基準値という形は設定されておらず、微生物学的安定性に影響を与える可能性のある水質の変化の把握や、実際に消毒・配水システムの管理がしっかりできているかの確認等に使われるところになりまして、水道システム、特に配水システムでの微生物学的安定性の確保に活用しているという形となっております。

改めまして今回の結果ですが、ろ過水・浄水では一般細菌数と従属栄養細菌数の関係性が低い結果となりました。この理由として考えられましたのが、従属栄養細菌数が高濃度の有機栄養物で増殖する細菌に加えまして、比較的低濃度の有機栄養物で増殖する細菌で、水道水内で再増殖可能な細菌をカウントしていることによるものと考えられました。

そこで従属栄養細菌数を把握することにより一般細菌数では捕捉できない再増殖可能な細菌数を把握可能ということが考えられました。今後の検証といたしましては、再増殖可能な細菌の中で病原性を示すようなレジオネラといった再増殖可能な病原菌に対する指標菌になり得るかということにつきまして厚生労働科学研究費で検討を進めている段階となっております。

以上で私からの御説明とさせていただきます。ありがとうございました。

○秋葉座長 どうもありがとうございます。

では、御質問、コメント等を承りたいと思います。よろしく願いいたします。

○枝川委員 よろしいでしょうか。

○秋葉座長 どうぞ。

○枝川委員 大阪健康安全基盤研究所の枝川です。

浅田先生、貴重なデータの御提示をありがとうございます。6ページ目のスライドのところで、右側、ろ過水・浄水のほうでいうと、通常の検査ではカウントできないくらい恐らく濃縮されて出されていると思うので、そもそも一般細菌、従属栄養細菌は菌数自体が少ないので、これを評価するのは非常に難しいのかなとは思ったのですが、今後、レジオネラとかそういった要因を含めて考えられていくのだと思うのですが、今時点で本日示していただいたデータを見ると、2,000という数字よりももう少し少ないほうが妥当と考えられているのかなと思っただけなのですが、その辺りはいかがでしょうか。

○浅田准教授 御指摘ありがとうございます。今回の調査結果につきましては、全ての浄水場で2,000より低い結果となりました。浄水につきましては、2,000の暫定目標について制御できていると考えられております。

そちらの基準値を下げるかどうかという議論につきましては、まだ我々といたしましてもレジオネラ等の関係性につきましては現在評価している段階ですので、現状の段階では私からコメントできないところではございますが、幾つかその中で少しずつ値等も出てきておりますので、それらの実態調査等を踏まえまして今後丁寧に検証していきたいと考えております。

○枝川委員 分かりました。では、2,000という数字で現在問題ないということで、今後、いろいろ知見が出てきましたら御提示いただけたらと思います。ありがとうございます。

○浅田准教授 ありがとうございます。

○秋葉座長 そのほか何かございますでしょうか。

よろしいでしょうか。

○片山委員 よろしいですか。

○秋葉座長 どうぞ。

○片山委員 海外で数値が外れていったというお話だったかと思うのですが、そのときの議論はどういうものがあつたかは分かりますでしょうか。

○浅田准教授 私自身もこちらを見ている際にはホームページ等で記載されていたり、ガイドラインで記載されている内容自体でしかないのですが、詳細な議論につきましては私でも把握し切れていないところではございますが、カナダやオーストラリア等で使われている判断といたしましては、オーダーレベルで増殖していると、どこかでバイオフィームとかができるのではないかとということで、洗管とかそういった形で外管内をきれいに洗浄する、メンテナンスするという基準として考えているという記載のみでしか書かれておりま

せんでした。

○片山委員 分かりました。ありがとうございます。

○秋葉座長 そのほか何かございますでしょうか。

よろしいでしょうか。

では、浅田委員、どうもありがとうございました。

それでは、続きまして議題5でございます。「クリプトスポリジウム等の検査方法について」、泉山委員から御説明をお願いいたします。

○泉山委員 では、資料5を用意しました泉山です。よろしくお祈りします。

資料は「水道クリプトスポリジウム等試験における遺伝子検出についての補足」ということで用意しています。

この資料を用意した背景について、こちらにあるとおりです。水道クリプトスポリジウム試験は、平成19年の通知において遺伝子検出が導入されました。それまで従来は、顕微鏡検査が行われていました。つまり平成19年の時点で遺伝子検出が使えるようになったわけです。しかし、いまだに遺伝子検査不可という誤解があるらしいです。遺伝子検出と顕微鏡検出が不一致することへの不安がもしかすると背景にあるのかなと感じるところです。最近では新型コロナ対応でPCR検査が普及して一般化していますので、クリプトスポリジウム試験にもPCR検査が使えたら便利かなということもあります。

