特集1・水のクリプトスポリジウム汚染と対策

クリプトスポリジウムとはどのような原虫か

木 俣 勲*・井 関 基 弘*

はじめに

クリプトスポリジウムは世界中に広く分布し、人だけでなく種々の家畜、家禽、愛玩動物、野生動物などにも感染しているので環境水の汚染源はどこにでも存在する。しかも、クリプトスポリジウムは1種ではなく、多くの種があり、人に感染して下痢の原因になるものもあれば、感染しても病原性のほとんど無いもの、まったく感染しないものなど様々である。これらのうちオーシストの形態で種が鑑別できるのは2, 3種で、ほとんどの種は類似の大きさ、類似の形態を示す。したがって、環境水からクリプトスポリジウムが検出されたからといって、それが人に感染して病害を与える種であるかどうかの判定はできないし、検出された虫体が生きているのか死んでいるのかの判定も極めて難しい。また体外に排出された虫体は、塩素をはじめ各種消毒剤に対して

極めて強い抵抗性を有するので、水道水が汚染されると大規模な集団感染が発生することになる。さらに、ヒトや子ウシが感染すると激しい下痢を起こすが、有効な治療薬も予防薬も無く、下痢を起こす原因すら明らかではない。クリプトスポリジウム問題を解決するには基礎的研究の充実と種々の新しい技術の開発が必要である。

本稿ではクリプトスポリジウムの生物学的性状についての知見を紹介する。

1. 分類学的知見

ハーバード大学で癌の研究をしていた Tyzzer は、使用していたマウスの胃腺に顆粒状の物体が多数存在する事に気付き、それを精査して新属・新種の原虫であることを明らかにし、*Cryptosporidium muris* と命名して1907年に概略を、1910年に詳細を報告した¹⁾。「原虫」というのは医学用語であり、原

表1 クリプトスポリジウムの分類学的位置

原生生物界 (Kingdom : Protozoa)
単細胞で、多くはクリステを持つミトコンドリア、ゴルジ体、peroxisomeを有する。
アピコンプレックス門 (Phylum : Apicomplexa)
虫体の先端部に先端複合構造(apical complex と呼ばれる電子顕微鏡的構造物で、極輪、ロプトリー、ミクロネーム、コノイドなどで構成される)を有する。
コクシジウム綱 (Class : Coccidea)
孢子虫綱 (Sporozoasida) とする学者もある。成熟虫体は鞭毛、繊毛、偽足などの運動器官は持たないが、体を振ったり、伸縮したり、滑らせることで移動する。無性生殖と有性生殖で増殖する。オーシストは感染性のポロゾイトを包蔵する。
真コクシジウム目 (Order : Eucoccidiorida)
脊椎動物、無脊椎動物に感染し、メロゴニー (無性生殖の一種で、多数分裂) の過程を有する。
クリプトスポリジウム科 (Family : Cryptosporidiidae)
オーシストはスポロシストを持たず、4個のスポロゾイトを包蔵する。宿主細胞微絨毛の膜直下で発育する。

* 大阪市立大学医学部医動物学教室 Isao KIMATA, Motohiro ISEKI

生動物の中の寄生性のもの、すなわち単細胞の寄生虫のことをいう。分類学的には原生生物界、アピコンプレックス門、孢子虫綱（コクシジウム綱とすることもある）、真コクシジウム目、クリプトスポリジウム科に属する。それぞれの分類学上の特徴を表1に示した。

クリプトスポリジウム属 (genus) には多くの種 (species) が含まれる。Tyzzer は1912年にマウスの腸に寄生する別種を発見し、オーシストの大きさや寄生部位が *C. muris* とは異なるので、これを新種として *C. parvum* と名付けた²⁾。現在、ヒトやウシの下痢症の原因として、また水道水汚染による集団感染で問題になっているのがこの *C. parvum* である。

その後、1929年にニワトリに寄生するもの、1955年にはシチメンチョウに寄生する *C. meleagridis*, 1971年にはモルモットの *C. wrairi*, 1972年にはアカゲザルの *C. rhesi*, 1974年にはウシの *C. bovis*, ヒツジの *C. agni*, ガチョウの *C. anserinum* などが報告され、井関もネコに寄生するものに *C. felis* と名付けて1979年に報告した³⁾。1986年にはニワトリに寄生する新種 *C. baileyi* が報告されている。またヘビやトカゲ、海産魚、淡水魚に寄生するものも報告されている。これらの中には独立種とするには記載が不十分なものも含まれるが、とにかくクリプトスポリジウムは種々の脊椎動物に寄生している。

