

赤痢菌検査について

1 赤痢菌について

赤痢菌の学名 *Shigella* は 1897 年に志賀潔によって発見されたことに由来している。赤痢菌はグラム陰性通性菌で鞭毛を持たず、運動性はない。大腸菌とはきわめて近縁で分類学的立場からは大腸菌の一種と考えられる。しかし、運動性がないことが赤痢菌の絶対的な性状となり検査の際には大腸菌等との鑑別に用いられている。熱 (60℃で 10 分で死滅) やアルコール (5~10% で数分で死滅) に対する抵抗性は高くないが、酸に対しては強く pH2.5 でも短時間なら生残する。この酸抵抗性によって胃内でも生存が可能となり、その発症菌量は他の病原菌に比べ少ない (10~100 個) と考えられている。生化学的性状と血清型により *Shigella dysenteriae*、*S. flexneri*、*S. boydii*、*S. sonnei* の 4 菌種に分けられる。これらは亜群とも呼ばれ 4 菌種はそれぞれ A、B、C、D 亜群に分けられる。これら亜群の流行は、地域、時代によって異なることが知られている。例えば、発展途上国では A、B 亜群が多く検出されるが、わが国のような先進国では B、D 亜群が多く検出される。わが国ではかつて A 亜群が多く検出されたが、最近では B、D 亜群が多く検出されている。また、最近検出される赤痢菌の多くはアンピシリン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール等 3 剤以上の抗生物質に耐性を示す多剤耐性菌である。その病原性の研究は東京大

学医科学研究所等で行われ、発症の機序等が明らかとなっているが、それらについては成書を参照されたい¹⁾。

2 我が国の細菌性赤痢の発生状況

細菌性赤痢報告数は、戦後まもなくは患者数約 10 万人、死者約 2 万人と非常に恐ろしい感染症であったが、その後、衛生環境の改善、抗生物質の普及等で年々減少し、最近では 150 件前後で推移している (表 1)。これらの患者の大半は東南アジア等発展途上国からの帰国者であった。愛知県の届出数は平成 29 年が 12 件、平成 28 が 9 件、平成 27 年が 8 件である。

表 1 全国の三類感染症発生状況

年	コレラ	細菌性赤痢	EHEC感染症	腸チフス	バラチフス
2008	45	320	4,329	57	27
2009	16	181	3,879	29	27
2010	11	235	4,135	32	21
2011	12	300	3,939	21	23
2012	3	214	3,770	36	24
2013	4	143	4,046	65	50
2014	5	158	4,153	53	16
2015	7	156	3,561	36	31
2016	10	121	3,641	52	19
2017	7	141	3,890	37	14

感染症疫学センター

2017 年は 2018 年 1 月 15 日更新データ

細菌性赤痢による集団事例も保育園等でしばしば発生が認められる (表 2)。平成 30 年 10 月に山梨県の宿坊で喫食者 72 名の内患者数 42 名の細菌性赤痢の食中毒が発生した。また、同年 10 月には東京都目黒区内の保育園でも集団事例の発生があった。感

染者は園児 20 名、職員 1 名の計 21 名、うち園児 2 名が入院した。平成 26 年には北九州市でも幼稚園で患者 14 名の集団事例が発生した。同様の事例は大阪府でも発生している。これら集団事例の感染源は大半が不明である。

表 2 細菌性赤痢集団事例

発生場所	日時	患者数	参考文献
宿坊（山梨県）	2018/10	42	山梨県記者発表資料 (2018/10/15)
保育園（東京都目黒区）	2018/10	21 (感染者)	目黒区報道資料 (2018/10/12)
幼稚園（福岡県）	2014/10	14	病原微生物検出情報 Vol. 38 p.103-104: 2017 年5月号
保育園（大阪府）	2012/3	18	病原微生物検出情報 Vol. 33 p. 245- 247: 2012年9月号

3 細菌性赤痢とは

細菌性赤痢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（以下「感染症法」と言う。）で三類感染症に分類される。定義は赤痢菌（*S. 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。臨床的特徴は潜伏期 1～5 日（大多数は 3 日以内）。主要病変は大腸、特に S 状結腸の粘膜の出血性化膿性炎症、潰瘍を形成することもある。このため、発熱、下痢、腹痛を伴うテネスマス（tenesmus；しぶり腹—便意は強いがなかなか排便できないこと）、膿・粘血便の排泄などの赤痢特有の症状を呈する。近年、軽症下痢あるいは無症状に経過する例が多く、症状は一般に成人よりも小児の方が重い。届出基準は患者（確定例）の場合、医師は、上述の臨床的特徴を有する者を診察した結果、症状や所見から細菌性赤痢が疑われ、かつ、分離・同定による病原菌の検出により、細菌性赤痢患者と診断した場合には、感染症法第 12 条第 1 項の規定による届出を直ちに行わなければならない。また、無症状病原

