

#### 別添 4

#### C. 研究結果

##### ①紫外線照射線量と ESS 数の関係

LPUV および MPUV 共に、本研究の実験範囲内では生成 ESS 数が直線的に増加した。LPUV および MPUV の回帰式を以下に示す。

$$\text{LPUV: ESS}_{\text{UV}} = 0.72D - 0.11 \quad (r^2 = 0.98) \quad (4)$$

$$\text{MPUV: ESS}_{\text{UV}} = 0.61D - 0.07 \quad (r^2 = 0.93) \quad (5)$$

D: 紫外線照射線量 (mJ/cm<sup>2</sup>)

どちらの場合も紫外線照射線量と生成 ESS 数の間にはよい相関 ( $r^2 = 0.9753$  および  $r^2 = 0.9335$ ) が得られたが、MPUV の単位線量当たりの生成 ESS 数は LPUV より約 16 % 低くかった。

紫外線を用いた不活化研究において、紫外線照射線量の算出方法はランプの放出エネルギーを物理的に測定する紫外線照射線量率計 (Clancy *et al.*, 2000b; Mofidi *et al.*, 2001) や、特定の化学物質が吸収した線量を算出する化学線量計 (Linden and Darby, 1998), 指標生物の不活化の度合いから生物が吸収した線量を算出する生物線量計 (Kamiko and Ohgaki, 1989) など、研究者によって様々である。また, Zimmer *et al.* (2002) や Craik *et al.* (2001) は紫外線照射線量率計での測定値を DNA 吸収スペクトルで補正した紫外線照射線量で評価している。ここで、本研究でも DNA 吸収スペクトルで補正した紫外線照射線量で評価すると回帰式は、

$$\text{LPUV: ESS}_{\text{UV}} = 0.75D_w - 0.11 \quad (r^2 = 0.98) \quad (6)$$

$$\text{MPUV: ESS}_{\text{UV}} = 0.75D_w - 0.07 \quad (r^2 = 0.93) \quad (7)$$

D<sub>w</sub>: 補正した紫外線照射線量 (mJ/cm<sup>2</sup>)

となり、LPUV と MPUV の傾きに違いは認められず、単位線量当たりの生成 ESS 数が一致した。補正した紫外線照射線量と生成 ESS 数の回帰式を以下に示す。

$$\text{ESS}_{\text{UV}} = 0.75D_w - 0.10 \quad (r^2 = 0.97) \quad (8)$$

DNA 吸収スペクトルを考慮した紫外線照

射線量で評価すれば、LPUV と MPUV で単位線量当たりの生成 ESS 数は一致し、(8) 式を用いることで、紫外線照射した *C. parvum* に生成される ESS 数を推定することができると考えられる。

ESS が約 0.3 (/10<sup>4</sup> base) 生成されるごとに感染力が 1/10 に減少しており、ピリミジン二量体数と感染力の喪失の程度が強く関連している。

##### ②ESS の光回復

LPUV および MPUV を照射した *C. parvum* を光回復処理すると、いずれも明らかな ESS 数の減少が確認できる。LPUV を照射した場合の残存 ESS 数は紫外線照射線量にかかわらず 0.13~0.80 (/10<sup>4</sup> base) となった。これは、同じ HNJ-1 株オーシストで行った Oguma *et al.* (2001), Morita *et al.* (2002) の結果と同様であった。また、MPUV を照射した場合の残存 ESS 数は紫外線照射線量にかかわらず 0.18~0.51 (/10<sup>4</sup> base) となった。光回復後の残存 ESS 数はいずれの紫外線を照射した場合でも紫外線照射線量 (生成 ESS 数) に関係なくほぼ一定値 (平均で約 0.4/10<sup>4</sup> base) となった。*E. coli* では、LPUV を照射した場合は ESS の減少が認められたが、MPUV を照射した場合は ESS 数の減少は認められないとされているが (Oguma *et al.*, 2002), *C. parvum* では LPUV と MPUV で差は認められなかった。

