

とすべき、個人差や各国の離乳慣行を考慮すべき、医師、栄養士等専門家の助言に基づくべき等の意見があり、2つの案文併記。

(説明) 乳児及び幼児用食品の原料に関し、穀類以外にでんぷん質の根茎を含む製品が開発途上国等で伝統的に使用されていることから、マレーシアが名称も含めて規格案の修正を行う。日本から、「おかゆ」のように水でもどす単純な穀類を規格案に適用すべきでない旨意見提出。

(必須成分及び品質要因) マレーシアを座長とするワーキンググループ設置。

(食品添加物) 乳児調整粉乳と同様、スイス座長のワーキンググループで検討。

(結論) ステップ3に戻し、更に各国の意見を求める。

議題7. 乳幼児用食品に使用されるミネラル、ビタミン配合物の助言リストの改定に関する検討(ステップ2)

今回の議論を踏まえた修正を行い(ドイツ)、次回ステップ3として各国の意見を求める。

議題8. 特殊医療用食品におけるビタミン、ミネラルの使用に関する規定の改定に関する討議

前回部会会議以来各国の意見が殆どなかったことから、部会としては今後議論を進めないこととした。

議題9. エネルギー換算係数に関する討議

討議資料を準備したオーストラリアより新規部会作業の提案。FAO代表は、2001年10月に開催されたヒトの必要エネルギーに関する合同会議のため、エネルギー換算係数に関する基礎資料を得ていること、及びこの分野のワーキンググループが組織されていることを指摘した。また事務局から、確固とした科学的根拠を待たずに、新規の部会作業を開始することに懸念が表明された。従って、部会としては本件作業の重要性を認識し、専門家会議の知見を得次第直ちに討議を開始すると結論した。

※ 栄養表示におけるエネルギー換算に関し、日本では既に、糖アルコール、オリゴ糖等について、特定のエネルギー換算係数が与えられ、ECでは、糖アルコールについて日本と異なる換算係数が用いられている。これらを国際的に統一し、整合性を図ろうとする提案である。現在及び今後の日本の栄養表示基準制度と深く関わりのある事であり、その議論の動向には注目しなければならない。

添付資料CX/NFSDU 01/9にオーストラリアがまとめた資料を示した。驚くことに、日本の制度が全く反映されていない。この事実は、オーストラリアの情報不足というよりも、むしろ、日本の制度の情報開示の足りなさが如実に反映されたものと考えらるべきであろう。こういった国際的な制度が検討されるときに、日本にとって不利益とならないよう、国内だけでなく、国際的な情報開示、説明が必須である。

議題10. 栄養問題に関するリスクアセスメントの方法論に関する討議

部会は、この分野の作業の重要性に鑑み、次回会議において、FAO/WHO や各国の分野の科学組織における検討作業の進捗状況についての情報を開示することとした。

議題 11. スポーツ及びエネルギー飲料に関する討議

スペイン、ウルグアイ等の数か国から、高エネルギーを標榜する飲料の基準の設定の必要性、特に生理作用のあるカフェイン等を含有する飲料のリスクの指摘。日本から、高エネルギーの強調やスポーツを対象とした特殊用途食品を検討するには整理が不十分で、消費者の健康や国際貿易上の問題について情報不足であること等から時期尚早と意見表明。米国等からは、当該議題を新規作業とすることに反対意見。部会は、現時点で、当該課題を新規作業とはしないと結論。

引用資料

- 1) Codex Alimentarius Commission Procedural Manual: Eleventh edition (2000)
- 2) Report of the 21st Session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses (1998)
- 3) 食品衛生法及び栄養改善法の一部改正（栄養表示基準制度）：法律第 101 号（1995）
- 4) 栄養改善法施行規則一部改正（特定保健用食品制度）：厚生省令第 41 号（1991）
- 5) 食品衛生法施行規則の一部を改正する省令（保健機能食品制度）：厚生労働省令第 43 号（2001）
- 6) Report of the 22nd Session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses (2000)
- 7) いわゆる栄養補助食品の取扱いに関する検討会報告書：厚生省生活衛生局食品保健課 新開発食品保健対策室（2000）
- 8) 医薬品の範囲基準の見直しに関する検討会報告書：厚生省医薬安全局監視指導課（2000）
- 9) 保健機能食品の表示等について（報告書）：厚生労働省 薬事・食品衛生審議会（2001）
- 10) 米国における食品の健康関連機能評価：細谷憲政編著「健康強調表示」235 - 266（2001）
- 11) Report of the 23rd Session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses (2001)
- 12) Proposed Draft Guidelines for Use of Nutrition and Health Claims: Codex Committee on Food Labelling, ALINORM 01/22A APPENDIX VIII (2001)
- 13) Proposed Draft Guidelines for Vitamin and Mineral Supplements: Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses, ALINORM 03/26 APPENDIX II (2001)

健康強調表示の使用に関する勧告案（ステップ3）¹²⁾
 (CCFL : ALINORM 01/22A APPENDIX VIII, 2001)

前文：健康強調表示は、国の栄養政策、健康政策と一致し、それらの政策を支持するものでなければならない。健康強調表示には、消費者に対する科学的な教育の支援が必要である。

定義：健康強調表示とは、食品或いはその成分と健康の関わりを述べ、示唆し、暗示する全ての表現。健康強調表示には次のものが含まれる。

① 栄養素機能強調表示：身体の成長、発達、正常な機能における栄養素の生理的な役割の表示。
 (例)

