

comparing those to the sequences deposited in Genbank. The sequences of the isolates used in this study were aligned with known sequences by the Clustal-X program (Thompson et al., 1997). The known sequences of *Giardia* isolates chosen to represent each of the major assemblages were obtained from Genbank. The accession numbers were as follows: L40509 for assemblage A (Monis et al., 1996), L40508 for assemblage B (Monis et al., 1996), U60985 for assemblage C (Monis et al., 1998), U60986 for assemblage D (Monis et al., 1998), AY178740 for assemblage E and AY17874 for assemblage F.

3. Results

Fourteen, 1 and 6 isolates from dogs were grouped into assemblages A, C and D, respectively (Table 1), since the sequence of each group of isolates showed similarity of 100, 100 and 99.4% to the corresponding sequence of L40509 (A), U60985 (C) and U60986 (D), respectively. The remaining three dog isolates (D18, D21 and D23) had both sequences of assemblages A and D; chromatogram peaks corresponding to both assemblages were found at the nucleotide positions characterizing the genotype. The isolates from dogs kept in households had assemblages A, C or D, and those from breeding kennels had assemblages A and/or D. Three isolates from cats and three from monkeys had the same sequences as AY178744 (F) and L40508 (B), respectively. Four of the calf isolates showed 99.4% similarity to AY178740 (E) and the other was 100% identical to L40509 (A). The sequences obtained in this study were deposited in DNA Data Bank of Japan (DDBJ) in accession numbers of AB199735–AB199742.

4. Discussion

The use of partial nucleotide sequences (690–864 bp) of *gdh* gene has enabled successful genotyping of *G. intestinalis* isolated from various mammalian hosts (Ey et al., 1997; Homan et al., 1998; Monis et al., 1996, 1998). Recently, a sequence of 218 bp that is present in the *gdh* sequences used in these previous studies has also been found to be useful for genotyping

Table 1
Genotypes of *Giardia* isolates determined by sequence analysis of *gdh* gene

Isolate code	Host	Origin	Genotype
D1	Dog	Household	D
D2	Dog	Household	C
D3	Dog	Household	A
D4	Dog	Household	D
D5	Dog	Household	A
D6	Dog	Household	D
D7	Dog	Household	D
D8	Dog	Kennel a	A
D9	Dog	Kennel a	A
D10	Dog	Kennel b	A
D11	Dog	Kennel b	A
D12	Dog	Kennel b	A
D13	Dog	Kennel b	A
D14	Dog	Kennel b	A
D15	Dog	Kennel b	A
D16	Dog	Kennel c	D
D17	Dog	Kennel d	A
D18	Dog	Kennel d	A/D
D19	Dog	Kennel d	A
D20	Dog	Kennel d	A
D21	Dog	Kennel e	A/D
D22	Dog	Kennel e	A
D23	Dog	Kennel f	A/D
D24	Dog	Kennel f	D
Ct1	Cat	Household	F
Ct2	Cat	Household	F
Ct3	Cat	Household	F
Cf1	Calf	Farm g	E
Cf2	Calf	Farm g	A
Cf3	Calf	Farm g	E
Cf4	Calf	Farm h	E
Cf5	Calf	Farm h	E
M1	Monkey	Wildlife	B
M2	Monkey	Wildlife	B
M3	Monkey	Wildlife	B

of *Giardia* isolates, although subtypical discrimination between assemblages AI and AII, BIII and BIV is impossible (Abe et al., 2003). Therefore, we used a 177 bp sequence excluding the primer region (41 bp) from the 218 bp sequence for genotyping *Giardia* isolates and developed a nested PCR for amplification, since a nested PCR is more sensitive. However, no fragments could be amplified for calf isolates, though the annealing temperature was decreased from 55 to 50 °C in both rounds of PCR. Therefore, we used a primer set of *gdh* 1f 2nd and *gdh* 4r 2nd in the first round of PCR and were able to amplify the fragments of calf isolates. These findings indicate that

Giardia isolates from calves may have much variability within the sequences of GDH1 and GDH4 primers.

Giardia isolates from dogs characterized to date have been grouped into assemblages A–D (Monis et al., 1998, 1999; Read et al., 2004). In Japan, there has been one study in which only four dog isolates were confirmed to be the genotype of assemblage D (Abe et al., 2003). The present results revealed that assemblage A, which appears to have zoonotic potential, also occurred in dogs in Japan in addition to assemblages C and D, which seem to be specific for dogs. Thus, the significance for public health of dog isolates should be taken into account, although the potential for zoonotic transmission of *Giardia* from dogs to humans remains largely an unresolved issue (Ashford and Snowden, 2001). In the present study, three isolates from three breeding kennels revealed both genotypes of assemblages A and D, suggesting that the kennels had been contaminated with *G. intestinalis* of both assemblages. Mixed infection with some genotypes has been reported to date (Upcroft and Upcroft, 1994; Traub et al., 2004; Berrilli et al., 2004).

Cat isolates have been shown to be assemblages A, B or cat-specific F (Thompson et al., 2000; van Keulen et al., 2002; Monis et al., 1999). Although three isolates from cats were found to be assemblage F in the present study, more isolates must be analyzed for characterizing the genotype of *Giardia* from cats in Japan.

Assemblage E, which seems to be infectious to hoofed livestock, is the predominant genotype in cattle, but assemblage A has also been detected (O'Handley et al., 2000; Appelbee et al., 2003; Becher et al., 2004; Trout et al., 2004). Our results suggested that assemblages A and E are widely distributed in Japan, though the number of isolates examined in the present study was small. Analysis using more isolates from calves will be needed for confirming this speculation.

Monis et al. (1996) reported that isolates from the slow loris and siamang showed genotypes of assemblages AI and B, and Karanis and Ey (1998) reported that an isolate from a monkey was characterized as assemblage B. The monkeys used in those studies had been housed at a zoo and were not wild animals. Therefore, the present study is the first report of *Giardia* isolates from wild monkeys, *Macaca*

fuscata, being characterized in genotype as assemblage B. Wild animals, such as Japanese macaques, have been habituated to humans in Japan due to conservation and protection management. Furthermore, the relatively close contact between wild animals and humans is believed to enhance the zoonotic transmission of parasites. Thus, control of potential transmission of zoonotic pathogens, such as *G. intestinalis* is a serious challenge.

Acknowledgements

This study was supported in part by a Grant-in-Aid for Scientific Research (The 21st Century Center-of-Excellence Program) from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan (E-1) and by a grant from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan (H15-Shinkou-16).

