

水道の微生物リスク制御に係る国内外の動向および情報について

国立保健医療科学院 生活環境研究部 水管理研究領域

1. WHO “Quantitative Microbial Risk Assessment: Application for Water Safety Management” について

WHO 水・衛生・健康部門は 2016 年 7 月に標記ドキュメントをウェブサイトにて公開、同年 11 月に一部修正を行った上で再公開した¹⁾。当ドキュメントは、水・衛生・健康部門がこれまでに公開している 3 種類の水質ガイドライン（飲料水・下廃水再利用・レクリエーション水）における微生物リスク評価を調和(harmonize)させることを目的としており、各分野の規制者や実務者が、定量的微生物リスク評価(QMRA)の手法を実務に適用し、糞便由来の汚染による水系感染症のリスクを制御する支援となるべく作成されている。当ドキュメントの目次は以下の通りである。保健医療科学院は、当ドキュメントの和訳および無償公開の許諾を WHO から得ており、本年中に全文の和訳とウェブ公開を行う予定である。

1 INTRODUCTION: THE EVIDENCE BASE FOR ADEQUATE RISK MANAGEMENT

- 1.1 Moving towards preventive, risk-based water safety management
- 1.2 Purpose of this document
- 1.3 Intended audience and reading guide
- 1.4 Structure of this document

2 SPECTRUM OF RISK ASSESSMENT APPROACHES

- 2.1 Sanitary inspection
 - 2.1.1 Strengths
 - 2.1.2 Limitations
- 2.2 Risk matrix
 - 2.2.1 Strengths
 - 2.2.2 Limitations
- 2.3 QMRA
 - 2.3.1 Problem formulation
 - 2.3.2 Exposure assessment
 - 2.3.3 Health effects assessment
 - 2.3.4 Risk characterization
 - 2.3.5 Strengths

2.3.6 Limitations

- 2.4 Selecting the appropriate risk assessment approach

3 FRAMEWORK FOR WATER-RELATED QMRA

- 3.1 Problem formulation
- 3.2 Exposure assessment
- 3.3 Health effects assessment
- 3.4 Risk characterization

4 VARIABILITY AND UNCERTAINTY

- 4.1 Variability
- 4.2 Uncertainty
- 4.3 Accounting for variability and uncertainty in QMRA

5 PROBLEM FORMULATION

- 5.1 Interaction between risk manager and risk assessor
- 5.2 Fit-for-purpose
- 5.3 Including risk management options in the QMRA
- 5.4 Defining the scope of the QMRA

- 5.4.1 Hazard identification
- 5.4.2 Exposure pathways
- 5.4.3 Health outcomes

management

6 EXPOSURE ASSESSMENT

- 6.1 Defining the exposure pathway
- 6.2 Quantifying each component of the exposure pathway
 - 6.2.1 Source: concentration of pathogens in environmental media
 - 6.2.2 Quantifying efficacy of control measures
 - 6.2.3 Intake: exposure volumes and frequencies

7 HEALTH EFFECTS ASSESSMENT

- 7.1 Dose–response relationships
 - 7.1.1 Variability in infectivity
 - 7.1.2 Dose–response models
 - 7.1.3 Published dose–response relationships
- 7.2 Disability-adjusted life years
- 7.3 Secondary transmission and immunity

8 RISK CHARACTERIZATION

- 8.1 Quantitative measures of risk
- 8.2 Probability of infection: multiple exposure events
- 8.3 Evaluate the impact of uncertainty and variability
 - 8.3.1 Uncertainty analysis
 - 8.3.2 Sensitivity analysis

9 HOW CAN QMRA SUPPORT WATER SAFETY MANAGEMENT?

- 9.1 Regulation and health-based treatment targets
- 9.2 Site-specific water and sanitation safety planning
 - 9.2.1 Know your system
 - 9.2.2 System assessment
 - 9.2.3 Operational targets and setting critical limits
 - 9.2.4 System planning and development
- 9.3 Principles of QMRA that are relevant to risk

