

例および動物感染例を含むジアルジア株のGDH 遺伝子塩基配列に基づく分子系統樹を示した。

ところで、国立感染症研究所の IDWR に基づいてジアルジア症の推定感染地についてまとめた結果が図-5A である。年度ごとの報告数は平成 15 年度 (H15) が 54、平成 16 年度 (H16) が 48 であった。図-5B に推定感染地とその報告数の割合を各年毎にで表した。推定感染地では国内という報告数が 40% 前後ともっとも多いことが示されている。国外感染地はインド、パキスタン等および東南アジア (タイ、インドネシア、ラオス等) を合わせると国外報告数のおよそ半数以上となり、ジアルジアの国外感染例において推定感染地としてアジア地域が最も重要な地域であることが確認される。しかしながら、これらのうち遺伝子型別情報が提供された例は皆無で、分子疫学情報としての充実をはかるべく関係機関の協力が強く望まれる。

D. 考 察

平成 16 年 8 月末に発生した長野県のクリプトスポリジウム集団感染は、当初水道水等を介した水系感染が疑われたが患者の発生状況、その他より水道水との関連性が否定的となり、真の感染源の究明が急がれた。患者の行動等に関する疫学調査の結果、合宿で県外より集まっていた学生、小学生児童たちの利用していたプールおよび洗面所の流しが感染源と推定された。遊泳中にプール水の誤飲、あるいは汚染された蛇口の水を用いて作成したスポーツドリンクから感染が広まったものと考えられた。患者の発生が全て長野県外であったことから、汚染源の特定に向けて患者分離株の遺伝子解析が行われた。その結果、患者および感染源と考えられる環境試料からの分離株がすべて同一の遺伝子型 (*C. parvum* ヒト型) であることが確認された。これにより、千葉および埼玉で発生した一連のクリプトスポリジウム症は同一事例であり、国内で初めての水泳プールを介した水系集団感染であったと結論された。

国内のクリプトスポリジウム症に係るこれまでの分子疫学的研究から、わが国では *C. parvum* ヒト型による感染が最も多いことが明らかとなった。そのうち、H1 サブタイプは埼玉県/越生と本事例に関連していたほか、国内の HIV 陽性者すべてがこの型の感染であった。引き続き調査を進め、感染源あるいは汚染源が存在するのか、遺伝子型 (サブタイプ含め) と感染率、患者発生様式との関連を明らかにする必要がある。

一方、ジアルジアの型別によると、本年度の調査で Assemblage B (インドおよびバングラデッシュより帰国) が 2 例検出されたものの、国内感例を含めてほとんどの株は人畜共通タイプの Assemblage A であることさらに国内で飼育されているイヌから高率に検出されたことが明らかとなった。ちなみに、これまで国内のイヌからは Assemblage D のみが報告されており¹⁾、今回の調査で得られたイヌでの Assemblage A の感染の状況についてさらに広範な調査が必要と考える。加えて、国内に生息するニホンザルにおいて Assemblage B の感染が確認されたことから、サルの生息域を水源とする水道施設での監視体制の強化が必要と思われる。

IDWR の報告ではジアルジアの国内感染例が 40% に達しており、この国内感染率を説明するための疫学調査が今後の課題になる。国内の感染を広げる要因の洗い出しと、その寄与率についての考察が必要となる。

今回のクリプトスポリジウム感染がこれまでにないプールを介した集団感染であったことから、原虫類の水系感染リスクは水道水以外のプール等リクリエーション用水までも含んだものとする必要があると考えられる。国外ではジアルジアあるいはクリプトスポリジウム症の感染が水泳プールを介して起きていることを示す報告が多数あり²⁾、本研究事業平成 13 年度報告書²⁾ においても国内ジアルジア症とプール利用との関係が示差されている。今後とも患者発生に際しては分子疫学的に原因を究明すると同時に、感染要因に関する詳細な情報を収集することが重要である。

E. 結 論

本年度、国内で新たにクリプトスポリジウムによる集団感染が発生した。分子疫学的調査により早期に本事例が単一の *C. parvum* ヒト型株によることが判明し感染源、感染経路の迅速な解明につながった。本事例が水泳プールを介した国内で初めての集団感染で、これを教訓に今後の水泳プールの衛生管理の強化が望まれる。この事例研究も含め、国内のクリプトスポリジウム感染は *C. parvum* ヒト型が多数を占めることから、この点に留意した検討ならびに対策を考える必要があると考えられる。一方、ジアルジア感染に関しては、人畜共通型の Assemblage A の国内感染が確認されたこと、ならびに野生サルにおいて Assemblage B の感染が明らかになった。

F. 参考文献

- 1) Abe N., et al. Identification of genotypes of *Giardia intestinalis* from dogs in Japan by direct sequencing of the PCR amplified glutamate dehydrogenase gene. *Vet. Med. Sci.* 65(1):29-33, 2003
- 2) Porter JDH., et al., food-born outbreak of *Giardia lamblia*. *Am. J. Pub. Health*, 80:1259-1260, 1990.
- 3) McAnulty JM., et al., A community-wide outbreak of cryptosporidiosis associated with swimming at a wave pool. *JAMA*. 272(20):1597-1600, 1994.
- 4) 厚生科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 クリプトスポリジウムおよびジアルジアの診断、治療及び疫学に関する研究 平成 13 年度総括・分担報告書 P35-43, 2002.

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

1. T. Endo & Y. Morishima. 18: Major helminth zoonoses in water, in *Waterborne Zoonoses* (ed. WHO), pp.291-304, 2004 (IWA Publishing).
2. T. Izumi, Y. Itoh, K. Yagita, T. Endo, T. Ohyama. Brackish Water Benthic Shellfish (*Corbicula japonica*) as a Biological Indicator for *Cryptosporidium parvum* Oocysts in River Water. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 72:29-37, 2004.
3. 遠藤卓郎、泉山信司. 「病原微生物対策への理解に向けて」 Safe Drinking-Water: for the Control of Microbial Hazards. *用水と廃水* 46(7), 43-49, 2004.
4. 遠藤卓郎、黒木俊郎、泉山信司. <話題の感染症>ジアルジア症 モダンメディア 50(4), 73-77, 2004.
5. 遠藤卓郎、八木田健司. 第 5 章 総論および原虫類、食品衛生指針 微生物編 2004、pp518-534, 2004 (日本食品衛生協会) .

