

病原体の特徴

- ・ 起炎病原体:天然痘ウイルス。
- ・ 自然界の中では比較的安定で低温や乾燥に強いが、紫外線やアルコール、ホルマリンで容易に不活化される。
- ・ 人間が唯一の自然宿主。

潜伏期

- ・ 平均 12~14 日間で、7~17 日間の範囲。
- ・ 潜伏期間中は他への感染力はない。

感染経路

- ・ 飛沫感染が主。衣類などを通じた接触感染や、まれに空気感染もありうる。
- ・ 感染期間は、初期症状出現時から発疹が痂皮化して完全に脱落するまでの期間。

臨床症状

- ・ 初期症状は、急激な発熱、倦怠感などのインフルエンザ様症状。
- ・ その後、一時的に解熱傾向となると同時に発疹が出現。
- ・ 舌、口腔内に痛性の小紅斑が出現し、その後、発疹が通常は顔面→四肢(手掌足底)→体幹の順に広がる。
- ・ 発疹は体幹部より顔面や四肢末梢側に優位である。
- ・ 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。

検体の種類と採取法と採取法

- ・ 全血:ヘパリン加血(5ml)
- ・ 水疱・膿疱:PBSを0.1~0.2ml入れた注射針(26G)付きの1mlの注射器を疱膜から挿入して、2~3回ポンピングして内容液を採取。
- ・ 痂皮:ピンセットで採取。
- ・ 咽頭スワブ
- ・ 血清

検体の輸送法

各検体とも、基本型三重包装容器を用いて輸送する。4°Cに冷却し、凍結しない。

微生物学的検査法

- ・ 血液塗沫標本や水疱・膿疱液、痂皮の電顕によるウイルス粒子検出、および抗原検出。
- ・ 全血や水疱・膿疱液、ぬぐい液などからのウイルス分離、PCR。
- ・ 血清中の抗体検査。

治療の要点

- ・ 特に感染初期は、ワクチン接種により効果が期待されるため、曝露していることが確実である場合には、発症前であれば接種を試みる。
- ・ 特異的な治療薬はなく、発症後の治療は対象療法が中心となる。
- ・ シドフォビルの臨床的有用性を示すデータはないが、臨床比較試験をおこなう意義は残されている。

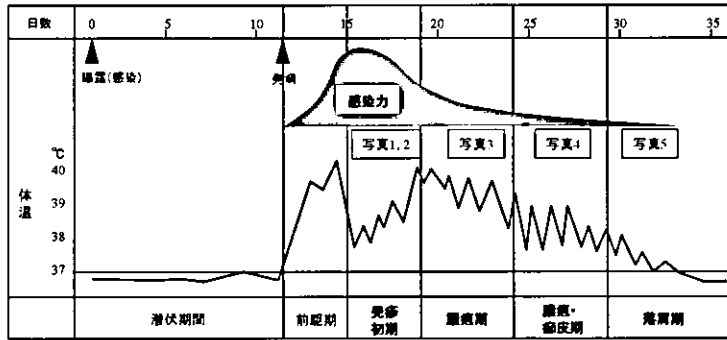


図1 天然痘の臨床経過
(国立感染症研究所 提供)

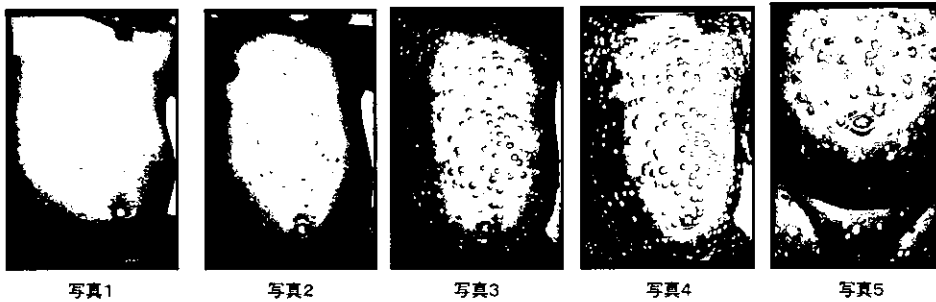


図2 天然痘の皮疹の時間的变化
WHO ホームページより
(<http://www.who.int/emc/diseases/smallpox/slideset/index.htm>)

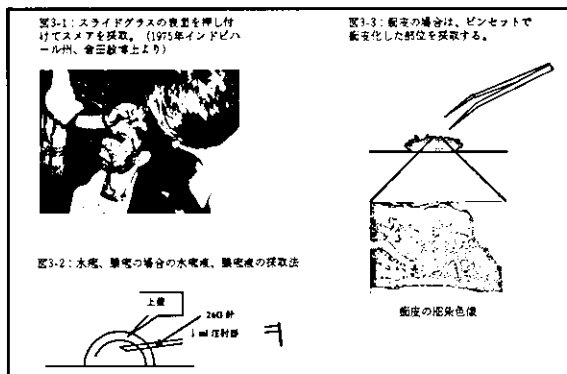


図3: 検体の採取
(国立感染症研究所 提供)

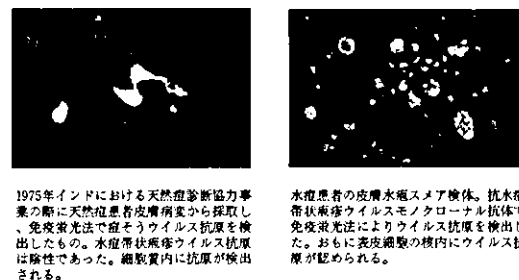


図4 天然痘患者と水痘患者の皮膚病変部位のウイルス抗原検出蛍光抗体法
(国立感染症研究所 提供)



図5 天然痘患者と水痘患者のネガティブ染色電顕像
(国立感染症研究所 提供)

【疾患の詳細】

天然痘(痘瘡) (Smallpox)

1. 病原体の特徴

天然痘の病原体は、天然痘(痘瘡)ウイルス(Variola virus)であり、ポックスウイルス科(Poxviridae)のオルソポックス属(Genus Orthopox)に分類される。牛痘ウイルス、ワクシニアウイルス、サル痘ウイルスなども、このオルソポックス属に含まれる。天然痘ウイルスは、エンベロープを有する大型(150nm~260nm)の二本鎖DNAウイルスである。自然界の中では比較的安定で、低温や乾燥に強く、エアロゾルの状態でも少なくとも数時間は感染力を有すると考えられている。ただし、紫外線やアルコール、ホルマリン(エーテルには耐性)によって容易に不活化される。人間が唯一の自然宿主であり、動物や昆虫などによっては媒介されない。