- 「カルシウムは、強い骨や歯の発達を助ける」
- 「蛋白質は、身体組織を作ったり修復するのを助ける」
- 「鉄分は、赤血球形成の一要素である」
- 「ビタミンEは、身体組織の脂肪の酸化を防ぐ」
- 「葉酸含有:葉酸は、胎児の正常な発育に寄与する」

② 高度機能強調表示：食生活において、食品或はその成分の摂取が、生理的（又は心理的）機能或は生物学的活動に与える、特定の有用な効果に関する表示で、栄養素機能強調表示は含まれない。健康、機能の改善、健康の調整或は維持に対する有用な効果に関する表示。

(例)

- 「ある種の難消化性オリゴ糖は、特定の腸内細菌叢を改善する」
- 「葉酸は血漿ホモシステインレベルを下げる」
- 「X は活力 (alertness) を増強するのに役立つ」

③ 疾病リスク低減表示：食生活において、食品或はその成分の摂取と疾病（或いは健康に関連する状態）に至るリスクの低減との関係を示す表示。以下の2段階表示により構成されなければならない。

- 1) 容認されている食生活と健康の関わりについての情報。及び、
- 2) 上記の関係に関連する製品組成の情報、ただし、その関係が当該食品全体的の場合や研究結果から特定の食品成分とは関わらないとされた食品の場合を除く。

ここで疾病リスクの低減とは、疾病（或いは健康に関連する状態）の主なリスクを有意に改善すること。リスク低減表示に際しては、適切な言葉を用い、他のリスク要因にも言及し、疾病には複数のリスク要因があり、一つのリスク要因の改善では、必ずしも効用があるとは限らない等、消費者が確実に予防表示と誤認しないようにしなければならない。

(例)

- 1) 鉄分は貧血症のリスクを低減する。
2) 食品 A は鉄分が豊富。
- 1) 飽和脂肪の少ない食事は心疾患のリスクを減らす。
2) 食品 B は飽和脂肪の少ない食品。
- 1) 葉酸は神経管異常の子供の出産のリスクを減らす。
2) 食品 C は葉酸の豊富な食品。
- 1) 十分なカルシウムの摂取は晩年の骨粗鬆症のリスクを減らす。
2) 食品 D はカルシウムの豊富な食品。

ビタミン・ミネラルサプリメントのガイドライン (ステップ 3) ¹³⁾
(CCNFSDU : ALINORM 03/26 APPENDIX II)

前文 (Preamble)

バランスのとれた食事のできる多くの人は、必要な全ての栄養素を普通の食事から摂取することが可能である。食品には健康を促進する多くの成分が含まれており、従って、ビタミン・ミネラルサプリメントの摂取を考える前に、その様なバランスの良い食事が奨励されるべきである。ビタミン・ミネラルサプリメントは、通常の食事からの摂取が不十分或いは消費者が自身の食事には補充が必要と考える場合に、日常の食事の補充に役立つものである。

1. 適用 (Scope)

- 1.1 本ガイドラインは、(必要な時と場合に) 日々の食事を補充するために用いるビタミン及び/或いはミネラルのサプリメントに適用。
- 1.2 本ガイドラインは、同サプリメントが法的に食品とされる場合に適用。ビタミン・ミネラルサプリメントを医薬品とするか食品とするかは、各国の法判断に委ねる。
- 1.3 本ガイドラインは、加工食品の表示に関する一般基準で規定した特殊用途食品(CODEX STAN 146-1985)には適用されない。

2. 定義 (Definitions)

- 2.1 本ガイドラインの目的とするビタミン・ミネラルサプリメントは、基本的には、それらの成分のビタミン及び/又はミネラルの栄養学的な意味に基づく。ビタミン・ミネラルサプリメントは、カプセル、錠剤、粉末、液状等、通常の食品の形態ではなく、それら単独若しくは複合の濃縮された給源であって、有意なエネルギー源とはならないもの。(ビタミン・ミネラルサプリメントは、通常の食事からの摂取が不十分或いは消費者が自身の食事には補充が必要と考える場合に、日常の食事の補充に役立つものである。)

3. 成分 (Composition)

3.1 ビタミン及びミネラルの選択

- 3.1.1 ビタミン・ミネラルサプリメントは、ヒトにとって栄養学的価値が科学的に証明され、その位置付けがFAO/WHOにより認められているビタミン/プロビタミン及びミネラルを含むもの。
- 3.1.2 許容されるビタミン、ミネラル源は、例えば、安全性、生理活性といった基準により選択されるべきである。更に、純度についても、FAO/WHO、薬局法 (及び適用可能な国内法) 等を考慮。
- 3.1.3 (それらの使用は、摂取の地域的、国家的な特定の事情により、消費者の健康保護及び安全から [制限] され得る。)
- 3.1.4 ビタミン・ミネラルサプリメントには、上記 3.1.1 に適合する全てのビタミン、ミネラルを、単独又はそれらの適切な組み合わせが含まれる。

3.2 ビタミン及びミネラルの含有量

- 3.2.1 ビタミン・ミネラルサプリメントに含まれる各ビタミン及び/又はミネラルの製造者による推奨 1 日摂取量の最小量は、FAO/WHO による栄養所要量の [15~33%]。
- 3.2.2 (ビタミン・ミネラルサプリメントに含まれる各ビタミン及び/又はミネラルの製造者による推奨 1 日摂取量の最大量は、FAO/WHO による栄養所要量の [100%] を超えない。)

又は、

(ビタミン・ミネラルサプリメントに含まれる各ビタミン及び/又はミネラルの製造者による推奨 1 日摂取量の最大量は、以下の基準を考慮して決定。

(a) 必要に応じ、異なる消費者層による感受性の違いを考慮したビタミン及びミネラルの安全上限値、

(b) 食事から摂取するビタミン、ミネラルの 1 日摂取量。

推奨 1 日摂取量の最大量を定めるに際し、当該国民の栄養所要量を考慮。)

