

各国設置専用水道の設置者 殿

厚生労働省健康局水道課長

水道における指標菌の検査について

水道行政の推進については、日頃より格別の協力を賜り厚く御礼申し上げます。

水道におけるクリプトスポリジウム等の対策については、「水道施設の技術的基準を定める省令」（平成 12 年厚生省令第 15 号。以下「施設基準省令」という。）において、原水に耐塩素性病原生物が混入するおそれがある場合に、浄水施設にろ過設備又は紫外線処理設備等の措置を講じることを規定するとともに、「水道におけるクリプトスポリジウム等対策指針」（平成 19 年 3 月 30 日付け健水発第 0330005 号通知の別添。以下「指針」という。）を定め、対策の推進を図ってきたところです。

指針では、大腸菌及び嫌気性芽胞菌（以下、「指標菌」という。）の検出状況と原水水源の種類によってリスクレベルの判断を行うこととし、いずれかの指標菌が検出された場合には、施設基準省令に定める「原水に耐塩素性病原生物が混入するおそれがある場合」に該当することから、その汚染のおそれの程度に応じて、ろ過設備又は紫外線処理設備を整備する等の措置を講じることとしています。

今般、水道事業、水道用水供給事業及び専用水道（以下、「水道事業者等」という。）に対する水道水質関連調査（平成 22 年 9 月 13 日付け厚生労働省健康局水道課長通知）の一環として、クリプトスポリジウム等対策実施状況調査を行った結果、参考のとおり、原水における指標菌の検査を実施せず、リスクレベルの判断が行われていない施設が多く見受けられます。ついては、指標菌検査の実施の有無に関わらず、リスクレベルを判断していない施設においては、下記第 1 のとおり、指針に基づく適切な指標菌の検査及び検査結果に伴うリスクレベルの判定等行うようお願いします。

また、指標菌の検査方法については、「水道における指標菌及びクリプトスポリジウム等の検査方法について」（平成 19 年 3 月 30 日付け健水発 0330006 号。以下「検査方法通知」という。）に示しているところですが、嫌気性芽胞菌の検査方法の一つであるハンドフォード改良寒天培地法の培地に関して、培地の組成にある選択剤にエリスロマイシンを追加する等の見直しを下記第 2 のとおり行うこととしたので、これらの点について留意の上、遺漏なきようお願いします。

記

第1 原水中の指標菌検査の実施について

指標菌の検査を行わず、リスクレベルの判断が行えない施設は、原水に耐塩素性病原生物が混入するおそれを否定できないことから、「原水に耐塩素性病原生物が混入するおそれがある場合にあっては、これらを除去することができる濾過等の設備が設けられていること。」と規定する施設基準省令に適合していない可能性がある。このため、該当する施設においては、地方公共団体の機関又は厚生労働大臣の登録を受けた検査機関への委託を活用する等して、速やかに指標菌の検査を行い、リスクレベルを判定すること。

なお、指標菌が検出されているにもかかわらずリスクレベルの判断を行っていない施設は、指針に基づくレベル4若しくはレベル3の施設に該当するので、これらのレベルに応じた対策を進めること。

第2 水道における指標菌の検査方法の一部改正について

検査方法通知に定める指標菌の検査方法を別添新旧対照表のとおり改正し、平成23年4月1日より適用すること。

(参考)

クリプトスポリジウム等対策実施状況調査の結果によると、平成22年3月末現在、水道事業者等において、原水のリスクレベルの判断が行われていない施設数は3,949箇所、そのうち指標菌の検査を実施していない施設（いずれか一つの指標菌しか検査をせず、当該検査結果が未検出の場合も含む）は3,646箇所（嫌気性芽胞菌検査を実施していない施設1,515箇所、大腸菌検査を実施していない施設19箇所、指標菌のどちらも実施していない施設2,000箇所）であった。

