腸管感染症検査ガイドライン第2版の発刊に寄せて

日本臨床微生物学会　理事長
舘田一博（東邦大学）

腸管感染症検査ガイドライン第2版が発刊されることになりました。大変お忙しいところ本ガイドラインをおまとめいただいた編集作業部会長の小松 方先生，作業部会の委員の先生方に改めてお礼申し上げます。腸管感染症検査ガイドライン（第1版）は2010年に刊行されましたが，本冊子は微生物検査室や腸管感染症研究室の本棚になくてはならない参考本となっているように思います。

特に腸管感染症では，原因病原体が細菌，ウイルス，抗酸菌，寄生虫・原虫と幅広く，また検査の精度管理や法的対応などの理解も求められることが特徴です。そのような背景から，本ガイドラインでは“分かりやすさ”にこだわり，できるだけビジュアルな資料を用い，多くの典型的な写真が掲載されていることが特徴となっています。貴重な画像やご自身の経験を共有していただいた会員・執筆者の先生方に厚くお礼申し上げます。さらに第2版では，腸管感染症検査における遺伝子検査の応用に加えて，質量分析を用いた同定法などに関しても記載されています。注目される新しい技術をどのように臨床検査の現場で活用していくか，私たちの実力が問われているようにも思います。臨床微生物検査室に配属されたばかりの新人から，その道のプロフェッショナルと呼ばれるベテランまで，腸管感染症検査ガイドライン第2版は日常のルチン検査のサポートはもちろんのこと，研究的視点でも活用いただける内容になっていることをご理解いただけるものと思います。

2020年初めから始まった新型コロナウイルス感染症のパンデミックで，臨床微生物検査の重要性が改めてクローズアップされました。原因病原体を正しく推定・診断することが感染症診療の基本であり，正確な診断の上に初めて適切な対応と治療が可能になります。この点で，日本臨床微生物学会の責任はますます大きくなっていると感じています。微生物検査室で得られた結果がどのように臨床に貢献しているのか，検査室とベッドサイドの連携がますます重要な時代になってきました。本ガイドラインが第3版，第4版と継続される中で，臨床微生物学を志す方々の座右の書となることを祈念しています。

2021年10月

序　文

日本臨床微生物学会
腸管感染症検査ガイドライン第 2 版
編集作業部会長
小松　方

本学会発行の腸管感染症検査ガイドラインは 2010 年に初版が刊行されて以来，11 年が経過しました。このたび，本学会の検査法マニュアル作成委員会 元委員長の髙橋 孝先生（北里大学）の主導で本ガイドラインの改定作業の提議がなされ，その後，前委員長である川上小夜子先生（国立感染症研究所）に作業が引き継がれました。私は長年本委員会の委員をしておりますが，初版の編集に関わったということも踏まえ，本ガイドライン第 2 版の編集作業部会の部会長として任命を受けました。

2018 年，第 29 回日本臨床微生物学会総会・学術集会において第 1 回目の作業部会会議を開催しました。本作業部会は臨床検査技師 10 名および医師 1 名の委員で構成しました。作業開始に際しては，新旧対照表を作成，改訂すべき点および追加すべき項目を書き出し，執筆者の選定および全体の項目立てについて検討を行いました。ご執筆をお願いした先生は全 27 名です。細菌性腸管感染症検査法の項目には初版に記載のない *Brachyspira pilosicoli* や *Providencia alcalifaciens* などを追加，原虫性腸管感染症検査法の項目には肉胞子虫やクドアなどを追加しました。腸管感染症検査法も質量分析法や遺伝子検査法が普及し，この 10 年で目まぐるしく進歩しました。また治療法や法的対応も変化いたしました。編集委員の一部は執筆者にもなり，またすべての原稿についての査読を行い，執筆者との校正を繰り返しました。いよいよ本学会の理事・幹事会の先生方の確認も終了し，作業部会が発足してから早 3 年，ようやく皆様のお手元にお届けすることができます。

編集のコンセプトは，ラボのベンチサイドにおける本として，いつでも紐解ける内容，かつビジュアル的な編集を意識し，沢山の写真の提供を執筆者にお願いしました。ぜひとも本ガイドラインを日常の検査にご活用いただき，将来の第 3 版に向けて，より磨きのかかったガイドラインに発展できるよう，会員の皆様からご意見をいただければと存じます。

2021 年 10 月

日本臨床微生物学会

腸管感染症検査ガイドライン第２版 執筆者（50 音順）

朝倉　　宏　国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部
牛島　廣治　日本大学医学部 病態病理学系微生物学分野
大楠　清文　東京医科大学 微生物学分野
大瀧　博文　関西医療大学 保健医療学部 臨床検査学科
甲斐　明美　東京医科大学 微生物学分野
柏谷　　淳　東京都立大塚病院 検査科
木村　圭吾　大阪大学医学部附属病院 臨床検査部
口広　智一　公立那賀病院 臨床検査科
幸福　知己　一般財団法人 住友病院 臨床検査技術科
小西　典子　東京都健康安全研究センター 微生物部 食品微生物研究科
品川　雅明　日本医療大学 保健医療学部 臨床検査学科
鈴木　智一　静岡県立静岡がんセンター 感染症内科 細菌検査室
田中美智男　京都大学大学院 医学研究科 臨床病態検査学
田中　洋輔　聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院 臨床検査部
戸田　宏文　近畿大学病院 中央臨床検査部
豊川　真弘　福島県立医科大学 保健科学部 臨床検査学科
永田　邦昭　くまもと県北病院 教育研修部
中村　彰宏　天理医療大学 医療学部 臨床検査学科
名取　達矢　信州大学医学部附属病院 臨床検査部 微生物検査室
仁木　　誠　大阪市立大学医学部附属病院 感染制御部
西　　功　大阪大学医学部附属病院 臨床検査部
根岸　達哉　信州大学医学部附属病院 臨床検査部
原　　祐樹　日本赤十字社愛知医療センター名古屋第二病院 臨床検査科
藤田　拓司　ファルコバイオシステムズ 総合研究所
三澤　成毅　順天堂大学医学部附属順天堂医院 臨床検査部
御手洗　聡　公益財団法人結核予防会結核研究所 抗酸菌部
亘　　秀夫　国家公務員共済組合連合会大手前病院 臨床検査技術部

腸管感染症検査ガイドライン第２版 作業部会

作業部会長　小松　　方　天理医療大学 医療学部 臨床検査学科
作業部会副部会長　中村　竜也　京都橘大学 健康科学部 臨床検査学科
藤田　拓司　ファルコバイオシステムズ 総合研究所
作業部会委員（50 音順）
大瀧　博文　関西医療大学 保健医療学部
笠原　　敬　奈良県立医科大学 感染症センター
口広　智一　公立那賀病院 臨床検査科
幸福　知己　一般財団法人 住友病院 臨床検査技術科
豊川　真弘　福島県立医科大学 保健科学部 臨床検査学科
中村　彰宏　天理医療大学 医療学部 臨床検査学科
西　　功　大阪大学医学部附属病院 臨床検査部
山本　　剛　神戸市立西神戸医療センター 臨床検査技術部

検査法ガイド等作成委員会

委 員 長	宮本　仁志	愛媛大学医学部附属病院 検査部
前委員長	川上小夜子	国立感染症研究所 薬剤耐性（AMR）研究センター
副委員長	金光　敬二	福島県立医科大学医学部 感染制御学講座
	舟橋　恵二	JA 愛知厚生連江南厚生病院 診療協同部 臨床検査室
委　　員（50 音順）		
	小松　　方	天理医療大学 医療学部 臨床検査学科
	静野　健一	千葉市立海浜病院 臨床検査科
	砂田　淳子	大阪大学医学部附属病院 医療技術部
	髙橋　　孝	北里大学大学院 感染制御科学府
	田中香お里	岐阜大学科学研究基盤センター
	中村　文子	順天堂大学医学部附属順天堂東京江東高齢者医療センター
	西村　恵子	香川大学医学部附属病院 検査部
	西山　宏幸	日本大学医学部附属板橋病院 臨床検査部
	細川　直登	亀田総合病院 感染症科
	村上　　忍	愛媛大学医学部附属病院 検査部
	安田　　満	札幌医科大学医学部 感染制御・臨床検査医学講座
	山口　育男	豊橋市民病院 中央臨床検査室

腸管感染症検査ガイドライン第２版　目次

腸管感染症検査ガイドライン第２版の発刊に寄せて …… i
序文 …… ii
執筆者，作業部会 …… iii
検査法ガイド等作成委員会 …… iv

第１章　腸管感染症の検査対象となる微生物と同定ポイント …… 1
1. 腸管感染症を引き起こす微生物の種類 …… 2
2. 細菌性腸管感染症 …… 5
1）サルモネラ …… 5
2）赤痢菌（*Shigella* 属）…… 15
3）下痢原性大腸菌（Diarrheagenic *Escherichia coli*）…… 19
A. 下痢原性大腸菌検査の流れ …… 19
B. 腸管出血性大腸菌（EHEC）…… 23
C. 腸管毒素原性大腸菌（ETEC）…… 25
D. 腸管侵入性大腸菌（EIEC）…… 26
E. 腸管病原性大腸菌（EPEC），腸管凝集付着性大腸菌（EAggEC）等 …… 27
F. *Escherichia albertii* …… 28
4）エルシニア（*Yersinia*）…… 30
A. *Yersinia enterocolitica* …… 30
B. *Yersinia pseudotuberculosis* …… 36
5）カンピロバクター（*Campylobacter*）…… 42
6）*Vibrio* …… 45
A. *Vibrio cholerae* O1/O139（CT+）…… 45
B. コレラ菌以外の *Vibrio* 属 …… 49
7）*Aeromonas* 属 …… 57
8）*Plesiomonas* 属 …… 60
9）黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）…… 62
10）セレウス菌（*Bacillus cereus*）…… 65
11）*Listeria monocytogenes* …… 68
12）ウエルシュ菌（*Clostridium perfringens*）…… 72
13）ボツリヌス菌（*Clostridium botulinum*）…… 75
14）*Providencia alcalifaciens* …… 78
15）*Klebsiella oxytoca* …… 82
16）*Brachyspira* 属菌 …… 85
17）抗菌薬関連下痢症 …… 90
A. 抗菌薬関連下痢症と発症機序 …… 90
B. 毒素産生 *Clostridioides difficile* …… 90
C. その他抗菌薬関連下痢症との関連が報告されている微生物 …… 95
D. 抗菌薬関連下痢症が疑われる場合の細菌学的検査の進め方 …… 97
18）腸結核 …… 99
19）*Helicobacter pylori* …… 105

3. ウイルス性腸管感染症 …… 110
1）ノロウイルス …… 111
2）ロタウイルス …… 113
3）アデノウイルス …… 115
4）A 型肝炎ウイルス …… 116
5）E 型肝炎ウイルス …… 117
6）その他のウイルス …… 118
4. 寄生虫性腸管感染症 …… 122
1）原虫性腸管感染症 …… 122
2）蠕虫性腸管感染症 …… 129
3）日常よく使われる基本的な検査法 …… 140

第 2 章　病原微生物検出のための検体採取法と保存および輸送法 …… 145
1. 糞便 …… 146
2. 直腸粘液 …… 147
3. 十二指腸液，胆汁 …… 148
4. 生検材料 …… 148
5. 腸管内容液 …… 149
6. 血液 …… 149

第 3 章　効果的な日常検査の組み立て …… 151
1. 糞便の微生物検査に必要な患者情報と検査目的 …… 152
2. 糞便の日常検査の進め方 …… 153
3. 監視培養 …… 159

第 4 章　腸管感染症に有用な検査法とその役割 …… 161
1. 塗抹検査 …… 162
2. 分離培養法および用手法同定法 …… 169
3. 質量分析を用いた同定 …… 174
4. 下痢症の遺伝子検査法 …… 176
5. 薬剤感受性検査（腸管感染症に関連する事項） …… 188

第 5 章　検査の精度管理 …… 193
1. 精度管理 …… 194
2. 糞便の微生物検査における具体的管理方法 …… 203

第 6 章　法的規則を受ける細菌性腸管感染症 …… 213
1. 感染症法 …… 214
2. 食品衛生法 …… 216

第 1 章

腸管感染症の検査対象となる微生物と同定ポイント

1 腸管感染症を引き起こす微生物の種類

腸管感染症は経口的に侵入した病原微生物により起こる主に急性の感染症であり，下痢，腸炎，脱水，嘔吐などの病態を呈し，散発型下痢症や食中毒として発症する他，海外渡航の帰国後に発症する場合がある。

幅広い臨床症状を呈する腸管感染症は，細菌，ウイルス，寄生虫など多種多様の微生物が起因菌となる（**表 1-1-1**）。

【細菌性腸管感染症】

細菌による腸管感染症は種類が多く，臨床症状も多様であり，発生機序の違いにより感染侵入型と毒素産生型に大別することができる[1)]。

Salmonella 属菌に代表される感染侵入型は，経口摂取された菌が腸管内に入り定着増殖して発症する。その行程は，①付着（菌が腸管上皮細胞に付着），②侵入（付着により腸管上皮細胞の貪食様作用が誘発され上皮細胞内に侵入），③細胞質増殖（貪食腔胞内の菌が腔胞膜を溶解し，細胞内で増殖），④細胞間拡散（隣接細胞や深部へ拡散），⑤壊死・炎症（細胞や組織の壊死・炎症）と考えられており，①～⑤の行程が進行し病巣部分が広がり潰瘍を形成していく。このため，感染侵入型の菌による感染症は，血性下痢症状となることが多い[1)]。

一方，*Vibrio cholerae*（コレラ）や Enterohemorrhagic（腸管出血性）*Escherichia coli* 感染症は毒素産生型による感染症であり，細菌性腸管感染症の多くが毒素産生型である。

前述した感染侵入型同様，腸管に達した菌が定着因子により腸管上皮細胞に定着して増殖し，タンパク毒素を産生する。毒素としては，小腸粘膜に直接または粘膜細胞内の cAMP 上昇など二次的な機序で作用し水様性下痢を生じさせる腸管毒や粘膜細胞の破壊とそれにかかわる炎症性下痢症を引き起こす細胞毒，中枢神経や末梢神経に直接作用する神経毒があり（**表 1-1-2**），産生する毒素により特徴的な病態を呈する[2,3)]。

Staphylococcus aureus の腸管毒や *Clostridium botulinum* のボツリヌス毒素による感染症は，タンパク毒素を直接経口摂取することにより食中毒などを起こすため，生体外毒素型として区別される。

また，Toxin A/B を産生する *Clostridioides difficile* による抗菌薬関連下痢症・腸炎は，院内感染対策上注意しなければならない細菌性腸管感染症である。

細菌性腸管感染症の中で特に重要な疾患は，コレラ，細菌性赤痢，腸管出血性 *E. coli* 感染症であ

表 1-1-1　腸管感染症の原因となる主な微生物

細菌（感染侵入型）	細菌（毒素産生型）	ウイルス
Salmonella Typhi○	*Vibrio cholerae* 01/0139○	Norovirus
Salmonella Paratyphi A○	*Shigella dysenteriae* type 1○	Rotavirus
Shigella spp.○	Enterohemorrhagic *Escherichia coli*○	Adenovirus
Salmonella spp.	Enterotoxigenic *Escherichia coli*	Human hepatitis A virus
Enteroinvasive *Escherichia coli*	Enteroaggregative *Escherichia coli*	Human hepatitis E virus
Yersinia enterocolitica	*Vibrio parahaemolyticus*	
	Vibrio vulnificus	**寄生虫**
	Campylobacter jejuni/coli	*Entamoeba histolytica**
	Aeromonas hydrophila	*Giardia intestinalis**
	Clostridioides difficile	*Cryptosporidium parvum**
	Clostridium perfringens	*Isospora belii*
	Clostridium botulinum	*Cyclospora cayetanensis*
	Staphylococcus aureus	*Anisakis simplex*
	Bacillus cereus	*Kudoa septempunctata*
		Sarcocystis fayeri

○：三類感染症，＊：五類感染症

表 1-1-2　腸管感染症に関係する主な細菌外毒素

毒素種	毒素産生細菌	毒素名
腸管毒	*Vibrio cholerae*	コレラ毒素（CT）
	ETEC*1	易熱性腸管毒素（LT），耐熱性腸管毒素（ST）
	Clostridioides difficile	Toxin A
	Clostridium perfringens	腸管毒
細胞毒	*Shigella dysenteriae* type 1	志賀毒素
	EHEC*2	志賀毒素 1 型，2 型
	Vibrio parahaemolyticus	耐熱性溶血毒
	Clostridioides difficile	Toxin B
	Clostridium perfringens	α 毒素
神経毒	*Staphylococcus aureus*	腸管毒
	Bacillus cereus	嘔吐毒 B
	Clostridium botulinum	ボツリヌス毒素

*1 ETEC：Enterotoxigenic *Escherichia coli*
*2 EHEC：Enterohemorrhagic *Escherichia coli*

る。これらはヒトからヒトへの伝播力が強い，僅かな菌量の摂取で発症するなどの理由により，感染症法の三類感染症に指定されている。同じ三類感染症の腸チフス，パラチフスは，網内系での増殖に伴う菌血症と腸管の潰瘍性病変を伴う特異な疾患であるが，便宜上，腸管感染症として扱われることが多い。

IASR（病原微生物検出情報）の報告によると，三類感染症の中では O157 Enterohemorrhagic *E. coli* による腸管出血性大腸菌感染症が最も多く，発生原因は飲食店等を原因施設とする食中毒や保育所での集団発生であるが[4]，コレラ，細菌性赤痢，腸チフス，パラチフスは，いずれも海外渡航後の散発例が大部分を占める[5]。

厚生労働省が報告する食中毒統計資料の原因物質別食中毒発生状況によると，細菌による食中毒では *Campylobacter jejuni/coli* によるものが最も多く，次いで *Clostridium perfringens*，非チフス性 *Salmonella* 属となっており，発症時期は夏季に多い[6]。

【ウイルス性腸管感染症】

ウイルスは偏性細胞内寄生体であり，特定の宿主細胞に感染する。多くのウイルスは，たとえ経口摂取しても胃酸や胆汁酸により失活するが，腸管に感染するエンテロウイルスやロタウイルスはエンベロープを持たないため酸に強く，胆汁酸で破壊されない性質を持つ[7]。

ウイルスは独自の代謝系を持たず細胞の中でしか増殖できないため，組織に侵入し，その中で増殖できて初めて感染が成立する。腸管に達したウイルスは，細胞表面にあるウイルスレセプターに結合した後，エンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれる。さらに，pH の低下が刺激となりウイルスタンパク質に構造変化が起こり，エンドゾームを融解してゲノムが細胞質に入っていく[7]。

胃腸炎ウイルスとして，ノロウイルス，サポウイルス，ロタウイルス，アストロウイルスなどが知られているが，IASR の報告によると「感染性胃腸炎」として検出されているウイルスでは，ノロウイルスが最多であり，ノロウイルス genogroup Ⅱ（GⅡ）が 8 割以上を占める[8]。このため，ウイルス性下痢症は冬季の発生報告が多い。

【寄生虫性腸管感染症】

Entamoeba histolytica（赤痢アメーバ），*Giardia lamblia*（ランブル鞭毛虫），*Cryptosporidium* などの原虫による感染症は，先進国には少なく発展途

上国に多い。わが国においても過去には糞便を肥料として用いる習慣があり衛生状態も悪かったため高度に蔓延していたが，農業形態の変化，上下水道の整備，医療の進歩により次第に減少した。近年は，男性同性愛者，発展途上国からの帰国者，知的障害者施設収容者などからの検出報告があり，特に男性同性愛者の間における原虫性腸管感染症の感染率は高く，AIDS の合併症として重要である[9)]。

原虫性腸管感染症は，原虫の嚢子（シスト）や嚢胞体（オーシスト）に汚染された飲食物などの経口摂取により成立する。赤痢アメーバの場合，小腸に達したシストが，脱シストして栄養型となり，分裂を繰り返して大腸に到達する。さらに，栄養型原虫が大腸粘膜面に潰瘍性病変を形成し，赤痢アメーバ性大腸炎を発症させる。

アメーバ赤痢，クリプトスポリジウム症，ジアルジア症は感染症法の五類感染症に指定されており診断が確定した際は，７日以内の届け出が必要である。

回虫などの消化管蠕虫による感染症は，かつて日本では国民病と言われ，地域によっては大きな問題となっていた。最近，これらの寄生虫症は世界的に感染者数が多く，東南アジアやサハラ以南のアフリカなどの熱帯地方や高温多湿地域では，糞線虫症（*Strongyloides stercoralis*）や鞭虫症（*Trichuris tichiura*）などの腸管蠕虫感染患者が高頻度にみられる。これらの感染症により栄養状態が不良な人々では，成長と発達が損なわれているが，その対策が遅れ，Neglected Tropical Diseases（顧みられない熱帯病）として，世界保健機関（WHO）を中心に国際的対策が進んでいる[10)]。

国内における食中毒統計資料の寄生虫による食中毒では，生鮮魚介類の生食によるアニサキス症やクドア症の事例，馬肉の生食によるサルコシスティス症の事例が報告されているが，その報告患者数は細菌やウイルスの報告数に比べ少ない[6)]。

文　献

1）本田武司．1995．細菌による食中毒．p.79–92．食中毒学入門．大阪大学出版会，大阪．
2）LaRocque RC，Ryan ET，Calderwood SB．2013．128 急性感染性下痢症および細菌性食中毒．p.947–952．ハリソン内科学（福井次矢，黒川清日本語版監修，第 4 版）．メディカル・サイエンス・インターナショナル，東京．
3）LaRocque RC, Calderwood SB. 2015. 98 Syndromes of Enteric Infection. p.1238–1247. Principles and Practice of Infectious Diseases 8th ed. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, ed. Elsevier, Philadelphia, PA.
4）IASR　腸管出血性大腸菌感染症．https://www.niid.go.jp/niid/ja/ehec-m/ehec-iasrtpc/8022-459t.html（2018 年 3 月現在）
5）IASR グラフ細菌 2017．腸管出血性大腸菌，赤痢菌＆チフス菌・パラチフス A 菌＆コレラ菌　月別 2013〜2017．www.niid.go.jp/niid/ja/iasr/510-surveillance/iasr/graphs/7764-iasrgb2017.html
6）厚生労働省．4．食中毒統計資料．https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/syokuchu/04.html#j4-3.（2018 年 7 月 9 日現在）
7）Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. 1998. Laboratory Methods in Basic Virology. p.963–1028, Diagnostic Microbiology 10th ed. Mosby, St. Louis, MI.
8）IASR ノロウイルス等検出状況　2017/18 シーズン．https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr-noro.html（2018 年 7 月 22 日現在）
9）吉田幸雄．1996．寄生虫学の定義と重要性．p.3–4．図解人体寄生虫学　第 5 版．南山堂，東京．
10）Hotez PJ, Molyneux DH, Fenwick A, et al. 2007. Control of Neglected Tropical Diseases. N Engl J Med 357：1018–1027.

2 細菌性腸管感染症

1）サルモネラ

【分布・疫学】

Salmonella は，全身感染症である腸チフスを起こすチフス菌（*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhi），パラチフスを起こすパラチフス菌（*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi A）と，急性胃腸炎を起こす非チフス性 *Salmonella* に分けられる。

a）チフス菌・パラチフス菌

Salmonella enterica serovar Typhi と *Salmonella enterica* serovar Paratyphi A は汚染された河川や食品などを介してヒトのみに感染する。衛生的な環境整備の普及によって国内での感染例は減少し，主にアフリカ，南アジアを含めた東南アジアや中南米など海外での感染を疑う事例が多い。しかし，2014 年には国内の飲食店を原因とする *S. enterica* serovar Typhi による集団食中毒が報告されており[1]，海外渡航歴がない事例に対しても注意が必要である。

b）非チフス性 *Salmonella*

非チフス性 *Salmonella* は細菌性食中毒の原因菌であり，哺乳類，鳥類，爬虫類や環境など自然界に広く生息している。わが国では，1990 年頃から *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis が増加し，2000 年頃には地方衛生研究所から報告される *Salmonella* 血清型の半数を占めていた。しかし，2016 年，2017 年には *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Thompson と *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Saintpaul が多く報告されており[2]，国内で流行している血清型に変化が認められる。

【臨床的意義（感染対策・法規を含む）】

a）チフス菌・パラチフス菌

腸チフス，パラチフスの潜伏期は 2 週間前後であり，第一病期には 39〜40℃の発熱を呈し，徐脈，脾腫，バラ疹の 3 主徴が出現する。しかし，バラ疹の出現率は 25％ともいわれ，3 主徴すべてが出現する確率は低い。第二病期には 40℃台の稽留熱（日内変動が 1℃以内の高熱が持続する熱型）となり，チフス性顔貌といわれる無欲状顔貌，重症時には意識障害もみられる。第三病期には弛張熱（日内変動が 1℃以上あるが，最も低い時でも平熱にはならない熱型）を経て徐々に解熱するが，腸出血，腸穿孔などの合併症を起こすこともある。第四病期には，解熱し回復に向かう。パラチフスでは腸チフスと同様の症状を呈するが，パラチフスは腸チフスに比べて軽症であることが多い。腸チフス，パラチフスでは，発症後 1 か月以上経過し，抗菌薬終了後 48 時間以降に，24 時間以上の間隔を空けて 3 回連続の便培養で原因菌の陰性を確認し報告することが必要となる。

腸チフス，パラチフスは三類感染症に指定されており，患者（確定例），無症状病原体保有者，感染症死亡者の死体，感染症死亡疑い者の死体を診断または検案した場合は直ちに届出を行わなければならない。

b）非チフス性 *Salmonella*

非チフス性 *Salmonella* は動物（ニワトリ，ブタ，ウシなど）の腸管に生息し，これらの生食や関連する飲食物，汚染水などの摂取により経口感染する。*Salmonella* 感染者には無症候性保菌者が存在し，食品取扱事業者などの定期的な便培養で指摘されることがある。健康成人の 0.15％が保菌状態にあるとの報告もあり[3]，胆石の存在が大きく関与している。*Salmonella* が胆石にバイオフィルムを形成するため[4]，抗菌薬の効果が望めず，重度の胆石症がある場合には胆嚢摘出を必要とする可能性がある。胃腸炎型の潜伏期は一般的に 12〜

48 時間であるが，摂取物に含まれる菌量や飲食した個人の免疫力によって異なる。初発症状は，下痢，腹痛，嘔吐，38℃～40℃の発熱である。下痢便は軟便や水様便で，ノリの佃煮様，緑色，緑黒色などが特徴であるが，重症例では粘液や血液の混入によって粘血便を認めることがある。また胃腸炎症状だけでなく，菌血症，髄膜炎，心内膜炎，骨髄炎，関節炎などを起こすことが知られている。

Salmonella による感染性胃腸炎は，小児科定点医療機関を対象とした 5 類感染症に指定されている。食品衛生法では，食品，添加物，器具もしくは容器包装に起因する本菌による食中毒の患者もしくはその疑いのある者を診断，またはその死体を検案した医師は，食品衛生法第 58 条に基づきただちに最寄りの保健所にその旨を届け出なければならない。

【分類】

Salmonella は Daniel E. Salmon が 1884 年に *Bacillus choleraesuis* として初めて分離し，この名称は 1900 年に Lignieres によって *Salmonella choleraesuis* に変更された。*Salmonella* 属の分類には議論が繰り返され，混乱が続いた[5,6]。現時点で *Salmonella* 属は，*Salmonella enterica* と *Salmonella bongori* の 2 菌種に分けられ，*S. enterica* はさらに 6 亜種に分類されている（**表 1-2-1-1**）[7]。*Salmonella* の疫学的な分類指標として血清型が用いられ，White-Kauffmann-Le Minor の抗原構造分類に基づき，菌体表面を構成するリポ多糖体抗原である O 抗原と，鞭毛を構成する蛋白抗原である H 抗原の組み合わせによって，2,500 以上の血清型に分類される（**表 1-2-1-2**）[8]。

属名，種名，亜種名，血清型名を記載する際には，血清型名の頭文字を大文字としたローマン体（たとえば *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis）で表記する。種名，亜種名を省略する際には，*Salmonella* Enteritidis または *S.* Enteritidis と記載する。また，ほとんどの血清型が複数相の H 抗原を保有し，H 抗原をコードする遺伝子である *fliC* と *fljB* の存在と発現によって第一相，第二相に相転換する。抗原構造を記載する際には，O 抗原，第一相 H 抗原，第二相 H 抗原の順にそれぞれをコロン（:）で分け，第二相 H 抗原をもたない *S. enterica* serovar Enteritidis の場合には 1,9,12：g,m：－と表記する。

表 1-2-1-1　*Salmonella* 属の菌種および亜種

菌種	亜種	略号
Salmonella bongori		Ⅴ
Salmonella enterica	*S. enterica* subsp. *enterica*	Ⅰ
	S. enterica subsp. *salamae*	Ⅱ
	S. enterica subsp. *arizona*	Ⅲa
	S. enterica subsp. *diarizonae*	Ⅲb
	S. enterica subsp. *houtenae*	Ⅳ
	S. enterica subsp. *indica*	Ⅵ

<文献 7）より一部改変>

【形態】

Salmonella はグラム陰性 2.0～5.0 μm×0.5～1.5 μm の小～中桿菌で，無芽胞，多くは周毛性鞭毛を有し，わずかな例外を除き運動性陽性である。また，*S. enterica* serovar Typhi は莢膜抗原である易熱性の Vi 抗原を有する。参考として，血液培養から分離した *S. enterica* serovar Typhi と *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Heidelberg のグラム染色鏡検像を**図 1-2-1-1(1), (2)** に示した。

【培養】

Salmonella の検出を目的とした検査手順を**図 1-2-1-2** に示す。腸チフス，パラチフスを疑う場合は，血液培養を最優先とする。これは，経口的に摂取された *S. enterica* serovar Typhi が小腸腸間膜に侵入し，数日から 1 週間後に腸管粘膜下リンパ節で増殖後血中に入り敗血症を起こすからであり，血液培養による検出率は 40～80％と言われる。その後，脊髄，腎臓，脾臓，胆嚢などの各種臓器に迷走し，胆汁から腸管内に再度侵入するので，この時点での便培養検査が有効であり，便培養 30％，尿培養 1％との報告がある[9]。血液培養陰性・便培養陽性症例も認められるため[10,11]，多

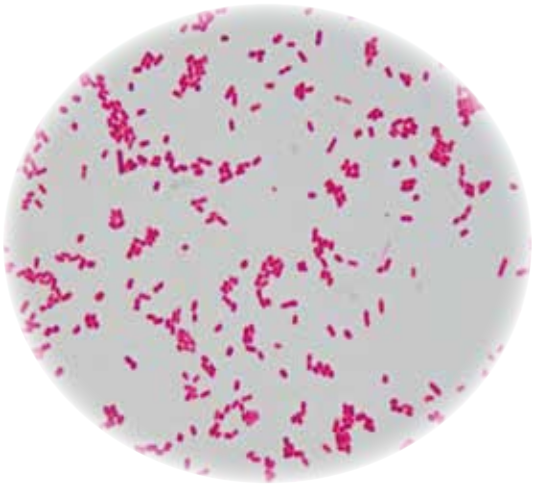
表 1-2-1-2　主な *Salmonella* 属の血清型名および抗原構造

O 抗原群	血清型名	O 抗原	H 抗原	
			第一相	第二相
2 群（A）	Paratyphi A	1,2,12	a	[1,5]
4 群（B）	Paratyphi B	1,4,[5],12	b	1,2
	Stanley	1,4,[5],12,[27]	d	1,2
	Schwarzengrund	1,4,12,27	d	1,7
	Saintpaul	1,4,[5],12	e,h	1,2
	Chester	1,4,[5],12	e,h	e,n,x
	Agona	1,4,[5],12	f,g,s	[1,2]
	Typhimurium	1,4,[5],12	i	1,2
	Heidelberg	1,4,[5],12	r	1,2
7 群（C_1）	Paratyphi C	6,7,[Vi]	c	1,5
	Choleraesuis	6,7	c	1,5
	Livingstone	6,7,14	d	l,w
	Braenderup	6,7,14	e,h	e,n,z_{15}
	Rissen	6,7,14	f,g	—
	Oranienburg	6,7,14	m,t	[z_{57}]
	Thompson	6,7,14	k	1,5
	Singapore	6,7	k	e,n,x
	Virchow	6,7,14	r	1,2
	Infantis	6,7,14	r	1,5
	Bareilly	6,7,14	y	1,5
	Djugu	6,7	z_{10}	e,n,x
	Mbandaka	6,7,14	z_{10}	e,n,z_{15}
8 群（C_2，C_3）	Narashino	6,8	a	e,n,x
	Nagoya	6,8	b	1,5
	Manhattan	6,8	d	1,5
	Newport	6,8,20	e,h	1,2
	Litchfield	6,8	l,v	1,2
	Goldcoast	6,8	r	l,w
	Hadar	6,8	z_{10}	e,n,x
9 群（D_1）	Sendai	1,9,12	a	1,5
	Typhi	9,12,[Vi]	d	—
	Enteritidis	1,9,12	g,m	—
	Dublin	1,9,12 [Vi]	g,p	—
	Miyazaki	9,12	l,z_{13}	1,7
	Gallinarum	1,9,12	—	—
3，10 群（E_1）	Anatum	3,[10],[15],[15,34]	e,h	1,6
	London	3,[10],[15]	l,v	1,6
1，3，19 群（E_4）	Senftenberg	1,3,19	g,[s],t	—
18 群（K）	Cerro	6,14,18	z	4,z_{23}
39 群（Q）	Champaign	39	k	1,5

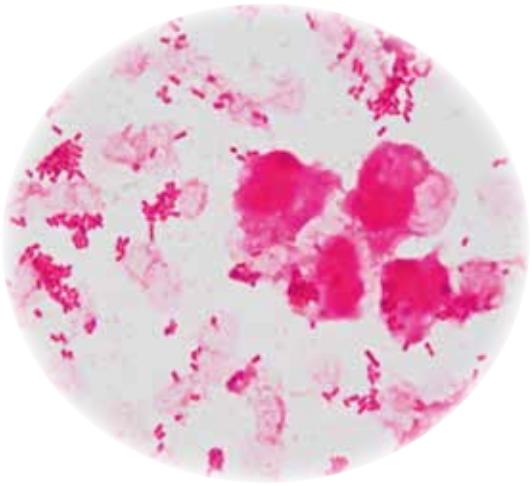
[ ]：存在しない場合がある。
＜文献 8）より一部改変＞

種材料を用いた併用検査が望まれる。非チフス性 *Salmonella* による感染性胃腸炎を疑う場合には，便培養検査が主体となる。主に下痢便が対象になるが，まれに固形便からも純培養状に非チフス性 *Salmonella* を検出（多くの場合保菌者である）することがあるので，提出された糞便はすべて検査することが望ましい。患者の状態によって菌量が少ないことがあり，増菌培養の併用が必要である。また *Salmonella* を長期排菌する事例については胆石などの検索が必要である。

培養は一様に好気的条件下で実施する。血液寒天培地やチョコレート寒天培地などの非選択培地

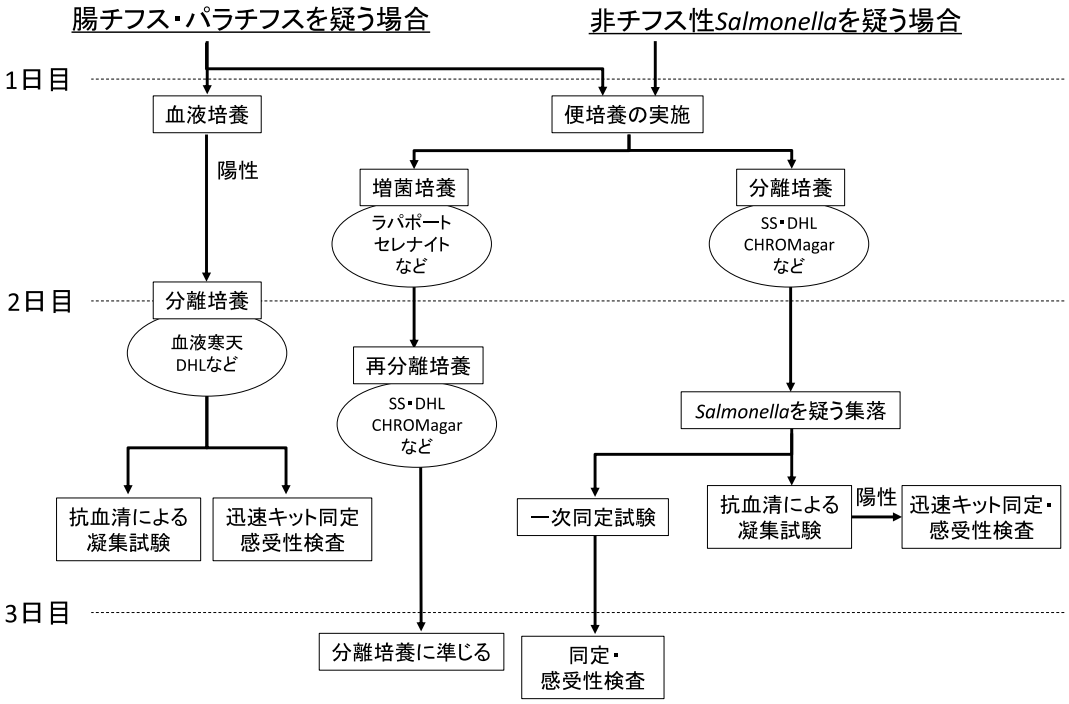


（1）血液寒天培地 24 時間培養純培養菌のグラム染色像
（*Salmonella enterica* serovar Typhi 自験例）



（2）血液培養ボトルから直接塗抹したグラム染色像
（*Salmonella enterica* serovar Heidelberg 自験例）

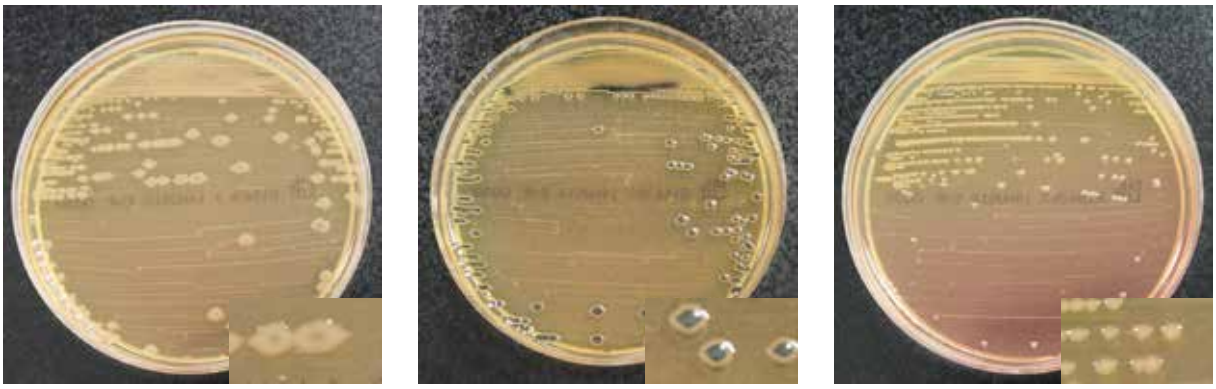
図 1-2-1-1　血液培養から検出した *Salmonella* spp. のグラム染色像



※ 抗血清による凝集試験では、他菌種との交差反応や市販の抗血清に凝集しない*Salmonella*に注意

図 1-2-1-2　*Salmonella* の検査手順

や BTB 乳糖寒天培地および MacConkey 寒天培地などの腸内細菌分離培地には良好に発育する。選択分離培地として，Salmonella-Shigella（SS）寒天培地，Desoxycholate Hydrogen sulfide Lactose（DHL）寒天培地，ブリリアントグリーン寒天培地，Xylose Lysine Deoxycholate（XLD）寒天培地，Mannitol Lysine Crystal Violet Brilliant Green（MLCB）培地，および CHROMagar サルモネラ培地などが一般的に利用されている。これらの培地の利用法は各施設の判断にゆだねられているが，個々の培地の各菌種の集落性状をよく認識しておくことが大切であり，できるだけ選択性の強弱が異なる 2 種類の併用が望ましい。回復期や保菌者など，菌量が少ないことが予想される検体に



(1) *Salmonella enterica* serovar Typhi　(2) *Salmonella enterica* serovar Enteritidis　(3) *Salmonella enterica* serovar Paratyphi A

図 1-2-1-3　DHL 寒天培地 24 時間培養後の *Salmonella* 3 種血清型菌株の集落

は増菌培地として，ラパポート培地，テトラチオネート培地，セレナイト培地，Selenite Brilliant Green（SBG）培地などを使用する。また，乾燥食品や冷凍食品中では菌の損傷や休眠状態などによって増殖力が弱く，選択性の強い増菌培地に直接接種すると死滅する可能性があるため，前増菌培養してから増菌培養することでさらに検出率が高まる。食品からの前増菌培地として，緩衝ペプトン水，Enterobacteriaceae Enrichment Mannitol（EEM）ブイヨン培地などがある。*Salmonella* の発育温度域は，5.2〜46.2℃で，発育至適温度は 35〜43℃である。世代時間は約 20 分と比較的早く，10℃付近の低温域でも 400〜600 分程度である。

S. enterica serovar Typhi や非チフス性 *Salmonella*（代表として *S. enterica* serovar Enteritidis）集落は，DHL 寒天培地上において，乳糖・白糖非分解性であるため無色半透明で，培地中のチオ硫酸ナトリウムから産生された硫化水素がクエン酸鉄と結合し，黒色の硫化鉄を生じることによって，中心部が黒色を呈する（**図 1-2-1-3(1), (2)**）。これに対し，硫化水素非産生性の *S. enterica* serovar Paratyphi A は中心部の黒変は認めず，無色半透明の集落を形成する（**図 1-2-1-3 (3)**）。酵素基質を用いた CHROMagar サルモネラ培地上では，*Salmonella* は硫化水素産生・非産生に関わらず藤色の集落（**図 1-2-1-4(1), (2)**）を形成し，*Salmonella* 以外の *Citrobacter freundii* では青色の色調（**図 1-2-1-4(3)**）を，一部の菌種，たとえば *Proteus mirabilis* では発育がかなり抑制される（**図 1-2-1-4(4)**）。

【生化学的性状】

Salmonella の主な菌種の生化学的性状を示す（**表 1-2-1-3**）[12,13]。各種分離培地上で *Salmonella* を疑う集落を釣菌し，オキシダーゼ試験陰性株については，純培養を兼ねて性状確認試験用培地に接種する（または血液寒天培地に純培養し，増菌株について迅速同定キットを用いる）。*Salmonella* の一次同定試験として TSI 培地，LIM 培地への接種が利用されるが，SIM 培地，シモンズのクエン酸培地，VP 培地を併用することで，他の腸内細菌科細菌との鑑別が可能である。*S. enterica* serovar Typhi の特徴として，TSI 培地ではガスを産生せず，高層と斜面の接合点部分に少量の硫化水素を産生，クエン酸塩を利用しない（**図 1-2-1-5 (1)**）。また，*S. enterica* serovar Paratyphi A は TSI 培地でガス産生，硫化水素非産生，クエン酸塩陰性である（**図 1-2-1-5(2)**）。

非チフス性 *Salmonella* の一般的な性状は，ブドウ糖発酵性陽性，乳糖・白糖分解性陰性，ガス産生性陽性，硫化水素産生性陽性，IPA 反応陰性，インドール産生性陰性，運動性陽性，クエン酸利用性陽性，VP 反応陰性，リジン脱炭酸試験陽性である（**図 1-2-1-5(3)**）。リジン脱炭酸試験陰性の *Salmonella* spp. など例外の性状を示す株もある



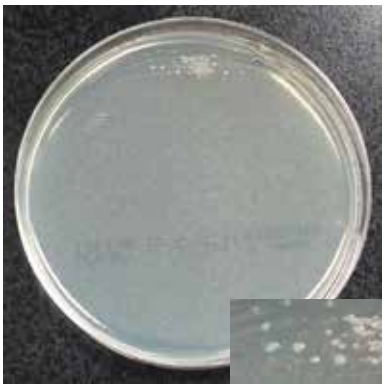
(1) *Salmonella enterica* serovar Typhi



(2) *Salmonella enterica* serovar Paratyphi A



(3) *Citrobacter freundii*



(4) *Proteus mirabiris*

図 1-2-1-4　CHROMagar で 24 時間培養後の *Salmonella* 2 種血清型および 2 種腸内細菌科細菌の集落

ため注意が必要である。菌種同定と同時に血清型の確認（**図 1-2-1-6**），*S. enterica* serovar Typhi では O 抗原と Vi 抗原の確認が重要であり，その他の非チフス性 *Salmonella* では疫学的観点からなるべく実施することが望まれる。

生化学的性状から *Salmonella* と同定した際には，血清型 O 群別試験を実施する。血清型 O 群別試験には 1 夜培養菌を用い，生化学的性状にて①*S. enterica* serovar Typhi と同定した場合には，Vi 血清と O9 群血清の凝集を確認する。新鮮分離株では，主に Vi 抗原を保有するため Vi 血清に凝集を認め O9 群血清に凝集を認めない（V 型）。まれに Vi 血清に凝集を認めず O9 群血清に凝集を認める株もある（W 型）。人工培地での継代によって V 型から W 型に変異することを V-W 変異という。Vi 血清に凝集を認めた場合には V 型を予想し，121℃で 15 分または 100℃で 1 時間加熱処理後に Vi 血清，O9 群血清および生理食塩水との凝集を確認する。②*S. enterica* serovar Paratyphi および非チフス性 *Salmonella* と同定した場合には，O 多価血清および O1 多価血清の凝集を確認する（**図 1-2-1-7**）。*Salmonella enterica* serovar Paratyphi C では Vi 抗原の存在が認められるため，いずれの血清にも凝集を認めない場合には，Vi 抗原の確認も実施する。また，市販の抗血清では凝集が認められない型別不能株にも注意が必要である。

【迅速検査】

糞便から直接 *Salmonella* 属菌を検出する遺伝子検査として，マルチプレックス PCR を用いた腸管病原菌遺伝子検出試薬キット（島津製作所），マルチプレックス PCR と DNA Strip を用いた GeneFields® EHEC/SS（倉敷紡績株式会社）や 15 種類の腸管病原体を網羅的に検出する xTAG® GPP

表 1-2-1-3　主な *Salmonella* 属の生化学的性状

	I					II	IIIa	IIIb	IV	VI	V
	1	2	3	4	5						
Hydrogen sulfide（TSI）	+	+	−	d	+	+	+	+	+	+	+
D-Glucose, acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Glucose, gas	+	−	+	+	−	+	+	+	+	+	+
Lactose	−	−	−	−	−	−	−	+	−	d	−
Sucrose	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Indole production	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Motility（35℃）	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+
Citrate（Simmons'）	+	−	−	d	−	+	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Lysine decarboxylase	+	+	−	+	+	+	+	+	+	+	+
Arginine dihydrolase	d	−	−	d	−	+	d	d	d	d	+
Ornithine decarboxylase	+	−	+	+	−	+	+	+	+	+	+
Acetate	+	−	−	−	−	+	+	d	d	+	+
Adonitol	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
L-Arabinose	+	−	+	−	d	+	+	+	+	+	+
D-Arabitol	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Cellobiose	−	−	−	−	−	−	−	−	d	−	−
Dulcitol	+	−	+	−	+	+	−	−	−	d	+
Malonate	−	−	−	−	−	+	+	+	−	−	−
D-Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mucate	+	−	−	−	d	+	+	d	−	+	+
Raffinose	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
L-Rhamnose	+	−	+	+	−	+	+	+	+	+	+
Salicin	−	−	−	−	−	−	−	−	d	−	−
D-Sorbitol	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−	+
L（+）-Tartrate（d-tartate）	+					−	−	−	−	−	−
D-Xylose	+	d	−	+	d	+	+	+	+	+	+
ONPG	−	−	−	−	−	d	+	+	−	d	+
Galactronate	−					+	−	+	+	+	+
Growth in KCN	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	+
Gelatinase	−					+	+	+	+	+	−

I：*S. enterica* subsp. *enterica,* II：*S. enterica* subsp. *salamae*, IIIa：*S. enterica* subsp. *arizona*, IIIb：*S. enterica* subsp. *diarizonae*, IV：*S. enterica* subsp. *houtenae*, V：*Salmonella bongori*, VI：*S. enterica* subsp. *indica*

1：most serotypes, 2：*S.* Typhi, 3：*S.* ParatyphiA, 4：*S.* Choleraesuis, 5：*S.* Gallinarum

+：90% or more positive reactions, −：90% or more negative reactions, d：different reactions given by different serovars

<文献 12，13）より一部改変>



（1）*Salmonella enterica* serovar Typhi



（2）*Salmonella enterica* serovar Paratyphi A

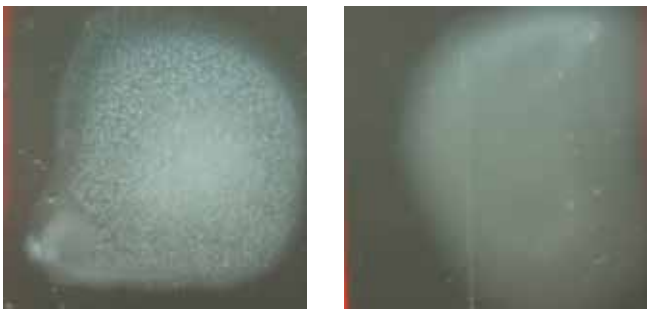


（3）*Salmonella enterica* serovar Enteritidis

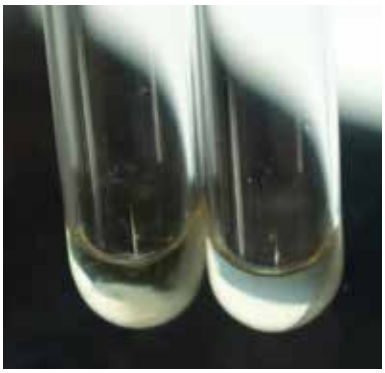
図 1-2-1-5　*Salmonella* 3 種血清型の各種確認培地における性状

35℃，24 時間培養後の各種培地の成績

左から，TSI 培地，SIM 培地，シモンズのクエン酸培地，VP 培地，LIM 培地，流動パラフィンを重層した LIM 培地



（1）O 抗原血清凝集試験（左：陽性，右：陰性）



（2）H 抗原血清凝集試験（左：陽性，右：陰性）

図 1-2-1-6　*Salmonella* の血清型確認試験

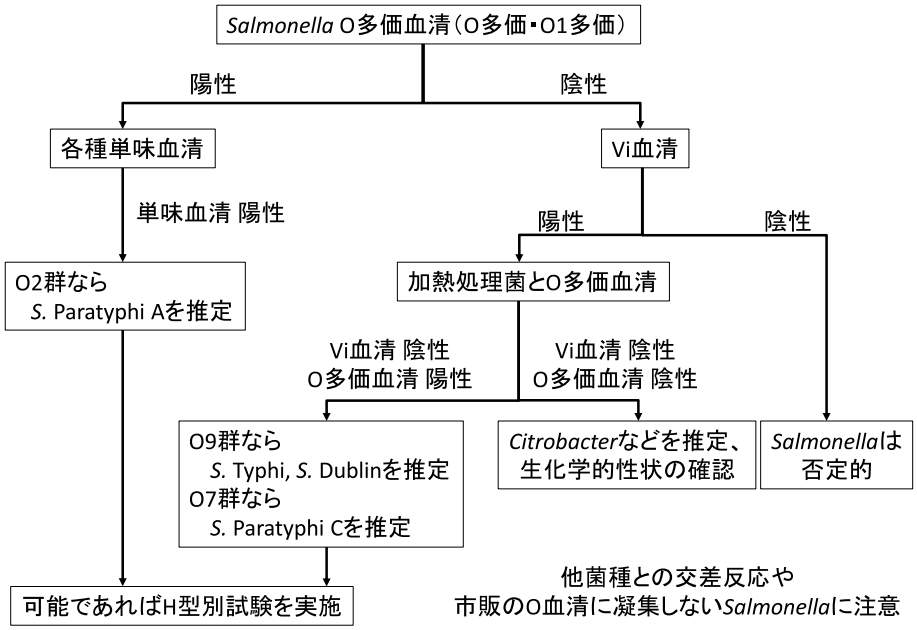


図 1-2-1-7　*Salmonella* spp. の免疫血清を用いた O 抗原型別試験

RUO 胃腸病原体検出キット（ルミネックス）などが販売されている。培養では菌の分離同定に数日を要するが，迅速に遺伝子の検出が可能である。

【治療・薬剤感受性】

Clinical and Laboratory Standards Institute（CLSI）において，*S. enterica* serovar Typhi および腸管外から分離された *Salmonella* 属菌に対するフルオロキノロン系抗菌薬の判定基準が 2011 年から複数回にわたって変更がなされた。2011 年にはナリジクス酸を用いたスクリーニングが推奨されたが[14]，ナリジスク酸スクリーニングだけでは検出困難なフルオロキノロン系抗菌薬への耐性機構が指摘され（**表 1-2-1-4**）[15]，2012 年には CPFX[16]，2013 年には LVFX，OFLX[17] の最小発育阻止濃度（Minimum Inhibitory Concentration：MIC）の判定基準が引き下げられ，2017 年には *Salmonella* 属に対するナリジクス酸の判定基準が削除された[18]。抗菌薬投与に際しては，必要性と薬剤感受性成績を考慮する。サンフォードガイドではアジア以外での感染では CPFX または LVFX が，アジアでの感染では AZM または CTRX が第一選択薬として推奨されている。なお，詳細な薬剤感受

表 1-2-1-4　Ciprofloxacin と *Salmonella* の解釈基準

遺伝子型	表現型		ciprofloxacin 判定成績	
	nalidixic acid	ciprofloxacin MIC (μg/mL)	CLSI M100 S21	CLSI M100 S23
wild type（耐性なし）	通常 S	0.008-0.06	S	S
chromosomal *gyrA*（単変異）	通常 R	0.12-2.0	S-I	I-R
chromosomal *gyrB*（単変異）	通常 S	0.12-0.5	S	I
chromosomal *gyrA*, *gyrB*（複数変異）	R	＞＝4.0	R	R
PMQR（such as *qnr* または *aac*（*6'*）*-Ib-cr*）	S のことが多い	0.12-2.0	S-I	I-R

MIC：minimum inhibitory concentration, PMQR：plasmid mediated quinolone resistance, S：Susceptible, I：Intermediate, R：Resistant
<文献 15）より一部改変>

性検査法，そしてその解釈については専門書を参考にされたい。

a）チフス菌・パラチフス菌

JAID/JSC 感染症治療ガイドライン 2015 腸管感染症[19]によると，インド亜大陸を中心にニューキノロン薬が臨床的に効かない症例を認めているため，成人に対しては，CTRX 点滴静注 14 日間が推奨され，ナリジクス酸，ニューキノロン系抗菌薬に感性であれば，ニューキノロン系抗菌薬も使用可能とされている。第二選択薬として AZM 経口 7 日間が推奨されている。小児に対しては，菌血症を起こしやすいため（点滴）静注が必要とされる。CTRX 静注または点滴静注 14 日間が推奨され，第二選択薬として，NFLX 経口 14 日間，AZM 経口 7 日間が推奨されている。

b）非チフス性 *Salmonella*

JAID/JSC 感染症治療ガイドライン 2015 腸管感染症[19]によると，成人に対して，健常者における軽症～中等症の *Salmonella* 腸炎には，抗菌薬の投与は推奨されていない。抗菌薬による治療を行う際には，LVFX 経口，TFLX 経口，CPFX 経口 3～7 日間が推奨されており，第二選択薬として CTRX 点滴静注，AZM3 経口～7 日間が推奨されている。小児に対して，無症状保菌者，軽症患者には投与しないと記載されている。年少児，免疫抑制状態，重症などでは，AMPC 経口，FOM 経口，NFLX 経口 3～7 日間，CTRX 静注または点滴静注が推奨されている。

文　献

1）感染症情報センター．2015．国立感染症研究所．病原微生物検出情報 36：162-163.
2）病原微生物検出情報 地研からの報告＜ヒト由来＞ サルモネラ血清型年別 上位 15 血清型．https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr/511-surveillance/iasr/tables/1525-iasrb.html.（2018 年 7 月 1 日現在）
3）Cruickshank JG, Humphrey TJ. 1987. The carrier food-handler and non-typhoid salmonellosis. Epidemiology and infection. 98：223-230.
4）Gunn JS, Marshall JM, Baker S, Dongol S, Charles RC, Ryan ET. 2014. Salmonella chronic carriage：epidemiology, diagnosis, and gallbladder persistence. Trends Microbiol 22（11）：648-655.
5）江崎孝行．2000．医学細菌の分類・命名の情報 2．ICSB の仕組み，裁定委員会の役割．感染症学雑誌 74：945-948.
6）江崎孝行．2002．医学細菌の分類・命名の情報 14．Salmonella 属の菌種の分類命名に関する裁定委員会の決定事項．感染症学雑誌 76：839-841.
7）List of prokaryotic names with standing in nomenclature Genus *Salmonella*. http://www.bacterio.net/salmonella.html（2018 年 7 月 1 日現在）
8）Grimont PA, Weill FX. 2007. Antigenic Formulae of the Salmonella Serovars. 9th. Paris, France：WHO Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella, Institut Pasteur.
9）Crump JA, Sjölund-Karlsson M, Gordon MA, Parry CM. Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive Salmonella Infections. Clinical Microbiology Reviews 2015；28（4）：901-37.
10）Khatami A, Khan F, Macartney KK. 2017. Enteric Fever in Children in Western Sydney, Australia, 2003-2015. Pediatr Infect Dis J 36（12）：1124-1128.
11）Patel TA, Armstrong M, Morris-Jones SD, Wright SG, Doherty T. 2010. Imported Enteric Fever：Case Series from the Hospital for Tropical Diseases, London, United Kingdom. Am J Trop Med Hyg 82（6）：1121-1126.
12）Farmer JJ Ⅲ. 1995. In：Manual of clinical microbiology, 6th ed. *Enterobacteriaceae*：Introduction and Identification. p.438-449. American Socitty for Microbiology, Washington, D. C.
13）Schriefer ME, Petersen JM. 2011. In：Manual of clinical

microbiology, 10th ed. *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*. p.603–626. American Socitty for Microbiology, Washington, D. C.
14）Clinical Laboratory Standards Institute. 2011. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. M100–S21. CLSI, Wayne, PA, USA.
15）Humphries RM, Fang FC, Aarestrup FM, et al. 2012. In vitro susceptibility testing of fluoroquinolone activity against Salmonella：recent changes to CLSI standards. Clin Infect Dis 55：1107–1113.
16）Clinical Laboratory Standards Institute. 2012. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. M100–S22. CLSI, Wayne, PA, USA.
17）Clinical Laboratory Standards Institute. 2013. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. M100–S23. CLSI, Wayne, PA, USA.
18）Clinical Laboratory Standards Institute. 2017. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. M100–S27. CLSI, Wayne, PA, USA.
19）JAID/JSC 感染症治療ガイド・ガイドライン作成委員会腸管感染症ワーキンググループ．JAID/JSC 感染症治療ガイドライン 2015―腸管感染症―．日化療会誌 2016；64(1)：31–65.

2）赤痢菌（*Shigella* 属）

【分布・疫学】

Shigella 属は 4 菌種（*Shigella dysenteriae*，*Shigella flexneri*，*Shigella boydii*，*Shigella sonnei*）に分類されており，それらにより引き起こされる下痢症を「細菌性赤痢」と呼ぶ。

国内での分離状況は，戦後には年間 10 万人ほどの患者が感染したが，衛生環境の改善とともに激減し，2013 年以降は年間 200 例未満で推移している。細菌性赤痢菌は通年で報告されるが，特に夏頃に集中して報告される。患者の多くがアジア地域の渡航歴を有する患者だが，国内感染例もある[1)]。

また最も多い原因菌は，*S. sonnei*（約 70％）および *S. flexneri*（約 20％）であり，*S. dysenteriae* や *S. boydii* は稀である。途上国では *S. flexneri* の分離頻度が高く，衛生環境が改善されるにつれて *S. sonnei* が優勢になる傾向がある。

【臨床的意義（感染対策，法規含む）】

Shigella 属は酸に対する抵抗性が比較的高く，胃酸による殺菌を受けにくいため，1000 個以下の少ない菌量で発症する。また，50％発症するのに必要な菌数は 100〜200 という報告もある[2)]。感染経路としては，保菌者糞便や汚染された手指，食品，水を介して経口感染する。また，猿などの一部の霊長類から感染するケースもある。

潜伏期間は 1〜5 日（多くは 3 日以内）で，腹痛，下痢（膿粘血便），発熱，ときに嘔吐などによって急激に発病し，テネスムス（しぶり腹）を伴うのが特徴的な症状として知られている。*S. dysenteriae* は志賀毒素を産生するが，この毒素は腸管出血性大腸菌が産生するベロ毒素と同じであり，より重症となりやすい。一般的に *S. dysenteriae* と *S. boydii* は典型的な症状であるが，*S. sonnei* は軽度な下痢，あるいは無症状に経過することもある。

「細菌性赤痢」は 2007 年 4 月に一部改定がなされた「感染症法」で三類感染症に位置づけられており，細菌性赤痢患者，無症状病原体保有者，感染症死亡者，感染症死亡疑い者を診断または検案した場合はただちに届出を行わなければならない。

【分　類】

Shigella 属は，腸内細菌科の独立した菌属として分類されているが，*Escherichia coli* との DNA 間の相同性は平均 85％以上であり，G＋C％はともに 50〜54％と同一菌種と扱われるほど近縁な関係にある。しかし，細菌性赤痢の原因菌として *E. coli* から区別されてきた医学上の重要性と習慣から，*Shigella* 属として *Escherichia* 属から独立している。

【形　態】

グラム陰性短桿菌で，鞭毛はない。DHL 寒天培地やマッコンキー寒天培地上で，37℃1 夜培養後，直径約 1〜2 mm の無色，半透明，湿潤な集落を形成する（**図 1-2-2-1**）。

【培　養】

検査材料は糞便または腸内容物が適切であるが，採取にあたっては，抗菌剤投与前に採便し，粘液や血液を含む部分を選んで採取する。また，*Shigella* 属は死滅しやすいので，採取後ただちに検査に供するか，Cary-Blair 培地のような輸送培

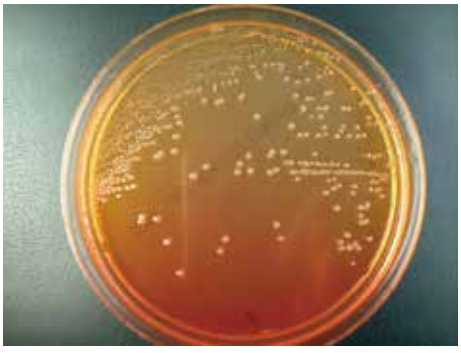


図 1-2-2-1　DHL 寒天培地上の *S. flexneri* の集落（37℃ 18 時間培養後）

表 1-2-2-1　確認培地上の *Shigella* 属および類似菌の性状

菌種	TSI				LIM		
	斜面	高層	H_2S 産生	ガス産生	リジン	インドール	運動性
Shigella sp.	−	+	−	−	−	d	−
EIEC	d	+	−	d	−	+	−
E. coli	+	+	−	+	d	+	+

＋：90%以上が陽性，－：90%以上が陰性，d：菌株によって異なる

表 1-2-2-2　*Shigella* 属と腸管侵入性 *E. coli*（EIEC）の鑑別に有用な生化学的性状

性状	*S. dysenteriae*	*S. flexneri*	*S. boydii*	*S. sonnei*	EIEC
グルコース：ガス	−(0%)	−[1]	−[2]	−(0%)	d（43%）
インドール	d[3]	d[4]	d[5]	−(0%)	+(100%)
酢酸塩	−(0%)	−[6]	−(0%)	−(0%)	d（44%）
粘液酸	−(0%)	−(0%)	−(0%)	d	d（19%）
オルニチン	−(0%)	−(0%)	−[7]	+[8]	d（37%）
マンニトール	−(0%)	+[9]	+	+	+(94%)

右記の例外あり：[1]血清型 6（+）　[2]血清型 13.14（+）　[3]血清型 2.7.8（+），他は（−）　[4]血清型 6（+），他は両方ある　[5]血清型 5.7.9.11.13.15.16.17（+），他は（−）　[6]血清型 4a（+）　[7]血清型 13（+）　[8]陰性株が増えている　[9]血清型 4a で（−）が多い
<国立感染症研究所．病原微生物検出情報（IASR）より引用>

地に入れ室温で輸送する。培養にあたっては，増菌培地に適したものはなく，一部の *Shigella* 属は SS 寒天培地で発育不良であるため，選択培地（SS 寒天・DHL 寒天培地など）だけでなく非選択培地（BTB 乳糖寒天培地など）を併用することが望ましい。また，*S. sonnei* の集落は，他の赤痢菌と比べてやや大きく，乳糖を遅分解するため，週末などで培養時間の超過が想定される際は，注意して培地を観察する必要がある。

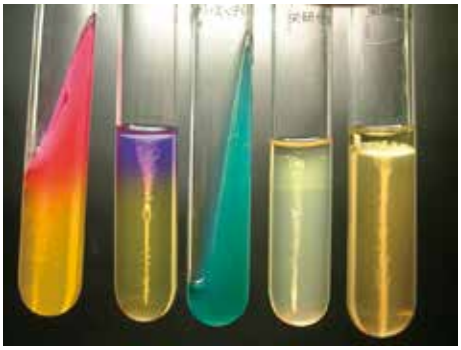


図 1-2-2-2　*S. flexneri* の各種鑑別培地の外観（左より TSI, LIM, CIT, VP, SIM）

【生化学的性状】

Shigella 属は，分類学上 *E. coli* に極近であるため，生化学的性状においても同じ性状を示す部分が多い。特に腸管侵入性 *E. coli*（EIEC）とは類似する箇所が多く，誤同定に注意する必要がある（**表 1-2-2-1**）。そのため，生化学的性状での一次鑑別（運動性，ガス産生）結果を優先し，必要に応じて鑑別に特異的な生化学的検査を追加する（**表 1-2-2-2**）。*S. flexneri* の各種鑑別培地の外観を**図 1-2-2-2** に示す。

近年，*S. sonnei* において，オルニチン脱炭酸陰性の菌株が検出されるようになっている。このように，下痢原因菌の検索時は，生化学的性状が 1 つ異なる場合でも疑い株としてさらなる精査を進める。

一次鑑別で *Shigella* 属を疑ったうえで，抗血清による凝集試験の結果や，同定キットの結果を採用する。特に，検出頻度が低い *S. dysenteriae* や *S. boydii* の抗血清に凝集を示した場合は，*E. coli* を疑う慎重さが必要である。この 2 菌種は，腸管侵入性 *E. coli* との間に共通した O 抗原を持つ菌が多い（**表 1-2-2-3**）。当然，O 抗原であるため，加熱処理を行っても凝集反応が消えないので，**表 1-**

表 1-2-2-3　*Shigella* 属と腸管侵入性 *E. coli* の O 抗原関係

赤痢菌 血清型	EIEC 血清型		
	同一	交叉	
S. dysenteriae 2	O112ac		
S. dysenteriae 3	O124	O136	O164
S. dysenteriae 7		O121	
S. dysenteriae 10		O144	
S. dysenteriae 11		O29	
S. dysenteriae 12	O152		
S. boydii 1		O112ac	O136
S. boydii 3		O167	
S. boydii 8	O143		
S. boydii 13		O28ac	
S. boydii 15		O112ac	
S. boydii 17		O124	

<国立感染症研究所．病原微生物検出情報（IASR）より引用>

2-2-3 に示す O 抗原に凝集が見られた際は特に注意する。

また，近年は新しい血清型を保有する赤痢菌が検出されている（**表 1-2-2-4**）。その多くは東南アジアやインド亜大陸の渡航歴がある患者から分離される赤痢菌にみられるが，国内事例もみられる。そのため，抗血清に凝集を示さないが，一次鑑別などの検査で赤痢菌を疑う際は，専門機関に同定を委ねる[3]。

下記に，各赤痢菌の抗血清における分類上の注意点を示す[4]。

①*S. dysenteriae*：主抗原によって 1〜13 血清型に分けられる。志賀赤痢菌は血清型 1（*S. dysenteriae* 1）をさす。

②*S. flexneri*：6 種類の型抗原（型特異抗原）によって血清型に，3 組の群抗原（群共通抗原）によって各血清型を亜型に分ける。群抗原は血清学的に 10 種類以上のものが認められているが，型別上意義のあるものは 3, 4，6，7, 8 の 3 組で，血清型および亜型はそれぞれアラビア数字とアルファベットで記載する。型抗原が脱落して群抗原のみになったものを variant X，variant Y と呼び，血清型と同格の扱いを受けることが多い。

③*S. boydii*：主抗原によって 1〜18 血清型に分けられる。

④*S. sonnei*：1 つの血清型しか認められていない

表 1-2-2-4　わが国における新血清型 *Shigella* 属の検出状況

血清型	件数	由来（件数）
S. dysenteriae		
I9809-73	9	輸入例（9）
E23507	2	輸入例（2）
E670/74	1	輸入例（1）
93-119	6	輸入例（6）
204/96	8	輸入例（8）
S. flexneri		
88-893	42	輸入例（34） 国内例（8）
89-141	10	輸入例（7） 国内例（3）
S. boydii		
E16553	9	輸入例（8） 国内例（1）
SM00-27	16	輸入例（16）

（1985-2002 年）

<国立感染症研究所. 病原微生物検出情報（IASR）より引用>

が，S-R 変異に類する抗原変異が高頻度にみられ，前者を I 相，後者を II 相と呼ぶ。

【迅速検査】（遺伝子検査，抗原検査等）

遺伝子学的には *E. coli* と *Shigella* 属は同じ菌種であるため，質量分析計を用いた同定機器や 16S rRNA 配列を用いた遺伝子解析では鑑別できない[5]。特異性の高い DnaJ 配列を用いた解析では鑑別可能である[5]が，一般的な微生物検査室での解析実施は困難である。このため，今後も古典的な試験管培地により生化学的性状による同定検査技術の習熟は必要である。

【治療，抗菌薬感受性】

細菌性赤痢は少数の菌量でも感染が広がる危険性があるため，有症状の患者だけでなく保菌者に対しても治療が行われる。治療の第 1 選択薬は LVFX や CPFX などのニューキノロン系の抗菌薬であり，重症度も考慮して 3〜5 日投与する。免疫機能の低下した患者では 7〜10 日間の治療を考慮する。近年は，ニューキノロン耐性菌も報告されるようになり，この場合には AZM などの選択も考慮する[6〜10]。また，*Shigella* 属ではナリジクス酸耐性のニューキノロン低感受性菌や，ESBLs

産生菌も報告されているため，検出時は耐性菌も想定した追加検査を実施する。

【その他】

Shigella 属を含めて感染症法にて規定されている下痢原因菌と同定されれば，保健所による蔓延防止措置や，食品衛生法にて営業停止措置がとられる可能性もあるため，疑わしい場合は擬似患者として取り扱う慎重な対応が求められる。

文　献

1）発生動向調査年別報告数一覧（全数把握）．国立感染症研究所．https://www.niid.go.jp/niid/ja/survei/2085-idwr/ydata/7307-report-ja2016-10.html（2018 年 8 月 1 日現在）
2）Bacterial Pathogenesis. 1994. A molecular approach. p.169–181. ASM Press.
3）口広智一，宮田佳穂里，河村真保ほか．2012．既知赤痢菌血清に反応しなかった Shigella boydii による下痢症の 1 例．日臨微生物誌 22：284–288.
4）松下秀，勢戸和子，岩出義人．赤痢菌検査・診断マニュアル．国立感染症研究所．https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/shigella.pdf（2018 年 8 月 1 日現在）
5）日本臨床微生物学会検査法マニュアル作成委員会・腸管感染症検査ガイドライン委員会．2010．腸管感染症検査ガイドライン．腸管感染症に有用な検査法とその役割．下痢症の遺伝子検査．急性下痢症の遺伝子検査．Escherichia–Shigella．日臨微生物誌 20（Suppl. 1）：74.
6）Tong MJ, Martin DG, Cunningham JJ, et al. 1970. Clinical and bacteriological evaluation of antibiotic treatment in shigellosis. JAMA 214：1841–1844.
7）Bennish ML, Salam MA, Haider R, et al. 1990. Therapy for shigellosis. II. Randomized, double–blind comparison of ciprofloxacin and ampicillin. J Infect Dis 162：711–716.
8）Khan WA, Seas C, Dhar U, et al. 1997. Treatment of shigellosis. V. Comparison of azithromycin and ciprofloxacin：a double–blind, randomized, controlled trial. Ann Intern Med 126：697–703.
9）Ahamed J, Gangopadhyay J, Kundu M, et al. 1999. Mechanisms of quinolone resistance in clinical isolates of Shigella dysenteriae. Antimicrob Agents Chemother 43：2333–2334.
10）JAID/JSC 感染症治療ガイド・ガイドライン作成委員会腸管感染症ワーキンググループ．2016．JAID/JSC 感染症治療ガイドライン 2015―腸管感染症―．日化療会誌 64(1)：31–65.

3）下痢原性大腸菌 （Diarrheagenic *Escherichia coli*）

下痢原性大腸菌の検査では，非病原性の大腸菌との区別が同定のポイントである。下痢原性大腸菌は，病原機序の違いから，現在，①腸管出血性大腸菌 Enterohemorrhagic *E. coli*（EHEC），②腸管毒素原性大腸菌 Enterotoxigenic *E. coli*（ETEC），③腸管侵入性大腸菌 Enteroinvasive *E. coli*（EIEC），④腸管病原性大腸菌 Enteropathogenic *E. coli*（EPEC），⑤腸管凝集付着性大腸菌 Enteroaggregative *E. coli*（EAggEC）の少なくとも 5 つのカテゴリーに分類されている（**表 1-2-3-1**）[1]。中でも，EHEC による感染症は感染症法で三類感染症に位置付けられているため，その同定は重要である。

A．下痢原性大腸菌検査の流れ

下痢原性大腸菌を同定する場合，従来は主に分離した大腸菌の血清型別試験によって行っていたが，必ずしも血清型と病原性が一致するとは限らないことが判明した現在においては，血清型別のみで本菌を同定することはできない。その同定には，病原因子の確認が必要である。

【一般の検査室ではどのレベルまでの検査が必要か】

EHEC については，大腸菌を分離後，毒素産生性試験を行い，確実に同定しなければならない。その他，東南アジア，インド亜大陸，アフリカ等への旅行後に下痢を発症した事例では，EIEC や ETEC を調べることが勧められる。一方，EPEC や EAggEC の病原性については十分に解明されておらず，孤発事例を対象とする検査室等で同定することは困難である。

病原因子を調べられずに，血清型別試験結果のみを報告する場合には，「大腸菌血清群○○を検出した。下痢原性大腸菌（ETEC，EIEC 等可能なら具体的に記載する）の疑いはあるが，病原因子の確認試験が必要である」等のコメントを付ける必要がある。そして必要であれば衛生研究所などに相談する。また，担当する検査室ではどのレベルまで検査可能であるかを臨床と申し合わせておくことも重要である。

【検査の手順】

通常の下痢原性大腸菌の検査材料は糞便であり，検査の概略を**図 1-2-3-1** に示した。

①分離培養：EHEC O157 の分離用には，CT-ソルビトール・マッコンキー（CT-SMAC）寒天を，O157 以外の血清群も含めた EHEC 全体を対象とする場合にはクロモアガー STEC 寒天（OXOID）などを用いる。EHEC の中には，O165 や O103 の一部の菌のように，CT（セフィキシム・亜テルル酸カリウム）添加培地には発育しない菌もある。広く EHEC を対象とする場合，あるいは ETEC や EIEC も対象にする場合には，DHL 寒天あるいはマッコンキー寒天などを追加する。検査に使用する培地を選択するためにも，患者情報（たとえば，EHEC 感染症が強く疑われる患者か否か，海外渡航歴があるか等）は必要である。

②釣菌対象集落：EHEC O157 はソルビトール非（遅）分解であるために，CT-SMAC 寒天ではやや灰色を帯びた無色透明の集落を呈する。クロモアガー STEC 寒天では，EHEC は藤色の集落となる（**図 1-2-3-2**）。

一方，多くの大腸菌は，DHL 寒天では桃色～赤色の集落，マッコンキー寒天ではレンガ色の集落を作り，EHEC や ETEC は非病原性の大腸菌と区別することはできない（**図 1-2-3-3**）。ただし，急性期の糞便であれば，原因菌は平板上に優勢に発育する。EIEC は，これらの寒天培地上で乳糖非分解の無色半透明の赤痢菌様の集落を作る（**図 1-2-3-4**）。

③一次鑑別：疑わしい集落を，TSI 寒天，LIM 培地，普通寒天に植え，37℃，18～20 時間培養して性状を確認する（**表 1-2-3-2**，**図 1-2-3-5**）。

④病原因子の確認：EHEC では VT，ETEC では LT と ST，EIEC では細胞侵入性，EPEC や

表 1-2-3-1　下痢原性大腸菌の分類と概要

分類	主な症状	主な病原因子またはマーカー	作用機序	診断法	代表的な血清群	検査のポイント
腸管出血性/Vero 毒素産生性/志賀毒素産生性大腸菌（EHEC/VTEC/STEC）	激しい腹痛，下痢，血便，HUS，脳炎	ベロ毒素（VT1，VT2）	大腸に定着・増殖→産生された VT による種々の細胞障害	ベロ毒素産生性の確認あるいは VT 遺伝子の検出	O157：H7/-, O26：H11/-, O111：H-/8/28/21, O103：H2/11, O121：H19, O145：H-/25/34, O91：H-/14/21, O165：H-/25/19	ベロ毒素産生性の確認
腸管毒素原性大腸菌（ETEC）	水様性下痢，腹痛	易熱性エンテロトキシン（LT） 耐熱性エンテロトキシン（ST）	小腸粘膜上皮細胞に定着・増殖→エンテロトキシン産生→下痢	LT，ST の産生性の確認あるいは LT，ST 遺伝子の検出	O6：H16, O25：H42/-, O27：H7/20, O148：H28, O159：H4/20/34, O169：H41/-	海外旅行下痢症では検査が必要
腸管侵入性/組織侵入性大腸菌（EIEC）	下痢，腹痛，発熱，赤痢様症状	細胞侵入性（*invE*，*ipaH*）	大腸粘膜上皮細胞へ侵入→細胞の壊死，炎症等	組織侵入性プラスミド（140Md）の保有あるいは *invE*，*ipaH* 遺伝子の検出	O28：H-, O29：H-, O112：H-, O121：H-, O124：H-/7/30/32, O136：H-, O143：H-, O144：H-, O152：H-, O164：H-, O167：H-	海外旅行下痢症では検査が必要
腸管病原性/病原血清型大腸菌（EPEC）	水様性下痢，腹痛	細胞局在付着性 *eae*，*bfpA*，EAF	小腸粘膜上皮細胞の破壊 A/E 障害	培養細胞への局在付着性の確認，または *eae*，*bfpA*，EAF の検出 ＊VT，LT，ST，侵入性が確認されたものを除く	O44：H18/34, O55：H6/7/-, O86：H34/-, O125/H6/19/21, O126：H2/27/-, O127：H9/21/-, O142：H6, O146：H21, O158：H23	PCR 法による病原遺伝子の確認が必須
腸管凝集付着性大腸菌（EAggEC）	水様性下痢，時に吐気・嘔吐	細胞凝集付着性，付着性繊毛 *aggR*，CVD432	粘液の分泌を促し炎症を引き起こす	細胞への凝集付着性の確認，または *aggR*，CVD432 の検出 ＊VT，LT，ST，侵入性が確認されたものを除く		
他の下痢原性大腸菌	下痢，腹痛	付着性繊毛?，毒素？ *afa*，*astA*，CDT，*cnf*	不明	上記５つに該当しないが，胃腸炎の原因と考えられるもの ＊生化学的性状が同一の菌が多数の患者から検出された場合	O6：H10, O126：H-, O148：H28, O166：H15, O169：H-等	

<文献 1）から改変>

EAggEC ではそれぞれの付着性などの試験を行わないかぎり，最終同定はできない（**表 1-2-3-1**）。

その方法は，PCR 法による病原関連遺伝子の確認，または，免疫学的方法で菌の毒素産生性を調べることである。

PCR 法に必要なプライマー等の試薬はキットとして市販されているが，それらは食品検査用であり，体外診断用医薬品として承認されていない。一方，VT 産生性を免疫学的方法で調べることは病院の細菌検査室等で可能であり，診断薬は体外診断用医薬品として承認されている（**表 1-2-3-3**）。

⑤生化学的性状試験：菌を分離後，VT 陽性などの病原因子が確認された場合には，二次鑑別性状試験や血清学的試験を行い下痢原性大腸菌と同定する。二次鑑別には，クエン酸塩，尿素培地，

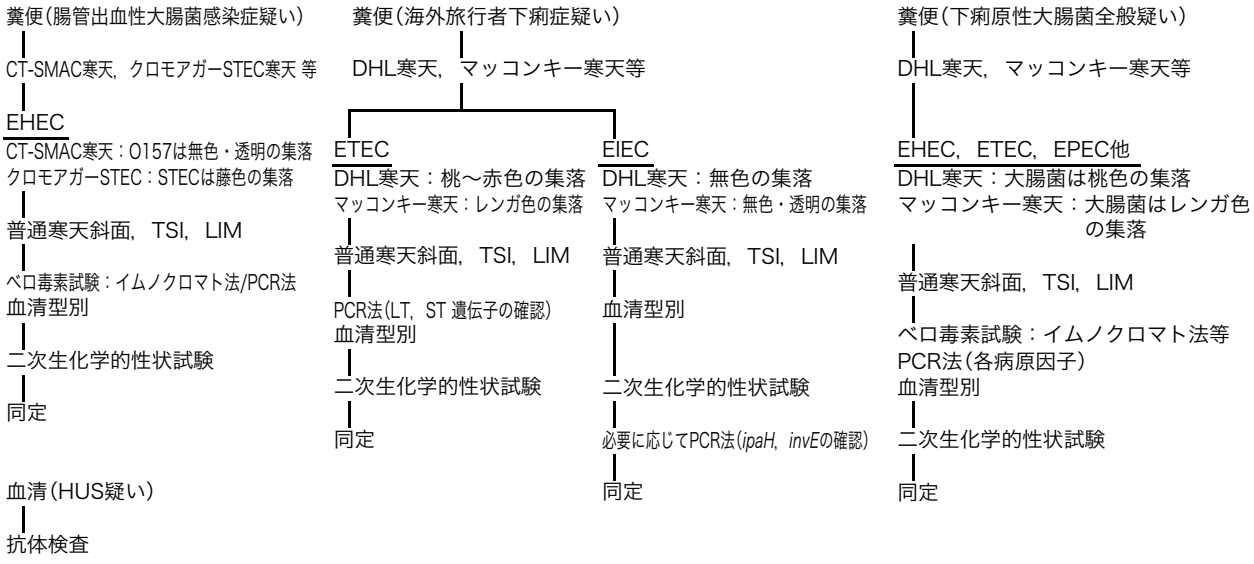


図 1-2-3-1　下痢原性大腸菌検査の流れ

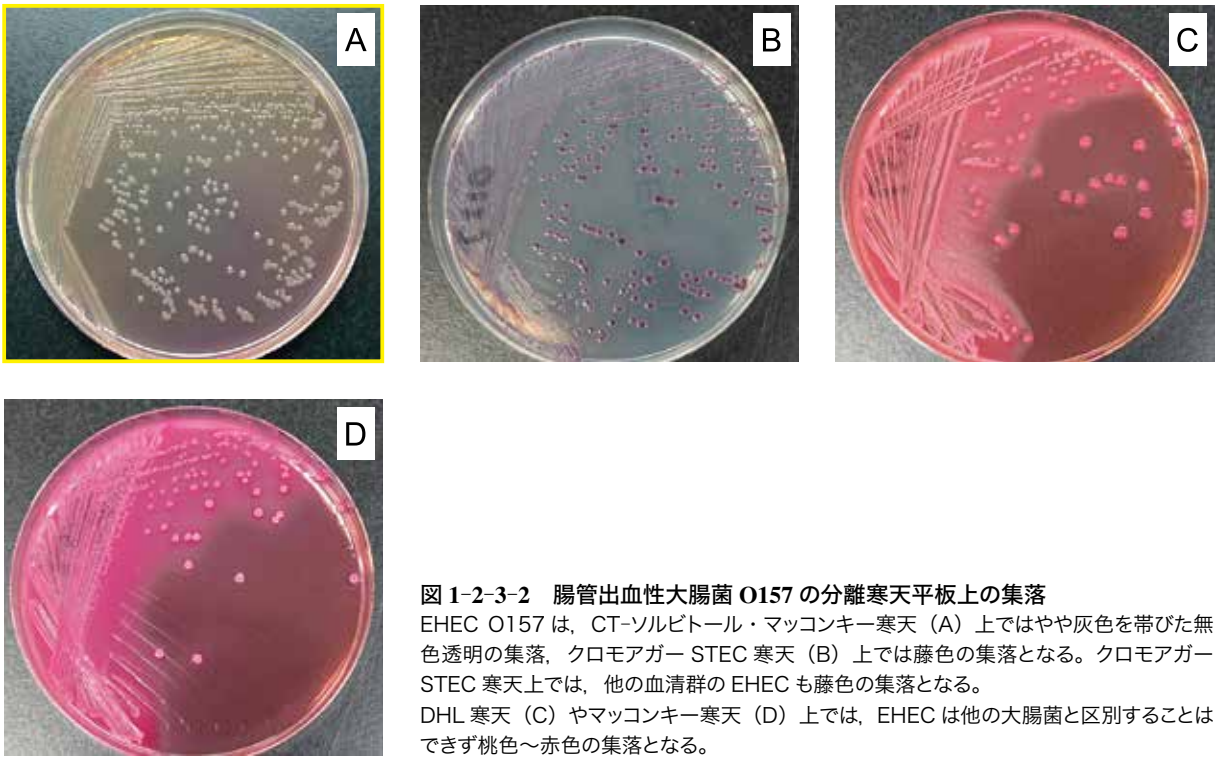
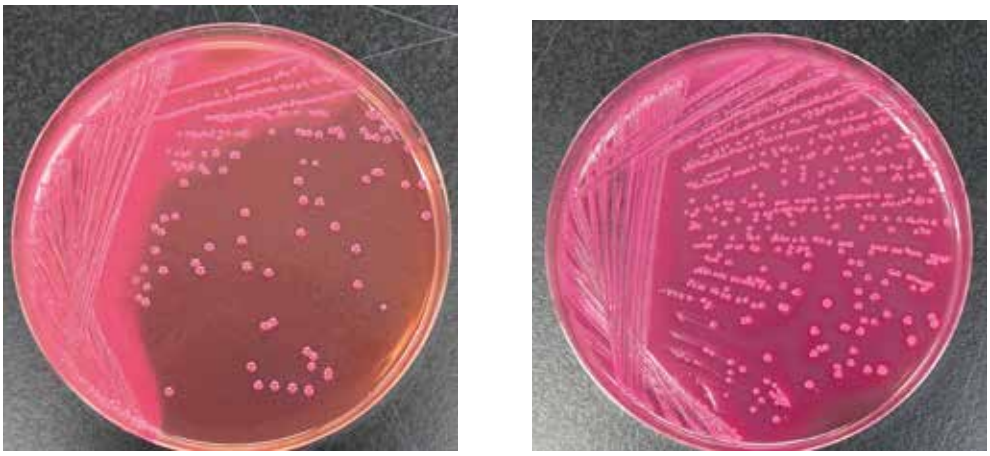


図 1-2-3-2　腸管出血性大腸菌 O157 の分離寒天平板上の集落
EHEC O157 は，CT-ソルビトール・マッコンキー寒天（A）上ではやや灰色を帯びた無色透明の集落，クロモアガー STEC 寒天（B）上では藤色の集落となる。クロモアガー STEC 寒天上では，他の血清群の EHEC も藤色の集落となる。
DHL 寒天（C）やマッコンキー寒天（D）上では，EHEC は他の大腸菌と区別することはできず桃色～赤色の集落となる。

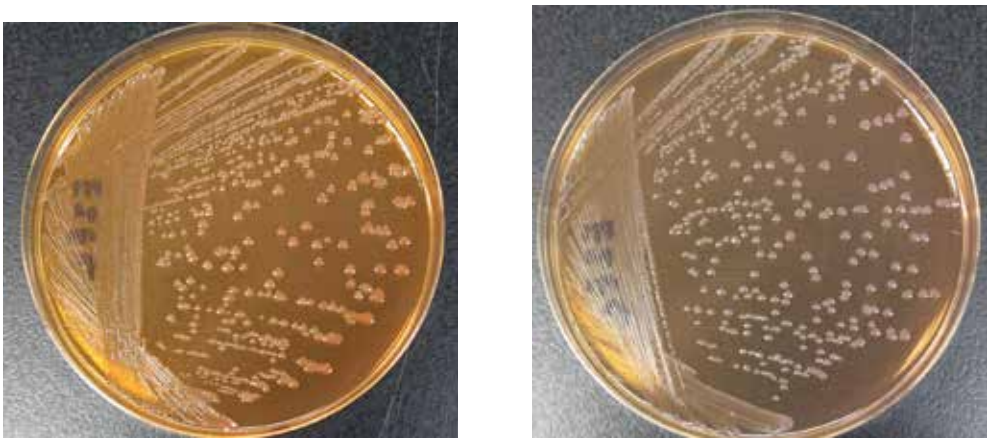
VP 寒天培地等が用いられるが，API などの簡易同定キットや自動同定機器が使われることも多い。

⑥血清型別試験：O 抗原（菌体抗原）型別は，普通寒天，ハートインヒュージョン寒天，トリプトソイ寒天等の糖や血液を含まない非選択寒天培地に純培養した菌を用いて加熱菌を作製し，病原大腸菌免疫血清（デンカ）を用いて行う（**表 1-2-3-4**）。H 抗原（鞭毛抗原）型別には 1 週間程度要するので，通常の検査室では行わない。大腸菌の血清型は，O 抗原型と H 抗原型の組み合わせで，O157：H7 のように表記される。2021 年 3 月



DHL 寒天　　マッコンキー寒天

図 1-2-3-3　腸管毒素原性大腸菌（ETEC）の分離寒天平板上の集落
ETEC は，DHL 寒天で桃色～赤色，マッコンキー寒天平板上でレンガ色の集落となる。



DHL 寒天　　マッコンキー寒天

図 1-2-3-4　腸管侵入性大腸菌（EIEC）の分離寒天平板上の集落
EIEC は，DHL 寒天やマッコンキー寒天平板上で乳糖非分解・無色不透明の赤痢菌様集落となる。

表 1-2-3-2　大腸菌および *Escherichia albertii* の主な生化学的性状

分類	TSI				LIM			シモンズのクエン酸塩	尿素	VP反応	糖分解		
	斜面	高層	ガス	H_2S	リジン	インドール	運動性				ソルビトール	セロビオース	キシロース
EHEC													
O157：H7	A/A		＋	－	＋	＋	＋	－	－	－	－**	－	＋
O157：H-	A/A		＋	－	＋	＋	－	－	－	－	－**	－	＋
他の血清群	A/A		＋	－	＋	＋	d	－	－	－	＋	＋	＋
EIEC	K*/A		－	－	－*	＋	－	－	－	－	＋	＋	＋
ETEC	A/A		＋	－	＋	＋	＋	－	－	－	＋	＋	＋
EPEC，他の大腸菌	A/A		＋	－	＋	＋	＋	－	－	－	＋	＋	＋
E. albertii	K*/A		－	－	＋	d	－	－	－	－	d	＋	－

K：アルカリ，A：酸産生，＋：90%以上陽性，－：90%以上陰性，d：不定
*：大部分は陰性，**：陰性または遅分解

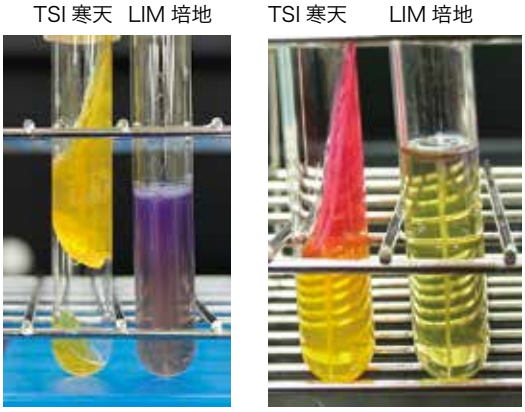


図 1-2-3-5　TSI 寒天と LIM 培地の反応
左：大腸菌の典型的な性状
右：EIEC は赤痢菌に類似した性状を示す

現在，O 抗原は 185 種類（O1〜O188，一部欠番や亜型あり），H 抗原は 53 種類（H1〜H56，一部欠番あり）報告されている。また，最近，PCR 法を用いて遺伝子学的に決定する血清型別法（genotyping PCR 法）[2] も開発されている。H 血清型など詳細な型別が必要な場合には衛生研究所などに相談する。

B．腸管出血性大腸菌（EHEC）

本菌は，行政的には，腸管出血性大腸菌（EHEC）と呼ばれているが，ベロ毒素（VT）産生性大腸菌（Vero-toxin producing *E. coli*：VTEC）や志賀毒素産生性大腸菌（Shiga-toxin producing *E. coli*：STEC）と呼称される場合もあ

表 1-2-3-3　腸管出血性大腸菌（EHEC）検査に使われる試薬キット

検出対象	検出法	試薬キット名	販売元
ベロ毒素	ラテックス凝集反応法	VTEC-RPLA「生研」*	デンカ
	EIA 法	オーソ VT1/VT2*	オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス
	イムノクロマト法	ディオパス・ベロトキシン*	極東製薬/メルク
		キャピリア VT*	タウンズ
O157 抗原	イムノクロマト法	キャピリア O157*	タウンズ
O157 抗体	ラテックス凝集反応法	O157 チェック「LPS 抗体」*	塩野義製薬

*体外診断用医薬品

表 1-2-3-4　病原大腸菌免疫血清「生研」（デンカ）の構成

主に含まれるタイプ	混合血清	各混合血清に含まれる因子血清						
EPEC EHEC	混合 1	O1	O26	O86a	O111	O119	O127a	O128
	混合 2	O44	O55	O125	O126	O148	O166	
	混合 3	O18	O114	O142	O151	O157	O158	
ETEC	混合 4	O6	O27	O78	O148	O159	O168	
	混合 5	O20	O25	O63	O153	O167		
	混合 6	O8	O15	O115	O169			
EIEC	混合 7	O28ac	O112ac	O124	O136	O144		
	混合 8	O29	O143	O152	O164			
EHEC	混合 9	O74	O91	O103	O121	O145	O161	O165

：EHEC に多くみられる血清群

る。EHEC は，志賀赤痢菌の産生する志賀毒素と同一の毒素である VT1（Stx1），あるいは，それとは異なる VT2（Stx2）を産生する大腸菌と定義される。

下痢原性大腸菌の中で腸管出血性大腸菌感染症のみが，感染症法で三類感染症として定められており，診断後ただちに都道府県知事に届出なければならない。感染症法による届出基準は，便からの分離・同定による病原体の検出，かつ，分離菌における次の①，②のいずれかによる VT の確認である。①毒素産生性の確認，②PCR 法等による毒素遺伝子の検出。HUS 発症例に限っては，便からの VT の検出，血清中の O 抗原凝集抗体または抗ベロ毒素抗体の検出とされている。また，本菌感染症は，飲食物を介した食中毒の場合には食品衛生法に基づいて行政対応されるという二面性を持つ。

【分布・疫学】

感染症法に基づく EHEC 感染症届出数は 2000 年以降，年間3,500～4,000 人で経過しており，減少傾向は認められていない[3]。一方，食中毒として報告された事件数は毎年 10～25 件である[4]。本菌の主なリザーバーは牛であり，食肉処理場で牛の内臓肉や牛肉が本菌に汚染されるリスクが高い。また，牛の糞便中に排菌された菌が土壌や河川を汚染，それらを介して野菜等が汚染されるのではないかと考えられている[5]。

【臨床的意義】

本菌の感染菌量（感染が成立する菌数）は数百（10^2オーダー）個と非常に少ない。潜伏期間は 1～14 日（平均 2～5 日），症状は激しい腹痛（疼痛）と下痢で，血便を呈することも多い。さらに，溶血性尿毒症症候群（hemolytic uremic syndrome：HUS）や脳炎を合併することで重症化することもある。患者の 3～5％が HUS を発症，HUS 患者の 3～5％は死亡，または永久的な腎不全になるという報告[3]もある。一方，無症状病原体保有者がかなりの頻度で認められることも本菌感染症の特徴の一つである。

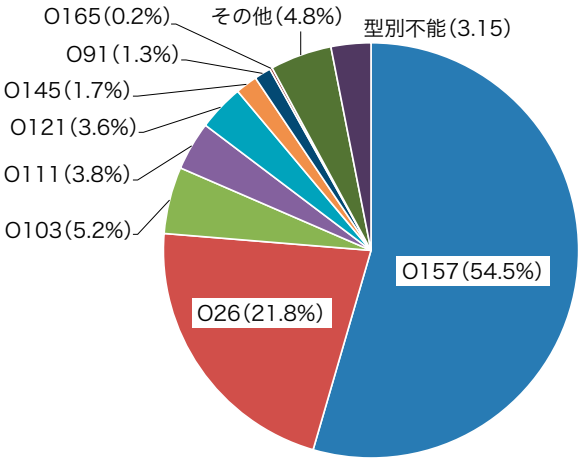


図 1-2-3-6　わが国で分離されたヒト由来腸管出血性大腸菌の主な血清群
（国立感染症研究所 IASR を基に作成）

【分離と同定】

分離された大腸菌は，一次鑑別試験の後，血清型および毒素産生性を調べる。O157，O26，O111 などの主要血清型（**図 1-2-3-6**）の EHEC を対象としている場合には，血清型別試験と毒素産生試験のどちらを先に行うかは，個々の検査室の事情による。すべての血清型の EHEC を検査対象にする場合には，毒素産生性試験を優先させる。