ESS の回復数は生成 ESS 数が増加するに従って増加し、LPUV と MPUV で違いは認められなかった。LPUV と MPUV を合わせた結果の回帰式を以下に示す。

$$\text{ESS}_{\text{rep}} = 1.09\text{ESS}_{\text{UV}} - 0.65 \quad (r^2 = 0.97) \quad (9)$$

ESS<sub>rep</sub>: ESS の回復数 (/10<sup>4</sup> base)

ESS<sub>UV</sub>: 紫外線照射による生成 ESS 数 (/10<sup>4</sup> base)

(9)式から、生成 ESS 数が約 0.6 (/10<sup>4</sup> base) 以下では、回復処理しても ESS 数が減少しない。また、傾きがほぼ 1 となったことから、回復処理後も残存する ESS 以外はほぼ 100% 修復している。

#### 別添 4

##### ③ESS の暗回復

LPUV および MPUV を照射した *C. parvum* を暗回復処理すると、いずれも ESS 数の減少が確認できる。暗回復後の残存 ESS 数に LPUV と MPUV による違いは認められなかった。光回復では、回復処理後に残存する ESS 数が紫外線照射線量に関係なくほぼ一定値であったのに対して、暗回復では生成 ESS 数が多いものほど残存 ESS 数が多くなった。

ESS 回復率は生成 ESS 数が増加するに従って直線的に低下した。

生成 ESS 数が約 2.5 ( $/10^4$  base) までは原点付近から生成 ESS 数の増加に従って、ESS の回復数も増加した。生成 ESS 数が約 2.5 ( $/10^4$  base) 以上の時は ESS の回復数が 1.5~2.0 ( $/10^4$  base) でほぼ一定となり、それ以上の回復は認められなかった。

光回復では(9)式から、生成 ESS 数が約 0.6 ( $/10^4$  base) 以下の場合、回復処理しても ESS 数が減少しない。しかし、暗回復では生成 ESS 数が少ない程 ESS 回復率は高く、生成 ESS 数が約 0.6 ( $/10^4$  base) 以下の場合でも ESS を減少する傾向が認められた。

##### ④ESS 法とマウス感染法

紫外線照射によって一度感染力を喪失した *C. parvum* は光回復および暗回復処理しても感染力を取り戻せない (Morita *et al.*, 2002)。本研究の結果から、紫外線照射した *C. parvum* では、その後の光回復処理や暗回復処理により ESS 数が減少し、紫外線の主な損傷であるピリミジン二量体を明らかに修復している。しかし、どちらの回復処理を行っても全てのピリミジン二量体を修復することはなかった。

#### D. 考察

##### ①紫外線照射線量と ESS 数の関係

*E. coli* と LPUV を照射した *C. parvum* の生成 ESS 数を比較すると、*C. parvum* の単位線量当たりの ESS 数は 0.7 ( $/10^4$  base/mJ $\cdot$ cm $^{-2}$ ) であり、*E. coli* の 0.4 ( $/10^4$  base/mJ $\cdot$ cm $^{-2}$ ) (Oguma *et al.*, 2001) の約 1.8 倍であり、*E. coli* よりも *C. parvum* は紫外線に感受性が高いことになる。*C. parvum* のスポロゾイトは厚いオーシスト壁に保護され、化学消毒剤に対しては著しい耐性を示すが、紫外線はオーシスト壁を

容易に透過し、スポロゾイトの核酸に損傷を引き起こす。これが、紫外線が *C. parvum* に対して有効な消毒方法となる理由と考えられる。

##### ②ESS の光回復

紫外線照射によって *C. parvum* に生じるピリミジン二量体には光回復で修復できる二量体とできない二量体がある。光回復で修復できない二量体は少量の紫外線照射で速やかに生じ、紫外線照射線量の増加に伴って光回復で修復できる二量体が増加するものと考えられる。

##### ③ESS の暗回復

生成 ESS 数が少ない範囲のデータ数が少ないため推測に留まるが、暗回復では光回復処理後に残存する ESS を修復する可能性があると考えられる。

##### ④ESS 法とマウス感染法

ピリミジン二量体数が減少しているにもかかわらず、*C. parvum* の感染力の回復が認められないのは、光回復や暗回復では修復できずに残存するピリミジン二量体が DNA の完全な複製を阻害するためであると推測される。