大腸菌検査を実施していない施設のうち、315箇所(15.6%)は「検査の実施が困難」、556箇所(27.5%)は「原水の状況から検査は不要と認識」、356箇所(17.6%)は「原水の調査は義務づけられていない」、176箇所(8.7%)は「認識が欠けていた」ことを理由に実施していなかった。

嫌気性芽胞菌検査を実施していない施設のうち、362箇所(10.3%)は「検査の実施が困難」、1,204箇所(34.3%)は「原水の状況から検査は不要と認識」、721箇所(20.5%)は「原水の調査は義務づけられていない」、376箇所(10.7%)は「認識が欠けていた」ことを理由に実施していなかった。

なお、指標菌が検出されているにもかかわらずリスクレベルの判断を行っていない施設数は、地表水を水源とする施設が99箇所、地表水以外を水源とする施設は62箇所存在した。

(別添)

水道における指標菌及びクリプトスポリジウム等検査方法について（平成 19 年 3 月 30 日付け健水発第 0330006 号） 記以下新旧対照表

改正後（新）	改正前（旧）
第 1 検査方法の概要 1. 指標菌の検査方法 （1）大腸菌の検査方法 現在、水道原水の大腸菌の検査方法として、広く標準的に使用されている方法を基に、「特定酵素基質培地法」を別添 1 に示した。<u>なお、別添 1 内 4 試験操作においては、（1）定性試験を用いることを基本とするが、水道原水におけるクリプトスポリジウム等による汚染のおそれのある施設においては（2）定量試験を用いてもよいこととする。</u> （2）（略） 2. （略） 第 2～第 3 （略） 別添 1 大腸菌の検査方法 特定酵素基質培地法 1 培地 （1）MMO-MUG培地 硫酸アンモニウム5g、硫酸マンガン0.5mg、硫酸亜鉛0.5mg、硫酸マグネシウム100mg、塩化ナトリウム10g、塩化カルシウム50mg、へペス(N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N-2-エタンスルホン酸)6.9g、へペスナトリウム塩(N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-2-エタンスルホン酸ナトリ	第 1 検査方法の概要 1. 指標菌の検査方法 （1）大腸菌の定量方法 現在、水道原水の大腸菌の検査方法として、広く標準的に使用されている方法を基に、次の方法を別添 1 に示した。 ・<u>特定酵素基質培地法による大腸菌の定量方法</u> （2）（略） 2. （略） 第 2～第 3 （略） 別添 1 大腸菌の定量方法 特定酵素基質培地法 1 培地及び試薬 （1）MMO-MUG培地 硫酸アンモニウム5g、硫酸マンガン0.5mg、硫酸亜鉛0.5mg、硫酸マグネシウム100mg、塩化ナトリウム10g、塩化カルシウム50mg、へペス(N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-2-エタンスルホン酸)6.9g、へペスナトリウム塩(N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-2-エタンスルホン酸ナトリ