免疫学的に毒素産生性を確認する方法を**表 1-2-3-3** にまとめた。病院で最も簡便に調べられるのは，イムノクロマト法である（具体的な検査法は添付書を参照）。

血清型別試験では，O157，O26，O111 のほか，免疫血清「生研」（デンカ）中の「混合 9」が EHEC の主な血清群に該当する血清である（**表 1-2-3-4**）。

EHEC の産生毒素型は，血清群 O157 では VT1 と VT2 の両毒素産生株が最も多く全体の約 70％，VT2 単独産生株（約 30％）であり，VT1 単独産生株はごく稀である。一方，O26 や O111 では VT1 単独産生株が多い。

【血中抗体価の測定】

HUS を発症している患者では，既に菌が検出されない場合も多く，血中抗体価検査も届出基準に該当する。発症 1 週間後頃から菌体抗原（たとえば O157 抗原）に対する抗体価上昇が認められることが多い[6,7]。O157 抗体の上昇を簡易に調べる試薬として，O157 チェック「LPS 抗体」（体外診断用医薬品，塩野義製薬）が市販されている。しかし，抗 VT 抗体の検査は困難であり，ほとんど行われない。

【迅速診断】

①エンテロヘモリジン培地：O157 株のほとんど，O157 以外の EHEC の 60〜80％が Enterohemolysin（Ehly）を産生することから，VT 産生菌の簡便なスクリーニング法として使用できる[8]。分離平板上に出現した集落を羊血液を添加したエンテロヘモリジン培地に接種して溶血性を調べる方法であり，試験用の生培地も市販（極東製薬，関東化学）されている。ただし，平板上に出現する EHEC の溶血性は α-hemolysin の溶血性とは異なるため，判定方法をよく理解しておく必要がある。

②糞便中の O157 抗原の直接検出法：市販試薬として，キャピリア O157（タウンズ）があり，糞便からの検出感度は 10^6cfu/g 程度である。陽性になった場合には，O157 を分離し，毒素産生性を調べて，確定診断とする（**表 1-2-3-3**）。

【治療・薬剤感受性】

抗菌薬の使用に関しては賛否両論があり，現在でも統一的な見解は得られていない。欧米では否定的な意見が優勢であるが，わが国では重症化を防ぎ周囲への伝播を減らすという肯定的意見が多い。使用する場合には，FOM や LVFX を下痢発症初期（3 日以内）に短期間（3 日間程度）投与するのが望ましい。止痢薬は毒素を体内に留めることになり，HUS 発症の危険因子であるため投与しない[9]。症状がなく，就業上の制限がない場合には，生菌整腸剤を用いるか，経過観察のみとする。

O157 で薬剤耐性菌はそれほど多くはなく，一部 SM，TC，ABPC 耐性菌が認められている。フルオロキノロンや FOM に対する耐性菌は非常に少ない。EHEC O26 や O111 のほうが O157 より耐性菌が多い傾向にあるが，その詳細については明らかではない。

【ピットホール】

分離菌の毒素産生試験を行うときに，血液寒天培地や選択分離培地上に発育した菌を用いた場合に，非特異反応の見られることがある。必ず，試薬に添付された説明書に従い，BHI 寒天，CAYE 寒天，BHI ブイヨン（振盪培養が必要）等に発育した菌を用いて試験を行う。

また，血清型別を行うときには，ラフ型で自然凝集する菌もあるので，必ず対照として生理食塩水あるいは陰性対照血清と並行して行う。

C．腸管毒素原性大腸菌（ETEC）

易熱性エンテロトキシン（heat-labile enterotoxin：LT）または耐熱性エンテロトキシン（heat-stable enterotoxin：ST）の両方，またはその一方を産生する大腸菌と定義される。発展途上国への旅行者下痢症患者では ETEC を調べる必要がある[10]。

【分布・疫学】

ETEC は，東南アジア，インド亜大陸，アフリカ等では下痢症の主要原因菌である。これらの地域への旅行者が，飲用水，氷，生サラダなどを介して感染することが多いと考えられる。また，ETEC は，国内で発生する大腸菌による下痢症の原因菌としては EHEC と並んで多く，年間 100〜200 例，ETEC による食中毒は毎年数〜10 例報告されている。国外・国内事例のいずれにおいても検出される主な血清型は，O6：H16，O25：NM，O27：H7，O148：H28，O169：H41 などである（**表 1-2-3-1**）。

【臨床的意義】

潜伏時間は 12〜72 時間である。主症状は水様性の下痢と腹痛で，嘔吐を伴う場合もある。

ETEC は，腸管粘膜上皮に線毛を介して付着・定着し，そこで増殖する際にエンテロトキシン（LT や ST）を産生し，このエンテロトキシンにより下痢が惹起される。

【分離と同定】

ETEC の生化学的性状は，一般の大腸菌の性状と同様である（**表 1-2-3-2**）。本菌の同定には，PCR 法で毒素産生遺伝子を検出しなければならない。PCR 検査ができない場合には，血清型別試験のみを行う。これらに該当する診断用抗血清は，「混合 4，5，6」にまとめられている（**表 1-2-3-4**）。ETEC の主な血清群は，O6，O25，O27，O148，O169 などであり，これらの血清群菌が海外旅行者下痢症から純培養状に検出された場合には ETEC である可能性が高い。PCR 検査を行っていない場合の検査結果報告には，「ETEC の疑いがあるが，病原因子の確認試験が必要である」等のコメントを付ける。

【治療・薬剤感受性】

治療の基本は補液による脱水の補正などの対症療法であるが，症状が 7 日間以上持続，あるいは血便，発熱，脱水症状などを呈する重症例では，抗菌薬投与も検討する。治療の第一選択薬はフルオロキノロン系抗菌薬であるが，耐性菌も増えているので，分離菌の薬剤感受性を調べることも重要である[9]。

D．腸管侵入性大腸菌（EIEC）

細胞侵入能を有する大腸菌と定義される。細胞侵入能は，*invE* や *ipaH* 遺伝子を PCR 法で確認する。

【分布・疫学】

EIEC は，西南アジアや，東南アジア等で分離されることが多く，わが国での分離例の多くは海外旅行者下痢症である。これらの地域に渡航歴のある旅行者下痢症では，赤痢菌とともに EIEC の検査を念頭におく必要がある。EIEC に汚染された飲用水，氷，生の野菜サラダ等が感染源となり，ときにヒトからヒトへの感染もみられる。

【臨床的意義】

下痢や腹痛に加え，発熱が認められる。重症例では赤痢様の血便や粘血便，しぶり腹などを呈し，臨床的に細菌性赤痢と区別することは困難である。潜伏期間は 12〜48 時間である。

【分離と同定】

TSI 寒天，LIM 培地で EIEC の多くは，乳糖・白糖非分解，ブドウ糖からのガス（−），リジン（−），運動性（−）であり，赤痢菌の性状と酷似する（**表 1-2-3-2**，**図 1-2-3-5**）。主な血清群は，O28ac，O112ac，O124，O136，O144，O29，O143，O152，O164 であり，これらの診断用抗血清は，「混合 7」と「混合 8」にまとめられている（**表 1-2-3-4**）。EIEC の典型的生化学的性状を示す大腸菌で，該当する血清群に明瞭に凝集した場合にはほぼ EIEC と同定できる。ただし，EIEC は赤痢菌と共通の抗原を持つ菌も多く，また，生化学的性状も赤痢菌と酷似するので，赤痢菌との鑑別が重要である。赤痢菌との主な鑑別性状を**表 1-2-3-5** に示した。

【治療・薬剤感受性】

治療の基本は補液による脱水の補正などの対症療法であるが，症状が 7 日間以上持続，あるいは血便，発熱，脱水症状などを呈する重症例では，抗菌薬投与も検討する。治療の第一選択薬はフルオロキノロン系抗菌薬であるが，近年は，フルオロキノロン耐性菌も報告されているので，AZM などが選択される[9]。

【ピットホール】

赤痢菌と酷似するので，その鑑別が重要であ

表 1-2-3-5　抗原関係のある腸管侵入性大腸菌（EIEC）と赤痢菌の鑑別性状

	インドール	マンニット	その他の鑑別性状
EIEC O112ac	＋	＋	
S. dysenteriae 2	＋	−	
S. boydii 1	−	＋	
EIEC O124	＋	＋	
S. dysenteriae 3	−	−	
EIEC O143	＋	＋	
S. boydii 8	−	＋	
EIEC O152	＋	＋	
S. dysenteriae 12	−	−	
EIEC O124	＋	＋	グルコースからのガス産生：d，酢酸塩：＋
S. boydii 17	＋	＋	グルコースからのガス産生：−，酢酸塩：−
EIEC O164	＋	＋	
S. dysenteriae 3	−	−	
EIEC O29	＋	＋	
S. dysenteriae 11	−	−	
EIEC O121	＋	＋	グルコースからのガス産生：＋
S. dysenteriae 7	＋	−	グルコースからのガス産生：−

注）{ でくくったものは，それぞれ共通抗原等を有するので，鑑別性状を確認する必要がある。

る。赤痢菌は，感染症法で三類感染症起因菌であるが，EIEC は該当しない。

E．腸管病原性大腸菌（EPEC），腸管凝集付着性大腸菌（EAggEC）等

EPEC は，培養細胞への局在性付着，または *eae*，*bfpA*，EAF などの付着に関連する遺伝子を保有，EAggEC は培養細胞への凝集性付着，または *aggR*，CVD432 などの付着に関係する遺伝子を保有する大腸菌等で，VT，LT，ST，細胞侵入性が陰性の菌と定義される（**表 1-2-3-1**）。

【臨床的意義】

下痢，腹痛を惹起する。しかし，その病原性については必ずしも明確にされていない。孤発下痢症の起因菌として同定することは非常に困難である。

【分離と同定】

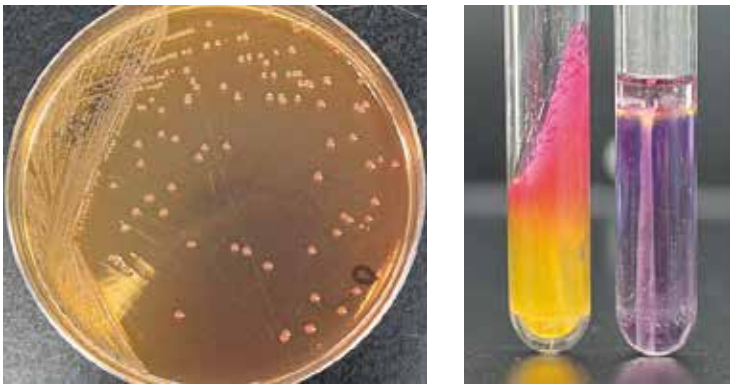
EPEC 等の生化学的性状は，一般の大腸菌の性状と同様である（**表 1-2-3-2**）。主な血清群は，O55，O86a，O125 などであるが，病原性に関係する遺伝子等を PCR 法で検出する必要がある。

【治療・薬剤感受性】

経過観察あるいは補液などの対症療法のみで自然軽快することがほとんどである。

【ピットホール】

大腸菌診断用血清に含まれる血清群 O1，O18 に凝集する大腸菌が分離されることが非常に多い。これらの血清群は，健康な人の常在菌として広く分布する血清群であるが，病原因子を調べることなく EPEC として報告されることも多く，不要な抗菌薬投与が行われることがある。これらの血清群が検出された場合には，VT 産生性が陰性であれば常在菌と考える。血清群 O1，O18 で VT



DHL 寒天培地　　TSI 寒天　LIM 培地

図 1-2-3-7　*Escherichia albertii* の DHL 寒天平板上の集落と TSI 寒天，LIM 培地での性状

左：DHL 寒天平板上で赤痢菌様の集落となる
右：代表的な *E. albertii* の TSI 寒天と LIM 培地

産生菌も報告されてはいるが，その頻度は非常に稀である。

F．*Escherichia albertii*

Escherichia albertii は，2003 年に正式に発表された新しい菌種である。1991 年にバングラデシュの小児下痢症患者便から初めて分離され，*Hafnia alvei* と同定されていたが，2003 年に新しい菌種として報告された。本菌は，大腸菌に類似した性状を持ち，EPEC と同様に *eae* 遺伝子を保有する。また，*Shigella boydii* 血清型 13 と同定されていた菌株の中にも *Escherichia albertii* に同定される株のあることが報告されている。このように，本菌は *Hafnia alvei*，大腸菌や赤痢菌などとの鑑別性状が少なく，同定するのが非常に困難な菌種である[11]。

【分布・疫学】

いまだ不明な点が多いが，鳥類等からの分離例が報告されている。ヒト散発事例からの報告は少ないが，わが国では，2018 年現在少なくとも 9 事例の集団下痢症事例が報告がされ，注目されるようになった[12]。

【臨床的意義】

臨床症状は，下痢（水様性，稀に血便），腹痛，発熱，嘔気，倦怠感等であるが，病原性大腸菌（EPEC）感染症に比べて，症状はやや重いと考えられている。

【形態】

グラム陰性，無芽胞の通性嫌気性桿菌であり，大腸菌等と区別できないが，多くの菌は運動性陰性である。

【培養】

検査法はいまだ確立されていない。本菌の多くは，DHL 寒天やマッコンキー寒天上で乳糖非分解の赤痢菌様集落となる。

【生化学的性状】

オキシダーゼ陰性，ブドウ糖を発酵する。多くは，乳糖・白糖非分解，ブドウ糖からのガス（−），リジン（＋），37℃での運動性（−）である（**表 1-2-3-2**，**図 1-2-3-7**）。菌を同定するためのキー性状が乏しいため，同定するのは非常に難しい。国立感染症研究所では，①*eae* 陽性・非運動性・乳糖非分解・硫化水素非産生の菌株，②VT2f 産生の菌株，③*Shigella boydii* 血清型 13 と同定された菌株，④*Hafnia alvei* と同定された菌株について，Hyma らのマルチプレックス PCR 法により 3 種類の特異的遺伝子（*lysP*，*mdh*，*cdtB*）を検出するのが代表的な方法であるとしている[13]。

【治療・薬剤感受性】

治療は対処療法が中心であるが，下痢の激しいときには輸液が必要である。菌の薬剤感受性については，まだ分離例が少なく，十分なデータがない。

【その他】

本菌の行政的位置付けはいまだ十分に確定されていないが，国立感染症研究所が行っている病原体検出情報システムにも *Escherichia albertii* が 2016 年に追加された。今後，さらに症例を増やした研究が必要である。

文　献

1）国立感染症研究所．2012．下痢原性大腸菌 2011 年現在．病原微生物検出情報（IASR）33：1-7．https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr-vol33/643-iasr-383.html
2）井口純．2017．大腸菌の O 血清群と O 抗原と O 抗原合成遺伝子．日食微誌 43：189-201．
3）国立感染症研究所．2020．腸管出血性大腸菌感染症 2020 年 3 月現在．病原微生物検出情報（IASR）41：65-68．https://www.niid.go.jp/niid/images/idsc/iasr/41/483.pdf
4）厚生労働省．食中毒統計資料．https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/syokuchu/04.html
5）甲斐明美．2018．腸管出血性大腸菌による食中毒・感染症―発見から 35 年，現状と課題―．感染制御と予防衛生 2（1）：1-19．
6）甲斐明美，山田澄夫，伊藤武，他．1997．EHEC-O 抗原に対する抗体価測定による EHEC 感染症の血清学的診断法とその有用性．日本臨牀 55：680-685．
7）国立感染症研究所．2019．腸管出血性大腸菌（EHEC）検査・診断マニュアル．2019 年 9 月改訂．https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/EHEC20190920.pdf
8）Beutin L, Zimmermann S, Gleier K. 1996. Rapid Detection and Isolation of Shiga-Like Toxin（Verocytotoxin）-Producing *Escherichia coli* by Direct Testing of Individual Enterohemolytic Colonies from Washed Sheep Blood agar Plates in the VTEC-RPLA Assay. JCM 34：2812-2814.
9）日本感染症学会．JAID/JSC 感染症治療ガイド・ガイドライン作成委員会．2019．JAID/JSC 感染症治療ガイド 2019．p.275-277．
10）Konishi N, Obata H, Monma C, et al. 2011. Bacteriological and Epidemiological Characteristics of Enterotoxigenic *Escherichia coli* Isolated in Tokyo, Japan, between 1966 and 2009. JCM 49：3348-3351.
11）村上光一，江藤良樹，小迫芳正，他．2012．*Escherichia* 属の新種 *E. albertii* について．病原微生物検出情報（IASR）33：134-136．https://www.niid.go.jp/niid/ja/ecoli-m/ecoli-iasrd/2030-kj3872.html
12）大岡唯祐．2017．新興下痢症原因菌 *Escherichia albertii*．日食微誌 34：151-157．
13）村上光一，大石和徳，伊豫田淳，他．2016．Vero 毒素産生株が散見される新興感染症原因菌 *Escherichia albertii* について．IASR（国立感染症研究所）37：98-100．https://www.niid.go.jp/niid/ja/allarticles/surveillance/2344-iasr/related-articles/related-articles-435/6481-435r09.html

4）エルシニア（*Yersinia*）

A. *Yersinia enterocolitica*

【分布，疫学】

Yersinia enterocolitica は，世界中で広くヒトから分離されており，動物や食品および水などの環境材料からも検出されている。代表的な保菌動物はブタであり，ヒトへの感染源として最も重要視されている。また，伴侶動物であるイヌやネコも保菌することがあり，野生動物ではノネズミが保菌している。わが国では 1972 年に初めて感染例が報告され[1]，1982 年に食中毒菌に指定されている。現在までに本菌による集団感染事例が 21 件報告されている。わが国における集団感染事例のほとんどが血清型 O3 であったが，2004 年から血清型 O8 が報告されるようになった[2,3]。

【臨床的意義（感染対策，法規を含む）】

主たる感染は，豚肉あるいは豚肉から２次的に汚染された食品の摂取による感染であるが，感染したノネズミの便に汚染された水の摂取でも感染する。まれなケースとして輸血を介した感染例も報告されている[4]。一般的な臨床症状として発熱，下痢，腹痛を主とした胃腸炎症状を呈する。乳幼児は *Y. enterocolitica* に対する感受性が高く，年齢が高くなるにつれて感受性が低下するものの，急性回腸炎や腸間膜リンパ節炎を引き起こす。中には敗血症や肝膿瘍，髄膜炎，心筋炎，咽頭炎などの腸管外感染症を引き起こす場合があり，免疫が関与した続発症として関節炎（組織適合抗原がB27型のヒトに多い）や結節性紅斑が見られる場合もある。潜伏期は 2〜5 日である[2]。

食品衛生法では，食品，添加物，器具もしくは容器包装に起因する本菌による食中毒の患者もしくはその疑いのある者を診断，またはその死体を検案した医師は，食品衛生法第 58 条に基づきただちに最寄りの保健所にその旨を届け出なければならない。また，本菌によるものも含む感染性胃腸炎は小児科定点医療機関を対象とした 5 類感染症に指定されている。

Y. enterocolitica は 4℃でも増殖可能なことから，長期冷蔵保存食材などは本菌の汚染も十分に考慮して取り扱う必要がある。

【分類】

2016 年に *Yersinia* 属は腸内細菌科（*Enterobacteriaceae*）からエルシニア科（*Yersiniaceae*）に再分類された。これら 2 科はいずれも腸内細菌目（*Enterobacterales*）に属する。*Yersinia* 属には，本菌のほか，病原種である *Yersinia pestis* と *Yersinia pseudotuberculosis* および非病原種 24 菌種が分類されている（**表 1-2-4-1**）[5]。血清型は現在 50 種以上の O 血清群に分けられている。ヒトに病原性を示すのは，O3，O4,32，O5,27，O8，O9,

表 1-2-4-1　*Yersinia* 属の菌種および亜種

菌種	亜種
Yersinia aldovae	
Yersinia aleksiciae	
Yersinia alsatica	
Yersinia artesiana	
Yersinia bercovieri	
Yersinia canariae	
Yersinia enterocolitica	*Y. enterocolitica* subsp. *enterocolitica* *Y. enterocolitica* subsp. *palearctica*
Yersinia entomophaga	
Yersinia frederiksenii	
Yersinia hibernica	
Yersinia intermedia	
Yersinia kristensenii	
Yersinia massiliensis	
Yersinia mollaretii	
Yersinia nurmii	
Yersinia occitanica	
Yersinia pekkanenii	
Yersinia pestis	
Yersinia proxima	
Yersinia pseudotuberculosis	
Yersinia rochesterensis	
Yersinia rohdei	
Yersinia ruckeri	
Yersinia similis	
Yersinia thracica	
Yersinia vastinensis	
Yersinia wautersii	

<文献 5）より引用>

O13a，13b，O18，O20 および O21 である。O3，O5,27 および O9 は European strains と呼ばれ弱毒であるのに対し，O4,32，O8，O13a，13b，O18，O20 および O21 は American strains と呼ばれ強毒である。O8 について北米に限局していたが，近年わが国でも分離されてきている[6]。さらに，生化学的性状を組み合わせて，1A，1B，2，3，4，5 の 6 種類の生物型に分けられている。生物型 1B は強毒株であり *Y. enterocolitica* subsp. *enterocolitica* として，生物型 1A は非病原種であり弱毒株である生物型 2〜5 と合わせて *Y. enterocolitica* subsp. *palearctica* として分類されている[7]。

【形態】

小さなグラム陰性桿菌（**図 1-2-4-1**）で，大きさは 1〜2 μm×0.5〜0.8 μm，芽胞および莢膜を欠く。30℃以下の培養では 2〜15 本の周毛性鞭毛で運動するが，30℃以上の培養菌は鞭毛を形成しない。鞭毛そのものを持たない株も存在する。外膜には，lipopolysaccharide（LPS）が存在する[7]。

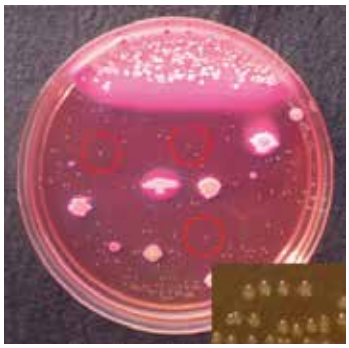
【培養】

好気的条件下で培養する。血液寒天培地やチョコレート寒天培地，MacConkey 寒天培地や SS 寒天培地などの腸内細菌分離用の培地に発育する。選択分離培地として，cefsulodin-Irgasan-novobiocin agar（CIN 寒天培地），virulent Yersinia enterocolitica agar（VYE 寒天培地），CHROMagar Yersinia（CAY 寒天培地）などがある。*Y. enterocolitica* の発育温度域は 0〜44℃で，発育至適温度は 28〜29℃である。世代時間は約 40 分で，発育速度は 25℃でも 37℃でもほとんど差はなく，集落形成には通常より時間がかかる菌種である。糞便培養時，他の病原菌の検出も目的とする場合は 37℃培養で培養可能であるが，37℃培養では病原性株がもつ病原性プラスミドが脱落しやすくなるために一部の遺伝子の発現が妨げられていくつかの性状に影響が及ぶ場合がある。したがって，*Y. enterocolitica* だけを検出目的とする場合や選択分離培地での培養は 25〜30℃で培養することが望ましい。食品や環境検体から本菌を検出する場合は，0.75％KOH 加生理食塩水で検体をアルカリ処理した後に培地へ塗布する方法や，検体に PBS を加えて 4〜9℃で 3〜4 週間増菌後に選択分離培地に塗布して培養する方法がある[7]。



図 1-2-4-1　*Y. enterocolitica* のグラム染色像
血液寒天培地にて 48 時間培養後の *Y. enterocolitica* のグラム染色像である。

37℃24 時間培養では，*Y. enterocolitica* は 1 mm 以下の微小集落しか形成しないため 48 時間培養後に分離培地を観察する。SS 寒天上の集落は，乳糖非分解性であるため半透明で 1〜2 mm の小集落である（**図 1-2-4-2 (1)，(3)**）。25〜30℃48 時間培養における CIN 寒天培地では *Y. enterocolitica* がマンニトール分解性のため中心部が深紅色，辺縁が半透明のやや隆起した小さめの集落を形成する（**図 1-2-4-2 (2)**）。*Y. pseudotuberculosis* と非病原性の *Yersinia* も同様の集落を形成するので注意する。VYE 寒天培地にはエスクリンと 5％クエン酸鉄アンモニウムが添加されているため，病原株はエスクリン非分解性の赤紫色の集落を形成するのに対して，非病原性菌株はエスクリン分解性の暗褐色を帯びた比較的大きい集落を形成する。CAY 寒天培地では *Y. pseudotuberculosis* は発育しないが，*Y. enterocolitica* の中の病原種は藤色の集落を形成し，非病原株の集落は Metallic blue の色調を呈するため病原株の鑑別が可能となる[8,9]。CHROMagar Orientation 培地による培養では，培養温度の差により集落の色調に違いが見られるため注意が必要であり（**図 1-2-4-2 (4)，(5)**），25〜28℃の培養では非病原種と病原種の集落性状


（1）自験例の SS 寒天培地上の集落（37℃48 時間培養後）


（2）CIN 寒天培地（25℃48 時間培養後）


（3）SS 寒天培地（37℃48 時間培養後）


（4）CHROMagar Orientation 培地（25℃48 時間培養後）

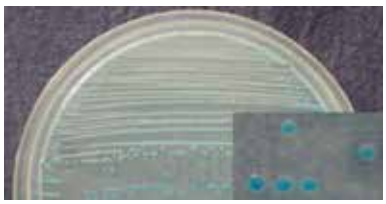

（5）CHROMagar Orientation 培地（37℃48 時間培養後）

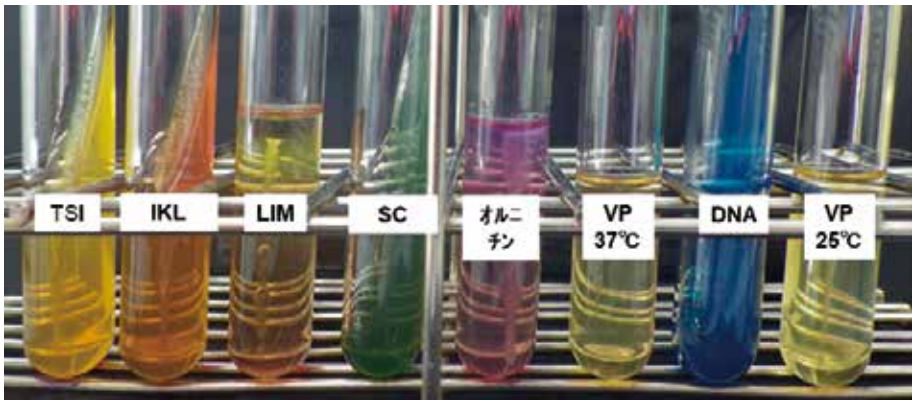
図 1-2-4-2　各種培地上の *Y. enterocolitica* の集落

（色調）に差が見られることが報告されている[10]。

【生化学的性状】

Y. enterocolitica の各種鑑別培地での性状を示す（**図 1-2-4-3（1〜4）**）。SS 培地をはじめとする初代分離培地での集落をしっかりと見極めたうえで，各種分離培地上での疑わしい集落についてオキシダーゼ試験陰性，カタラーゼ試験陽性，グラム陰性小桿菌であることを確認した後に，各種の試験管鑑別培地や簡易キットおよび自動分析機器にて同定する。**図 1-2-4-3（1）**は近年分離率が増加している VP 反応陰性株の例である。各種の試験管培地での性状は極めて重要で，*Y. enterocolitica* は発育速度が遅く，乳糖非分解，白糖分解（白糖非分解株も存在するので注意），硫化水素陰性，リジン陰性，ウレアーゼ陽性である点に注目する。とりわけ IKL（クリグラー）寒天培地や TSI 寒天培地の性状は特徴的である（**図 1-2-4-3（1）**）。さらに培養温度の差により反応の違いが生じることを同定に利用する。たとえば，VP 反応陽性株であれば，37℃の培養では VP 反応陰性（**図 1-2-4-3（3）**），運動性陰性，25℃の培養では VP 陽性（**図 1-2-4-3（3）**），運動性陽性となる。一方，VP 反応陰性株では 25℃の培養でも VP 陰性となる（**図 1-2-4-3（1）**）。*Y. enterocolitica* の病原種は約 70 kb の病原性プラスミドを有しており，病原性プラスミドを保有する株を TSB などのブロスで 37℃培養（増菌）させると外膜タンパクを産生するため自己凝集を起こすが，25℃培養では起こらない（**図 1-2-4-3（4）**）。自己凝集を起こす株はエスクリン非分解，ピラジナミダーゼ陰性である。その他，*Y. enterocolitica* の病原株と非病原株を分ける方法として，Binding of crystal violet や Calcium dependent growth および Congo red absorption の報告があるが，偽陰性が生じることも報告されている[11]。

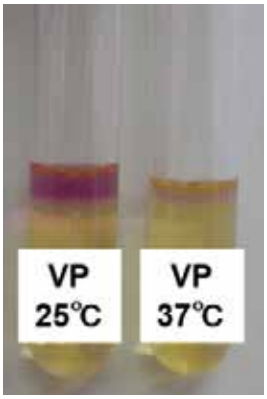
Y. enterocolitica とその近縁種の生化学的性状を**表 1-2-4-2** に示す。*Y. intermedia* はラムノースとメリビオースが分解。*Y. fredekiksenii* はラムノース陽性。*Y. kristensenii* は白糖非分解。*Y. aleksiciae* は白糖非分解，ソルボース非分解。*Y. aldovae* はラムノース陽性，白糖非分解。*Y. rohdei* はクエン酸陽性などの点で区別できる。*Y. mollaretii* と *Y. bercovieri* は *Y. enterocolitica* の生物型 3VP 反応陰性株



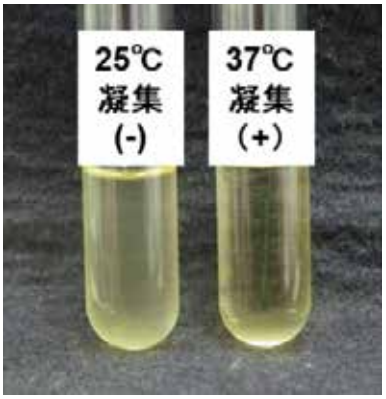
（1）血清型 O3 白糖陽性 VP 陰性株による 37℃24 時間培養後の性状（右端の VP 培地は 25℃培養）



（2）37℃24 時間培養後のウレアーゼの性状



（3）血清型 O3, VP 陽性株の 24 時間培養後の性状



（4）血清型 O3 株による凝集試験

図 1-2-4-3　*Y. enterocolitica* の各種鑑別培地における性状

と類似するが，両者ともピラジナミダーゼ（PYZ, Pyrazinamidase）が陽性である。*Y. enterocolitica* の病原株と *Y. pseudotuberculosis* はピラジナミダーゼ陰性であるが，*Y. enterocolitica* の非病原株および近縁種はピラジナミダーゼ陽性であることは重要な鑑別点である[12]。

Y. enterocolitica の生物型は，1A，1B，2，3，4 および 5 型に分けられ，3 型はさらに VP 反応と白糖の分解性により VP^{+}白糖$^{+}$型，VP^{-}白糖$^{+}$型，VP^{-}白糖$^{-}$型に分けられる。1A 型は病原性プラスミドが欠落している型で非病原種，エスクリン分解，ピラジナミダーゼ陽性である。それぞれの生物型に対応する血清型が存在する。生物型 1B は O8，生物型 2 は O5,27 および O9，生物型 3〜4 は O3，生物型 5 は O1, 2, 3 に関連がある（**表 1-2-4-3**）。血清型 O9 は，*Brucella melitensis* および *Vibrio cholera* O1 に強い交差反応が見られる。また，他の血清型においても近縁種や他菌種に交差反応が見られる場合がある[7]。

病原因子には，染色体遺伝子に支配された病原因子とプラスミド遺伝子に支配された病原因子があり，それぞれの遺伝子産物と機能および発現温度を**表 1-2-4-4** に示す。染色体遺伝子には，*HPI* 遺伝子，*invA* 遺伝子，*ail* 遺伝子，*yst* 遺伝子がある。*HPI* 遺伝子は強毒株のみが有する遺伝子で，*Y. enterocolitica* では血清型 O8 が有している。一方，プラスミド遺伝子には，*yadA* 遺伝子，*yopS* 遺伝子，*ysc* 遺伝子，*VirF* 遺伝子がある。その他の病原因子として LPS（lipopolysaccharide）が考えられている[12,13]。

【迅速検査（遺伝子検査，抗原検査等）】

病原因子をコードする染色体性の接着と侵入に関与する *ail* 遺伝子，プラスミド性の *virF* 遺伝子，

表 1-2-4-2　主な *Yersinia* 属の生化学的性状

Yersinia species	Reaction or characteristic*									
	Motility	Ornithine	Urease	VP	Citrate	Indole	Rhamnose	Sucrose	Cellobiose	Sorbose
Y. enterocolitica	+	+	+	V	−	V	−	+	+	+
Y. pseudotuberculosis	+	−	+	−	−	−	(+)	−	−	−
Y. pestis	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Y. frederiksenii	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Y. kristensenii	+	+	+	−	−	+	−	−	+	+
Y. ruckeri	V	+	−	−	−	−	−	−	−	−
Y. mollaretii	+	+	+	−	+	−	−	+	+	+
Y. bercovieri	+	+	+	−	−	−	−	+	+	−
Y. rohdei	+	+	+	−	+	−	−	+	+	−
Y. aldovae	+	+	+	+	+	−	+	−	−	−
Y. intermedia	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Y. aleksiciae	+	+	+	−	−	−	−	−	+	−
Y. pekkanenii	−	−	+	−	−	−	−	−	+	−
Y. similis	+	−	+	−	+	−	+	−	−	−
Y. entomophaga	+	+	+	ND	+	+	−	+	ND	ND
Y. massiliensis	+	+	+	−	+	+	−	(+)	+	+
Y. nurmii	+	+	−	+	+	−	−	+	(+)	−

Yersinia species	Reaction or characteristic*							
	Sorbitol	Melibiose	Raffinose	Esculin	Arabinose	Inositol	D-Xylose	Pyrazinamidase
Y. enterocolitica	+	−	−	−	+	+	V	−
Y. pseudotuberculosis	−	+	−	+	−	−	+	−
Y. pestis	−	−	−	+	+	−	+	ND
Y. frederiksenii	+	−	−	+	+	+	+	+
Y. kristensenii	+	−	−	−	+	(+)	+	+
Y. ruckeri	−	−	−	−	−	−	−	ND
Y. mollaretii	+	−	−	(+)	+	(+)	+	+
Y. bercovieri	+	−	−	−	+	−	+	+
Y. rohdei	+	+	+	−	+	−	+	+
Y. aldovae	+	−	−	−	+	+	+	+
Y. intermedia	+	+	+	+	+	+	+	+
Y. aleksiciae	+	−	−	−	+	(+)	+	+
Y. pekkanenii	−	−	−	−	+	−	+	ND
Y. similis	−	−	−	+	+	−	+	ND
Y. entomophaga	+	−	ND	+	+	−	+	ND
Y. massiliensis	+	−	−	+	+	+	+	ND
Y. nurmii	−	−	−	−	−	−	−	ND

*Incubation was at 25～28℃, VP : Voges-Proskauer, V : variable, ND : not done, −: negative, ＋: positive, (+) : weakly positive

<文献 7, 12）より一部改変>

表 1-2-4-3　*Y. enterocolitica* の生物型の鑑別性状（25℃48 時間培養）と血清群

Test	Reaction for biotype							
	1A	1B	2	3			4	5
				VP$^+$Sucrose$^+$	VP$^-$Sucrose$^+$	VP$^-$Sucrose$^-$		
Motility	+	+	+	+	+	+	+	+
Urease	+	+	+	+	+	+	+	+
Lipase	+	+	−	−	−	−	−	−
Esculin	+	−	−	−	−	−	−	−
Indole	+	+	(+)	−	−	−	−	−
Voges-Proskauer	+	+	+	+	−	−	+	(+)
Dnase	−	−	−	−	−	−	+	+
Sucrose	+	+	+	+	+	−	+	d
Xylose	+	+	+	(+)	(+)	(+)	−	d
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	−
NO3→NO2	+	+	+	+	+	+	+	−
Pyrazinamidase	+	−	−	−	−	−	−	−
Serotypes		O8*	O5,27, O9	O3	O3	O3	O3	O1, 2, 3

+：≧90% of strains are positive, d：11～89% of strains are positive, −：≧90% of strains are negative, (+)：weakly positive reaction
* Other serotypes：O4,32, O13, O18, O20, O21
<文献 7, 12）より一部改変>

表 1-2-4-4　*Y. enterocolitica* の主な病原因子と支配遺伝子

遺伝子	遺伝子の位置	遺伝子産物	機能	発現温度
HPI (High-pathogenicity island)	Chromosome	Yersiniabactin (siderophore)	Iron uptake	37℃
invA (Invasin A)	Chromosome	Invasin	Adhesin	26℃：(pH8) 37℃：(低 pH)
ail (Attachment-invasion locus)	Chromosome	Attachment-invasion-locus protein (Ail)	Adhesin	37℃
yst (Yersinia stable toxin)	Chromosome	Heat-stable enterotoxin	Enterotoxin	26℃
VirF (virulence F)	Plasmid, 70 kb	VirF protein	Transcriptionl activator for expression of Yops	37℃
yadA (Yersinia adherence A)	Plasmid, 70 kb	Membrane protein with lollipop-shaped surface projection	Adhesion to cells and extracellular matrix proteins	37℃
yops (Yersinia outer membrance proteins)	Plasmid, 70 kb	Yops, secreted and translocated by type III secretion apparatus	Antiphagocytic	37℃
ysc (Yop secretion)	Plasmid, 70 kb	Proteins of type III secretion apparatus	Effectors of Yop secretion	37℃

<文献 7, 12, 13）より>

yadA 遺伝子や 16SrRNA の一部を標的とした PCR 法[7,15]と，モノクロナール抗体を使用した免疫測定法が報告されている[16]。

【治療，抗菌薬感受性】

Y. enterocolitica は，通常，アミノグリコシド，CP，TC，第三世代セファロスポリン，PIPC，CPFX に感受性を示すが，β-ラクタマーゼの産生により，しばしばペニシリンや ABPC，第一世代セファロスポリンに感受性の低い株がある。通常自然に治癒することが多いので，重症例や合併症などがある場合などを除いて，抗菌薬を用いた治療の意義は明確ではない[4]。小児に対する治療についても症状が強い場合や合併症などがある場合に抗菌薬投与を考慮する。

小児に対しては，第一選択に CDTR-PI 経口 1 回 3 mg/kg/・1 日 3 回（9 mg/kg/日，最大 300 mg/日）・3〜5 日間が推奨されており，第二選択として NFLX 経口 1 回 2〜4 mg/kg・1 日 3 回（6〜12 mg/kg/日，最大 600 mg/日）・3〜5 日間（乳児には投与しない）や，重症例または内服困難例での CTRX 静注または点滴 1 回 10〜60 mg/kg・1 日 1〜2 回（20〜60 mg/kg/日，最大 2000 mg/日），症状に応じて 1 回 60 mg/kg・1 日 2 回（120 mg/kg/日，最大 4000 mg/日）まで増量可・3〜5 日間が推奨されている[14]。

B. *Yersinia pseudotuberculosis*

【分布・疫学】

Yersinia pseudotuberculosis は，自然界において幼若ネズミでの流行を始点として，それらを捕食する動物の糞便により植物や土壌，水などが汚染され，さらに草食動物や鳥類，魚類へと循環するものと考えられている。ノネズミや野鳥だけでなく，イヌやネコなどのペット動物，家禽，ブタやウシなどの家畜，糞便に汚染された河川水，井戸水からも検出されている[2]。わが国を含む極東アジア地域と欧米などに分布する菌群に分けられ，その疫学および生態は両地域で異なる[2,17]。

【臨床的意義（感染対策，法規を含む）】

主たる感染は，保菌動物の糞便により汚染された土壌や未殺菌水，食肉，汚染野菜などを介してである。臨床症状は病原型により異なる。ヨーロッパ胃腸炎型では，胃腸炎，腸間膜リンパ節炎を起こす。一方，わが国を含む極東地域に分布する極東全身感染型では，腹痛および下痢を主徴とし，発熱を含む多彩な全身症状を伴う発疹性熱性疾患を起こすことがある。感染は主に幼児にみられ症状が重篤で，感染病像は急性腸間膜リンパ節炎と終末回腸炎である。高熱，軽度の下痢（乳幼児ほど水様性），嘔吐および右下腹部痛，発疹，紅斑，咽頭炎，口唇の紅潮，苺舌，四肢指端の落屑，結膜充血，頸部リンパ節の腫大，肝機能低下，肝・脾臓の腫大，心冠動脈の拡張性変化，腎不全など川崎病と酷似した症状を示す[17,18]。また，泉熱との関連も報告されている[19]。潜伏期は感染菌量によるが 2〜20 日である[17]。

【分類】

2016 年に *Yersinia* 属は腸内細菌科（*Enterobacteriaceae*）からエルシニア科（*Yersiniaceae*）に再分類された。これら 2 科はいずれも腸内細菌目（*Enterobacterales*）に属する。*Yersinia* 属には，本菌のほか，病原種である *Y. pestis* と *Y. enterocolitica* および非病原種 24 菌種が分類されている。遺伝子解析により *Y. pestis* と 80％以上の相同性を有する。*Y. pestis* は *Y. pseudotuberculosis* から分岐したものであり *Y. pseudotuberculosis* の亜種であるが，医学上の重要性から別種として扱われている。*Y. pestis* と *Y. pseudotuberculosis* をまとめて *Yersinia pseudotuberculosis* complex と標記することがある。33 の O 抗原，5 つの H 抗原により 1〜15 の血清群に型別され，さらに血清群 1，2，4 および 5 はいくつかの亜群に分けられているので全部で 21 血清群に分けられている。ヒトには，1a，1b，2a，2b，2c，3，4a，5a，5b，6，10，15 群が病原性を示す。なお，2 群は *Salmonella* O4 群と，また 4 群は *Salmonella* O9 群および O14 群と共通抗原を持っている[17]。血清群と地域分布が関連して

表 1-2-4-5　検出された *Yersinia pseudotuberculosis* の由来と分布

O Groups	O Sub-groups	Clinically Isolated	Location Isolated
1	1a	Yes[a)]	Europe
	1b	Yes[a)]	Europe and Far East
	1c	No	Far East
2	2a	Yes	Europe and Far East
	2b2c	Yes	Europe and Far East
		No	Far East
3		Yes	Europe and Far East
4	4a	Yes	Far East
	4b	Yes[b)]	Far East
5	5a	Yes[b)]	Europe and Far East
	5b	Yes	Far East
6		Yes	Europe
7		No	Far East
8		No	Far East
9		No	Far East
10		No	Far East
11		No	Far East
12		No	Far East
13		No	Far East
14		No	Far East
15		Yes	Far East

a) : Most common clinically isolated *Y. pseudotuberculosis* genotype in Europe
b) : Most common clinically isolated *Y. pseudotuberculosis* genotype in Russia and Japan
<文献 20）より>

おり，感染症自体は全世界で発生しているものの，ヨーロッパで分布するもの（血清型 1a と 3 が多く分離される）と極東アジア地域に分布するものがある（**表 1-2-4-5**）。わが国では，血清型 1b と 4b が多く分離される[2)]。

【形態】

小さなグラム陰性桿菌（**図 1-2-4-4**）で，やや両極染色性を示す傾向がある。芽胞および莢膜を欠く。30℃以下の培養では 10 本以下の周毛性鞭毛で運動するが，30℃以上の培養菌は鞭毛を形成しない。病原性菌株では 37℃培養で線毛が形成

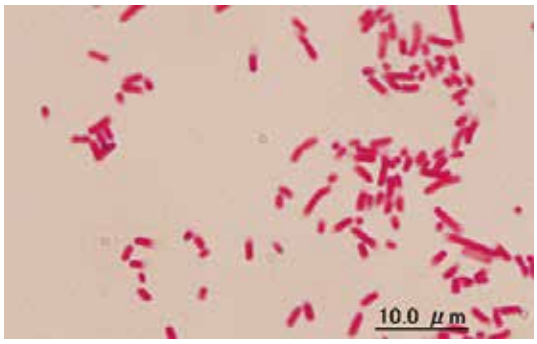


図 1-2-4-4　*Y. pseudotuberculosis* のグラム染色像
血液寒天培地にて 37℃ 48 時間培養後のグラム染色像である。

され，液体培地中で自己凝集する[17)]。

【培養】

臨床材料は，血液，糞便，摘出した虫垂やリンパ節などの組織である。好気的条件下で培養する。血液寒天培地やチョコレート寒天培地，MacConkey 寒天培地や BTB 寒天培地など DHL 寒天培地を除く腸内細菌分離用の培地に発育する（**図 1-2-4-5（1〜6）**）。選択分離培地として，CIN 寒天培地や VYE 寒天培地などがある。*Y. pseudotuberuculosis* の発育至適温度は 28〜29℃で，4℃以下の低温でも増殖する。37℃培養では病原性株がもつ病原性プラスミドが脱落しやすくなるため，一部の遺伝子の発現が妨げられることによりいくつかの性状に影響が及ぶ場合がある。食品や環境検体から本菌を検出する場合は，0.75％KOH 加生理食塩水で検体をアルカリ処理した後に培地へ塗布する方法や，検体にペプトンおよびマンニトールをそれぞれ 0.25％に添加した PBS を加えて 4℃で 3 週間増菌後，アルカリ処理したうえで選択分離培地に塗布して培養する方法がある[17)]。

37℃24 時間培養では，1 mm 以下の微小集落しか形成しないため 48 時間培養後に分離培地を観察する。SS 寒天培地上に *Y. pseudotuberculosis* は集落を形成しない場合がある。25〜30℃48 時間培養における CIN 寒天培地では *Y. pseudotuberculosis* がマンニトール分解性のため中心部が深紅色，辺縁が半透明の集落を形成する（**図 1-2-4-5（3），（4）**）。*Y. enterocolitica* と非病原性の *Yersinia*


（1）チョコレート寒天培地による 37℃C24 時間培養後の集落像


（2）5%羊血液寒天培地による 37℃C24 時間培養後の集落像


（3）CIN 寒天培地による 25℃C24 時間培養後の集落像


（4）CIN 寒天培地による 25℃C48 時間培養後の集落像


（5）ドリガルスキー改良（BTB）寒天培地による 37℃C48 時間培養後の集落像

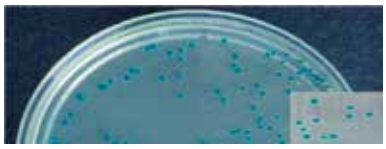
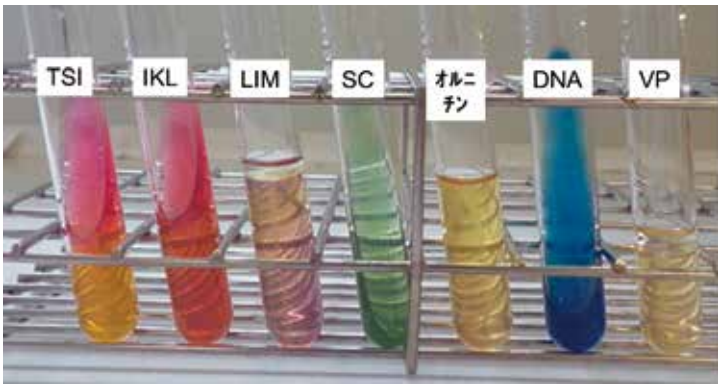

（6）CHROMagar Orientation 培地による 37℃C48 時間培養後の集落像

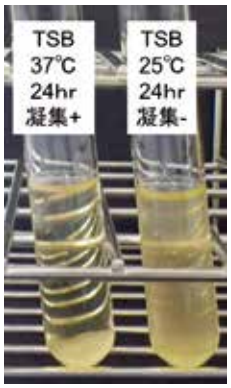
図 1-2-4-5　各種培地上の *Y. pseudotuberculosis* の集落



（1）37℃C24 時間培養後の性状



（2）37℃C24 時間培養後のウレアーゼの性状



（3）凝集試験

図 1-2-4-6　*Y. pseudotuberculosis* の各種鑑別培地における性状

も同様の集落を形成するので注意する。VYE 寒天培地にはエスクリンと 5%クエン酸鉄アンモニウムが添加されているためエスクリン分解性による周辺部が褐色を呈した暗赤色の直径約 1 mm の集落を形成する[17]。CAY 寒天培地による培養では，*Y. pseudotuberculosis* は発育しない[8,9]。CHROMagar Orientation 培地による培養では，培養温度による集落の色調に違いはなく，辺縁は透明感があり，中心部は薄い青みを帯びた集落を形成する（**図 1-2-4-5（6）**）。

【生化学的性状】

初代分離培地での集落をしっかりと見極めたうえで，各種分離培地上で疑わしい集落についてオキシダーゼ試験陰性，カタラーゼ試験陽性，グラム陰性小桿菌であることを確認した後に各種の試験管鑑別培地や簡易キット，自動分析機器にて同定する。*Y. pseudotuberculosis* の各種試験管培地での性状は，若干発育速度が遅く，乳糖非分解，白糖非分解，硫化水素陰性，インドール陰性，リジン陰性，クエン酸陰性，オルニチン陰性，VP 反応陰性を示すが，特にウレアーゼ陽性，運動性が 25℃で陽性であるが 37℃で陰性である点に注目する（**図 1-2-4-6 (1)，(2)**）。*Y. pseudotuberculosis* は約 70～75 kbp の病原性プラスミドを有しており，TSB などのブロスで 37℃培養（増菌）させると自発凝集を起こす。25℃培養では起こらない（**図 1-2-4-6（3）**）。

表 1-2-4-6　*Y. pseudotuberculosis* の主な病原因子と支配遺伝子

遺伝子	遺伝子の位置	遺伝子産物	機能
HPI (High-pathogenicity island)	Chromosome	Yersiniabactin (siderophore)	Iron uptake
invA (Invasin A)	Chromosome	Invasin	Adhesin
ypm (YPM)	Chromosome	superantigenic toxin	proliferation of human T lymphocytes bearing Vβ3, Vβ9, Vβ13.1, and Vβ13.2 T-cell receptor variable regions
VirF (VirulenceF)	Plasmid, 70 kb	VirF protein	Transcriptionl activator for expression of Yops
yadA (Yersinia adherence A)	Plasmid, 70 kb	Membrane protein with lollipop-shaped surface projection	Adhesion to cells and extracellular matrix proteins
yops (Yersinia outer membrance proteins)	Plasmid, 70 kb	Yops, secreted and translocated by type III secretion apparatus	Antiphagocytic
ysc (Yop secretion)	Plasmid, 70 kb	Proteins of type III secretion apparatus	Effectors of Yop secretion

<文献 20〜22）より引用>

近縁種との鑑別では，*Y. pseudotuberculosis* はエスクリンとキシロースを分解，セロビオースとソルビトールが非分解，ピラジナミダーゼ陰性であることは重要な鑑別点である（**表 1-2-4-2**）[12]。

Y. pseudotuberculosis の病原因子は，約 70〜75 kbp の病原性プラスミド DNA にコードされているものと染色体 DNA にコードされているものがある（**表 1-2-4-6**）。病原性プラスミドにコードされているものとして，YadA（*Yersinia* adherence A）は腸管上皮細胞への付着・侵入や補体の抗菌作用への抵抗性に関与，Yops（*Yersinia* Outer Membrane Protein）は 11 種類の *yop* 遺伝子が知られている。マクロファージの食作用の阻害や食細胞内での殺菌作用に対する抵抗性に関与，さらに Yops の産生や調整にかかわる病原因子として Ysc があり，*virF* 遺伝子はこれらの遺伝子の活性化に関与している[12,17]。一方，染色体 DNA にコードされているものとして invA は腸管上皮細胞への付着・侵入に関与しており，すべての株に存在するわけでなく極東猩紅熱様症候群を起こした株から産生される YPM（*Y. pseudotuberculosis* derived mitogen）は T 細胞の過剰活性化やサイトカインの過剰産生を誘導するスーパー抗原（YPM）の産生性（YPMa，YPMb および YPMc が知られ，YPMa だけスーパー抗原活性を持つ）に関与している[20,21]。川崎病との関連も示唆されている。HPI（High-pathogenicity island）は鉄の取り込みに関与している。HPI，YPMa，YPMb，YPMc の保有状況により 6 つの遺伝子型に分けられる。欧米由来株の多くは HPI をもつが YPMa を持たないのに対し，日本を含む極東由来株では HPI を持たないが YPMa をもつなど病原性の有無や病原型，血清群の地域分布と関連している（**表 1-2-4-7**）[20,21]。

【迅速検査（遺伝子検査，抗原検査等）】

遺伝子診断としては，染色体上の *inv* 遺伝子と病原性プラスミドの *virF* 遺伝子を標的とした PCR 法が一般的に普及している。LAMP 法を応用して *inv* 遺伝子を標的遺伝子とした検出法が報告されている[22]。

血清学的診断として *Y. pseudotuberculosis* に対する抗体価を測定し，急性期と回復期のペア血清で 4 倍以上の抗体価の上昇または 160 倍以上の抗体価が認められた場合，本菌の感染症を疑う。川崎病との関連・鑑別に有効とされている[22]。

表 1-2-4-7　病原因子および血清型におけるヨーロッパ株と極東アジア株の違い

Genetic Group	Presence of			Pathogenic Type
	pYV	HPI Variant	YPM Variant	
1	+	Complete	YPMa	Pathogenic
2[a)]	+	Complete	—	European gastroenteric
3[b)]	+	—	YPMa	Far East systemic（except O：1c and O：7）
4 *Yersinia similis*	—	—	YPMb	Nonpathogenic
5	+	Truncated	YPMc	European Low Pathogenicity
6	+	—	—	Pathogenic

Genetic Group	Serotypes From		% Strains From			No. of Isolate
	Europe	Far East	Humans	Animals	Environment	
1	—	1b, 3, 5a	44	56	None	9
2[a)]	1a, 1b	1a, 3, 5b, 13, 14	16	84	None	99
3[b)]	4a	1b, 1c, 2a, 2b, 2c, 3, 4a, 4b, 5a, 5b, 6, 7, 10	39	42	19	1589
4 *Yersinia similis*	—	1b, 5a, 5b, 6, 7, 9, 10, 11, 12	None	54	46	93
5	3	3	2	98	—	235
6	1b, 2a, 2b, 3, 5a	1b, 2a, 2b, 2c, 3, 4a, 4b, 5a, 5b, 6, 7, 10, 11, 13	8	74	18	210

HPI：high pathogenicity island, YPM：*Y. pseudotuberculosis*-derived mitogen
[a)]Most common clinically isolated *Y. pseudotuberculosis* genotype in Europe
[b)]Most common clinically isolated *Y. pseudotuberculosis* genotype in the Far East
<文献 20，21）より引用>

［治療，抗菌薬感受性］

Y. pseudotuberculosis は通常，ABPC，TC，CP，セファロスポリン，アミノグリコシドに感受性を示す。自然治癒することが多く，合併症がある場合に抗菌薬投与を考慮する。抗菌薬投与にて臨床症状の優位な改善はないことを念頭に置いて考える。小児に対する治療では，第一選択としてAMPC経口1回10～13 mg・1日3回（30～40 mg/kg/日，最大1000 mg/日）・3～5日間，第二選択としてNFLX経口1回2～4 mg/kg・1日3回（6～12 mg/kg/日，最大600 mg/日）・3～5日間（乳児には投与しない）が推奨されている。また，重症例または内服困難例ではABPC静注または点滴静注12.5～25 mg/kg・1日4回分割投与（6時間ごと）（50～100 mg/kg/日，最大2000 mg/日）・5日間が推奨されている[14)]。

文　献

1）Zen-Yoji H, Maruyama T. 1972. The first successful isolation and identification of *Yersinia enterocolitica* from human cases in Japan. Jpn J Microbiol 16：493-500.
2）Hayashidani H. 2016. Yersiniosis. Jpn J Food Microbiol 33(4)：175-181.
3）厚生労働省．4．食中毒統計資料．http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/syokuchu/04.html.（2018年3月1日現在）
4）Dennis DT, Mead PS. 2010. *Yersinia* species, including plague. p.2949-2953. Principles and practice of infectious diseases, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, et al. ed. Churchill Livingstone, Philadelphia.
5）List of prokaryotic names with standing in nomenclature-Genus *Yersinia*. https://lpsn.dsmz.de/genus/yersinia（2021年5月1日現在）
6）磯部順子，木全恵子，清水美和子ほか．2014．簡易水道を原因と特定できたYersinia enterocolitica O8による集団

感染事例．感染症誌 88：827-832.
7）福島博．2009．*Yersinia enterocolitica*．p.315-334，食品由来感染症と食品微生物．中西寿夫，丸山務 監修．中央法規出版，東京.
8）Renaud N, Lecci L, Courcol RJ, et al. 2013. CHROMagar Yersinia, a New Chromogenic Agar for Screening of Potentially Pathogenic *Yersinia enterocolitica* Isolate in Stools. J Clin Microbiol 51：1184-1187.
9）Thuan NK, Naher K, Kubo R, et al. 2016. Evaluation of Chromogenic Medium for Selective Isolation of *Yersinia*. Food Hyg Saf Sci 57：166-168.
10）Karhukorpi J, Päivänurmi M. 2014. Differentiation of *Yersinia enterocolitica* biotype 1A from pathogenic *Yersinia enterocolitica* biotypes by detection of β-glucosidase activity：comparison of two chromogenic culture media and Vitek2. J Med Microbiol 63：34-37.
11）Zheng H, Sun Y, Mao Z, et al. 2008. Investigation of virulence genes in clinical isolates of *Yersinia enterocolitica*. FEMS Immunol Med Microbiol 53：368-374.
12）Petersen JM, Gladney LM, Schriefer ME. 2015. *Yersinia*. p.738-751. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, et al. ed. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
13）Atkinson S, Williams P. 2016. Yersinia virulence factors-a sophisticated arsenal for combating host defences［version 1：referees：2 approved］. F1000 Research 2016, 5（F1000 Faculty Rev）：14 JUN 2016.
14）JAID/JSC 感染症治療ガイド・ガイドライン作成委員会腸管感染症ワーキンググループ．2016．JAID/JSC 感染症治療ガイドライン 2015―腸管感染症―．日化療会誌 64(1)：31-65.
15）Wattiau P, Cornelis GH. 1994. Identification of DNA Sequences Recognized by VirF, the Transcriptional Activator of the *Yersinia yop* Regulon. J Bacteriol 176：3878-3884.
16）Laporte J, Savin C, Lamourette P, et al. 2015. Fast and Sensitive Detection of Enteropathogenic *Yersinia* by Immunoassays. J Clin Microbiol 53：146-158.
17）福島博．2009．*Yersinia pseudotuberculosis*．p.335-346，食品由来感染症と食品微生物．中西寿夫，丸山務 監修．中央法規出版，東京.
18）新妻隆広，大日方薫，松永展明ほか．2010．*Yersinia pseudotuberculosis* 感染症の同胞例：急性脳症・腎不全をきたした弟および川崎病症状を呈した姉．小児感染免疫 22：211-215.
19）佐藤幸一郎．1987．Yersinia pseudotuberculosis 感染症の臨床所見および疫学像，特に泉熱との関連について．感染症誌 61：746-762.
20）Amphlett A. 2015. Far East Scarlet-Like Fever：A Review of the Epidemiology, Symptomatology, and Role of Superantigenic Toxin：*Yersinia pseudotuberculosis*-Derived Mitogen A. Open Forum infectious Diseases. Review article. p.1-7.
21）Carnoy C, Floquet S, Marceau M, et al. 2002. The Superantigen Gene ypm Is Located in an Unstable Chromosomal Locus of *Yersinia pseudotuberculosis*. J Bacteriol 184：4489-4499.
22）林谷秀樹，岩田剛敏．2005．*Yersinia pseudotuberculosis* 感染症（仮性結核）．モダンメディア 51：1-6.

5）カンピロバクター（*Campylobacter*）

【分布・疫学】

Campylobacter 属菌は先進国，発展途上国いずれにおいても主要な胃腸感染症の起炎菌である。世界では，*Campylobacter* 属菌により年間およそ 1 億 6600 万人が下痢を発症し，3 万 7600 人が死亡している[1)]。わが国でも，*Campylobacter* 属菌による食中毒は，この 10 年間，細菌性食中毒の中では件数は常に 1 位，患者数は 1〜3 位を争っており，最も重要な食中毒起炎菌と言える。2017 年には 320 件，2,315 例の感染が報告されている[2)]。しかし，受診当初は感冒と診断されることも多く，実際の患者数は届出数以上と推察される。*Campylobacter* 属菌は，ニワトリ，ブタ，ウシなどの家畜の腸管内に広く保菌されており，加熱不十分な食肉や食品の二次汚染が主なヒトへの感染源となる。感染源として特に問題となるのが鶏肉であり，国内では，市販鶏肉の *Campylobacter* 属菌による汚染率はおよそ 60％と報告されている[3)]。その他，イヌやネコ等のペットからの感染例や，井戸水などの水系感染事例の報告もある[4)]。

【臨床的意義（感染対策，法規を含む）】

Campylobacter 属菌による下痢症は，世界的に *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*（以下 *C. jejuni*）がほとんどを占め，次いで *Campylobacter coli* が 1〜25％を占める[5)]。500〜800 個/ヒトほどの少量の菌で感染が成立し，潜伏期間は 2〜5 日間と比較的長い。下痢，腹痛，発熱，嘔吐をはじめ，頭痛，悪心，悪寒，倦怠感などが先行症状として出現することもある。便性状は通常水様便であるが，粘液便や粘血便がみられる場合も少なくない。感染症の予後は，一部の免疫不全患者を除き一般に良好な経過をとる。しかし，本菌感染後 1〜3 週間を経て，急性に四肢脱力を主徴とする，運動神経障害優位の自己免疫性末梢神経障害であるギラン・バレー症候群（Guillain-Barré syndrome：GBS）を発症することがある[4)]。

C. jejuni と *C. coli* は食中毒起炎菌に指定されており，食品衛生法における取り扱いとして，本食中毒が疑われるときは，食品衛生法第 58 条に基づき 24 時間以内に保健所長に届ける必要がある。また，本菌によるものを含む感染性胃腸炎は小児科定点医療機関を対象とした 5 類感染症に指定されている[4)]。

本菌感染症の予防は，獣肉（特に鶏肉）調理時に十分な加熱処理をし，生肉の喫食を避けること，また，調理器具や手指などを介した二次汚染防止に注意することが最も重要である。

【分類】

Campylobacter 属は，*Sulfurospirillum* 属とともに Family *Campylobacteraceae* を構成する。*Campylobacter* 属菌には 34 菌種が含まれる[6)]。

【形態】

長さ 0.5〜5 μm，幅 0.2〜0.9 μm の湾曲，S 字型，またはらせん状の無芽胞性，グラム陰性桿菌である（**図 1-2-5-1**）。これらは陳旧培養，もしくは至適発育条件以外の状態下で，球状の形態を示すことがある。一般に，一端もしくは両端に 1 本の鞘のない鞭毛を有し，これを使ってコークスクリュー様の回転運動をする[7)]。グラム染色においては，*Campylobacter* 属菌は染色性が弱いため，後染色はサフラニン液よりもパイフェル液のほう

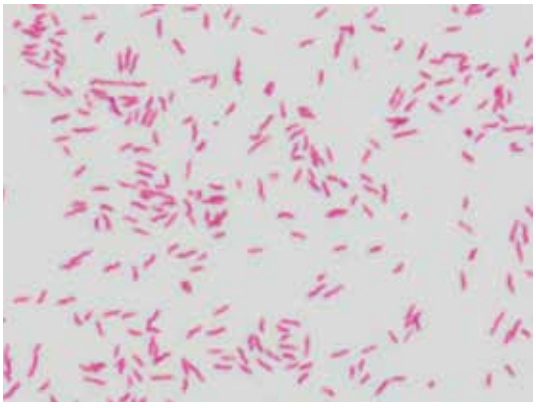


図 1-2-5-1　グラム染色
C. coli ATCC 33559, Bartholomew & Mittwer 変法

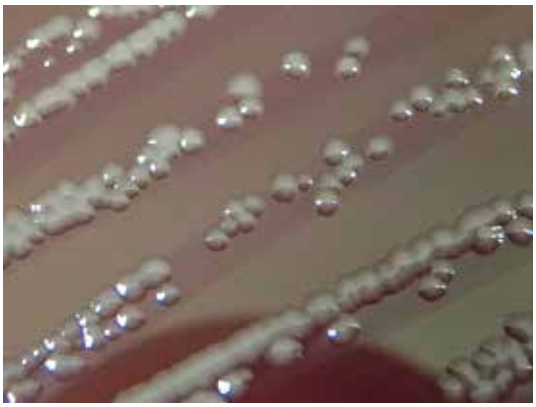


図 1-2-5-2　コロニー所見
C. coli ATCC 33559，変法スキロー培地 EX（日水製薬）
48 時間 42℃微好気培養



図 1-2-5-3　オキシダーゼ試験
C. coli ATCC 33559



図 1-2-5-4　馬尿酸加水分解試験
左：*C. jejuni* subsp. *jejuni* ATCC 33291，右：*C. coli* ATCC 33559

が適している[7]。

【培養】

C. jejuni，*C. coli* の糞便からの分離培養にはスキロー培地や Modified charcoal-cefoperazone-deoxycholate agar（mCCDA）培地などの選択培地を用い，最低 2 日間微好気培養（酸素濃度 5〜10 %）を行う。スキロー培地では半透明，mCCDA 培地では灰白色の，いずれも隆起した S 型コロニーを形成するが（**図 1-2-5-2**），ムコイド様の平坦で不規則に広がるコロニーを形成することもある。ただし，このような一般的に日常検査で用いる培養条件において *C. jejuni*，*C. coli* 以外のほとんどの *Campylobacter* 属菌は発育しないため[5]，培養法再考の必要性が指摘されている。

【生化学的性状】

Campylobacter 属菌は糖を酸化的にも発酵的にも分解しない。すべての菌種がオキシダーゼ陽性であり（**図 1-2-5-3**），インドール産生能，VP テスト陰性である。また，多くの菌種が硝酸塩を還元し，馬尿酸を加水分解しない[8]。*C. jejuni* と *C. coli* の識別は馬尿酸加水分解試験が用いられ，*C. jejuni* が陽性，*C. coli* が陰性であるが（**図 1-2-5-4**），*C. jejuni* の一部の菌株では馬尿酸加水分解が陰性である。*C. jejuni* と *C. coli* の生化学的性状はよく似ているため，これらを馬尿酸加水分解試験以外の試験で識別することは困難である。

【迅速検査】

a）質量分析法による菌種同定

質量分析法による同定は，生化学的性状による菌種同定に比べ正確性が高く，遺伝子解析のような労力もかからないため，日常検査において有用である。*C. jejuni* と *C. coli* を識別することも可能であり，その他多くの *Campylobacter* 属を菌種レベルで同定できる[9]。ただし，mCCDA 培地などの選択培地から質量分析を実施すると正しく同定されないことがあると報告されており，必要に応じて，他の培地へ継代培養後に質量分析による同定試験を実施するとよい[10]。

b）遺伝子解析による菌種同定

16S rRNA配列は*Campylobacter*属菌の菌種同定にも利用されるが，*C. jejuni* と *C. coli* については16S rRNA の塩基配列が類似しているため本遺伝子配列による識別ができない[11]。これらの識別には *hipO*，*asp*，*ceuE* など，他の遺伝子領域を利用することで菌種同定が可能である[7,12]。また，糞便検体から直接 *cdt* 遺伝子を増幅し，*C. jejuni*，*C. coli*，*C. fetus* を鑑別するPCR法も考案されている[13]。

【治療・抗菌薬感受性】

患者の多くは自然治癒するため，特別治療を必要としない。しかし，重症例や免疫不全患者の場合などには抗菌薬投与が適応となる。*Campylobacter* 属菌は世界的にキノロン系抗菌薬に耐性化が進んでおり，第一選択薬としては，マクロライド系薬剤が推奨されるが，近年はマクロライド耐性の菌株も出現してきており問題となっている。セフェム系薬剤に対しては自然耐性を示すため，治療効果は望めない[14]。

【日常検査での同定ワークフロー】

選択培地を42℃で微好気培養し，*Campylobacter* 属菌を疑うコロニーが発育した場合，グラム染色とオキシダーゼテストを実施する。グラム陰性らせん菌でオキシダーゼが陽性であった場合，*Campylobacter* 属菌と同定する。さらに，馬尿酸加水分解試験が陽性であった場合，日常検査では *C. jejuni* と同定してよい。しかし，馬尿酸加水分解試験が陰性であった場合，馬尿酸加水分解陰性の *C. jejuni* と *C. coli* を区別できない。*C. jejuni* と *C. coli* をその他の生化学的性状から区別することは困難であり，馬尿酸加水分解陰性，かつ酢酸インドキシル加水分解試験陽性であった場合は，馬尿酸加水分解陰性 *C. jejuni*/*C. coli* などと報告するとよい[7]。ただし，厳密には *Campylobacter* 属菌の正確な菌種レベルでの同定は生化学的性状など日常検査で実施できる手法では難しいため，必要に応じて，遺伝子解析や質量分析などの解析を実施する。

文　献

1）Kirk MD, Pires SM, Black RE, et al. 2015. World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 22 Foodborne Bacterial, Protozoal, and Viral Diseases, 2010：A Data Synthesis. PLoS Med 12（12）：e1001921.

2）厚生労働省. 4．食中毒統計資料. https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/syokuchu/04.html（2018 年 7 月 15 日現在）

3）Suzuki H, Yamamoto S. 2009. *Campylobacter* contamination in retail poultry meats and by-products in Japan：a literature survey. Food Control 20：531-537.

4）国立感染症研究所．カンピロバクター感染症とは. https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/385-campylobacter intro.html（2018 年 7 月 18 日現在）

5）Man SM. 2011. The clinical importance of emerging *Campylobacter* species. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 8（12）：669-685.

6）LPSN. https://lpsn.dsmz.de/（2021 年 5 月 1 日現在）

7）Fitzgerald C, Hachamkin I. 2015. *Campylobacter* and *Arcobacter*. p.998-1012. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, et al. ed. American Society for Microbiology, Washington, D. C.

8）Public Health England. 2018. Identification of *Campylobacter* species. UK Standards for Microbiology Investigations. ID23 Issue 3. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/685065/ID_23i3.1.pdf. Accessed Jul 15, 2018.

9）Martiny D, Dediste A, Debruyne L, et al. 2011. Accuracy of the API Campy system, the Vitek 2 *Neisseria–Haemophilus* card and matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for the identification of *Campylobacter* and related organisms. Clin Microbiol Infect 17（7）：1001-1006.

10）Alispahic M, Hummel K, Jandreski-Cvetkovic D, et al. 2010. Species-specific identification and differentiation of *Arcobacter*, *Helicobacter* and *Campylobacter* by full-spectral matrix-associated laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry analysis. J Med Microbiol 59（Pt 3）：295-301.

11）Gorkiewicz G, Feierl G, Schober C, et al. 2003. Species-specific identification of campylobacters by partial 16S rRNA gene sequencing. J Clin Microbiol 41（6）：2537-2546.

12）Alonso R, Girbau C, Astorga AF. 2011. *Campylobacter*. p.1125-1139. Molecular detection of human bacterial pathogens. Lui D ed. CRC Press, Boca Raton, FL.

13）Asakura M, Samosornsuk W, Hinenoya A, et al. 2008. Development of a cytolethal distending toxin（*cdt*）gene-based species-specific multiplex PCR assay for the detection and identification of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter fetus*. FEMS Immunol Med Microbiol 52（2）：260-266.

14）JAID/JSC 感染症治療ガイド・ガイドライン作成委員会. 2016. JAID/JSC 感染症治療ガイドライン 2015―腸管感染症―. 日化療会誌 64（1）：31-65.

6) *Vibrio*

A. *Vibrio cholerae* O1/O139（CT+）

【分布と疫学】

コレラは *Vibrio cholerae* O1 および O139 のコレラ毒素（cholera toxin：CT）産生株によって起こる経口感染症で，激しい下痢を主訴とする。コレラはこれまでに 7 回の世界的流行を起こしており，最初の 6 回は 1817 年から 1923 年の間に記録されている。この世界的流行の原因となった *V. cholerae* は O1 血清型の古典型（アジア型）コレラと呼ばれるタイプで，インド亜大陸をはじめとしたアジア地域から流行が始まり，その後ヨーロッパやアメリカへと拡大していった。7 回目の世界的流行は 1961 年にインドネシアのセレベス島で発生し，これまでの古典型コレラと異なり O1 血清型のエルトール型コレラが原因であった。インドネシアに端を発したこの流行は，現在も世界に広がっているとされる。また，1992 年にはインドのマドラスで O139 血清型コレラの流行が発生した[1]。これは non-O1 *V. cholerae* による初めての流行であった。*V. cholerae* O139 はインドやバングラデシュなどの一部の国や地域に限定されているが，これを第 8 番目の流行とする考え方もある[2]。日本においては，2007 年 4 月施行の法改正により，コレラは三類感染症に変更された。全数把握が可能となった 1999 年以降の日本におけるコレラ患者数は 2004 年をピークに年々減少しており，2016 年は 9 件のみであり，三類感染症の中では最も少なく，感染者の多くが海外からの輸入症例である。日本ではほとんどみられなくなった疾患であるが，世界的にはアフリカや南アジアなどの流行地を中心に毎年 130 万人から 400 万人の患者が発生し，2 万人から 14 万人が亡くなっている疾患である[3]。

【臨床的意義（感染対策，法規を含む）】

V. cholerae は水環境に生息しており，その環境が自然におけるリザーバーだとされている[4]。コレラは典型的な経口感染症で，本菌によって汚染された水や食品を摂取することによって発症する。感染を引き起こす菌量は感染経路によって異なるが，水の場合は 10^3〜10^6個，食品の場合は 10^2〜10^4個とされており，食品のほうが感染に必要な菌量は少ない[5]。*V. cholerae* は胃酸に弱いが，制酸剤服用者や胃切除術を受けている患者は胃酸が健常人より少ないため感染リスクが高くなる。臨床症状として下痢が最も特徴的である。軽症の場合は 1 日数回程度であるが，重症例では 1 日 10 L に及ぶ。コレラ患者の下痢便は粘液の混じった白色水様便で“米のとぎ汁様便”と呼ばれることもある。CT によって細胞内 cAMP 濃度が増大し，細胞チャネルに傷害が生じた結果，細胞外への水分の移動が起こり大量の下痢が生じる。大量の下痢によって体液が失われ，重度の代謝性アシドーシスとなり，いわゆるコレラ様顔貌，洗濯婦の手と呼ばれる症状を呈する。また，循環血液量減少，血液濃縮，乏尿といった症状を伴うこともある。軽症で経過することもあるが，年少者や高齢者は脱水により致命的な経過をたどることもあり，注意が必要である。日本では感染症法の三類感染症に指定されており，患者（確定例），無症状病原体保有者，感染症死亡者の死体，感染症死亡疑い者の死体を診断または検案した場合はただちに届出を行わなければならない。感染対策は標準予防策と接触感染予防策が基本となる。

V. cholerae は保菌者あるいは感染者の糞便に排出され，ヒトからヒトへ接触伝播による糞口感染を起こす可能性があるため，特に感染症例については糞便を念頭においた接触予防策を行う。

【分類】

V. cholerae は *Vibrio* 科の *Vibrio* 属の一菌種である。*V. cholerae* の抗原構造は腸内細菌科細菌（*Enterobacteriaceae*）と類似しており，O 抗原や H 抗原を有する。O 抗原は *V. cholerae* をさらに分類するために使用され，大きく O1 血清型と非 O1 血清型に分けられる。現在までに約 210 の血清型

が報告されているが，臨床的にコレラを引き起こし，世界的流行を起こす可能性があるものはO1およびO139のみとされる。O1およびO139に凝集しないものはnonagglutinable vibrios（NAGビブリオ）と呼ばれる。NAGビブリオは分類上*V. cholerae*に含まれ，生化学的性状や形態は*V. cholerae*と同じであり，区別することはできない。さらにO1血清型は，O抗原の型特異因子（A，B，C）により3つの血清型と表現型質により2つの生物型に分類される。3つの血清型は稲葉型（A，C），小川型（A，B）および彦島型（A，B，C）と呼ばれるが，この血清型の違いによる臨床症状の違いは現在のところ報告されていない。一方，生物型は古典型（biovar *cholerae*）とエルトール型（biovar *eltor*）に分類され，古典型は過去6回の世界的流行の原因となり，エルトール型は現在の流行の主流生物型である。*V. cholerae*の血清型とそれぞれの特徴を**表1-2-6-1**に示す。一般にエルトール型は古典型に比べて病原性は低いものの，自然界での抵抗性が強く，そのため流行が長続きすると考えられている。また，エルトール型はバイオフィルム形成能を有していることも環境中での生存に有利に働いている。コレラを引き起こすのは*V. cholerae*血清型O1およびO139のみであり，その中でもCTを産生するものが三類感染症の届出対象となるため，*V. cholerae*を検出した際は血清型の実施，CT産生の有無およびCT遺伝子の有無を確認することが重要となる[6]。なお，CTを産生しない*V. cholerae* O1およびO139はNAGビブリオと同様に食中毒および下痢の原因菌として取り扱われる。*V. cholerae* O1およびO139のCT産生株は適切な病原体管理が求められる特定4種病原体に位置付けられている。

表1-2-6-1　*Vibrio cholerae*の血清型分類とそれぞれの特徴について

菌名	血清型	特徴
V. cholerae	O1	稲葉型，小川型，彦島型の3つの亜型に分類 アジア型とエルトール型の2つの生物型に分類
	O139	ベンガル型コレラとも呼ばれる WHO*1は本菌による感染もコレラと認定している
	O1, O139以外	NAGビブリオ*2と呼ばれ，食品衛生法では食中毒の原因菌とされる場合がある

*1 WHO：世界保健機関，*2 NAGビブリオ：nonagglutinable vibrios

【形態】

*V. cholerae*は通性嫌気性のグラム陰性桿菌で，直線状あるいはやや湾曲（コンマ状）の形態をしている。大きさは0.5〜0.8 μm×1.4〜2.6 μmで，端在性の極単毛の鞭毛をもち，運動性を有する[7]。

【培養】

ほとんどの非選択培地に発育し，NaClを含まない培地においても発育可能である。発育pHは6.0〜10.0であるが，アルカリ側で発育がよい。そのため，分離用培地の多くがアルカリ側にpHが調整されている。37℃が至適発育温度で，25〜40℃が発育可能温度であるが，10℃でも発育可能である。糞便などの患者材料からの分離培養を行う際は，Thiosulfate-Citrate-Bile Salts-Sucrose（TCBS）寒天培地あるいはビブリオ寒天培地などの培地を使用し，35〜37℃で16〜20時間培養を行う。検査に供する糞便材料については抗菌薬投与前の新鮮便が望ましく，吐物は検査に適さない。TCBS寒天培地は，pH 8.6前後と高く，塩化ナトリウムをはじめとする塩類を含んでいるため，*Vibrio*属以外の菌の発育をほとんど抑制することができる。しかし，TCBS寒天培地は選択性が強く，TCBS寒天培地上に発育したコロニーはオキシダーゼ試験や抗血清試験に適さず，またTCBS寒天培地に発育不良な*V. cholerae*も報告[8]されていることから，TCBS寒天培地に加えて非選択培地あるいは選択性が弱い培地を併用することも考慮する。また，糞便などの患者検体を分離培地に直接塗抹する方法以外に，アルカリペプトン水で14〜18時間の一次増菌を行った後，アルカリペプトン水の培地表層を選択培地に塗抹する方法もある[6]。さらに検出率を高めるために二次

増菌培養を行う方法もある。アルカリペプトン水は増菌培地として最もよく用いられる。患者検体ではなく，食品等から分離を行う際は食品衛生検査指針[9]等の成書を参考にするとよい。コレラは公衆衛生上の観点からも同定を急ぐ必要があるため，TCBS 寒天培地やビブリオ寒天培地等で *V. cholerae* を疑うコロニーを認めた場合，菌名同定のための確認試験を行うと同時に抗血清によるためし凝集試験を行う（ただし，TCBS 寒天培地上のコロニーは抗血清試験で正しい結果が得られない可能性があることに留意する）。ためし凝集試験で O1 あるいは O139 に凝集を認めた場合，*V. cholerae* 疑いとして精査を進めていく。また，*V. cholerae* の可能性があることを臨床にも中間報告し，感染症発生届提出等を含め，行政との連携を遅滞なく進めることができるようにする。

【生化学的性状】

カタラーゼ試験およびオキシダーゼ試験陽性である。ただし，TCBS 寒天培地上に発育したコロニーを用いたオキシダーゼ試験は信頼性が低いため，実施すべきではない。*V. cholerae* の生化学的性状を**表 1-2-6-2** に示す。ブドウ糖発酵および乳糖または白糖発酵試験，リジン脱炭酸試験，インドール産生性，運動性確認試験，NaCl 要求性，Voges-Proskauer（VP）試験，オキシダーゼ試験を実施し，*V. cholerae* の性状と一致することを確認する。試験管培地を使用する場合は，TSI 寒天培地，LIM 寒天培地，VP 培地に NaCl を 1%添加する。なお，自動分析装置を使用して同定する場合，同定のためのプロトコールを搭載している場合があるため，使用説明書等を参考にして実施する。血清型別については，O1 血清型はモノクローナル抗体を感作したラテックス粒子によるスライド凝集反応とコレラ菌免疫血清「生研」セットが，O139 血清型についてはビブリオコレラ免疫血清 O139“Bengal”が市販されており，利用可能である。O1 および O139 以外の血清型については市販で利用できるものがないため，研究機関や衛生研究所等へ相談することになる。O1 血清型の生物型について分類を**表 1-2-6-3** に示した。日本において検出される生物型は大部分がエルトール型である。また，1963 年以降に検出されたエルトール型についての溶血性は陰性であり，溶血性による鑑別は困難である。近年では遺伝子検査に基づく生物型の鑑別法が開発されており，特異度が高い方法として使用されている。CT 産生性の確認は，逆受身ラテックス凝集反応を利用したキットが市販されているが，迅速性に欠け，非特異的反応があるという短所がある。生物型や CT 産生性の確認は病院検査室では難しいため，*V. cholerae* が疑われる場合には保健所や衛生研究所

表 1-2-6-2　*Vibrio cholerae* の生化学的性状

Test	% Positive
Indole*（1%NaCl）	99
Voges-Proskauer*（1%NaCl）	75
Citrate（シモンズクエン酸培地）	97
Arginine*（1%NaCl）	0
Lysine*（1%NaCl）	99
Ornithine*（1%NaCl）	99
Motility（36℃）	99
Glucose	100
Gas production	0
Arabinose*	0
Lactose*	7
Sucrose*	100
ONPG test*	94
NaCl	
0%	100
6%	53
8%	1
10%	0

「*」がついた項目は日常の *Vibrio* 属の同定検査に推奨される検査項目。
1%NaCl と記載した項目は，発育増強のために NaCl を培地中に添加する。
<文献 14）を参考に作成>

表 1-2-6-3　*Vibrio cholerae* の生物型分類について

生物型	溶血性	ポリミキシン B 感受性	ニワトリ赤血球凝集	VP** 反応	ファージ IV 感受性
アジア型	−	+	−	−	+
エルトール型	+*	−	+	+	−

*1963 年以降に検出された株については陰性，** VP：Voges-Proskauer
<文献 16）を参考に作成>

と連携して速やかな確認をすることが望ましい。

【迅速検査】

糞便を用いて *V. cholerae* を直接検出する方法として microscopic immobilization test[10]，直接蛍光抗体法，ラテックス凝集法などがある。コレラが一般的な地域や検査室がない状況下においては簡便かつ迅速に検出できることから有用であるが，日本のように *V. cholerae* の検出がほとんどない地域においての有用性は低いと考えられる。迅速同定については質量分析装置を用いた方法が検討されており，*V. cholerae* を含む *Vibrio* 属および近縁の *Aeromonas* 属等の鑑別が可能であるとの報告がある[11]。これは，菌種ごとに出現する特異的なピークがあり，そのピークパターンによって菌種を鑑別するという方法である。質量分析装置が導入されている施設においては特殊な方法を用いずに菌種鑑別が可能である点で迅速性に優れていると言える。ただし，質量分析装置を用いた *V. cholerae* の血清型別については現時点では困難である。

また，簡便で迅速かつ特異度が高い方法として遺伝子検査を利用する方法がある。多項目遺伝子関連検査機器で糞便検体から直接 *V. cholerae* を検出可能なものが上市されている。*V. cholerae* だけをターゲットにしたものではないため，*V. cholerae* の検出を念頭においた場合，コストパフォーマンスは決してよくない。しかし，こうした網羅的遺伝子解析手法の普及によって培養では見逃されていた *V. cholerae* などが検出される可能性は考えられる。自施設で遺伝子検査が可能であれば，*V. cholerae* に特異的なハウスキーピング遺伝子をターゲットとした同定や O1 および O139 に特異的な遺伝子を検出することも可能である。また，生物型分類や CT についても遺伝子検査に基づく方法が開発されている。これらのプライマー配列を**表 1-2-6-4** に示す。PCR 法を利用して CT 遺伝子の存在を確認することができるが，CT 遺伝子が存在することと毒素産生性は必ずしも一致しないことがあるため，結果の解釈の際にはその点を留意すべきである。

表 1-2-6-4　*Vibrio cholerae* に関する各種遺伝子検査のプライマー配列

Primer	標的遺伝子	塩基配列（5'-3'）	増幅産物サイズ（bp）
VCatpA-F	vcatpA	AATGGGTCCATACGCGGAT	160
VCatpA-R		TGGTGAAGTYTGTTTTGCACC	
O1-up	O1	GTTTCACTGAACAGATGGG	192
O1-down		GGTCATCTGTAAGTACAAC	
O139-up	O139	AGCCTCTTTATTACGGGTGG	449
O139-dowm		GTCAAACCCGATCGTAAAGG	
CT-up	CT	ACAGAGTGAGTACTTTGACC	308
CT-down	CT	ATACCATCCATATATTTGGGAG	

<文献 6）を基に作成>

【抗菌薬感受性および治療】

Vibrio 属の薬剤感受性試験については，Clinical and Laboratory Standard Institute（CLSI）が発行している M45 シリーズのドキュメントに記載されている[12]。培地は，微量液体希釈法では cation-adjusted Mueller Hinton Broth（陽イオン調整ミュラーヒントンブロス：CAMHB），ディスク拡散法では Mueller Hinton agar を使用する。菌液は McFarland 0.5 に調整したものを用いるが，NaCl 濃度が 0.85％のものが推奨される。0.85％の NaCl を添加することで，添加しない場合より十分な菌量を得ることが可能となる。0.85％は生理食塩水とほぼ同等の濃度であることから，菌液調整には生理食塩水を用いることで代用も可能である。35±2℃で培養を実施し，ディスク法は 16〜18 時間，微量液体希釈法は 16〜20 時間後に判定を行う。*V. cholerae* については，ABPC，AZM，CP，Sulfonamides，TC，DOXY および ST の 7 薬剤を測定することを推奨している。TC が感性であれば DOXY も感性と考えることが可能であり，

表 1-2-6-5　*Vibrio cholerae* の薬剤感受性試験のブレイクポイント

Antibiotics	MIC（μg/ml）		
	Suscep-tible	Interme-diate	Resistant
Ampicillin	≦8	16	≧32
Azithromycin	≦2	—	—
Chloramphenicol	≦8	16	≧32
Sulfonamides	≦256	—	≧512
Tetracycline	≦4	8	≧16
Doxycycline	≦4	8	≧16
Sulfamethoxazole-Trimethoprim	≦2/38	—	≧4/76

＜文献 12）を基に作成＞

DOXY の測定ができない場合には，こうした解釈を利用するとよい。*V. cholerae* の微量液体希釈法でのブレイクポイントを**表 1-2-6-5** に示す。AZM を除いては，CLSI の M100 ドキュメントに記載された腸内細菌科細菌の判定基準を適用しており，AZM については *Staphylococcus* 属の基準を適用して作られている。

初期治療は水分補給による脱水の補正が重要である。点滴静注あるいは経口補水液による電解質および水分の補給を行う。経口補水液が手に入らない場合，飲用水 1 L あたりにティースプーン 1/2 の食塩とすりきり 6 杯の砂糖を混ぜて用いることを WHO は推奨している。抗菌薬による治療は罹病期間，水分喪失および排菌期間を減少させることから，特に中等症～重症のコレラにおいては推奨され，DOXY や，TC，AZM が第一選択薬となる。また，妊婦および小児については AZM が推奨される。*V. cholerae* の薬剤感受性については十分なデータがないが，テトラサイクリン系薬やキノロン系薬に対する耐性株が報告されている。マクロライド系薬への耐性はまれである。標準的な抗菌薬の投与期間は抗菌薬によるが，1～3 日間である。

文　献

1）Cholera Working Group. 1993. International Centre for Diarrhoeal Disease research, Bangladesh. Large epidemic of cholera-like disease in Bangladesh caused by *Vibrio cholerae* O139 synonym Bengal. Lancet 342：387-390.
2）Swerdlow DL, Ries AA. 1993. Vibrio cholera nonO1-the eighth pandemic? Lancet 342：382-383.
3）World health Organization. 2018. Cholera. Fact Sheets. http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cholera（2018 年 7 月 10 日閲覧）
4）Kaper JB, Morris JG, Levine MM. 1995. Cholera. J Clin Microbiol Rev 8：48-86.
5）Cash RA, Music SI, Libonati JP, et al. 1974. Response of man to infection with *Vibrio cholerae*. I. Clinical, serologic, and bacteriologic responses to a known inoculum. J Infect Dis 129：45-52.
6）荒川英二，森田昌知，泉谷秀昌ほか．2015．コレラ菌検査・診断マニュアル．国立感染症研究所，東京．
7）Farmer JJⅢ, Janda JM, Brenner FW, et al. 2005. Genus Ⅰ. Vibrio Pacini 1854, 411AL. p.494-546. Brenner D, Kreig N, Staley JT, Garrity G, ed. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 2. The *Probacteria*, part B. The Gammaproteobacteria. Springer, New York, N. Y.
8）菅野恵未，森下良美，中島祐理香ほか．2016．TCBS 寒天培地に発育不良な非典型的な *Vibrio cholerae* O139 の 1 例．臨微生物誌 26：41-45.
9）食品衛生検査指針微生物編担当委員会．2015．食品衛生検査指針微生物編 2015．公益社団法人日本食品衛生協会，東京．
10）Pollitzer R. 1959. Cholera. World Health Organization. Geneve, Switzerland.
11）Ralf D, Strauch E, Alter T. 2010. Rapid identification and characterization of *Vibrio* species using whole-cell MALDI-TOF mass spectrometry. J Appl Microbiol 109：199-211.
12）Clinical Laboratory Standards and Institute. 2015. Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria, 3rd Edition. CLSI document M45-3ed. Clinical Laboratory Standards and Institute ed. Wayne, PA.
13）水之江義充．2007．コレラ菌とビブリオ科の細菌　コレラ菌．p.563-571．戸田新細菌学改訂 33 版．吉田眞一，柳雄介，吉開泰信 編集．南山堂，東京．
14）Sharon LA, Janda JM, Johnson JA, et al. 2007. *Vibrio* and Related Organisms, Chapter 47. p.723-733. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA ed. Manual of Clinical Microbiology, 9th Edition. ASM Press, Washington, DC.