10 CONCLUSIONS AND NEXT STEPS

REFERENCES

ANNEX A CASE-STUDIES

ANNEX B DRINKING-WATER QMRA DEMONSTRATING THE APPLICATION OF VARIABILITY AND UNCERTAINTY ANALYSIS

ANNEX C MICROBIOLOGICAL DATA AND STATISTICAL INFERENCE

ANNEX D DOSE–RESPONSE

ANNEX E GLOSSARY

2. WHO “Review of turbidity Information for regulators and water suppliers” について

WHO 水・衛生・健康部門は 2017 年 2 月に標記ドキュメントをウェブサイトにて公開した²⁾。当ドキュメントは、水道事業の運転管理者および規制者を対象としており、水道原水や浄水処理過程、浄水における濁度管理の有用性と重要性に関する情報提供を行うことを目的としている。要旨部の抄訳および濁度目標値を以下に示す。

- 濁度は極めて利便性の高い指標であり、迅速、安価、常時重要な情報を得ることができる。濁度の測定は様々な状況に適用できる。
- 濁度自体は公衆衛生上の直接的なリスクを意味するものでないが、水供給システム全体において、病原微生物の存在や危害イベント発生の有効な指標である。
- 濁度は簡易、正確かつ迅速に測定でき、水安全計画に定める管理措置上の運転モニタリング等にも広く用いられる。また代替水源の比較や、様々な管理措置の効果を評価する基準として使える。
- 濁度は飲料水の審美的な指標としても重要である。
- 水安全計画等の目標値として広汎に用いられる濁度と飲料水水質とは分けて考える必要がある。

場所・処理工程	濁度目標値・汚染指標	備考	
水源	原水濁度の急激な変化	・環境イベントや人為活動に由来する汚染 ・地下水取水施設等における汚染の侵入	
	長期的な濁度変化	・流域内の変化、調査により是正措置を勧告	
水処理	ろ過	[直接ろ過・急速ろ過] 各月のろ過水濁度 95%値 < 0.3NTU かつ、1NTU を超過しない	以下の除去性能に相当 ・ウイルス 1-2log 除去 ・クリプト、ジアルジア 2.5-3log 除去
		[珪藻土ろ過・緩速ろ過] 各月のろ過水濁度 95%値 ≤ 1NTU	以下の除去性能に相当 ・ウイルス 1-2log 除去 ・クリプト、ジアルジア 3log 除去
		[膜ろ過(MF・UF)] < 0.1NTU	以下の除去性能を達成可能、膜孔径に依存 ・ウイルス 4-7log 除去 ・クリプト、ジアルジア 1-6log 除去
	消毒	理想的には < 1NTU [大規模・良好な浄水場] 常時 < 0.5NTU、平均 ≤ 0.2NTU [小規模・資源が限られた浄水場] < 5NTU	濁度が 1NTU を超える場合、適切な CT 値を確保するために、消毒剤の注入率または接触時間(紫外線消毒の場合は照射線量)を高める必要がある
配水過程・貯留	予期せぬ濁度上昇	・様々な障害やイベントによって生じうる ・速やかな調査と改善措置を講じる必要がある	
給水末端	審美性	理想的には < 1NTU	4NTU 以上で目に見える濁りを生じる
	家庭内	理想的には < 1NTU	濁度が 1NTU を超える場合、消毒剤の注入率または接触時間を高める必要がある
	貯留	困難であれば < 5NTU	

3. 水道由来クリプトスポリジウム集団感染と浄水場濁度管理との関連に係る海外事例³⁾

2001年3月下旬から4月上旬にかけて、カナダ国 Saskatchewan 州 North Battleford 市（人口約14,000）や Battleford 町（人口約4,000）を中心に下痢症が集団発生し、患者便から *C. parvum* が検出された。4月25日に州保健部局が同国保健省に対して疫学調査や浄水場調査等の支援を依頼、同日に水道水の予防的（煮沸）勧告を発令した。現地調査により下痢症患者1,907名が同定され、うち275名は *C. parvum* への感染が確定した。当該地域の患者数は5,800-7,100名の範囲であると推定された。