改正後（新）	改正前（旧）
ウム)5.3g、亜硫酸ナトリウム40mg、アムホテリシンB1mg、o-ニトロフェニル-β-D-ガラクトピラノシド500mg、4-メチルウンベリフェリル-β-D-グルクロニド75mg及びソラニウム500mgを無菌的に混合した<u>もの。</u> <u>MMO-MUG培地を試験容器に10分の1量ずつ分取したものを100ml用MMO-MUG培地という。</u> <u>MMO-MUG培地を試験容器に100分の1量ずつ分取したものを10ml用MMO-MUG培地という。</u> <u>これらの培地は、黄色く着色したものは使用しない。</u> <u>これらの培地は、冷暗所に保存する。</u> (2) IPTG添加ONPG-MUG培地 硫酸アンモニウム2.5g、硫酸マグネシウム100mg、ラウリル硫酸ナトリウム100mg、塩化ナトリウム2.9g、トリプト-ス5g、トリプトファン1g、o-ニトロフェニル-β-D-ガラクトピラノシド100mg、4-メチルウンベリフェリル-β-D-グルクロニド50mg、イソプロピル-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド100mg及びトリメチルアミン-N-オキシド1gを精製水約900mlに溶かし、pH値が6.1～6.3となるように調整した後、精製水を加えて1Lとし、ろ過除菌した<u>もの。</u> <u>IPTG添加ONPG-MUG培地の成分を精製水約80mlに溶かし、pH値が6.1～6.3となるように調整した後、精製水を加えて90mlとし、ろ過除菌した後、試験容器に10mlずつ分注したものを100ml用IPTG添加ONPG-MUG培地という。</u> <u>IPTG添加ONPG-MUG培地の成分を精製水約450mlに溶かし、pH値</u>	ウム)5.3g、亜硫酸ナトリウム40mg、アムホテリシンB1mg、o-ニトロフェニル-β-D-ガラクトピラノシド500mg、4-メチルウンベリフェリル-β-D-グルクロニド75mg及びソラニウム500mgを無菌的に混合し、<u>試験容器に100分の1量ずつ分取したもの。</u> <u>この培地は、黄色く着色したものは使用しない。</u> <u>この培地は、冷暗所に保存する。</u> (2) IPTG添加ONPG-MUG培地 硫酸アンモニウム2.5g、硫酸マグネシウム100mg、ラウリル硫酸ナトリウム100mg、塩化ナトリウム2.9g、トリプト-ス5g、トリプトファン1g、o-ニトロフェニル-β-D-ガラクトピラノシド100mg、4-メチルウンベリフェリル-β-D-グルクロニド50mg、イソプロピル-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド100mg及びトリメチルアミン-N-オキシド1gを精製水約450mlに溶かし、pH値が6.1～6.3となるように調整した後、精製水を加えて500mlとし、ろ過除菌した<u>後、試験容器に10mlずつ分注したもの。</u>

改正後（新）	改正前（旧）
<u>が6.1～6.3となるように調整した後、精製水を加えて500mlとし、ろ過除菌した後、試験容器に10mlずつ分注したものを10ml用MMO・MUG培地という。</u> <u>これらの培地は、冷暗所に保存する。</u> （3） XGal・MUG培地 塩化ナトリウム5g、リン酸一水素カリウム2.7g、リン酸二水素カリウム2g、ラウリル硫酸ナトリウム100mg、ソルビト-ル1g、トリプト-ス5g、トリプトファン1g、4-メチルウンベリフェリル-β-D-グルクロニド50mg、5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリル-β-D-ガラクトピラノシド80mg及びイソプロピル-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド100mgを無菌的に混合する。 <u>XGal・MUG培地を試験容器に10分の1量ずつ分取したものを100ml用XGal・MUG培地という。</u> <u>XGal・MUG培地を試験容器に100分の1量ずつ分取したものを10ml用XGal・MUG培地という。</u> <u>これらの培地は、冷暗所に保存する。</u> （4） ピルビン酸添加XGal・MUG培地 塩化ナトリウム5g、硝酸カリウム1g、リン酸一水素カリウム4g、リン酸二水素カリウム1g、ラウリル硫酸ナトリウム100mg、ピルビン酸ナトリウム1g、ペプトン5g、4-メチルウンベリフェリル-β-D-グルクロニド100mg、5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリル-β-D-ガラクトピラノシド100mg及びイソプロピル-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド100mgを無菌	<u>この培地は、冷暗所に保存する。</u> （3） XGal・MUG培地 塩化ナトリウム5g、リン酸一水素カリウム2.7g、リン酸二水素カリウム2g、ラウリル硫酸ナトリウム100mg、ソルビト-ル1g、トリプト-ス5g、トリプトファン1g、4-メチルウンベリフェリル-β-D-グルクロニド50mg、5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリル-β-D-ガラクトピラノシド80mg及びイソプロピル-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド100mgを無菌的に混合し、<u>試験容器に100分の1量ずつ分取したもの。</u> <u>この培地は、冷暗所に保存する。</u> （4） ピルビン酸添加XGal・MUG培地 塩化ナトリウム5g、硝酸カリウム1g、リン酸一水素カリウム4g、リン酸二水素カリウム1g、ラウリル硫酸ナトリウム100mg、ピルビン酸ナトリウム1g、ペプトン5g、4-メチルウンベリフェリル-β-D-グルクロニド100mg、5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリル-β-D-ガラクトピラノシド100mg及びイソプロピル-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド100mgを無菌

