

Cryptosporidium Parvum と *Giardia Lamblia* の低圧紫外線による不活化と、紫外線照射を受けた *Cryptosporidium Parvum* oocysts の DNA 修復

LOW PRESSURE UV INACTIVATION OF CRYPTOSPORIDIUM PARVUM AND GIARDIA LAMBLIA BASED ON INFECTIVITY ASSAYS AND DNA REPAIR OF UV-IRRADIATED CRYPTOSPORIDIUM PARVUM OOCYSTS.

Gwy-Am Shin ら

1. 概要

Cryptosporidium parvum と *Giardia lamblia* は最も重要な飲料水媒介病原体である。これらは表流水や水源に遍在しており、従来の浄水処理に対して非常に抵抗性が高い。適切に処理された従来のろ過システムは、この微生物をある程度除去することができる。しかし、薬品による消毒では、実際の注入量や接触時間でこれらの微生物を明確に不活化することはできない。

これまでの試験管内での生育テストに関する研究では、*C.parvum* oocysts と *Glamblia* cysts は UV 照射に対し非常に抵抗性があるといわれていた。しかし最近の生体を用いた感染テストによる研究では、広範囲にわたる多色 UV 照射は、比較的低線量でこれらの微生物を不活化するというを示している。しかし、UV 消毒を行っている多数の浄水場や廃水処理場は、照射線源として多色・中圧 (MP) の UV 照射の代わりに、単色・低圧 (LP) の UV 照射を採用している。そこで我々は MDCK 細胞培養に対する *C.parvum* oocyst 感染と、モンゴリアンアレチネズミに対する *Glamblia* cyst 感染の不活化の速度と範囲を様々な線量による単色・LP の UV 照射により試験した。

UV 消毒は最近承認されたばかりであるが、この技術を消毒剤として広範囲に使用する前に処理しなければならない、いくつかの問題が出ている。重要な問題の1つは UV 照射により損傷を受けた DNA を修復するための *Cryptosporidium* oocysts の可能性である。しかし UV 照射による *Cryptosporidium* の不活化の正確なメカニズムは知られていない。一般的には DNA と RNA の両方の核酸が UV 照射の最初の標的であると認められている。

UV 照射に対する *C.parvum* oocysts の高感受性は、おそらく DNA 含有量が高いためであると思われる。*C.parvum* の遺伝子は 1,400kb から 3,300kb 以上のサイズに並んだ 5 つの染色体を持っている。もし DNA が *C.parvum* のなかで UV 照射の最初の標的であれば、検討すべき重要な要素は DNA の修復である。水中の健康関連微生物が、ほとんどの指標細菌及びある病原性微生物を含めて、DNA 修復経路を 1 つ又はそれ以上持っていることは良く知られている。

しかし、*C.parvum* のようなコクシジウム目の原生動物が DNA 修復経路を有しているかどうかは知られていない。そこで我々は UV 照射を受けた *C.parvum* oocysts の DNA 修復の可能性について試験した。

2. 方法

(1) 寄生生物

C. parvum は Idaho, Troy, Pleasant Hills Farm, Pat Mason から購入した。実験的に感染させた3日目の牛から毎日採集したオーシストは、大きなゴミや毛を取り除き精製して、断続的な蔗糖勾配により分散させ、引き続き塩化セシウム密度勾配を行った。塩化セシウム勾配から取り出したオーシストはリン酸緩衝食塩水で洗浄され、抗生物質を含んだ緩衝液に再び懸濁させ、4℃で貯蔵した。

3. 結果

Fig.1 は室温でリン酸緩衝食塩水溶液中の試験用微生物に数種類の単色・低圧-UV 照射を行い、照射線量と *C. parvum* の感染能と *G. lamblia* の感染能の不活化の関係を示す。

C. parvum の感染能の減少は非常に速く、 $3\text{mJ}/\text{cm}^2$ の照射線量以内に感染能試験の検出限界である $-3\log_{10}$ に達した。アレチネズミに対する *G. lamblia* cyst の感染能の減少は、より速く $1\text{mJ}/\text{cm}^2$ 以内で $-4\log_{10}$ の検出限界に達した。

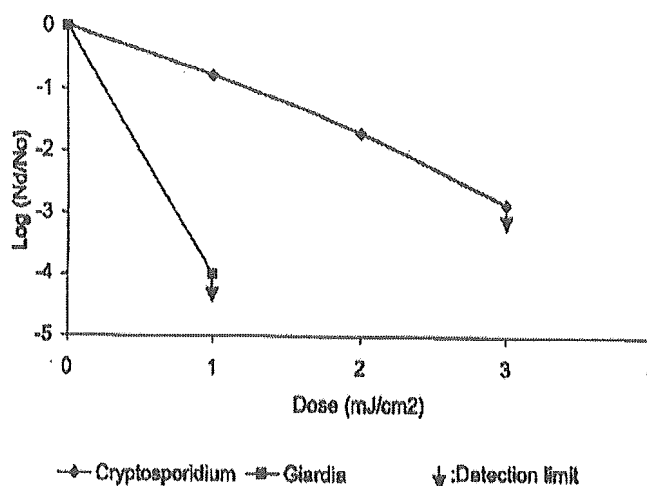


Figure 1. Inactivation kinetics of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* by monochromatic, low-pressure UV radiation

Table-1 は低圧 UV を $1.23\text{mJ}/\text{cm}^2$ で照射された *C. parvum* oocyst の修復状態を示している。

$1.23\text{mJ}/\text{cm}^2$ の UV 照射による *C. parvum* oocyst 感染能の減少は、明・暗のいずれの修復条件下においても UV 照射されたオーシストにおいて回復しなかった。

C. parvum oocyst の UV 照射により引き起こされた DNA 損傷については、明・暗いずれの修復も認められなかった。

4. 考察

この研究結果は、*C. parvum* oocyst と *G. lamblia* cyst は単色・低圧 UV 照射に対して非常に感受性が高いことを示唆している。*C. parvum* oocyst と *G. lamblia* cyst の明らかな不活化は、多色・中圧の UV 照射と同様に低圧 UV 照射の実際的な線量により達成されると思われる。以前の調

Table 1. Repair of UV-irradiated *Cryptosporidium parvum* oocysts dosed with $1.23\text{mJ}/\text{cm}^2$ of LP-UV

Conditions	<i>Cryptosporidium parvum</i> reduction (-Log ₁₀ value)		
	Control	Dark	Light
37 °C, 1 hour	0.8	0.8	0.85
37 °C, 2 hour	0.8	1.7	1.0
25 °C, 2 hour	0.8	0.85	1.0
25 °C, 4 hour	0.7	1.4	0.9

査では、低圧 UV システムの 254nm の波長が UV と可視光線のなかで最も最も微生物殺菌力の高い波長であることが示されている。この波長はまた、*C. parvum* oocyst と *G. lamblia* cyst の不活化に関する中圧 UV 照射の出力スペクトルの 1 つであると思われる。

