

クリプトスポリジウム

クリプトスポリジウムの診断は検便などでオーシストを検出することによる。通常の塗沫標本観察では確認がむずかしいため、遠心沈殿法や浮遊法、密度勾配遠心法などによりオーシストの濃縮精製を行い得られた試料をさらに蛍光抗体染色、抗酸染色、ネガティブ染色などの染色標本を作製し観察すると、検出の感度もよくなる。

a. 検体の採取、輸送、保存など

• 検査材料の採取

検査材料を試験管、蓋付採便管などに数グラム採取する。検査までに時間を要するときは検体を冷蔵保存、さらに長期間保存する場合は10%ホルマリン溶液で固定する。

• 濃縮・精製

①遠心濃縮法、②密度勾配遠心、③シヨ糖浮遊法のいずれかの方法で濃縮精製する。

濃縮精製で得られた試料はさらに、染色して観察する。

b. 微生物学的検査法(染色および観察)

(1) 直接観察

試料の希釈液または、精製試料をスライドグラスに取りカバーグラスを書ける。カバーグラスの四隅をシールして微分干涉顕微鏡で観察する。通常の生物顕微鏡では観察は困難である。オーシストは類円形でその大きさは4.5-5.4X4.2-5.0 ミクロンでオーシスト内には4個のスポロゾイドや残体、その他に代償の顆粒が見られる。

(2) 蛍光抗体染色

特異的蛍光抗体と反応させる。その後、DAPIで核を染色する。蛍光顕微鏡で観察したときのオーシストの染色パターンは、周辺部のみ蛍光を発生し中心部の蛍光は認められず、ドーナツ状の染色像となる。UV 励起では、オーシスト中にスポロゾイドの核が見られる。

(3) ネガティブ染色

スライドグラス上に試料を少量取り、メチレンブルー染色液を加えて攪拌する。カバーグラスをかけてシールしてから生物顕微鏡を用い100-200倍で観察する。細菌酵母、その他のごみは、メチレンブルーに染まるがオーシストは染まらない。青色の背景の中に無色のオーシストが浮いて見える。

(4) 抗酸染色

スライドグラス上に試料を薄く塗布して風乾する。メタノールで固定し、Kinyounの石炭酸フクシンで5分間染色。50%エタノールで洗浄。1%硫酸水で2分間脱色。レフレルのアルカリ性メチレンブルーで1分間染色する。乾燥後、封入し観察する。オーシストは淡いピンク色から赤色さらに濃赤色に染まる。

(5) ヨウ素・ヨウ化カリ染色

精製試料を1.5ml サンプルチューブに取る。試料の2-3分の1のヨウ素・ヨウ化カリ液を加えて1-2分間熱湯で湯煎する。試料をスライドグラスに取りカバーグラスをかけてシール後観察する。オーシストの内部は褐色に染色される。

5. 治療

a. 薬物療法(抗菌薬療法)

消化管感染症には自然治癒する疾患が多い。従って、細菌による消化管感染症であってもあるいはそれが疑われる場合であっても、また、それらがパイオテロで発生した場合でも抗菌薬の投与が必須とは限らない。無投薬で、あるいは乳酸菌製剤や酪酸菌製剤を経口投与して経過を観察してもよい場合が多いと思われる。しかし、もし必要があり抗菌薬を投与する場合は、現在は抗菌力の強さと良好な組織移行などから、一般的に empiric therapy として成人ではニューキノロン薬、小児ではホスホマイシン(5歳以上の小児ではノルフロキサシンも可)の経口投与がよいと考えられる。ただし、カンピロ

バクテリア腸炎を強く疑う例ではマクロライド系抗菌薬を投与する。症状が重症あるいは菌血症が疑われるものでは抗菌薬を投与する。重症と考える目安の1例として、38°C以上の発熱、1日10回以上の下痢、血便あるいは水様便、強い腹痛、嘔吐のうち、下痢項目を含む2項目以上がみられる場合がある。表1に細菌性の成人消化管感染症に対する抗菌薬の投与例を示した。なお、腸炎を引き起こす細菌がバイオテロで使用される場合は薬剤耐性菌が使用される可能性が高いと推測され、薬剤感受性検査の結果抗菌薬の投与内容を変更する必要があると思われる。

ウイルス性の消化管感染症と判明したならば、あるいはウイルス性消化管感染症が疑われた場合は、無投薬あるいは乳酸菌製剤や酪酸菌製剤の投与で経過を観察する。

寄生虫による腸管感染症では、原因病原体を明らかにしてそれに有効な薬剤を使用する。赤痢アメーバ症(アメーバ赤痢)、ジアルジア症ではメトロニダゾールがまず選択される表2に成人の代表的な腸管寄生虫症に対する抗寄生虫薬の投与例を示した。免疫能が正常な人では、クリプトスポリジウム症は通常自然治癒する。

b. その他治療上の留意点

原因病原体の種類を問わず、腸管感染症では下痢や嘔吐で脱水に陥る可能性がある。また、脱水から腎不全に至ることもあり、脱水を防止する目的で経口的に水分摂取を勧める。経口摂取不十分な症例や不能症例では経静脈的な補液を行う。特に高齢者では注意が必要である。

6. 予防(ワクチン)

赤痢:予防ワクチンはない。赤痢菌のリポゾームを用いたワクチンでは実験動物で効果が認められている。最近、赤痢菌の上皮細胞への侵入性と細胞内および隣接細胞への拡散のメカニズムが明らかとなり、これらの研究の進展に伴いハイブリッドワクチン、栄養要求変異株、

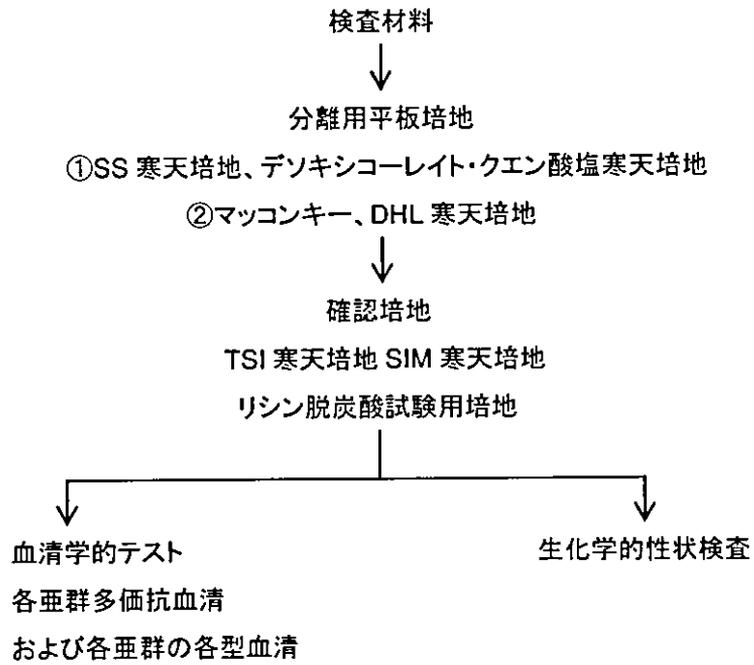
病原遺伝子変異株などをデザインしたワクチン開発が行われている。経口生菌ワクチンでは侵入性欠失株、および侵入性を保ったまま弱毒化した株が開発しつつある。

サルモネラ:経口ワクチンが開発中である。UDP-galactose epimeraseに欠陥のある*galE*変異弱毒株(Ty21a)が感染防御効果があるが、Ty21aは大量に数回投与する必要がある、ヒトに病原性がある*galE*変異株も見つかると安全性の問題がある。一方、芳香属環の生合成に必須な*aroA*遺伝子を不活化した弱毒性の*aroA*変異株ワクチンが作られている。*aroA*変異株CVD908は一回の経口投与でTy21aに比較して100倍もの高い免疫原性があると報告されている。このCVD908株を元の作られたワクチン株は現在、野外実験を行っており使用に十分耐えうるワクチンとして期待できる。