天然痘ウイルスは、臨床的に variola major と variola minor の2つに大別される。Variola major による天然痘はさらに、ordinary (90%以上がこのタイプ)、modified (ワクチン接種者に起こる軽症型)、flat および hemorrhagic (両型とも稀ではあるが、極めて重症でほぼ致死性)の4つの型に分けられている。致死率は variola major 全体では約30%(20~50%)、variola minor では1%以下である。

1956年以降、日本国内では天然痘の発生はなく、1976年にはワクチンの定期接種も事実上中止された。世界中でも1977年のソマリアにおける患者が最後であり、1980年5月にはWHOが天然痘の世界根絶宣言を出している。現在、天然痘ウイルスは米国とロシアのバイオセーフティレベル4の施設のみで厳重に保管されていると公表されているが、バイオテロに用いられる可能性のある生物兵器としては、炭疽菌とならんで最も重要な病原体である。CDCの生物兵器カテゴリー分類でも、カテゴリーAに分類されている。

2. 主な臨床像

a. 感染経路： ヒトからヒトへの飛沫感染が主であるが、患者の体液や汚染された寝具・衣類からの接触感染も起こる。まれではあるが、ビルや車両などの密閉空間において空気感染による伝播も起こりうる。

b. 潜伏期間： 平均12~14日間で、7~17日間の範囲である。潜伏期間中は他への感染力はない。

c. 感染期間： 発熱などの初期症状出現時から発疹が痂皮化して完全に脱落するまでの期間である(約3週間)。最も感染力が強いのは、発疹が出現し始める4~6病日前後(発疹初期)である。

d. 臨床経過 (図1)

前駆期 (2~4日間)：初期症状は、急激な発熱(39°C前後)、倦怠感、頭痛、背部痛などのインフルエンザ様症状や、ときに腹痛や嘔吐がみられる。その後一時的に解熱傾向となり全身症状も軽快傾向となると同時に発疹が出現する。

発疹初期 (約4日間)：最初に、舌および口腔内に有痛性の小紅斑が出現し、速やかに潰瘍化する。次いで、通常、顔面から始まって、四肢、手掌足底(水痘との鑑別点)、体幹の順に24時間以内に皮疹が広がる。全身の発疹の分布も、体幹部より顔面や四肢末梢側に優位である(水痘との鑑別点)。皮疹の性状は、最初は紅斑~平坦な丘疹様であるが、発疹初期の3日目までに皮疹の隆起が明らかとなる(図1)。4日目までに隆起内に濃い不透明な液体貯留(水疱)がおり、しばしば中心臍窩(水痘との鑑別点)を認める(図2)。この時期に、体温は再び高熱となり、発疹がすべて痂皮化するまで持続する。

膿疱期 (約5日間)：発疹は、皮下まで固く丸く触れる膿疱となる(図3)。

膿疱・痂皮期 (約5日間)：膿疱は結痂し、発疹が出現してほとんどが2週間後までに痂皮化する(図4)。天然痘患者の痂皮(かさぶた)の中には、感染性ウイルスが長期間存在する。

落屑期 (約6日間)：痂皮は落屑し始め、発疹が出現してほとんどが3週間後までに色素

沈着、癬痕を残して脱落する（図 5）。天然痘でみられる一連の発疹は、水痘のように各時期の発疹が同時に見られるのではなく、その時期に見られる発疹はすべて同一であることが特徴である。

3. 臨床検査所見

a. 血液生化学検査

天然痘に関する血液生化学所見については詳細不明。

b. 画像検査その他

天然痘に特徴的な画像所見等はない。

4. 確定診断

天然痘の確定診断には実験室診断による病原診断が必要である。医師が臨床的に天然痘を疑った場合、国立感染症研究所 感染症情報センター 岡部信彦センター長（電話03-5285-1111内2501）へ連絡する。実験室診断は、国立感染症研究所（電話03-5285-1111感染病理部感染病理室および042-561-0771ウイルス第1部第1室）が対応する。

a. 病期による検体の選択

天然痘の病期によって可能な検査が異なるため必要な検体も病期により異なる。以下の表に従って病期によって採取する検体を選択する。

病期	検体	ウイルス 粒子検出 (電顕)	ウイルス 抗原検出	ウイルス 抗体検出
潜伏期 前駆期	血液	-	+/-	-
丘疹期 および 紅斑期	塗抹標本	+	+	-
	血清	-	-	-
水疱期	塗抹標本	+	+	-
	水疱液	+	+	-
	血清	-	-	+/-
膿疱期	塗抹標本	+	+	-
	膿疱液	+	+	-
	血清	-	-	+
痂皮期	痂皮	+	+	-
	血清	-	-	+
回復期	血清	-	-	+

b. 検体の採取法

① 血液：ヘパリン血を 5ml

② 塗抹標本：

安全キャビネット等の設備が無い場合は、上蓋をとり 2ml のプラスチックチューブに入れて密栓して冷却して（凍結はしない）、国立感染症研究所へ運搬する。

可能な場合は、上蓋をとり、その内側をスライドグラスにスメアし乾燥する。スメア標本を 3 ないし 4 枚作成する。うまく上蓋がとれないか、痂底が湿性をおびているときは、スライドグラスの表面を押し付けてスメアを取る（図 3-1）。塗抹標本はウイルスが不活化されていないのでスライドグラスケース（プラスチック製の 25 枚程度入るもの）に入れテープ等で密閉し、さらにビニール袋等に入れてテーピングする。冷却状態を保って国立感染症研究所へ運ぶ。凍結は不可。

③ 水疱液・膿疱液：

PBS を 0.1～0.2ml 入れた注射針(26G)付きの 1ml の注射器（ツベルクリン用）を痂膜から挿入して、2～3 回ポンピングして内容液を採取する（図 3-2）。セラムチューブ等に内容液を入れて、4℃ に冷却して感染研へ運ぶ。

④ 痂皮：

ピンセットで痂皮を採取し（図 3-3）プラスチックチューブ等に入れて密栓し、4℃ に冷却して感染研へ運ぶ。

⑤ 血清：

安全キャビネット等の設備が無い場合、凝固血液を国立感染症研究所に運ぶ。可能な場合は常法による。ただし、血液凝固塊、血液中にウイルスが存在する可能性があるため、血清分離等に用いた試験管、ピペット、血液凝固塊等は必ずオートクレーブ処理する。血清は、国立感染症研究所へ運ぶ。

⑥ 検体の包装等：

国立感染症研究所の「感染性材料（病原体等及び診断用のヒトあるいは動物の検体）の輸送に関するマニュアル（持参の場合）」（問い合わせ先：国立感染症研究所 業務課 TEL: 03-5285-1111）に従って、基本型三重包装容器に検体を入れる（「ウイルス性出血熱」の項参照）。検体は、必ず持参する。

c. 病原学的検査

① ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) :

