

Cryptosporidium の環境汚染と 消毒技術

麻布大学 環境保健学部 森田 重光

1. はじめに

Cryptosporidium によるヒトや家畜の集団感染は、衛生施設の整った先進国でも発生しており、新しくかつ深刻な衛生上の問題となっている。そこで本稿では、まず *Cryptosporidium* による環境汚染の状況を概観し、次いで化学薬剤の添加や物理線の照射など、これまでに報告されている様々な消毒技術による不活化効果に関する知見について紹介する。

2. *Cryptosporidium* とは

Cryptosporidium はアピコンプレックス門、胞子虫綱、アイメリア属、クリプトスポリジウム科に属する原虫であり、主に消化管の上皮細胞の微絨毛に寄生する。*Cryptosporidium* 属には複数の種や遺伝子型が報告されている。例えば *C. parvum*、*C. hominis*、*C. muris*、*C. canis*、*C. suis* および *C. felis* は哺乳動物、*C. baileyi*、*C. meleagridis* は鶏や七面鳥などの鳥類、*C. serpentis* は蛇などの爬虫類を宿主とする。これらのうちヒトに感染する種は *C. parvum* および *C. hominis* であると考えられていたが、最近になって *C. meleagridis*、*C. feris*、*C. canis* もヒトに感染すると報告されている。

ブタを宿主とするものとしては *C. suis* や *C. parvum* pig genotype が挙げられ、*C. parvum* もブタに感染すると報告されている。カナダで実施されたブタの感染率に関する調査では、約 25 % の糞便試料から *Cryptosporidium* が検出されており、また、わが

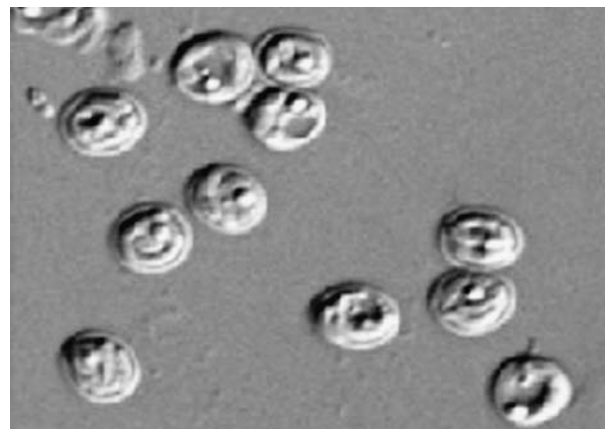


写真-1 *Cryptosporidium* の微分干渉像

国で実施されたウシの感染率に関する調査でも数%から十数%の糞便試料から *Cryptosporidium* が検出されている。ブタやウシは *Cryptosporidium* の重要な放出源であると言えよう。

Cryptosporidium はオーシストという形態（写真-1）で宿主の体内から糞便とともに環境中へ排出される。オーシストは類円形または楕円形で大きさは種によってわずかながら異なる。ヒトへ感染する代表的な主である *C. hominis* や *C. parvum* の長径は約 5 μm で、*C. muris*（長径 7～8 μm ）や *C. baileyi*（同 6～7 μm ）などに比べて小型である。中央部に顆粒と液胞からなる残体があり、その周りに 4 個のスプロゾイトが包蔵されている。周囲は殻（オーシスト壁）で覆われており、スプロゾイトを外部ストレスから保護している。オーシストが宿主に摂りこまれると小腸内でオ

ーシストからスポロゾイトが脱囊して上皮細胞の微絨毛に寄生する。そして無性生殖により8個のメロゾイトが形成される。メロゾイトの一部は微絨毛に寄生して無性生殖を繰り返し、また一部は雌性生殖体と雄性生殖体に分化し、有性生殖でオーシストを形成する。オーシストの一部は自家感染し、残りは糞便とともに排出される。感染したヒトやブタ、ウシが排出するオーシスト数は、1日あたり1億から100億個に及ぶ。

健康ボランティアに対する感染試験で *C. parvum* の摂取オーシスト数と感染率との間に明確な相関が認められ、30 オーシスト投与した場合の感染率は20%、また、1,000 オーシスト投与した場合の感染率は100%であった。得られたデータを指数モデルに適合させると、1個のオーシストを摂取した場合の感染確率は約0.4%となる (Dupont et al., 1995, Haas et al., 1996)。