#### E. 結論

本研究では、MPUV 照射によって *C. parvum* HNJ-1 株のオーシストに生成されたピリミジン二量体と、その光回復および暗回復の有無と程度を ESS 法で評価した。また、LPUV ランプを用いて同様に実験し、生成されたピリミジン二量体とその光回復および暗回復について比較検討した。その結果、以下の知見が得られた。

①DNA 吸収スペクトルで補正した紫外線照射線量で評価すると、LPUV と MPUV で単位線量当たりの生成 ESS 数は一致し、補正紫外線照射線量 ( $D_w$ ) と生成 ESS 数 ( $ESS_{UV}$ ) の関係について次式を得た。

$$ESS_{UV} = 0.75D_w - 0.10 \quad (r^2 = 0.97)$$

②MPUV 照射によって生じた ESS は、LPUV 照射したものと同様に、光回復および暗回復のいずれのプロセスでも減少した。

③光回復後の残存 ESS 数は、紫外線照射線量 (生成 ESS 数) に関係なく、ほぼ一定値 (平均で約 0.4/ $10^4$  base) となる傾向が認められた。

④紫外線照射によって生じるピリミジン二量体には光回復で修復できる二量体とでき

#### 別添4

ない二量体があり，修復できない二量体は少量の紫外線照射で速やかに生成され，紫外線照射線量の増加に伴って修復できる二量体が増加するものと考えられた。

⑤暗回復では光回復とは異なり，生成 ESS 数が多いものほど，暗回復後の残存 ESS 数が多くなる傾向が認められた。

紫外線照射により一旦喪失した感染力が回復しないのは，光回復および暗回復のいずれのプロセスでも一部のピリミジン二量体が修復されずに残存する結果，それらが DNA の複製阻害をもたらすことによるものと推測された。

特になし。

6. その他  
特になし。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

・なし

##### 2. 学会発表

- ・貝森繁基，森田重光，平田 強 (2004.3) 紫外線照射した *Cryptosporidium parvum* オーシストにおける DNA の損傷と光・暗回復，第38回日本水環境学会年会，札幌。
- ・杉本ひとみ，橋本 温，森田重光，平田強 (2004.3) 下水から単離した *Cryptosporidium* オーシストの遺伝子型の解析，第38回日本水環境学会年会，札幌市。
- ・森田重光，平田 強 (2004.3) 電子線による微生物不活化に及ぼす汚泥の影響，第38回日本水環境学会年会，札幌市。
- ・橋本 温，杉本ひとみ，森田重光，平田強 (2004.5) Nested PCR-ダイレクトシーケンス法による相模川の *Cryptosporidium* の遺伝子型判別，全国水道研究発表会，京都市。
- ・橋本 温，杉本ひとみ，森田重光，平田強 (2004.9) 河川から単離したクリプトスポリジウムオーシストの遺伝子解析，土木学会全国大会，豊田市。

#### G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

##### 4. 特許取得

特になし。

##### 5. 実用新案登録

厚生労働科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）  
分担研究報告書

分担研究課題3: *Cryptosporidium parvum* HJN-1 オーシストに対する不活化力の中圧紫外線と低圧紫外線の比較

分担研究者 平田 強 学校法人 麻布大学環境保健学部 教授

A. 研究目的

一般に種が同一であっても、株が異なる生物の諸特性が異なることがあり、特性の評価に関して留意する必要がある。これまで、わが国で行われてきたクリプトスポリジウムに関する研究の多くは、*Cryptosporidium parvum* HJN-1 のオーシストを用いておこなわれた。これに対して、世界的に最も研究データの多い米国で不活化に関する研究に最も多用されているのは、*C. Parvum* Iowa 株のオーシストである。このように異なる株が用いられているにも関わらず、不活化特性に関する両株間の株差に関する検討はまったく行なわれていない。このため、研究データの比較や統合の妨げとなっている。そこで、本研究では、*C. Parvum* Iowa 株と *C. Parvum* HJN-1 株の低圧紫外線及び中圧紫外線に対する感受性について、比較実験を行なった。