References

- Abe, N., Kimata, I., Iseki, M., 2003. Identification of genotypes of *Giardia intestinalis* isolates from dogs in Japan by direct sequencing of the PCR amplified glutamate dehydrogenase gene. *J. Vet. Med. Sci.* 65, 29–33.
- Appelbee, A.J., Frederick, L.M., Heitman, T.L., Olson, M.E., 2003. Prevalence and genotyping of *Giardia duodenalis* from beef calves in Alberta. *Can. Vet. Parasitol.* 112, 289–294.
- Ashford, R.W., Snowden, K.S., 2001. Dogs and protozoan zoonosis. In: Macpherson, C.N.L., Meslin, F.X., Wandeler, A.I. (Eds.), *Dogs, Zoonosis and Public Health*. CABI Publishing, New York, pp. 127–128.
- Becher, K.A., Robertson, I.D., Fraser, D.M., Palmer, D.G., Thompson, R.C.A., 2004. Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in dairy calves originating from three sources in Western Australia. *Vet. Parasitol.* 123, 1–9.
- Berrilli, F., Cave, D.D., Liberato, C.D., Franco, A., Scaramozzino, P., Orecchia, P., 2004. Genotype characterisation of *Giardia duodenalis* isolates from domestic and farm animals by SSU-rRNA gene sequencing. *Vet. Parasitol.* 122, 193–199.
- Ey, P.L., Mansouri, M., Kulda, J., Nohynkova, E., Monis, P.T., Andrews, R.H., Mayrhofer, G., 1997. Genetic analysis of *Giardia* from hoofed farm animals reveals artiodactyl-specific and potentially zoonotic genotypes. *J. Euk. Microbiol.* 44, 626–635.
- Homan, W.L., van Euckevort, F.H., Limper, L., van Eys, G.J., Schoone, G.J., Kansprzak, W., Majewska, A.C., van Knapen, F., 1992. Comparison of *Giardia* isolates from different laboratories by isoenzyme analysis and recombinant DNA probes. *Parasitol. Res.* 78, 316–323.

- Homan, W.L., Gilsing, M., Bentala, H., Limper, L., van Knapen, F., 1998. Characterization of *Giardia duodenalis* by polymerase-chain-reaction fingerprinting. *Parasitol. Res.* 84, 707–714.
- Itoh, N., Muraoka, N., Aoki, M., Itagaki, T., 2001. Prevalence of *Giardia lamblia* infection in household dogs. *J. Jpn. Assoc. Inf. Dis.* 75, 671–677.
- Itoh, N., Muraoka, N., Aoki, M., Itagaki, T., 2004. Detection of *Giardia* antigen in puppies using enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.* 57, 579–582 (in Japanese with English summary).
- Karanis, P., Ey, P.L., 1998. Characterization of axenic isolates of *Giardia intestinalis* established from humans and animals in Germany. *Parasitol. Res.* 84, 442–449.
- Kuhn, R.C., Rock, C.M., Oshima, K.H., 2002. Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in wild ducks along the Rio Grande River Valley in southern New Mexico. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 161–165.
- Mayrhofer, G., Andrews, R.H., Ey, P.L., Chilton, M.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.
- Monis, P.T., Mayrhofer, G., Andrews, R.H., Homan, W.L., Limper, L., 1996. Molecular genetic analysis of *Giardia intestinalis* isolates at the glutamate dehydrogenase locus. *Parasitology* 112, 1–12.
- Monis, P.T., Andrews, R.H., Mayrhofer, G., Mackrill, J., Kulda, J., Isaac-Renton, J.L., Ey, P.L., 1998. Novel lineages of *Giardia intestinalis* identified by genetic analysis of organisms isolated from dogs in Australia. *Parasitology* 116, 7–19.
- Monis, P.T., Andrews, R.H., Mayrhofer, G., Ey, P.L., 1999. Molecular systematics of the parasitic protozoan *Giardia intestinalis*. *Mol. Biol. Evol.* 16, 1135–1144.
- Nash, T.E., 1995. Antigenic variation in *Giardia lamblia*. In: Boothroyd, J.C., Komonietcki, R. (Eds.), *Molecular Approaches to Parasitology*. Wiley-Liss, pp. 31–42.
- O'Handley, R.M., Olson, M.E., Fraser, D., Adams, P., Thompson, R.C.A., 2000. Prevalence and genotypic characterisation of *Giardia* in dairy calves from Western Australia and Western Canada. *Vet. Parasitol.* 90, 193–200.
- Read, C.M., Monis, P.T., Thompson, R.C.A., 2004. Discrimination of all genotypes of *Giardia duodenalis* at the glutamate dehydrogenase locus using PCR-RFLP. *Inf. Genet. Evol.* 4, 125–130.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., Higgins, D.G., 1997. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucl. Acids Res.* 24, 4876–4882.
- Thompson, R.C.A., 2000. Giardiasis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. *Int. J. Parasitol.* 30, 1259–1267.
- Thompson, R.C.A., Hopkins, R.M., Homan, W.L., 2000. Nomenclature and genetic groupings of *Giardia* infecting mammals. *Parasitol. Today* 16, 210–213.
- Traub, R.J., Monis, P.T., Robertson, I., Irwin, P., Mencke, N., Thompson, R.C.A., 2004. Epidemiological and molecular evidence supports the zoonotic transmission of *Giardia* among humans and dogs living in the same community. *Parasitology* 128, 253–262.
- Trout, J.M., Santin, M., Greiner, E., Fayer, R., 2004. Prevalence of *Giardia duodenalis* genotypes in pre-weaned dairy calves. *Vet. Parasitol.* 124, 179–186.
- Upcroft, J.A., Upcroft, P., 1994. Two distinct varieties of *Giardia* in a mixed infection from a single human patient. *J. Euk. Microbiol.* 41, 189–194.
- van Keulen, H., Macechko, P.T., Wade, S., Schaaf, S., Wallis, P.M., Erlandsen, S.L., 2002. Presence of human *Giardia* in domestic, farm and wild animals, and environmental samples suggests a zoonotic potential for giardiasis. *Vet. Parasitol.* 108, 97–107.

【 クリプトスポリジウム・ジアルジア感染症 】

* 国立感染症研究所寄生動物部, ** 神奈川県衛生研究所微生物部

遠藤卓郎, 黒木俊郎

クリプトスポリジウムとジアルジアは代表的な腸管寄生性の原虫で、それぞれに寄生様式は異なるが、いずれも下痢症の原因として知られている。患者（患畜）の糞便中に感染形態であるオーシスト（クリプトスポリジウム）あるいは、シスト（ジアルジア）が排出されて、直接あるいは飲食物を介して感染する。小児下痢症や渡航者下痢症としても重要視されている。さらに、これらの原虫が長期間にわたり水中で感染性を保持することや強い塩素耐性を示すことから、しばしば水道を介した集団下痢症が報告されている。平成16年8月末には水泳プールを介した我が国初のクリプトスポリジウム集団感染が発生している。

ジアルジア症の治療方法は開発されているが、クリプトスポリジウム症にはなく、自然治癒までの期間は対症療法となる。クリプトスポリジウムによる慢性下痢症を呈するエイズ患者などの免疫不全者に対しては、免疫機構の回復が有効な治療法となる。

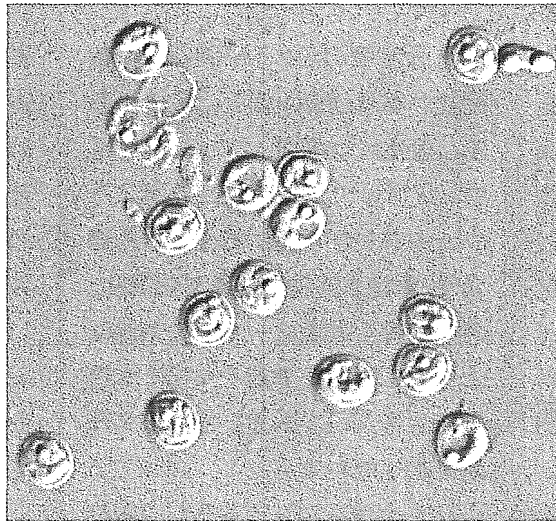


写真1 クリプトスポリジウムオーシスト
オーシストはおよそ $4 \times 6 \mu\text{m}$ の大きさで、オーシスト内にはバナナ形をした4個体のスポロゾイトや残体と呼ばれる顆粒構造が認められる。

