

食水系感染症病原体の検査法 - 14

腸チフス、パラチフス

もり た まさ とも いずみ や ひで まさ おお にし まこと
 森 田 昌 知 : 泉 谷 秀 昌 : 大 西 真
 Masatomo MORITA Hidemasa IZUMIYA Makoto OHNISHI

I. 病原体

1. 病原体

腸チフス、パラチフスはそれぞれチフス菌 (*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhi)、パラチフス A 菌 (*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi A) による全身性感染症であり、一般のサルモネラ感染症とは区別される。チフス菌、パラチフス A 菌以外にもヒトにチフス様症状を起こすサルモネラ属菌 (*S. Sendai*, *S. Paratyphi B*, *S. Paratyphi C*) もあるが、わが国ではこれらの感染症は一般のサルモネラ症として扱われている。1999 年 4 月に施行された感染症法において、腸チフス、パラチフスは 2 類感染症に分類されていたが、2007 年 4 月施行の法改正により類型の見直しがなされ、腸チフス、パラチフスは 3 類感染症に移行した。患者、無症状病原体保有者 (保菌者)、および死亡者 (死亡疑い者を含む) を診断した医師は、直ちに最寄りの保健所を通じて都道府県知事への届出が義務付けられている。

チフス菌、パラチフス A 菌は通性嫌気性、無芽胞性グラム陰性桿菌で集毛性鞭毛を持ち、運動性がある。腸内細菌科サルモネラ属に分類される。菌体由来の O 抗原、鞭毛由来の H 抗原を持ち、チフス菌は O9 群、パラチフス A 菌は O2 群に属する。またチフス菌は莢膜抗原の Vi 抗原を持っているが、パラチフス A 菌には無い。

2. 疫学

腸チフス、パラチフスは経口感染症であり、チフス菌、パラチフス A 菌に汚染された食品や飲料水の摂取が感染の原因となる。チフス菌、パラチフス

A 菌の宿主特異性から感染源がヒトに限定されているため、感染リスクは衛生環境の改善と共に減少する。現在でも日本を除くアジア、アフリカなどの地域では蔓延しており、流行を繰り返している。

日本ではここ数年、腸チフスは年間 50 例前後、パラチフスは 20 例前後の報告数で推移しており、大規模な集団事例は見られていない。症例の多くは輸入例であり、その割合は全体として 80% 程度に達する。診断月別にみると 4~5 月と 9~10 月に多い。また、腸チフス、パラチフス患者の性別では、女性に比べて男性の方が多く、年齢では、男女とも 20~39 歳が多い。この年代の学生、会社員等が春休み (2~3 月) や夏休み (7~8 月) などの長期休暇を利用してアジア地域などの流行地へ出かけて感染し、その後発症するまでの潜伏期間と発症後診断に至るまでの日数が診断月別の発生状況に反映されていると考えられる¹⁾。

腸チフス、パラチフスの疫学調査にはファージ型別が行われている。わが国の腸チフス、パラチフスの患者・保菌者から分離された菌株は、都道府県等衛生部を通じて国立感染症研究所に送付され、当該試験が実施されている (昭和 41 年衛発第 788 号、衛防第 60 号、平成 11 年健医感発第 44 号)。最近では治療に影響を及ぼす薬剤耐性菌の動向を監視する必要性も増していることから、ファージ型別による疫学解析だけでなく、薬剤感受性試験も行っている²⁾。

3. 臨床症状

腸チフスとパラチフスの臨床症状はほとんど同じであるが、パラチフスは腸チフスと比較して症状は軽い。

通常、2 週間前後の潜伏期を経て、頭痛、食欲不振、全身倦怠感などの症状で始まる。第一病期には、体温が段階的に上昇し 39~40℃ に達する。比較的

食水系感染症病原体の検査法 - 14

除脈、バラ疹、脾腫が三主徴であるが、最近では、三主徴の出現率は30～50%である。第二病期は40度台の稽留熱となり、チフス性顔貌、重症時には意識障害なども見られる。第三病期では弛張熱を経て徐々に解熱する。時に腸出血、それに続く腸穿孔といった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。病初期において、下痢が半数程度に見られる。腸出血、腸穿孔および治療後の再発は、現行の第一選択薬であるニューキノロン薬が治療に使用されるようになってからは稀となった³⁾。