なお、医薬品販売数に関する調査により、3月下旬-4月上旬にかけ、当該地域における市販止瀉薬の販売金額は、前後の時期と比較して5倍増に達した。また、多変量解析により当該地域の水道水摂取の機会が増すと感染リスクが増加するとの結果が得られた。

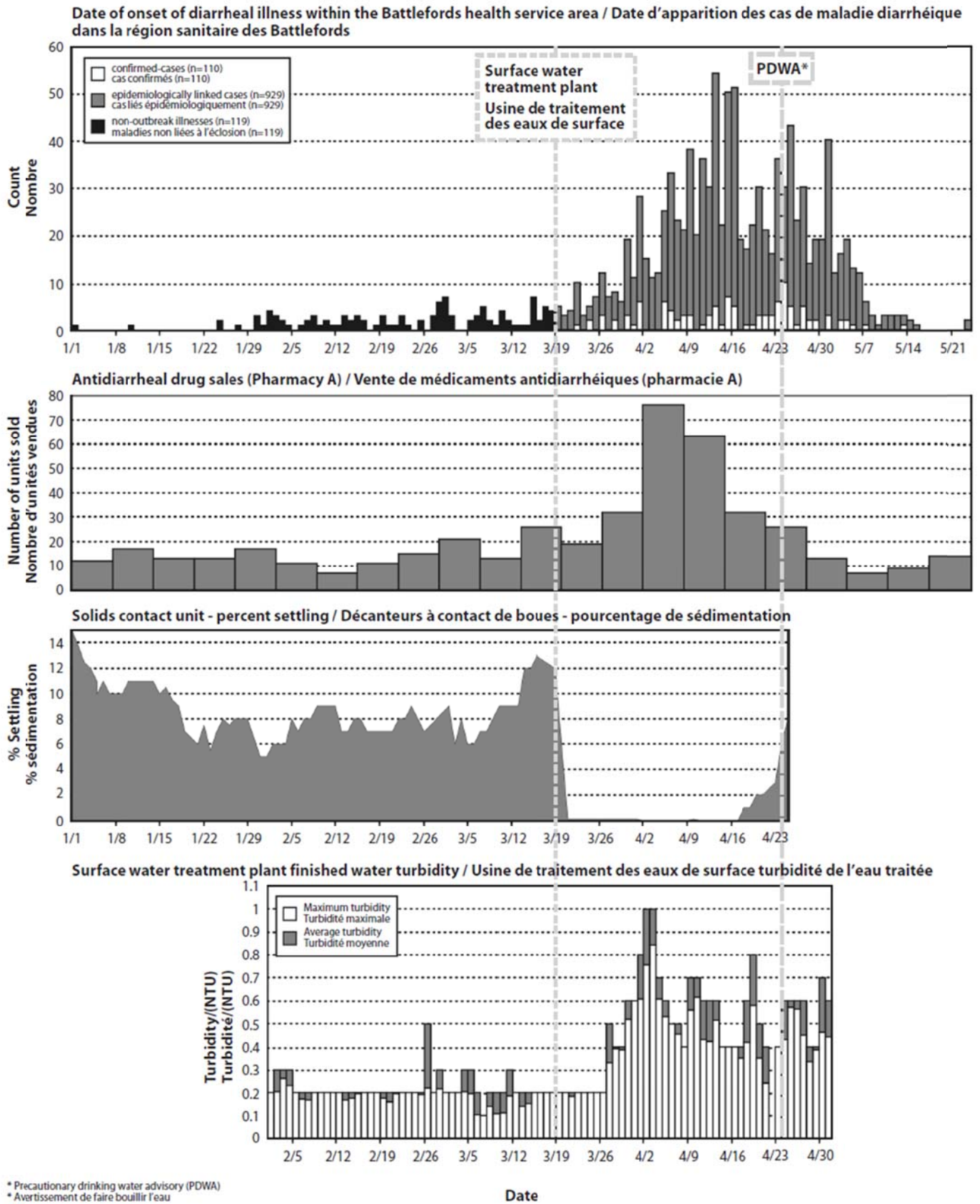
当該地域には Saskatchewan 川地表水を原水とする浄水場、および、同河川流域に点在する井戸の地下水を原水とする浄水場が存在しており、前者の浄水処理は凝集沈殿-砂ろ過-塩素消毒、後者は塩素消毒-砂ろ過（金属除去）であった。このうち、地表水を水源とする浄水場にて、同年3月20日以降の高速凝集沈澱池（SCU: solids contact unit）のメンテナンスに伴う運用停止によって化学凝集が行われない状態となり、砂ろ過前工程水の沈降性が悪化すると共に、浄水の濁度が増加（0.2→0.5NTU）していることが確認された。当該の浄水場では、残塩濃度ならびに微生物指標は適合しているものの、浄水からクリプトスポリジウムオーシストの検出が確認された。次頁の図（文献3から引用）に示すように、下痢症患者数の増加、市販止瀉薬の販売量の増加、砂ろ過前工程水の沈降性の減少、浄水の濁度増加の動向は一致していた。なお、クリプトの汚染源は不明であった。

