

Fig. 4. Alignment of the GDH gene diagnostic fragments generated with primers GDHF3 and GDHB5 for the isolates from dogs and the strains found to be of Assemblage A, B, C, or D. Dots indicate bases that are identical to the strain Ad-136 bases. The GenBank accession number for each strain of *G. intestinalis* is as follows: Ad-136 (U60982), Ad-137 (U60983), Ad-141 (U60984), Ad-147 (U60985), Ad-148 (U60986), Ad-1 (L40509), Ad-2 (L40510), Ad-7 (L40508), and BAH-12 (AF069059). Ad-136, 137, 141, 147 and Ad-148 were found to have the dog-specific genotypes, Assemblage C and D respectively. Ad-1, 2 and Ad-7, BAH-12 were found to have the zoonotic genotypes, Assemblage A and B respectively. The sequences of the isolates (B-D) were identical to that of isolate A. The sequence of the forward or reverse primer is underlined. The different sequence site between the isolate A and Ad-148 (Assemblage D) is boxed.

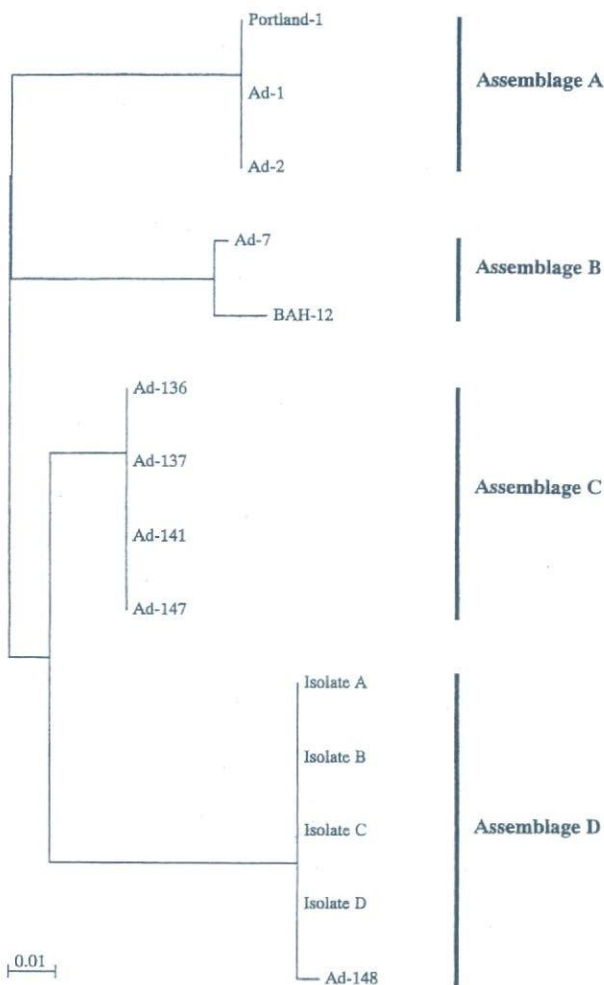


Fig. 5. Phylogram of the 4 isolates (A-D) from dogs, Portland-1, and 9 previously published strains from the GenBank, based on 281 nucleotide sequences of the GDH gene region constructed using the neighbor-joining method. GenBank accession numbers for 9 strains are the same in Fig. 4.

strain Ad-148. The sequence of the isolates from dogs examined was variant from Ad-148 sequence at only one nucleotide position 134 (T→C) (Fig. 4), but clustered with Ad-148 found to be Assemblage D by phylogenetic analysis (Fig. 5). Therefore, we firstly confirmed the presence of variant in Assemblage D. In the present study, we revealed the genotype of *Giardia* isolates in Japan, and showed that direct sequencing of the PCR product amplified with the primer pair GDHF3 and GDHB5 was a useful tool for distinguishing between the zoonotic and dog-specific genotypes.

## REFERENCES

1. Abe, N., Kimata, I. and Iseki, M. 2002. Identification of genotypes of *Cryptosporidium parvum* isolates from a patient and a dog in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* **64**: 165–168.
2. Arashima, Y., Kumasaka, K., Kawano, K., Asano, R., Hokari, S., Murasugi, E., Iwashita, E., Nishikawa, S. and Matsuo, K. 1992. Studies on the giardiasis as the zoonosis III. Prevalence of *Giardia* among the dogs and the owners in Japan. *J. J. A. Inf. D.* **66**: 1062–1066.
3. Asano, R., Horiki, S., Murasugi, E., Arashima, Y., Kubo, N. and Kawano, K. 1991. Studies on the giardiasis as the zoonosis II. Giardiasis in dogs and cats. *J. J. A. Inf. D.* **65**: 157–161.
4. Ey, P. L., Mansouri, M., Kulda, J., Nohynkova, E., Monis, P. T., Andrews, R. H. and Mayrhofer, G. 1997. Genetic analysis of *Giardia* from hoofed farm animals reveals artiodactyl-specific and potentially zoonotic genotypes. *J. Euk. Microbiol.* **44**: 626–635.
5. Homan, W. L., Gilling, M., Bentala, H., Limper, L. and Van Knapen, F. 1998. Characterization of *Giardia duodenalis* by polymerase-chain-reaction fingerprinting. *Parasitol. Res.* **84**: 707–714.
6. Hopkins, P. M., Constantine, C. C., Groth, D. A., Wetherall, J. D., Reynoldson, J. A. and Thompson, R. C. A. 1999. PCR-based DNA fingerprinting of *Giardia duodenalis* isolates using the intergenic rDNA pacer. *Parasitology* **118**: 531–539.
7. Hopkins, R. M., Meloni, B. P., Groth, D. M., Wetherall, J. D., Reynoldson, J. A. and Thompson, R. C. A. 1997. Ribosomal RNA sequencing reveals differences between the genotypes of *Giardia* isolates recovered from humans and dogs living in the same locality. *J. Parasitol.* **83**: 44–51.
8. Itoh, N., Muraoka, N., Aoki, M. and Itagaki, T. 2001. Prevalence of *Giardia lamblia* infection in household dogs. *J. J. A. Inf. D.* **75**: 671–677.
9. Mayrhofer, G., Andrews, R. H., Ey, P. L. and Chilton, N. B. 1995. Division of *Giardia* isolates from humans into two genetically distinct assemblages by electrophoretic analysis of enzymes encoded at 27 loci and comparison with *Giardia muris*. *Parasitology* **111**: 11–17.
10. Meloni, B. P., Lymbery, A. J. and Thompson, R. C. A. 1995. Genetic characterization of isolates of *Giardia duodenalis* by enzyme electrophoresis: implications for reproductive biology, population structure, taxonomy, and epidemiology. *J. Parasitol.* **81**: 368–383.
11. Monis, P. T., Andrews, R. H., Mayrhofer, G., Mackrill, J., Kulda, J., Isaac-Renton, J. L. and Ey, P. L. 1998. Novel lineages of *Giardia intestinalis* identified by genetic analysis of organisms isolated from dogs in Australia. *Parasitology* **116**: 7–19.
12. Monis, P. T., Mayrhofer, G., Andrews, R. H., Homan, W. L., Limper, L. and Ey, P. L. 1996. Molecular genetic analysis of *Giardia intestinalis* isolates at the glutamate dehydrogenase locus. *Parasitology* **112**: 1–12.
13. Saitou, N. and Nei, M. 1987. The neighbor joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* **4**: 406–425.
14. Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. and Higgins, D. G. 1997. The CLUSTAL X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucl. Acids Res.* **25**: 4876–4882.
15. Thompson, R. C. A., Hopkins, R. M. and Homan, W. L. 2000. Nomenclature and genetic groupings of *Giardia* infecting mammals. *Parasitol. Today* **16**: 210–213.
16. Van Keulen, H., Feely, D. E., Macechko, P. T., Jarroll, E. L. and Erlandsen, S. L. 1998. The sequence of *Giardia* small subunit rRNA shows that voles and muskrats are parasitized by a unique species *Giardia microti*. *J. Parasitol.* **84**: 294–300.



## SHORT COMMUNICATION

Niichiro Abe · Motohiro Iseki

# Identification of genotypes of *Cryptosporidium parvum* isolates from ferrets in Japan

Received: 9 September 2002 / Accepted: 11 November 2002 / Published online: 17 January 2003  
© Springer-Verlag 2003

**Abstract** Recent molecular studies show that *Cryptosporidium parvum* is composed of at least eight genotypes including zoonotic genotypes. Therefore, it is important to screen the genotypes of the isolates harbored in animals for the control of human cryptosporidiosis. The ferret is a popular pet, but also a reservoir of *Cryptosporidium*. Since the infectivity of zoonotic genotypes in ferrets remains unclear, there is a possibility these hosts harbor zoonotic genotypes. In the present study, we examined the genotypes of *C. parvum* isolates from ferrets in Japan using polymerase chain reaction direct sequencing. The sequences of the isolates examined clustered with the ferret-adapted genotype (ferret genotype). Our study suggests that ferrets harbor the ferret genotype which is conserved across geographical areas. Further study is required to determine whether ferrets are a significant reservoir for human cryptosporidiosis.