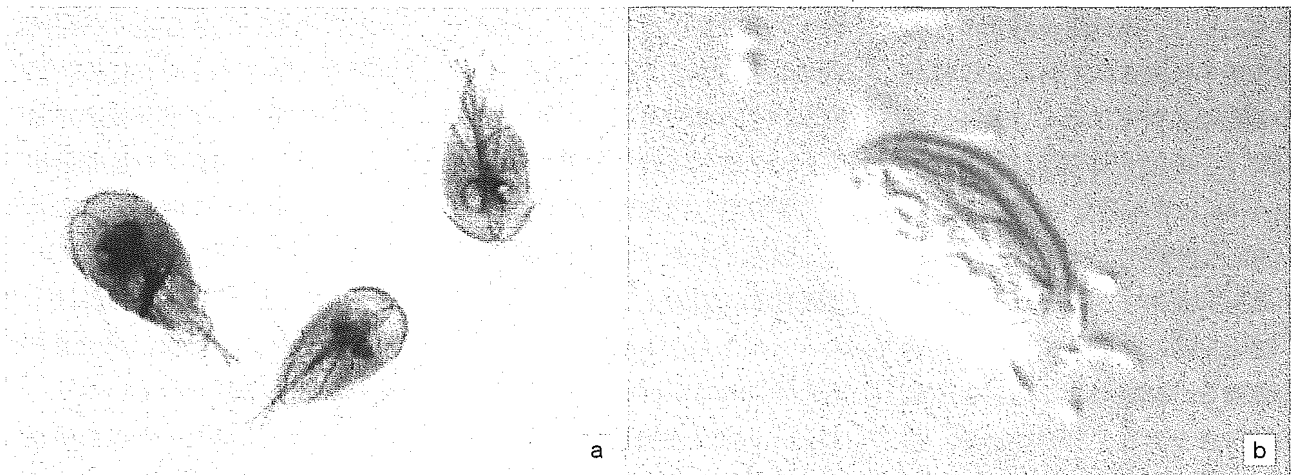


写真2 ジアルジア顕微鏡像

a : 栄養体のギムザ染色像。栄養体は常に2核で、4対の鞭毛を有した特有の形態を持つ。長径はおよそ $10 \sim 15 \mu\text{m}$ 。
b : 嚢子の微分干渉顕微鏡像。細胞内器官として核、曲刺、鞭毛、軸索などが認められる。シストの長径は $8 \sim 12 \mu\text{m}$ 。

クリプトスポリジウム症

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を宿主とする。寄生部位（ヒトに寄生する主要なクリプトスポリジウムでは小腸）の上皮細胞に虫嚢を形成し、その内部で無性生殖により増殖する。やがて有性生殖期に移行して厚い殻をかぶったオーシスト（写真1）が形成され、便とともに外界に排出される。オーシストは $4 \times 6 \mu\text{m}$ の大きさで、その中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ことで感染する。

クリプトスポリジウム属には13種程度が報告されており、このうち7種が哺乳類を宿主とする。*Cryptosporidium parvum*の遺伝子型のうちヒト型と呼ばれるもの（種を独立させて*C. hominis*とする意見もある）はヒトと霊長類を宿主として、我が国の患者からは最も多く検出されている。広範囲の哺乳類に宿主する*C. parvum*ウシ型（この遺伝子型に限って*C. parvum*とする意見がある。⇒*C. hominis*参照）は本症のもう一方の原因病原体である¹⁾。

感染経路には直接的に患者や感染動物との接触による感染と、飲食物や水を介した経路がある。前者には家族内感染、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）などの事例がある。後者には野菜、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感染や、水道水汚染による集団発生、河川や湖、水泳プールでの水泳などを介した感染があり、特に水道水や水泳プールを介した感染が問題になっている。

ヒトのクリプトスポリジウム症の潜伏期は4～8日程度で、主な症状は下痢（非血性の水様性）、腹痛、39℃を越えない発熱、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である。通常、症状は1～2週間程度で治まる。オーシストの排出は症状が消えた後でもしばらく続き、感染から4～8週間程度は継続するものと考えられる。成人よりも小児の方が、また初感染の方が再感染よりも症状が重い。患者の免疫状態により症状には大きな差はないが、臨床経過（症状が持続する期間と転帰）は甚だしく異なる。AIDS患者な

どの免疫不全者では慢性、消耗性の下痢を呈し、症状が長期に持続して時に致死的となる（表1）²⁾。通常は小腸のみに感染するが、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は23のAIDS指標疾患の1つとなっている。米国疾病予防センター（CDC）ではCD4⁺T細胞数が180～200を下回るとクリプトスポリジウム症の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、治療は対症療法がとられる。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、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。

クリプトスポリジウム症は感染症法により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

表1 クリプトスポリジウム症の臨床的所見

	エイズ患者 n=67	その他の 免疫不全者 17	健常者 35
症状			
下痢	63	16	31
腹痛	24	6	14
嘔吐（嘔気）	18	4	11
発熱	26	3	11
症状無し	4	1	4
期間（日）			
<3	0	0	5
4～10	2	1	13
11～20	0	1	9
21～30	1	0	4
>30	52	12	0
不明	12	3	4
転帰			
治癒	12	8	34
治癒不良	3	1	0
死亡	31	5	0
不明	21	3	1

文献：Fayer R and Ungar LP. *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. Microbiol Rev 1986; 50: 458-483. を一部改変。

務付けられている。感染症法の施行以降の報告数は、平成11年(4月以降)は4例、平成12年は3例、平成13年は11例、平成14年は109例、平成15年は8例、平成16年は91例であり、集団下痢症が発生した平成14年と16年を除いて毎年10例前後の患者が報告されている。

ジアルジア症

ジアルジア症は下痢を主徴とする原虫感染症で、ランブル鞭毛虫(学名には *Giardia lamblia*, *G. intestinalis* または *G. duodenalis* が用いられる)が原因病原体である。ランブル鞭毛虫の記載の歴史は古く、1681年に Antony von Leeuwenhoek が自身の便中の虫体を観察している。その後19世紀から20世紀にかけて学名が与えられ、公衆衛生上あるいは臨床上の問題として認識されるようになった。

ランブル鞭毛虫の生活環には栄養体とシスト(写真2)の2形態がある。栄養体は6~10 μm ×10~15 μm で左右対称の洋梨形をしており、無性生殖(2分裂)により増殖する。鞭毛を使って移動し、体の中央にある吸着盤で消化管の管腔内壁に付着する。十二指腸から小腸上部、時には胆管や胆嚢の内壁に付着して寄生する。シストは5~8 μm ×8~12 μm の長楕円形で、4個の核、軸索、鞭毛、類染色質、楯板が観察される。シストを経口的に摂取することで感染する。

ジアルジア症の症状は、無症状や軽度のものから重篤な状態まで広範囲にわたる。軽度であれば下痢や腹痛、食欲不振、悪心、腹部

不快感、鼓腸等がみられ、重篤になると痙攣性の栄養不良等を惹起する。下痢では水様便や粘性便、泥状便を呈し、まれに血液が混じることがあり、ジアルジア症特有の悪臭を放つ脂肪便も時に経験される。小児は成人よりも症状が重い傾向がある。胆管や胆嚢に寄生すると上腹部痛や発熱、肝腫大、肝機能障害、黄疸といった胆嚢炎様症状がみられることがある。