3.2.3 栄養所要量と副作用発現レベルの間の安全域の小さいビタミン、ミネラルについては、国別に異なる最大限度値を定めることができる。

4. 包装 (Packaging)

4.1 製品は、衛生的、品質的に保護される容器に包装。

4.2 包装材料を含めて容器は、安全で、使用用途に適した資材のみにより製造。コーデックス委員会が資材について基準を定めた場合には、その基準を適用。

4.3 ビタミン・ミネラルサプリメントは、必要により、子供が触れない(child-resistant)包装で流通。

5. 表示 (Labelling)

5.1 ビタミン・ミネラルサプリメントの表示は、コーデックスの一般食品表示基準 (Codex-Stan 1-1985, Rev 1-1991) 及び一般強調表示ガイドライン (CAC/GL 1-1979) による。

5.2 (「ビタミン・ミネラルサプリメント」、若しくは「食事を補充するビタミン/ミネラルサプリメント」等の表示及び栄養素名の表示。)

5.3 (ビタミン、ミネラルの含有量は重量で表示。)

5.4 (ビタミン、ミネラルの含有量は、必要に応じ、推奨 1 日製品摂取量当たり及び製品単位当たりで表示。)

5.5 (ビタミン、ミネラルに関する情報、例えば、栄養表示に関するコーデックスガイドラインにおける所要量に対する割合を表示。)

5.6 使用方法 (用法、用量、特定の摂取条件等) について表示。

5.7 警告表示 (もし、当該製品にその毒性レベルからみて、相当量の栄養成分が含まれている場合)。

5.8 (当該サプリメントは長期間、食事の代替として使用することは出来ない旨の表示。)

5.9 (当該サプリメントは、栄養士、栄養管理者或いは医師の助言の下に摂取すべきとの表示。)

ATTACHMENT 1

Energy values used in food labelling

COUNTRY:	Scientifically based energy values									
	Australia/ New Zealand ¹	Canada ²	European Union ³	USA ²	Switzerland ²	Canada ²	European Union ²	USA ²	Livesey ⁴	ILSI ²
FOOD COMPONENT:	Energy value		Energy value		Energy value		Energy value		Energy value	
	KJ	kcal	KJ	kcal	KJ	kcal	KJ	kcal	KJ	kcal
POLYOLS										
Isomalt	11.0	2.1	8.5	2.0	10.0	2.4	10.2	2.4	8.5	2.0
Lactitol	11.0	2.1	8.5	2.0	10.0	2.4	10.2	2.4	8.5	2.0
Maltitol	16.0	3.8	12.8	3.0	10.0	2.4	10.2	2.4	11.9	2.8
Maltitol syrup	16.0	3.8	12.8	3.0	10.0	2.4	10.2	2.4	11.9	2.8
Mannitol	9.0	3.8	6.8	1.6	10.0	2.4	10.2	2.4	7.0	1.6
Sorbitol	14.0	3.8	11.1	2.6	10.0	2.4	10.2	2.4	11.0	2.6
Xylitol	14.0	3.3	13.0	3 (tentative)	10.0	2.4	10.2	2.4	13.0	3.1
HSH										
Erythritol	1.0	0.2			10.0	2.4	12.8	3.0	1.0	0.2
Other specific carbohydrates	5.0	1.2	4.3	1.0		n.d.	4.3	1.0	5.0	1.2
Fibre										
Fermentable	8.0	1.9	17.0	4.0					8.0	1.9
non-fermentable	8.0	1.9	10.0	2.4					0.0	0.0
Other energy values										
Alcohol	29.0	6.8			17.0	4.0			26.0	6.1
Glycerin	18.0	4.2			0.0	0.0			17.0	4.0
Citric acid	13.0	3.1							11.0	2.6
Malic acid	13.0	3.1							7.0	1.6
Tartaric acid	13.0	3.1								
Alternative fats										
Caprenin									21.0	4.9
Medium-chain triglyceride									33.0	7.8
Olestra									0.0	0.0
Salatrim									21.0	4.9

¹ Revised energy factors for Australia and New Zealand reported (Gazetted Dec 2000 in the Australia New Zealand Food Standards Code).² Livesey et al., ILSI. Suitability of traditional energy values for novel foods and food ingredients. Food Control 11(2000). 249 – 289.³ Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaft Nr. L 276/40 vom 06.10.1990 In: Souci-SW; Fachmann-W; Kraut-H. Food Composition and Nutrition Tables. Scientific Publishers Stuttgart 2000.⁴ Livesey-G; Energy Background paper. Unpublished.

分 担 研 究 報 告 書

高齢者における食中毒の臨床的特長とその対策に関する研究
及び諸外国の食中毒事例における各国の行政対応に関する研究

分担研究者 難 波 吉 雄

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

分担研究報告書

高齢者における食中毒の臨床的特徴とその対策に関する研究及び
諸外国の食中毒事例における各国の行政対応に関する研究
（高齢者食中毒と *Clostridium difficile* 一分子疫学と病原性一）

分担研究者 難波 吉雄（東京大学大学院医学系研究科加齢医学講座）

研究協力者 中村 信一（金沢大学大学院）

研究要旨

高齢者における食中毒において、*Clostridium difficile* がその起因菌となりうる可能性について検討するため、わが国における感染状況について検討を行った。その結果、*Clostridium difficile* 陽性者の割合は健常成人とほぼ同じであること、トキシン A-B+タイプもわが国ではその存在がまれではないこと、今回は *Clostridium difficile* に起因する下痢症は認められなかったこと等が明らかとなった。また、分子生物学的手法により、同一施設内で同一のタイピングを呈する場合も認められた。これらのことから、今後は、高齢者の食中毒起因菌としての *Clostridium difficile* の可能性についても考慮する必要性があると思われた。