B. 研究方法

①供試 *C. parvum* オーシスト

分担研究課題1「低圧紫外線による *Cryptosporidium parvum* のDNAの暗回復」と同じオーシストを用いた。

② 紫外線ランプ

分担研究課題2「中圧紫外線による *Cryptosporidium parvum* HNJ-1 オーシストの不活化とDNA損傷の光回復・暗回復」と同じ紫外線ランプを用いた。

③紫外線照射線量率の測定方法

LPUV、MPUVの照射線量率は、紫外線積算光量計(UIT-150S254, ウシオ電機)を用いて測定した。

④感染性の測定

5週齢雄性 Scid マウス(C. B-17/Icr, CLEA Japan Inc)を使用した。新たな飼育環境に適応させるために1週間予備飼育して6週齢とした後、感染試験に供した。動物は麻布大学動物実験委員会の審査を受け、信頼

性のある不活化定量値が得られる必要最小限の匹数で行った。

紫外線照射群及び対象群(紫外線非照射)試料溶液中のオーシスト数を血球計算盤法で計数し、所定の濃度となるように5倍希釈して4~5段階の段階希釈列を調整した。投与量は500 $\mu$ L/匹とし、各希釈段階当たり5匹のマウスに経口ゾンデで胃内投与した。投与後に死亡したマウスはなかった。投与4週間後に1日分の糞便を回収し、シヨ糖浮遊法で生成した後、間接蛍光抗体染色した、すなわち、撥水ペンで円を描いたセルロースアセテート製メンブランフィルター(孔径3.0 $\mu$ m 直径25mm, ADVANTEC)を150mM PBSに浸してから吸引ろ過器にセットし、150mMPB、1%BSA、0.1%NGSをそれぞれ1mLずつ滴下し吸引ろ過した。その後、シヨ糖浮遊法で精製した後、試料溶液を約1mL滴下して洗浄した。その後、1次抗体(Hydrofluor Combo Kit, Strategic Diagnostics)を100 $\mu$ L滴下し、洗浄した。そして、二次抗体を100 $\mu$ L滴下して、25分間反応させ50mMPB、1%BSA、0.1%NGSで洗浄した後、エタノールグリセリン溶液で脱水した。最後にフィルターを2%DABCOグリセリン封入液を一滴のせたスライドガラスに載せ、さらに、2%DABCOグリセリン封入液を1滴のせて、カバーガラスをのせ、プレパレートとした。これを落射蛍光顕微鏡(BX-60, OLYMPUS)のB励起で観察し、アップルグリーン色に染色されたオーシストが確認されたものを感染陽性とした。この段階で陰性のマウスについてはさらに1週間飼育した後再検査した。再検査でも、オーシストが確認されなかったマウスは感染陰性とした。

各希釈段階でのオーシスト投与数、供試マウス匹数および感染陽性マウス次いで中圧紫外線による匹数データから、Hurley and Roscoe(1983)のMPN計算

#### 別添4

法を用いて1MPN発現オーシスト数を求め、(4)式から相対感染力(Ir)を算出した。

$$Ir = \frac{MPN_a}{MPN_0} (4)$$

ここで、MPNa:紫外線照射群の1MPN発現オーシスト数、

MPN<sub>0</sub>:紫外線非照射群の1MPN発現オーシスト数

(倫理面への配慮)

動物実験を行う場合、実験は原虫類を専門に扱っている機関にて行う。機関内部には、倫理委員会が存在し、動物愛護上の問題が生じないように研究者に対し、指導している。

#### C. 研究結果

低圧紫外線を用いた場合、HNJ-1株では紫外線照射量の増加に伴い、感染性は指数関数的に減少している。また、紫外線線量1.0mJ/cm<sup>2</sup>当たりの不活化1log<sub>10</sub>数は2.02となっており、これまでの低圧紫外線による不活化データとよく一致している。Iowa株でも紫外線照射量の増加に伴う感染性の低下は指数関数に従っているが、紫外線線量1.0mJ/cm<sup>2</sup>当たりの不活化1log<sub>10</sub>数は1.71となり、HNJ-1株で見られた2.01よりもやや小さな値であった。このように、HNJ-1株とIowa株間に感受性に差が認められ、HNJ-1株の紫外線感受性はIowa株の1.18倍であった。