大腸菌 O157:毒素原性大腸菌は線毛性の定着因子を持ち、これを介して腸管粘膜上皮細胞に付着し、粘膜上皮上で増殖し毒素を産生し、この毒素が粘膜上皮に作用して下痢を起す。動物実験で定着因子(CFA)に対するワクチンがある程度の効果があることが証明されたが、ヒトに対するワクチンはまだ実用化されていない。コレラ:行のワクチンの予防効果は短く、6ヶ月以下であり、効果率も50~60%である。初回接種(0.5 ml)5~7日後に2回目接種(1.0 ml)さらに6か月以内追加接種(0.5 ml)する。A、B両サブユニットからなるコレラ毒素のAサブユニットがアデニル酸シクラーゼを活性化し異常な下痢へ導き、コレラ菌自身は腸管粘膜上で定着増殖するのみで一般に細胞侵入はない。したがってコレラ毒素を産生しないコレラ菌(とくにA-B+)は即生菌経口ワクチンになる可能性がある。コレラ毒素の構造遺伝子(*ctx*)を欠失させた種々のワクチン候補株が開発されている。

クリプトスポリジウム:ワクチンはない。成分ワクチンやDNAワクチンが開発されている。

図1 赤痢菌の検査



EHEC0157 と他の大腸菌の鑑別

	TSI 寒天			LIM 培地				VP				
	斜面	高層	ガス	硫化水素	リジン	インドール	運動性	シモンズクエン酸	ソルビトール	セロビオース	MUG	
EHEC O157	-	+	+	-	+	+	+	-	-	1)	-	-
腸管侵入性大腸菌	-	(-)	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-
多の下痢原性大腸菌	-	+	+	-	+	+	+	-	-	(+)	-	+

1) 一部ソルビトール分解株も報告されている

(+): 多くは陽性、(-): 多くは陰性

MUG: 4-methylumbelliferyl beta-D-glucuronide 分解性 (β グルクロニダーゼ活性テスト)

表 1. バイオテロとして考えられる成人の細菌性腸管感染症に対する抗菌薬投与の1例

原因疾患	使用薬	1回投与量(1日投与回数)	投与法	投与日数
原因病原体不明の場合に 開始	1. ニューキノロン薬	①を参照		3
	2. ホスホマイシン	500mg (4)	経口投与	3
サルモネラ腸炎 下痢原性大腸菌腸炎* 細菌性赤痢 プレジオモナス腸炎 エロモナス腸炎など	1. ニューキノロン薬	①を参照		5
	2. ホスホマイシン	500mg (4)	経口投与	5
カンピロバクター腸炎	マクロライド薬	②を参照		5
コレラ	1. ニューキノロン薬	①を参照		3
	2. ホスホマイシン	500mg (4)	経口投与	3
	3. ミノサイクリン	100mg (2)	経口投与	3
腸チフス・パラチフス	1. ニューキノロン薬	③を参照		14
	2. クロラムフェニ コール	④を参照 2錠 (2)	経口投与	④を参照 14
	3. ST 合剤	2,000mg (2)	点滴静注	14
	4. セフトリアキソン			

*腸管毒素原性大腸菌 (ETEC), 腸管病原性大腸菌 (EPEC), 腸管出血性大腸菌 (EHEC), 腸管侵入性大腸菌 (EIEC), 腸管凝集性大腸菌 (EAEC); **保険適用外

- ① ノルフロキサシン 200mg(3), シプロフロキサシン 100 または 200mg(3), スパロフロキサシン 100mg(2), トスフロキサシン 150mg(3), レボフロキサシン 300mg(1): いずれも経口投与.
- ② エリスロマイシン 200mg(4), クラリスロマイシン 200mg(2), ロキタマイシン 200mg(3): いずれも経口投与
- ③ ノルフロキサシン 400mg(3), シプロフロキサシン 200mg(3), スパロフロキサシン 200mg(2), トスフロキサシン 300mg(2), レボフロキサシン 200 または 300mg(2): いずれも経口投与
- ④ 500mg(6時間ごと1日4回 経口投与)を解熱後2日目まで、ついで250mg(6時間ごと1日4回経口投与)を解熱後14日目まで

表 2. バイオテロとして考えられる成人の寄生虫性腸管感染症に対する抗寄生虫薬投与の1例

原因疾患	使用薬	1回投与量(1日投与回数)	投与方法	投与日数	備考
赤痢アメーバ腸炎 (アメーバ赤痢)	1. メトロニダゾール [*]	250mg(4) また 500mg(3)	経口投与	10	
	2. チニダゾール	1,200~2,000mg(3)	経口投与	10	①を参照
	3. ジロキサニドフロ エイト ^{**}	500mg(3)	経口投与	10	②を参照
ジアルジア症	1. メトロニダゾール	250mg(4) または 500mg(3)	経口投与	10	
	2. チニダゾール	200mg(2)	経口投与	10	③を参照
クリプトスポリジウム症					④を参照
サイクロスポーラ症	ST 合剤	⑤を参照		7~10	

^{*}重症患者用に静注薬もある。静注薬は『熱帯病に対するオーファンドラッグ開発研究』班から入手可能(連絡先: 東京大学医科学研究所感染免疫内科 中村哲也 医師); ^{**}『熱帯病に対するオーファンドラッグ開発研究』班から入手可能; ^{***}保険適用外

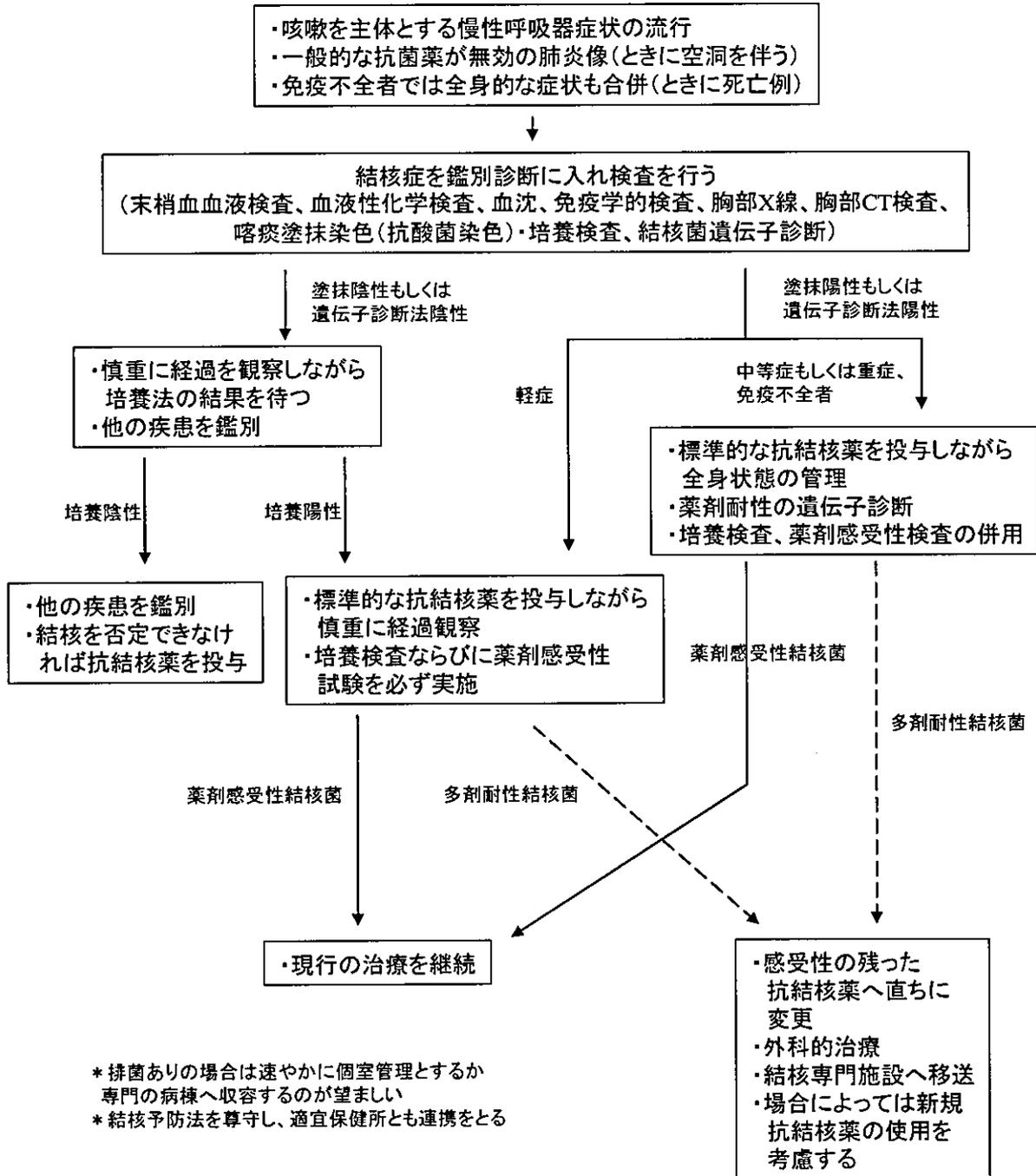
- ① 1日1回 2,000mgを3日間あるいは1日2回(1回 1,000mg)を3日間経口投与する方法もある
- ② 無症候性シスト保有者に投与する
- ③ 1日1回 2,000mgを1日経口投与する方法もある
- ④ 免疫能が正常な人では自然治癒するため抗原虫薬は不要である(ただし、脱水に注意)
- ⑤ 400mg/回のスルファメトキサゾール(S)と160mg/回のトリメプリム(T)を1日2回経口投与

