

**「小規模水供給システムの持続可能な維持管理  
に関する統合的研究」  
ミーティング**

京都大学大学院工学研究科

研究分担者 伊藤 禎彦

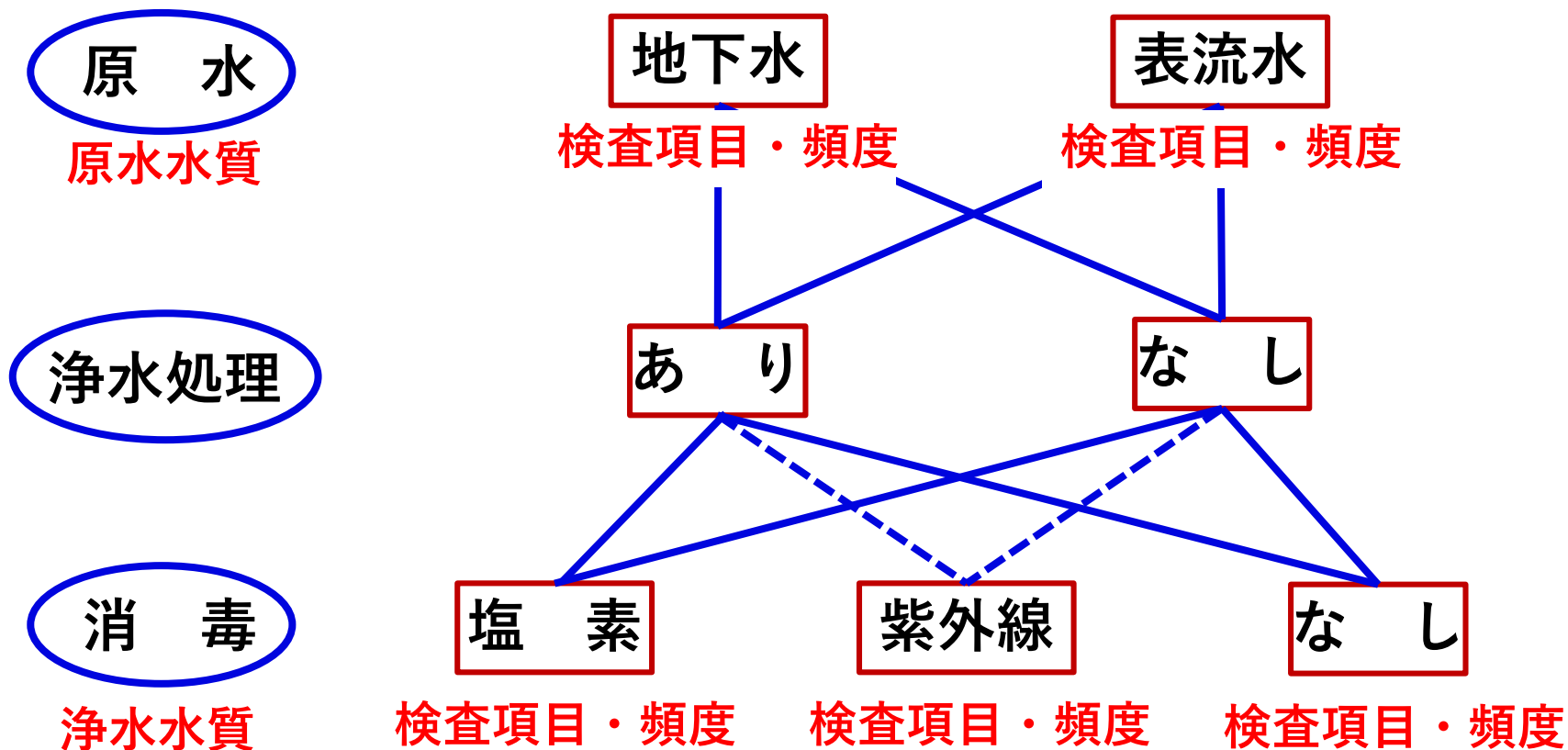
研究分担者 中西 智宏

研究協力者 曾 潔

**2021年11月17日**

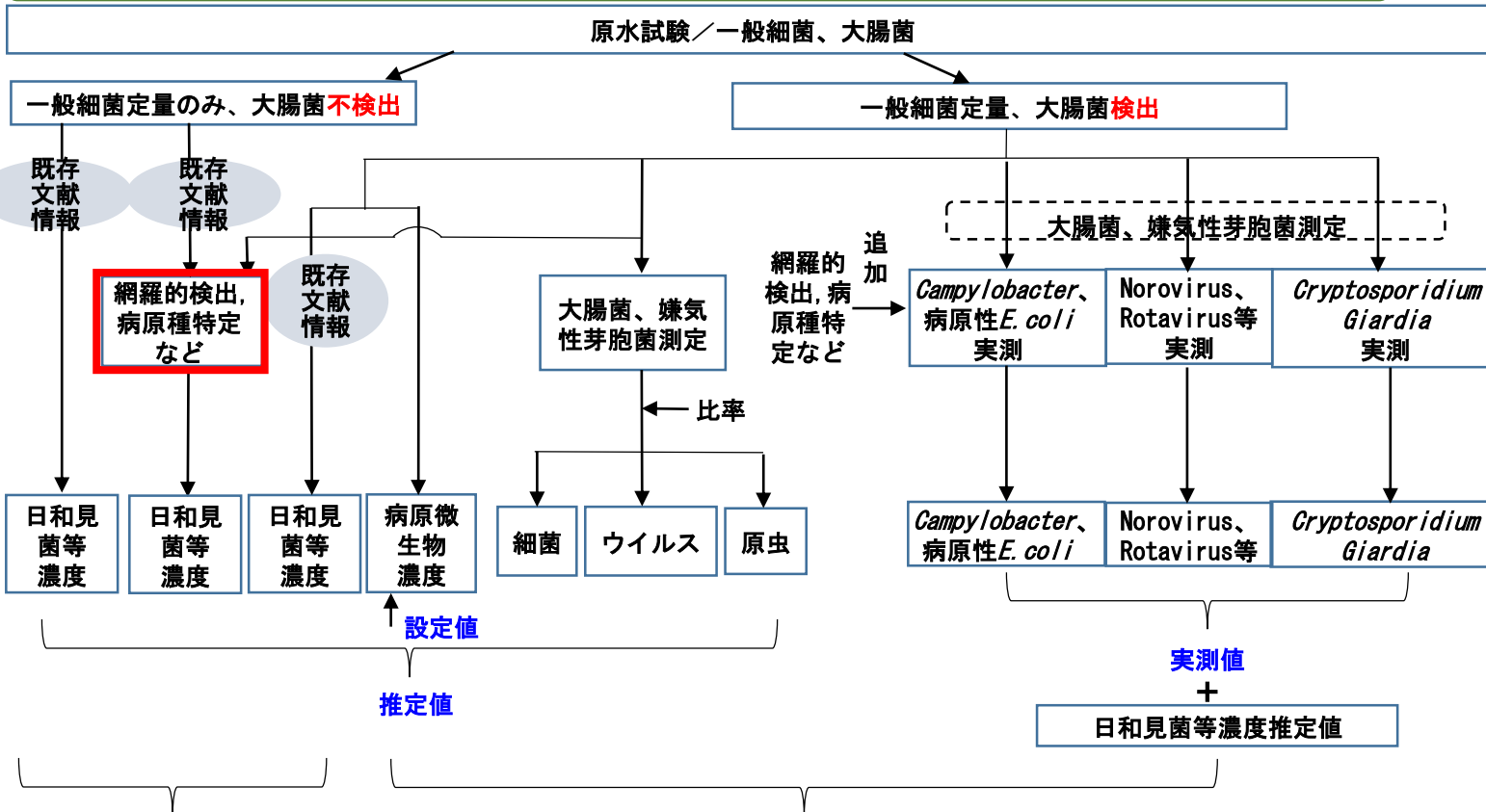
# 小規模水供給システムにおける限定的な 情報に基づく飲料水の安全確保法

# 課題：小規模水供給施設における現実的な水質管理



研究的アプローチ：微生物に関する項目はむしろ拡充し、定量的微生物リスク管理手法（Quantitative Microbial Risk Assessment; QMRA）をコンセプトとする。