ジアルジア症の治療には、ニトロイミダゾール誘導体(メトロニダゾール、チニダゾール等)が第一選択剤として使用される。治療法の1例としてメトロニダゾールでは750mg/日、分3、毎食後、5~7日間、ときに10日間内服が、チニダゾールでは400mg、分2、食後、7日間内服が行われる。両治療薬とも副作用があり、特に妊婦や血液疾患、器質的中枢神経疾患等への投与は禁忌とされる。

ジアルジア症は感染症法により5類感染症(全数把握)に位置づけられ、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。報告数は、平成11年(4月以降)は42例、平成12年は98例、平成13年は137例、平成14年は113例、平成15年は103例、平成16年は85例あり、毎年100例前後の患者が報告されている。

検査法

クリプトスポリジウム症の検査は糞便からのオーシストの検出、ジアルジア症は便からの栄養体あるいはシストの検出による。クリプトスポリジウムのオーシストの精製にはFEA法(ホルマリン・エ

ーテル法と手技は同じであるがエーテルを酢酸エチルで置き換える)を用いる。FEA法の沈渣中のオーシストは抗酸染色を用いて染色する。シヨ糖遠心沈殿浮遊法により精製することもでき、シヨ糖液中のオーシストは無染色でも桃色~橙色を呈するのでカビの胞子などの類似粒子との鑑別が可能である。

ジアルジアの栄養体やシストの数が多き場合は直接鏡検で十分観察が可能である。シストの数が少ない場合は、集嚢子法としてFEA法を用い、得られた沈渣を鏡検する。ジアルジアの形態は特有であるため、顕微鏡観察による確定は比較的容易である。染色する場合には簡易法としてヨード染色を用い、永久標本を作製して詳細に内部構造を観察するにはコーン染色変法等が勧められる。

抗原抗体反応を利用した蛍光抗体染色法は正確で、しかも迅速かつ簡便な方法である。しかし、臨床診断薬として認可されていないため、研究目的で用いるか、水試料からの検出用試薬を糞便検査に利用する。我が国でも蛍光抗体試薬が早い時期に診断薬として入手できるようになることが望まれる。

参考文献

- 1) L Xiao, R Fayer, U Ryan, SJ Upton: *Cryptosporidium* taxonomy: Recent advances and implications for public health. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17: 72-97.
- 2) Fayer R and Ungar LP. *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. *Microbiol Rev* 1986; 50: 458-83.

クリプトスポリジウム症 (Cryptosporidiosis)

遠藤 卓郎 国立感染症研究所 寄生動物部 部長

八木田 健司 国立感染症研究所 寄生動物部 主任研究官

泉山 信司 国立感染症研究所 寄生動物部 主任研究官

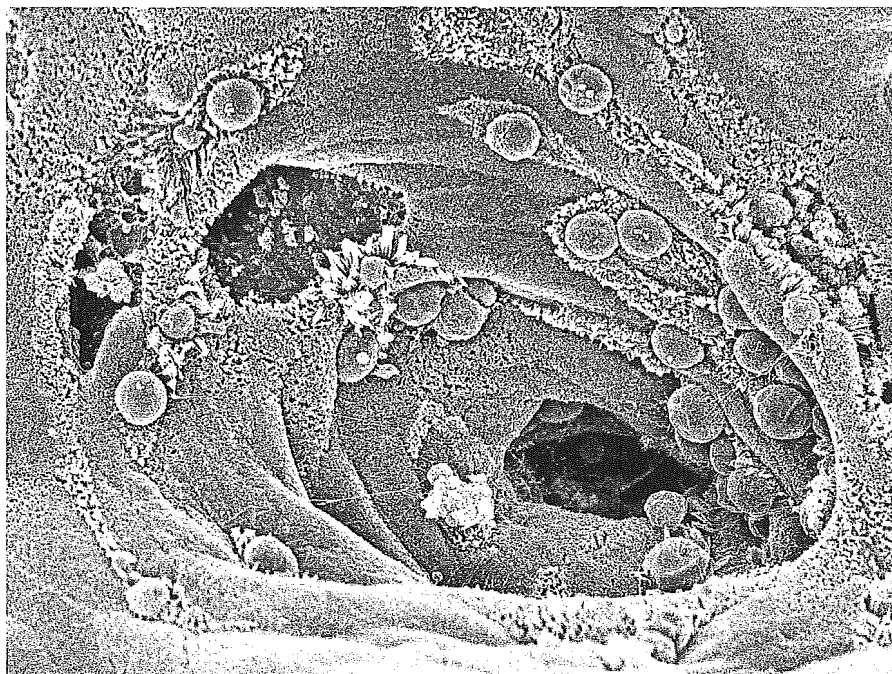


図1 小腸上皮に寄生するクリプトスポリジウム (走査電顕像)

クリプトスポリジウム症は、孢子虫類に属するクリプトスポリジウム原虫 (*Cryptosporidium parvum*) の感染に起因する疾患で、急性で非血性の水様下痢を主徴とする。わが国では水道水を介した集団発生を契機にクローズアップされた疾患であることから、水道水汚染に注意が偏るきらいがある。事実、本原虫は環境抵抗性が強く、そのため容易に水系汚染につながる。水道を介した集団感染としては、1993年に米国ミルウォーキーにおいて推定40万3,000人が罹患するという史上最大の事例が発生している¹⁾。

しかしながら、本原虫は小児下痢症や渡航

者下痢症として重要であり、性感染症あるいは人獣共通感染症としても重要である。さらに、本症は治療法が確立していないため免疫不全者にとって特段の注意が必要な疾患でもある。平成11年に施行された感染症法では5類感染症(平成15年の一部改正に伴い、4類感染症から変更)に分類される。患者の届け出が義務付けられているが、検査方法が普及していないこともあり、散发例の報告は限られる。

情報が集まるにつれて、水泳プールを介した事例の多いことがわかってきた。本邦でも水泳プールを介した事例が発生している。

表1 HIV/AIDS患者に対する
クリプトスポリジウム予防
方法(米国CDC)

①手洗いの励行	④食物の洗浄/加熱の励行
②性行為を通じた糞便汚染の回避	⑤水泳/入浴時の誤飲回避
③ペットや家畜との接触回避	⑥旅行中に安全な水の確保 など

■クリプトスポリジウム原虫

クリプトスポリジウムは孢子虫綱の真コクシジウム目に属し、宿主の小腸上皮細胞等の微絨毛に固有の虫嚢を形成して寄生する(図1)。本原虫の生活環は無性生殖期と有性生殖期からなるが、単一の宿主内で生活環が完結する。有性生殖により直径約 $5\mu\text{m}$ のほぼ球形のオーシストが形成され、糞便中に多量に排出される(図2 a・b)。感染期間を通じたオーシストの排泄量は患者1人当たり 10^{10} 個/g(急性期で 10^{6-7} 個/g)、ウシではさらにその10倍程度ときわめて多量である。オーシストは湿潤な環境で2カ月以上生存するが、 60°C で30分以上の処理、あるいは常温・乾燥状態では1~4日間で失活するとされる。