改正後（新）	改正前（旧）
的に混合する。 <u>ピルビン酸添加XGal-MUG培地を試験容器に10分の1量ずつ分取したものを100ml用ピルビン酸添加XGal-MUG培地という。</u> <u>ピルビン酸添加XGal-MUG培地を試験容器に100分の1量ずつ分取したものを10ml用ピルビン酸添加XGal-MUG培地という。</u> <u>これらの培地は、冷暗所に保存する。</u>	的に混合し、<u>試験容器に100分の1量ずつ分取したもの。</u> <u>この培地は、冷暗所に保存する。</u> <u>(5) 希釈水(リン酸塩緩衝希釈水)</u> <u>リン酸二水素カリウム42.5gを精製水500mlで溶かし、1mol/L水酸化ナトリウム溶液でpH値を7.2に調整した後、精製水を加えて1Lとした溶液1mlを精製水1Lで溶かし、高圧蒸気滅菌したもの</u>
2 器具及び装置	2 器具及び装置
(1) (略)	(1) (略)
(2) 試験容器	(2) 試験容器
<u>検水（100ml用若しくは10ml用）と培地が密封できるもので、滅菌したもの</u>	<u>検水10mlと培地が密封できるもので、滅菌したもの</u>
(3)～(9) (略)	(3)～(9) (略)
3 (略)	3 (略)
4 試験操作	4 試験操作
(1)定性試験	
<u>検水100mlを上記1のいずれかの100ml用培地入り試験容器1本に加え、直ちに試験容器を密封し、試験容器を振って培地を溶解又は混合させた後、恒温器内に静置して24時間培養する。培養後、紫外線ランプを用いて波長366nmの紫外線を照射し、蛍光の有無を確認する。培地に対応す</u>	

改正後（新）	改正前（旧）
<u>る比色液より蛍光が強い場合は陽性と判定し、蛍光が弱い場合は陰性と判定する。</u> <u>(2)定量試験</u> a) <u>希釈水(リン酸塩緩衝希釈水)</u> <u>リン酸二水素カリウム42.5gを精製水500mlで溶かし、1mol/L水酸化ナトリウム溶液でpH値を7.2に調整した後、精製水を加えて1Lとした溶液1mlを精製水1Lで溶かし、高圧蒸気滅菌したもの</u> b) <u>検水から希釈検水の調製</u> 検水10mlを採り、希釈水90mlに加えてよく振り混ぜる。次に、その10mlを採り、同様な操作を行いながら希釈を繰り返し、10倍ごとの数段階の希釈検水を作る。10倍希釈法の操作を図-1に示す。 なお、希釈検水は、微生物が増殖することや死滅することもあるので、室温に30分間以上放置してはならない。 c) <u>培養操作</u> 検水10mlを上記1のいずれかの10ml用培地入り試験容器5本に接種する。次いで、各段階の希釈検水について、同様に操作する。接種後、容器を振って培地を溶解あるいは混合させ、恒温器に収め、35～37℃で24時間培養する。なお、接種の際に、5本以上の接種本数となる組み合わせを用いてもよい。培養後、紫外線ランプを用いて波長366nmの紫外線を照射し、蛍光の有無を確認する。培地に対応する比色液より蛍光が強い場合は陽性と判定し、弱い場合は陰性と判定する。	<u>(1) 希釈検水の調製</u> <u>検水中の大腸菌数が多いと予想される場合は、次の操作によって希釈検水を調製する。</u> 検水10mlを採り、希釈水90mlに加えてよく振り混ぜる。次に、その10mlを採り、同様な操作を行いながら希釈を繰り返し、10倍ごとの数段階の希釈検水を作る。10倍希釈法の操作を図-1に示す。 なお、希釈検水は、微生物が増殖することや死滅することもあるので、室温に30分間以上放置してはならない。 <u>(2) 培養操作</u> 検水10mlを上記1のいずれかの10ml用培地入り試験容器5本に接種する。次いで、各段階の希釈検水について、同様に操作する。接種後、容器を振って培地を溶解あるいは混合させ、恒温器に収め、35～37℃で24時間培養する。なお、接種の際に、5本以上の接種本数となる組み合わせを用いてもよい。培養後、紫外線ランプを用いて波長366nmの紫外線を照射し、蛍光の有無を確認する。培地に対応する比色液より蛍光が強い場合は陽性と判定し、弱い場合は陰性と判定する。