【疾患全体のサマリー】

多剤耐性結核 (Multi-drug resistant tuberculosis)

バイオテロが疑われる状況と対応 (多剤耐性結核)

【遭遇しやすい状況】



病原体の特徴

原因病原体:結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)
抗酸菌属、結核菌群 偏性好気性菌、グラム陽性桿菌
抗酸菌染色で赤橙色の桿菌、酸・アルカリに抵抗性

結核の分類

感染後の発病様式から、一次結核、二次結核とに分類される。また、罹患臓器により肺結核、腸結核、結核性リンパ節炎、粟粒結核等に分類される。

感染経路

・空気感染(飛沫核となった結核菌を吸入することにより感染が成立する)

臨床症状

【肺結核】

咳嗽、喀痰(ときに血痰)、発熱(通常微熱)、胸痛、食欲低下、体重減少、盗汗、呼吸困難など

【結核性リンパ節炎】

リンパ節腫脹、発熱など

【粟粒結核】

発熱(一般的に高熱)、倦怠感、食欲低下、呼吸困難、意識障害など

【結核性髄膜炎】

発熱、頭痛、悪心、嘔吐、意識障害など

【腸結核】

発熱、血便・便通異常、腹痛、腹部腫瘤など

検体の種類

肺結核:喀痰、胃液、気管支洗浄液など
その他、罹患臓器によって血液、髄液、胸水、腹水、尿、便、骨髄、生検組織など

検体の採取法

肺結核:

- ・起床時に連続3日間採取が望ましい
- ・自発痰が得られない時は、高張食塩水を吸入させ誘発するか、起床後空腹時に胃液を採取する。
- ・随時痰であっても膿性であれば診断価値は高い。
- ・十分な喀痰が得られない症例では気管支鏡検査による気管支(肺胞)洗浄液の採取を考慮する。
- ・体腔液(胸水、腹水など):無菌的に採取する。
- ・診断率向上のため可能な限り大量に採取する。

微生物学的検査法

塗抹染色

- ・抗酸菌染色(Ziehl-Neelsen 染色):赤橙色の桿菌
- ・蛍光染色(オーラミン染色)

培養

- ・小川培地、MIGT 培地(Mycobacteria Growth Indicator Tube)、KRD 培地、MB/BacT、Middlebrook7H9(液体培地)、Middlebrook7H10(寒天培地)など

結核菌同定

- ・DDH マイコバクテリア(極東)
- ・キャピリア[®]TB

遺伝子検査(結核菌検出・同定)

- ・PCR法(アンプリコア:Roche)
- ・RNA増幅法(MTD法:Gen-Probe)

免疫学的検査(結核感染の有無)

- ・QuantiFERON-TB(Cellestis)

薬剤感受性検査(培養法)

- ・薬剤含有小川培地、プロスミック MTB

薬剤耐性遺伝子検出

- ・フィノス LiPA-RifTB(RFP 耐性菌検出:ニプロ)

治療の要点

感受性菌か耐性菌か不明時

- ・結核医療の基準に従い、INH+RFP+PZA+EB(SM)の4剤併用で化学療法を開始する。感受性菌と判明したら上記治療を計2カ月間継続し、以後PZAを除いた組合せで4~7カ月治療継続する。

多剤耐性菌と判明時

- ・感受性の残った薬剤を、序列に従って4~5剤選択し、同時に投与する。治療期間は18~24ヶ月間。
- ・限局性病変であれば外科的治療も考慮する。
- ・新規抗結核薬はまだ開発・臨床試験段階である。

わが国でみられた多剤耐性肺結核の画像所見

図1. 胸部単純X線写真(治療前)



左上肺野に小結節影を認める。

図2. 胸部単純X線写真(治療開始7ヶ月後)



左上肺野の小結節影はわずかに拡大している。また新たに右肺門上部に空洞を伴う結節影が出現している。

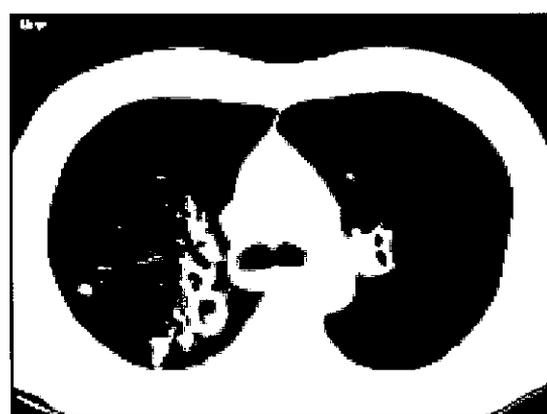
図3. 胸部CT(治療前)



左上葉に空洞を伴う結節影と散布性陰影を認める。右上葉には胸膜直下に淡い浸潤影を軽度認める。



図4. 胸部CT(治療開始7ヶ月後)



左上葉の散布性陰影は癒合し新たに空洞を形成している。右の上葉には新たな薄壁空洞の形成と散布性陰影を認める。

(長崎大学 宮崎義継博士提供)

【疾患の詳細】

多剤耐性結核菌

(Multi-drug resistant tuberculosis)

1. はじめに

アメリカ疾病管理予防センター(CDC)の「生物および化学テロ:準備と対応のための戦略的計画」によると、多剤耐性結核菌はニパウイルス、ハンタウイルス、黄熱ウイルスと並んでカテゴリCに分類されている。このカテゴリCとは、第3の優先度であるが、1) 入手可能かつ生産と散布が比較的容易、2) 高い致死率と公衆衛生に重大な影響をもたらす、との理由で将来的に遺伝子操作等を加えることで生物テロの病原体になりうる感染症と位置づけられている。しかし、短時間のうちに広く浸淫でき多くの人間を無差別に殺戮し、しかも効果的な予防・治療法がないか、または困難といった生物テロリズム(生物テロ)のもつ目的、戦略等を考慮すると、テロ効果の即効性がないことから多剤耐性結核菌が多用される可能性は低いと考えられる。しかし、一旦発病すると有効な治療が現時点では期待できない点、ヒトからヒトへの感染・浸透が十分期待できるという意味では、多剤耐性結核菌が生物テロの手段となる可能性は排除できない。