クリプトスポリジウムは広く脊椎動物に寄生がみられ、よく知られる種としては *C. parvum*(ヒト型、動物型)、*C. canis*(イヌ)、*C. felis*(ネコ)、*C. wrailli*(モルモット)、*C. muris*(ネズミ)、*C. andersoni*(ウシ)などがある。鳥類から *C. baileyi*、*C. meleagridis*、爬虫類から *C. serpentis*(ヘビ)、*C. saurophilum*(トカゲ)などが報告されている。しかしながら、遺伝子解析が進むにつれ本属の分類は流動的となっている^{2) 3)}。ヒトでは *C. parvum*を中心に感染がみられるが、複数の遺伝子型が知られている。その中でヒト型はヒトにのみ感染がみられるもので、*C. hominis*として独立させる動きもある⁴⁾。他方、ウシ型は広く哺乳類に分布し、いわゆる人獣共通の病原体で、この他に、*C. canis*や*C. felis*、*C. meleagridis*などの感染報告がある。HIV/AIDS患者からはさらに多様な種の寄生が報告されており、気管支や胆管系などの異所寄生も知られている⁵⁾。

■症 状

クリプトスポリジウム症は不顕性感染から急性の水様下痢症、例外的には腸管外寄生までと多岐にわたる。本症は激しい非血性的水様下痢を主徴として、腹痛、悪心、嘔

吐、食欲不振などの症状が下痢に先行して単独あるいは複合してみられることが多い。急性期には大量の水様便により脱水に注意する必要がある⁵⁾。

本症の診断は糞便からのオーシストの検出によるが、便の直接鏡検か遠心沈殿法などの濃縮法が用いられる。染色法としては蛍光抗体染色(検査試薬として未承認につき、保険適用外)が優れる(図2 b)が、抗酸染色法も適用できる。

オーシストの感染力は強く、ボランティアを募った感染実験では100個程度の摂取で半数の者に感染が成立している⁶⁾。他の報告では10個程度でも感染の成立をみており、株により感染性に差がある⁷⁾。集団感染の特徴は、非常に高い罹患率が示される点である。ミルウォーキーでは給水人口の52%(40万3,000人)、越生町では70%(8,700人)、その他の事例でも関係者の13~90%に感染がみられている。2004年に水泳プールで発生したわが国の事例では、遊泳者の90%以上が感染した。

本症の潜伏期は4~9日(中央値6日)で、患者の大多数(95%)は8日以内に発症する。免疫状態に異常がない患者での有症期間は4~14日程度である。オーシスト排出は2週間程度で収束するが、4週間にも及ぶ例もある⁸⁾。免疫不全患者では自然治癒が期待できず、下痢の長期化が懸念される。さらに、HIV/AIDS患者では腸管系以外の呼吸器や胆道系における寄生も報告されている。近年では爬虫類や両生類などがペット動物として飼育されているが、HIV/AIDS患者ではこれらの動物からの感染も否定できない。動物との接触はくれぐれも慎重でなければならない。表1にHIV/AIDS患者への米国CDCの予防法の諸項目を示す。本邦では、厚生省が1997年に「エイズ患者等免疫不全の状態にある方のクリプトスポリジウム感染予防について」として注意を促している。

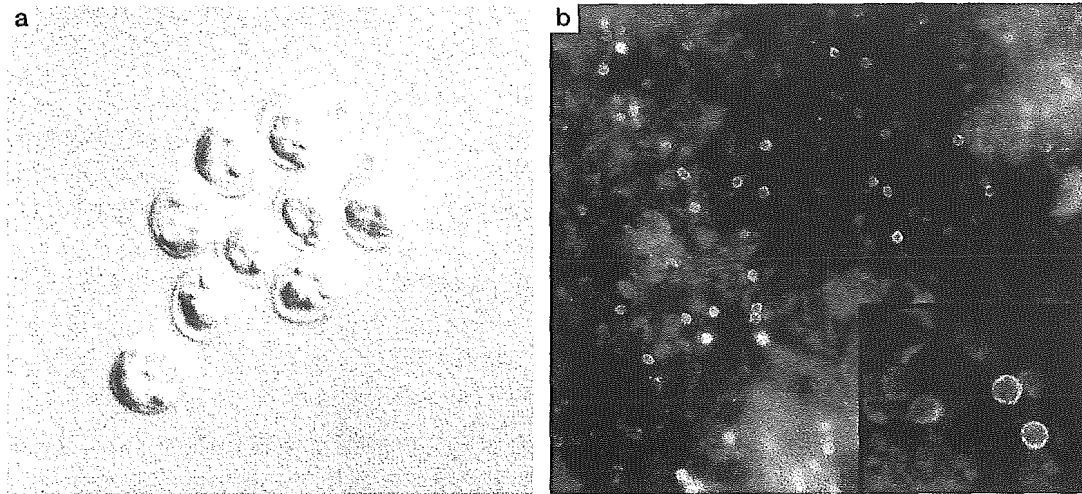


図2 クリプトスポリジウムオーシスト
a: 微分干渉顕微鏡像, b: 蛍光抗体染色像

年度	プールを介した 胃腸症の年間発生数	クリプトスポリジウム		ジアルジア	
		事例数	患者数	事例数	患者数
1995	17	3	5,487	0	0
1996	11	3 [1]	3,025	1	77
1997	3	1	369	0	0
1998	15	8 [1]	169	0	0
1999	15	4 [1]	64	1	18
2000	21	13 [1]	1,377	0	0
2001	12	4	538	0	0
2002	18	7 [1]	936	1 [1]	2

表2 米国におけるプール等を介したクリプトスポリジウムとジアルジアの集団感染事例(1995~2002年)
[]内は内数で河川、湖沼等での感染事例数
(CDC MMWRより編集)

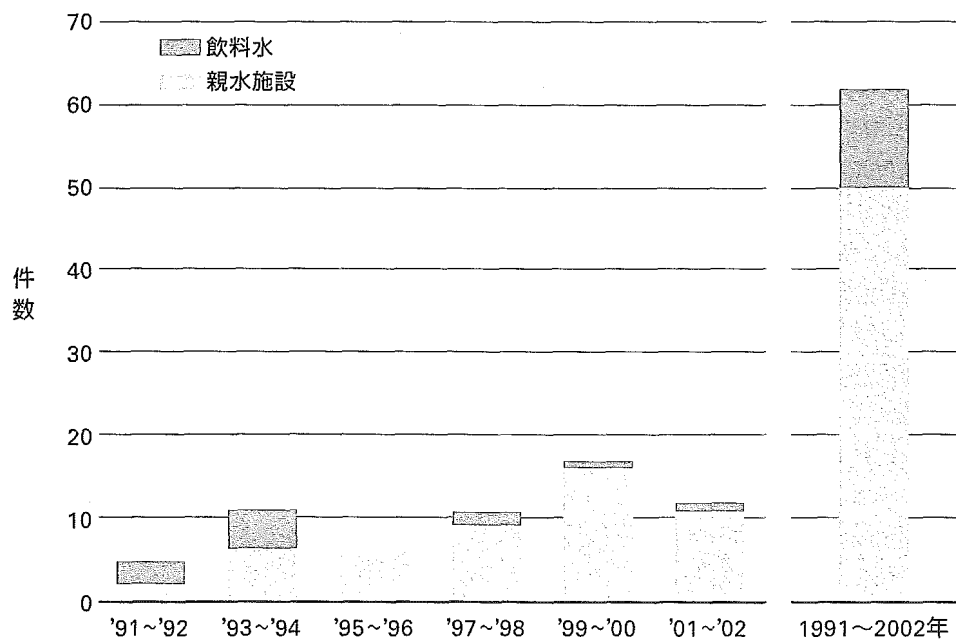


図3 米国におけるクリプトスポリジウムによる集団下痢症事例の発生状況

年度	クリプトスポリジウム	ジアルジア
1999	4	42
2000	3	98
2001	11	137
2002	109	113
2003	8	103
2004	91	85
2005*	5	19