オーシストを摂取してから感染するまでの潜伏期間は平均3～7日程度、発症期間は数日から数週間である (Jokipii et al., 1986, Fayer and Unger, 1986)。主症状は水溶性の下痢で、その他にも発熱、吐き気、腹痛などを訴えることもある。免疫正常患者は自己免疫力で自然治癒するため致死率は非常に低いが、AIDSや先天性低 γ グロブリン症などの免疫不全患者が感染した場合は症状が重篤となる。本症の有効な治療薬はないため、*Cryptosporidium* 症に感染したAIDS患者は長年にわたって下痢が持続し、衰弱死することが多い。*Cryptosporidium* 症に感染したAIDS患者の死亡率は約50%であったという報告がある (Fayer and Unger, 1986)。

これまでに水道水を原因とする集団感染が数多く報告されている。なかでも米国のCarrollton (1987年)、Jackson Country (1992年)、Milwaukee (1993年)では1万人以上の感染者を出す大事故が発生している。わが国でも1996年に埼玉県越生町で水道水の不十分な処理および廃水による原水の汚染を原因とする集団感染症が発生し、8,812人が感染する大事故が発生している。

3. *Cryptosporidium* による環境の汚染状況

前述のように、*Cryptosporidium* は主として水を

介して環境中に拡散していく。したがって、環境の汚染状況に関する調査・研究は水環境を対象として行われている。

3.1 河川水

米国の表流水を調査した結果、181試料のうち93試料から *Cryptosporidium* が検出され、幾何平均濃度は43個/100Lであった。また、下水処理水などによる汚染の可能性がある河川水では38試料のうち28試料から *Cryptosporidium* が検出され、幾何平均濃度は66個/100L、最大値は29,000個/100Lであった (Rose, 1991)。わが国においては保坂 (2003) が相模川水系、多摩川水系、利根川・江戸川水系、淀川水系について水道事業体や大学、研究機関による調査結果を取りまとめ、大河川の本川での *Cryptosporidium* 濃度は概ね $<1\sim10$ 個/20Lのレベルであり、本川に流入する支流等では流量が少ないため汚染源からの影響が大きく、本川よりも1オーダー程度高い値が出現する可能性があると報告している。

筆者らは、国内の河川から *Cryptosporidium* を分離し、その塩基配列から種および遺伝子型を解析している。2006年度の調査結果は69%がブタを宿主とする *C. suis*、13%が同じくブタを宿主とする *C. parvum* pig genotype IIであった。流域に養豚施設がある河川については、その汚染源として養豚施設の寄与は大きいものと推測される。

3.2 水道水

浄水処理の砂ろ過法による *Cryptosporidium* の除去率はおおよそ99～99.9%であるという報告が多い。凝集沈殿砂ろ過による濁質除去に消毒を組み合わせ処理された米国の水道水17試料を調査したところ、2試料から *Cryptosporidium* が検出され、濃度の幾何平均値は0.04個/100Lであった (Rose, 1991)。

Haas et al. (1995) はCarrolltonやMilwaukeeで発生した集団感染事故の調査結果から、集団感染症を引き起こす可能性があるオーシスト濃度を10～30個/100Lとしているが、平常時の水道水中のオーシスト濃度はこの濃度よりもかなり低いと言えよう。しかし、

降雨や雪解け水による水源域の汚染、不完全な水処理、配水管への汚水の混入や配水管の誤接続などが原因となってこれまで多くの集団感染症が発生しており、汚染された水道水が集団感染の主要因であることは間違いない。

3.3 下水

下水中に *Cryptosporidium* が存在していることは検出法が開発された1980年代後半から知られており、その濃度は集水域の人口やその地域に住む人の感染率、畜産関連施設の有無などによって大きく異なると考えられている。米国の4下水処理場で生下水中の *Cryptosporidium* 濃度を定量したところ、濃度範囲は850～13,700個/L、算術平均濃度は5,180個/Lであった (Madore *et al.*, 1987)。わが国では19都道府県の67ヶ所の下水処理場において生下水中の *Cryptosporidium* 濃度が調査され、73試料のうちの7試料から *Cryptosporidium* が検出され、その濃度範囲は8～50個/Lであった (諏訪 他, 1998)。