B. コレラ菌以外の *Vibrio* 属

【分布と疫学】

V. cholerae 以外の *Vibrio* 属の菌も *V. cholerae* と同様に水環境に棲息している。菌種の分布は温度，Na^+濃度，利用可能な栄養素および生物の存在などの環境要因によって左右される[1)]。たとえば，発育にNa^+を必要とせず，少量のNa^+の存在

下でも発育できる *V. cholerae* や *Vibrio mimicus* は川や湖などの淡水域に加えて，河口付近や海からも検出される。海洋や河口などの環境において，*Vibrio* 属の菌は堆積土砂，プランクトン，二枚貝，カニやエビなどからよく検出される[2,3]。1 年のうちで海水温の高くなる月に *Vibrio* 属の菌の濃度がピークになる傾向がある。*Vibrio parahaemolyticus* は腸炎ビブリオとも呼ばれ，食中毒の原因菌としてサルモネラによる食中毒と並んで多かったが，近年は減少しており，2017 年の患者数は 100 人以下であった[4]。*V. parahaemolyticus* による食中毒の減少の背景には，平成 13 年に食品衛生法において，「腸炎ビブリオ食中毒防止対策のための水産食品に係る規則および基準」の設定がなされたことも関連していると推察される。主な原因食品は生の魚介類で，日本では 6〜9 月の夏季に発生が集中している。*Vibrio vulnificus* は創傷感染や敗血症を起こすが，大石ら[5]の調査では日本においては西日本で患者数が多く，特に瀬戸内海や有明海周辺で多いことがわかっている。その他の *Vibrio* 属については，一部の国・地域での発生や症例の報告があるが，海産物の摂取，塩分を含む水への曝露や海での外傷と関連していることが多く，*Vibrio* 属の生息する環境とつながりがあると言える。海での外傷による創部感染や海産物摂取による下痢などの症状を示す患者については，*Vibrio* 属の検出を考慮することも重要である。

【臨床的意義】

V. cholerae 以外でヒトに対して病原性を示すことがわかっている *Vibrio* 属の菌には 11 菌種あり，大別すると腸管感染症に関連するものと創傷感染や敗血症と関連するものに分けられる。その分類を**表 1-2-6-6** に示す。*V. cholerae* 以外にも腸管感染を起こす病原体として重要な菌種がいくつか存在している。*V. parahaemolyticus* は，アジアにおいて食中毒の主要な原因菌であり，米国においてもビブリオによる食中毒の原因菌種となっている[6,7]。腸管感染の成立には 10^6個程度の菌量が必要で，激しい腹痛，下痢，嘔吐を主訴とする。死亡例の報告もあるが，一般的に予後は良好な感染症である。*V. mimicus* は *V. cholerae* に類似した生化学的性状を有し，稀にコレラ毒素を産生し，コレラ様症状を引き起こすものがある。本菌は魚介類の生食（特に生ガキ）により感染し，下痢を引き起こす。*V. fluvialis* は下痢を引き起こす病原体として 1980 年代にバングラデシュで報告された[8]。また，*V. furnissii* による下痢もまれに報告されているが，本菌の病原性については不明な部分が多い。腸管外感染症については外傷もしくは河口部の水や海水といった塩分を含む水への曝露としばしば関連がある。

表 1-2-6-6　*Vibrio cholerae* 以外の *Vibrio* 属の分類

疾患	菌種
腸管感染症	*V. parahaemolyticus*, *V. mimicus*, *V. fluvialis*, *V. hollisae**, *V. metschnikovii*, *V. furnissii*
創傷感染，敗血症	*V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. carchariae*, *V. damsela**, *V. cincinatiensis*

**V. hollisae* は *Grimontia hollisae*，*V. damsela* は *Photobacterium damsela* へと菌名が変更になっている。

病態としては海産物の摂取後に起こる敗血症あるいは創傷感染後に引き続いて起こる 2 次的菌血症がある。*V. vulnificus* による敗血症は極めて重症であり，死亡率は 50％を超える[9]。特に基礎疾患に肝疾患や糖尿病がある場合，劇症型感染のリスクとなる。*V. vulnificus* はビブリオによる敗血症の原因菌として最も重要である。*Vibrio alginolyticus* は眼や耳，軟部組織への感染が知られており，特に耳の感染症患者から分離されることが多い[10]。*V. alginolyticus* は海水中に存在する好塩性ビブリオであり，創傷部や耳に海水が入ることで感染すると考えられている。その他の *Vibrio* についても稀ではあるが，ヒトに対して腸管外感染を起こすものがいくつか存在している。*Vibrio carchariae* はサメに襲われた咬傷部位から検出されたのが初めての報告である[11]。*Vibrio damsela* はスズメダイに膿瘍性病変を起こす菌として報告[12]され，ヒトの場合では魚のヒレなどでケガをしたことを契機に創部感染を引き起こすことがある。*Vibrio cincinatiensis* は，髄膜炎を起こした患者の血液と髄液か

ら検出された *Vibrio* 属として 1986 年に報告された[13]。

V. cholerae 以外の *Vibrio* 属については，感染症法で届出を義務付けられた病原体はないものの，小児科定点の感染性胃腸炎の届出に該当する症例であれば週単位で報告する必要があるため，当該医療機関においては留意する必要がある。一方，食中毒が疑われる症例では食品衛生法で届出が義務付けられているため，保健所へ速やかに届け出る必要がある。

【分類】

グラム陰性通性嫌気性菌の中でブドウ糖を発酵によって分解し，極単毛性の鞭毛を持っており，オキシダーゼ陽性（一部に陰性あり）の菌が *Vibrionaceae* いわゆるビブリオ科に分類され，腸内細菌科細菌とは異なる科に属している。これらの生化学的性状の違いを**表 1-2-6-7** に示した。ビブリオ科には 6 つの属が存在しているが，なかでも *Vibrio* 属の菌は約 147 種報告されており，これらのうちヒトに対して病原性を示すことがわかっている *Vibrio* 属の菌は *V. cholerae* を含めると 12 菌種ある。これら 12 菌種のうちで *V. cholerae* および *V. mimicus* 以外の 10 菌種は NaCl 存在下でなければ発育できない性質を有しており，この性質は好塩性（halophilism）と呼ばれる。*V. parahaemolyticus* は 1950 年に大阪府で発生したシラス干しによる大規模な食中毒の原因菌として藤野ら[14]によって初めて報告された。当初は *Pasteurella* 属に分類されていたが，後に *Vibrio* 属へと移行した。また，*V. parahaemolyticus* は O 抗原と K 抗原を有し，その組み合わせによっていくつかの血清型に分けられる。O3：K6 型が世界的な流行型であるとされている[15]。また，病原因子として耐熱性溶血毒およびその類似溶血毒という蛋白質性溶血毒があり，どちらの毒素も細胞膜に孔を形成し，腸管毒性と心臓毒性を有する。食中毒患者から検出される *V. parahaemolyticus* の大半はこれらの毒素を産生する病原性株であるのに対して，環境や食品から検出される株のほとんどは非病原性株であり，病原性株が占める割合は *V. parahaemolyticus* 全体の 1％程度である。*V. vulnificus* はインドール産生，オルニチン脱炭酸，糖分解能によってさらに細かく biogroup 1〜3 に分けられている（**表 1-2-6-8**）[16]。そのうち，biogroup 1 による感染の報告が米国では多い。その他の *Vibrio* 属については 2 菌種の分類が近年変更されている。*V. damsela* は *Photobacterium damselae* へと菌名が変更され，さらに *P. damsela* は *damselae* と *piscicida* の 2 亜種に細かく分けられた。また，*V. hollisae* は 2003 年に *Grimontia hollisae* へ変更され，*Grimontia* 属における基準種となっている。

表 1-2-6-7　類似したコロニーを形成する菌の分類

Test	属名			
	Vibrio	*Aero-monas*	*Plesio-monas*	*Entero-bacteriaceae*
オキシダーゼ	＋	＋	＋	−
Na^+要求性	＋	−	−	−
vibriostatic compound O/129 感受性	＋	−	＋	−
マンニトール	＋	＋	−	＋
TCBS 寒天培地での発育	＋	＋*	−	−

*発育するか否かは使用する TCBS 寒天培地によって異なる。

表 1-2-6-8　*Vibrio vulnificus* の biogroup 分類のための生化学的性状

Test	biogroup 別の試験結果		
	biogroup 1	biogroup 2	biogroup 3
オルニチン脱炭酸	V	−	＋
インドール	＋	−	＋
マンニトール	V	−	−
ソルビトール	−	＋	−
セロビオース	＋	＋	−
サリシン	＋	＋	−

V：11〜89%の菌株で陽性，＋：90〜100%の菌株で陽性，−：0〜10%の菌株で陽性
<文献 16）より引用>

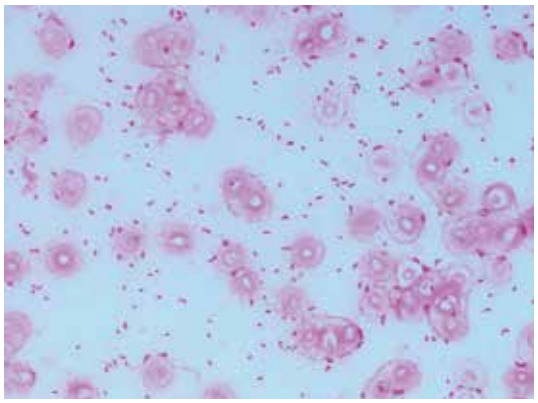


図 1-2-6-1　血液培養から検出された *Vibrio vulnificus* のグラム染色像（バーミー法×1000 倍）
やや湾曲した形状を示す菌体が確認できる。



図 1-2-6-2　TCBS 寒天培地に発育した *Vibrio vulnificus* のコロニー（自験例）

表 1-2-6-9　*Vibrio* 属の TCBS 寒天培地上での発育と色調

項目	菌種											
	V. cholerae	*V. mimicus*	*V. metschnikovii*	*V. cincinnatiensis*	*V. hollisae*	*V. damsela*	*V. fluvialis*	*V. furnissii*	*V. alginolyticus*	*V. parahaemolyticus*	*V. vulnificus*	*V. carchariae*
発育	あり	あり	あり	あり	なし	不良	あり	あり	あり	あり	あり	あり
色調	黄色	青色	黄色	黄色	—	—	黄色	黄色	黄色	青色	青色	黄色

【形態】

通性嫌気性のグラム陰性桿菌で，直線状あるいはやや湾曲（コンマ状）の形態をしている。大きさは 0.5〜0.8 μm×1.4〜2.6 μm で，運動性を有する[17]。血液培養から検出された *V. vulnificus* のグラム染色像を**図 1-2-6-1** に示す。先述のようにやや湾曲した形態を示す菌体が複数確認できる。

【培養】

Vibrio 属の培養に用いる培地には糖分解用性を利用した Thiosulfate-Citrate-Bile Salts-Sucrose（TCBS）寒天培地やビブリオ寒天培地がなどあり，酵素基質を利用したものにクロモアガービブリオ培地などがあるが，TCBS 寒天培地が世界的にみても最も一般的に用いられている。各菌種の TCBS 寒天培地上での色調と発育の有無を**表 1-2-6-9** に示す。表に示したように多くの *Vibrio* 属が TCBS 寒天培地に発育可能である。1 例として TCBS 寒天培地に発育した *V. vulnificus* のコロニーの写真を示す（**図 1-2-6-2**）。**図 1-2-6-2** のように白糖非分解の菌種は，TCBS 寒天培地上で青緑色コロニーを形成する。ただし，*V. hollisae* および *V. damsela* は TCBS 寒天培地に発育しないため，分離培養には血液寒天培地などを用いる。一部の菌種において選択性の強い TCBS 寒天培地に発育しないあるいは発育が不良な菌種もあるため，TCBS 寒天培地を使用している施設においては選択性の弱い培地あるいは非選択培地を併用することが望ましい。培養温度については多くの *Vibrio* 属が 35〜37℃で発育可能であるが，*V. damsela* は，至適発育温度が 25℃であることから前述の使用培地に加えて培養温度にも注意を要する。

【生化学的性状】

ほとんどの *Vibrio* 属はカタラーゼ試験およびオキシダーゼ試験陽性である。ただし，TCBS 寒天培地上に発育したコロニーを用いたオキシダーゼ試験は信頼性が低いため，実施すべきではない。実施したとしても参考値として扱うことが望ましい。*Vibrio* 属の生化学的性状を**表 1-2-6-10** に示す。*V. mimicus* と *V. parahaemolyticus* は TCBS 寒天培地上で青緑色コロニーを形成し，生化学的性状

表 1-2-6-10　*Vibrio* 属の生化学鑑別性状

Test	% Positive											
	V. cholerae	*V. mimicus*	*V. metschnikovii*	*V. cincinnatiensis*	*V. hollisae*	*V. damsela*	*V. fluvialis*	*V. furnissii*	*V. alginolyticus*	*V. parahaemolyticus*	*V. vulnificus* biogroup 1	*V. carchariae*
Indole*（1%NaCl）	99	98	20	8	97	0	13	11	85	98	97	100
Voges-Proskauer*（1%NaCl）	75	9	96	0	0	95	0	0	95	0	0	50
Citrate（シモンズクエン酸培地）	97	99	75	21	0	0	93	100	1	3	75	0
Arginine*（1%NaCl）	0	0	60	0	0	95	93	100	0	0	0	0
Lysine*（1%NaCl）	99	100	35	57	0	50	0	0	99	100	99	100
Ornithine*（1%NaCl）	99	99	0	0	100	0	0	0	50	95	55	0
Motility（36℃）	99	98	74	86	0	25	70	89	99	99	99	0
Glucose	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	50
Gas production	0	0	0	0	0	10	0	100	0	0	0	0
Arabinose*	0	1	0	100	97	0	93	100	1	80	0	0
Lactose*	7	21	50	0	0	0	3	0	0	1	85	0
Sucrose*	100	0	100	100	0	5	100	100	99	1	15	50
ONPG test*	94	90	50	86	0	0	40	35	0	5	75	0
NaCl 要求性												
0%	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6%	53	49	78	100	83	95	96	100	100	99	65	100
8%	1	2	44	62	0	0	71	78	94	80	0	2
10%	0	0	4	0	0	0	4	0	69	2	0	2

*がついた項目は日常の *Vibrio* 属の同定検査に推奨される検査項目。
1%NaCl と記載した項目は，発育増強のために NaCl を培地中に添加する。
<文献 21）を参考に作成>

も類似している。*V. mimicus* は NaCl 非要求性で，シモンズのクエン酸培地に発育する点で鑑別可能である。*V. fluvialis* と *V. furnissii* は，非常に類似した生化学的性状を有しており，ブドウ糖を分解してガスを産生するものが *V. furnissii*，産生しないものが *V. fluvialis* である。*V. vulnificus* は *V. parahaemolyticus* と同様に好塩性ビブリオであるが，乳糖分解，白糖非分解といった点が異なる。また，乳糖を分解する *Vibrio* 属はほとんどないため，他の *Vibrio* 属との鑑別点としても有用である。ただし，まれに（15%程度）白糖を分解する *V. vulnificus* がおり，TCBS 寒天培地上で黄色コロニーを形成することがある（**図 1-2-6-3**）。*V. vulnificus* の耐塩性試験を**図 1-2-6-4** に示す。NaCl 濃度が 3% と 6% で菌の発育を認める。*V. alginolyticus* の特徴は，10%NaCl 存在下でも発育可能であるという点である。この性質を有する *Vibrio* 属は一部の菌種のまれな陽性を除いては他にないため，鑑別点となる。*V. metschnikovii* はオキシダーゼ陰性，アルギニン陽性およびオルニチン陰性であり，*Vibrio* 属



図 1-2-6-3　白糖分解を示す *Vibrio vulnificus* のコロニー（自験例）
TCBS 寒天培地上で黄色コロニーを形成しており，白糖分解が示唆される。

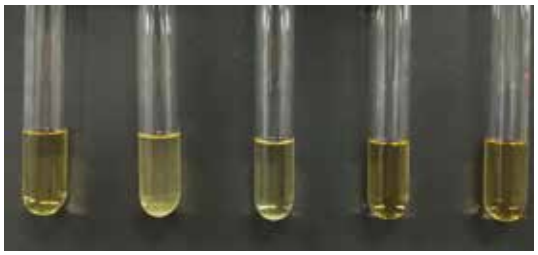


図 1-2-6-4　NaCl 要求性確認試験結果
左から 0%，3%，6%，8%，10%。3%および 6%NaCL 濃度で菌の発育が認められる。

としては例外的な性状を有している。*V. hollisae* と *V. damsela* はともに TCBS 寒天培地で発育不良であるという共通点を有するが，*V. damsela* は至適発育温度が 25℃であることが大きく異なる点である。また，この 2 菌種については発育温度以外にも生化学的性状の多くに違いがある。ほとんどすべての *Vibrio* 属が運動性を示すのに対して *V. carchariae* は 36℃で運動性を示さない。また，ブドウ糖を分解して酸を産生する株が 50％程度であるという点も他の *Vibrio* 属と異なっている。

【迅速検査】

質量分析装置を用いた菌種鑑別方法が検討されており，*V. cholerae* を含む *Vibrio* 属および近縁の *Aeromonas* 属などの鑑別が可能であるとの報告がある[18]。これは，菌種ごとに出現する特異的なピークがあり，ピークのパターンによって菌種を鑑別するという方法である。特殊な方法を用いずに質量分析装置のみで可能である点で迅速性に優れているといえる。また，近年話題になっている多項目遺伝子関連検査機器で糞便検体から直接 *Vibrio* 属（*V. parahaemolyticus*，*V. vulnificus*，*V. cholerae*）を検出可能なものが上市されている。日本ではまだほとんど導入がされていないため，網羅的遺伝子検索の導入による培養検査への影響等については今後の評価を待ちたい。また，網羅的遺伝子検索以外にも従来の遺伝子検査による *Vibrio* 属のさまざまな検出法が報告されている。特に *V. parahaemolyticus* は環境検査や食品検査の分野で遺伝子検査が導入されており，病原性株の鑑別を目的として毒素遺伝子の検出などに利用されている。また，*V. parahaemolyticus* の遺伝子検査に利用できるキットもいくつか販売されている。これらは主に研究用試薬であり，使用および結果の解釈にあたってはその点に留意する。

【抗菌薬感受性】

Vibrio 属の薬剤感受性試験については，CLSI が発行している M45 シリーズのドキュメントに記載されている[19]。培地は，微量液体希釈法では cation-adjusted Mueller Hinton Broth（陽イオン調整ミュラーヒントンブロス），ディスク拡散法では Mueller Hinton agar を使用する。菌液は McFarland 0.5 に調整したものを用いるが，NaCl 濃度が0.85％のものが推奨される。0.85％の NaCl を添加することで，添加しない場合より十分な菌量を得ることが可能となる。0.85％は生理食塩水とほぼ同等の濃度であることから，菌液調整には生理食塩水を用いることで代用も可能である。35±2℃で培養を実施し，ディスク法は 16～18 時間，微量液体希釈法は 16～20 時間後に判定を行う。*V. cholerae* 以外の *Vibrio* 属については，CTX，CAZ，フルオロキノロン，TC および DOXY の 5 系統の薬剤を測定することを推奨している。*V. cholerae* とは測定推奨薬剤が異なることに注意する。*V. cholerae* を除く *Vibrio* 属の微量液体希釈法でのブレイクポイントを**表 1-2-6-11** に示す。AZM および DOXY については，*in vitro* での十分

表 1-2-6-11　*Vibrio cholerae* 以外の *Vibrio* 属の薬剤感受性試験のブレイクポイント

抗菌薬	MIC（μg/ml）		
	Suscep-tible	Interme-diate	Resis-tant
Ampicillin	≦8	16	≧32
Amoxicillin-clavulanate	≦8/4	16/8	≧32/16
Ampicillin-sulbactum	≦8/4	16/8	≧32/16
Piperacillin	≦16	32〜64	≧128
Piperacillin-tazobactam	≦16/4	32/4〜64/4	≧128/4
Cefazolin	≦2	4	≧8
Cefepime	≦2	4〜8	≧16
Cefotaxime	≦1	2	≧4
Cefoxitin	≦8	16	≧32
Ceftazidime	≦4	8	≧16
Imipenem	≦1	2	≧4
Meropenem	≦1	2	≧4
Azithromycin	≦2	—	—
Amikacin	≦16	32	≧64
Gentamicin	≦4	8	≧16
Doxycycline	≦4	8	≧16
Tetracycline	≦4	8	≧16
Ciprofloxacin	≦1	2	≧4
Levofloxacin	≦2	4	≧8
Ofloxacin	≦2	4	≧8
Sulfamethoxazole-Trimethoprim	≦2/38	—	≧4/76

<文献 11）を基に作成>

なデータがないため，設定されたブレイクポイントの有用性については定かではないとの注釈があるため，これらの薬剤を臨床へ報告する際には留意する。AZM を除いては，CLSI の M100 ドキュメントに記載された腸内細菌科細菌の判定基準を適用しており，AZM については *Staphylococcus* 属の基準を適用して作られている。下痢を引き起こす *Vibrio* 属の治療に関しては，抗菌薬による治療は経過を短縮しないため，補液療法が中心となる。ただし，重症例ではフルオロキノロン，DOXY および注射薬の第 3 世代セファロスポリンの使用を考慮する。*V. vulnificus* による感染では，CAZ＋DOXY あるいはフルオロキノロン＋(CAZ または CTRX）が推奨されている[20]。*Vibrio* 属の薬剤感受性については十分なデータがないが，多くの抗菌薬に対して良好な感受性を示す。

文　献

1）Thompson FL, Hoste B, Swings J. 2004. Biodiversity of vibrios. Microbiol. Mol Biol Rev 68：403-431.
2）Feldhusen F. 2000. The role of seafood in bacterial foodborne diseases. Microbes Infect 2：1651-1660.
3）Lipp EK, Rose JB. 1997. The role of seafood in foodborne diseases in the United States of America. Rev Sci Tech 16：620-640.
4）厚生労働省．2017．平成 29 年（2017 年）食中毒発生状況病因物質別発生状況．食中毒統計資料．https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/syokuchu/04.html
5）大石浩隆，浦由紀子，三溝慎次ほか．2006．わが国における *Vibrio vulnificus* 感染症患者誌上調査．感染症誌 80：680-689.
6）Wong HC, Liu SH, Ku LW, et al. 2000. Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* Isolates Obtained from Foodborne Illness Outbreaks during 1992 through 1995 in Taiwan. J Food Prot 63：900-906.
7）Yeng PSM, Boor KJ. 2004. Epidemiology, Pathogenesis, and prevention of foodborne Vibrio parahaemolyticus. Foodborne Pathog Dis 1：74-88.
8）Huq MI, Alam AKMJ, Brenner DJ, et al. 1980. Isolation of *Vibrio*-like group, EF-6, from patients with diarrhea. J Clin Microbiol 11：621-624.
9）Morris SG Jr, Wilson R, Davis BR, et al. 1981. Non-O group 1 Vibrio cholerae gastroenteritis in the United States：clinical, epidemiologic, and laboratory characteristics of sporadic cases. Ann lntern Med 94：656-658.
10）Feingold MH, Kumar ML. 2004. Otitis media associated with Vibrio alginolyticus in a child with pressure equalizing tubes. Pediatr Infect Dis J 23：475-476.
11）Pavia AT, Bryan JA, Maher KL, et al. 1989. *Vibrio carcharie* infection after shark bite. Ann Intern Med 111：85-86.
12）Love M, Fisher DT, Hose JE, et al. 1981. *Vibrio damsela* a marine bacterium, causes skin ulcers on the damselfish Chromis punctipinnis. Science 214：1139-1140.
13）Brayton PR, Bode RB, Colwell RR, et al. 1986. *Vibrio cincinnatiensis* sp. nov., a new human pathogen. J Clin Microbiol 23：104-108.
14）Fujino T, Okuno Y, Nakada D, et al. 1953. On the bacteriological examination of shirasu-food poisoning. Med J Osaka Univ 4：299-304.
15）Okuda J, Ishibashi M, Hayakawa E, et al. 1997. Emergence of a unique O3：K6 clone of *Vibrio parahaemolyticus* in Calcutta, India, and isolation of strains from the same clonal group from Southeast Asian travelers arriving in Japan. J Clin Microbiol 35：3150-3155.
16）Bisharat N, Agmon V, Finkelstein R, et al. 1999. Clinical, epidemiological, and microbiological features of *Vibrio vulnificus* biogroup 3 causing outbreaks of wound infection and bacteraemia in Israel. Lancet 354：1421-1424.

17）Farmer JJⅢ, Janda JM, Brenner FW, et al. 2005. Genus Ⅰ. Vibrio Pacini 1854, 411AL, p.494-546. Brenner D, Kreig N, Staley JT, Garrity G, ed. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 2. The *Probacteria*, part B. The Gammaproteobacteria. Springer, New York, N. Y.
18）Ralf D, Strauch E, Alter T. 2010. Rapid identification and characterization of *Vibrio* species using whole-cell MALDI-TOF mass spectrometry. J Appl Microbiol 109：199-211.
19）Clinical Laboratory Standards and Institute. 2015. Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria, 3rd Edition. CLSI document M45-3ed.(Clinical Laboratory Standards and Institute ed.). Wayne, PA.
20）Menon MP, Yu PA, Iwamoto M, et al. 2014. Pre-existing medical conditions associated with *Vibrio vulnificus* septicaemia. Epidemiol Infect 142：878-881.
21）Sharon LA, Janda JM, Johnson JA, et al. 2007. *Vibrio* and Related Organisms, Chapter 47. p.723-733. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, ed. Manual of Clinical Microbiology, 9th Edition. ASM Press, Washington, DC.

7) *Aeromonas* 属

【分布・疫学】

Aeromonas 属は，河川，湖などの淡水域，河口付近の汽水域，その周辺の土壌，さらにその周辺に生息するカエルや魚介類などに広く分布している。飲料水や淡水魚などの生食でヒトに感染する。ヒトだけでなく魚類，爬虫類，および両生類にも病原性を示す。カエルの“red leg”，ウナギの“鰭（ヒレ）赤病”などの病原菌として認識されていた。ヒトに対する病原性は，1982 年に当時の厚生省が *A. hydrophila* と *A. sobria* を食中毒菌と認定したが，一般的に腸管感染症では *A. caviae* が，腸管外感染症では *A. hydrophila* および *A. sobria* が原因菌となることが多い。

【臨床的意義】

Aeromonas 属による感染症は，腸管感染症と腸管外感染症の 2 つに大別される。わが国での *Aeromonas* 属による腸管感染症は，集団感染事例は少なく，散発例が大半である。また，開発途上国への渡航者の海外旅行者下痢症に多く認められる。潜伏期間は約 12 時間とされ，その胃腸炎症状は軽度の水様性下痢と腹痛を伴い，ときに赤痢様下痢，コレラ様下痢など激しい下痢を起こすことがある。通常，健常人では自然治癒するが，免疫機能が低下した患者では重症化することがある。腸管外感染症は敗血症，創部感染症，肺炎，および尿路感染症などを起こす場合がある。

【分類】

Aeromonas 属は *Aeromonas* 科に属する通性嫌気性のグラム陰性桿菌である。かつては DNA hybridization group（HG 群）による分類が用いられてきたが，生化学的性状でこれらの HG 群を鑑別することはできないため，日常検査で HG 群による分類は用いられることはない。日常検査では，生化学的性状を用いて *A. hydrophila* complex，*A. caviae* complex および *A. veronii* complex の 3 つの complex に分類される。ヒトへの病原菌として *A. hydrophila*，*A. caviae* および *A. veronii* biovar *sobria*（*A. sobria*）の 3 菌種が重要である（**表 1-2-7-1**）。

a）形態

0.3〜1.0×1.0〜3.5 μm のグラム陰性桿菌である。液体培地中では極単毛，固形培地上では周毛性の鞭毛を有するため運動性がある。莢膜や芽胞は形成しない[1,2]。

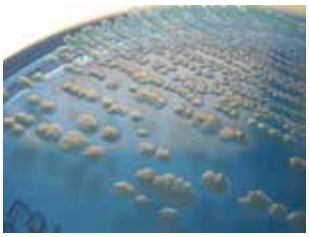
b）培養

Aeromonas 属は通性嫌気性で，35〜37℃の培養温度で発育するが 20〜25℃でも発育する。糞便からの分離には，SS 寒天培地，DHL 寒天培地，

表 1-2-7-1　*Aeromonas* 属の分類とヒトならびに動物への病原性[3]

菌種		ヒトへの病原性[a]	動物への病原性
Aeromonas hydrophila complex	*A. hydrophila* subsp. *hydrophila*	＋	＋
	A. hydrophila subsp. *dhakensis*	＋	−
	A. bestiarum	−	＋
	A. salmonicida	−	NA[b]
Aeromonas caviae complex	*A. caviae*	＋	＋
	A. media	＋	−
	A. eucrenophila	NA[b]	−
Aeromonas veronii complex	*A. veronii* biovar *sobria*	＋	＋
	A. veronii biovar *veronii*	＋	−
	A. jandaei	NA[b]	−
	A. trota	−	−
	A. schubertii	NA[b]	−
	A. encheleia	NA[b]	−
	A. allosaccharophila	−	＋
	A. popoffii	＋	−
	A. tecta	−	−

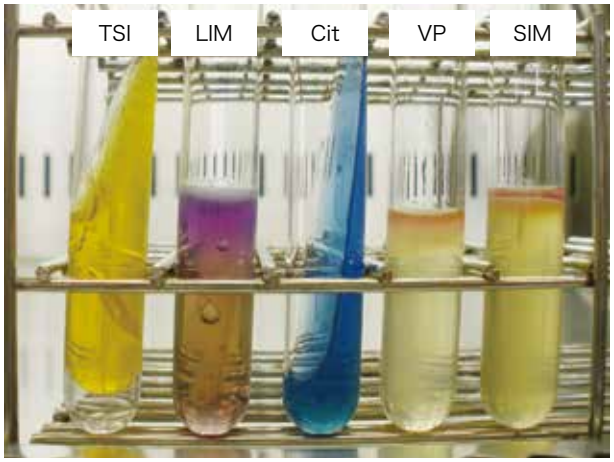
[a]：ヒトへの腸管感染症
[b]：not applicable
<Horneman AJ, Ali A. 2011. *Aeromonas*, Manual of Clinical Microbiology, Vol. 1, 10th ed, p.658-665. ASM press の一部を改変>


（1）BTB 乳糖寒天培地


（2）SS 寒天培地


（3）血液寒天培地


（4）DHL 寒天培地

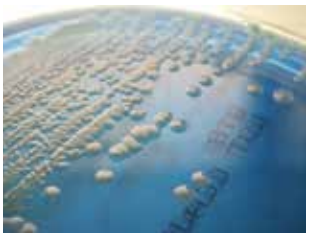


（5）各種鑑別配培地の性状

図 1-2-7-1　*A. hydrophila* の各種培地上での集落所見，ならびに各種鑑別培地での性状

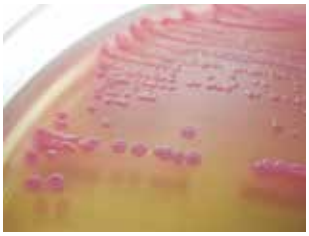
大気条件下，24 時間培養後の各種培地の集落所見は，乳糖非分解・白糖分解性のため BTB 乳糖寒天培地，SS 寒天培地では培地色の集落，DHL 寒天培地では白糖分解による赤色集落を形成する。血液寒天培地でβ溶血を示す。

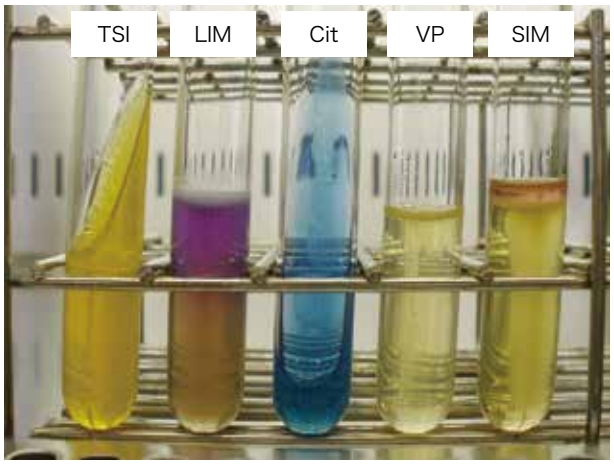
各種試験管培地の性状は，TSI 培地では A/AG，リジン脱炭酸反応（−），シモンズのクエン酸塩培地（+），VP 反応（+），インドール（+）を示す。


（1）BTB 乳糖寒天培地


（2）SS 寒天培地


（3）血液寒天培地


（4）DHL 寒天培地



（5）各種鑑別配培地の性状

図 1-2-7-2　*A. caviae* の各種培地上での集落所見，ならびに各種鑑別培地での性状

大気条件下，24 時間培養後の各種培地の集落所見は，乳糖非分解・白糖分解性のため BTB 乳糖寒天培地，SS 寒天培地では培地色の集落，DHL 寒天培地では白糖分解による赤色集落を形成する。血液寒天培地でβ溶血を示す。

各種試験管培地の性状は，TSI 培地では A/A，リジン脱炭酸反応（−），シモンズのクエン酸塩培地（+），VP 反応（−），インドール（+）を示す。

BTB 乳糖寒天培地などを用いる。血液寒天培地を併用するとβ溶血を示した集落を形成するため，分離率が向上する。TCBS 寒天培地には発育しない[1,2]。

35〜37℃で一晩培養すると SS 寒天培地，BTB 乳糖寒天培地では乳糖非分解の無色透明〜半透明の培地色の集落，DHL 寒天培地では白糖分解の赤色集落を形成する。血液寒天培地ではβ溶血の集落を形成する（**図 1-2-7-1（1）〜（4）**，**図 1-2-7-2（1）〜（4）**）。

表 1-2-7-2　*Aeromonas* 属ならびに *Plesiomonas* 属の主な生化学的性状

	OXI	TSI		Cit	LYN	ORN	ARG	VP	ESC	DNase
		斜面/高層	ガス産生							
Aeromonas hydrophila	＋	A/AG	＋	＋	−	−	＋	＋	＋	＋
Aeromonas sobria	＋	A/AG	＋	＋	−	−	＋	d	−	＋
Aeromonas caviae	＋	A/A	−	＋	−	−	＋	−	＋	＋
Plesiomonas shigeloides	＋	−/A	−	−	＋	d	＋	−	−	−

OXI：オキシダーゼ試験，LYN：リジン脱炭酸試験，ORN：オルニチン脱炭酸試験，ARG：アルギニン脱水素試験，ESC：エスクリン加水分解試験
−：negative，＋：positive，d：97%positive/3%negative，A：acid，G：gas
＜腸管感染症検査ガイドライン第 1 版，ならびに JAMT 技術教本シリーズ臨床微生物検査技術教本を一部改変＞

c）生化学的性状（表 1-2-7-2，図 1-2-7-1（5），図 1-2-7-2（5））

Aeromonas 属の一般的な生化学的性状は，ブドウ糖と白糖を発酵的に分解するが，乳糖は分解しない。リジン脱炭酸試験陰性，オルニチン脱炭酸試験陰性，クエン酸塩利用能試験陽性，DNase 陽性などが特徴的である。*Aeromonas* 属 3 菌種の鑑別性状として，糖分解によるガス産生性，VP 反応，およびエスクリン加水分解試験などが挙げられる。腸内細菌目細菌との鑑別にはオキシダーゼ試験陽性が重要である。*Plesiomonas* 属との鑑別には DNase 活性陽性，リジン脱炭酸およびオルニチン脱炭酸試験陰性が重要であり，*Vibrio* 属との鑑別には O/129（2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridine：150 μg）耐性が重要である。日常検査では各種自動分析器や同定キットを用いて同定を行うことが一般的であるが，結果の判定の際には，上述の基本的な生化学的性状をふまえたうえで総合的に菌種同定する必要がある。

d）迅速検査

Aeromonas 属をターゲットにした迅速診断薬は上市されていない。

e）治療・薬剤感受性

多くの菌株がβラクタマーゼを産生するためペニシリン系抗菌薬に耐性を示すが，カルバペネム系，ニューキノロン系およびアミノグリコシド系抗菌薬には感性を示す。なお，*Aeromonas* 属は染色体性誘導型セファロスポリナーゼや染色体性誘導型メタロβラクタマーゼを保有し，第 3 セフェム系抗菌薬，カルバペネム系抗菌薬に耐性を示す菌株が存在するので，特に腸管外感染症の場合は薬剤感受性検査は必須である。

腸管感染症の治療に関しては，健常人では自然治癒することが多く，抗菌薬療法の適応とはならない。腸管感染症の重症例に対して，JAID/JSC 感染症治療ガイド 2014 では，第一選択は LVFX もしくは CPFX を経口 1 回 500 mg・1 日 1 回・3〜5 日間，第二選択は CTRX 点滴静注 1 回 1〜2 g・1 日 1 回・3〜5 日間，もしくは AZM 経口 500 mg・1 日 1 回・3〜5 日間となっている[4]。

文　献

1) 松本哲哉 編．2017．A 細菌学各論　c. グラム陰性 通性嫌気性の桿菌，c-3 エロモナス属．p.155-156．最新臨床検査学講座　臨床微生物学（第 1 版）．医歯薬出版，東京．
2) 常岡英弘．2017．一般社団法人 JAMT 技術教本シリーズ 臨床微生物検査技術教本 9. 3. 14 エロモナス属（Genus *Aeromonas*）．p.169．丸善出版，東京．
3) Horneman AJ, Ali A. 2011. *Aeromonas*. p.658-665. Manual of Clinical Microbiology. Vol. 1. 10th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4) JAID/JSC 感染症治療ガイド・ガイドライン作成委員会 編．2014．XVI　腸管感染症．p.274-286．JAID/JSC 感染症治療ガイド 2014．日本感染症学会・日本化学療法学会，ライフサイエンス出版，東京．

8) *Plesiomonas* 属

【分布・疫学】

Plesiomonas 属は淡水域のみに存在し，河川，湖，沼およびそこに生息する魚類等に分布している。海水中には存在しない。淡水域での *Plesiomonas* 属の検出率は夏季に多く，季節的変動がある。それゆえ，過去の *Plesiomonas* 属による集団発生例や散発例は，初夏から初秋に発生している。*Plesiomonas* 属のヒトに対する病原性は，主に下痢症との関連が注目され，1982 年に当時の厚生省が食中毒菌と認定した。また，*Plesiomonas* 属による食中毒や旅行者下痢症では，混合感染事例が多く，他の食中毒菌や原虫などの検索にも留意する必要がある[1)]。

【臨床的意義（感染対策・法規を含む）】

Plesiomonas 属はわが国での分離頻度は少ないが，下痢症，特に海外旅行者下痢症の主要な原因菌である。免疫不全患者では，菌血症や敗血症を起こすことがある。汚染された水や魚類などから感染し，潜伏期間は 10〜20 時間である。臨床症状は下痢や腹痛で，ときに発熱を伴う。

食品衛生法では，食品，添加物，器具もしくは容器包装に起因する本菌による食中毒の患者もしくはその疑いのある者を診断，またはその死体を検案した医師は，食品衛生法第 58 条に基づきただちに最寄りの保健所にその旨を届け出なければならない。

【分類】

Plesiomonas 属は *Plesiomonas shigelloides* の 1 属 1 菌種である。以前は *Vibrio* 科に分類されていたが，2005 年に腸内細菌科（*Enterobacteriaceae*）に変更され，さらに 2016 年には，腸内細菌目細菌（*Enterobacterales*）に属するが腸内細菌科（*Enterobacteriaceae*）に属さない菌属（incertae sedis）として位置づけられている。

【形態】

0.8〜1.0×3.0 μm のグラム陰性桿菌である。菌体の端に数本の叢毛性鞭毛を有する[2)]。

【培養】

糞便からの分離には，BTB 乳糖寒天培地，SS 寒天培地，DHL 寒天培地を用いる。増菌培地にはアルカリペプトン水を用いる。35〜37℃で一晩培養すると BTB 乳糖寒天培地，SS 寒天培地，DHL 寒天培地のいずれも乳糖非分解の無色透明〜半透明の培地色の集落を形成し，*Shigella* 属菌の集落に類似する（**図 1-2-8-1(1)〜(4)**）[2,3)]。

【生化学的性状（表 1-2-7-2 参照）】

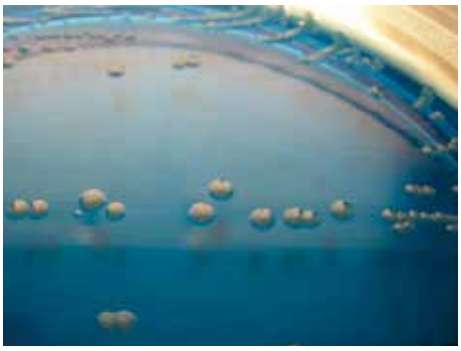
腸内細菌目細菌のなかで唯一オキシダーゼ試験が陽性である。*Plesiomonas* 属の一般的な生化学的性状は，ブドウ糖を発酵的に分解するが，乳糖・白糖非分解である。リジン脱炭酸試験陽性，オルニチン脱炭酸試験陽性，クエン酸塩利用能試験陰性，DNase 陰性，運動性陽性などが特徴的である（**図 1-2-8-2**）。他の腸内細菌目細菌との鑑別にはオキシダーゼ試験陽性が重要である。*Aeromonas* 属との鑑別には，DNase 活性陰性，リジン脱炭酸反応およびオルニチン脱炭酸反試験陽性が重要である。*Plesomonas* 属の O 抗原は，*Shigella sonnei* と共通抗原を有することから *S. sonnei* 抗血清で凝集するが，リジン脱炭酸試験陽性や運動性陽性など *Shigella* 属との鑑別は容易である。

【迅速検査】

Plesiomonas 属をターゲットにした迅速診断薬は上市されていない。

【治療・薬剤感受性】

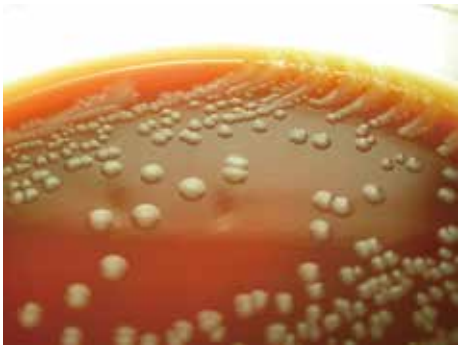
健常人の予後は極めて良好で 2〜3 日で自然治癒するため，特に抗菌薬療法を必要としない場合が多い。一方，基礎疾患を有する場合，菌血症が疑われる場合，重度の下痢により脱水，ショックを呈し，入院加療が必要な重症例では，抗菌薬療法が必要となる。JAID/JSC 感染症治療ガイド



1）BTB 乳糖寒天培地



2）SS 寒天培地



3）血液寒天培地



4）DHL 寒天培地

図 1-2-8-1　*P. shigelloides* の各種培地上での集落所見
大気条件下，24 時間培養後の各種培地の集落所見を示す。乳糖・白糖非分解であるために，BTB 乳糖寒天培地，SS 寒天培地，DHL 寒天培地では培地色の集落を形成する。血液寒天培地で溶血性を示さない。

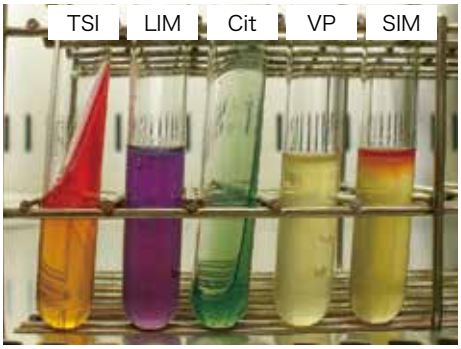


図 1-2-8-2　*P. shigelloides* の各種鑑別培地における性状
各種試験管培地による鑑別性状は大腸菌に酷似するが，オキシダーゼ試験陽性を示し，大腸菌との鑑別は容易である。

2019 では，第一選択は LVFX を経口 1 回 500 mg・1 日 1 回・3 日間（菌血症併発時には 14 日間），第二選択は AZM 経口 500 mg・1 日 1 回・3 日間となっている[4]。

文　献

1）塚本定三，本田俊一．1989．*Plesiomonas* と輸入下痢症．日本臨床 47(1 号)：58-62．
2）松本哲哉 編．2017．A 細菌学各論 c．グラム陰性 通性嫌気性の桿菌，c-1 腸内細菌科．p.149，最新臨床検査学講座 臨床微生物学（第 1 版）．医歯薬出版，東京．
3）小松方．2017．一般社団法人 JAMT 技術教本シリーズ 臨床微生物検査技術教本 9. 3. 12 プレジオモナス属（Genus *Plesiomonas*）．p.163．丸善出版，東京．
4）JAID/JSC 感染症治療ガイド・ガイドライン作成委員会 編．2019．XVI　腸管感染症．p.279．JAID/JSC 感染症治療ガイド 2019．日本感染症学会・日本化学療法学会，ライフサイエンス出版，東京．

9）黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）

【分布・疫学】

黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）はヒトを取り巻く環境や各種の哺乳動物，鳥類などに広く分布している。健常人の鼻，咽頭，腸管などに分布し健常人の本菌保有率は 20〜30％であるとされている[1)]。

【臨床的意義（感染対策，法規を含む）】

S. aureus は化膿巣形成から敗血症まで多彩な臨床症状を引き起こし，種々の市中感染症や耐性菌（メチシリン耐性黄色ブドウ球菌，Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*：以下 MRSA）による医療関連感染症の原因菌となる。多様な毒素を産生して毒素性ショック症候群等の重篤な感染症の起因菌となる。*S. aureus* が食品中で増殖すると，エンテロトキシン（staphylococcal enterotoxin）を産生してブドウ球菌食中毒の原因になる。

ブドウ球菌食中毒では *S. aureus* そのものが体内に取り込まれて増殖・発症するわけではないので糞便の分離培養検査は通常不要である。一般的には食品からの *S. aureus* 検出あるいは毒素の検出を行う。

食品衛生法では食品，添加物，器具あるいは容器包装に起因する本菌による食中毒の患者もしくはその疑いのある者を診断またはその死体を検案した医師は，食品衛生法第 58 条に基づきただちに最寄りの保健所にその旨を届け出なければならない。

【分類】

S. aureus は Koch（1878 年）により膿汁中から発見され，Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology 7 版（1957 年）では，*S. aureus* と *S. epidermidis* の 2 菌種のみが *Staphylococcus* 属の菌種として記載された。その後 *Staphylococcus* 属には新しい菌種が次々と追加され，2021 年現在，57 菌種 10 亜種が公表されている[2)]。

S. aureus はコアグラーゼ陽性が生物学的な特徴として知られており，コアグラーゼ陽性 Staphylococci（CPS）と呼ばれる。しかし，CPS は *S. aureus* に特異的な性状ではなく，*S. aureus* group と *S. hyicus-intermedius* group に属する 9 菌種・亜種でコアグラーゼ陽性株がみられる[3)]。

S. aureus はファージ型別，コアグラーゼ型別および遺伝子型別により亜型に分類されるが，現在では染色体 DNA の制限酵素による断片型別（パルスフィールドゲル電気泳動法）や rRNA 遺伝子による型別が一般的である。さらに全ゲノム解析（whole genome sequencing：WGS）も利用されつつある[4)]。

【形態】

S. aureus はグラム陽性の通性嫌気性球菌でブドウ状配列を示す。菌体直径が 0.8〜1 μm の球状であることから検鏡時に「1 μm ものさし」として利用できる。莢膜血清型が 11 種類知られているが，莢膜は薄く光学顕微鏡では観察できない。

【分離培養・同定】

S. aureus は通性嫌気性で，至適発育温度は 35〜40℃である。耐塩性で 10％NaCL の入った培地でも発育できる。一般分離培地として血液寒天培地，選択分離培地として CNA 血液寒天培地やマンニット食塩卵黄培地を用いる。膿汁やその他の検査材料処理法は他項を参照されたい。

ブドウ球菌食中毒の検査では，検体中のエンテロトキシンの証明が必要である。便培養を行って毒素産生性 *S. aureus* が分離された場合でも感染性腸炎の起因菌か否かの判断は困難である[5)]。*S. aureus* は健常人の便からしばしば分離され，エンテロトキシンを産生するものとしないものがある。腸管感染症における *S. aureus* による腸炎は存在自体が疑問視されており，日本感染症学会が作成した MRSA 感染症の治療ガイドライン 2014 年改定版においては同感染症の記載がみられない。

このようなことから，便からの *S. aureus* の分離培養は臨床的有用性に乏しく，感染対策上の必要性がある場合に保菌検査として実施されている。

毒素検査キットとして，SET-RPLA（デンカ生研），VIDAS SET2（日本ビオメリュー），TRANSIA Plate Staphylococcal Enterotoxins（MilliporeSigma），TECRA SET（3M）あるいは RIDA SCREEN SET（R-Biopharm AG）が市販されている。SET-RPLA，TRANSIA Plate および RIDA SCREEN はエンテロトキシン A～D の型別が可能である。なお，原因食品からの毒素検査はキットを使用して実施可能であるが，保険診療の観点などから医療施設の検査室で実施されていない。

【集落性状】

普通寒天培地で 35℃，24 時間好気培養すると直径 2 mm ほどの灰白色不透明なコロニーを形成する。水に不溶性のカロチン様色素を産生して弱く着色するが，菌名の由来のように明瞭な黄色とは言いがたい。ただし，グリセリンを加えた培地を室温で培養すると着色が促進する[4]。マンニット食塩卵黄培地上の発育は黄色で卵黄反応陽性，直径2～3 mm のコロニーを形成する（**図1-2-9-1**）。

【生化学的性状】

Stapylococcus 属の同定に最重要な生物学的性状としてグラム陽性ブドウ状球菌，通性嫌気性，食塩耐性そしてカタラーゼ産生が挙げられる。これに加えてオキシダーゼ，ノボビオシン感受性およびコアグラーゼ産生能によって *Staphylococcus* 属は 6 群に分類される。これら 6 群はさらに 15 のクラスターに細分されており，*S. aureus* は Epidermidis-Aureus 群の Aureus クラスターに属する。同クラスターには *S. aureus* subsp. *aureus*，*S. aureus* subsp. *anaerobius* および *S. simiae* が含まれている。いわゆる *S. aureus* は *S. aureus* subsp. *aureus* である[6,7]。

【毒素】

S. aureus のエンテロトキシンは水溶性で耐熱性であり，100℃30 分間の加熱でも失活しない。毒素は胃および小腸上部で吸収され，食品摂取後 1～6 時間，平均 3 時間で嘔気，嘔吐を主とした症状が現れる典型的な毒素型食中毒である。*Bacillus cereus* による嘔吐型食中毒と極めて近似しており，症状や経過から区別できない。



図 1-2-9-1　マンニット食塩卵黄培地に発育した *S. aureus* のコロニー（左側，右は CNS）

【治療・薬剤感受性】

S. aureus による食中毒は菌自体が体内に入る感染症ではないため，抗菌薬の投与は不要であり，輸液により水分・糖・電解質を補充して症状の改善を待つ。糞便中には一定割合に常在菌として *S. aureus* が存在する。便培養由来菌の薬剤感受性検査は主治医や感染対策チームと協議して実施の可否を決定する。腸管感染症における薬剤感受性検査の方法と解釈については別項（第 4 章 5 項）を参照。

【ピットホール】

- *S. aureus* は健常人の鼻，咽頭，腸管等に分布し，保有率は 20～30％である。
- *S. aureus* の分類学上の正式名称は *S. aureus ssp. aureus* であるが，臨床的には *S. aureus* でよい。
- ブドウ球菌食中毒は *S. aureus* の産生毒素による中毒なので便分離培養は不要である。
- MRSA 腸炎は存在自体が疑問視されている。

文　献

1）国立感染症研究所．感染症情報．https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/511-aureus.html（2018 年 5 月 24 日現在）

2） Euzeby JP. 1997. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature, Int J Sys Bacteriol 47：590–592. http://www.bacterio.net/-allnamessz.html.
3） 河村好章．2013．ブドウ球菌とレンサ球菌の分類・この10年の変遷　追補版（～2013. 3）．モダンメディア 59：183–193.
4） 梅田昭子．2007．ブドウ球菌とその関連球菌．p.460–468．戸田新細菌学（吉田眞一，柳雄介，吉開泰信編集）．南山堂，東京．
5） 五十君靜信．2009．B–1 Staphylococcus．p.424–438．食品由来感染症と食品微生物（仲西寿男，丸山努監修）．中央法規出版，東京．
6） Becker K, Heilmann C, Peters G. 2014. Coagulase–Negative Staphylococci. Clin Microbiol Rev 27：870–926.
7） Pantucek R, Sedlacek I, Petras P, et. al. 2005. *Staphylococcus simiae* sp. nov., isolated from South American squirrel monkeys. Int J Syst Evol Microb 55：1953–1958.

10）セレウス菌（*Bacillus cereus*）

【分布・疫学】

セレウス菌（*Bacillus cereus*：以下 *B. cereus*）は土壌や汚水など自然界に存在し，多くは芽胞として生存し，野菜や穀物などの農産物を汚染している[1)]。*B. cereus* 感染症はほとんど食中毒の形をとり，嘔吐型と下痢型がある。健常人の 14〜15％で腸管内で検出される。*B. cereus* の芽胞は接着性が強く，かつアルコール消毒で不活化されにくいとされている[2)]。

【臨床的意義（感染対策，法規を含む）】

B. cereus による感染症は食中毒の形を取り嘔吐型と下痢型がある。嘔吐型は潜伏期が 1〜5 時間で，悪心・嘔吐が主症状であり，この状態はブドウ球菌食中毒に酷似している。一方，下痢型は潜伏期が 8〜16 時間で，腹痛・下痢が主症状であり，*Clostridium perfringens* 食中毒に酷似している。下痢型では本菌が腸管内で増殖してエンテロトキシンを産生し発症する。わが国の *B. cereus* 食中毒は年間 10〜20 件程度であり，細菌性食中毒患者数の 1％前後である。嘔吐型がほとんどであり，特に抗菌薬療法は行われない。

食品衛生法では食品，添加物，器具あるいは容器包装に起因する本菌による食中毒の患者もしくはその疑いのある者を診断またはその死体を検案した医師は，食品衛生法第 58 条に基づきただちに最寄りの保健所にその旨を届け出なければならない。

日和見病原体としては術後感染が最も多く，次いで眼感染，心内膜炎，乳房炎などが続き，新生児感染も報告されている。乳幼児や高齢者など抵抗力の弱い者が敗血症まで進行する場合がある[3)]。

感染性胃腸炎は嘔吐型も下痢型も全般に軽症で一両日中に治癒する。*B. cereus* は多様な毒素や酵素の産生が知られており，セレウリド（嘔吐毒），エンテロトキシン（腸管毒）が代表的な毒素である。その他，セレオリジン（溶血毒素）やホスフォリパーゼなどの臨床的意義が研究されている[4)]。

【分類】

Bacillus 属の菌種は大別して *Bacillus subtilis* 群，*B. cereus* 群および *Bacillus sphaericus* 群に分けられる。*B. cereus* 群は *Bacillus anthracis*，*B. cereus*，*Bacillus mycoides* および *Bacillus thuringiensis* が含まれ，各々の性状が近似している。グラム染色による菌形態，コロニー性状，羊赤血球溶血性および運動性（鞭毛の形成）から鑑別する。*B. anthracis* および *B. subtilis* との鑑別性状を**表 1-2-10-1** に示した。

【形態】

グラム陽性好気性の大桿菌で両端は直角で弱いレンサ状配列を示す（**図 1-2-10-1**）。菌体の中央

表 1-2-10-1　*Bacillus cereus* 同定のための鑑別性状

性　状		*B. cereus*	*B. anthracis*	*B. subtilis*
糖発酵	ブドウ糖	＋	＋	＋
	アラビノース	−	−	＋
	キシロース	−	−	＋
ゼラチン液化		＋	＋	＋
羊赤血球溶血性		＋	−	＋
運動性		＋	−	＋
レシチナーゼ反応		＋	＋	−
硝酸塩還元		＋	＋	＋

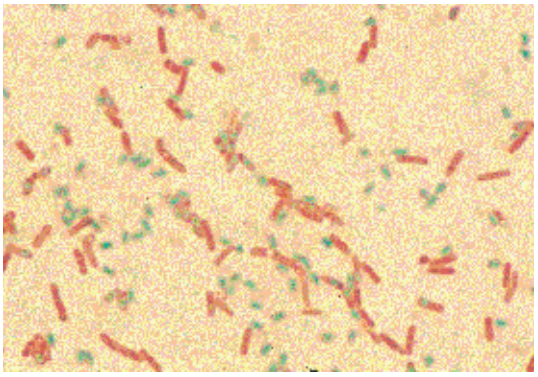


図 1-2-10-1　*B. cereus* の芽胞染色像（Wirtz 法）

部に楕円形の芽胞を有し，2 日間ほど培養すると速やかに芽胞を形成する。周毛性鞭毛を持ち莢膜はない。

【培養】

発育至適温度は 28〜35℃であるが発育温度域は 5〜50℃と広い。芽胞は 100℃ 30 分の加熱に耐える。普通寒天培地によく発育して，35℃で 24 時間培養すると直径 5 mm 程度の灰白色ラフ型の大きなコロニーを形成する。

便検体からの *B. cereus* 分離培地として Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin Agar（MYP 寒天培地），Polymixin B Clostridium Welchii Agar（PBCW 寒天培地）および NaCL-Glycine-Kim-Goepfect agar（NGKG 寒天培地）が市販されている。いずれの培地も *B. cereus* を選択的に分離するためにポリミキシン B が添加されている。MYP 寒天培地は卵黄液を加えた生培地であり，他の培地も卵黄液を加えて調製することにより卵黄反応が判定できる。運動性は SIM 半流動培地にて 35℃，一夜培養後に判定する。

図 1-2-10-2 に卵黄液加 TSA 寒天培地に発育した *B. cereus* のコロニー写真を示す。強い卵黄反応が見られる。

【生化学的性状・同定】

グラム陽性好気性の大桿菌で両端は直角であり，運動性陽性，カタラーゼ陽性，卵黄反応陽性および中央性の芽胞の存在を確認したうえで，VITEK などの自動機器を用いた菌種同定が可能である。MALDI-TOF MS による同定プロファイルに *B. cereus* が菌種として含まれている。

嘔吐型食中毒事例では，原因食や吐物中から *B. cereus* と嘔吐毒の検出を行う。下痢型では食品と糞便から *B. cereus* とエンテロトキシンの検査を行う。

楕円形の芽胞を形成していること（**図 1-2-10-1**），形状が *B. cereus* と一致し，血液寒天培地（羊）上で強い溶血性を示し，運動性陽性，VP 反応陽性で卵黄反応陽性（**図 1-2-10-2**）の場合に

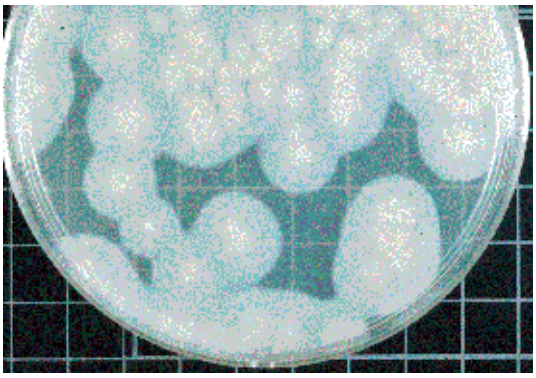


図 1-2-10-2　*B. cereus* のレシチナーゼ反応（卵黄寒天培地）

本菌を強く推定できる。ただし，本菌による食中毒を確定するには，検査材料から他の既知病原菌が検出されず，患者吐物あるいは糞便から 10^4〜10^6/g 個以上の *B. cereus* が検出されなければならない。

B. cereus enterotoxin（BCET）を検出するキットとして，CRET-RPLA（デンカ生研）あるいは BDE-VIA（Tecra 社）が市販されている[5]。また，リアルタイム PCR 装置があれば分離コロニーからセレウリド合成酵素遺伝子を検出するキット（タカラバイオ）が利用できる。

【治療・薬剤感受性】

B. cereus 食中毒患者に対しては，下痢や嘔吐に対する水分や栄養補給などの対症療法程度で，抗菌薬の投与は必要ないと考えられている[1]。

B. cereus による腸管外感染症の場合は微量液体希釈法にて薬剤感受性検査を実施する。CLSI 法に準拠して 35℃，20 時間後に判定する。薬剤感受性検査の方法と解釈については別項（第 4 章 5 項）を参照。

【ピットホール】

- *B. cereus* は自然界で芽胞として生存し，野菜や穀物などの農産物を汚染している。
- 日和見病原体として分離事例が増加しており敗血症まで進行する場合がある。
- *B. cereus* 食中毒は水分や栄養補給など対症療法で，抗菌薬治療は必要ない。

・コロニー形態や芽胞の形成など基本的な性状を確認してから機器同定を行う。

文　献

1）国立感染症研究所．感染症情報．セレウス菌感染症とは．https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/427-cereus-intro.html（2018 年 8 月現在）
2）坂崎利一編集．2000．2．*Bacillus cereus*．新訂 食水系感染症と細菌性食中毒より．中央法規出版，東京．
3）木下愛，重田雅代，岡部英俊ほか．2014．*Bacillus cereus* による感染性心内膜炎の 1 症例．医学検査 63：74–77．
4）安形則雄，大田美智男ほか．2002．3．セレウス菌．p.47–78．本田武司ほか編．細菌毒素ハンドブック．サイエンスフォーラム，東京．
5）細菌毒素検出キット CRET-RPLA「生研」キット添付説明書．2012 年改定版．デンカ生研株式会社．

11) *Listeria monocytogenes*

【分布・疫学】

Listeria monocytogenes は乳製品や食肉加工品などを介してヒトに感染し，リステリア症（listeriosis）の原因となるほか，ヒツジやウシなどの家畜に感染し髄膜炎，脳炎，敗血症，流産などの原因となる人畜共通感染症の病原体である。動植物を始め，土壌，水など自然界に広く分布している。

本菌は 1926 年にイギリスのケンブリッジで発生した，ウサギとモルモットを飼育する動物舎におけるアウトブレイクの際に E. G. D. マレーにより発見された[1)]。1929 年にはヒトのリステリア症が初めて報告されたが，その後，大規模な発生や事例数が少なかったためあまり注目されず，感染経路や疫学的背景など未だ不明な部分が多い。1980 年代に欧米諸国において牛乳，チーズ，野菜，食肉などの食品を原因とした集団発生が相次いで報告され，ヒトにおける食中毒の原因菌としてその名が広く一般に知られることとなった。一方，わが国では集団発生の報告はなく，食品が疑われる事例でも感染源や感染経路が明らかにされたものはない。なお，本菌の名称である monocytogenes は，生菌をウサギに接種し末梢血を調べると単球増多（monocytosis）をきたすことより名付けられたが，ヒトにおいては必ずしも単球増多はみられない。

【臨床的意義（感染対策，法規を含む）】

L. monocytogenes は食品衛生法施行規則において食中毒原因微生物として指定されているが，病原大腸菌や *Salmonella* などによる細菌性食中毒のような典型的な急性胃腸炎症状は通常示さないことが多い。病型としてはヒトでは髄膜炎が最も多く，次いで敗血症，髄膜脳炎，動物では脳炎のほか敗血症，流産などがある。健康な成人においては症状が軽微であり，大量の生菌（10^7 CFU 以上）を摂取した場合に，多くは数日程度で下痢，腹痛，発熱，頭痛，筋肉痛などの症状を呈する（非侵襲性リステリア症）。これに対して高齢者や妊婦，免疫機能の低下した患者や乳児，新生児などでは感染のリスクが高く，特に妊婦の感染リスクは健康成人と比較して 10 倍高いという報告がある。これらの集団においては発症した際の症状が重篤（侵襲性リステリア症）であり，重症化した場合は髄膜炎や敗血症へと進展し致死率が 20〜30％と非常に高い。また，菌は胎盤関門を通過するため，妊婦から子宮内の胎児に垂直感染が起こり，流産や早産，死産の原因となる。

L. monocytogenes は食品とともに経口的に摂取され，マクロファージに貪食されファゴゾームに取り込まれた後，細胞膜傷害性毒素である Listeriolysin O を産生して膜に孔をあけて細胞質に移行し，宿主細胞の有する殺菌機構から逃れることが可能である。細胞質に移行したあとには，細胞の一端でアクチンを重合してこれを推進力として細胞内を移動し（アクチンロケット），隣接する細胞に侵入・感染する[2)]。これを繰り返し，血管内に侵入，脾臓，肝臓を経て全身に拡散する。これらの機構により，マクロファージなどの細胞内でも殺菌されず，細胞内寄生が可能となる。したがって，本菌の感染防御には細胞性免疫が非常に重要となると考えられている。*L. monocytogenes* の病原因子として報告されている主なものを**表 1-2-11-1** に示した[3)]。

本菌による感染症は潜伏期間が 1 日〜2 ヵ月（平均 3 週間程度）と幅が広いため，集団感染事例の場合でも発症時期がバラバラであることが多く，原因食品を特定することが困難である。

食品衛生法では，食品，添加物，器具もしくは容器包装に起因する本菌による食中毒の患者もしくはその疑いのある者を診断，またはその死体を検案した医師は，食品衛生法第 58 条に基づきただちに最寄りの保健所にその旨を届け出なければならない。

【分類】

Listeria 属は現在，21 菌種からなり[4)]，そのうち

表 1-2-11-1　*L. monocytogenes* の主な病原因子

The adhesive protein（LAP）	・分子量約 104 kDa のタンパク質 ・腸管上皮への接着に関与
Internalines（InlA，InlB，InlC など）	・宿主細胞への接着，侵入に関与 ・InlA は E-cadherin と，InlB は MET 受容体および GC1QR と結合し，受容体を介したエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれる
Listeriolysin O	・病原因子遺伝座 LPI-1 に位置する *hly* 遺伝子によってコードされる溶血素 ・コレステロール依存性膜障害毒素であり，ファゴゾームに膜貫通孔を形成し，菌の細胞質への脱出に寄与する
Phospholipases C（PlcA，PlcB）	・病原因子遺伝座 LPI-1 に位置する *plcA* および *plcB* 遺伝子によってコードされる ・宿主細胞の脂質二重膜を障害し，隣接細胞への侵入に関与する
ActA	・病原因子遺伝座 LPI-1 に位置する *actA* 遺伝子によってコードされる ・菌体の一端に極性を有して発現し，アクチン重合を促進し，アクチンロケットによる菌の移動と隣接細胞への侵入，感染に関与する

＜文献 3）より一部改変＞

狭義の *Listeria* 属に属するものとして *L. monocytogenes*，*L. seeligeri*，*L. ivanovii*，*L. marthii*，*L. welshimeri*，*L. innocua* などが挙げられる。ヒトに病原性を示すのは *L. monocytogenes* のみである。*L. monocytogenes* は O（菌体）抗原および H（鞭毛）抗原により 13 種類（1/2a，1/2b，1/2c，3a，3b，3c，4a，4ab，4b，4c，4d，4e，7）の血清型に分けられるが，ヒトの症例から分離されるのはほとんどが 1/2a，1/2b および 4b の 3 型であり[5]，特にわが国では血清型 4b が臨床分離株の 6 割を占めている。

【形態】

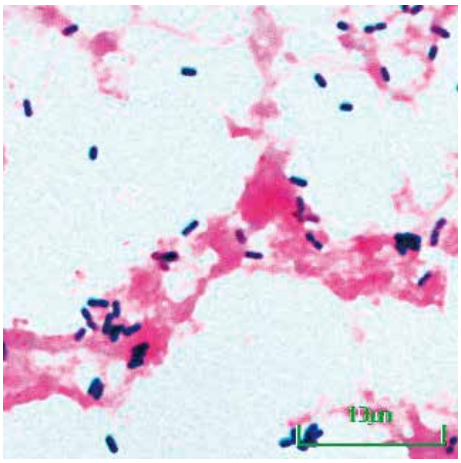
L. monocytogenes は両端鈍円のグラム陽性短桿菌（**図 1-2-11-1**）で，大きさは 0.5〜2 μm×0.4〜0.5 μm，芽胞および莢膜をつくらず，分岐もない。古い培養菌では染色性が不定となる。1〜5 本の周毛性鞭毛を有し，28℃で活発な運動性を示す。

【培養】

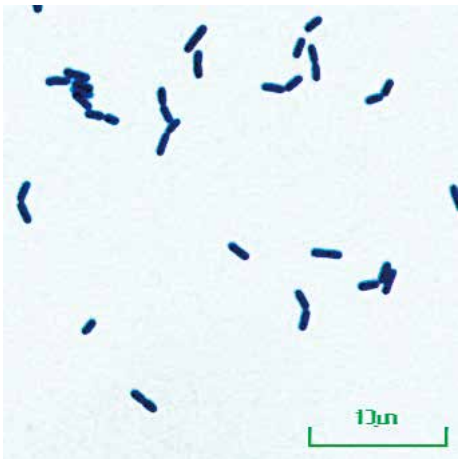
リステリア症はその症状のみでは他の一般的な細菌感染によるものとの鑑別が困難であり，確定診断には *L. monocytogenes* の分離同定が重要となる。*L. monocytogenes* は普通寒天培地には発育不良であるが，血液培養用の液体培地や血液寒天培地により比較的容易に分離できる。糞便検体から本菌を分離する場合にはコリスチンおよび AZT を添加した CA 血液寒天培地などのグラム陽性菌用の選択分離培地が有用となる。食品中の *L. monocytogenes* の検出には，クロモアガーリステリア培地やパルカム寒天培地といった選択培地を用いる。*L. monocytogenes* の発育可能温度域は 0〜45℃と広く，発育至適温度は 30〜37℃であるが，5℃の低温でもわずかながら発育できる。その他，高い塩濃度や幅広い pH 域（4.4〜9.4）などの過酷な環境でも生育可能な点が本菌の特徴の一つとして挙げられる[6]。なお，22〜30℃の温度域では運動性を有するが，37℃になると鞭毛の発現が起こらず運動性を示さない[7]。*L. monocytogenes* は 35℃，24〜48 時間培養で直径 0.5〜1.5 mm の小さな S 型集落をつくり，血液寒天培地上では多くの場合，弱い β 溶血を示す（**図 1-2-11-2**）。また，本菌は通性嫌気性菌であるが，好気培養よりも微好気培養（炭酸ガス培養）のほうが発育がよい。この性質により，半流動高層培地に穿刺培養をすると培地表面から数 mm 程度下に「umbrella motility」と呼ばれる雨傘状の発育が認められる（**図 1-2-11-3(1)**）。

【生化学的性状】

L. monocytogenes とその主な近縁種の生化学的性状を**表 1-2-11-2** に示す[8]。各種分離培地にて疑わしい集落の発育を認めた場合，グラム染色で両端鈍円のグラム陽性短桿菌，カタラーゼテスト陽性であることを確認したうえで，各種同定キットや自動分析機器にて同定する。その他の性状としては，オキシダーゼテスト陰性，ブドウ糖などを分解して酸を産生するがガスは非産生，VP 反応陽性，インドールテスト陰性，馬尿酸加水分解



血液培養陽性ボトル中の *L. monocytogenes* のグラム染色像



血液寒天培地にて 24 時間培養後のグラム染色像

図 1-2-11-1　*L. monocytogenes* のグラム染色像



35℃ 24 時間培養後の集落

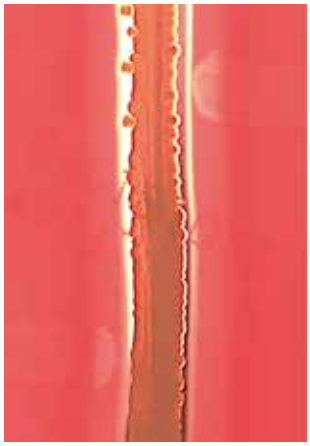


血液寒天培地上の集落のβ溶血

図 1-2-11-2　血液寒天培地上の *L. monocytogenes* の集落



1）半流動高層培地穿刺培養による umbrella motility



2）*S. aureus* を用いた CAMP テスト

図 1-2-11-3　*L. monocytogenes* の特徴的な性状

陽性を示す。また，本菌は血液寒天培地上では弱いβ溶血を示すが，この溶血は CAMP（Christic-Atkin-Munch-Peterson）テストで *Staphylococcus aureus* の産生するβ溶血素により増強され，明確な溶血を示すのが特徴で，この性状は本菌の同定に重要である（**図 1-2-11-3(2)**，**表 1-2-11-2**）。

【迅速検査】

リステリア症を診断するための遺伝子検査法として広く臨床応用されているものは現時点では存在しないが，食品または環境由来検体中の *L. monocytogenes* の検出には LAMP（Loop-mediated Isothermal Amplification）法が利用できる。

表 1-2-11-2　*L. monocytogenes* の鑑別性状

性状	*L. monocytogenes*	*L. seeligeri*	*L. ivanovii* subsp. *ivanovii*	*L. ivanovii* subsp. *londoniensis*	*L. welshimeri*	*L. innocua*	*L. grayi*
溶血性	＋	＋	＋（溶血環広い）	＋（溶血環広い）	−	−	−
CAMP 試験※							
S. aureus	＋	＋	−	−	−	−	−
R. equi	−	−	＋	＋	−	−	−
マンニット	−	−	−	−	−	−	＋
L-ラムノース	＋	−	−	−	＋/−	＋/−	＋/−
D-キシロース	−	＋	＋	＋	＋	−	−
リボース	−	−	＋	−	−	−	＋/−
澱粉	−	不明	−	−	不明	−	＋
馬尿酸加水分解	＋	不明	＋	＋	不明	＋	−
病原性（ヒト）	＋	きわめてまれ	−	−	−	きわめてまれ	−
病原性（マウス）	＋	−	＋	不明	−	−	−
血清型	1/2a, 1/2b, 4b が多い	1/2b, 4c, 4d, 6b	5	5	6a, 6b	4ab, 6a, 6b	

※ *Staphylococcus aureus*, *Rhodococcus equi*
<文献 8）より一部改変>

LAMP 法により，*L. monocytogenes* の保持する侵入性関連遺伝子 *iap* の核酸配列を認識するプライマーを用いて核酸の増幅反応を行い，その増幅の有無から特異的に本菌を検出する。その他，*L. monocytogenes* の溶血毒である Listeriolysin O をコードする *hly* 遺伝子を標的としたリアルタイム PCR 法が報告されている[9]。

【治療・抗菌薬感受性】

L. monocytogenes は ABPC，TC，GM，EM などに感性であるが，セフェム系薬剤は無効である。リステリア症の治療は患者の症状によって異なり，症状が軽微な場合は特に治療の必要はないが，髄膜炎や菌血症，発熱を伴う胃腸炎などの場合は抗菌薬治療を行う。発熱を伴う胃腸炎では AMPC 経口や ST 合剤経口が用いられる[10]。

文　献

1）Vázquez-Boland JA, Kuhn M, Berche P, et al. 2001. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. Clin Microbiol Rev 14(3)：584-640.
2）Radoshevich L, Cossart P. 2018. *Listeria monocytogenes*：toward a complete picture of its physiology and pathogenesis. Nat Rev Microbiol 16(1)：32-46.
3）Chlevicz A, Śliżewska K. 2018. Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as Zoonotic Foodborne Diseases：A Review. Int J Environ Res Public Health 15(5)：863.
4）LPSN-List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. https://lpsn.dsmz.de/
5）食品安全委員会．2013．微生物・ウイルス評価書　食品中のリステリア・モノサイトゲネス．
6）McNeill C, Sisson W, Jarrett A. 2017. Listeriosis：A Resurfacing Menace. J Nurse Pract 13：647-654.
7）Peel M, Donachie W, Shaw A. 1988. Temperature-dependent expression of flagella of *Listeria monocytogenes* studied by electron microscopy, SDS-PAGE and western blotting. J Gen Microbiol 134(8)：2171-2178.
8）小栗豊子ほか．2011．グラム陽性桿菌の同定．p.107-109．臨床微生物検査ハンドブック第 4 版．三輪書店，東京．
9）Guilbaud M, de Coppet P, Bourion F, et al. 2005. Quantitative detection of *Listeria monocytogenes* in biofilms by real-time PCR. Appl Environ Microbiol 71(4)：2190-2194.
10）Gilbert DN, Chambers HF, Eliopoulos GM, et al. 2018. The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy. 48th ed.

12）ウエルシュ菌（*Clostridium perfringens*）

【分布・疫学】

ウエルシュ菌（*Clostridium perfringens*）は *C. novyi*，*C. septicum*，*C. sordellii*，*C. fallax* および *C. histolyticum* などとともに組織障害性 *Clostridium* の一員である。ガス壊疽菌群とも呼ばれる。これらの *Clostridium* はヒトの腸管内に常在しており，エンテロトキシン非産生で易熱性芽胞形成菌（100℃数分の加熱で死滅）である。一方，腸炎起因菌として分離される *C. perfringens* はエンテロトキシンを産生する耐熱性芽胞形成菌（100℃，1〜3 時間でも生残）である。発育至適温度は 43〜47℃にあり，45℃での分裂時間が約 10 分間と短い。

C. perfringens は少なくとも 12 種類の毒素を産生することが知られており，このうち，α，β，ε および ι の組み合わせによりA型からE型までの 5 つの毒素型に分類されている（**表 1-2-12-1**）[1]。

【臨床的意義（感染対策，法規を含む）】

C. perfringens による感染症は腹腔内や軟部組織でみられる壊死性感染症と感染性胃腸炎（感染型食中毒）に分類される。

食品衛生法では食品，添加物，器具あるいは容器包装に起因する本菌による食中毒の患者もしくはその疑いのある者を診断またはその死体を検案した医師は，食品衛生法第 58 条に基づきただちに最寄りの保健所にその旨を届け出なければならない。

外傷などにより *C. perfringens* が感染した場合，感染局所の壊死，血行障害などによる局所の酸化還元電位の低下により壊死巣が拡大し，筋層まで進むとガス壊疽となる。致命率が 15〜30％に及ぶ重篤な感染症である。ヒトの創傷感染でガス壊疽をきたすのはA型菌である。なお，病巣が筋組織まで至らずに皮下組織までで広がっていく場合は嫌気性蜂巣炎と言われる。

急性胃腸炎（感染型食中毒）はA型 *C. perfringens* の産生するエンテロトキシンによって発症する。潜伏時間は 8〜20 時間であり，腹部膨満感に始まり，主症状として腹痛と下痢を呈する。吐き気を伴うが嘔吐や発熱はまれであり，下痢も 1 日数回で一両日には全快する。エンテロトキシンは他の毒素と異なり芽胞を形成するときだけ産生され，栄養型菌の増殖中には産生されない[3]。

表 1-2-12-1　*Clostridium perfringens* の毒素型

毒素 / 型	α	β	ε	ι	疾病
A	＋	−	−	−	ガス壊疽，食中毒
B	＋	＋	＋	−	腸性毒血症（動物）
C	＋	＋	−	−	壊死性腸炎（まれ）
D	＋	＋	−	−	腸性毒血症
E	＋	−	−	＋	病原性不明

【分類】

C. perfringens はユーバクテリア目（*Eubacteriales*），クロストリジウム科（*Clostridiaceae*）の *Clostridium* 属に含まれる。

C. perfringens によるガス壊疽や食中毒の大部分はA型菌による感染症である。そのためにA型菌の疫学解析を目的としたHobbsの型別用免疫血清1〜17型が市販されている（耐熱性A型ウエルシュ菌免疫血清「生研」）。しかしながら，特定の血清型に凝集した場合でも血清型と病原性は必ずしも一致しない[4]。

【形態】

グラム陽性で 0.6〜2.4×1.3〜19.0 μm の大型桿菌である。菌体はまっすぐで両端は鈍円である。菌体中央あるいは端よりに楕円形の芽胞を形成する。芽胞による菌体の膨張は見られない。しかしながら，通常の分離培養では芽胞がほとんど形成されない。芽胞形成用の培地としてEllner培地やDuncan and Strong培地などが考案されている。他の *Clostridium* 属と異なり鞭毛を持たない。

【培養】

食中毒の原因となる *C. perfringens* は，通常，耐熱性芽胞形成菌である。糞便検体は加熱処理後培養を行う。食品中で増殖した *C. perfringens* は無芽胞の状態であるが，急性期の便からは 10^6 CFU/g 以上の *C. perfringens* が芽胞状態で排泄される。このため，便検体は 100℃，10 分間加熱した後に 24 時間嫌気培養を行う。便の加熱は滅菌生食を用いて 5〜10 倍程度に懸濁して行う。増菌培養を行う場合はチオグリコレート培地に接種して再度 100℃，10 分加熱してから培養を行う。嫌気度の要求性は高くない。1〜2 日間培養して濁りと気泡が観察されたら選択培地に分離培養を行う。

分離平板には卵黄加 CW 寒天平板，増菌培地には TGC ブイヨンが汎用されている。CW 寒天にはカナマイシン（KM）含有培地と不含培地があるが，検体から直接分離したときは KM 含有培地を，加熱処理した検体を直接塗抹するときには不含培地を用いて嫌気培養を行う。

寒天平板上に発育したレシチナーゼ反応陽性の *C. perfringens* 様集落を対象に，RPLA 法や PCR 法でエンテロトキシン産生性を調べる。そして，エンテロトキシン陽性の場合は血清型別試験を行う。

なお，本菌の同定には「α 抗毒素濾紙」を用いたレシチナーゼ抑制試験が行われていたが，最近「α 抗毒素濾紙」の市販が中止された。食中毒検査においては，ウェルシュ菌様集落についてエンテロトキシン産生性を確認すれば十分と考えられる[5]。

【集落性状】

37℃，24 時間の嫌気培養後に直径 2〜4 mm の正円形，表面平滑な S 型乳白色コロニーを形成する。血液寒天培地では溶血環を形成するが，ときとして二重の溶血環を形成する[2]。卵黄加 CW 寒天培地ではコロニー周辺に 3〜8 mm の真珠色の混濁環（卵黄反応：レシチナーゼ反応とも言う）を形成する。

【生化学的性状・同定】

加熱処理後の便材料からレシチナーゼ陽性の嫌気性菌が分離された場合，*C. perfringens* を疑う。卵黄寒天培地上のレシチナーゼ反応は本菌同定の重要な性状であり，*C. perfringens* を同定するために基本となる性状を**表 1-2-12-2** に示した。

C. perfringens は VITEK などの自動機器を用いた菌種同定が可能である。MALDI-TOF MS による同定プロファイルに菌種として含まれている。

腸管毒素 *Clostridium perfringens* エンテロトキシン（CPET）を検出するキットとして，PET-RPLA（デンカ生研）等がある。

C. perfringens と同定され，エンテロトキシンが検出された場合は *C. perfringens*（エンテロトキシン陽性ウェルシュ菌）と報告できる。なお，集団食中毒の原因菌とするには以下の条件を満たす必要がある。

- 培地上に多数の *C. perfringens* が分離される。
- 集団発生の場合は患者便から *C. perfringens* が検出され血清型がほぼ一致している。
- 原因食品からも患者便からと同じ血清型菌が検出される。
- 急性期の患者糞便中から *C. perfringens* エンテロトキシンが検出され，分離菌株からもエンテロトキシンが検出される。

健康人ではエンテロトキシン産生性 *C. perfringens* 保菌率は 1%以下である。

下痢患者由来株が本毒素を産生すれば，腸炎起

表 1-2-12-2　*Clostridium perfringens* 同定のための基本性状

グラム陽性嫌気性桿菌		偏在性芽胞形成（培養では芽胞形成不良）
好気的発育		−
糖発酵	ブドウ糖	+（ガス産生）
	乳糖	+
	ラフィノース	+
インドール産生		−
ゼラチン液化		+
レシチナーゼ反応		+
運動性		−

因性 *C. perfringens* と決定できる。

【治療・薬剤感受性】

壊死性腸炎など腹腔内感染症といった重篤な感染症の治療は外科的デブリドマンとベンジルペニシリンの投与である。抗毒素による治療報告もある。しかしながら，*C. perfringens* による細菌性食中毒は軽症の部類に属し，特に抗菌薬療法は行われず食中毒の治療としては対症療法が主である。便培養によって得られた菌株の薬剤感受性検査は主治医や感染対策チームと相談して実施の可否を決定することが望ましい。腸管感染症における薬剤感受性検査の方法と解釈については別項（第４章５項）を参照。

【ピットホール】

- *C. perfringens* 感染症は壊死性感染症と感染性胃腸炎に分類される。
- 感染性胃腸炎はエンテロトキシンによって発症する。
- エンテロトキシンは芽胞を形成するときだけ産生される。
- 食中毒起因菌として *C. perfringens* を検出する場合は，便検体を 100℃，10 分間加熱した後に 24 時間嫌気培養を行う。
- レシチナーゼ反応が認められたコロニーについてエンテロトキシン産生性を調べる。
- A 型菌は α 毒素を産生して卵黄反応（レシチナーゼ反応）陽性となる。

文　献

1）Allen SD, Emery CL, Lyerly DM. 2003. *Clostridium.* p.835–856. Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, et al. ed. American Society for Microbiology, Washington, D. C.

2）Koneman EW, Allen SD, Janda WM, et al. 1997. The anaerobic bacteria, p.709–777. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology 5th edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.

3）小田紘．2009．戸田新細菌学．p.602–604．ボツリヌス菌 吉田眞一，柳雄介，吉開泰信 編集．南山堂，大阪．

4）門間千枝，柳川義勢，伊藤武．2000．*C. perfringens* 食中毒．臨床と微生物特集「感染性食中毒」より．近代出版，東京．

5）国立感染症研究所．2008．病原微生物検出情報．ウェルシュ菌食中毒．IASR 29(8)：216–217．http://idsc.nih.go.jp/iasr/29/342/dj3421.html.

6）細菌毒素検出キット PET-RPLA「生研」キット添付説明書．2012 年改定版．デンカ生研株式会社．

13）ボツリヌス菌（*Clostridium botulinum*）

【分布・疫学】

Clostridium 属には 150 を越える菌種が含まれ土壌細菌として自然界に広く分布している。ヒトに病原性を持つものは限られるが，いずれも強力な外毒素を産生する。*Clostridium botulinum*（以下，*C. botulinum*）は河川，湖沼に存在して野菜，魚類，肉類を汚染することがあり，ボツリヌス毒素を産生して全身の神経麻痺を生じる神経中毒疾患を起こす。毒素はその抗原性から A〜F 型に分類されており，主に A 型，B 型，E 型，まれに F 型が見られる。

【臨床的意義（感染対策，法規を含む）】

四類感染症のボツリヌス症の原因である *C. botulinum* は感染病態形式によって，食事性ボツリヌス症，乳児ボツリヌス症，創傷性ボツリヌス症および腸管定着性ボツリヌス症を起こす。食事性ボツリヌス症の潜伏期は 5 時間〜3 日間（通常 12〜24 時間）とされる。倦怠，嘔吐，めまいなどの初期症状の後，種々の症状（全身の違和感，複視，眼瞼下垂，嚥下困難，口渇，便秘，脱力感，筋力低下，呼吸困難など）が出現し，適切な治療を施さない重症患者では弛緩性呼吸麻痺によって死亡する神経麻痺性疾患である[1)]。乳児ボツリヌス症は 1 歳未満の乳児が罹患する。芽胞の経口摂取により腸管にて増殖し，産生した毒素によって発症する。蜂蜜が原因食として知られている。腸管定着性ボツリヌス症は消化管外科手術を受けた患者などに極めてまれに起こる[2,3)]。

食品衛生法では食品，添加物，器具あるいは容器包装に起因する本菌による食中毒の患者もしくはその疑いのある者を診断またはその死体を検案した医師は，食品衛生法第 58 条に基づきただちに最寄りの保健所にその旨を届け出なければならない。

【分類】

C. botulinum はユーバクテリア目（*Eubacteriales*），クロストリジウム科（*Clostridiaceae*）の *Clostridium* 属に含まれる。

C. botulinum は生化学的性状により Ⅰ〜Ⅳ型に群別され，毒素型により A，B，Cα，Cβ，D，E および F 型に分類される。

【形態】

グラム陽性桿菌，大きさは 0.6〜1.4×3.0〜20.2 μm で均一な幅を持ち，まっすぐで両端は鈍円である。芽胞は楕円形で偏在性，菌体の幅より少し大きい。芽胞の形成は比較的低温（20〜25℃）で良好に形成される。鞭毛を有する。

【培養】

食事性ボツリヌス症では，特有の神経症状や病歴から本疾患を疑い，患者血清，吐物，糞便あるいは推定食品から毒素（あるいはボツリヌス菌）を検出する。

吐物や糞便などは BSG（0.2％ゼラチン加 PBS）を等量加えて混和し，遠心した沈渣を検査材料とする。分離培地として卵黄加 GAM 寒天培地に接種してリパーゼ陽性コロニーを釣菌する。

ボツリヌス症は毒素の検出が最も確実な診断法であるが，検査はマウス腹腔内注射による中和試験が基本であり，毒素検出法として ELISA や PCR 法はキット化されていない。また，*C. botulinum* およびボツリヌス毒素は厚生労働省の許可がない実験施設では所持できないため，微生物検査室や民間検査センターで毒素検査を進めることは困難である。

【集落性状】

卵黄加 GAM 寒天培地に発育したリパーゼ陽性コロニーを釣菌する。卵黄培地を用いたリパーゼ判定はコロニー下の培地面の混濁ならびに真珠光沢のコロニーを指標とする（**図 1-2-13-1**）。ブルセラ HK 寒天培地など血液を含む培地ではしばしば遊走が見られる[4)]。コロニー周囲に大きく形成

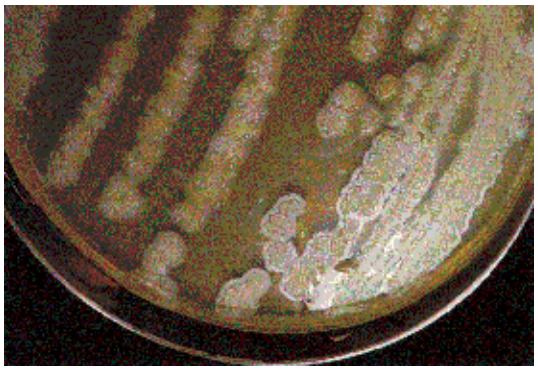


図 1-2-13-1　*Clostridium botulinum* のリパーゼ反応（卵黄寒天培地）

するレシチナーゼ反応との違いに注意すること[5,6]。

【生化学的性状・同定】

C. botulinum の同定は抗毒素抗血清を用いた中和試験で毒素が証明されれば生化学性状を調べる意義は少ない。参考までに *C. botulinum* 生物型同定の鑑別性状について**表 1-2-13-1** に示す。*C. botulinum* は MALDI-TOF MS による同定プロファイルに含まれていない（2018 年 8 月現在）。

【毒素】

ボツリヌス毒素のうち A 型毒素はあらゆる毒素の中で最も活性が高い。ボツリヌス毒素は二種病原体等に指定されている。毒素は易熱性であり，85℃，10 分の加熱で破壊される。なお，*C. botulinum* 以外にもボツリヌス毒素を産生する菌があり，乳児ボツリヌス症から発見された *Clostridium baratii*，*Clostridium butyricum* および *Clostridium argentinense* が知られている[7]。

【治療・薬剤感受性】

ボツリヌス症が強く疑われた場合は，乾燥ボツリヌスウマ抗毒素（A 型，B 型，E 型，F 型）により治療する。乾燥ボツリヌスウマ抗毒素は，国が備蓄している抗毒素製剤で，医療機関から都道府県への依頼により供給される。

創傷性ボツリヌス症では PCG などの抗菌薬の全身投与を行うが，食事性ボツリヌス症では抗菌薬投与により消化管内の溶菌による毒素増加を招くとされ，原則使用しない。

表 1-2-13-1　*Clostridium botulinum* 生物型同定の鑑別性状

性　状	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ
毒素型	A，B，F	B，E，F	C，D
ヒト病原性	有	有	無
牛乳消化	＋	－	－/＋
ゼラチン	＋	＋	＋
糖発酵　ブドウ糖	＋	＋	＋
糖発酵　マンノース	－	＋w	＋/－
リパーゼ	＋	＋	＋
レシチナーゼ	－	－	＋/－

【その他】

臨床的にボツリヌス症を疑った場合は，すみやかに保健所に連絡をとることが，患者における早期診断はもちろん，食品の回収や注意喚起による感染予防につながる。また，臨床的特徴を呈していないが，ボツリヌス毒素の検出あるいは毒素産生の *C. botulinum* が分離された場合も無症状病原体保有者として保健所に報告する[1]。

【ピットホール】

- ボツリヌス毒素は二種病原体等に指定されている。
- 毒素は易熱性であり，85℃，10 分の加熱で破壊される。
- *C. botulinum* を疑うコロニーが分離された場合はすみやかに毒素試験を実施する必要がある。感染対策部門と協議して方策を決定する。

文　献

1) 厚生労働省．感染症法に基づく医師及び獣医師の届出について．35 ボツリヌス症．https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou11/01-04-32.html（2018 年 8 月現在）

2) Koneman EW, Allen SD, Janda WM, et al. 2006. The anaerobic bacteria, p.878-938. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology 6th edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.

3）田中香お里．2013．標準臨床検査学「微生物学・臨床微生物学・医動物学」．K 嫌気性グラム陽性有芽胞菌．p.87-90，一山智，田中美智男編集．医学書院，東京．
4）木部泰志，清祐麻紀子，栢森裕三ほか．2012．同定に苦慮した *Clostridium botulinum* による乳児ボツリヌス症の 1 症例．日臨微生物誌 22：221-226
5）坂崎利一，吉崎悦郎，三木寛二．1988．30 レシトビテリンテスト．新細菌培地学講座下Ⅰ．p.136-138．近代出版，東京．
6）Pezzo M. 1994. Lecithinase Test：Egg Yolk Agar. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Isenberg HD, ed. American Society for Microbiology, Washington, D. C., USA.
7）小田紘．2009．戸田新細菌学．p.602-604，ボツリヌス菌．吉田眞一，柳雄介，吉開泰信 編集．南山堂，大阪．

14) *Providencia alcalifaciens*

【分布，疫学】

Providencia alcalifaciens は日和見感染症，あるいは旅行者下痢症の起因菌として従前より認知され，実際に下痢症を呈する海外渡航者より *P. alcalifaciens* が分離されている[1]。また，本菌による感染は食品媒介性にも発生する。1996年には福井県で患者270例（多くは幼稚園児童）を数える食中毒が発生し，調理パンが原因食品と推定されている[2]。その後，1997年にはチェコの野戦病院でポテトサラダを推定原因食品とする食中毒事例[3]，2006年には鳥取県で同様に食中毒疑い事例[4]，2013年にはケニアの病院でポテトサラダを原因食品とする小児4例の食中毒事例が発生している[5]。鳥取県の事例では詳細な疫学調査が実施され，有症者糞便中に本菌が平均約10^6 CFU/g含まれ，平均潜伏期間は2日間であったとの知見が得られている。*P. alcalifaciens* の食品汚染実態としては，タイの市販流通食肉計76検体中39検体（51.3%）[6]，中国および日本の市販流通食肉各85検体および73検体中，32検体（38.0%）および20検体（27.0%）から本菌が分離されている[7]。また，本菌は愛玩動物[8]やハエで増殖性を示し[9]，ヒトや食品・環境への汚染伝播を助長すると目される。

【臨床的意義（感染対策，法規を含む）】

P. alcalifaciens の感染源・感染経路は多岐にわたるが，食品を介した感染のほか，環境中で生残しやすく，二次感染も引き起こす。一般的な臨床症状としては，発熱，水様性下痢，嘔吐，腹痛を主とした胃腸炎症状を呈する。*P. alcalifaciens* は，乳幼児に対する感受性が高く，年齢が高くなるにつれて感受性は低下するが，高齢者では敗血症などの腸管外感染症を引き起こす場合もある。実際に，バングラデシュでは5歳未満の乳幼児下痢症患者814例のうち17症例（約2.1%）[10]，韓国では医療機関受診患者14例（平均年齢64.5歳）のうち1例が *P. alcalifaciens* によるものであった[11]。また，タイでは下痢症と診断された214例のうち16例（7.5%）より *Providencia* 属菌由来遺伝子が検出され，4例から *P. alcalifaciens* が分離されている[6]。国内では，本菌の下痢症事例との因果関係を示唆する知見として，小児下痢症患者345例のうち4例から *P. rettgeri* が分離されたとの報告がある[12]。

食品衛生法では，食品，添加物，器具もしくは容器包装に起因する本菌による食中毒の患者もしくはその疑いのある者を診断，またはその死体を検案した医師は，食品衛生法第58条に基づきただちに最寄りの保健所にその旨を届け出なければならない。

【分類】

P. alcalifaciens は，*Morganella* 科の *Providencia* 属の一菌種である。本属菌は *Proteus vulgaris* および *Proteus mirabilis* と系統学的に近縁である[13]。*Providencia* 属は1992年に *P. alcalifaciens* のほか，*P. stuartii*，*P. rettgeri*，*P. rustigianii* および *P. heimbachae* の5菌種構成と定義され，その後2009年には *P. burhodogranariae*，*P. sneebia*，*P. vernicola* の3菌種が追加された（**表 1-2-14-1**）。その後2013年には，*P. thailandensis* が新たに新菌種として定義された[14]。これらのうち，*P. rettgeri* および *P. stuartii* は主として尿路感染を引き起こす日和見感染病原体として *P. alcalifaciens* とともに病原種として認知される。*P. alcalifaciens* は1962年に見出されたが，その語源は，“アルカリ産生（Alkari-producing）”に由来する[15]。

【形態】

P. alcalifaciens は，グラム陰性・周毛性鞭毛を有する桿菌であり，大きさは0.6〜0.8×1.5〜2.5 μmである。芽胞および莢膜を欠き，外膜にはLPS（lipopolysaccharide）が存在する。旅行者下痢症患者臨床分離株より精製したLPSは，牛肺胞内皮由来培養細胞に強い細胞毒性を示す[16]。本属

表 1-2-14-1　*Providencia* 属の主な生化学性状

菌種	*alcalifaciens*	*stuartii*	*rettgeri*	*rustigianii*	*heimbachae*	*burhodogranariae*	*sneebia*	*vernicola*
Indol	+	+	+	+	−	+		
Methyl Red	+	+	+	+*1	+*1	+	+	+
VP	−	−	−	−	−	−	−	−
Phenylalanine utilization	+	+	+	+	+	+	+	+
Tryptophan utilization	+	+	+	+	+	+	+	+
Citrate utilization	+	+	+	+/−	−	?	?	+
Urease	−	+/−	+	−	−	−	+	+/−
糖分解性								
D-Adonitol	+	−	+	−	+	+	−	+
L-Arabitol	−	−	+	−	+	−	−	+
Aesculin	−	−	+	−	−	−	+	−
Erythritol	−	−	+/−	−	+/−	−	−	+
D-Galactose	−	+	+	+	+	−	−−	+
D-Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+
Inositol	−	+/−	+	−	+	+	−	+
Lactose	−	−	−	−	−	−	−	−
Maltose	−	−	−	−	+	−	−	−
D-Mannitol	−	−	+	−	−	+	+	+
D-Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Rhamnose	−	−	+	−	+/−	−	−	−
Salicin	−	−	+	−	−	−	+	−
D-Sorbitol	−	−	−	−	−	+/−	+	−
Trehalose	−	+	−	−	−	+	+	−
Xylitol	−	+	−	−	−	−	−	−

P. thailandensis は情報に乏しいため，リストには加えていない。+/−は菌株により異なる性状であることを示す。？は不明であることを意味する。
*1 *P. heimbachae* および *P. rustigianii* の一部株では微弱反応を示すこともある。

菌は *Proteus* 属菌のような滑走運動は示さない。

【培養】

P. alcalifaciens は，好気的条件下で培養する。血液寒天培地や MacConkey 寒天培地などの腸内細菌分離用培地に発育する。選択分離に際しては，MacConkey 寒天培地よりラクトース非分解性の集落を釣菌し，生化学性状に供する方法が Ewing らによって報告された[17]。その後，Senior は PAM 培地（トリプトン 10 g，デオキシコール酸ナトリウム 5 g，キシロース 1.5 g，マンニット 1.5 g，ガラクトース 1.5 g，リン酸水素二ナトリウム 0.8 g，フェノールレッド 80 mg，寒天 12 g/1,000 mL）を用いて一次増菌培養を行い，糖非分解の赤色集落を，SPD 培地（トリプトン 1.5 g，L-フェニルアラニン 1 g，トレハロース 5 g，マルトース 5 g，イノシトール 5 g，0.08％ブロモクレゾールパープル 2.5 mL，寒天 1.3 g/1,000 mL）およびアドニトールペプトン水（APW：ペプトン 1.5 g，0.08％ブロモクレゾールパープル溶液 2.5

mL，10％アドニトール溶液 5.0 mL/100 mL）への継代培養に供する試験法を提唱した[18]。継代培養後は，10％塩化鉄溶液を滴下し，青色から緑色への色調変化を指標として，フェニルアラニン加水分解能（フェニルアラニン→フェニルピルビン酸）およびアドニトール利用能を評価できる，*P. alcalifaciens* の特徴的な生化学性状を利用した選択培養および確認試験法である。

その後，Yoh らにより，上記培地組成を基に改良した PMXMP 培地が開発された[19]。当該培地は，Lemco powder 10 g，デオキシコレートナトリウム塩 5 g，リン酸水素二ナトリウム 0.8 g，フェノールレッド 80 mg，寒天 12 g/L を基礎培地として，オートクレーブ滅菌後に，マルトース，キシロース，ポリミキシン B を添加したものであり，*P. alcalifaciens* を含む *Providencia* 属菌の分離培養にあたって現在汎用されている。なお，食品検体については，食品検査指針微生物編[20]に従い，懸濁液を調整した後に増菌培養に供する。

【生化学的性状】

Providencia 属菌は乳糖非分解性，メチルレッド陽性，オキシダーゼ陰性，フェニルピルビン酸陽性の共通する生化学的性状を示す。本属に含まれる細菌種はいずれも至適発育温度が約 37℃であり，フェニルアラニンおよびトリプトファン利用能を有すること，D-マンノース分解性を有すること等が本属菌の共通する特徴である（**表 1-2-14-1**）。また，本属菌は，*P. rustigianii* を除き，イノシトール，マンニトール，アドニトール，アラビトール，エリスリトール（多価アルコール）の一種以上より酸を産生する。このうち，*P. alcalifaciens* はアドニトール利用能を示す特徴がある。さらに，本属菌は，*P. heimbachae* を除き，インドール陽性であるほか，*P. heimbachae* および *P. rustigianii* の一部菌株を除き，クエン酸利用能を示す。

【迅速検査（遺伝子検査，抗原検査等）】

P. alcalifaciens の感染は食中毒と関連性を示すため，二次感染防止のための原因究明に際して迅速診断が求められることがある。また，院内感染予防などを考慮するうえでも迅速検査は有用である。複数の食中毒原因菌を一斉検出するためのマルチプレックス・リアルタイム PCR 法が開発されている[21]ほか，増菌培養工程で用いられる PCR スクリーニング法の標的遺伝子としては，本属に特異的な 16S rRNA 遺伝子配列が有用との報告がある[12]。分離株の菌種同定および型別にあたっては，リボタイピング法や *rpoB* 遺伝子多型解析も有効とされる[22,23]。

【治療，抗菌薬感受性】

Providencia 属菌は，概して GM，TOB，ペニシリン系，第一世代セフェム系には感受性が低い[13]。このほか，*P. alcalifaciens* は，テトラサイクリン系，ペニシリン系，EM，SM などに多剤耐性を示す例も多い[5,7]。多剤耐性株は *Escherichia coli* をはじめとする腸内細菌叢間で形質転換やコンジュゲーションを介した耐性遺伝子の授受を通じて拡大している[24,25]。感受性サーベイランスデータでは，本菌感染症の治療には，セフェム系（CPDX-PR，CAZ，CETB）およびニューキノロン系（CPFX）などが望ましく，一方で CXM-AX は *Proteus* や *Enterobacter* 等と同様に感受性が低いため，適さないとの報告がある[26]。

なお，腸管感染症における抗菌薬についてはまとまったデータがないが，軽症であれば一般的には抗菌薬は不要と考えられる。中等症～重症であれば，同定・薬剤感受性検査を見てから判断する。

文　献

1）朝倉宏，五十君靜信，柳忠湖ほか．2004．*Providencia alcalifaciens* 由来 LPS の病原性に及ぼす影響についての検討．第 138 回日本獣医学会学術集会講演要旨集．p.124.
2）Murata T, Iida T, Shiomi Y, et al. 2001. A large outbreak of foodborne infection attributed to *Proviedencia alcalifaciens*. J Infect Dis 184：1050-1055.
3）Chillbek R, Jirous J, Beran J. 2002. Diarrhea outbreak among Czech army field hospital personnel caused by *Providencia alcalifaciens*. J Travel Med 9：151-152.
4）田中真弓，齋尾美春，井田正巳．2007．Providencia alcal-

ifaciens が原因菌と示唆された食中毒事例について．鳥取県衛生環境研究所報 48：21-22
5）Shah MM, Odoyo E, Larson PS, et al. 2015. First report of foodborne *Providencia alcalifaciens* outbreak in Kenya. Am J Trop Med Hyg 93(3)：497-500.
6）Shima A, Hinenoya A, Samosornsuk W, et al. 2016. Prevalence of *Providencia* strains among patients with diarrhea and in retail meats in Thailand. Jpn J Infect Dis 69(4)：323-325.
7）Huiling DI, Liang S, Li Q, et al. 2018. *Providencia* in retail meats from Guangzhou, China and Osaka, Japan：prevalence, antimicrobial resistance and characterization of classes 1, 2 and 3 integrons. J Vet Med Sci 80(5)：829-835.
8）Tribe GW, Rood MJ. 2002. *Providencia alcalifaciens* in diarrhoeic dogs and cats. Vet Rec 150(12)：386-387.
9）Galac MR, Lazzaro BP. 2011. Comparative pathology of bacteria in the genus *Providencia* to a natural host, *Drosophila melanogaster*. Microbes Infect 13(7)：673-683.
10）Albert MJ, Faruque ASC, Mahalanabis D. 1998. Association of *Providencia alcalifaciens* with diarrhea in children. J Clin Microbiol 36(5)：1433-1435.
11）Choi HK, Kim YK, Kim HY, et al. 2015. Clinical and microbiological features of *Providencia* bacteremia：experience at a tertiary care hospital. Korean J Intern Med 30(2)：219-225.
12）Shima A, Hinenoya A, Asakura M, et al. 2012. Prevalence of *Proidencia* strains among children with diarrhea in Japan. Jpn J Infect Dis 65：545-547.
13）O'Hara CM, Brenner FW, Miller JM. 2000. Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. Clin Microbiol Rev 13：534-546.
14）Khunthongpan S, Sumpavapol P, Tanasupawat S, et al. 2013. *Providencia thailandensis* sp. nov. isolated from seafood processing wastewater. J Gen Appl Microbiol 59(3)：185-190.
15）Sheth NK, Kurup VP. 1975. Evaluation of tyrosine medium for the identification of *Enterobacteriaceae*. J Clin Microbiol 1(5)：483-485.
16）Asakura H, Momose Y, Ryu CH, et al. 2013. *Providencia alcalifaciens* causes barrier dysfunction and apoptosis in tissue cell culture：potent role of lipopolysaccharides on diarrheagenicity. Food Addit Contam Part A 30(8)：1459-1466.
17）Ewing WH. 1986. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*. 4th ed. p.443-459. Elsevier Science, New York.
18）Senior BW. 1997. Media for the detection and recognition of the enteropathogen *Providencia alcalifaciens* in faeces. J Med Microbiol 46(6)：524-527.
19）Yoh M, Matsuyama J, Ohnishi M, et al. 2005. Importance of *Providencia* species as a major cause of travellers' diarrhoea. J Med Microbiol 54(11)：1077-1082.
20）食品衛生検査指針微生物編改訂第二版 2018．2018．日本食品衛生協会．
21）Fukushima H, Kawase J, Etoh Y, et al. 2010. Simultaneous screening of 24 target genes of foodborne pathogens in 35 foodborne outbreaks using multiplex real-time SYBR Green PCR analysis. Int J Microbiol 2010：864817.
22）Pignato S, Giammanco GM, Grimont F, et al. 1999. Molecular characterization of the genera *Proteus*, *Morganella*, and *Providencia* by ribotyping. J Clin Microbiol 37(9)：2840-2847.
23）Giammanco GM, Grimont PA, Grimont F, et al. 2011. Phylogenetic analysis of the genera *Proteus*, *Morganella* and *Providencia* by comparison of *rpoB* gene sequences of type and clinical strains suggests the reclassification of *Proteus myxofaciens* in a new genus, *Cosenzaea* gen. nov., as *Cosenzaea myxofaciens* comb. nov. Int J Syst Evol Microbiol 61(7)：1638-1644.
24）Oikonomou O, Liakopoulos A, Phee LM, et al. 2016. *Providencia stuartii* isolates from Greece：co-carriage of cephalosporin(bla_{SHV-5}, bla_{VEB-1}), carbapenem(bla_{VIM-1}), and aminoglycoside(*rmtB*) resistance determinants by a multidrug-resistant outbreak clone. Microb Drug Resist 22：379-386.
25）Tijet N, Richardson D, MacMullin G, et al. 2015. Characterization of multiple NDM-1-producing *Enterobacteriaceae* isolates from the same patient. Antimicrob. Agents Chemother 59：3648-3651.
26）山口恵三，石井良和，岩田守弘ほか．2007．Meropenem を含む各種注射用抗菌薬に対する 2006 年臨床分離株の感受性サーベイランス．Jpn J Antibiotics 60(6)：344-377.