現在、哺乳類に寄生するものの分類に関しては、宿主の種別は違っても、腸に寄生して小形のオーシストを形成する種はすべて *C. parvum* (*C. パルブム*)、胃に寄生して大型のオーシストを形成する種はすべて *C. muris* (*C. ミューリス*) として扱うよう提唱されている。しかし、これらの種には感染性や病原性が異なる多くの株 (strain) が含まれる。事実、*C. parvum* はヒトを含む79種の哺乳類に感染が見られるという⁴⁾が、ある宿主動物から分離された株は他の動物種には感染しないことも少なくない。

2. ライフサイクル

この原虫は細胞内寄生性であり、分裂増殖は宿主細胞内に限られる。*C. parvum* の場合、寄生部位は小腸および大腸の粘膜上皮細胞の微絨毛で、数10～数100本の微絨毛が融合して形成されたドームテント状の寄生胞の中で分裂増殖する。その概略を図一³⁾に示した。オーシストが口から入ると、小腸腔内でスポロゾイトがオーシストから脱出し、微絨

図一1 クリプトスポリジウムの生活環 (Iseki, 1979より)

毛内に侵入する(1)。その後無性的に分裂(シゾゴニーあるいはメロゴニーという)し、8個のメロゾイトが形成される(1-4)。メロゾイト(a)の一部は新たな微絨毛に侵入して無性生殖を繰り返し、一部は微絨毛に侵入して雌性生殖体(5)と雄性生殖体(6, 7)に分化し、雌雄生殖体は受精してオーシストを形成する(8)。オーシストの成熟は早く、寄生部位でオーシスト内にスポロゾイトが形成されて感染性を持つようになり、一部のオーシストからはスポロゾイト(b)が脱出し、自家感染で増殖を繰り返す。残りの多くのオーシストは糞便と共に外界へ排出され(9)、他の個体への感染源となる。オーシストは外界で分裂増殖することはない。

3. オーシストの性状

3.1 形態

オーシストは類円形または楕円形で表面は平滑、無色。中央部には大小の顆粒の集塊と液胞からなる1個の「残体」があり、それを取り囲むように4個のバナナ状のスポロゾイトが湾曲して包蔵されている(図-2, 写真1, 2)。

オーシストの基本構造は変わらないが大きさは種によって少しづつ異なる(表2)⁶⁾。最も大きいのは *C. muris* で、長径の平均はウシから分離されたものは7.4 μ m、ドブネズミからの分離株では8.4 μ mを示す。中間の大きさを示すのが *C. baileyi* と、ヘビから分離された *C. serpentis* で長径の平均値は6.2 μ m程度である。これら3種の長径・短径の比は1.4～1.2で、明らかに楕円形を示す。*C. parvum* のオーシストは最も小さい部類で、長径は5.0 μ mで短楕円形である。これとほぼ同じ形状を示すものに鳥類由来の

写真1 オーシストの微分干渉顕微鏡像(守屋, 1989より)
C. muris のオーシストで長径 8 μm .
 OW: オーシスト壁, Sp: スポロゾイト, RB: 残体,
 V: 残体の液胞, AM: 残体のアミロペクチン顆粒,
 L: 残体の脂質顆粒

写真2 オーシストの電子顕微鏡像 (守屋, 1989より)
C. muris のオーシスト。大きさ, 図中の記号は写真
 1 と同様。

C. meleagridis や爬虫類, 魚類由来のものもあるので, 大きさによる種の区別は困難である。また同じ種であっても報告者により, あるいは計測方法により測定値は微妙に異なってくる。したがって, 環境試料から検出されるごく少数のオーシストについて, 大きさの計測値のみで原虫種や由来宿主を確定するのは不可能であり, 見出されたオーシストがヒトに感染する種かどうかもわからない。

オーシスト壁の化学的組成はよくわかっていないが, 電子顕微鏡的には内外の2重の層構造より成り(図-3), 厚さ約100nmである。外部からの化学物質の透過性が非常に悪いので, 各種の消毒剤に対して極めて強い抵抗性を示す。またオーシスト壁には「縫合部, suture」と呼ばれる構造がある。頂端から長径の1/2~1/3の長さにわたって1本の線状隆起構造がオーシスト壁の内層に存在し, オーシスト

C. parvum

C. muris

図-2 クリプトスポリジウムのオーシストの模式図
 (井関原図)