筆者らが標準活性汚泥法による *Cryptosporidium* の除去率を調査したところ99～99.9%であった。また、生下水から検出された *Cryptosporidium* の種は約60%がヒトを主宿主とする *C. hominis* であり、ブタを主宿主とする *C. suis* は6%、*C. parvum* pig genotype II は1%しか検出されなかった。

4. 消毒剤(線)の *Cryptosporidium* 不活化効果

4.1 塩素

Cryptosporidium はオーシスト壁を有することから化学消毒剤に対して強い抵抗性を示す。筆者らは、水道における消毒を想定して遊離塩素濃度1mg/L付近における不活化力をマウス感染試験で評価し、遊離塩素濃度が常に1mg/Lであるとする99%不活化するために必要な接触時間は約27時間であることを明らかにした。

4.2 二酸化塩素

二酸化塩素は酸化力が強く、また、アンモニアと反応しないなどの優れた特徴を有することから塩素に代

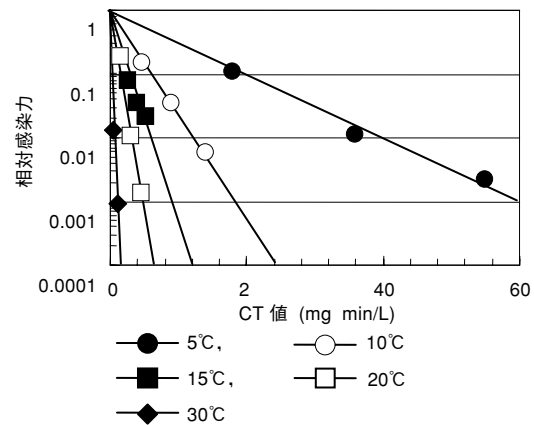


図1 オゾンのCT値と*C. parvum*の相対感染力との関係(水温影響)

わる消毒剤として注目されるようになった。二酸化塩素の *Cryptosporidium* 不活化力は塩素の数倍程度であるという報告がある。しかし、塩素と同様に単独で十分な不活化レベルを達成することはできないものと考えられる。

4.3 オゾン

オゾンの酸化還元力は非常に強く、また、分解過程でオゾン自体よりも強い酸化力を有する水酸化ラジカルを生成するため、水中の微生物を効率良く不活化できると考えられている。

しかし、図1に示すように水温が10℃減少した場合に同一の不活化効果を得るために必要なCT値(消毒剤の濃度と接触時間との積)は4.2倍となることが明らかとなっている (Hirata *et al.*, 2001)。わが国の寒冷地域の水温は冬期には0℃近くになることもある。原水の水温が低くなる地域では *Cryptosporidium* に対する不活化効果は期待できないものと考えられる。

4.4 紫外線

紫外線は可視光線よりも短波長側に位置する電磁波で、波長100～280nmがUV-C、280～315nmがUV-B、315～400nmがUV-Aと呼ばれている。これら紫外線のうち、DNAの最大吸収波長(260nm)に近い波長254nmのいわゆる殺菌線が古くから消毒に活用されてきた。紫外線の消毒効果はDNAに損傷を与えることにより発揮され、特にDNAのプリン塩基やピリ

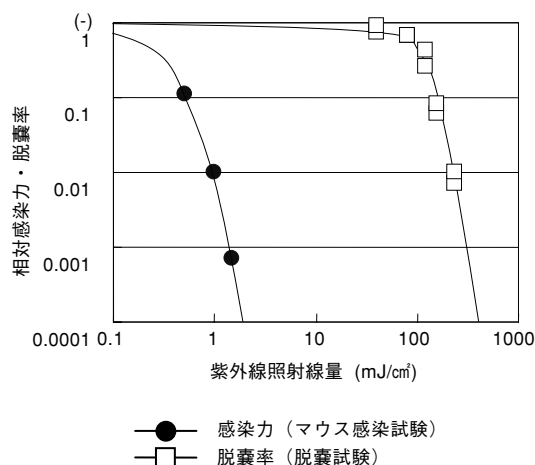


図2 紫外線照射線量と*C. parvum*の相対感染力・脱囊率との関係

ミジン塩基に作用して二量体を形成する結果、複製能が失われ活性が喪失すると考えられている。殺菌用の紫外線ランプとしては実質上254nmの単色光を発光する低圧水銀ランプと、220nmから可視光領域に至る幅広い波長領域の連続光（主波長は365nm）を発光する中圧（高圧）水銀ランプが主流であるが、最近になって強力なパルス紫外光を発光するパルスキセノンランプに関する研究も進められている。