A. 研究目的

わが国で発表されている食中毒統計を用いた解析では、高齢者における食中毒には何らかの特徴もあると考えられる。さらにこれまで食中毒の起因菌として認識されていなくても、新たにその間連を指摘される病原体が報告されることも少なくない。これらのことから、高齢者はその特性から、食中毒において通常の成人とはことなる起因菌、病態を呈する可能性も考えられる。

一方 *Clostridium difficile* は偽膜性腸炎の原因菌であり、抗菌薬関連下痢症・腸炎の主要な原因菌であることが知られていた。本菌は嫌気性菌であり、芽胞の形で環境に生存し続ける。1991～1992 年、英国において、約 6 ヶ月間に 3 つの施設（病院、老人ホーム）で *Clostridium difficile* 起因下痢症 175 名が発症、うち 17 名が死亡したことや、米国

で地理的に離れた地区で集団感染が発生したこと等が報告されており、*Clostridium difficile* に対する関心が高まっている。

そこで本研究では、*Clostridium difficile* が高齢者食中毒起因菌の 1 つとなり得るかどうかを明らかとする目的から、わが国における集団施設の *Clostridium difficile* 感染状況について検討を行う。

B. 研究方法

3 施設の高齢者のべ 259 名について検討を行った。*Clostridium difficile* については、通常の方法により腸管から菌の分離、培養および毒素型同定を行った。タイピングについては、PCR 法および PFGE 法を用いた。

C. 研究結果

結果を表1～表7に示す。結果をまとめると、

- ・ Clostridium difficile陽性者の割合は、2.3～14.0%であった
- ・ 毒素のタイプは、A+B+以外の種々のタイプが認められた
- ・ PCR法あるいはPFGE法を用いた解析により、同一施設で同じタイピングを呈する場合が認められた
- ・ 抗生物質を使用している例も認められた
- ・ 基礎疾患には様々な疾患が存在していた等である。

D. 考察

Clostridium difficile は、グラム陰性桿菌であり、芽胞を形成する。人との関連では、抗生物質関連偽膜性大腸炎、非特異的大腸炎、下痢症の原因菌として知られていた。また、この Clostridium difficile には、結紮腸管液体貯留活性（エンテロトキシン活性）を有する毒素およびきわめて強い細胞毒性を示す毒素（サイトトキシン）が産生されることも示され、前者がトキシン A、後者がトキシン B と呼ばれている。有毒 Clostridium difficile とは、トキシン A とトキシン B をともに産生する菌をいう。すなわち、Clostridium difficile による疾病発症機序として、以下のメカニズムが推定されている。

抗生物質投与等による腸内細菌叢の乱れ

↓

有毒ディフィシル菌の増殖、毒素産生

↓

トキシン A が腸管上皮細胞に作用、炎症

↓

トキシン B が上記障害部位より粘膜内進入

また、人からの検出では、生後 1 年以内、特に生後 1 ヶ月以内の新生児での分離率が極めて高く、糞便中に約 30%の割合でトキシン B が検出される（トキシン A も検出されるが無

症状）、トリ、ウシ、ブタ等より分離されるが感染経路は不明であることなどが知られていたが、近年同一施設内で集団感染事例が報告されて以来、さらに注目を集めている菌である。

本研究によって、施設内における Clostridium difficile 陽性者の割合が 2.3～14.0%であることが明らかとなった。年齢 22～90 歳の健康成人 431 名を対象とした研究では、11.4%が陽性であったとの報告がなされており、それと比較して高齢者の施設内における陽性率も大きな差は認められなかった。

また、近年トキシン A+B+以外のタイプで、A-B+タイプが近年病原性との関連性が注目されている。本研究により、わが国ではこのタイプの存在はまれではないことも明らかとなった。

症状との関連では下痢症状 4 例中糞便中毒素陽性例は認められなかった。また毒素陽性 3 例中下痢症状を呈している例はなく、これらのことから今回の検討では Clostridium difficile による下痢症は認められなかった。

通常施設における高齢者は、一般健常人とは異なり、多くの場合は何らかの基礎疾患を有している（抗生物質による治療を受ける可能性も大である）。また、一般的に Clostridium difficile は感染経路について現在のところ詳しい検討はなされていない。従って、高齢者における Clostridium difficile 陽性者割合が、一般健常人と差がなくとも、発症の可能性が増したり、症状が重篤化しやすい状況を考慮した場合、その感染には注意を払う必要性が高いと考えられる。今回の検討では明らかな Clostridium difficile に起因すると思われる下痢症は認められなかった。しかし、分子生物学的手法を用いた菌のタイピングでは同一施設内で同じタイピングに分類される菌が存在する場合も認められた。これらのこ

とを考え合わせると、諸外国同様の同一施設内感染、あるいはClostridium difficileが、健常陽性者食を介して症状を発症する可能性も考えられる。

今後は、このClostridium difficileについても、高齢者食中毒の起因菌の1つとして考慮していくことも必要と思われる。

E. 結論

- ・ Clostridium difficile 陽性者の割合は健常成人とほぼ同じであった
- ・ トキシシン A-B+タイプもわが国ではその存在がまれではなかった
- ・ 同一施設内で同一のタイピングを呈する場合も認められた
- ・ 今回は Clostridium difficile に起因する下痢症は認められなかった
- ・ 菌と基礎疾患の間に関連性は認められなかった
- ・ 今後は、高齢者の食中毒起因菌としての Clostridium difficile の可能性についても考慮する必要があると思われる。

F. 研究発表

論文発表

Xue CY, Kageyama H, Kobayashi A, Osaka T,

Namba Y, Kimura S, Inoue S. Different origin of hypertriglyceridemia induced by a high fat and a high-sucrose diet in ventrolateral hypothalamic-lesioned obese and normal rats. Int J Obes Relat Metab Disord 25:434-438, 2001.