II. 検査法

1. 培養法

確定診断には、臨床材料からのチフス菌・パラチフスA菌の分離が必要である。血液、糞便、胆汁、尿などが検査対象となるが、検査時期により高い検出率を示す材料の選択が重要となる。有熱期である第一病期、第二病期では血液培養での検出率が高く、糞便培養は第二病期以後に陽性となり、その検出率は漸次高くなる。検査は一度だけでなく、時間を変えて複数回試みる。保菌者では糞便、胆汁および尿培養を行う。

分離培養には直接分離培養と増菌培養後の分離培養がある。直接分離培養は材料が血液または糞便の場合に行われる方法であるが、同時に増菌培養も試みる。血液は無菌的に採取し、市販の血液培養用ブイヨンに接種し、増菌培養する。糞便、胆汁、尿はセレナイト-シスチン培地で増菌培養する。直接分離培養、増菌培養後の分離培養ともに選択培地には亜硫酸ビスマス寒天培地 (Bismuth Sulfate Agar)、DHL寒天培地 (Deoxycholate hydrogen sulfide lactose Agar)、SS寒天培地 (*Salmonella Shigella* Agar) を用いるが、非選択培地として血液寒天培地または普通寒天培地を併用する。亜硫酸ビスマス寒天培地上で、チフス菌は硫化水素を産生するため、金属光沢のある黒色集落を形成する。一方、硫化水素を産生しないパラチフスA菌は暗緑色の集落を作る。一般のサルモネラも黒色ないし暗褐色の集落を形成するが、チフス菌の集落よりも大きい。またDHL寒天培地およびSS寒天培地を用いた場合、チフス菌は

硫化水素を産生するため中心部が黒色の集落を形成する。パラチフスA菌は硫化水素非産生性で無色の集落を形成する。一般のサルモネラも黒色集落を形成するので、それらとの鑑別が必要である。選択分離培地上の疑わしい集落をTSI(Triple Sugar Iron)寒天培地とLIM (Lysine Indole Motility) 培地に釣菌して基本的な生化学的性状を確認する。TSI寒天培地にチフス菌を接種すると斜面がアルカリ性の赤色、高層部が酸性の黄色を示し、ガス産生がみられない。また硫化水素産生による黒色が斜面と高層部の境界部または穿刺部位にわずかに認められるが、認められない場合もある。パラチフスA菌では、斜面がアルカリ性の赤色、高層部が酸性の黄色を示し、ガス産生がみられる。硫化水素の産生は通常陰性である。リジン脱炭酸陽性のチフス菌ではLIM培地は紫色を示すが、リジン脱炭酸陰性のパラチフスA菌では黄色を呈する(写真1)。共にインドール試験は陰性である⁴⁾。

血清型は、市販の診断用血清を使用し、O抗原とH抗原の組み合わせで決定する。チフス菌はO9群、H-d、パラチフスA菌はO2群、H-aである。チフス菌にはH抗原dを持たずにjまたはZ₆₆を持つものが分離されることがある。現在j、Z₆₆抗原のH血清は市販されていないので、H抗原の決定が通常はで

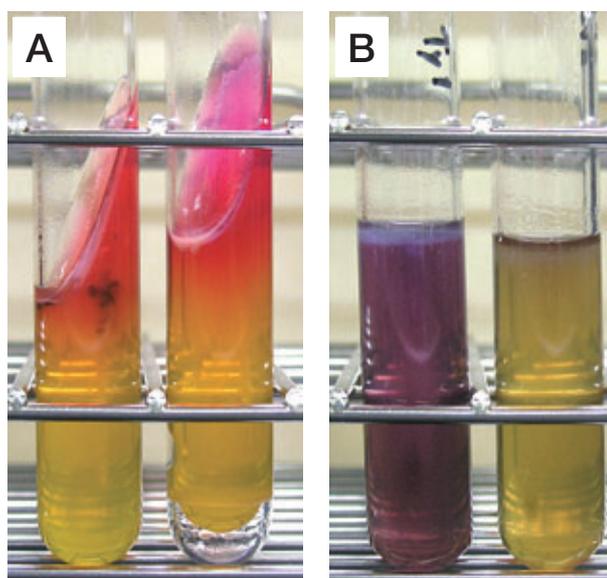


写真1 チフス菌、パラチフスA菌を穿刺したTSI寒天培地(A)およびLIM培地(B)。いずれも左がチフス菌であり、右がパラチフスA菌である。

きない。チフス菌の性状を示し H 抗原を決定できない場合は H 抗原が j または Z₆₆ の可能性が考えられるので、国立感染症研究所細菌第一部に H 抗原の決定を依頼する。