PCR 法でウイルスゲノムの検出を行う。

② ウイルス抗原検出蛍光抗体法 :

塗抹標本をアセトンで室温 10 分間固定したものをを用いる。抗ワクチニアウイルスウサギ血清を 1 次血清として、FITC 標識抗ウサギ IgG 抗体を 2 次血清に用いて間接蛍光抗体法を行う。この方法では、検体 (塗抹標本) にオルソボックスウイルス抗原の存在を確定できるが (図 4)、天然痘ウイルスとその他のオルソボックスウイルスの鑑別はできない。一次血清に抗 VZV (水痘ウイルス) 抗体を用いると水痘との鑑別はできる。

③ 電子顕微鏡によるウイルス粒子の検出・同定 (図 5) :

検体 (水疱液、膿疱液、痂皮乳剤) を対象にリンタングステン酸によるネガティブ染色後に電子顕微鏡観察して、ボックスウイルス粒子の検出を行う。この検査では、天然痘ウイルスとサル痘ウイルス、ワクチニアウイルス等の他のボックスウイルスとは鑑別できない。水痘患者検体にみられる水痘ウイルス (ヘルペスウイルス) とは容易に識別できる。

d. 診断基準:

上記の実験室診断法による検査で、以下のいずれかが満たされた場合、天然痘とする。

- ▶ 被験検体から「診断のための培養」で痘そうウイルスが同定された (この検査には BSL4 実験室の稼働が必要)。
- ▶ 被験検体から「PCR 法」で天然痘ウイルスゲノムが検出された。

また、次の場合は「天然痘」を疑う。

- ▶ 被験検体から「電子顕微鏡観察」でボックスウイルスが検出された。
- ▶ 被験検体から「ウイルス抗原検出蛍光抗体法」で、ボックスウイルス蛋白が検出された。

5. 治療

a. 薬物療法

ウイルス曝露後 4 日目以内であれば、ワクチン接種により軽症化または発病予防効果が期待される。また、曝露後 1 週間以内であれば、ある程度の効果が期待できることが経験的に知られているため、曝露していることが確実である場合には、発症前であればワクチン接種を試みる価値はあると思われる。

特異的な治療薬はなく、発症後の治療は対象療法が中心となる。重症例においては、早期には鎮痛剤投与、水分補給、栄養補給及び気道確保 (上気道浮腫による気道閉塞のおそれがある場合はヒドロコルチゾン投与)、発疹期には皮膚の衛生保持、発疹に対する治療をおこなう。抗ウイルス薬のシドフォビルの臨床的な有用性を示すデータはないが、*in vitro* や動物モデルでは天然痘ウイルスに活性があることが知られている。腎障害や好中球減少などの副作用もあり積極的に使用する根拠はないが、アウトブレイクがおこった場合には、臨床比較試験をおこなう意義は残されていると考えられる。

b. その他治療上の留意点

死亡は主にウイルス血症によるもので、1 週目後半から 2 週目にかけての時期が多いため、特に重症例では全身管理を含めた集中治療が必要である。皮膚の衛生状態の維持は二次感染の予防に重要である。しかし、破裂した小水疱及び膿疱、皮のむけた部位の細菌二次感染を完全に予防することはできない。皮膚や尿路、気道などの二次感染に対して抗菌薬を投与する必要があり得る。

痂皮の下に最後までウイルスが残っている可能性があるため、痂皮が完全に落屑するまで隔離治療する。

診療は、ディスポーザブルのガウン、手袋、靴カバー、ヘッドカバー、ゴーグル、マスクを含む防護服を着用し、予防接種を受けた職員が実施する。

6. 予防 (ワクチン)