こうした背景がありましたので、最近のクリプトスポリジウム試験の検査結果を見て、顕微鏡検査と遺伝子検査がどの程度一致しているのかを改めて確認してみました。

先に結論というか、結果の話をしますと、クリプトスポリジウムとジアルジアのいずれの検出においても7割程度が、顕微鏡法と遺伝子法が一致しまして、特に問題を感じなかったという結果になっています。もちろんプライマー・プローブの設計やPCRの反応系によっては差異が生じる可能性があるのですが、そこは注意して使う必要があります。PCRですので、PCR産物から塩基配列を読み取りして、後で確認できます。種類を見たり、遺伝子型を見たりといった、確認はできるはずですが、もし高濃度の汚染があると、複数混ざって配列が分からない場面もあるのですが、最近ではゲノムシーケンサーが便利に使えるようになり、混合試料であっても最終的には読み取りできるだろうとなります。この一連の内容について御紹介します。

まず事例1番目の内容になりますが、関東地方で委託受託の検査がされて、一部を借りてきた結果になります。汚染に苦慮している河川水・排水等の試料があり、それを顕微鏡で検査すると同時に遺伝子でも検査をしてみた結果になります。表の左側はクリプトの結果、右側がジアルジアの結果です。顕微鏡の結果を基準にしてPCRの結果を見ていくと、顕微鏡が陽性・かつ同サンプルからPCRも陽性が71あって、顕微鏡が陰性・PCRも陰性が24あって、合計116あるサンプルのうち95までが一致している結果になっています。大体7割～8割の一致。ジアルジアのほうも同様です。顕微鏡陽性・PCRも陽性で19サンプル、陰性・陰性は57、つまり116サンプル中のこの程度（76）のサンプル結果がそろっていました。

私のほうではやはり本当にクリプトかジアルジアか気になりますので、Nested-PCRを行って、PCR産物を安定に取得して、そこから塩基配列決定までを行っています。そうすると*Cryptosporidium suis* というブタ型とか、*C. muris* 又は*C. andersoni* といったげっ歯類に罹る感染検出されるものとか。ジアルジアですとAssemblage Aの人獣共通で感染するもの、Bも同じ人獣共通です。Assemblage Eはブタ、Assemblage Gのげっ歯類とかそのほか。という具合に様々にクリプトとジアルジアが取れて来ていて、塩基配列を確認しても問題なかったことを見えています。学会発表等に使った結果をさかのぼって確認を取りましたとなっています。

続きまして事例の2番目、東北地方の山間部でジアルジアが検出されて困ったという結果になります。こちらはジアルジアで悩んでいて、クリプトスポリジウムの結果がないです。山間部で畜産による影響がないけれども、実は野生動物の影響を受けていたことに苦慮したわけです。顕微鏡陽性かつ遺伝子検査陽性が23、陰性・陰性が32で、77サンプルを確認したうちの55、7割程度一致と。塩基配列は*Giardia microti* というげっ歯類に罹る感染検出されるものでした。

事例3番目、これは下水疫学での確認になります。都市部の下水処理場の下流の河川水を対象に試験して、そうすると下水中に含まれている病原体が検出できるのではないかと、下水疫学の一つができるだろうことを期待して行った結果になっています。表の左側がクリプトで、ジアルジアが右側になります。顕微鏡陽性・PCR陽性の両方陽性が6、陰性・陰性が14。こちら例数は少ないかもしれないのですが、24サンプル中の20サンプルまで結果は一致していて、結果がずれたのは少ないことになります。ジアルジアも同様です。陽性・陽性が19で、陰性・陰性が2。ジアルジアの場合、陰性が少ないのですけれども、ジアルジアがたくさん検出されることが多くて陽性例が多い。24サンプル中の21までが一致している結果になっています。つまり8割～9割が一致しています。塩基配列からは*C. parvum* のウシ型、*C. meleagridis* のトリ型、*C. canis* のイヌ型、*C. suis* のブタ型。ジアルジアはAssemblage A・Bの人獣共通、Dのイヌ型とか、たくさん取れてきているわけです。