改正後（新）	改正前（旧）
<u>d)</u> 菌数の算出 検水、各段階の希釈検水列の陽性管数を数え、最確数法に従って対応する最確数を求める。 別添 2 嫌気性芽胞菌の検査方法 第 1 ハンドフォード改良寒天培地法 1 培地及び試薬 (1) 標準濃度ハンドフォード改良寒天培地 大豆ペプトン4.8g、ペプトン15g、酵母エキス4.8g、クエン酸鉄アンモニウム0.90g、4-メトキシ-6-スルファ-ニルアミドピリミジン0.09g、ピロ亜硫酸ナトリウム0.90g、オレアンドマイシン0.48mg若しくはエリスロマイシン0.06mg、硫酸ポリミキシン B 9,000単位、カナマイシン0.048g、粉末寒天18gを精製水1Lに加熱溶解し、滅菌後のpH値が7.5～7.7となるように調整した後、高圧蒸気滅菌したもの この培地は、恒温水槽で約45℃に保温し、三重層法に用いる。 この培地は、使用の都度調製する。 (2)～(4) (略) 2～5 (略) 別添 3 (略) 付録 1～3 (略)	<u>5</u> 菌数の算出 検水、各段階の希釈検水列の陽性管数を数え、最確数法に従って対応する最確数を求める。 別添 2 嫌気性芽胞菌の検査方法 第 1 ハンドフォード改良寒天培地法 1 培地及び試薬 (1) 標準濃度ハンドフォード改良寒天培地 大豆ペプトン4.8g、ペプトン15g、酵母エキス4.8g、クエン酸鉄アンモニウム0.90g、4-メトキシ-6-スルファ-ニルアミドピリミジン0.09g、ピロ亜硫酸ナトリウム0.90g、オレアンドマイシン0.48g、硫酸ポリミキシン B 9,000単位、カナマイシン0.048g、粉末寒天18gを精製水1Lに加熱溶解し、滅菌後のpH値が7.5～7.7となるように調整した後、高圧蒸気滅菌したもの この培地は、恒温水槽で約45℃に保温し、三重層法に用いる。 この培地は、使用の都度調製する。 (2)～(4) (略) 2～5 (略) 別添 3 (略) 付録 1～3 (略)

(参考)