I. 学会発表

1. 黒木俊郎、泉山信司、八木田健司、宇根有美、鳥羽道久、遠藤卓郎 爬虫類における *Cryptosporidium* の保有状況、日本原生動物学会、平成 16 年 11 月
2. 泉山信司、八木田健司、遠藤卓郎、藤原正弘 *Giardia* の紫外線消毒における付着濁質の影響、環境技術学会、平成 16 年 9 月
3. 泉山信司、八木田健司、下河原理江子、朝倉登喜子、遠藤卓郎 温水環境より分離した *Naegleria* 属アメーバの遺伝子型別 日本寄生虫学会、平成 16 年 4 月
4. Takuro Endo, Shinji Izumiyama, What is Learned from Cryptosporidiosis Outbreak Cases in Japan, Japan - U.S. Governmental Conference on Drinking

Water Quality Management and Wastewater Control, July 12-14, 2004 (Hawaii, USA).

- J. 知的財産権の出願・登録状況
なし

表-1、集団感染関連の *Cryptosporidium* 陽性糞便試料内訳

地 域	試料数	患 者
埼玉県	11	高校生および大学生
千葉県	22	児童（水泳スクール生徒） および大学生
計	33	

表-2、クリプトスポリジウム症国内散发例 42 例の遺伝子型

分離株	報告地	渡航歴	遺伝子型	AIDS
Cp/H05,1997	東京	不明	<i>C.parvum</i> /Hm	○
Cp/H06,1997	東京	不明	<i>C.parvum</i> /Hm	
Cp/H07,1997	東京	インドネシア	<i>C.parvum</i> /Hm	
Cp/H08,1997	東京	不明	<i>C.parvum</i> /Bv	
Cp/H09,1998	静岡	インドネシア	<i>C.meleagridis</i>	
Cp/H10,1998	東京	不明	<i>C.meleagridis</i>	
Cp/H11,1998	東京	ボネール、タイ	<i>C.parvum</i> /Hm	
Cp/H12,1998	東京	インド、パキスタン	<i>C.parvum</i> /Hm	
Cp/H13,1998	東京	インドネシア	<i>C.meleagridis</i> .	
Cp/H14,1998	東京	タイ、インドネシア	<i>C.parvum</i> /Hm	
Cp/H15,1998	東京	ケニア	<i>C.parvum</i> /Bv	
Cp/H16,1998	大阪	国内	<i>C.felis</i>	
Cp/H17,1998	大阪	国内	<i>C.parvum</i> /Hm	
Cp/H18,1998	東京	タイ?	<i>C.parvum</i> /Hm	○
Cp/H20,1999	大阪	インド、ボネール	<i>C.parvum</i> /Hm	
Cp/H21,1999	東京	インド、パキスタン	<i>C.parvum</i> /Hm	
Cp/H22,1999	東京	インド	<i>C.parvum</i> /Hm	
Cp/H23,1999	東京	タイ	<i>C.felis</i>	
Cp/H24,1999	東京	インド	<i>C.parvum</i> /Hm	
Cp/H25,2001	東京	シカゴ、ボネール、マダガスカル	<i>C.parvum</i> /Hm	
Cp/H26,2001	東京	国内	<i>C.parvum</i> /Hm	
Cp/H27,2001	東京	国内	<i>C.parvum</i> /Bv	
Cp/H28,2001	神奈川	アフリカ、ジンバブエ、マダガスカル	<i>C.parvum</i> /Dog	
Cp/H29,2001	神奈川	インド、バングラ	<i>C.parvum</i> /Bv	
Cp/H30,2001	神奈川	国内	<i>C.parvum</i> /Hm	○
Cp/H31,2001	東京	不明	<i>C.parvum</i> /Hm	
Cp/H32,2002	東京	不明	<i>C.parvum</i> /Hm	○
Cp/H33,2002	東京	渡航歴あり	<i>C.parvum</i> /Hm	
Cp/H34,2002	東京	不明	<i>C.parvum</i> /Hm	
Cp/H40,2003	東京	不明	<i>C.meleagridis</i>	
Cp/H41,2003	東京	不明	<i>C.parvum</i> /Bv	
Cp/H42,2003	東京	不明	<i>C.meleagridis</i> .	
Cp/H43,2003	東京	不明	<i>C.parvum</i> /Bv	
Cp/H44,2003	東京	不明	<i>C.parvum</i> /Hm	○
Cp/H46,2003	東京	インド	<i>C.parvum</i> /Hm	
Cp/H47,2003	東京	不明	<i>C.parvum</i> /Hm	○
Cp/H48,2003	東京	不明	<i>C.parvum</i> /Hm	○
Cp/H49,2003	東京	不明	<i>C.parvum</i> /Hm	○
Cp/H50,2003	東京	不明	<i>C.parvum</i> /Hm	○
Cp/H51,2003	東京	国内	<i>C.parvum</i> /Hm	○
Cp/H52,2004	東京	アフリカ/マダガスカル	<i>C.felis</i>	
Cp/H54,2004	東京	不明	<i>C.meleagridis</i>	