参考文献

- 1) WHO, Quantitative microbial risk assessment: Application for water safety management
Updated November 2016
http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/qmra/en/
- 2) WHO, Water quality and health - Review of turbidity Information for regulators and water suppliers, 2017
http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/turbidity-technical-brief/en/
- 3) Stirling, R., Aramini, J., Ellis, A., Lim, G., Meyers, R., Fleury, M. & Werker, D.: Waterborne Cryptosporidiosis Outbreak, North Battleford, Saskatchewan, Spring 2001, Canada Communicable Disease Report 27(22), 185-192, 2001.

Figure 2: Temporal comparison of disease burden and water quality data

Figure 2 : Comparaison temporelle des données sur le fardeau de la maladie et la qualité de l'eau



* Precautionary drinking water advisory (PDWA)
* Avertissement de faire bouillir l'eau

4. 水道におけるノロウイルスの消毒に関する最新の知見について

(1)はじめに

ノロウイルス等の水中病原ウイルスによって表流水や地下水等の水道水源が汚染され、低頻度ではあるものの小規模の水道を中心に集団感染が発生している。ノロウイルスは環境水中において安定して存在することが知られており、例えば Seitz ら (2011) の報告によると、暗所で保管された地下水試料中においてノロウイルス GI.1 8FIIb 株は少なくとも 61 日間感染性を保持していた[1]。これらは水道における微生物学的安全性を確保するために消毒が重要であることを直接示す事実であるが、ヒトノロウイルス (HuNoV) については信頼性の高い細胞培養法がこれまで確立されていなかったために、表 1 に示す培養可能なカリシウイルス科のウイルスをモデルとして消毒による不活化の効果が評価されてきた。ネコカリシウイルス (FCV) およびマウスノロウイルス (MNV) については、次亜塩素酸や紫外線による不活化効果についてデータが蓄積されつつある。また、近年アカゲザルの糞便から分離されたチュランウイルス (TV) は消化器系ウイルスであり[2]、HuNoV と同様に組織血液型決定抗原 (HBGAs) を認識することから[3]、最も HuNoV に挙動が近い代替ウイルスとして、食品の消毒[4]やカキへの蓄積性・生残性[5]について研究が進められている。本資料では、米国の国立生物工学情報センター (National Center for Biotechnology Information, NCBI) の文献検索サービス (PubMed) を使用して、“norovirus”および“inactivation”をタイトルまたはアブストラクトに含む文献を検索し、水の消毒を想定した次亜塩素酸、モノクロラミン、および紫外線処理による代替ウイルスの不活化実験を行った論文についてレビューした結果をまとめた。なお、水のオゾン処理によるヒトノロウイルス代替ウイルスの不活化に関する研究は現時点で報告がなかった。

表 1. ヒトノロウイルスの代替ウイルス[2, 6-9]