紫外線は清澄な水中における透過性が高く、塩素処理で問題となる有害な副生成物の発生が非常に少ない、維持管理が容易である、イニシャルコストおよびランニングコストが安価である等の優れた特徴を有することから、小規模な水処理施設への導入も可能である。

これまでに行われた生育活性試験の結果から、*C. parvum*を99%不活化するためには100 mJ/cm²以上の紫外線照射線量が必要となるとされていたことから、紫外線による*C. parvum*の不活化は実用的ではないと考えられていた。

しかし、最近になって、低圧水銀ランプが発する紫外線の*C. parvum*不活化力をマウス感染試験や培養細胞感染試験で評価した場合の99%不活化照射線量はおおよそ1～3 mJ/cm²と極めて低い値であることが明らかにされた（Landis *et al.*, 2000, Clancy *et al.*, 2000, Shin *et al.*, 2001, Craik *et al.*, 2001, Morita *et al.*, 2002, Zimmer *et al.*, 2003）。

一方、筆者らがマウス感染試験と脱囊試験（生育活性の指標）で99%不活化照射線量を算出し比較したところ、脱囊性を99%喪失させるために必要な照射線量は感染性を喪失させるために必要な照射線量の約200倍になることが明らかとなった（図2）。このマウス感染試験による評価結果と脱囊試験による評価結果との大きな違いは、低線量の紫外線を照射したオーシストは「感染性は喪失しているものの依然生存している」ことを示すものであり、これらオーシストが環境要因等により感染性を回復しないことを確認する必要がある。

紫外線消毒の問題点の一つは光回復・暗回復現象が存在することである。生物は紫外線によって受けた損傷を修復する機構を持っている。光回復は幅広い生物で確認されており、光回復酵素が300～500nmの光エネルギーを利用し、紫外線照射で生成されたピリミジン二量体の共有結合を解離することで修復する。一方、暗回復は光エネルギーを必要とせず、主に損傷部位の除去や組換えで修復する。これまでに行われた感染試験の結果から、紫外線に曝露されたオーシストは光回復および暗回復しないことが強く示唆されるデータが報告されている（Morita *et al.*, 2002, Zimmer *et al.*, 2003）。

消毒の目的を「感染性を喪失させること」と考えると、紫外線照射は*Cryptosporidium*不活化に非常に有効であると考えられる。

4.5 放射線

*C. parvum*の不活化に適用可能な放射線の線種としては、物質中における透過性が非常に高いガンマ線と、透過性はガンマ線に劣るものの高い線量率が得られ、操作性に優れる電子線（ベータ線）が有望である。

ガンマ線はコバルト-60やセシウム-137等の放射性物質から放出される電磁波でエネルギーは百万電子ボルト（MeV）程度である。放射線の透過力は被照射物の密度に依存するが、例えば汚泥程度の密度であれば、減衰速度は水中とほぼ同じである。

電子線は放射性物質を取り扱わなくても電子線加速器で生成させることが可能である。また、ガンマ線に

比べ極めて高い線量率が得られるため、1日当たり数十万トンの試料を連続的に処理できるという利点を有する。

筆者らはコバルト-60が放出する約1 MeVのガンマ線と加速電圧3 MeVの電子線の*C. parvum*不活化力を脱囊法で評価したところ、99%不活化線量はそれぞれ13,000 Gyおよび12,000 Gyとなり、他の微生物と同等かむしろ高い値であったが、マウス感染試験で評価した99%不活化線量はいずれの放射線を照射した場合もわずか90 Gy程度であるという結果を得た（森田 他、2006）。

例えば病原性の微生物が高濃度に濃縮される可能性が高く、化学消毒剤や紫外線による消毒が困難な上・下水汚泥や畜産廃棄物、堆肥などの中に存在する*Cryptosporidium*に対する不活化技術として適用が期待される。