# 微生物的安全確保へ向けたアプローチ方法



原水既存データ



原水追加調査



原水中濃度推定値／実測値

用量－反応モデル

必要除去・不活化能算定

感度分析と不確実性分析

浄水処理プロセス選定

- ・ 感染能を有する割合設定
- ・ 代表的日和見菌のモデル (最大感染確率モデルや低確率モデル使用も考えられる)

- ・ 感染能を有する割合設定
- ・ 各微生物に対するモデル適用

選定プロセスに及ぼす影響の考察

# トロッコ保津峡駅（嵯峨野観光鉄道、京都市西京区）

## 北側施設



## 南側施設



# 水質測定結果例：トロッコ保津峡駅

## 北側施設（2020年11月～2021年10月、n=13）

	一般細菌 CFU/mL	従属栄養細菌 CFU/mL	大腸菌群 MPN/100mL	大腸菌 MPN/100mL	嫌気性芽胞菌 CFU/L	pH	電気伝導度 μS/cm	濁度 度
平均値（幾何 / 算術）	41	245	-	7.8	8.3	7.52	56.1	5.69
最大値	202	1210	≥2400	110	65	7.90	87.1	10.4
最小値	6.9	13	29	ND	1.3	6.66	25.2	0.75
中央値	46	377	-	9.3	6.6	7.55	54.5	5.22

原水40項目試験実施済(2020.12.1)

## 南側施設（2020年11月～2021年10月、n=11）

	一般細菌 CFU/mL	従属栄養細菌 CFU/mL	大腸菌群 MPN/100mL	大腸菌 MPN/100mL	嫌気性芽胞菌 CFU/L	pH	電気伝導度 μS/cm	濁度 度
平均値（幾何 / 算術）	11	99	-	15	16	7.39	91.5	1.22
最大値	66	380	≥2400	240	120	7.91	109	3.30
最小値	1.7	11	15	1.5	4.7	6.46	78.8	0.29
中央値	13	173	-	15	12	7.56	93.4	1.00

原水40項目試験実施済(2020.12.1)

# 京都帝釈天（京都府南丹市）

（2021年3月～10月、n=8）

	一般細菌 CFU/mL	従属栄養細菌 CFU/mL	大腸菌群 MPN/100mL	大腸菌 MPN/100mL	嫌気性芽胞菌 CFU/L	pH	電気伝導度 μS/cm	濁度 度
平均値（幾何 / 算術）	40	354	-	13	23	7.66	52.9	12.5
最大値	164	887	≥2400	46	102	7.98	61.1	20.5
最小値	10	95	46	ND	2.7	7.49	37.0	7.04
中央値	48	330	-	23	35	7.56	54.3	10.9

原水40項目試験実施済(2021.4.16)



# 大吉寺（滋賀県長浜市）

(2021年3月～8月、n=3)

	一般細菌 CFU/mL	従属栄養細 菌 CFU/mL	大腸菌群 MPN/100mL	大腸菌 MPN/100mL	嫌気性芽胞 菌 CFU/L	pH	電気伝導 度 $\mu\text{S/cm}$	濁度 度
原水 (渓流 水)	5.6	653	$\geq 240$	1.5	12	7.62	60.5	0.68
	8.2	100	$\geq 240$	2.3	14	7.78	63.5	1.02
	13	560	$\geq 240$	24	1.3	7.77	66.6	1.49
給水栓水	2.1	963	24	0.92	4.0	7.68	59.8	0.49
	1.7	31.7	110	0.92	2.0	7.83	66.9	0.44
	4.0	443	110	4.3	15	7.75	63.6	0.52

原水40項目試験実施済(2021.5.19)





## 文献に見られる比率等のまとめ

	HPC/全細菌	HPC/全生菌	全生菌/全細菌
表流水における値 (各ケースについて中央値を算出。その後、全体の中央値を算出。)	<b>N=12</b> <b>9.82E-06 ~ 3.10E-01</b> <b>Median=7.47E-04</b>	<b>N=8</b> <b>3.31E-04 ~ 7.75E-01</b> <b>Median=1.81E-03</b>	<b>N=8</b> <b>3.08E-01 ~ 9.55E-01</b> <b>Median=0.506</b>