この研究結果は、*G. lamblia* cyst の不活化の反応が、少なくとも 4log の減少は最初の段階であるように思われる。これは以前の *G. muris* cysts の UV 不活化に対する $2.5\log_{10}$ の減少でプラトーとなると報告されている研究結果と著しく異なっている。この矛盾は *Giardia* の種の違い (*lamblia* 対 *muris*)、シストの精製度合いや物理的性状、UV 照射条件、動物感染能試験のばらつき、または、その他の要因によるものかどうか不明である。

試験した条件下で *C. parvum* oocyst の UV 照射により損傷を受けた DNA についての明・暗修復のいずれかの証拠は観察されなかった。しかし、これは *C. parvum* oocyst の、UV 照射により損傷を受けた DNA の修復の可能性がないということには必ずしもならない。おそらく *C. parvum* oocyst は、この研究で用いた以外の異なる環境条件下で達成される別の DNA 修復機構をもっていると思われる。

C. parvum の DNA 修復酵素の存在については、別の再活性条件を用いて、より完全な生物化学的で遺伝学的な研究が必要である。*C. parvum* oocyst が DNA 修復条件を明・暗によって再活性化することができるかどうかは、飲料水や排水処理システムにおける *C. parvum* oocyst の不活化に必要な低圧 UV 照射の要求線量を決定する助けになるであろう。

要約すると、この研究結果は、*C. parvum* oocyst と *G. lamblia* cyst は、単色・低圧の UV 照射に対して非常に感受性が高く、両方の微生物の明らかな不活化が非常に低い線量で容易に達成されるということを示している。したがって、飲料水や排水の処理において、適正に設計され、運転された単色・低圧の UV 消毒システムは、下水放流水の水質を十分に制御することができる。

紫外線消毒の影響因子について (Part 1) 廃水中の粒子に対する光の透過

Factors Influencing Ultraviolet Disinfection Performance

Part 1: Light Penetration to Wastewater Particles

Frank.J.Loge ら

1. 概要

廃水固形物の UV 吸収や内部分散特性の測定技術について書かれている。ろ過や活性汚泥処理の一部として開発された廃水固形物はランベルト・ベアの法則に従って光の吸光度によって観察された。固形物の吸光度は $3,300 \sim 569,000 \text{ cm}^{-1}$ のレンジ幅である。吸光度は処理方式を変えて検討したけれども、最も低い測定値でさえも、固形物への UV 光線の伝達を阻害するのに十分であった。排水処理プロセスでは固形物に対して光が透過するとは思えない。観察された極端に高い吸光度は、UV 光線は固形物を通過しての伝達ではなく、多孔性の粒子の場合にのみ粒子を透過することができることを示唆している。また照射された UV 光線を完全にブロックする粒子もある。より長い波長の UV 光線は、短波長の UV 光線よりも粒子の透過性がよいことが観察された。

2. 方法

試料は、それぞれ異なる生物処理プロセスを用いた、6ヶ所の排水処理施設 (WWTPs) から採取された。

Table-1 に各 WWTPs の施設の処理プロセス、固形物の吸光度等を示した。

Table 1—Absorbance of wastewater solids collected from selected wastewater treatment processes.

Name of WWTP	Process ^a	Absorbance ^b of wastewater solid material per cm	Absorbance ^b (transmittance) of bulk liquid medium per cm
Sacramento Regional, Calif.	AS with pure oxygen	74 300	0.152 (70%)
San Jose, Calif.	Air AS	15 200	0.118 (76%)
San Jose, Calif.	AS with bio N	10 700	0.145 (72%)
Frankenmuth, Mich.	AS with bio N/bio P	54 200	0.118 (76%)
City of Port Huron, Mich.	AS with chem P	569 000	0.159 (69%)
Mt. View Sanitary District, Calif.	Trickling filter	3 300	0.164 (69%)

^a Definition of abbreviations: AS = activated sludge; bio N = biological nitrogen removal; bio P = biological phosphorous removal; chem P = chemical phosphorous removal.

^b Measured at a wavelength of 254 nm.

集光装置、廃水固形物、fiber-optic microelectrode apparatus の位置関係を Fig.1 に示している。

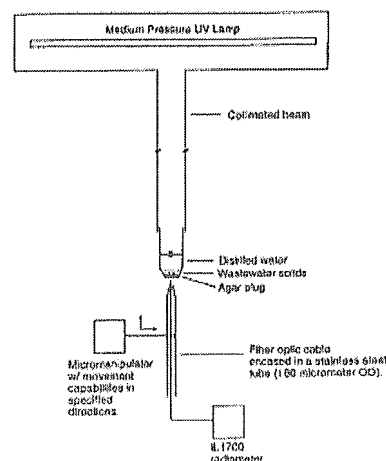


Figure 1—Schematic illustrating the fiber-optic microelectrode apparatus.

3. 結果と考察

(1) 廃水固形物の光透過特性

波長 252nm と 312nm の UV 光線の強度は、純酸素活性汚泥プロセスから採取された廃水固形物中の 2 種類の波長の UV 光線の相対的透過率として Fig.2 に示されている。

二つの波長は UV スペクトルの殺菌力のある波長域である。固形物の吸光度を代表する各直線の勾配はほとんど同じである。従って UV 波長領域を用いた中圧 UV 消毒システムは、254nm の単波長を用いるシステム以上に生物を標的とした不活化に対して付加的な利点はない。中圧ランプからのより長い UV 波長のみが大部分の液体培地に照射された全体の強度を増加させている。

(2) 廃水粒子に対する光の透過性

UV 光線は廃水固形物により吸収されるが、Fig.3 に示す照射線量に対する対数残存率の曲線のテーリング範囲内で、残存している生物が連続的に減少していることにより明らかのように、廃水粒子（固体+液体）は透過する。

廃水粒子に対する光の透過とその後に引き続いて起こる粒子と一緒にいる生物の不活化を理解するための 1 つの仮説は、光の経路の考え方に基づいている。廃水粒子は非常に多孔質である。廃水粒子の非常にポーラスであるという性質は、光の透過に対して経路を作り出す。

4. 結論

幅広いプロセスからの廃水固形物は全ての UV 光線の伝達を本質的に妨害することが示された。特に処理プロセスの運転操作の変更は、固形物中の UV 光線の伝達を改善するとは思えない。全体の液体培地に対して遮断しない光の経路で、固-液境界上に有る生物をターゲットとした時のみ不活化することができる。

廃水固形物の吸収特性は、紫外線の全ての波長においてほとんど同じである。中圧 UV 消毒装置は、254nm の単波長を用いるシステム以上に、埋め込まれた標識生物の不活化に対して付加的な利益を引き出すことはできない。より長い UV 波長のみが、全体の液体培地の UV 強度を増加させる。

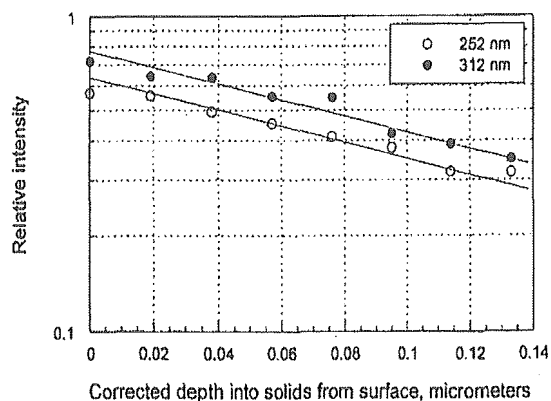


Figure 2—Transmission of two wavelengths of UV light into wastewater solids collected from the pure oxygen activated-sludge process.