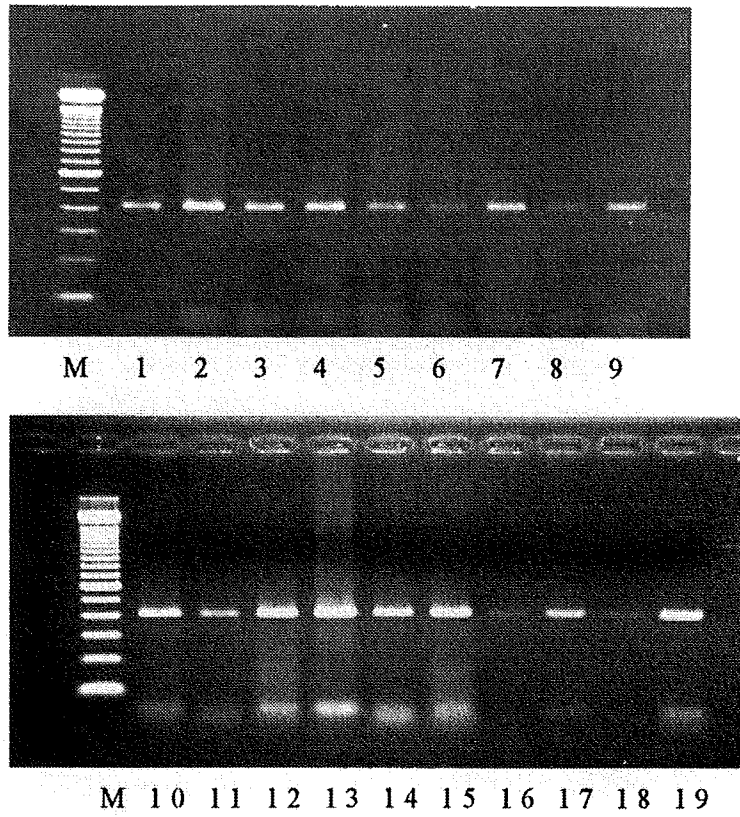
表-3、ヒト感染ジアルジアの遺伝子型

分離株	報告地	渡航歴	症状	遺伝子型 (assemblage)	備考
1	東京都	不明	不明	A	人間ドック受診
2	東京都	バングラディッシュ	無症状	B	JICA ボランティア
3	東京都	不明	無症状	A	
4	東京都	インド	無症状	A	JICA ボランティア
5	東京都	不明	無症状	A	会社勤務
6	東京都	不明	無症状	A	会社勤務
7	神奈川県	なし	下痢	A	食品工場勤務
8	千葉県	インド	下痢	B	
9	東京都	ラオス、ビエンチャン	無症状	A	JICA ボランティア
10	東京都	ウルグアイ	無症状	A	JICA ボランティア
11	東京都	不明	無症状	A	人間ドック受診
12	東京都	カナダ	無症状	A	キャンプ地の湖で飲水
13	福井県	不明	無症状	A	
14	高知県	なし	無症状	A	学校職員

表-4、動物感染ジアルジアの遺伝子型

分離株番号	宿 主			遺 伝 子 型 (assemblage)
	種 (品種)	年 齢	由 来	
D1	イヌ (チワワ)	1 歳	一般家庭 (青森県)	D
D2	イヌ (雑種)	8 歳	一般家庭 (青森県)	C
D3	イヌ (ミニチュアダックス)	1 ヶ月	一般家庭 (青森県)	A
D4	イヌ (ミニチュアダックス)	1 ヶ月	一般家庭 (青森県)	D
D5	イヌ (パピヨン)	3 ヶ月	一般家庭 (青森県)	A
D6	イヌ (シェルティー)	1 ヶ月	一般家庭 (青森県)	D
D7	イヌ (パピヨン)	1 ヶ月	一般家庭 (青森県)	D
D8	イヌ (チワワ)	3 歳	イヌ繁殖施設 a(青森県)	A
D9	イヌ (チワワ)	5 ヶ月	イヌ繁殖施設 a(青森県)	A
D10	イヌ (ヨークシャーテリア)	3 歳	イヌ繁殖施設 b(青森県)	A
D11	イヌ (ダックス)	8 ヶ月	イヌ繁殖施設 b(青森県)	A
D12	イヌ (ヨークシャーテリア)	4 歳	イヌ繁殖施設 b(青森県)	A
D13	イヌ (パピヨン)	1 歳	イヌ繁殖施設 b(青森県)	A
D14	イヌ (パピヨン)	5 ヶ月	イヌ繁殖施設 b(青森県)	A
D15	イヌ (パピヨン)	2 歳	イヌ繁殖施設 b(青森県)	A
D16	イヌ (コーギー)	1 歳	イヌ繁殖施設 c(秋田県)	D
D17	イヌ (チワワ)	1 歳	イヌ繁殖施設 d(長野県)	A
D18	イヌ (パピヨン)	3 歳	イヌ繁殖施設 d(長野県)	A/D
D19	イヌ (ヨークシャーテリア)	4 歳	イヌ繁殖施設 d(長野県)	A
D20	イヌ (ヨークシャーテリア)	3 歳	イヌ繁殖施設 d(長野県)	A
D21	イヌ (ポメラニアン)	7 歳	イヌ繁殖施設 e(新潟県)	A/D
D22	イヌ (柴犬)	7 ヶ月	イヌ繁殖施設 e(新潟県)	A
D23	イヌ (ベアデット・コリー)	2 ヶ月	イヌ繁殖施設 f(東京都)	A/D
D24	イヌ (ベアデット・コリー)	2 ヶ月	イヌ繁殖施設 f(東京都)	D
Ct1	ネコ (雑種)	8 ヶ月	一般家庭 (青森県)	F
Ct2	ネコ (雑種)	5 ヶ月	一般家庭 (青森県)	F
Ct3	ネコ (雑種)	9 ヶ月	一般家庭 (青森県)	F
M1	ニホンザル	不明	野生 (下北半島)	B
M2	ニホンザル	不明	野生 (下北半島)	B
M3	ニホンザル	不明	野生 (下北半島)	B
Cf1	ウシ	36 日 齢	g 牧場 (岩手県)	E
Cf2	ウシ	37 日 齢	g 牧場 (岩手県)	A
Cf3	ウシ	26 日 齢	g 牧場 (岩手県)	E
Cf4	ウシ	22 日 齢	h 牧場 (岩手県)	E
Cf5	ウシ	29 日 齢	h 牧場 (岩手県)	E