- ・ 25文献をレビュー。浄水処理の有無、消毒の有無等を含む各種の報告。
- ・ 原水が表流水（河川、貯水池、湖沼）である場合のデータを抽出。表のNは、報告数を意味する。
- ・ なお、ここでは、HPCについて一般細菌と従属栄養細菌を区別していない。

# 一般細菌数に基づく必要除去・不活化能の試算例

	北側施設	南側施設	京都帝釈天
日和見菌等推定濃度 ( cells/mL )	8.36E+02	2.27E+02	8.16E+02
必要除去・不活化log数	4.9	4.3	4.9

・測定した一般細菌数をもとに、病原細菌による感染確率 $10^{-4}$ /人/年以下を満たすのに必要な除去・不活化log数を算定。

・仮定：一般細菌/全細菌=0.075%、一般細菌/全生菌=0.18%、病原性生菌/全病原性細菌=50.6%。また、全細菌の約3%は病原性細菌（真砂らの結果による）。

算定式：病原性生菌数 = 一般細菌数 ÷ 0.075% × 3% × 50.6%

・病原性生菌はすべて日和見菌等であるとみなす。用量-反応モデルには、日和見菌のうち指数モデルの $\gamma$ が最小である *Staphylococcus aureus* のモデル( $\gamma = 7.64E-08$ )を適用。

# 大腸菌測定値に基づく必要除去・不活化能の試算例

病原微生物	条件／パラメータ	トロッコ北側 施設log数	トロッコ南側 施設log数	京都帝釈天 log数
病原大腸菌 <i>E. coli</i> O157:H7	大腸菌×0.08 ; $\gamma=0.0093$	4.8 (6.24E-03)	5.1 (1.16E-02)	5.0 (1.00E-02)
カンピロバクター	大腸菌×0.66; $\gamma=0.686$	7.6 (5.15E-02)	7.9 (9.57E-02)	7.8 (8.25E-02)
ロタウイルス	大腸菌×5.00E-06 ; $\gamma=0.59$	2.4 (3.90E-07)	2.7 (7.25E-07)	2.6 (6.25E-07)
クリプトスポリジウム	大腸菌×1.00E-06 ; $\gamma=0.2$	1.3 (7.80E-08)	1.5 (1.45E-07)	1.5 (1.25E-07)

- ・大腸菌測定値に対して比率を乗じ各種病原微生物濃度を設定（表中カッコ内の数値, cells/mL）。感染確率 $10^{-4}$ /人/年以下を満たすのに必要な除去・不活化log数を算定。
- ・WHO定量的微生物リスク評価ガイドブック(p.188)に記載されている大腸菌/*E. coli* O157:H7、大腸菌/ロタウイルス、大腸菌/クリプトスポリジウム、大腸菌/カンピロバクターの比率はそれぞれ**1:0.08**、**1:5.00E-06**、**1:1.00E-06**、**1:0.66**。
- ・用量－反応モデル：*E. coli* O157:H7は $\gamma=0.0093$ （WHO定量的微生物リスク評価ガイドブック,p.223）、ロタウイルスは $\gamma=0.59$ （WHO,2017）を使用。

# 不確実性分析の例(トロッコ保津峡駅北側施設対象)

項	目	必要除去・不活化 log数
<b>ベースケース</b> 一般細菌数: 41.3CFU/mL ; 一般細菌 / 全細菌の割合 = 0.075% ; 病原性細菌 / 全細菌の割合 = 3% ; 病原性生菌 / 病原性細菌の割合 = 50.6% ; 日和見菌等 / 病原性生菌の割合 = 100% ; 感染能を有する割合 = 100% ; 非加熱飲料水消費量 = 327 mL ; <i>Staphylococcus aureus</i> 用量-反応モデル適用 $\gamma = 7.64E-08$		4.9
一般細菌 / 全細菌の割合	0.001% 10%	6.8 2.8
病原性細菌 / 全細菌の割合	0.01% 10%	2.4 5.4
病原性生菌 / 病原性細菌の割合	10% 80%	4.2 5.1
日和見菌等 / 病原性生菌の割合	0.1%	1.9
感染能を有する割合	10%	3.9
非加熱飲料水消費量	1 L	5.4
用量-反応モデル	<i>Legionella</i> : $\gamma = 5.99E-02$	10.8