2. 遺伝子検査法

チフス菌、パラチフス A 菌の遺伝子検査法としては、Vi 抗原の転写因子 (*vipR*)、H 抗原遺伝子 (*fliC:d* と *fliC:a*)、O 抗原合成遺伝子 (*rfbE*、*rfbS*) を増幅する multiplex PCR 法が報告されている⁵⁾。チフス菌では、*vipR*、*fliC:d*、*rfbE*、*rfbS* が増幅され、パラチフス A 菌では *fliC:a*、*rfbS* が増幅される。また、この方法では H-j 抗原遺伝子 (*fliC:j*) が *fliC:d* 検出プライマーを用いて *fliC:d* に比べて 261bp 小さく増幅されるため、*fliC:d* および *fliC:j* の鑑別が可能である。しかしながら、本法では H-Z₆₆ 抗原遺伝子 (*fljB:Z₆₆*) は増幅することができない。また、Vi 抗原の分泌に関与する遺伝子 (*vexC*) を標的としたリアルタイム PCR 法も報告されており、これによりチフス菌を特異的に検出できる⁶⁾。また、チフス菌とパラチフス A 菌のゲノム比較から、それぞれに特異的な配列を抽出し、real-time PCR 用のプローブ設計を行い、血液および髄液からのチフス菌、パラチフス A 菌の検出を試みている研究もある⁷⁾。一方で、サルモネラ属菌の侵入性関連遺伝子 *invA* を特異的に認識するプライマーを用いた LAMP 法をチフス菌の検出に適用した報告もある⁸⁾。しかしながら、いずれの方法も臨床診断での実用には至っていない。

3. 簡易、迅速検査法

チフス菌、パラチフス A 菌を特異的に検出する迅速検査、診断キット等は市販されていない。食品中からサルモネラ属菌を検出する目的で開発された検出キットの市販品があるので、それらを用いてサルモネラ属菌を検出し、それがチフス菌、パラチフス A 菌であるかを生化学性状試験により確認しなければならない。

血清学的診断として、チフス菌の O 抗原、H 抗原、Vi 抗原、パラチフス A 菌の O 抗原、H 抗原の血中抗体価を測定する Widal 反応があるが、特異性、感度が低く、国内で市販されている試薬が無いなど、わが国ではほとんど利用されていない。

また、尿中の O 抗原 (O9)、H 抗原 (H-d)、Vi 抗原をサンドイッチ ELISA 法により検出することで、腸チフス迅速診断を試みる論文が報告されている⁹⁾。しかし、O 抗原と H 抗原の検出率が 50% 程度と低く、またブルセラ症患者からも Vi 抗原が検出されるなど特異性にも問題があることから、臨床診断現場での実用には改善が必要である。

文 献

- 1) 感染症情報センター, 国立感染症研究所. 病原微生物検出情報, **30**: 91-92, 2009.
- 2) Morita M *et al.*: *Salmonella enterica* serovar Typhi in Japan, 2001-2006 : emergence of high-level fluoroquinolone-resistant strains. *Epidemiol. Infect.* **138** : 318-321, 2010.
- 3) 日本医師会編: 感染症の診断・治療ガイドライン 2004, 医学書院, 2005.
- 4) 中西寿男, 丸山務監修: 食品由来感染症と食品微生物, 中央法規, 2009.
- 5) Hirose K *et al.*: Selective amplification of *tyv* (*rfbE*), *prt* (*rfbS*), *viaB*, and *fliC* genes by multiplex PCR for identification of *Salmonella enterica* serovar Typhi and Paratyphi A. *J. Clin. Microbiol.*, **40** : 633-636, 2002.
- 6) Farrell JJ *et al.*: Broad-range (pan) *Salmonella* and *Salmonella* serotype Typhi-specific real-time PCR assays. *Am. J. Clin. Pathol.* **123** : 339-345, 2005.
- 7) Nga TV *et al.*: The sensitivity of real-time PCR amplification targeting invasive *Salmonella* serovars in biological specimens, *BMC Infect. Dis.* **10** : 125, 2010.
- 8) Francois P *et al.*: Robustness of a loop-mediated isothermal amplification reaction for diagnostic applications. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **62** : 41-48, 2010.
- 9) Fadeel MA *et al.*: Rapid diagnosis of typhoid fever by enzyme-linked immunosorbent assay detection of *Salmonella* serotype Typhi antigens in urine, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **70** : 323-328, 2004.