15) *Klebsiella oxytoca*

【分布，疫学】

Klebsiella oxytoca はヒトの腸管内に常在しており，さまざまな臨床検体から検出される。また，環境中にも存在し医療関連感染症の原因菌の１つとして重要である[1)]。

厚生労働省院内感染サーベイランス事業の2016年の年報[2)]によると，血液培養から検出された365231株のうち，*K. pneumoniae* は6.6％（24146株）検出されているのに対し，*K. oxytoca* は，その約４分の１の1.5％（5622株）が検出されている。Christophら[3)]は，*Clostridioides difficile* による抗菌薬関連大腸炎が否定された22名の患者に対し，*K. oxytoca* の抗菌薬関連急性出血性大腸炎（antibiotic-associated acute hemorrhagic colitis：AAHC）への関与について検討している。彼らは，大腸内視鏡検査を施行しAAHCの所見と一致した6名について便培養検査を実施し，6名中5名から *K. oxytoca* が検出され，すべての株から細胞毒性を証明している。また，Stampferら[4)]は，*K. oxytoca* によるAAHCについて小児を中心に検討している。221例の患者のうち，17例（7.7％）の患者の便培養から *K. oxytoca* が検出され，そのうちの２例が *K. oxytoca* によるAAHCであったとしている。

【臨床的意義】

K. oxytoca は胆管炎や尿路感染症などを引き起こすことが知られている。AAHCは，抗菌薬投与数日後に突然の腹痛，血性下痢で発症する。*K. oxytoca* のAAHCへの関与については，ペニシリン系抗菌薬，また，ペニシリン系抗菌薬に加えて非ステロイド性抗炎症薬の使用後にAAHCを起こした例[3)]がある。

K. oxytoca は，チリバリンとこの菌代謝産物であるクレボキシマイシンいう細胞障害毒を産生する。チリバリンの細胞障害毒性はさほど強くはないが，クレボキシマイシンはチリバリンに比べると高い細胞障害毒性を有する。AAHCは抗菌薬投与による菌交代現象で *K. oxytoca* が異常増殖し，チリバリンなどの細胞障害毒により腸管内の細胞に障害が生じAAHCが引き起こされると考えられている[5)]。

K. oxytoca は腸管内に常在することから，抗菌薬関連大腸炎が強く疑われ，*C. difficile* の関与が否定され，血性便の培養で *K. oxytoca* のコロニーが純培養状に検出された場合のみ臨床症状と培養結果を合わせてAAHCの可能性があるかどうか決定するのがよいと考えられる[6)]。

【分類】

K. oxytoca は腸内細菌科（*Enterobacteriaceae*）に属する通性嫌気性グラム陰性桿菌である。同属には *K. pneumoniae* が存在する。以前 *Klebsiella* 属に分類されていた *K. ornithinolytica* は *Raoultella* 属に分類され，現在では *R. ornithinolytica* とされている[7)]。

【形態】

顕微鏡での観察では，同属の *K. pneumoniae* の菌体は他の腸内細菌科細菌と比較して大きく，0.3～1.0×0.6～6.0 μm 程度であり[8)]，グラム陰性に染まり，鞭毛を持たないため，運動性はない。

【培養】

一般的に便の培養ではBTB乳糖寒天培地，DHL寒天培地などが用いられ，好気培養を行う。*K. oxytoca* を血液寒天培地に発育させたものを**図 1-2-15-1** に示した。また *K. pneumoniae* を血液寒天培地に発育させたものを**図 1-2-15-2** に示した。血液寒天培地に *K. oxytoca* を発育させたとき，コロニーの大きさは *K. pneumoniae* ほどは大きくないが，半球状で灰白色の *K. pneumoniae* に似たコロニーを形成する。*K. oxytoca* をDHL寒天培地に発育させたものを**図 1-2-15-3** に，また *K. pneumoniae* をDHL寒天培地に発育させたものを**図 1-2-15-4** に示した。DHL寒天培地上では *K. oxytoca*，*K. pneumoniae* 両菌種とも糖分解をするこ

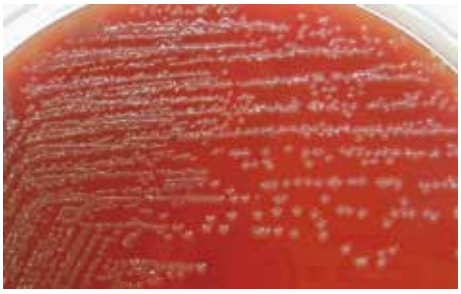


図 1-2-15-1 ***K. oxytoca*（5%羊血液寒天培地：日水製薬　35℃好気培養　培養時間 20 時間）**

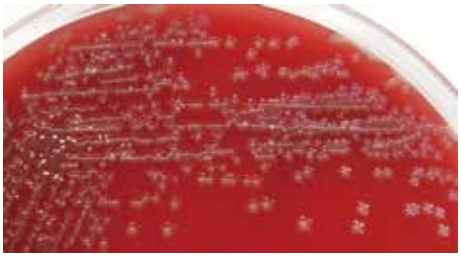


図 1-2-15-2 ***K. pneumoneae*（5%羊血液寒天培地：日水製薬 35℃好気培養　培養時間 20 時間）**

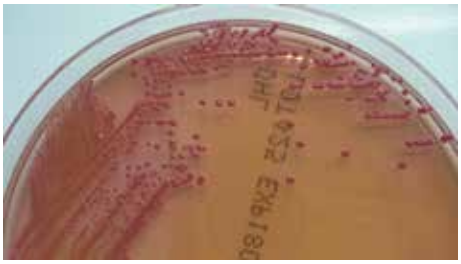


図 1-2-15-3 ***K. oxytoca*（DHL 寒天培地 35℃好気培養：ベクトンディッキンソン　培養時間 20 時間）**

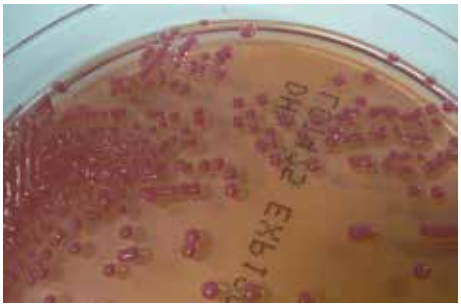


図 1-2-15-4 ***K. pneumoneae*（DHL 寒天培地 35℃好気培養：ベクトンディッキンソン　培養時間 20 時間）**

とからピンク色のコロニーを形成する。DHL 寒天培地上では *K. pneumoniae* はムコイド状の大きな半球状のコロニーを形成する。*K. oxytoca* は *K. pneumoniae* と比較すると小さめでやや硬い印象を受けるコロニーを形成する。BTB 乳糖寒天培地上では，乳糖を分解し利用することから黄色いコロニーを形成する。

【生化学的性状】

Klebsiella 属と *R. ornithinolytica* の生化学的性状を**表 1-2-15-1** に示した。

腸内細菌科に属するため，オキシダーゼ試験陰性，グラム陰性桿菌であることを確認し，試験管の各種鑑別培地や簡易同定キット，さまざまな自動機器，質量分析装置などを用いて同定を行う。質量分析装置では，コロニー所見と結果として得られた菌名が一致するかを確認する必要がある。*K. oxytoca* と *R. ornithinolytica* は生化学的性状が非常に似ており，オルニチン脱炭酸培地による区別が必要であり，注意が必要である。

表 1-2-15-1 ***Klebsiella* 属の生化学的性状**

		K. oxytoca	*K. pneumoniae*	*R. ornithinolytica*
TSI 培地	斜面部	黄	黄	黄
	高層部	黄	黄	黄
	ガス	＋	＋	＋
SIM 培地	IPA	－	－	－
	インドール	＋	－	＋
	運動性	－	－	－
VP 半流動培地		＋	＋	＋
シモンズクエン酸培地		＋	＋	＋
リジン		＋	＋	＋
オルニチン		－	－	＋
アルギニン		－	－	－
ウレアーゼ		＋	＋	＋
エスクリン加水分解		＋	＋	＋

【治療，抗菌薬感受性】

JAID/JSC 感染症治療ガイドライン 2015[9] では，抗菌薬関連下痢症で治療が必要なものは *C. difficile* によるもののみであるとされている。

K. oxytoca による AAHC と診断された場合は，

抗菌薬の中止により症状の改善が得られる。そのため，同定と感受性を同時に検査可能な試薬を使用している場合は，菌名のみの報告に留める。

仮に感受性試験を実施した場合，多くの抗菌薬に対し耐性を示す株がまれに存在する。*K. oxytoca* は，K1β ラクタマーゼを産生する遺伝子を染色体上に保有する。このβラクタマーゼは Ambler の分類ではクラス A に属し，Bush の分類ではサブグループ 2be に属する。サブグループ 2be の中には基質拡張型βラクタマーゼ（ESBLs）も含まれている。K1β ラクタマーゼの過剰産生により，CTX や AZT などの抗菌薬が耐性となる。クラブラン酸で阻害され，スルバクタムでは阻害されない特徴がある。ESBLs と間違われやすいため注意が必要である[10]。

文　献

1）Podschun R, Ullmann U. 1998. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens：epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin Microbiol Rev 11：589–603.
2）公開情報 2016 年 1 月～12 月年報（全集計対象医療機関）院内感染対策サーベイランス検査部門．http://janis.mhlw.go.jp/open_report/2016/3/1/ken_Open_Report_201600.pdf
3）Högenauer C, Langner C, Beubler E, et al. 2006. *Klebsiella oxytoca* as a Causative Organism of Antibiotic-Associated Hemorrhagic Colitis. N Engl J Med 335：2418–2426.
4）Stampfer L, Deutschmann A, Dür E, et al. 2017. Causes of hematochezia and hemorrhagic antibiotic-associated colitis in children and adolescents. Medicine. 96：e7793.
5）Tse H, Yang D, Sze KH, et al. 2017. A tricyclic pyrrolobenzodiazepine produced by *Klebsiella oxytoca* is associated with cytotoxicity in antibiotic-associated hemorrhagic colitis. J Biol Chem 292：19503–19520.
6）Zollner-Schwetz I, Högenauer C, Joainig M, et al. 2008. Role of *Klebsiella oxytoca* in Antibiotic-Associated Diarrhea. Clin Infect Dis 47：e74–78.
7）Drancourt M, Bollet C, Carta A, et al. 2001. Phylogenetic analyses of Klebsiella species delineate Klebsiella and Raoultella gen. nov., with description of Raoultella ornithinolytica comb. nov., Raoultella terrigena comb. nov. and Raoultella planticola comb. nov. Int J Syst Evol Microbiol 51（Pt 3）：925–932.
8）中村竜也．2018．感染症クイックリファレンス．原因微生物 15．検査と技術 46(3)：8 増刊号：228–229.
9）JAID/JSC 感染症治療ガイド・ガイドライン作成委員会編．JAID/JSC 感染症治療ガイド 2015．日本感染症学会，日本化学療法学会，ライフサイエンス出版，東京．
10）石井良和．2014．β-ラクタマーゼの機能分類．日臨微誌 24：171–179.

16) *Brachyspira* 属菌

【分布・疫学】

ヒト腸管スピロヘータ症（human intestinal spirochetosis：HIS）に関連する *Brachyspira* 属菌は *Brachyspira pilosicoli* と *Brachyspira aalborgi* が知られている。*B. pilosicoli* は下痢発症ブタからはじめて分離され[1]，ヒト，サル，シカ，ウマ，イヌ，ネズミなどの哺乳類や鳥類などさまざまな動物の腸粘膜への定着に関連する。畜産，養鶏業界では下痢，腸炎を引き起こすことで，成長率・生産性の低下などの被害をもたらす病原菌として認識されている。一方，*B. aalborgi* はヒトの直腸生検検体からはじめて分離され，ヒトとサルの腸粘膜への定着に関連する。HIS の頻度[2]は先進諸国では 1〜5％とされているが，HIV 感染者と同性愛者では例外的に高率であり，男性に多い傾向がある。先進諸国では HIS の大半が *B. aalborgi* であり，*B. pilosicoli* の頻度は少ないが，感染経路としては oral–anal contact が推定されている[3]。発展途上国では 11〜64％と HIS の頻度は高く，感染経路としては水系糞口感染が考えられる。*B. pilosicoli* による感染は鳥や動物あるいはヒトの糞便で汚染された水の摂取によって起こる可能性が高く，上下水道などのインフラが整備されていない地域への渡航歴は考慮する必要がある[4]。

【臨床的意義】

Brachyspira 属菌が腸管洗浄液，便，腸粘膜組織などから多数検出された場合は HIS の可能性が高く，大腸粘膜上皮に菌体の一端を付着させた多数のスピロヘータが層をなして存在している状態と考えられている[5]。臨床症状は慢性下痢や下血，腹痛，体重減少などといわれているが，他の消化管疾患が併存している場合が多く，*Brachyspira* 属菌単独で臨床症状出現に関連しているかは不明である。*B. pilosicoli* はアルコール依存症，悪性腫瘍など慢性疾患を有する高齢者の血液からも検出されており[6,7]，血液培養から本菌が検出された場合には大腸粘膜を侵入門戸とする菌血症が最も考えられる。本菌の大腸への定着には国や地域の公衆衛生，食事や性行動の習慣などを反映するものと考えられる。オーストラリア原住民の子どもの調査では *B. pilosicoli* の定着が成長障害に大きく関係していたとする報告がある[7]。わが国では性感染症（STI）を念頭に置き，赤痢アメーバやランブル鞭毛虫などの原虫感染症やウイルス感染症なども検索する必要がある[5]。*Brachyspira* 属菌は腺腫性ポリープを有する患者に定着するとの報告があるが[8,9]，関連性にはさらなる研究が必要である。

【分類】

B. pilosicoli はブラキスピラ目，ブラキスピラ科の *Brachyspira* 属の一菌種であり，偏性嫌気性のスピロヘータである。*Brachyspira* 属には *B. pilosicoli* と *B. aalborgi* 以外に *B. hyodysenteriae*, *B. innocens*, *B. intermedia*, *B. alvanipulli*, *B. murdochii* が知られており，特に *B. hyodysenteriae* はブタ赤痢の起因菌として獣医学領域では重要である。現在のところ HIS に関連するスピロヘータは *B. pilosicoli* と *B. aalborgi* の 2 菌種が知られているが，ヒトからのみ検出されている新たな *Brachyspira* 属菌として暫定的に“*B. hominis*”の菌名が用いられている。これは *B. aalborgi* 系統内の異なるクラスターとされ，結腸生検から分子生物学手法によってのみ同定されている[10]。

【形態】

緩やかならせん状を示すグラム陰性らせん菌（**図 1–2–16–1**）で，*B. pilosicoli* は幅 0.2 μm，長さ 4〜12 μm，*B. aalborgi* は長さ 2〜6 μm であり，*B. pilosicoli* は *B. aalborgi* と比較して長い。両菌種ともに菌体の先端は尖り（**図 1–2–16–2**），外膜の内側には軸糸と呼ばれる原形質内鞭毛を菌体両端に 4〜5 本有し（**図 1–2–16–3**），その伸縮で回転したり，曲がりくねったりすることで，粘稠度の高い環境でも容易に移動できる[11]。

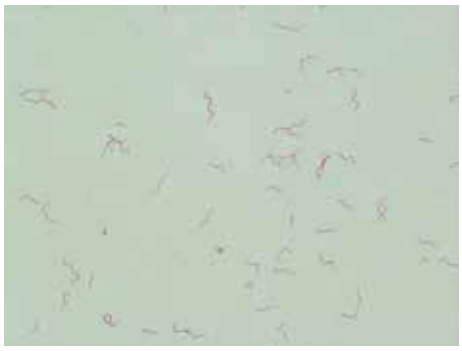


図 1-2-16-1　*B. pilosicoli* のグラム染色像（Bartholomew & Mittwer 法（×1,000），後染色にパイフェル使用）
細長いグラム陰性らせん菌として観察される。

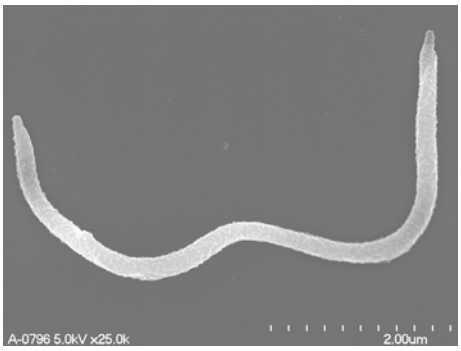


図 1-2-16-2　*B. pilosicoli* の走査型電子顕微鏡像（×25,000）
緩やかならせん状を示し，先端はシャープである。

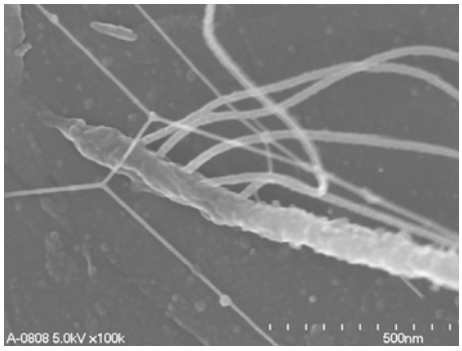


図 1-2-16-3　1.4 mM SDS 処理後の *B. pilosicoli* 走査型電子顕微鏡像（×100,000）
外膜を除去すると菌体の両端に 4〜5 本の軸糸（原形質内鞭毛）が確認できる。

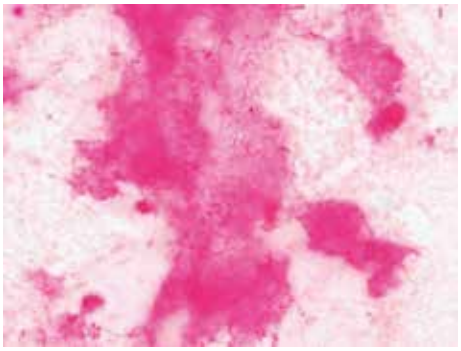


図 1-2-16-4　*B. pilosicoli* が検出された腸管洗浄液のグラム染色所見（Bartholomew & Mittwer 法（×1,000））
IS の多くの場合は腸管洗浄液に多数の *Brachyspira* 属菌が認められる。

HIS では多くの場合，腸管洗浄液や糞便中に多数のスピロヘータがグラム陰性らせん菌として観察される（**図 1-2-16-4**）。生検大腸粘膜組織からの *Brachyspira* 属菌の証明は確定診断となるため，組織診断と併せて検査することが望ましい。腸管洗浄液は 3,000 rpm，15 分遠心後，腸内容物が多い場合は直接塗抹する。糞便は固形〜軟便であれば滅菌生理食塩水などで溶解してから塗抹する。新鮮材料では活発な運動性がみられるため生鮮塗抹で観察することも有用である。*Brachyspira* 属菌のグラム染色性は淡いため，後染色はパイフェル液が推奨される。後染色の時間も数分〜5 分程度染色する[5)]。

【培養】

Brachyspira 属菌は嫌気的条件下で培養する。検体採取後 1 時間以内に培養を開始することが望ましい。市販のヒツジ血液寒天培地で発育するが，培養は長期間必要で他の腸管内常在細菌の存在により，検出困難となるためメンブレンフィルター法か選択培地の使用が推奨される。

メンブレンフィルター法は孔径 0.45 μm のメンブレンフィルターをヒツジ血液寒天培地上に置き，メンブレンフィルター上から塗抹陽性の検体を接種し，30 分静置後メンブレンフィルターを除去し，湿潤環境にて 37℃，4 日〜3 週間嫌気培養を行う[5)]。

spectinomycin（SPCM）を 400 μg/mL 加えた

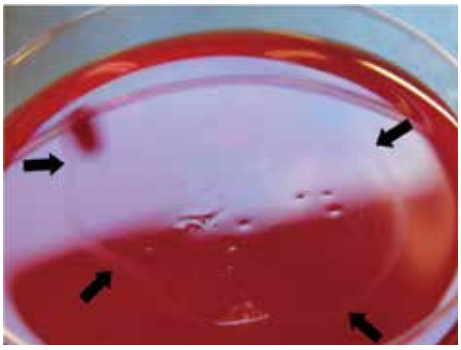


図 1-2-16-5　メンブレンフィルター法で検出した *B. aalborgi* のコロニー
平板培地上に薄い膜が張ったような（フィルム様）コロニーを形成する。

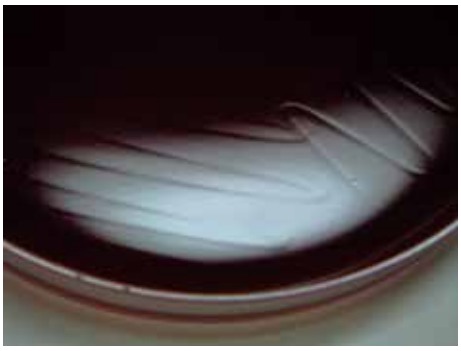


図 1-2-16-6　*B. pilosicoli* のコロニー（37℃，嫌気培養，10 日目）
フィルム様コロニーは培養日数の経過とともにプレート全体にカーペットを形成する。

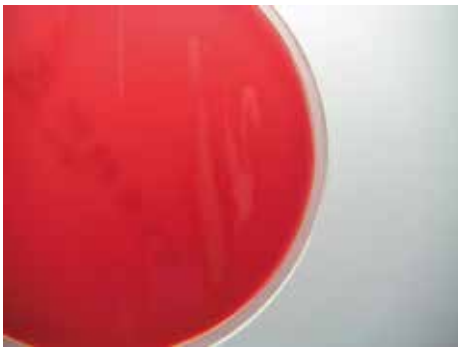


図 1-2-16-7　*B. pilosicoli* のβ溶血性（37℃，嫌気培養，4 日目）
B. pilosicoli はヒツジ血液寒天培地で弱いβ溶血性を示す。

trypticase soy 5% ヒツジ血液寒天培地や SPCM 400 μg/mL と rifampicin（RFP）12.5 μg/mL を加えた trypticase soy 10% ウシ血清加寒天培地などを作製する。ヘリコバクター寒天培地の使用による分離例もある[11]。

B. pilosicoli は 4〜7 日，*B. aalborgi* は 10 日〜3 週間培養を必要とする[5]。両者ともヒツジ血液寒天培地では薄い膜が張ったような（フィルム様）コロニーを形成し（**図 1-2-16-5**），日数の経過とともにプレート全体にカーペットを形成する（**図 1-2-16-6**）。*B. pilosicoli* はヒツジ血液寒天培地で弱いβ溶血性を示す（**図 1-2-16-7**）。

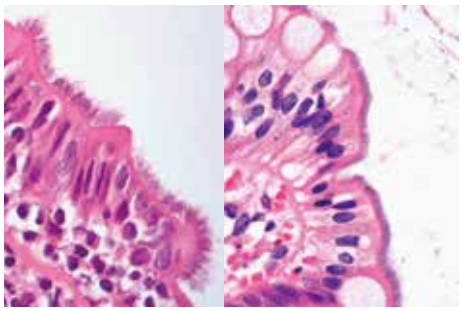
【生化学的性状】

B. pilosicoli は血液を含む培地で培養したコロニーはカタラーゼ陽性となる。生化学的性状の確認は，嫌気性菌簡易同定キットの Rap ID ANA II（remel）の一次判定をみることでヒト由来の *B. pilosicoli* か *B. aalborgi* かを鑑別可能である[5]。*B. pilosicoli* は α-ガラクトシダーゼ（αGAL），α-グルコシダーゼ（αGLU）の両者陽性あるいは一方が陽性を示し，*B. aalborgi* は αGAL，α-GLU の両者陰性を示す（**表 1-2-16-1**）。インドール試験は両者陰性を示し，馬尿酸加水分解は *B. pilosicoli* が強陽性，*B. aalborgi* が弱陽性となる。確立され

表 1-2-16-1　ヒトから分離される *Brachyspira* 属菌の性状

性状一覧	*B. pilosicoli*	*B. aalborgi*
発育日数	4〜7	14〜21
馬尿酸加水分解	＋	weak
インドール	−	−
β-ラクタマーゼ（ニトロセフィン法）	＋	−
Rap ID ANA II		
ウレアーゼ（URE）	−	−
β-ジサッカリダーゼ(BLTS)	−	−
α-アラビノシダーゼ(αARA)	＋	＋
β-ガラクトシダーゼ(ONPG)	＋	＋
α-グルコシダーゼ（αGLU）	d*	−
β-グルコシダーゼ（βGLU）	−	−
α-ガラクトシダーゼ(αGAL)	d*	−
α-フコシダーゼ（αFUC）	−	−
N-アセチル-β-D-グルコミニダーゼ（NAG）	−	−
ホスファターゼ（PO4）	−	−

**B. pilosicoli* は αGLU，αGAL の両方あるいは一方が陽性となる。



B. pilosicoli　　*B. aalborgi*

図 1-2-16-8　大腸組織のヘマトキシリン・エオジン染色（×1,000）

大腸粘膜上皮に*Brachyspira*属菌の層が，好塩基性の毛羽立ち（偽刷子縁）として認められる。

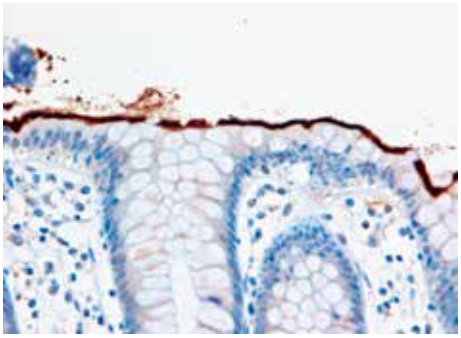


図 1-2-16-9　大腸組織の抗 *Treponema pallidum* 抗体による免疫染色（×400）

Brachyspira 属菌の偽刷子縁は交差反応により褐色に染まる。写真は *B. aalborgi* の偽刷子縁。

た同定法はなく，16S rRNA 遺伝子解析によって同定される。*B. pilosicoli* の多くは β-ラクタマーゼを産生し，ニトロセフィン法で陽性となる。

【迅速検査】

生検組織からの *Brachyspira* 属菌特異プローブを用いた fluorescence in situ hybridization（FISH）はスピロヘータの可視化と同定を可能にする迅速診断法として期待されている[9]。さらに 16S rRNA 遺伝子の PCR と配列系統解析を組み合わせることで *Brachyspira* 属菌の系統的多様性と臨床的意義が明らかになると考えられている。

【治療・薬剤感受性】

B. pilosicoli は β-ラクタマーゼ産生株が多く，ペニシリン系抗菌薬には感受性が低い[5]。これは OXA-63，バリアントの OXA-136，OXA-137 などのクラス D β-ラクタマーゼであることが知られており[12,13]，わが国では OXA-136 が報告されているが[5]，現在，その EU086833 OXA-136 gene は OXA-471 に再命名されている[14]。さらに，OXA-470 および OXA-472～479 が新たに命名されているが，これらの bla_{oxa-63}遺伝子群は *B. pilosicoli* 以外の他の *Brachyspira* spp. からは見出されていない[14]。すなわち，β-ラクタマーゼ産生株は *B. pilosicoli* の可能性が非常に高いと考えられている。パプアニューギニア，オーストラリア，カナダ，イギリスの動物由来の *B. pilosicoli* では bla_{oxa-63}遺伝子群の欠損株は一部存在している[14]。

B. pilosicoli は MNZ, CTX, CTRX, MEPM, MINO などには *in vitro* では感受性を示す[5]。

臨床的には自然治癒例や無症候例もあり，治療について統一された見解がない。*Brachyspira* 属菌が消化器症状の原因となり，中等症～重症の場合は治療を考慮する。その場合は MNZ が用いられることが多いが，投与量や日数は確立されたものはない。

【その他】

病理組織学的には Hematoxylin and Eosin（HE）染色で大腸粘膜上皮に好塩基性の毛羽立ち（偽刷子縁：false brush border）としてスピロヘータの層がみられれば，診断の決め手となる。*B. pilosicoli* は 7 μm 前後のロングタイプ，*B. aalborgi* は 3～4 μm のショートタイプの偽刷子縁であるため，長さにより菌種の推定が可能である（**図 1-2-16-8**）。*Brachyspira* 属菌は大腸上皮の表層部に限局して，陰窩や粘膜固有層に炎症がみられないことが多く，また，正常な微絨毛が菌体の付着を可能にするという報告[8]があり，腫瘍性上皮や炎症の強い上皮の狙撃生検だけでは見落とされる可能性がある。*Brachyspira* 属菌の偽刷子縁は抗 *Treponema pallidum* 抗体や抗 *Mycobacterium bovis* 抗体による免疫染色で交差反応で褐色に染色される（**図 1-2-16-9**）。内視鏡所見は非特異的であるが，浮腫を伴う発赤や鮫肌様に見える微少アフタ様斑紋の

集族像が固有の像として挙げられ，組織所見としては，びらん・再生性変化が認められる頻度が高い[5]。

【ピットホール】

・*Brachyspira* 属菌の微生物検査は検体採取直後の新鮮な材料であることが重要である。
・グラム染色性は淡いため，後染色はパイフェル液で 5 分ほど長めに染色する。
・trypticase soy 血清加寒天培地などで培養したコロニーはカタラーゼ陰性となる。
・病理組織診断が診断の決め手となるが，偽刷子縁は注意深い観察が必要で見逃されやすい。腫瘍性上皮や炎症の強い上皮の狙撃生検だけでは偽刷子縁がみられず IS が見落とされる可能性がある。
・他の STI も検索する必要があり，強い炎症や消化器症状がある場合は，併存疾患，特にアメーバ性腸炎などを考慮する必要がある。

文　献

1）Taylor DJ, Simmons JR, Laid HM. 1980. Production of diarrhea and dysentery in pigs by feeding pure culture of a spirochaete differing from *Treponema hyodysenteriae*. Vet Rec 106：326–332.
2）Korner M, Gebbers JO. 2003. Clinical significance of human intestinal spirichetosis–a morphologic approach. Infection 31：341–349.
3）Ena J, Simon–Aylon A, Pasquau F. 2009. Intestinal spirochetosis as a cause of chronic diarrhea in patients with HIV infection：case report and review of the literature. Int J STD AIDS 20：803–805.
4）Brooke CJ, Rilev TV, Hampson DJ. 2006. Comparison of prevalence and risk facters for faecal carriage of the intestinal spirochaetes *Brachyspira aalborgi* and *Brachyspira pilosicoli* in four Australian populations. Epidemiol Infect 134：627–634.
5）田中洋輔，松本裕子，島田直樹ほか．2016．ヒトから分離される *Brachyspira* 属菌の同定と微生物学的特徴．日臨微生物誌 26：30–40.
6）Mikosza AS, Hampson DJ. 2001. Human intestinal spirochetosis：*Brachyspira aalborgi* and/or *Brachyspira pilosicoli*? Anim Health Res Rev 2：101–110.
7）Hampson DJ. 2018. The Spirochete *Brachyspira pilosicoli*, Pathogen of Animals and Humans. Clin Microbiol Rev 31：e00087–17.
8）Tanahashi J, Daa T, Gamachi A, et al. 2008. Human intestinal spirochetosis in Japan：its incidence, clinicopathologic features, and genotypic indentification. Modarn Pathology 21：76–84.
9）Rojas P, Petrich A, Schulze J, et al. 2017. Distribution and phylogeny of *Brachyspira* spp. In human intertinal spirochetosis revealed by FISH and 16S rRNA–gene analysis. Anaerobe 47：25–32.
10）Westerman LJ, Stel HV, Schipper ME, et al. 2012. Development of a real–time PCR for identification of *Brachyspira* spesies in human colinic biopsies. PLoS One 7：e52281.doi：10.1371/journal.pone.0052281.
11）田中洋輔，長住瑠美，青柳恵美子ほか．2005．アメーバ性大腸炎と *Brachyspira pilosicoli* による腸管スピロヘータ症を合併した 1 例．日臨微生物誌 15：187–196.
12）Meziane–Cherif D, Lambert T, Dupechez M, et al. 2008. Genetic and biochemical characterization of OXA–63, a new class D β–lactamase from *Brachyspira pilosicoli* BM4442. Amtimicrob Agents Chemother 52：1264–1268.
13）Mortimer–Jones SM, Phillips ND, La T, et al. 2008. Penicillin resistance in the intestinal spirochaete *Brachyspira pilosicoli* associated with OXA–136 and OXA–137, two new variants of the class D beta–lactamase OXA–63. J Med Microbiol 57：1122–1128.
14）La T, Neo E, Phillips ND, et al. 2015. Genes encoding ten newly designated OXA–63 group class D β–lactamases identified in strains of the pathogenic intestinal spirochaete *Brachyspira pilosicoli*. J Med Microbiol 64：1425–1435.

17）抗菌薬関連下痢症

【はじめに】

抗菌薬関連下痢症（Antibiotic-associated diarrhea；AAD）を引き起こす細菌としては毒素産生 *Clostridioides*（*Clostridium*）*difficile*，Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*（MRSA），エンテロトキシン産生 *Clostridium perfringens*，細胞毒素産生 *Klebsiella oxytoca* などが知られているが[1-4]，これらの中で原因菌特定のための細菌学的検査診断法が確立されているのは *C. difficile* のみである。その他の細菌に関しては，通常の微生物検査室では病原因子の検出（下痢原性の確認）が困難であることから，たとえ分離培養検査でこれらの菌を検出したとしても多くの場合，その病原的意義づけは困難である。

AADの原因菌検索に際して *C. difficile* 検査は必須検査に位置づけられる。臨床検査室では最低限 *C. difficile* 検査は実施すべきである。*C. difficile* 検査としては主に糞便中トキシンA & B抗原検出法が用いられているが感度が十分でないことから，より高感度な検査法（分離培養法あるいは核酸増幅法）との併用が望ましい。

本ガイドラインでは *C. difficile* 検査を中心に各種検査診断法の特徴ならびに効果的な活用法（3ステップアルゴリズム法）について解説する。

A. 抗菌薬関連下痢症と発症機序

AADは，抗菌薬投与に関連して生じる下痢症の総称であり，抗菌薬投与例の5〜25%に発生するとされている。AADの発症機序としては，①腸管内常在菌叢の急激な減少に伴う機能的下痢（浸透圧性，水分吸収障害）および②抗菌薬による直接的腸管粘膜障害などの感染症以外による機序と，③毒素産生 *C. difficile* などの病原微生物が関与する機序が考えられている。AAD症例の多くは軽度の下痢のみを主訴とする軽症例であり，これらのほとんどは感染症以外による機序と推察されているが，重症下痢症や発熱を伴う腸炎に進展した症例では病原微生物が関与する率が高くなる。なお，下痢症/腸炎は抗癌薬や非ステロイド性抗炎症薬，免疫抑制薬などの抗菌薬以外の薬剤によっても誘発される[1-4]。

B. 毒素産生 *Clostridioides difficile*

毒素産生 *C. difficile* は最も重要なAAD原因菌である。本菌はAAD症例の15〜25%，発熱や末梢血白血球数増加を伴う腸炎に進展した例では50〜70%に関与するとされており，抗菌薬関連下痢症/腸炎が疑われる場合には本菌を必ず想定する必要がある。なお，内視鏡検査にて診断される偽膜性大腸炎（Pseudomembranous colitis：PMC）の多くは本菌によるAADが重篤化した病態であり，95%以上の例において本菌が関与している。本菌によるAADは適切な処置（原因薬の中止，抗 *C. difficile* 薬治療など）が行われないと麻痺性イレウスや巨大結腸症などの致死的な合併症を引き起こすことがある。

C. difficile による下痢症/腸炎の発症には，本菌が産生する2種類のトキシン（トキシンAおよびトキシンB）が重要な役割を果たしている[5]。トキシンAはウサギ腸管ループ試験において単独接種で腸管内液体貯留を起こすことから腸管毒素（エンテロトキシン）と呼ばれている。一方，トキシンBはベロ細胞などの感受性のある細胞に対し強い細胞毒性を示すことから細胞毒素（サイトトキシン）と呼ばれている。従来，トキシンBは，ウサギ腸管ループ試験で腸管毒性を示さないことから，単独では下痢症/腸炎を引き起こさないと考えられていたが，さまざまな研究成果により[6,7]，現在ではトキシンBはトキシンAよりも重要な病原因子として位置づけられるようになった。

C. difficile にはトキシンAおよびトキシンBの両トキシンを産生する株（A^+B^+），トキシンBは産生するがトキシンAは産生しない株（A^-B^+），および両トキシンとも産生しない株（A^-B^-）が存在し，トキシンを産生しないA^-B^-株は下痢

症/腸炎の原因とはならない。

トキシン A およびトキシン B をコードする遺伝子（*tcdA* および *tcdB*）は，これら遺伝子の調整を司る 3 種類の遺伝子（*tcdD*：positive regulator, *tcdC*：negative regurator, *tcdE*）とともに，Pathogenicity locus（PaLoc）を形成[5]している。A^+B^+株の多くは同一の PaLoc を保有しているが，A^-B^-株にはこの PaLoc が存在しない。一方，A^-B^+株はトキシン A 遺伝子の 3’ 末端部分に存在する反復塩基配列部分に約 1.8 kbp の欠損があり，さらに 5’ 末端から 139 番目の位置に点突然変異による停止コドンが認められる。A^-B^+株はこれらの変異を来したことによりトキシン A を産生しなくなった変異株[5]である。A^-B^+株の分離頻度は，国内では 1〜2 割程度と報告[8,9]されているが，院内集団発生により 39％を占めたとの報告[10]もある。

一方，*C. difficile* の 6〜12％の株は binary toxin（actin-specific ADP-ribosyl-transferase）と呼ばれる第三のトキシンを産生することが知られている。本トキシンは培養細胞に対しては細胞毒性を示すが，binary toxin を産生する A^-B^-株をハムスターの腸管に接種しても変化を認めない[11]ことから，本トキシン単独では下痢症/腸炎の原因とはならないと考えられている。なお，欧米諸国において大規模流行を引き起こした NAP1/027（パルスフィールド電気泳動型：NAP1/PCR ribotype 型：027）株や 078 株等の多くが本トキシンを産生することから，本トキシンが病原性の増強に関与するとの見解もみられるが[12,13]，現在のところ本トキシンの病原性への関わりについては明らかにされていない。

【*C. difficile* 感染症（CDI）検査診断法の種類と特徴】

CDI 検査診断法としては，糞便中トキシン B 活性検出法，糞便中トキシン A & B 抗原検出法，糞便中グルタメートデヒドロゲナーゼ（GDH）検出法，分離培養法（Toxigenic culture）および糞便中トキシン遺伝子検出法がある（**表 1-2-17-1**）。

a）糞便中トキシン B 活性検出法

細胞毒性試験による糞便中トキシン B 活性検出法は，感度・特異度ともに優れた方法であり，世界的に CDI 診断のための Gold standard として位置づけられている。しかしながら，本法はベロ細胞の維持・管理が必要であり，測定手技も煩雑であることから，国内の検査室ではまったく実施されていない。

b）糞便中トキシン A & B 抗原検出法

酵素免疫測定法による糞便中トキシン A & B 検出法は現在，もっとも多くの検査室で利用されている検査法である。本法は迅速（30 分以内）かつ簡便に結果が得られるという利点を有するが，CDI 診断における感度が 40〜70％程度[14]であることから，単独使用では見逃し（偽陰性）が避けられない。

c）糞便中グルタメートデヒドロゲナーゼ（GDH）検出法

本法は *C. difficile* が特異的に産生する酵素（GDH）を検出する方法であり，トキシンを検出しているのではない。本法はトキシンを産生しない A^-B^-株が存在する場合でも陽性となることから，CDI 診断における陽性的中率（陽性結果の信頼性）が低いという問題がある。その一方で，感度（85〜100％）および陰性的中率（陰性結果の信頼性 90〜100％）は優れた方法[15,16]であることから，CDI のスクリーニング試験としての有用性は高い。

d）分離培養法（Toxigenic culture）

分離培養法は，最も高感度に糞便中の *C. difficile* を検出可能である。しかしながら，本法は結果を得るのに 48 時間以上を要することから，迅速な診断には適さないという問題がある。なお，分離培養法では毒素非産生株も検出されることから，本法を用いる場合には後述する毒素産生性試験を必ず実施する必要がある（毒素産生性の確認試験まで実施する場合を Toxigenic culture と呼ぶ）。

分離培養検査のポイントとしては，①糞便検体

表 1-2-17-1　各種 CDI 検査診断法の特徴

検査法	原理	検出対象	利点	欠点	体外診断用医薬品 承認試薬 （2018 年 6 月現在）
トキシンＢ活性 検出法	細胞培養法 （細胞毒性試験）	トキシン B 活性	感度・特異度が高い （Gold standard 法）	細胞培養（ベロ 細胞）が必要 所要時間：24〜48 時間	なし
トキシンＡ＆Ｂ 抗原検出法	酵素免疫測定法	トキシンＡ＆Ｂ抗原	迅速，簡便	細胞培養法に比べ 感度が低い	X/pect トキシン A/B （関東化学）
					バイダスアッセイ キット CDAB （ビオメリュー・ ジャパン）
GDH 検出法	酵素免疫測定法	グルタメート デヒドロゲナーゼ （GDH）	迅速，簡便，高感度	特異度が不十分 （毒素非産生株も検出， 保菌状態でも検出）	なし
GDH および トキシンＡ＆Ｂ 抗原同時検出法	酵素免疫測定法	GDH および トキシンＡ＆Ｂ抗原	迅速，簡便， ２種の検出法を 組み合わせることで 特異度が向上	GDH 陽性でトキシン陰 性の場合の結果解釈が 困難（他法での確認が 必要）	C. DIFF QUIK CHEK コンプリート （アボット）
					GE テスト イムノクロ マト-CD GDH/TOX 「ニッスイ」 （日水製薬）
分離培養法 （Toxigenic culture）	分離培養＋ トキシン産生試験	トキシン産生 *Clostridioides* *difficile*	高感度	保菌状態でも検出， 所要時間：24〜48 時間	−
トキシン遺伝子 検出法	核酸増幅法	トキシン B 遺伝子（*tcdB*）	高感度	保菌状態でも検出	Xpert C. difficile 「セフェイド」 （ベックマン・ コールター）
					BD マックス CDIFF （日本ベクトン・ ディッキンソン）

CDI：*Clostridioides difficile* infection

は十分量採取すること（5 mL 以上，あるいは母指頭大以上），②アルコール処理により芽胞を選択すること（雑菌抑制効果の高い選択培地を使用する場合は必ずしも必須ではないが，選択培地に充分量の検体を接種するためにはアルコール処理の実施が望ましい），③選択培地に十分量（100 μL）接種することが重要である。糞便検体は嫌気性菌用保存容器での提出が望ましいが，十分量採取されていれば，通常の保存容器でも検出可能である（検体提出から培養開始までに時間がかかる場合は凍結保存する）。

(1) 分離培養および同定方法[17]（図 1-2-17-1）

糞便検体を同量の 99%エタノールと混合し，ときどき攪拌しながら室温で 30 分から 1 時間放置する。この前処理サンプル 100 μL をサイクロセリン・セフォキシチン・マンニトール培地（CCMA）あるいはサイクロセリン・セフォキシチン・フルクトース培地（CCFA）に接種後，24〜48 時間嫌気培養を行う。なお，培地は使用前に一晩以上予備還元しておくと分離率がよくなる。

培養後，CCMA あるいは CCFA 培地上で特徴的な臭気を発する黄色コロニーが認められ，グラム染色で亜先端に卵円形の芽胞を有するグラム陽性桿菌であれば，*C. difficile* とほぼ同定できる。また，血液寒天培地上では，大きな光沢のない辺縁不整なラフ型集落（まれにスムース型）を形成し，紫外線を照射すると黄緑色の蛍光が認められ

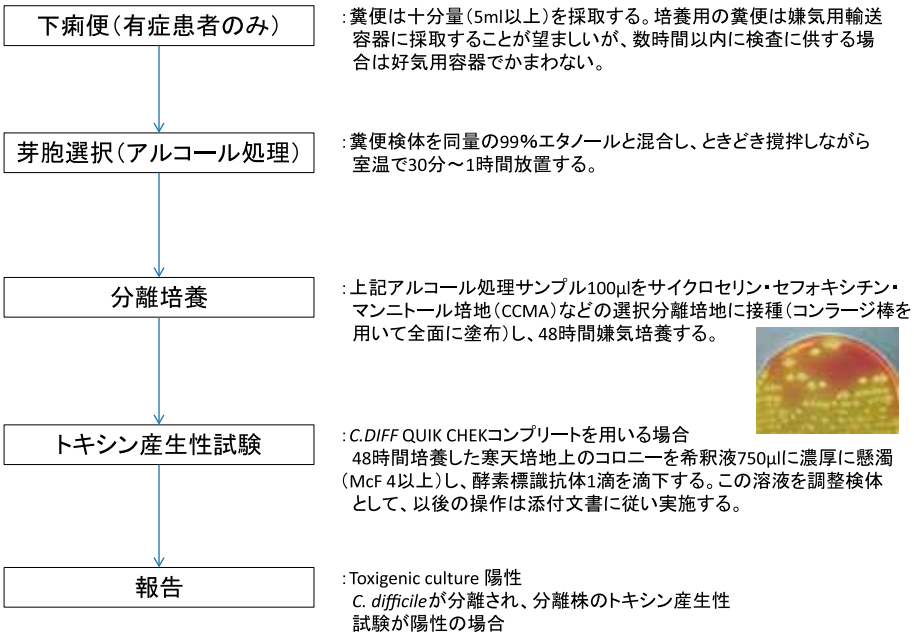


図 1-2-17-1　分離培養法によるトキシン産生 *C. difficile* の検出（toxigenic culture）

るのが特徴である。簡便な同定法としては，GDH 検出法の利用が便利である。ただし，GDH 検出法は培養 24 時間以内のコロニーでは陽性とならないことがあるため，36～48 時間培養菌の使用が望ましい。

(2) 菌株の毒素産生性試験法

i）トキシン A & B 検出キットを用いる方法（**図 1-2-17-1**）

ここでは C. DIFF QUIK CHEK コンプリート（アボット）を用いる場合[18]の手順を示す。寒天平板培地（選択培地あるいは血液寒天培地）で 48 時間嫌気培養したコロニーをキット添付の希釈液 750 μL に濃厚（McF≧4 が目安）に懸濁し，酵素標識抗体 1 滴を滴下する。この溶液を調整検体として，以後の操作は添付文書に従い実施・判定する（本キットでは毒素産生性の確認と *C. difficile* の同定を同時に実施できる）。なお，24 時間培養後のコロニーでも毒素検出が可能であるが，菌株によっては偽陰性を示すことがあるため，24 時間培養で陰性であっても 48 時間培養後に再検査を実施することが望ましい。

ii）Polymerase Chain Reaction（PCR）法による毒素産生遺伝子解析[17]

PCR 法による毒素産生遺伝子の検出は加藤らの方法[5,19,20]が有用である。*C. difficile* 菌体を 50 μL の TES バッファー（50 mM Tris HCl［pH8.0］，5 mM EDTA，50 mM NaCl）に懸濁し，95℃で 10 分間加熱処理後，15,000 rpm，5 分間遠心しその上清を用いて PCR を実施する。

PCR 条件はトキシン A とトキシン B では異なるので，通常は 2 種類の PCR を実施するが，トキシン B 遺伝子の有無（トキシン B 産生性）のみが目的である場合は，トキシン A の PCR を省略してもかまわない。トキシン A の PCR では A^+B^+ 株と A^-B^+ 株の鑑別が可能である。

プライマーは，トキシン A は NKV011-NK11-NK9 の 3 種（あるいは NK11-NK9 の 2 種）を使用し，トキシン B では NK104-NK105 の 2 種を用いる。測定法の詳細は文献 5，17，19，21 を参照されたい。なお，これらトキシン A および B 遺伝子と binary toxin 遺伝子の検出を目的とする毒素遺伝子検出キット（シカジーニアス® 毒素遺伝子検出キット，関東化学株式会社）が利用可能である。

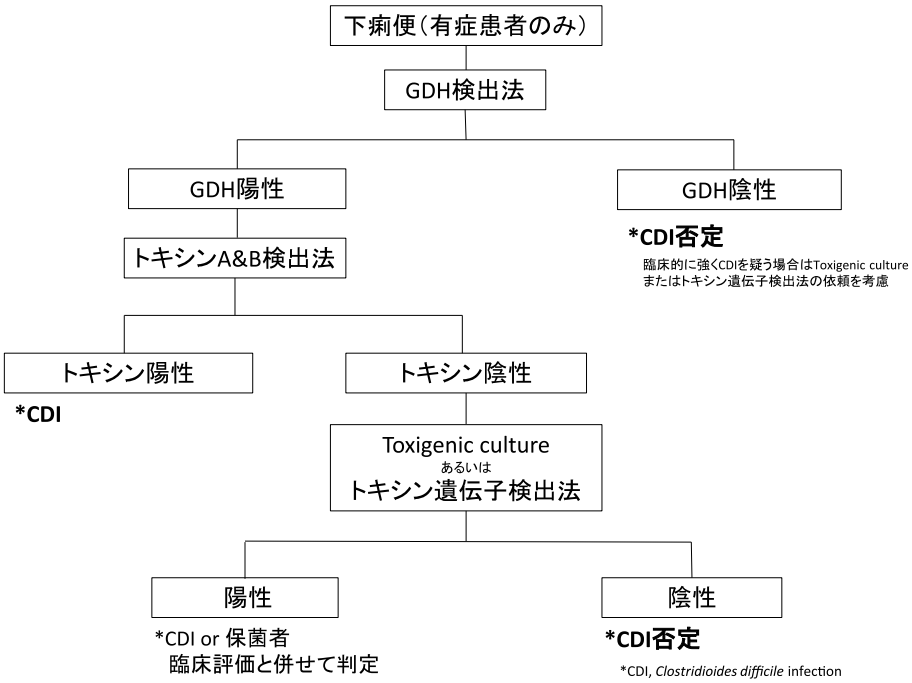


図 1-2-17-2　検査精度および検査効率を上げるための 3 ステップアルゴリズム

iii）糞便中トキシン遺伝子検出法（核酸増幅法）

2018 年 6 月現在，国内で体外診断用医薬品として承認されている糞便中トキシン遺伝子検出試薬を**表 1-2-17-1** に示した。諸外国ではこれら以外にもすでに数種の検査試薬が利用されており，今後は国内にも導入されるものと思われる。これら検査試薬の感度・特異度は試薬間で若干の違いはあるものの，感度（73〜100％），特異度（83〜100％）と分離培養法とほぼ同等の成績であることが報告[22]されている。検査所要時間は 45 分〜3 時間であり，酵素免疫測定法ほどの迅速性は望めないが，検査当日中の結果報告が可能である。一方，トキシン遺伝子検査の欠点としては検査コストが高額であることが挙げられる。このため，すべての検体をトキシン遺伝子検出法の対象とするのは医療経済上好ましくない

e）検査精度およびコストを考慮した効果的な活用法（3 ステップアルゴリズム法）

上述したように，いずれの CDI 検査診断法であっても単独使用では感度が低い/特異度が低い/結果報告が遅い/コストが高額などの問題を有する。そこで，これら特性の異なる複数の検査法を組み合わせることにより検査精度の改善およびコスト削減が可能となることが示されており，**図 1-2-17-2** に示した 3 ステップアルゴリズム法がきわめて有用性の高い方法として推奨[23〜26]されている。

3 ステップアルゴリズム法は，①GDH 検出法による *C. difficile* のスクリーニング，②トキシン A & B 抗原検出法による糞便中毒素の検出（迅速診断），および③高感度検出法による補完（Toxigenic culture あるいはトキシン遺伝子検出法）から構成されており，③については検査室の状況に応じて実施可能な方法を選択する。なお，頻度は高くないが GDH 検出法では検出されない CDI 症例が存在する（0〜15％）。このため，たとえ GDH 検出法が陰性であっても臨床的に強く CDI を疑う場合には高感度検出法（Toxigenic culture あるいはトキシン遺伝子検出法）による精査が望ましい。

f）CDI 検査診断法を利用する際の厳守事項

消化器症状（下痢，腹痛など）のない患者の検査は実施すべきでない。特に，分離培養法およびトキシン遺伝子検出法は高感度ゆえに無症候性消化管保菌者であっても“検査陽性”となることから，安易な検査は不要な診断（Over Diagnosis）

表 1-2-17-2　抗菌薬関連下痢症（AAD）との関連が報告されている細菌

対象微生物	*Clostridioides*（*Clostridium*）*difficile*	*Clostridium perfringens*	*Staphylococcus aureus*（MRSA）	*Klebsiella oxytoca*
病原因子	毒素産生 （トキシン A，B）	毒素産生 （エンテロトキシン）	毒素産生 （エンテロトキシンなど）	毒素産生 （細胞毒素：チリバリン）
下痢	軽症〜重症下痢	水様性下痢，ときに 血液や粘液交じり	大量の水様性下痢	出血性下痢
内視鏡所見	重症例：大腸に偽膜形成 （偽膜性大腸炎）	不明	重症例：小腸に偽膜形成	充血を伴う出血性大腸炎
主に関連する抗菌薬	クリンダマイシン， セファロスポリン， フルオロキノロン， 広域ペニシリン	広域ペニシリン， セファロスポリン， スルファメトキサゾール・ トリメトプリム	フルオロキノロン， セファロスポリン	β-ラクタム系薬， フルオロキノロン
その他関連する薬剤	プロトンポンプ インヒビター	プロトンポンプ インヒビター	不明	不明
再燃リスク	あり	あり	なし	なし
動物実験モデル	あり	なし	なし	あり
微生物検査による 検査診断	あり 糞便中トキシン A & B 抗原検出法， Toxigenic culture， 核酸増幅法（*tcdB*）	あり 糞便中 *C. perfringens* エンテロトキシン検出	なし	なし
治療	誘発薬の中止 メトロニダゾール， バンコマイシン， フィダキソマイシンなど	誘発薬の中止 メトロニダゾール	誘発薬の中止 バンコマイシン	誘発薬の中止 抗菌薬治療は不要

＜文献 4）を加工して作成＞

や治療を招く恐れがある。また，治療効果判定のための検査や，隔離解除を目的とした陰性化確認のための検査も，検査の意義が乏しいことから実施すべきでない（臨床症状の改善を指標とする）。なお，CDI の診断を行う際には，検査結果のみならず，臨床症状や重症度，リスク因子を含め総合的に判断し，治療方針（経過観察，誘発薬のオフ，抗 *C. difficile* 薬投与など）ならびに感染対策の必要性を決定することが望ましい[26]。

C. その他抗菌薬関連下痢症との関連が報告されている微生物

表 1-2-17-2 に AAD との関連が報告されている微生物を示した。前述したように *C. difficile* 以外の細菌に関しては，通常の微生物検査室では病原因子の検出（下痢原性の確認）が困難であることから，ここでは文献的考察に基づく検査対応法の例示にとどめた。

【Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*（MRSA）】

MRSA はエンテロトキシンや toxic shock syndrome 毒素などの菌体外毒素を産生することにより，下痢症/腸炎[21]を引き起こす。これら菌体外毒素は主に小腸に強い炎症を引き起こし，小腸壁の浮腫，充血，浸出，時に偽膜[27]を生じるが，大腸の炎症は軽度とされており，この点が *C. difficile* による下痢症/腸炎（通常は結腸および直腸に病変形成）とは異なる[21]。MRSA 腸炎は術後の広域抗菌薬投与患者に発生することが多く，特に胃切除などの腹部手術後[21]や強力な胃酸分泌抑制薬を投与されている患者[28]は MRSA 腸炎の発症リスクが高いとされている。

MRSA 腸炎の診断には糞便の分離培養検査が必要不可欠である。しかし，分離培養検査では単なる消化管キャリアからも MRSA を検出してしまうことがあることから，その診断には麻痺性イ

レウスを伴う多量な水様性下痢症などのMRSA腸炎を示唆する臨床症状の存在が必要[29]である。さらに，下痢便よりMRSAが検出された場合であっても，真の原因菌は毒素産生*C. difficile*である例も認められることから，MRSA腸炎の診断に際しては*C. difficile*検査を必ず実施し毒素産生*C. difficile*の関与を否定する必要[29]がある。

糞便からのMRSAの分離にはMRSA選択分離培地が有用である。検査対応としては，原則的には主治医よりMRSAの検出依頼がある場合にMRSA選択分離培地を併用すればよいが，入院患者の水様性下痢便（特に*C. difficile*検査が陰性の場合）においては主治医からの依頼がなくてもMRSA選択分離培地の併用が望ましい。

【エンテロトキシン産生 *Clostridium perfringens*】

エンテロトキシン産生*C. perfringens*は古くから食中毒原因菌として知られているが，2000年以降，本菌が産生するエンテロトキシンが*C. difficile*陰性AAD症例の糞便より検出されたとの報告[30,31]が相次いでなされるようになり，現在ではエンテロトキシン産生*C. perfringens*もAADを引き起こす細菌のひとつとして位置付けられるようになった。

*C. perfringrns*は産生する毒素の種類によってA～Dの5型に分類される。この中でCPE（*C. perfringrns* enterotoxin）を産生するA型*C. perfringrns*が食中毒およびAADを引き起こすことが報告されており[4]，ある研究ではAADの15％を占めたとの報告[32]がある。

*C. perfringrns*によるAADの診断には糞便中のCPEの検出あるいは糞便中のCPE産生*C. perfringrns*の検出が必要である。前者は，国内ではPET-RPLA「生研」（デンカ生研）が体外診断用医薬品として市販されているが，国内のほとんどの検査室では導入されていない。一方，後者に関しても国内で対応している検査室はほとんどない。CPE産生*C. perfringrns*によるAAD症例は本菌による食中毒症例とは異なり重症化することが知られていることから[33]，原因不明（*C. difficile*否定）の重症AADにおいては可能であれば検査対応を考慮すべきと思われる。

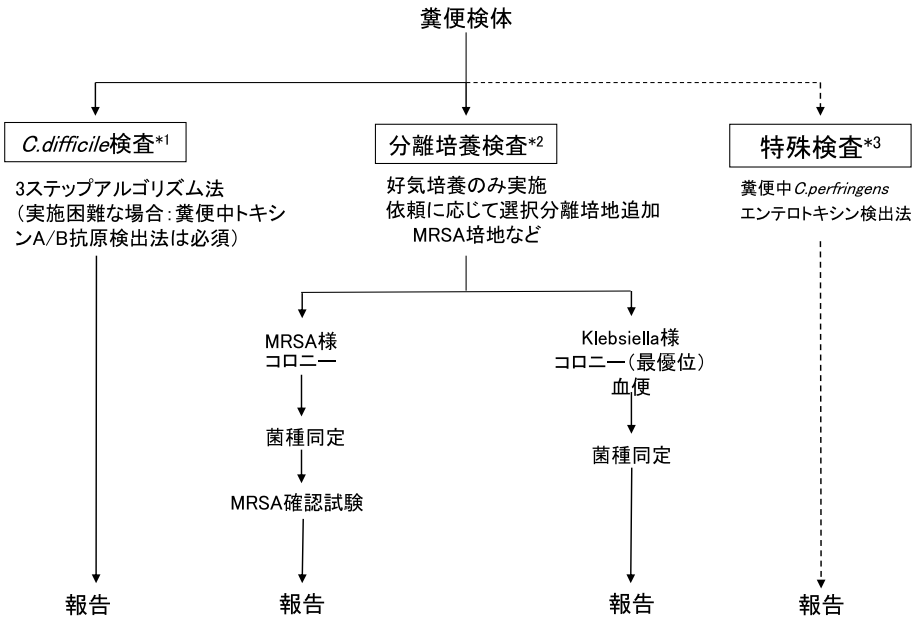
【*Klebsiella. oxytoca*】

*K. oxytoca*は抗菌薬投与後の急性出血性大腸炎（Acute hemorrhagic colitis：AHC）との関連性が報告[2,4]されている。AHCは，抗菌薬投与後1～7日以内に急激に血性下痢および腹痛を来たす疾患であり，ABPCをはじめとするペニシリン系経口薬の服用後にみられることが多い。本症は軽症のことが多く予後は良好で，投薬中止および対症療法で速やかに軽快するのが特徴[34]とされている。Beaugerieら[35]は，*C. difficile*陰性AHCの症例から細胞毒性を有する*K. oxytoca*が高率に検出されたことから，細胞毒素産生*K. oxytoca*がAHCに関与する可能性が高いことを報告した。現在，この細胞毒素はチリバリンという毒性物質（タンパク質ではなく化学物質）であることが明らかにされている[4]。

現状における検査対応としては，①検査室ではチリバリンの検出が困難なこと，②AHCは軽症で予後が良好であること，③AHCでは糞便中の*K. oxytoca*の菌量が増加（$>10^6$ CFU/mL）していること[36]，④非出血性下痢症患者からは本菌が検出されないこと[36]，などを考慮すると，主治医からの特別な依頼がある場合を除き，本菌を目的にした選択分離培地（ABPC添加血液寒天培地）の使用は不要と考える。ルーチン業務では，血性便の培養検査で最優位にKlebsiella様のコロニーが検出された場合にのみ菌種同定を行うことを勧める。

【その他の微生物】

その他，AADとの関連が報告されている微生物としては，*Candida*属[37]および*Pseudomonas aeruginosa*[38]が挙げられるが，現在のところ，これらの微生物が直接的にAADを引き起こすという根拠は乏しい[1,2]。



*1 必須検査，*2 必要性は主治医と相談，*3 主治医からの特別な依頼があり検査室にて対応可能な場合に実施

図 1-2-17-3　抗菌薬関連下痢症が疑われる場合の細菌学的検査の進め方

D. 抗菌薬関連下痢症が疑われる場合の細菌学的検査の進め方

図 1-2-17-3 に AAD が疑われる場合の細菌学的検査の進め方をまとめた。これらの検査を適切に進めるためには患者情報・感染情報（患者基本情報，基礎疾患，検査目的，疑われる感染症，目標菌，投薬歴など）が必要不可欠である。検体提出にあたり必要な情報が伝達可能な体制を整備する必要がある。また，AAD の原因菌検索に際して，*C. difficile* 検査は必須検査に位置づけられる。AAD が疑われるにもかかわらず *C. difficile* 検査が依頼されていない場合には，主治医が *C. difficile* の重要性を認識していない可能性が考えられるので，検査室側からその重要性について連絡し検査の必要性を確認することが望ましい。

文　献

1) Bartlett JG. 2002. Antibiotic-associated diarrhea. N Engl J Med 346：334-39.
2) Beaugerie L. 2004. Antibiotic-associated diarrhea. Best Pract Res Clin Gastroenterol 18：337-352.
3) Young VB, Schmidt TM. 2004. Antibiotic-associated diarrhea accompanied by large-scale alterations in the composition of the fecal microbiota. J Clin Microbiol 42：1203-1206.
4) Larcmbe S, Hutton LM, Lyras D. 2016. Involvement of bacteria other than *Clostridium difficile* in antibiotic-associated diarrhea. Trends in Microbiology 24：463-476.
5) 加藤はる．クロストリジウム・ディフィシル毒素．臨床検査 2003；47：169-174.
6) Lyras D, O'Connor JR, Howarth PM, et al. Toxin B is essential for virulence of *Clostridium difficile*. Nature 2009；458：1176-1179.
7) Kuehne SA, Cartman ST, Heap JT, et al. 2009. The role of toxin A and toxin B in *Clostridium difficile* infection. Nature 467：711-714.
8) Kato H, Kato N, Watanabe K, et al. 2001. Analysis of *Clostridium difficile* isolates from nosocomial outbreaks at three hospitals in diverse areas of Japan. J Clin Microbiol 39：1391-1395.
9) Toyokawa M, Ueda A, Nishi I, et al. 2008. Isolation and characterization of *Clostridium difficile* from two geographically separate hospitals in Japan. LABMEDICIN 39：282-286.
10) Komatsu M, Kato H, Aihara M, et al. 2003. High frequency of antibiotic-associated diarrhea due to toxin A-negative, toxin B-positive *Clostridium difficile* in a hospital in Japan and risk factors for infection. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 22：525-529.
11) Geric B, Carman RJ, Rupnik M, et al. 2006. Binary toxin-producing large clostridial toxin-negative *Clostridium difficile* strains are enterotoxic but do not cause disease in hamstaers. J Infect Dis 193：1143-1150.
12) McDonald LC, Mulligan ME, Thompson A, et al. 2005. An epidemic, toxin gene-variant strain of *Clostridium difficile*. N Engl J Med 353：2433-2441.
13) Warny M, Pepin J, Fang A, et al. 2005. Toxin production by an emerging strain of *Clostridium difficile* associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe. Lancet 366：1079-1084.
14) Burnham DC, Carroll CK. 2013. Diagnosis of *Clostridium*

difficile Infection：an Ongoing Conundrum for Clinicians and for Clinical Laboratories. Clin Microbiol Rev 26：604–630.
15）Crobach MJT, Dekkers OM, Wilcox MH, et al. 2009. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases（ESCMID）：Data review and recommendations for diagnosing *Clostridium difficile*–infection（CDI）. Clin Microbiol Infect 15：1053–1066.
16）Kawada M, Annaka M, Kato H, et al. 2011. Evaluation of a simultaneous detection kit for the glutamate dehydrogenase antigen and toxin A/B in feces for diagnosis of *Clostridium difficile* infection. J Infect Chemother 17：807–811.
17）加藤はる，加藤直樹．2002．*Clostridium difficile* 感染症と細菌学的検査．日臨微生物誌 12：1–8.
18）上田安希子，豊川真弘，坂田友美ほか．2014．イムノクロマト法を用いた *Clostridium difficile* の毒素産生性確認試験に及ぼす分離培地の影響に関する検討．日臨微生物誌 25（Suppl. 1）：218.
19）Kato H, Kato N, Katow S, et al. 1999. Deletions in the repeating sequences of the toxin A gene of toxin A–negative, toxin B–positive *Clostridium difficile* strains. FEMS Microbiology Letters 175：197–203.
20）Kato H, Kato N, Watanabe K, et al. 1998. Identification of toxin A–negative, toxin B–positive *Clostridium difficile* by PCR. J Clin Microbiol 36：2178–2182.
21）吉岡政洋，鈴木紘一．1997．抗生物質起因性腸炎．Medical Practice 14：1109–1112.
22）Crobach MJ, Planche T, Eckert C, et al. 2016. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases：update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. Clin Microbiol Infect 22：S63–S81.
23）Carroll KC, Bartlett JG. 2011. Biology of *Clostridium difficile*：implications for epidemiology and diagnosis. Annu Rev Microbiol 65：501–521.
24）Carroll KC. 2011. Tests for the diagnosis of *Clostridium difficile* infection：The next generation. Anaerobe 17：170–174.
25）豊川真弘．2015．クロストリジウム・ディフィシル感染症の検査診断法．化学療法の領域 31：40–46.
26）一般社団法人日本臨床微生物学会感染症領域新規検査検討委員会．2017．*Clostridium difficile* 毒素遺伝子検査を踏まえた検査アルゴリズム．日臨微生物誌 27：2–6.
27）Froberg MK, Palavecino E, Dykoski R, et al. 2004. *Staphylococcus aureus* and *Clostridium difficile* cause distinct pseudomembranous intestinal diseases. Clin Infect Dis 39：747–750.
28）谷田憲俊．1998．ブドウ球菌感染症　ブドウ球菌院内感染症．p.129–131，感染症学，第一版．下山孝 監修．診断と治療社，東京.
29）石川周．2001．MRSA 感染症の抗菌薬療法の実際　8）術後感染症．感染と抗菌薬 4（増刊号）：72–77.
30）Modi N, Wilcox MH. 2001. Evidence for antibiotic induced *Clostridium perfringens* diarrhea. J Clin Pathol 54：748–751.
31）Pituch H, Obuch–Woszczatynski P, Wultanska D, et al. 2007. Laboratory diagnosis of antibiotic–associated diarrhea：a pilot study into the clinical relevance of *Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens* toxins. Diagn Microbiol Infect Dis 58：71–75.
32）Gorkiewicz G. 2009. Nosocomial and antibiotic–associated diarrhoea caused by organisms other than *Clostridium difficile*. Int J Antimicrob Agents 33：37–41.
33）Carman RJ. 1997. *Clostridium perfringens* in spontaneous and antibiotic–associated diarrhoea of man and other animals. Rev Med Microbiol 8：S43–S45.
34）富安信夫，鶴田修，光山慶一ほか．2005．薬剤出血性腸炎．胃と腸 40：611–615.
35）Beaugerie L. 2003. *Klebsiella oxytoca* as an agent of antibiotic–associated hemorrhagic colitis. Clin Gastroenterol Hepatol 5：370–376.
36）Zollner–Schwetz I, Högenauer C, Joainig M, et al. 2008. Role of *Klebsiella oxytoca* in antibiotic–associated diarrhea. Clin Infect Dis 47：e74–e78.
37）Levine J, Dykoski RK, Janoff EN. 1995. Candida–associated diarrhea：a syndrome in search of credibility. Clin Infect Dis 21：881–886.
38）Kim SW, Peck KR, Jung S, et al. 2001. *Pseudomonas aeruginosa* as a potential cause of antibiotic–associated diarrhea. J Korean Med Sci 16：742–744.

18）腸結核

【分布・疫学】

a）分布

結核菌（*Mycobacterium tuberculosis*）はヒトを固有宿主とするため，ヒトが存在する地域には基本的に分布している。また人獣共通感染症としての側面も持っているため，ヒト-家畜間での感染伝播もありうる。*M. tuberculosis* の感染経路は基本的に呼吸器であり，活動性肺結核患者の咳嗽に伴って発生する飛沫あるいは飛沫核に *M. tuberculosis* が含まれており，それらを吸入することで感染が成立する場合がほとんどである。医療現場ではまれに高濃度の *M. tuberculosis* に直接接触したり誤って嚥下した場合などに皮膚あるいは腸管から感染を起こすこともありうる。活動性結核患者の分布は一般に先進工業国で低く，開発途上国で多い傾向がある。

b）疫学

世界保健機関の報告によると，2017 年には世界中で 1,000 万人の結核患者が発生したと推定されている。そのうち約 9％は Human Immunodeficiency Virus（HIV）感染を合併している[1]。結核と HIV 感染の合併割合は一般にサハラ砂漠以南のアフリカ諸国で高いが，日本ではきわめて低く結核患者 300〜500 人に 1 人程度の頻度である[2]。

結核の統計 2018 によると，2017 年に新規登録された結核患者 16,789 人のうち腸結核の診断がある患者数は 220 人（1.3％）となっている。これは肺外結核としては結核性胸膜炎（2,868 人），リンパ節結核（779 人），粟粒結核（687 人）に次ぐ数字である[3]。

鈴木らによると病理解剖にて結核あるいは陳旧性結核を認めた 5,103 症例のうち，腸結核を合併していたのは 80 例（1.6％）であり，そのうち 71 例に肺結核を認めている（88.8％）[4]。

【臨床的意義（感染対策・法規を含む）】

a）腸結核の病態

腸結核は，汚染物の嚥下により初感染巣として発病する一次性腸結核と，肺病変から排出された *M. tuberculosis* が嚥下され，腸管に定着・感染することにより成立する二次性腸結核に分類される。隣接する他の病巣からの直接進展や血行性転移も考えられる。好発部位は回腸（回盲部）・結腸である[5]。結核菌は腸管粘膜内のリンパ濾胞やパイエル板で結核結節を形成する。拡大した結節は中心部が乾酪壊死に陥り，小潰瘍が形成される。結核菌は腸管の短軸方向に走行するリンパ管に沿って拡がり，潰瘍が融合すると輪状潰瘍となる。

臨床症状に特異的なものはなく，腹痛，下痢，発熱，体重減少，食思不振などである。大腸内視鏡検査でクローン病などの病変と誤診される場合がある。

b）感染対策

一般に結核の感染源は未治療の活動性肺結核患者である。*M. tuberculosis* の主要な感染経路が空気・飛沫（エアロゾル）感染であることから，感染対策としては環境制御と個人防御が考えられる。エアロゾル感染に関する環境制御とはつまるところ空気中の病原体濃度の減少である。空気中の病原体濃度を低下させるには換気が必要であり，定常的に *M. tuberculosis* の浮遊が懸念される状況（排菌中の活動性肺結核患者が常在する病棟など）では，1 時間に 6〜12 回の換気が推奨される。*M. tuberculosis* を取り扱う検査室でも同様であり，検査室の入り口から奥に向かう一方向での気流による換気が奨められる。また，当然ながら *M. tuberculosis* を含む検体を取り扱う際は安全キャビネットを使用する[6]。

個人防御はレスピレーター（マスク）の使用が基本である。*M. tuberculosis* の空気感染をレスピレーターで防御しようとする場合は，N95 レベル以上のものを使用する。マスクと皮膚面に隙間があるとエアロゾルが侵入する危険が増大するので，漏れがないことを確認するためフィットテス

トを定期的に実施する。

腸結核による排泄物から直接エアロゾル感染する可能性は，検査室を除いて考慮する必要はない。通常の汚物として処理する。

c）法規

結核は二類感染症に分類されており，*M. tuberculosis* も特定病原体等の指定を受けているため，*M. tuberculosis* の取扱に関しては「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（感染症法）により以下のような基準が示されている。なお，感染症法は病原体等に関する法律であり，臨床検体や患者には適用されない[7]。

「結核菌を取り扱う施設の位置，構造及び設備の技術上の基準（法第 56 条の 24 関係）」

①管理区域の設定
②保管施設（庫）に関すること
③実験室内の壁等の表面が消毒の容易な構造であること
④実験室内に通話装置を備えていること
⑤内部の状態を把握することができること
⑥安全キャビネットの使用（Class Ⅱ以上）に関すること
⑦前室に関すること
⑧排気設備に関すること
⑨飼育設備に関すること
⑩滅菌等設備に関すること
⑪排水設備に関すること

上記の基準は基本的に分離同定された *M. tuberculosis* の取扱を前提としており，たとえば病院検査室で *M. tuberculosis* が分離され，滅菌あるいは譲渡するまでの間保管する場合は上記③〜⑪については適用されない。

M. tuberculosis はその耐性保有状況によって三種あるいは四種病原体等に分類が変化する。三種病原体等に相当する *M. tuberculosis* は以下の条件を満たすものである。三種病原体等に該当しない *M. tuberculosis* が四種病原体などとなる。

「健感発 0407 第 9 号（平成 27 年 4 月 7 日）[8]」

三種病原体等であるマイコバクテリウム属ツベルクローシス（別名結核菌）について，次に掲げる薬剤に対し耐性を有するものに限るものとすること。（法第 6 条第 22 項第 2 号及び令第 1 条の 4 関係）

①イソニコチン酸ヒドラジド
②リファンピシン
③オキフロキサシン，ガチフロキサシン，シプロフロキサシン，スパルフロキサシン，モキシフロキサシン又はレボフロキサシン
④アミカシン，カナマイシン又はカプレオマイシン

①と②は耐性条件として必須である。③と④はそれぞれの薬剤のうち少なくとも一つに耐性を有していること。

M. tuberculosis は三種あるいは四種病原体等に指定されていることから，輸送に関しても感染症法上の規定がある。それ以前に，*M. tuberculosis* は世界保健機関によって UN2814（カテゴリー A）の感染性物質としての指定を受けているので，輸送には適正な梱包を必要とする（三重包装）[9]。また，万国郵便条約の規定により，感染性微生物を郵便で輸送することはできない。日本国内で四種病原体等に相当する *M. tuberculosis* を輸送しようとする場合はゆうパックが利用できる。三種病原体等に相当する *M. tuberculosis* の場合は「ゆうパック」は利用できない。感染症法により輸送の手順が厳格に決められており，公安の許可を必要とする。

なお，結核菌群に含まれる *Mycobacterium bovis*（ウシ型）と *Mycobacterium caprae*（ヤギ型）は家畜伝染病予防法の対象となり，それぞれ所持する場合は許可/届出が必要となる[10]。

【分類】

M. tuberculosis は真正細菌である。分類学的には *Bacteria* 界，*Actinobacteria* 門，*Actinomycetales* 綱，*Corynebacterineae* 目，*Mycobacteriaceae* 科，

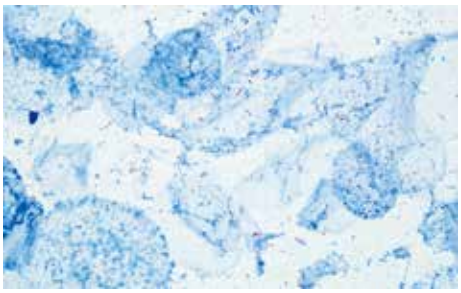


図 1-2-18-1　喀痰中の結核菌（Ziehl-Neelsen 染色，×1,000）



図 1-2-18-2　小川培地上に発育した結核菌のコロニー

Mycobacterium 属に分類される。結核菌群には *Mycobacterium tuberculosis*（species type strain），*M. bovis*，*M. africanum*，*M. caprae*，*M. microti*，*M. pinipedii*，“*M. canettii*”が含まれる。

【形態】

定型的には桿菌であり，大きさは 0.3〜0.6×1〜4 μm とされているが，長さについては 1〜10 μm とするテキストもあり，多型性（時に球菌様）を特徴とする（**図 1-2-18-1**）。

【培養】

便培養では，遠沈管に小指頭大の便を採り，10 mL の滅菌蒸留水を加え，チューブミキサーで撹拌し溶解する。15 分間放置し，大きい固形物を沈殿させる。上清を新しい遠沈管へ移し，N-acetyl-*L*-cysteine（NALC）-NaOH 法または 5％シュウ酸法により処理し培地へ接種する[11]。便培養による菌陽性率は 10％程度と言われている。肺病変がある場合は必ずしも腸結核病変がなくとも喀痰の嚥下による陽性が考えられ，診断的意義の解釈には注意を要する。内視鏡下に採取した生検材料から培養検査を実施する場合は，検体を閉鎖式ホモジナイザーでよく磨砕し，NALC-NaOH 法または 5％シュウ酸法により処理し培地へ接種する。生検材料の培養陽性率は 46〜90％と報告されている[12]。

培養には液体培地や固形培地を使用する。液体培地には，Middlebrook 7H9 を基礎とするものが多く，その他 Dubos 培地，Kirchner 培地，Sauton 培地などがある。固形培地には鶏卵を基礎とする Löwenstein-Jensen 培地や小川培地，寒天を基礎とする Middlebrook 7H10/11 などがある。液体培地中で形態を見ることはできないが，*M. tuberculosis* は非結核性抗酸菌に比べると凝塊を形成しやすい。培地固形培地上に発育した *M. tuberculosis* のコロニーは薄いクリーム色で，一定サイズ以上では表面不整な性状を示す（**図 1-2-18-2**）。1 mg の湿菌量でおよそ 10^7 cfu の *M. tuberculosis* を含むとされている。

【生化学的性状】

M. tuberculosis は定型的抗酸性を有しており，媒染剤としてフェノールを含む塩基性フクシン（主成分はパラロザリニン）で定型的に染色され，酸やアルコールで脱色されにくい。非運動性，空中菌糸非産生性，非芽胞形成性であり，鞭毛や莢膜を持たない。好気性あるいは微好気性の性状を有する。前述の培地で人工的に培養することが可能であるが，発育はきわめて緩徐であり，一分裂に 12〜24 時間かかるとされている。至適発育温度は 36±1℃であり，25℃や 45℃では発育しない。培養菌は一般にコード形成と呼ばれるひも状の立体構造をとる（**図 1-2-18-3**）。色素を産生せず，ナイアシン試験陽性，硝酸塩還元試験陽性，カタラーゼ試験陽性（ときに低カタラーゼ），Tween80 水解試験陰性，アリルスルファターゼ試

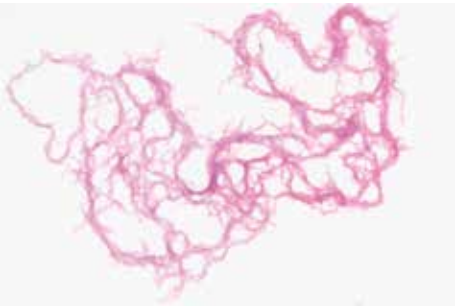


図 1-2-18-3　培養結核菌によるコード形成
（Ziehl-Neelsen 染色，×1,000）

験陰性，パラニトロ安息香酸培地感受性（発育陰性）で thiophene-2 carboxylic acid hydrazide（TCH）耐性である[11]。

細胞壁に含まれるミコール酸の炭素数が 60〜90（熱分解により C_{22}〜C_{26}脂肪酸メチルエステルに解離）であり，さらに遺伝子における Guanine（G）と Cytosine（C）の含有率が 61〜71％であることが *Mycobacterium* 属を示唆する最低条件となっている。

【迅速検査法】

抗酸菌検査には抗酸性を利用した塗抹鏡検，培養，核酸増幅法検査があるが，前述の生理学的特徴（遅発育性）により培養法に迅速性はない。抗酸菌塗抹検査は基本的にあらゆる抗酸菌のほか，放線菌類なども染色されるため，菌種特異性はない。また一般的に抗酸菌塗抹陽性となるためには 10^4 cfu/mL 程度の抗酸菌濃度が必要とされており，高感度とはいえない。実際に肺結核患者で喀痰塗抹陽性となるのは 40％程度である[3]。グラム染色は陽性だが難染性で，菌体が「抜けて」見えるのでゴーストと称されることがある。組織所見では，チール・ネールゼン染色にて抗酸菌を検出するか，乾酪壊死を伴う類上皮性肉芽腫を証明すればよい。蛍光染色法は非特異的な発光が大量に見られるため，便検体には使用しない。

核酸増幅法検査は迅速かつ特異的であり，現在日本国内では**表 1-2-18-1** に示す体外診断薬が保険適用を受けている。一般的に呼吸器検体での核酸増幅法検査の感度は塗抹陽性検体で 95％以上，塗抹陰性・培養陽性の検体で 50〜70％程度である。

表 1-2-18-1　保険にて使用可能な結核菌核酸増幅法検査（2018 年 8 月現在）

製品名	増幅法	検出法と対象菌	時間
DNA プローブ「FR」-MTB	TMA	Hybridisation protection assay（HPA） 結核菌群	約５時間
コバス® TaqMan® MTB/MAI	Real-time PCR	TaqMan probe 結核菌群，*M. avium*，*M. intracellulare*	約３時間
TRC Rapid M. TB/MAC/M. KS	TRC	INAF probe 結核菌群，*M. avium*，*M. intracellulare*，*M. kansasii*	約 1.5 時間
Loopamp® 結核菌群検出キット	LAMP	リアルタイム濁度測定 結核菌群	約 50 分
GENECUBE MTB/MAC	PCR	QProbe（融解曲線解析） 結核菌群，*M. avium*，*M. intracellulare*	約 50 分
TRCReady MTB/MAC	TRC	INAF probe 結核菌群，*M. avium*，*M. intracellulare*	約 40 分
Xpert® MTB/RIF	Real-time PCR	Molecular Beacon 結核菌群，*rpoB* 変異検出	約 1.8 時間
μTAS WAKO g1	PCR	μTAS による電気泳動解析 結核菌群，*M. avium*，*M. intracellulare*	約 40 分

便検体から核酸増幅法を実施する場合は，前述の前処理後の沈渣の再懸濁液を用いる。市販の遺伝子抽出キットを利用することも可能と考えられる。具体的に Xpert MTB/RIF を使用して日本国内で実施された研究では，喀痰塗抹 1〜3＋陽性の患者では便中からも 100％の Xpert MTB/RIF 陽性が認められている[13]。

核酸増幅法は，パラフィン包埋（ブロック・切片）検体からでも実施可能である。しかしながら，ホルマリン固定後の検体からの DNA 抽出は困難であり，検査結果は DNA 抽出過程の効率に依存する。Formalin Fixed Paraffin Embedded（FFPE）標本から核酸を抽出するキットが利用できるが，ホルマリン固定時に核酸が傷害されているため，高効率での核酸回収は困難である[14]。実際，ホルマリン固定標本では塗抹検査で抗酸菌

が見えていても検出できない場合がある。

核酸増幅法では基本的にはあらゆる検体から核酸を抽出して使用することができるが，製品によっては検体の種類を適用上制限している。適応外の検体について実施することも可能であるが，その場合はメーカーの精度保証の範囲外と考える必要がある。

培養分離した *M. tuberculosis* の同定法として最も迅速なのは，免疫薄層クロマトグラフィー法である。キャピリア TB-Neo（タウンズ）は結核菌群が特異的に産生する分泌タンパク質（MPT64）を抗原とした，抗体と抗原の特異的な反応を利用して *M. tuberculosis* を同定する方法である。特殊な機器も必要ないため簡単に 15 分程度で *M. tuberculosis* を同定することができる。固体培地上に発育した菌を用いる場合，抽出用緩衝液に菌体 1 μL をボルテックスミキサーで十分に懸濁した菌液を試料とする。また Mycobacterium Growth Indicator Tube（MGIT）を用いる場合は陽性と判定されるまで待ち，攪拌した培養液をそのまま試料とする。感度が不十分であるので，臨床材料をそのまま試料とすることはできない。操作方法は，テストプレートの試料滴下部に，試料 100 μL を滴下し，15 分後にテストプレートの判定部を観察する。MPT64 をコードしている *mpt64* 遺伝子の変異あるいは欠失によって抗原性が変化し，偽陰性となる株が 0.5％以下程度存在するので注意する[15]。抗酸菌の迅速同定法として近年，マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計（Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometer：MALDI-TOF MS）が広く普及しつつある。これは主に細菌のリボソームタンパク質をターゲットとして，その発現プロファイルが菌種によって特徴的であることを利用し，サンプルから得られた質量分析プロファイルとデータベースを照合し，一致する菌種を同定する手法である。蛋白のプロファイルから菌種を同定することを考えると，生化学的同定法と言えるかもしれない。現時点では，抗酸菌で実施可能な検体は培養菌のみであり，臨床検体からの直接実施はできない。検体調製に 1 時間ほどかかるが，解析自体は数十秒で終了する。

【治療・抗菌薬感受性】

a）治療

腸結核に関しては，イソニアジド（INH），リファンピシン（RFP），エタンブトール（EB）（あるいはストレプトマイシン［SM］）およびピラジナミド（PZA）を 2 ヵ月間併用し，その後 INH および RFP の併用にて 4 ヵ月間治療する（6 ヵ月標準化学療法）。EB あるいは SM は INH と RFP が感受性であることを前提として，2 ヵ月で終了する。肝機能障害等によって PZA を使用しない場合は INH と RFP による治療を 9 ヵ月まで延長する[16]。

b）薬剤感受性

1．*M. tuberculosis* 薬剤耐性の現状

日本では長期間抗結核薬を使用している歴史があり，既にある一定の割合で薬剤耐性 *M. tuberculosis* がコミュニティにまん延している。結核の統計 2018 によると，新規肺結核培養陽性患者での INH 耐性は 4.9％，RFP 耐性は 1.0％となっている。*M. tuberculosis* の薬剤耐性は不適切な治療の結果による場合が多いので，結核の治療歴がある患者（再発）ではさらに薬剤耐性の確率が高くなる[3]。

2．薬剤感受性試験

結核の医療基準では患者から分離された *M. tuberculosis* については必ず薬剤感受性試験を実施することとされている。日本ではあまり実施されていないが，INH と RFP および PZA については遺伝子変異の検出による薬剤感受性検査キットが市販されている[17,18]。

文　献

1） World Health Organization. Global tuberculosis report 2018. Geneva：2018. Licence：CC BY-NC-SA3.0 IGO.
2） Uchimura K, Ngamvithayapong-Yanai J, Kawatsu L, et al. Characteristics and treatment outcomes of tuberculosis cases by risk groups, Japan, 2007-2010. Western Pac Surveill Response J 2013；31：11-8.
3） 結核予防会（編）．2018．結核の統計 2018．結核予防会，

東京.
4）鈴木弘文，長尾啓一，宮崎勝．2002．病理剖検輯報の記載から見た腸結核の動向と問題点．結核 77：355-360.
5）Lewis S, Field S. 2004. Intestinal and Peritoneal Tuberculosis. Rom NW, Garay S, ed. Tuberculosis 2nd ed. p.523-535. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
6）World Health Organization. Tuberculosis laboratory Biosafety Manual. WHO/HTM/TB/2012.11.
7）厚生労働省．感染症法に基づく特定病原体等の管理規制について．https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/kekkaku-kansenshou17/03.html（2018 年 6 月 8 日閲覧）
8）厚生労働省健康局結核感染症課長．三種病原体等である多剤耐性結核菌の取扱いについて．健感発 0407 第 9 号.
9）World Health Organization. 2017. Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2017-2018. Geneva, Switzerland. License：CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
10）農林水産省消費・安全局動物衛生課．家畜伝染病予防法施行規則の一部改正に伴う病原体の取扱変更について．平成 30 年 4 月 2 日．http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/eisei/e_koutei/kaisei_kadenhou/pdf/180402_jimuren.pdf.
11）日本結核病学会検査法検討委員会．2016．抗酸菌検査ガイド 2016．南江堂，東京.
12）喜多嶋和晃，藤井茂彦，藤盛孝博．2004．炎症性腸疾患．臨床検査 48：327-334.
13）Kokuto H, Sasaki Y, Yoshimatsu S, et al. Detection of *Mycobacterium tuberculosis*（MTB）in fecal specimens from adults diagnosed with pulmonary tuberculosis using the Xpert MTB/Rifampicin test. Open Forum Infect Dis 2015；22；2（2）：ofv074.
14）大友幸二，御手洗聡，菅原勇．2004．パラフィン切片での結核菌 DNA 検索．病理技術 68：22-26.
15）Chikamatsu K, Aono A, Yamada H, et al. 2014. Comparative evaluation of three immunochromatographic identification tests for culture confirmation of *Mycobacterium tuberculosis* complex. BMC Infect Dis 14（1）：54.
16）日本結核病学会．2009．結核診療ガイドライン改訂第 3 版．南江堂，東京.
17）Tsuyuguchi K, Nagai H, Ogawa K, et al. 2017. Performance evaluation of Xpert MTB/RIF in a moderate tuberculosis incidence compared with TaqMan MTB and TRCRapid M. TB. J Infect Chemother 23（2）：101-106.
18）Mitarai S, Kato S, Ogata H, et al. 2012. Comprehensive multicenter evaluation of a new line probe assay kit for identification of Mycobacterium species and detection of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol 50：884-890.