からスポロゾイトが脱出する(脱嚢, excystation という)際に開裂する(図-3)。この縫合部が開く仕組みについては, すべてが解明されているわけではないが, *C. parvum* ではトリプシンや胆汁酸の濃度, pH, 温度などの条件が整うことが必要である。

表2 クリプトスポリジウム属原虫のオーシストの計測値

文献6)より改編

*: 電子顕微鏡写真による計測のため通常よりも収縮している。

原虫種	由来動物	長径 (μm)	短径 (μm)	長径/短径比
<i>C. muris</i>	子ウシ	6.6-7.9(7.4)	5.3-6.5(5.6)	1.1-1.5(1.3)
	ドブネズミ	7.5-9.8(8.4)	5.5-7.0(6.3)	
<i>C. baileyi</i>	ニワトリ	5.6-6.3(6.2)	4.5-4.8(4.6)	1.2-1.4(1.4)
		6.0-7.5(6.6)	4.8-5.7(5.0)	1.0-1.8(1.3)
<i>C. serpentis</i>	ヘビ	5.6-6.6(6.2)	4.8-5.6(5.3)	1.0-1.3(1.2)
<i>C. meleagridis</i>	シチメンチョウ	4.6-6.0(5.2)	4.2-5.3(4.6)	1.0-1.3(1.1)
<i>C. parvum</i>	子ウシ	4.5-5.4(5.0)	4.2-5.0(4.5)	1.0-1.3(1.1)
<i>C. nesorum</i> *	シクリッド (コイ科淡水魚)	3.5-4.7(4.3)	2.5-4.0(3.3)	0.9-1.9(1.3)
<i>C. species</i>	トカゲ	5.3-5.7(5.7)	4.2-5.7(4.7)	0.9-1.4(1.2)
<i>C. species</i>	ダチョウ	3.0-6.1(4.6)	3.3-5.0(4.0)	1.0-1.4(1.2)
<i>C. species</i>	ウズラ	4.5-6.0(5.0)	3.6-5.6(4.3)	1.0-1.6(1.2)

図ー3 オーシスト壁の構造と縫合部 (suture) の模式図

- a, c: 縫合部 (SU) が閉じている状態。
 b, d: 縫合部が開いた状態。
 c: オーシスト壁は外層 (OL) と内層 (IL) の2層から成る。縫合部 (SU) は内層に位置し、内腔側に少し隆起している。その中心部から左右対称に電子密度の高い線状構造 (DL) が数本並走している。
 d: 縫合部が中央部で開裂した状態。

この条件を人工的に作って試験管内で脱囊させることもできる。「脱囊試験, excystation test」といって、オーシストの生死判定にも応用されている。

3.2 各種環境条件における生残性および消毒剤への抵抗性

オーシストは物質透過性の非常に悪い壁で覆われているため、自然環境、特に水中や湿った環境中では長期間死滅しない(表3)⁷⁾。しかし、超低温での凍結や乾燥には比較的弱く、また熱に関しては72.4°C 1分間, 64.2°C 5分間の加熱で感染性がなくなる⁸⁾。実験室スケールの pasturizer を使った実験では71.7°C 5秒以上の処理でミルク中のオーシストが感染性を持たなくなるという報告もある⁹⁾。

塩素およびオゾンに対する抵抗性を表4¹⁰⁾に示し

表3 各種環境条件でのオーシストの不活性化
(文献7より)

環境条件	不活性化率 (%)	実験条件
水道水	96	室温, 流水中, 176日
浄水処理工程	0	実験室内スケール, 室温下および4°Cにて実用上の処理・接触時間
河川水	94	環境温度, 176日
牛糞便内	66	軟便に混入, 外気温, 176日
人糞便内	78	4°C, 178日
海水	38	4°C, 35日
凍結	>99	液体窒素浸漬
凍結	67	-22°C, 21時間
乾燥	>99	室温, 4時間

た。通常の水道水の消毒として添加される塩素量ではオーシストはほとんど殺滅できない。オゾンについては塩素よりは低いCT値で殺滅可能であるが、実用上どの程度有効か試験段階である。

他に、種々の消毒剤は通常の使用濃度ではほとんどの場合殺滅効果はない¹¹⁾。C. muris のオーシストを用いた実験で、10%ホルマリン水中で室温で30分間処理すると感染性が無くなるという報告もある¹²⁾。いずれにしても人や動物に害を与えない程度の消毒剤ではまったく効果がないと考えてよい。