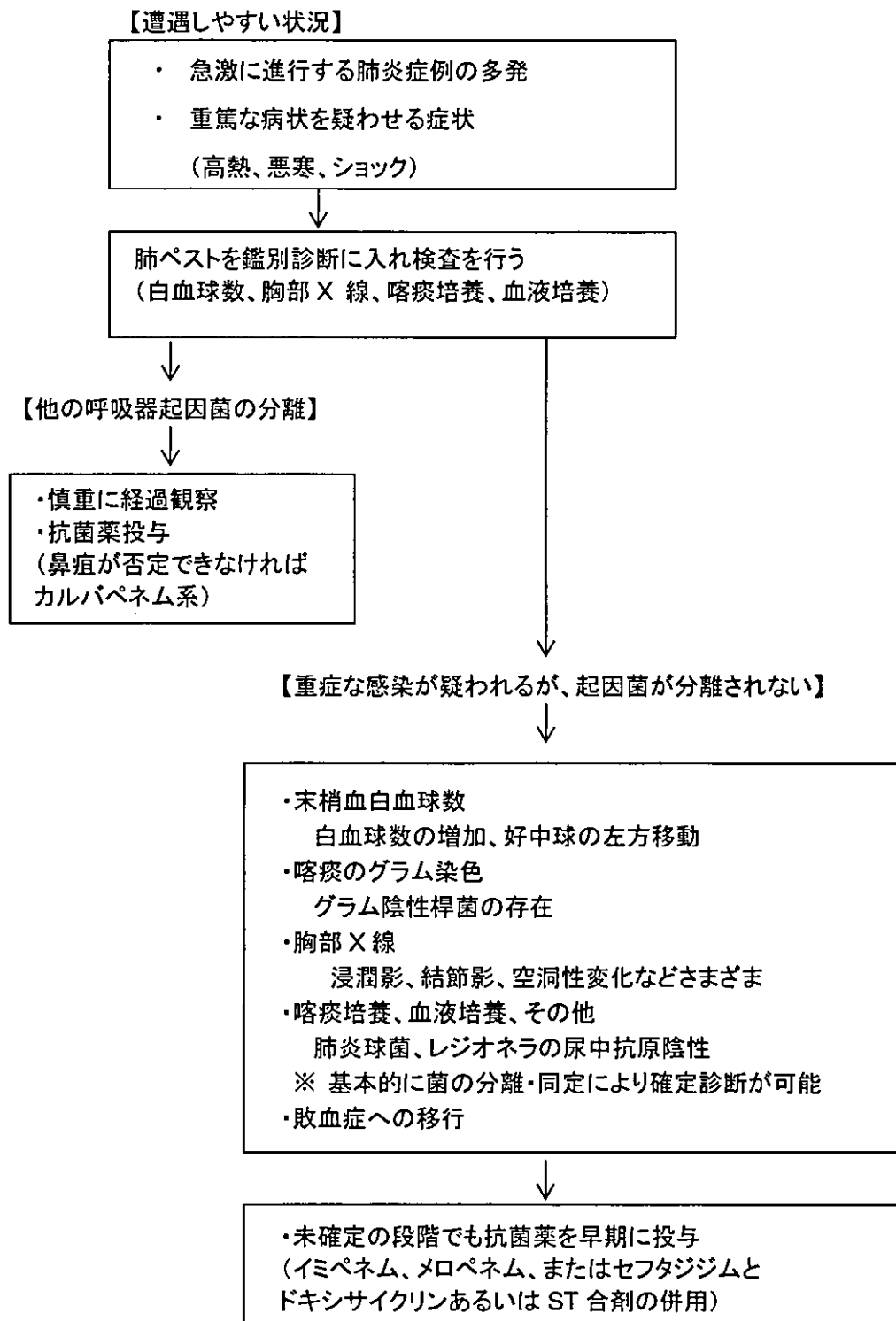
ワクチニアウイルスを用いた弱毒生ウイル

スワクチンがある。日本ではウサギ腎細胞で増殖した神経病原性を欠くりスター株の改良型 LC16m8 株を使用する。1 回の接種で 3 年から 5 年の防御免疫がえられる。感染数日以内ならば治療的に使用しても効果が認められる。副作用はリスター株で 100 万人に 20 人に脳炎が発生し、その 50% が死亡する。他に全身性種痘疹、湿疹性種痘、接触性種痘などの副作用がある。アレルギー反応既往、HIV 陽性、免疫抑制剤服用、妊婦、12 ヶ月未満の乳児には禁忌である。米国では Dryvax (New York City Board of Health strain, Wyeth laboratories) を使用しているが、上記の副作用に加えて心筋炎の発生が問題となっている。

【疾患全体のサマリー】

鼻疽 (Glanders)・類鼻疽 (Melioidosis)

バイオテロが疑われる状況と対応



病原体の特徴

鼻疽: 鼻疽菌 (*Burkholderia mallei*)
類鼻疽: 類鼻疽菌 (*Burkholderia pseudomallei*)
形態: いずれの菌もグラム陰性の好気性桿菌

鼻疽、類鼻疽の分類と潜伏期

鼻疽: 局所型、肺型、敗血症型、および不顕性型
潜伏期: 急性感染例では1~14日間
ただし数年に渡る潜伏感染もある

感染経路

保菌動物からの直接的な感染
バイオテロ: 菌のエアロゾル化による散布

臨床症状

局所感染:
感染局所の皮膚やリンパ節に膿瘍形成、
感染局所の潰瘍形成(鼻疽)
肺型:
発熱、咳嗽、喀痰、血痰など急激な肺炎症状
さらに肺膿瘍および結節性膿瘍など
敗血症型(菌血症型): 高熱、悪寒、ショック
壊死性の皮膚の発疹
不顕性型:
数年間もの間、無症候性の慢性感染が続くこ
とがある。その後免疫能の低下をきっかけとし
て発症。
※バイオテロの場合は主に肺炎型からの発症し、
高率に敗血症型への進展が予想される。

検体の種類および採取法

血液、創部ぬぐい、膿分泌物、および喀痰など。
血液培養はより感度を高めるために頻回に行う。

検体の輸送法

・喀痰、吸引採痰等は冷蔵状態にて輸送
・血液はカルチャーボトルで保温状態で輸送

微生物学的検査法

1. 菌の分離・同定
※本菌を扱うためにはレベル3の環境が必要
2. 抗原の検出
・喀痰や膿の塗抹標本を用いた直接免疫蛍光法
3. 遺伝子学的検査
・PCR法
4. 血清診断
・間接血球凝集反応あるいはELISA

患者の隔離や汚染器材等の管理

ヒトからヒトへの感染は起こりうる(肺型の場合は
隔離についても考慮する)
汚染部位の消毒: 70% エタノール、次亜塩素酸
ナトリウムなど
汚染材料: 焼却あるいはオートクレーブ滅菌

治療の要点

鼻疽:
アミノグリコシド、テトラサイクリン、ST合剤、
セフトラジジム、イミペネム、シプロフロキサシン、
およびゲンタマイシンを推奨。
(重症例ではアミノグリコシドとST合剤の併用)
類鼻疽:
イミペネム、シプロフロキサシン、ドキシサイクリン
などを推奨(ゲンタマイシン耐性菌が存在)
(重症例では、クロラムフェニコール、ST合剤、
ドキシサイクリンの多剤併用療法を行う)

抗菌薬の予防投与

バイオテロによる事件に遭遇した場合は、抗菌薬の
投与による予防が推奨される

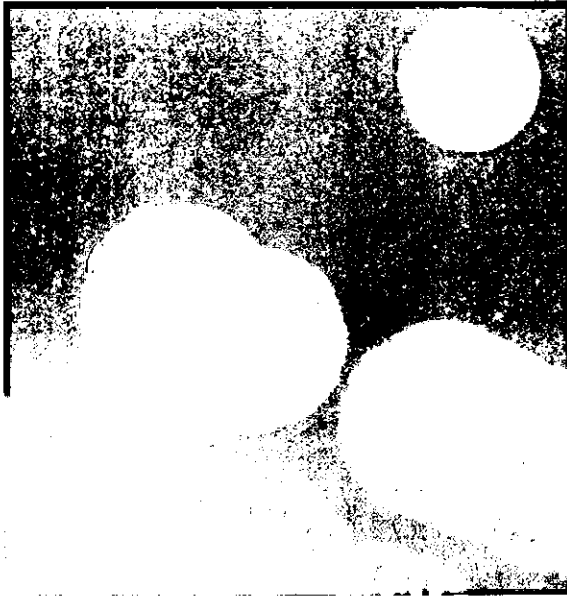
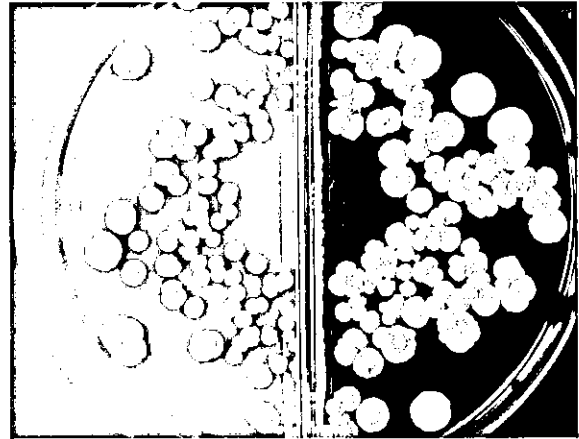


図1. 類鼻疽菌 *B. pseudomallei* のコロニー(10%グリセロール含有 Brain Heart infusion 培地)

(岐阜大学 江崎孝行博士 提供)