表3 感染法下で報告された発生件数

* 20週現在
(感染症週報より編集)

■疫学

クリプトスポリジウム症はオーシストの経口摂取により感染(糞-口感染)する。感染経路は、感染した者(畜)との接触による経路と汚染された飲食物を介した経路が考えられる。前者は家庭、託児所あるいは病院等での感染、性的接触、感染動物との接触(ペットや家畜、実験動物、牧場訪問)などが知られている。後者の例としては水道水を介した集団感染や水泳プールなどでの感染が知られており、社会的な影響は深刻となる。

今日の水道においてクリプトスポリジウムが特に重要視される理由として、オーシストが塩素耐性であること、ろ過による除去に限界があることなどが挙げられる。水道を介した集団感染ではミルウォーキーの事例はつとに知られるところであるが¹⁾、わが国でも平塚市⁹⁾や越生町¹⁰⁾で集団感染が起きている。同様の理由でオーシスト汚染は水泳プールなどに波及するところとなっている。米国CDCの一連の報告¹¹⁾によると、水系集団感染による胃腸症の相当数がクリプトスポリジウムに起因すること(表2)、1991~2002年の調査期間中にクリプトスポリジウムによる水系感染が62件発生しているが、うち50件は水道水ではなく水泳プールなどのリクリエーション水を介した事例であった(図3)。

2004年の8月下旬にわが国でも水泳プールを介した集団感染が発生した。詳細は他誌に譲るが、利用者を介して別のプールへの二次汚染も確認されていることから、夏を前にして水泳プールの衛生管理にクリプトスポリジウム対策を盛り込む必要があるものと考えている。その際のキーワードは『遊泳中の糞便のお漏らしは決して珍しいものではないこと、その一方で遊泳者はプールの水を誤飲していること』である。衛生的には、下痢症状のある者の利用には一定の制限が

あつてしかるべきものとする。

クリプトスポリジウムの汚染源として家畜の果たす役割も小さくない。ウシ、ブタを始め、ヤギやヒツジにまで広く感染が認められている。米国におけるクリプトスポリジウムの汚染状況は深刻で、酪農場の90%、肥育場の40%に認められている。特に、仔ウシに高い感受性があることで、乳牛では1~3週令の仔ウシのおよそ50%、3~5週令でも22%という感染率が報告されている。日本の状況がこれを下回るという保証はない。事実、飼育形態にもよるが、3カ月未満の仔ブタでは30%を超える感染率が示されている¹²⁾。

ところで、感染症法が施行されてからわが国で届け出されたクリプトスポリジウム症は表3の通りであるが、集団感染の発生した2002年、2004年を除けば毎年10例前後の患者報告に留まっており、類似の原虫症であるジアルジア症と比較してもきわめて少ない¹³⁾。しかし、この数値をもってわが国の汚染実態が表現されるとするのは早計で、むしろ臨床現場での検査体制の強化が課題と考える。

[参考文献]

- 1) Mac Kenzie WR, et al : N Engl J Med 331 : 161, 1994.
- 2) Leav BA, et al : Clin Infect Dis 36 : 903, 2003.
- 3) Xiao L, et al : Clin Microbiol Rev 17 : 72, 2004.
- 4) Morgan-Ryan UM, et al : J Eukaryot Microbiol 49 : 433, 2002.
- 5) Ungar BLP : Cryptosporidiosis in humans (Homo sapiens), In Cryptosporidiosis of Man and Animals (ed Dubey JP, et al), CRC Press, Boca Raton, FL, 1990.
- 6) DuPont HL, et al : N Engl J Med 332 : 855, 1995.
- 7) Okhuysen PC, et al : J Infect Dis 180 : 1275, 1999.
- 8) Baxby D, et al : J Hyg 95 : 703, 1985.
- 9) 黒木俊郎, 他 : 感染症学雑誌 70 : 132, 1996.
- 10) Yamamoto N, et al : Kansenshogaku Zasshi 74 : 518, 2000.
- 11) http://www.cdc.gov/mmwr/mmwr_wk.html
- 12) Izumi-yama S, et al : Jpn J Infect Dis 54 : 23, 2001.
- 13) Infectious Diseases Weekly Report Japan, 2005.

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¹⁾: 泉山信司²⁾: 遠藤卓郎²⁾
 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命的となる。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¹⁾。次いで、1912年にマウスの小腸から *C. parvum* を報告した²⁾。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* が正常な女兒と免疫不全患者から分離され^{3,4)}、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)⁵⁾。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 μ m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 μ 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

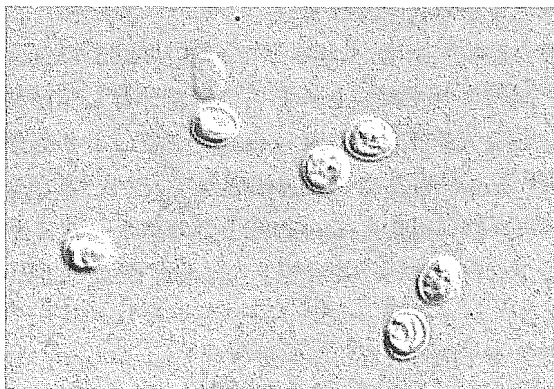


写真1 *Cryptosporidium parvum*のオーシスト(微分干渉像)

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⁵⁾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原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。



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. wairi*, *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^{6,7)}。

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るとよい。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⁸⁾、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⁹⁾。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*) およびヨーロッパ産バス (*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（患畜）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のものや、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、感染予防に特別な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）は特別な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

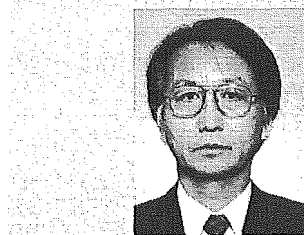
- 1) Tyzzer, E. E. : A sporozoon found in the peptic glands of the common mouse. Proc Soc Experimental Biol Med 5: 12-13, 1907.
- 2) Tyzzer, E. E. : *Cryptosporidium parvum* (sp.nov.), a coccidium found in the small intestine of the common mouse. Arch Protisten 26: 394-412, 1912.
- 3) Nime, F.A., Burek, 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.

クリプトスポリジウム症

Cryptosporidiosis

遠藤 卓郎・八木田 健司
泉山 信司

国立感染症研究所 寄生動物部



遠藤 卓郎（えんどう たくろう）
1970年東京水産大学水産学部卒業。
1974年国立予防衛生研究所（現；国立
感染症研究所）寄生虫部研究員。1978
～1980年西ドイツ・ボン大学留学（フ
ンボルト財団より）。2002年寄生動物部
部長。現在に至る。
研究テーマは寄生性原生動物学、クリ
プトスポリジウム等腸管寄生性原虫類
に関する研究、病原性を有する自由生
活性アメーバ類に関する研究。

⇒Key Words:

Cryptosporidium, fecal-oral infection,
waterborne disease, watery diarrhea

Abstract

クリプトスポリジウムは孢子虫類に属する原虫で、種々の脊椎動物の消化管に寄生して下痢症の原因となっている。患者（患者）の糞便中にオーシストが排出され、これを経口的に摂取することで感染する（糞一口感染）。クリプトスポリジウムに感染すると非血性の水様下痢を主徴とした胃腸症状をするが、4-14日間程度で自然治癒する。一方、本原虫に対する有効な治療薬がないために免疫不全者では時として致死的となる。また、オーシストは塩素耐性が強く、水道水の汚染が強く懸念されている。近年では遊泳中の糞便事故を原因として水泳プールを介した集団感染も知られている。加えて、旅行者下痢症の原因としても重要で、臨床上あるいは、公衆衛生学的に注目される原虫となっている。