*Cryptosporidium* is a protozoan parasite that is ubiquitous within its geographic distribution and the range of its vertebrate hosts. In humans and many other mammals, *Cryptosporidium parvum* is recognized as a significant pathogen, primarily as a cause of acute, severe

diarrheal illness. Recent molecular studies indicate that *C. parvum* is not a single uniform species but is composed of at least eight distinct genotypes which are morphologically identical (human, monkey, cattle, mouse, dog, pig, marsupial, and ferret) (Morgan et al. 2000; Xiao et al. 2000a). Molecular epidemiological studies show that the human genotype has been found only in humans, while the cattle genotype has been found in humans, as well as domestic livestock such as cattle, sheep, and goats (McLauchlin et al. 2000; Morgan et al. 2000; Guyot et al. 2001). Therefore, the cattle genotype is generally recognized as being zoonotic. On the other hand, the monkey, mouse, dog, pig, marsupial, and ferret genotypes have been found only in their respective hosts (Morgan et al. 2000), although a few asymptomatic cases of infection with the dog or pig genotype have been reported in humans (Xiao et al. 2001, 2002). Recently, the cattle genotype, which is pathogenic to humans, was also detected in a domestic dog and pigs (Morgan et al. 1999; Fayer et al. 2001). Therefore, it is possible that the cattle genotype might be harbored in a variety of animals. In Japan, the ferret is a popular companion and sold in many pet shops, but a survey of zoonotic pathogens in ferrets has not been performed. In addition, only a few *Cryptosporidium* isolates from ferrets have been genotyped (Xiao et al. 1999, 2000b; Sulaiman et al. 2000). In the present study, we obtained three isolates from ferrets in a pet shop in Japan, and identified the genotypes of the isolates by polymerase chain reaction (PCR) direct sequencing.

Fecal samples were collected from three ferrets exhibited at a pet shop in the city of Kanazawa, Japan. These animals showed no clinical symptoms, such as diarrhea, when the fecal samples were collected. The concentration of the *Cryptosporidium* oocysts from fecal samples and the extraction of DNA from oocysts were performed by the method reported previously by Abe et al. (2002a, 2002b). *Cryptosporidium* diagnostic fragments were amplified by PCR with the following primer pairs targeting the different gene loci: *cry15* and *cry9* for the *Cryptosporidium* oocyst wall protein (COWP) gene

N. Abe (✉)  
Department of Microbiology,  
Osaka City Institute of Public Health and Environmental  
Sciences, Tennoji-ku, 543-0026, Osaka, Japan  
E-mail: n.abe@iphes.city.osaka.jp  
Tel.: +81-6-67718331  
Fax: +81-6-67720676

M. Iseki  
Department of Parasitology,  
Graduate School of Medical Science,  
Kanazawa University, Takara-machi,  
920-8640, Kanazawa, Japan



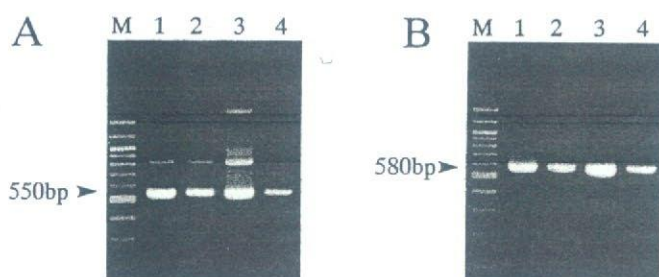
(Xiao et al. 2000b), and *chsp1* and *chsp4* for the *Cryptosporidium* heat shock protein 70 (HSP70) gene (Gobet and Toze 2001). Both areas amplified with the primer pairs include a variable region which can be used to distinguish among *Cryptosporidium* species as well as *C. parvum* genotypes (Xiao et al. 2000b; Gobet and Toze 2001). PCR amplification was performed in a volume of 50  $\mu$ l containing 1 $\times$  PCR buffer, 2 mM  $MgCl_2$ , 250  $\mu$ M of each dNTP, 0.5  $\mu$ M of each primer, 1.25 units of Ex Taq DNA polymerase (TAKARA Shuzo, Otsu, Japan), and 5  $\mu$ l of the DNA sample. We used the PCR buffer and dNTP mixture supplied with Ex Taq DNA polymerase. Reactions were performed on a GeneAmp PCR System 9700 thermocycler (PerkinElmer, Foster City, Calif.). Samples were denatured at 94°C for 3 min, and then subjected to 40 cycles of 94°C for 30 s, 55°C for 30 s, and 72°C for 60 s, followed by a final extension at 72°C for 7 min. The annealing temperature was changed from 55°C to 56°C in case of the PCR with the primer pair *chsp1* and *chsp4*. The DNA of *C. parvum* strain HNJ-1, originating from a patient, was used as a posi-

tive control. This strain has the cattle genotype (Abe et al. 2002a). Amplification products were subjected to electrophoretic separation using 3% agarose gels, stained with ethidium bromide, and visualized on a UV transilluminator.

The PCR products were gel purified using a QIAquick Gel Extraction kit (QIAGEN, Hilden, Germany), and sequenced using an ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing FS Ready Reaction kit (Perkin Elmer) on an automated sequencer (ABI PRISM 310 model; Perkin Elmer). PCR products were sequenced in both directions using each primer pair mentioned above. The nucleotide sequences of the isolates were aligned by Clustal-X (version 1.63b; December 1997). The COWP or HSP70 sequences of the isolates obtained in the present study were compared with sequences previously obtained from the ferret genotype and other cryptosporidial parasites (Sulaiman et al. 2000; Xiao et al. 2000b), and the phylogram was created using the neighbor-joining method (Saitou and Nei 1987).

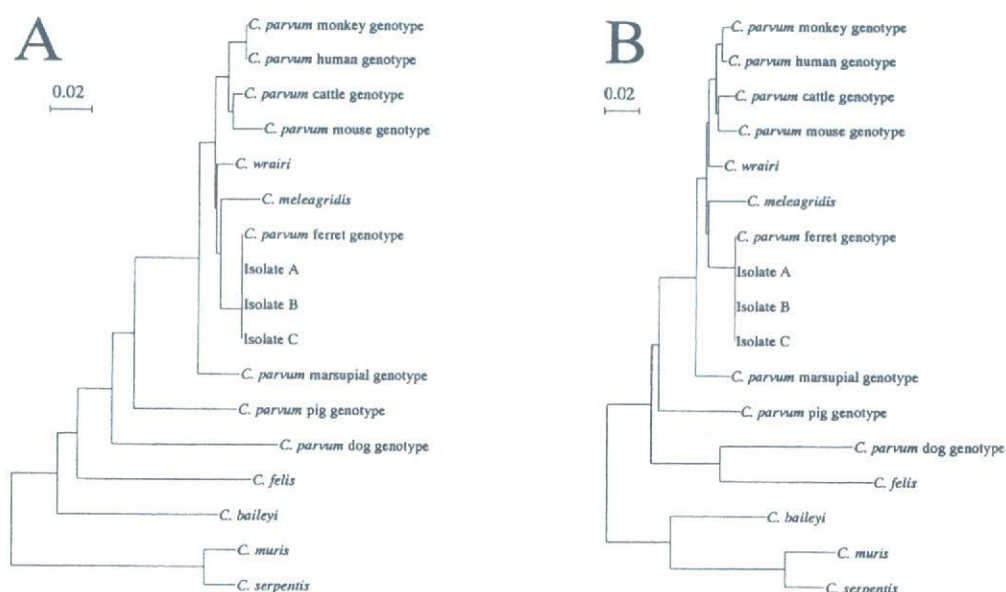
As shown in Fig. 1, *Cryptosporidium* diagnostic fragments, approximately 550 bp in the COWP gene (Fig. 1A), or 580 bp in the HSP70 gene (Fig. 1B), were amplified by PCR with each primer pair in all isolates from ferrets as well as from strain HNJ-1. The sequences of the COWP or HSP70 genes of the isolates from ferrets were identical, and clearly clustered with the isolate known to have the ferret genotype (Fig. 2) (Sulaiman et al. 2000; Xiao et al. 2000b). Therefore, the three isolates examined in the present study were identified as the ferret genotype of *C. parvum*.

The first case of cryptosporidial infection in ferrets was reported in 1988 in the United States (Rehg et al. 1988). However, the species and genotypes of the isolates were not identified because the examination was performed only by histopathological methods (Rehg et al. 1988). Since then, the genotypic analysis of ferret-



**Fig. 1A, B** Detection of *Cryptosporidium* specific fragments by PCR. The **A** COWP and **B** HSP70 genes were amplified with the primer pair *cry15* and *cry9* or *chsp1* and *chsp4*, respectively. Lanes: **M**, molecular marker (100 bp ladder); **1**, *C. parvum* strain HNJ-1; **2–4**, isolates from the ferrets (**A–C**). Each arrowhead shows the *Cryptosporidium* diagnostic fragment amplified by PCR

**Fig. 2** Phylogram of the three isolates (**A–C**) from ferrets and cryptosporidial organisms including genotypes previously published (Sulaiman et al. 2000; Xiao et al. b), based on the sequences of the **A** COWP or **B** HSP70 gene region constructed using the neighbor-joining method





derived *Cryptosporidium* isolates has been performed for only about five isolates from the United States, and all isolates examined were found to have the ferret genotype (Xiao et al. 1999, 2000b; Sulaiman et al. 2000). These studies, together with the present study, suggest that ferrets harbor the ferret genotype and that this genotype is conserved across geographical areas. Cross-transmission studies showed that dogs, cats, mice, pigs, rabbits, rats, and chickens, can be infected with the cattle-derived isolates, but the isolates from cattle were not genotyped (Fayer and Ungar 1986). In addition, recent molecular epidemiological studies have shown the presence of the cattle genotype in a dog (Fayer et al. 2001). Further molecular epidemiological studies or the use of experimental infection with the cattle genotype in ferrets is required to confirm whether these animals could act as a significant reservoir for human cryptosporidiosis.