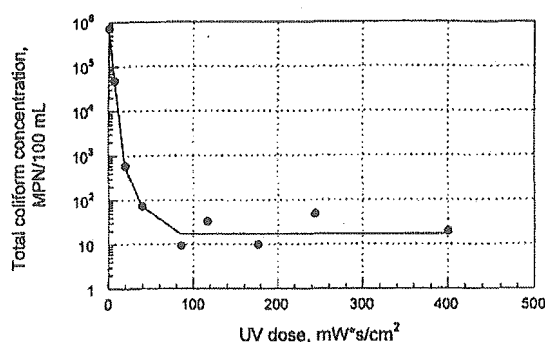


Figure 3—Typical log-survival versus UV dose curve developed with secondary effluent (per Loge et al., 1996) illustrating the partial inactivation of particle-associated coliform (evident by the continued reduction in the surviving number of coliform bacteria in tailing region).

細胞培養感染法による中圧紫外線によるクリプトスポリジウムの不活化

Low Pressure UV inactivation of *Cryptosporidium parvum* based on cell culture infectivity

GWY-Am Shin ら

1. 摘要

本研究は、*in vitro* の培養生物の感染試験により、水中における *Cryptosporidium parvum* オーシスト及び大腸菌ファージを単色の中圧紫外線による不活化の機構及びその程度を測定し、紫外線量と不活化の程度の用量作用関係を明確にすることを目的としている。

2. 方法

2.1 オーシスト

Pat Mason, Pleasant Hills farm, Troy, Idaho より購入した Iowa 株の *C. parvum* オーシストを購入し、子牛に感染させてから 3 日後より、回収を行った。精製は、スクリーンにてふるいにかけた後、不連続型ショ糖勾配、塩化セシウム(1.15mg/L)密度勾配法により行った。その後、PBS 溶液にて洗浄し、抗生物質を含む緩衝溶液に懸濁させ、4℃にて保管した。感染性の評価は、Madin-Darby Canine Kidney(MDCK) cell culture(ATCC CCIL34)に拠る。

2.2 バクテリアファージ MS2

F-特異 RNA 大腸菌ファージの培養及び評価は、宿主細胞大腸菌 C3000 を用いて、寒天重層法により試験を行った。宿主細胞を寒天の上層に加え、少量の PBS 溶液を付与し、培養を行い、等量のクロロホルムにより抽出したのち、(4000×g)の遠心分離を 4℃にて 30 分を行い、回収した。

2.3 低圧紫外線装置

装置(Figure1)には、2つの 15W 殺菌ランプが設置されており、254nm の紫外線をペトリ皿に照射するようになっている。なお、紫外線量の測定は UV254nm 検出器を用いた。

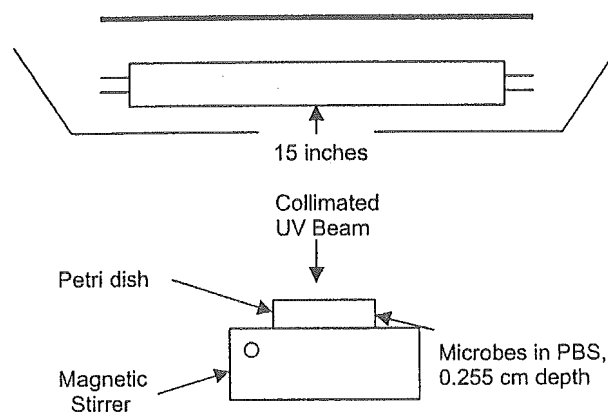
2.4 実験方法

Cryptosporidium parvum オーシスト及び大腸菌ファージを PBS 溶液にて混合希釈し、各々 10^6 個/ml 以下になるように調整し、ペトリ皿に 5ml 添加した後、紫外線照射を行った。

2.4 微生物試験

Cryptosporidium parvum オーシストの感染性試験は Madin-Darby Canine Kidney(MDCK)細胞菌

Figure 1. Laboratory apparatus for low-pressure UV collimated beam disinfection



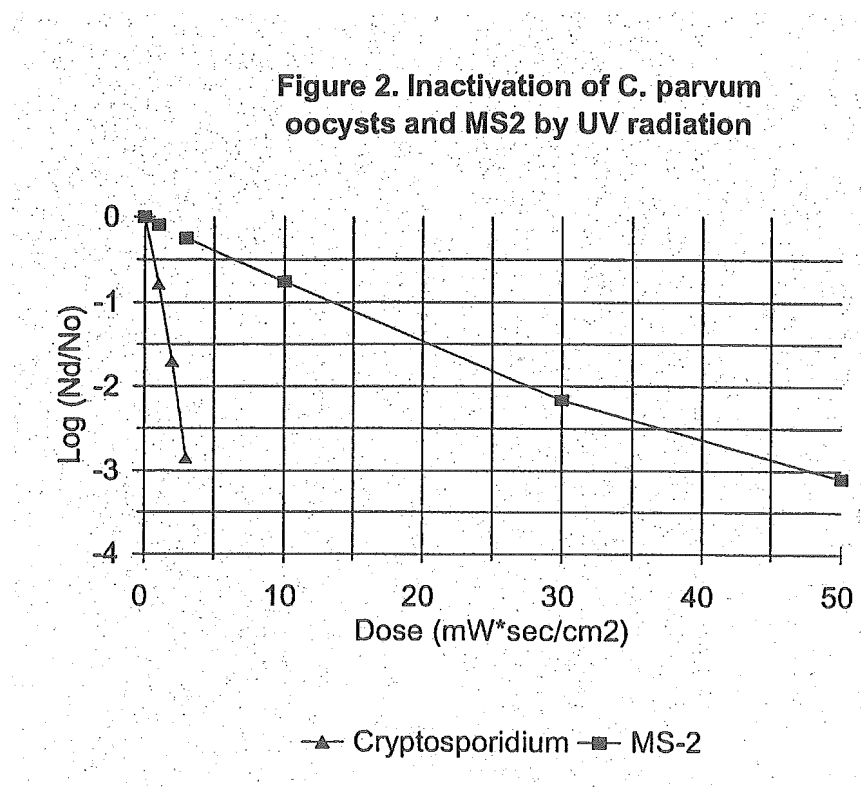
株を用いた細胞培養感染法を用いた。

大腸菌ファージの計測は、寒天重層法を用いた。

3. 結果

Figure2 に示すように、*Cryptosporidium parvum* の紫外線照射による感染性の減少は非常に早く、 $3\text{mJ}/\text{cm}^2$ の照射により、検出限界以下となる $3\log$ 程度の不活化が期待される。対して、大腸菌ファージの紫外線による不活化速度は遅く、 $30\text{mJ}/\text{cm}^2$ の照射により僅かに $2\log$ 程度の不活化が行われ、大腸菌ファージ MS2 は *Cryptosporidium parvum* よりも紫外線に対して耐性を持つことが分かった。その理由として、大腸菌ファージ MS2 は、*Cryptosporidium parvum* よりも非常に小さく、紫外線照射の対象として小さすぎるためだと思われる。