Ueki A, Otsuka M, Sasaki S, Namba Y, Ouchi Y and Ikeda K. Dietary factors and the risk of Alzheimer's disease: a low fish consumption and a relative deficiency of w-3 polyunsaturated fatty acids. In: Tanaka C, McGeer PL, Ihara Y (eds); Neuroscientific Basis of Dementia, pp 275-278,

Birkhauser Verlag, Basel, 2001.

水野裕、難波吉雄 高齢社会と成年後見制度
日老医誌 38:591-599、2001

広瀬信義、谷正人、鳥羽研二、大荷満生、新弘一、難波吉雄、大内尉義、井藤英喜、大庭建三
東京地区における介護保険導入後の介護状況の変化 日老医誌 39:20-21,

G. 知的所有権の取得状況

該当せず

Table 1. Intestinal colonization by *C. difficile* in subjects in three facilities for senior citizens

Facility	Date of examination	No of subjects tested	Age (years) Range Median	No (%) of <i>C. difficile</i> (+) Subjects
	2001			
1	Aug.	68	63-69 (77)	7 (10. 3)
2	Aug	44	69-103 (81)	3 (6. 7)
	Dec.	43	70-102 (83)	1 (2. 3)
3	Aug.	50	64-103 (85)	7 (14. 0)
	Dec.	54	64-103 (87)	3 (5. 6)
Total		259	63-103 (83)	21 (8. 1)

Table 2. Toxigenicity of *Clostridium difficile* carried by subjects in three facilities
For senior citizens

Facility	Date of examination	No (%) of <i>C. difficile</i> (+) Subjects	No of subjects with <i>C. difficile</i> of toxin-producing type			
			A+,B+	A+,B+ A-,B-	A-,B+	A-,B-
	2001					
1	Aug.	7 (10. 3)	1	0	0	6
2	Aug	3 (6. 7)	1	1*	1	0
	Dec.	1 (2. 3)	0	0	1	0
3	Aug.	7 (14. 0)	1	0	6	0
	Dec.	3 (5. 6)	1	0	2	0
Total		21 (8. 1)	4	1	10	6

All 101 isolates representing a maximum of five (1-5) colonies from each specimen were examined.

*Among 5 isolates from a specimen E27, 4 isolates were A+,B+ and 1 isolate was A-, B-.

Table 3. Typing of *C.difficile* isolates from subjects in three facilities for Senior citizens

Facility*	Date of examination	No (%) of <i>C. difficile</i> (+) Subjects	No of types identified			
			PCR ribotype**	PFGE type		
				Major	Sub-	
2001						
1	Aug.	7 (10. 3)	5	5	6	(1)#
2	Aug	3 (6. 7)	4	4	4	(0)
	Dec.	1 (2. 3)	1	1	1	(0)
3	Aug.	7 (14. 0)	2	1	1	(1)
	Dec.	3 (5. 6)	2	2	2	(0)
Total		21 (8. 1)	11	10	11	

Table 4. Typing results of *C.difficile* isolates from 21 subjects in three facilities for senior citizens

PCR Ribotype	PFGE type* Major Sub-	Toxin- Producing Type	Number of subjects from facilities				
			1 Aug. (7)**	2 Aug. (3)***	Dec. (1)	3 Aug. (7)	Dec. (3)
ky15	A5	A+B+	1				
fm14	A127	A+B+		1			
ot271	A1371	A+B+		1			
ss28	NT#	A+B+				1	
mn72	A188	A+B+					1
is9	A77	A-B+		1	1	6	2
KY38	A51	A-B-	1				
ky106	A53	A-B-	1				
ky109	A34	A-B-	1				
	A 48	-a A-B-	1				
		-b A-B-	1				
ot273	A1373	A-B-		1			
ky26	NT	A-B-	1				

* Major PFGE types were defined by more than three fragment differences, and these major Types were subtyped by three or fewer than three fragment differences.

** Number of subjects who were positive for *C. difficile*.

***Two different types of *C. difficile* isolates were recovered from one specimen.

#NT ; Non-typable by PFGE because of DNA degradation.

Table 5. Typing results of C.difficile isolates of Aug. (2001) and Dec.(2001) in two facilities for senior citizens

Subject	PCR ribotype Aug., 2001	/	PFGE type Dec., 2001
2			
E14	fm14/A127		—
E19	is9/A77		—
E27	ot271/A1371		—
	ot273/A1373		—
E55	na		is9/A77
3			
K6	is9/A77		—
K8	is9/A77		—
K9	is9/A77		—
K28	ss28/NT#		—
K36	is9/A77		is9/A77
K55	is9/A77		ny
K65	is9/A77		is9/A77
K72	na		

-, Negative ; na, Not admitted ; nt, Not tested.

#NT ; Non-typable by PFGE because of DNA degraatadion.