At present, the pathogenicity of the ferret genotype is unclear because clinical data on the original hosts of each isolate genotyped were not provided (Xiao et al. 1999, 2000b; Sulaiman et al. 2000). On the other hand, it was suggested that the cause of ferret deaths on a farm was related to infection with *Cryptosporidium* organisms (Rehg et al. 1988). However, in that study, the dead animals had received dexamethasone daily and the other ferrets infected with *Cryptosporidium* showed no clinical symptoms. Moreover, the isolates from the dead animals were not genotyped. Therefore, it is unclear whether the cause of death was infection with the ferret genotype. In the present study, the ferret genotype appeared to be non-pathogenic in ferrets since the three animals infected showed no clinical symptoms. Further study is required to fully understand the veterinary significance of the ferret genotype in ferrets.

## References

- Abe N, Kimata I, Iseki M (2002a) Identification of genotypes of *Cryptosporidium parvum* isolates from a patient and a dog in Japan. *J Vet Med Sci* 64:165–168
- Abe N, Sawano Y, Yamada K, Kimata I, Iseki M (2002b) *Cryptosporidium* infection in dogs in Osaka, Japan. *Vet Parasitol* 108:187–195
- Fayer R, Ungar BLP (1986) *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. *Microbiol Rev* 50:458–483
- Fayer R, Trout JM, Xiao L, Morgan UM, Lal AA, Dubey JP (2001) *Cryptosporidium canis* n. sp. from domestic dogs. *J Parasitol* 87:1415–1422
- Gobet P, Toze S (2001) Sensitive genotyping of *Cryptosporidium parvum* by PCR-RFLP analysis of the 70 kilodalton heat shock protein (HSP70) gene. *FEMS Microbiol Lett* 200:37–41
- Guyot K, Follet-Dumoulin A, Lelièvre E, Sarfati C, Rabodonirina M, Nevez G, Cailliez JC, Camus D, DeiCas E (2001) Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates obtained from humans in France. *J Clin Microbiol* 39: 3472–3480
- McLauchlin J, Amar C, Pedraza-Díaz S, Nichols GL (2000) Molecular epidemiological analysis of *Cryptosporidium* spp. in the United Kingdom: results of genotyping *Cryptosporidium* spp. in 1,705 fecal samples from humans and 105 fecal samples from livestock animals. *J Clin Microbiol* 38:3984–3990
- Morgan UM, Buddle JR, Armson A, Elliot A, Thompson RCA (1999) Molecular and biological characterization of *Cryptosporidium* in pigs. *Aust Vet J* 77:44–47
- Morgan UM, Xiao L, Fayer R, Lal AA, Thompson RCA (2000) Epidemiology and strain variation of *Cryptosporidium parvum*. *Contrib Microbiol* 6:116–139
- Rehg JE, Gigliotti F, Stokes DC (1988) Cryptosporidiosis in ferrets. *Lab Anim Sci* 38:155–158
- Saitou N, Nei M (1987) The neighbor joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 4:406–425
- Sulaiman IM, Morgan UM, Thompson RCA, Lal AA, Xiao L (2000) Phylogenetic relationships of *Cryptosporidium* parasites based on the 70 kilodalton heat shock protein (HSP70) gene. *Appl Environ Microbiol* 66:2385–2391
- Xiao L, Morgan UM, Limor J, Escalante A, Arrowood M, Shulaw W, Thompson RCA, Fayer R, Lal AA (1999) Genetic diversity within *Cryptosporidium parvum* and related *Cryptosporidium* species. *Appl Environ Microbiol* 65:3386–3391
- Xiao L, Morgan UM, Fayer R, Thompson RCA, Lal AA (2000a) *Cryptosporidium* systematics and implications for public health. *Parasitol Today* 26:287–292
- Xiao L, Limor J, Morgan UM, Sulaiman IM, Thompson RCA, Lal AA (2000b) Sequence differences in the diagnostic target region of the oocyst wall protein gene of *Cryptosporidium* parasites. *Appl Environ Microbiol* 66:5499–5502
- Xiao L, Bern C, Limor J, Sulaiman I, Roberts J, Checkley W, Cabrera L, Gilman RH, Lal AA (2001) Identification of 5 types of *Cryptosporidium* parasites in children in Lima, Peru. *J Infect Dis* 183:492–497
- Xiao L, Bern C, Arrowood M, Sulaiman I, Zhou L, Kawai V, Vivar A, Lal AA, Gilman RH (2002) Identification of the *Cryptosporidium* pig genotype in a human patient. *J Infect Dis* 185:1846–1848

## 話題の感染症

## クリプトスポリジウムの最近の知見

Recent progress in *Cryptosporidium* research

黒木 俊郎<sup>1)</sup> 泉山 信司<sup>2)</sup> 遠藤 卓郎<sup>2)</sup>  
 Toshiro KUROKI Shinji IZUMIYAMA Takuro ENDO

## 要 旨

クリプトスポリジウムは世界中に広く分布しており、種々の動物の消化管に寄生し、ヒトを含めた一部の動物で下痢症の原因となっている。免疫不全者では重篤な下痢症を惹起し、本原虫に対する有効な治療法がないために時として致死性的となる。さらに本原虫のオーシストは強い塩素耐性を示すために、しばしば水道を介した集団下痢症を引き起こしている。こうしたことから、クリプトスポリジウムは臨床あるいは公衆衛生的に現在最も注目される原虫となっている。

近年、クリプトスポリジウムの研究にも遺伝学的手法が盛んに取り入れられ、DNA レベルでの解析が行われており、すでに全ゲノムの塩基配列も明らかにされている。こうした技術や情報が普及することで、各種遺伝子の塩基配列の相違と生物学的特徴に基づいてクリプトスポリジウム属の種の同定や型別を比較的容易に行うことができるようになってきている。

## はじめに

クリプトスポリジウムは20世紀初頭に発見され、その宿主域と病原性が徐々に明らかにされながら現在に至っている。すなわち、Tyzzer が1907年にマウスの胃に寄生する原虫を *Cryptosporidium muris* と命名した<sup>1)</sup>。次いで、1912年にマウスの小腸から *C. parvum* を報告した<sup>2)</sup>。その後、1970年代に

は家畜への病原性が示され、1976年には *C. parvum* が正常な女児と免疫不全患者から分離され<sup>3,4)</sup>、ヒトでの病原性が明らかにされた。その後しばらくは、日和見感染症としてもっぱら免疫不全患者の慢性下痢症の原因とされていたが、1983年の水道を介した集団感染を契機として健常者においても多くの症例が見出されるようになり、現在では小児下痢症、渡航者下痢症、人獣共通感染症あるいは水系感染症の病原体として重要視されるに至っている。

## I. クリプトスポリジウムの生物学

クリプトスポリジウムは孢子虫類に属する偏性細胞寄生性原虫であり、哺乳類から鳥類、爬虫類あるいは魚類まで広い範囲の脊椎動物に寄生がみられる。寄生部位の上皮細胞に虫嚢を形成し、その内部で無性生殖を行って増殖する。やがて有性生殖期に移行して、オーシスト壁と呼ばれる殻をかぶったオーシスト(写真1)が形成されて便とともに外界に排出される。オーシストにはバナナ状の形態をした4個体のスポロゾイトが入っている。排出された時点で感染力を持つが、環境中で増殖することはない。このオーシストを経口的に摂取すると、寄生部位の上皮細胞に感染する。

現在、クリプトスポリジウム属では13種の種名が有効とされて確定し、あるいは新種として提案されている(表1)<sup>5)</sup>。これらは寄生部位により腸管寄生性(intestinal *Cryptosporidium*)と胃寄生性(gastric *Cryptosporidium*)の2つのグループに分けられる。オーシストの大きさは前者が4~6 μmに

1) 神奈川県衛生研究所 微生物部  
 ☎ 253-0087 神奈川県茅ヶ崎市下町屋1-3-1  
 2) 国立感染症研究所 寄生動物部  
 ☎ 162-8640 東京都新宿区戸山1-23-1

1) Kanagawa Prefectural Institute of Public Health  
 (1-3-1, Shimomachiya, Chigasaki-shi, Kanagawa)  
 2) National Institute of Infectious Diseases  
 (1-23-1, Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo)



対し、後者が6~8 $\mu$ mである。それぞれのグループに属する種は形態が類似しており、形態学的な鑑別は困難である。さらに、特定の遺伝子の塩基配列が異なる遺伝子型がそれぞれのグループで知られるようになった。腸管寄生性クリプトスポリジウムと胃寄生性クリプトスポリジウムは遺伝子レベルでも系統樹上で分岐しており、それぞれの分岐の先に種や遺伝子型が分布している。

近年では塩基配列の解析が容易となり、さらに特異遺伝子配列も絞られ、クリプトスポリジウムの遺伝学的解析が急速に進められている。種の決定や遺伝子型別に用いられる遺伝子には、18S rDNA, heat shock protein (hsp), actin, oocyst wall protein (OWPあるいはCOWP)の4種の遺伝子がある。これら遺伝子の塩基配列情報は充実しつつあり、種や遺伝子型の特定および汚染源の調査追跡等に利用されている。その他にpoly-threonine, glycoprotein, microsatellite, internal transcribed spacer, beta tubulin, thrombospondin-related adhesive protein (TRAP), dihydrofolate reductase (DHFR), acetyl coAといった多様な遺伝子の解析も行われている。

