

クリプトスポリジウム等の迅速遺伝子検査法の開発では、RT-LAMP 法、Cycleave 法ならびに Universal Q プローブ法による RT-PCR の高感度検出系を確立した。RT (逆転写反応) を行わなかった従来の LAMP 法検出には1本の反応チューブに全ての試料を使用することが必要であったが、コピー数が多い rRNA を標的とした RT により、理論上 0.006 オーシストからの検出が可能となった。一方、ジアルジアは rDNA 遺伝子のコピー数が多かったことから RT 反応無しでも高感度検出が可能であった。RT 反応による高感度化は他の遺伝子検査法でも同様のことで、RT-LAMP 法に習い、高感度な 2 つの qRT-PCR 法を開発することができた。簡便な定性試験に利便性が期待される LAMP 法とは異なり、定量 PCR では必要に応じオーシスト・シスト数を求めることが可能となる。実際の河川試料を用いた場合において RT-LAMP 法により得られた結果の検証として増幅産物の解析を行い、何れも特異的な増幅であったことを確認した。

現在、ホームページ上でクリプトスポリジウムの検出状況を公表している水道施設は 197 事業体にのぼる。水源は表流水から地下水まで様々であるが、このうちクリプトスポリジウムを検出した事業体は 24 事業体 (13%) に留まり (最大値は 37 オーシスト/20 L)、報告の事業体が試験に熟練した施設に偏

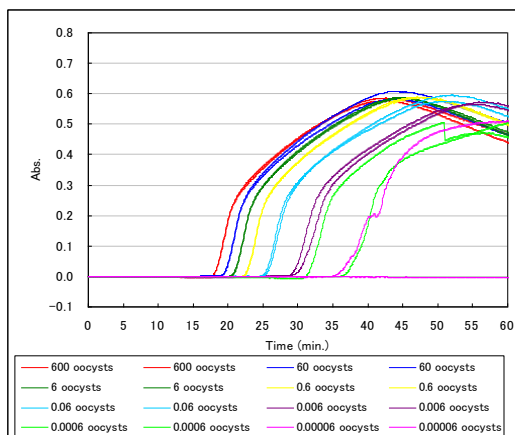


図 RT-LAMP の検出感度

る傾向が伺えることから改めて外部精度管理システムの必要性を検討する時期にあるものとする。なお、浄水から検出されている事例はなかったことを付記する。

相模川水系のクリプトスポリジウムの遺伝子型別では、社家取水口でブタ、ウシ、ヒト型の塩基配列が確認された。また、右岸から流入する小鮎川、中津川からはブタ型が、左岸から流入する貫抜川からはウシ型とヒト型が確認された。社家取水口では複数の型が確認されたが、過去の調査でクリプトスポリジウムが高濃度検出されているのは右岸側から流入する小鮎川と中津川であるので、社家取水口で検出されているクリプトスポリジウムはブタ型が多いと推測され、また、小鮎川と中津川で検出されているクリプトスポリジウムは上流の豚舎が排出源と考えられた。

養豚施設の調査からは 2 ヶ月齢のブタからクリプトスポリジウムが検出され、rRNA 遺伝子の一部配列の 97% が一致したことから、遺伝子型は pig genotype II および *Cryptosporidium suis* (要精査) と考えられた。いずれの遺伝子型もヒトからの検出例が報告されている。ジアルジアは 2~6 ヶ月齢の子ブタから検出され、遺伝子型は Assemblage E であることを、rRNA 遺伝子の一部配列から (100% 一致) 確認した。Assemblage E は主に有蹄類を宿主とするものであるが、ヒトからの検出例も報告されている。

畜産排水処理施設を調査した結果、流入排水中のクリプトスポリジウムオーシスト濃度は 24,000~960,000 oocysts/L、ジアルジアシスト濃度は 3,900~810,000 cysts/L であり、検出率・濃度とも高かった。畜産排水および処理水中濃度から排水処理による両原虫の除去を算出したところ、平均で 2-3 log 程度除去されることがわかったが、汚泥のバルキング (膨化: 汚泥が沈降しにくくなり、上澄水が得にくくなる現象) が生じて処理に支障をきたすと、原虫の除去が著しく低下すること