

を確認した。家畜密度の高い流域において取水を行う場合、下水同様、畜産由来の原虫汚染について注意を払う必要があることが示された。

平成19年度調査結果

| 採取日 | 平成19年7月25日 | | | |
|-----------------------|------------|--------------|--------|------------|
| | 社家 吸水井 | 小鮎川 第二鮎津橋 | 貫抜川 | 中津川 鮎津橋 |
| 採取量(L) | 370 | 240 | 300 | 220 |
| クリプトスポリジウム 検鏡法測定結果 | 0個/10L | 0個/10L | 1個/10L | 3個/10L |
| 遺伝子解析結果 | ブタ・ウシ | 不検出 | ウシ・ヒト | ブタ |
| ジアルジア | 1個/10L | 0個/10L | 0個/10L | 0個/10L |

| 採取日 | 平成20年2月27日 | | | |
|-----------------------|--------------|--------------|---------------|------------|
| | 社家 吸水井 | 小鮎川 第二鮎津橋 | 貫抜川 | 中津川 鮎津橋 |
| 採取量(L) | 210 | 140 | | 150 |
| クリプトスポリジウム 検鏡法測定結果 | 8/10L | 18個/10L | 流量が僅かであつた為未実施 | 2個/10L |
| 遺伝子解析結果 | ブタ・ウシ・ ヒト | ブタ | | ブタ |
| ジアルジア | 2個/10L | 10個/10L | | 5個/10L |

平成20年度調査結果

| 採取日 | 平成21年 | | |
|-----------------------|--------|-------|--------|
| | 2月9日 | 2月12日 | 2月16日 |
| 採取地点 | 社家吸水井 | | |
| 採取量(L) | 300 | 330 | 510 |
| クリプトスポリジウム 検鏡法測定結果 | 1個/10L | 未実施 | 0個/10L |
| 遺伝子解析結果 | ブタ | 不検出 | ブタ・その他 |
| ジアルジア | 0 | 未実施 | 0 |

E. 結論

従属栄養細菌の指標性に関する研究

従属栄養細菌は、一般細菌、水温、濁度との相関が認められた。一般細菌と比較すると、水温との関係は弱く、また菌数も浄水処理工程で多く検出されることから、水温の影響を強く受けない感度の高い指標と考えられた。

全国的な浄水系試料の検出状況は100cfu/ml 未満がその大半を占めたが、最高値は5900cfu/mlであった。

水道水の残留塩素濃度を下げた状態で保存し、従属栄養細菌を監視したところ0.05mg/lでも残留塩素が存在する場合には、従属栄養細菌の顕著な増殖は認められなかった。しかし、濁度0.17度の沈殿処理水を試料として同様の実験を行ったところ、0.1、0.05mg/lの残留塩素を含んでいても従属栄養細菌の増殖が認められた。

腸管系ウイルスに関する研究

遺伝子組換えバキュロウイルスとカイコを用いたタンパク質発現法により発現させたrNV-VLPsは凝集沈澱-急速砂ろ過処理において、凝集剤としてPAC(pH 6.8)および塩化第二鉄(pH 5.8)を用いた場合に約3 log以上の除去が得られた。Qβの除去は、rNV-VLPsの除去と同程度、あるいは低かったため、MS2に比べて指標性があると考えられるものの個々の処理単位の凝集沈澱処理、急速砂ろ過処理におけるQβとrNV-VLPsの処理性が異なったことから、Qβであってもヒトノロウイルスの最適な代替指標とはならないことに注意が必要である。

ノロウイルスの塩素消毒による不活化の評価を行い、最低0.1mg/Lの遊離塩素濃度(水道法)を保った配水システムにおいては30分間の接触で4 log以上の不活化が期待できるものと評価された。

インフルエンザウイルスの消毒を、細胞への感染性を指標として評価した結果、インフルエンザウイルスが他のウイルスと比較して、消毒処理に高い耐性を持つことは無かった。

耐塩素性病原微生物の研究

簡便で効率的なクリプトスポリジウム等原虫類の試験のためのサンプル濃縮に、ハイドロキシアパタイト粒子のろ過濃縮法を開発し、所定のろ過性能が得られた。ケーキフィルターを大容量向けに大型化することで原水にも適用可能であることを確認した。

全国的なクリプトスポリジウム等検出状況を調査した結果、クリプトスポリジウムの検出を報告している事業者は24事業者であり、13%に過ぎなかった。検出状況は予想以上に低く個々の試験機関における精度管理の必要性が指摘されるものと判断された。