種 (略称)	属	宿主 (疾患)	培養細胞	直径 [nm]	ゲノム長 [base]
ネコカリシウイルス (FCV)	Vesivirus	ネコ (呼吸器感染症)	CRFK (ネコ腎由来)	35	7,700
イヌカリシウイルス (CaCV)		イヌ (下痢症)	MDCK (イヌ腎由来)	~35	8,500
マウスノロウイルス (MNV)	Norovirus	マウス (脳炎, 髄膜炎, 肺炎, 肝炎)	RAW264.7 (マウスマクロ ファージ由来)	≤35	7,400
チュランウイルス (TV)	Recovirus	アカゲザル (下痢症)	LLC-MK2 (サル腎由来)	36	6,700

(2) 次亜塩素酸による病原ウイルスの不活化

ウイルスの不活化に要する次亜塩素酸の CT 値 [mg/L × min] を表 2 に示した。3 log (99.9%) の不活化に要する CT 値は、MNV は <0.01 - 3, FCV は 0.56 - 1.2 であり、コクサッキーウイルス B5 (CVB5) を除いてアデノウイルス (AdV) やエコーウイルス (EchoV) 等の他のウイルスと同程度だった。次亜塩素酸に対する耐性を定量 PCR 法で評価した結果、HuNoV の耐性は MNV と同程度であることが報告されており [10, 11], HuNoV は次亜塩素酸によって他のウイルスと同様に不活化されると考えられる。

チュランウイルス (TV) については水中の不活化実験の報告はないが、ステンレス表面にウイルス液を滴下し乾燥させた場合、1,000 ppm の次亜塩素酸ナトリウム溶液で 5 分間処理することで、FCV は 5.3 log 不活化し、MNV, PEC (ブタ腸管カリシウイルス), TV は 1.2-1.4 log 不活化した [4]。水中の TV の不活化についてデータが蓄積されることが待たれる。

表 2. 不活化に要する次亜塩素酸の CT 値*

ウイルス	試験水	CT 値 [mg/L × min]		参考文献
		2 log 不活化	3 log 不活化	
MNV	湖水	-	<0.01 - 0.02	[12]
	河川水	-	<0.02 - 0.03	
	地下水	-	<0.02 - 0.03	
	PBS	0.06-2	0.2 - 3	[13]
FCV		<0.02	<0.02	[14]
	地下水	0.21	0.56	[15]
	PBS	-	<1.2	[16]
AdV40	PBS	<0.02	<0.02	[14]
AdV41		0.005 - <0.02	0.01 - <0.02	
CVB3		0.65 - 0.97	1.1 - 1.4	
CVB5		3.6 - 4.7	5.5 - 7.6	
EchoV1		0.96 - 0.99	1.3	
EchoV11		0.54 - 0.82	0.97 - 1.0	

*CT 値は、実験条件の違い (pH 7-8, 水温 5-25°C) による報告値の範囲を示した。

(3) モノクロラミンによる病原ウイルスの不活化

MNV を 3 log 不活化するのに必要なモノクロラミンの CT 値は 23-110 であり、MNV の耐性は AdV や CVB, EchoV11 よりも低かった (表 3)。定量 PCR 法を用いてモノクロラミン処理による HuNoV の遺伝子数減少効果を調べた報告はないが、次亜塩素酸によって MNV と HuNoV が同様に酸化され遺伝子数が減少することを考慮すると、HuNoV のモノクロラミン処理に対する耐性も MNV と同程度であると推測される。EchoV11 の CT 値が他のウイルスと比較して極端に高い傾向が報告されているが [14], 次亜塩素酸による不活化 (表 2) とは異なる傾向であり、データが蓄積される必要がある。

表 3. 不活化に要するモノクロラミンの CT 値

ウイルス	試験水	CT 値 [mg/L × min]		参考文献
		2 log 不活化	3 log 不活化	
MNV	下水処理水	13	28	[17]
	湖水	–	25–97	[18]
	河川水	–	23–110	
	地下水	–	27–77	
	PBS	26–36	70–78	[14]
AdV40	PBS	90–360	–	
AdV41		58–190	190	
CVB3		240–270	330–390	
CVB5		510–670	710–900	
EchoV1		8	15–18	
EchoV11		880–1,000	1,200–1,300	