東邦大学 館田一博博士より提供

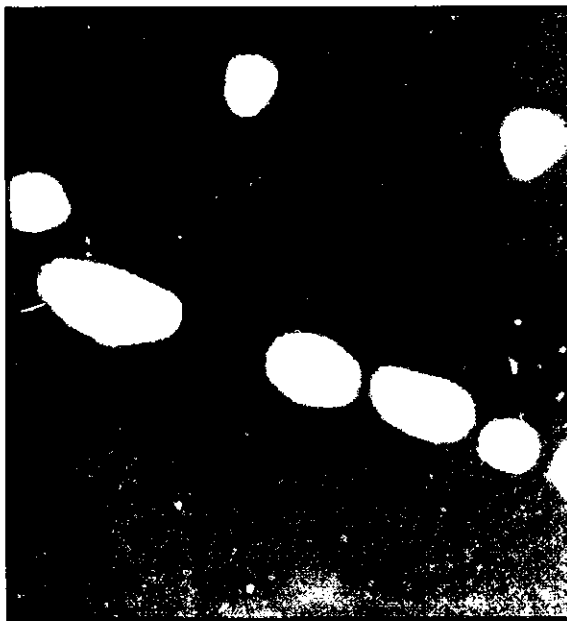


図2. 類鼻疽菌 *B. pseudomallei* のコロニー(Gentamycin 含有低栄養培地)

(岐阜大学 江崎孝行博士 提供)



メリオイドーシス症例の肺炎像

Tropical Medicine Central Resource のホームページより引用

(<http://tmcr.usuhs.mil/tmcr/chapter23/radiological.htm>)

【疾患の詳細】

鼻疽(Glanders)・類鼻疽(Melioidosis)

1. 病原体の特徴

【鼻疽】

鼻疽は鼻疽菌 (*Burkholderia mallei*) が感染することによって起こる人獣共通感染症である。本菌はグラム陰性の好気性桿菌で、鞭毛をもたず運動性はない。本菌の発育は緩徐で、41℃では発育するが、25℃以下では発育しづらい。本菌はおもに馬やロバに感染するが、ときにヒトにも感染する。

【類鼻疽】

類鼻疽は類鼻疽菌 (*Burkholderia pseudomallei*) によって起こる人獣共通感染症である。本菌はWhitmore菌とも呼ばれ、好気性菌のグラム陰性桿菌で、鞭毛を有し運動性を示す。土壌や池の水など環境中から類鼻疽菌が分離されることがあり、実際に土や水の中で数年間生存可能とされている。

2. 主な臨床像

【鼻疽】

本疾患は致死的な感染から数年に渡る潜伏感染まで幅広い感染を引き起こす。鼻疽の急性感染例では1～14日間の潜伏期を経て発症する。典型例における局所症状は創部感染と潰瘍、膿瘍を伴うリンパ節炎、鼻粘膜などの潰瘍、多関節炎、肺炎、肺膿瘍および結節性膿瘍などである。壊死性の皮膚の発疹が全身感染の際に認められるとされている。

バイオテロとして鼻疽菌が噴霧された場合、2週間以内の潜伏期を経て発病する可能性がある。肺型の場合、急激な肺炎症状を訴える症例が同時期に多発する可能性があり、敗血症型の感染を起こすと、高熱、悪寒、ショックなどの重篤な症状を伴う例が同時期に集中して認められる。

【類鼻疽】

類鼻疽では諸臓器に小膿瘍を形成し、多様な症状を示す。局所病変としては感染局所に結

節、リンパ管炎、リンパ節炎を起こす。急性期の呼吸器感染を起こすと気管支炎、肺炎を発症する。慢性期の病変は皮膚、膿、肺、心筋、肝、脾、前立腺、骨、関節、リンパ節、目などさまざまな部位に膿瘍が認められる。なおヒトの類鼻疽では無症候の状態できに数年間もの間、慢性の感染を引き起こすことがある。慢性感染においては数年間経過した後で再発する例があり、免疫能の低下が発症の誘因になると考えられている。感染防御能が低下しているような症例が本菌に感染すると重篤な経過をとることが多い。無症候感染例の存在も指摘されており、浸淫地における調査では、健康人の6～8%が抗体陽性と言われている。類鼻疽はさらにその病態の違いから以下の4つの病型(菌血症型、肺型、局所型、および不顕性型)に分類される(表1)。

表1. 類鼻疽の各病型

-
- | | |
|------------------|---|
| 1. 菌血症型または急性敗血症型 | ・経過: 急激に全身感染状態となる
・主な症状: 発熱, 悪寒, ショック
・予後: 不良(致死率は高い) |
| 2. 肺型 | ・経過: 急激な発症
・主な症状: 発熱, 咳嗽, 喀痰, 血痰
・予後: 適切な治療を受ければ良好 |
| 3. 局所型 | ・経過: 緩徐
・主な症状: 局所の腫脹, その他
・予後: 適切な治療を受ければ良好 |
| 4. 不顕性型 | ・血清学的診断によって判定
・浸淫地域では1～3%程度に陽性 |
-

a. 菌血症型または急性敗血症型

5～10日間の潜伏期の後、急性の全身感染を引き起こす。いったん発症すると、発熱、悪寒とともにショック状態に陥りやすい。局所所見を認めることは少ないが、時に胸痛、皮膚膿瘍、

リンパ節腫脹、などの所見を呈する。本病型の予後は悪く、致死率が高い。たとえ抗菌薬の投与を受けた場合でも病状の改善を認めない症例も多いと言われている。

b. 肺型

類鼻疽の中ではこの病型が占める割合が高い。数週間の潜伏期の後、発熱、咳嗽、喀痰、血痰、などの症状が出現する。胸部X線にて空洞を伴う陰影が認められることが多い。

c. 局所型

類鼻疽は皮膚やリンパ節をはじめさまざまな臓器に膿瘍を形成する。この膿瘍は経過が緩徐であり、結核性の膿瘍などとの鑑別が困難な場合が多く、切除後に初めて診断がなされる場合もある。

d. 不顕性型

本疾患のタイ、ベトナム、マレーシアの浸淫地域における疫学的調査では、対象住民の1~3%（一部には6~8%）が抗体陽性であったと報告されている。

3. 臨床検査所見

a. 血液生化学検査

・鼻疽、類鼻疽ともに血算では軽度から中等度の白血球数増加を認め、核の左方移動を伴う。本疾患に特徴的な生化学的所見は認めない。

b. 画像検査その他

鼻疽、類鼻疽ともに胸部X線にて両側性の気管支肺炎、粟粒性の結節、区域性あるいは肺葉性の浸潤影、空洞性の変化などさまざまな所見が認められる。また胸水貯留を伴う場合もある。腹部超音波検査やCTでは、深部膿瘍を認める。なお類鼻疽ではときに無症候性の肺感染が、胸部X線の陰影をきっかけとして発見される例がある。