免疫磁気ビーズによるクリプトスポリジウムオーシストの分離・精製と組み合わせたRT-LAMP法により、検鏡法よりも高感度にクリプトスポリジウムを検出することが可能となった。ちなみに、ジアルジアは通常の(DNA

を標的とした) LAMP 法でも十分な感度が確保されていた。今回の改良により、クリプトスポリジウムの遺伝子検査は抽出試料の一部より 1 反応 (チューブ) で 1 個のオーシスト・シストが検出可能となり、実用に向けての道が開けた。LAMP 法とは別に、Cycleave 法ならびに Universal QProbe 法を用いた高感度な RT-PCR 法を構築した。

社家取水口で検出されるクリプトスポリジウムは、人への感染報告が少ないブタ型が多いと推定されたが、同時に人への感染リスクの高いヒト型やウシ型も検出された。畜産施設の汚染状況の調査からは依然として多量のクリプトスポリジウムのオーシストおよびジアルジアのシストが排出されている現状が確認された。畜産排水処理では両原虫が平均で 2-3 log 程度除去されていたが、汚泥のバルキングが生じると、原虫の除去が著しく低下した。病原性原虫は現行の排水規制では規制対象となっていないことから、家畜密度の高い流域において取水を行う場合、畜産由来の原虫汚染について注意を払う必要があることを改めて認識した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Oshiba, A. and Ohno, K., Estimation of norovirus removal performance in a coagulation-rapid sand filtration process by using recombinant norovirus VLPs, *Water Research*, accepted.

白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦, 大芝淳, 浦崎稔史, 大野浩一, 遺伝子組換えノロウイルス外套タンパク粒子 (rNV-VLPs) を用いたヒトノロウイルスの浄水処理性評価, *環境工学研究論文集*, 46, 415-422, 2009.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y.,

Urasaki, T. and Ohno, K., Comparison of behaviors of two surrogates for pathogenic waterborne viruses, bacteriophages Q β and MS2, during the aluminum coagulation process, *Water Research*, 43(3), 605-612, 2009.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Kobuke, M. and Ohno, K., Comparison of removal performance of two surrogates for pathogenic waterborne viruses, bacteriophage Q β and MS2, in a coagulation-ceramic microfiltration system, *Journal of Membrane Science*, 326, 564-571, 2009.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y. and Ohno, K., Effects of reversible and irreversible membrane fouling on virus removal by a coagulation-microfiltration system, *Journal of Water Supply: Research and Technology-AQUA*, 57(7), 501-506, 2008.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Ohno, K. and Kobuke, M., Virus removal in a hybrid coagulation-microfiltration system -Investigating mechanisms of virus removal by a combination of PCR and PFU methods, *Water Science and Technology: Water Supply*, 7(5-6), 2007.

Inomata, A., Kishida, N., Momoda, T., Akiba, M., Izumiyama, S., Yagita, K. and Endo, T., Development and evaluation of a reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and high-sensitive detection of *Cryptosporidium* in water samples, *Water Science and Technology*, 60 (8), 2167-2172, 2009.

Kuroki T, Izumiyama S, Yagita K, Une Y, Hayashidani H, Kuro-o M, Mori A, Moriguchi H, Toriba M, Ishibashi T, and Endo T, Occurrence of Cryptosporidium sp. in snakes in Japan. Parasitol Res. 103(4):801-805, 2008

高木正明, 鳥海宏, 遠藤卓郎, 山本徳栄, 黒木俊郎, プール水を介したクリプトスポリジウム症集団発生事例, 感染症誌, 82, 14-19, 2008

2. 学会発表

Urasaki, T., Matsushita, T., Shirasaki, N., Oshiba, A., Matsui, Y. and Ohno, K., Removal of norovirus VLPs in drinking water treatment process, Proceedings of The 3rd IWA-ASPIRE Conference, Taipei, Taiwan, 18-22 October 2009.

Matsushita, T., Shirasaki, N., Oshiba, A., Urasaki, T., Matsui, Y. and Ohno, K., Removal of norovirus by a coagulation-ceramic MF hybrid system, Proceedings of Euromembrane 2009 Conference, Montpellier, France, 6-10 September 2009.