*C. parvum*にはヒトに由来する遺伝子型であるヒト型 (genotype1あるいはhuman genotype: *C. hominis*とする提案もされている)とヒトを含む広く哺乳動物に感染する遺伝子型であるウシ型 (genotype2あるいはbovine genotype)が知られている。その他に*C. parvum*あるいは*C. parvum*-like原虫に属するものには、ブタ(2種)、ヒツジ、ウマ、ウシ、ウサギ、有袋類、フクロネズミ(2種)、フェレット、キツネ、シカ(2種)、マスカラット(2

種)、リス、クマ、シロアシネズミ、オポッサム(2種)といった20以上の遺伝子型があり、それぞれ分離された動物に由来する名称で呼ばれている。2004年9月現在でgene bankに登録されている主要な配列約160を用い、Xiaoら<sup>5)</sup>が提言している遺伝子型名を付した系統樹を作製した(図1)。米国の研究グループは、ヒト型に続いてこれらの遺伝子型を種として独立させることを検討している。この研究グループの提案によれば、これまでウシ型と呼ばれていた遺伝子型に属する株だけが*C. parvum*に該当することになる。今後しばらくの間は、種や遺伝子型をめぐってさまざまな場面で混乱が生じることが避けられないであろう。例えば、遺伝子型が種として独立すれば、クリプトスポリジウム症の起因種が複数になることになり、思わぬところへの影響も考えておかねばならない。

この他に、鳥類に寄生するクリプトスポリジウムではアヒル、ガチョウ(2種)、爬虫類ではヘビといった遺伝子型も報告されている。また、胃寄生性クリプトスポリジウムでは鳥類のウッドコック、爬虫類のトカゲ、カメといった遺伝子型がある。

表1 報告されているクリプトスポリジウム属の種と宿主

種	主な宿主	まれな宿主
腸管寄生性		
<i>C. parvum</i>	ウシ、ヒツジ、ヤギ ヒト	シカ、ネズミ、ブタ
<i>C. hominis</i> *1	ヒト、サル	ジュゴン、ヒツジ
<i>C. canis</i> *1	イヌ	ヒト
<i>C. felis</i>	ネコ	ヒト、ウシ
<i>C. wrairi</i>	モルモット	
<i>C. baileyi</i>	ニワトリ、シチメンチョウ	オカメインコ、ウズラ、 ダチョウ、カモ
<i>C. meleagridis</i>	シチメンチョウ、ヒト	インコ
<i>C. saurophilum</i>	トカゲ類	ヘビ類
胃寄生性		
<i>C. muris</i>	げっ歯類、フタコブラクダ	ヒト、mountain goat, Rocky hyrax
<i>C. andersoni</i>	ウシ、フタコブラクダ	
<i>C. galli</i>	フィンチ類、ニワトリ、 ヨーロッパオオライチョウ、 ギンザンマシコ	
<i>C. serpentis</i>	ヘビ類、トカゲ類	
<i>C. molnari</i> *2	魚類	

文献5)を参考に作成。

\*1: *C. parvum*の遺伝子型から種として独立させることが提案されている。

\*2: *C. molnari*は遺伝子レベルの解析が行われておらず、寄生部位に基づいて胃寄生性とした。

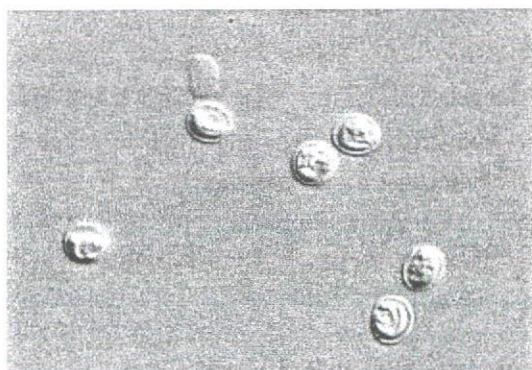


写真1 *Cryptosporidium parvum*のオーシスト(微分干渉像)

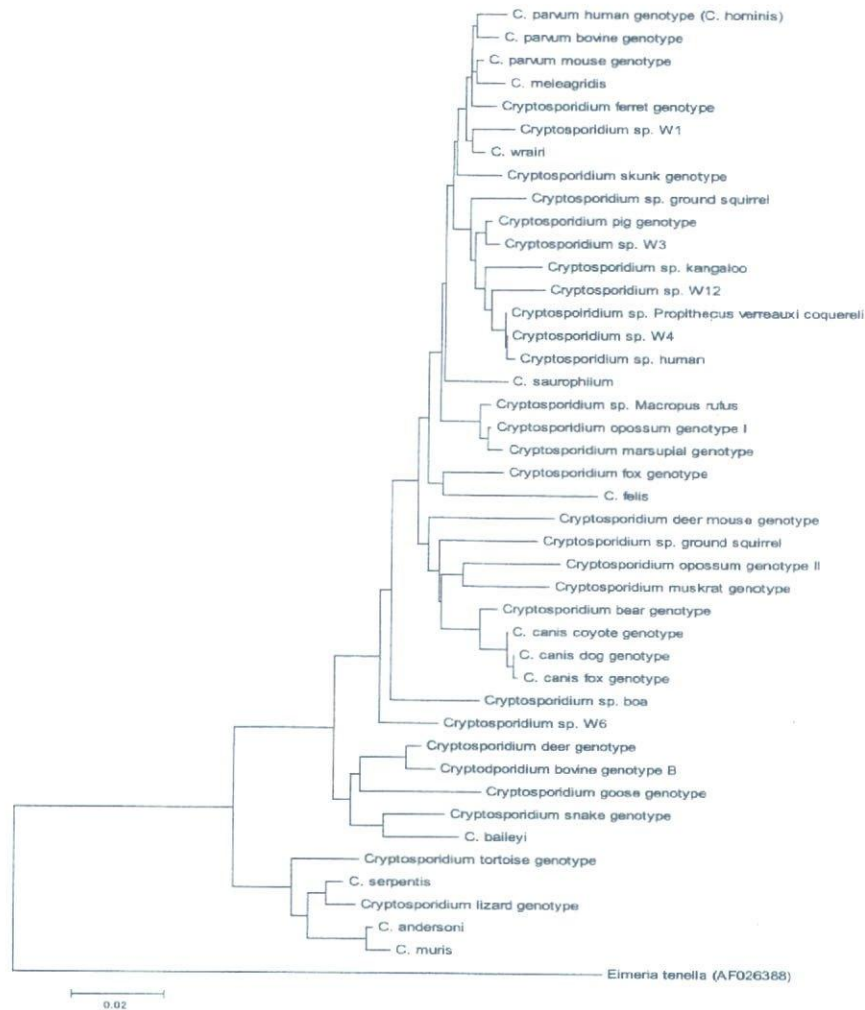


図1 クリプトスポリジウム属原虫の系統樹

## Ⅱ. 哺乳類のクリプトスポリジウム

哺乳類に寄生するクリプトスポリジウムには、*C. parvum* の他に *C. wrairi*, *C. felis*, *C. muris*, *C. andersoni* が知られている。さらに、2000年に *C. parvum* のイヌ遺伝子型を *C. canis* として、2001年にヒト型を *C. hominis* として独立種とすることが提案された<sup>6,7)</sup>。

クリプトスポリジウムの宿主特異性について、1980年代後半に種々の動物由来の株を用いて盛んに交差感染実験が行われた。感染が成立するか否かの結果は株により異なり、整合性の取れた結果は得られなかった。そのため、*C. parvum* は人獣共通感染症であるか疑問であるという意見も出された。ところが、1990年代初めに *C. parvum* とされるものの中に複数の遺伝子型の存在が示され、遺伝子型に

より宿主適合性が異なることが明らかになってきた。交差感染実験において実験者によって結果が異なっていたのは、用いた株の遺伝子型が異なっていたためであったと推測される。

クリプトスポリジウムの宿主特異性は比較的高いとされている。ヒト型ではヒトとサル類が宿主であり、一部ヒツジやジュゴンから報告されている。また、実験レベルでは幼齢のブタやウシおよびヒツジへの感染が可能とされている。ウシ型はヒトを含む150種以上の哺乳類から検出されており、宿主特異性は例外的に低い。この遺伝子型の株が人獣共通感染症の主たる原因原虫と考えてよい。免疫状態が正常なヒトから検出されるクリプトスポリジウムはヒト型とウシ型がほとんどであるが、*C. canis* や *C. felis*, *C. meleagridis*, *C. muris* もわずかに検出されている。HIV/AIDS患者では、これら以外の種や遺



伝子型に感染していたとする報告もある。有袋類やマウス、ブタ、フェレットなどの遺伝子型の宿主特異性に関するデータは、今後詳細に収集・解析される必要がある。

### Ⅲ. 鳥類のクリプトスポリジウム

鳥類に寄生するクリプトスポリジウムは *C. baileyi*, *C. meleagridis* および *C. galli* が知られている。*C. baileyi* はニワトリや七面鳥を主な宿主とし、*C. meleagridis* は七面鳥などを宿主とするが、後者は免疫機能が正常なヒトから検出されることがある。両種は小腸やファブリキウス嚢、総排泄腔の上皮細胞に寄生する。*C. galli* はニワトリやフィンチ類などを宿主とし、胃の上皮細胞に寄生する。