Table 6. Character of C difficile positive subjects in three facilities for senior citizens

Subject 1	Toxigenicity of isolate	Diarrhea	Immunoassay of toxin A of stool	Cytotoxicity of stool	Antibiotics**
Aug. , 2001					
Y15	A+B+	—	—	—	+
Y26	A-B-	—	—	—	—
Y27	A-B-	—	—	—	—
Y36	A-B-	—	—	—	—
Y58	A-B-	—	—	—	—
Y106	A-B-	—	—	—	—
Y109	A-B-	—	—	—	—
2					
Aug. , 2001					
E24	A+B+	—	—	—	—
E19	A-B+	+	—	—	—
E27	A+B+&A-B+	+	—	—	—
Dec. , 2001					
E55	A-B+	—	—	—	+
3					
Aug. , 2001					
K6	A-B+	—	—	—	—
K8	A-B+	—	—	+(X40)*	+
K9	A-B+	—	—	—	—
K28	A+B+	—	—	—	+
K36	A-B+	+	—	—	—
K55	A-B+	—	—	—	—
K65	A-B+	—	—	+(X40)*	+
Dec. , 2001					
K36	A-B+	+	—	—	+
K65	A-B+	—	—	+(X80)*	+
K72	A+B+	—	—	—	+

*Maximum dilution of stool caused 100% cell rounding of L929 cell.

** Use of antibiotics within 4 weeks of examination. Y15 used of levofloxacin, E55 used of piperacillin and isepamicin, K36 used of tosufloxacin,

K65 used of doxycycline of Aug., and used of Piperacillin and doxycycline of Dec., and K72 used of doxycycline.

Table 7. Diseases of *C. difficile* positive subjects in three facilities for senior citizens

Subject	Diseases
1	
Aug., 2001	
Y15	Anemia
Y26	Hypertension
Y27	Diabetes mellitus
Y38	Insomnia
Y58	Chronic lymphocytic leukemia
Y106*	Angina pectoris, Diabetes mellitus
Y109*	Diabetes mellitus
2	
Aug., 2001	
E14	Seneile demejtis, Parkinsonism
E19*	Parkinson' s disease
E27	Cerebral infarction
Dec., 2001	
E55	Cerebral infarction
3	
Aug., 2001	
K6	Seneile demejtis, Cerebral infarction
K8	Dementia
K9	Post fracture of femoral neck operation
K58	Cerebral infarction
K36*	Cerebral infarction
K55	Dementia
K65	Chronic respiratory failure
Dec., 2001	
K36*	Cerebral infarction
K65	Chronic respiratory failure
K72	Chronic heart failure

; Bedridden

分 担 研 究 報 告 書

集団感染を起こし得る水系由来の下痢性疾患に対する総合的研究
－その疫学と発生防止－

分担研究者 小早川 隆 敏

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

分担研究報告書

集団感染を起こし得る水系由来の下痢性疾患に対する総合的研究 － その疫学と発生防止 －

分担研究者 小早川 隆敏（東京女子医科大学国際環境・熱帯医学教室）

研究要旨

時に集団感染を起こし得る水系由来の下痢性疾患のうち主として近年国内でも集団発生があり、国際的にもその集団発生が問題となっているクリプトスポリジウム症を中心に、その他、赤痢アメーバ症、ランブル鞭毛虫症等の疫学特徴、それに関する生活背景等に関し明らかにすることによって今後の同様疾患の発生防止策に関して検討してきたが最終年度は引き続きクリプトスポリジウム症集団発生時の行政シミュレーション、クリプトスポリジウム症における抗体の推移、赤痢アメーバ症の診断のための dot-ELISA 法の検討、及び米国における HIV/AIDS 患者のクリプトスポリジウム症の疫学調査を実施した。

A. 研究目的

先進諸国においては 20 世紀になり近代的浄水処理施設の完備が進み、水系とりわけ飲料水にかかわる下痢性疾患は大きく減少した。しかしながら近年我国においても原水である河川や湖沼等の水質汚濁は複雑になり、0-157、クリプトスポリジウム、有害化学物質などの新たな水質問題がでてきた。とりわけ感染性微生物に関しては、国際交流の活発化によるその輸入、更には開発や地球環境の変化による微生物の病原性の変化もあり、従来は日和見感染的に終始していたものが、病原性を強く転じ集団発生を起こし得るものに形質転換したものも知られるようになった。本研究においては新たな水質問題の中で新興・再興感染症として集団感染を起こし得るクリプトスポリジウム、赤痢アメーバ、ランブル鞭毛虫を対象としてとりわけクリプトスポリジウムに焦点をあててその疫学状況、診断キットの開発、クリプトスポリジウム集団発生時の行

政シミュレーションに関し研究を実施してきたが、本年度は前年度に引き続きクリプトスポリジウム集団発生時のシミュレーションを行った。又、実験的感染動物におけるクリプトスポリジウムの抗体価の検討及び、赤痢アメーバ症に対する dot-ELISA 法の検討を行った。更に、米国における HIV/AIDS 患者のクリプトスポリジウム症の疫学調査を行った。

B. 研究方法

1) クリプトスポリジウム症集団発生時のシミュレーションは水耕栽培野菜を介したものと想定して行った。シミュレーションは奈良県健康局健康対策課感染症係と同局生活衛生課食品獣疫係、奈良県桜井保健所地域保健課、奈良県衛生研究所、奈良県農業技術センターの感染症および食中毒担当係員とそれぞれ別個に聞き取り調査を行い、参考資料の提供を得た上で作成した。2) クリプトスポリジウム感染時の防禦免疫における抗体価の役割を検討すべく、同種オーシストをラットに感染さ