4. 確定診断

a. 検体の採取、輸送、保存など

確定診断は培養による菌の分離・同定によって行われる。検体としては血液、喀痰および膿

分泌物（穿刺検体、その他）などを用いる。

血清学的診断法を目的として血清を採取するが、鼻疽と類鼻疽では交叉反応の可能性が指摘されており、鑑別が困難な場合がある。

鼻疽菌 *B.mallei* と類鼻疽菌 *B.pseudomallei* は土壌や水田で生息する細菌で、低栄養状態でも長期間生存し、乾燥にも強い。液体培地では *Burkholderia* 属の他の細菌は液体培地や固形培地で数日で急速に増殖して自己融解し、死滅するが、この菌は数週間でも培地から盛り上がり増殖を続ける。特に類鼻疽菌の増殖力は強い。人の感染症の場合、皮膚膿瘍、骨髄、血液、肺炎の洗浄液などが材料となるが、特別な選択培地は開発されていない。

普通寒天、Brain Heart infusion 寒天培地、血液培地いずれでも良好に発育する。肺炎の患者の喀痰から選択分離する培地は開発されていない。採取した材料は好気条件で室温、低温のいずれでも輸送してもかまわない。典型的な皺のよった集落は血液寒天でも観察できる場合があるが、10%グリセロールがはいった Brain Heart infusion 培地に接種すれば（図1）の2-3日で特色のある集落にかわる。一方、*B.mallei* の発育は遅く、小さな平滑な集落を作る。他の *Burkholderia* 属の菌種と集落の特徴的な差異は見られない。

B.pseudomallei を土壌から分離するには古くから Ashdown の選択培地が使用されている。

蒸留水：475 ml

寒天 (No.2, Oxoid) :5 g

加温したグリセロール：20 ml

0.1% クリスタルバイオレット：2.5 ml

1.0% ニュートラルレッド：2.5 ml

滅菌後、56°C に保ち Gentamycin (1mg/ml) を 2.5 ml 加え、平板を作成する。作成後、4°C 保存、一週間は使用できる。この低栄養培地で3-4日で小さな粘性のある集落を作る。培地上では *B.pseudomallei* は透明の集落の中心に赤い色が見える特色のある集落を形成する（図2）。喀痰からの選択分離と確認に利用できる可能性があるが、臨床応用した報告はない。

資化テスト	<i>B. uboniae</i>	<i>B. cepacia</i>	<i>B. vietnamensis</i>	<i>B. thailandensis</i>	<i>B. mallei</i>	<i>B. pseudomallei</i>
L(+)Arabinose	+	+	+	+	-	-
D(+)Xylose	+	+	+	+	-	-
Maltose	+	-	-	-	-	-
D-glucronate	+	+	+	-	-	-
D-galacturonate	+	+	+	-	-	-
Histamine	+	+	+	-	-	-
Dulcitol	-	+	+	+	+	+
DL-a-amino-n-bu tyrate	-	+	+	+	+	+
<i>B. mallei</i> は運動性マイナス、 <i>B. pseudomallei</i> は運動性プラス						

Table 1. 鼻疽菌・類鼻疽菌 と類縁菌との鑑別

b. 細菌学的検査法

B. mallei と *B. pseudomallei* は 90%以上の染色体の類似度があり、分類学的に同一種である。しかし、*B. mallei* は鼻疽 (Glander) を *B. pseudomallei* は類鼻疽 (Melioïdosis) と異なった病態を引き起こすことから、古くから独立した別の菌種として信じられてきた。両菌種ともゲノム解析が終了し、*B. mallei* は *B. pseudomallei* が保持している多くの遺伝子が脱落し、高度に家畜に寄生し進化してきたことが証明された。

B. mallei は運動性が無く、*B. pseudomallei* は鞭毛を発現し運動性がある。*B. mallei* は *B. pseudomallei* と同じ配列の鞭毛遺伝子を保有するが、鞭毛を発現していない。*B. pseudomallei* は通常は亜熱帯から熱帯地方の土壌、水を中心に地球上に幅広く分布しているが、*B. mallei* は高度に動物に寄生し、進化の途中で運動性を失ったと推測される。遺伝学的に同一種であるにも係わらず、菌の集落、発育パターンは大きく異なる。特徴的な集落とグラム陰性非発酵桿菌である *B. cepacia* に近い特徴を持っているので生化学的には容易に同定できる。但しタイの土壌からみつかった *B. thailandensis* は生化学的性状が類似し、長年、病原性のない

Arabinose 分解の *B. pseudomallei* として報告されてきたが、独立した菌種として報告された。鑑別が必要なのは *B. cepacia*, *B. thailandensis*, *B. vietnamensis* などの類縁菌である。生化学的性状での鑑別点は表 1 に示した。

Melioïdosis の治療では結核と同じく初期の集中療法に失敗すると感染が持続し治癒が困難になるので菌の正確な同定が必要になる。

c. 遺伝子を使った検出と同定

16S rDNA 配列を決定するか下記の特異 Primer で PCR 法を行うのが同定としては容易である。

Forward:5'-TAATACCGCATACGATCTGAGGA-3'
Reverse:5'-CACTCCGGGTATTAGCCAGAATG-3'
Annealing 温度: 60C, Amplicon: 308 bp

この primer では、*B. mallei* と *B. pseudomallei* が増幅し、*B. thailandensis* の DNA は増幅しない。

5. 治療

a. 薬物療法(抗菌薬療法)

資料参照

b. その他治療上の留意点

【鼻疽】

鼻疽は治療が遅れると致命的な状態になる場合があり、早期の抗菌薬投与が必要である。ただし鼻疽は患者の数が少なく、抗菌薬の有効性に対する評価は定まっていない。薬剤感受性の結果をもとに鼻疽菌に対してはアミノグリコシド、テトラサイクリン、ST 合剤が有効である。微量液体希釈法を用いた鼻疽菌の MIC 測定の結果、セフトジジム、イミペネム、シプロフロキサシン、およびゲンタマイシンが良好な効果を示し、中でもゲンタマイシンの MIC₉₀ は 0.5 µg/ml と最も有効であったと報告されている。

重症例においてはアミノグリコシドと ST 合剤の併用が推奨されている。中等症例では ST 合剤あるいはテトラサイクリンを用いる。治療の期間は 3 週間を目安として、臨床経過をもとにさらに期間を延長する。

【類鼻疽】

重症例では、クロラムフェニコール、ST 合剤、ドキシサイクリンの多剤併用療法を行う。基本的に治療期間は 1 ヶ月以内とされるが、しばしばより長期間の治療が必要となる。20 週間程度の上記の併用を継続すると再発が 10% 以下に抑えられるという報告もある。