2. 病原体の特徴

多剤耐性結核菌とは結核菌に対して最も有効な抗結核薬とされるイソニアジド(INH)、リファンピシン(RFP)の両剤に対して同時に耐性を獲得している結核菌のことである。一般的に細菌の薬剤耐性の獲得には、生化学的(主に酵素)に薬剤の修飾・分解による不活化、薬剤の標的部位の変化・膜の変化による薬剤の透過性の低下や薬剤の排出、遺伝子学的には染色体上の遺伝子の突然変異による耐性遺伝子の獲得と耐性プラスミドの獲得があげられるが、結核菌においては染色体遺伝子の突然変異によるものが大部分と考えられており、現在まで耐性プラスミドが分離された報告はない。INH、RFP、ストレプトマイシン(SM)、エタンブトール(EB)

の各薬剤に対する耐性菌の出現頻度はおおよそ 10^6 、 10^8 、 10^6 、 10^6 であり、それぞれが独立して発現する。すなわち、INH、RFP両剤に同時に耐性を示す多剤耐性結核菌の出現頻度は各々の耐性化頻度を掛け合わせた値である約 10^{14} と計算される。

多剤耐性結核菌の病原性については、過去に病原性は低いとする向きもあったが、1980年代終わりから1990年代前半にかけてアメリカでHIV感染者を中心にした集団感染事例などから、健常人においても十分に結核を発病させる病原性を備えていることが証明されている。さらに、結核菌の全遺伝子が解明された現在においては、病原性に関与する遺伝子を操作し、より病原性を高めた薬剤耐性結核菌が生物テロで使用される懸念がある。

3. 主な臨床像

多剤耐性結核といえども、その病態は通常の結核症と一般的には大差はない。すなわち、結核菌に感染しても発病するのは生涯を通じて数%とされており、ほとんどのものでは潜伏感染の形態で推移する。したがって、単純に感染=発病の図式は成り立たないが、逆にこのことが生物テロの手段としては不向きとなる見方はできる。

結核の臨床症状は多彩であり特徴的なものはないが、HIV感染者か否かに大きく影響される。HIV感染流行以前は報告の約85%は肺に限局しており、残り15%が肺外病変を呈していた。HIV感染者においては38%に肺病変、30%に肺外病変、32%に両病変合併を認めたと報告されている。さらに免疫不全が悪化すると肺外病変の頻度が増加する傾向にある。また、病理所見においても多剤耐性結核菌は感受性菌と比較して広汎な壊死像、少ない肉芽腫性変化、好中球浸潤を伴う炎症性変化、多数の抗酸菌の存在が特徴的とされている。

4. 診断

臨床病態からは薬剤感受性菌によるものか多剤耐性結核菌によるものか区別することはできない。この薬剤耐性結核菌の診断において

は菌の培養が現在のところ必須であり、薬剤感受性検査の成績により判定する。

一般的に、わが国では1%小川培地を用いた斜面培地による固定濃度法が使われており、耐性基準薬剤濃度はINH 0.2 µg/ml、RFP 40 µg/mlなど「結核医療の基準」で定められている。基準濃度で耐性と判断されれば臨床的には無効と考えられている。参考までに、1997年の我が国の臨床分離結核菌における多剤耐性菌の頻度は初回治療例では0.8%、再治療例で19.7%であった。

一方、米国 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)が推奨している薬剤感受性試験は Middle brook 7H10 寒天培地での%耐性率から判定する agar proportion 法である。最近、NCCLS は新たに BACTEC を用いた radiometric 法を推奨しているが、わが国の一般検査室では使用困難である。

さらに、近年薬剤耐性に関与する遺伝子の変異を検出する遺伝子診断法も開発され、RFP耐性菌用の迅速検出キットも発売、保険収載されるなど、その進歩は著しいが、他の抗結核薬に対する耐性の遺伝子診断についてはまだ研究室レベルである。しかし、生物テロ発生時には菌の培養も平行して行いながら、遺伝子診断による耐性のスクリーニングを行うことが必要と考えられる。

(抗結核薬と耐性に関与する遺伝子)

INH: *KatG*, *inhA*, *ahpC* (3 遺伝子で 90%)

RFP: *rpoB* (>96%)

SM: *rrs*, *rpsL* (2 遺伝子で 70%)

KM: *rrs* (70%)

EB: *embB* (65%)

PZA: *pncA* (72~97%)

ニューキノロン: *gyrA* (75~94%)

* : () 内は耐性菌全体に占める、記載した遺伝子内に変異をもつ株の割合

5. 治療

a. 内科的治療

通常、結核の標準治療はINHとRFPにPZA、SM(またはEB)を加えた4薬剤による6~9

ヶ月間の強化短期療法である。しかし、この治療は感受性菌であることを前提としているため、その後得られた薬剤感受性成績を参考に薬剤を変更すべきである。

一方、多剤耐性結核の治療には現在のところ標準的治療法はなく、過去の治療歴や最近の分離菌の薬剤感受性成績を参考に薬剤を選択するが、多剤耐性結核菌感染症の治療は極めて困難で、高頻度に治療失敗例や再発例がみられる。分離された結核菌がINH、RFP、SM、EBのいずれかの薬剤に耐性で、これらの抗結核薬の投与が不相当であると判断された場合にはその分離株の感受性成績に従い、次に示す薬剤序列に従い選択し組み合わせて治療を行う。

カナマイシン(KM)

エンビオマイシン(EVM)

エチオナミド(TH、ETH)

パラアミノサリチル酸(PAS)

サイクロセリン(CS)

ニューキノロン系抗菌薬*

* : 結核の化学療法における位置づけは定まっていない

2003年に発表されたアメリカ胸部学会(ATC)/CDC/アメリカ感染症学会(IDSA)のガイドラインによれば、INHとRFPに同時に耐性である多剤耐性結核の場合、ニューキノロン系抗菌薬、EB、PZA、アミノグリコシド系抗菌薬の4剤もしくは他の感受性のある薬剤を加えた5剤で18~24ヶ月間治療を継続することを推奨しており、適宜外科的切除も考慮するよう求めている。また、耐性結核菌に対する治療を変更し薬剤を追加する際には1薬剤ずつ追加していくと順に耐性化して、結局追加した全薬剤に耐性を獲得するので必ず追加すべき全薬剤を同時に投与開始するのが原則である。

HIV感染者に併発した多剤耐性結核菌では臨床経過が急激で治療はさらに困難で予後不良の傾向が強い。多剤耐性結核と診断されてから2~3ヶ月後の致死率は約80%と高率であり、HIV感染者にとって多剤耐性結核は致死性的感染症である。

一方、多剤耐性結核菌で生物テロに使用されるものでは、人為的に遺伝子を操作することにより、現行の抗菌薬全てに耐性を獲得した菌が使用されることも十分に予想される。この場合、内科的治療での治癒は絶望的であり、このタイプの結核菌が予想される場合は早期に外科的治療を検討する。また、近年新規抗結核薬 (Diarylquinoline R207910 (Johnson & Johnson)、Pyrrole (Lupin)、Nitroimidazole PA-824 (Chiron, TB alliance)など) の開発も行われており、緊急の場合はこれらの使用も検討に値するかもしれない。

b. 外科的治療

外科治療がかなりの程度の利益をもたらすことがしばしばあり、結核病巣の大部分を切除できた場合、治癒率は有意に改善する。そのため内科的治療に限界を認めた場合には早期に外科治療の適応を考慮する必要がある。その基準として 4 ヶ月間の化学療法でも培養が陰性化しない症例で、病変が限局していて、心肺機能の予備能が良好な症例が適応となる。手術の時期は化学療法を 2~3 ヶ月行い、菌量を減じたところで実施するのが一般的である。

