

紫外線照射による *Cryptosporidium parvum* の不活化に関する研究 Inactivation of *Cryptosporidium parvum* by UV irradiation

9730126 平田優子 大瀧雅寛

Yuko HIRATA and Masahiro OTAKI

お茶の水女子大学 環境工学研究室

1. はじめに

近年、水道原水の汚染が問題となってきたおり、その一つに、*Cryptosporidium* という塩素耐性を有する病原性原虫による汚染の問題がある。*Cryptosporidium* は孢子虫類のクシジウム目に属し、動物の胃に寄生する *Cryptosporidium muris* と、腸管に寄生する *Cryptosporidium parvum* とがある。主にヒトに感染するのは、*C. parvum* である。*Cryptosporidium* は、大腸菌の数千倍の塩素耐性を有し、オゾン処理に対しても強い抵抗性を示すことなどから、現行の浄水処理方法では、原水に含まれるオーシストを完全に除去しているかが疑問視されている。そこで、現在、塩素処理に代わる新たな処理法の研究が進められている。

本研究では、実用化に向け大きな期待が寄せられている紫外線照射による処理方法に注目をした。新たに開発されたパルス UV ランプにより、*C. parvum* に紫外線を照射し不活化実験を行った。また従来型ランプにおける実験結果の比較により、*C. parvum* に対するパルス UV ランプの不活化能力を定量的に評価した。

2. 生死判定測定法について

Cryptosporidium parvum の不活化判定には主に、脱囊試験、DAPI/PI 染色法、ATP 評価法などが行なわれている。本研究においては生育活性を調べることを目的としているので、動物の消化器管中と類似した条件下にする脱囊試験¹⁾にて生死を判定した。

3. 実験装置及び方法・手順

3-1 紫外線ランプについて

パルス UV ランプは断続的に光を照射し、瞬間的に高照度のエネルギーを照射することができる。また、UV ランプのスペクトルは、Fig.1 に示す通り、パルス UV ランプと従来型ランプ

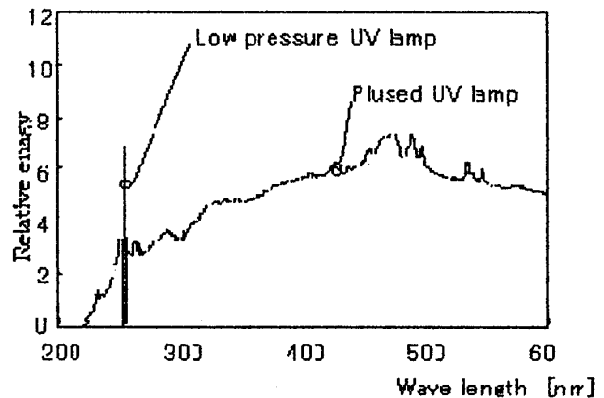


Fig.1 Spectra of UV

(低圧 UV ランプ、) との間に違いがあり、不活化に及ぼす影響の違いが期待できる。

3-2 脱囊試験¹⁾による生死判定の測定

動物の消化器管中と類似した条件下で、クリプトスポリジウムが脱囊し、オーシスト内のスポロゾイドを排出するかを調べる手法である。脱囊しないオーシストは生育活性がないものと判定される。

試料を pH2、37°C で保存し、その後、中性に戻し (pH7.4)、洗浄を数回繰り返した後、顕微鏡にて数百のオーシストについて脱囊判定を行う。以下の式により、脱囊率を求める。

$$\text{脱囊率(\%)} = \frac{\text{脱囊しているオーシスト数}}{\text{全オーシスト数}} \times 100$$

3-3 生物による紫外線線量測定

紫外線線量計は波長 254nm 付近の光量のみを測定するものであり、254nm 以外の殺菌効果を期待できる波長域を持つ UV ランプの照射線量を評価するには不十分である。そこで、殺菌効果のある紫外線のうち実際に被照射物に到達した紫外線の線量を評価するため、大腸菌ファージの一種である RNA ファージ Q β (以下 Q β) の不活化を測定して、殺菌に使われた紫外線量を算定することとした。

$$N_t / N_0 = e^{-f u t} \dots (1)$$

N_t ; 紫外線照射 t(s)後の $Q\beta$ 濃度(PFU/mL)
 N_0 ; 紫外線照射前の $Q\beta$ 濃度(PFU/mL)
 f ; $Q\beta$ の不活化速度定数= $0.17(\text{cm}^2/\text{mWs})$
 u ; 有効殺菌線量率(mW/cm^2)
 t ; 紫外線照射時間(s)