4番目はサンプルの中に複数のクリプト・ジアルジアが混ざってきたときに、どのようにして解決しているかという紹介になります。

これはクリプトの例になるのですがけれども、汚染源調査の一環として遺伝子検査を行って、配列決定をしようとするすると混ざっていてよく読めない。低い割合で混合している場合もある。ということで、そこでゲノムシーケンサーで読み取ってみるわけです。こちらは縦軸が存在の比率です。横軸にサンプルの種類、年月が書いてあります。結果としてクリプトスポリジウムは実にいろいろなもの、9種類の配列が取れてきたわけです。この棒グラフにあるとおりのいろいろな存在割合で混ざっていましたよという結果になっていて、非常に便利に使っている例になります。

最初に戻りますと、結論としては水道のクリプト試験に遺伝子検出法を実際に利用している、利用できている例をお示しすることができたと考えています。

私からは以上です。ありがとうございます。

○秋葉座長 どうもありがとうございました。

では、御質問、コメント等を承りたいと思いますが、どうでしょうか。

○枝川委員 よろしいでしょうか。

○秋葉座長 どうぞ。

○枝川委員 大阪、枝川です。

泉山先生、御説明ありがとうございます。データの提示でRT-PCRというのはリアルタイムのことでしょうか、それとも逆転写のPCRのことでしょうか。

○泉山委員 逆転写のリアルタイムPCRをしまして、両方の意味が入ってしまっています。逆転写をした後にリアルタイムPCRを行って比較に使っています。その後、Nested-PCRもしたり、塩基配列決定をしたりしていますけれども、今回の一覧表としては、RT-PCR（逆転写後のリアルタイムPCR）の結果を出しています。

○枝川委員 検査をする側としたら、キット化されているものがやはり使いやすいかなと思うのです。

○泉山委員 そうですね、私のほうではタカラバイオと栄研化学の試薬を使っているのですが、市販のもので、どこでも入手して使えると思います。

○枝川委員 リアルタイムPCRを定性で使うときに、リアルタイムPCRだと検量線を引くのでどこで陽性・陰性という判定をするかというところが1つポイントになるのかなと思うのですが、その辺りのどこで判定するという基準みたいなものはあるのでしょうか。

○泉山委員 私が今回使った基準は、頼りない増幅があってもNested-PCRを行ってきちんと塩基配列まで確認が取れているものについては陽性のほうに入れていきます。頼りない増幅やRT-PCRの結果だけから判定しようとする、確におっしゃるとおり、どのCt値から陽性と取るかというのは非常に悩ましいことになると思いますので、そこは検量線を引くなど検討が要るのかなと。

○枝川委員 ありがとうございます。それですとLAMPのように定性で機械で判定が出てくることが検査としては割と判断は難しくないのかなと思うのですが、平成24年に厚労省が出された文にはLAMPも出ているので、今後そういったリアルタイムもLAMPも遺伝子も方法としてどんどん使っていくという方向性ということによろしいのでしょうか。

○泉山委員 使っていただいて私は構わないと思っていますのですが、先の質問に関連して言うのであれば、定性であればそんなに悩むことはないのかなという気がします。定量をしようとする、幾つあるか、幾つあったかということを見ようとする、確におっしゃるとおり厳密に検量線を引いてとか、Ct値はどこから陽性とか、そういうことの確認が必要になってくると思います。ただ、クリプトスポリジウム試験の本来の目的は汚染があるかないかを見ていくことなので、あまり数を積極的に出しましょうという話ではなかったと思います。あまり数は気にしないで試験しています。汚染があるかないかを私のほうでは考えて検査をしているという、そんな次第です。

○枝川委員 分かりました。ありがとうございました。

○秋葉座長 そのほか何かございますでしょうか。

よろしいでしょうか。

泉山委員、どうもありがとうございました。

それでは、最後に議題6「その他」ですが、事務局から何かありますかでしょうか。

○渡邊室長補佐 事務局からは特にございません。

○秋葉座長 お集まりの委員の皆様方から何かございますでしょうか。

よろしいですか。

では、本日の議題は全て終了しましたので、事務局にお返ししたいと思います。

○野澤室長補佐 本日は活発な御議論をいただきまして、どうもありがとうございました。

本日の議事録につきましては、事務局で案を作成いたしまして、皆様方に御確認いただいた後、ホームページで公表いたしますので、よろしく願いいたします。

これをもちまして閉会といたします。本日は長時間にわたり誠にありがとうございました。