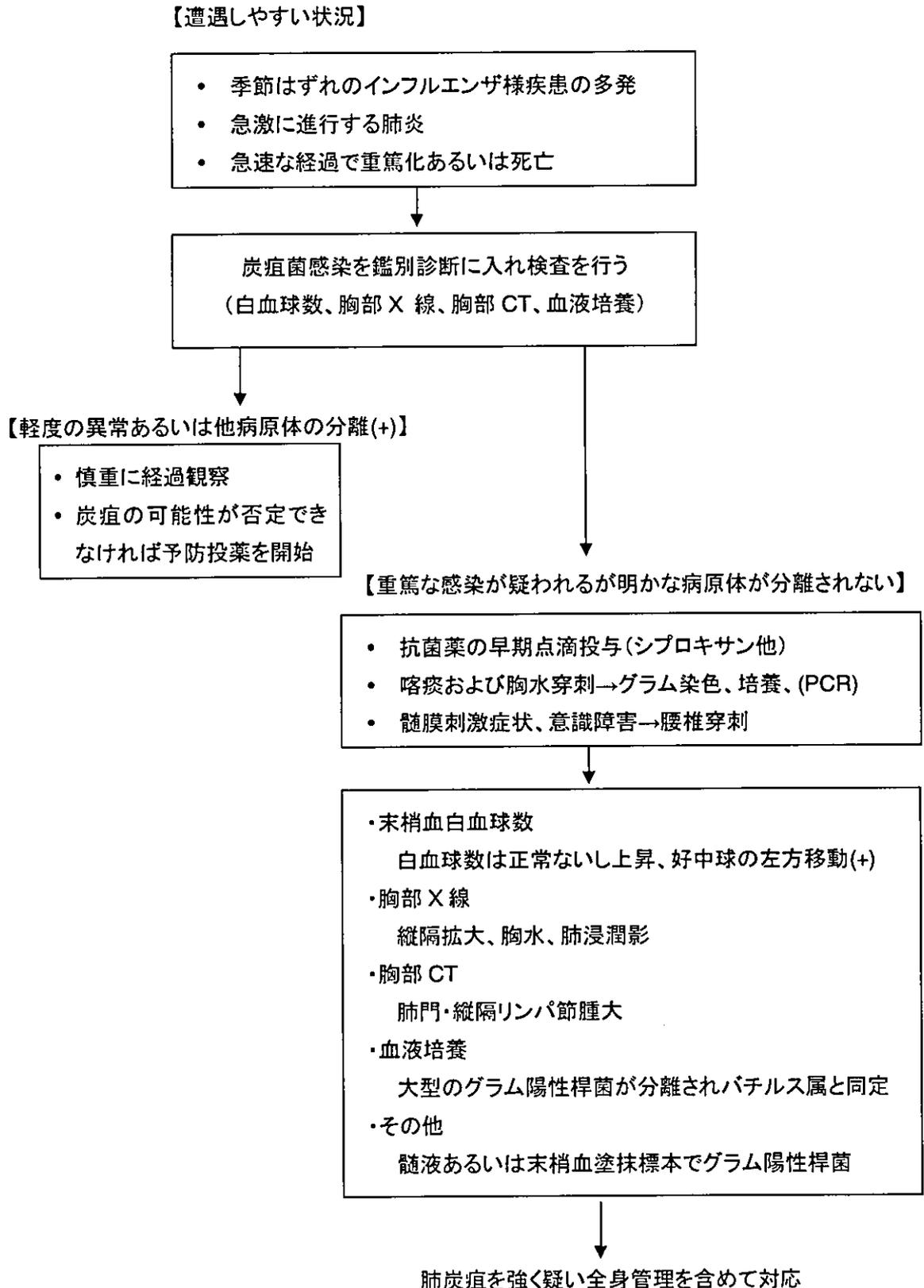
c. 予防投薬

多剤耐性菌に感染した可能性がある場合は通常、予防投薬をせずに観察することが勧められている。しかし、HIV 感染者などのように結核発症のリスクが特に高い症例では予防投薬を考慮すべきである。感受性があれば EB と PZA を 6 ヶ月間常用量投与することが勧められる。EB 耐性結核菌感染の場合は PZA とニューキノロン系抗菌薬の 6 ヶ月投与が勧められる。しかし、投薬前に必ず活動性結核でないことを評価しなければならない。

【疾患全体のサマリー】

炭疽 (Anthrax)

バイオテロが疑われる状況と対応(肺炭疽)



病原体の特徴

起炎病原体:炭疽菌 (*Bacillus anthracis*)
好気性グラム陽性桿菌
芽胞を形成

炭疽の分類と潜伏期

・皮膚炭疽、肺炭疽、および腸炭疽に分類される
・潜伏期
皮膚炭疽と腸炭疽:1~7日
肺炭疽:感染後2日~60日

感染経路

皮膚炭疽
・皮膚の傷口より感染
肺炭疽
・芽胞による空気感染
(数千~数万個の炭疽菌芽胞の吸引により発生)
・ヒトからヒトへの直接の感染はない
腸炭疽
・経口感染

臨床症状

皮膚炭疽
・虫刺され様の初期病変
・無痛性の非化膿性の悪性膿疱の出現
・所属リンパ管炎やリンパ節炎
肺炭疽
・感冒様症状で初発
・頭痛、筋肉痛、悪寒、発熱、胸痛
・呼吸困難、チアノーゼ、
・失見当識、譫妄、意識障害
腸炭疽
・吐気、嘔吐、腹痛、発熱などで発症
・吐血、血便、激しい下痢
・咽頭炎、嚥下障害、頸部リンパ節炎

検体の種類

皮膚炭疽
・皮膚病変部位(水疱、痂皮)
肺炭疽
・気道分泌物(喀痰、吸引採痰等)
・胸水
・鼻腔ぬぐい
腸炭疽
・糞便
※ 原則的にいずれの病型も血液培養を併用。
※ 髄膜炭疽を疑う例では髄液および血液

検体の採取法

皮膚炭疽
・水疱の場合は穿刺し、痂皮の場合は端の部分から滅菌綿棒を押し込んで回す

肺炭疽
・喀痰は一般の喀痰容器に採取
・保菌の可能性がある場合は鼻腔ぬぐい

その他
・髄膜炭疽を疑う症例では髄液および血液培養。
・血液はカルチャーボトルに注入
・直接塗抹染色用の血液は抗凝固剤入りの採血管で末梢血を採取。

検体の輸送法

・喀痰、吸引採痰等は冷蔵状態にて輸送
・血液、髄液はカルチャーボトルで保温状態で輸送
・皮膚病変を擦過した綿棒はカルチャースwabにて常温で輸送

微生物学的検査法

塗抹染色(グラム染色、墨汁染色)
・厚い莢膜、竹竿様の形状
培養
・24時間培養で粘稠性のコロニー、β溶血(-)
血清抗体価検査
・検査キット(米国イムネティクス社)

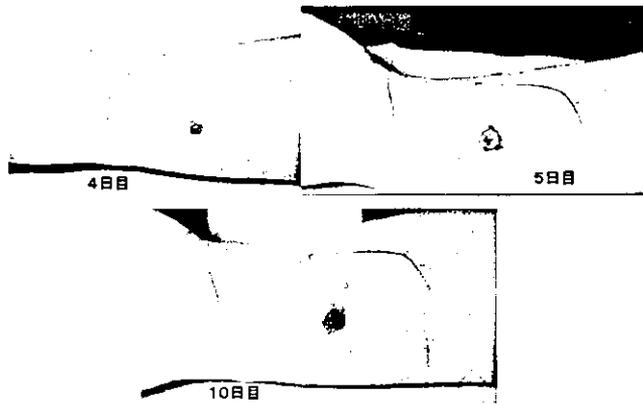
治療の要点

・肺炭疽では早期から有効抗菌薬を大量に投与
・バイオテロ用に耐性が付加されている可能性を考慮
・全身管理(補液、酸素吸入、昇圧剤など)

初期治療(肺炭疽)
・シプロフロキサシン点滴静注
(成人:400mg、12時間毎、小児:20~30mg/kg/日、分2)

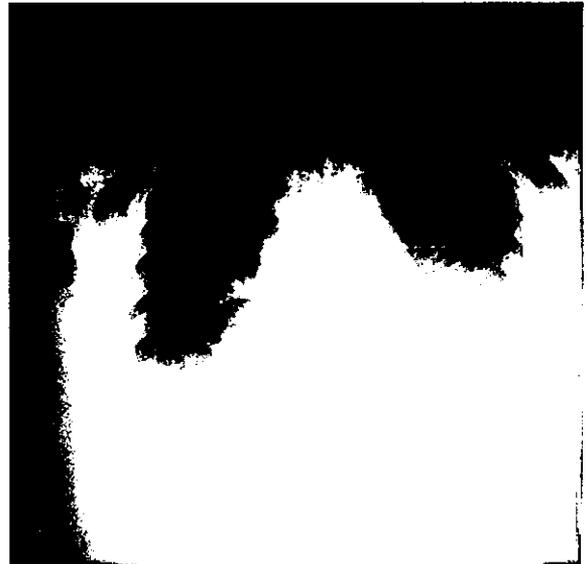
↓
[感性菌と判明したら]