はじめに

クリプトスポリジウムは孢子虫類に属する細胞寄生性の原虫で、哺乳類から鳥類あるいは、爬虫類や魚類にいたるまで脊椎動物に広く寄生が報告されている。その中で、人に感染するものは *C. parvum* を中心とした数種に限られるが、分布は世界的で衛生状態の悪い国のみならず工業先進国においても多くの患者が発生している地域がある。患者の糞便中には多量のオーシストが排出され、しかも強い塩素耐性を有することから水道水や水泳プールなどを介した水系集団下痢症の原因となっている。水道を介した事例としては1993年に米

国ミルウォーキーにおいて推定40万3千人が罹患するという史上最大の集団感染が発生している。また、水泳プールを介した事例は2000年までに欧米を中心として19件の報告がある。わが国ではこれまでに4件ほどの集団感染事例を経験している。クリプトスポリジウムは水系感染症のみならず、小児下痢症、渡航者下痢症、性感染症、人獣共通感染症の病原体として医学・公衆衛生の分野において注目される原虫である。特に、免疫不全者では下痢症状が長期にわたり持続し、時として重篤化することから特段の注意が喚起されている。平成11年には感染症法が施行され、クリプトスポリジウムは5類感染症（平成15年の一部改正に伴い、4類感染症から変更）に登録され、患者の届け出が義務付けられている。

1. クリプトスポリジウム原虫

クリプトスポリジウム (*Cryptosporidium*) 属の原虫は孢子虫綱の真コクシジウム目に属し、宿主の小腸上皮細胞の微絨毛等に虫嚢を形成して寄生する。本原虫の生活環は複雑で、無性生殖期を経て有性生殖期に移行する。有性生殖によりオーシストが形成され、患者（畜）の糞便中に排出される（図1）。

■ Takuro, Endo, Kenji Yagita, Shinji Izumiyama
National Institute of Infectious Diseases

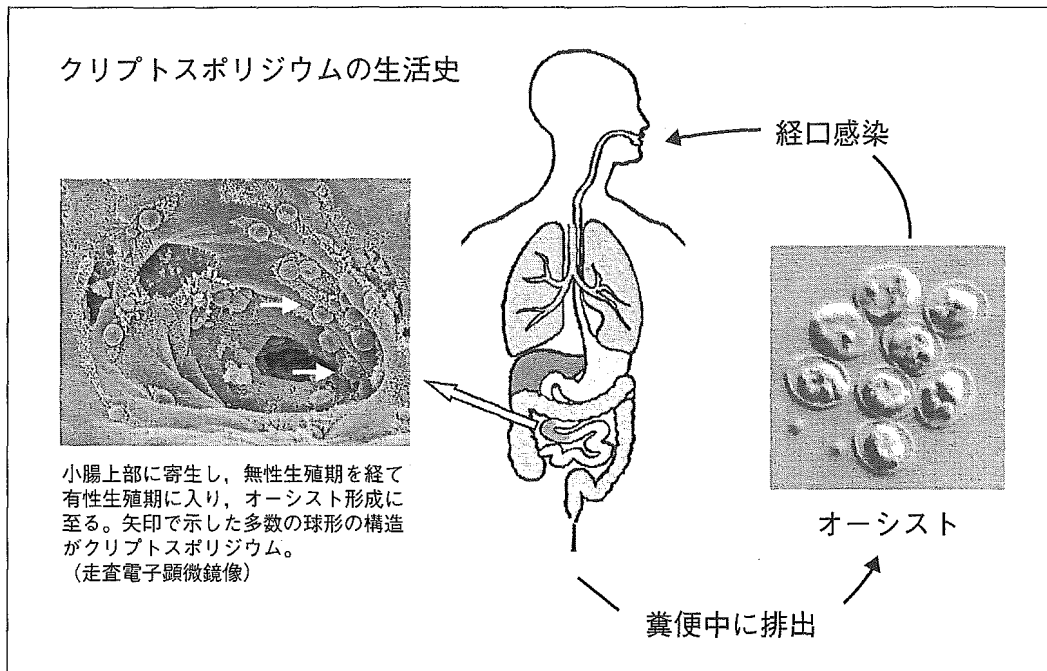


図1 クリプトスポリジウムは腸管の上皮細胞に寄生し、無性生殖期と有性生殖期からなる複雑な生活史を営む。有性生殖の結果、糞便中に多量のオーシストが排出され、水や食品などを汚染する。人への感染経路は水や食品を介した典型的な糞-口感染である。

本属には宿種別に多くの種が報告されており、*P. parvum*の他に*C. canis* (*C. parvum*のイヌ型)、*C. felis* (ネコ)、*C. wrailli* (モルモット)、*C. muris* (ネズミ)、*C. andersoni* (ウシ)などが報告されている。さらに有袋類、フェレット、マウスあるいはブタなどに由来するものが知られている。鳥類では*C. baileyi*、*C. meleagridis*、爬虫類では*C. serpentis* (ヘビ)、*C. saurophilum* (トカゲ)の報告がある。現在、クリプトスポリジウム属にはおよそ10~13種が報告されているが、遺伝子解析が進むにつれて流動的となっている(Leav, et al.: 2003; Xiao, et al.: 2004)。これらのうちには*C. parvum*と形態学的に区別が難しいものが少なくなく、煩雑さを避けて便宜的にそれらを*C. parvum*グループと表現することもある。

ヒトでは*C. parvum*を中心に感染が見られる。本種には複数の遺伝子型が知られている。その中のヒト型(genotype I)はヒトの間でのみ感染が見られるもので、最近では*C. hominis*として独立させる動きもある(Morgan-Ryan, et al.: 2002)。他方、ウシ型(genotype II)は広く哺乳類に分布するもので、いわ

ゆる人獣共通の病原体である。この他、稀にはあるが*C. canis*や*C. felis*、*C. meleagridis*などの感染事例が報告されている。エイズ患者ではさらに*C. muris*や*C. baileyi*などの感染が報告されており、胆管系や気管支などといった腸管系以外の組織への感染も報告されている(Ungar, 1990)。

■ 2. 症状

クリプトスポリジウム症はもっぱら患者の免疫状態により症状が異なり、不顕性感染から慢性的な水様下痢症、さらには腸管外感染まで多岐に渡る。典型的には、激しい非血性の水様下痢を主徴とし、その他に腹痛、低度の発熱、吐き気、むかつき、食欲減退等々の諸症状を呈する。大量の水様便を排出するので脱水症状を呈することもある(Ungar 1990)。成人よりも小児の方が、また再感染よりも初感染の方が重い症状となる。本症の潜伏期は4~8日(中央値6日)で、免疫状態に異常がない個体での有症期間は4~14日程度とされる。オーシストの排出はほとんどの患者で2週間ほど続き、

4週間に及ぶ患者も2割程度は観察される(Baxby, *et al.*: 1985)。一方、免疫力の低下した患者にとっては自然治癒が期待できないことから、下痢が長期におよび重篤な症状に至る危険性が指摘されている。HIV/AIDS患者では呼吸器や胆道系における寄生も報告されている。1997年に厚生省は「エイズ患者等免疫不全の状態にある方のクリプトスポリジウム感染予防について」注意を促した。急性期の患者から排出されるオーシストの数は糞便1g当たり 10^{6-7} 個、感染牛ではその約10倍程度とされる。感染はオーシストの経口摂取によるもので、クリプトスポリジウムの株により感染力に差があるが、10~1000個程度の摂取で感染が成立することが示されている(Okhuysen, *et al.*: 1999)。