飲料水媒介の腸内微生物の中で、バクテリアファージ MS2 は他の研究結果においても、紫外線に対して強い体制を持つので、紫外線殺菌の処理指標として有用である可能性があると思われる。



クリプトスポリジウムを紫外線にて不活化する際のコストについて

UV disinfection costs for inactivating *Cryptosporidium*

Christine A.Cotton ら

1. 摘要

最近の研究により、クリプトスポリジウムの不活化には、紫外線処理が有効かつ経済的であることが分かってきた。本紙の中では、施設規模に応じたイニシャルコスト、ランニングコスト等の比較を行っている。

2. 紫外線ランプの種類

紫外線ランプには、低圧ランプ(LP)、高出力低圧ランプ(LPHO)、中圧ランプ(MP)の3種類がある。低圧ランプは、中圧ランプに比べ、約2倍の寿命をもつが、同程度の処理能力を持たすには、中圧ランプより多くの本数が必要となる。中圧ランプには汚れやすく、水温が高くなるという欠点もある。コスト面にて比較すると、小規模施設(3800m³/日)では中圧ランプによるUV施設は、低圧ランプ、高出力低圧ランプを用いたUV施設の2倍以上の価格がするが、それより大規模施設になると、中圧ランプ、高出力低圧ランプの方が、有利になってくる。種類の比較をTable1に示す。

TABLE 1 Comparison of continuous-wave UV* lampst

Parameter	LP‡	LPHO	MP
Spectral distribution	Monochromatic	Monochromatic	Polychromatic
Temperature—°F (°C)	95–113 (35–45)	122–176 (50–80)	752–1,652 (400–900)
Power—W	45–100	100–400	1,000–25,000
Track record	Extensive	Limited	Good
Number of lamps required	High	Moderate	Low

*UV—ultraviolet

†Malley, 1999; Trojan Technologies, 2000

‡LP—low pressure; LPHO—low pressure, high output; MP—medium pressure

3. 水質

濁度、懸濁物質、紫外線吸光度、溶解性イオン、硬度、アルカリ度、水温が紫外線処理に影響を及ぼすと思われる。濁度、懸濁物質が上昇するに従い、不活化に必要な紫外線量が増えるとの報告もある(Malley,1998)。紫外線吸光度が高い際には、不活化に必要な紫外線量が増える。pHはランプへのスケールへの付着には影響を及ぼすが、紫外線強度には影響を及ぼさないので、

不活化には影響を与えない。低圧ランプや高出力低圧ランプを低水温(4.4 度以下)時は、常温時に比べ線量が減少したとの報告がある(Mackey)。しかし、中圧ランプは高水温にて処理を行うため、水温の影響は殆ど受けない。

TABLE 2 Water quality assumptions

Parameter*	Hight†	Median‡	Low§
UV ₂₅₄ **—cm ⁻¹	0.014	0.032	0.07
UV transmittance—%††	97	93	85
Turbidity—ntu	0.04	0.1	0.3
Alkalinity—mg/L as CaCO ₃ ‡‡	10	60	140
Hardness—mg/L as CaCO ₃	20	100	230

*Parameters from 12 months of Information Collection Rule (ICR) data (all plants)

†90th percentile from ICR data

‡Median values from ICR data

§10th percentile from ICR data

**UV₂₅₄—ultraviolet absorbance at 254 nm

††Calculated based on UV₂₅₄ absorbance

‡‡CaCO₃—calcium carbonate

後述のコスト比較に用いる想定水質を table2 に示す。

4. 既設の改造に関して

水量や水理条件にもよるが、紫外線装置内では約 0～1.5m、連絡配管等にて 0.3～1.5m の損失水頭がつく。既設の改造に際して、十分な水頭がない場合は、①既設施設の水理条件の効率性改善②運転方法の変更③UV 装置が導入可能なようにろ過装置の運転方法の変更④中間地点へのポンプ導入等の措置が必要になる。

pH を上昇させるために石灰等の注入を行っている場合、石灰由来の懸濁物質により、紫外線がさえぎられることがあるので、注入点の変更が必要な場合がある。

また、十分に直管が長い場合は、UV 装置を取り付けることも可能である。

処理施設の考え方の一例を Figure1～3 に示す。

FIGURE 1 Conceptual plant configuration with UV disinfection

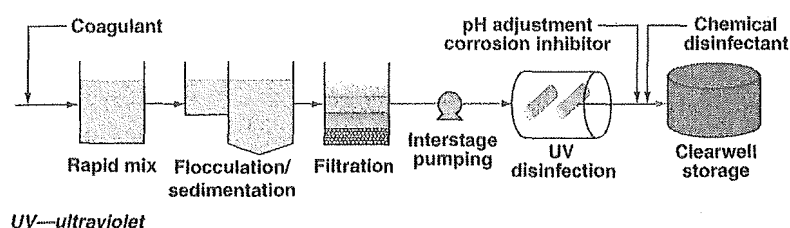


FIGURE 2 UV disinfection facility scheme

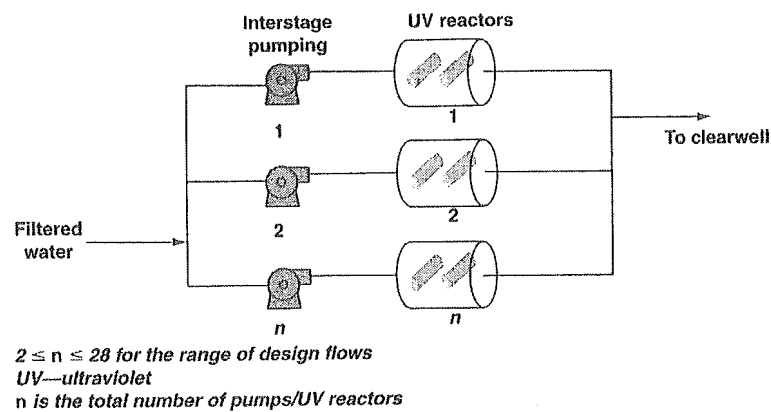


TABLE 3 Number of assumed UV* reactors

Design Flow Range mgd (ML/d)	Duty UV Reactors	Standby UV Reactors	Total Number of UV Reactors	Percent Redundancy
0.024–11 (0.09–41.6)	1	1	2	100
18–26 (68.13–98.41)	2	1	3	50
51 (193.03)	4	1	5	25
210 (794.9)	13	3	16	23
430 (1,628)	23	5	28	22