体保有者の場合、医師は、診察した者が上述の臨床的特徴を呈していないが、分離・同定による病原菌の検出により、細菌性赤痢の無症状病原体保有者と診断した場合にも、感染症法第 12 条第 1 項の規定による届出を直ちに行わなければならない。

4 赤痢菌の検査

検査の手順については国立感染症研究所の赤痢菌検査・診断マニュアル（平成 24 年 6 月改定）等成書が数多くあるので概略を示す。図 1 は糞便からの赤痢菌検出について保健所試験検査技術者用手引書（愛知県健康福祉部保健医療局 2016. 3）から抜粋した図である。一般に地方衛生研究所、保健所では分離培地は SS 培地と DHL 培地が併用される。糞便は選択性の強い SS 培地、次に DHL 培地の順に塗抹する。翌日発育した無色半透明若しくは透明集落、中心部微桃色半透明集落を 5 個以上釣菌する。*S. sonnei* の場合、乳糖遅分解であるため、コロニーが微桃色を呈することがあるので注意が必要である。また、多くの細菌が混在していたり、コロニーによって性状が異なることがあるので釣菌するコロニー数は複数個とすることが重要である。赤痢菌の場合、糞便については適切な増菌培地がないため糞便をやや多めに SS 培地に塗抹する。

分離培地上のコロニーの生化学的性状試験には TSI 培地と LIM 培地または TSI 培地、SIM 培地、リジン脱炭酸試験培地が用いられることが多い。釣菌の際の注意点として以下の 2 つがある。（1）コロニー以外の培地を白金耳で触らないこと。培地上には肉眼ではコロニーが確認できない場合でも細菌が生息してコンタミの原因となる。（2）使

用する培地は出来る限り新しい培地を使用する。後述するが、赤痢菌と大腸菌等を鑑別する重要な生化学的性状であるガス産生、運動性の判定を古い培地を使用した場合、誤ることがある。

図1 赤痢菌検査手順



生化学的性状試験と並行して血清学的検査を実施する。血清学的検査は市販のセットを用いるため、添付文書に従って検査を行えば問題はないが、注意点として菌株は加熱菌ではなく生菌を用いることやスライド凝集反応は1分間観察することがある。特に注意が必要な点は赤痢菌免疫血清に凝集が認められた場合である。図2に示したが、赤痢菌抗血清BまたはD多価に凝集が見られた場合は、「赤痢菌」と疑い、生化学的性状、血清学的性状が一致すれば確定となる（表3 保健所試験検査技術者用手引書 愛知県健康福祉部保健医療局 2016.3 から抜粋）。さらに必要に応じタカラバイオ

社から市販されている *ipaH* 遺伝子及び *invE* 遺伝子の赤痢菌同定用 PCR プライマー等を用いて遺伝子検査を行うこともできる。一方、赤痢菌抗血清 A または C 多価に凝集が見られた場合は、国内での検出が極めて少ないことから「赤痢菌でない」と疑う。この場合は前述した市販の赤痢菌同定用プライマー等を用いた遺伝子検査、生化学的性状試験の追加として酢酸ナトリウム、マンニット、オルニチン等を実施する必要がある。また、当所でのこれまでの経験から新しい TSI 培地、LIM 培地、及び SIM 培地等を使用することが重要である。例えば、医療機関から搬入された A または C 多価に凝集が見られた赤痢菌疑い菌株では多くが、当日作製した TSI 培地、LIM 培地、及び SIM 培地を使用すると赤痢菌と大腸菌等の鑑別性状で大腸菌等の性状であるガス産生、運動性何れも陽性を示した。加えて東南アジア等からの帰国者か海外渡航歴がない患者かといった疫学情報も考慮する。