「クリプトスポリジウム等対策実施状況調査(平成22年3月末時点)」の主な集計結果

(1) 調査対象

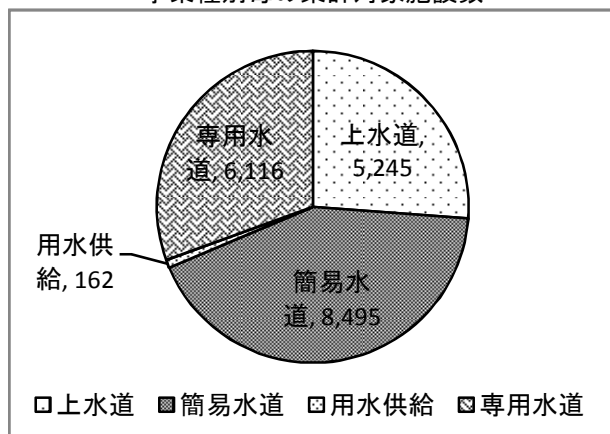
全国の水道事業、水道用水供給事業、簡易水道事業及び専用水道の全ての施設。

※ 以下、上水道事業(簡易水道事業以外の水道事業)を「上水道」、簡易水道事業を「簡易水道」、水道用水供給事業を「用水供給」、専用水道を「専用水道」とする。

(2) 集計対象施設情報等

集計対象施設：回答のあった浄水施設のうち、表流水、伏流水、湧水、地下水(浅井戸及び深井戸)を水源とする浄水施設(全量浄水受水以外の施設)であり、水道統計の数値とは異なる。

事業種別毎の集計対象施設数

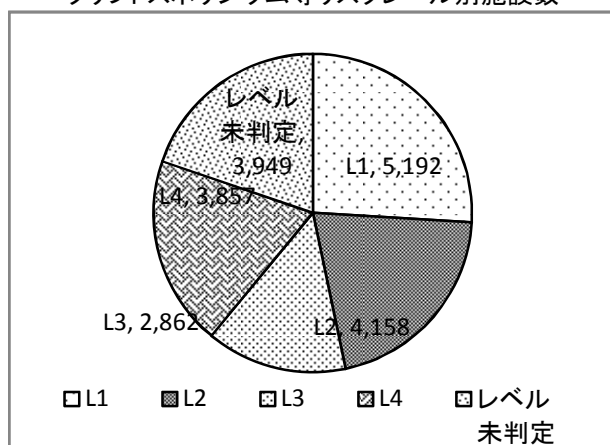


	集計対象施設数	割合
上水道	5,245	26.2%
簡易水道	8,495	42.4%
用水供給	162	0.8%
専用水道	6,116	30.6%
合計	20,018	100.0%

(3) クリプトスポリジウム等の汚染のおそれのレベル

集計対象施設数20,018箇所のうち、原水のクリプトスポリジウム等のリスクレベルの判断が行われていない施設は、全体で3,949箇所あり、全体の19.7%を占めた。

クリプトスポリジウム等リスクレベル別施設数

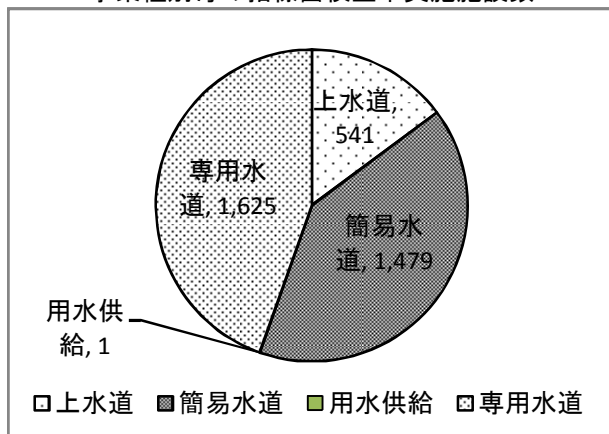


	L1	L2	L3	L4	レベル未判定	合計
上水道	1457	1202	931	1,108	547	5,245
簡易水道	1373	1538	1651	2,336	1597	8,495
用水供給	5	2	4	150	1	162
専用水道	2357	1416	276	263	1804	6,116
合計	5,192	4,158	2,862	3,857	3,949	20,018
割合	25.9%	20.8%	14.3%	19.3%	19.7%	100%

