

クリプトスポリジウムのUV不活化における影響因子

Influencing factors on UV inactivation of *Cryptosporidium*

9930121 三輪倫子 大瀧雅寛

Michiko Miwa and Masahiro Otaki

お茶の水女子大学 環境工学研究室

1. はじめに

今日、我が国で使用される水道水の大半が塩素消毒に依存している。しかし、近年塩素消毒では処理できない病原微生物が問題視されており、その中の一つにクリプトスポリジウム（以下クリプト）という下痢症病原原虫が挙げられる。これは主に畜産排水に含まれる為、通常高濃度の濁質と共存状態で排出される。また強固な殻（オーシスト）をもつ為、塩素消毒では殻の中の寄生体（スポロゾイト）にまで損傷を与えることができない。これに対応した新たな浄水処理法として、現在、膜分離方法やオゾン消毒、紫外線消毒などが検討されている。近年、UV消毒が極めて有効であることが報告されている。

しかし、清水中の各件での報告は多いものの、濁質と共存状態でのクリプト不活化（消毒）といった悪条件下での効果や、排出後、長時間経過したクリプトに対する不活化効果を調べた研究は少ない。本研究では紫外線消毒に注目し、濁質と共存状態にあるクリプト及び長期保存後のクリプトについて脱囊を用いた不活化試験によってその影響を調べることにした。

2. 紫外線消毒の評価方法

消毒の評価とは、クリプト活性の有無、即ち「紫外線によりクリプトが如何に感染力を失うか」を評価することである。評価方法には、マウスへの感染試験、培養細胞への感染試験である Cell culture 法、脱囊能力の有無によって判断する脱囊法など幾種類ある。ここでは本研究で主に用いた脱囊法を紹介する。

【脱囊法】原理としては試験管内においてヒトの消化器官に類似した環境を作り、そこでクリプトを培養する。その結果オーシストがスポロゾイトを排出（脱囊）するかないかで生死を判定する方法である。

長所は、操作が比較的容易（所要時間4～5時間）

であることが挙げられる。

短所としては、「脱囊はするが感染力がない」クリプトまで陽性と判断してしまうことであるが、より安全側の評価といった見方もできる。

3. 実験方法

脱囊試験では、脱囊したクリプトの計数は顕微鏡で行う。本研究で対象としているように濁質が共存する場合は、濁質が観察の妨げになる恐れがある。そこで計数のための前処理として濁質とクリプトを分離する実験を以下のように行った。

シヨ糖浮遊遠心法を用いて濁質とクリプトの分離を試みた。

〈実験①〉オーシストと濁質の接触時間による吸着への影響を調べた。まず、濁液にクリプトを投入し、濁質とクリプトの接触時間を0, 1時間として、分離実験を行った。クリプトは生きているもの（以下生クリプト）と死んだもの（ホルマリン固定）（以下死クリプト）を用いて比較した。

〈実験②〉分離したオーシストと分離しないものを脱囊させて、顕微鏡観察を行った。

〈実験③〉各種ランプによる濁質共存下でのクリプト不活化実験（脱囊評価）を行った。

〈実験④〉長期冷蔵保存状態（約7ヶ月間、4℃、in PBS）にあったクリプトに紫外線を照射し、脱囊法にて不活化実験を行った。

本実験では大腸菌ファージQ β を用いた生物線量計によるUVの殺菌効果線量を測定し、これを用いた。

4. 実験結果・考察

〈実験①〉図1に実験結果を示す。この図から生クリプトは、吸着時間に関わらずオーシスト数の回収率は非常に低くなったことがわかる。

原因としては、

- ・死クリプトの実験と生クリプトの実験の間（約一ヶ月）に共存させる濁質が変質した。
- ・死クリプトはホルマリン固定であるため、ホルマリンによる作用により濁質への吸着効果が抑制された。