19) *Helicobacter pylori*

【分布・疫学】

Helicobacter pylori はヒトやサルの胃に感染しており，世界人口の 50％以上は胃内に *H. pylori* が感染していると考えられている[1)]。その感染率は衛生状態によって左右され，開発途上国では感染率が高いが，先進国では低い。わが国においては 1970 年代に 74.7％であった感染率が 2010 年代には 35.1％にまで低下してきている[2)]。

【臨床的意義（感染対策・法規を含む）】

H. pylori は胃・十二指腸潰瘍疾患や胃癌をはじめとする種々の胃腸疾患の主要な病原体である。発症機序に *H. pylori* 感染が関連している，あるいは除菌によって症状の改善や発症予防効果が期待できることから *H. pylori* の除菌を推奨している疾患があるのに対し，明確なエビデンスはないものの *H. pylori* と疾患の関連性が推測されているものがある（**表 1-2-19-1**）。

【分類】

Helicobacter 属は 2021 年 5 月現在，47 菌種が登録されている。生息部位によって胃に感染する Gastric *Helicobacter* と，腸管・肝胆道系に感染する Enterohepatic *Helicobacter* に大別されている。

表 1-2-19-1　*H. pylori* 感染と関連のある疾患

H. pylori の除菌を推奨する疾患	*H. pylori* 感染との関連が推測されている疾患
・*H. pylori* 感染胃炎 ・胃潰瘍・十二指腸潰瘍 ・早期胃癌に対する内視鏡的治療後胃 ・胃 MALT リンパ腫 ・胃過形成ポリープ ・機能性ディスペプシア（*H. pylori* 関連ディスペプシア） ・胃食道逆流症 ・特発性血小板減少性紫斑病（ITP） ・鉄欠乏性貧血	・慢性蕁麻疹 ・Cap polyposis ・胃びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫 ・直腸 MALT リンパ腫 ・パーキンソン病 ・アルツハイマー病 ・糖尿病 ・脳梗塞 ・蛋白漏出性胃腸炎（小児）

Gastric *Helicobacter* としては *H. pylori* をはじめ *H. felis* や *H. heilmannii* が知られている。Enterohepatic *Helicobacter* としては *H. cinaedi* や *H. fennelliae* などが知られており，これらは下痢や蜂窩織炎，菌血症などからの検出報告例が散見される。

【形態】

0.5～1.0×2.5～5.0 μm のらせん状グラム陰性桿菌であり，4～6 本程度の鞭毛を有する極多毛性で，活発な運動性を示す。他のらせん菌と比較して，らせんの巻き数が少なく 2～3 巻程度で緩めのらせん菌であるため，固定標本上では S 状の湾曲桿菌様に観察される。劣悪な環境などで死滅期や休眠状態となっている場合にはグラム染色では染色されにくく，菌体が球状形態（coccoid form）をとることもある（**図 1-2-19-1C，D**）。

【培養】

H. pylori は 5～10％の O_2 存在下でのみ発育が可能な微好気性菌である。至適発育温度は 37℃であり，発育にはヘミンなどを要するため普通寒天培地には発育しないが，日常的に汎用されている血液寒天培地で十分に発育する。コロニー形成までには 3～7 日程度を要するが，血液寒天培地上では半透明～褐色の 1～2 mm 程度の小さな円形のコロニーを形成する（**図 1-2-19-2**）。また，乾燥や物理的傷害に弱いため培養時は高湿潤状態を維持し，培地への塗布時には白金耳ではなく綿棒などを用いることが推奨される。

実際は胃生検材料を対象とした検査が想定されるが，口腔内常在菌などの混入を考慮し，選択分離培地を用いた分離培養を行う必要がある。*Campylobacter* 属菌の分離培養に用いられるスキロー培地は *H. pylori* の分離には不適切であり，*H. pylori* 専用の選択分離培地としてヘリコバクター寒天培地（日水製薬），ポアメディア HP 分離培地（栄研化学），ポアメディア Vi ヘリコ寒天培地（栄研化学），コロンビア HP 寒天培地（日本 BD），ピロリ寒天培地（極東製薬工業）などが市販されている。

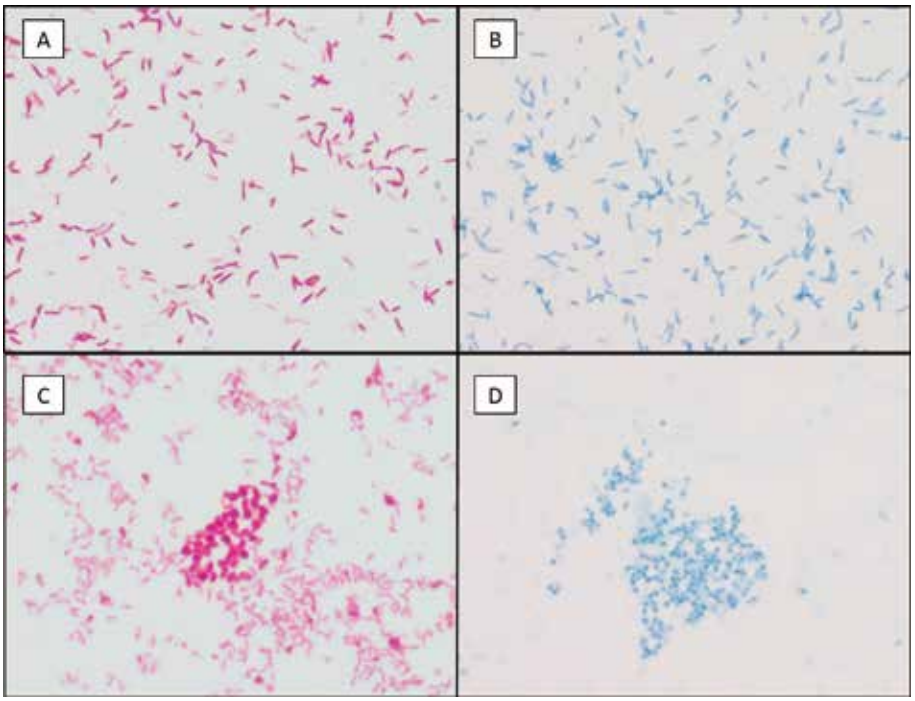


図 1-2-19-1　グラム染色およびメチレン青染色による鏡検所見
A：培養３日目 グラム染色（×1000）
B：培養３日目 メチレン青染色（×1000）
C：培養８日目 グラム染色（×1000）
D：培養８日目 メチレン青染色（×1000）

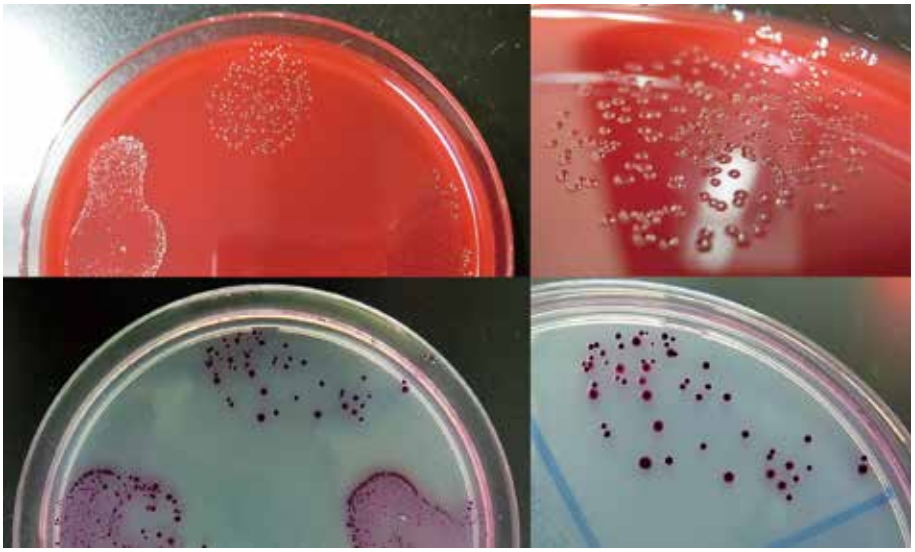


図 1-2-19-2　*H. pylori* のコロニー所見培養（3 日目）
5%ヒツジ血液寒天培地（日本 BD）とヘリコバクター寒天培地（日水製薬）

【生化学的性状】

ウレアーゼ陽性，ナリジクス酸耐性といった性状が他のらせん菌との鑑別ポイントとなる。*Campylobacter* 属菌やヒトから分離報告の多い *Helicobacter* との鑑別ポイントとなる性状を**表 1-2-19-2** にまとめた。らせん菌の同定の際には臨床的背景や分離材料などの情報が有益であり，実際に生化学的性状による菌種同定が難渋することは想定されない。

【迅速検査（遺伝子検査，抗原検査等）】

2013 年 2 月に *H. pylori* 感染胃炎に対する診断・除菌療法が保険適用となった。

H. pylori の感染診断および除菌判定は，内視鏡によって採取された胃生検組織を用いる侵襲的検査法と，尿や呼気などを検査対象とする非侵襲的検査法とに大別される。2016 年のコンセンサスレポートによると，^{13}C-尿素呼気試験（Urea Breath Test：UBT）が最も高感度かつ特異的に *H. pylori* 感染を診断できる最良の非侵襲的検査法であると示されている[3]。しかしながら偽陽性・偽陰性の報告も存在する[4〜6]。

H. pylori 感染の診断法として行われる検査法を**表 1-2-19-3** に挙げたが，各検査法ごとに優劣があり[7〜9]，目的に合った検査法の選択と各検査法の特性を理解することが不可欠である。また，除菌判定は薬剤の使用終了から 4 週間以上あけて行うべきである。除菌判定においても尿素呼気試験が最も推奨される。

表 1-2-19-2　*H. pylori* の生化学的性状

ウレアーゼ	＋	25℃での発育	−
カタラーゼ	＋	37℃での発育	＋
オキシダーゼ	＋	42℃での発育	−
硝酸塩還元	−	1%グリシン含有での発育	−
インドキシル酢酸	−	感受性：ナリジクス酸	R
アルカリフォスファターゼ	＋	感受性：セファロチン	S

a）抗原・抗体検査

H. pylori の迅速検査としては，便中の抗原検出や，尿中および血清中の抗体検出・測定を目的とした試薬が市販されており，イムノクロマト法を用いた迅速検出キットだけでなく，より高精度の EIA 法を用いた検出試薬も市販されている（**表 1-2-19-4**）。

便中抗原検出キットは *H. pylori* の抗原を直接的

表 1-2-19-3　*H. pylori* 感染診断に用いられる各種検査法

		感度（%）	特異度（%）	長所	短所
侵襲的検査法	迅速ウレアーゼ試験（RUT）	除菌前：91.0〜98.5 除菌後：58.8〜86	除菌前：90.9〜100 除菌後：97.8〜99.2	迅速かつ簡便 特異性が高い	除菌後は検査感度にバラツキがある 検査結果・検体の保存が不可能
	培養法	68〜98	100	*H. pylori* の存在を直接的に証明できる 薬剤感受性試験を実施することが可能	他法と比較し検出感度が低い
	鏡検法	92〜98.8	89〜100	炎症等の組織診断が同時に可能 検体の保存性が高い	菌体が少ない場合は感度の低下，coccoid form のように判定が困難な場合には免疫染色を要することがある
非侵襲的検査法	便中抗原検出	除菌前：96〜100 除菌後：75〜90	除菌前：97〜100 除菌後：96〜100	感度・特異度が高い 薬剤の影響を受けない 現在の感染を判定できる	検体の保存温度によって検査結果に影響がある
	尿中抗体測定	除菌前：85〜96	除菌前：79〜90	安価で検便な検査方法 薬剤の影響等がない	既感染との判別ができず除菌判定には適さない 地域での流行株とキットの特異性が適切か否か地域での性能評価が必要
	血清抗体測定	除菌前：88〜100	除菌前：50〜100		
	尿素呼気試験（UBT）	97.7〜100	97.9〜100	感度・特異度が最も高い検査方法	ウレアーゼ活性を持つ細菌による偽陽性 薬剤などの影響で偽陰性・偽陽性になりうる 試薬が高価

<文献 7〜9）を基に作表>

表 1-2-19-4　各種検体を対象とした *H. pylori* の抗原・抗体検出試薬

対象検体	糞便	糞便	糞便	糞便	尿	尿
製品名	テストメイトラピッドピロリ抗原	イムノカード ST HpSA	テストメイトピロリ抗原 EIA	メリディアン HpSA ELISA	ラピラン H. ピロリ抗体スティック	ウリネリザ H. ピロリ抗体
製造販売	わかもと製薬/日本 BD	Meridian Bioscience/富士レビオ	わかもと製薬/協和メディックス	Meridian Bioscience/富士レビオ	大塚製薬	大塚製薬
原理	イムノクロマト法	イムノクロマト法	EIA 法	ELISA 法	イムノクロマト法	ELISA 法

対象検体	血清・血漿	血清・血漿	血清・血漿	血清・血漿	血清・血漿	血清・血漿
製品名	ミニットリードピロリ抗体	H. ピロリ-ラテックス「生研」	L タイプワコー H. ピロリ抗体・J	LZ テスト ‘栄研’ H. ピロリ抗体	プレート ‘栄研’ H. ピロリ抗体 II	スフィアライト H. ピロリ抗体・J
製造・販売	特殊免疫研究所/ミズホメディー	デンカ生研	富士フィルム和光純薬	栄研化学	栄研化学	富士フィルム和光純薬
原理	イムノクロマト法	ラテックス凝集法	ラテックス凝集法	ラテックス凝集法	EIA 法	CLEIA 法

に検出するものであり，培養法や尿素呼気試験にて偽陰性となりうる coccoid form であっても検出が可能なこと，感度・特異度の高さから除菌判定に用いることが有用と考えられている。

抗体の検出・測定は，他の検査にて偽陰性が示唆される場合に有用であるが，検査の特性上，除菌判定には適さない。また，試薬ごとに精度等がさまざまであるため各検査法の特性を理解して使用する必要がある。

【治療・抗菌薬感受性】

標準的な *H. pylori* 除菌療法として，胃酸分泌抑制薬であるプロトンポンプ阻害薬（PPI）またはカリウムイオン競合型アシッドブロッカー（P-CAB）と，抗菌薬である AMPC＋CAM の合計 3 剤を併用する一次除菌療法が推奨される。薬剤感受性試験の結果により CAM 耐性が明らかな場合などには CAM を MNZ で代替する二次除菌療法が行われる。

原因となっている *H. pylori* の薬剤感受性によって選択する除菌療法が左右される。日本ヘリコバクター学会が 2013〜2014 年に行った全国調査ではピロリ菌の CAM 耐性率は 38.5％であった[10]。したがって適切な除菌を行うためには原則として薬剤感受性試験が必要と考えられるが，実際には困難な場合が多い。

表 1-2-19-5　*H. pylori* の各抗菌薬におけるブレイクポイント

		S：感性	I：中間耐性	R：耐性
CAM	CLSI	≦0.25	0.5	≧1
	日本化学療法学会	≦0.25	0.5	≧1
	EUCAST	≦0.25		>0.5
AMPC	日本化学療法学会	≦0.03		
	EUCAST	≦0.125		>0.125
MNZ	EUCAST	≦8		>8

（単位；μg/mL）

H. pylori の薬剤感受性試験についてはディスク拡散法は不適切と考えられており，CLSI，日本化学療法学会，EUCAST から各抗菌薬の感受性試験方法とそのブレイクポイントが定められている（**表 1-2-19-5**）。

原因菌の培養・薬剤感受性試験を行わずとも，CAM の耐性に関与する 23S rRNA の遺伝子変異を検出することによって除菌法を選択することも可能である[11]。

【質量分析法による *H. pylori* の同定】

質量分析法を用いた菌種同定法が普及してきている。質量分析装置 MALDI Biotyper（ブルカージャパン）を用いて *H. pylori*（臨床分離菌株）の

表 1-2-19-6　MALDI Biotyper による *H.pylori* の同定結果

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (−)	Helicobacter pylori 151 RLT	1.559	210
2 (−)	Helicobacter pylori DSM 9691 DSM	1.422	210
3 (−)	Helicobacter pylori DSM 21031T DSM	1.27	210
4 (−)	Lactobacillus oligofermentans DSM 15704 DSM	1.185	293371
5 (−)	Clostridium baratii 1018_NCTC 10986 BOG	1.159	1561
6 (−)	Lactobacillus ingluviei DSM 15946T DSM	1.156	148604
7 (−)	Helicobacter pylori 26695_ce PGM	1.155	210
8 (−)	Staphylococcus simulans DSM 20322T DSM	1.139	1286
9 (−)	Helicobacter pyloriJ99 PGM	1.133	210
10 (−)	Campylobacter coli 11167_03 NVU	1.107	195

同定を行った結果を**表 1-2-19-6** に示す。同定菌種の候補として *H. pylori* が挙げられるが，Score Value が低値であり，信頼性のある結果とはいえない。装置内のデータライブラリに登録されている *H. pylori* のマススペクトルは海外の菌株由来のものであり，わが国で分離される菌株とは異なる性質であることが原因と推測される。

文　献

1）Talebi Bezmin Abadi A. 2018. Diagnosis of *Helicobacter pylori* Using Invasive and Noninvasive Approaches. J Pathog 2018：9064952. Published 2018 May 22. doi：10.1155/2018/9064952.

2）Kamada T, Haruma K, Ito M, et al. 2015. Time Trends in *Helicobacter pylori* Infection and Atrophic Gastritis Over 40 Years in Japan. Helicobacter 20：192-198.

3）Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, et al. 2017. Management of *Helicobacter pylori* infection-the Maastricht V/Florence Consensus Report. Gut 66：6-30.

4）Nurgalieva ZZ, Opekun AR, Graham DY. 2006. Problem of distinguishing false-positive tests from acute or transient *Helicobacter pylori* infections. Helicobacter 11：69-74.

5）Graham DY, Opekun AR, Jogi M, et al. 2004. False negative urea breath tests with H_2-receptor antagonists：interactions between *Helicobacter pylori* density and pH. Helicobacter 9：17-27.

6）Osaki T, Mabe K, Hanawa T, et al. 2008. Urease-positive bacteria in the stomach induce a false-positive reaction in a urea breath test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. J Med Microbiol 57：814-819.

7）Murata H, Kawano S, Tsuji S, et al. 1998. Evaluation of the PyloriTek test for detection of *Helicobacter pylori* infection in cases with and without eradication therapy. Am J Gastroenterol 93：2102-2105.

8）Laine L, Suchower L, Johnson E, et al. 1998. Accuracy of CLOtest after *Helicobacter pylori* therapy. Gastrointest Endosc 47：250-253.

9）Nishikawa K, Sugiyama T, Kato M, et al. 2000. A prospective evaluation of new rapid urease tests before and after eradication treatment of *Helicobacter pylori*, in comparison with histology, culture and ^{13}C-urea breath test. Gastrointest Endosc 51：164-168.

10）橋永正彦，沖本忠義，兒玉雅明ほか．2016．わが国における薬剤耐性 *Helicobacter pylori* の現状-2013-2014 年度耐性菌サーベイランスの集計報告．日ヘリコバクター会誌 2016；45-49.

11）Sugimoto M, Uotani T, Sahara S, et al. 2014. Efficacy of tailored *Helicobacter pylori* eradication treatment based on clarithromycin susceptibility and maintenance of acid secretion. Helicobacter 19：312-318.

12）日本ヘリコバクター学会ガイドライン作成委員会．2016．*H. pylori* 感染の診断と治療のガイドライン 2016 改訂版．

13）Tonkic A, Vukovic J, Vrebalov Cindro P, et al. 2018. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection：A short review. Wien Klin Wochenschr 130：530-534.

3 ウイルス性腸管感染症

ウイルス性腸管感染症を起こすウイルスの中で，ロタウイルス，アデノウイルス（腸管アデノウイルス），ノロウイルスは主要な嘔吐・下痢を引き起こすウイルスである。乳幼児下痢症の起因ウイルスとしてはこの３種のウイルス以外にもアストロウイルス，サポウイルスなどが知られており，さらにエンテロウイルス，パレコウイルス A（以前はヒトパレコウイルスと称した），ヒトボカウイルスなども見いだされる（**表 1-3-1**，**図 1-3-1**）。感染性胃腸炎のサーベイランスによると患者発生には 11〜12 月と 3〜5 月の２つのピークがあり，この初めのピークがノロウイルスによるもので，２つめのピークがロタウイルスによるものである。2〜3 月は２つのウイルスの混合感染が多い[1]。これらのウイルス性腸管感染症による直接の死亡は，日本ではほとんどないが，どの小児も感染する疾患である。一方，開発途上国においてロタウイルス，ノロウイルスは小児の大きな死因の病原体となっている。発展国では免疫低下状態にある小児や成人，さらに高齢者にウイルス性腸管感染症が広がり，今後高齢化社会が進むとともに，より問題となることが懸念される。

2011 年からわが国でロタウイルスのワクチン接種が始まり，2020 年から定期接種となった。ワクチン接種により乳幼児での重症な症例は少なくなったが，学童での輸液を要する症例が増えたように思える。また種々の再集合ロタウイルス株が見られるようになった。

表 1-3-1　下痢症を来すウイルス

主要ウイルス
1. 頻度が高いウイルス
   ノロウイルス，ロタウイルス
2. 頻度は高くはないが注目されるウイルス
   アデノウイルス，サポウイルス，アストロウイルス，パレコウイルス A，アイチ（コブ属）ウイルス

その他のウイルス（下痢症および腸管で増殖するウイルス）
コロナウイルス，ピコビルナウイルス，ヒトトロウイルス，エンテロウイルス，ヒトボカウイルス，ヒトコサウイルス，サフォードウイルス，サリウイルス，ブファウイルス

その他のウイルス（呼吸器疾患などに伴うウイルス）
RS ウイルス，インフルエンザウイルス，ヒトメタニューモウイルス

免疫低下時に見られる下痢症ウイルス
サイトメガロウイルス，ヘルペスウイルス 6, 7

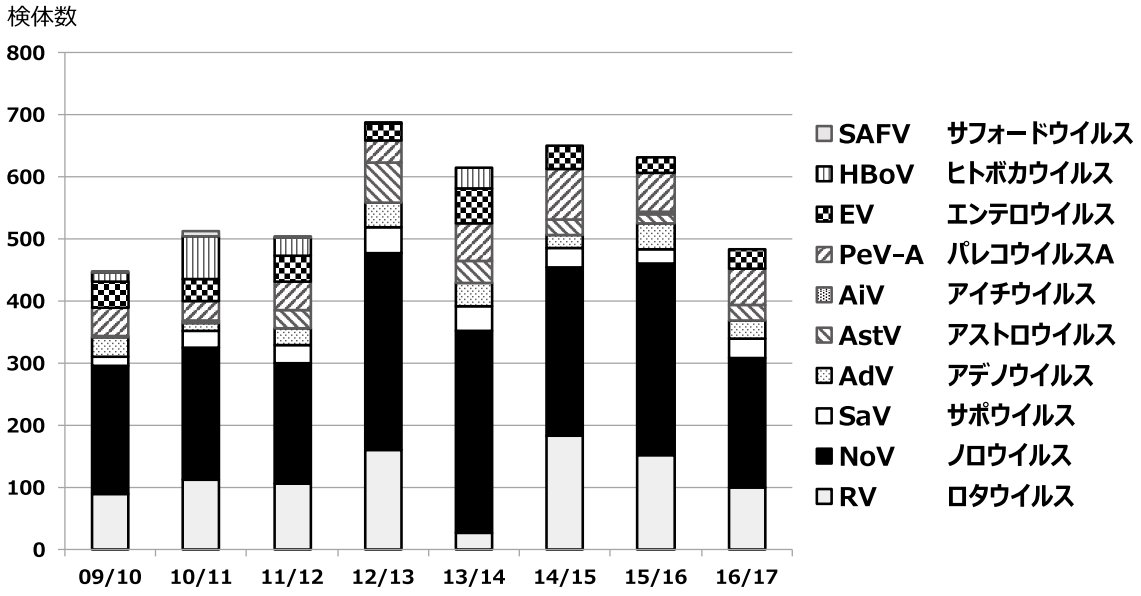


図 1-3-1　2009–2017 年の各年別（7–6 月）の下痢症ウイルスの検体数
<文献 1）を改変>

表 1-3-2　腸管感染症ウイルスの性状

ウイルス名（属，種）	科	大きさ（nm）	核酸	塩基数（kb）	ヒトに感染する群・遺伝子型	ウイルス培養	感染症法分類
ロタウイルス	レオウイルス	70	dsRNA 11 分節	18.5	A，B，C，H 群 A（G1，2，3，4，9，12 型，他）	＋	5 類（定点報告）
アデノウイルス	アデノウイルス	70〜90	dsDNA	35	主として 40，41 型	＋	5 類（定点報告）
ノロウイルス	カリシウイルス	30〜40	ss（＋）RNA	7.5〜7.7	Ⅰ，Ⅱ，Ⅳ型	＋*	5 類（定点報告）
サポウイルス	カリシウイルス	30〜40	ss（＋）RNA	7.6	Ⅰ，Ⅱ，Ⅳ，Ⅴ型	−	5 類（定点報告）
アストロウイルス	アストロウイルス	30〜40	ss（＋）RNA	7.2	I〜8 型，MLB 型（1-3），VA（1-4）型 MLB：メルボルン VA：バージニア	＋	5 類（定点報告）
パレコウイルス A	ピコルナウイルス	22〜30	ss（＋）RNA	7.3	1〜19 #型（主に 1，3，4，6 型）	＋	5 類（定点報告）
アイチウイルス	ピコルナウイルス	22〜30	ss（＋）RNA	7.3	A，B 型（主に A）	＋	5 類（定点報告）
ヒトボカウイルス	パルボウイルス	25	ss(＋or−)DNA	5.5	2〜4 型（主に 2 型）（1 型は呼吸器症状）	−	5 類（定点報告）
A 型肝炎ウイルス	ピコルナウイルス	22〜30	ss（＋）RNA	7.3	1〜7 型（主に IA）	＋	4 類（全数報告）
E 型肝炎ウイルス	ヘペウイルス	32〜34	ss（＋）RNA	7.2	1〜4 型（主に 3，4 型）	＋	4 類（全数報告）

#部分遺伝子では 19 遺伝子型まである。
5 類（定点報告）は感染性胃腸炎として定点報告

われわれが小児科外来で調べている multiplex RT-PCR（マルチプレックス逆転写ポリメラーゼ連鎖反応）ではノロウイルスが 39.3%，ロタウイルスが 20.0%，パレコウイルス A が 6.6%，エンテロウイルスが 6.1%，アデノウイルスが 5.6%，サポウイルスが 4.8%，アストロウイルスが 2.3%，アイチウイルスが 0.1%であった[1]。本章では下痢症ウイルスと急性肝炎ウイルス（A 型・E 型肝炎ウイルス）について述べる。これらのウイルスは食中毒（食品媒介性感染症）の原因ウイルスでもあり，特にノロウイルスは公衆衛生上問題となる。

腸管感染症起因ウイルスの性状と臨床的特徴を（**表 1-3-2**，**表 1-3-3**）にまとめた。これらのウイルスはレベル 2 に分類されるために，ウイルスに汚染されていると考えられる検体を研究として取り扱うためには，そのレベルの安全設備と運営の基準を満たした実験室が必要である。

1）ノロウイルス

a）分布，疫学

ノロウイルスは，世界中広く見いだされており，どの年齢でも検出される。現在，ウイルス性腸管感染症では，ロタウイルスよりも頻度が高い。わが国の小児科外来ではウイルス性腸管感染症と考えられる検体の約 40%に認める[1]。世界で年間20万人が死亡すると推定されている[2]。感染した糞便が下水などを流れ河川，海に行きそれが二枚貝枚貝の消化管で濃縮される。また，上水が汚染されることがある。汚染された飲食物を生で喫食し食品媒介性の感染（食中毒）となる。ヒト-ヒト感染（感染者由来の汚染物への接触）や空気感染（汚染した物が空中に漂う）もある[3]。熱帯・亜熱帯では 1 年を通して見られ，洪水などで広がる。温帯地区では冬に多い（わが国では初冬）。ウイルスの遺伝子型が変わると大きな流行

表 1-3-3　ウイルス性腸管感染症の臨床的特徴

ウイルス名	罹患年齢	感染経路	潜伏期間	症状の持続期間	症状	疫学
ノロウイルス	乳幼児，学童，成人	糞口，ヒト-ヒト，食中毒，	1〜2 日	2〜7 日	嘔吐，下痢，腹痛	小児では冬季前半散発的，食中毒は家庭内，地域流行（集団感染），不顕性あり
ロタウイルス	主として乳幼児	糞口，ヒト-ヒト	1〜3 日	5〜7 日	嘔吐，下痢 発熱，脱水	3〜5 月に散発的に発症 不顕性あり，ワクチンで軽症化
アデノウイルス	主として乳幼児	糞口，ヒト-ヒト	1〜2 日	1〜7 日	嘔吐，下痢，発熱	散発的，年間
A 型肝炎ウイルス	主として成人	日本では汚染された水・食品などの食中毒	2〜6 週間	1〜2 ヵ月	発熱，倦怠感，嘔吐，食欲不振，肝炎	抗体の保有率の低下
E 型肝炎ウイルス	主として成人	日本では生肉による食中毒	15〜50 日	1 ヵ月	悪心，腹痛， 食欲不振，肝炎	人獣共通感染症
サポウイルス	主として乳幼児	糞口，ヒト-ヒト	1〜3 日	1〜7 日	嘔吐，下痢，発熱	比較的軽症 年間（冬多い）
アストロウイルス	主として乳幼児	糞口，ヒト-ヒト	1〜3 日	1〜7 日	発熱，腹痛，嘔吐，下痢	比較的軽症 集団感染がある
エンテロウイルス	主として小児	糞口，ヒト-ヒト	1〜3 日	1〜7 日	発熱，嘔吐，下痢	頻度少ない，不顕性もある
パレコウイルス A	主として乳幼児	糞口，ヒト-ヒト	1〜3 日	1〜7 日	発熱，嘔吐，下痢	頻度少ない，不顕性もある
ヒトパルボウイルス	主として小児	糞口，ヒト-ヒト	1〜3 日	1〜7 日	発熱，嘔吐，下痢	頻度少ない，不顕性もある
アイチウイルス	主として小児	糞口，ヒト-ヒト	1〜3 日	1〜7 日	発熱，嘔吐，下痢	頻度少ない，不顕性もある
サフォードウイルス	主として小児	糞口，ヒト-ヒト	1〜3 日	1〜7 日	発熱，嘔吐，下痢	頻度少ない，不顕性もある
コサウイルス	主として小児	糞口，ヒト-ヒト	1〜3 日	1〜7 日	発熱，嘔吐，下痢	頻度少ない，不顕性もある
サリウイルスなど	主として小児	糞口，ヒト-ヒト	1〜3 日	1〜7 日	発熱，嘔吐，下痢	頻度少ない，不顕性もある

をみることがある。血液型物質の分泌型は非分泌型よりも感染の機会が多い[4]。

b）臨床的意義（感染対策，法規を含む）

潜伏期間は 24〜48 時間で，嘔吐・下痢が主な症状であるが，38℃ぐらいまでの発熱を伴うこともある。症状は 48〜72 時間で急速に改善する（**表 1-3-3**）。ウイルスの排泄は発症後 24〜48 時間でピークとなり，3 週間から 1 ヵ月持続する。免疫不全の場合にはより長期に続く。不顕性感染も起こりうるが，その場合でもウイルスの排出は起こる。血中にウイルスの遺伝子が検出される場合がある。ノロウイルスは神経細胞では増殖しないが，けいれんや脳症などの中枢神経症状もまれに報告されている。また脱水による腎障害がみられることがある。予防として汚染の危険性のある食物は加熱して食する。また，食中毒（疑いも含む）の場合はただちに（24 時間以内）保健所に届ける。食品従事者への対応は，厚生労働省の大量調理施設衛生管理マニュアルなどを参考にする[5,6]。

c）分類

ノロウイルス属はカリシウイルス科に属する。遺伝子群（あるいは種）として動物を含めると 7 群に分かれる。ヒトに感染が認められているのは GI，GII，GIV である。GI，GII は少なくとも 9，22 の遺伝子型に分けられる。現在最も頻度が多

いのは GII，とりわけ GII.4 である。GII.4 でも亜型が存在し，最初に報告された都市名をつける。GII.17 や GII.2 の流行もある。ウイルスゲノムは非構造部分と構造部分に分かれる。非構造部分と構造部分の境界で異なる遺伝子型・亜遺伝子型間の組換えが生じ，新しい組み合わせのウイルスの流行が見られる[7,8]。

d）形態

ウイルスの大きさは 38 nm 前後である。カプシドのみでエンベロープを有しない。

カリシウイルスという名称は Calix から来ておりコップのような窪みがウイルス表面にある。

e）培養

ノロウイルスの細胞培養は難しい。マウスノロウイルスはマウスマクロファージ由来株化細胞である RAW264.7 細胞に感染し，ウイルスの細胞培養が可能である。ヒトノロウイルスはヒト腸管幹細胞を，3 次元培養することでオルガノイドを作製しヒトノロウイルスの増殖が可能となったが，まだ広く細胞培養ができるようにはなっていない[8]。

f）生化学的性状

ノロウイルスは小腸の絨毛の基底部に感染しやすい。エンベロープを持たないため自然環境に強い[3]。カプシドの Protrude（先端）領域には組織血液型抗原と結合する部位，および中和抗体と結合する部位がある[8]。

g）迅速検査（遺伝子検査，抗原検査等）

ノロウイルス抗原検査としてイムノクロマト法が開発され現在市販されている。約 10^6コピー数/g 以上で検出可能である。GII.17 や GI など遺伝子型によってはさらに高いウイルス量が必要な場合がある。酵素抗体法を用いた BLEIA では，10^5コピー数/g で検出可能である[9]。排泄便が望ましいが直腸便でも検査される。遺伝子診断の逆転写-ポリメラーゼ鎖反応（RT-PCR）は流行疫学のためにも行われる。リアルタイム PCR ではコピー数を知ることができる。RT-LAMP は等温での増幅反応が容易に行うことができる（詳細は省略）。

h）治療

特異的な治療法はない。脱水に対する補液，嘔吐に対する制吐薬などの対症療法を行う。ノロウイルスはエンベロープを持たないため，消毒には次亜塩素酸ナトリウムを用いるのが望ましい。

2）ロタウイルス

a）分布，疫学

ロタウイルス感染症は，乳幼児を中心に世界中で見出される。過去，ウイルス性腸管感染症ではロタウイルス感染症の頻度が高かったが，近年はノロウイルス感染症についで 2 位を占める。しかし，重症度，合併症においては重要であることは変わりない。世界で年間 50 万人（2000 年）から 20 万人（2013 年）に死亡者の減少が推定されている[10]。わが国のウイルス性腸管感染症と思われる症例の約 20％に認められる[1]。ノロウイルスと同様にロタウイルスは下水から河川，海に運ばれる。ロタウイルスに対して通常大人は免疫を有するので感染・発症することは少ない。乳幼児は通常生の二枚貝などは食べないので感染しない。主に糞口感染により感染する。熱帯・亜熱帯では 1 年を通じてロタウイルス腸管感染症が見られるが，温帯地区では冬季に見られる（わが国では 12 月から 2 月であった流行が 3 月から 5 月に次第に変化した）。

b）臨床的意義（感染対策，法規を含む）

乳幼児を中心に嘔吐・下痢を示す。発熱を来すことがある。発熱は 38～39℃までが多い。通常ノロウイルス感染症より重症であり，症状は 1 週間ほど続く。免疫不全の場合は症状が長引く。重篤な場合は入院を要する。近年はロタウイルスの経口ワクチンにより感染者は減少してきているかあるいは軽症化している。しかし，乳児期以外で幼児・学童で症状を強く示すことがあり，嘔吐・下痢の症状を早く改善するために輸液を必要とすることがある。ロタウイルスは神経細胞で増殖しないが，けいれんや脳症などの神経症状を認めることがある[11]。脳症はノロウイルス感染よりロ

タウイルス感染で多い。肝機能障害，腎機能障害（結石もある），膵炎を合併することもある。ロタウイルスの感染対策はノロウイルスの対策に準じて行う。ワクチンの使用に伴いワクチン株に由来するロタウイルス感染症がロタウイルス腸管感染症の約 5％に認められている[12,13]。

c）分類

ロタウイルスはヒト以外に動物，鳥類でも見られる。現在 A 群（または種）から H 群（I, J は候補としてあげられる）までの報告[14]があり，ヒトでは A 群がほとんどで，その他に B，C，H 群がある。B，H 群はわが国ではヒトから分離されていない。ロタウイルスは 2 本鎖の 11 分節からなる。ロタウイルスの粒子の外層の VP7（ウイルス蛋白第 7 番目）は G 蛋白（糖蛋白）と言われる。また VP4 は P 蛋白（プロテアーゼ分解蛋白で VP5 と VP8 に解離する）と呼ばれる。また VP6 は I 蛋白（内層蛋白）と呼ばれる。11 分節それぞれ蛋白の性状から略称がつけられ，それぞれの中にいくつかの遺伝子型が含まれる。それぞれの遺伝子の相同性（85〜90％）から遺伝子型が分けられる。大きくは Wa, DS-1, AU-1 に分けられる（**表 1-3-4**）[15]。

ヒトで多く見られる G，P 遺伝子型の組み合わせは G1P［8］，G2P［4］，G3P［8］，G4P［8］そして G9P［8］である。従来は G1P［8］が多かったが，最近は G2P［4］やその他まれなウシロタウイルス由来の G8P［8］を含めて多彩の組み合わせが見られるようになった。この変化は，ロタウイルスワクチンのロタリックス G1P［8］株やロタテックのウシロタウイルスをバックボーンとした G1，G2，G3，G4 と P［8］をヒトとする再集合（リアソータント）ウイルス株の使用に伴い見いだされてきたようだが，その原因ははっきりしない。

d）形態

ロタウイルスは電子顕微鏡で約 70 nm である。外層に VP7，VP4 があり，内層に VP6 がある。さらにコア蛋白として VP1/VP3，VP2 がある，コア部分内に大きさの異なる 11 本の 2 本鎖 RNA がある。

e）培養

ヒトロタウイルスは MA104 細胞，CaCo2 細胞などで継代培養が可能である。

f）生化学的性状

VP4 と VP7 は中和抗原とされ，血中・粘膜中の IgG，IgA 抗体でウイルスは中和される。また VP6 は細胞内中和抗原とも言われ，細胞内で作られた抗原が血中・粘膜内の抗 VP6 抗体で中和され増殖が阻止される。

g）迅速検査（遺伝子検査，抗原検査等）

VP6 に対する抗体が交差反応を示すために，イムノクロマト法はウイルスの遺伝子型が変わっても十分に反応できる。また RT-PCR（逆転写-ポリメラーゼ鎖反応）は遺伝子型に共通な部分を使えば診断に用いることができる。イムノクロマト法は 1st RT-PCR（1 回目の PCR）の検出感度，すなわち約 10^6コピー数/g に相当する。ロタウイルス

表 1-3-4　ロタウイルスの 11 遺伝子に基づく分類

遺伝子分節 遺伝子型	VP7 G	VP4 P	VP6 I	VP1 R	VP2 C	VP3 M	NSP1 A	NSP2 N	NSP3 T	NSP4 E	NSP5 H
報告されている 遺伝子型の数	35	50	26	21	18	19	30	21	21	27	21
Wa-like strains	G1	P [8]	I1	R1	C1	M1	A1	N1	T1	E1	H1
DS-1-like strains	G2	P [4]	I2	R2	C2	M2	A2	N2	T2	E2	H2
AU-1-like stains	G3	P [9]	I3	R3	C3	M3	A3	N3	T3	E3	H3
DS-1-like G1P [8]	G1	P [8]	I2	R2	C2	M2	A2	N2	T2	E2	H2

https://rega.kuleuven.be/cev/viralmetagenomics/virus-classification/rcwg
（Matthijinssens et al., 2008, 2011 より作成）

の便中排泄量が多いので，正しくイムノクロマト法を使えば診断が可能である。

h）治療，薬剤感受性

特異的な治療法はない。脱水に対する補液，嘔吐に対する制吐薬などの対症療法を行う。ロタウイルスはエンベロープを持たないため，消毒には次亜塩素酸ナトリウムを用いるのが望ましい。

ニワトリにロタウイルスを接種し，卵に特異的な IgY を産生させることができる。IgY を治療に用いることやまたウシにロタウイルスを接種し，ミルクに抗体を分泌させ，それを用いることがヒトのモデルとして動物段階で試みられている[16]。

3）アデノウイルス

a）分布，疫学

アデノウイルス感染症は腸管感染症以外に呼吸器・眼瞼・泌尿器等の症状を示すことがあり，アデノウイルスの群，型の違いによって症状の出現しやすい部位が異なる。腸管感染症のアデノウイルスは，他の部位の症状を伴うことがある。ウイルス性腸管感染症と思われる検体の約 5%がアデノウイルスである。1980 年代は 40 型が主流であったが，その後 41 型が主流になり現在に至る。腸管アデノウイルスに関する疫学はロタウイルス，ノロウイルスと比較すると少ない。季節的には通年性に検出されるという報告と 11〜2 月に多いという報告がある。年齢的には 3 歳以下が主である。呼吸器系のアデノウイルスが糞便に混じり検出されることがあるので，陽性の場合腸管感染症によるのか注意することが必要。また，他の腸管感染症ウイルスとの混合感染の場合もある。

b）臨床的意義（感染対策，法規を含む）

アデノウイルス感染症は主にヒト-ヒト感染（糞口感染）である。ノロウイルスやロタウイルス感染症のような感染経路をとると思われる。免疫が十分でない乳幼児に感染する。潜伏期は 1〜2 日で，水様性下痢・嘔吐，発熱が見られる。気道症状を伴うことがある。ロタウイルス感染より軽症である。発熱，嘔吐は 2 日くらいで消失するが，下痢は 1 週間ほど見られる。ウイルスの排泄は 2〜3 週間である。腸重積，虫垂炎の原因ともなる。

c）分類

アデノウイルスはエンベロープを有さない二本鎖 DNA ウイルスで，現在 A〜G の 7 群（または種）に分類され，65 以上の型（90 までの報告）がある。このうち，胃腸炎に関係があるのは F 群 40，41 型および G 群の 52 型[17]である。41 型が最も多い。他に 1，3，4，7，31 型のアデノウイルスも下痢を起こすが頻度は低い。

d）形態

アデノウイルスは独特の形態を示す。カプシドにヘキソン，ペントンとファイバーがある。ファイバー先端部分のノブ（Knob）が細胞表面の受容体であるコクサッキーウイルス・アデノウイルス受容体（CAR）に結合し，細胞内に侵入する。腸管アデノウイルスは長短 2 種類のファイバーを有している。長いファイバーのみが CAR に結合する。CAR は細胞間の tight junction に存在する接着因子でもあり，別の機序も有する。

e）培養

通常のアデノウイルスは HEK 細胞，HeLa 細胞 HEp-2 細胞などで培養するが，腸管アデノウイルスは Graham293 細胞で増殖する。

f）生化学的性状

アデノウイルスは A〜G 種に分けられ，それぞれに型が見られる。種によって臓器指向性があるが，いろいろな臓器でウイルスが認められるので，それを逆手に取ってアデノウイルスをベクターとして先天性酵素欠損症の治療などの遺伝子治療が始められている。アデノウイルスは同じ種の中では異なる型のリコンビネーションが存在する。すなわちヘクソン，ペントン，ファイバーの間で異なる型の場合がある。通常は同じ群内の組み換えウイルスである。

g）迅速検査（遺伝子検査，抗原検査など）

アデノウイルスの診断の決定には注意する必要がある。実際の病気と無関係に見出されることがある。すなわち口腔内にあったアデノウイルスが

糞便中に見出されることがある。腸管アデノウイルスのイムノクロマトキットにはF種のウイルスの抗体を用いるほうがより感度よく検出される。遺伝子診断も通常 multiplex PCR として，他の下痢症ウイルスと同時に診断に用いる。アデノウイルスは DNA ウイルスであるが，通常用いる RT-PCR でも問題なく検出される。

h）治療，薬剤感受性

特異的な治療法はない。脱水に対する補液，嘔吐に対する制吐薬，下痢に対する整腸薬を使用する。アデノウイルスはエンベロープを持たないため，消毒には次亜塩素酸ナトリウムを用いるのが望ましい。

4）A 型肝炎ウイルス

a）分布，疫学

A 型肝炎は全世界的に散発あるいは流行として発生している。環境衛生がよい地域，ワクチン接種を行う地域では発生が少なくなっている。糞口感染，二枚貝などによる食品媒介感染症で発症する。A 型肝炎ウイルス（HAV）に対して免疫を有していれば感染（あるいは再感染）は少ないが，日本では A 型肝炎ウイルスに対する抗体保有率はワクチン未接種者で 50 歳以下ではほぼ 0％である。60 歳未満の日本人は感染の危険性がある。東南アジア，アフリカ，中南米など途上国では多くの乳幼児が感染している。HAV 抗体陰性者の場合のリスク因子として，ウイルスの流行地に行くあるいは住む，A 型肝炎患者との接触の機会がある（同居，食品従事者，医療関係者，屎尿処理関係者，同じ施設にいるなど）がある。A 型肝炎は感染症法の四類感染症であり，不顕性感染者も含めただちに保健所全例報告が義務づけられている[18]。A 型肝炎ウイルスに対するワクチンは市販されており，わが国では任意接種であるが，米国では子どものワクチンとして義務化されている。

b）臨床的意義（感染対策，法規を含む）

潜伏期は 2〜6 週間である。感染ウイルス量が多いと潜伏期間はより短くなる。発症初期に 1〜2 日続く 38℃を越える発熱があり，咽頭痛，頭痛，倦怠感，筋肉痛，腹痛に続いて肝炎症状が現れる。まれに劇症化して死亡する例があるが，多くは慢性化せず 3〜6 週間で回復する。遷延あるいは再燃することがあるが予後はよい。小児例と成人例を比較すると成人のほうの症状が強い。たとえば成人例では黄疸がほとんど見られるが，小児例では 1/4 程度である。また成人の約 20％が不顕性感染で終わる。

一方で約 1％が劇症肝炎となり死亡することも少なくない（致死率は劇症肝炎例の 30％以下）。またまれに再生不良性貧血，溶結性貧血，血小板減少症，心筋症，膵炎や胸膜炎などもある。劇症型はウイルスの直接的細胞傷害ではなく，ウイルス特異的細胞傷害性 T 細胞によるウイルス感染細胞の傷害による。症状が現れる前に，便中にウイルスが排泄され，血中にも 1/100 から 1/1000 の量のウイルスが排泄される。唾液からも排泄される。

血清トランスアミナーゼ（ALT，AST）やビリルビンが上昇する。

c）分類

HAV はピコルナウイルス科のヘパトウイルス属に属する，エンベロープを持たない粒子である。一本鎖の線状 RNA で 7 の遺伝子型があるが，血清型は 1 つである。遺伝子型Ⅰ，Ⅱ，Ⅲ，Ⅶ型はヒト由来，Ⅳ，Ⅴ，Ⅵ型はサル由来である。Ⅰ，Ⅱ，Ⅲ型はさらに A，B のサブタイプに分かれる。ⅠA が多くを占める[19]。

d）形態

27 nm 大の粒子でピコルナウイルス科に属す。粒子形成などは基本的に他のピコルナウイルスと共通する。しかし成熟粒子に VP4 が検出されないこと，VP1/2A 接合部が切断されないまま粒子形成が進行するなどの特徴がある。

e）培養

細胞培養が可能であるが，患者糞便検体からのウイルス分離には長期間かかる。増殖速度は他のピコルナウイルスに比較して遅く，一般的に細胞障害効果（CPE）は示さない。野生株は肝臓に強

い親和性を持っているが，ウイルスの増殖により細胞を殺すことはない。肝炎は宿主免疫反応を介して生じる。

f）生化学的性状

耐熱性として 60℃1 時間，エーテルや酸に対して安定である。しかしノロウイルスと同様 85℃以上，90 秒では不活化される。

g）迅速検査（遺伝子検査，抗原検査など）

RT-PCR で特異的にウイルス RNA が検出できたものを陽性とする。

また ELISA で特異的に HAV の IgM が検出された場合を陽性とする。

h）治療・予防，薬剤感受性

特異的な治療法はない。劇症肝炎の場合は血漿交換が行われる。また合併症がある場合にはそれに準じた治療を行う。急性期には入院し，安静とする。予防としては手洗いなどの一般的な予防法に加え，ワクチン接種がある。A 型肝炎ウイルスはエンベロープを持たないため，次亜塩素酸ナトリウムによる消毒が望ましい。

5）E 型肝炎ウイルス

a）分布，疫学

E 型肝炎ウイルス（HEV）は，途上国のみならず発展国においても大きな急性肝炎の原因となっている。世界で 2000 万人が感染し，7 万人が死亡している。A 型肝炎の 10 倍程度の死亡率で，入院患者の死亡率は 0.1〜2.5％で，外来を含めると 0.06〜0.7％である。ヒト以外に動物でも感染しており，特にブタが保有動物となっている。野生のイノシシ，シカなども HEV を有する。20 年ほど前は途上国から輸入される感染症と考えられていたが，現在では HEV は発展国の国内にいると考えられている。遺伝子型 1，2 は水系感染で途上国での流行として見られ輸入感染症の 1 つである。遺伝子型 3，4 はブタ，イノシシ，シカの生肉を介した人獣共通食品媒介性感染である。

b）臨床的意義（感染対策，法規を含む）

A 型肝炎ウイルスと同様に汚染した食物，飲水，輸血により感染する。感染後，約 4〜6 週間の潜伏期を経て発症する。全身倦怠，発熱，吐気，黄疸，腹痛などの急性肝炎の症状を呈する。1 ヵ月程度で回復する。A 型肝炎より潜伏期が長く劇症肝炎がある。肝炎は免疫反応として現れる。すなわち A 型肝炎と同様に細胞障害性 T 細胞の細胞性免疫反応で肝組織が破壊される。経口的に摂取されたウイルスが消化管から血液中に入り，その後肝細胞の中で増殖し，胆管を通して小腸に，そして便中に排泄される。血清トランスアミナーゼ（ALT，AST）やビリルビンが上昇する。肝障害の程度は一般に A 型肝炎より強い。一方，不顕性感染もある。通常は慢性肝炎や肝硬変になることはないが，免疫不全者や肝臓疾患を有する場合に慢性化する。

c）分類

ヒトに関係する E 型肝炎ウイルスはヘペウイルス科オルソヘペウイルス A に属し，HEV-1 から HEV-4 の 4 遺伝子型となっている。HEV-1 と HEV-2 がヒトの主な感染で，HEV-3 と HEV-4 はヒトでもまれに認められる。HEV-3 と HEV-4 はブタが保有動物となっていることから食中毒として注目されている。全体では 7 遺伝子型になる。

d）形態

HEV はエンベロープを持たない小型球形ウイルスで，直径 32〜34 nm である。プラス鎖 1 本鎖 RNA である（**表 1-3-1**）。

e）培養

HEV（JE03-1760F 株［遺伝子型 3 型］，あるいは HE-JF5/15F 株［4 型］）を含む糞便を用いて肝癌細胞株 PLC/PRF/5 と肺癌細胞株 A549 での効率的な HEV の培養系が確立されている。E 型肝炎患者に由来する急性期血清中の HEV も，ウイルス量が多いほど，効率よく PLC/PRF/5 細胞や A549 細胞に感染し増殖する[20]。

f）生化学的性状

耐熱性として 60℃1 時間，エーテルや酸に対して安定。しかしノロウイルスと同様 85℃以上，90 秒では不活化される。

g）迅速検査（遺伝子検査，抗原検査など）

特異的 IgM，IgA を調べる。ペア血清で特異的 IgG の上昇を見る。RT-PCR でウイルス RNA を検出する。

h）治療，薬剤感受性

対症療法で特異的な治療はなく安静を保つ。劇症化した場合は，血漿交換，血液浄化法肝移植などが行われる。予防としては汚染された食物，水を生で食しない。

ワクチンは開発中である。E 型肝炎ウイルスはエンベロープを持たないため，消毒には次亜塩素酸ナトリウムを用いるのが望ましい。

6）その他のウイルス

ウイルス性下痢症の原因ウイルスであるロタウイルス，アデノウイルス，ノロウイルス，については既に述べた。その他のウイルスとしてサポウイルス，アストロウイルスとともにピコルナウイルス科のエンテロウイルス，パレコウイルス A，アイチ（コブ属）ウイルス，サフォード（カルジオ属）ウイルスやコサウイルスとパルボウイルス科のボカウイルス，ブファウイルスがある。またコロナウイルス，ピコビルナウイルスがある（元来，季節性コロナウイルスがある。新型コロナウイルスも下痢を来すことがある）。

その他の下痢および軟便を来すウイルスとして呼吸器疾患が中心の RS ウイルス，インフルエンザウイルス，メタニューモウイルスや免疫低下時に見られるサイトメガロウイルス，ヘルペスウイルス 6, 7 がある。

サポウイルス，アストロウイルス，エンテロウイルス，パレコウイルス A，ボカウイルスについて簡単に述べる。**表 1-3-1**，**図 1-3-1**，**表 1-3-2**，**表 1-3-3** を参考にしてほしい。これらのウイルスは，ウイルス性下痢症として検出される頻度がノロウイルス，ロタウイルスに比較して少ない，ウイルス性下痢症として重症ではない，21 世紀になり新しく見出されたウイルスで，不顕性感染が多いなどの特徴を持つ[21]。イムノクロマト法の迅速診断はまだ確立されていないので，遺伝子診断が用いられる。(RT-)PCR のためのプライマー配列と PCR 産物のサイズを**表 1-3-5** に示した[22]。

a）サポウイルス

ノロウイルスと同じカリシウイルス科の属である。近年乳幼児の大きな流行，食品媒介感染症の大きな流行は認められていないが世界中に存在する。年間を通じて見られるが，冬にやや多い傾向がある。乳幼児が主で嘔吐・下痢・発熱を症状とするが比較的軽症である。しかし，5 歳に達するまでに多くの子どもたちが感染する。直径 30〜40 nm の小型球形ウイルスであり“ダビデの星”と称するような窪みを有する。現在ヒトのサポウイルスは GI，GII，GIV，GV 群がヒトに関係する。細胞培養が可能となった。遺伝子群のなかに多数の遺伝子型がある。イムノクロマトによる迅速診断法はない。RT-PCR による遺伝子診断が行われる。治療は対症療法である。ワクチンはない。サポウイルスはエンベロープを持たないため，消毒には次亜塩素酸ナトリウムを用いるのが望ましい。

b）アストロウイルス

アストロウイルス科は哺乳類と鳥類のアストロウイルスに分けられるが，ヒトアストロウイルスには古典的 1-8 型のほかに Melbourne 型，Virginia 型などがある。1 型とともに最近は後者が多くなった。アストロウイルス感染症は糞口感染で，乳幼児の腸管感染症の原因である。呼吸器疾患，脳炎などの消化管外の感染が報告されている。ヒトと動物，動物間の交差感染はよくわかっていない。アストロウイルスは細胞培養が可能である。迅速診断キットは市販されていない。RT-PCR による遺伝子診断，酵素抗体法（EIA）がなされる。治療は対症療法である。ワクチンはない。アストロウイルスはエンベロープを持たないため，消毒には次亜塩素酸ナトリウムを用いるのが望ましい。

c）エンテロウイルス

エンテロウイルス属はピコルナ科のウイルスである。エンテロウイルス A〜J とライノウイルス

表 1-3-5 （RT-）PCR のためのプライマー配列と PCR 産物のサイズ

Target virus	Primer	Region	Polarity[a]	Sequence（5′ to 3′）	Size（bp）
Rotavirus A	sBeg9	VP7	+	GGCTTTAAAAGAGAGAATTTC	395
	VP7-1’	VP7	−	ACTGATCCTGTTGGCCATCCTTT	
Rotavirus C	NG8S1	VP7	+	ATTATGCTCAGACTATCGCCAC	351
	NG8S2	VP7	−	GTTTCTGTACTAGCTGGTGAAC	
Adenovirus	Ad1	Hexon	+	TTCCCCATGGCICAYAACAC	482
	Ad2	Hexon	−	CCCTGGTAKCCRATRTTGTA	
Astrovirus	SF0073	ORF-1b	+	GATTGGACTCGATTTGATGG	409
	SF0076	ORF-1b	−	CTGGCTTAACCCACATTCC	
Norovirus GI	G1SKF	Capsid	+	CTGCCCGAATTYGTAAATGA	330
	G1SKR	Capsid	−	CCAACCCARCCATTRTACA	
Norovirus GII	COG2F	Capsid	+	CARGARBCNATGTTYAGRTGGATGAG	387
	G2SKR	Capsid	−	CCRCCNGCATRHCCRTTRTACAT	
Norovirus GII（nested-PCR）	G2SKF	Capsid	+	CNTGGGAGGGCGATCGCAA	344
	G2SKR	Capsid	−	CCRCCNGCATRHCCRTTRTACAT	
Sapovirus	SLV5317	Capsid	+	CTCGCCACCTACRAWGCBTGGTT	434
	SLV5749	Capsid	−	CGGRCYTCAAAVSTACCBCCCCA	
Aichi virus	6261	3CD	+	ACACTCCCACCTCCCGCCAGTA	519
	6779	3CD	−	GGAAGAGCTGGGTGTCAAGA	
Human parechovirus	ev22（+）	5’UTR	+	CYCACACAGCCATCCTC	270
	ev22（−）	5’UTR	−	TRCGGGTACCTTCTGGG	
Enteroviruses	F1	5’UTR	+	CAAGCACTTCTGTTTCCCCGG	440
	R1	5’UTR	−	ATTGTCACCATAAGCAGCCA	
Human cosavirus*	DKV-N5U-F	5’UTR	+	CGTGCTTTACACGGTTTTTGA	441
	DKV-N5U-R2	5’UTR	−	GGTACCTTCAGGACATCTTTGG	
Human bocavirus*	AK-VP-F1	VP1/VP2	+	CGCCGTGGCTCCTGCTCT	576
	AK-VP-R1	VP1/VP2	−	TGTTCGCCATCACAAAAGATGTG	
Saffold virus*	CF188	5’UTR	+	CTAATCAGAGGAAAGTCAGCAT	824
	CR990	5’UTR	−	GACCACTTGGTTTGGAGAAGCT	
Salivirus*	SAL-L1	5’UTR	+	CCCTGCAACCATTACGCTTA	485
	SAL-R1	5’UTR	−	CACACCAACCTTACCCCACC	
Hepatitis A virus*	BR-5	VP1/2A	+	TTGTCTGTCACAGAACAATCAG	361
	BR-9	VP1/2A	−	AGTCACACCTCTCAAGGAAAACTT	
Hepatitis E virus*	HEV-F1	ORF-2	+	TAYCGHAAYCAAGGHTGGCG	545
	HEV-R2	ORF-2	−	TGYTGGTTRTCRTARTCCTG	

*nested-PCR については省略した [a]：＋：Forward primer, −：Reverse primer,
b：Bases within nucleotide sequence of primers,
B=C, G or T；H=A, C or T；N：any base；R=A or G；S=G or C；V=A, C or G；W=A or T；Y=C or T
<文献 22）を改変>

A～C の遺伝子群に分けられる。エンテロウイルスは腸管細胞で増殖する。ポリオウイルスが含まれる。また，手足口病，ヘルパンギーナ，無菌性髄膜炎，出血性結膜炎，心筋炎などさまざまな感染症を起こす。ウイルスは咽頭ぬぐい液，糞便，血液，髄液などから検出される。エンテロウイルスは他の腸管感染症ウイルスと重複感染として見出されることや，健常人にも見出され，腸管感染症と原因としては重要ではない。エンテロウイルス A，B が感染者糞便から見出される。エンテロウイルス D68 は呼吸器，神経系とともに下痢症の原因としても報告されている。細胞培養での診断は時間を要するので RT-PCR で行う。治療は対症療法と合併症に対する治療である。エンテロウイルスはエンベロープを持たないため，消毒には次亜塩素酸ナトリウムを用いるのが望ましい。

d）パレコウイルス A

ピコルナウイルス科パレコウイルス属で，現在 19 の血清型・遺伝子型が同定されている。1 型と 3 型が多く，呼吸器症状あるいは腸管感染症の症状を認める。3 型（ときに 4 型）パレコウイルス A は，生後 3 ヵ月未満の乳幼児に髄膜炎や脳炎，ウイルス血症を来し重症化する。治療は対症療法と合併症に対する治療がある。パレコウイルス A はエンベロープを持たないため，消毒には次亜塩素酸ナトリウムを用いるのが望ましい。

e）アイチウイルス

ピコルナウイルス科のコブウイルス属にアイチウイルス種がある。アイチウイルスは 1 つの血清型で A～C の遺伝子型がある。ほとんどが A 型である。アイチウイルスの抗体保有率は 4 歳以下で 10％未満，その後次第に上昇し，30 歳で約 80％である。その他にサフォードウイルス（カルジオウイルス属），コサウイルス（コサウイルス属），サリウイルス（サリウイルス属），ロサウイルスなどがある。ピコルナ科のウイルスであり，呼吸器疾患，脳炎，心筋炎の原因ともなる。一方不顕性感染があり，ウイロームという考えもある[21]。迅速診断法はなく，酵素抗体法や遺伝子診断が利用される。細胞培養も行われるが時間がかかる。特に有効な治療法はない。

f）ヒトパルボウイルス

パルボウイルス科のボカウイルス属である。呼吸器症状で，喘息様気管支炎，肺炎，気管支炎，細気管支炎を示す。同時に消化器症状を示すことがある。1 型は呼吸器，2～4 型は消化器疾患と関係する。無症候性の場合もある。ブファウイルスを含むプロトパルボウイルス属の 3 ウイルス種も下痢症と関係する。これらのウイルスは細胞培養，迅速診断（イムノクロマト法）は確立されていない。RT-PCR あるいは次世代シークエンサーで検出される。特異的な治療法はない。

【ピットホール】

- 複数のウイルスや細菌が重複感染していることがあるので，1 つの病原体が見出されても他の病原体の関与も念頭に置く。
- 病原体が見出されても不顕性の場合や，病気と直接関係がない場合がある。
- ウイルス量が少ない，検体に含まれる夾雑物によって検査では陰性と判定される場合がある。
- 臨床症状と合致するかを考える。急性期の抗原検索ができなかった，あるいは抗原検索の結果を確認する場合，回復期の血中ウイルス抗体の上昇で確認すると良い。

文　献

1）Thongprachum A, Khamrin P, Maneekarn N, et al. 2016. Epidemiology of gastroenteritis viruses in Japan：Prevalence, Seasonality, and Outbreak. J Med Virol 88：551-570.
2）Pires SM, Fischer-Walker CL, Lanata CF, et al. 2015. Aetiology-spepcific estimates of the global and regional incidence and mortality of diarrhoeal diseases commonly transmitted through food. PLoS One 10：e0142927.
3）Ushijima H, Fujimoto T, Müller WEG, et al. 2014. Norovirus and foodborne diseases：A Review. Food Safety 2：37-54.
4）Van Trang N, Vu HT, Le NT, et al. 2014. Association between norovirus and rotavirus infection and histo-blood group antigen types in Vietnamese children. J Clin Microbiol 52：1366-1374.
5）東京都福祉保健局．ノロウイルス対応標準マニュアル「食品衛生の窓」．http://www.fukushihoken.metro.tokyo.jp/shokuhin/noro/manual.html.
6）厚生労働省．ノロウイルスに関する Q & A．http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/syokuchu/kanren/yobou/040204-1.html.

7）国立感染症研究所．ノーウォークウイルス（ノロウイルス）の遺伝子型（2015 年改訂版）病原微生物検出情報（IASR）（掲載日 2015/9/8）．https://www.niid.go.jp/niid/ja/norovirus-m/norovirus-iasrs/5913-pr4274.html.
8）片山和彦．2018．ノロウイルスワクチン開発，近未来のワクチン．医学のあゆみ 264：431-437.
9）Ushijima H, Thongprachum A, Khamrin P, et al. 2017. Evaluation of immunochromatographic tests and a new enzyme immunoassay for detection of a novel GII.17 norovirus in stool samples. Jpn J Infect Dis 70：326-328.
10）Tate JE, Burton AH, Boschi-Pinto C, et al. 2016. Global, regional, and national estimates of rotavirus mortality in children ＜5 years of age, 2000-2013. Clin Infect Dis 62：S96-105.
11）Hoshino A, Saitoh M, Oka A, et al. 2012. Epidemiology of acute encephalopathy in Japan, with emphasis on the association of viruses and syndromes. Brain Dev 34：337-343.
12）Boom JA, Sahni LC, Payne DC, et al. 2012. Symptomatic infection and detection of vaccine and vaccine-reassortant rotavirus strains in 5 children：a case series. J Infect Dis 206：1275-1279.
13）Kaneko M, Takanashi S, Thongprachum A, et al. 2017. Identification of vaccine-derived rotavirus strains in children with acute gastroenteritis in Japan, 2012-2015. PLoS ONE 12：e0184067.
14）Bányai K, Kemenesi G, Budinski I, et al. Candidate new rotavirus species in Schreiber's bats, Serbia. Infect Genet Evol 48：19-26.
15）Matthijnssens J, Ciarlet M, Sarah M, et al. 2011. Uniformity of rotavirus strain nomenclature proposed by the rotavirus classification working group（RCWG）. Arch Virol 156：1397-1413.
16）Vega CG, Bok M, Vlasova AN, et al. 2012. IgY antibodies protect against human rotavirus induced diarrhea in the neonatal gnotobiotic piglet disease model. PLoS One 7：e42788.
17）Jones MS, Harrach B, Ganac RD, et al. 2007. New adenovirus species found in a patient presenting with gastroenteritis. J Virol 81：5978-5984.
18）横浜市衛生研究所．A 型肝炎について．http://www.city.yokohama.lg.jp/kenko/eiken/idsc/disease/hav1.html.
19）国立感染症研究所．Hepatitis A．IASR 速報グラフ．病原微生物検出情報（IASR）．http://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr/510-surveillance/iasr/graphs/2293-iasrgv4.html.
20）Okamoto H. 2013. Culture systems for hepatitis E virus. J Gastroenterol 48：147-158.
21）沖津祥子，牛島廣治．2015．小児に関わる新しいウイルス．小児科 56：285-291.
22）Thongprachum A, Fujimoto T, Takanashi S, et al. 2018. Detection of nineteen enteric viruses in raw sewage in Japan. Infect Genet Evol 63：17-23.

4 寄生虫性腸管感染症

1）原虫性腸管感染症

【赤痢アメーバ(*Entamoeba histolytica*)】

a）形態

栄養型（**図 1-4-1**）と嚢子（**図 1-4-2**）が存在する。特徴は**表 1-4-1** に示す。

b）感染

成熟嚢子を経口摂取して感染する。アメーバ赤痢を発症して粘血便を排泄する場合と，下痢・腹痛だけの症状を呈するアメーバ性大腸炎の場合や無症状感染者となる場合がある。腸管外アメーバ症（アメーバ性肝膿瘍など）を起こすこともある。

熱帯・亜熱帯の浸漬地では，飲食による感染が主流である。わが国では，肛門-口感染などによる性感染症が増えている[1,2]。五類感染症に指定されている。

c）検査

粘血便では，直接生鮮標本を作製して保温しながら鏡検し，動いている栄養型を検出する。軟便・固形便では，集シスト法を実施して嚢子を検出する。SAF 液で保存した場合，偽足や核およびカリオソームなどの構造物が明瞭になる（**図 1-4-3**）。さらにヨード染色やコーン染色を用いると鑑別が容易になる。

嚢子の鑑別では，他のアメーバの嚢子との鑑別に注意する（**図 1-4-4**）。大腸アメーバとの鑑別は重要で，大きさや核数，カリオソームの位置や形状に注意する。また，*Entamoeba hartmanni* の嚢子との違いは大きさだけである。原虫の鑑別において大きさの測定とヨード染色やコーン染色を用いた形態の観察は重要である（**図1-4-5(1)，(2)**）。

近年，形態学的に差がみられない非病原性の種である *Entamoeba dispar* や *Entamoeba moshkovskii* および *Entamoeba nuttalli* などの近縁種の存在が明らかとなり PCR 法による鑑別が重要視されている[4,5]。肝膿瘍などの材料から PCR 法で赤痢アメーバの遺伝子を検出することもある[6]。膿瘍中の栄養型が検出困難な場合は，血清抗体価も有用となるが，ウインドウ期や感染者の免疫状態に

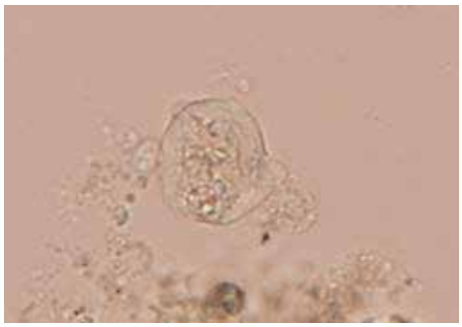


図 1-4-1　赤痢アメーバ栄養型の生鮮塗抹像
偽足を出して活発に動く。赤血球を貪食していれば赤痢アメーバとして推定される。

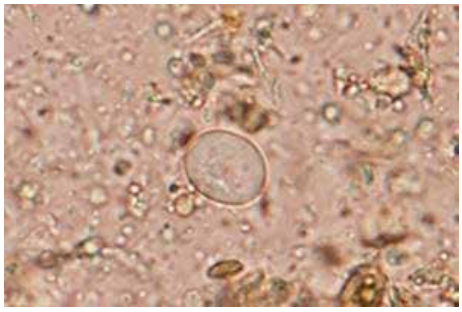


図 1-4-2　赤痢アメーバ嚢子の生鮮塗抹像
円形～楕円形の構造物。核などの構造物は無染色のため明瞭ではない。

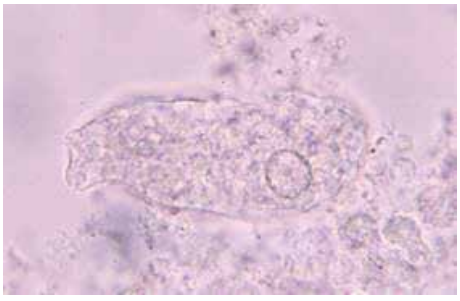


図 1-4-3　SAF 液保存による赤痢アメーバ栄養型
SAF 液で保存した場合，核やカリオソームが明瞭になり，偽足の形態も保存できる。

表 1-4-1　原虫の大きさおよび形態

種名	発育ステージ	大きさ	特徴
赤痢アメーバ（*Entamoeba histolytica*）	栄養型（trophozoite）	直径約 20〜50 μm	大きさ・形は種々変化する。偽足を持ち，内肉中に赤血球を捕食している。1 つの核がありカリオソームがほぼ中心部に存在する。
	嚢子（cyst）	直径約 12〜15 μm	ほぼ球状。生鮮標本上では核などの構造物が明瞭でない。未熟嚢子は，1 核あるいは 2 核であり類染色質体やグリコーゲン胞を持つものもある。成熟嚢子は 4 核で感染型である。
ランブル鞭毛虫（*Giardia intestinalis*）	栄養型（trophozoite）	長径 12〜15 μm 短径 6〜8 μm	前方は円く後方は尖る。腹面には吸着円盤がある。核は 2 個あり，カリオソームを有する。吸着円盤の後方には中央小体が存在する。4 対 8 本の鞭毛が存在し，生毛体であるキネトソームから発して体内鞭毛となった後，遊離鞭毛（前鞭毛，側鞭毛，腹鞭毛，後鞭毛）となる。活発に運動，2 分裂で増殖する。
	嚢子（cyst）	長径 8〜12 μm 短径 6〜8 μm	楕円形。長軸方向に走る縦繊維と鉤状の曲刺（curved bristle）と成熟嚢子では 4 個の核とカリオソームが存在する。
クリプトスポリジウム（*Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium parvum*）	成熟オーシスト（mature oocyst）	直径 4.5〜5 μm	類円形で，オーシスト壁の内部に 4 個のバナナ状のスポロゾイトと，液胞および顆粒の集塊からなる 1 個の残体を包蔵する。
戦争シストイソスポーラ（*Cystoisospora belli*）	オーシスト	長径 20〜33 μm 短径 10〜19 μm	未成熟オーシストは単細胞。成熟オーシストは，4 個のスポロゾイトを包蔵するスポロシストを2個持っている。
サイクロスポーラ（*C. cayetanensis*）	オーシスト	直径 8〜10 μm	未成熟オーシストは顆粒の集塊からなる 1 個の融合体を包蔵する。成熟オーシストは，2 個のスポロゾイトを包蔵するスポロシストを 2 個持っている。
フェイヤー肉胞子虫（*Sarcocystis fayeri*）	スポロシスト	長径 11〜13 μm 短径 7.5〜8.5 μm	4 個のスポロゾイトを包蔵している。
	ブラディゾイト（メロゾイト）	長径 15 μm 短径 5 μm	三日月形
ナナホシクドア（*Kudoa septempunctata*）	胞子	直径約 10 μm	内部にコイル状の極糸を持つ極嚢がある。胞子を形成し，極嚢と胞子原形質を包含する胞子殻からなる。本原虫は，極嚢の数が 5〜7 個である。

<文献 1，8，15）より引用>

よって必ずしも陽性とならないので注意する。

d）治療

治療法を**表 1-4-2** に示す。腸炎と嚢子保有者では，治療法が異なることに注意する[7]。

【ランブル鞭毛虫（*Giardia intestinalis*）】

（Syn. *G. lamblia*, *G. duodenalis*）

a）形態

栄養型（**図 1-4-6**）と嚢子（**図 1-4-7**）が存在する。特徴は**表 1-4-1** に示す。

b）感染

成熟嚢子を経口摂取して感染する。下痢，腹痛，腹部不快感などで発症する。便は，水様便や泥状便から軟便までさまざまである。ときに脂肪性下痢や吸収不良症候群も見られる。わが国では，輸入感染だけでなく，国内感染例，同性愛患者間での性感染も増えている。無症状感染者も存在する[8]。五類感染症に指定されている。

c）検査

下痢便，十二指腸液，胆汁などの検査材料では，生鮮塗抹標本で運動する栄養型の検出が可能であるが，ギムザ染色やコーン染色により鑑別が容易になり，永久標本とすることができる（**図 1-4-8(1), (2)**）。嚢子は下痢便だけでなく有形便についても，MGL 法などの集シスト法で検出が容易になる。ヨード染色やコーン染色すること

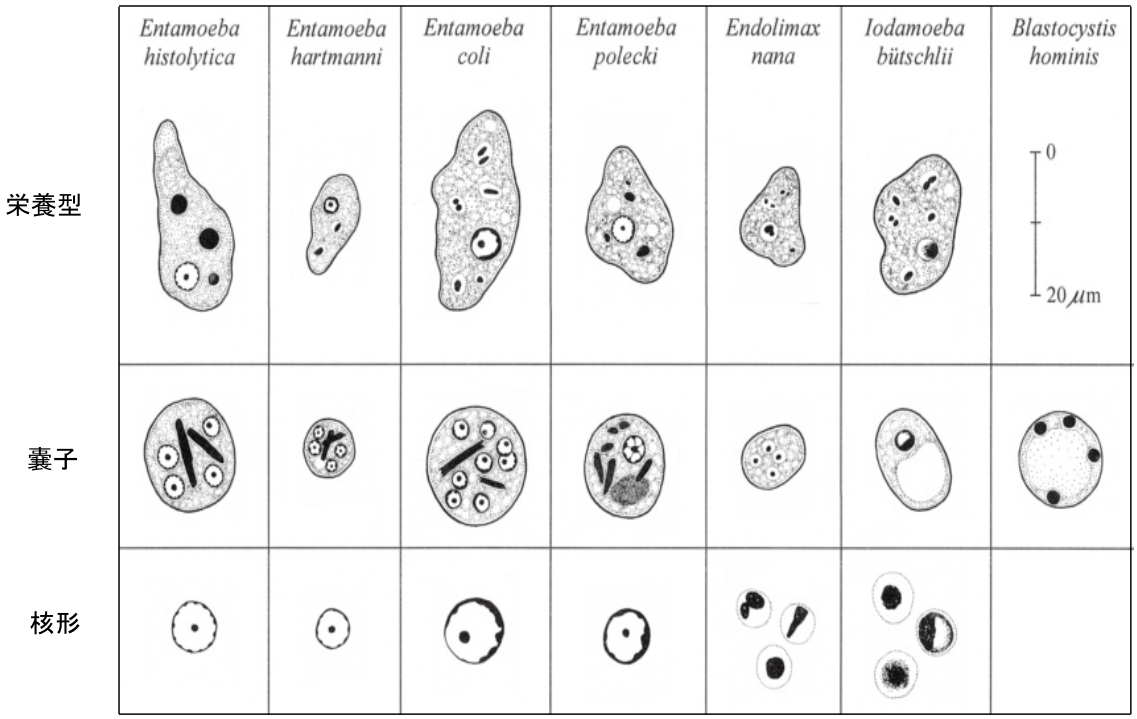
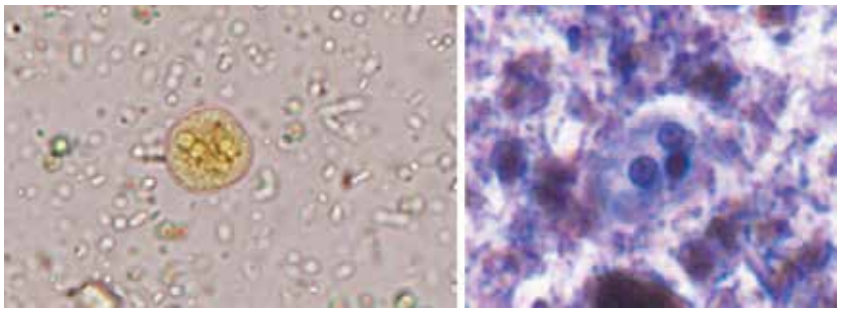


図 1-4-4　各種アメーバの形態
<文献 3）より引用>



（1）ヨード染色像　　（2）コーン染色像

図 1-4-5　赤痢アメーバの嚢子の染色像
核やカリオソームが明瞭になる。

で，より鑑別が容易になる（**図 1-4-9(1), (2)**）。他の腸管寄生原虫の形態との違い（**図 1-4-10**）に注意する。

近年，18s rRNA やグルタミン酸脱水素酵素などの遺伝子解析により Assemblage A～G に分類し，疫学的調査などに応用されている[4,9]。

d）治療

治療法を**表 1-4-2** に示す。

【クリプトスポリジウム（*Cryptosporidium* spp.）】

ヒトへの主な感染種は，*C. hominis*，*C. parvum* である。

a）形態

糞便中には成熟オーシスト（**図 1-4-11**）が存在する。特徴は**表 1-4-1** に示す。

b）感染

成熟オーシストの経口摂取により感染する。激しい水様性下痢が主症状である。AIDS や各種免疫不全患者では症状が慢性化し重症化する。通

表 1-4-2　原虫症の治療法

種名	治療法
赤痢アメーバ（*Entamoeba histolytica*）	メトロニダゾールが第一選択薬である。腸炎で成人の場合，メトロニダゾール経口 1 回 500 mg・1 日 3 回・10 日間。小児の場合，メトロニダゾール経口 1 回 10 mg/kg・1 日 3 回・10 日間。経口摂取不能例ではメトロニダゾールの点滴静注薬を用いる。点滴で 1 回 500 mg・8 時間毎・10 日間。メトロニダゾールが何らかの理由で使えない場合，チニダゾールによる治療を検討する。チニダゾール経口 1 回 400 mg・1 日 3 回・7 日間（保険適用外）。これらの治療の後に，再発予防および残存した嚢子の殺滅を目的としてパロモマイシンによる後療法が推奨されている。パロモマイシン経口 1 回 500 mg・1 日 3 回・10 日間[7,20]
ランブル鞭毛虫（*Giardia intestinalis*）	メトロニダゾール内服が効果的であり，唯一保険適用のある治療である。成人では，メトロニダゾール経口 1 回 250 mg・1 日 3 回・7 日間。小児では，メトロニダゾール経口 1 回 5〜7 mg/kg・1 日 3 回・7 日間[7,20]。その他の治療薬としてはチニダゾールやアルベンダゾール（いずれも保険適用外），ニタゾキサニド（国内未承認）などがある。
クリプトスポリジウム（*Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium parvum*）	ニタゾキサニドが唯一健常人における下痢症状の期間短縮に有効とされるが，国内未承認である。第二選択として，パロモマイシンとアジスロマイシンの併用が試みられる。パロモマイシン経口 1 回 500〜750 mg・1 日 3 回・14 日間（保険適用外）＋アジスロマイシン経口 1 回 600 mg・1 日 1 回・14 日間（保険適用外）[7]。
戦争シストイソスポーラ（*Cystoisospora belli*）	第一選択薬：免疫機能正常患者では ST 合剤を 2 錠（1 錠：トリメトプリム 80 mg，スルファメトキサゾール 400 mg 含有）2 回/日・7〜10 日間。免疫不全患者では ST 合剤を 2 錠（1 錠：トリメトプリム 80 mg，スルファメトキサゾール 400 mg 含有）4 回/日・7〜10 日間（保険適用外）。第二選択薬：CPFX 500 mg 経口 2 回/日・7 日（保険適用外）[14]。
サイクロスポーラ（*C. cayetanensis*）	第一選択薬：免疫機能正常患者では ST 合剤を 2 錠（1 錠：トリメトプリム 80 mg，スルファメトキサゾール 400 mg 含有）2 回/日・7〜10 日（保険適用外）。免疫不全患者では ST 合剤を 2 錠（1 錠：トリメトプリム 80 mg，スルファメトキサゾール 400 mg 含有）4 回/日・14 日間まで（保険適用外）。第二選択薬：ニタゾキサニド経口 1 回 500 mg・1 日 2 回・7 日間（国内未承認）[14]。
フェイヤー肉胞子虫（*Sarcocystis fayeri*）	感染による症状は軽度で，速やかに回復するので抗原虫薬などは使用する必要はないと考えられる[8]。対症療法が有効であるが，ST 合剤 1 回 4 錠・1 日 2 回（保険適用外）を使用することもある。
ナナホシクドア（*Kudoa septempunctata*）	多くの場合 24 時間以内に症状は治まり，予後は良好である[15,16]

<文献 7，8，14，15，16，20）より引用>



図 1-4-6　ランブル鞭毛虫の栄養型
生鮮塗抹標本。鞭毛を動かし活発に動く。

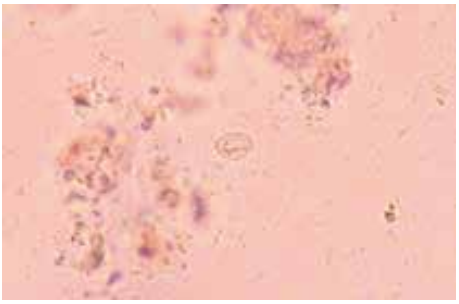
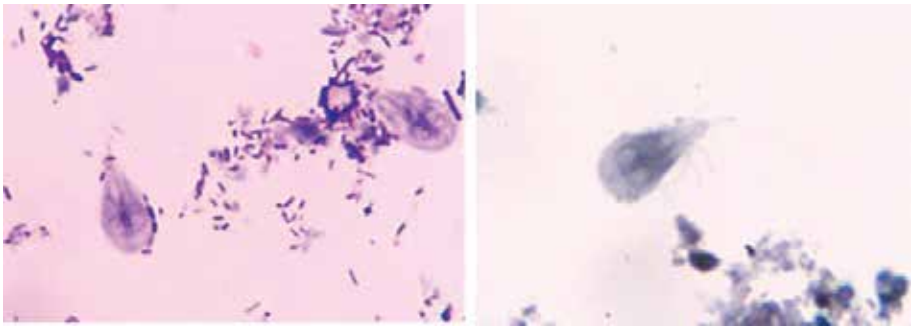
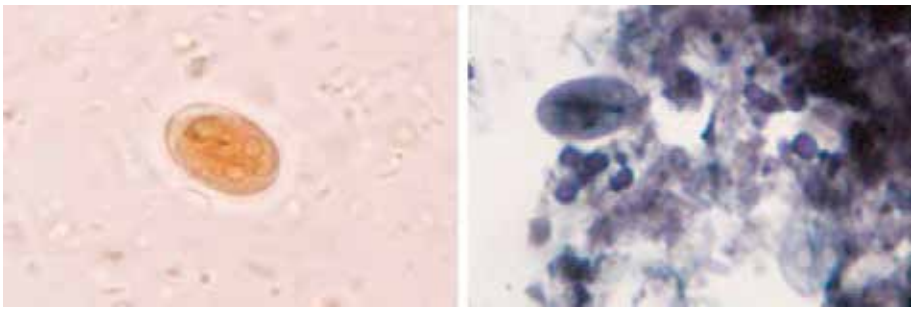


図 1-4-7　ランブル鞭毛虫の嚢子
生鮮塗抹標本。楕円形，長軸方向に縦繊維が見える。核などの構造物は明瞭でない。



（1）ギムザ染色像　　（2）コーン染色像

図 1-4-8　ランブル鞭毛虫の栄養型の染色像
核やカリオソームおよび鞭毛が明瞭になる。



（1）ヨード染色像　　（2）コーン染色像

図 1-4-9　ランブル鞭毛虫の嚢子の染色像
核やカリオソームが明瞭になる。

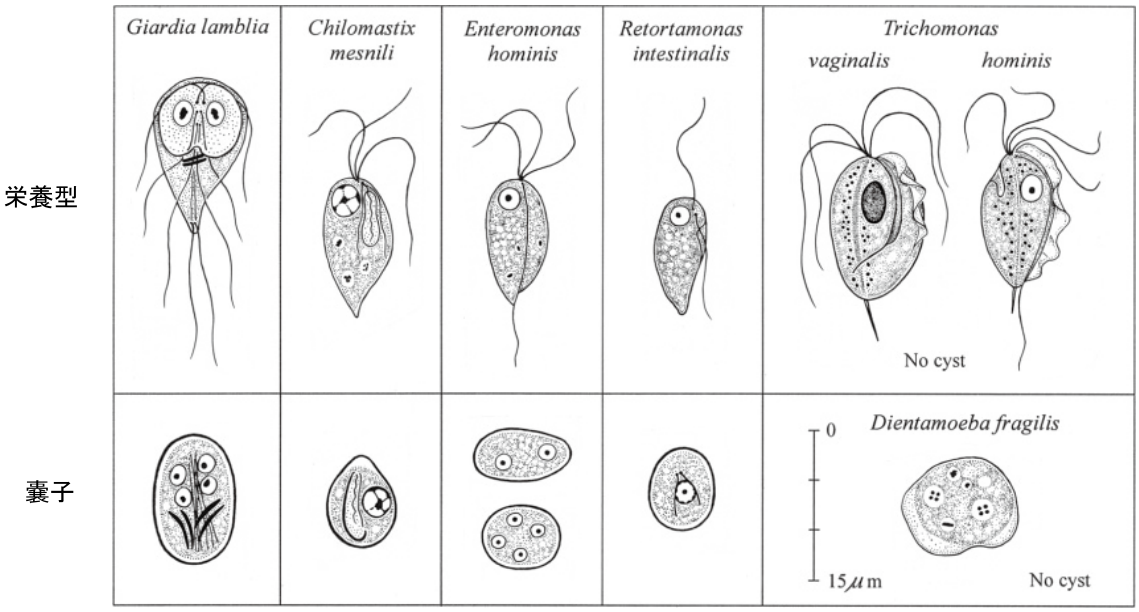


図 1-4-10　消化管寄生鞭毛虫類の形態
<文献 3）より引用>

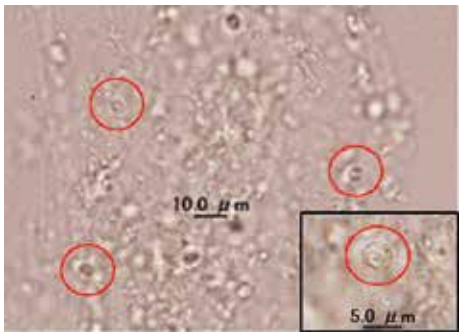


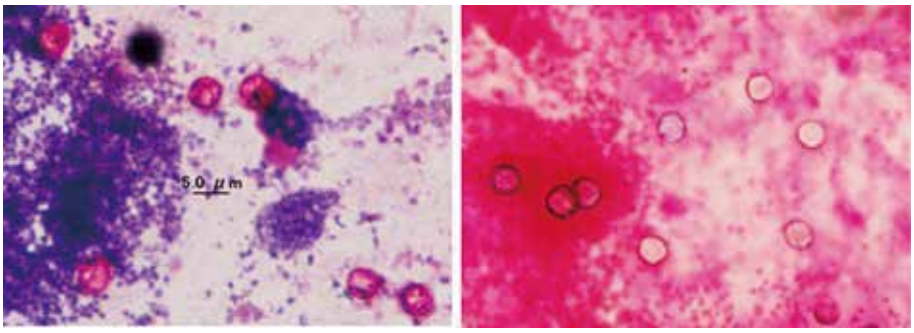
図 1-4-11　クリプトスポリジウム
簡易迅速蔗糖浮遊法によるクリプトスポリジウムの成熟オーシストである。右下は拡大像。

常，飲料水を介する感染であるが，肛門-口感染などによる性感染症も問題となる。AIDS 診断の指標の 1 つである[8,10]。感染症法で五類感染症に指定されている。

c）検査

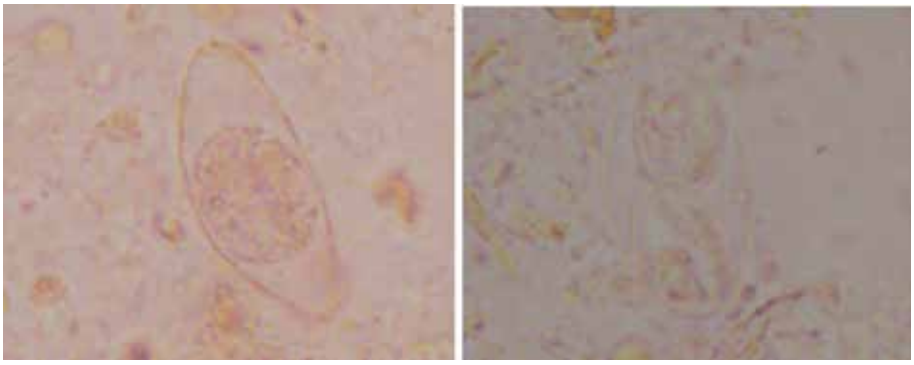
糞便検査でオーシストを検出する。簡易迅速蔗糖浮遊法や蔗糖遠心浮遊法により容易に検出同定できる（**図 1-4-11**）。下痢便の Kinyoun 抗酸染色でもオーシストを証明できる（**図 1-4-12(1)**）。オーシストは，ヨード染色やコーン染色には染まらない。下痢便のグラム染色では，染まらずに抜けたような像を呈する[11]（**図 1-4-12(2)**）。

他の染色法では，直接蛍光抗体法を用いた染色法がある。近年では，18S rRNA 遺伝子（18S rDNA）と COWP（Cryptosporidium oocyst wall protein）遺伝子の PCR-RFLP を用いた解析による近縁種の鑑別方法がある[4]。



（1）Kinyoun 抗酸染色によるクリプトスポリジウムの成熟オーシスト　（2）グラム染色によるクリプトスポリジウムの成熟オーシスト

図 1-4-12　クリプトスポリジウムの染色像



（1）未成熟オーシストで内部は単細胞　（2）成熟オーシストで内部に 2 個のスポロシストを包蔵する

図 1-4-13　戦争シストイソスポーラ

d）治療

治療法を**表 1-4-2** に示す。確実に有効な抗寄生虫薬はまだない。

【戦争シストイソスポーラ（*Cystoisospora belli*）とサイクロスポーラ（*Cyclospora cayetanensis*）】

a）形態

（1）戦争シストイソスポーラ（*C. belli*）

糞便中には未成熟オーシスト（**図 1-4-13(1)**）が存在する。発育すると成熟オーシスト（**図 1-4-13(2)**）となる。特徴は**表 1-4-1** に示す。

（2）サイクロスポーラ（*C. cayetanensis*）

糞便中には未成熟オーシスト（**図 1-4-14(1)**）が存在する。発育すると成熟オーシスト（**図 1-4-14(2)**）となる。特徴は**表 1-4-1** に示す。

b）感染

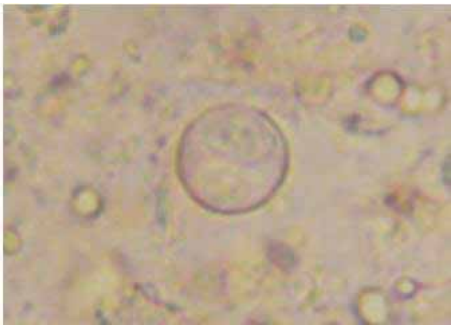
成熟オーシストの経口摂取により感染する。水様性下痢や軟便が反復し，腹部不快感などの症状を呈する。AIDS など免疫不全患者では，下痢やオーシストの排泄が長期にわたる[8)]。

c）検査

糞便中のオーシストを検出する。直接塗抹標本でもみつかるが，蔗糖遠心浮遊法や MGL 法でオーシストを集めて鏡検する。オーシストはヨード染色やコーン染色には染まらないが，蛍光顕微鏡で観察すると，オーシスト壁が自家蛍光を示す（**図 1-4-15(1), (2)**）。採便直後のオーシストは未成熟オーシストであるが，発育試験を行うと成熟オーシストとなり，類似の夾雑物との鑑別に有用である。形態学的な検査だけでなく，PCR 法などの遺伝子学的な手法を使った解析も行われている[12,13)]。

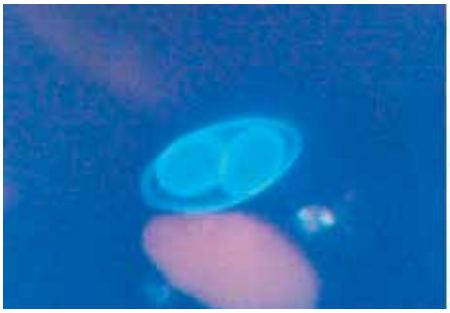


（1）未成熟オーシストで内部は顆粒の集塊からなる融合体

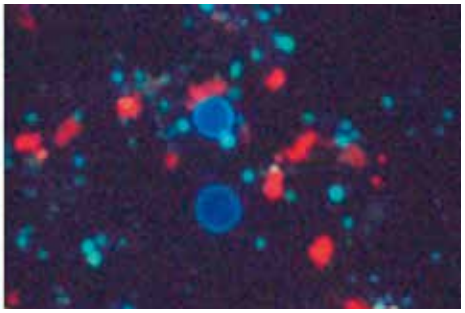


（2）成熟オーシストで内部に２個のスポロシストを包蔵する

図 1-4-14　サイクロスポーラのオーシスト



（1）戦争シストイソスポーラの成熟オーシストの自家蛍光像



（2）サイクロスポーラの未成熟オーシストの自家蛍光像

図 1-4-15　オーシストの自家蛍光像

d）治療

治療法を**表 1-4-2** に示す。患者の免疫能により治療法が異なることに注意する[14]。

【フェイヤー肉胞子虫（*Sarcocystis fayeri*）】

a）形態

スポロシストやブラディゾイト（**図 1-4-16**）を形成する[15]。特徴は**表 1-4-1** に示す。

b）感染

馬肉を生で経口摂取して感染する。一過性の消化器症状が起きるが，軽度である[1]。食中毒の原因として取り扱われている。

c）検査

遺伝子検査で，食材（馬肉）からブラディゾイトを証明するか，食材（馬肉）の割面より肉胞嚢を肉眼で見つけて分離し，中のブラディゾイトを直接生鮮塗抹あるいはギムザ染色して鏡検する。糞便からは，遺伝子検査でブラディゾイトを証明する[15]。

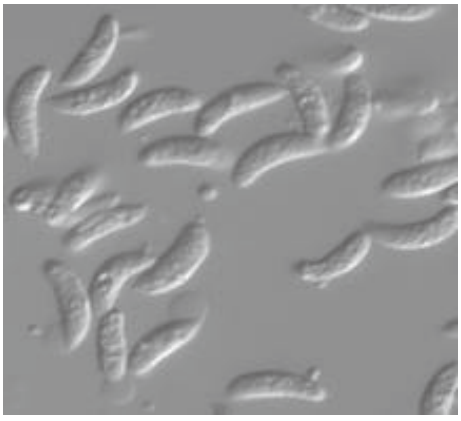


図 1-4-16　フェイヤー肉胞子虫
ザルコシストに内包されるブラディゾイトの微分干渉顕微鏡像
<文献 15）より引用>

d）治療

有効な抗寄生虫薬は不明であるが，症状は軽度であるので不要と考えられている[8]。

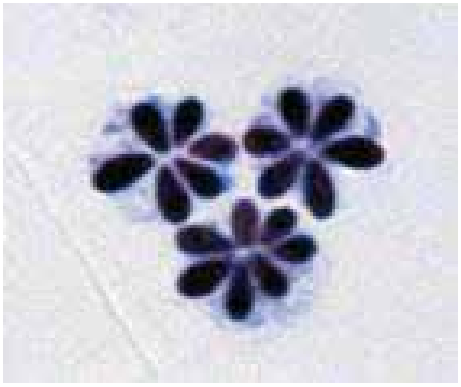


図 1-4-17　ナナホシクドアのギムザ染色像
<文献 15）より引用>

【ナナホシクドア（*Kudoa septempunctata*）】

粘液胞子虫類の一種である。

a）形態

特徴的な胞子（**図 1-4-17**）を形成する[15]。特徴は**表 1-4-1** に示す。

b）感染

ヒラメに寄生する粘液胞子虫の生食により感染する。症状は下痢，嘔吐。食中毒の原因として取り扱われている[16]。

c）検査

食品から遺伝子学的検索によって特異的増幅産物を証明し，かつ顕微鏡検査で特徴的な胞子が検出された場合陽性とする。直接顕微鏡検査で特徴的な胞子が確認できた場合にも陽性とする。糞便からの検出は遺伝子学的検索による[15,16]。

d）治療

多くの場合 24 時間以内に症状は治まり，予後は良好である[15,16]。

【その他の原虫】

その他，下痢や腹痛などの消化器症状を起こしうる腸管寄生原虫には，ヒトブラストシスチス（*Blastocystis hominis*），微胞子虫類（特に *Enterocytozoon bieneusi* と *Encephalitozoon intestinalis*），腸トリコモナス（*Pentatrichomonas hominis*），大腸バランチジウム（*Balantidium coli*）などがある。