図-1、患者糞便試料由来 *Cryptosporidium* のポリスレオニン領域 PCR 産物の制限酵素 *Rsa1* による切断パターン



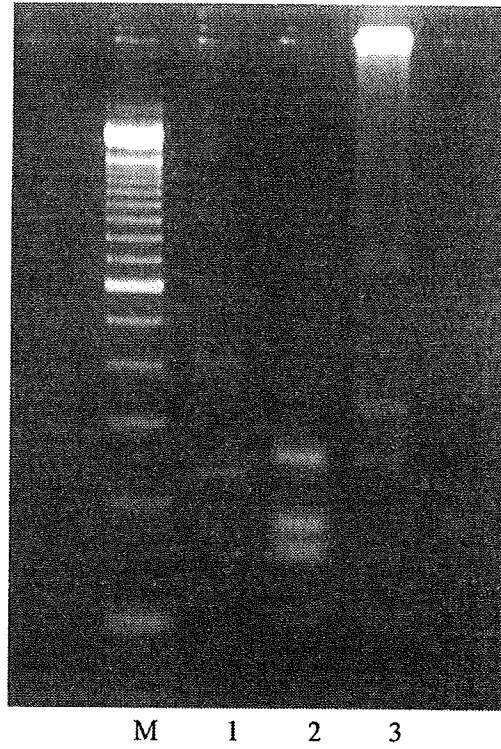
Mは100bp サイズマーカー、1-8 および 10-18 は患者材料、
9 および 19 は陽性対象であるヒト型 *C. parvum* の *Rsa1* 消化物

図-2、*Cryptosporidium* 遺伝型におけるポリスレオニン領域のシーケンスの相同性

		*	20	*	40	*	60	
Cp_animal	:	CAACAACTCAAAAACCAACAACAACAACAACAACAAGGTTCCAGGTAAGCCACCAATAG	:	60				
C_meleagridis	:G.....	:	60				
Cp_human	:G.....C.....	:	60				
sample_1	:G.....C.....	:	60				
sample_2	:G.....C.....	:	60				
		*	80	*	100	*	120	
Cp_animal	:	CCACAACAACAACAACATTTAAAGCCAATAGTTACAACAACAACAACAAGCAACAACAA	:	120				
C_meleagridis	:GT.....	:	120				
Cp_human	:G.....G.....	:	120				
sample_1	:G.....G.....	:	120				
sample_2	:G.....G.....	:	120				
		*	140	*	160	*	180	
Cp_animal	:	CAACAACAACAACAGTGCCAACGACAACACTACTACTACCAAGAGAGACGAAATGACAACAA	:	180				
C_meleagridis	:A.....T.....A.....	:	180				
Cp_human	:A.....A.....A.....T.....	:	180				
sample_1	:A.....A.....A.....T.....	:	180				
sample_2	:A.....A.....A.....T.....	:	180				
		*	200	*	220	*	240	
Cp_animal	:	CAACGA---CACCATTACCTGATATCGGTGACATTGAAATTACACCAATCCCAATTGAAA	:	237				
C_meleagridis	:A.CAA.....T.....G.....	:	240				
Cp_human	:A.CAC.....	:	240				
sample_1	:A.CAC.....	:	240				
sample_2	:A.CAC.....	:	240				
		*	260	*	280	*	300	
Cp_animal	:	AGATGTTGGATAAGTACACAAGAATGATTTATGACTATAACAGTGGTTTATTATTAGACT	:	297				
C_meleagridis	:C.....	:	300				
Cp_human	:T.....	:	300				
sample_1	:T.....	:	300				
sample_2	:T.....	:	300				
		*	320	*	340	*	360	
Cp_animal	:	CTAATGATGAACCAATTCAGGTTCTCAAGCAGGACAAATAGCTGATACAAGCAATTTAT	:	357				
C_meleagridis	:	:	360				
Cp_human	:	:	360				
sample_1	:	:	360				
sample_2	:	:	360				
		*	380	*	400	*	420	
Cp_animal	:	TCCCAGTTCAAACTCACAAGAGTACTGGTTTACCAATTGATCCAATGGTTGGTCTTCCAT	:	417				
C_meleagridis	:AC.....A.....	:	420				
Cp_human	:AC.....	:	420				
sample_1	:AC.....	:	420				
sample_2	:AC.....	:	420				
		*	440	*	460	*	480	
Cp_animal	:	TTGATCCAAAATCAGGTAATTTAGTACATCCATATACCAATCAAACAATGTCTGGTTTAT	:	477				
C_meleagridis	:G.....C.....	:	480				
Cp_human	:	:	480				
sample_1	:	:	480				
sample_2	:	:	480				

Cp animal: *Cryptosporidium parvum* の動物型
 Cp human: *Cryptosporidium parvum* のヒト型
 C meleagridis: *Cryptosporidium meleagridis*
 Sample1 and 2: 検査試料中の異なる2試料

図-3、GDH1/4 プライマーを用いた PCR 産物の DdeI 切断パターン



- M, 100bp サイズマーカー
- 1, Assemblage A(A1)
- 2, Assemblage B(B3)
- 3, Assemblage B(B3)