(4) 指標菌(大腸菌及び嫌気性芽胞菌)検査未実施施設数

集計対象施設数20,018箇所のうち、指標菌検査を実施していない施設は、全体で3,646箇所あり、全体の18.2%を占めた。

事業種別毎の指標菌検査未実施施設数



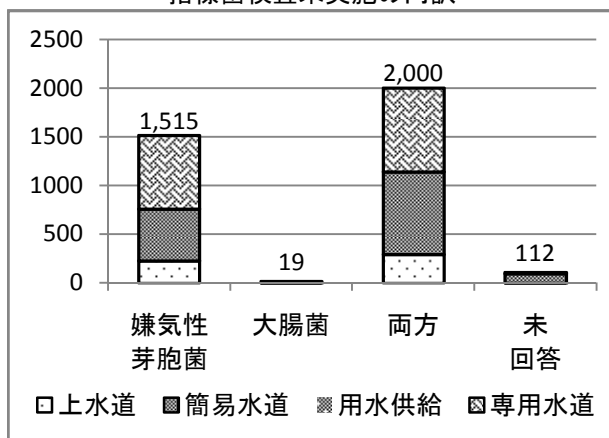
	集計対象施設数	指標菌検査未実施施設数※	検査未実施施設割合
上水道	5,245	541	10.3%
簡易水道	8,495	1,479	17.4%
用水供給	162	1	0.6%
専用水道	6,116	1,625	26.6%
合計	20,018	3,646	18.2%

※ 水道原水に係わる指標菌(大腸菌、嫌気性芽胞菌)の検査結果に基づくレベル判断が行われていない施設の数。ろ過等による浄水処理対策を実施済みの施設も含まれる。

(5) 検査を実施していない指標菌の種別について

大腸菌検査及び嫌気性芽胞菌検査共に実施していない施設が最も多く、次に嫌気性芽胞菌のみ検査を実施していない施設が多かった。

指標菌検査未実施の内訳



	嫌気性芽胞菌	大腸菌	両方	未回答	合計
上水道	232	0	295	14	541
簡易水道	532	13	849	85	1,479
用水供給	0	0	1	0	1
専用水道	751	6	855	13	1,625
合計	1,515	19	2,000	112	3,646

(6) 指標菌検査を実施していない理由について

大腸菌検査を実施していない施設のうち、315箇所(15.6%)は「検査の実施が困難」、556箇所(27.5%)は「原水の状況から検査は不要と認識」、356箇所(17.6%)は「原水の調査は義務づけられていない」、176箇所(8.7%)は「認識が欠けていた」ことを理由に実施していなかった。

嫌気性芽胞菌検査を実施していない施設のうち、362箇所(10.3%)は「検査の実施が困難」、1,204箇所(34.3%)は「原水の状況から検査は不要と認識」、721箇所(20.5%)は「原水の調査は義務づけられていない」、376箇所(10.7%)は「認識が欠けていた」ことを理由に実施していなかった。