2）蠕虫性腸管感染症

【回虫（*Ascaris lumbricoides*）】

a）形態

（1）成虫

肛門や時に口から出現することもある。特徴は**表 1-4-3** に示す（**図 1-4-18(1), (2)**）。

（2）虫卵

糞便中に，受精卵（**図 1-4-19(1)**）または不受精卵（**図 1-4-19(2)**）あるいは両者が存在する場合がある。特徴は**表 1-4-3** に示す。

b）感染

幼虫包蔵卵を経口摂取して感染する。喘息様の症状以外に，時折起こる腹痛・下痢・食欲不振に加えて，成虫により腸閉塞を起こした場合や膵管や胆管，胃内に迷入した場合などに急性腹症を呈することがある[1]。

c）検査

虫体が出現した場合は，ミミズなど他の類似虫体との鑑別を行う。特に未成熟の虫体の場合は回虫の特徴が観察できない場合がある。糞便検査では，直接塗抹法で虫卵を検出する。虫卵は受精卵か不受精卵か鑑別する。受精卵なら雄と雌が寄生していることがわかる。虫卵が陰性でも，雄だけの寄生や未成熟虫体の場合があるので，回虫症を否定することはできない[1]。

d）治療

治療法は**表 1-4-4** に示す。

【鉤虫】

ヒトを固有宿主とするのはズビニ鉤虫（*Ancylostoma duodenale*）とアメリカ鉤虫（*Necator americanus*）であるが，他種の感染も存在する。

a）形態

（1）成虫

ズビニ鉤虫とアメリカ鉤虫の特徴を**表 1-4-3** に示す。

表 1-4-3　蠕虫の大きさおよび形態

種名	虫体および虫卵	大きさ	特徴
回虫（*Ascaris lumbricoides*）	成虫	雌：5 mm×30 cm，雄：4 mm×20 cm	1 個の背唇と 2 個の亜腹唇を持つ。雌には，交接輪があり，雄は交接刺を持つ。
	虫卵（受精卵）	長径 50～70 μm，短径 40～50 μm	楕円形，色は黄褐色，最外層には凹凸のある蛋白膜を持つ。厚い卵殻の下に薄い卵黄膜を持ち，産下後間もない卵は 1 つの円い卵細胞を持つ。日がたつにつれ卵内容は発育する。
	虫卵（不受精卵）	長径 63～98 μm，短径 40～60 μm	形が一定しない。卵殻，蛋白膜がともに薄い。内部には大小の顆粒が存在する。
ズビニ鉤虫（*Ancylostoma duodenale*）	成虫	雌虫：10～13 mm×0.6～0.7 mm 雄虫：7～10 mm×0.4～0.5 mm	死後背方に反り返りＣ字形になり口腔も背方に開く。口腔では，内腹歯と外腹歯の著明な 2 対の歯牙が存在する。頚部乳頭は円錐状で先端が鈍円。雄の交接嚢は傘を開いたような形状を示す。雌虫では尾突起を有する。陰門の位置は中央よりやや後方。
	虫卵	長径 50～60 μm 短径 40～45 μm	無色，楕円形で両端は鈍円である。小蓋はなく，卵内容は新鮮便では 4 分裂期である。採便から検査まで日数が経つほど卵内容は 16 分裂期や桑実期や蝌蚪期などに発育したものが見られる。
アメリカ鉤虫（*Necator americanus*）	成虫	雌虫：10～12 mm×0.3～0.5 mm 雄虫：6～8 mm×0.2～0.3 mm	死後腹方に屈曲し口腔は背方に開いてΩ形になる。口腔では，歯牙はなく，歯板が存在する。頚部乳頭は円錐状で先端は尖っている。雄の交接嚢は釣鐘状で，雌虫では尾突起がない。陰門の位置は中央よりやや上方。
	虫卵	ズビニ鉤虫に同じ	ズビニ鉤虫にほぼ同じ。
蟯虫（*Enterobius vermicularis*）	成虫	雌：体長 8～13 mm，体幅 0.3～0.5 mm 雄：体長 2～5 mm，体幅 0.1～0.2 mm	3 個の口唇を持ち頭部は背腹方向に膨隆している。食道下部は球状である。雌では体の前 1/3 の腹側に陰門が開き，子宮内には虫卵が充満している。雄の尾端は強く腹側に曲がっており 1 本の交接刺がある。
	虫卵	長径 45～50 μm 短径 25～30 μm	無色で卵殻はやや厚くその外側に滑らかな蛋白膜を有する。形態は柿の種様。卵内容は，産下直後ではすでに蝌蚪期まで発育していて，検査段階では幼虫形成卵になっており感染型である。
東洋毛様線虫（*Trichostrongylus orientalis*）	成虫	雌：体長 4.9～6.7 mm，体幅 0.08 mm 雄：体長 3.8～4.8 mm，体幅 0.075 mm	髪の毛のように細く小さい。3 個の口唇を持つ。雄の形態である交接嚢と交接刺の形態が重要。
	虫卵	長径 75～91 μm，短径 39～47 μm	一方が尖り他方が鈍円の楕円形。無色で小蓋がない。新鮮便中の虫卵でも 16～32 分裂期になっている。
糞線虫（*Strongyloides stercoralis*）	成虫（寄生世代）	体長 2.2～2.5 mm 体幅 0.04～0.05 mm	食道は膨大部を持たないフィラリア型。
	成虫（自由世代）	雌：体長 1.0 mm，雄：体長 0.7 mm	食道は 2 ヵ所に膨大部を持つラブジチス型を示す。
	幼虫	体長：約 0.6 mm	フィラリア型幼虫とラブジチス型幼虫が存在する。特徴は本文参照。
	虫卵	70×43 μm	卵殻は透明で薄く，産卵時には桑実胚になっている。産出後 5～6 時間後には孵化する。
鞭虫（*Trichuris trichiura*）	成虫	雌：4～5 cm，雄：3～4 cm	雌雄とも鞭のような形態。体の前約 3/5 が非常に細くなっており，スチコサイトが数珠状に並んだスチコソームの中に食道が走る。雄の尾端は強く腹方に巻く。
	虫卵	長径 40～50 μm，短径 22～23 μm	新鮮な虫卵は単細胞卵。厚い卵殻を有し，虫卵の両端に半透明の栓がある。色は黄褐色ないし赤褐色。時に大型や変形したもの，栓のないものが見られることがある。

表 1-4-3 （つづき）

種名	虫体および虫卵	大きさ	特徴
フィリピン毛細虫（*Capillaria philippinensis*）	成虫	雌：2.3〜5.3 mm，雄：1.5〜3.9 mm	鞭虫や旋毛虫のようにスチコサイトを持つ線虫。雄虫体で 1 本の長い交接刺が滑らかな交接刺鞘に包まれているのが特徴。
	虫卵	長径 36〜45 μm，短径 18〜22 μm	虫卵の両端には，特有の平坦な栓を持つ。
旋毛虫（*Trichinella spiralis*）	成虫	雌：体長 2〜4 mm，体幅 60〜70 μm 雄：体長 1.4〜1.6 μm，体幅 40〜50 μm	虫体前部 1/3 にスチコサイトが数珠状に並ぶ。肛門は尾端に開く。雌成虫の陰門は虫体の前 1/4 付近にある。雄成虫に交接刺はなく，総排泄腔開口部の側面に一対の円錐形の乳頭状付属物がある。
	虫卵	—	卵胎生のため虫卵は外界に出ない。
横川吸虫（*Metagonimus yokogawai*）	成虫	体長 1〜1.5 mm，体幅 0.5〜0.8 mm	ほぼ楕円形の小形の吸虫。前端部に口吸盤，体前部に生殖腹吸盤を備える。体後部に 2 個の球形の精巣が前後斜めに並んでいる。
	虫卵	28〜32×15〜18 μm	楕円形で，淡黄褐色。小蓋があるが肝吸虫卵ほど卵殻から張り出していない。卵殻はやや厚く，内容はミラシジウムである。
日本住血吸虫（*Schistosoma japonicum*）	成虫	雄：体長 12〜20 mm，体幅 0.5 mm 雌：体長 25 mm，最大幅約 0.3 mm	雌雄異体。雄成虫の体前部は円筒状で，体後部は平たく鞘状。抱雌管をもつ。腹吸盤は突出している。精巣は腹吸盤の後方にあり，7 個の濾胞が縦に並んでいる。雌成虫は，円筒形で細長く，虫体の中央よりやや後方に卵巣が 1 つあり，その後方に卵黄腺が充満している。
	虫卵	長径 70〜100 μm，短径 50〜70 μm	楕円形で淡黄色，小蓋がなく卵殻の側面に小突起がある。
日本海裂頭条虫（*Diphyllobothrium nihonkaiense*）	成虫	体長 5〜10 m	最大幅は 10〜15 mm，体節数は 3000〜4000。頭節は棍棒状で縦約 2 mm，横約 1 mm，縦に 1 対の吸溝がある。体節の腹面の正中線上に生殖孔および子宮孔が開く。生殖孔付近に多数の感覚乳頭がある。雌雄同体で，精巣は内側の髄質の両側に濾胞状を呈して並んでいる。卵巣は 2 葉ある。
	虫卵	長径 60〜70 μm，短径 40〜50 μm	淡褐色を示す。前端に小蓋，尾端に小突起がある。虫卵内容は，1 個の卵細胞と多数の卵黄細胞からなる。
無鉤条虫（*Taenia saginata*）	成虫	3〜6 m	虫体の体節数は 1000 個に達する。頭節は直径 1〜1.5 mm のやや角張った形を呈し，4 個の吸盤を有する。成熟体節では，生殖孔が側面辺縁部に開き，大体各体節で左右交互に開いている。子宮は盲管で子宮孔はない。子宮内に虫卵が充満してくると各側樹枝状に 20 以上分枝する。精巣は濾胞状である。
	虫卵	長径 30〜40 μm，短径 20〜30 μm	小蓋がなく，卵殻に相当する被膜とその内部のゼリー状物質はとれやすく，糞便中の虫卵にはない。円形で厚い幼虫被殻がある。中に 6 個の鉤を有する六鉤幼虫が存在する。
小形条虫（*Vampirolepis nana*）	成虫	体長 10〜25 mm，幅 1 mm 以下	小さな条虫。頭節は球形で約 0.3 mm，4 個の吸盤と 20〜30 本の小鉤を有する額嘴を持っている。成熟体節は平たく，中に 2 個の卵巣，3 個の精巣，1 個の子宮などを認める。子宮孔は認めない。
	虫卵	長径 45〜55 μm，短径 40〜45 μm	色は淡黄色。楕円形をしており，内部にレモン形の幼虫被殻がある。幼虫被殻から数本のフィラメントが出ている。幼虫被殻の中には六鉤幼虫が存在する。

<文献 1，8）より引用>


(1) ヒト回虫の雌成虫

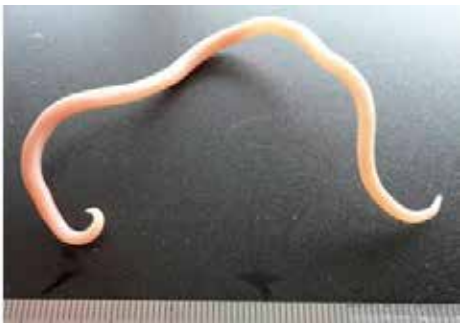
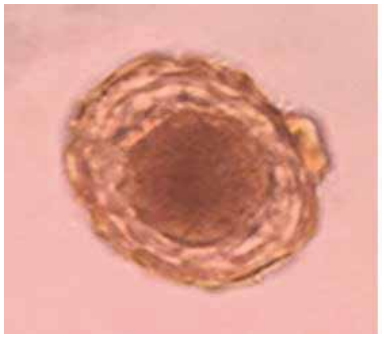

(2) ヒト回虫の雄成虫

図 1-4-18　ヒト回虫の成虫


(1) ヒト回虫の受精卵

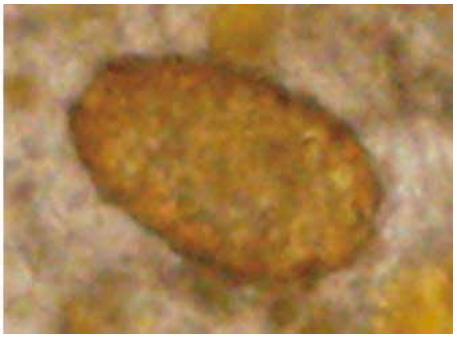

(2) ヒト回虫の不受精卵

図 1-4-19　ヒト回虫の虫卵

(2) 虫卵

ズビニ鉤虫とアメリカ鉤虫はほぼ同じ形態。4分裂期（**図 1-4-20(1)**）だけでなく，検体保存が長期化すると卵内容が 16 分裂期や桑実期，蝌蚪期（**図 1-4-20(2)**）などに発育したものを検出することがある。特徴は**表 1-4-3** に示す。

b) 感染

ズビニ鉤虫では，被鞘幼虫の経口感染が主であるが，経皮感染およびニワトリやウシなどの待機宿主を生食して感染する場合もある。

アメリカ鉤虫では，被鞘幼虫の経皮感染が主であるが，経口感染する場合もある。

症状は，皮膚侵入部の点状皮膚炎や若菜病（ズビニ鉤虫感染）などと，吸血により，腹痛，血液の混じった下痢，貧血，貧血に関連する症状が現れる[1)]。

c) 検査

虫体が検出されれば，**表 1-4-3** の特徴などから鑑別する。糞便検査では，虫卵の比重が小さいため飽和食塩水浮遊法が適している。鉤虫類卵や東洋毛様線虫卵との鑑別は困難なため，濾紙培養法で得られた感染幼虫の形態により鑑別する。ズビニ鉤虫の感染幼虫は，被鞘の紋理が不明瞭で咽頭部槍状構造も不明瞭。一方，アメリカ鉤虫の感染幼虫は，被鞘の紋理が明瞭で咽頭部槍状構造も明瞭などの特徴がある[1)]（**図 1-4-21(1), (2), (3)**）。

d) 治療

治療法は**表 1-4-4** に示す。

【蟯虫（*Enterobius vermicularis*）】

a) 形態

(1) 成虫

雌成虫（**図 1-4-22**）がオムツや糞便上に見られることがある。特徴は**表 1-4-3** に示す。

(2) 虫卵

虫卵（**図 1-4-23**）の特徴は**表 1-4-3** に示す。

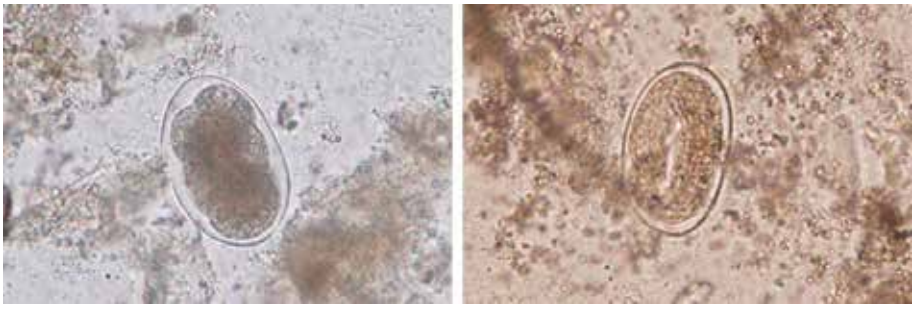
b) 感染

幼虫形成卵の経口摂取で感染する。症状は掻痒感およびそれに伴う神経症状である。多数の寄生により下痢・腹痛を起こす[1)]。

表 1-4-4　蠕虫症の治療法

種名	治療法
回虫 (*Ascaris lumbricoides*)	第一選択：ピランテルパモ酸塩経口 1 回 10 mg/kg・単回投与。第二選択：メベンダゾール経口 1 回 100 mg・1 日 2 回・3 日間（体重 20 kg 以下の小児では 1 回 50 mg・1 日 2 回・3 日間）（保険適用外）[7]
鉤虫	第一選択：ピランテルパモ酸塩経口 1 回 10 mg/kg・単回投与。第二選択：アルベンダゾール経口 400 mg・単回投与（保険適用外）またはメベンダゾール経口 1 回 100 mg・1 日 2 回・3 日間（体重 20 kg 以下の小児では 1 回 50 mg・1 日 2 回・3 日間）（保険適用外）[7]
蟯虫 (*Enterobius vermicularis*)	抗寄生虫薬は成虫には有効であるが幼虫には無効であることから，初回治療時点での幼虫が成虫となる 2 週間後に再度同じ処方をくり返すことで治療効果が高まる[20]。第一選択：ピランテルパモ酸塩経口 1 回 10 mg/kg・単回投与。第二選択：メベンダゾール経口 1 回 100 mg・1 日 2 回・3 日間（体重 20 kg 以下の小児では 1 回 50 mg・1 日 2 回・3 日間）（保険適用外）[7,20]
東洋毛様線虫 (*Trichostrongylus orientalis*)	第一選択：ピランテルパモ酸塩経口 1 回 10 mg/kg・単回投与。第二選択：メベンダゾール経口 1 回 100 mg・1 日 2 回・3 日間（体重 20 kg 以下の小児では 1 回 50 mg・1 日 2 回・3 日間）（保険適用外）[7]
糞線虫 (*Strongyloides stercoralis*)	軽症例では，イベルメクチン経口 1 回 200 μg/kg・朝食 1 時間前に単回投与（2 週間後に再度同量投与）。免疫不全状態や播種性糞線虫症例では，イベルメクチン経口 1 回 200 μg/kg・朝食 1 時間前に単回投与（1 週間隔で虫体が陰性化するまで同量投与）。肺病変を呈する場合には糞便や喀痰から糞線虫が消失するまでイベルメクチン経口 1 回 200 μg/kg・1 日 1 回・7〜14 日間[7,20]。
鞭虫 (*Trichuris trichiura*)	メベンダゾール経口 1 回 100 mg・1 日 2 回・3 日間（体重 20 kg 以下の小児では 1 回 50 mg・1 日 2 回・3 日間）[7,20]。
フィリピン毛細虫 (*Capillaria philippinensis*)	第一選択：アルベンダゾール経口 400mg 1 日 1 回・10 日（最長 30 日間）。第二選択：メベンダゾール経口 1 回 200 mg 経口 1 日 2 回・20 日[14]。
旋毛虫 (*Trichinella spiralis*)	従来本症の治療にはメベンダゾールが用いられてきたが，メベンダゾールは血中移行性が低く，筋肉内の幼虫には効果が弱いとされ，そのため近年はアルベンダゾールが使用されることが多い。また重症例では治療中に死滅した虫体によるアレルギー反応を抑制するためステロイド剤の併用を考慮する[20]。第一選択：アルベンダゾール経口 1 回 200 mg・1 日 2 回・5〜7 日間（保険適用外）。第二選択：メベンダゾール経口 1 回 5 mg/kg/日・分 3・5〜7 日間（保険適用外）[1,20]。
横川吸虫 (*Metagonimus yokogawai*)	プラジカンテル経口・40〜50 mg/kg・単回投与，塩類下剤を併用する[7,20]
日本住血吸虫 (*Schistosoma japonicum*)	プラジカンテル経口・1 回 20 mg/kg・1 日 2 回・2 日間，小児も同用量[14,20]。効果は成虫に対してだけみられるので，感染時期が推定できる場合には成虫に発育する 4〜5 週以降に治療する[20]。
日本海裂頭条虫 (*Diphyllobothrium nihonkaiense*)	治療薬投与前日：低残渣食や大腸検査食あるいはそれに準じる食事とし，夜に下剤を投与。治療薬投与当日：朝食は中止し午前中にプラジカンテル（10 mg/kg，保険適用外）を 1 回服用し，その 2 時間後にクエン酸マグネシウム 34 g を 300 mL の水に溶かして内服[7,20]。
無鉤条虫（*Taenia saginata*）	日本海裂頭条虫症の治療に準ずる。
小形条虫（*Hymenolepsis nana*）	プラジカンテル経口・25 mg/kg・単回投与[14]。

<文献 1，7，14，20）より引用>



（1）卵内容が 4 分裂期　　（2）卵内容が蝌蚪期

図 1-4-20　鉤虫卵



（1）濾紙培養後のフィラリア型幼虫　（2）幼虫頭部の拡大　（3）幼虫尾部の拡大

図 1-4-21　アメリカ鉤虫のフィラリア型幼虫

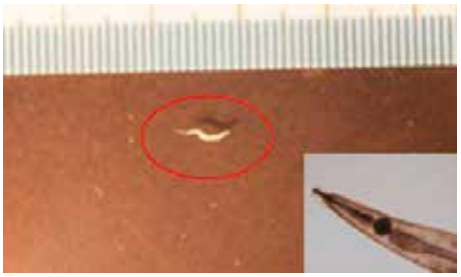


図 1-4-22　蟯虫
蟯虫の雌成虫。右下は頭部の写真。

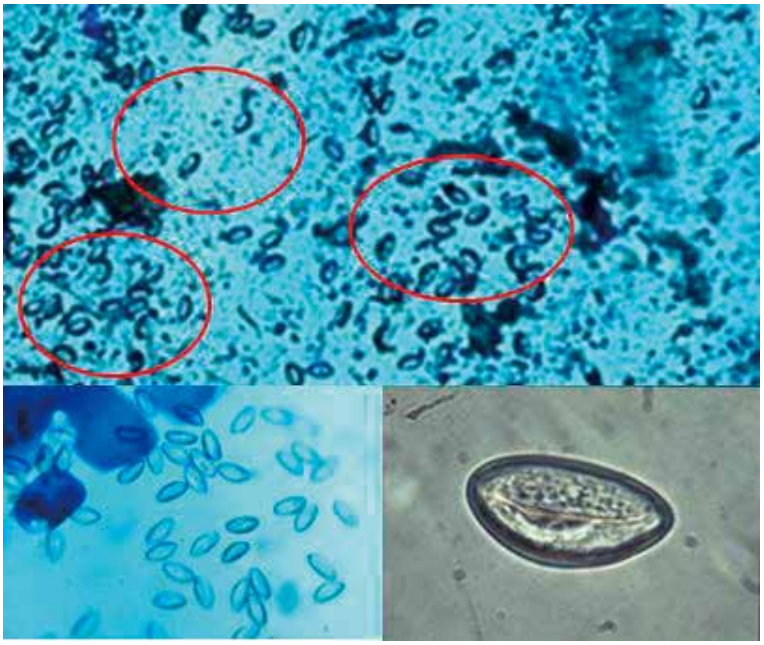


図 1-4-23　蟯虫卵
セロファンテープ法で検出された蟯虫卵。下は拡大写真。

c）検査

虫体が糞便上で見つかる場合がある。虫体は鏡検で容易に鑑別可能である。雌が肛門周囲に産卵するため，虫卵は肛囲検査（セロハンテープ法）により検出する。セロファンテープ上の虫卵は幼虫形成卵であり感染型なので取り扱いには十分注意する。まれに糞便中に桑実期卵を見出すことがある。3 日間連続して検査したほうがよい。

d）治療

治療法は**表 1-4-4** に示す。効果のない場合は 2 回目投与を考える。

【東洋毛様線虫（*Trichostrongylus orientalis*）】

a）形態

（1）成虫

虫体を検出する際は，毛髪のように細く小さい虫体であることに注意する。特徴は**表 1-4-3** に示す。

（2）虫卵

虫卵（**図 1-4-24**）の特徴は**表 1-4-3** に示す。

b）感染

感染型幼虫が経口摂取され感染する。寄生が多い場合，腹痛，慢性下痢，食欲不振などの症状を呈する[1)]。

c）検査

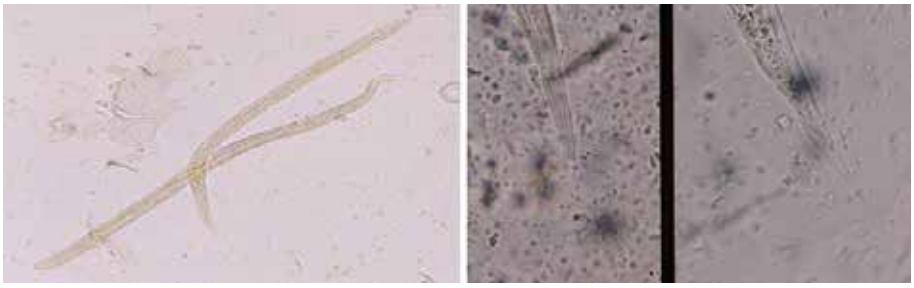
虫体が検出されれば，**表 1-4-3** の特徴から鑑別する。糞便検査では，虫卵の比重が小さいため飽和食塩水浮遊法が適している。鉤虫類卵との鑑別は困難なため濾紙培養法で得られた感染幼虫の形態により鑑別する。感染幼虫の形態は特徴的で，明瞭な腸管細胞が各側 8 個整然と並び腸管腔も明瞭である[8)]（**図 1-4-25**）。



図 1-4-24　東洋毛様線虫卵
飽和食塩水浮遊法で検出した東洋毛様線虫卵。



図 1-4-25　東洋毛様線虫のフィラリア型幼虫
濾紙培養法で得られた。腸管の細胞が明瞭で整然と並んでいる。



（1）濾紙培養から得られた糞線虫のフィラリア型幼虫　（2）糞線虫のフィラリア型幼虫の尾端で，逆Ｖ字の切れ込みを認める。　（3）糞線虫のラブジチス型幼虫の尾端であり，鋭く尖っている。

図 1-4-26　糞線虫のフィラリア型幼虫

d）治療

治療法は**表 1-4-4** に示す。

【糞線虫（*Strongyloides stercoralis*）】

a）形態

（1）虫体

寄生世代および自由世代の成虫，ラブジチス型およびフィラリア型の幼虫が検出される。特徴は**表 1-4-3** に示す。

（2）虫卵

小腸粘膜内で産下され粘膜内で孵化するため，外界には現れない。

b）感染

フィラリア型感染幼虫の経皮感染により感染する。自家感染がある。特に免疫不全患者では，重症化する。主症状は下痢。ATL やその他の免疫疾患との合併により過剰感染が起きる。播種性糞線虫症を起こすことがある[1)]。

c）検査

フィラリア型幼虫の幼虫は，体長約 0.6 mm，長い食道と尾端に逆Ｖ字形の切れ込みがある。その形態は特徴的であり，直接塗抹法，濾紙培養法，寒天平板培地法のいずれかの方法で証明する（**図 1-4-26(1)，(2)，(3)**）。検査材料は基本的に糞便であるが，場合によっては尿や喀痰，皮膚などが材料となることもある。幼虫鑑別時は，ラブジチス型幼虫との鑑別に注意する。他に免疫学的診断法もある[8)]。

d）治療

治療法は**表 1-4-4** に示す。重症度により投与回数が異なることに注意する。

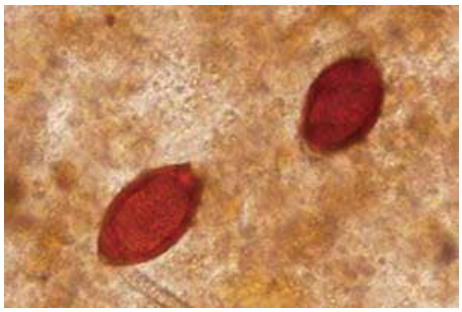


図 1-4-27　鞭虫卵
直接塗抹標本中の鞭虫卵である。

【鞭虫（*Trichuris trichiura*）】

a）形態

（1）成虫

特徴は**表 1-4-3** に示す。

（2）虫卵

虫卵（**図 1-4-27**）の特徴は**表 1-4-3** に示す。

b）感染

幼虫形成卵の経口摂取で感染する。少数寄生ではほとんど無症状であるが，多数寄生すると異食症，腹痛，下痢，貧血などを引き起こす[1)]。

c）検査

虫体（成虫）が得られた場合は，その形状より鑑別する。産卵数が少ないため MGL 法などの遠心集卵法を使って，糞便より虫卵を集めてから鏡検する[8)]。

d）治療

治療法は**表 1-4-4** に示す。

【フィリピン毛細虫（*Capillaria philippinensis*）】

a）形態

（1）成虫

特徴は**表 1-4-3** に示す。

（2）虫卵

虫卵（**図 1-4-28**）の特徴は**表 1-4-3** に示す。

b）感染

感染幼虫を持つ淡水魚を生食して感染する。自家感染が可能な線虫である。著明な下痢が主症状である[8)]。

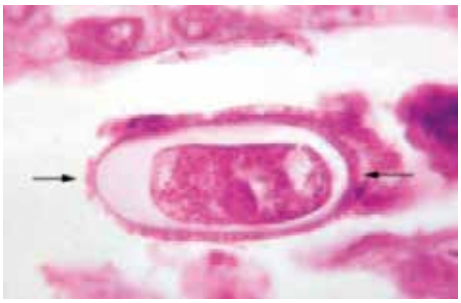


図 1-4-28　*Capillaria* sp. の虫卵
両端の蓋の部分（→のところ）が平坦で特徴的である。
<文献 3）より引用>



図 1-4-29　旋毛虫の幼虫
被嚢幼虫が存在する筋肉の病理切片。被膜に包まれコイル状に巻いて寄生する。

c）検査

特徴的な栓を両端にもつ虫卵を，糞便の直接塗抹法や集卵法で得られた標本より鏡検にて検出する[8)]。

d）治療

治療法は**表 1-4-4** に示す。

【旋毛虫（*Trichinella spiralis*）】

a）形態

（1）成虫

特徴は**表 1-4-3** に示す。

（2）虫卵

卵胎生のため虫卵は外界に出ない。

b）感染

筋肉中の被嚢幼虫の経口摂取により感染する。症状では，侵入期に悪心，腹痛，嘔吐，下痢が起きる[1)]。

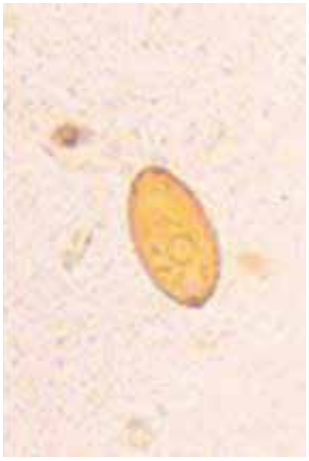
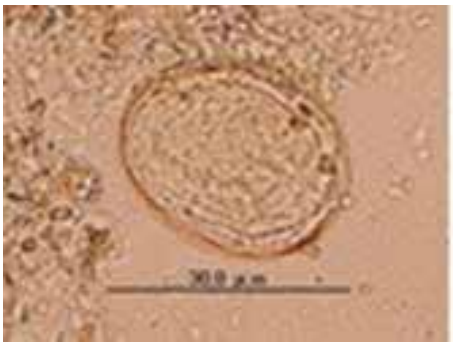
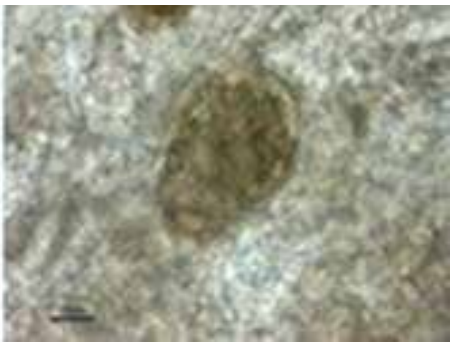


図 1-4-30　横川吸虫
集卵法で検出された横川吸虫卵。



（1）糞便中の日本住血吸虫卵



（2）腸組織中の日本住血吸虫卵

図 1-4-31　日本住血吸虫卵

c）検査

筋肉の生検，免疫学的診断法がある。筋肉内の被嚢は，長楕円形で 0.4×0.25 mm，長軸は筋繊維と並行し，コイル状に巻いた体長 1 mm ほどの幼虫を含んでいる（**図 1-4-29**）。筋肉から被嚢幼虫を得るのは困難であることから，免疫学的診断法が有効である[1)]。

d）治療

治療法は**表 1-4-4** に示す。

【横川吸虫（*Metagonimus yokogawai*）】

a）形態

（1）成虫

ゴマ状の小さい虫体。特徴は**表 1-4-3** に示す。

（2）虫卵

虫卵（**図 1-4-30**）の特徴は**表 1-4-3** に示す。

b）感染

鱗片などに被嚢したメタセルカリアを生食して感染する。少数寄生では無症状であるが，多数寄生するとカタル性炎症を起こし，腹痛，下痢を呈する[1)]。

c）検査

便中などから虫体が得られれば，虫体鑑別を行う。通常は糞便より虫卵の検出を行う。直接塗抹法でも検出は可能であるが，虫卵の比重が高いので MGL 法などの遠心沈殿法を行うことにより検出感度が上昇する[1)]。

d）治療

治療法は**表 1-4-4** に示す。

【日本住血吸虫（*Schistosoma japonicum*）】

a）形態

（1）成虫

雌雄異体である。特徴は**表 1-4-3** に示す。

（2）虫卵

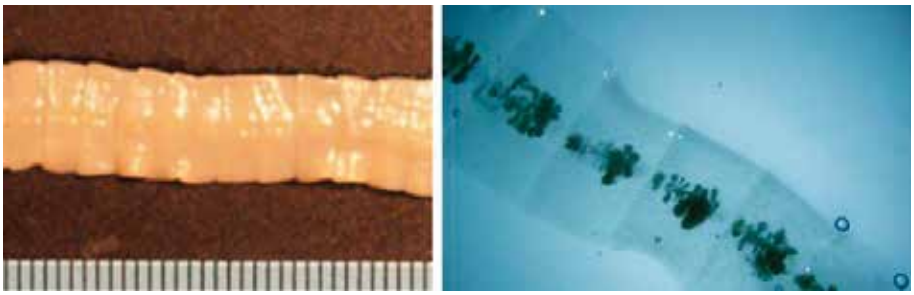
虫卵（**図 1-4-31(1)**）の特徴を**表 1-4-3** に示す。大腸組織より検出（**図 1-4-31(2)**）する場合もある。

b）感染

セルカリアが水中で皮膚から侵入して感染する。急性期の症状として，腹痛，下痢，粘血便が生じる。慢性期では，住血吸虫性肝硬変や，腹水貯留などの症状が出現，消化器症状も顕著になる[1)]。

c）検査

虫卵の検出が重要である。MGL 法，AMSⅢ法などの集卵法による虫卵検出が有効である。慢性期では検便による虫卵検出が困難なので肝生検や直腸生検による組織内虫卵を検出（**図 1-4-31(2)**）する。他の検査法として免疫学的検査法による血清抗体の証明や，虫卵周囲沈降テスト（COP test）などがある[1)]。



（1）ホルマリン固定された日本海裂頭条虫の片節
（2）グリセリン・アルコールで透徹された日本海裂頭条虫の片節

図 1-4-32　日本海裂頭条虫の片節

d）治療

治療法は**表 1-4-4** に示す。

【日本海裂頭条虫（*Diphyllobothrium nihonkaiense*）】

a）形態

（1）虫体

サナダムシと称される虫体（**図 1-4-32(1), (2)**）である。特徴は**表 1-4-3** に示す。

（2）虫卵

虫卵（**図 1-4-33**）の特徴は**表 1-4-3** に示す。

b）感染

魚肉中のプレロセルコイドの経口摂取で感染する。症状は，下痢，腹痛，腹部膨満感，悪心，体重減少などがある[1)]。

c）検査

患者より得られた体節の同定あるいは便中より虫卵を検出・同定する。虫卵は産卵数が多いので直接塗抹法で検出する。体節の鑑別において，グリセリン・アルコールによる透徹を行うと片節内部が観察しやすくなり，虫体の腐敗も防げる（**図 1-4-32(2)**）。他の海洋性裂頭条虫との鑑別では，遺伝子学的な解析が利用されている[17)]。

d）治療

治療法は**表 1-4-4** に示す。

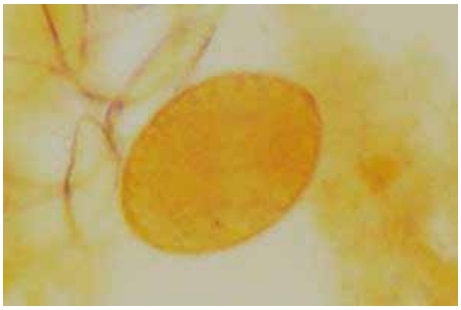


図 1-4-33　日本海裂頭条虫卵
直接塗抹標本中の日本海裂頭条虫卵。

【無鉤条虫（*Taenia saginata*）】

a）形態

（1）虫体

虫体（**図 1-4-34(1), (2), (3)**）の特徴は**表 1-4-3** に示す。

（2）虫卵

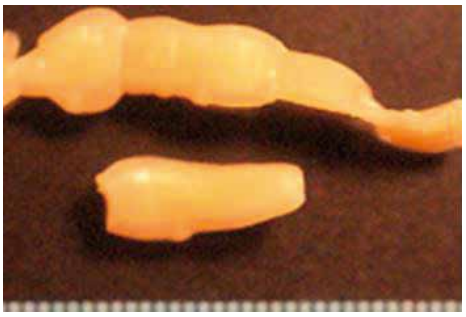
虫卵（**図 1-4-35**）の特徴は**表 1-4-3** に示す。

b）感染

中間宿主中の無鉤嚢虫を食して感染する。症状は軽いが，ときに腹痛，下痢，腹部不快感，全身倦怠感などを訴えることがある[1)]。

c）検査

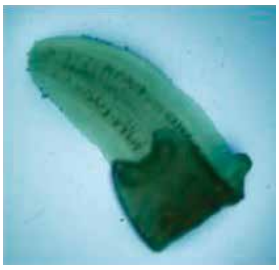
体節の自然排泄があった場合は，その体節の虫体鑑別を行う。体節は肉厚で運動性がある。有鉤条虫の体節は薄く自動運動性に乏しい。有鉤条虫との鑑別では，墨汁法あるいはグリセリン・アルコールを用いた透徹法で子宮の分枝状態を観察する（**図 1-4-34(2), (3)**）。虫卵だけで有鉤条虫との区別はできない。セロファンテープによる肛囲検査あるいは便の集卵法で検出される場合もあ



（1）ホルマリン固定された無鉤条虫の片節



（2）墨汁注入法による無鉤条虫の片節内の子宮の分枝



（3）グリセリン・アルコールで透徹された日本海裂頭条虫の片節

図 1-4-34　無鉤条虫の片節



図 1-4-35　無鉤条虫卵
糞便中の無鉤条虫卵。ゼリー状の卵殻が取れている虫卵もある。

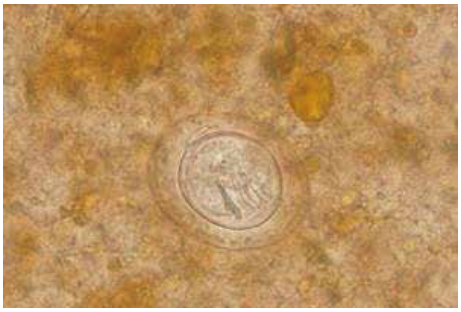


図 1-4-36　小形条虫卵
直接塗抹標本中の小形条虫卵。

る[8]。近年，形態的には無鉤条虫に酷似するが，ブタを中間宿主とするアジア条虫（*Taenia asiatica*）の感染例が，輸入感染例も含めて報告されている。患者はブタレバーの生食者が多く，遺伝子学的な解析が行われている[18,19]。

d）治療

治療法は**表 1-4-4** に示す。

【小形条虫（*Vampirolepis nana*）】

a）形態

（1）成虫

虫体の特徴は**表 1-4-3** に示す。

（2）虫卵

虫卵（**図 1-4-36**）の特徴は**表 1-4-3** に示す。

b）感染

糞便中の虫卵の経口摂取で感染するが，昆虫を介する感染もある。少数寄生の場合は症状が軽いが，自家感染により虫体数が増せば，腹痛，下痢，悪心，出血などの症状が出る[1]。

c）検査

糞便中の虫卵を，直接塗抹法や遠心沈殿法で検出する。

d）治療

治療法は**表 1-4-4** に示す。

【その他の腸管寄生蠕虫】

その他下痢や腹痛などの消化器症状を起こしうる腸管寄生の蠕虫として，棘口吸虫（*Echinostoma* spp.），マンソン住血吸虫（*Schistosoma mansoni*），クジラ複殖門条虫（*Diplogonoporus balaenopterae*），縮小条虫（*Hymenolepis diminuta*），有線条虫（*Mesocestoides lineatus*），アニサキス幼虫（*Anisakis* spp.）などが考えられる。

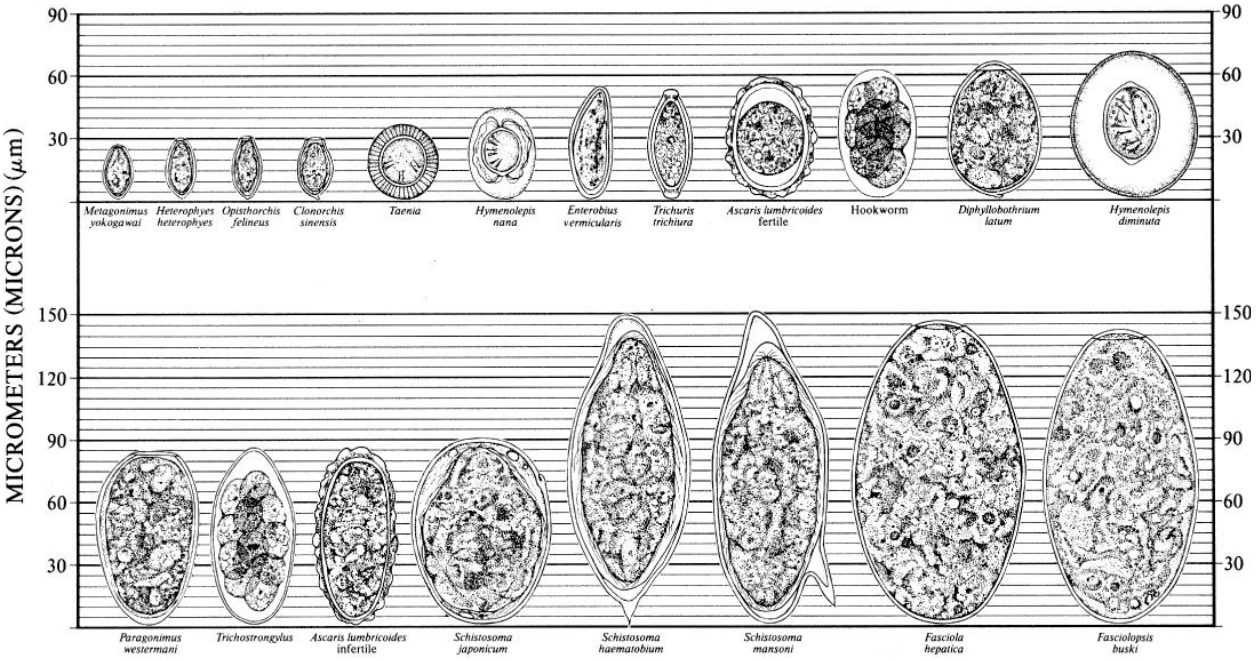


図 1-4-37　各種虫卵の大きさと形態
<文献 3）より引用>

3）日常よく使われる基本的な検査法

【塗抹法】

a）薄層塗抹法

腸管寄生虫検査では必須の検査である。スライドグラスに糞便や下痢便を少量載せて，大きな残渣を爪楊枝などで取り除いた後，カバーグラスをのせて鏡検する。固形便の場合は，少量の水で便をやわらかくしてからカバーグラスをのせる。標本の厚さはスライドグラスの下に置いた新聞の文字が読める程度にする[8]。動きのある原虫や，虫卵，幼虫などが観察できる。原虫に対してはヨード染色を行うと鑑別しやすくなる。鏡検では，大きさと形および色に注意してカバーグラス 3 枚分を全視野観察する（**図 1-4-37**）。

b）セロファン厚層塗抹法

60 mg ほどの糞便をスライドグラスの中央に載せる。グリセリン浸漬セロファンを糞便にかぶせ，ゴム栓などで便を薄く均等に広める。30 分間放置し便の色がやや薄くなった頃に鏡検する[8]。検査する便の量が多くなるので検出率は上がるが，グリセリンを用いた方法であり原虫の検査には不向きである。

c）簡易迅速蔗糖浮遊法

スライドグラスに下痢便少量と，その横に約 2 倍量の蔗糖液をのせる。カバーグラスの角で両者をよく混和し，そのカバーグラスを液面にのせる。3〜5 分間静置して×400 倍で鏡検する[8]。鏡検時は，顕微鏡のコンデンサーを下げて光量を上げ，ピントはカバーグラスの下面に合わせる。クリプトスポリジウムの迅速検出法で，オーシストは薄くピンク色を帯びて見えてくる（**図1-4-11**）。

【集卵法】

a）ホルマリン・酢酸エチル法（ホルマリン・エーテル法）

方法は**図 1-4-38** に示す。ほとんどの蠕虫卵，原虫のシストやオーシストの検出が可能。一般的に広く実施されているが，最も感度が高く万能な検査というわけではない。

b）AMSIII法

方法は**図 1-4-39** に示す。酸性条件下の界面活

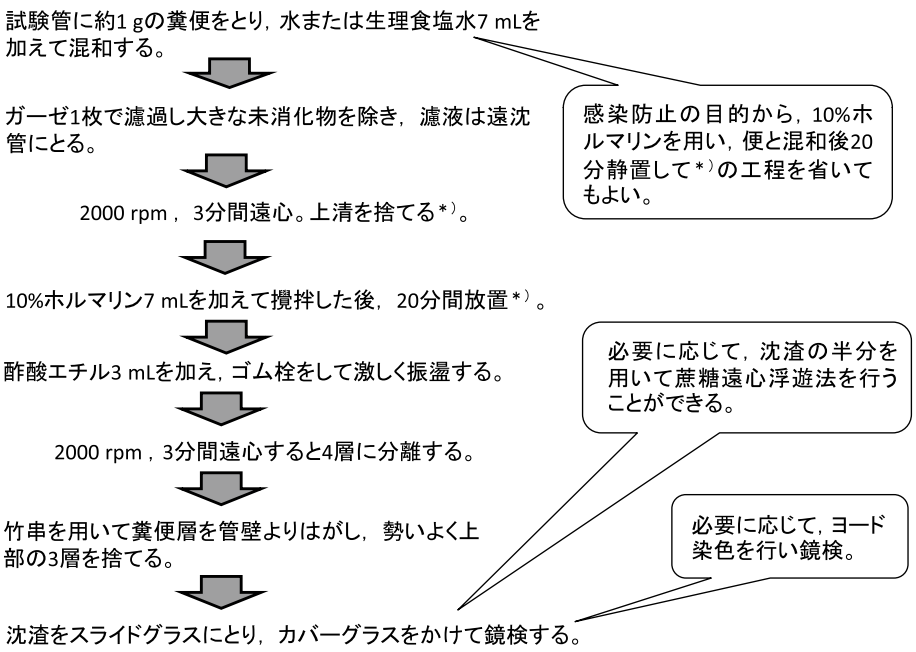


図 1-4-38　ホルマリン・酢酸エチル法（ホルマリン・エーテル法）
<文献 8）より改変>

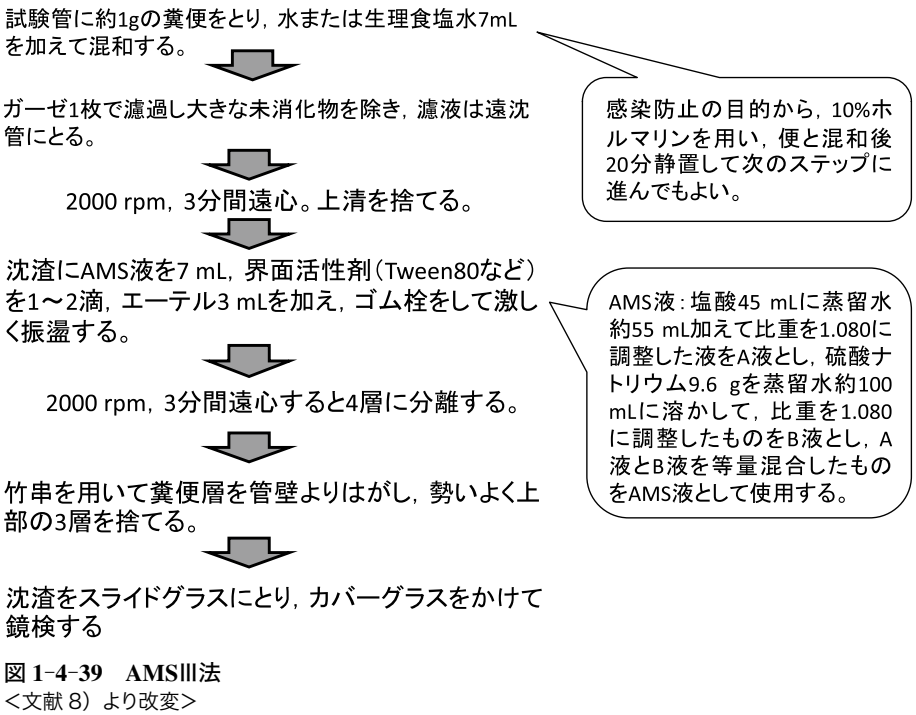


図 1-4-39　AMSIII法
<文献 8）より改変>

性剤により虫卵から糞便成分が離れやすくなることを利用した検査法である。特に，住血吸虫卵の検出に向いている。原虫検査には不向きである。

c）飽和食塩水浮遊法

方法は**図 1-4-40** に示す。鉤虫卵や東洋毛様線虫卵など比重の小さい虫卵が検出されやすい検査法である。

d）蔗糖遠心浮遊法

図 1-4-41 に示す。主にクリプトスポリジウムの検出法で，オーシストは薄いピンク色を帯びて

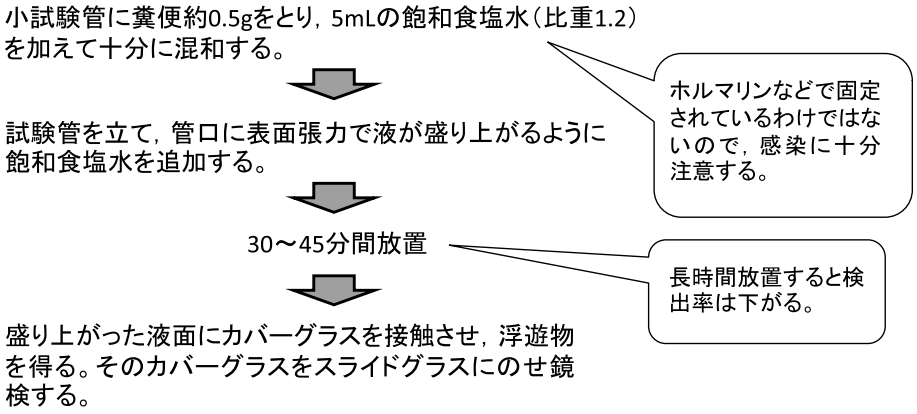


図 1-4-40　飽和食塩水浮遊法
<文献 8）より改変>

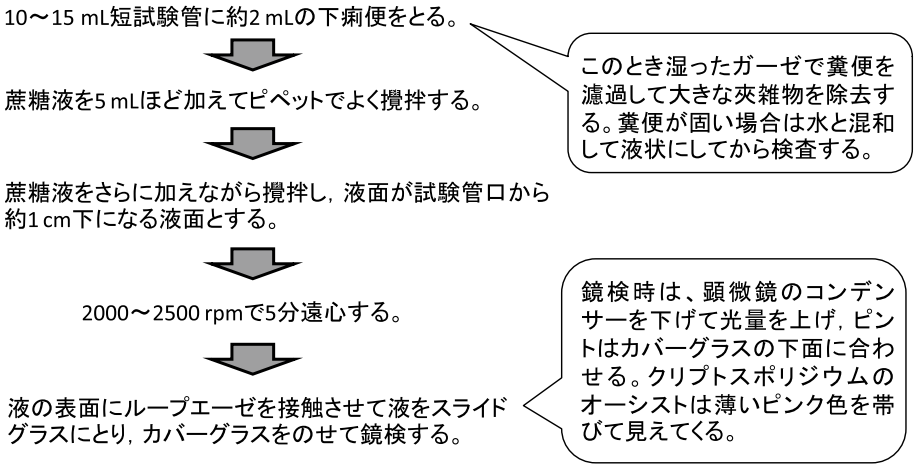


図 1-4-41　蔗糖遠心浮遊法
<文献 8）より改変>

見えてくる。

【肛囲検査法（セロファンテープ法）】

早朝排便前に蟯虫検査用セロファンテープの粘着面を肛門周囲の皮膚に押し付けて虫卵を付着させる。それを 2 枚のスライドグラスにはさんで×40 にて全視野鏡検する（**図 1-4-23**）。蟯虫は毎日産卵しないことが多いので，日を変えて 3 日間行う必要がある。無鉤条虫卵が見つかる場合もある[8)]。

【培養法】

a）濾紙培養法

短冊形の濾紙に縦の折り目をつけ，その中央部に約 0.5 g の糞便を塗抹する。水道水を 5 mL ほど入れた中試験管にその濾紙を挿入する（このとき塗抹した便が水に浸らないようにする）。パラフィルムなどで試験管の口を密閉し，25℃で 1～2 週間培養する。試験管から濾紙を抜き取り管底の水をピペットで採取し，スライドグラスにのせてカバーグラスをかけて鏡検する。フィラリア型の幼虫を形態で同定する（**図 1-4-21(1), (2), (3)**，**図 1-4-25**，**図 1-4-26(1), (2), (3)**）。フィラリア型の幼虫は経皮感染するので十分注意する。幼虫の動きが激しい場合は，ごく弱い火炎固定[8)]あるいは 10％ホルマリン水を利用して幼虫の動きを止めて観察してもよい。

b）普通寒天平板培地法

糞線虫の検出に用いる。普通寒天培地の中央に拇指頭大の糞便を置き，28℃で 2 日間培養する。幼虫（ラブジチス型）がいれば寒天表面に虫の這いまわったあとが見られる。感度は高いが，桿線虫も含めて幼虫の鑑別が容易ではない[8)]。

【幼虫や片節などの透徹法】

ラクトフェノールあるいはグリセリン・アルコール液を用いる方法がある。ラクトフェノールを用いる方法は，スライドグラスに幼虫や虫体をのせ，3 滴のラクトフェノールを加えて大きい目のカバーグラスをかけて 20〜30 分放置して透徹してから鏡検する方法。グリセリン・アルコール液を用いる方法は，グリセリン・アルコール液に虫体を浸し，アルコールが蒸発するまで数日間待って透徹する方法[8)]。日数はかかるが試薬調整も簡便で虫体の保存もよい（**図 1-4-32(2)**，**図 1-4-34(3)**）。

【保存法】

虫体の保存は，遺伝子検査を行う予定があるのであれば，70％アルコールで保存するが形態は変性する。形態を保存するのであれば，10％ホルマリンで保存する。可能であれば，グリセリン・アルコールで透徹させて観察してもよい。

糞便や虫卵の保存は，遺伝子検査を行う可能性を考慮して，半分は 70％アルコールで保存し，残り半分は 10％ホルマリンか SAF 液[8)]で保存する。70％アルコールで保存すると原虫の形態が変化する。原虫検査では，SAF 液での保存が有効で，核やカリオソームが明確になり，アメーバ類の偽足の形態も保持でき（**図 1-4-3**），さらにヨード染色やコーン染色も追加染色できる。

文　献

1）吉田幸雄，有薗直樹．2011．図説人体寄生虫学 改訂 8 版．南山堂，東京．
2）国立感染症研究所．2016．アメーバ赤痢 2007 年第 1 週〜2016 年第 43 週．IASR 37：239-240.
3）Manual of clinical microbiology, 10th edition. 2011. Versalovic J, Jorgensen JH, Carroll KC, et al. American Society for Microbiology, Washington, D. C., USA.
4）吉川尚男，橘裕司，所正治ほか．2012．腸管寄生原虫類の遺伝子検査法．検査と技術 40：478-486.
5）Fotedar R, Stark D, Beebe N, et al. 2007. Laboratory Diagnostic Techniques for *Entamoeba* Species. J Clin Microbiol 20：511-532.
6）所正治，菱矢直邦，新井正伸ほか．2015．形態的に赤痢アメーバを検出し得なかったアメーバ性肝膿瘍の 2 例．Clin Parasitol 26：96-99.
7）JAID/JSC 感染症治療ガイド・ガイドライン作成委員会編．JAID/JSC 感染症治療ガイド 2016．日本感染症学会，日本化学療法学会，ライフサイエンス出版，東京．
8）上村清，井関基弘，木村英作ほか．2010．寄生虫学テキスト 第 3 版．分光堂，東京．
9）Heyworth MF. 2016. *Giardia duodenalis* genetic assemblages and hosts. Parasite：23：1-5.
10）Bouzid M, et al. *Cryptosporidium* pathogenicity and virulence. Clin Microbiol Rev 26：115-134.
11）藤田拓司．2016．珍しいが知っておきたいグラム染色像-*Cryptosporidium* spp. Medical Technology 44：483-485.
12）Ortega YR, Sanchez R. 2010. Update on Cyclospora cayetanensis, a Food-Borne and Waterbone Parasite. Clin Microbiol Rev 23：218-234.
13）Mchardy LH, Wu M, Shimizu-Cohen R, et al. 2014. Detection of Intestinal Protozoa in the Clinical Laboratory. J Clin Microbiol 52：712-720.
14）THE SANFORD GUIDE TO ANTIMICROBIAL THERAPY 2012, 42th edition. Gilbert DN, Moellering RC, Eliopoulos GM, et al. ed. USA.
15）国立感染症研究所．2012．クドアとザルコシスティス．IASR 33：147-148.
16）国立感染症研究所．2012．クドア食中毒総論．IASR 33：149-150.
17）Wicht B, Yanagida T, Scholz T, et al. 2010. Multiplex PCR for differential identification of broad tapeworms（Cestoda：*Diphyllobothrium*）infecting humans. J Clin Microbiol 48：3111-3116.
18）山崎浩，武藤麻紀，森嶋康之ほか．2011．2010 年に関東地方で発生が相次いだアジア条虫症について．Clin Parasitol 22：75-78.
19）保科斎生ほか．2015．台湾での感染が疑われたアジア条虫症の 1 例．Clin Parasitol 26：117-120.
20）日本医療研究開発機構 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業「わが国における熱帯病・寄生虫症の最適な診断治療体制の構築」（略称：熱帯病治療薬研究班）寄生虫症薬物治療の手引き―2019―改訂第 10.0 版.

第２章

病原微生物検出のための検体採取法と保存および輸送法

1 糞便[1〜4)]

【概　要】

細菌性腸管感染症の検査において，糞便は抗菌薬投与前の有症期（特に，症状が顕著な急性期）に採取するのが検出感度の観点から最もよい。検体性状は，いわゆる下痢便や水様便，血便などの液性〜軟性状態であるものが適切であり，すでに症状が消失している時期であると予想される固形便は，急性の腸管感染症などを疑う場合においては不適切な検体である。抗菌薬投与後の場合は，投与中止後 1〜2 日を空けてから採取する。採取後の材料はすみやかに検査することが重要で，採取後，検査までに数時間以上を要する場合は適当な輸送培地入りの容器を用いることが推奨されている。検体は短時間であれば室温保存でよい。また，糞便は冷蔵保存すると pH が変化して *Shigella* 属，一部の *Salmonella* 属では死滅する場合があり，*Campylobacter* 属や *Vibrio* 属も低温に弱く死滅する可能性があることは留意しておきたい。ウイルス検査を目的とする検体は，抗原や遺伝子の保存安定性の観点から，すみやかに検査できる場合を除き，冷蔵または−20℃以下の凍結保存が望ましい。寄生虫検査のための糞便は採取後可能なかぎり速やかに検査する。特に，赤痢アメーバ原虫（栄養体）の検出を目的とする場合の冷蔵保存は厳禁である。ただし，虫卵検査目的などで糞便をホルマリン液に入れた場合はこのかぎりではない。**表 2–1** に糞便検体における検査目的別の採取容器・検体量・保存条件の違いをまとめたので参照していただきたい。

【検体採取】

自然排便からの採取が最も望ましい（スワブによる直接採取やオムツからの採取は自然排便が得られない場合のみ考慮する）。しかし，水洗トイレに直接排便したものから直接採取することは，検体が他の病原菌で汚染される可能性があるため不適当である。水洗トイレを使用の場合は，便座に掛けて用いる採取器具や水面に浮かぶ専用シートなどがあるため，それらの使用が推奨される。水洗トイレ以外で採取する場合は，清潔なポータブル便器やディスポーザブルの容器に排便し，そこから採取する。自宅での採便で排便容器の取得に困難な場合は，大きめのプラスチック製または発泡スチロール製の容器に食品用ラップフィルム

表 2–1　糞便検体における検査目的別の採取容器・検体量・保存条件の違い

目的	採取容器・検体量	保存条件
細菌 （好気性・通性嫌気性の腸管病原性細菌）	清潔で完全に密封できる広口容器。スワブを用いる場合は輸送培地が加えられた容器を使用。スワブのみでは乾燥するため不可。1〜2 g 以上を採取。	糞便を直接容器に入れた場合，室温で 2 時間以内。輸送培地入りスワブの場合は室温で 24 時間以内。
細菌 （偏性嫌気性の腸管病原細菌）	嫌気性菌検査の専用容器（1〜2 g）または清潔で完全に密封できる広口容器（5 g 程度）。	2 時間以内であれば室温。2〜24 時間以内であれば冷蔵。
ウイルス （ノロウイルス，ロタウイルスなど）	清潔で完全に密封できる広口容器に 2〜5 g 程度採取。	2 時間以内であれば室温。2〜48 時間以内であれば冷蔵。それ以上であれば，−20℃以下の凍結保存。
寄生虫 （虫卵やシストなどの検出）	清潔で完全に密封できる広口容器に 5 g 程度採取。	2 時間以内であれば室温。2〜数時間であれば冷蔵保存。長時間に及ぶ場合は，虫卵検査にかぎり，5%ホルマリン液を加えておくことが望ましい。 赤痢アメーバ原虫の栄養型を直接検出する場合は，速やかに検査を実施する（37℃に加温することもある）。

を敷いて排便するなどでもよい。その場合，清潔なものを用いて排便することはもちろんのこと，便が飛散しないように安全面にも配慮する必要がある。また，寝たきりの患者などで差し込み便器を用いる場合は，よく洗浄し，70〜80℃で乾燥させたものを用いる。糞便の中には多数の細菌が含まれているので，必ずしも滅菌済み便器や滅菌済み排便容器を用いる必要はなく，清潔で乾燥している未滅菌のものを用いるのが一般的である。いずれの採取方法においても，排便時に尿が入らないように事前に配慮しておく。採取後，残った糞便や使用済みのディスポーザブル器具は，二次感染を防ぐ目的でも感染性廃棄物として適切に処理することが重要である。

【検体の保存・輸送】

採便容器に関しては，プラスチック製の広口容器が採取した材料を入れやすいため汎用されている。これらは清潔であれば未滅菌のものでもよい。糞便はよく観察し，適した箇所を2〜5 g程度採取する。膿粘血部分があれば，それらを含めた箇所から採取し採便容器に入れる。糞便を容器に移すには清潔なディスポーサブルのプラスチック製スプーンなどを用いる。水様便はスポイトで採取する。また，*Clostridioides difficile* などの偏性嫌気性菌を検査対象とする場合は，嫌気性菌検査の専用容器に採取するのが最もよいが，このような容器のない場合には，なるべく多めの糞便を採取し，容器の死腔を少なくすることにより，菌の死滅を最小限にとどめることができる。この場合，検査実施の際はできるだけ容器の深部の材料を用いるとよい。

採取後の検体はすみやかに検査室へ届ける。検出対象が細菌であり，検査開始まで数時間を要す場合は，Cary-Blair 培地などの輸送培地と採取用スワブがセットになった採取容器を用いるとよい（スワブにより検体を採取する場合は添付文書に従い，十分量を採取する）。冷蔵での保存は，上述のような低温に弱い細菌が死滅する可能性があるので，室温での保存が推奨される。検出対象がウイルス（抗原検出や遺伝子検出）の場合，すみやかに検査が実施できないときは，24〜48時間程度であれば冷蔵，それ以上であれば−20℃以下の凍結保存が推奨される。また，糞便中の赤痢アメーバ原虫の栄養体を直接観察する場合，冷蔵保存は厳禁であり，検体採取後すみやかに検査を開始する。

2 直腸粘液[1)]

【概　要】

腸管感染症の検査には排便直後の糞便そのものを採取して検査するのが最もよい方法であるが，やむなく糞便が採取できない場合，直腸粘液を用いることがある。この場合は検出感度が落ちるので可能なかぎり糞便を用いるべきである。淋菌性直腸炎が疑われる場合は直腸粘液の採取が行われる。また，新生児などで肛門部のB群溶血レンサ球菌の保菌者検査にも直腸粘液が用いられる。

【検体採取と検体の保存・輸送】

患者に口を自然に開き，全身の力を抜いてもらい，肛門部の括約筋の奥，約3 cm 程度にスワブを挿入する。肛門部や直腸に炎症がある場合は刺激を和らげるよう注意深く行う。下痢症の原因微生物の検査には糞便成分が見える程度採取する。*Neisseria gonorrhoeae* を検査対象とする場合は，糞便成分を避けて採取し，冷蔵保存を避けて採取後30分以内に検査を開始する。検査開始までに数時間を要する場合はStuart 培地などの輸送培地に入れて検体を保存・輸送することが望ましい。

3 十二指腸液，胆汁[5,6)]

【概　要】

狭義の十二指腸液は無色でアルカリ性の液であるが，一般には十二指腸液・胆汁・膵液の混合物を総称して十二指腸液と呼ぶ。十二指腸液からはランブル鞭毛虫や肝吸虫卵などが検出されることがある。十二指腸液は十二指腸ゾンデを用いたMeltzer–Lyon 法により採取されるが，最近では感染症検査に供されることは少ない。一方，胆汁は肝胆道感染症（急性・慢性胆嚢炎，胆管炎，肝膿瘍など）の検査に用いられ，腸管感染症の検査目的で採取されるケースは少ない。しかし，チフス症に罹患した患者は胆嚢内に *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhi や *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi A を保菌している場合があるため，この点は留意しておきたい。

【十二指腸液の採取（Meltzer–Lyon 法）】

経口または経鼻的に挿入されたチューブ（十二指腸ゾンデ）により十二指腸液を吸引して採取する方法である。十二指腸ゾンデは直径 4 mm，長さ 1.5 m 程度の軟質のゴム管で，先端に金属球がついている。ゾンデの先端より 45，60，70，80 cm の部分に印をつけておく。早朝，空腹時に十二指腸ゾンデを少量の水とともに飲んでもらい，40 cm まで進め，ゴム管の先端はクレンメで止めておく。立位の患者では室内を歩行してもらい，臥床している患者では上体を高くして，10 分くらいの間に 55 cm まで嚥下させる。次に右側臥とし，極めてゆっくり 65 cm まで飲んでもらう。ここまで入ったら注射器で吸引し，弱アルカリ性，黄金色の液が得られれば十二指腸液である。金属球が十二指腸に入ったら，患者を静かに仰臥位とし，骨盤部に枕を入れて高くし，ゴム管の先端を試験管に入れ，体位より低い部分に置くとサイフォンの原理で胆汁が排出される。最初の 20 分くらいは胆管胆汁（A 胆汁）が排出される。次いで 25％硫酸マグネシウム 40 mL を体温に温めたものを徐々にゾンデから注入し，1〜2 分，ゴム管の先端をつまんでおき，その後，サイフォン状態にしておく。6 分程度経過すると胆嚢が収縮し，胆嚢胆汁（B 胆汁）が得られ 18 分くらい持続する（16〜68 mL）。その後，希薄黄金色の肝胆汁（C 胆汁）が排出される。

検体は検査目的に応じて，滅菌スピッツ管などに分注し検査室に提出する。

【胆汁の採取】

胆嚢炎では PTGBD（経皮経肝胆嚢ドレナージ）により胆汁を採取することが多い。経皮的なアプローチが困難な例においては内視鏡的経乳頭的胆嚢ドレナージにより採取されることもある。また，手術により胆嚢を摘出した場合は，直接穿刺して採取する。採取した胆汁は，嫌気性菌検査用容器や滅菌スピッツ管などに分注し検査室に提出する。

4 生検材料

検体は微量である場合が多いので，乾燥させないように注意する。*Helicobacter pylori* の検査には胃粘膜組織などが用いられる。嫌気性菌の検査が必要な場合はケンキポータなど，専用の容器を用いる。1 時間以上の時間がかかる場合は冷蔵保存する。

5 腸管内容液

糞便の取扱いに準ずる。検査目的をよく確認する。

6 血液[7)]

チフス性疾患の発病初期には血液中から原因菌がよく検出されることから，本疾患を疑った際の血液培養検査は必須である。また，その他の腸管感染症原因菌においても血流感染症まで波及しているケースも散見されているため，必要に応じて血液培養検査を実施することが望ましい。血液培養はBDバクテックFXシステム（Becton Dickinson）やバクテアラートシリーズ（biomerieux）などの自動検出装置を用いた方法が広く普及している。検査の詳細に関しては，本学会から発行されている血液培養検査ガイドを参照していただきたい。

文　献

1）Miller JM. 2017. A guide to specimen management in clinical microbiology. 3th ed. p.89–94, American Society for Microbioligy, Washington D. C., USA.
2）Leber AL. 2016. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 4th ed. p.23–52. American Society for Microbioligy, Washington D. C., USA.
3）Baron EJ et al. 2013. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases：2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America（IDSA）and the American Society for Microbiology（ASM）. Clin Infect Dis 57：e22–e121.
4）小栗豊子編．2017．臨床微生物検査ハンドブック（第5版）．p.47．三輪書店，東京．
5）金井正光編．2015．M．胆道機能検査．臨床検査法提要（改訂第34版）．p.1463–1464．金原出版，東京．
6）急性胆管炎・胆嚢炎診療ガイドライン改訂出版委員会編．2013．急性胆管炎・胆嚢炎診療ガイドライン2013．p.151–156．医学図書出版，埼玉．
7）検査法マニュアル作成委員会・血液培養検査ガイド作業部会編．2013．血液培養検査ガイド．日本臨床微生物学会，東京．

第３章

効果的な日常検査の組み立て

はじめに

糞便の微生物検査は，検出すべき感染症原因微生物が非常に多岐に渡るため，何を目的にどこまで検査を実施するかの判断が難しい。検査の効率化だけを重視してしまうと，品質に大きな影響を及ぼしかねない。したがって，手間やコストなどを考慮し，日常検査の効率化をはかりつつ同時に高い質を維持することが求められる。本章では，糞便の日常検査に必要な患者情報，検査内容（方法），結果報告およびその解釈について，米国のガイドラインや各種文献を参考に述べる。

1 糞便の微生物検査に必要な患者情報と検査目的

糞便の微生物検査に必要な患者情報と検査目的を**表 3–1** に示した。検査に関係するすべての職種（医師，看護師，臨床検査技師など）がこれらの情報収集に努め，原因微生物をある程度限定し，逆に必要に応じて対象を広げることが，原因微生物の検出につながる。

【患者情報】

患者情報は，氏名や ID 番号などの基本情報以外に，活動歴，症状・徴候，抗菌薬投与歴，易感染性などの情報を入手する。症状・徴候では下痢の発症時期から急性，慢性を区別する。鮮血便であれば腸管出血性大腸菌群，膿粘液性便であれば *Campylobacter* 属菌，白色水様便であればロタウ

表 3–1　糞便の微生物検査に必要な患者情報および検査目的

患者情報	
項目	**内容**
基本情報	氏名，患者 ID，性別，年齢，入院/外来，居住地，診療科，入院日
活動歴	①喫食歴 ②海外渡航歴（渡航先，渡航期間） ③野外活動歴（キャンプ等） ④保育施設，介護施設，擁護施設等への入所歴 ⑤同性愛者
症状・徴候	①下痢の発症時期（期間），急性 or 慢性（≥1 週間） ②糞便の性状（鮮血便，水様便など） ③発熱 ④腹痛，テネスムス（細菌性赤痢） ⑤嘔気，嘔吐 ⑥溶血性尿毒症症候群（HUS）
抗菌薬投与歴	種類，投与期間
易感染性	基礎疾患，外科手術，免疫不全状態（臓器移植後，HIV 感染等）
検査目的	
①腸管感染症原因微生物の検査（市中感染症の検査） ②抗菌薬関連下痢症の検査（院内発症下痢症の検査） ③薬剤耐性菌の保菌検査（ESBL，CRE（CPE），VRE 等） ④寄生虫（原虫）の検査 ⑤監視培養（常在菌検査）	

イルスを推定することが可能であるが[1]，非典型的な糞便性状を示す例も多い点には注意を要する。また，溶血性尿毒症症候群（HUS）は，腸管出血性大腸菌感染症患者の 1〜10％に発症することから[2]，HUS の情報を得ることも重要である。さらに，患者の免疫不全の情報も原因微生物推定に有用であり，*Cryptosporidium* や *Cyclospora*，*Mycobacterium avium-intracellurae* complex（MAC），サイトメガロウイルス（CMV）などを考慮する[3]。

【検査目的】

効率的な日常検査を実施するうえで，検査の目的をあきらかにすることは極めて重要である。①市中感染症原因微生物の検査（旅行者下痢症を含む），②院内発症型または抗菌薬関連下痢症の検査，③感染対策上重要な薬剤耐性菌の保菌検査，④特定患者（免疫不全，下痢が遷延する患者等）の検査，⑤監視培養（常在菌検査）のいずれかが考えられる。

2 糞便の日常検査の進め方

糞便の微生物検査の構成と流れを**図 3-1** に示した[4]。検査目的に応じて実施すべき検査を選択し，組み合わせて実施する。また**表 3-2** には，症状・徴候と市中感染症の主要原因微生物との関係性を示したため，参考にされたい。

【検査目的別の検査内容】

検査対象微生物を検査目的別に分類した一例を**表 3-3** に，目的別に使用すべき培地や試薬等を**表 3-4** に示した。症例ごとに検査目的を明らかにし，種々組み合わせて検査を実施することが重要である。

a）市中感染症原因微生物の検査（セット A，B）（旅行者下痢症を含む）

市中感染症の原因微生物はセット A と B から構成される。エピソードがはっきりしている場合は目的とする原因微生物をかなり絞り込むことができるが，原因が明らかではなく，ある程度，幅広く検査を実施しなければならない場合も少なくない。その場合においても主要原因微生物を検出できるようなセットが A の組み合わせであり，日常的に実施できる体制を整えておく必要がある。

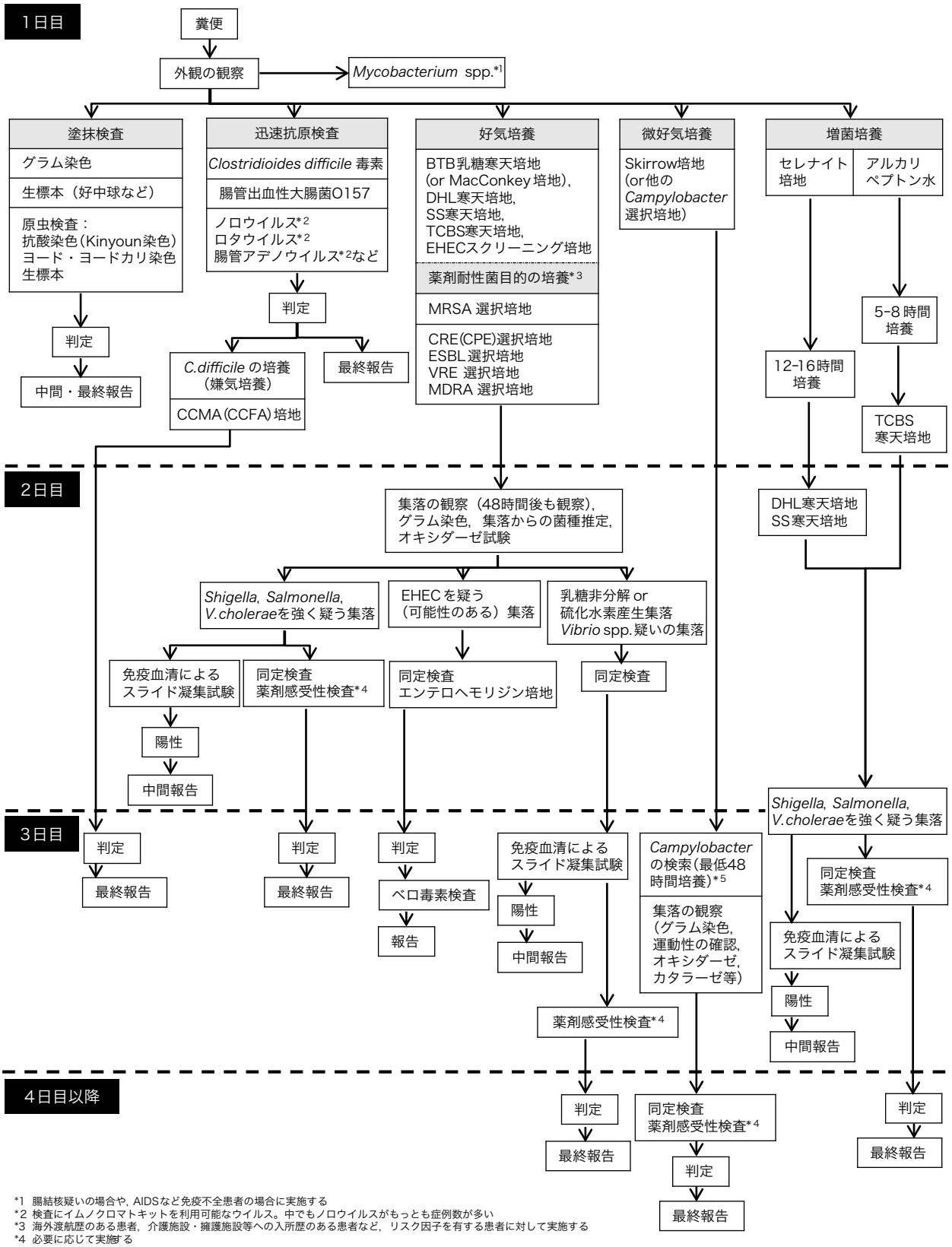
セット B は流行地または時季に応じて実施する。特に，旅行者下痢症の場合は，旅行先や喫食歴等の情報収集がきわめて重要であり（文献 5 も大いに参考にする），必要に応じて原虫の検査を追加で実施する。また，ノロウイルスやロタウイルスなどのウイルス抗原検出用のイムノクロマト検査キットが利用可能であり，ウイルス性胃腸炎疑いの場合はこれらを利用することで，迅速かつ簡便に検査結果を得ることが可能である。

b）院内発症型または抗菌薬関連下痢症の検査（セット C）

抗菌薬関連下痢症の検査は，主として入院患者の院内発症型下痢症の検査であり，セット C が該当する。対象微生物は *C. difficile* と MRSA であるが，*C. difficile* 毒素検査が中心となる。現在，糞便中の *C. difficile* の抗原と菌が産生するトキシン A および B を同時検出可能な検査キットが利用可能であり，それに加え，培養検査もぜひ施設内で実施したいものである。ただし，*C. difficile* 毒素検査の盲目的な実施は保菌者の検出につながるだけで大義はなく，消化管症状を有する患者に対して実施することが何よりも重要である。症状がありかつ抗菌薬やプロトンポンプインヒビター（PPI）等の投与歴のある患者に対して積極的に疑い検査を実施することで，迅速・適切な対応と治療につなげることが可能になる。

c）病院感染対策上重要な薬剤耐性菌の保菌検査（セット D）

病院感染対策上重要な薬剤耐性菌は，MRSA やバンコマイシン耐性腸球菌（VRE），基質拡張型 β-ラクタマーゼ産生菌（ESBLs），MDRP をはじめとする薬剤耐性緑膿菌，カルバペネマーゼ耐性



*1 腸結核疑いの場合や，AIDSなど免疫不全患者の場合に実施する
*2 検査にイムノクロマトキットを利用可能なウイルス。中でもノロウイルスがもっとも症例数が多い
*3 海外渡航歴のある患者，介護施設・擁護施設等への入所歴のある患者など，リスク因子を有する患者に対して実施する
*4 必要に応じて実施する
*5 72時間培養まで観察することが望ましい

図 3–1　効率的な日常検査の組み立て

表 3-2　症状・徴候と市中感染症の主要原因微生物との関係性

症状・徴候	病原メカニズム	病原微生物例
軟便（粘液性便であることが多い，血液は含まない） ときに嘔吐，食欲不振あり 微熱 不快感	感染型	ノロウイルス，腸管アデノウイルス，ロタウイルス，ETEC，EPEC，*Cryptosporidium*，*Clostridium perfringens*，*Bacillus cereus*
肉眼で確認可能な血液を含む軟便，粘液性便 発熱 腹部痙攣，ときにテネスムス 中毒性の場合もあり	侵入型	*Shigella*，EIEC，*C. jejuni*，赤痢アメーバ，*Salmonella*（胃腸炎型），*Y. enterocolitica*，*Aeromonas*，*Plesiomonas*，*C. difficile*
大量の水様性下痢（米のとぎ汁様） 微熱 過脱水症状	毒素型	*V. cholerae* O1 & O139，ETEC
急性下痢症 （少なくとも 14 日間持続）	感染型 and/or 免疫不全	ランブル鞭毛虫，*Cryptosporidium*，*Cyclospora*，ETEC，EAEC
突然の嘔気，嘔吐	感染型 or 中毒	ノロウイルス，*S. aureus* や *B. cereus* の毒素
発熱 リンパ節腫脹	中枢神経感染を伴う侵入型	*Salmonella enterica* var. Typhi，*Salmonella enterica* var. Paratyphi A, B or C

<文献 6）より一部改変>

表 3-3　糞便検査の目的と検査内容

	セット A	セット B	セット C	セット D	セット E
検査対象微生物	市中感染症原因微生物の検査（日常的に実施すべき最低限の検査）	流行地，時季により選択的に検査	抗菌薬関連下痢症の検査	薬剤耐性菌の保菌検査（病院感染対策のための検査）	特定患者（免疫不全，腫瘍原因菌陰性，慢性下痢）の検査
Shigella spp.	○				
Salmonella spp.	○				
EHEC	○				
Campylobacter spp.	○				
Vibrio spp.	○				
ウイルス（ノロ，ロタ，腸管アデノ）		○			
C. difficile 毒素，MRSA			○	○	
ESBL，CRE（CPE），VRE，MDRP，MDRA など				○	
原虫：赤痢アメーバ，ランブル鞭毛虫，*Cryptosporidium* など		○			○

腸内細菌科細菌（CRE（CPE を含む）），多剤耐性アシネトバクター（MDRA）などが該当する。MDRA は国内では極めてまれであるが，MRSA や ESBL はすでに市中へ拡散，VRE や CRE も地域によっては市中感染と院内への持ち込みが問題視されている。それぞれの地域における耐性菌の疫学情報入手に務め，必要に応じて他院や介護・擁護施設などからの新規入院患者に対してスク

表 3-4　検査目的別の糞便検査に用いる培地および試薬

検査項目	使用培地/試薬	セットA	セットB	セットC	セットD	セットE
塗抹検査	生標本，グラム染色，抗酸菌染色	○	○			○
分離培養	BTB 乳糖寒天培地（or MacConkey）	○				
	DHL 寒天培地	○				
	SS 寒天培地	○				
	TCBS 寒天培地	○				
	Campylobacter 用選択培地	○				
	EHEC 選択培地	○				
	MRSA 選択培地			○	○	
	CCMA（or CCFA）培地			○		
	ESBL 選択培地				○	
	VRE 選択培地				○	
	CRE（CPE）選択培地				○	
	MDRA 選択培地				○	
増菌培養	セレナイト培地，アルカリペプトン水	○				
抗血清	赤痢菌，サルモネラ，コレラ菌，腸管出血性大腸菌 O157 などの免疫血清	○				
抗原検査	ベロ毒素検出キット	○				
	ウイルス（ノロ，ロタ，腸管アデノ）検出キット		○			
	C. difficile 毒素検出キット			○		

リーニング検査を実施する。院内への持ち込みが危惧される施設は，各種スクリーニング培地を準備し，効率よくかつ正確に薬剤耐性菌を検出できる体制を整えておくべきである。

d）特定患者（免疫不全，下痢が遷延する患者等）（セット E）

主要な原因微生物が検出されず，1 週間以上持続する下痢症や，海外渡航者，免疫不全患者に対しては，寄生虫の検査が非常に重要である。検査対象は赤痢アメーバ，ランブル鞭毛虫，*Cryptosporidium*，*Cyclospora* などの原虫が中心となる。生標本の観察や抗酸菌染色などの塗抹検査にて直接検出する必要があるため，これらを積極的に疑い検査を実施しないかぎり検出し得ない。

【Rejection criteria，検査法，解釈，報告】

a）Rejection criteria

Rejection criteria とは米国微生物学会のマニュアルで使用されている語句である。これは，検査実施にあたり検体の品質が不十分であるために検査を拒否すべき，と判断するための基準として用いられている。

微生物検査はすべて，検体の採取からはじまる。適切なタイミングで良質な検体を採取することが極めて重要であり，質の悪い検体に対して検査を実施したとしても価値ある結果を得られることはなく，ときに誤った解釈につながる場合も考えられる。**表 3-5** を参考に，検査を実施すべき検体を選択し，Bristol stool scale[6]等を用いて質の評価を行ったうえで検査を実施することが望ましい。

表 3-5　検査拒否すべき糞便検体例

検体	備考
輸送培地なしで採取後 2 時間以上経過している糞便（特に *Shigella* spp. の検出に影響あり）	再採取不可能な場合は，「検体提出の遅れにより，病原微生物の検出に影響が及ぶ可能性あり」とのコメントを付記
輸送培地ありであったとしても，4℃・48 時間以上経過している糞便，25℃・24 時間以上経過している糞便	再採取不可能な場合は，「提出の遅れにより培養偽陰性となる可能性あり」とのコメントを付記
HIV 陽性患者 or 院内感染が疑われる患者以外で，入院後 3〜4 日以上経過している入院患者の糞便（小児・成人ともに）	入院 4 日目以降であっても，新生児・幼児（2〜4 歳ほど）の検体は拒否してはならない。Bowel rest（腸管安静）を施していたり，通常食を摂取していなかったりする腸炎の小児入院患者は，糞便の採取までに時間を要するため
容器のライン以上に採取されている便	
接種できないような硬い固形便	
乾燥した綿棒検体	
バリウムが混入している糞便	
同一患者で 3 週間以内に 3 回以上提出された糞便 or 1 日に 2 検体以上提出された糞便	

<文献 9）より一部改変>

b）外観の観察

検体提出時には，塗抹・培養検査を実施する前に，必ず外観を観察する。鮮血便-腸管出血性大腸菌群，膿粘液性便-*Campylobacter* 属菌，白色水様便-ロタウイルスなど，典型的性状を示した場合は原因微生物をかなり限定することが可能であるが，例外も多いため糞便性状のみで判断してはならない。泥状便やタール便，水様便など，糞便性状を報告書に記載することも重要である。

c）塗抹検査

塗抹検査は，糞便性状が水様便（とぎ汁様便）や粘液便，粘血または膿粘血便，血便などであった場合に実施する。主な目的は，白血球・赤血球などの血球成分と *Campylobacter* 属，寄生虫の観察である。糞便のグラム染色による *Campylobacter* 属の検出感度は 66〜94%，特異度は 95%以上であり[7]，特徴的ならせん菌が認められた場合，診断価値が非常に高いといえる。*Campylobacter* 属はサフラニンでは染色性が弱く観察しづらいためパイフェル液の使用が推奨されるが[7]，染色時間を延長（30 秒〜2 分）することで，さらに染色性が増強され観察しやすくなることが期待できる。一方，糞便中の白血球に関しては，*Campylobacter* 属が原因菌であった症例の 25〜80%で認められたと報告されており[7]，報告間での差が大きい。また，糞便中の白血球の存在と急性の感染性下痢症との関連性を強く示唆できるだけのデータは十分ではなく，輸送条件・保存条件にも影響を受けることが知られている[3]。**表 3-6** に原因微生物別の糞便性状と細胞成分の有無を示したが，あくまでも参考程度に考え，決してこのかぎりではないことに注意する。

表 3-6　原因微生物別の糞便性状と細胞成分の有無

微生物 or 毒素	典型的な糞便性状	細胞成分の有無	
		白血球	赤血球
Campylobacter		○	○
C. difficile toxin		○	○
EHEC	水様性便，鮮血便	×	○
EIEC	粘液性便	○	○
ETEC	水様性便	×	×
Salmonella spp.		△	○
Shigella spp.		○	×
V. cholerae	米のとぎ汁様便	×	×
Staphylococcus toxin		×	×
ウイルス		×	×

<文献 9）より一部改変>

生標本による観察では，赤痢アメーバ，ランブ

ル鞭毛虫，*Cryptosporidium*，*Cyclospora* などの原虫が検査対象となる。

d）培養検査

（1）*Shigella* 属，*Salmonella* 属，*Vibrio* 属，*Yersinia* 属，*Campylobacter* 属の検査

1 日目（検体受付日）は，検体の分離培養と増菌培養を実施する。増菌培地は，急性期を過ぎた場合や抗菌薬の先行投与がある症例など，検体中の菌数が少ないことが想定される場合にはぜひ使用したい。

2 日目は，疑わしい集落の同定検査と増菌培地からの再分離を行う（*Vibrio* 属は増殖速度が速いため，増菌培地への接種当日に分離培地へ接種することも可能）。また，*Salmonella*，*Shigella*，*V. cholerae* を強く疑う集落が純培養上に発育した場合は，菌種同定に先行して，分離培地上の集落を用いて免疫血清によるスライド凝集試験を行う。スライド凝集試験であきらかな凝集が認められ，かつ至急報告が必要な場合にかぎり医師に直接連絡するが，あくまでも疑いの段階で中間報告であること，生化学的性状などによる同定が必要なため，最終報告にはさらに時間を要す点を必ず説明し，医師の理解を得る。スライド凝集試験は，他の腸内細菌科細菌との交差反応がしばしば認められる。たとえば，赤痢菌用免疫血清で *S. dysenteriae* や *S. boydii* の免疫血清に凝集が認められた場合，両菌種の分離数は非常に少ないため[8]，生化学的性状による同定試験を必ず実施したうえで，加熱菌によるスライド凝集試験の再検査を行い最終報告する。非典型的性状を示し判断に苦慮する場合は，専門機関に相談し解析を依頼することも重要である。

3 日目は，試験管培地などの確認培地や同定検査キット，薬剤感受性検査の結果判定，また増菌培地から再分離した培地の観察を行う。*Campylobacter* 属の中には 2 日目で微小コロニーの発育が認められる株も存在するが，典型的な集落を得るには最低でも 48 時間培養は必要であるため，*Campylobacter* 用選択培地は 48 時間判定を行い，さらに 72 時間まで培養継続し観察することが望ましい[9]。*Yersinia* 属は 35℃では発育が不十分であることが多いため，2 日目以降は室温で培養を継続する。CIN 等の専用培地が有用であるが，SS 寒天培地でも分離可能であり，*Yersinia* 属を疑う場合は当初より室温培養を並行して実施する。また，リン酸緩衝液を用いた低温（4℃）増菌培養を追加し，培養 1 週間ごとに SS 寒天培地などに再分離する手法もある（低温増菌培養は 1 ヵ月間継続）。

（2）準備すべきスライド凝集試験用の免疫血清

スライド凝集試験用の免疫血清は，*Shigella*，*Salmonella*，*V. cholerae* の常備が望ましい。EHEC は O157 血清か抗原検査キットを準備する。他の腸内細菌科細菌との交差反応が認められる場合があるため，生化学的性状等による同定検査は決して省略してはならない。

（3）常在菌の報告

常在菌（常在菌叢）は可能なかぎり報告することが望ましい。常在菌叢のみであるのか，抗菌薬の先行投与などによって常在菌叢が乱れているのか，または菌交代の様相を呈している状況なのかなどを報告する。この際，常在菌の詳細な菌種同定は不要であり，培地上の集落性状からの簡易同定レベルでかまわない。たとえば，*E. coli*–*Citrobacter*，*Klebsiella*–*Enterobacter*，*Morganella*–*Providencia* など，グループ化した表現を用いることも一法である。

e）腸管出血性大腸菌群のベロ毒素（志賀毒素）検査

病原大腸菌の血清型は，一部を除いて病原因子とはまったく関連性がないため，糞便から検出された *E. coli* に対し盲目的に血清型を決定することはまったく意味がない。さらに，病原因子の検索を何も実施せずただ O 抗原のみを決定し報告してしまうと，あたかも病原大腸菌のように思え，医師によっては治療対象にすべきではないのか，との考えに至る可能性もある。したがって，盲目的な血清型の決定は実施してはならない。何より重要な検査はベロ毒素の検査であり，O 抗原の決定は必要に応じてその後に実施するものである，

との認識を検査室が持つ必要がある。糞便中に存在する *E. coli* O157 抗原を検出するものや，菌株が産生するベロ毒素を検出するためのイムノクロマトキットが利用可能であり，施設内で実施できる体制を整えるべきである。

f）*C. difficile* 毒素検査

現在，糞便中の *C. difficile* の抗原と菌が産生するトキシンＡおよびＢを同時検出可能なイムノクロマトキットが利用可能であり，30 分以内に結果を得ることができる。遺伝子検査キットも導入され始めたが，実施可能施設は限定的であり，今なお迅速簡便なイムノクロマトキットの有効利用が重要である。抗原の検出感度に比し毒素の検出感度が低いため，抗原のみ陽性の場合は，ぜひ培養検査まで実施したい。本検査のポイントは，対象患者を限定すること，積極的に疑い検査を実施すること，の 2 点である。消化管症状を有する患者のみを対象に実施すべき検査であり[10]，抗菌薬や制酸薬（PPI など）の投与歴の確認を行い，さらに，高齢者，過去の入院歴や消化管手術歴，慢性腎臓病や炎症性腸疾患などの基礎疾患，経鼻経管栄養の使用なども *C. difficile* 関連下痢症のリスク因子として考えられているため[11~19]，対象に加えることが重要である。加えて，今や市中での発症も認められるため[10]，入院患者に限定した検査では不十分といえる。盲目的な実施，治療効果判定目的の使用は避けなければならない。

g）ウイルス抗原検査

ウイルス抗原検査は，ノロウイルス，ロタウイルス，腸管アデノウイルスなどが対象となり，いずれも迅速簡便なイムノクロマトキットが利用可能である。

【検査結果の報告[9]】

Salomnella，*Shigella*，*Yersinia enterocolitica*，*Aeromonas* 属，*Plesiomonas shigelloides*，*Vibrio*，*Edwardsiella tarda*，*Bacillus cereus*，EHEC，腸管病原性大腸菌（EPEC），腸管侵入性大腸菌（EIEC），毒素原性大腸菌（ETEC），腸管凝集性大腸菌（EAEC），*C. difficile*，*Clostridium botulinum* が培養で検出された際は，すべて報告する。一方，培養陰性のときは，培養検査を実施したすべての病原微生物に対して，“検出されず”とのコメントを付記して報告し，何を目的とした検査を実施したのかが医師に伝わるような報告形態を心掛ける。

【夜間・休日提出検体の対応】

糞便検体は，採取後，可能なかぎり迅速に検査室へ提出し培養検査を開始すべきであり，輸送培地なしの場合は採取後 2 時間までは室温保存可能，輸送培地ありの場合であっても 4℃・24 時間までが保存限界，といわれている[9]。極力この時間内に検査を開始できるよう，検査室の体制を整えることが求められる。*C. difficile* の培養検査は，室温・1 時間以内，4℃・24 時間以内に実施することが望ましく，毒素検査は，4℃・3 日以内に実施する。これらの条件を大幅に超過した場合は，提出の遅れにより偽陰性となる可能性があることを医師に伝えたうえで実施するか，検査を断ることも必要である。

3 監視培養

前述したような，種々の薬剤耐性菌検出を目的とした積極的監視培養（Active surveillance）は有用性が示されている[20]。一方，米国の手順書[9]には，「入院後 3 日以上経過している患者のルーチンでの糞便培養検査は断るべきである」と明記されており，感染症発症時に迅速な対応（抗菌薬投与）が可能なように，菌叢を把握しておくことだけを目的とした定期的な監視培養については，その有用性は示されていない。

文　献

1）豊川真弘，坂田友美，木村圭吾．2009．Ⅰ．感染症診断の進め方．3 検体採取と取り扱い．p.21-35．新・カラーアトラス微生物検査．山中喜代治 編集．医歯薬出版株式会社，東京．
2）溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン作成班．2014．Ⅱ-1 HUS の診断．p.11，溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン．五十嵐隆 編集．東京医学社，東京．
3）Andi LS, Rajal KM, John AC, et al. 2017. 2017 Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Infectious Diarrhea. Clin Infect Dis 65(12)：e45-e80.
4）小栗豊子，三澤成毅，西山宏幸．2011．Ⅳ検査材料別検査法と検出菌 3 糞便．p.55-61．臨床微生物検査ハンドブック第 4 版．小栗豊子 編集．三輪書店，東京．
5）厚生労働省検疫所 FORTH．https://www.forth.go.jp/index.html（2021 年 3 月 15 日現在）
6）Lewis SJ, Heaton KW. 1997. Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. Scand J Gastroenterol 32(9)：920-924.
7）Collette F, Irving N. 2015. 56 Campylobacter and Arcobacter. p.998-1012. Manual of Clinical Microbiology, 11th ed. James HJ, Micheal AP, Karen CC, et al. ed. American Society Microbiology, Washington D. C., USA.
8）病原微生物検出状況．国立感染症研究所．https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr.html（2018 年 7 月 31 日現在）
9）Amy LL. 2016. 3.8.1 Fecal Culture for Aerobic Pathogens of Gastroenteritis. 3.8.1.1-3.8.1.23. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 4th ed. American Society Microbiology, Washington D. C., USA.
10）Regina CL, Stephen BC. 2015. Syndromes of Enteric Infection. p.1238-1247. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 8th ed. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, ed. Elsevier Saunders.
11）Bignardi GE. 1998. Risk factors for *Clostridium difficile* infection. J Hosp Infect 40：1-15.
12）Vardakas KZ, Konstantelias AA, Loizidis G, et al. 2012. Risk factors for development of *Clostridium difficile* infection due to BI/NAP1/027 strain：a meta-analysis. Inter J Infect Dis 16：e768-773.
13）Furuya-Kanamori L, Stone JC, Clark J, et al. 2015. Comorbidities, exposure to medications, and the risk of community-acquired *Clostridium difficile* Infection：a systematic review and meta-analysis. Infect Control Hosp Epidemiol 36：132-141.
14）Eze P, Balsells E, Kyaw MH, et al. 2017. Risk factors for *Clostridium difficile* infections—an overview of the evidence base and challenges in data synthesis. J Global Health 7：1-9.
15）Riley TV, Kimura T. 2018. The Epidemiology of *Clostridium difficile* infection in Japan：A systematic review. Infect Dis Therapy 9：1-32.
16）Zacharioudakis IM, Zervou FN, Pliakos EE, et al. 2015. Colonization with toxinogenic *C. difficile* Upon hospital admission, and risk of infection：a systematic review and meta-analysis. Am J Gastroenterol 110：381-390.
17）Harries RL, Ansell J, Codd RJ, et al. 2017. A systematic review of *Clostridium difficile* infection following reversal of ileostomy. Colorectal Dis 19：881-887.
18）Abramowitz J, Thakkar P, Isa A, et al. 2016. Adverse Event reporting for proton pump inhibitor therapy. Otolaryngol Head Neck Surg 155：547-554.
19）Wijarnpreecha K, Sornprom S, Thongprayoon C, et al. 2016. The risk of *Clostridium difficile* associated diarrhea in nasogastric tube insertion：A systematic review and meta-analysis. Dig Liver Dis 4：468-472.
20）中村竜也，清水千裕，乾佐知子ほか．2009．糞便中の ESBL 産生腸内細菌スクリーニングの有用性．日臨微生学誌 19：32-37．