図2 赤痢菌抗血清に凝集が認められた時の検査手順

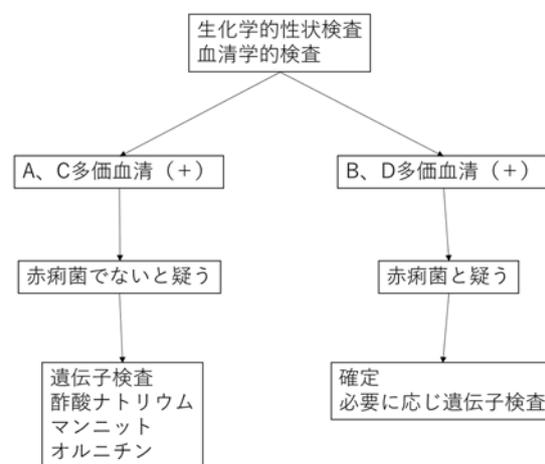


表3 赤痢菌の生化学的性状

菌種	培地及び性状	TSI			SIM			リジン
		乳糖・白糖	ブドウ糖	硫化水素	インドール	運動性	I P A	
赤痢の大部分		-	+	-	-	d	-	-
<i>S. flexneri</i> 6など の一部の赤痢菌	*1	-	+	d	-	-	-	-
<i>S. sonnei</i>	*2	-	+	-	-	-	-	-

d:不定

*1 *S. flexneri* 6, *S. boydii* 13及び*S. boydii* 14の中には、ガスを産生するものがある。

*2 *S. sonnei*は遅れて乳糖を分解する。

*3 インドールの性状

S. flexneri 1~5, *S. dysenteriae*,

*S. boydii*は菌株により陰性又は陽性

5 赤痢菌検査の重要性

細菌性赤痢の激減とともに保健所、地方衛生研究所における赤痢菌検査件数も激減した。加えて、これら施設ではかつて赤痢菌検査を経験したベテラン職員が退職し現在の職員の中には赤痢菌検査を経験したことのない職員も少なからず存在する。しかし、細菌性赤痢は三類感染症に分類され、食品関係業務等に従事する人の場合、就業制限がかかり、社会的影響が大きい。また、届出基準には患者・保菌者便からの分離・同定による病原体の検出が記載されている。加え

て赤痢菌は他の病原菌に比べ、誤同定が多いことが報告されている。例えば、医療機関等で大腸菌またはモルガネラが赤痢菌と誤同定された複数の事例が病原微生物検出情報で報告されている²⁾。さらに地方衛生研究所では患者及び患者接触者の赤痢菌検査を行うのみならず、医療機関や保健所等から依頼をされ、最終同定が求められることがある。以上のような状況から、地方衛生研究所において赤痢菌検査は依然として重要な業務のひとつと考えられる。また、平成28年4月には感染症法が改正され、地方衛生研究所の病原体検査の質の確保が求められ、定期的な精度管理体制の構築が急務となった。このようなことから地方衛生研究所及び保健所に対する赤痢菌の定期的な精度管理の実施が必要であると思われる。

6 参考文献

- 1) 吉田眞一：10. 腸内細菌科の細菌 C 赤痢菌属、吉田眞一、柳 雄介、吉開康信編：戸田新細菌学 改訂 34 版、2013、南山堂、東京
- 2) 病原微生物検出情報 Vol124, No. 9 (No. 283)、September 2003.

(文責：生物学部 松本昌門)

愛知県衛生研究所の新本館・研究棟を供用開始しました。

平成 29 年度から現地にて建替えを進めてい
ました。

このたび、新本館・研究棟の建設が完成し、
平成 31 年 3 月から供用開始しました。施設は
環境調査センターとの合同庁舎で、最新の環境
配慮技術を導入するとともに耐震性・安全性を
強化する等衛生行政の拠点施設として災害対
応機能の向上を図っています。

事業方式は PFI を導入し、PFI 事業者が施設
の設計・建設後に所有権を県に移転し、15 年間
維持管理業務を実施する BT0 (Build Transfer
Operate) 方式を採っています。

平成 31 年度は旧庁舎の取り壊し及び外構工
事を実施し、全面供用開始は 2020 年 4 月を予
定しています。

(文責：企画情報部)



新本館・研究棟緒元
主要用途：研究施設
規 模：地上 4 階、
塔屋 1 階
構 造：鉄骨造
建築面積：2,105.42 m²
延床面積：8,147.46 m²

完成予想図 (2020 年 4 月)

愛知県衛研技術情報 第42巻第1号 平成31(2019)年 3 月 29 日

照会・連絡先 愛知県衛生研究所

〒462-8576 名古屋市北区辻町字流7番6号

愛知県衛生研究所のホームページ【<http://www.pref.aichi.jp/eiseiken>】

所 長 室：	052-910-5604	生物学部長：	052-910-5654
次 長：	052-910-5683	ウイルス研究室：	052-910-5674
研 究 監：	052-910-5684	細菌研究室：	052-910-5669
総 務 課：	052-910-5618	医動物研究室：	052-910-5654
企画情報部長：	052-910-5619	衛生化学部長：	052-910-5638
健康科学情報室：	052-910-5619	医薬食品研究室：	052-910-5639
		生活科学研究室：	052-910-5643

代表 FAX：052-913-3641