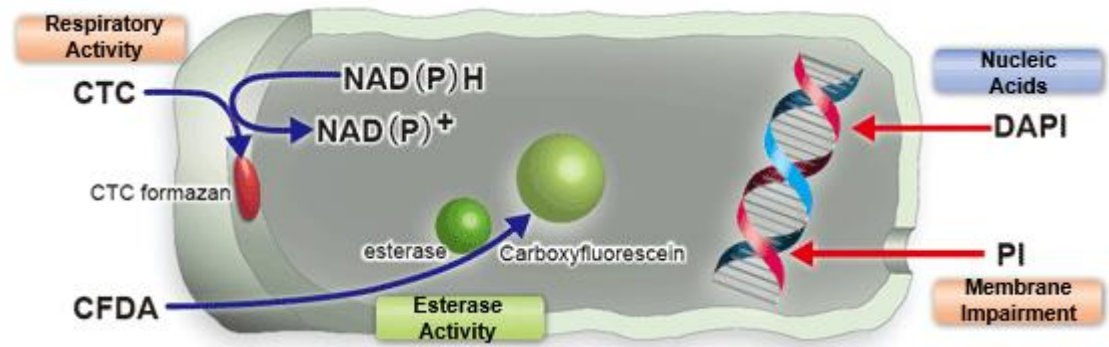
\* 赤字：必要除去・不活化 log数の差が1を超える項目

# 網羅的検出、病原種特定へ向けた実験的検討

## 全細菌と全生菌の測定法確立

**全細菌**： DAPI 染色  
(DNAに結合)

**全生菌**： CFDA染色  
(エステラーゼ活性)



染色試薬

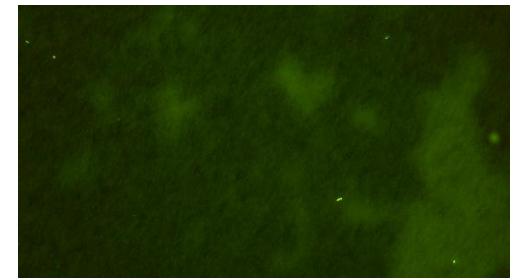
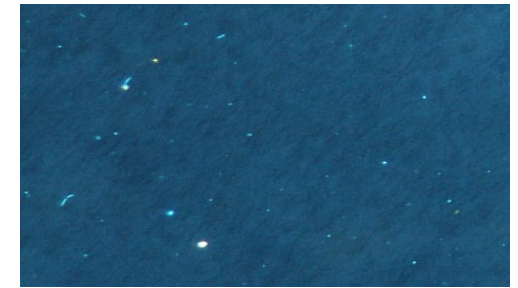
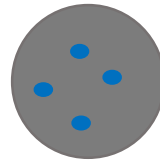
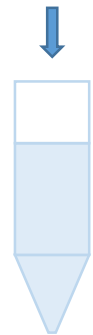
染色