### Ⅳ. 爬虫類のクリプトスポリジウム

爬虫類に寄生するクリプトスポリジウムは *C. serpentis* と *C. saurophilum* の2種が知られている。この2種以外に複数のクリプトスポリジウムの存在が報告されているが<sup>8)</sup>、種の確定には至っていない。今後、詳細な解析が必要である。また、爬虫類に寄生するクリプトスポリジウムの宿主特異性に関して未だ十分な解析は行われていないが、その中で *C. serpentis* において、ヘビ類とトカゲ類では寄生する株の遺伝子型が異なることが示されている<sup>9)</sup>。宿主特異性に関する研究分野でも、今後の研究に待たれるところが多い。

### Ⅴ. 両生類と魚類のクリプトスポリジウム

両生類のクリプトスポリジウムとして、*Limnodynastes tasmaniensis* (Spotted marsh frog: オーストラリアに生息するミナミガエル科の1種) とある種のヒキガエルに寄生するものが記載されているが、形態に関する記載が不十分であるために種名が有効と認められていない。

魚類にはヨーロッパヘダイ (*Sparus aurata*) およびヨーロッパバス (*Dicentrarchus labrax*) に寄生する *C. molnari* がある。本原虫は宿主の胃に寄生するが、遺伝子解析が行われていないために、*C. muris* や *C. galli*, *C. serpentis* との類縁性は明らかで

はない。最近、グッピー (*Poecilia reticulata*) に寄生する *C. molnari* に類似したクリプトスポリジウムの記載もある。

### Ⅵ. ヒトのクリプトスポリジウム症の症状と治療法

一般論として、クリプトスポリジウムは種々の動物に寄生するが、原虫種や遺伝子型に、また宿主側の種や年齢、免疫など身体の状態により臨床症状が異なり、どの宿主でも下痢を主体とした症状を呈するというものではないようである。むしろ、症状が見られない動物のほうが多いようで、その中でヒトは症状がみられるグループに分類される。さらに、患者の免疫状態により臨床経過は甚だしく異なる。

ヒトのクリプトスポリジウム症の潜伏期は4～10日程度で、主な症状は下痢（主として水様性）、腹痛、39℃を超えない発熱、悪心、嘔吐、倦怠感などであり、下痢は軽度のものから1日に20回以上の激しいものまでみられる。通常、症状は1～2週間程度で治まる。オーシストを排出するものの、症状を呈しない例があることも知られている。成人よりも小児のほうが、また初感染のほうが再感染よりも症状が重い。HIV/AIDS患者などの免疫不全者では慢性、消耗性の下痢を呈し、時として致死性的となる。通常は小腸のみに感染するが、HIV/AIDS患者では呼吸器や胆道系での感染も報告されている。

クリプトスポリジウム症の症状には患者の免疫状態による差はないが、症状が持続する期間と転帰は異なり、HIV/AIDS患者やその他の免疫不全患者では症状が長期に持続し、時に死に至ることがある。米国疾病予防センター (CDC) ではCD4 + T細胞数が180～200を下回ると症状の長期化や重篤化が起きやすいとしている。

これまでにクリプトスポリジウム症の治療に関する多くの研究が行われてきたが、それにもかかわらず効果を示す薬剤が見出されていないため、治療は対症療法となる。免疫不全者に対する有効な治療法は免疫機能を回復することであり、HIV/AIDS患者ではCD4 + T細胞数の改善を目指した治療が最も効果があるとされている。



## VII. ヒトのクリプトスポリジウム症の疫学

ヒトのクリプトスポリジウム症の主な原因原虫は、前述のように *C. parvum* のヒト型とウシ型である。ヒト型はヒト-ヒト間の感染環を有し、ほぼヒトの間でのみ伝播する。ウシ型はヒト-動物間の感染環により、ヒトと動物の間で感染が成立する。原因となった原虫の遺伝子型を解析することで、感染源あるいは汚染源をある程度推測することができる。

クリプトスポリジウムはオーシストを経口的に摂取する糞-口感染であるが、感染経路として直接的に患者（患者）との接触による感染と、飲食物を介した経路が知られている。前者では、家族内感染、託児所（day-care centers）での集団感染、病院内感染、広義の性感染症、感染動物との接触（ペットや家畜、実験動物、牧場訪問）などの事例が報告されている。後者の例としては、野菜、アップルサイダー（プレスしたリンゴの実入りジュース）や牛乳などを介したものや、水道水汚染による集団発生、河川や湖、プールでの水泳などを介した感染があり、特に水道水やプールを介した感染が問題になっている。

クリプトスポリジウムのオーシストは塩素耐性を示す。そのため、水道水に混入した場合でも不活化されることはない。水道水を介した下痢症の集団発生が1983年から世界中で毎年のように報告されており、わが国でも神奈川県平塚市の事例や埼玉県越生町の事例など、複数の事例がある。水道水を介した事例ではどちらかの遺伝子型に偏るということではなく、ヒト型あるいはウシ型が検出されている。さらに、2004年8月には長野県の合宿施設の埼玉県と千葉県の利用者200人あまりが下痢を呈する事例が発生したが、千葉県では発症者が利用したプールを介して2次感染も起きている。

クリプトスポリジウム症は輸入感染症としても重要である。海外において、衛生状態の悪い国や地域のみならず、多くの患者が発生している先進国もある。そのため、海外旅行中に感染し、旅行中あるいは帰国後に発症する例がある。英国ではクリプトスポリジウム症患者が年に3,000～6,000例に及び、患者の発生には春と晩夏から秋にかけての2つのピークがある。このうち晩夏から秋のピークは夏季

休暇を過ごした海外で感染したことによるものと推測されている。この時期の患者から分離される原虫はヒト型が多い傾向がある。一方、春のピークは感染に対する感受性の高い子ウシの多い時期にあたり、ヒトがオーシストに接触する機会が増えると推測されている。そのため、この時期はウシ型が優勢となる。

わが国ではクリプトスポリジウム症は感染症法の平成15年の改正により5類感染症（全数把握）に規定されており、患者を診察した医療機関は保健所への報告が義務付けられている。感染症法の施行以降の報告数は、1999年は4例（1999年4月以降）、2000年は3例、2001年は11例、2002年は109例、2003年は8例、2004年は91例であり、集団下痢症が発生した2002年と2004年を除いて毎年10例前後の患者が報告されているにとどまっている。しかしながら、この疫学統計がわが国の汚染実態を的確に表現しているとするのは、いささか早計に過ぎるのではないかと考えられる。統計上で患者数が少ない背景には大学医学部を含め多くの医療機関にクリプトスポリジウム症の診断技術が普及していない状況があると推察される。

クリプトスポリジウム症はHIV/AIDS患者にとっては非常に危険な感染症の1つであり、感染予防に特別の配慮をしなければならない。また、クリプトスポリジウムによる下痢が1カ月以上続く場合には逆に発症が疑われ、AIDS発症の指標疾患の1つとされている。CDCではHIV/AIDS患者に対して、クリプトスポリジウム感染の予防方法として（1）手を洗う、（2）便に接するような性行為は避ける、（3）家畜に触れない、（4）ペットの便や容器などに触れない、（5）食べ物を洗うか加熱調理する、（6）水泳や入浴時に水を飲まないように注意する、（7）安全な水を飲む、（8）旅行中（特に開発途上国）は特別の注意を払うという項目を挙げている。エイズ患者は食品や水に対して十分注意を払う必要があるが、さらにさまざまな動物に由来するクリプトスポリジウムに感染する危険性があるため、動物との接触も慎重でなければならない。ペットとして飼育される動物の種類は近年ではイヌやネコあるいはその他の哺乳類にとどまらず、数多くの爬虫類や両生類、魚類を入手することが可能になっている。ペットや家畜として飼育されている哺乳類だけではなく、それ



以外の動物にも十分な注意を払う必要がある。

## 文 献

- 1) Tyzzer, E. E. : A sporozoon found in the peptic glands of the common mouse. *Proc Soc Experimental Biol Med* 5: 12-13, 1907.
- 2) Tyzzer, E. E. : *Cryptosporidium parvum* (sp.nov.), a coccidium found in the small intestine of the common mouse. *Arch Protisten* 26: 394-412, 1912.
- 3) Nime, F.A., Burek, J.D., Page, D.L., Holscher, M.A., Yardley, J.H.: Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology*. 70:592-598, 1976.
- 4) Meisel, J.L., Perera, D.R., Meligro, C., Rubin, C.E.: Overwhelming watery diarrhea associated with a *cryptosporidium* in an immunosuppressed patient. *Gastroenterology*. 70:1156-1160, 1976.
- 5) Xiao, L., Fayer, R., Ryan, U., Upton, S. J.: *Cryptosporidium* taxonomy: Recent advances and implications for public health. *Clin. Microbiol. Rev.* 17:72-97, 2004.
- 6) Fayer, R., Trout, J.M., Xiao, L., Morgan, U.M., Lai, A.A., Dubey, J. P.: *Cryptosporidium canis* n. sp. from domestic dogs. *J Parasitol.* 87:1415-1422, 2001.
- 7) Morgan-Ryan U.M., et al.: *Cryptosporidium hominis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from Homo sapiens. *J Eukaryot Microbiol.* 49:433-440, 2002.
- 8) Upton, S.J., McAllister, C.T., Freed, P.S., Barnard, S.M.: *Cryptosporidium* spp. in wild and captive reptiles. *J Wildl Dis.* 25: 20-30, 1989.
- 9) Xiao, L., et al.: Genetic diversity of *Cryptosporidium* spp. in captive reptiles. *Appl Environ Microbiol.* 70:891-899, 2004.