第 4 章

腸管感染症に有用な検査法とその役割

1 塗抹検査

ヒトの腸管内には多種多様な細菌が生息し菌叢を形成している。多くの腸管病原性細菌は，それら腸内細菌叢と形態的には鑑別困難で，塗抹検査で検索対象となる細菌は *Campylobacter* 属や *Vibrio cholerae* のように形態的に特徴のある菌種に限られる。一方，腸内細菌叢としてとらえると，多種多様な正常細菌叢のバランスが崩れ，ある特定の形態の細菌のみが優勢に観察されるという状態は何らかの病原細菌の存在を疑う指標となる。また，原因微生物の検索に加えて便中の白血球の確認も重要であり，多数の白血球が認められる場合には組織侵襲性のある菌による感染が疑われる。糞便の肉眼的な評価も重要であり，粘血部が認められたならばその部分を選択して塗抹することで検出率は向上する。

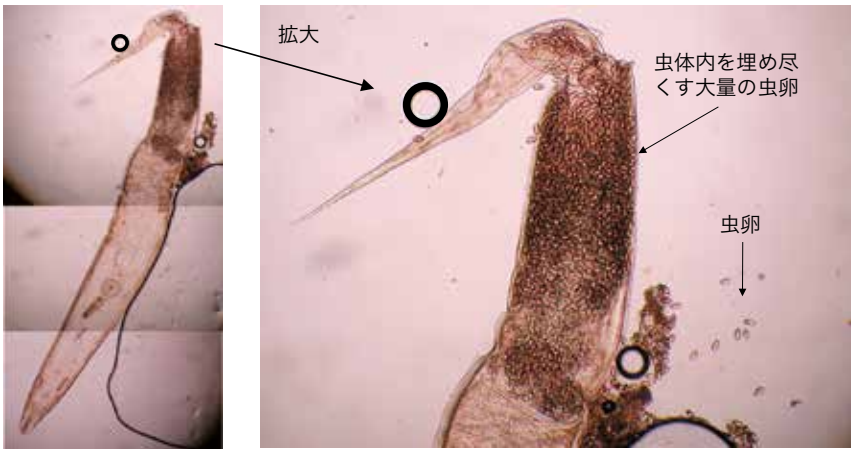
最も一般的に塗抹検査が診断に用いられる微生物は寄生虫であり，虫卵やアメーバの栄養型や嚢子（シスト）の検出など，診断に直結するものが多い。

【生鮮塗抹標本[1〜3)]】

生鮮標本観察は簡便に実施でき，虫卵の検出その他寄生虫検査に幅広く活用されている。特に運動性のある赤痢アメーバやジアルジア（ランブル鞭毛虫）の栄養型の観察に適している。しかし，栄養型は死滅しやすいため検体採取後すみやかに検鏡しなければ運動性を確認することは難しい。冷蔵保存された検体や採取後長時間経過した検体は栄養型の観察には不適である。また，生鮮標本は白血球や赤血球の観察にも適している。

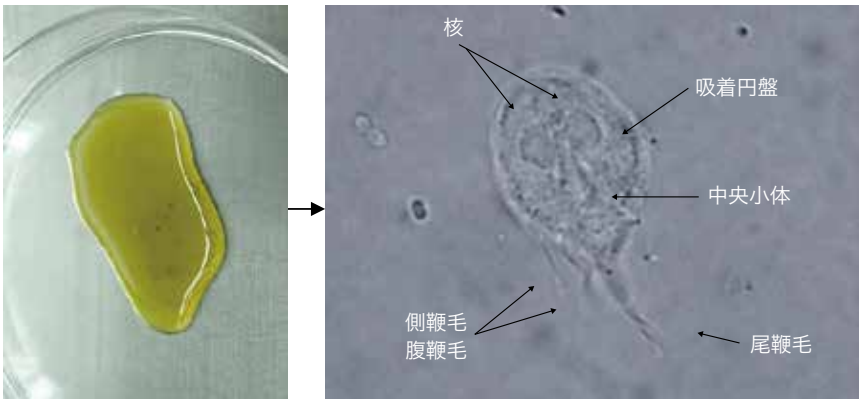
図 4-1-1 は小児の肛門周囲で発見された蟯虫（雌）に少量の生理食塩水を加えて作製した生鮮標本である。肉眼的には，雌は体長約 10 mm（8〜13 mm）の糸状の白い虫体であるが，顕微鏡で観察すると先端が尖っており，英名では Pinworm と呼ばれる。雄虫の大きさは 2〜5 mm 程度とされる。虫体内には大量の虫卵が確認されるが，これをヒトの肛門周囲に産み付ける。衛生環境の改善によって虫卵の保有者が減少したため，小学生 3 年生以下に義務付けられていたセロハンテープによる「蟯虫検査」が必須ではなくなったが，まだゼロになったわけではなく，蟯虫保有率には地域差が認められる。

図 4-1-2 は，成人男性の下痢便（a）の生鮮標本にて検出されたランブル鞭毛虫（b）である。洋ナシ型の虫体の中に目玉状の 2 個の核と吸着円盤，中央小体および鞭毛が観察される。ランブル鞭毛虫は側面から見ると洋ナシを半分に切ったよ



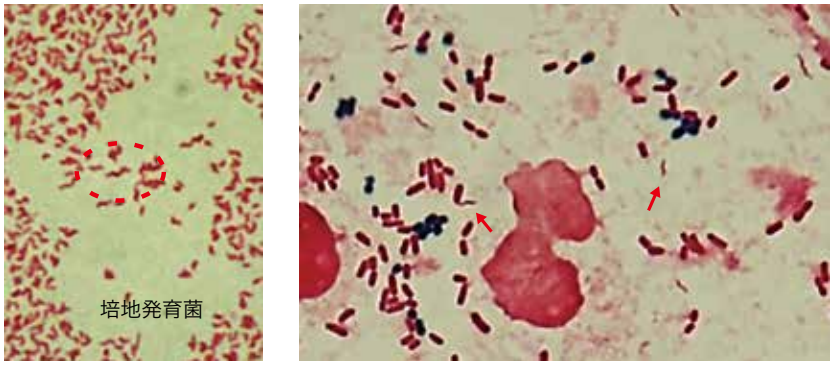
a）全体像　　b）拡大像

図 4-1-1　ヒト蟯虫（*Enterobius vermicularis*）雌成虫と虫卵



a）わずかに緑色を帯びた粘液便　b）ランブル鞭毛虫栄養型の生鮮標本

図 4-1-2　*Giardia intestinalis*（*G. lamblia*）ランブル鞭毛虫栄養型



a）カモメ状のラセン菌　b）糞便中の白血球と *C. jejuni*（矢印）

図 4-1-3　*Campylobacter jejuni*
<文献 4）より改変>

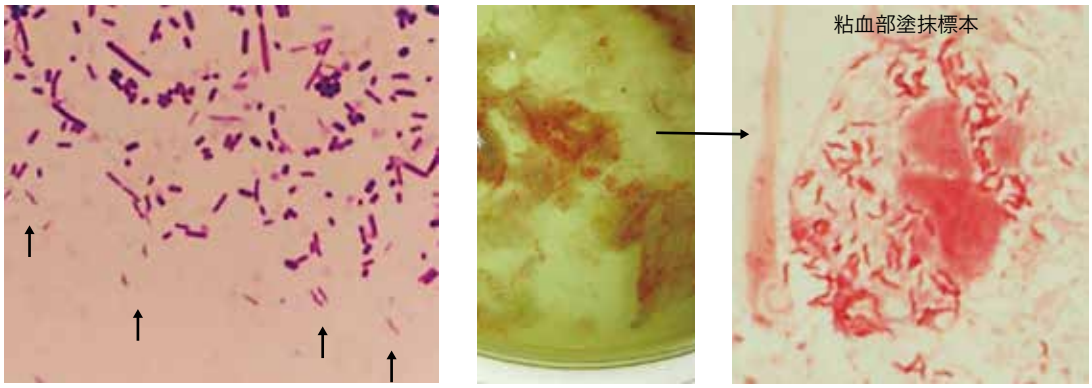
うな形をしており，平坦な部分にある吸着円盤で腸粘膜に吸着するとされる。検体採取後すみやかに観察すれば，吸着面を裏表させながら木の葉が舞うように運動する栄養型の観察が可能と考えられる。

【グラム染色標本[1~5)]】

グラム染色で推定可能な腸管病原性微生物は前述のとおり形態的に特徴のあるものに限られるが，種までの推定は困難としても病原微生物の存在が示唆されるグラム染色像も含めて提示する。

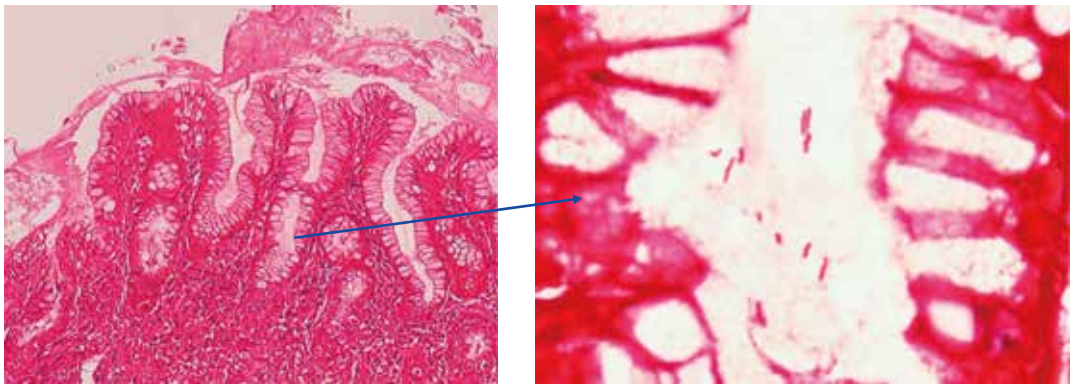
Campylobacter 属はラセン状のグラム陰性桿菌で菌体の両端が細く尖っているためカモメ状の菌体（gull wing shape）と呼ばれる（**図 4-1-3a** 円囲み内）。しかし，実際に腸管内の常在菌と混じりあった状態ではその存在がわかりにくい。糞便中で共存する大腸菌などと比較すると，その小ささがよくわかる（*C. jejuni*：**図 4-1-3b** 矢印）。染色液の染まりも弱く見落とされやすいため，グラム染色の後染色にはより濃く染まるフクシン（Pfeiffer 液）が推奨される。

Campylobacter 属は両端に鞭毛を持ち，生鮮標本では，“コルクスクリュー様”と表現される活発な運動性が観察される。直線的な動きで，糞便塗抹後の乾燥する間にも速いスピードで動き回るため塗抹標本の辺縁部に飛び出した菌体が確認される傾向がある（**図 4-1-4a** 矢印）。白血球の周辺とともに塗抹標本の辺縁部を注意深く観察することが勧められる。また本菌感染では血便（**図 4-1-4b**）が認められやすく，粘血部のみを選択して塗抹すると，菌濃度が高く観察が容易であり，白血球による貪食像が認められることがある（**図**



a）塗抹辺縁に飛び出した *C. jejuni*（矢印）　b）粘血便　c）*C. jejuni* の貪食像 菌濃度が高く，観察が容易

図 4-1-4　*Campylobacter jejuni*
<文献 4）より改変>



a）胃粘膜組織薄切標本　b）胃粘膜の襞の中の *Helicobacter pylori*

図 4-1-5　胃粘膜組織中の *Helicobacter pylori*
<文献 4）より改変>

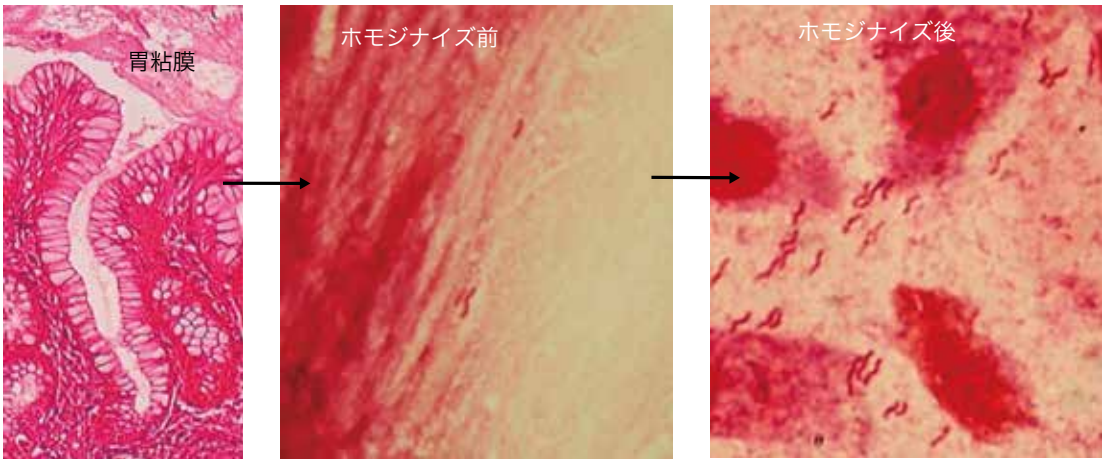
4-1-4c）。

Helicobacter pylori は胃潰瘍や十二指腸潰瘍などの消化性潰瘍の原因となり，以前 *Campylobacter* 属に含まれていたように，ラセン状の形態は *Campylobacter* 属と類似するが，*C. jejuni* よりも菌体の幅が広く，両端が丸みを帯びたラセン状桿菌である。**図 4-1-5a** は *H. pylori* が認められた胃粘膜組織薄切標本のグラム染色像である。通常は胃粘膜の襞の中に潜んでいることが多いとされ，襞の中を拡大してみるとラセン菌（*H. pylori*）が観察される（**図 4-1-5b**）。

胃粘膜組織の標本作成時には，塗抹前に組織をよくホモジナイズして，粘膜の襞の中に潜む *H. pylori* を外に押し出すことが勧められる。菌量が増加して観察が容易となり，見落としが少なくなるものと考えられる。ホモジナイズ前（**図 4-1-6b**），ホモジナイズ後（**図 4-1-6c**）。

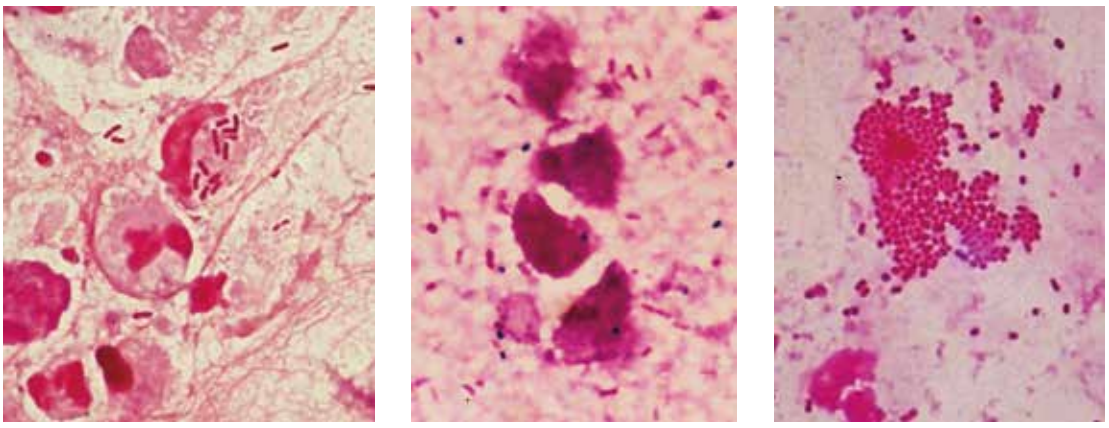
図 1-4-7a～g は腸管病原性細菌が分離された下痢便のグラム染色像である。他の多種多様な腸内細菌叢が消え，同一形態の菌のみが増殖し，貪食像が観察されるものもある。形態のみでは菌種推定は困難であるが，病原菌の存在を強く疑う所見である。

図 4-1-7a は赤痢菌（*Shigella sonnei*）が分離された便の粘血部の塗抹標本である。多数の多核白血球とともに両端が鈍円のグラム陰性桿菌が多数認められ，貪食像も観察される。**図 4-1-7b** は腸管出血性大腸菌（EHEC）O157 が分離された便のグラム染色である。多数の白血球とグラム陰性桿菌が観察される。翌日発育した集落よりベロ毒素

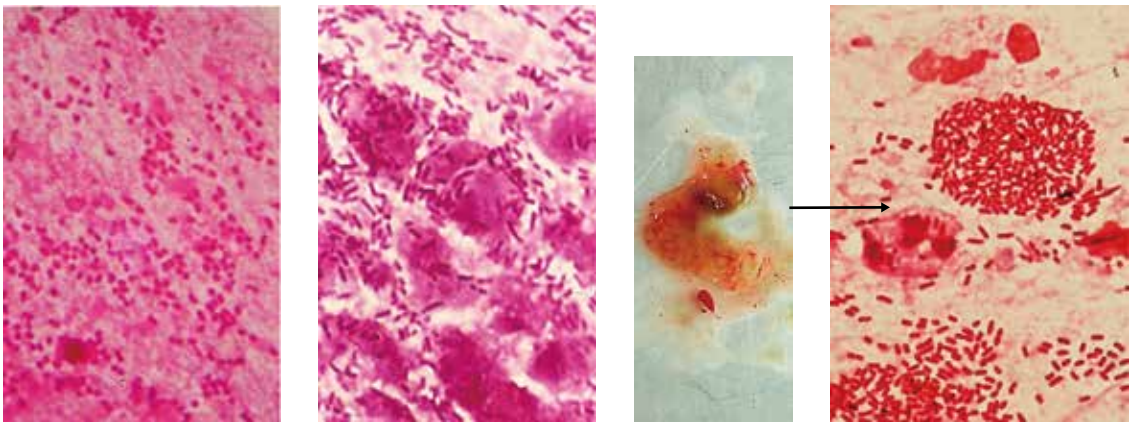


a）胃粘膜組織　b）胃粘膜塗抹：菌量少　c）胃粘膜塗抹：菌量増加

図 4-1-6　胃粘膜組織中の *Helicobacter pylori* ピロリ菌



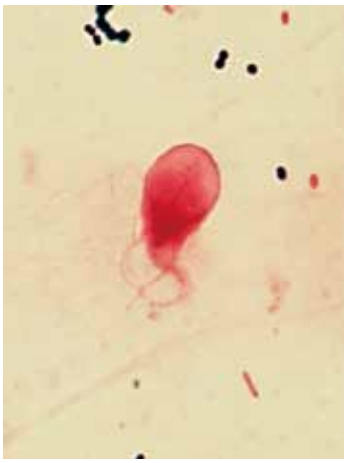
a）*Shigella sonnei*　b）*Escherichia coli* O157　c）*Salmonella* sp. O9 群



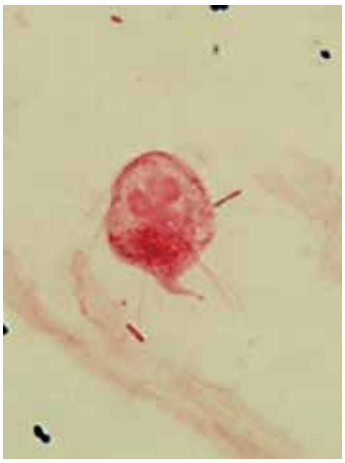
d）*Vibrio parahaemolyticus*　e）*Aeromonas sobria*　f）粘血便　g）*Klebsiella oxytoca*

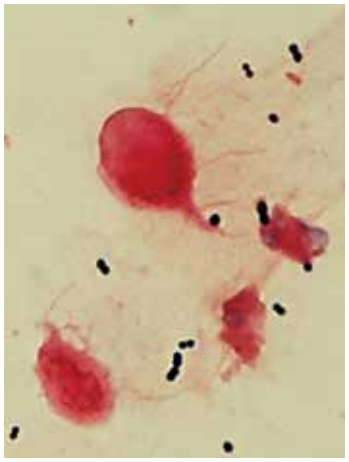
図 4-1-7　腸管病原性細菌が分離された糞便のグラム染色像
<文献 4）より改変>

VT1 および VT2 が検出された。**図 4-1-7c** は *Salmonella* sp.（O9 群，Vi 抗原陰性）が分離された便である。白血球とともにグラム陰性桿菌の集塊が観察される。**図 4-1-7d** は腸炎ビブリオ（*Vibrio parahaemolyticus*）が分離された便である。同一形態の多数のグラム陰性桿菌が観察される。**図**


a）栄養型


b）栄養型


c）栄養型


d）栄養型


e）２分裂する栄養型


f）嚢子（シスト）

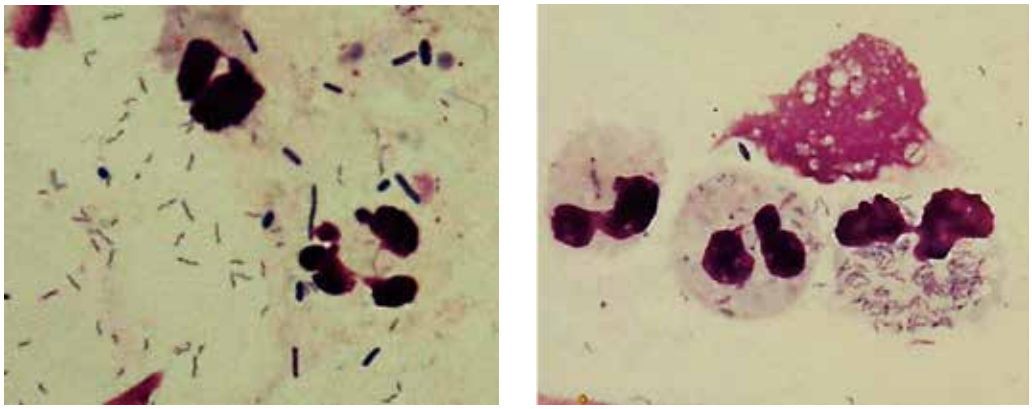
図 4-1-8　ランブル鞭毛虫（*Giardia intestinalis*（*G. lamblia*））（粘液便）

4-1-7e は *Aeromonas veronii* biovar *sobria* が分離された便である。同一形態の大量のグラム陰性桿菌が白血球に取り囲まれている。**図 4-1-7f** は抗菌薬投与中の入院患者より *Klebsiella oxytoca* が分離された血便である。通常糞便内に多数存在する腸管内フローラは激減し，1 種類の菌のみが選択的に増加して，菌集塊も認められる。両端が鈍円のずんぐりした形態のグラム陰性桿菌で，クレブシエラが推定される形態であるが（**図 4-1-7 g**），多核白血球が増加し，複数の抗菌薬投与後という患者背景から *K. oxytoca* 感染が疑われた症例である。

＜補足＞

Clostridioides difficile は抗菌薬関連下痢症の主要な原因菌で，偽膜性大腸炎の原因菌としても知られている。本菌は直線的で大型のグラム陽性桿菌であるが，形態のみで推定は困難である。また *C. difficile* トキシン A/B が検出された下痢便でも，本菌を疑う大型の陽性桿菌が確認される症例と全く確認されない症例が存在する。グラム染色で菌が確認されなくとも便をアルコール処理して培養すると多数の *C. difficile* が発育することがあるため，菌発育後すでに芽胞化した状態で便中に存在しているものと推測される。一方 *Clostridium* を疑う大型の陽性桿菌（生菌）が多数認められる糞便は，腸管内で *C. difficile* が増殖していることを示唆するものであり，便中に白血球が認められやすい。このような便ではアルコール処理すると菌量が減少することがある。

図 4-1-8a～f は成人男性の粘液便中に観察されたランブル鞭毛虫（*Giardia intestinalis*（*G. lam-*



a）ラセン菌が明瞭に濃く染まる　b）細胞質内の菌形態も観察しやすい

図 4-1-9　*Campylobacter jejuni*（血便）
<文献 4）より改変>

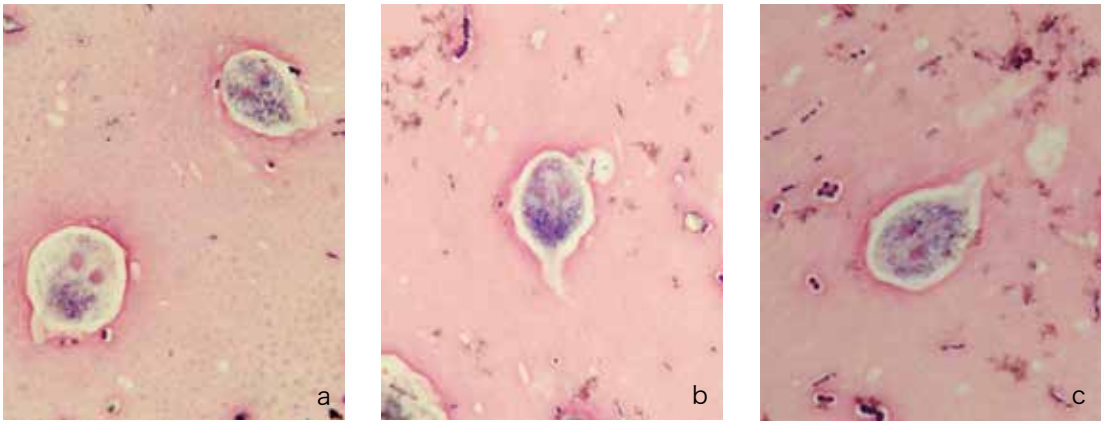


図 4-1-10　ランブル鞭毛虫（*Giardia intestinalis*）栄養型のギムザ染色像（粘液便）

blia））である。ランブル鞭毛虫の栄養型は洋ナシ型の原虫でジアルジア症の原因微生物である。**図 4-1-8a** には吸着円盤の輪郭や鞭毛が確認され，**8b** には目玉状の 2 個の核が，**8c** には 2 個の核と前側鞭毛，側鞭毛，腹鞭毛および後鞭毛がそれぞれ観察される。**8d** には鞭毛を持つ 2 個の栄養型虫体，**8e** には 2 分裂中と推測される栄養型虫体が観察される。**8f** はランブル鞭毛虫の嚢子（シスト：cyst）と考えられる。本原虫は嚢子で汚染された食品や水を介してヒトに感染する。

【ギムザ染色[1~4)]】

マラリア原虫の検査に使用されることの多い染色法であるが，腸管感染症ではグラム染色に難染性でかつ形態的に特徴のある *Campylobacter* 属や *Helicobacter* 属の観察に適している。元来血球染色に用いられる染色法であるため，白血球や上皮細胞の観察には好適で白血球の細胞質内に取り込まれた菌体も明瞭に染め出される。

図 4-1-9a, b は *Campylobacter jejuni* が分離された血便のギムザ染色像である。ラセンの形態も明確に染め出され，グラム染色より菌量が多く感じられることがある（**図 4-1-9a**）。また血球の核や細胞質の染まりがきれいで，白血球に貪食されたラセン菌の形態もわかりやすい（**図 4-1-9b**）。

図 4-1-10a～c は粘液便中のランブル鞭毛虫栄養型のギムザ染色像である。それぞれの虫体に 2 個の核が確認される。

【キニヨンの抗酸染色（Kinyoun 法）[1,3)]】

糞便中のクリプトスポリジウム（*Cryptosporidium* 属）のオーシスト染めるための抗酸染色で，

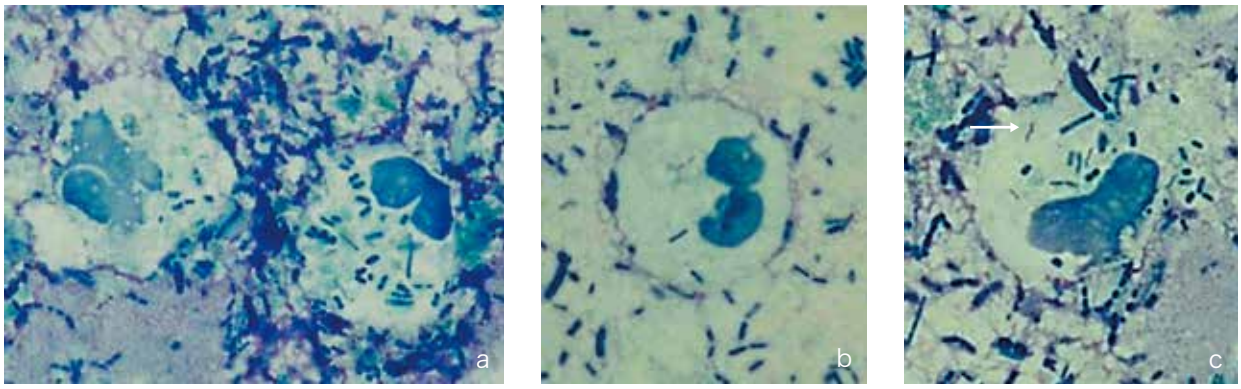


図 4-1-11　糞便中の白血球：メチレンブルー染色
<文献 4）より改変>

加温をせず脱色液に硫酸水を用いる点が，抗酸菌染色に用いられるチール・ネールゼン（Ziehl Neelsen）染色とは異なる点である。オーシスト内のスポロゾイドや残体が赤く染まるため，間が抜けてドーナッツ状や馬蹄形を示すとされる。背景細胞や一般細菌・真菌は青く染め出される。

【コーン染色[1~3,6)]】

腸管内に寄生する原虫の核や鞭毛等を容易に染色でき，栄養型および嚢子の内部構造が確認しやすい。原虫の核のクロマチン顆粒やカリオソーム，細胞内繊維構造，アメーバ類の類染色質，鞭毛虫の鞭毛および中央小体などが黒紫色ないし黒青色に染色される。

【その他の染色[1,4,6)]】

a）ヨード染色

操作が簡単で，主にアメーバやランブル鞭毛虫などの原虫の嚢子の内部構造を観察するために用いられる。ヨードによって核やカリオソームおよびグリコーゲン胞の観察が容易となる。

b）メチレンブルー染色

本法は単染色で簡便に実施でき，細胞質が淡染されるため，白血球の核などがグラム染色よりも明瞭に観察可能であり，便中の白血球の観察に適している。多数の白血球が認められる場合には，組織侵襲性のある *Salmonella* 属，*Shigella* 属，*Yersinia* 属，腸管侵襲性 *Escherichia coli* などの細菌が想定され，白血球が観察されなければ，毒素に起因する下痢症，ウイルスまたは寄生虫による下痢症が推定される。

図 4-1-11a～c はメチレンブルー染色で糞便中の白血球を観察した所見である。細胞質が淡染され，核の構造もわかりやすい。白血球数も多く，組織侵襲性のある細菌の存在が疑われる所見であるが，**図 4-1-11c** の白血球内（矢印）にはカモメ状の菌体が観察される。培養にて *Campylobacter jejuni* が分離された下痢便である。

文　献

1）腸管感染症検査ガイドライン．2010．日臨微生物誌 20（Supplement 1）：52-63.
2）柄沢利子，山浦常．2004．塗抹検査を中心とした微生物・寄生虫検査．臨床と微生物 31（増刊号）：108-110.
3）松村隆弘，所正治．2014．見逃すな，寄生虫感染症！臨と微生物 41：21-25.
4）永田邦昭．2014．感染症診断に役立つグラム染色―実践永田邦昭のグラム染色　カラーアトラス　第２版．p.139-185．シーニュ，東京.
5）永田邦昭．2017．初心者でもこれだけは習得しておきたい微生物検査の基礎技術．臨と微生物 44（増刊号）：43-52.
6）黒木敏郎，遠藤拓郎．1999．新染色法のすべて．Medical Technology 別冊：367-369.

2 分離培養法および用手法同定法

【汎用されている分離培地とその反応原理】

細菌性下痢症の検査には主に糞便が検体として用いられるが，糞便中には極めて多数の細菌が存在する。そのため，非選択培地を用いた培養では腸管感染症の原因菌の分離は困難となることから，疑われる病原菌に応じた選択分離培地を駆使しながら培養検査を実施する必要がある。本項では，主に使用されている選択分離培地とその反応原理を示す。

a）SS 寒天培地

胆汁酸，チオ硫酸ナトリウム，クエン酸ナトリウム，ブリリアント緑を選択剤とする *Salmonella* 属や *Shigella* 属の分離培地である。胆汁酸の濃度が高いため *Escherichia coli* などの腸内細菌およびグラム陽性球菌の発育を抑制する。しかしながら，*Salmonella* 属や *Shigella* 属の一部の株も抑制されることがある[1)]。乳糖分解菌の集落は生じた酸によって胆汁酸が析出し，これにニュートラル赤が沈着することで紅色を呈する。*Salmonella* 属や *Shigella* 属などの乳糖非分解菌の集落は無色半透明となる。*Salmonella* 属などの硫化水素産生菌種は，チオ硫酸ナトリウムから硫化鉄が形成されるため集落が黒変する[1)]。

b）DHL 寒天培地

胆汁酸，チオ硫酸ナトリウム，クエン酸ナトリウムを選択剤とする腸内細菌の分離培地である。胆汁酸濃度が低いため SS 寒天培地と比べてグラム陰性菌に対する発育抑制力は弱いことから *E. coli* 等も発育するが，SS 寒天では抑制される *Salmonella* 属や *Shigella* 属の一部の株も発育可能である。発育集落は SS 寒天培地と同様の色調や形態を示す。

c）CIN 培地

選択剤に胆汁酸，クリスタル紫に加え，セフスロジン（cefsulodin），イルガサン（irgasan），ノボビオシン（novobiocin）を加えた *Yersinia* 属の選択分離培地である。マンニットを分解する *Yersinia* 属の集落は生じた酸により胆汁酸塩が析出するため，ニュートラル赤の析出により中心部が混濁した紅色集落を形成する。一部の *Yersinia pseudotuberculosis* では発育できない株があり[1)]，*Aeromonas* 属の発育を認める場合もあるので注意が必要である。

d）TCBS 寒天培地

Vibrio 属が好塩性かつアルカリ条件下で発育可能であることを利用した選択分離培地である。コール酸ナトリウム，ウシ胆汁，チオ硫酸ナトリウム，クエン酸ナトリウムが選択剤として作用し[1)]，PH は 8.8 と非常に高いため *Vibrio* 属以外の腸内細菌科細菌はほとんど発育しない。*Vibrio cholerae* などの白糖分解菌の集落は生じた酸により酸性となるため，ブロムチモルブルー（BTB）の作用で黄色を呈する。*Vibrio parahaemolyticus* などの白糖非分解菌は緑色集落を形成する。*Enterococcus* 属や *Shewanella* 属および *Aeromonas* 属では発育を認めることもある。

e）スキロー培地

Campylobacter 属を分離するための選択分離培地である。ウマ溶血血液にバンコマイシン，ポリミキシン B，トリメトプリムの 3 種の抗菌薬を選択剤として用いている[1)]。

f）CCDA 培地

血液成分無添加で開発された *Campylobacter* 属の選択分離培地である。血液成分の代わりに活性炭（Charcoal），硫酸第一鉄，ピルビン酸ナトリウムを添加し，選択剤としてセフォペラゾン（cefoperazone）と胆汁酸（desoxycholate）を用いている。

g）マンニット食塩培地

7.5％塩化ナトリウムを選択剤とし，食塩耐性である *Staphylococcus* 属の選択培地である。*S. aureus* などマンニット分解菌は黄色集落を形成し，集落周囲は生じた酸によってフェノールレッドの作用で黄色を呈する[1)]。*S. epidermidis* などの

マンニット非分解菌の集落とその周囲は赤色となる。本培地に卵黄液を10%加えた卵黄加マンニット食塩培地では，*S. aureus* の集落周囲が乳黄白色となり卵黄反応が認められる。

h）CCFA（CCMA）培地

サイクロセリン（cycloserine）とセフォキシチン（cefoxitin）を選択剤とする *Clostridioides*（*Clostoridium*）*difficile* の分離選択培地である。*C. difficile* はフルクトースを分解し，添加されているニュートラル赤により黄色のR型集落を形成する。フルクトースをマンニトールに入れ替えたものがCCMA培地である。

i）CT加ソルビトールMacConkey寒天培地（CT-SMAC）

腸管出血性大腸菌（EHEC）の中で最も重要な血清型O157のほとんどはソルビット非分解であることを利用し，セフィキシムや亜テルル酸カリウムを加えて選択性を増強した培地にてソルビット分解性を鑑別するO157の選択培地である。一部亜テルル酸カリウム感受性O157が存在するため，それらは発育することができない。O157は無色半透明の集落を形成する。ただし，ソルビット分解性のベロ毒素産生性 *E. coli* O157やベロ毒素非産生 *E. coli* O157，O157以外の血清型のベロ毒素産生性 *E. coli* も発育する場合があることに留意する必要がある。

j）クロモアガー STEC 培地

O157だけでなく，O26，O111，O121などさまざまな血清型のベロ毒素産生性 *E. coli* を選択的に発育させる培地であるため，血清型に関わらず幅広く検出することが可能である。酵素基質によりEHECを疑う *E. coli* 集落は紫色を呈し，それら以外の *E. coli* は抑制される。本培地の選択剤や着色機序は正式には公開されていないため，詳細は不明である。一部に本培地に発育しないEHEC株の存在が報告されている。

【オキシダーゼ試験】

細菌がチトクロームオキシダーゼを産生するか否かを調べる検査であり，グラム陰性桿菌の同定の第一歩として実施される。テトラメチルパラフェニレンジアミンを含むチトクロームオキシダーゼ試験用濾紙を微量の精製水で湿らせて被検菌を塗布し，1分以内にインドフェノール青の生成による濃青色を呈すれば陽性と判定する。糖を含む培地では酸化により偽陰性の原因となることがあるため，糖を含まない培地での検査が望ましい。*Pseudomonas* 属等のブドウ糖非発酵菌群，ビブリオ科，パスツレラ科などのグラム陰性桿菌が陽性を示し，腸内細菌科細菌，*Stenotrophomonas maltophilia*，*Acinetobacter* 属など一部のブドウ糖非発酵菌群では陰性を示す。*Plesiomonas shigelloides* は腸内細菌科細菌ではあるが，唯一陽性を示す例外菌種である。

【運動性試験】

鞭毛を有する細菌は運動性を有しているため，その有無を性状として確認する検査である。SIM培地やLIM培地などの半流動培地に被検菌を穿刺し，35℃で一晩培養後に菌の発育が培地全体で確認できれば陽性，穿刺部位のみの発育であれば陰性と判定する。多くの腸内細菌科細菌は運動性陽性を示すが，*Shigella* 属と *Klebsiella* 属は陰性である。特に *Shigella* 属の鑑別においては重要なキーとなる性状である。*Yersinia enterocolitica* と *Y. pseudotuberculosis* では，35℃では運動性は陰性を示すが，25℃では陽性となる点に注意が必要である。VP半流動培地などでも確認が可能である。スライドガラス上に水滴や液体培地を滴下し，そこに菌を浮遊させて顕微鏡下で運動性の有無を確認する懸滴法も用いられている[2)]。

【各種試験管培地による鑑別】

細菌性下痢症の原因菌となるグラム陰性桿菌の同定には，各種試験管培地を用いた性状試験による鑑別が基本である。以下に主な試験管培地の原理と性状試験について例示する（一覧は**表 4-2-1**を参照）。

a）TSI 寒天培地（TSI：Triple sugar iron）

主に腸内細菌科細菌の鑑別に使用する，ブドウ

表 4-2-1　各試験管培地における性状試験と判定方法

培地名	部位	色調	性状試験名	陽性	陰性
TSI 寒天培地	高層	赤	ブドウ糖発酵	黄変	赤
			ガス産生能	亀裂 or 気泡	不変
			硫化水素産生能	黒変	赤
	斜面	赤	乳糖または白糖分解	黄変	赤
LIM 培地	全体	紫	リジン脱炭酸反応	紫	黄色
			運動性	培地全体混濁	穿刺部のみ発育
	上部	紫	インドール	試薬添加後赤変	試薬添加後不変
SIM 培地	全体	淡黄	硫化水素産生能	黒変	不変
			運動性	培地全体混濁	穿刺部のみ発育
	上部	淡黄	IPA 反応	褐色化	不変
			インドール	試薬添加後赤変	試薬添加後不変
VP 半流動培地	全体	淡黄	運動性	培地全体混濁	穿刺部のみ発育
	上部	淡黄	VP 反応	試薬添加後赤変	試薬添加後不変
シモンズ・クエン酸培地	斜面	緑	クエン酸利用能	青変	緑
メラー培地	全体	淡黄	リジン・オルニチン・アルギニン	紫	黄色
クリステンセン尿素培地	全体	黄	尿素分解	赤	黄色
DNA 寒天培地	斜面	濃青	DNase 産生	赤紫色	不変

糖・乳糖・白糖分解，ガス産生，硫化水素の産生の確認培地である。糖分解によって生じた酸はフェノールレッドを酸性色調である黄色に変える。ブドウ糖を分解するが，乳糖・白糖が非分解の場合は高層部のみが黄変する。ブドウ糖が 0.1%しか含まれていないため，斜面部では窒素源の分解によって生じるアルカリ化の程度が勝り黄変しない。乳糖・白糖は 1%含まれているため，乳糖・白糖の両方，またはいずれか一方を分解する菌は，斜面部を黄変させる。ブドウ糖分解によって生じるガスは培地高層部に亀裂をつくる。チオ硫酸ナトリウム，亜硫酸ナトリウム，ペプトン中の含硫アミノ酸（システインなど）の分解によって生じた硫化水素は，硫化第一鉄と反応し黒色の硫化鉄を生じる。

b）LIM 培地（LIM：lysine indole motility）

主に腸内細菌に使用する，リジン脱炭酸酵素（L），インドール産生（I），運動性（M）の確認培地。リジン脱炭酸酵素産生菌では，リジンからカダベリンを生じてブロムクレゾールパープル（BCP）のアルカリ域色調である紫色を呈する。トリプトファンの分解によって生じるインドールは，酸性下でパラジメチルアミノベンズアルデヒドと反応して赤色を生じるため，培養後の培地に Ehrlich 試薬または Kovac's 試薬を添加してこれを確認する。運動性を有する菌は培地全体を混濁させるが，非運動性の菌は穿刺部位のみに発育する。

c）SIM 培地（SIM：sulfide indole motility）

主に腸内細菌に使用する，硫化水素産生（S），インドール産生（I），運動性（M），およびインドールピルビン酸（IPA）反応の確認培地である。チオ硫酸ナトリウムやシステインおよび含硫アミノ酸を多く含むペプトンの分解により生じた硫化水素は，硫酸第一鉄と反応し黒色の硫化鉄を産生する。SIM 培地の硫化水素産生性は感度が高すぎるため，腸内細菌の分類には TSI による結果を用いる。インドールと運動性の機序は LIM 培

地と同様である。IPA 反応陽性菌は，トリプトファンデアミナーゼによりトリプトファンを IPA に分解するため，クエン酸鉄アンモニウムと結合することで培地上層部が褐色を呈する。

d）VP 半流動培地

主に腸内細菌の VP（Voges-Pruskauer）試験の確認培地である。VP 反応はブドウ糖を発酵してアセトイン（アセチルメチルカルビノール）を生じる反応である[2)]。1 日以上培養した培地表面に 5% α ナフトール・アルコール溶液とクレアチン加 40%KOH 水溶液との混合液を加えて軽く振り，1 時間後に試薬層が赤色を呈すれば陽性である。*Y. enterocolitica* は 37℃では陰性だが，25℃では陽性を示すため注意が必要である。本培地では運動性も確認可能である。

e）Simmons クエン酸培地（Simon's citrate agar）

主に腸内細菌におけるクエン酸塩利用能の確認培地。炭素源としてクエン酸ナトリウムのみ，窒素源としてリン酸二水素アンモニウムのみを含む。本培地に発育して BTB のアルカリ域色調である深青色を呈する菌は，クエン酸を唯一の炭素源として利用することを示す[2)]。ただし，リン酸二水素アンモニウムを窒素源として利用できない細菌は，たとえクエン酸塩を利用できたとしても発育しない。

f）メラー培地

リジン，オルニチンのアミノ酸脱炭酸酵素やアルギニンの加水分解酵素を測定する[1)]。リジンではカダベリン，オルニチンではプトレシン，アルギニンではアンモニアの生成を，BCP がアルカリ化で紫色を呈することによって確認する。反応は嫌気的条件化で実施する必要があるため，蓋をきっちり締めるか，流動パラフィンを重層する必要がある。培地中の色素が細菌により還元され判定が困難となる場合があるため，アミノ酸未添加の対照培地を用いると判定しやすい。

g）クリステンセン（Christensen）の尿素培地

被検菌がウレアーゼ（尿素分解酵素）を産生するか否かを検査する確認培地である。ウレアーゼ産生菌は尿素を加水分解するため，それにより生成されたアンモニアによりアルカリ化するため，フェノールレッドにより赤色を呈する。

h）DNA 寒天培地

核酸分解酵素（DNase）産生性の確認培地である。培地に含まれるトルイジン青は本来赤紫色であるが，DNA と結合することで濃青色となる特徴を有する。そのため，DNase 産生菌においては DNA が加水分解されると，オリゴヌクレオチドあるいはモノヌクレオチドと複合体を形成するため，吸収スペクトルが異染性にシフト（メタクロマジー）して赤紫色を呈する。

【簡易同定キットによる鑑別】

簡易同定キットは，酵素反応を主としたさまざまな複数の生化学性状試験を同時に実施できる検査試薬であり，その得られた結果から同定菌名を検索できるキットである。さまざまなキットが市販されており，**表 4-2-2** には主に腸内細菌科を含むグラム陰性桿菌の同定に使用されるキットを記載した。各キットそれぞれの手法や特徴があるた

表 4-2-2　腸内細菌科を含むグラム陰性桿菌の同定キット

キット名	メーカー	検査項目数	接種菌濃度/菌液量	培養温度	培養時間	同定可能菌属/菌種
BBLCRYSTAL E/NF	日本 BD	30	MF 0.25/2.3 mL	35～37℃	18～24h	47 菌属/106 菌種
アピ 20E	ビオメリュー	20	1 コロニー/5 mL	36±2℃	18～24h	45 菌属/116 菌種
ラピッド 20E	ビオメリュー	20	MF 0.5/2 mL	36±2℃	4～4.5h	31 菌属/75 菌種
ID テスト EB-20	日水製薬	20	MF 1.0/2.5 mL	37℃	18～20h	31 菌属/108 菌種
ID テスト EB-9	日水製薬	9	MF 1.0/1.5 mL	35～37℃	18～24h	9 菌属/17 菌種
RapID ONE	アムコ	19	MF 2.0/2 mL	35～37℃	4h	27 菌属/70 菌種

め，当該製品の添付文書などを参照する必要があるが，操作は比較的簡便である。また，得られた性状試験結果は菌種名検索システムを利用することで，初心者でも確率の高い同定菌種名を得ることが可能である。しかしながら，その使用に関してはさまざまなピットフォールが存在する[3]ため，キット使用時には下記の要項に十分留意する必要がある。

①目的とする菌種を対象とする種類のキットを正しく選択する必要がある。菌のグラム染色所見はその選択に必須である。
②キットに応じて前培養には反応阻害成分を含まない培地で実施し，新鮮な株を使用する必要がある。
③カタラーゼ試験やオキシダーゼ試験は必須である。
④菌液調整時にはコンタミネーションがないように注意し，接種菌量も遵守する必要がある。
⑤培養温度，時間などの条件を厳守する。
⑥運動性やガス産生などの性状を判定できない。
⑦同定確率が最も高い菌種が正解とは限らない。推定した菌種と異なる場合には，追加試験や鍵となる性状を確認する必要がある。
⑧色調の判定やコード化の計算のミスに注意する。

【自動分析機による同定】

グラム陰性桿菌の同定には確認培地を用いることが基本であるが，近年は自動機器による同定パネルの使用が普及している。現在わが国ではマイクロスキャン Walkaway シリーズ（ベックマン・コールター），VITEK2 シリーズ（ビオメリュージャパン），BD フェニックス（日本ベクトンディッキンソン），RAISUS（日水製薬）が自動同定機器として市販されている。操作手技は機器の種類により異なるが，対象菌種の集落から菌液を作成し，それを同定パネルに充填するだけの簡単な作業が主となる。一部では菌液を調整してセットするだけで，菌液を機器内で自動的にパネルに分注し，培養を開始する機器も市販されている。操作や接種条件は各機器の添付マニュアルに従う必要がある。同定キットと同様に酵素反応を主とする数多くの生化学性状試験を同時に実施し，各試験の判定やその結果のデータベースとのマッチングに加え，菌名の報告までが自動化されている。そのため，技師が判断する部分が少ないことから，初心者でも確率の高い同定菌種名を簡易に得ることができる。しかしながら，同定キットと同様に自動機器の同定パネル使用に関してもさまざまなピットフォールが存在するため，自動機器使用時にも下記の要項に十分留意する必要がある。

①目的とする菌種を対象とする種類のパネルを正しく選択する必要がある。グラム染色所見はその選択に必須である。
②機器やパネルに応じて前培養には反応阻害成分を含まない培地で実施し，新鮮な株を使用する必要がある。
③菌液調整時にはコンタミネーションがないように注意し，接種菌量も遵守する必要がある。
④運動性やガス産生など機器では判定できない性状が存在する。
⑤同定確率が最も高い菌種が正解とは限らない。推定した菌種やコロニー所見と異なる場合には，追加試験や他法での確認試験を実施する必要がある。
⑥一部の機器では目視による確認ができない機種がある。
⑦同定コストが高いため，感染症の起炎菌にのみ実施すべきである。

文　献

1) Versalovic J, et al. 2011. Manual of Clinical Microbiology (10th Ed). ASM Press, Washington D.C., USA.
2) 坂崎利一．1999．医学細菌同定の手引き（第 3 版）．近代出版，東京．
3) 小栗豊子．2017．臨床微生物検査ハンドブック（第 5 版）．三輪書店，東京．

3 質量分析を用いた同定

【測定原理】

MALDI-TOF MS は，マトリックス支援レーザー脱離イオン化法（MALDI：Matrix Assisted Laser Desorption Ionization）と飛行時間型質量分析計（TOF-MS：Time Of Flight Mass Spectrometry）を組み合わせた測定法である。MALDI-TOF MS で微生物を測定し得られるスペクトルのピークは，主に菌体タンパク質であり，中でも発現量や分子量サイズからリボソームタンパク質が観測されやすい特徴がある。すなわち，微生物のコロニーを MALDI-TOF MS で測定し，得られるマススペクトルは主にリボソームタンパク質を反映しており，データベースの各菌種のマススペクトルとの照合により微生物同定を行う[1)]。

【測定法】

以下にわが国で市販されている 2 機種の特徴について示す[1)]。

a）MALDI Biotyper

被検菌から得られたマススペクトルとデータベースのマススペクトルとのパターンマッチングにより同定する。データベースは，菌株とそのマススペクトルが 1 対 1 であり，MALDI Biotyper ライブラリ Ver7.0.0.0（一般細菌），Ver5.0（抗酸菌），Ver1.0（糸状菌）あわせて，2,783 菌種（一般細菌 2,509 菌種，抗酸菌 164 菌種，真菌 110 菌種）が登録されている。得られた被検菌のマススペクトルとデータベースとの照合結果は，以下の 3 段階で判定する。緑色：スコア値 2.000 以上（種レベルで信頼性の高い結果），黄色：スコア値 1.700～1.999（種レベルでやや信頼度は劣る結果），赤色：スコア値 1.700 未満（未同定）。さらに，検体ごとにスコア値の上位 10 位までランキングとして表示されるが，その整合性を整合性カテゴリとして A～C で表記され，A：種レベルで整合性あり，B：属レベルで整合性あり，C：種・属レベルで整合性なし，と解釈する。

b）VITEK MS

データベースには，標準の「VITEK MS ソフトウェア」とオプションの「MS Plus ソフトウェア」がある。「VITEK MS ソフトウェア」は，Advance Spectra Classifiers（ASC）という微生物同定アルゴリズムを使用している。すなわち，アピや VITEK で培われた数値同定をベースとしており，同一菌種の標準菌株と臨床分離株を多数使用しデータベースを構築している。Ver3.2 では，1,316 菌種（一般細菌 1,046 菌種，抗酸菌 49 菌種，真菌 221 菌種）が登録されている。得られた被検菌のスペクトルはデータベースと照合し，以下の 3 段階で判定する。緑色：単一菌種（信頼度 60％以上），黄色：複数の菌種が候補（2～4 菌種の表示），赤色：未同定。

一方，「MS Plus ソフトウェア」は，今後「VITEK MS ソフトウェア」に搭載予定の微生物として，Ver4.15 には 1,705 菌種（一般細菌 1,247 菌種，抗酸菌 60 菌種，真菌 398 菌種）が登録されている。同定アルゴリズムはパターンマッチング（Reference Spectra（RS））と特殊なピークによる数値の重み付け（SuperSpectra（SSp））の 2 つを有する。このうち RS による判定では白色：候補菌種（相同性 40％以上），SSp では深緑色：単一菌種（信頼度 99.9％以上），緑色：単一菌種（信頼度 99.8～90.0％），黄色：単一菌種（信頼度 89.9～80.0％），白色：単一菌種（信頼度 79.9～75.0％），赤色：複数菌検出（2～4 菌種以上が候補）の 5 段階で判定する。

【注意点】

表 4-3-1 に腸管感染症を引き起こす主な細菌と MALDI Biotyper および VITEK MS による同定上の注意点を示す[2,3)]。*Salmonella* 属は，いずれの機種においても正確な菌種レベルの同定は困難である。*Shigella* 属は，いずれの機種においてもライブラリへの登録がされていない。近年問題となって

表 4-3-1　腸管感染症を引き起こす主な細菌と質量分析による同定上の注意点

腸管感染症を引き起こす主な細菌	MALDI Biotyper リファレンスライブラリ Ver7.0.0.0	VITEK MS Ver3.2 ナレッジベース
Salmonella spp.	属レベルでのみ同定可能	血清検査で確認
Shigella spp.	*E. coli* との鑑別不可，ライブラリへの登録なし	*E. coli* との鑑別不可，ライブラリへの登録なし
下痢原性大腸菌（EPEC，EIEC，ETEC，STEC など）	*E. coli* レベルでの同定のみ可能	*E. coli* レベルでの同定のみ可能
Escherichia albertii	1 株のみ登録あり	同定不可，ライブラリへの登録なし
Yersinia spp.	12 菌種が登録あり，*Y. pseudotuberculosis* と *Y. pestis*（ライブラリ登録なし）は鑑別不可	12 菌種が登録あり，*Y. pestis* と同定された場合は他の同定方法で追加試験を実施
Campylobacter spp.	19 菌種が登録あり	11 菌種が登録あり
Vibrio cholerae	ライブラリへの登録なし	専門機関で同定確認
V. cholerae 以外の *Vibrio* spp.	54 菌種が登録あり	11 菌種が登録あり
Aeromonas spp.	17 菌種が登録あるが菌種間のパターンが類似しているため鑑別不可	10 菌種が登録あり，亜種または菌種群が含まれる可能性がある
Plesiomonas spp.	*Plesiomonas shigelloides* のみ 9 株の登録あるが菌種間のパターンが類似しているため鑑別不可	*Plesiomonas shigelloides* のみ登録
Staphylococcs aureus	同定可能	同定可能
Bacillus cereus	同定可能だが，炭疽菌（ライブラリ登録なし）との鑑別不可	*Bacillus cereus* group として同定可能
Listeria monocytogenes	同定可能であるが，スメア法では鑑別が難しいケースあり	専門機関で同定確認
Clostridium perfringens	同定可能	同定可能
Clostridium botulinum	ライブラリへの登録なし	ライブラリへの登録なし
Providencia alcalifaciens	最新ライブラリには 2 株のみ登録あり	同定可能
Klebsiella oxytoca	同定可能であるが *Raoultella ornithinolytica/planticola/terrigena* とは鑑別不可	同定可能
Brachyspira pilosicoli	同定可能	同定可能
Clostridioides difficile	同定可能	同定可能
Helicobacter pylori	同定可能	同定可能

いる *Escherichia albertii* は，MALDI Biotyper では 1 株のみ登録されているが第 1 候補に *E. albertii* とコールされず，完全に同定できない（多くの場合第 1 候補が *E. coli* となる）ことが確認されている。そのため，上位 10 菌種に本菌が存在していれば疑い，確認試験等を行う必要がある[4]。VITEK MS では，*E. albertii* は登録されていない。その他にも，菌種によっては他の菌種とマススペクトルのパターンが類似するため鑑別が難しい菌種などが含まれている。

また，腸管感染症を引き起こす細菌には，高病原性や感染症法上届け出対象になる細菌が多いため，本菌種と同定された場合は生化学的性状を含めた従来法による確認，あるいは必要に応じ専門機関への同定依頼などの対応が望まれる。

文　献

1) MALDI TOF MS 検査ガイド作業部会編．2017．臨床微生物質量分析計検査法ハンドブック．日本臨床微生物学会，東京．
2) MALDI Biotyper リファレンスライブラリ Ver7.0.0.0.
3) VITEK MS Ver3.2 ナレッジベース．
4) 杵渕貴洋，角谷不二雄，西川浩司ほか．2018．同定に MALDI-TOFMS の使用が有効であった患者由来 *Escherichia albertii* 2 株の細菌学的概要―北海道．IASR 39：84．

4 下痢症の遺伝子検査法

【はじめに】

糞便内には正常細菌叢が 10^{12}個/g 存在するため，健康な糞便から病原体を遺伝子検査で検出しようとする場合，論理的には 10^{6}個/g 以上の病原体がいることが検出の条件になる。健康な糞便でこのレベルの病原体は通常は存在しないので，直接健康糞便の遺伝子検査をする場合，下痢症の病原体は検出できない。一方，下痢症の活性時期は通常 10^{6}個/g に菌数は増加するので，この時期の遺伝子検査の意義はある。

活性時期の下痢便で水溶性に近い場合は，10^{9} から 10^{10}個/g まで総菌数が低下するため，遺伝子検査は 10^{3}/g から 10^{4}/g まで検出感度が上昇するので遺伝子検査の対象となる。これに対して培養検査法での検出は選択培地の選択性と病原体の増殖特性に大きく依存する。好気性菌は通常 10^{8} 個/g 以下しか糞便中に存在しないため，好気培養するだけで 99.99％の嫌気性菌は排除され，分離培地の選択性に加えて，培養条件だけで極めて検出感度がよくなる。SS 寒天培地や TCBS 寒天培地の選択性は優れているため，糞便を 50 μg 培地に接種すれば，その中の 1 個の菌も論理的に検出できるため，糞便 1 g あたりの検出感度は 20 個/g になる。われわれの実測値では *Salmonella* 属の SS 寒天培地での検出感度は 80〜200 個/g 程度であるのできわめて感度が高い。したがって糞便の検査を行う場合，保菌者検索など迅速性を要しない検査は時間をかけて培養検査を行い，緊急に結果を知りたい場合は活性時期の下痢便に限定して遺伝子検査を行うべきだと考える。保菌者や回復期の便を遺伝子検査で実施する場合は，試験管で一定時間増菌培養を行い，遺伝子検査を実施する必要がある。

【糞便の核酸抽出】

糞便には遺伝子増幅の障害になる物質が多くあるので，菌を破壊する前に洗浄操作が必要になる。また，*Vibrio* 属や *Salmonella* 属のように上部消化管で増殖する病原体と大腸末端で増殖する *Campylobacter* 属や *Escherichia*–*Shigella* などでは糞便内の菌の分布が大きく異なる。大腸末端で増殖する *Campylobacter* 属や *Escherichia*–*Shigella* の場合は直腸の粘液に付着しているので直接採便のほうが感度がよくなる。

一般に DNA を増幅するより RNA を増幅する方法が論理的に数百倍，感度が上昇するため，核酸抽出方法としては DNA/RNA の両方に利用できる Guanidium 塩を使って菌体を物理的な破砕する方法が適している。

直接糞便の遺伝子検査を行う場合は，検査の再現性をよくするために 0.5 g を採取し，4.5 mL の PBS buffer（あるいは生理食塩水）に懸濁し，糞便を均一化する。10 倍希釈した懸濁液の 1 mL を遺伝子検査に利用する。

核酸の抽出には，市販の抽出キットがいくつか販売され，一部は自動化されている。グラム陰性菌やウイルスの核酸抽出に最適化されている Qiagen の Stool DNA 抽出キットは広く使用されている。グラム陽性菌や芽胞菌の回収に最適化されたキットやプロトコールは少ないので，採用にあたっては検査する病原体に応じて，最適な方法が異なるので注意を要する。

一般に，糞便には胆汁酸，血液，あるいは塩以外は PCR の阻害になる物質は少なく，これらを除けば容易に核酸が抽出できる。グラム陰性の病原体の核酸抽出は界面活性剤処理で菌体が破壊されるので，そのままフェノール-クロロフォルムでタンパク質を DNA から分離させ，エタノールで DNA を沈殿させる，従来法で十分対応できる。フェノール-クロロフォルムのような有機溶媒を使わず，マグネットで精製する方法も自動化キットには使用されているが，胆汁酸やイオンを多く含む糞便に適用する場合，注意を要する。マグネット吸着法では磁性ビーズに多くはシリカが

コートしてあり，マイナスにチャージした核酸が塩濃度が高い環境でプラスにチャージしたシリカに吸着する仕組みになっている。マイナスチャージの不純物が多い段階で磁性ビーズへ吸着させると核酸の回収率が低下する。

一方，*Listeria* 属，*Clostridium* 属，*Staphylococcus* 属，*Bacillus* 属などグラム陽性，あるいは芽胞を持った病原体も検査の対象とする場合，グラム陰性菌に有効な界面活性剤では十分に破壊できないので，グラム陰性，陽性の両方に適用できるガラスビーズやジルコニアビーズを使用して破壊する。ジルコニアビーズはガラスビーズの 2 倍の密度があるため破砕効率が 2 倍高い。さらにガラスビーズのように核酸を吸着させないという特徴がある。

a）グラム陽性・陰性菌の両方に最適化された下痢便の前処理例

下痢糞便 0.5 g に PBS もしくは生理食塩水 4.5 mL を加え混合する。

*この操作で Eppendorf tube へ安全に糞便懸濁液を移し，糞を均一化することで検査の再現性を上げる。

（1）下痢便の処理

①下痢便懸濁液 1 mL を 2 mL 容積の Eppendof tube に移し，微量遠心機器で 15,000 rpm で 3 分間遠心し，上澄みを捨てる。

*沈殿物に糞便の混入が多い場合（胆汁酸の黄色が強い），1 mL の PBS を加えて再度 step 1 を繰り返す。

②150 μL の Guanidium buffer（RNA と DNA の両方が回収できる）を加え，よく混合し，全量を Beads が入った Screw cap tube に移す。

*Guanidium buffer

4 M guanidium thiocyanate, 25 mM sodium citrate・$2H_2O$, 0.5% sodium laurylsarcosine, 0.1 M beta-mercaptoethanol

③70℃ 10 分間保ち，溶菌を促進する。

*RNA の場合 70℃で処理，DNA の場合も通常 70℃，グラム陽性菌のみを対象とする場合は 90℃がより破砕効率がよい。この操作で無芽胞病原体はほぼ死滅する。

④しっかりと蓋を閉めたのち 1〜2 分間振盪し細菌を破砕する。

*グラム陽性菌を物理破砕する市販装置は，Disruptor Genie（サイエンティフィックインダストリーズ社），multibeads shocker（安井機器），FastPrep（Funakoshi），Smart Smash（Tomy）などがある。破砕装置がない場合，vortex, 1〜2 分間でも RNA 抽出およびグラム陰性菌の DNA 抽出は可能であるが，グラム陽性菌の破砕効率は低下する。

⑤破砕処理後，200 μL の SDS 懸濁液（最終濃度 1%）を加え，再び 70℃ 10 分加温して溶菌を促進する。

⑥400 μL の Buffered phenol-chloroform-isoamyl-alcohol を加え，1 分間ミキサーで振盪，もしくは Vortex したのち 15,000 rpm で 3 分間遠心し，上澄みを粗 DNA 液として回収する。

（2）DNA/RNA の精製

アルコール法もしくは Magnet Beads 法で精製を行う。ここではアルコール法による精製について述べる。

①粗 DNA 液約 200 μL を 2 mL 容積の Eppendorf tube に移し，99〜100%のエタノール 1,000 μL を加え，vortex したのち，15,000 rpm，3 分間遠心し，上澄みを捨てる。

②70% のエタノール 1,000 μL を加え，15,000 rpm，3 分間遠心し，上澄みを pipetting で捨てる。沈殿物（DNA・RNA）を捨てないように上澄みのアルコールを取り除く。

*70% のエタノールを自作する場合は，99〜100%のエタノールに RNase Free の蒸留水を加えて作製する。

③200 μL の RNase Free の蒸留水に懸濁する。

*RNA の増幅：NASBA 法（ビオメリュー，カイノス）や TRC 法（東ソー）を利用する場合は RNase free の水に懸濁しできるだけ速やかに解析を行う。当日検査できない場合は−80C で保存。

*DNA 純度が悪かったり，濃度が濃すぎると

RNA 増幅，および DNA 増幅反応が抑制されるので 2 μL を Nanodrop のような微量吸光度計測機器を使って 260 nm，260/280 の吸光度を記録し，遺伝子増幅に適正な使用量を選択する。

純度は 260/280 nm の比率が 1.7 以上あれば通常は良好，PCR に使用する DNA 濃度は 25〜50 ng/tube が理想的，100 ng/tube 以上に DNA を加えると非特異的バンドが出現し，増幅抑制が起きるので好ましくない。

*シリカコート Magnet Beads キットで精製する方法はバイオメリュー，東洋紡，三光純薬など各社から販売されている。

(3) ウイルス性下痢症の場合

糞便の懸濁液 1 mL を新しい 2 mL の Eppendorf tube に移し，15,000 rpm，5 分，4C，上澄みを等量のポリエチレングリコールが入ったチューブに入れ，氷冷で 90 分，あるいは 4℃で一晩おき，15,000 rpm，20 分間，4℃，上澄みを廃棄する。

沈殿物に細菌の核酸抽出ステップ 2 と同じく 150 μL の Guanidium が入った buffer を加え，さらに 200 μL の SDS 溶液を加えた後，400 μL の Buffered phenol-chloroform-isoamylalcohol（#2）を加え，1 分間ミキサーで振とう，もしくは Vortex したのち 15,000 rpm で 3 分間遠心し，上澄みを DNA・RNA 液として回収する。

【急性下痢症病原体の遺伝子検査】

報告されている遺伝子検査用のプライマーを**表 4-4-1** に掲載した。従来の電気泳動法で確認するプライマーは 150〜400 塩基と増幅 DNA は長いが，**表 4-4-1** には Real time PCR に適した短い増幅 DNA のためにデザインされた報告例を優先的に選択した。増幅条件は機種ごとに少しずつ異なるのでルーチンに実施する前に，陽性コントロールをおいて条件の最適化をはかる必要がある。最も影響を受ける Anealing は通常，50℃，55℃，60℃の 3 点を検討すればよい。PCR 反応液の Mg 濃度も 2 mM，3 mM，4 mM の 3 ポイントで通常はよい。

コンベンショナル PCR では通常 30 サイクル，Capillary を使った Real time PCR では 40〜50 サイクルで実施している。

増幅条件は代表的な PCR では Denature：94℃：1〜2 分，Anealing：50℃〜60℃：10〜20 s，Extension：74℃：30〜60 s が標準的なプロトコールで機種によって最適化が必要になる。

表 4-4-1 の代表的な菌種についてのみ，以下にコメントを記載する。

a）*Salmonella* 属

臨床的に重要な *Salmonella* 属は *S. enterica* にまとめられたので，以前の *S. typhi*, *S. paratyphi* A, *S. enteritidis*, *S. typhimurium* などの菌種と 2,000 種類に及ぶ血清型は *S. enterica* として取り扱われる。これらに共通な遺伝子として使用される 16S rDNA，侵入性遺伝子（invA），腸管毒（stn）の 3 つが汎用されている。16S rDNA は特異性が問題になるので糞便検査では invA, stn が適している。

S. enterica var. Typhi, *S. enterica* var. Paratyphi A, *S. enterica* var. Typhimurium, *S. enterica* var. Enteritidis, *S. enterica* var. Choleraesuis など重要な血清型を識別したい場合，これらが O 抗原と H 抗原で識別されているので，おのおのの遺伝子を組み合わせることである程度の識別ができる（**表 4-4-1**）。われわれは Enterotoxin, Invasion 遺伝子を検出するプライマーを先に使用し，陽性であったときに H 抗原や O 抗原合成遺伝子を使用するといった 2 段階で対応している。H 抗原や O 抗原合成遺伝子は特異性が問題になることがあるので，液体の増菌培地等で培養した液からの検出に利用する程度が最適と考えている。

b）*Escherichia-Shigella*

E. coli と *Shigella* 4 菌種（*S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. sonnei*, *S. boydii*）は遺伝学的には同じ菌種なので 16S rDNA 配列では識別できない。*E. coli* も病原因子では *Shigella* 属と同じ遺伝子を持っている株がたくさんあるので，実質的には病原性遺伝子を識別したほうが急性期下痢症の診断には実用的である。16S rDNA 配列でこのグループだけを検出する特異性を出すのは困難なので，われわ

表 4-4-1(1)　下痢症の原因になる細菌性病原体の検出用プライマー例

病原体（病原因子）	遺伝子略号あるいは遺伝子名	プライマーの向き	プライマー配列（5′—>3′）	Amplicon (bp)	文献
Salmonella enterica（侵入因子）	*invA*：invasion gene	Foward Reverse	GTGAAATTATCGCCACGTTCGGGCAA TCATCGCACCGTCAAAGGAACC	284	1
Salmonellaenterica（腸管毒）	*stn*：enterotoxin	Foward Reverse	CTTTGGTCGTAAAATAAGGCG TGCCCAAAGCAGAGAGATTC	260	2
Salmonella enterica var. Typhi（Vi 抗原調節因子）	*viaB*：Vi gene regulator	Foward Reverse	GTTATTTCAGCATAAGGAG CTTCCATACCACTTTCCG	439	3
Salmonella enterica O9（rfbE）抗原（代表：Var Typhi）*	*trv*（*rfbE*）：O antigen synthetic gene	Foward Reverse	GAGGAAGGGAAATGAAGCTTTT TAGCAAACTGTCTCCCACCATAC	187	4
Salmonella enterica O group D（rfbS）抗原（代表：Var Enteritidis）	*prt*（*rfbS*）：O antigen synthetic gene	Foward Reverse	CTTGCTATGGAAGACATAACGAACC CGTCTCCATCAAAAGCTCCATAGA	258	3
Salmonella enterica 鞭毛抗原 FliC：a（代表：Var Paratyphi A）	*fliC*-a：Phase 1 flagellar antigen	Foward Reverse	AATCAACAACAACCTGCAGCG TAGTGCTTAATGTAGCCGAAGG	329	3
Salmonella enterica 鞭毛抗原 FliC：i（代表：Var Typhimurium）	*fliC*-i：Phase 1 flagellar antigen	Foward Reverse	GCAGATCAACTCTCAGACCCTGGG ATAGCCATCTTTACCAGTTCC	253	5
Salmonella enterica 鞭毛抗原 FliC：d（代表：Var Enteritidis）	*fliC*-d：Phase 1 flagellar antigen	Foward Reverse	CCCGAAAGAAACTGCTGTAACCG TGGATATCAGTATTGCTCTGGGC	109	5
Salmonella enterica 鞭毛抗原 FliC：b（代表：Var Paratyphi B）	*fliC*-b：Phase 1 flagellar antigen	Foward Reverse	GCAGATCAACTCTCAGACCCTGGG CGCACCAGTCYWACCTAAGGCGG	170	5
Escherichia coli EPEC and EHEC（腸管病原性，腸管出血性）	*eaeA*：*E. coli* attaching and e#acing	Foward Reverse	ATGCTTAGTGCTGGTTTAGG GCCTTCATCATTTCGCTTTC	248	6
Shigella dysenteriae and *Escherichia coli* EHEC（腸管出血性）	*stx1*：Shiga like toxin type 1	Foward Reverse	GTCACAGTAACAAACCGTAACA TCGTTGACTACTTCTTATCTGGA	95	7
Shigella dysenteriae and *Escherichia coli* EHEC（腸管出血性）	*stx2*：Shiga like toxin type 2	Foward Reverse	CGACCCCTCTTGAACATA GATAGACATCAAGCCCTCGT	108	7
Escherichia coli ETEC（毒素原性）LT	LT：heat-labile toxin	Foward Reverse	AGCAGGTTTCCCACCGGATCACCA GTGCTCAGATTCTGGGTCTC	132	8
Escherichia coli ETEC（毒素原性）ST	ST：heat-stable toxin	Foward Reverse	GCTAATGTTGGCAATTTTTATTTCTGTA AGGATTACAACAAAGTTCACAGCAGTAA	190	9
Escherichia coli EAEC（腸管凝集性）	*astA*：Heat stable enterotoxin	Foward Reverse	GCCATCAACACAGTATATCC GAGTGACGGCTTTGTAGTCC	106	10
Escherichia coli EAEC（腸管凝集性）	*aggR*：Enteroaggregative adherence	Foward Reverse	AGAGCTGATAACTGAAATGGCCTTT GCAGGGCTGAATTCCATGTAA	82	11
Shigella spp. and *E. coli* EIEC（腸管侵入性）	*virA*：Virulence associated gene	Foward Reverse	CTGCATTCTGGCAATCTCTTCACA TGATGAGCTAACTTCGTAAGCCCTCC	215	12
Yersinia spp.（接着因子）	*yadA*：adhesion	Foward Reverse	TGTTCTCATCTCCATATGC TCCTTTCGCTGCTTCAGCA	203	13

表 4-4-1(1)　つづき

病原体（病原因子）	遺伝子略号 あるいは遺伝子名	プライマー の向き	プライマー配列（5′—>3′）	Amplicon (bp)	文献
Providencia alcalifaciens（DNA Gyrase）	*gyrB*：DNA Gyrase B	Foward Reverse	TCTGCACGGTGTGGGTGTT ACCGTCACGGCGGATTACT	73	11
Plesiomonas shigelloides（DNA Gyrase）	*gyrB*：DNA Gyrase B	Foward Reverse	TTCCAGTACGAGATCCTGGCTAA TGAATCGACACGCCAGAGTTC	68	11
Campylobacter jejuni（DNA Gyrase）	*gyrA*：DNA Gyrase A	Foward Reverse	TGAATCGACACGCCAGAGTTC TGGGTGCTGTTATAGGTCGT	192	14
Vibrio cholerae（腸管毒素）	CT：Enterotoxin	Foward Reverse	ACAGAGTGAGTACTTTGACC ATACCATCCATATATTTGGGAG	308	15
Vibrio parahaemolyticus（耐熱性溶血毒）	*tdh*：thermostable direct hemolysin	Foward Reverse	GGTACTAAATGGCTGACATC CCACTACCACTCTCATATGC	251	16
Vibrio parahaemolyticus（溶血毒）	*trh*：*tdh* related hemolysin	Foward Reverse	GGCTCAAAATGGTTAAGCG CATTTCCGCTCTCATATGC	250	16
Vibrio vulnificus（腸管毒素）	*vvh*：Cytotoxin-enterotoxin	Foward Reverse	TTCCAACTTCAAACCGAACTATGA ATTCCAGTCGATGCGAATACGTG	205	17
Aeromonas hydrophila（腸管毒素）	*ahc*：Cytolytic enterotoxin	Foward Reverse	GGCTGCGAGGGTTATCGTT GAAGCTGTCAGGGTCCAGGTT	81	11
Clostridium perfringens（腸管毒素）	*cpe*：enterotoxin	Foward Reverse	GGTTCATTAATTGAAACTGGTG AACGCCAATCATATAAATTACAGC	154	18
Cryptosporidium parvum	*hsp70*：heat shock protein	Foward Reverse	AAATGGTGAGCAATCCTCTG CTTGCTGCTCTTACCAGTAC	361	19
Cryptosporidium spp.	*hsp70*：heat shock protein	Foward Reverse	CTGTTGCTTATGGTGCTGCTG CCTCTTGGTGCTGGTGGAATA	307	19
Giardia lambria	giardin gene	Foward Reverse	AAGTGCGTCAACGAGCAGCT TTAGTGCTTTGTGACCATCGA	171	19
Giardia lambria	heat shock gene	Foward Reverse	AGGGCTCCGGCATAACTTTCC GTATCTGTGACCCGTCCGAG	163	19
Entamoeba histolytica	SSU rDNA	Foward Reverse	GTACAAAATGGCCAATTCATTCAACG GAATTGATTTTACTCAACTCTAGAG	310	20
Clostridioides difficile toxin B	*cdtB*：Cytotoxin	Foward Reverse	GTGTAGCAATGAAAGTCCAAGTTTACGC CACTTAGCTCTTTGATTGCTGCACCT	204	21
Clostridioides difficile toxin A	*cdtA*：Cytotoxin	Foward Reverse	GGAAGAAAAGAACTTCTGGCTCACTCAGGT CCCAATAGAAGATTCAATATTAAGCTT	252	22
Bacteroides fragilis（腸管毒）	fragilysin：Enterotoxin	Foward Reverse	TGAAGTTAGTGCCCAGATGCAGG GCTCAGCGCCCAGTATATGACC	367	23
Whipple disease agent	16S rDNA	Foward Reverse	GGAATTCCAGAGATACGCCCCCCGCAA CGGGATCCCATTCGCTCCACCTTGCGA	284	24
Whipple disease agent	*hsp65*：heat shock protein	Foward Reverse	AAAGAGGTTGAGACTG ATCGGTTACAAAATAAGC	213	24

れは，より特異性が高い DnaJ 配列を使用して *E. coli* と *Shigella* 4 菌種だけを検出する方法を採用している。

c）*Staphylococcus aureus* と *Clostridium botulinum*

Staphylococcus はさまざまな Enterotoxin を産生する。食中毒と下痢の原因になる遺伝子は**表 4-4-1(2)** に示したように，多種類にわたるため，すべてを一度に実施するのは困難である。われわれは**表 4-4-2(1)**，**(2)** のように dnaJ で幅広くスクリーニングを行い，PCR 陽性の場合に Entero-

表 4-4-1(2)　急性下痢症の原因になる細菌性病原体の遺伝子検出用プライマー例

病原体（病原因子）	遺伝子略号あるいは遺伝子名	プライマーの向き	プライマー配列（5′ >3′）	Amplicon (bp)	文献
Bacillus cereus（幅吐毒）	Cereulide	Foward Reverse	GCCTCACTATTTTGCAGGACGTAT GGTGGTGCGTATTTGCCAAT	74 福島博, 2005	11
Bacillus cereus（溶血毒）	*hblA*：hemolysin	Foward Reverse	GTGCAGATGTTGATGCCGAT ATGCCACTGCGTGGACATAT	319 Hansen BM, 2001	25
Bacillus cereus(非溶血性腸管毒素)	*nhet*：Entero-toxin	Foward Reverse	AGCTTGGAGCGGAGCAGACT GTTGATTTTCCGTAGCCTGGG	435 Hansen BM, 2001	25
Staphylococcus aureus（腸管毒共通）	Enterotoxin	Foward Reverse	TGTATGTATGGAGGTGTAAC TCTTGAACDGTHACHHTTTTYTT	140 Letertre C, 2003	26
Staphylococcus aureus（腸管毒 entA）	*sea*：Entero-toxin A	Foward Reverse	TGTATGTATGGAGGTGTAAC ATTAACCGAAGGTTCTGT	270 Letertre C, 2003	26
Staphylococcus aureus（腸管毒 entB）	*seb*：Entero-toxin B	Foward Reverse	TGTATGTATGGAGGTGTAAC ATAGTGACGAGTTAGGTA	165 Letertre C, 2003	26
Staphylococcus aureus（腸管毒 entC）	*sec1*：Entero-toxin C	Foward Reverse	TGTATGTATGGAGGTGTAAC AATTGTGTTTCTTTTATTTTCATAA	102 Letertre C, 2003	26
Staphylococcus aureus（腸管毒 entD）	*sed*：Entero-toxin D	Foward Reverse	TGTATGTATGGAGGTGTAAC TTCGGGAAAATCACCCTTAA	306 Letertre C, 2003	26
Staphylococcus aureus（腸管毒 entE）	*see*：Entero-toxin E	Foward Reverse	TGTATGTATGGAGGTGTAAC GCCAAAGCTGTCTGAG	213 Letertre C, 2003	26
Staphylococcus aureus（腸管毒 entG）	*seg*：Entero-toxin G	Foward Reverse	TGTATGTATGGAGGTGTAAC GAACCATCAAACTCGTATAG	200 Letertre C, 2003	26
Staphylococcus aureus（腸管毒 entH）	*seh*：Entero-toxin H	Foward Reverse	TGTATGTATGGAGGTGTAAC TCTCTAGGAGTTTTCATATC	245 Letertre C, 2003	26
Staphylococcus aureus（腸管毒 entI）	*sei*：Enterotoxin I	Foward Reverse	TGTATGTATGGAGGTGTAAC CATTATTTAAATGAAATAAAACTTTCCC	289 Letertre C, 2003	26
Staphylococcus aureus（腸管毒 entJ）	*sej*：Enterotoxin J	Foward Reverse	TGTATGTATGGAGGTGTAAC AACCAACGGTTCTTTTGAGG	267 Letertre C, 2003	26
Clostridium botulinum A 型（神経毒）	*bontA*：Neuro-toxin A	Foward Reverse	AGC TAC GGA GGC AGC TAT GTT CGT ATT TGG AAA GCT GAA AAG G	782 Lindstrom M, 2001	27
Clostridium botulinum B 型（神経毒）	*bontB*：Neuro-toxin B	Foward Reverse	CAG GAG AAG TGG AGC GAA AA CTT GCG CCT TTG TTT TCT TG	205 Lindstrom M, 2001	27
Clostridium botulinum E 型（神経毒）	*bontE*：Neuro-toxin E	Foward Reverse	CCA AGA TTT TCA TCC GCC TA GCT ATT GAT CCA AAA CGG TGA	389 Lindstrom M, 2001	27
Clostridium botulinum F 型（神経毒）	*bontF*：Neuro-toxin F	Foward Reverse	CGG CTT CAT TAG AGA ACG GA TAA CTC CCC TAG CCC CGT AT	543 Lindstrom M, 2001	27
Listeria monocyto-genes（溶血毒）	*hly*：listeriolysin O	Foward Reverse	GGGAAATCTGTCTCAGGTGATGT CGATGATTTGAACTTCATCTTTTGC	106 Guilbaud M, 2005	28

toxin を増幅するプライマーを使用する方法をとっている。

S. aureus や *Clostridium botulinum* を最初から毒素遺伝子で検出を試みると，遺伝子多型のある株をスクリーニングできない場合が出てくる。**表 4-4-2** のように dnaJ で幅広く，菌種レベルでスクリーニングを行い，陽性の場合，より特異的な毒素遺伝子を増幅するプライマーで病原性株を確認をとる方法を採用している。*C. botulinum* に特異的な毒素遺伝子を最初から検出することを試みると，A，B，C，D，E，F 型の毒を生産する菌種は分類学的には異なった種，多型のある毒素遺伝子を持っている菌株による食中毒を見逃す場合が出てくる。また，毒素遺伝子は株によって保有して

表 4-4-2(1)　食品をスクリーニングするためプライマーの組み合わせ例

Well	病原体	病原体名	標的遺伝子・タンパク質	増幅(bp)	文献
A	*Staphylococcus aureus*	黄色ブドウ球菌群	*dnaJ*	136	29
	Clostridium perfringens	ウェルシュ菌	16S rDNA group	257	30
B	*Vibrio parahaemolyticus*	腸炎ビブリオ菌	*dnaJ*	126	31
	Clostridium perfringens	ウェルシュ菌（腸管毒）	腸管毒	230	30
C	*Yersinia enterocoltica*	エルシニア・エンテロコリチカ	*dnaJ*	208	32
	Campylobacter jejuni	キャンピロノクター・ジェジュニー	*dnaJ*	107	33，34
D	*Vibrio cholerae*	コレラ菌	*dnaJ*	126	31
	Vibrio vulnificus	ビブリオ・バルニフィカス	*dnaJ*	205	31
E	*Listeria monocytogenes* group	リステリア菌	*dnaJ*	107	28
	Bacillus cereus group	セレウス菌群（幅吐毒）	*Cereulide*：*cesB*	141	11，25
F	*Salmonella* spp.	サルモネラ	InvA	422	1，2
	Clostridium botulinum	ボツリヌス菌（B 型）	B 型神経毒	205	27
G	*Escherichia-Shigella* group	大腸菌・赤痢菌	*dnaJ*	130	32
	Invasive *Escherichia-Shigella* group	侵入性大腸菌・赤痢菌	InvE	293	12，39
H	*Bacillus cereus* group	セレウス菌	非溶血性腸管毒	123	11，25
	Cryptosporidium parvum	クリプトスポリジウム	*HSP70*	357	35，36

いない場合や，菌種枠を超えて別の種が保有している場合がある。

d）*V. cholerae* と *V. parahaemolyticus*

検出に使用する遺伝子は検査目的によって異なる。下痢症の診断が目的であれば 16S rDNA のように特異性が悪い遺伝子は下痢便検査には適していない。また GyrB，Hsp といったハウスキーピング遺伝子も病原因子を保有した株の検査には適していない。たとえばコレラや腸炎ビブリオによる下痢の検査に 16S rDNA を使用すれば 16S rDNA 配列が同じ，類縁菌である *V. mimicus* や *V. alginolyticus* も検出される。特異性が高い gyrB，recA，あるいは dnaJ 31，39，40，43 を使用すればそれぞれ，*V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* を特異的に検出することはできるが，これでも病原性のある株を捕まえたことにはならない。

V. cholerae, *V. parahaemolyticus* の野生株の多くは毒素遺伝子を保有していない。両菌種による下痢を起こす株はそれぞれ，CT 毒素，TDH（あるいは TRH）毒素を保有するかどうかが問題になる。

一方，食品の安全性を調べるスクリーニングに CT 毒素や TDH 毒素を使用すれば食中毒の原因となる株の多くを見逃してしまう。CT 毒素や TDH 毒素を生産しない *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* も食中毒の原因菌として指定されているので，菌種を補足する gyrB，recA，あるいは dnaJ を使って種（species）を検出する遺伝子を使用する必要がある（**表 4-4-2(2)**）。これらを考慮し，われわれは食品中の病原体スクリーニング検査を行う場合は dnaJ 遺伝子で菌種を特定し（**表 4-4-2(1)**），下痢の原因を特定する必要が病原性保有株はそれぞれの病原因子に特異的なプライマーで検出する（**表 4-4-2(2)**）という具合に 2 つの遺伝子を使い分けて使用している。分離菌株を同定する場合には，多くの例では 16S rDNA で十分であるが，糞便中の病原体の検出に使用するには特異性が十分に発揮できないので，より特異性の高い dnaJ 遺伝子や病原性遺伝子を選択する必要がある。

表 4-4-2(2)　下痢病原体のスクリーニングのためのプライマーの組み合わせ例

Well	病原体	病原体名（病原因子）	標的遺伝子・タンパク質	増幅(bp)	文献
A	Invasive *E. coli*/*Shigella*	赤痢菌/侵入性大腸菌群	*InvE*（*virB*）	127	12
	Enterohemorrhagic *E. coli*–*Shigella*	出血性大腸菌群（EHEC）	Shiga 2	272	7
B	Enterotoxigenic *E. coli*	腸管毒素原性大腸菌（ETEC）	LT	297	8
	Enterohemorrhagic *E. coli*–*Shigella*	出血性大腸菌群（EHEC）	Shiga 1	376	7
C	Invasive *E. coli*/*Shigella*	赤痢菌/侵入性大腸菌群	*IpaB*	137	12
	Entamoeba histolytica	赤痢アメーバ	*HSP P30*	217	20
D	*Vibrio parahaemolyticus* group	腸炎ビブリオ	Tdh	368	16
	Escherichia coli	腸管毒素原性大腸菌	ST1	171	9
E	*Vibrio cholerae*	コレラ菌	CTA	494	15
	Clostridium difficile	クロストリジウム・デイフィシル toxin B	Toxin B	340	37，38
F	*Yersinia* group	エルシニア属菌群	接着因子 *yadA*	203	13
	Campylobacter jejuni	キャンピロノクター・ジェジュニー	*cdtA*	107	14，33，34
G	*Invasive E. coli*/*Shigella*	赤痢菌/侵入性大腸菌群	*IpaH*	117	12，39
	Cryptsporidium parvum	クリプトスポリジウム	*HSP70*	357	35，36
H	*Salmonella* spp.	サルモネラ属菌	*InvA*	422	1，2
	Enteroaggregative *E. coli*	腸管凝集性産性大腸菌	EAST1	173	10，11

e）*Bacillus cereus*

B. cereus には嘔吐毒あるいは下痢毒を産生する株が存在する。われわれの生息環境に存在し，しばしば検査材料に混入するため，菌種の同定だけで食中毒や下痢症の事例の原因と判断するのは危険である。病院環境で分離される *B. cereus* は毒素を産生しない株が多いので，嘔吐毒遺伝子の検出あるいは下痢毒の遺伝子の検出が必要になる。ただし，下痢の原因を non-hemolytic enterotoxin で決定するか hemolytic enterotoxin で検出するかは議論が分かれる。non-hemolytic enterotoxin の保有率は 7 割との報告があるが，hemolytic enterotoxin の保有率の大規模な報告は見当たらない。

16S rDNA 遺伝子を使ったプライマーで *B. cereus* の菌種を特定することはできない。この菌種には炭疽菌（*B. anthracis*），*B. thuringensis*，*B. mycoides* など 16S rDNA の配列がほぼ同じ菌種が存在するためである[41,42]。

f）*Campylobacter jejuni*

C. jejuni は *Salmonella* 属と並んで頻度の高い下痢病原体であるが，糞便から直接遺伝子検出を試みても，実験室データと異なり，通常は感度はきわめて低い。小児の下痢では直腸スワブのほうがより検出感度が高くなる。急性下痢症でもこの菌の遺伝子検査は直腸スワブができなければ，増菌培養が必要になる。検出には 16S rDNA 配列は類縁菌との配列が類似し，使用できない。毒素遺伝子，dnaJ，あるいは recA など多型が多い遺伝子を使った検出が必要になる。

【迅速増幅】

遺伝子増幅試薬はキット化され，酵素と dNTP があらかじめ混合した試薬が市販されている。一方，プライマーも**表 4-4-2(1)，(2)** のようにあらかじめチューブに入れておき，使用時に材料から DNA/RNA を抽出し，酵素混合液と混ぜ合わせたのちプライマーセットに入れるだけでよくなったので緊急時の操作性が向上した。

Real time PCR 機器を持っている場合は，プローブがいらない SYBR Green 1 が入った SYBR

表 4-4-3　下痢症病原体の遺伝子検査試薬の一例

検出対象	製品名	製造元	所要時間	測定原理
腸管出血性大腸菌	Loopamp® 腸管出血性大腸菌検出試薬キット	栄研化学	約 1 時間	LAMP 法
	EHEC(VT gene)PCR Screening Set	TaKaRa	約3.5時間	PCR 法
	イージー・PCR クロマト Escherichia coli Shiga 1	エーエムアール	約 40 分	PCR & 核酸クロマト法
	イージー・PCR クロマト Escherichia coli Shiga 2	エーエムアール	約 40 分	PCR & 核酸クロマト法
腸管出血性大腸菌/サルモネラ/赤痢菌	GeneFields EHEC/SS	クラボウ	約 3 時間	PCR & 核酸クロマト法
	TaKaRa 腸管系病原細菌遺伝子検出キット	TaKaRa	約 1 時間	リアルタイム PCR
下痢原性大腸菌 (EHEC, ETEC, EPEC, EIEC, EAEC)	シカジーニアス® 病原遺伝子検出 PCR キット（下痢原性大腸菌）	関東化学	約 3 時間	PCR 法
	カネカ　下痢原性大腸菌検出キット	カネカ	約 2 時間	PCR & 核酸クロマト法
毒素原性大腸菌	毒素原性大腸菌（LT gene）One Shot PCR Kit	TaKaRa	約 4 時間	PCR 法
	毒素原性大腸菌（STh gene) One Shot PCR Kit	TaKaRa	約 4 時間	PCR 法
	毒素原性大腸菌（STp gene) One Shot PCR Kit	TaKaRa	約 4 時間	PCR 法
腸管侵入性大腸菌/赤痢菌	イージー・PCR クロマト Shigella-Invasive E. coli	エーエムアール	約 40 分	PCR & 核酸クロマト法
	赤痢菌および腸管侵入性大腸菌（EIEC）（invE gene）One Shot PCR Kit	TaKaRa	約 4 時間	PCR 法

Premix 酵素 mixture 試薬セットを使用すれば，増幅産物をリアルタイムに確認できる。SYBR Green 1 は二本鎖になった PCR 産物の間に入り込み蛍光色素を出すため，プローブが不要になる。あるいは各種蛍光プローブで増幅産物をリアルタイムに確認することもできる。一方，従来型の PCR の場合，増幅産物を電気泳動で確認する必要がある。数分でできる自動電気泳動機器が数社から販売されているが，自前でゲルを作成して写真撮影を行う方法を採用しているところではさらに 30 分以上の時間がかかる。

増幅 DNA の確認には増幅終了後，DNA チップ法，DNA クロマト法，蛍光ビーズ法が開発されているので，増幅産物の解析方法も今後の普及が期待される。標準的な増幅では 90 分ぐらいで増幅されるが，迅速対応の PCR チューブを使用すれば 20〜30 分で増幅結果が得られる。増幅はさらに迅速化の傾向が高まっており，5〜15 分で増幅が可能な機器も出現しており，リアルタイムでモニターをしなくとも，増幅後に増幅産物を確認する方法でも十分に迅速性は確保できる時代になりつつあるため，安価な遺伝子検査が実現できる可能性が高まっている。

【市販されている検出試薬キットの活用】

近年，各病原体をターゲットとして PCR 法，リアルタイム PCR 法，LAMP 法による検出キットが市販されている（**表 4-4-3**）。検出系として，従来のゲル電気泳動法だけでなく，核酸クロマト法を原理とした試薬も利用できるようになった。さらに，核酸抽出から増幅反応，検出までを 1〜3 時間にすべてを全自動で行うシステム「Sam-

表 4-4-3　つづき

検出対象	製品名	製造元	所要時間	測定原理
キャンピロバクター	Loopamp® カンピロバクター検出試薬キット	栄研化学	約 1 時間	LAMP 法
	イージー・PCR クロマト Campylobacter jejuni	エーエムアール	約 40 分	PCR & 核酸クロマト法
	Campylobacter (cdt gene) PCR Detection and Typing Kit	TaKaRa	約 3 時間	PCR 法
	CycleavePCR® Campylobacter (jejuni/coli) Typing Kit	TaKaRa	約 1 時間	リアルタイム PCR
サルモネラ	Loopamp® サルモネラ検出試薬キット	栄研化学	約 1 時間	LAMP 法
	カネカ　食中毒菌検出キット（サルモネラ一属/O4 群/O7 群/O9 群一）	カネカ	約 2 時間	PCR & 核酸クロマト法
	イージー・PCR クロマト Salmonella spp.	エーエムアール	約 40 分	PCR & 核酸クロマト法
	サルモネラ菌（invA gene）One Shot PCR Kit	TaKaRa	約3.5時間	PCR 法
	CycleavePCR® Salmonella Detection Kit Ver. 2.0	TaKaRa	約 1 時間	リアルタイム PCR
腸炎ビブリオ	腸炎ビブリオ（tdh gene）One Shot PCR Kit	TaKaRa	約 4 時間	PCR 法
	腸炎ビブリオ（trh gene）One Shot PCR Kit	TaKaRa	約 4 時間	PCR 法
	CycleavePCR® Vibrio（tdh gene）Detection Kit	TaKaRa	約 1 時間	リアルタイム PCR
黄色ブドウ球菌	CycleavePCR® Staphylococcus aureus（DnaJ gene）Detection Kit	TaKaRa	約 1 時間	リアルタイム PCR
セレウス菌	Bacillus cereus(CRS gene)PCR Detection Kit	TaKaRa	約 3 時間	PCR 法
	CycleavePCR® Bacillus cereus（CRS gene）Detection Kit	TaKaRa	約 1 時間	リアルタイム PCR
リステリア菌	Loopamp® L. monocytogenes 検出試薬キット	栄研化学	約 1 時間	LAMP 法
	イージー・PCR クロマト Listeria monocytogenes	エーエムアール	約 40 分	PCR & 核酸クロマト法
	CycleavePCR® Listeria monocytogenes（inlA gene）Detection Kit	TaKaRa	約 1 時間	リアルタイム PCR
C. difficile（toxinA/B/binary toxin）	シカジーニアス® 毒素遺伝子検出キット（C. difficile 用）	関東化学	約 3 時間	PCR 法
C. difficile（toxinB）	BD マックス CDIFF	日本 BD	約 2 時間	リアルタイム PCR
C. difficile（toxinB/binary toxin/変異型 *tcdC*）	Xpert C. difficile「セフィエド」	Cepheid	約 1 時間	リアルタイム PCR
ノロウイルス	Loopamp® ノロウイルス GI/G II 検出試薬キット	栄研化学	約 2 時間	LAMP 法
	ノロウイルス RNA 検出試薬® TRCRtest NV-W	東ソー	約1.5時間	TRC 法

ple-to-Result System」も数社から販売されている。

文　献

1) Rahn K, De Grandis SA, Clarks RC, et al. 1992. Amplification of an invA gene sequence of Salmonella typhimurium by polymerase chain reaction as a specific method of detection of Salmonella. Mol Cell Probes 6：271-279.
2) Makino S, Kurazono H, Chongsanguam M, et al. 1999. Establishment of the PCR system specific to Salmonella spp. and its application for the inspection of food and fecal samples. J Vet Med Sci 61：1245-1247.
3) Hirose K, Itoh KI, Nakajima H, et al. 2002. Selective amplification of tyv（rfbE), prt（rfbS), viaB and fliC genes by multiplex PCR for identification of Salmonella enterica serovars Typhi and Paratyphi A. J Clin Microbiol 40：633-636.
4) Sha DH, Park JH, Cho MR, et al. 2005. Alle-specific PCR method based on rfbS sequence for distinguishing Salmonella gallinarum from Salmonella pullorum：serotype-specific rfbS sequence polymorphism. J Microbiolog Methods 60：169-177.
5) Herrera-Leon S, McQuiston JR, Usera MA, et al. 2004. Multiplex PCR for distinguishing the most common phase-1 flagellar antigens of Salmonella spp. J Clin Microbiol 42(6)：2581-2586.
6) Wang G, Clark CG, Rodgers FG. 2002. Detection in Escherichia coli of the genes encoding the major virulence factors, the genes defining the O157：H7 serotype, and components of the type 2 Shiga toxin family by multiplex PCR. J Clin Microbiol 40：3613-3619.
7) Jothikumard N, Griffiths MW. 2002. Rapid detection of Escherichia coli O157：H7 with multiplex real-time PCR assays. Appl Environ Microbiol 68：3169-3171.
8) 伊藤文明，荻野武雄，伊藤健一郎ほか．1992．混合プライマーを用いた PCR による下痢原性大腸菌の病原遺伝子の同時検出法．日本臨床 50 特別号：343-347.
9) Franck SM, Bosworth BT, Moon HW. 1998. Multiplex PCR for enterotoxigenic, attaching and effacing, and Shiga toxin-producing Escherichia coli strains from calves. J Clin Microbiol 36：1795-1797.
10) Yatsuyanagi J, Saito S, Sato H, et al. 2002. Characterization of enteropathogenic and enteroaggregative Escherichia coli isolated from diarrheal outbreaks. J Clin Microbiol 40：294-297.
11) 福島博，角森ヨシエ．2005．リアルタイム PCR 法による食中毒菌の迅速スクリーニングの検討．感染症誌 79：644-655.
12) Villalobo E, Torres A. 1998. PCR for detection of Shigella spp. in mayonnaise. Appl Environ Microbiol 64：1242-1245.
13) Fukushima H, Tsunomori Y, Seki R. 2003. Duplex real-time SYBR Green assays for detection of 17 species of food-or waterborne pathogens in stools. J Clin Microbiol 41：5134-5146.
14) Wilson DL, Abner SR, Newman TC, et al. 2000. Identification of ciprofloxacinresistant Campylobacter jejuni by use of a fluorogenic PCR assay. J Clin Microbiol 38：3971-3978.
15) Nair GB, Shimada T, Kurazono H, et al. 1994. Characterization of phenotypic, serological, and toxigenic traits of Vibrio cholerae O139 Bengal. J Clin Microbiol 32：2775-2779.
16) 西斑光昭，竹田美文，多田淳，大橋鉄雄，西村直行，尾崎博子ほか．1992．PCR による腸炎ビブリオの耐熱性溶血毒遺伝子および類似毒素遺伝子の検出法．日本臨床 50：348-352.
17) Panicker G, Myers ML, Bej AK. 2004. Rapid ditection of Vibrio vulnificus in shellfish and Gulf of Mexico water by real-time PCR. Appl Environ Microbiol 70：498-507.
18) 加藤直樹，Shin-Moo K，加藤はる，ほか．1993．Polymerase chain reaction によるエンテロトキシン産生性 Clostridium perfringens の同定．感染症誌 67：724-729.
19) Kaucner C, Stinear T. 1998. Sensitive and Rapid Detection of Viable Giardia Cysts and Cryptosporidium parvum Oocysts in Large-Volume Water Samples with Wound Fiberglass Cartridge Filters and Reverse Transcription-PCR. Appl Environ Microbiol 64(11)：4627.
20) Calderaro A, Gorrini C, Bommezzadri S, et al. 2006. Entamoeba histolytica and Entamoeba dispar：comparison of two PCR assays for diagnosis in a non-endemic setting. Trans R Soc Trop Med Hyg 100(5)：450-457.
21) Kato H, Kato N, Watanabe K, et al. 1988. Identification of toxin A-negative, toxin B-positive Clostridium difficile by PCR. J Clin Microbiol 36：2178-2182.
22) Kato N, Ou CY, Kato H, et al. 1991. Identification of toxigenic Clostridium difficile by the polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 29：33-37.
23) Shetab R, Cohen SH, Prindiville T, et al. 1998. Detection of Bacteroides fragilis enterotoxin gene by PCR. J Clin Microbiol 36(6)：1729-1732.
24) Sloan LM, Rosenblatt JE, Cockerill FR 3rd. 2005. Detection of Tropheryma whipplei DNA in clinical specimens by LightCycler real-time PCR. J Clin Microbiol 43(7)：3516-3518.
25) Hansen BM, Hendriksen NB. 2001. Detection of enterotoxic Bacillus cereus and Bacillus thuringiensis strains by PCR analysis. Appl Environ Microbiol 67(1)：185-189.
26) Letertre C, Perelle S, Dilasser F, et al. 2003. Detection and genotyping by real-time PCR of the staphylococcal enterotoxin genes sea to sej. Mol Cell Probes 17(4)：139-147.
27) Lindstrom M, Keto R, Markkula A, et al. 2001. Multiplex PCR assay for detection and identification of Clostridium botulinum types A, B, E, and F in food and fecal material. Appl Environ Microbiol 67(12)：5694-5699.
28) Guilbaud M, de Coppet P, Bourion F, et al. 2005. Quantitative detection of Listeria monocytogenes in biofilms by real-time PCR. Appl Environ Microbiol 71(4)：2190-2194.
29) Shah MM, Iihara H, Noda M, et al. 2007. dnaJ gene sequence-based assay for species identification and phylogenetic grouping in the genus Staphylococcus. Int J Syst Evol Microbiol 57：25-30.
30) Shandera WX, Tacket CO, Blake PA. 1983. Food poisoning due to Clostridium perfringens in the United States. J Infect Dis 147：167-170.
31) Nhung PH, Shah MM, Ohkusu K, et al. 2007. dnaJ gene as a novel phylogenetic marker for identification of Vibrio species. Syst Appli Microbiol 30：309-315.
32) Nhung PH, Ohkusu K, Mishima N, et al. 2007. Phylogeny and species identification of the family Enterobacteriaceae based on dnaJ sequences. Diag Microbiol Infect Dis 58：153-161.
33) Lund M, Nordentoft S, Pedersen K, et al. 2004. Detection of Campylobacter spp. in chicken fecal samples by real-time PCR. J Clin Microbiol 42：5125-5132.
34) Collins E, Glennon M, Hanley S, et al. 2001. Evaluation of a

PCRDNA probe colorimetric membrane assay for identification of Campylobacter spp. In human stool specimens. J Clin Microbiol 39：4163-4165.
35）Xiao L, Fayer R, Ryan U, et al. 2004. Cryptosporidium taxonomy：recent advances and implications for public health. Clin Microbiol Rev 17：72-97.
36）Hunter PR, Stephen J, Hadfield SJ, et al. 2007. Subtypes of Cryptosporidium parvum in humans and disease risk. Emerg Infect Dis 3：82-88.
37）Kato, H, Kato N, Watanabe K. 1988. Identification of toxin A-negative, toxin B-positive Clostridium difficile by PCR. J Clin Microbiol 36：2178-2182.
38）加藤はる，加藤直樹．2002．Clostridium difficile 感染症と細菌学的検査．日臨微生物誌 12：115-122.
39）Wang RF, Cao WW, Cerniglia CE. 1997. A universal protocol for PCR detection of 13 species of foodborne pathogens in foods. J Appl Microbiol 83：727-736.
40）Dauga C. 2002. Evolution of the gyrB gene and the molecular phylogeny of Enterobacteriaceae：A model molecule for molecular systematic studies. Int J Syst Evol Microbiol 52：531-547.
41）Ehling-Schulz M, Vukov N, Schulz A, et al. 2005. Identification and partial characterization of the nonribosomal peptide synthetase gene responsible for cereulide production in emetic. Bacillus cereus. Appl Environ Microbiol 71：105-113.
42）Toh M, Moffitt MC, Henrichsen L, et al. 2004. Cereulide, the emetic toxin of Bacillus cereus, is putatively a product of nonribosomal peptide synthesis. J Appl Microbiol 97：992-1000.
43）Yamamoto K, Ichinohe Y, Shinagawa H, et al. 1990. Two-step processing for activation of the cytolysin hemolysin of Vibrio cholerae El Tor：nucleotide sequence of the structural gene（hlyA）and characterization of the processed product. Infect Immun 58：4106-4116.