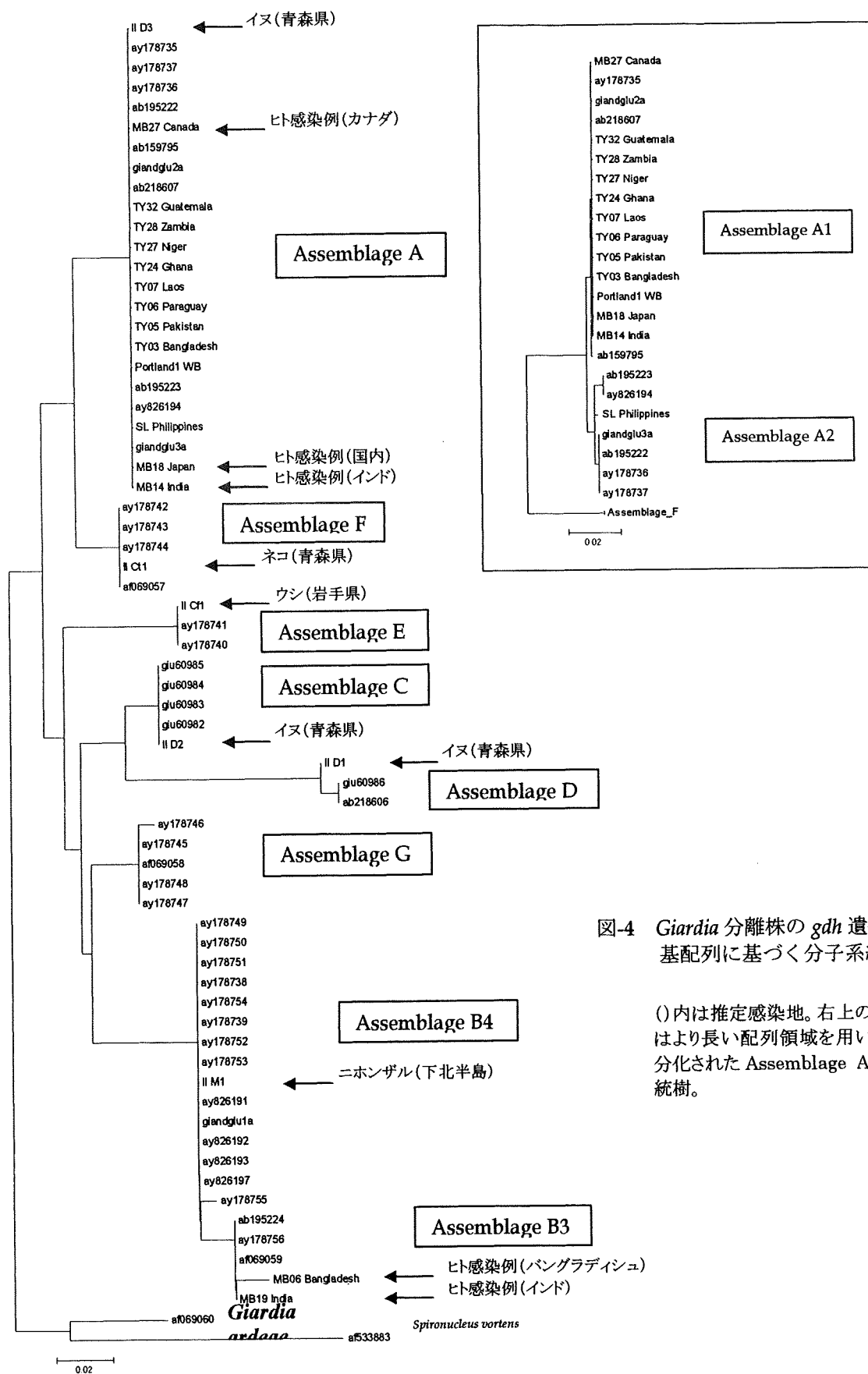
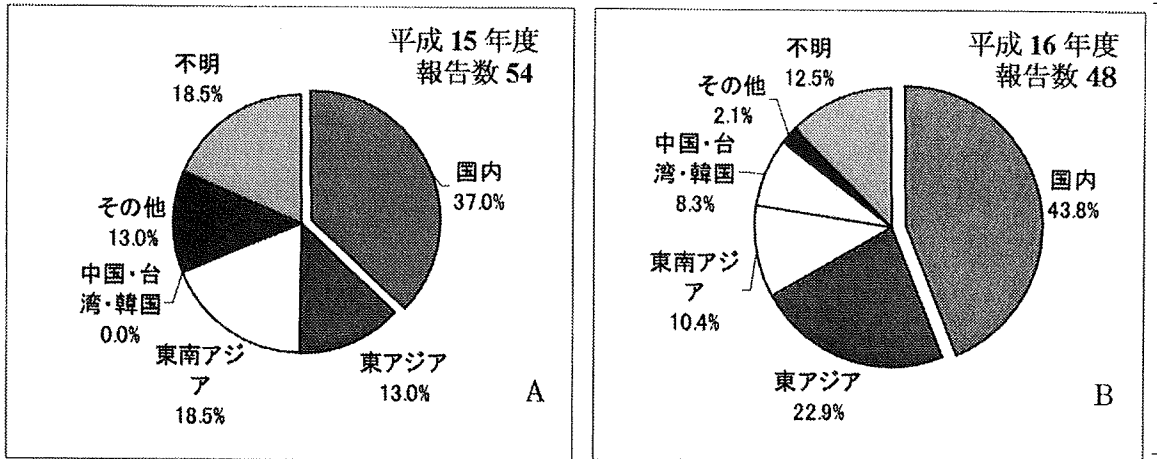


図-4 *Giardia* 分離株の *gdh* 遺伝子塩基配列に基づく分子系統樹

()内は推定感染地。右上の枠内はより長い配列領域を用いて細分化された Assemblage A の系統樹。

図-5、感染症発生動向調査 IDWR に報告された *Giardia* 症の報告数ならびに推定感染地とその割合



分担研究報告書 3

わが国で発生したクリプトスポリジウム集団感染に関する考察

分担研究者 遠藤卓郎、黒木俊郎

研究協力者 泉山信司、辻 英高

平成 16 年度厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業「クリプトスポリジウム等による水系感染症に係わる健康リスク評価及び管理に関する研究」

分担研究報告書

わが国で発生したクリプトスポリジウム集団感染に関する考察

分担研究者 遠藤卓郎	国立感染症研究所 寄生動物部
分担研究者 黒木俊郎	神奈川県衛生研究所
協力研究者 泉山信司	国立感染症研究所 寄生動物部
協力研究者 辻 英高	兵庫県立健康環境科学研究所

概要

わが国におけるクリプトスポリジウム症の集団感染は限られているが、1994 年の平塚市雑居ビルでの水系感染、1996 年の越生町の町水道を介した感染、2002 年には兵庫県の高校生が北海道旅行で罹患した例など数例が報告されており、これらの事例から情報の掘り起こしを行った。本研究ではまず短期暴露された感染者より潜伏期間に関する情報をまとめた。Log-Logistic 分布を適用した結果、平均で 6 日、中間値が 6 日、患者の 95% が 8 日まで発症していたことが明らかとなった。

次いで、上記の解析結果を利用して越生町の集団感染の原因について飲水行動の観点から解析を試みた。その結果、従来の水道原水の濁度上昇ではなく、気温の上昇に伴う飲水行動の変化が大規模な集団感染の引き金となったとする考え方に蓋然性が認められた。