・ペニシリンG点滴静注(成人:400万単位、4時間毎、12歳以下:5万単位/kg、6時間毎)
・ドキシサイクリン点滴静注も推奨されているが国内では経口薬のみ使用可



典型的な皮膚炭疽所見の経日的変化

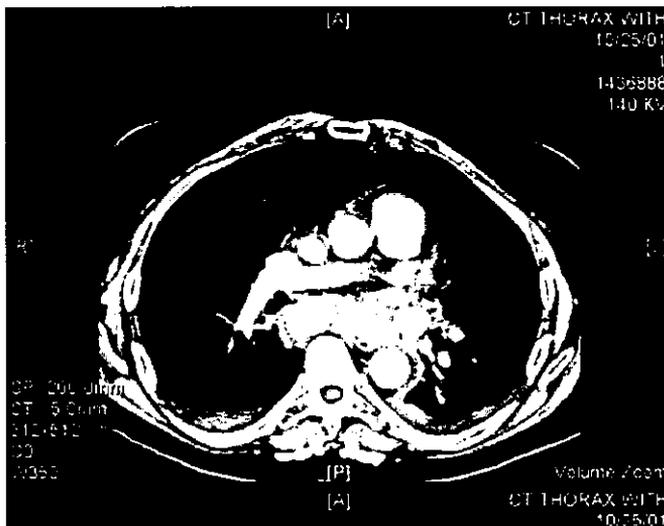
Community & Public Health Administrations のホームページ (<http://edcp.org/html/day4ant.html>) より引用



肺炭疽症例の胸部 X 線像

University of South Carolina のホームページより引用

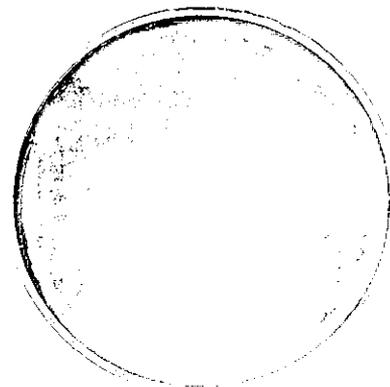
(<http://www.med.sc.edu:85/ghaffar/zoonoses.htm>)



米国の肺炭疽症例での胸部 CT 写真。

縦隔リンパ節の腫脹と、両側性の胸水貯留を認める。

(Emerging Infectious Diseases, Vol.7, No.6, Nov - Dec 2001 の記事より引用)

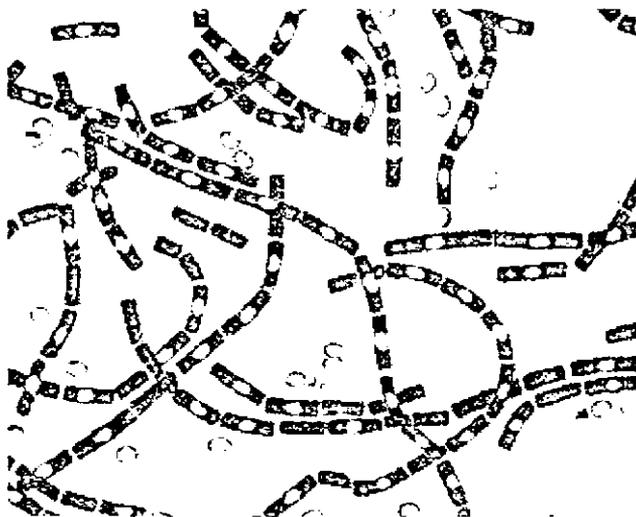


Bacillus cereus (左) および炭疽菌 (右) の血液寒天培地上のコロニー

Todar's Online Textbook of Bacteriology のホームページより引用

(<http://www.textbookofbacteriology.net/Anthrax.html>)

(炭疽菌は β 溶血を認めない)



炭疽菌のグラム染色像

竹竿様 (bamboo-shaped) の形状を示す

Todar's Online Textbook of Bacteriology のホームページより引用

(<http://www.textbookofbacteriology.net/Anthrax.html>)

【疾患の詳細】

炭疽 (Anthrax)

1. 病原体の特徴

炭疽の起炎病原体は炭疽菌 (*Bacillus anthracis*) である。炭疽菌は好気性のグラム陽性桿菌で、芽胞を形成する。感染動物内では単独か短い連鎖を形成するが、人工培地で培養した場合、長い連鎖を形成する。炭疽菌は大気中で数時間内に芽胞を形成し、熱、化学物質、pH、紫外線などに抵抗性を示す。栄養型は一般的な人工培地によく発育するが、他の *Bacillus* 属の栄養型より比較的死滅し易い。

炭疽菌はグラム陽性桿菌で鞭毛を持たず運動性(-)である。長さ1~8マイクロ、幅1~1.5マイクロの大型の細菌であり、芽胞の大きさも1マイクロ程度である。芽胞は臨床検査で通常用いられるものであればどのような培地でも37°Cで発育する。菌は竹竿をつないだような形状を示し、巻毛様のコロニーを形成し羊血液寒天培地では溶血は示さない。

バイオテロを切り離して考えると、本来、炭疽は家畜に起こる疾患で、人畜共通感染症である。ヒトには一般的に家畜や土壌中の菌を介して感染するが、皮膚になんらかの傷があってその部位から炭疽菌が侵入して感染する頻度が高い。患者の多くは家畜あるいはその加工品などを扱う職種で、炭疽に罹患した動物を扱って感染することが多い。

2. 主な臨床像

炭疽は1) 皮膚炭疽、2) 肺炭疽、および3) 腸炭疽の3種類に大きく分類され、それぞれ感染経路が異なっている(表1)。自然感染の場合、皮膚炭疽が最も多く発生しているが、2001年のアメリカにおけるバイオテロでは皮膚炭疽とともに肺炭疽が高率に発生している。なおこれら3種類の炭疽以外にも、まれに炭疽菌性髄膜炎もみられる。潜伏期は感染経路や感染菌量によって大きく影響されるが、一般的に皮膚炭疽と腸炭疽の場合、通常1~7日とされている。肺炭疽は感染後2日程度で発症する例もみ

られるが、最長の潜伏期は60日という報告もある。

表1. 炭疽の主な臨床症状

皮膚炭疽
・虫刺され様の初期病変
・無痛性の非化膿性の悪性膿疱の出現
・所属リンパ管炎やリンパ節炎
肺炭疽
・感冒様症状で初発
・頭痛、筋肉痛、悪寒、発熱、胸痛
・呼吸困難、チアノーゼ
・失見当識、譫妄、意識障害 ¹⁾
腸炭疽
・吐気、嘔吐、腹痛、発熱などで発症
・吐血、血便、激しい下痢
・咽頭炎、嚥下障害、頸部リンパ節炎 ²⁾

¹⁾肺炭疽の約半数の症例は出血性の髄膜炎を合併する。

²⁾口咽頭部感染の場合

a. 皮膚炭疽

初期には菌の侵入部位に虫刺されに似た限局性の隆起性病変ができる。数日後には無痛性で非化膿性の悪性膿疱が出現し、中央部が壊死を起こして時間の経過とともに黒色に変化し、皮膚炭疽に特徴的な病変を形成する。もともと皮膚に擦り傷などの傷口があるとより感染しやすく、感染部位としては頭部、前腕あるいは手などの頻度が高い。なお感染局所の病変以外に感染部位の所属リンパ管炎やリンパ節炎を合併する場合が多い。

b. 肺炭疽

最初は微熱、倦怠感などの感冒用症状が数日間続き、さらに頭痛、筋肉痛、悪寒、および胸痛が起きる。その後、一見回復したように見える症例もあるが、それ以外の例はそのまま急激に劇症的に進展し、重症例では、呼吸困難、チアノーゼ、胸水などを伴い、さらにショックや昏睡を伴う失見当識に進展する。X線像では縦隔部位の感染を伴い、高度なリンパ節腫脹に伴