6. 予防(ワクチン)

利用可能なワクチンはない。

7. 患者の隔離や汚染器材等の管理

文献的にはヒトからヒトへの直接の感染は起こりにくいという記述もあるが、実際に起こった例もあるため患者の隔離についても考慮する。さらに皮膚に病巣がある場合は分泌物中の菌に触れて他者に伝播する可能性もあり、喀痰や分泌物が付着した物品についてはオートクレーブにて処理をする。本菌に汚染された物品の表面の消毒には 0.5~1%の次亜塩素酸ナトリウム、70% エタノール、グルタールアルデヒドなどが用いられる。熱に対しては、鼻疽菌は 55℃、10 分間の加熱で死滅する。なお病原体を含む検体や菌の取り扱いは、実験室内で

感染した例もあるので注意が必要である。

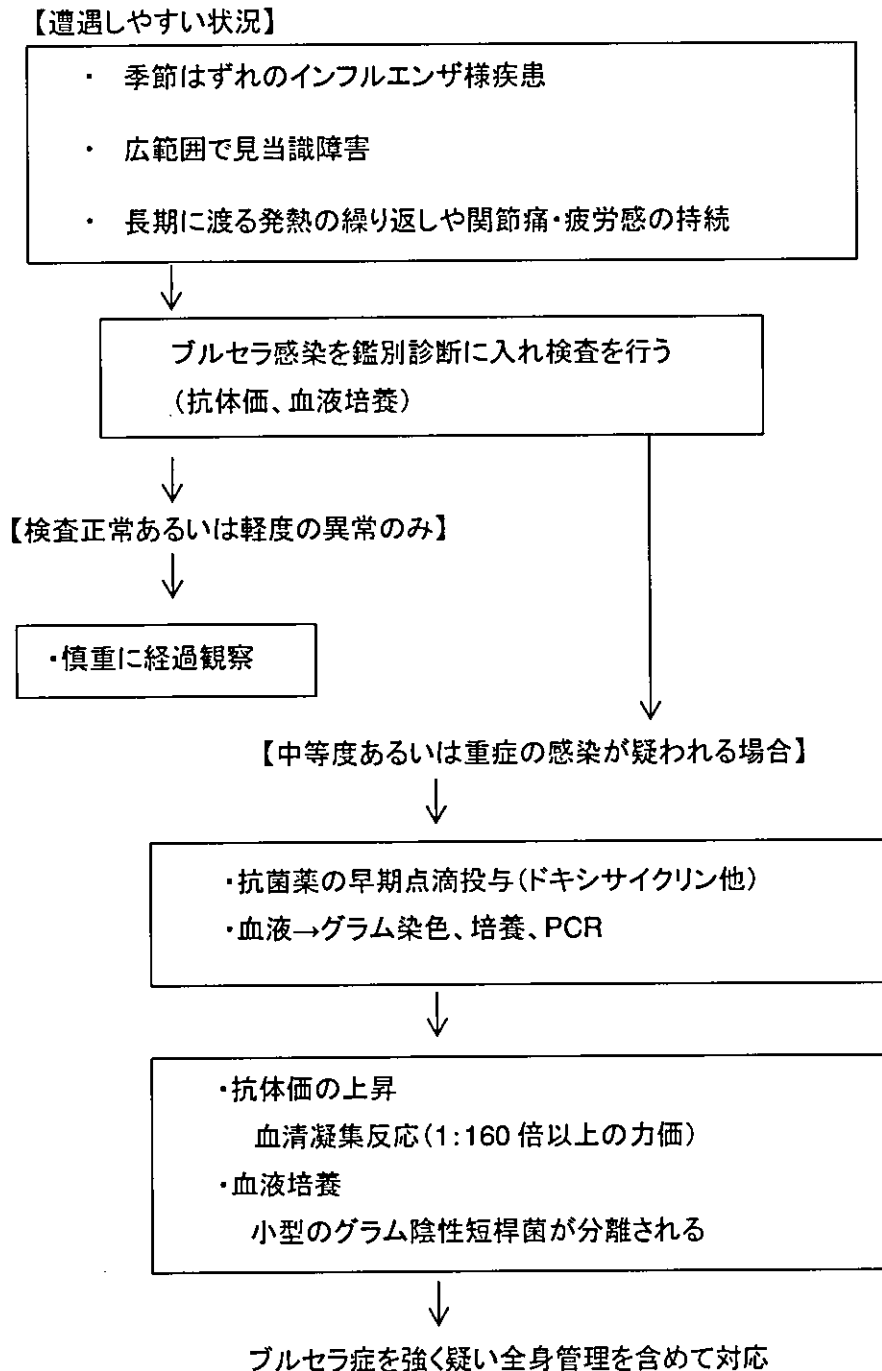
参考文献

1. Lowe P, Engler C, and Norton R. Comparison of Automated and Nonautomated Systems for Identification of *Burkholderia pseudomallei*. J Clin Microbiol 40: 4625-4627, 2002.
2. Everett ED, and Nelson RA. Pulmonary melioidosis: observations in thirty-nine cases. Am Rev Respir Dis 112 :331-340, 1975.
3. Chaowagul W, Suputtamongkul Y, Smith MD, and White NJ. Oral quinolones for maintenance treatment of melioidosis. Trans R Soc Trop Med Hyg 91: 599-601, 1997.
4. Lew AE, Desmarchelier PM. Detection of *Pseudomonas pseudomallei* by PCR and hybridization. J Clin Microbiol 32: 1326-1332, 1994.
5. Naigowit P, Kurata T, et al. Application of indirect immunofluorescence microscopy to colony identification of *Pseudomonas pseudomallei*. Asian Pac J Allergy Immunol 11: 149-154, 1993.
6. Smith MD, Wuthiekanun V, et al. Latex agglutination test for identification of *Pseudomonas pseudomallei*. J Clin Pathol 46: 374-375, 1993.
7. Rajchanuvong A, Chaowagul W, et al. A prospective comparison of co-amoxiclav and the combination of chloramphenicol, doxycycline, and co-trimoxazole for the oral maintenance treatment of melioidosis. Trans R Soc Trop Med Hyg 89: 546-549, 1995.
8. Kenny DJ, Russell P, Rogers D, Eley SM, Titball RW. In vitro susceptibilities of *Burkholderia mallei* in comparison to those of other pathogenic *Burkholderia* spp. Antimicrob Agents Chemother 43: 2773-2775, 1999.
9. Deitchman S, Sokas R. Glanders in a military research microbiologist. N Engl J Med 345: 1644, 2001.
10. Kenny DJ, Russell P, Rogers D, Eley SM, Titball RW. In vitro susceptibilities of *Burkholderia mallei* in comparison to those of other pathogenic *Burkholderia* spp. Antimicrob Agents Chemother 43: 2773-2775, 1999.