A. 研究目的

クリプトスポリジウムならびにジアルジア等の耐塩素性微生物は強い環境抵抗性を示し、水道水を介した大規模集団感染を引き起こす恐れがある。このため、耐塩素性微生物による水道水汚染問題は水道行政における重要課題と位置付けられている。これらの原虫類の感染様式はいわゆる糞口感染で、当然ながら水道以外の経路も存在する。わが国の水道が本症の伝播にどの程度寄与しているかについては知られていない。

クリプトスポリジウム症ならびにジアルジア症はいずれも感染症法における 5 類感染症に位置付けられており、患者の全数把握が行われている。しかしながら、これまでの発生动向調査 (IDWR) によるとクリプトスポリジウム症の報告数は集団感染の発生年度に集中し、散发例に関する感染実態は未だ不透明な状況にある。繰り返しになるが、本症の発生に係る水道水の寄与は不明であり、疫学情報の蓄積が必要不可欠である。我々はこれまで分子疫学の導入を図り、わが国で分離されたクリプトスポリジウム株 (種) の遺伝子型別

を行ってきた。また、家畜等における保有状況について研究調査を行い、幼若な個体で高頻度に病原体が検出されることを報告した。

わが国で発生した集団感染事例は1994年の平塚市雑居ビルでの事例を初めとし、1996年の越生町の町水道を介した水系感染、2002年の兵庫県の高校生が北海道旅行した際に罹患した事例が報告されており、これらの事例を視点を変えて再検討することで有用な情報を抽出することが可能と考える。本研究ではまず潜伏期間に関する情報をまとめ、疫学調査に必須の潜伏期に関する情報を得ることとした。従来、本症の潜伏期間は平均7日、2日から10日の範囲とされてきたが(Fayer, 1997)、潜伏期間に関する情報の精度が向上すれば、クリプトスポリジウム症か否かの判断や調査範囲の限定などに有効活用することができ、迅速な対応が可能となる。

ところで、越生町の集団感染など多くの事例では降雨などによる水道水や水道原水の濁度上昇と関連させて因果関係を説明してきた。本研究では濁度と患者の発生状況を詳細に検討し、両者の間に相関が認められないことを示した。その一方、水道水において軽度の汚染が持続していたことを前提として、住民の飲水行動の変化、すなわち飲水量が増加することにより集団感染が顕在化した可能性を示す結果となった。

B. 研究方法

集団感染の資料

平塚市で1994年に発生した集団感染での暴露から発症までの時間は、保健所の聞き取り調査票に遡って再計算を行なった。越生町で1996年に発生した集団感染の資料として埼玉県衛生部により作成された報告書を引用した。潜伏期間の計算には発症日と単一の暴露日が特定されている患者を抽出して計算に用いた(表1)。越生町における患者の発生動向は報告書を再記載した(表2)。同様に、越生町の浄水場における原水濁度の測定値は報告書より得た(表3)。越生町の気象情報は、気象庁の電子閲覧室(<http://www.data.kishou.go.jp/index.htm>)より越生町に最も近い鳩山の観測値を入手し、用いた(表4)。2002年に兵庫県の高校生が経験した集団感染の資料は、兵庫県生活衛生課資料を用いた。なお、高校生の集団感染では原因が特定されておらず、発症日は聞き取り調査で明らかにされている。

飲水行動に関する資料

水道水の生水摂取に関する資料は、アンケート調査の結果を参照した(矢野ら, 2000)。ヒトの飲水行動と温度に関する資料は、統計学の教科書より得た(*Applied Linear Statistical Model, 2nd Ed. Neter, et. Al. 1985*)。ニワトリの飲水行動と温度に関する資料は、Northらの報告(1976)より得た。温度と飲料水の種類に関する資料は、経験則に基づくと考えられる大手ビール会社の内部資料より得た(キリンビールお客様相談室、私信)。

統計計算

Log-logistic 関数の最小自乗法による係数の計算は WinCurveFit (Kevin Ranar Software) を用いた。正規確率分布紙へのプロットならびにガンマ分布の計算には JMP (SAS Institute) を用いた。その他各種計算には Excel (Microsoft) を用いた。

C. 結果及び考察

潜伏期間の再計算

従来、クリプトスポリジウム症の潜伏期間は2から10日とされ、平均7日といわれていた。疫学調査にはこの潜伏期間の精度が高いほど有効であり、調査対象を限定することが可能である。本研究では3つの集団感染より短期暴露感染者の発症を再集計し、精度と確度の高い潜伏期間の計算を行った。

平塚市の集団感染では暴露直後から下痢症を呈したとする患者が多数存在した。Sartwell の提唱に従って対数正規確率紙に発症までの日数と累積発症者数をプロットすると、ごく初期の発症者を含めた場合は直線関係が得られず(図1A)、異質な集団の混在が示唆された。一般に累積患者発生数は対数正規分布確率紙上で直線性を示すことから、後半の直線性を尊重して、その傾きに影響しない日まで発症日を遡ることとした。その結果、3日目以降のデータが採用され、それ以前の患者は別の事由により発症したものとして解析から除外した(図1B)。同様の操作を兵庫県内の集団感染にも適用した(図1C、D)。この操作の正当性は越生町のデータが支持するところとなっている(図1E)。すなわち、越生のデータは16例と数は少ないものの、極めて均質で、その分布図において良好な直線性が得られている。越生町では単一暴露された患者の内、最も早い発症は5日目であった。

越生町の集団感染では8,000名を超える発症者が存在したが、その中で単一の暴露日と発症日が特定されている患者は当地への一時訪問者の16名に限定されていた(表2)。

兵庫県高校生の集団感染では未だに原因が不明であるが、追跡調査の結果、同じ宿泊施設を利用して別の集団でクリプトスポリジウム症を疑う下痢症が見出されている。このため、問題の宿泊施設に滞在した期間を暴露日とすることに妥当性があるものと判断した。高校生の団体では、宿泊地の移動が連続しており、問題の宿泊施設の滞在時間も12時間強と見積もられた。すなわち高校生らの行動は、2月22日の夕方から夜にかけて施設に到着し、次の朝に出発するものであった。そのため、正確な暴露日は特定できず、発症までの日数を問わず、発症者数の推移のみを図に表すこととした。