*UV—ultraviolet

5. コスト比較

紫外線設備のコストに関して figure3～5、table4～6 に示す。figure3 では、水質、処理水量毎のイニシャルコスト、figure4 では、ランニングコスト、figure5 では、1000gal あたりの施設単価、table4 では水質、処理水量別の金額一覧、table5 では、イニシャルコストの内訳、table6 ではランニングコストの内訳を示している。3,800m³/日以下の小規模施設においては、低圧ランプを用いて 2 社の金額の比較を行った。3,800m³/日以上の大規模施設においては、中圧ランプ又は高出力低圧ランプを用いて 4 社（Aquionics-Berson-Hanovia, Calgon Carbon, Trojan Technologies, Wedeco-Ideal Horizons）の金額比較を行った会社間の金額の差は 40%以内であった。大規模施設の金額の中には、中間ポンプ、建物、配管類、機器費、電気費、請負業者等の人件費等に金額が含まれている。小規模施設の金額の中には、機器費、プレハブ小屋代、を含んでいる。また、維持管理費には、低圧および高出力低圧ランプを 1 年毎の交換費、中圧ランプの半年毎の交換費、等が含まれている。USEPA の調べにより、他の消毒方法より、紫外線消毒は安価である。

FIGURE 3 Capital cost estimates for three filtered water qualities (as defined in Table 2)

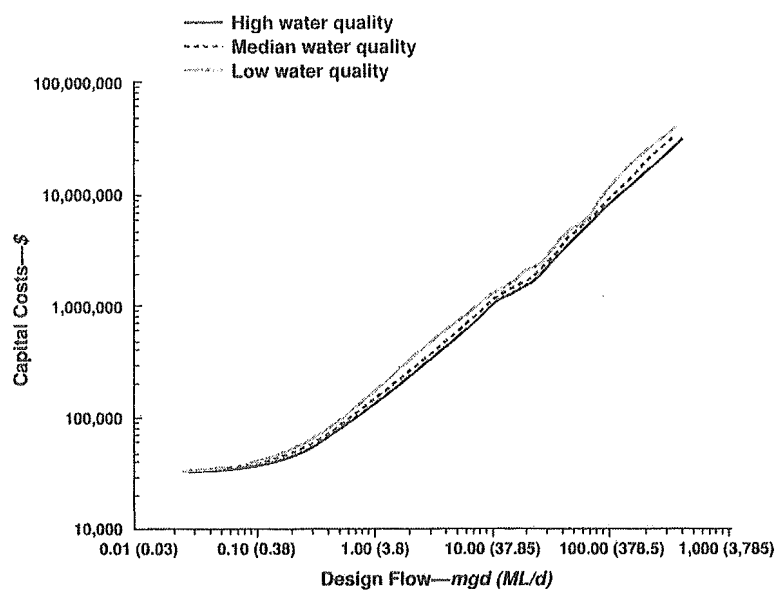


FIGURE 4 O&M cost estimates for three filtered water qualities (as defined in Table 2)

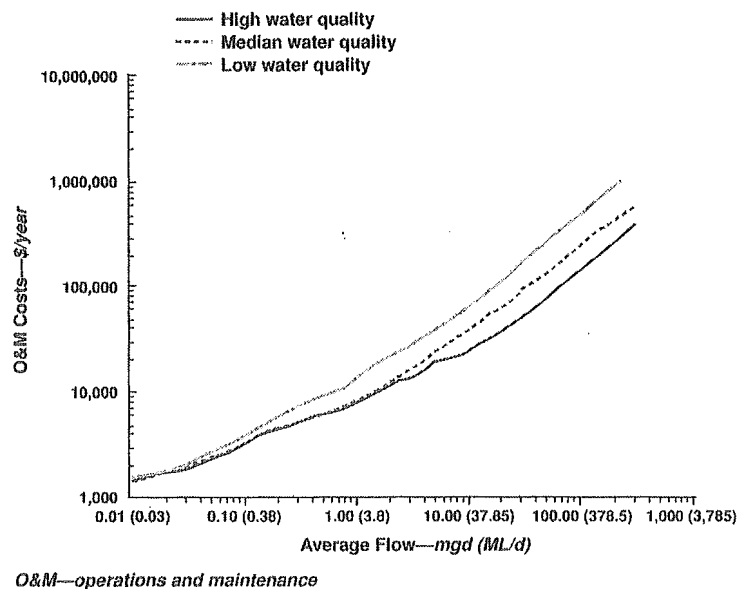


FIGURE 5 Total unit cost estimates for three filtered water qualities (as defined in Table 2)

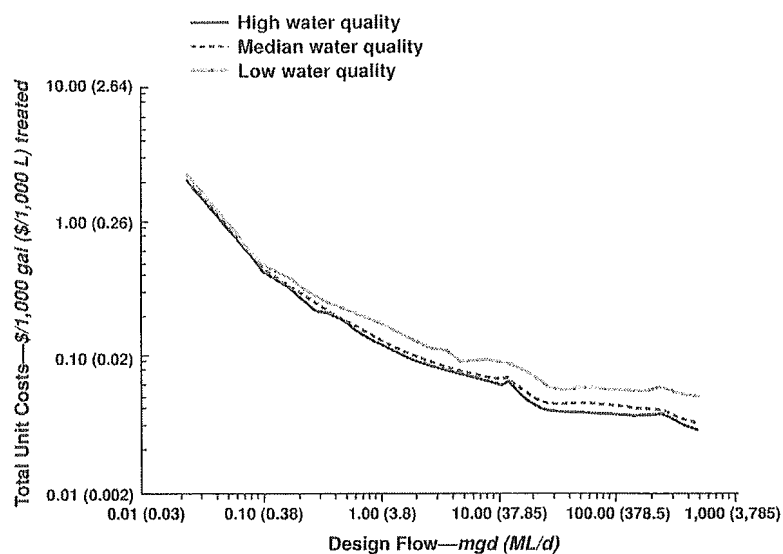


TABLE 5 Capital cost breakdown*

Cost Component	Percentage of Total Capital Costs		
	Small 0.27 mgd (1.02 ML/d)†	Medium 11 mgd (41.64 ML/d)†	Large 210 mgd (794.9 ML/d)†
Ultraviolet equipment	52	20	13
Pumps and appurtenances	NA‡	10	9
Building	24	9	10
Pipes and valves	NA	4	13
Site work	NA	10	13
Electrical and instrumentation	8	8	10
Standby power	NA	3	3
Treatability testing	NA	13	3
Engineering	NA	10	11
Contractor overhead and profit	16	6	7
Legal and financial	NA	7	8
Total capital cost	\$51,000	\$1,200,000	\$17,000,000

*Comparison for median filtered water quality

†Design flow

‡NA—not applied for small systems (design flows <1 mgd [<3.8 ML/d])

TABLE 6 O&M* costs breakdown†

Cost Component	Percentage of Total O&M Costs		
	Small 0.27 mgd (1.02 ML/d)‡	Medium 11 mgd (41.64 ML/d)‡	Large 210 mgd (794.9 ML/d)‡
Power	27	52	61
Labor	30	11	7
Parts	43	37	32
Total O&M cost (per year)	\$2,700	\$23,000	\$290,000