せて、その排泄と抗体価の推移を蛍光抗体法にて測定した。3) 赤痢アメーバの診断法としての dot-ELISA 法の検討を初年度の感受性に引き続き特異性及び本法使用のニトロセルロース膜の温度耐用性に関して検討した。4) 全米でも HIV/AIDS 患者の頻度の高いレイジアナ州において HIV/AIDS 患者に於けるクリプトスポリジウム症の関連を 1989～1998 年の同州の HIV/AIDS サーベイランスを軸に疫学調査を行った。

(倫理面への配慮)

人体試料は用いておらず、倫理面への問題はない。

C. 研究結果

1. 水耕栽培野菜による水系感染症発生の可能性と発生時行政機関のシミュレーション

(1) シミュレーションの必要性

水系感染症は時として、大規模な集団発生を起こしうるものとして知られ、行政の対応が、その流行拡大または阻止を左右する可能性があり、行政における手腕が問われるものである。しかしながら、行政において感染症制禦の担当者は、定期的な人事の交流などにより、必ずしも常時、習熟した担当者が対応するわけでは無い。ここで行政では、緊急対応マニュアルを作成しそれに対応している。ところが、緊急時にこのマニュアルを読み、対応しているのでは、その行政判断に遅れ、誤りが生じることとなる。ここで本研究者は行政において、水系感染症の集団発生事例をシミュレーションすることにより、その行政対応をより正確にすることを目標とした。

今回、われわれは水耕栽培食品により、集団発生を起こしたクリプトスポリジウムの事例を奈良県の行政、特に保健所の対応を中心にシミュレーションした。

(2) 水耕栽培の現状と水系感染症の発生の可

能性

わが国における水耕栽培野菜はミツバ、トマト、キュウリ、ネギ、ホウレンソウ、チンゲンサイ、コマツナ、サラダナなど多種にわたっている。一般的に栽培法は根の部分で植物の栽培に適した栄養分を含有する水槽に漬けるものである。トマトやキュウリ、ホウレンソウなどは水槽に接している部分を切断し、市場に流通している。

また、これらの水耕野菜栽培農家のほとんどが、浅井戸から給水している。この水の供給源である浅井戸は近傍の河川の伏流水が混入することが知られ、その水で栽培した野菜は、伏流水に混入した種々の病原微生物に汚染される可能性がある。ネギ、コマツナ、チンゲンサイなどは出荷時に、汚染の可能性がある水に接した根の部分をつけたまま出荷する場合が多く、水系感染症を引き起こす可能性が示唆される。

更に、水系感染症として知られている病原体はロタウイルス、A 型肝炎ウイルス、E 型肝炎ウイルスなどのウイルス性疾患、赤痢菌、コレラ菌、病原性大腸菌等の細菌性疾患やランブル鞭毛虫、クリプトスポリジウム等の原虫性疾患があげられる。

一般的に水耕栽培における水の消毒は、次亜塩素酸などを用いた塩素濃度の調整により、行われている。細菌性水系感染症の場合、比較的容易に消毒することができ、きわめて有効であるが、原虫性水系感染症の場合、就中クリプトスポリジウムの場合、本原虫の病原活性を抑えるには、水中塩素濃度を 8ppm 以上にしなければならず、現実的には不可能である。

したがって、水耕栽培野菜は、水系感染症、特にクリプトスポリジウムによる水系感染症が起こりうる可能性が示唆される。

(3) 本シミュレーション作成のための方法

今回、シミュレーションは奈良県健康局健康対策課感染症係と同局生活衛生課食品獣疫係、奈良県桜井保健所地域保健課、奈良県衛生研究所、奈良県農業技術センターの感染症および食中毒担当係員とそれぞれ別個に聞き取り調査を行い、参考資料の提供を得た上で、本研究者らが作成したものである。シミュレーション作成中にできた不明点の詳細は電話、FAX 等で、再度聞き取り、完成したものである。

(4) シミュレーション (別添)

(5) まとめ

クリプトスポリジウム症は一般的に小児や老人、免疫不全などの患者、移植後免疫抑制剤を使用している患者などの日和見感染症として知られている。

今回のシミュレーションは、水系感染症であるクリプトスポリジウム症が、老人保健福祉施設の給食に混入した場合を推測した。具体的には給食時で出された冷奴についている薬味のネギが水耕栽培によるものであることから原因食物とした。これは水耕栽培によるネギの出荷が、一般的に根がついた状態であり、水耕栽培の水に偶発的にクリプトスポリジウムのオーシストが混入した場合に、食用とする部分にその根が接触しうると推測したからである（ハウレンソウやトマトなどは根の部分と食用の部分とは切り離されて出荷されるので、クリプトスポリジウム症の原因となりうる可能性は低い）。また、水耕栽培農家は 1996 年の堺市のクリプトスポリジウム症集団発生事例以来、塩素による使用水の消毒に注意しているが、クリプトスポリジウムは細菌と異なり塩素抵抗性が高いことから、今後とも発生する可能性があると思われ、シミュレーションのテーマとした。

今回のシミュレーションにおいて発症を老人保健福祉施設に限定したのは、学校給食で

は、ネギは熱い味噌汁に使用したため病原性が低下し、発症しなかったと考えた。

また、クリプトスポリジウム症の診断は下痢症を起こしている症例の糞便からのオーシストの検出により診断され、その後野菜からの検出がなされ、原因微生物の診断が確定したと考えた。