中圧紫外線を用いた場合、低圧紫外線の場合と同様、両株とも紫外線照射量の増加に伴う感受性の低下は指数関数に従っていた。紫外線線量は1.0mJ/cm<sup>2</sup>当たりの不活化log<sub>10</sub>数はHNJ-1株では1.81、Iowa株では1.55であり、HNJ-1株の紫外線感受性はIowa株の1.1倍であった。

#### D. 考察

HNJ-1株とIowa株はともに低圧紫外線、中圧紫外線のいずれに対しても、照射線量の増加に伴い指数関数で減少した。

#### E. 結論

HNJ-1株の紫外線に対する感受性はIowa株の1.19倍(低圧紫外線の場合)、1.17倍(中圧紫外線の場合)であり、紫外線の種類に関係なく一定であることが明らかになった。

#### F. 研究発表

1. 論文発表  
なし。

2. 学会発表

- ・貝森繁基, 森田重光, 平田 強 (2004.3) 紫外線照射した*Cryptosporidium parvum* オーシストにおけるDNAの損傷と光・暗回復, 第38回日本水環境学会年会, 札幌.
- ・杉本ひとみ, 橋本 温, 森田重光, 平田 強 (2004.3) 下水から単離した*Cryptosporidium* オーシストの遺伝子型の解析, 第38回日本水環境学会年会, 札幌市.
- ・森田重光, 平田 強 (2004.3) 電子線による微生物不活化に及ぼす汚泥の影響, 第38回日本水環境学会年会, 札幌市.
- ・橋本 温, 杉本ひとみ, 森田重光, 平田 強 (2004.5) Nested PCR-ダイレクトシーケンス法による相模川の*Cryptosporidium*の遺伝子型判別, 全国水道研究発表会, 京都市.
- ・橋本 温, 杉本ひとみ, 森田重光, 平田 強 (2004.9) 河川から単離したクリプトスポリジウムオーシストの遺伝子解析, 土木学会全国大会, 豊田市.

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得  
特になし。
2. 実用新案登録  
特になし。
3. その他  
特になし。

厚生労働科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）  
分担研究報告書

紫外線照射による腸管寄生性原虫類の不活化効果に関する研究

分担研究者 遠藤 卓郎 国立感染症研究所寄生動物部 部長  
協力研究者 泉山 信司 国立感染症研究所寄生動物部

研究要旨

当該研究では、紫外線による耐塩素性微生物対策の有用性について検討している。すでに、*Giardia* 嚢子および、*Cryptosporidium* 嚢子は紫外線への感受性が高く、極めて低線量で不活化され、生命体としての光/暗回復が確認できないことが示されている。これは、むしろ例外的と考えるべきで、各種生物はそれぞれに光/暗回復機能を含めた防御機構を備えている。今年度はクリプトスポリジウムと分類学的に近縁であるが紫外線暴露に対し防御機能を有することが想定される孢子虫類のオーシストを用いて紫外線感受性を検討した。紫外線は *Cryptosporidium*、*Giardia* および赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*) に対しては極めて効果的な不活化処理であった。一方、*Cyclospora* あるいは *Eimeria* 等に対しては前者の 10 倍程度の照射線量が必要で原虫種により感受性にかなりの隔りがあることが示された。また、オーシスト/シストへの濁質の付着は紫外線処理にとって重要な阻害作用を及ぼすことが示されたことから、紫外線照射装置の浄水場等への導入に際してはこれらを十分考慮する必要がある。

A. 研究目的

当該研究では、紫外線による水系汚染微生物対策の有用性について検討している。されている。紫外線照射装置の導入に際して検討すべき事案として

- ①紫外線の有効照射線量
- ②紫外線により障害を受けた DNA 分子の回復機構
- ③他種の原虫類に対する不活化効果の検証を挙げている

B. 研究方法

(1) 赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*)