って急激に縦隔が拡大している所見が認められる。炭疽菌性髄膜炎を合併すると急激な意識障害が起こり重篤な状態になりやすい。なお動物を用いた基礎的な実験結果をもとに、50%致死率（LD50）は1人のヒトが2500～55000個の芽胞を吸い込む量に相当すると考えられている。

c. 腸炭疽

腸管感染では汚染された食品を接種後に嘔気、嘔吐、腹痛、発熱などで発症する。さらに炭疽菌から放出された毒素が出血性壊死を起こし、吐血、血便などを伴い、下痢も高度になる。口咽頭部感染では咽頭炎、嚥下障害、発熱を訴え、頸部のリンパ節炎が起きる。

表 2. 炭疽診断のための検体の種類と採取法

1. 皮膚炭疽

・病変部位(滅菌綿棒で採取)¹⁾

2. 肺炭疽

・喀痰(一般の喀痰容器に採取)
・鼻腔ぬぐい(保菌の可能性がある場合)

3. 腸炭疽

・糞便

¹⁾水疱の場合は穿刺し、痂皮の場合は端の部分から滅菌綿棒を押し込んで回す
※原則的にいずれの場合も血液培養を併用。
※髄膜炎が疑われる症例では髄液および血液培養を行う。
※血液の直接塗抹染色用には抗凝固剤入りの採血管で末梢血を採取する。

3. 臨床検査所見

a. 血液生化学検査

・血算では一般的に白血球数は増加し、しばしば好中球と桿状核球の増加がみられる。ただし病初期や軽症例では白血球数の増加を認めない場合もある。
・生化学的検査では GOT、GPT の上昇を認める。

b. 画像検査その他

・肺炭疽では低酸素血症をしばしば伴い、胸部 X 線にて胸水の存在と縦隔の拡大が特徴的である。

4. 確定診断

a. 検体の採取、輸送、保存など

炭疽の確定診断は炭疽菌の培養ならびに同定によってなされる。培養のための検体として、悪性膿胞、痂皮、喀痰、リンパ節、腹水、脳脊髄液または血液などを採取する。炭疽では比較的高率に菌血症あるいは敗血症を伴いやすいので、原則的に血液培養を施行する。また炭疽菌に敗血症を合併した場合、血中菌数が多い傾向があるため、血液の直接塗抹染色による菌の確認が重要である。また、肺炭疽の場合、鼻腔内を綿棒等でぬぐい、直接ヒツジ血液寒天平板に塗抹することにより菌体を検出可能な場合もある。

検体の保存は通常の細菌検査方法と同じであるが、血液を用いた直接染色には抗凝固剤入りの採血管などを用いて検体を保存する必要がある。また、検体の輸送には周囲への汚染を防ぐことが重要で、具体的な輸送方法は日本細菌学会などのホームページなどを参考にすべきである。

b. 微生物学的検査法

(1) 塗抹染色

炭疽菌は前述のようにグラム染色によってグラム陽性、竹の節に似た形状を示す大型の桿菌が連鎖を形成してみられることが多い。その形態学的特徴から、グラム染色のみでも充分炭疽菌の推定が可能であり、特に生体サンプルからグラム陽性大桿菌が検出された場合は、炭疽菌を考慮に入れて慎重に検査を行う必要がある。炭疽では菌血症時に多数の菌が血中に存在しやすい傾向にあることから、血液の直接塗抹標本をグラム染色で観察することが重要である。鼻腔ぬぐいや環境材料、古い生体材料などからは卵円型で偏在性を示す芽胞が芽胞染色またはグラム染色で観察できるが、一般的に新鮮な生体材料からは莢膜形成を伴う菌体が観察できる。莢膜は生体内で形成されやすいので、患者検体（血液、培養ビン増菌培地、髄液など）を用いるのがよい。莢膜の確認には墨汁染色が簡単である。また、培養菌を用い莢膜が不明な場合は、5～20%炭酸ガス培養を重曹添加倍地で行えば、莢膜形成を伴う菌が得られる。グラ

ム染色性、形状が炭疽菌に一致し、厚い明瞭な莢膜が認められれば炭疽菌の可能性は極めて強い。

(2) 培養・同定

通常、炭疽菌はヒツジ血液寒天培地など一般的な細菌検査用培地に良好に発育する。ただし菌数が少ない場合も想定して増菌培養も実施しておいた方が検出の感度が高まる。また常在菌が混入しやすい検体を用いる場合は、選択培地の併用が可能であるが、炭疽菌の増殖を抑制することを念頭に入れるべきである。培養は通常、35~37°C、18 時間程度、好気培養を行うが、通常半日程度で集落形成を観察できる場合もある。炭疽菌をヒツジ血液寒天培地で 35~37°C、15~24 時間培養すると、径 2~5mm、辺縁が不規則で光沢がない集落を観察される。その辺縁に Medusa head (縮毛状) と表現されるコマ状の突起が観察される。炭疽菌は B 溶血を示さないので、他の多くの *Bacillus* 属の菌と鑑別できる (表 5)。また、重曹添加普通寒天上で、5~20%炭酸ガス培養を行うと、莢膜形成を伴う、光沢のある粘稠な集落が観察される。 γ -ファージは特異的に炭疽菌を溶菌するため、均一に炭疽菌を塗抹した培地上にファージ液をスポットすると、その部位のみに丸く抜けた溶菌が認められる (γ -ファージテスト)。炭疽菌はバイオテロ用に薬剤耐性が付加されていなければペニシリンに感受性のため、ベンジルペニシリンを 0.05 単位/ml および 0.5 単位/ml 含有した寒天平板に炭疽菌を接種して 2~4 時間培養し、平板の一部をスライドグラスに取ってカバーグラスをかけて鏡検すると、プロトプラストとなって真珠状に見える菌体が観察される (パールテスト)。患者検体に生理食塩液を加えて乳鉢ですりつぶし、30 分間沸騰水中で加熱し遠心後、上清をミリポアーフィルターで濾過する。この抗原と抗炭疽血清を毛細管の中で重層し数分以内に白濁沈降体が生ずれば陽性と判定できる (アスコリの熱沈降反応)。上記の炭疽菌の細菌学的特徴については、テロ以外で発生する炭疽の際の特徴を述べたものである。それゆえテロ用に人工的に加工されて

一部異なる性状を示す炭疽菌が使用される可能性もあることから、検査の段階で上記と異なる結果が得られても、安易に炭疽菌の可能性を否定することは、炭疽を見逃してしまう危険を伴う点にも留意すべきである。

(3) PCR

上記の炭疽菌の培養・同定法はそれぞれ有用な方法であるが、アスコリの熱沈降反応を除くとあまり迅速性はない。またアスコリの熱沈降反応を行うには、抗炭疽血清を入手しておく必要がある。そのため迅速性に優れた PCR は炭疽菌の検出に有用な検査と考えられている。炭疽菌検出のための PCR のターゲットとしては毒素遺伝子または莢膜遺伝子が用いられており、毒素遺伝子 (*pagA*, *lef*, および *cya*) は 182-kb の病原性プラスミド (*pXO1*) にコードされ、一方、莢膜遺伝子 (*capB*, *capC*, および *capA*) は 96-kb の病原性プラスミド (*pXO2*) にコードされている。しかしながらこれらプラスミドを欠失した炭疽菌の報告もあり、染色体上の *vrrA* あるいは *Ba813* 遺伝子をターゲットとした PCR も検討されている。ただし *vrrA* あるいは *Ba813* 遺伝子は炭疽菌に特異的とは言えないことから疑陽性を起こす可能性も指摘されている。染色体上の *rpoB* 遺伝子はこれまでの報告によると非炭疽菌 175 株中 1 株のみしか陽性と判定されなかったことから、特異性の高い PCR のターゲットと考えられている。