*O&M—operations and maintenance

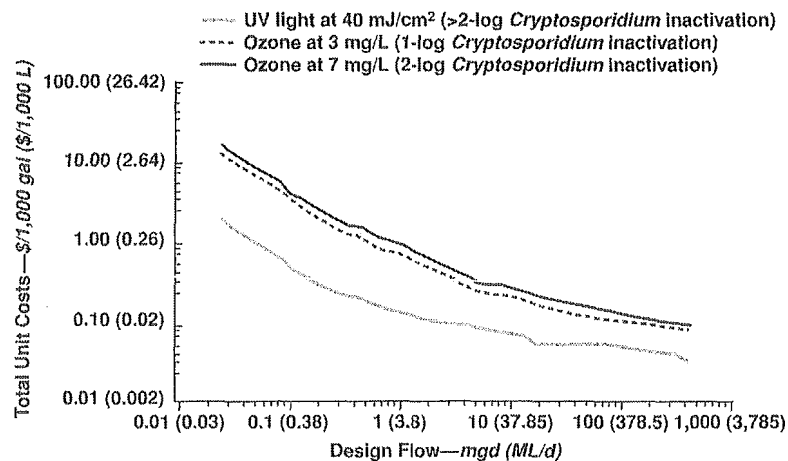
†Comparison for median filtered water quality

‡Design flow

6. オゾン処理との比較

オゾンはクリプトスポリジウムを 1log 及び 2log 不活化するのに必要な寮にて計算を行っている。水質は TOC=4mg/L、水温 13 度、pH=8 の水を想定している。Figure6 より、オゾン設備の 40~80%紫外線消毒施設の方が安価である結果になっているが、消毒施設導入の際には、ウイルス等の不活化(紫外線によるウイルスの不活化には、クリプトスポリジウムの不活化よりも更に多くの紫外線量を必要とする)を考慮の際には、注意が必要である。

FIGURE 6 Cost comparison of UV light and ozone disinfection



UV—ultraviolet

UV costs shown are for median filtered water quality (Table 4).

微生物の波長毎の紫外線に対する感度：中圧 UV ランプ装置のモデル化

Sensitivity of microorganisms to different wavelengths of UV light: implication on modeling of medium pressure UV systems

Nicole Ginse ら

1. 概要

大腸菌群(*Citrobacter diversus*, *citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*)、バクテリアファージの 254nm、280nm、301nm における紫外線への感度を測定した。280nm における不活化効率は各種大差が無かった。301nm における不活化効率は種類によってばらつきがあったが、不活化効率としては大きくない。本研究より、1 種類のバクテリアや細菌の不活化効率より、他の種の不活化効率を予想可能になる可能性を示唆している。

2. はじめに

2.1 基本理論

UV によるバクテリアや細菌の不活化影響はピリミジン(チミン(T)、シトシン(C))の 2 量体の構成によるものである。ピリミジンの 2 量体の構成は光化学作用の反応であり下式(1)で表される。

$$M = Pabs \times \phi \quad (1)$$

M: ピリミジンの 2 量体数、Pabs: ピリミジン単量体により吸収された光子数、 ϕ : 量子収 (2 量体になるのに吸収された光子の割合、約 $10^{-2} \sim 10^{-3}$)

微生物の不活化反応は式(1)によっては、表せず、全ての吸収された光子が不活化に影響を及ぼすわけではない。

2.2 ピリミジン 2 量体の修復

ピリミジン 2 量体の修復に特有の細胞の DNA 修復により、微生物の不活化現象は複雑なものとなっている。修復には、暗回復と光回復の 2 種類がある。光回復は光の照射を抑えることで、影響を低減できる。しかし、暗回復は光等の特別な条件を必要とせず、大腸菌のピリミジンの 99.9% の 2 量体が修復されたとの報告もある。

2.3 UV 不活化装置のモデル化

低圧ランプの紫外線量を測定するためにバイオアッセイ、化学光量測定、数学的モデリングが行われてきた。バイオアッセイ、化学光量測定は直接的ではあるが、時間がかかる手法であるため、本誌では数学的モデリングに重点を置いた。Meulemans らによると下式(2)が成立する。

$$I_g = \int_{220nm}^{300nm} I(\lambda) G(\lambda) d\lambda \quad (2)$$

I_g : 紫外線装置内でのある点における殺菌強度(mW/cm^2)、

$I(\lambda)$: 波長 λ (nm)における紫外線強度

$G(\lambda)$: 不活化効率。式(3)に基づく

$$G(\lambda) = \frac{254\text{nm} \text{においてある一定の処理効率が得られる照射量}}{\lambda(\text{nm}) \text{においてある一定の処理効率が得られる照射量}} \quad (3)$$

3. 方法

3.1 実験装置

Figure1 の装置に帯域通過フィルターをとりつけ、ペトリ皿に3種の大腸菌群と1種のバクテリアファージをいれ。マグネチックスターラーによって攪拌しながら、254,280,301nm の紫外線(450W の中圧水銀ランプ)を照射し、処理前後の個数を計数した。一つの系に対し、6段階に紫外線強度を変えて実験を行った。

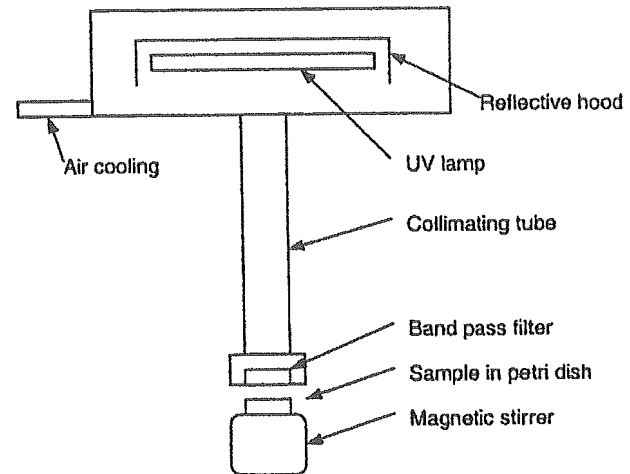


Fig. 1. Collimated beam apparatus used to irradiate samples.