赤痢アメーバの栄養体は試験管培養で継代されている *E. histolytica* HM-1:IMSS cl-6 株を用いた (Diamond ら、1972)。培養液は BI-S-33 培地を使用した (Diamond ら、1978)。培養液中の栄養体を滅菌 10mM リン酸緩衝液 (pH7.4、以下 PBS) で 2 回遠心洗浄後に 10ml の PBS に  $10^3$  ないし  $10^4$ /ml となるよう再浮遊し、紫外線照射実験に供した。照射後の栄養体は 15 分間氷上に静置した後に 15mL 遠心管に入れ、遠心濃縮した。栄養体増殖能の検定は試験管培養で行い、紫外線照射後に生残した栄養体の定量は MPN 法を採用した。試験の手技ならびに MPN の計算は、*Giardia* の培養評価法に準じて行っ

た。

(2) アイメリア (*Eimeria acervulina*)

*Eimeria* 嚢子は感染ニワトリの糞便より、飽和食塩水浮遊法を用いて精製した。紫外線照射に用いた嚢子は 30℃で 48~60 時間培養した後の成熟嚢子を用いた。嚢子は 10mL の滅菌脱イオン水に  $10^5$ /ml の濃度で懸濁し、紫外線照射実験に供した。照射後の嚢子はシリンジを用いて 1ml の懸濁液としてニワトリに投与した。投与時の濃度は  $10^4$ /ml および  $10^5$ /ml の 2 段階とした。トリは 1 ケージに 3 羽ずつ入れ、同じ照射線量かつ同じ希釈段階の嚢子を 2 ケージのトリに投与した。嚢子の排出がピークとなる投与後 4~8 日の期間に糞便を回収し、嚢子の排出数を求めた。トリの飼育ケージは糞便の回収機構を有し、かつ食糞の防止措置が施されたケージ (武田薬品) を使用した。1 つのケージに 3 羽のトリを入れて飼育したが、トリ間の感染が防がれており、飼育形態は測定結果に影響しないものとする。糞便は 3 羽分が混合されており、期間中の 1 羽あたりの嚢子排出数を平均として算出した。嚢子排出数は改良型 McMaster 算定盤を用いて顕微鏡下で求めた。手順は以下の通りである。糞便の総重量を測定した後に糞便をよく攪拌し、3 本の 50ml 試験管に 10 ないし 20g ずつ糞便を分取した。分取した糞便は

#### 別添 4

30℃で 48~60 時間培養した後、4℃で保存した。保存した糞便は脱イオン水で最終液量を 40ml に調整し、十分に懸濁した。懸濁後に 180 $\mu$ l を 820 $\mu$ l の飽和食塩水と混合してから 150 $\mu$ m のフィルターでろ過した。ろ過液をよく混合し、算定盤に十分量のろ過液を入れ、3 分以上静置した。100 倍の倍率で明視野観察を行い、嚢子を計数した。計数を容易にする目的でコンデンサーを意図的に下げる、あるいは紫外線励起による自家蛍光の観察を補助的に適用した。最終的に、計数值、希釈率、糞便量等より 1 羽あたりの嚢子排出数を求めた。

#### (3) Cyclospora

Cyclospora は継代培養が確立されておらず、実験材料としては患者便から分離する以外に方策は無い。当該研究においてはヒト由来の Cyclospora のオーシストを入手する機会を得た。

#### (4) 紫外線照射試験

紫外線ランプは極大波長が 254 nm の 5 W 低圧水銀ランプ(ニッポ電機)を 2 本用いた。クランプで固定したランプの直下約 40cm に浮遊液 10mL を入れた 60 $\times$ 15 mm シャーレ(Corning430166)を置き(水層: 4.7 mm)、0.10mW/cm<sup>2</sup> の強度で所定の線量を照射した。照射線量測定には紫外線積算光量計 UIT-150-A +UVD-S254(ウシオ電機)を使用した。