5. まとめ

*Cryptosporidium*などの塩素耐性原虫を化学消毒剤で不活化するのは非常に困難である。唯一、オゾンが有望であるが、オゾン消毒は温度依存性が高く、*Cryptosporidium*対策として低水温地域へ適用することは困難であろう。

紫外線はきわめて少量の照射線量で*Cryptosporidium*の感染性を喪失させることから、原虫対策のための消毒方法として水道に適用することにより十分な不活化効果を発揮するものと考えられる。また、装置の小型化が容易で維持管理に手間がかからないなど、小規模水処理施設へ適用するにあたり必要となる要件をほぼ満たしている。

これら新しい消毒技術が*Cryptosporidium*の放出源のひとつであると考えられる畜産関連施設へ導入されることを期待する。

【参考文献】

- Clancy J. L., Bukhari Z., Hargy T. M., Bolton J. R., Dussert W. and Marshall M. M. (2000) Using UV to inactivate *Cryptosporidium*. *J. AWWA*, 92, 9, 97-104.
- Craik S. A., Weldon D., Finch G. R., Bolton J. R. and Belosevic M. (2001) Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts using medium- and low-pressure ultraviolet radiation. *Wat. Res.*, 35, 6, 1387-1398.
- Dupont H. L., Chappell C. L., Sterling C. R., Okhuysen P. C., Rose J. P. and Jakubowski W. (1995) The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. *New Eng. J. Med.*, 332, 855-859.
- Fayer R. and Ungar B. L. P. (1986) *Cryptosporidium* and *Cryptosporidiosis*. *Microbiol. Reviews*, 50, 4, 458-483.
- Haas C. N. and Rose J. B. (1995) Developing an action level for *Cryptosporidium*. *J. AWWA*, Sep., 81-84.
- Haas C. N., Crockett C., Rose J. B., Gerba C. and Fazil A. (1996) Infectivity of *Cryptosporidium* oocysts. *J. AWWA*, 88, 9, 131-136.
- Hirata T., Shimura A., Morita S., Suzuki M., Motoyama N., Hoshikawa H., Moniwa T. and Kanako M. (2001) The effect of temperature on the efficacy of ozonation for inactivating *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Wat. Sci. Technol.*, 43, 163-166.
- 保坂三継 (2003) わが国の水環境における原虫汚染の実態, 第6回日本水環境学会シンポジウム講演集, 57-58.
- Jokipii A. M. M., Hemila M. and Jokipii L. (1986) Prospective study of acquisition of *Cryptosporidium*, *Giardia lamblia*, and gastrointestinal illness. *Lancet*, 31, 487-489.
- Landis H. E., Thompson J. E., Robinson J. P. and Blatchley III E. R. (2000) Inactivation responses of *Cryptosporidium parvum* to UV radiation and gamma radiation. *Proc. AWWA WQTC*, 1247-1265.
- Madore M. S., Rose J. B., Gerba C. P., Arrowood M. J. and Sterling C. R. (1987) Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts in sewage effluents and select surface waters. *J. Parasitol.*, 73, 702-705.
- Morita S., Namikoshi A., Hirata T., Oguma K., Katayama H., Ohgaki S., Motoyama N. and Fujiwara M. (2002) Efficacy of UV irradiation in inactivating *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 11, 5387-5393.
- 森田重光, 平田強 (2006) γ 線および電子線照射による*Cryptosporidium parvum* オーストの不活化効果, 水環境学会誌, 29(2), 79-85.
- Rose J. B., Gerba C. P. and Jakubowski W. (1991) Survey of potable water supplies for *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Environ. Sci. Technol.*, 25, 1393-1400.
- Shin G. A., Linden K. G., Arrowood M. J. and Sobsey M. D. (2001) Low-pressure UV inactivation and DNA repair potential of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67, 7, 3029-3032.
- 諏訪守, 鈴木稯 (1998) 下水処理場等におけるクリプトスポリジウムの検出方法の検討及び実態調査, 土木研究所資料第3533号.
- Zimmer J. L., Slawson R. M. and Huck P. M. (2003) Inactivation and potential repair of *Cryptosporidium parvum* following low- and medium-pressure ultraviolet irradiation. *Wat. Res.*, 37, 3517-3523.