Matsushita, T., Shirasaki, N., Kobuke, M., Matsui, Y. and Ohno, K., Effective removal of virus by ceramic microfiltration with in-line coagulation pretreatment, Proceedings of Euromembrane 2009 Conference, Montpellier, France, 6-10 September 2009.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Urasaki, T., Oshiba, A. and Ohno, K., Evaluation of norovirus removal performance in a coagulation-ceramic microfiltration process by using

recombinant norovirus VLPs, Proceedings of 5th IWA Specialised Membrane Technology Conference for Water and Wastewater Treatment, Beijing, China, 1-3 September 2009.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Oshiba, A., Urasaki, T. and Ohno, K., Application of recombinant norovirus VLPs to evaluate norovirus removal performance in a coagulation-sedimentation-rapid sand filtration process, Proceedings of Nanoparticle and Particle Separation 2009, Durham, USA, 3-5 June 2009.

Matsushita, T., Shirasaki, N., Urasaki, T., Oshiba, A., Matsui, Y. and Ohno, K., Removal of norovirus during conventional drinking water treatment process -application of recombinant NV-VLPs to laboratory-scale experiments, Proceedings of 15th International Symposium of the Health-Related Water Microbiology Group, Naxos, Greece, 31 May-5 June 2009.

白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦, 大芝淳, 浦崎稔史, 大野浩一, 遺伝子組換えノロウイルス外套タンパク粒子(rNV-VLPs)を用いたヒトノロウイルスの浄水処理性評価, 第46回環境工学研究フォーラム, 2009.

白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦, 大野浩一, ウイルス外套タンパクを用いたヒトノロウイルスの浄水処理性評価, 第12回日本水環境学会シンポジウム, 2009.

大芝淳, 白崎伸隆, 浦崎稔史, 松下拓, 松井佳彦, 大野浩一, 浄水処理におけるノロウイルスの処理性評価, 第60回全国水道研究発表会, 2009.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Kobuke, M., Urasaki, T. and Ohno, K., Coagulation-ceramic microfiltration hybrid system effectively removes virus that is difficult to remove in conventional coagulation-sedimentation-sand filtration process, Proceedings of ICOM2008, Honolulu, Hawaii USA, 12-18 July 2008.

Shirasaki, N., Kobuke, M., Urasaki, T., Matsushita, T., Matsui, Y., and Ohno, K., Difference in behaviors of two indicator bacteriophages for waterborne pathogenic viruses during drinking water treatment process, and their effective removals by using coagulation-ceramic microfiltration hybrid system, Proceedings of IWA regional conference-membrane technologies in water and waste water treatment, Moscow, Russia, 2-4 June 2008.

白崎伸隆, 浦崎稔史, 小泓誠, 松下拓, 松井佳彦, 大野浩一, ノロウイルス外套タンパク(NV-VLPs)を用いたノロウイルスの浄水処理性評価, 第45回環境工学研究フォーラム, 2008.

浦崎稔史, 白崎伸隆, 小泓誠, 松下拓, 松井佳彦, 大野浩一, 浄水処理過程におけるバクテリオファージの処理性比較, 第16回衛生工学シンポジウム, 2008.

浦崎稔史, 白崎伸隆, 小泓誠, 松下拓, 松井佳彦, 大野浩一, 浄水処理におけるバクテリオファージの処理性の違い, 第59回全国水道研究発表会講演集, 2008.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y. and Ohno, K., Effects of reversible and irreversible membrane fouling on virus

removal by a coagulation-microfiltration system, Proceedings of IWA International Conference on Particle Separation (PS 2007), Toulouse, France, 9-12 July 2007. Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Ohno, K., Kobuke, M., Virus removal in a hybrid coagulation-microfiltration system -Investigating mechanisms of virus removal by a combination of PCR and PFU methods, Proceedings of IWA 4th International Conference on Membranes for Water and Wastewater Treatment, Harrogate, UK, 14-17 May 2007.

小泓誠, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦, 大野浩一, 凝集 MF 膜処理によるウイルス除去に与えるファウリングの影響, 第15回衛生工学シンポジウム, 167-170, 2007.

小泓誠, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦, 大野浩一, ファウリングが凝集 MF 膜処理におけるウイルス除去に与える影響, 第58回全国水道研究発表会講演集, 172-173, 2007.

猪又明子, 保坂三継, 泉山信司, 百田隆祥, 大谷喜一郎, 遠藤卓郎, 環境水中の原虫類検出を目的とした LAMP 法の検討, 第59回全国水道研究発表会, 平成20年5月28~30日, 仙台市

猪又明子, 百田隆祥, 泉山信司, 遠藤卓郎: RT-LAMP 法による水試料からのクリプトスポリジウム高感度検出. 日本水処理生物学会第46回大会, 平成21年11月11~13日, 高知市

石井孝明, 金田聖子, 吉田伸広, 森田重光, 平田強, Cryptosporidium オーシストおよび Giardia シストの精製方法の検討, 日本水環境学会年会 (2009.3)