これだけは知っておきたい 国際感染症

各 論

## ● 国内にある感染症

### 水系原虫症

黒木 俊郎\*  
くろき としろう

#### Point

- 水系原虫症の代表的な原因病原体には腸管寄生性のクリプトスポリジウム、ランブル鞭毛虫、サイクロスポラ、イソスポラ、微胞子虫および赤痢アメーバと自由生活性アメーバのネグレリアがあげられる。
- 海外の衛生状態の悪い国や地域では多くの水系原虫症患者が発生しているが、先進国でも多数の症例が報告されている国がある。
- 患者や感染者あるいは感染動物の糞便とともに排出された腸管寄生性原虫のシストやオーシストが水系を汚染し、これを経口的に摂取することで感染する。
- 病原体に汚染された飲料水の摂取のみならず、河川や湖沼、プールなどでの水泳や水浴でも感染し、患者が発生する。
- ネグレリアは自然環境、特に温水環境に分布し、偶発的にヒトに感染することで発症する。

Key Words 原虫、水系感染、渡航者下痢症、原発性アメーバ性髄膜脳炎

#### はじめに

水系感染症の原因原虫として、腸管寄生性のクリプトスポリジウム、ランブル鞭毛虫、サイクロスポラ、イソスポラ、微胞子虫および赤痢アメーバならびに自由生活性アメーバであるネグレリアがあげられる。これらの原虫の特徴を表1に示した。ネグレリアを除く原虫はヒトをはじめとする動物の腸管に寄生する。感染型であるオーシスト、シストあるいは胞子が糞便とともに排出され、直接あるいは水や食品を介して摂取されると感染する。これらの感染型は殻で被われており、多くの消毒薬に耐性を示す。水道水の微生物学的安全性は塩素消毒により保たれているが、一部の原虫ではデータが十分ではないものの腸管寄生性原虫類

は耐塩素性を示すため、塩素消毒が施された水道水においても不活化されずに生存する。そのため、(オー)シストが水道水を汚染し、散発的にあるいは時に多数の患者が集団で発生することから、公衆衛生上の重要な問題として捉えられている。

#### クリプトスポリジウム

クリプトスポリジウム属には14種が知られている。種により宿主域は異なり、*C. hominis* (*C. parvum* genotype I) がヒト-ヒト間の感染環を有し、ヒトでの罹患率はもっとも高い。広範囲の宿主域を有する *C. parvum* (*C. parvum* genotype

\* 神奈川県衛生研究所 微生物部



表 1 おもな水系原虫症の特徴

疾 患	病原体	発症部位	感染型 (大きさ)	発生部位	症 状	治 療
クリプトスポリジウム症	<i>Cryptosporidium parvum</i> <i>C. hominis</i> など	孢子虫	オーシスト (4~6 $\mu\text{m}$ )	小腸	下痢, 腹痛 39度を越えない発熱, 嘔吐, 倦怠感など	対症療法 エイズ患者では免疫機能の回復
サイクスポラ症	<i>Cyclospora cayentanensis</i>	孢子虫	オーシスト (8~10 $\mu\text{m}$ )	小腸	水様性下痢, 腹痛, 食欲不振, 悪心, 嘔吐, 鼓腸, 体重減少など	ST 合剤
イソスポラ症	<i>Isospora belli</i>	孢子虫	オーシスト (25~30 $\mu\text{m}$ )	小腸	水様性下痢, 腹痛など	ST 合剤
ジアルジア症	<i>Giardia lamblia</i>	鞭毛虫	シスト (5~8 $\mu\text{m}$ × 8~12 $\mu\text{m}$ )	十二指腸, 小腸上部, 時に胆管, 胆嚢の内腔	下痢, 腹痛, 食欲不振, 鼓腸, 脂防便など	メトロニダゾールまたはチニダゾール
微孢子虫症	<i>Enterocytozoon bienewisi</i> など	微孢子虫	孢子 (1~2 $\mu\text{m}$ )	小腸など	下痢, 脱水, 体重減少など	<i>E. bienewisi</i> には ST 合剤, メトロニダゾールが有効とする報告がある。
赤痢アメーバ症	<i>Entamoeba histolytica</i>	囊状根足虫	シスト (10~20 $\mu\text{m}$ )	大腸 時に腸外に寄生 (肝, 脳, 肺など)	① 不顕性キャリア ② 急性アメーバ性大腸炎 ③ 劇症大腸炎 ④ アメーバ性膿瘍	メトロニダゾールまたはチニダゾール
ナグリエリア症 (原発性アメーバ性髄膜脳炎)	<i>Naegleria fowleri</i>	囊状根足虫	栄養体 シスト (10 $\mu\text{m}$ )	鼻腔, 脳	髄膜炎による頭痛, 発熱, 悪寒, 嘔吐, けいれん, 昏睡など	アンホテリシン B

II) は人獣共通感染症としてのクリプトスポリジウム症の主要原因病原体となっている。

小腸粘膜上皮細胞の微絨毛に特有の虫嚢を形成して寄生し、無性生殖の後に有性生殖を経てオーシストを形成する。便とともに排出されたオーシストを経口的に摂取することで感染する。オーシストは外界の環境に耐えて湿った環境や水中では長期間生存する。乾燥や加熱により不活化されるが、通常の消毒薬はほとんど効果がない。

発展途上国では多くの患者が発生し、罹患率は5～10%とされている。先進国においても下痢症の重要な原因微生物となっており、米国では下痢症の2%がクリプトスポリジウム症とされ、これから感染者数は年30万人と推計されている。

英国およびウェールズでは年3000～6000人ほどの患者発生が報告されているが、季節変動があり、2峰性を示す。春のピークは子ウシに由来するオーシストが水道を汚染することによるが、晩夏から秋のピークは夏季休暇中の海外旅行に起因すると推定されている。患者発生数の多いNorth West地区において、メンブランフィルターによる浄水設備を浄水場に導入したところ、春のピークが劇的に減少したと報告されている<sup>1)</sup>。

飲料水を介した集団発生は1980年代前半から毎年のように米国あるいは英国などで報告されている。1993年には米国ミルウォーキーにおいて、患者数が40万3000人を越える過去最大の集団下痢症が発生した。一方で、水道水を介した感染のみならず河川や湖沼、プールなどの親水施設(recreational water)における感染も注目されている。米国では1991～2002年までに62例の水系集団下痢症があり、このうち親水施設関連は50例を占めている。さらに、水道水を介した事例が減少傾向にあるのに対して、親水施設関連事例は増える傾向にある。

症状は通常1～2週間で治まるが、エイズ患者などの免疫不全者では慢性、消耗性となり、時として致死的となる。パロモマイシンは治療効果があるとされているが、完治は困難である。

クリプトスポリジウム症は感染症法では5類感染症(全数把握)に規定されており、年10例前後が報告されている。症例の多くは海外渡航者であるが、国内で感染する症例もあり、集団下痢症も発生している。

## サイクロスポラ

サイクロスポラは孢子虫類に属しているが、いまだに生活環や生態は明らかではない。ヒトには*Cyclospora cayetanensis*が感染し、唯一の宿主とされている。オーシストが便とともに排出され、経口的に摂取することで感染する。排出後に1～2週間の成熟期間が必要なため患者との接触による感染は成立しにくく、水や食品を介して感染する。

北・中南米大陸や東南アジア、アフリカあるいは東欧などで患者の報告があり、熱帯地域への旅行者における主要な原虫性下痢症の一つにあげられている。わが国でのサイクロスポラ検出の報告は少ないが、外国人あるいは海外渡航者における下痢症として報告がある。感染症法の5類感染症(定点把握)の「感染性胃腸炎」での報告の対象となる。

## イソスポラ

イソスポラ・ベリ(*Isospora belli*)は小腸に寄生する。便中にオーシストが排泄されるが、2～3日の成熟期間を必要とするため、汚染された食品や水を介して感染するとされている。南米、アフリカあるいは東南アジアなどの熱帯地域において多数の患者がみられ、これらの国や地域の旅行者や滞在者から患者が発生する。わが国ではイソスポラ症に関する報告は少ないが、原因が不明で持続的な渡航者下痢症に見いだされる可能性が高い。

本原虫症は、5類感染症(定点把握)の「感染性胃腸炎」での報告の対象となる。また、クリプトスポリジウムとともにエイズ診断の指標疾患とされている。

## ランブル鞭毛虫

ランブル鞭毛虫(*Giardia lamblia*)の生活環には栄養体とシストの2形態がある。栄養体は左右対称の洋梨形をし、8本の鞭毛を使って移動する。体の中央に吸着盤を持ち、消化管の管腔内壁に付着する。栄養体は無性生殖(2分裂)により増殖する。シストは便とともに体外に排出され、経口的



に摂取されると感染する。

ランブル鞭毛虫は世界中に広く分布し、もっとも罹患率の高い原虫性下痢症の原因微生物であり、渡航者下痢症の主要な原因微生物としても注目される。特に熱帯および亜熱帯の地域で多くみられるが、先進諸国においてもシストに汚染された水道水を介した集団感染や河川あるいはプールでの水泳などによる患者の発生が報告されている。