2. クリプトスポリジウム感染ラットの防禦免疫における抗体価の役割

Cryptosporidium parvum のオーシスト 2×10^6 個をラット 6 匹に経口投与し、4 週間後まで糞便中のオーシスト排泄量と血清抗体価を測定した。オーシストの検出には蔗糖液（比重 1.266）遠心浮遊法を実施し、オーシスト数はプランクトン計算盤を用いて計測し、OPG（糞便 1g 当りのオーシスト数）で示した。感染後ラットは 1、2、3、4 週間毎に眼窩静脈叢より採血し、血清中の IgM、IgG、IgA 抗体価を測定した。抗体検査には間接蛍光抗体法（IFA）を用いた。抗原は蔗糖液浮遊法で純化した *C. parvum* のオーシストを用い、スライドガラスに塗布してスライド抗原とした。被験血清を 4 倍の段階希釈し、スライド抗原に載せ、37℃、30 分間湿潤箱で反応させ、冷 PBS で 3 回、各 5 分間洗浄した。二次抗体は FITC 標識抗ラット IgM、IgG、IgA 抗体（Bethyl Laboratories, Inc）を用いた。反応は 37℃、30 分間で行い、冷 PBS で 3 回、各 5 分間洗浄した。スライド抗原を 50%グリセリン PBS で封入し、落射型蛍光顕微鏡（オリンパス）で観察し抗体価を測定した。

感染ラットでの糞便中へのオーシストの排泄は、感染 2 日後からみられたが、OPG のピークは感染 4 日後に 10^4 個台が示された。6 日以後 18 日目までは少数のオーシストが断続的に排泄されたが、19 日以降では蔗糖液遠心浮遊法でオーシストが検出されなくなった。

(表 1)。血清中の IFA 抗体は、感染 1 週間後
で IgM が、2 週間後から IgG 及び IgA 抗体が
検出された。2 週間後から 4 週間後までの IgM、
IgG 及び IgA の血清抗体価の経時的変化には
有意な差が認められなかった (表 2)。

3. 赤痢アメーバ症の免疫学的診断法としての dot-ELISA 法の検討

報告者は先に、赤痢アメーバ症の免疫診断
法として dot-ELISA 法の有用性を報告した。
本研究では、dot-ELISA 法の特異性について
検討すると共に、術式の確立を目的としてニ
トロセルロース膜の保存条件について観察し
た。

【材料および方法】 1) 血清は、赤痢アメー
バ症 11 例 (腸アメーバ症 5 例、アメーバ性肝
膿瘍 6 例)、肝蛭症 9 例、ランブル鞭毛虫症 6
例、ウェステルマン肺吸虫症 4 例、宮崎肺吸
虫症 4 例、イヌ・ネコ回虫症 6 例を用い、抗
原は、赤痢アメーバ、肝蛭、ウェステルマン
肺吸虫、宮崎肺吸虫、イヌ回虫、イヌ糸状虫、
アニサキス I 型幼虫、マンソン孤虫の 8 種類
を使用した。2) dot-ELISA 法の特異性を再
検討するために、赤痢アメーバ抗原と 7 種類
の蠕虫抗原をニトロセルロース膜上の所定の
位置に感作後、赤痢アメーバ症血清と他寄生
虫感染者血清を対象として dot-ELISA 法を実
施した。3) ニトロセルロース膜の保存条件
と使用可能期間を検討するために、赤痢アメ
ーバ抗原で感作したニトロセルロース膜を、
4℃、25℃、-20℃の各温度条件で 1 日、1 ヶ
月、2 ヶ月、4 ヶ月、8 ヶ月、12 ヶ月間保存後、
陽性と陰性 (各 2 例) 血清を用いて dot-ELISA
法を実施した。その結果 1) dot-ELISA 法の特
異性：赤痢アメーバ症血清では、全例がニト
ロセルロース膜上の赤痢アメーバ抗原に対し
てのみ明瞭な陽性反応 (スポット) が認めら
れ (図 1)、赤痢アメーバ以外の寄生虫感染者

血清では、全例が赤痢アメーバ抗原に対して
はスポットが認められず、dot-ELISA 法の優
れた特異性が確認された。図 2 にアメーバ性
肝膿瘍と鑑別が重要な肝蛭症血清での検査結
果を示した。2) ニトロセルロース膜の保存
可能期間：25℃では 4 ヶ月間保存すると陽性
反応が低下したが、4℃および-20℃では 12
ヶ月間保存しても陽性反応の低下は認められ
なかった (表 3)。

4. 米国における HIV/AIDS 患者のクリプトス ポリジウム症の疫学

本調査の期間 6,913 人の HIV 感染者が対象
とされ 5,456 人 (78.9%) が男性でうち、3,803
人 (55.0%) がアフリカ系アメリカ人でまた
4,106 人 (59.4%) が男性同性愛者という内訳
である。そのうち 239 人 (3.5%) が 43 ヶ月間
の追跡調査期間にクリプトスポリジウム症を
発症している。本調査の結果から二変量解析
で CD4cells が 200cells/ml (正常 700~1500)
以下の患者は有意にクリプトスポリジウム症
罹患のリスクがあることが判明した。また患
者の発生は殆どが 3~5 月で 3 月が最も高く
48 人が記録された。ルイジアナ州、ニューオ
リンズでは本症の発生は 1989 年 7 例 (2.9%)
から 1994 年の 48 例 (20%) へ増加している。

D. 考察

水系感染症は時として、大規模な集団発生
を起こしうるものとして知られ、行政の対応
が、その流行拡大または阻止を左右する可能
性があり、行政における手腕が問われるもの
である。これに対し行政側は定期的人事異動、
また、発生の頻度が比較的少なく散发例では
臨床的にも公衆衛生学的にもインパクトが低
いところから迅速的確な対応が遅れ易い。1)
今回、われわれは水耕栽培食品により、集団
発生を起こしたクリプトスポリジウムの事例