上記より再集計した発症までの期間と集団に占める割合を1つの図に重ねて示した(図2)。ここではガンマ分布による適合を試みて分布の曲線を示した。3つの集団ともに一峰性の分布を示し、平塚市と越生町の発症までの期間のピークはほぼ6日であった。これまでの報告では、平塚市の集団感染における潜伏期間の最頻値が5日となる図が示されていた(黒木ら、1996)。これは時間単位で集計された値を日数に換算した結果で、本研究では暴露時

間が午後の 20 時であったとしてもその日を 0 日として発症日までの日数を計数した。そのため、翌日の午前中に発症した場合、前者の計算方法では当日の発症とみなされ、該当者らの日単位による計算方法では 1 日となる。ここでガンマ分布の形状と尺度は、平塚市の集団感染 (22.9、0.266)、越生町の集団感染 (85.4、0.0747)、兵庫県高校生の集団感染 (29.9、0.215) と算出された。兵庫県の集団感染における分布様式は他の集団感染と酷似することから、兵庫県集団感染の中央値を 6 日に合わせると、2 月 23 日が暴露日と推定された。

次いで、Log-logistic 関数による解析を行った。ちなみに、対数正規分布あるいはガンマ分布等の非線形分布は単純な関数で表現されるものではなく、シミュレーション等への応用を考えると計算は容易ではない。Log-logistic 関数は対数正規分布に近似し、単純な数式で表現され実用的であること等の利点がある (Yang, 2003)。本研究でも 3 つの集団感染に対して Log-logistic 分布の式 ($p=1-1/(1+(a*x)^b)$)、累積発症確率 : p 、潜伏期間 : x) に WinCurveFit ソフトウェアを用いて係数 (a 、 b) を求めたところ、平塚市の集団感染 (0.181、8.75)、越生町の集団感染 (0.172、16.7)、兵庫県高校生の集団感染 (0.171、11.2) と算出された (図 3)。このとき潜伏期間の中央値 (累積発症確率 50%) は平塚市集団感染で 5.5、越生町集団感染で 5.8、兵庫県高校生集団感染で 5.9 日であった。累積発症確率 5% はそれぞれ順に 3.9 日、4.9 日、4.5 日、95% は 7.7 日、7.0 日、7.6 日となり、患者の 95% は遅くとも 8 日以内に発症していたことが明らかとなった。

以上の結果より、我が国におけるクリプトスポリジウム症の潜伏期間は 6 日、90% の発症者における潜伏期間の範囲は 4 日から 8 日であった。これは従来の平均 7 日、2 から 10 日に比較するとより精度の高い値といえる。これらの結果は集団感染等での疫学調査に反映され、有効に機能するものと期待される。なお、平塚市では *C. parvum* ウシ型、後者 2 事例は *C. parvum* ヒト型による感染であり、潜伏期間の差異に興味を持たれたが、これまでの解析では遺伝子型、患者の年齢、性別等の影響は見られていない。

濁度との相関

越生町での集団感染は、5 月 25 日の原水の高濁度を期に発生したものと説明されてきた。しかしながら、後述のように、濁度との相関、すなわち水道水中のオーシストの数との相関で説明するには必ずしも十分な状況証拠が揃っているわけではない。本研究では水道水を介して大規模な集団感染に発展する状況について濁度とは別の視点で検討を行い、感染の機会を増加させる要素について考察した。

集団感染の流行曲線を精査すると、大多数の患者は 6 月以降に集中しており、いわゆる集団感染は 6 月 1 日頃から始まったと説明されてきた。しかしながら、報告書によると、それ以前の 5 月初旬より下痢症患者は 1 日あたりで 0 から 43 人が報告されている (表 2、図 4)。越生町の人口 13,832 人 (調査票回収 12,345 人) に対してその数は無視できないもので、平常からはかけ離れた状況が生じていたものと判断された。なお、6 月以前の患者に関

しては調査対象となっておらず、クリプトスポリジウム検査は実施されていない。当該研究では、感染の真偽は不明ながらこれらを感染者として扱った。なお、アンケート調査による発症者数は、いわゆる 5・10 日に集中する傾向にあった。これはアンケートの設問が「時期は 月 日ごろから 月 日ごろ」となっており、厳密な発症日の回答を求めていなかったこと、また調査が 7 月に入ってから行なわれており、記憶が不鮮明であったと考えられること等から回答にバイアスが生じたものと判断した。そこで、5 日の移動平均を併せて表示することとした。

従来の説明に沿って流行曲線に水道原水における濁度測定の最高値を重ねて表示すると、5 月 25 日に発生した高濁度に続いて集団感染の大規模な患者発生が続いている (図 5A)。ここで、潜伏期間と取水、浄水処理、給水等に要する時間を考慮し、濁度のみを右に 7 日分移動した結果、高濁度のピークは 100 人弱の患者が発生した 6 月 1 日と一致した (図 5B)。ところで、高濁度の水道水は一過性に供給されたもので、それ以降は正常に回復している。したがって、濁度上昇 (それに伴うオーシスト数の増加) がすべての原因だとすれば、期待される患者発生は潜伏期間の検討で得られたような単峰性のピークとなることが予想される (図 6)。ところが実際の患者発生は一過性に終わらず、6 月 1 日以降も増加を続けており、7 日前 (5 月 25 日) に発生した濁度上昇だけでは説明できない状況が続いていた。さらに、集団感染の期間を通して濁度と患者発生数との相関を検証した。すなわち、潜伏期間を 6 日間、浄水処理から配水に要する時間を 1 日とし、原水濁度の測定日から 7 日後の患者発生数との間で相関を検討した (図 7)。図 7A および図 7D に示すとおり、最高濁度、平均濁度のいずれとも患者発生数との間に相関はみとめられなかった。さらに、潜伏期間は変化しないものとし、各家庭までの配水に要する時間を 2 日 (図 7B,E) ないし 3 日間 (図 7C,F) まで延ばして検討したが両者の間に相関は認められなかった。