ランブル鞭毛虫症は感染症法では5類感染症（全数把握）に規定されており、年に100例前後の報告がある。国外での感染が圧倒的に多いが、海外渡航歴のない患者もみられ、国内感染も存在する。

## 微孢子虫

微孢子虫（Microsporidia）は幅広い宿主域を示し、昆虫、魚類、鳥類および哺乳類に寄生がみられる。*Enterocytozoon bienersi*, *Encephalitozoon intestinalis* など14種がヒトに感染することが報告されており、情報は十分ではないが患者数は増加の傾向にある。

生活環には栄養生殖期、孢子形成期および孢子期があり、孢子が便や尿中に排出され、経口的にあるいは吸い込むことで感染する。臓器移植により感染した例もある。

本来ヒトに寄生する原虫ではないため、エイズ患者などの免疫不全患者における日和見感染症原因微生物とみなされていたが、*E. bienersi* による旅行者における self-limiting の下痢症が報告されている。1995年にフランスにおいて水系感染であると推定される微孢子虫による集団下痢症がHIV感染者の間で発生したことが報告された<sup>2)</sup>。わが国では、感染症法の5類感染症（定点把握）の「感染性胃腸炎」での報告の対象となる。

## 赤痢アメーバ

赤痢アメーバ（*Entamoeba histolytica*）は栄養体が小腸に寄生し、増殖する。シストが便とともに排出され、汚染された飲料水や食品を経口的に摂取すると感染する。本原虫は世界中に分布し、

全人口の12%にあたる数億人が感染し、その10%にあたる数千万人が症状を呈し、毎年10万人が死亡していると推計されている。特に衛生状態の悪い地域や国では多くの患者が発生している。

河川水や飲料水における赤痢アメーバのシストの分布は明らかにされていないが、淡水、海水あるいは飲料水を汚染したシストにより感染が起るとされている。ベトナムで行われた疫学調査では、河川水の使用がアメーバ性肝膿瘍の発生における重要なリスク要因であるという結果が得られた。グルジアのトビリシにおいて1998年に発生した赤痢アメーバ症の集団発生では、疫学調査により公共水道との関連が指摘されている。

赤痢アメーバ症は感染症法において、5類感染症（全数把握）に規定されている。感染症法施行以来、年に400～500例が報告されている。

## ネグレリア

自由生活性アメーバであるネグレリア属アメーバには6種が知られ、ヒトに対して明らかな病原性を示すのは *Naegleria fowleri* のみである。*N. fowleri* は鼻粘膜から侵入し、嗅神経から脳に達して重篤な原発性アメーバ性髄膜脳炎を引き起こす。これまでに世界で約200例が報告され、致死率はきわめて高い。日本では1996年に佐賀県で1例発生した。

*N. fowleri* は土壌中や河川、湖沼などに生息し、温度が上昇すると急激に増殖する。温泉での入浴あるいは高温期の湖沼、池、河川や消毒が不十分なプールでの水泳、水浴がリスク要因となる。このアメーバの生息地域でのこうした行動には注意が必要である。治療の開始時期が予後を左右するため、できるだけ早期の治療開始が求められる。本原虫による髄膜脳炎は感染症法の5類感染症（定点把握）の「急性脳炎」として報告の対象となる。

### おわりに

わが国の水道は塩素消毒に加え、凝集、沈殿、砂濾過といった浄水の工程を的確に管理・運営することにより微生物を取り除くことで、微生物学

的安全性が守られている。しかし、海外においては浄水工程が不適切であったり、塩素消毒のみで水道水が供給されていたりする場所や地域が存在する。特に腸管寄生性原虫症の多数の患者が発生しているか、感染動物がいる地域においては、水道水を介した原虫症の感染のリスクは大きい。また、そのような地域においては河川や湖沼が（オー）シストに汚染されている可能性が高く、水泳・水浴なども高リスクとなる。感染予防には、安全な飲料水の確保と水泳・水浴といった高リスク行動を避けることが重要である。

#### 文 献

- 1) Goh S, Reacher M, Casemore DP, et al : Sporadic Cryptosporidiosis decline after membrane filtration of public water supplies, England, 1996-2002. Emerg Infect Dis 11 : 251-259 : 2005
- 2) Cotte L, Rabodonirina M, Chapuis F, et al : Waterborne outbreak of intestinal microsporidiosis in persons with and without human immunodeficiency virus infection. J Infect Dis 180 : 2003-2008 : 1999
- 3) Blessmann J, Van Linh P, Nu PA, et al : Epidemiology of amebiasis in a region of high incidence of amebic liver abscess in central Vietnam. Am J Trop Med Hyg 66 : 578-583 : 2002

医学と歯学の接点を求めて !!

ISBN4-88002-466-X

# 心身医療と歯科医療

- 歯・口腔・顎と心と健康科学 -

都 温彦 編著 (福岡大学医学部歯科口腔外科学講座教授)  
A5判 233 頁 定価4,725円 (本体 4,500 円+税5%)

これまで歯科医学・医療は身体医学の立場から眼に見える方法で発達し、眼に見えない心理社会面や中枢神経機能、哲学的側面は死角になっていた。

本書はこれまで歯科にはみられなかった心と脳機能、そして全身的健康という視野を加え、相補的に歯科医療をより全人的なものに近づけようとすることに特徴がある。

これまでの医学と歯学二元性のなかで生じた両者間の谷間が本書によって少しでも埋まり真の人間科学が構築されるとするユニークな書である。

<主要目次> 第一部 総論 I 歯科心身医学に求められる概念 II 精神科領域の患者の歯科受診について III 心身医学と心療内科と生活習慣病 IV 向精神薬 V 咀嚼機能を科学する：肥満患者への治療応用 VI 歯の進化とヒト本来の食物と咀嚼と健康について VII 歯科患者の受診動機 VIII 訴えと身体的変化 IX 歯科患者の訴えについて X 医事紛争 XI 患者の表情 XII 歯科心身症の病態モデルの考察  
第二部 病態・疾患編 I 心身医学的対応を要する歯科患者の症例 II 歯科治療と患者の生体反応及び行動 III 痛みの訴えについて 第三部 健康科学編-生活習慣性病態 I 小児歯科について II 口腔衛生と歯周疾患と骨再生 III 口腔消化と血糖値との関係 IV 唾液分泌と自律神経機能 V 口腔湿潤感安定と不安定 VI 咀嚼習慣と肥満 VII 義歯で噛めるようになること VIII 顎関節症患者に対する咀嚼指導と心身の健康 IX 口腔ケア X 歯・口腔・顎顔面美について



株式 新興医学出版社

〒113-0033 東京都文京区本郷6-26-8 TEL 03-3816-2853 FAX 03-3816-2895  
http://www3.vc-net.ne.jp/~shinkoh e-mail:shinkoh@viola.ocn.ne.jp



---

小 児 科 第45巻 第 4 号 (平成16年 3 月31日発行) 別冊

---

Pediatrics  
of Japan

小 児 科

特集：感 染 症 —最新の話題—  
話題の感染症

# クリプトスポリジウム症

井 関 基 弘      所      正 治

---

金 原 出 版 株 式 会 社

---

# クリプトスポリジウム症

Cryptosporidiosis

井関基弘 Motohiro Iseki 所 正治 Masaharu Tokoro

金沢大学大学院医学系研究科寄生虫感染症制御学 ☎ 920-8640 石川県金沢市宝町 13-1

## 要 旨

クリプトスポリジウム症は激しい下痢を主徴とする。病原体は *Cryptosporidium* という腸管寄生原虫で、糞便に排出されるオーシストの経口摂取で感染する。世界中に分布し、成人よりも小児の感染率が高い。免疫不全患者では慢性化・重症化し、致死的になる。HIV 陽性者、X 連鎖高 IgM 症候群、低  $\gamma$ -グロブリン血症などの小児の慢性下痢症の原因としてとくに注意を要する。五類感染症（全数把握）で、届出が必要である。

## はじめに

クリプトスポリジウムに感染すると激しい水様下痢が 1~2 週間続く。幼児期の下痢症は栄養不良の原因になり、将来にわたって患児の成長や発育に悪影響を及ぼす<sup>1)2)</sup>。幼児期に本症を経験した小児では、4~7 年後においても体力適正や認知機能に障害がみられるとの報告がある<sup>3)</sup>。

患者の免疫機能が正常であれば自然治癒するが、免疫不全患者では成人においても下痢は慢性化・重症化し、しばしば致命的になる。本症に確実に効く治療薬はまだ発見されていない。しかし、慢性化する前に投薬を開始すれば、ある程度有効な治療薬はある。HIV 陽性者や AIDS 患者、X 連鎖高 IgM 症候群などの免疫不全患者のみならず、小児下痢症では本原虫症の診断検査を実施し、早期に投薬を開始すること

が肝要である。

## どのような病気が

初の人体症例は 1976 年に米国で報告された<sup>4)</sup>。患者は 3 歳半の女児で、激しい水様下痢、腹痛、嘔吐などが続き、第 5 病日に入院した。糞便の細菌・寄生虫検査では病原体は検出されなかった。入院 5 日後に直腸の生検がなされ、光顕的には炎症細胞の浸潤を伴う非定型的直腸炎の像を呈し、陰窩上皮細胞の管腔側表面および管腔に直径 2~4  $\mu\text{m}$  の楕円形顆粒状物体が多数観察された。下痢は対症療法で改善し、患者は 9 日目に退院した。後日の電顕観察で、この顆粒状物体はクリプトスポリジウム原虫であることが確認されたのである。