ことなどが考えられる。

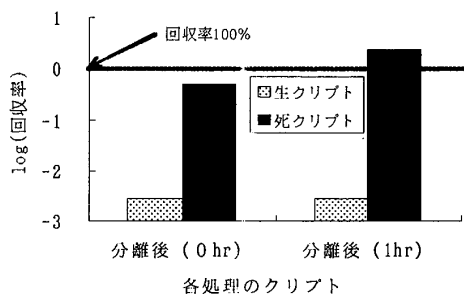


Fig.1 The differences of recovery ratio by contact time

〈実験②〉 観察した際の相違について表1にまとめた。

Table1. The differences of excystation rate by separation

	脱囊率	
	未分離	分離
250NTU	0.942	(観察不能)
500NTU	0.902	(観察不能)

separation

分離により、オーシストは観察可能な濃度以下となりデータが得られなかった。また、未分離でも共存する濁質は顕微鏡観察の妨げにはならなかったため、今後濁質を共存させる実験では分離せずに脱囊法を適用することにした。

〈実験③〉 照射エネルギーの増加につれて脱囊率が低下した。(無)は清水中を、(有)は濁質共存状態を Fig.2 に示す。UV線量は、ファージQβを用いた生物線量計にて測定したものであり、シャーレ内でQβが受けた殺菌効果線量を示す。従って、Fig.2より、濁質が共存していてもQβへの殺菌効果線量が同じ条件ならば、

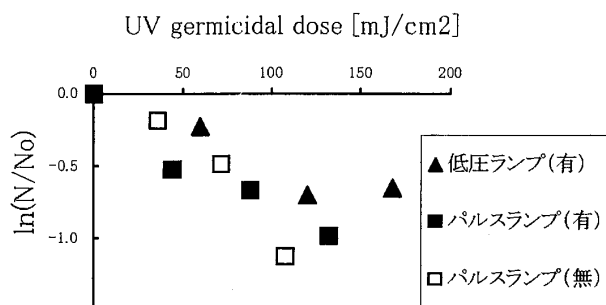


Fig.2 The inactivation rates by UV disinfection with/without turbidity

清水の場合と同様のクリプト不活化効果があることがわかった。

また濁質において低圧ランプでは、テーリングが起こったが、パルスでは見られなかった。これは、パルスランプの特徴として考えられる。

〈実験④〉 結果を Fig.3 に示した。(前)は長期保存前を、(後)はその後を示す。

既存の研究のデータと比較したところ、長期冷蔵保存をしたクリプトは同じ程度不活化するために要する紫外線量が8倍になることがわかり、クリプトがUVに対する高耐性を持つようになったことがわかった。低圧ランプにおいても同様の耐性が確認された。

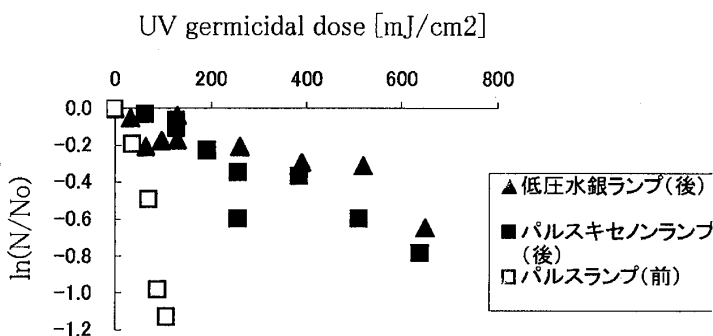


Fig.3 The inactivation rates by UV disinfection The effect of long term stock on UV disinfection

5. まとめ

濁質共存状態の不活化実験は、濁質が共存していてもクリプト不活化効果は変わらなかったが、より大きな紫外線量を照射した場合にパルスランプと低圧ランプとの違いが見られた。

また、長期保存によってクリプトの紫外線耐性が、高くなる原因については不明な点が多く、今後更に検討を進めていく必要がある。

【参考文献】

- 1) Standard Operating Procedure for the Detection and Enumeration of Infectious *Cryptosporidium parvum* by MPN
- 2) 佐藤瑠美「Cell culture 法によるクリプトスポリジウムの活性試験法の検討」平成13年度卒業論文