PCR は疑陽性を起こしやすいのでコンタミネーションを防ぐことが重要であり、陰性対照として蒸留水のみ、および *B. cereus* を用いる。また偽陰性の結果を予防するために陽性対照として既に同定済みの炭疽菌を用いる。最終的な結果の判定にはこれらの結果を総合して判断する必要がある。従来の PCR は遺伝子増幅産物の電気泳動による確認が必要とされたが、近年、電気泳動が不要で迅速性と優れたリアルタイム PCR がさまざまな場で利用されるようになってきた。この方法は定量性にも優れ、より高感度であるため、炭疽菌の検出に適していると考えられている。

5. 治療

a. 薬物療法(抗菌薬療法)(資料参照)

① 炭疽(吸入、腸、皮膚)

大規模発生時には静脈内投与は選択されず、経口投与が推奨されるべきである。その他の場合には患者の状態が改善された時に経口投与に変更すべきである。さらに、体内移行が優れている薬剤(ciprofloxacin, doxycycline)は初回から経口投与を選択可能である。

②皮膚炭疽

非重症例では自然治癒率が高いことが報告されているため、上記薬剤を同量7~10日間経口投与する。吸入炭疽が否定できない場合は60日間予防内服を行う。全身症状、重度の局所浮腫あるいは創傷を伴う、より重症な例では併用療法を行う。

b. その他治療上の留意点

特に肺炭疽では急激に病状が進展し重篤な状態に陥りやすいため、有効とされる抗菌薬を早期から大量に投与することが重要である。初期の治療にはシプロフロキサシンが推奨されているが、他のフルオロキノロン系抗菌薬も有効と考えられている。炭疽菌には通常ペニシリンが有効とされているが、バイオテロ用にペニシリン等に対する耐性が付加された菌に対しては無効なため、薬剤感受性試験の結果に基づいて、分離された炭疽菌が感性を示すことが証明されればフルオロキノロンに代わる薬剤としてペニシリンやドキシサイクリンを使用することも可能である。たとえ有効とされる抗菌薬が選択された場合でも、病状の進行に伴って、脱水、呼吸不全、ショックなどに陥りやすいため、補液、酸素吸入、昇圧剤など全身管理を含めた治療も必要である。

6. 予防(ワクチン)

莢膜非産生、毒素産生株の濾過滅菌培養液がワクチンとして一般的である。現在日本ではヒト用のワクチン接種は行われていない。AVA(anthrax vaccine adsorbed)またはBio Thraxとよばれる唯一のヒトワクチンが米国で製造されている。接種方法は2週間ごとに3回皮下注

後、その後半年ごとに皮下注、さらに1年ごとに追加免疫を行う。しかし、過剰反応、紅斑、圧痛、浮腫、痒みなどの副作用があり、妊婦、発熱、ステロイド投与者には禁忌である。AVA成分は毒素産生、莢膜欠損弱毒株(V770-NP-1-R, Sterne strain)の培養上清を水酸化アルミニウム吸着フォルマリン処理したもので、protective antigen (PA) protein PAに対するIgG抗体が産生され、毒素の中和抗体として働く。PAレセプターと結合するドメイン4、またはedema factor (EF)とlethality factor (LF)に結合するドメイン1aを認識する抗体が重要である。EF、LFに対する抗体は有効でなく、また莢膜(poly-g-linkedD-glutamic acid (PGA))に対する抗体はマウスでは有効である。レコンビナントPA、DNAワクチン開発や抗体の開発が進められている。

7. 患者の隔離や汚染器材等の管理

空気感染によるヒト-ヒト感染は起こりにくいため陰圧環境などによる患者の個室管理は必ずしも必要としない。しかし皮膚炭疽では病巣への接触によってスタッフや他の患者へ感染する可能性がある。汚染した可能性がある器具などは、高圧蒸気滅菌用耐熱性袋に入れ、なるべく速やかにオートクレーブで滅菌する。

8. 感染症法における取り扱い

炭疽は感染症法にて4類感染症に分類されており、診断から7日以内に最寄りの保健所に届出を行う義務がある。届出の基準を要約すると、診断した医師の判断により症状や所見から当該疾患が疑われ、かつ、菌の分離・同定等によって病原体診断がなされたもの、となる。

参考文献

1. WHO : Guidelines for the surveillance and control of anthrax in humans and animals.
2. 日本臨床微生物学会, 日本臨床衛生検査技師会, 日本臨床検査医学会編 : 炭疽菌検査マニュアル (Ver.1) 2001.
3. 牧野壮一 日医雑誌 126: 1562-1564, 2001.
4. Inglesby et al. Anthrax as a Biological Weapon,

- Medical and Public Health Management, JAMA, 281: 1735-1745, 1999.
5. Theodore J. et al: Clinical and Epidemiologic Principles of Anthrax, Emerging Infectious Diseases, 5: 552-555, 1999.
 6. Turnbull PCB, Logan NA. Bacillus and Recently Derived Genera. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. Manual of Clinical Microbiology 7th ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 1999:357-369.
 7. Sneath PHA: Endospore-forming gram-positive rods and cocci. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Vol. 2) Williams & Wilkins, Baltimore, 1986: 1104-1141.
 8. Meselson M, Guillemin J, Hugh-Jones M, et al. The Sverdlosk anthrax outbreak of 1979. Science 22: 1202-1208, 1994.
 9. Pile JC, Malone JD, Eitzen EM, Friedlander AM. Anthrax as potential biological warfare agent. Arch Intern Med 158:429-434, 1998.
 10. 長崎大学医学部附属病院生物・化学テロ対策医療チーム編:炭疽患者(疑い患者含む)への対応について, 2001.
 11. Oggioni MR et al.: Protocol for Real-Time PCR Identification of Anthrax Spores from Nasal Swabs after Broth Enrichment, J Clin Microbiol 40: 3956-3963, 2002.
 12. Franz DR, Jahrling PB, Friedlander A, et al. Clinical recognition and management of patients exposed to biological warfare agents. JAMA 278: 399-411, 1997.
 13. CDC: Evaluation and Validation of a Real-Time Polymerase Chain Reaction Assay for Rapid Identification of *Bacillus anthracis*, Emerg Infect Dis J 8: 1178-1182, 2002.
 14. Friedlander AM, et al. Post exposure prophylaxis against experimental inhalation anthrax. J Infect Dis 167: 1239-42, 1993.
 15. CDC: Update: Investigation of Bioterrorism-Related Anthrax and Interim Guidelines for Clinical Evaluation of Persons with Possible Anthrax. 50: 941-947, 2001.
 16. CDC. Update: investigation of bioterrorism-related anthrax and interim guidelines for exposure management and antimicrobial therapy, October 2001. MMWR 50: 909, 2001.

【疾患全体のサマリー】

天然痘 (Smallpox)

バイオテロが疑われる状況と対応

【遭遇しやすい状況】

- ・ 季節はずれのインフルエンザ様症状の流行
- ・ 天然痘ワクチン接種歴のない若年層を中心に罹患
- ・ 2～4 病日頃、一時解熱傾向となると同時に発疹が出現



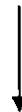
天然痘を鑑別診断にいれ、原則的にワクチン接種歴のある医療従事者が、確実な感染防御策のもとに患者を隔離して対応する。



- ・ 多くの場合、皮疹は顔面や四肢から出現する
- ・ 水痘と異なり、手掌や足底にも発疹が出現する
- ・ 発疹は、紅斑→丘疹→水疱→膿疱→結痂→落屑と規則正しく移行する



水疱、膿疱、痂皮、咽頭スワブ、血清などの臨床検体から、ウイルスの検出（鏡検、培養、PCR）、ウイルス抗原の検出（蛍光抗体法）をおこない診断を確定する。



患者と接触のあった者に対しては、可及的速やかにワクチン接種をおこなう。

発病者に対しては、全身管理を含めた嚴重な対応が必要