3.2 微生物

大腸菌群 (*Citrobacter diversus*, *citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*) は Sacramento の下水処理水から単離した。*Citrobacter diversus*, *citrobacter freundii* の同定は API 20E の生化学試験を用いた。*Klebsiella pneumoniae* の同定は、ガスクロマトグラフを用いた whole cell fatty acid 分析法を用いた。微生物は、3400g で5分間遠沈したのち、表面の培地を除去し、りん酸緩衝液を添加した。バクテリア塊除去のため、*citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* は $5\mu\text{m}$ のろ紙によって、*Citrobacter diversus* は $0.85\mu\text{m}$ のろ紙によって滅菌ろ過を行った。初期の *Citrobacter diversus*, *citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* の平均濃度は 1.0×10^7 , 6.4×10^7 , 1.7×10^6 (CFU/mL) であった。

大腸菌ファージ ϕ X-174 は Veterinary の薬学科より入手した。培養液を 6000g で30分遠沈後、 $0.22\mu\text{m}$ のフィルターにより滅菌ろ過を行い、平均濃度は 7.0×10^7 (CFU/L) であった。

サンプル及びコントロール水は順次希釈し、大腸菌群は3重層法(Standard Method に準拠)により 37°C にて一晩培養して30-300個のもののみ計数した。ウイルスは重層法により 37°C にて4時間培養後、10-100個のプラックのみを計数した。全ての生物試験は光回復の影響を除外するため、低圧ランプ存在下の条件にて行った。

4. 結果及び考察

4 種の微生物に対する各波長の不活化率を Figure2 に示す。また、これらのデータを線形近似した場合の傾きと肩の有無を Table 1 に示す。単鎖の RNA 若しくは DNA ウィルス(ϕ X-174)は肩を持たず、二重鎖をもつウィルス (*Citrobacter diversus*、*citrobacter freundii*、*Klebsiella pneumoniae*)は肩を持つことが分かる。ウィルスは回復機構を有するが、これらの回復機構のうち、核酸の鋳型及び2重鎖を必要とするものもある。

3log 不活化する際の 254nm の線量と 280nm、301nm の線量の比較したものを table2 に示す。280nm においては、ウィルスの種類によって大きな差は見られなかったが、301nm では、差が確認され、また、301nm の波長による不活化影響は少ないことが確認された。

実験を行った4種の微生物に関して波長毎の不活化効率に大きな差異が確認されなかったことより、UV 不活化のメカニズムが異なる芽胞を除くバクテリアやウィルスに関しても、モデル化の適用可能性が示唆された。

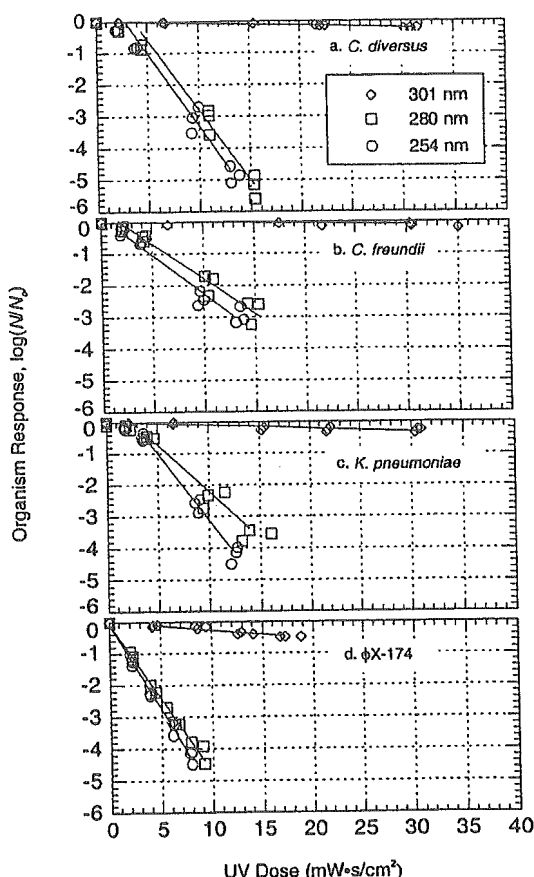


Fig. 2. Experimental data and the associated linear fits for the four microorganisms.

Table 1. Best-fit values for the slope (k) with the upper and lower bounds based on the 95% confidence interval and significance of the shoulder region (see Fig. 2)

	Wavelength	k	k lower	k upper	Shoulder ^a
<i>C. diversus</i>	254	-0.459	-0.554	-0.364	S
	280	-0.443	-0.509	-0.378	S
	301	-0.0074	-0.0085	-0.0062	I
<i>C. freundii</i>	254	-0.243	-0.285	-0.201	I
	280	-0.220	-0.266	-0.174	I
	301	-0.0036	-0.0069	-0.00038	I
<i>K. pneumoniae</i>	254	-0.422	-0.470	-0.375	S
	280	-0.297	-0.363	-0.230	S
	301	-0.011	-0.0140	-0.0084	I
ϕ X-174	254	-0.536	-0.563	-0.509	I
	280	-0.472	-0.470	-0.448	I
	301	-0.028	-0.032	-0.024	cl

^aS = significant, I = insignificant, using a 95% confidence interval.

Table 2. Germicidal efficiencies at 280 and 301 nm with the upper and lower bounds based on the 95% confidence interval

	Germicidal efficiency at 280 nm			Germicidal efficiency at 301 nm		
	mean	lower	upper	mean	lower	upper
<i>C. diversus</i>	0.894	0.794	1.004	0.025	0.020	0.031
<i>C. freundii</i>	0.834	0.711	1.020	0.017	0.011	0.025
<i>K. pneumoniae</i>	0.787	0.685	0.910	0.043	0.034	0.060
ϕ X-174	0.899	0.825	0.927	0.054	0.045	0.062

クリプトスポリジウムの不活化に有効な紫外線波長に関して

Relative Efficacy of UV Wavelengths for the inactivation of *Cryptosporidium*

Karl G.Lindane ら

1. 概要

本研究は 225～295nm の波長においてクリプトスポリジウムの不活化実験を行った。250～275nm の波長においては、高い不活化効率が得られたが、それ以外の波長においては、不活化効率が低いという結果が得られた。ゆえに、多色光の中圧ランプは、254nm の単色光の低圧ランプに比べ、それほど大きなメリットがあると言えない可能性がある。

2. 方法

2.1 実験装置

Cryptosporidium parvum oocyst は Iowa 株を用い、感染した子牛の糞便から密度勾配法を用いて精製し、PBS 溶液により希釈して、 10^6 個/L とした。60×15mm のペトリ皿に各 5ml 添加し、マグネチックスターラーにより攪拌を行いながら、中圧ランプ(450W、Vineland NJ)の照射を行った。一定時間照射後、サンプルを取り出し、希釈後、連続して、微生物試験を行った。中圧 UV 装置からの UV 照射量は、線量計(IL1770、SED240 検出器)にて検出した。

実験装置は、Figure1 に示すものであり、230、240、256、261、270、280、290nm の波長を中心に 10nm のピークバンドの約 1/2 を持つ 7 種の帯域通過フィルターが付属している。この際の波長毎の UV 強度分布を Figure2 に示す。

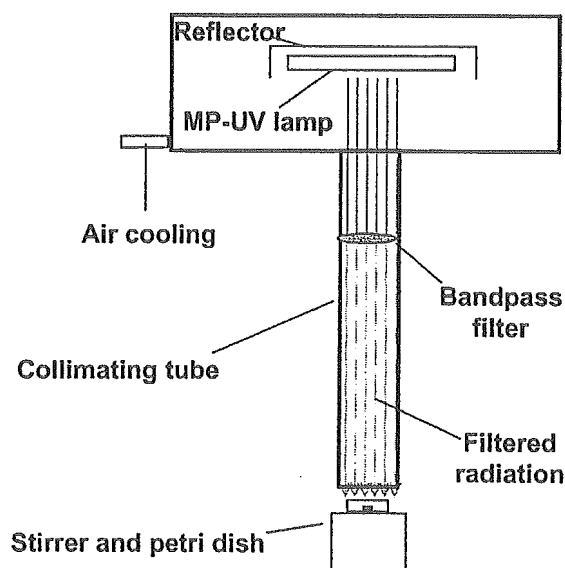


Figure 1. Medium pressure UV collimated beam apparatus with bandpass filter in place.