4. クリプトスポリジウム症

4.1 症 状

医学上問題になるのはC. parvumで、人体症例が初めて報告されたのは1976年である¹³⁾。激しい水様下痢と腹痛を主徴とし、60~70%に38°C前後の発熱をみるが、通常血便はみられない。健康人が感染した場合は数日から2週間程度の下痢が続いたあと自然治癒するが、下痢とそれによる脱水のために入院加療を余儀なくされることも少なくない。幼児は成

表4 各種微生物の99%不活性化に要する消毒剤のCT値 (文献11より)

微生物	Free chlorine (pH6-7)	pre-formed chloramine (pH8-9)	chlorine dioxide (pH6-7)	Ozone (pH6-7)
<i>Escherichia coli</i>	0.34-0.05	95-180	0.4-0.75	0.02
Poliovirus I	1.1-2.5	768-3740	0.2-6.7	0.1-0.2
Rotavirus	0.01-0.05	3806-6476	0.2-2.1	0.006-0.06
<i>Giardia lamblia</i>	47-150	2200	26	0.05-0.6
<i>Giardia muris</i>	30-630	1400	7.2-18.5	1.8-2.0
<i>Cryptosporidium parvum</i>	7200	7200	78	5-10

人よりも感受性が高く、低栄養児や初感染の場合は症状は重くなる。AIDSなどの免疫不全の患者に感染した場合では激しい下痢が年余にわたって持続し、感染部位も腸管のみならず、胆嚢、胆管、膵管、呼吸器にまで拡がることもあり、まだ本原虫症に有効な治療薬がないことから致死性になるケースも多い。

ヒト以外の多くの種の哺乳動物にも感染がみられるが、生後間もない幼若なウシ、ウマ、ヒツジ、ブタなどの家畜における感染では激しい下痢を伴い、死亡するものもあり、畜産経済上の問題であると共に、ヒトへの感染源として重要である。

4.2 感染経路

感染はオーシストの経口摂取による。オーシストは感染した宿主から排出された直後でもすでに感染性を有しており、その感染力は強く、1～数10個程度の摂取で感染・発症する。患者や感染動物の糞便との接触、男性同性愛の性行為や口・肛門接触を伴う性行為では容易に感染する。オーシストで汚染された飲料水や食品による感染も重要である。

4.3 疫学

C. parvum は世界中に分布し、下痢起因病原体の中でも検出頻度は上位に位置する。ヒト以外にウシ、ブタ、イヌ、ネコ、ネズミなどにも感染しており、人獣共通寄生虫の一つである。これらの動物が感染し下痢を発症すると、その下痢便に排出されるオーシスト数は1日当たり10億～100個にも達する。オーシストは水道水の塩素消毒では死滅しないので、汚染された水道水による集団感染が欧米や日本で相次いで発生している^{14,15)}。

近縁種に、ヒトを含む哺乳類の胃に寄生する *C. muris* やニワトリに寄生する *C. baileyi*、魚類や爬虫類に寄生する種もある。*C. baileyi* は実験的には哺乳類には感染しないが、AIDS患者がこれに感染して死亡した例が報告されている¹⁶⁾。免疫不全患者の場合はこれらの近縁種もヒトに感染しうることを念頭に置いて対応する必要がある。

4.4 予防

本原虫に有効な治療薬はまだ発見されておらず、対症療法で脱水などに対処しながら自然治癒を待つしかない。AIDS患者などは一旦感染すると治癒しないので、感染を予防することが最も重要である。予防のためには生水の飲用を避け、湯冷まし、あるいは1 μm 以上の粒子を除去する機能を持つ浄水

器でろ過した水を飲用するよう、また、子ウシやイヌ、ネコなどの糞便との接触を避けることなどを指導することが大切である¹⁷⁾。

おわりに

クリプトスポリジウムはヒトを含む多くの哺乳類をはじめ鳥類、爬虫類、両生類、淡水魚、海水魚まで、多種多様の脊椎動物に広く寄生しており、その膨大な数のオーシストは糞便とともに自然界に排出される。水道水源になる環境水がこれらのオーシストで汚染されないはずはない。水道水による集団感染が次々と発生し、クリプトスポリジウム問題は大きくなる一方である。浄水処理や下水処理工程でオーシストを如何に効率よく除去、殺滅するか、環境水に含まれる微量のオーシストを如何に効率よく検出するか、検出されたオーシストの生死判定やヒトへの病原性の有無の判定法方など、新しい技術開発と研究開発が欠かせない。