本症の診断は糞便からのオーシストの検出によるが、患者便の直接鏡検か遠心沈殿法等によるオ

ーシストの濃縮が用いられる。染色法としては蛍光抗体染色(検査試薬として未承認につき、保険適用外)が優れるが、抗酸染色法も適用できる。

■ 3. 疫学

クリプトスポリジウムはオーシスト(図2)を経口的に摂取するいわゆる糞一口感染であるが、感染経路としては患者や患畜との接触による感染と飲食物を介した経路が考えられる。前者では家族内感染、託児所での集団感染、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)などの事例が知られている。後者の例としては、野菜、リンゴジュースや牛乳などを介したのものや、水道水汚染による集団発生、河川や湖、水泳プールなどを介した感染が知られている。クリプトスポリジウムのオーシストは環

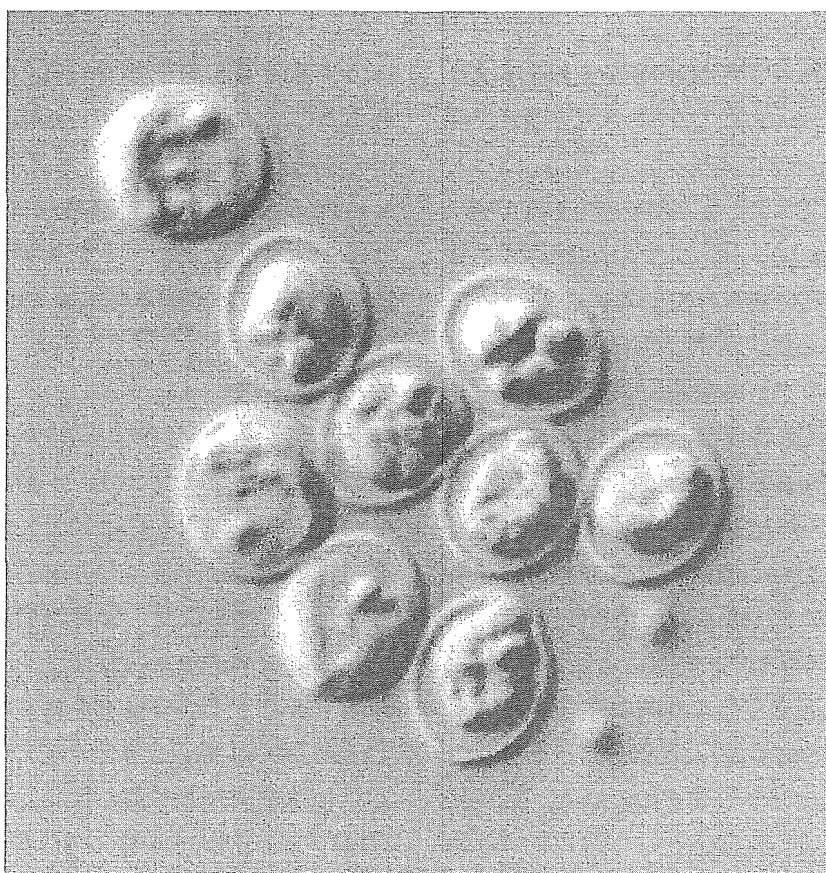


図2 クリプトスポリジウムのオーシストは長径は5-6 μ mで、中に4匹のスポロゾイトが入っている。10個程度のオーシストを経口摂取することで感染するとされる。環境中で数ヶ月程度は感染性を維持する。

境中で長時間活性を維持し、しかも強い塩素耐性を示すことから水道水を介した集団感染が世界各地で報告されている。水系感染が明らかとなった1984年から1999年までの間に69件の水を介した集団感染が報告されている(Fayer, *et al.*: 2000)。わが国でも神奈川県平塚市(黒木俊郎ら, 1996)や埼玉県越生町(Yamamoto, *et al.*: 2000)で大規模の集団感染を経験している。

クリプトスポリジウム症は輸入感染症(旅行者下痢症)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工業先進国もある。そのため、海外旅行中に感染し、旅行の途中や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3000~6000例におよぶとされ、患者の発生には春と晩夏から秋にかけて2つのピークが見られている。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で、この時期の患者から分離される原虫はヒト型が多くみられる傾向がある。一方、春のピークは感受性の高い子ウシの多い時期にあたり、ウシ型が優勢となっている。

感染症法が施行されてからのクリプトスポリジウム症患者の届け出数は、平成11年は7例(1999年4月以降)、平成12年は3例、平成13年は9例、平成14年は108例、平成15年は8例、平成16年は10月17日までに90例であり、平成14年と16年には集団下痢症が発生している。集団感染を除くと毎年10例前後の患者報告に留まっているが、この疫学統計がわが国の汚染実態を表現しているとは考え難い。

クリプトスポリジウム症はHIV/AIDS患者にとって危険な疾病の一つであり、感染予防に特別の配慮が求められる。米国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注意喚起に努めている。近年ではペットとして飼育される動物の種類がイヌやネコなどの哺乳類にとどまらず、爬虫類や両生類などにまでおよんでいる。エイズ患者では様々の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も否定できないことから、動物との接触は慎重でなければならない。

文 献

- 1) Baxby D, Hart CA, Blundell N.: Shedding of oocyst by immunocompetent individuals with cryptosporidiosis. *J Hyg.* 95: 703-709, 1985.
- 2) Fayer R, Morgan U and Upton SJ.: Epidemiology of Cryptosporidium: transmission, detection and identification. *Int J Parasitol.* 30: 1305-1322, 2000.
- 3) Infectious Diseases Weekly Report Japan. 42週(10月11日-10月17日): 2004年.
- 4) 黒木俊郎, 渡辺祐子, 浅井良夫, 他.: 神奈川県内で集団発生した水系感染Cryptosporidium症. *感染症学雑誌.* 70(2): 132-140, 1996.
- 5) Leav BA, Mackay M, Ward HD.: Cryptosporidium species: new insight and old challenges. *Clinical Infectious Diseases.* 36: 903-908, 2003.
- 6) Morgan-Ryan UM, Fall A, Ward LA, *et al.*: Cryptosporidium hominis n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from Homo sapiens. *J Eukaryot Microbiol.* 49: 433-440, 2002.
- 7) Okhuysen PC, Chappell CL, Crabb JH, *et al.*: Virulence of three distinct Cryptosporidium parvum isolates for healthy adults. *J Infect Dis.* 180: 1275-1280, 1999.
- 8) Ungar BLP.: Cryptosporidiosis in humans (Homo sapiens). In *Cryptosporidiosis of Man and Animals* (ed. JP Dubey, CA Speer and R Fayer), CRC Press, Boca Raton, FL. 1990.
- 9) Yamamoto N, Urabe K, Takaoka M, *et al.*: Outbreak of cryptosporidiosis after contamination of the public water supply in Saitama Prefecture, Japan, in 1996. *Kansenshogaku Zasshi.* 74: 518-526, 2000.
- 10) Xiao L, Fayer R, Ryan U *et al.*: Cryptosporidium Taxonomy: Recent Advances and Implications for Public Health. *Clin Microbiol Rev.* 17(1): 72-97, 2004.