参考図書（表に記載していない下痢病原体関連文献）

黄色ブドウ球菌-Staphylococcas aureus
Brakstad OG, Aasbakk K, Maeland JA. 1992. Detection of Staphylococcus aureus by polymerase chain reaction amplification of the nuc gene. J Clin Microbiol 30：1654-1660.
Martineau F, Picard FJ, Roy PH, et al. 1998. Species-specific and ubiquitous-DNA-based assays for rapid identification of Staphylococcus aureus. J Clin Microbiol 36：618-623.
エロモナス-Aeromonas spp.
Chopra AX, Houston CW, Peterson JW, et al. 1993. Cloning, expression, and sequence analysis of a cytolytic enterotoxin gene from Aeromonas hydrophila. Can J Microbiol 39：513-523.
Nhung PH, Hata H, Ohkusu K, et al. 2007. Use of the novel phylogenetic marker dnaJ and DNA-DNA hybridization to clarify interrelationships within the genus Aeromonas. Int J Syst Microbiol 57：1231-1237.
腸管凝集性大腸菌
Nataro JP, Yikang D, Giron JA, et al. 1993. Aggregative adherence fimbria I expression in enteroaggregative Escherichia coli requires two unlinked plasmid regions. Infect Immun 61：1126-1131.
小林一寛，勢戸和子，八柳潤ほか．2002．下痢原性大腸菌における付着因子保有状況とそれに基づく大腸菌検査法の一考察．感染症誌 76：911-920.
プロビデンシア-Providencia alcalifaciens
Murata T, Iida T, Shiomi Y, et al. 2001. A large outbreak of foodborne infection attributed to Providencia alcalifaciens. J Infect Dis 184：1050-1055.

5 薬剤感受性検査（腸管感染症に関連する事項）

【はじめに】

腸管感染症は日常診療の現場で頻繁に遭遇する非常にコモンな感染症である。本感染症は一般細菌，ウイルスおよび原虫が病原体となるが，特に一般細菌が病原体となる場合，つまり腸管感染症にかぎり薬剤感受性検査を実施し，その結果を基に抗菌薬治療方針が決定される。しかし，腸管感染症の多くは脱水に対する補液など対症療法のみで軽快するため，抗菌薬治療を必要とする例は重症感染症例などに限られていることに留意しておく必要がある[1~2]。一方，近年フルオロキノロン系抗菌薬に耐性を示す腸内細菌科細菌や *Campylobacter jejuni*，基質拡張型βラクタマーゼ（ESBL）を産生し多剤耐性を示す *Salmonella* 属や *Shigella* 属などさまざまな耐性メカニズムを保有する株の出現が多く報告されている[3~5]。したがって，顕微鏡検査や分離培養検査などで**表 4-5-1** に示すような腸管感染症原因細菌を検出し，それが腸管感染症の汎用治療薬であるフルオロキノロン系抗菌薬などに耐性を示す可能性がある場合には，特に薬剤感受性検査を実施する意義が高い。また，このような薬剤感受性検査実施基準については定められたものがないため，臨床検査技師がその薬剤感受性検査実施の必要性を判断する必要があり，特に *Salmonella* Typhi による重症症例などではいち早くその結果を報告することが重要である。

本稿では，主に腸管感染症を対象とした薬剤感受性検査を実施および報告する際に知っておくべき知識および注意点について述べる。

【薬剤感受性検査の概要】

薬剤感受性検査は，主に希釈法（特に微量液体希釈法）およびディスク拡散法の２つの方法が広く使用されている[6~8]。

さらに，微量液体希釈法は CLSI 法および日本化学療法学会標準法の主に２通りの方法がある。実際，多くの日常検査業務では，これら標準法に準拠した薬剤感受性測定用マイクロプレート（栄研化学株式会社ドライプレート® やフローズンプレート® など）を使用した微量液体希釈法にて測定している検査室が多い。本方法はあらゆる菌種に対応可能であり，また最小発育阻止濃度（MIC）が測定可能であるため，精密な薬剤感受性検査が実施可能である。しかし，測定薬剤が自由に組み合わせられない点が欠点としてあげられる。

一方，ディスク拡散法は CLSI が提唱している方法が主に使用される。ディスク拡散法は安価に実施可能であり，測定薬剤が自由に組み合わせることが可能である。しかし，その精度不良の性質より，測定できない薬剤や菌種が存在する点が欠点としてあげられる。

薬剤感受性検査を実施する際は，それぞれの標準的な操作手順を遵守することが重要であり，その薬剤ディスクや測定用マイクロプレートの精度管理も厳密に行われる必要がある。本稿では，CLSI に準拠した詳細な操作手順や精度管理の方法については割愛するので，成書を参照されたい[6,7]。

【薬剤感受性検査の実施対象薬剤およびその方法】

各種腸管感染症原因細菌における各種ガイドライン推奨治療薬剤と CLSI が提唱する薬剤感受性検査実施対象薬剤を**表 4-5-1**，そしてその実施方法の概要を**表 4-5-2** に示す。腸管感染症原因細菌に対する推奨治療薬は，国内では日本感染症学会および日本化学療法学会が発刊している JAID/JSC 感染症治療ガイドライン，海外ではサン

表 4-5-1　各種腸管感染症原因細菌における各種ガイドライン推奨治療薬剤と CLSI が提唱する薬剤感受性検査実施対象薬剤

菌種	国内外ガイドラインにおける推奨薬剤		CLSI ドキュメント	備考
	JAID/JSC 感染症治療ガイド 2015	サンフォード感染症治療ガイド		
腸内細菌目				
Salmonella Typhi/ Paratyphi A	①CTRX, LVFX[a] ②AZM	CTRX, AZM, CP, CPFX[a], LVFX[a]	ABPC, Flu, ST, AZM, CTRX[b], CP[b]	
その他の *Salmonella* 属	①LVFX, TFLX, CPFX ②CTRX, AZM	①CPFX, LVFX ②AZM	ABPC, Flu, ST, AZM	—
Shigella 属	①LVFX, CPFX ②AZM	①CPFX ②AZM, CTRX[c]	ABPC, Flu, ST, AZM	
Escherichia coli/albertii	Flu[d], FOM[d]	AZM	—	
Yersinia 属	①LVFX, CPFX ②CTRX, AZM	DOXY と Ag の併用, Flu, ST	—	
Plesiomonas shigelloides	①LVFX, CPFX ②CTRX, AZM	①CPFX ②ST	—	
Campylobacter jejuni/coli	CAM, AZM, EM	①AZM ②EM, CPFX	CPFX, EM, TC	—
Vibrio cholerae	①LVFX, CPFX ②AZM	DOXY, TC, AZM[e,f], EM[f]	ABPC, AZM, CP, TC または DOXY, ST	—
その他の *Vibrio* 属	①LVFX, CPFX ②CTRX, AZM	Flu, DOXY, CTRX	CTX, CAZ, Flu, TC または DOXY	—
Aeromonas 属	①LVFX, CPFX ②CTRX, AZM	①CPFX ②ST	第 3 および 4 世代 Ceph, Flu, ST	—
Clostridioides difficile	①MNZ ②VCM	MNZ, VCM	—	日常的に検査不要
Helicobacter pylori	—	AMPC, CAM, MNZ	CAM	日常的に検査不要

ABPC：アンピシリン，AMPC：アモキシシリン，AZM：アジスロマイシン，CAM：クラリスロマイシン，CAZ：セフタジジム，CTRX：セフトリアキソン，CP：クロラムフェニコール，CPFX：シプロフロキサシン，DOXY：ドキシサイクリン，EM：エリスロマイシン，FOM：ホスホマイシン，LVFX：レボフロキサシン，MNZ：メトロニダゾール，ST：ST 合剤，TC：テトラサイクリン，TFLX：トスフロキサシン，VCM：バンコマイシン，Ceph：セファロスポリン系抗菌薬，Ag：アミノグリコシド系抗菌薬，Flu：フルオロキノロン系抗菌薬

[a]アジアでの耐性化が問題視されているが，感受性があれば使用可能

[b]腸管外感染症のときに推奨される

[c]小児感染症の重症例のときに推奨される

[d]現時点で抗菌薬を用いた治療に対しての推奨は統一されていない

[e]小児感染症のときに推奨される

[f]妊婦感染症のときに推奨される

＜文献 1，2，6，7）を参照し作成＞

フォード感染症治療ガイドによって主に提唱されている[1,2]。それらに基づく治療薬や CLSI が各種ドキュメントにおいて提唱する薬剤感受性検査実施対象薬剤を考慮し，各施設で測定薬剤を決定する必要がある。

また，実施方法としては各菌種によって使用培地および方法，菌液調整方法，培養環境および時間が異なるため，**表 4-5-2** を参考のうえ，最適条件下で実施する必要がある。特に *Campylobacter jejuni/coli* における薬剤感受性検査の培養条件は，微量液体希釈法の場合 36〜37℃ 48 時間または 42℃ 24 時間どちらかでよいが，ディスク拡散法では 2016 年に発刊された M45 3rd ed. から 42℃ 24 時間のみとなっているなど，さまざまなエビデンスから一部変更となることがあるので，つねに新しいドキュメントを確認し，より質の高い薬剤感受性検査結果を提供することを心がける必要がある。

【CLSI における各菌種ブレイクポイントおよびその判定時の注意点】

CLSI が提唱する各腸管感染症原因細菌におけ

表 4-5-2　各種腸管感染症原因細菌における薬剤感受性検査実施方法の概要

菌種	希釈法			ディスク拡散法		
	使用培地と方法	菌液調整	培養方法	使用培地	菌液調整	培養方法
腸内細菌目 *Salmonella* 属 *Shigella* 属 *Escherichia coli/albertii* *Yersinia* 属 *Plesiomonas shigelloides*	CAMHB を用いた微量液体希釈法	増殖法または直接集落懸濁法 McF0.5	35±2℃ 好気環境 16～20 時間	MHA	増殖法または直接集落懸濁法 McF0.5	35±2℃ 好気環境 16～18 時間
Campylobacter jejuni/coli	LHB(2.5～5%)加CAMHBを用いた微量液体希釈法	直接集落懸濁法 McF0.5	36～37℃ 48時間 42℃ 24時間 微好気環境	BMHA[a]	直接集落懸濁法 McF0.5	42℃ 24時間 微好気環境
Vibrio 属	CAMHB を用いた微量液体希釈法	増殖法または直接集落懸濁法 McF0.5 0.85% NaCl加	35±2℃ 好気環境 16～20 時間	MHA	増殖法または直接集落懸濁法 McF0.5 0.85% NaCl加	35±2℃ 好気環境 16～18 時間
Aeromonas 属	CAMHB を用いた微量液体希釈法	直接集落懸濁法 McF0.5	35℃ 好気環境 16～20 時間	MHA	直接集落懸濁法 McF0.5	35℃ 好気環境 16～18 時間
Clostridioides difficile	ヘミン（5 μg/mL），ビタミン K_1（1 μg/mL）＋LHB（5%）を含むブルセラ寒天培地を用いた寒天平板希釈法	増殖法または直接集落懸濁法 McF0.5	36±1℃ 42～48 時間 嫌気環境	—	—	—
Helicobacter pylori	2 週間以上経過したヒツジ血液 5%を含む MHA を用いた寒天平板希釈法	72 時間血液寒天培地上で培養した集落から生食調整液にて McF2.0 に調整	35±2℃ 72時間 微好気環境	—	—	—

CAMHB：2 価イオン調整ミューラーヒントンブロス，MHA：ミューラーヒントン寒天培地，LHB：ウマ溶血血液，BMHA：5%ヒツジ血液加ミューラーヒントン寒天培地
[a]使用前に 35℃ 15 分で培地表面をしっかり乾燥させる
<文献 6，7）を参照し作成>

る薬剤感受性検査判定ブレイクポイントを**表 4-5-3** に示す。まず，判定時に最も注意すべき点は *Shigella* 属および *Salmonella* 属は *in vitro* でアミノグリコシド，第一世代および第二世代セファロスポリンおよびセファマイシンが感性を示した場合でも，臨床的に無効であるため感性と報告しないことが挙げられる。この事項は CLSI ドキュメントにおいて「WARNING（警告）」として記載されている。またその他特筆すべきコメントとして，*Shigella* 属および *Salmonella* 属は，ABPC，フルオロキノロン系抗菌薬および ST 合剤のみ日常的に検査し報告することや CP および第 3 世代セファロスポリンについて *Salmonella* 属腸管外感染症症例で分離された場合に報告することなどがコメントされている。また，2016 年以前 *Salmonella* 属に対するディスク拡散法を用いたフルオロキノロン耐性判定としてナリジクス酸を用いた方法が推奨されていたが，現在は廃止されている。

【おわりに】

本稿では各種腸管感染症原因細菌に対する薬剤感受性実施対象薬剤，実施方法およびその判定方法について概説した。特に重症感染症症例では薬剤感受性検査結果は重要な情報となるため，正しい手順および知識を得たうえで迅速な報告を心がけ，積極的な感染症治療への介入が望まれる。

表 4-5-3　各種腸管感染症原因細菌における薬剤感受性検査判定ブレイクポイント

菌種	MIC（μg/mL）				ディスク（mm）			備考
	薬剤	感性（S）	中間（I）	耐性（R）	感性（S）	中間（I）	耐性（R）	
Enterobacteriaceae	ABPC	≤8	16	≥32	≥17	14-16	≤13	
Salmonella 属	CPFX	≤1	2	≥4	≥21	16-20	≤15	*Salmonella* 属は除く
Shigella 属	LVFX	≤2	4	≥8	≥17	14-16	≤13	*Salmonella* 属は除く
Escherichia coli/albertii	ST	≤2/38	—	≥4/76	≥16	11-15	≤10	
Yersinia 属	AZM	≤16	—	≥32	≥13	—	≤12	
Plesiomonas shigelloides	CTRX	≤1	2	≥4	≥23	20-22	≤19	*Salmonella* 属では腸管外感染症時のみ
	CP	≤8	16	≥32	≥18	13-17	≤12	*Salmonella* 属では腸管外感染症時のみ
	DOXY	≤4	8	≥16	≥14	11-13	≤10	
	FOM	≤64	128	≥256	≥16	13-15	≤12	
Salmonella 属	CPFX	≤0.06	0.12-0.5	≥1	≥31	21-30	≤20	*Salmonella* 属のフルオロキノロン耐性評価は CPFX の MIC 法で判断するのがもっとも望ましい。
	LVFX	≤0.12	0.25-1	≥2	—	—	—	
Campylobacter jejuni/coli	EM	≤8	16	≥32	≥16	13-15	≤12	
	CPFX	≤1	2	≥4	≥24	21-23	≤20	AZM は EM の結果から予測可能
	TC	≤4	8	≥16	≥26	23-25	≤22	
Vibrio 属（*V. cholerae* 含む）	ABPC	≤8	16	≥32	≥17	14-16	≤13	
	AZM	≤2	—	—	—	—	—	データ少数のため有用性不明確
	CP	≤8	16	≥32	≥18	13-17	≤12	
	TC	≤4	8	≥16	≥15	12-14	≤11	
	DOXY	≤4	8	≥16	—	—	—	データ少数のため有用性不明確
	ST	≤2/38	—	≥4/76	≥16	11-15	≤10	
その他の *Vibrio* 属	CTX	≤1	2	≥4	≥26	23-25	≤22	
	CAZ	≤4	8	≥16	≥21	18-20	≤17	
	CPFX	≤1	2	≥4	≥21	16-20	≤15	
	LVFX	≤2	4	≥8	≥17	14-16	≤13	
Aeromonas 属	CTX	≤1	2	≥4	≥26	23-25	≤22	
	CTRX	≤1	2	≥4	≥23	20-22	≤19	
	CFPM	≤2	4-8	≥16	≥25	19-24	≤18	
	CPFX	≤1	2	≥4	≥21	16-20	≤15	
	LVFX	≤2	4	≥8	≥17	14-16	≤13	
	ST	≤2/38	—	≥4/76	≥16	11-15	≤10	
Clostridioides difficile	VCM	≤2	—	≥4	—	—	—	epidemiological cutoff value（ECV）
	MNZ	≤8	16	≥32	—	—	—	
Helicobacter pylori	CAM	≤0.25	0.5	≥1	—	—	—	このブレイクポイントはプロトンポンプ阻害薬および CAM 以外の抗菌薬を複数投与した場合に効果を示す基準とする。

ABPC：アンピシリン，AZM：アジスロマイシン，CAM：クラリスロマイシン，CAZ：セフタジジム，CFPM：セフェピム，CTRX：セフトリアキソン，CTX：セフォタキシム，CP：クロラムフェニコール，CPFX：シプロフロキサシン，DOXY：ドキシサイクリン，EM：エリスロマイシン，FOM：ホスホマイシン，LVFX：レボフロキサシン，MNZ：メトロニダゾール，ST：ST 合剤，TC：テトラサイクリン，VCM：バンコマイシン

<文献 6，7）を参照し作成>

文　献

1）JAID/JSC 感染症治療ガイド・ガイドライン作成委員会．2016．JAID/JSC 感染症治療ガイドライン 2015―腸管感染症―．日化療会誌 64：31-65．
2）David NG, Henry FC, George ME, et al. 2018. The sanford guide to antimicrobial therapy 2018 48th edision.
3）Smith KE, Besser JM, Hedberg CW, et al. 1999. Quinolone-resistant *Campylobacter jejuni* infections in Minnesota, 1992-1998. N Engl J Med 340：1525-1532.
4）Glyn MK, Bopp C, Dewitt W, et al. 1998. Emergence of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype typhimurium DT104 infections in the United States. N Engl J Med 338：1333-1338.
5）Olsen SJ, DeBess EE, McGivern TE, et al. 2001. A nosocomial outbreak of fluoroquinolone-resistant Salmonella infection. N Engl J Med 344：1572-1579.
6）Clinical and Laboratory Standards Institute. 2016. Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria；CLSI M45 3rd Edition. CLSI, Wayne, USA.
7）Clinical and Laboratory Standards Institute. 2018. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing；CLSI M100 28th Edition. CLSI, Wayne, USA.
8）日本化学療法学会抗菌薬感受性測定法検討委員会報告．1993．微量液体希釈法による MIC 測定法．日化療会誌 41：184-189．

第５章

検査の精度管理

1 精度管理

【はじめに】

精度管理は，臨床検査の全分野において一定品質の臨床検査サービスを提供するために必須である。

精度管理を含む臨床検査の品質マネジメントには，ISO 15189 による第三者評価がある。ISO 15189 は臨床検査室の品質と能力に関する国際規格であり，臨床検査サービスの品質を維持し，継続的に改善することを求めている。

糞便の微生物検査は，目的とする病原体が細菌，ウイルス，原虫まで幅広く対応しなければならないことから，使用する培地や試薬の種類が多い。検査においては，多数の腸管内常在菌の中から病原体を検出しなければならない。検体は適正に採取されたもののみを受け付け，性能が確認されている培地，試薬および検査機器を使用し，検査結果は妥当性を含めて確認後に報告されなければならない。臨床検査技師はトレーニングにより，一定以上のレベルにあるとスキルを評価されている必要がある。

本章では，ISO 15189 の要求事項に沿った糞便の微生物検査における精度管理について述べる。

【ISO 15189に基づいた臨床検査室の管理】

ISO 15189[1]は 5 つの章からなっており，1 章は適用範囲（臨床検査室の品質と能力に関する要求事項），2 章は引用規格（ISO 15189 の文書の適用に関わる企画文書），3 章は用語および定義，4 章は管理上の要求事項，5 章は技術的要求である。したがって，要求事項は 4 章と 5 章に記述されている。

ここでは技術的要求事項である 5 章に基づいた臨床検査室の管理内容（**表 5-1**）[1,2]を，糞便検査と関連付けて述べ，一部の糞便検査に特有な管理内容は分けて後述（「糞便の微生物検査における具体的管理方法」）した。

a）要員

要員とは臨床検査部に属する全スタッフを指す。臨床検査部門は，一定品質以上の検査結果を提供するため，要員の教育および力量の評価を継続的に行うプログラムを提供しなければならない。

■要員の指導・教育のためのプログラムの使用[3]

微生物検査室を含む臨床検査部全体において，要員を指導・教育するため以下の 4 種を準備するのがよい。すなわち，①教育カリキュラム・評価表，②指導プログラム，③指導に対する評価表，④業務可能範囲，である。

①教育カリキュラム・評価表は，一般教育目標（General Instructional Objectives：GIO）と具体的教育目標（Specific Behavioral Objectives：SBO）からなり，日常の検査業務の実施に必要な知識と技術を網羅する。トレーニング者は訓練終了後に到達度を自己評価し，指導担当による客観評価を受ける。自己評価と客観評価にズレが生じた SBO は両者でディスカッションし，訓練の追加実施と評価を繰り返す。

②指導プログラムは，教育カリキュラム・評価表による訓練の順序とスケジュールが示されたものである。トレーニング者と指導担当者は，プログラムをもとに訓練を実施する。

③指導に対する評価表は，トレーニング者が②に基づいて①の内容に関する指導を受けたか，また指導は必要かつ十分であったかを評価するものである。指導者の育成に利用する双方向のツールである。

④業務可能範囲は，訓練終了後に①～③をもとに，検査室責任者によるトレーニング者の日常業務担当の可否を最終評価した結果である。この評価は毎年更新し，要員のスキルマップとして管理する。

b）設備および環境条件[2,4]

微生物検査室を含む検体検査室は，要員が安全

表 5-1　ISO 15189 による技術的要求事項に基づく臨床検査室の管理内容

No.	事項	管理内容	具体的管理内容
5.1	要員	要員に対する教育および指導のための以下４種をセットでプログラムとして提供 ①教育カリキュラム・評価表 ②指導プログラム（教育カリキュラムによるトレーニングスケジュール） ③指導に対する評価表 ④業務可能範囲	**トレーニング者** 指導者と①と②に基づいてトレーニング トレーニング後は習得レベルを自己評価し，指導者による評価を受ける。 目標レベル到達後は③を評価 **指導者** トレーニング者に対し，②に基づき①の内容を指導 トレーニング後は客観評価を行い，トレーニング者による自己評価と比較し，目標に対する到達度を判定 評価結果は検査室責任者へ提出 **検査室責任者** ①の評価結果に基づき，検査業務の可否を最終判定して④を作成，臨床検査部門責任者へ提出 ③の評価結果に基づいて指導者を指導
5.2	施設および環境条件	検体検査室（微生物検査室を含む）へのアクセス権限 検査室内感染防止のための設備および PPE を準備	臨床検査部門所属の要員以外の入退室は記録する。 PPE の使用状況を定期的に点検する。 ゾーニングに基づく不潔エリアと準不潔エリアでの作業状態を定期的に点検する。 検体曝露時に使用する緊急シャワーやアイウォッシュは定期的に点検（水質維持）する。 劇物・毒物は SDS シート（安全データシート）を準備し，保管庫で施錠管理し，使用量と在庫量を記録する。 廃棄物はルールに従って正しく分別，回収まで適切に保管されているか点検する。 検査室内の温度と湿度を点検する。
5.3	検査室の機材，試薬，および消耗品	**機材** リスト作成，自主点検およびメーカーによる定期点検と記録 **試薬・消耗品** ①納品時の検収，受け入れ時確認，②診療側で検査（POCT）する試薬の使用に関するトレーニング資料を準備	**機材** 定期的に点検（自主，メーカー）し，記録する。 **試薬・消耗品** ①納品時検収を行い，使用前に性能を評価する（未検収品，別ロット品が誤って使用されないように分離する），②診療側で使用する POCT 用試薬は臨床検査部門から供給し，検査は臨床検査部門によるトレーニングを受けた者とする。
5.4	検査前プロセス	検査のオーダ方法と注意点，適正検体採取の方法，受け入れ不可検体の基準を作成し，診療側と取り決める。 患者（検体）確認は，２つの識別子（患者氏名と誕生日）で行う。	**検体管理** ①検体受付時に患者氏名を含む属性ラベルの貼付，容器に破損がない，検体の漏れがないことをチェック ②検体の外観と量を記録（乾燥している検体は受け付けない）綿棒採取は検査目的によって受け付ける（*Clostridioides difficile* 感染症の検査に用いる糞便の外観判定には，ブリストル糞便形状基準が推奨）
5.5	検査プロセス	標準作業手順書（SOP）やマニュアルを作成	SOP およびマニュアルを全要員へ周知し，検査はこれに従って行う。 SOP およびマニュアルは定期的に見直すが，検査方法，機器，試薬を変更した場合には文書を変更・承認後に運用を変更する。
5.6	検査結果の品質確保	内部精度管理の実施 責任者による検査工程のチェック 外部精度管理プログラムへの参加	内部精度管理は標準物質（管理用菌株等）を用いて定期的に実施，評価する（許容範囲外の場合は原因の特定，診療への影響の有無を調べ，対策を講じ，改善後の評価を行う）。 責任者は，検査の各工程（釣菌，結果の判定，起炎菌と常在菌の区別）をチェックする。 外部精度管理プログラムへ参加して評価を受ける（許容範囲外の評価項目は，原因を特定，診療への影響の有無を調べ，対策を講じ，改善後の評価を行う）。
5.7	検査後プロセス	結果の報告前における責任者によるチェック 検査終了後の検体保管と廃棄	責任者は，結果の妥当性をチェックする。 検査結果が，検体の状態，塗抹検査，培養検査の結果を総合して矛盾がなく，妥当かどうかを評価する。 検体は検査完了後，一定期間（1 週間）保管後に廃棄する。

表 5-1（つづき）

No.	事項	管理内容	具体的管理内容
5.8	結果の報告	報告内容（検体の適正さ，検出菌と意義付け（起炎菌，常在菌）中間または最終報告の区別）を定め，診療側へ周知 報告期限を定め，診療側へ周知 パニック値または緊急異常値の定義と連絡方法を診療側と取り決める	責任者または結果報告が許可された要員によって承認された結果を送信する 報告漏れまたは報告期限を過ぎている未報告結果がないかをチェックし，記録する パニック値または緊急異常値は，定めたルールで医師へ連絡し，記録する
5.9	結果の報告（リリース）		
5.10	検査室情報マネジメント	検査システムへのアクセス権限の設定 検査システムからデータを外部出力する手順を定める 電子媒体によるデータの取扱いに関するルールを定める 検査結果を訂正する場合の手順を定める 患者情報を含む紙媒体（依頼書，作業表，報告書）の保管・廃棄手順を定める	検査システムへはアクセスが承認された要員のみとする 検査に使用コンピュータは外部（インターネット）と接続しない データを外部出力する際は，患者氏名が出力されない仕様とする データを電子媒体（USB フラッシュメモリ等）へ格納して施設外に持ち出さない 検査結果の訂正は，医師へ連絡してから行い，記録する（訂正前の報告による診療の影響度を調べ，訂正の原因を特定し，対策を講じ，改善後の評価を行う） 依頼書，作業表，報告書は廃棄時に記録する

かつ適確に業務を実行できるようにデザインされていなければならない。

(1) 検体検査室に求められる設備および環境条件

微生物検査室を含む検体検査室全体に求められる共通の設備および環境条件を**表 5-2** に示した。

検査室は，患者や臨床検査部門以外の者が容易にアクセスできないように制限しなければならない。検査試薬や消耗品の納入業者や検査機器点検のために来室するメーカー技術者は，入室時に防護具の装着を促し，記録して管理する。

検査室内は検査室内感染防止のため，検体受付を含む検査エリアと検査管理を行うエリアに分け，検査エリアを不潔区域，管理エリアを準不潔区域として区別（ゾーニング）する。検査室のゾーニングは，第三者にも分かるよう表示する。

ユニフォームは，検査室への入退室時に着替え，検査試薬等の納品や機器の点検のために来室する外部からの来室者に対し，入室時にガウンなどを提供する。

個人防護具（Personal Protective Equipment：PPE）は作業する場所または近くに設置し，着用しやすい環境をつくる。

検査機器や付属のコンピュータ（PC），検査システムの PC は，検体と同時に扱うことから手袋を着用したまま操作する。一方，検査や業務管理に使用する PC は，検体とは同時に扱わない。したがって，不潔区域内の PC はマウスとキーボードに手袋着用を記したテープを貼って注意喚起する。電話機も検査を行いながら検査結果などの問い合わせに対応するので，不潔区域内の PC と同様に取り扱う。

検体曝露時の初期対応手順を示したファースト・エイドは，手洗いに掲示する。アイウォッシャーや除染用緊急シャワーは，検体に曝露するリスクが最も高い場所に設置する。

スピルキットは，検体や劇物などの試薬を大量にこぼした際に使用する。

検査の排液は，患者検体を含むものは一般排水とは別系統とする。廃棄物は患者検体を取り扱った PPE，検体が付着したスポイトやサンプルカップは，感染性廃棄物として分別，廃棄する。

クロイツフェルト・ヤコブ病（CJD）患者（疑いを含む）の情報は，診療側から臨床検査部門へ速やかに情報が伝達されるルールが定められていなければならない。

検査室内の清掃は，検体のこぼれや飛散は要員が清拭，消毒し，専門知識を有していない施設の清掃担当者に任せない。

検査室内の室温と湿度は毎日測定し，検査機器の作動に影響しないことを確認する。試薬や消耗品を保管している倉庫も検査室と同様に監視す

表 5-2　検体検査室全体に求められる環境条件およびバイオセーフティ

要件	条件
検査室へのアクセス	臨床検査部門に所属する要員以外が容易にアクセスできない。 要員以外は，入室を許可する基準と入室時の装備を定め，入退室を記録する。
ゾーニング	検査室内を検体を取り扱う不潔エリアと検体を扱わない準不潔エリアに分ける。 エリアの区別は，第三者が見ても分かるように検査室内に表示する。
飲食禁止	検査室内は飲食禁止
ユニフォーム	ユニフォームは検査室の入り口で着替える。 検査試薬等の納品や検査機器のメンテナンスを行うメーカー担当者は，PPE を着用する。
PPE および設置場所	使用する場所の近くに設置する。 検体を直接扱う際は，手袋，マスク，アイガードを着用する。
PC の操作	手袋したまま使用する場合は，マウスやキーボードに手袋着用を促すサインを付ける。
電話機の使用	手袋したまま使用する場合は，電話機に手袋着用を促すサインを付ける。
手洗い	衛生手洗い法をマスターする。 手洗いと検査器具等の洗浄に使用する流しは区別し，共用しない。
検体曝露時の手順	検体曝露時のファースト・エイドは，スタッフ全員が知っている。 手洗い場付近に手順を表示する。
アイウォッシュ	検体や試薬が目に入った場合に使用する。 曝露のリスクが最も高い場所に設置する。
除染用シャワー	検体や試薬を全身に浴びた場合に使用する。 曝露のリスクが最も高い場所に設置する。
スピルキット	検体を大量にこぼした際に使用する。 キットの設置場所と使用方法は，スタッフ全員が知っている。
排液処理	感染性の排液は，一般排水とは別系統とする。
廃棄物の分別	検査終了後の検体や検体が付着した PPE 等は，感染性廃棄物として分別廃棄する。 鋭利物廃棄用の容器は，2/3 以上積めずに交換する。
特殊な感染症患者検体の取り扱い	CJD（疑いを含む）患者の情報は，臨床検査室へ速やかに伝達するルールを定める。 感染症情報はスタッフへ周知し共有する。
清掃	一般清掃できない区域や検査装置は，スタッフが清掃する。 検体のこぼれや飛散は，スタッフが清拭し消毒する。
検査室の室温・湿度	検査室内の室温と湿度は，検査の品質に影響しない範囲内かを毎日測定，記録する。 （倉庫内も検査室と同様に監視する。）

る。

(2) 微生物検査室に求められる設備および環境条件

微生物検査室は，感染症または感染症を疑う患者検体を扱う。したがって，微生物検査の検体は，他の検体に比べて検体中に病原体が存在する可能性が高い。また，培養した濃厚な菌を扱うことから検査中に感染する危険がある。

微生物検査室はバイオセーフティに最も配慮した環境を整備しなければならず，**表 5-2** の共通事項としての検体検査室におけるバイオセーフティに加え，**表 5-3** に示した微生物検査室に特有の事項がある。

一般の微生物検査室で扱う病原体の危険度分類は BSL 3 以下を想定し，P2 以上の設備を準備する。

検査室への立ち入りは，検体検査室より厳しく管理する。検査室内の壁や床は消毒可能な材質とし，通話装置の設置は，感染事故が発生した際に速やかに対応するために必要である。

滅菌設備は通常，高圧蒸気滅菌器（オートクレーブ）を設置する。生物学的安全キャビネット（安全キャビネット）は，患者検体を直接扱う際に必須であり，一般の微生物検査室ではクラスⅡ

表 5-3　微生物検査室に求められる環境条件およびバイオセーフティ

要件	条件
扱う病原体のレベル	BSL 3 以下まで。
検査室	P2 レベルとする。 前室は必須ではないが設置が望ましい。
立ち入り制限	入室を許可する基準と入室時の PPE の着用を定め，入退室を記録する。
室内の消毒	壁や床は消毒可能な材質にする。
通話，警報装置	事故発生時に外部へ連絡できる装置を設置する。
殺菌灯	設置が必須ではないが，実験台上への照射は有用。
滅菌設備	高圧蒸気滅菌器の設置が必須である。
排液処理	感染性の排液は，一般排水とは別系統とする。
生物学的安全キャビネット	クラスⅡ以上を設置し，年 1 回以上の点検を行う。 検体を取り扱う際は，必ず使用する。
PPE および設置場所	検体を直接取り扱う際は，検体を直接扱う際は，手袋，マスク，アイガード，ガウンを着用する。 抗酸菌検査では N95 マスクを使用する。
遠心器	排気機能を有する，またはバケットが密閉できる機器を使用する。
菌株保管	菌株は施錠可能な保管庫で保管する。

（検体検査室に要求される事項は，共通事項のため割愛した）

を設置する。安全キャビネットは，日常的な自主点検に加え，年 1 回以上メーカーによる点検を受けなければならない。HEPA フィルターの性能劣化を中心に正常に作動しているかを点検，記録して管理する。

PPE は，手袋，マスク，アイガードに加え，ガウンを着用する。特に抗酸菌検査においては，マスクは高性能フィルターマスクである N95 マスクを使用するのが望ましい。

分離した菌株は必要に応じて保管するが，施錠可能な保管庫またはフリーザーで管理する。

(3) バイオセーフティに関するスタッフの教育

臨床検査室のバイオセーフティを正しく，かつ確実に実行するには，要員に対する教育が不可欠である。

要員の教育は，前項の教育カリキュラム・評価表等を用いるプログラムによって実施する。

(4) バイオセーフティに関する順守状況の監視

検査室のバイオセーフティのためにルール化した感染防止対策は，順守状況（コンプライアンス）を監視する。

コンプライアンスが低下しやすい手順には，PPE の使用がある。PPE の使用状況は毎月，自己点検し第三者による客観評価を行って注意喚起を図る。PPE の使用以外には，WHO による手指衛生 5 つのタイミング，スピルキットの場所と使用方法を知っているかなどを含める。

アイウォッシャーや除染用シャワーは，毎週作動させて配管内の水を入れ替えるメンテナンスを行って記録に残す。

検査室内の環境整備状況は，検査室が相互に監査する。使用期限が過ぎている消毒薬がないか，PPE は適切な場所に配置，使用されているか，廃棄物は適正に廃棄，管理されているか，ゾーニングが守られているか，清掃が行き届いているかなどを監査項目とする。

【検査室の機材，試薬，および消耗品】

微生物検査室における機材，試薬，および消耗品の管理は，検体検査部門と同様である。

a）機材管理

微生物検査室で使用している機材には，安全キャビネット，高圧蒸気滅菌器，ふ卵器，保冷庫，フリーザー，遠心器，各種検査機器，器具が

ある。検査機器には，同定または薬剤感受性検査機器，血液培養検査機器，自動染色機，遺伝子検査用機器，顕微鏡，天秤などが含まれ，器具にはマイクロピペットなどが含まれる。

機材管理は，使用者による自主点検とメーカーによる点検がある。自主点検はすべての機材が対象となる。メーカーによる点検の対象となる機材は，一般には大型または精密な機器である。

(1) 機材リストおよび配置図

検査室に設置，使用している機材は，一覧を作成して管理する。また，器具以外は検査室の図面を用いて配置図を作成して管理する。

(2) 自主点検

自主点検では，作動状態を確認，記録する。安全キャビネットは気流が所定の風速を維持できているかを確認する。ふ卵器，保冷庫，フリーザーは，装置が表示している温度による確認では不十分であり，別の温度計を庫内に設置して両者により確認する。温度は 24 時間モニタリングしなければならないが，最低でも直近 24 時間における最低と最高温度を翌朝または休日明けに確認できる温度計を準備する。また，温度計は標準温度計によって校正したうえで使用しなければならない。高圧蒸気滅菌器，遠心器，他の検査機器，器具は作動状況を確認，記録する。

記録は，1 ヵ月単位で記入できる様式を使用するのが一般的である。様式には，機器名称（型式），メーカー（連絡先電話番号），購入年，1 ヵ月分を記録できるように日付（1 日〜31 日），結果記入欄，確認者のサインが記入できるように作成する。温度を記録する機器の様式には，目標とする温度範囲を表示する。温度の記入欄には，確認時の温度とともに直近 24 時間の最低と最高温度が記入できるように作成する。目標から逸脱した場合は，異常の原因を調査するとともに保管している物の品質に問題がないかを確認する。

(3) メーカーによる点検

微生物検査室においてメーカー点検の対象機材は，生物学的安全キャビネット，高圧蒸気滅菌器，遠心器，同定および薬剤感受性検査機器などが該当し，年 1 回は点検を受け，点検報告書を保管する。

(4) 故障時

故障発生時は使用を停止し，他の要員が誤って使用することがないように使用不能であることを表示する（緊急措置）。報告済みの検査結果が妥当かどうかを確認し，結果の品質に問題がある場合には速やかに医師へ連絡する。

故障の原因が不明またはメーカーによる対応が必要な場合には，メーカーへ修理を依頼し修理記録を保管する。

b) 試薬および消耗品管理

試薬や消耗品の管理は，受け入れ（納品）時と使用時の管理がある。受け入れ時には，納品された試薬の種類・数量が発注内容と合っているかを検収する。既に受け入れ時の確認が済んでいるものとは分離し，未検収のものが誤って使用されないようにしなければならない。

微生物検査で使用する培地および試薬類の内部精度管理の概要を**表 5-4** に示した。

調製済み培地（生培地）は，培地の色調（血液寒天培地では凍結による溶血），乾燥または湿潤の程度，シャーレの破損，雑菌汚染の有無を抜き打ち検査し，使用可能かをチェックする。

試薬を自家調整した場合は，試薬名（濃度），作製日，作製者を記載したラベルを貼るとともに性能をチェックして使用に問題ないことを確認する。性能チェックが済んでいない試薬は，使用不可であることを表示し分離しておく。

使用時の確認は，たとえば染色液，カタラーゼ試験やオキシダーゼ試験用試薬などが対象となる。

感染症迅速抗原検査は POCT として診療科外来でも行われているが，POCT を含め病院内で行われているすべての臨床検査は，臨床検査部門による監視が必要である。試薬キットは微生物検査室または臨床検査部門から供給し，供給日，供給数，有効期限を記録し，在庫状況を監視する。また，使用者（医師，看護師）に対して使用方法に関するトレーニングを実施し，トレーニングを受

表 5-4　微生物検査で使用する培地および試薬類の内部精度管理の概要

品目	頻度	管理菌株	管理方法
染色液（市販品） ・Gram 染色液 ・Ziehl-Neelsen 染色液 ・オーラミン染色液	・ロットごと，または週１回 ・ロットごと，または使用時 ・ロットごと，または使用時	グラム陽性菌，陰性菌（ATCC 株または性状が明らかな菌株）	・染色液ボトルの沈澱，結晶の析出，蒸発がない。 ・管理菌株の期待どおりに染色
調製済み培地	出荷ごと	ATCC 株（または性状が明らかな菌株）	・培地の外観を観察（培地またはシャーレの破損，溶血，凍結，量が不正確，過剰な泡沫，雑菌汚染） ・メーカーによる試験成績書（ロットごと）を保管
自家調製培地	作製バッチごと	ATCC 株（または性状が明らかな菌株）	・培地粉末の外観を観察（色，堅さ，高さ，傾斜角度，表面の滑らかさ，溶血，過剰な泡沫，雑菌汚染） ・作製培地の無菌試験：1 バッチ 100 枚以内は 5%分を抜き取り，48 時間培養後，室温で 48 時間観察
同定検査用試薬	ロットごと（開封後は一定間隔）	ATCC 株（または性状が明らかな菌株）	期待どおり結果が得られる。
同定キット	ロットごと	ATCC 株（または性状が明らかな菌株）	期待どおり結果が得られる。
スライド凝集反応用免疫血清免疫学的試薬	使用中のロットから切り替える前（開封後は 6 ヵ月ごと）	ATCC 株（または性状が明らかな菌株）	期待どおり結果が得られる。
薬剤感受性用抗菌薬ディスク	週１回	CLSI 標準法により指定された管理菌株	CLSI 標準法により規定された管理範囲内
Mueller-Hinton 寒天培地	週１回	CLSI 標準法により指定された管理菌株	CLSI 標準法により規定された管理範囲内
微量液体希釈法による薬剤感受性用プレート	週１回	CLSI 標準法により指定された管理菌株	CLSI 標準法により規定された管理範囲内

けた者のみが検査可能とする権限を付与する。

糞便の微生物検査に使用する培地・染色液・試薬の管理と機器・器具の具体的な管理方法は後述（「糞便の微生物検査における具体的管理方法」）する。

【検査前プロセス】

検査前プロセスとして整備しなければならない事項には，検査のオーダ方法，検体採取・保存・輸送，検体の受け入れ時の確認，がある。これらは，診療側である医師や看護部門へ周知しておく。

a）検査オーダ

微生物検査のオーダにおいては，他の検体検査と同様に，患者の基本情報（氏名，性別，生年月日（年齢），ID 番号，診療科，病棟）に加え，採取日・時間，検体の種類，および採取部位の情報が必要である。

通常の検査では検出困難であり特殊な培地や培養法を要する，または長期間の培養が必要な微生物による感染症が疑われる場合は，オーダ時に追加できる仕組みが必要である。

糞便の微生物検査オーダにおける注意点は後述（「糞便の微生物検査における具体的管理方法」）する。

b）検体採取・保存・輸送

微生物検査は検体採取が適正に行われないと結果の品質に影響する。適正検体採取における注意点や採取方法，保存法などの情報をガイドとして事前に診療側（医師，看護師）へ提供し，取り決めておく。

c）検体受け入れ時の確認

微生物検査の検体受け入れ時には，患者の氏名などが印字されているラベルが貼られているか，

採取日は提出当日か，採取容器は正しいか，採取量は適切か，容器の破損や検体の漏れがないか，を確認する。

上記の条件は前項のガイドで取り決めておき，この条件を満たさない検体は，受け入れ不可検体として医師へ連絡して検査を行わないか，再採取を依頼する。微生物検査の場合，綿棒による採取は検体量が少なく乾燥によって菌が死滅し原因微生物の検出率が著しく低下し，検査結果の品質に影響する。綿棒の使用はできるかぎり避け，検体そのものを提出するように依頼する。

受け入れ不可検体の発生は，診療科または病棟単位で記録，監視し，特定の部署で連続して発生するようであれば，原因を調査し，改善するように誘導する。

糞便の微生物検査オーダにおける検体受け入れ時の確認事項は後述（「糞便の微生物検査における具体的管理方法」）する。

【検査プロセス】

検査プロセスは，検体の受け入れから結果報告までの工程を含む。微生物検査においては，塗抹検査，迅速抗原検査，分離培養検査，同定検査，薬剤感受性検査，遺伝子検査が含まれる。

a）検査プロセスの文書化と訓練との関係

すべての検査プロセスは，文書化しなければならない。文書は，標準作業手順書（Standard Operating Procedure：SOP）が基本となり，下位文書としてマニュアルがある。

すべての要員は，要員のトレーニングで使用する教育カリキュラム・評価表による訓練を実施し，指導者による評価を受け，検査室責任者による承認を経て日常業務を担当するように管理する。

b）各検査工程に関する SOP とマニュアルの作成

微生物検査は，検体によって使用する培地や培養法が決まっている。したがって，SOP は検体ごとのものと，グラム染色を含む染色法，カタラーゼ試験，同定キット，検査機器の操作はそれぞれに SOP を作成する。

マニュアルは，検体ごとの SOP の下位文書として位置づけ，SOP では網羅できない詳細を収載する。たとえば，塗抹検査では，鏡検すべき塗抹部分の選択，鏡検する視野数，検体別の鏡検のポイント，菌の形態や配列から推定すべき菌種，菌量や生態細胞の表記方法，である。

培養検査における分離培地の観察では，検体別に釣菌すべき集落，集落性状やグラム染色所見から推定した菌種別の同定方法とレベル，薬剤感受性検査の要否を記載する。同定のレベルは，起炎菌は菌種まで，常在菌は属レベルを原則としている。薬剤感受性検査の要否も，起炎菌に対して検査を実施することを原則とする。

微生物検査は，用手法による作業が多いことから，これらの文書を整備することは検査を標準化し，結果の品質を維持するうえで非常に重要である。

文書作成においては，エビデンスとして各種の論文，ガイドライン，権威ある書物をもとにし，引用を明らかにしておく。その他，過去の経験や日常検査データから分析した分離菌の疫学もエビデンスとして用いる。

これらの文書は毎年見直すが，引用している文献などの情報源が改版された場合も見直す。

【検査結果の品質の確保】

検査結果の品質確保は，微生物検査においては日常の精度管理（内部精度管理）として，管理菌株によるチェックと責任者によるチェック，および外部精度管理プログラムによる評価を受けなければならない。

a）管理菌株による内部精度管理

微生物検査における内部精度管理は，精度管理菌株による精度管理が中心となる。精度管理菌株は，米国 ATCC（American Type Culture Collection）による菌株を用いる。調整済み培地は，ロットごとメーカーによる試験成績書によって管理するが，メーカーによる性能の保証は出荷時までであり，納入業者による配送，納品から使用までは，自ら検査しなければならない。

精度管理菌株による内部精度管理は，分離培地，試験管確認培地，同定キット，自動機器を対象に実施し，実施の頻度はロット変更時とする。

薬剤感受性検査は米国 CLSI（Clinical and Laboratory Standards Institute）の標準法[5]による薬剤感受性検査のための管理方法に準じて週 1 回実施する。

グラム染色や抗酸菌染色の精度管理は，グラム染色は *Staphylococcus aureus* と *Escherichia coli* を塗抹した標本を作製，保存しておき，毎日染色して染色液の性能を確認する。抗酸菌染色は *Mycobacterium tuberculosis* 以外の抗酸菌保存菌株を用い，塗抹標本を大量に作製，保存しておき使用する。糞便検査における具体的な方法は，後述（「糞便の微生物検査における具体的管理方法」）する。

b）検査室責任者による検査結果の品質管理

微生物検査においては，要員のスキルが結果に大きく影響し，検査の各工程すべてが正しく行われているかをチェックする必要がある。責任者は釣菌すべき集落が漏れなく検査されているか，用手法や自動機器による結果が妥当か，作業に使用しているワークシートから検査システムへの入力に誤りがないか，をチェックする。

糞便検査における検査結果の具体的な管理方法は，後述（「糞便の微生物検査における具体的管理方法」）する。

c）外部精度管理プログラムによる評価

微生物検査が参加可能な外部精度管理プログラムには，現状においては「日臨技臨床検査精度管理調査」やメーカーによるサーベイがある。

外部精度管理プログラムへの参加は，毎年計画し，結果に対する評価まで確認する。結果が許容範囲から逸脱した場合は，原因を追求して改善するまで確認することで是正を図る。

【検査後プロセス】

検査結果を報告する際は，前項の責任者によるチェックを受ける。結果報告後の検体は，一定期間（例：1 週間）保管後に廃棄する。検体の保管期限はガイドに収載し，診療側へ周知し追加検査に備える。

a）結果の報告

検査結果の報告は検査システムを介して，電子カルテへ送信される。

報告の内容は，検体の受け入れ時に取得した患者の基本情報，採取日，検体名，採取部位のほか，受け入れ日時，検体の外観，検査結果からなる。

検体の外観は，微量，乾燥，綿棒採取検体は，その状態を報告して検査に不適であったことをフィードバックする。培養検査結果は，常在菌が含まれる検体の場合は，疫学から検出菌が常在菌か起炎菌かを区別して報告する。

微生物検査では，中間報告として結果を複数回報告して更新する。医師が電子カルテで参照している検査結果が，中間報告か最終報告かが分かるように表示する。

いったん報告した検査結果を訂正する場合は，医師へ連絡したうえで更新し，インシデントまたはアクシデントとして記録し，再発防止策を講じる。

医師へ至急に連絡を要する検査結果は，パニック値としてガイドに収載し医師と取り決めておく。

b）検査室情報マネジメント

検査結果を中心として検査情報は，検査システム内で管理する。検査システムはインターネット環境と接続せず，アクセス権限は要員に限る。

微生物検査では，感染対策業務として検査結果を外部出力し，別の PC を用いて集計などを行うことが多い。検査データの外部出力は，患者氏名が出力されないように制限する。出力データは USB フラッシュメモリなどの媒体へ一時的に格納し，集計用 PC へ移されるが，USB フラッシュメモリは臨床検査部門内で登録されたもの以外は使用しないこと，臨床検査部門外へ持ち出さないことを規程として文書化して，厳重に管理する。

2 糞便の微生物検査における具体的管理方法[6〜14)]

【検査オーダにおける注意事項】

糞便検査では，寄生虫の検査オーダや，海外渡航歴の有無，疑われる病原体をコメント入力できる仕組みが必要である。

【検体受入時の注意事項】

便検体の外観は，**表 5-5(1)** に示すような表記を決め，判定に技師間差が生じないよう判定の意思統一をはかっておく。外観が異常なもののうち，水様便（とぎ汁様便）や粘液便，粘血または膿粘血便，血便は，塗抹検査を行うことが望ましい。Gram 染色や生鮮標本によって，白血球の有無（炎症の有無）や特定の微生物（*Campylobacter*，寄生虫）を検索する。

Clostridioides（*Clostridium*）*difficile* 感染症診療ガイドライン[9)]では，検査における便性状の客観的分類として**表 5-5(2)** に示すブリストルの便性状スケール[10)]を導入し，タイプ 5〜7 の便を検査することを推奨している。

糞便の外観（色調，性状）は，受け入れ時に検査システムへ入力し，検査結果とともに報告するのが望ましい。

検体採取後は病棟や外来で保存せず検査室へ届けるように取り決める。*Shigella* 属は検体中では死滅しやすいことや，低温では *Vibrio* 属や *Campylobacter* 属が死滅しやすい。

表 5-5(1)　糞便の外観判定に用いられる表記の例

分類	表記	備考
固形〜軟便	固形便, 有形軟便, 泥状便, タール便, 白色便，消化不良便，下痢便	
水様〜血便	水様便，とぎ汁様便，粘液便，粘血便，膿粘血便，血便	塗抹検査を行うことが望ましい。
その他	乾燥，微量，綿棒	検体の再採取を依頼する。 再採取不可能な場合は，コメントを付す。 （コメント例：微量または乾燥した検体や綿棒で採取されたものは，検体量が少ないため菌の検出率が著しく低下します。）

注）上記表現に色調を組み合わせてもよい。

表 5-5(2)　ブリストル便性状スケール

タイプ	性状
1	木の実のような，硬い便
2	ごつごつしたソーセージ状の便
3	表面にひび割れがあるソーセージ状またはヘビ状の便
4	滑らかで，軟らかなソーセージ状またはヘビ状の便
5	境界がはっきりとした，軟らかな半固形状の便
6	境界がはっきりしない不定形で，軟らかな便
7	水様で，固形物を含まない便

<文献 10）を和訳して引用>

【培地・染色液・試薬の管理】

糞便検査関連の培地の管理方法を，米国の例[11)]を参考に**表 5-6(1)** および**表 5-6(2)** に示した。

培地はメーカーによる管理では不十分であり，ユーザーが性能（菌の発育性，等）を日常的に監視すべきである。メーカー管理をパスしても，配送や保管中に品質に変化が生じる可能性があることを考慮し，ユーザーによる監視が必要である。

したがって，ユーザーは以下の一般的な管理は行うべきであり，以下のチェック項目を用いて管理，記録する。

①納入時検査：納入日（箱に納入日を記す），納入量，Lot No.，使用期限。

②培地の肉眼的観察：培地の破損，培地のシャー

表 5-6(1)　糞便検査関連の分離および増菌培地の管理方法および要求される性能

培地 (応用可能な類似の培地)	培地 pH (±0.2)*	試験菌接種方法**	培養期間	管理菌株	NBRC No.***	ATCC No.	要求（期待）される結果
CLED 培地 (BTB 乳糖寒天培地)	7.3 7.4	A，B	1〜2 日	*Staphylococcus aureus*	14462	25923	黄色小集落
				Escherichia coli	15034	25922	黄色集落
				Proteus vulgaris	—	8427	青色集落（遊走阻止，BTB 乳糖寒天培地では阻止されない）
血液寒天培地	7.4	A，B	1 日	*Streptococcus pneumoniae*	—	6305	発育（α溶血）
				Streptococcus pyogenes	—	19615	発育（β溶血）
				Staphylococcus aureus	14462	25923	発育（α′溶血）
				Escherichia coli	15034	25922	発育
デスオキシコレート寒天培地（DHL 寒天培地）	7.3 7.0	A，B	1〜2 日	*Salmonella* Typhimurium	—	14028	透明集落（または中央部黒変）
				Shigella flexneri	—	12022	透明集落
				Escherichia coli	15034	25922	赤色集落
				Enterococcus faecalis	100482	29212	発育阻止
Campylobacter 選択培地	—	A，B	2〜3 日	*Campylobacter jejuni*	—	33291	発育
				Staphylococcus epidermidis	12293	12228	発育阻止
				Escherichia coli	15034	25922	発育阻止
				Proteus mirabilis	—	12453	発育阻止
				Pseudomonas aeruginosa	—	27853	発育阻止（選択培地の種類で異なる，Skirrow 培地には発育）
				Candida albicans	1594	10231	発育阻止(選択培地の種類で異なる, Skirrow 培地, Preston 培地，CCDA 培地には発育）
CIN 寒天培地	7.4	A，B	1〜2 日	*Yersinia enterocolitica*	—	9610	中心部赤色，辺縁透明な集落
				Pseudomonas aeruginosa	—	27853	発育阻止またはわずかに発育
				Escherichia coli	15034	25922	発育阻止またはわずかに発育
				Proteus mirabilis	—	12453	発育阻止またはわずかに発育
				Enterococcus faecalis	100482	29212	発育阻止またはわずかに発育
CCFA 培地（CCMA 培地）	7.4 7.2	A，B	2 日	*Clostridium difficile*	—	9689	発育
				Clostridium perfringens	—	13124	発育阻止
				Bacteroides fragilis	—	25285	発育阻止
				Escherichia coli	15034	25922	発育阻止

表 5-6(1)（つづき）

培地 （応用可能な類似の培地）	培地 pH （±0.2）*	試験菌接種方法**	培養期間	管理菌株	NBRC No.***	ATCC No.	要求（期待）される結果
MacConkey 寒天培地	7.1	A，B	1〜2 日	*Proteus mirabilis*	—	12453	透明集落（遊走阻止）
				Escherichia coli	15034	25922	赤色集落
				Salmonella Typhimurium	—	14028	透明集落
				Enterococcus faecalis	100482	29212	発育阻止
マンニット食塩培地	7.4	A，B	1〜2 日	*Staphylococcus aureus*	14462	25923	集落周囲が黄変
				Staphylococcus epidermidis	12993	12228	集落周囲が赤変
				Proteus mirabilis	—	12453	発育阻止
フェニルエチルアルコール血液寒天培地（好気性菌用）	7.3	A，B	1 日	*Streptococcus pneumoniae*	—	6305	発育，α溶血
				Staphylococcus aureus	14462	25923	発育
				Proteus mirabilis	—	12453	発育阻止
				Streptococcus pyogenes	—	19615	発育，β溶血
フェニルエチルアルコール血液寒天培地（嫌気性菌用）	7.3	A，B	2 日	*Clostridium perfringens*	—	13124	発育，β溶血
				Bacteroides fragilis	—	25285	発育
				Proteus mirabilis	—	12453	発育阻止
ソルビトール MacConkey 寒天培地	7.1	A，B	1〜2 日	*Escherichia coli* O157：H7	—	43888	透明集落
				Escherichia coli	15034	25922	赤色集落
				Enterococcus faecalis	100482	29212	発育阻止
SS 寒天培地	7.0	A，B	1 日	*Salmonella* Typhimurium	—	14028	中心部黒色，透明な集落
				Shigella flexneri	—	12022	透明な集落
				Escherichia coli	15034	25922	発育阻止または赤色集落
				Enterococcus faecalis	100482	29212	発育阻止
XLD 培地	7.4	A，B	1〜2 日	*Salmonella* Typhimurium	—	14028	中心部黒色，赤色集落
				Shigella flexneri	—	12022	赤色集落
				Escherichia coli	15034	25922	一部発育阻止，または黄色集落
				Enterococcus faecalis	100482	29212	発育阻止
TCBS 寒天培地	8.8	A，B	1 日	*Vibrio alginolyticus*	15630^{T}	17749	黄色集落
				Vibrio parahaemolyticus	12711^{T}	17802	緑色集落
				Escherichia coli	15034	25922	発育しない

表 5-6(1)（つづき）

培地 （応用可能な類似の培地）	培地 pH （±0.2）*	試験菌接種方法**	培養期間	管理菌株	NBRC No.***	ATCC No.	要求（期待）される結果
ビブリオ寒天培地	8.6	A，B	1日	*Vibrio alginolyticus*	15630^{T}	17749	青色（透明）集落
				Vibrio parahaemolyticus	12711^{T}	17802	赤紫色（不透明）集落
				Escherichia coli	15034	25922	発育しない
MRSA 選択培地	—	A，B	1〜2日	*Staphylococcus aureus*	15035	29213	発育阻止
					—	43300	発育
VRE 選択培地	—	A，B	1〜2日	*Enterococcus faecalis*	100482	29212	発育阻止
					—	51299	発育
セレナイト培地	7.1	C	8〜12時間	*Salmonella* Typhimurium	—	14028	発育
				Escherichia coli	15034	25922	一部発育
				Shigella sonnei	—	9290	発育

*—：培地によって異なる。
**A：非選択培地における発育支持力のチェックで，McFarland No. 0.5 の菌懸濁液を 100 倍希釈し 10μL を塗布（孤立集落が得られない場合は，1,000 倍希釈液の 10μL を塗布）。
B：選択培地における選択性のチェックで，McFarland No. 0.5 の菌懸濁液を 10 倍希釈し 10μL を塗布。
C：試験管培地または生化学性状試験用培地のチェックで，McFarland No. 0.5 の菌懸濁液を 10μL 接種。
D：生化学性状試験用培地のチェックで，日常検査と同様の操作で菌を接種。
E：輸送用培地を含む綿棒のチェックで，McFarland No. 0.5 の菌懸濁液に綿棒を浸し，余分の菌液をしぼり輸送用培地中に戻して室温に放置後，分離培地に接種。
***：独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジー本部生物遺伝資源部門：微生物株の分譲を受けることができる。
<文献 11）を一部改変>

レからのはがれ，培地の凍結または融解，分注量の不揃い（試験管培地），厚み（寒天培地では 3 mm 未満は不良），溶血，色調の異常，表面の過剰な泡沫や凸凹，過度の湿気または乾燥，雑菌汚染，沈殿物。

【培地性能のチェックに使用する管理菌株の取扱方法】

培地の性能チェックには，原則，指定された管理菌株（ATCC 株）を用いる。管理菌株の保存および使用方法は，以下のとおりである。

①菌株は凍結乾燥または凍結状態で保存する。凍結乾燥品で入手した場合は，いったん培地に大量に復活させ，多数の凍結保存用チューブを作製して長期保存用とする。凍結状態での保存期間は−50℃では約 1 年間，−70℃以下の場合はさらに長期の保存が可能であるが，発育に特殊な栄養源を要求しない菌は 5 年，栄養要求の厳しい菌は 3 年ごとに保存し直すのが望ましい。なお，ディープフリーザーがない場合は，特殊な栄養源を要求しない菌については保存培地（試験管高層培地）に穿刺培養後，密栓すれば 1〜2 年間は室温で保存可能である。作製した保存菌株は，最低年 1 回は新たに復活させ，すべて交換する。

②菌株の復活は，それぞれの菌に至適な培地および培養条件で行うが，復活後の保存のため，試験管斜面または高層培地がよい。菌を復活させた培地は，保存株として冷蔵（2〜8℃）または室温で 12 ヵ月間まで保管して使用する。保存期間中の継代は特殊な栄養源を要求しない菌では原則行わないが，菌種によっては適切な間隔で継代するか，凍結保存株から新たに復活させる。

③復活させた保存株は，1 回継代して日常的に使用する株とする。特殊な栄養源を要求しない菌

表 5-6(2)　糞便検査関連の確認培地および検体保存用培地の管理方法および要求される性能

培地 (応用可能な類似の培地)	培地 pH* (±0.2)	試験菌接種方法**	培養期間	管理菌株	NBRC No.***	ATCC No.	要求（期待）される結果
アルギニン脱炭酸試験用培地	6.0	C	1〜4 日	*Enterobacter cloacae*	13535^T	13047	紫色（色素が還元され，灰白色となることがある）
				Klebsiella pneumoniae	14940^T	13883	黄色
オルニチン脱炭酸試験用培地	6.0	C	1〜4 日	*Enterobacter cloacae*	14940^T	13883	紫色（色素が還元され，灰白色となることがある）
				Klebsiella pneumoniae	13535^T	13047	黄色
リジン脱炭酸試験用培地	6.0	C	1〜4 日	*Klebsiella pneumoniae*	14940^T	13883	紫色（色素が還元され，灰白色となることがある）
				Enterobacter cloacae	13535^T	13047	黄色
DNA 培地（トルイジン青添加）	7.3	C	1〜2 日	*Serratia marcescens*	—		赤紫色
				Enterobacter cloacae	—		変化なし
LIM 培地	6.8	C	1〜5 日	*Escherichia coli*	15034	25922	高層部紫色，インドール（+），運動性（+）
				Klebsiella pneumoniae	14940^T	13883	高層部紫色，インドール（−），運動性（−）
				Enterobacter cloacae	13535^T	13047	高層部黄色，インドール（−），運動性（+）
マロン酸塩培地	6.7	C	1〜2 日	*Escherichia coli*	15034	25922	緑色または黄色
				Klebsiella pneumoniae	14940^T	13883	青色または藍色
硝酸塩還元試験用培地	7.1	C	1〜5 日	*Proteus mirabilis*	—	12453	陽性
				Pseudomonas aeruginosa	—	27853	陽性（硝酸ガス）
				Acinetobacter baumannii	—	15308	陰性
SIM 培地	7.4	C	1〜2 日	*Proteus mirabilis*	—	12453	IPA（+），硫化水素（+），インドール（−），運動性（+）
				Escherichia coli	15034	25922	IPA（−），硫化水素（−），インドール（+），運動性（+）
				Klebsiella pneumoniae	13535^T	13047	IPA（−），硫化水素（−），インドール（−），運動性（−）
Simmons のクエン酸塩培地	6.8	C	1〜2 日	*Klebsiella pneumoniae*	14940^T	13883	発育し，青色に変化
				Escherichia coli	15034	25922	発育せず，変色しない
TSI（Kligler）培地	7.3	D	1 日	*Salmonella* Typhimurium	—	14028	斜面部赤色，高層部黄色，ガス（±），硫化水素（+）
				Shigella flexneri	—	12022	斜面部赤色，高層部黄色，ガス（−），硫化水素（−）
				Escherichia coli	15034	25922	斜面部・高層部黄色，ガス（+），硫化水素（−）
				Pseudomonas aeruginosa	—	27853	斜面部・高層部赤色，ガス・硫化水素（−）

表 5-6(2)（つづき）

培地 （応用可能な類似の培地）	培地 pH* （±0.2）	試験菌接種方法**	培養期間	管理菌株	NBRC No.***	ATCC No.	要求（期待）される結果
尿素培地	6.2	C	1日	*Proteus mirabilis*	—	12453	ピンク色～赤色に変化
				Escherichia coli	15034	25922	変化しないか淡黄色
VP 半流動培地	6.9	C	1～5日	*Escherichia coli*	15034	25922	陰性
				Klebsiella pneumoniae	14940^{T}	13883	陽性
Cary-Blair 培地	8.4	E	1日	*Campylobacter jejuni*	—	33291	発育
				Shigella flexneri	—	12022	発育
				Yersinia enterocolitica	—	9610	発育

*—：培地によって異なる。
**A：非選択培地における発育支持力のチェックで，McFarland No. 0.5 の菌懸濁液を 100 倍希釈し 10 μL を塗布（孤立集落が得られない場合は，1,000 倍希釈液の 10 μL を塗布）。
B：選択培地における選択性のチェックで，McFarland No. 0.5 の菌懸濁液を 10 倍希釈し 10 μL を塗布。
C：試験管培地または生化学性状試験用培地のチェックで，McFarland No. 0.5 の菌懸濁液を 10 μL 接種。
D：生化学性状試験用培地のチェックで，日常検査と同様の操作で菌を接種。
E：輸送用培地を含む綿棒のチェックで，McFarland No. 0.5 の菌懸濁液に綿棒を浸し，余分の菌液をしぼり輸送用培地中に戻して室温に放置後，分離培地に接種。
***：独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジー本部生物遺伝資源部門：微生物株の分譲を受けることができる。
＜文献 11）を一部改変＞

は，4 週間（1 ヵ月）まで継代することなく使用することができる。

④管理菌株の入手は，米国内に ATCC 株と同一性能および規格を有する製品の提供が保証されたメーカー（Microbiologics 社[12]）から，日本国内の代理業者である関東化学株式会社[13]を通じて購入することができる。ただし，菌種によっては検疫などの輸入制限の対象となるものがあるので注意する。

日本国内では，独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター[14]から有料で菌株の分譲を受けることができる。

【管理菌株を用いた培地の精度管理方法】

管理菌株の培地への接種方法は，非選択および選択培地，試験管培地および確認培地，輸送用保存培地でそれぞれ異なる（**表 5-6(1)，(2)**）[11]。

①非選択・選択培地：ブイヨン培地または滅菌生理食塩液に McFarland No. 0.5 の濁度に菌を懸濁する。非選択培地のチェックでは，この菌液の 100 倍希釈液 10 μL を培地に接種する。選択培地の場合は 10 倍希釈液 10 μL を培地に接種する。なお，孤立集落が得られない場合は，1,000 倍希釈液で再検査する。

②試験管培地・確認培地：McFarland No. 0.5 の濁度に調整した菌懸濁液 10 μL を接種するか，日常検査と同様の方法で接種する。

③輸送用保存培地：McFarland No. 0.5 の濁度に調整した菌懸濁液に綿棒を浸し，余分の菌液をぬぐった後，保存培地中に戻して室温に放置後分離培地に接種する。

培養後は，菌の発育性，集落の大きさ，集落性状が典型的か，特定の菌の発育が抑えられているか，色調の変化等の点についてチェックする。

【染色液・その他の試薬の管理】

染色液およびその他の試薬の管理方法は**表 5-7**[11]に示した。これらの管理の要求度や頻度は特に定められておらず，検査室での判断にゆだねられている。管理菌株は，臨床分離株の中から典型

表 5-7　糞便検査関連の染色液および試薬の管理方法および要求される性能

染色液・試薬	管理菌株・検体	NBRC No.**	ATCC No.	要求（期待）される結果	精度管理の頻度
Gram 染色液	*Staphylococcus aureus*	14462	25923	グラム陽性球菌	Lot 単位，週 1 回
	Escherichia coli	15034	25922	グラム陰性桿菌	
抗酸菌染色液（Ziehl-Neelsen）	*Mycobacterium tuberculosis**	—	25177	赤色桿菌	Lot 単位，検査のたびごと（毎回）
	Escherichia coli	15034	25922	青色桿菌	
アクリジン・オレンジ染色液	*Staphylococcus aureus*	14462	25923	橙色蛍光，球菌	Lot 単位，検査のたびごと（毎回）
	Escherichia coli	15034	25922	橙色蛍光，桿菌	
ヨード染色液	ホルマリン固定済嚢子陽性検体	—	—	嚢子の核小体が識別できる	Lot 単位
カタラーゼ試薬（3%H_2O_2）	*Staphylococcus aureus*	14462	25923	陽性（発泡）	バッチまたは Lot 単位
	Streptococcus pyogenes	—	19615	陰性	
オキシダーゼ試薬	*Pseudomonas aeruginosa*	—	27853	陽性（青紫色）	バッチまたは Lot 単位
	Escherichia coli	15034	25922	陰性	
コアグラーゼ試薬（ウサギ血漿）	*Staphylococcus aureus*	14462	25923	陽性（凝固）	バッチまたは Lot 単位
	Staphylococcus epidermidis	12993	12228	陰性	
インドール試薬（コバック，エールリッヒ，スポットインドール）	*Escherichia coli*	15034	25922	陽性（赤色）	バッチまたは Lot 単位
	Pseudomonas aeruginosa	—	27853	陰性	
VP 試薬	*Enterobacter cloacae*	13535^T	13047	陽性（赤色）	バッチまたは Lot 単位
	Escherichia coli	15034	25922	陰性	
塩化第二鉄試薬	*Proteus vulgaris*	—	33420	陽性（緑色）	バッチまたは Lot 単位
	Escherichia coli	15034	25922	陰性	
硝酸塩還元試薬	*Escherichia coli*	15034	25922	陽性（赤色）	バッチまたは Lot 単位
	Acinetobacter baumannii	—	19606	陰性	
ONPG 試薬	*Escherichia coli*	15034	25922	陽性（黄色）	バッチまたは Lot 単位
	Proteus mirabilis	—	29245	陰性	
ナグラー反応用抗血清	*Clostridium perfringens*	—	13124	陽性	バッチまたは Lot 単位
炭酸ガス培養用ガス発生袋	*Campylobacter jejuni*	—	33291	48 時間培養で発育	バッチまたは Lot 単位
嫌気培養用ガス発生袋	*Clostridium novyi*	—	19402	48 時間培養で発育	バッチまたは Lot 単位

*：臨床分離株または *M. tuberculosis* 以外の抗酸菌でも使用可能。
**：独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジー本部生物遺伝資源部門：微生物株の分譲を受けることができる。
<文献 11）を一部改変>

的な性状を有する株を選定して使用してもよいと思われる。抗血清は米国では認証機関によって検査の頻度が異なっている。管理の頻度は，検査の都度～毎月～6 ヵ月ごとまであり，管理基準は統一されていない。

【検査結果の管理】

検査結果の管理には，技師が自身の結果をチェックするものと，管理者からみたチェックがある。経験の浅い技師の場合は，責任者によるチェックが必要である。最終的な検査結果のみならず，分離培地や確認培地等の途中経過もチェッ

クし，見落としや判定の誤りがないかを確認する。

以下のような結果が得られた場合には，再確認する。

①検体の外観と分離菌
②塗抹検査で *Campylobacter* が推定されたが，培養では菌発育陰性
③パニック値に該当する微生物の検出（**表 5-8**）
④検体の直接分離培養で *Salmonella* または *Vibrio* 陽性であったが増菌培養陰性
⑤生化学的性状が *Salmonella* または *Shigella* に一致するにもかかわらず，抗血清による凝集反応陰性
⑥まれな薬剤感受性

①は特に外観が異常（水様便，膿粘血便など）にもかかわらず原因菌が検出されない場合，抗菌薬投与の有無などの患者背景を確認する。また，分離培地を観察し直して *Yersinia* のような遅発育菌の見落としがないか確認する。純培養状または優位に発育した集落は，非定型的な性状を示す株の可能性もあるので，疑わしい場合には同定する。*S. Enteritidis* などで硫化水素非産生やリジン脱炭酸反応陰性株，乳糖分解性株がきわめてまれであるが報告されている。その他，細菌以外の原虫などによる感染症の可能性も念頭に確認する。

②は培地の性能や培養条件によって発育が遅延することがある。48 時間培養後で菌陰性の場合は，培養を継続中であることを中間報告し，最大 1 週間まで延長してみる。

③パニック値に該当する微生物が同定された場合は，複数の技師によるダブルチェックを行う。特に経験の浅い技師の場合は，最終結果のみでなく，途中の過程もチェックする。また，海外渡航者の下痢症では複数の原因菌が検出されることがある。原因菌が 1 種見つかったからといって検査を打ち切らず，他の原因菌の見落としがないかどうか確認する。

④は，増菌培地は培養時間が影響し，所定の時間より遅く分離した場合には菌検出率が逆に低下する。

表 5-8　糞便検査におけるパニック値（医師へ直接連絡すべき検査結果）

検査項目	内容
塗抹検査	*Campylobacter* 陽性 原虫（赤痢アメーバ，ランブル鞭毛虫，クリプトスポリジウム，等）陽性 蠕虫卵陽性
培養検査	腸管感染症原因微生物検出： *Shigella* spp.，*Salmonella* sp.，*E. coli* O157，*E. coli* O157 以外の EHEC，*Campylobacter jejuni*，*Yersinia enterocolitica*，*Vibrio cholerae*（O1 および non-O1），*Vibrio parahaemolyticus*，*Aeromonas* spp.，*Plesiomonas shigelloides* 薬剤耐性菌検出： VRE（VanA，VanB タイプ）
毒素検査	ベロ毒素陽性（*E. coli* O157 および他の EHEC） コレラエンテロトキシン陽性
ウイルス抗原検査	ロタウイルス，アデノウイルス，ノロウイルス陽性

⑤は新しい血清型の可能性もあり，*Shigella* で知られている。スライド凝集反応陰性であっても疑わしい場合には，専門機関へ確認を依頼するのが望ましい。

⑥は *Salmonella* の ABPC，第三世代セフェム系薬または新キノロン系薬耐性，病原大腸菌の第三世代セフェム系薬耐性または基質拡張型 β-ラクタマーゼ（ESBL）産生株，*C. jejuni* のマクロライド系薬耐性，新キノロン系薬耐性などが該当する。コンタミネーションの有無を含めてチェックする。

文　献

1) International Standard ISO 15189, Medical Laboratories-Requirements for quality and competence, Third edition, 2012-11-01, Reference No. ISO 15189：2012（国際規格 ISO 15189 臨床検査室―品質と能力に関する要求事項，第 3 版，2012 年 11 月 1 日，英和対訳版）．2012．一般社団法人日本規格協会，東京．
2) 三澤成毅．2017．ISO 15189 取得簡易マニュアル．技術的要求事項と検査室の整備：微生物検査部門，微生物検査部門が準備すべきこと．臨床検査 61：623-633.
3) 三澤成毅．2017．X．微生物検査の教育・研修のためのカリキュラム．p.343-348，臨床微生物検査ハンドブック（小栗豊子 編集，第 5 版），三輪書店，東京．
4) 三澤成毅．2016．総説 臨床検査室のバイオセーフティ．JBSA Newsletter 6：5-10.
5) Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 30th

ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa., USA.
6）三澤成毅．2010．第 5 章 検査の精度管理．腸管感染症検査ガイドライン（日本臨床微生物学会検査法マニュアル作成委員会・腸管感染症検査ガイドライン委員会 編集），日臨微誌 20(Suppl)：113-125.
7）三澤成毅．2017．総論Ⅲ．C．微生物検査概論―検査の基本．4 微生物検査ための検査オーダ方法と注意点．p.82-93，感染症専門医テキスト 第 I 部解説編（一般社団法人日本感染症学会 編集）．南江堂，東京．
8）三澤成毅．2017．総論Ⅲ．C．微生物検査概論―検査の基本．5 一般細菌と真菌の塗抹・培養・同定による検査診断の工程．p.94-102，感染症専門医テキスト 第 I 部解説編（一般社団法人日本感染症学会 編集）．南江堂，東京．
9）公益社団法人日本化学療法学会・一般社団法人日本感染症学会 *Clostridioides*（*Clostridium*）*difficile* 感染症診療ガイドライン．2018．日化療誌 66：645-690.
10）Lewis SJ, Heaton KW. 1997. Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. Scand J Gastroenterol 32：920-924.
11）Daly JA. 2016. Section 14 Quality assurance, quality control, laboratory records, and water quality. p.14.1.1-14.2.41. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 4th ed.(Leber AL ed.). American Society for Microbiology, Washington D. C., USA.
12）米国 Microbiologics 社ホームページ．http://www.microbiologics.com/（2019 年 1 月 1 日現在）
13）関東化学株式会社標準菌株ホームページ．http://products.kanto.co.jp/web/index.cgi?c=t_product_table&pk=339（2019 年 1 月 1 日現在）
14）独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンターホームページ．https://www.nite.go.jp/nbrc/cultures/index.html（2019 年 1 月 1 日現在）

第６章

法的規制を受ける細菌性腸管感染症

はじめに

わが国の法律の中で感染症の予防に関連する法律としては，感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律（感染症法），食品衛生法，予防接種法，結核予防法，検疫法などがあげられる。その中で細菌性腸管感染症に関する法律は，1999 年（平成 11 年）4 月に施行された感染症法および 1947 年（昭和 22 年）に制定された食品衛生法がある。

1 感染症法

【分類と届出】

感染症法は，感染症対策を主眼に作成され，感染力と致死率など危険度が高い順に一類〜五類に分類されている。三類感染症は，コレラ，細菌性赤痢，腸管出血性大腸菌感染症，腸チフスおよびパラチフスの 5 種類で，ただちに届出なければならない。届出方法，項目，入院勧告の可否，就業制限通知の可否を**表 6-1** に示す[1)]。

【定義と検査方法】

各疾患の定義と検査方法を**表 6-2** に示す[2)]。分離・同定による病原体の検出には，生化学的性

表 6-1　感染症法における届出，入院，就業制限に関する分類一覧

感染症類型	疾患名	届出の要否			届出方法			法に基づく入院勧告の可否			就業制限通知の可否		
		患者	疑似症	無症状病原体保有者	定点種別	時期	内容	患者	疑似症	無症状病原体保有者	患者	疑似症	無症状病原体保有者
三類	コレラ	○	×	○	全数	直ちに	a	×	×	×	○	×	○
	細菌性赤痢	○	×	○	全数	直ちに	a	×	×	×	○	×	○
	腸管出血性大腸菌感染症	○	×	○	全数	直ちに	a	×	×	×	○	×	○
	腸チフス	○	×	○	全数	直ちに	a	×	×	×	○	×	○
	パラチフス	○	×	○	全数	直ちに	a	×	×	×	○	×	○
四類	E 型肝炎	○	×	○	全数	直ちに	a	×	×	×	×	×	×
	A 型肝炎	○	×	○	全数	直ちに	a	×	×	×	×	×	×
	ボツリヌス症	○	×	○	全数	直ちに	a	×	×	×	×	×	×
五類	アメーバ赤痢	○	×	×	全数	7 日以内	b	×	×	×	×	×	×
	クリプトスポリジウム症	○	×	×	全数	7 日以内	b	×	×	×	×	×	×
	ジアルジア症	○	×	×	全数	7 日以内	b	×	×	×	×	×	×
	感染性胃腸炎	○	×	×	小児科基幹*1	次の月曜	c	×	×	×	×	×	×

a：氏名，年齢，性別，職業，住所，所在地，病名，症状，診断方法，初診・診断・推定感染年月日，感染原因，感染経路，感染地域，診断した医師の住所及び氏名，その他，（保護者の住所氏名）
b：年齢，性別，病名，症状，診断方法，初診・診断・推定感染年月日，感染原因，感染経路，感染地域，診断した医師の住所及び氏名
c：年齢，性別
*1：感染性胃腸炎の基幹定点の届け出については，届出対象は病原体がロタウイルスであるもので，届出内容は原因病原体の名称及び検査方法を加える
<文献 1）より引用>

表 6-2　感染症法における疾患の定義と検査方法

感染症類型	疾患名	定義	検査材料	検査方法，臨床症状
三類	コレラ	コレラ毒素（CT）産生性コレラ菌（*Vibrio cholerae* O1）又は *V. cholerae* O139 による急性感染性腸炎である	便	分離・同定による病原体の検出，かつ，分離菌における（1），（2）いずれかによるコレラ毒素の確認 （1）毒素産生の確認 （2）PCR 法による毒素遺伝子の検出
三類	細菌性赤痢	赤痢菌（*Shigella dysenteriae*，*S. flexneri*，*S. boydii*，*S. sonnei*）の経口感染で起こる急性感染性大腸炎である	便	分離・同定による病原体の検出
三類	腸管出血性大腸菌感染症	ベロ毒素（Verotoxin, VT）を産生する腸管出血性大腸菌（*enterohemorrhagic E. coli*，EHEC，Shigatoxin-producing *E. coli*，STEC など）の感染によって起こる全身性疾病である	便	分離・同定による病原体の検出，かつ，分離菌における次の（1），（2）いずれかによるベロ毒素の確認 （1）毒素産生の確認 （2）PCR 法等による毒素遺伝子の検出
				ベロ毒素の検出（HUS 発症例に限る）
			血清	O 抗原凝集抗体又は抗ベロ毒素抗体の検出（HUS 発症例に限る）
三類	腸チフス	チフス菌（*Salmonella serovar* Typhi）の感染による全身性疾患である	血液，骨髄液，便，尿，胆汁	分離・同定による病原体の検出
三類	パラチフス	パラチフス A 菌（*Salmonella* serovar Paratyphi A）の感染によって起こる全身性疾患である（*Salmonella* Paratyphi B，*Salmonella* Paratyphi C による感染症はパラチフスから除外され，サルモネラ症として取り扱われる）	血液，骨髄液，便，尿，胆汁	分離・同定による病原体の検出
四類	E 型肝炎	E 型肝炎ウイルスによる急性ウイルス性肝炎である	血液	PCR 法による病原体の遺伝子の検出
			血清	IgM 抗体若しくは IgA 抗体の検出
四類	A 型肝炎	A 型肝炎ウイルスによる急性ウイルス性肝炎である	血液，便	PCR 法による病原体の遺伝子の検出
			血清	IgM 抗体の検出
四類	ボツリヌス症	ボツリヌス菌（*Clostridium botulinum*）が産生するボツリヌス毒素，又は *C. butyricum*，*C. baratii* などが産生するボツリヌス毒素により発症する神経，筋の麻痺性疾患である	血液，便，吐物，腸内容物，創部の浸出液	ボツリヌス毒素の検出
				分離・同定による病原体の検出，かつ，分離菌における次の（1），（2）いずれかによるボツリヌス毒素の確認 （1）毒素産生の確認 （2）PCR 法による毒素遺伝子の検出
			原因食品	原因食品からのボツリヌス毒素の検出
			血清	ボツリヌス抗毒素抗体の検出（数か月後）
五類	アメーバ赤痢	赤痢アメーバ（*Entamoeba histolytica*）の感染に起因する疾患で，消化器症状を主症状とするが，それ以外の臓器にも病変を形成する	便，病変部（大腸粘膜組織，膿瘍液）	顕微鏡下での病原体の検出 ELISA 法による病原体の抗原の検出 PCR 法による病原体の遺伝子の検出
五類	クリプトスポリジウム症	クリプトスポリジウム属原虫（*Cryptosporidium* spp.）のオーシストを経口摂取することによる感染症である	便，生検組織，十二指腸液，胆汁，膵液	鏡検による原虫（オーシスト）の証明による病原体の検出 酵素抗体法又はイムノクロマト法による病原体抗原の検出 PCR 法による病原体の遺伝子の検出
五類	ジアルジア症	消化管寄生虫鞭毛虫の一種であるジアルジア（別名ランブル鞭毛虫）（*Giardia lamblia*）による原虫感染症である	便，生検組織，十二指腸液，胆汁，膵液	顕微鏡下でのジアルジア原虫の証明 酵素抗体法又はイムノクロマト法による病原体抗原の検出 PCR 法による病原体の遺伝子の検出
五類	感染性胃腸炎（小児科定点）	細菌又はウイルスなどの感染性病原体による嘔吐，下痢を主症状とする感染症である。原因はウイルス感染（ロタウイルス，ノロウイルスなど）が多く，毎年秋から冬にかけて流行する。また，エンテロウイルス，アデノウイルスによるものや細菌性のものもみられる	—	届出のために必要な臨床症状及び要件（2 つすべてを満たすもの） ア　急に発症する腹痛（新生児や乳児では不明），嘔吐，下痢 イ　他の届出疾患によるものを除く
五類	感染性胃腸炎（基幹定点）	ロタウイルスの感染による下痢，嘔吐，発熱を主症状とする感染症である	—	届出に必要な要件（以下のアの（ア）及び（イ）かつイを満たすもの） ア　届出のために必要な臨床症状 （ア）24 時間以内に，3 回以上の下痢又は 1 回以上の嘔吐 （イ）他の届出疾患によるものを除く
			便	イ　病原体診断の方法 分離・同定による病原体の検出 抗原の検出（イムノクロマト法による病原体抗原の検出） PCR 法による病原体の遺伝子の検出

<文献 2）より引用>

状，抗血清，PCR 法による同定など，種々の同定方法を含む。

【特定病原体の管理規制】

生物テロに使用されるおそれのある病原体などであって，国民の生命および健康に影響を与えるおそれがある感染症の病原体等の管理の強化のため，感染症法では一種病原体等から四種病原体等までを特定し，その分類に応じて，所持や輸入の禁止，許可，届出，基準の遵守等の規制が設けられている。コレラ菌，志賀毒素，赤痢菌属，チフス菌，腸管出血性大腸菌，パラチフス A 菌，結核菌（多剤耐性結核菌を除く）は，四種病原体に指定されており，施設の基準および保管等の基準が定められている[3)]。チフス菌，パラチフス A 菌などの四種病原体の施設基準としてクラスⅡ以上の安全キャビネットの設置が必要であり，保管基準として保管庫などの施錠，保管施設のバイオハザード表示などが義務付けられている。

2 食品衛生法

【届出】

食品衛生法第 58 条により食品，添加物，器具もしくは容器包装に起因して中毒した患者もしくはその疑いのある者（食中毒患者等）を診断し，またはその死体を検案した医師は，ただちに（24 時間以内）最寄りの保健所長にその旨を届け出なければならない[4)]。

【食中毒病因物質】

食品衛生法における食中毒病因物質を**表 6–3** に示す[5)]。食中毒の病因物質のうち細菌について血清型等が判明している場合は，細菌名とともに血清型，ファージ型，毒素型等を，ウイルスについて遺伝子型などが判明している場合は，ウイルス名とともに遺伝子型を報告することになっている。

表 6–3　食品衛生法における食中毒病因物質

1　サルモネラ属菌	10　カンピロバクター・ジェジュニ/コリ	19　クドア*3
2　ぶどう球菌	11　ナグビブリオ	20　サルコシスティス*4
3　ボツリヌス菌	12　コレラ菌	21　アニサキス*5
4　腸炎ビブリオ	13　赤痢菌	22　その他の寄生虫*6
5　腸管出血性大腸菌	14　チフス菌	23　化学物質
6　その他の病原大腸菌	15　パラチフス A 菌	24　植物性自然毒
7　ウェルシュ菌	16　その他の細菌*1	25　動物性自然毒
8　セレウス菌	17　ノロウイルス	26　その他
9　エルシニア・エンテロコリチカ	18　その他のウイルス*2	27　不明

*1エロモナス・ヒドロフィラ，エロモナス・ソブリア，プレジオモナス・シゲロイデス，ビブリオ・フルビアリス，リステリア・モノサイトゲネス等
*2サッポロウイルス，ロタウイルス，A 型肝炎ウイルス等
*3クドア・セプテンプンクタータ
*4サルコシスティス・フェアリー
*5アニサキス科およびシュードテラノーバ科の線虫
*6クリプトスポリジウム，サイクロスポラ，肺吸虫，旋尾虫，条虫等
<文献 5）より引用>

文　献

1）厚生労働省．感染症法における感染症の分類．https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10900000-Kenkoukyoku/0000203410.pdf.
2）厚生労働省．届出の対象となる感染症の種類．https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/kenkou/kekkaku-kansenshou/kekkaku-kansenshou11/01.html.
3）厚生労働省．感染症法に基づく特定病原体の等の管理体制について．https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/kekkaku-kansenshou17/03.html.
4）厚生労働省．食品衛生法．http://www12.plala.or.jp/taacohya/Houki/KOSEIRODOU/3frame_ShokuhinEisei_all.htm.
5）厚生労働省医薬食品局安全部長．食品衛生法施行規則の一部改正について．平成 24 年 12 月 28 日食安第 1228 第 7 号．

日本臨床微生物学会雑誌　第 31 巻　Supplement 2

令和 3 年 11 月 25 日　発行

編　集：検査法ガイド等作成委員会
　　腸管感染症検査ガイドライン第 2 版作業部会

発行所：一般社団法人日本臨床微生物学会（理事長　舘田　一博）
　　〒141-0022　東京都品川区東五反田 4-7-25　TY ビル 3 階
　　TEL：03-5447-6800　FAX：03-5447-6801
　　E-mail：jscm@qk9.so-net.ne.jp
　　URL：http://www.jscm.org

本書に掲載する著作物のすべての著作権は一般社団法人日本臨床微生物学会に帰属するものとします。
©日本臨床微生物学会　2021　Printed in Japan