※(5)で「両方」とした機関の回答は、以下の大腸菌、嫌気性芽胞菌のどちらの集計にも反映している。

大腸菌検査未実施の理由

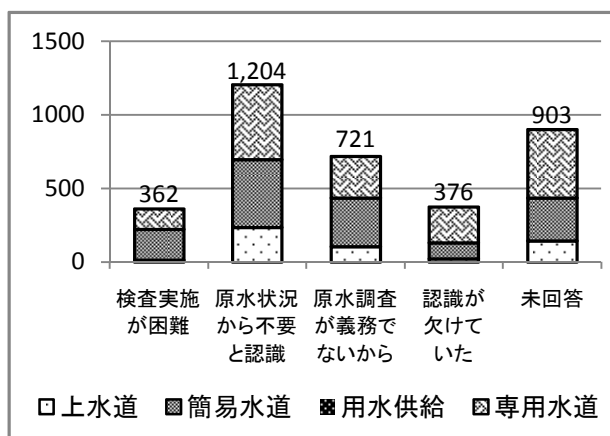
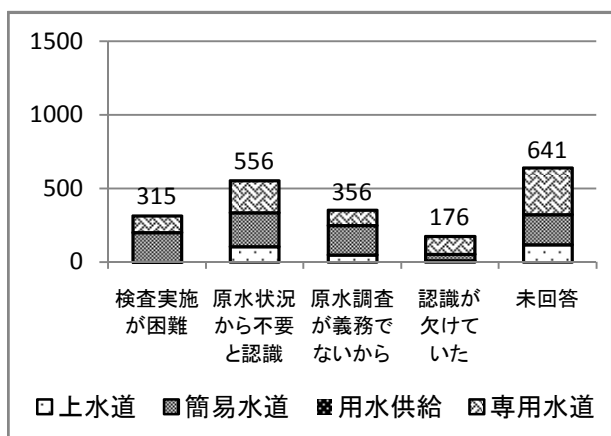
	検査実施が困難	原水状況から不要と認識	原水調査が義務でないから	認識が欠けていた	未回答
上水道	5	108	50	11	122
簡易水道	199	230	201	45	203
用水供給	0	0	0	0	1
専用水道	111	218	105	120	315
合計	315	556	356	176	641

※ 複数回答あり

嫌気性芽胞菌検査未実施の理由

	検査実施が困難	原水状況から不要と認識	原水調査が義務でないから	認識が欠けていた	未回答
上水道	17	236	110	25	148
簡易水道	210	461	327	111	288
用水供給	0	0	0	0	1
専用水道	135	507	284	240	466
合計	362	1,204	721	376	903

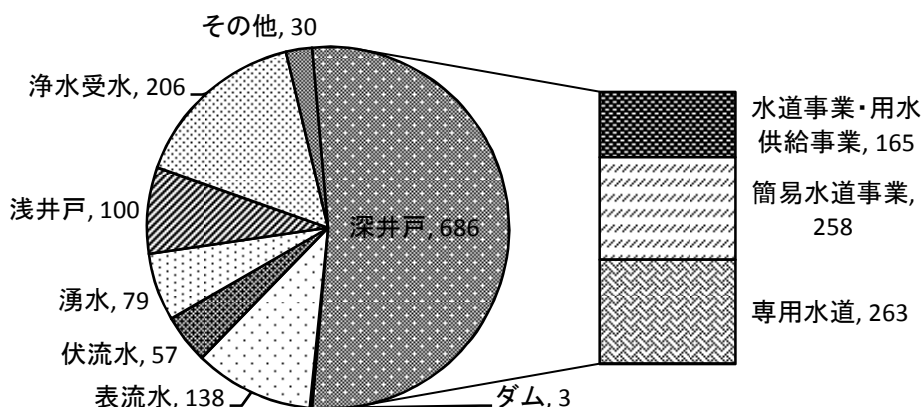
※ 複数回答あり



(7) 「原水の状況から検査は不要と認識」と回答した施設の水源の内訳

深井戸を水源とする施設が多かった。また、ダム、表流水等リスクの高い水源の施設も不要と認識している施設があった。

「原水の状況から検査は不要と認識」と回答した施設の水源の内訳



※ 複数水源を有する浄水施設の凡例の表示は、最も多く受水している水源の種別とした。

※凡例の「浄水受水」は、全量浄水受水施設を含まず、他の水源の原水も受水している施設のうち、浄水受水が最も多い施設を示した。

(8) 指標菌が検出されているにもかかわらず、リスクレベルの判断が行われていない施設数

指標菌が検出されているにもかかわらず、リスクレベルの判断が行われていない施設数は、地表水を水源とする施設は99箇所、地表水以外を水源とする施設は62箇所存在した。

	地表水で指標菌検出 → レベル4	地表水以外で指標菌検出 → レベル3
上水道	18	11
簡易水道	76	44
用水供給	0	0
専用水道	5	7
合計	99	62