$Q\beta$ に *C.parvum* と同条件下で、同様の実験を行った。ファージ濃度は、*E.coli* K12F⁺(A/ λ)を宿主とし、二層寒天法²⁾によるブラック方にて測定した。そこから、 $Q\beta$ への照射線量を算出し、さらにはクリプトスポリジウムへの照射線量を算出し、照射線量と不活化速度の関係から、クリプトスポリジウムに対する紫外線ランプの不活化能力の評価を行った。

3-4 実験手順

C.parvum と $Q\beta$ 、各々に同条件下で、紫外線を照射した。実験中はスターラーで一定速度に攪拌し続けた。光源としてパルス UV ランプと低圧 UV ランプを用いた。

4. 実験結果及び考察

パルスUVによる実験を数回行ったところ、 $Q\beta$ は一次的に不活化に至っていた。従って、 $Q\beta$ の不活化結果から、式(1)を用いてパルス UV ランプの有効殺菌紫外線量率を算出する。各回の有効殺菌紫外線量率より、*C.parvum* の照射回数あたりの照射線量を算出し、一列にまとめた結果を Fig.2 に示す。低圧 UV ランプによる実験においても、 $Q\beta$ は一次的に不活化に至っていた。パルスUVの場合と同様にまとめた結果を、Fig.3 に示す。

5. 考察

照射線量あたりにおける不活化率は低圧UVランプの方が優れている結果となった。パルスUV光による不活化では、*C.parvum* に、光回復が起こっていることが考えられる。また、 $Q\beta$ の不活化において、パルスUV光と低圧UV光との間に効果の違いがあり、基準の役割を果たしていない可能性も考えられる。このことから、パルスUV光と低圧UV光では、紫外線の届く部位が違うなどの、不活化機構の違いがあると考えられる。異なる紫外線による不活化機構の違いを解明する必要があるといえる。

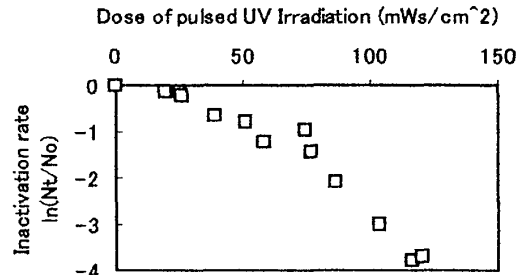


Fig.2 Inactivation of *Cryptosporidium parvum* by pulsed UV irradiation

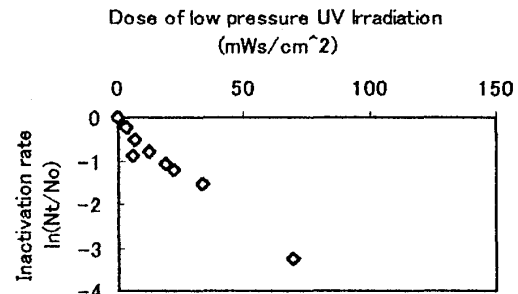


Fig.3 Inactivation of *Cryptosporidium parvum* by low pressure UV irradiation

また、時間あたりにおける不活化率はパルスUV光の方が優れており、さらに運転・管理の面からも、実用性においてはパルスUVランプ優れていると考えられる。エネルギー効率も含めて実用化に向け、さらなる装置の改良を進めることが、今後の研究課題である。

6. 参考文献

- 1) 麻布大学版 「クリプトスポリジウム試験法」
- 2) 小熊久美子ら 第53回土木年次学術講演会、pp.250,1998
- 3) 東京大学都市工版 「大腸菌ファージ測定マニュアル」
- 4) 平田 強ら 水道協会雑誌 第735号、pp.2,1995
- 5) 大垣真一郎、大瀧雅寛ら 東京大学工学部総合試験所 年報 第58巻 pp.65.1999
- 6) 遠藤宗平 「分子放射生物学」

7. 謝辞

本卒業研究を進めるにあたり、東京大学工学部都市工学科の片山浩之助手、並びに実験関係者をはじめ多くの方のご指導とご協力に心より感謝し、この場を借りてお礼申し上げます。