

クリプトスポリジウム等の検出のための試験方法等の改正について

1. 平成 21 年度以降の当検討会等の開催経緯

平成 21 年度厚生科学研究（飲料水の水質リスク管理に関する統合的研究）（松井研究班・微生物分科会）において、クリプトスポリジウム等の遺伝子検出法（LAMP 法、PCR 法）及び粉体ろ過法の研究がなされ、実用化に向けた課題と課題解決のための提案が示された。

- ※1 LAMP 法： 標的遺伝子配列から 6 つの領域を選んで組合せた 4 種類のプライマーを用いて、鎖置換反応を利用して増幅させ、装置により標的遺伝子の存否を判断する。
- ※2 PCR 法： 増幅したい領域の両端に相補的なプライマーと耐熱性 DNA ポリメラーゼを用いてサイクル反応（プライマーとのアニーリング→伸長反応→二本鎖の解離）を行うことにより、目的とする DNA 領域を増幅させ、装置により標的遺伝子の存否を判断する。
- ※3 粉体ろ過法： 酸溶解性の粉体を用いたケーキろ過による濃縮を行うアセトンを使用しない新規のろ過方法で、浄水の濃縮試料の保存目的に開発され、原水への応用も用意された。

平成 22 年 3 月 23 日に開催された平成 21 年度水道における微生物問題検討会（第 1 回）において、遺伝子検出法及び粉体ろ過法が検査法として妥当かどうか検証するため、複数の協力機関において試料の検査を実施し、その結果を評価していくこととされた。

平成 22 年 10 月 12 日に開催された平成 22 年度水道における微生物問題検討会（第 1 回）において、8 機関の遺伝子検出法の検査結果に基づいて、検査法の評価及び検査法の改善点が検討された。遺伝子検査法が検査法として使用可能であることが示されたが、免疫磁気ビーズを塩酸分離する方法等の改善点が明らかになったため、その点も考慮した試験方法を作成することが必要とされた。

平成 23 年 2 月 17 日に開催された平成 22 年度水道における微生物問題検討会（第 2 回）において、5 機関の粉体ろ過法の検査結果に基づいて、検査法の評価及び検査法の改善点が検討された。粉体ろ過法が検査法として使用可能であることが示されたが、ケーキろ過層が捕捉性能を十分に発揮するうえでの留意点等が明らかになったため、その点も考慮した試験方法を作成することが必要とされた。また、試験方法を作成するうえでの追加の確認事項や要望事項も示された。

2. 水道に関するクリプトスポリジウム等の検出のための試験方法等の改正について

これまでの検討会における指摘事項等については、水道事業者の協力を得て、検討が行われ、その結果が本検討会に報告されたところである。

本検討会での評価結果を受けて、泉山委員及び遠藤委員の協力のもと「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 別添 3 水道に関するクリプトスポリジウム等の検出のための試験方法（平成 19 年 3 月 30 日健水発第 0330006 号健康局水道課長通知）」の改正案を資料 2-1 のとおり、また、「飲料水におけるクリプトスポリジウム等の検査結果のクロスチェックの実施要領（平成 19 年 3 月 30 日健水発第 0330007 号健康局水道課長通知の別添）」の改正案を資料 2-2 のとおり作成した。

2. 1. 「水道に関するクリプトスポリジウム等の検出のための試験方法」改正内容

ア. 粉体ろ過法及び遺伝子検出法の追加等

懸濁粒子の補足・濃縮方法に粉体ろ過法を、オーシストの検出方法に遺伝子検出法をそれぞれ追加する。

なお、現行の試験方法では、試験操作等を確定的に記述する「標準的方法」と、基本操作のみを記述する「その他の方法」と分類しているが、新たに追加する粉体ろ過法及び遺伝子検出法は、以下の理由によりどちらも「その他の方法」として記載することとした。

- ・粉体ろ過法：結果の蓄積が少ないこと、さらに確定的に記述した方法を営利目的で使用した場合等に特許料の支払いが生じる恐れがあること等
- ・遺伝子検出法：国内に標準試料の供給体制が整っていないこと、また結果の蓄積が少ないこと、さらに確定的に記述した方法を営利目的で使用した場合に特許料の支払いが生じる恐れがあること等

また、遺伝子検出法の追加に伴い、汚染の有無を判定する定性的試験結果のみならず、顕微鏡法と同様に定量値が求められる向きもあったことから、付録4として遺伝子検出法におけるオーシスト定量を追記している。

さらに、両法の追加に伴って、現行の試験方法の構成についても適宜改正を行っている。

イ. 既存の方法の修正等

改正案に対し、本検討会に先がけて委員から意見を伺ったところ、粉体ろ過法及び遺伝子検出法のみならず、既存の方法についてもご意見をいただいたため、それについても適宜修正を行った。

2. 2. 「飲料水におけるクリプトスポリジウム等の検査結果のクロスチェックの実施要領」改正内容

クロスチェックに必要な標本等及び試料の搬入方法につき、顕微鏡法と遺伝子検出法と分けて記載することとした。

3. 今後の対応について

本検討会での審議を踏まえ必要な修正を行い、今年度中には改正通知を発出する予定である。