捕集

顕微鏡観察

DAPI

CFDA



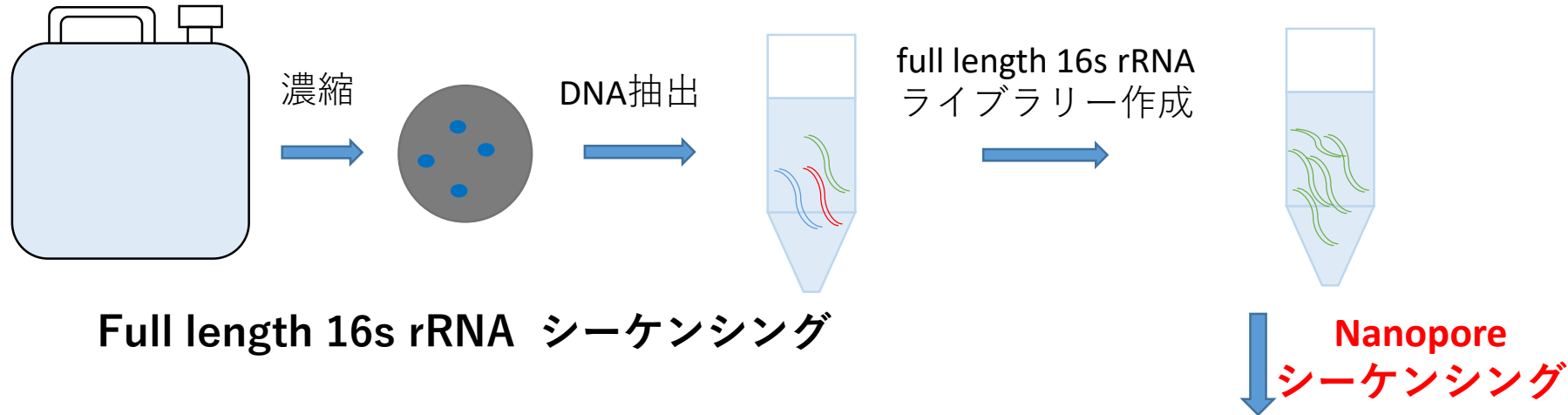
実験条件

DAPI : final concentration 1 ug/mL, room temperature 1 hour

CFDA: 1 mL water sample + 20 uL 25 mM EDTA + 15 uL 10 mg/mL CFDA, 36 °C 1 hour

# 研究進捗

原水追加調査：網羅的検出, 病原種特定など



Full length 16s rRNA シーケンシング

次世代シーケンシング: short-read, e.g. 16s rRNA V3-V4 region

**Nanoporeシーケンシング**: long-read, e.g. full length 16s rRNA

**種レベルの情報が得られる**

- DNA 抽出方法を検討
- ライブラリー作成：PCRなど実験条件を検討
- シーケンシングデータ分析：**病原種特定、病原菌存在割合の把握**



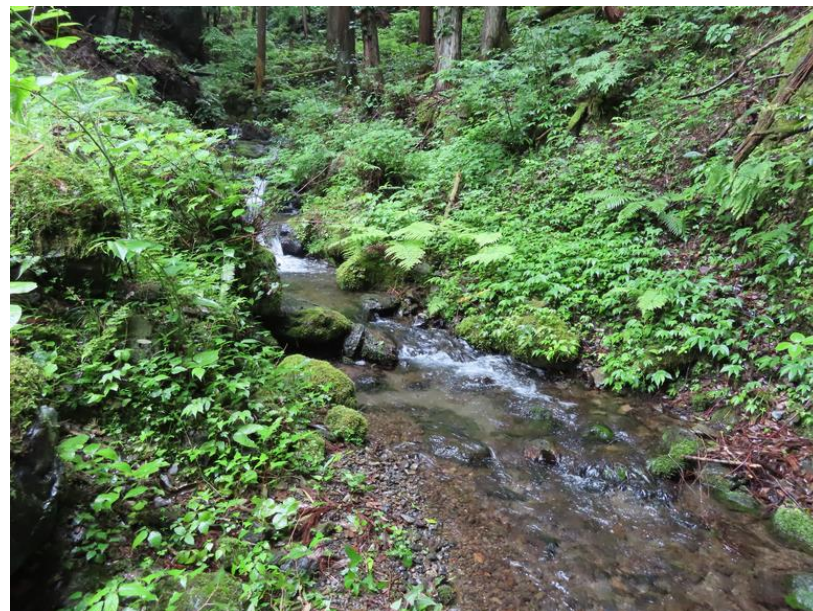
# 大腸菌・嫌気性芽胞菌はどこにでもいる

**京都帝釈天**  
(京都府南丹市)



湧水点

**大吉寺**  
(滋賀県長浜市)



クリプトスポリジウム汚染のおそれあり・・・???

# 取水施設の例



# 静岡市

ごんげんさわ

権現沢水道組合

給水戸数10戸、給水人口24人(2019年7月現在)



有孔管 + 網が埋め込まれている



# 大吉寺 (滋賀県長浜市)