#### (倫理面への配慮)

動物実験は動物愛護上の問題が生じないよう、国立感染症研究所動物実験委員会ならびに大阪府立大学動物実験委員会の指導のもとで行った。

#### C. 研究結果

紫外線処理で問題となる要因の光回復、微生物間での紫外線感受性の差について検討を行った。光回復に関しては、実験対照として *Legionella* 属菌を用い 0~10mJ/cm<sup>2</sup> の照射範囲において 1-log 程度の光回復が見られることを確認した。一方、同等の条件でジアルジア嚢子を用いて回復能を検討したところ、回復はほとんど見られないことが示された。

クリプトスポリジウムと分類学的に近縁であるが紫外線暴露に対し防御機能を有することが想定される孢子虫類のオーシス

トを用いて紫外線感受性を検討した。本研究ではヒトに感染しないが、紫外線抵抗性を示し、実験モデルとして取り扱いが比較的容易と考えられる *Eimeria* を用いて評価を行った。評価では紫外線照射した *Eimeria acervulina* の嚢子を用いてトリへの感染実験を行った。投与嚢子数と排出嚢子数の関係を表す検量線を作成し、紫外線照射後の嚢子を投与したトリから一定の期間排出されたオーシスト数を計数することにより消毒の効果を評価した。この実験系による評価の結果、8~12mJ/cm<sup>2</sup> で 2-log 程度の嚢子の不活化効果が得られた。あわせて *Entamoeba histolytica* 栄養体への紫外線照射実験を行い、培養でその効果を判定したところ、2mJ/cm<sup>2</sup> で 3-log 程度の生育阻止効果が得られた。*Entamoeba* に対する紫外線の不活化効果は *Cryptosporidium*、*Giardia* と同等と考えられたが、*Eimeria* に対する効果は低く、2-log の嚢子を不活化するのに必要な線量は *Cryptosporidium*、*Giardia* の 8-10 倍に相当した。さらに、*Cyclospora* オーシストに対する不活化効果を検討した。評価方法としては、スポロシスト形成を指標とした。その結果、2-log のスポロシスト形成の阻止には 10 mJ/cm<sup>2</sup> 程度の線量が必要であった。本原虫に対しての不活化効果は、先の *Giardia* シストでの実験に比べて不活化には 10 倍程度強い線量が必要であり、これは *Eimeria* オーシストとほぼ同等の結果であった。

*Cyclospora* は *Cryptosporidium* に近縁の孢子虫類に属し、ヒトへの病原性が知られている。*Cyclospora* はわが国に定着する原虫ではないが世界的には広がりを見せるもので、水系汚染の原因としても知られており今後の挙動に関心が寄せられている。本原虫のオーシストは塩素耐性であることが示されており、水道水の安全性確保に向けては紫外線を用いた不活化処理したい病原性微生物の 1 つと言える。スポロシスト形成を指標として紫外線の不活化効果を検討した発育は 0 mJ/cm<sup>2</sup> の条件を 100%とした相対的な割合を求めた。不活化の直線は 0 mJ/cm<sup>2</sup> を除いた結果より最小自乗法で算出し、 $y = e^{-(0.72 \times x + 2.5)}$  で表された。相関係数 R<sup>2</sup> 値は 0.98 であった。その結果、10 mJ/cm<sup>2</sup> で 2-log の発育阻止が観察された。

#### 別添 4

##### D. 考察

原虫類は種によって紫外線耐性が異なり、紫外線消毒における線量の選択に注意が必要である。

##### E. 結論

紫外線は *Cryptosporidium*、*Giardia* および赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*) に対しては極めて効果的な不活化処理であった。一方、*Cyclospora* あるいは *Eimeria* 等に対しては前者の 10 倍程度の照射線量が必要で原虫種により感受性にかなりの隔りがあることが示された。

##### F. 研究発表

###### 1. 論文発表

特になし。

###### 2. 学会発表

特になし。

##### G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

###### 1. 特許取得

特になし。

###### 2. 実用新案登録

特になし。

###### 3. その他

特になし。



## 研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年