*CT 値は, 実験条件の違い (pH 7 または 8, 水温 5, 15 または 20°C) による報告値の範囲を示した。

(4) 紫外線による病原ウイルスの不活化

MNV, FCV および CaCV が 3 log 不活化するのに必要な紫外線照射量は 12–26 mJ/cm² であり (表 4), カリシウイルス科の中で属や種による差が見られなかったことから, HuNoV もこれらの代替ウイルスと同様に不活化されると考えられる。AdV40 は紫外線照射に対して耐性があり, 3 log の不活化には 153–167 mJ/cm² を要した。EchoV12 の耐性はカリシウイルスよりも高く, AdV40 よりも低かった。

表 4. 不活化に要する紫外線照射量

ウイルス	試験水	紫外線照射量 [mJ/cm ²]		参考文献
		2 log 不活化	3 log 不活化	
MNV	PBS	~16	~22	[19]
	PBS	~15	~20	[20]
FCV	地下水	13	21	[21]
	PBS	16	26	
	PBS	~14	~19	[19]
CaCV	水道水	–	12	[22]
	水道水	–	20	
AdV40	地下水	103	153	[21]
	PBS	109	167	
EchoV12	PBS	~35	~53	[19]

(5) おわりに

Jones ら (2014) は、組織血液型決定抗原 (HBGA) 産生腸内細菌と培養 B 細胞を用いてヒトノロウイルスを培養することに成功し[23]、共同研究者の Dr. Wobus の研究グループは上記の B 細胞培養系を用いてヌクレオシド類似体がヒトノロウイルスの複製を阻害することを実証し、培養系の応用性を示した[24]。また、Ettayebi ら (2016) は、ヒト腸管オルガノイド (エンテロイド) を用いてヒトノロウイルスの培養に成功している[25]。今後、これらの新規な培養技術を用いて消毒によるヒトノロウイルスの感染価の減少が正確に評価されることが待たれる。

ヒトノロウイルスの代替ウイルスに対する不活化実験をレビューした結果、ヒトノロウイルスは次亜塩素酸、モノクロラミン、および紫外線によって他のウイルスと同程度に不活化されると考えるのが妥当である。しかしながら、今後、グローバル化に伴う外国人観光客の増加や自由貿易協定・経済連携協定の進展により、我が国では感染例が少ない A 型肝炎ウイルスや E 型肝炎ウイルス等が、人や食品と共に諸外国から移入する機会が増え、感染リスクが高まることが懸念される。水道水源における種々な病原ウイルスの汚染レベルおよび季節変動に注視する必要がある。

参考文献

1. Seitz, S.R., et al., *Norovirus infectivity in humans and persistence in water*. Applied and Environmental Microbiology, 2011. **77**(19): p. 6884-6888.
2. Farkas, T., et al., *Characterization of a rhesus monkey calicivirus representing a new genus of caliciviridae*. Journal of Virology, 2008. **82**(11): p. 5408-5416.
3. Farkas, T., et al., *Genetic diversity and histo-blood group antigen interactions of rhesus enteric caliciviruses*. Journal of Virology, 2010. **84**(17): p. 8617-8625.
4. Cromeans, T., et al., *Comprehensive comparison of cultivable norovirus surrogates in response to different inactivation and disinfection treatments*. Applied and Environmental Microbiology, 2014. **80**(18): p. 5743-5751.
5. Drouaz, N., et al., *Tulane virus as a potential surrogate to mimic norovirus behavior in oysters*. Applied and Environmental Microbiology, 2015. **81**(15): p. 5249-5256.
6. Green, K.Y., *Caliciviridae: the noroviruses*, in *Fields Virology*, D.M. Knipe and P.M. Howley, Editors. 2013, Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia. p. 582-608.
7. Studdert, M.J. and J.D. O'Shea, *Ultrastructural studies of the development of feline calicivirus in a feline embryo cell line*. Archives of Virology, 1975. **48**(4): p. 317-325.
8. Matsuura, Y., et al., *Complete nucleotide sequence, genome organization and phylogenetic analysis of the canine calicivirus*. Virus Genes, 2002. **25**(1): p. 67-73.
9. Karst, S.M., et al., *STAT1-dependent innate immunity to a Norwalk-like virus*. Science, 2003. **299**(5612): p. 1575-8.
10. Knight, A., et al., *A systematic review of human norovirus survival reveals a greater persistence of human norovirus RT-qPCR signals compared to those of cultivable surrogate viruses*. International Journal of Food Microbiology, 2016. **216**: p. 40-49.
11. Tung, G., et al., *Efficacy of commonly used disinfectants for inactivation of human noroviruses and their surrogates*. Journal of Food Protection, 2013. **76**(7): p. 1210-7.
12. Kahler, A.M., et al., *Effects of source water quality on chlorine inactivation of adenovirus, coxsackievirus,*