温度と飲水行動

気象庁の記録によれば、越生町の 5 月下旬から 6 月にかけて気温の変化が著しく、最高気温が移動平均で 20℃前後から 25℃を超える時期へと変化していた (図 8A)。気温のプロットを潜伏期間の 6 日分だけ移動させて流行曲線に重ねると、最高気温が 25℃を超えた時期と発症者が拡大した時期が符合した (図 8B)。気温の上昇に伴って生水の摂取が増加すれば暴露の機会を増大をきたすことは十分に推測されることである。図 9 に潜伏期間である 6 日間を考慮して、6 日前の最高気温と患者発生数と気温と患者発生の関係を示した。その結果、一日の最高気温が 25℃を超えた 6 日後にほぼ例外なく患者が発生していた。すなわち 25℃を境とした閾値が存在することが判明した。

気温とヒトの飲水行動の関係は文献的にすでに明らかで、両者には直線的な相関関係が存在しており、気温の上昇とともに飲水量が増加した (図 10) (Neter, et. al. 1985)。このような飲水行動はヒトに限らず、ニワトリや豚などの家畜でも同様の結果が報告されており (図 11)、25℃付近から急激に飲水量が上昇する変極点が存在している。これらの情報に

加え、大手ビール会社の資料によると、一般に 25℃未満ではコーヒーなどの嗜好性の高い温飲料が好まれるが、25℃を超えると温飲料は敬遠され、ジュースなど冷たい飲み物に変化する（表 5）。さらに気温が 28℃を超えるとつばら水分補給に変わることが知られている。そこで、これらの条件を当時の越生町に当てはめると以下の状況が想定される。すなわち、当地では 5 月 24 日までの一日の最高気温は 25℃未満であったことから、それ以前に生水が積極的に飲まれる状況は生じていなかったと判断される。一方、24 日を境に気温は上昇に転じており、それ以降は生水が飲まれる状況が生じていたことが推定された。水道水の飲水量に関する調査結果では、今日の一般市民は水道の生水を摂取する機会は少なく、その量は夏季（6～8 月）の調査で 1 日あたり平均 200ml 程度であることが報告されている（図 12、矢野ら、2000）。一方、積極的に生水を摂取しない期間にあっても一切の摂取がないわけではなく、生野菜（サラダ）の喫食（表 6）、あるいは食器類に付着した水、歯磨きなどの行為を通じた間接的な摂取が考えられる。これらの間接接種量を 1 日当たり 20ml 未満と推定した。すなわち、当該研究では最高気温が 25℃を超えた 5 月 24 日以降、住民 1 人当たり 1 日に 200ml の水道水を直接摂取したものとし、それ以前には生野菜等に付着した生水の量として間接的に 1 日当たり 20ml を摂取したと仮定した。

集団感染に必要なオーシスト数の推定

上述の仮定を基に、集団感染の発生に必要なオーシスト数を推定した。なお、アンケート回答者は 12,345 人、発症者は 8,812 人であった。このうち発症日を回答したのは 8,294 人であった。以降の発症確率の計算は 8,294 人に対して行なうことから、その母数を単純比例計算で求めた。すなわち計算上の越生町の人口は、アンケート回答者 12,345 人に発症日の回答があった人の割合 0.94（発症日の回答があった 8,294 人/発症日不明を含む発症者 8,812 人）を乗じて求めた 11,619 人とした。

最初に、上述の越生町の人口 11,619 人から毎日の発症者数を引いて未感染者数（健常者数）を算出し、続いて未感染者数に対する発症者の割合より連日の感染発症確率を求めた（式 A）。

$$P_d = \frac{O_d}{H_d} \quad (\text{式 A})$$

ここで P は感染確率、O は発症者数、H は健常者数、d は期間中の特定の 1 日を表し、5 月 1 日から 6 月末日まで計算を行った。

次に、感染確率より摂取したオーシスト数を求めた（式 B）。

$$x_d = -\frac{\ln(1 - P_d)}{r} \quad (\text{式 B})$$

式 B は、オーシストと感染率の関係を表す Haas の式(式 B)を変形したものである (Haas, et al、1996)。

$$P_d = 1 - e^{-rx_d} \quad (\text{式 B'})$$

ここで x は摂取オーシスト数を表す。係数 r には 0.09 (EPA、2003) を用いた。すなわち、この式ではオーシストを 1 コ摂取した場合の感染率を 9% とした。飲水量は前述の仮定に従い (最高気温 < 25°C で 20ml、最高気温 ≥ 25°C で 200ml)、摂取オーシスト数と飲水量から水道水中のオーシスト濃度を求めた (式 C)。

$$C_d = \frac{x_d}{V_d} \quad (\text{式 C})$$

ここで、 C は水道水中のオーシスト濃度、 V は飲水量である。これらの式を用いて 5 月 25 日前後の水道水中のオーシスト濃度を計算すると、1L あたりおおむね 0.5 個と計算された (図 13)。この計算によると、患者発生が顕著に増加した 6 月 1 日前後において、水道水中のオーシスト濃度が劇的に変化することはなかった。一方、5 月中の患者発生数は一日あたり 0 から 43 人であるのに対し、移動平均で 6 月 1 日の 50 名から 5 日の 150 名へと大幅に増加している。水道水中のオーシストの濃度が同じであっても、飲水量が増加すれば患者数が増加することは当然の帰結である。従来は水系感染における感染リスクとして飲料水中のオーシスト量のみに着目されており、飲水行動、飲水量の変化をもとに解析した例はなかったと記憶する。越生町の水道においては下水の排出口が浄水の取水口の近傍上流に位置しており、水道で感染した患者が下水を介して水道をさらに汚染したことでさらに規模が拡大したことは埼玉県の報告書の指摘する通りである。

D. 結論

短期暴露された感染者より潜伏期間に関する情報をまとめた。Log-Logistic 分布を適用した結果、平均で 6 日、中間値が 6 日、患者の 95% が 8 日まで発症していたことを明らかにした。次いで、越生町の集団感染について飲水行動の観点から解析を試みた。本報告では、