参考文献

- 1) Tyzzer, E. E. : An extracellular coccidium *Cryptosporidium muris* (gen. et sp. nov.) of the gastric glands of the common mouse, *J. Med. Res.*, 23 : 487, 1910.
- 2) Tyzzer, E. E. : *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.) a coccidium found in the small intestine of the common mouse, *Arch. Protistenkd.*, 26 : 349, 1912.
- 3) Iseki, M. : *Cryptosporidium felis* sp. n. (Protozoa Eimeriorina) from the domestic cat, *Jpn. J. Parasitol.*, 28 : 285, 1979.
- 4) O'Domoghae, P. J. : *Cryptosporidium* and *Cryptosporidiosis* in man and animals, *Int. J. Parasitol.*, 25 : 139, 1995.
- 5) 守屋賢治 : *Cryptosporidium muris* のオーシストおよびスプロゾイトの微細構造, 阪市医誌, 38 : 177, 1989.
- 6) Arrowood, M. J. : Diagnosis, in *Cryptosporidium* and *Cryptosporidiosis*, Fayer, R. Ed., CRC Press, Boca Raton, p43, 1997.
- 7) Robertson, L. et al. : Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under various environmental pressures, *Appl. Environ. Microbiol.* 58 : 3494, 1992.
- 8) Fayer R. et al. : Effect of hightemperature on infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water, *Appl. Environ. Microbiol.* 60 : 2732, 1994.
- 9) Harp, J. A. et al. : Effect of pasteurization on infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water and milk, *Appl. Environ. Microbiol.* 62 : 197, 1996.
- 10) Lisle, J. T. & Rose J. B. : *Cryptosporidium* contamination of water in the USA and UK : a mini-review, *J. Water Sup. Res. Tech.*, 44, 103-117, 1995
- 11) Fayer, R. et al. : The general biology of *Cryptosporidium*, in *Cryptosporidium* and *Cryptosporidiosis*, Fayer, R. Ed., CRC Press, Boca Raton, p 1, 1997.
- 12) 前川たかし : 胃腺に寄生するクリプトスポリジウム

- (*Cryptosporidium muris* Tyzzer, 1907) に関する基礎的研究, 阪市医誌, 37: 679, 1988.
- 13) Nime, F. A. et al.: Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. Gastroenterology, 70: 592, 1976.
- 14) 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. 感染症誌, 70: 132, 1996.
- 15) 埼玉県衛生部: クリプトスポリジウムによる集団下痢症—越生町集団下痢症発生事件—報告書, 1997.
- 16) Ditrich, O. et al.: The first finding of *Cryptosporidium baileyi* in man, Parasitol Res, 77: 44, 1991.
- 17) 井関基弘: 水系感染クリプトスポリジウム症の集団発生—その実情と対策. 日本水処理生物学会誌, 32: 67, 1996.

行事案内

特別シンポジウム

日本の PRTR (環境汚染物質排出・移動登録) をどうするか

主催: エコケミストリー研究会、(株)日本化学会環境
専門委員会

共催 (予定): (株)化学工業会、(株)環境化学会、(株)日本
水環境学会、その他

協賛 (予定): (株)日本化学工業協会、(株)日本自動車工
業会、その他

日時: 平成9年11月11日(火)

場所: 中央大学駿河台記念館370号室

J R中央線または地下鉄丸の内線、お茶の水
駅徒歩3分

参加費: 主催団体会員	12,000円
共催・協賛団体会員	15,000円
非会員	20,000円

(学生・NGO・マスコミの方は別途相談)

申込方法: 氏名、所属、連絡先住所、電話・FAX を
記載のうえ、FAX でお申し込み下さい。
(先着200名まで)

〒240 横浜市保土ヶ谷区常盤台79-5

横浜国大環境安全工学研究室内

エコケミストリー研究会

FAX 045-336-4036 (電話は不可)

プログラム

第1部 PRTR とは何か

「OECD の PRTR ガイドラインとその基本的考え方」

東京大学名誉教授 富永 健

「諸外国の PRTR 制度」

東京海上リスクコンサルタント 織 朱実

「PRTR 対象物質選定と排出・移動量算定の基本的考え方」

横浜国大教授 浦野 紘平

第2部 パネルディスカッションのための話題提供

「PRTR パイロット事業について」

環境庁環境安全課長 中島 正治

「PRTR と情報公開のあり方」

福島大助教授 村山 武彦

「神奈川県の取り組み」

神奈川県環境政策課 渡辺 一法

「化学業界の取り組み」 (株)日本化学工業協会 大蔵 幸男

「NGO の取り組み」 環境監視研究所 中地 重晴

第3部 パネルディスカッション

「日本の PRTR をどうするか」 司会 浦野 紘平

パネラー 上記講演者, その他