- echovirus, and murine norovirus*. Applied and Environmental Microbiology, 2010. **76**(15): p. 5159-5164.
13. 北島正章, et al., *新たな代替指標としてマウス分離株を用いた水道水中のノロウイルスの塩素耐性の解明*. 環境工学研究論文集, 2008. **45**: p. 361-370.
 14. Cromeans, T.L., A.M. Kahler, and V.R. Hill, *Inactivation of adenoviruses, enteroviruses, and murine norovirus in water by free chlorine and monochloramine*. Applied and Environmental Microbiology, 2010. **76**(4): p. 1028-1033.
 15. Thurston-Enriquez, J.A., et al., *Chlorine inactivation of adenovirus Type 40 and feline calicivirus*. Applied and Environmental Microbiology, 2003. **69**(7): p. 3979-3985.
 16. Nuanualsuwan, S. and D.O. Cliver, *Pretreatment to avoid positive RT-PCR results with inactivated viruses*. Journal of Virological Methods, 2002. **104**(2): p. 217-225.
 17. Dunkin, N., et al., *Comparative inactivation of murine norovirus and MS2 bacteriophage by peracetic acid and monochloramine in municipal secondary wastewater effluent*. Environmental Science & Technology, 2017.
 18. Kahler, A.M., et al., *Source water quality effects on monochloramine inactivation of adenovirus, coxsackievirus, echovirus, and murine norovirus*. Water Research, 2011. **45**(4): p. 1745-1751.
 19. Park, Y., Y.-H. Cho, and G. Ko, *A duplex real-time RT-PCR assay for the simultaneous genogroup-specific detection of noroviruses in both clinical and environmental specimens*. Virus Genes, 2011. **43**(2): p. 192-200.
 20. Lee, J., K. Zoh, and G. Ko, *Inactivation and UV disinfection of murine norovirus with TiO₂ under various environmental conditions*. Applied and Environmental Microbiology, 2008. **74**(7): p. 2111-2117.
 21. Thurston-Enriquez, J.A., et al., *Inactivation of feline calicivirus and adenovirus type 40 by UV radiation*. Applied and Environmental Microbiology, 2003. **69**(1): p. 577-582.
 22. de Roda Husman, A.M., et al., *Calicivirus inactivation by nonionizing (253.7-nanometer-wavelength [UV]) and ionizing (gamma) radiation*. Applied and Environmental Microbiology, 2004. **70**(9): p. 5089-5093.
 23. Jones, M.K., et al., *Enteric bacteria promote human and mouse norovirus infection of B cells*. Science, 2014. **346**(6210): p. 755-759.
 24. Kolawole, A.O., et al., *Inhibition of human norovirus by a viral polymerase inhibitor in the B cell culture system and in the mouse model*. Antiviral Research, 2016. **132**: p. 46-49.
 25. Ettayebi, K., et al., *Replication of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids*. Science, 2016. **353**(6306): p. 1387-1393.