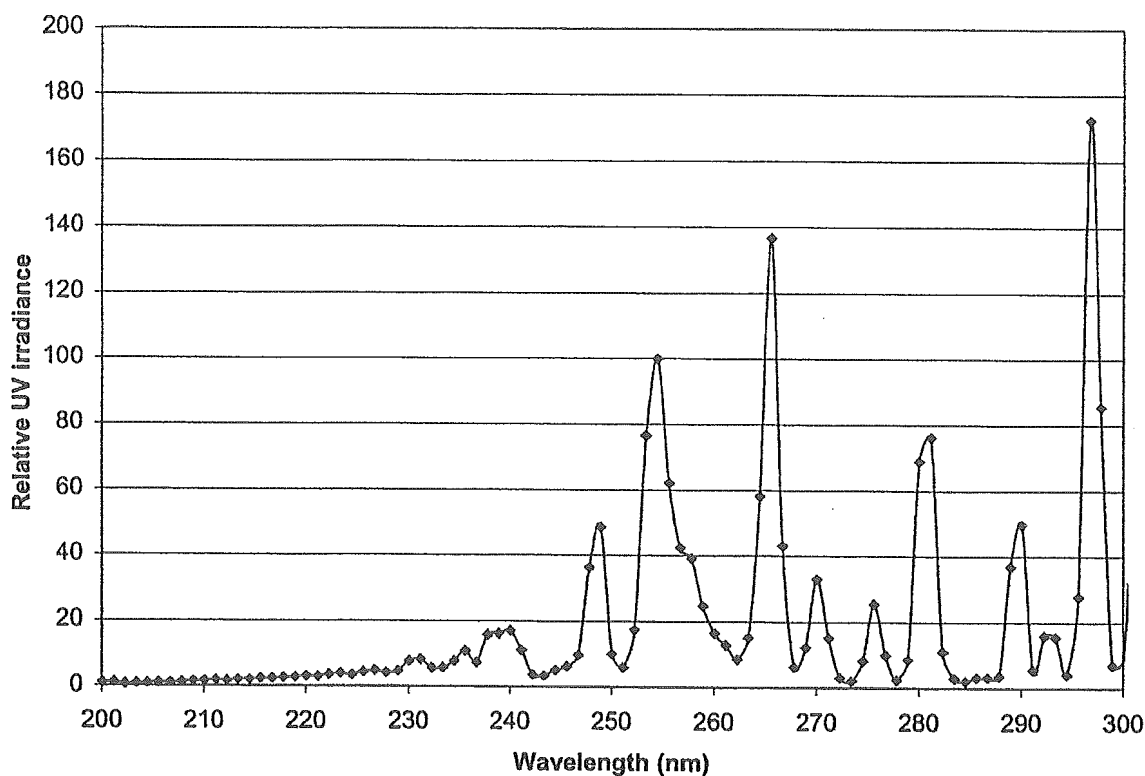


Figure 2. Germicidal emission spectra from 450W medium pressure UV lamp (Canrad-Hanovia).

2.2 不活化の評価

Cryptosporidium parvum 不活化の評価は Sobsey らの Masian-Darby Canine Kidney(MDCK)cell culture の細胞培養感染法を用いた。Oocyst の不活化は Thomas 式による最確数法を用いた。

2.3 紫外線量

紫外線量はペトリ皿の中央にて計測した値を平均値として、取り扱い、照射量は、照度×照射時間にて計算した。

3. 結果及び考察

多色中圧 UV による *Cryptosporidium parvum* の不活化速度は非常に早く、また、広範囲にわたる。Figure3 に示すように、 $2\text{mJ}/\text{cm}^2$ の際の波長毎の不活化率において、250-275nm の波長域においてほぼ 2log の不活化が可能であり、不活化効率は紫外線の波長により変化し、ある範囲の波長は、他の波長より効率的であることが分かる。また、実験結果より、多色型の中圧ランプと 254nm の単色型の低圧ランプについて、不活化効率に大差ないことが分かる。

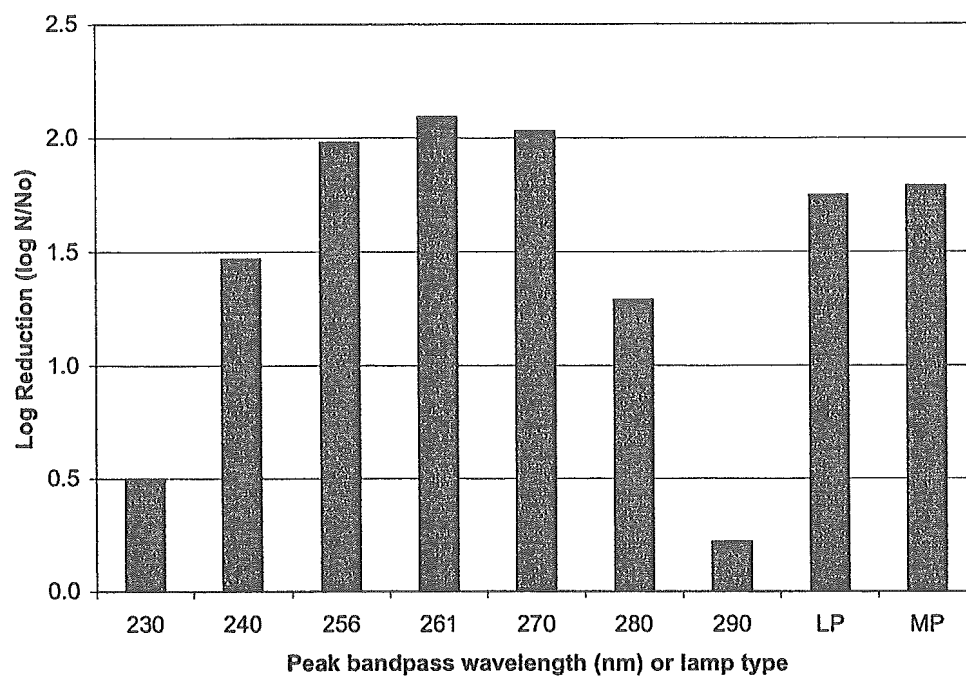


Figure 3. UV action spectra for *Cryptosporidium parvum* inactivation at a dose of 2 mJ/cm² at each wavelength and for low pressure (LP) and medium pressure (MP) UV.