本原虫は 1907 年に初めて記載された。マウスの胃に寄生する種である。その後、マウスの



腸 (1912 年), ニワトリ (1929 年), シチメン  
チョウ (1955 年), モルモット (1971 年), ウ  
シ (1974 年) などにおける感染例が報告されて  
きたが, 病原性があまり認められないことから  
獣医学領域でも注目されず, 研究は進展しな  
かった。ライフサイクルや感染経路が明確に  
なったのは 1979 年であり, 糞便検査による診  
断や疫学調査ができるようになったのは 1980  
年代に入ってからである<sup>5)</sup>。

現在では, 本症は世界中に分布し, 患者は多  
く, 水系集団感染が起こりやすく, 免疫不全患  
者では致死の感染を起こし, 各種動物からも感  
染することなどが判明し, しかも有効な治療薬  
がないことで, 大きな問題になっている。

感染症法 (2003 年 11 月改正) では五類感染  
症 (全数把握) に属し, 保健所への届出が必要  
である。また, AIDS 診断の指標疾患でもあり,  
HIV 陽性で本症による下痢が 1 カ月以上持続  
する患者は AIDS と診断する。

### 1) 病原体と感染経路

病原体は *Cryptosporidium parvum*。孢子虫綱  
のкокシジウム類に属する消化管寄生原虫で,  
腸上皮細胞の微絨毛内に寄生し, 無性生殖と有  
性生殖を繰り返しながら急速に増殖する<sup>6)</sup>。有  
性生殖で形成された多数の成熟オーシスト  
( $5 \times 4.5 \mu\text{m}$  の短楕円形) が糞便とともに排出さ  
れ, その経口摂取で感染する。

*C. parvum* はヒトのみならずウシ, ウマ, ブ  
タ, イヌ, ネコ, ネズミなど, 哺乳類全般に広  
く感染がみられる。オーシストの形態は同じで  
あるが, 分離株の遺伝子型は宿主動物の種に  
よってそれぞれ異なることが最近の研究で明ら  
かになってきた<sup>7)8)</sup>。主としてヒトに感染するも  
のを *C. hominis*, イヌのものを *C. canis*, ネコの  
ものを *C. felis* など, それぞれ独立種として扱う  
報告が増えてきた。ヒトへの感染性や病原性は  
種や株 (遺伝子型) によって異なる。

患者からもっとも多く検出される遺伝子型は

ヒト型 (= *C. hominis*) で, 次に多いのがウシ  
に寄生するもの (遺伝子型は bovine type) であ  
る。*C. canis*, *C. felis*, ニワトリなど鳥類に寄生  
する *C. meleagridis* の人体寄生例も, 少数ではあ  
るが報告されている。胃に寄生して大型のオー  
シスト ( $8 \times 6 \mu\text{m}$  の楕円形) を形成する *C.*  
*muris* の人体寄生例もあるが, 病原性は低いと  
される<sup>9)</sup>。

### 2) 主症状は水様下痢

潜伏期間は 4~10 日。主症状は水様下痢で,  
腹痛, 吐き気, 嘔吐, 軽度の発熱を伴い, 血便  
はみられない。免疫機能が正常であれば症状は  
1~2 週間で治まるが, 重症例では下痢が 1 日  
30 回を超え, 成人でも入院加療を要することが  
ある。症状の軽重は, 摂取したオーシストの数  
や株による毒力の違い, 初感染か再感染か, 患  
者の年齢や栄養状態, 免疫能などによって異な  
り, 無症状のこともある。小児は成人よりも感  
染しやすく, 低栄養児では症状は重くなる。

AIDS や X 連鎖高 IgM 症候群患児などの免  
疫不全患者では, 下痢が長期間持続して重症に  
なり, 高カロリー輸液などで対処しても体重減  
少や衰弱が著しく, 死亡する例が少なくない<sup>10)</sup>。  
HIV 陽性者では CD4 陽性 T 細胞数が減少する  
につれて感染しやすくなり,  $140 \text{ 個}/\mu\text{l}$  以下に  
なると慢性化し,  $100 \text{ 個}/\mu\text{l}$  以下の患者では重  
症になる。重症例では胃, 胆道系, 膵管, 呼吸  
器系にまで感染が広がり, 乳頭狭窄を伴う硬化  
性胆管炎, 胆嚢炎, 膵炎などを起こすことがあ  
る。

### 3) 診断は簡単

診断は糞便の顕微鏡検査でオーシストを検出  
すればよい。検査手技は簡単で, オーシストの  
鏡検像に少し慣れれば検出は容易である。本原  
虫の感染による下痢であれば, 糞便に排出され  
るオーシスト数は  $10^6 \sim 10^7 \text{ 個}/\text{ml}$  にも達する  
が, 通常の原因虫・虫卵検査法では検出できない。



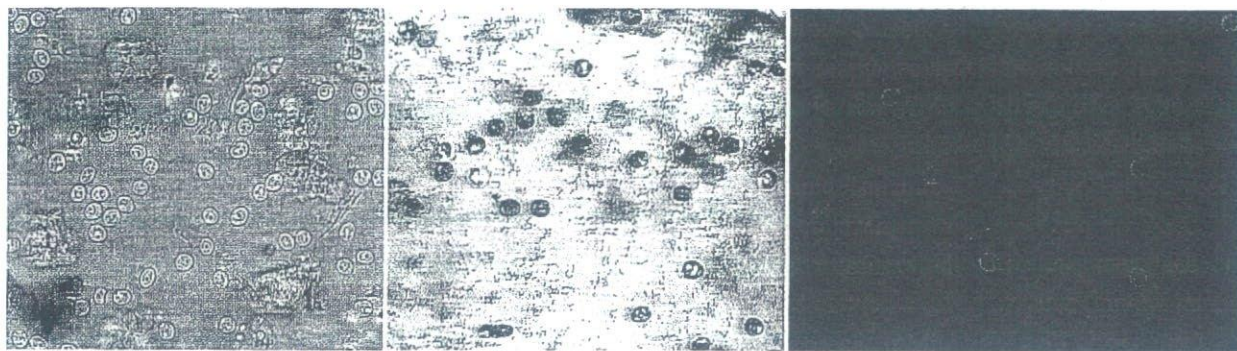


図 クリプトスポリジウムのオーシストの鏡検像

- 左：シヨ糖遠心浮遊法。オーシストはほぼ均一な大きさの短楕円形（長径約 5  $\mu$ m）で、背景よりも明るく、内部には特徴的な顆粒がみられる。
- 中：抗酸性染色法。オーシストは赤染し、ドーナツ状や馬蹄形、半月形を示す。細菌、酵母、夾雑物などは青く染まる。
- 右：蛍光抗体法。オーシストはリング状に青リンゴ色の特異蛍光を発する。

シヨ糖遠心浮遊法，簡易迅速シヨ糖浮遊法，直接蛍光抗体法，抗酸性染色法などが必須である。手技や所見の詳細<sup>11)</sup>は省略するが，簡易迅速シヨ糖浮遊法では 10 分以内，ほかは約 30 分で結果を得ることができる（図）。

#### 4) 世界中に分布，国内でも感染

感染者数は年間 2.5～5 億人程度と推定されている。アフリカ，中南米，東南アジアなどの衛生環境の悪い地域に多いが，先進諸国にもみられる。下痢便からの検出率は途上国で平均 6%（範囲 1.4～41%），先進国で平均 2.2%（0.3～22%）。小児は成人よりも感染しやすく，途上国で 12%，先進国で 7%程度である。HIV 陽性下痢患者では陽性率はさらに高く，途上国で平均 24%，先進国でも平均 14%に達する<sup>12)</sup>。

わが国でも国内感染がある。ウシからの感染例や，水道水汚染による数百人～数千人規模の集団感染も発生しているし，AIDS 患者や X 連鎖高 IgM 症候群患児における死亡例も知られている。しかし，疫学調査が不十分で，小児や成人における流行実態は把握されていない。これまでの届出数は，2001 年が 9 例，2002 年が 108 例，2003 年が 8 例となっているが，この数字は氷山の一角を示しているにすぎない。下痢

患者が受診しても本症の検査を実施する病院がきわめて少ないからである。

原虫検査をしないので，小児科領域の指定届出機関から報告される「感染性胃腸炎」（五類感染症，定点把握）の症例数には少なからず本症が含まれているものと思われる。ちなみに英国では，感染性胃腸炎が疑われる下痢患者の検便で，1～4 歳児における本原虫の検出率は 4.9%であり，検出された下痢起因病原体のなかでは *Campylobacter* の 5.6%について 2 番目に高い値である<sup>13)</sup>。

輸入感染例も少なくない。途上国旅行後の下痢患者における陽性率は，都立駒込病院の検査では約 5%と報告されている<sup>14)</sup>。海外渡航者数は年間 1,700 万人を超え，旅行中あるいは帰国後に下痢を発症する者は少なくない。検査を実施すれば，感染者は全国的にもっと多数みつかるに違いない。

#### 5) 治療は困難

これまで各種の抗原虫薬，抗生物質，抗真菌薬など 120 種類以上について有効性が試験されたが，本症に確実に効く治療薬はまだみつかっていない。患者の免疫機能が正常であれば，下痢は 10 日前後で自然治癒するので，脱水症