【疾患全体のサマリー】

ブルセラ症 (Brucellosis)

バイオテロが疑われる状況と対応



病原体の特徴

起炎病原体:ブルセラ属菌(*Brucella melitensis*)
偏性好気性短桿菌

炭疽の分類と潜伏期

- ・全身感染
- ・潜伏期:1~6ヶ月

感染経路

- ・経口(特に非加熱のミルク)
- ・接触感染(経皮感染も)
- ・実験室内感染

臨床症状

- ・発熱
- ・感冒
- ・発汗、
- ・脱力感
- ・体重減少
- ・疲労
- ・頭痛
- ・腹痛
- ・背部痛
- ・食欲不振
- ・関節痛

検体の種類

- ・血液培養
- ・脳脊髄液培養
- ・骨髓培養鼻腔ぬぐい

検体の採取法

- ・血液採取(二週間間に二回)

検体の輸送法

- ・血液、髄液はカルチャーボトルで保温状態で輸送
- ・血清は冷蔵もしくは冷凍で輸送

微生物学的検査法

塗抹染色(グラム染色)

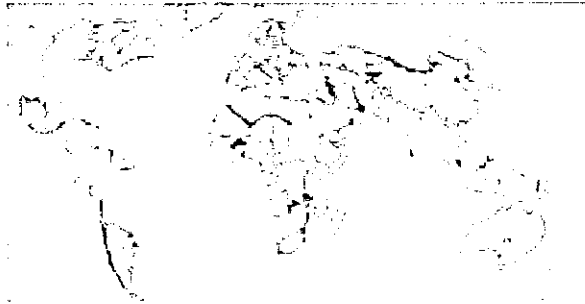
- ・短桿菌(球菌様にも観察できる)培養
- ・2~3日 37°C培養(炭酸ガスが必要な場合もある)で微小集落(1ミリ程度)

血清抗体価検査

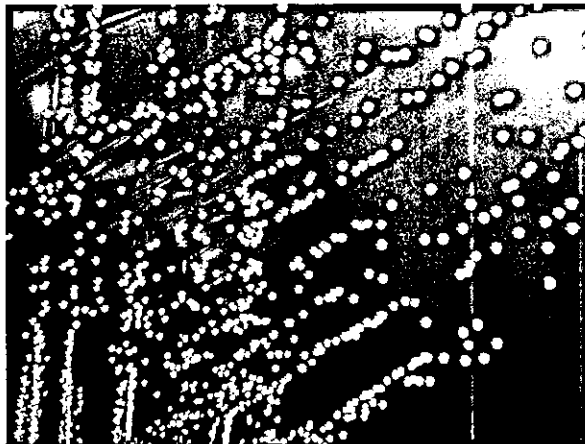
- ・ホルマリン不活化死菌(動物検査用)

治療の要点

- ・有効抗菌薬を長期間投与
- ・薬剤耐性についてのデータは無い

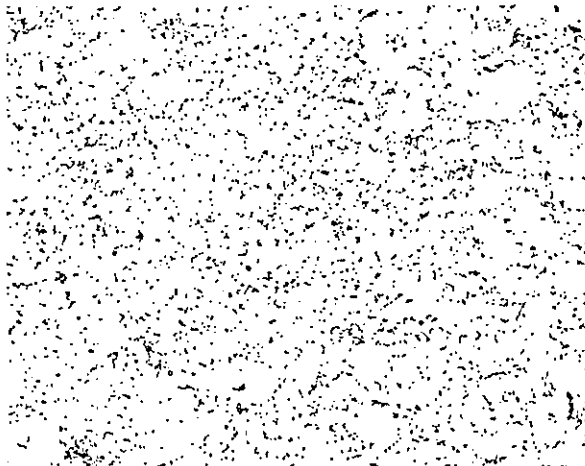


牛におけるブルセラ症の発生状況
赤で示す国はリスクが高い(1955～1999年の統計)



Brucella spp.の血液寒天平板上の集落
(2日間培養)

(帯広畜産大学 牧野壮一博士提供)



Brucella spp.のグラム染色(陰性の短桿菌)

(帯広畜産大学 牧野壮一博士提供)

【疾患の詳細】

ブルセラ症 (Brucellosis)

1. 病原体の特徴

ブルセラ症 brucellosis は、人獣（畜）共通伝染病 Zoonosis の 1 つであり、原因菌として *B. melitensis* ヤギ流産菌（マルタ熱菌）、*B. abortus* ウシ流産菌（バング菌）、*B. suis* ブタ流産菌の 3 菌種が主なものであり、それぞれ数種類の生物型を有する（表 1）。これらはヒトの波状熱 Malta fever マルタ熱の原因となる。その他の菌種として、*B. neotomea*, *B. ovis*, *B. canis* があるが、それぞれキネズミ、ヒツジ、イヌに対して病原性があり、*B. canis* はヒトにも感染する。牛では流産として注目され、牛の伝染性流産、バング菌流産と呼ばれる。世界中に広く分布し、開発途上国や畜産国では生産性の障害となり、乳汁への排菌が続く。公衆衛生上重要な疾病である。細胞内寄生菌に特徴的な持続感染を本菌は有し、完全に生体内から菌を排除するのは困難を極める。ヒトは終宿主ではないが、発症するとインフルエンザ様の熱が間欠的に起こるいわゆる波状熱を主徴として長期間継続する厄介な疾病である。動物では経済的な理由から、ヒトではその危険性から世界中でブルセラ症の撲滅には力を入れている。その中心が、家畜に対するワクチン接種である。また *Brucella* という属名は、最初に Bruce (1855~1931) が本菌をマルタ熱患者の脾臓から分離したことによる。

Brucella 属には前述の 6 菌種が知られてきたが、1985 年に *B. melitensis* 一菌種に統一された。しかし、臨床的には従来の菌種が用いられることが多く、便利である。グラム陰性の球状に近い短桿菌で、鞭毛はない。発育はやや遅く、好気性に発育し、普通の培地ではあまり発育せずアミノ酸、チアミン、ナイアシン、ピオチン、Mg²⁺を要求する。分離には serum-dextrose 寒天平板を使うが、brucella broth または trypticase soy broth を使用しても

よい。血清または血液を加えたり、5~10%炭酸ガスがあるとしばしば発育がよくなるが、とくに *B. abortus* を検体から分離するときには炭酸ガスが必要である。約 1 週間で正円、隆起した琥珀色の透明な集落を生じる。検体から分離するときには 3~4 週間培養したあとでないと、存在していないという結論を出してはならない。20~40°C で発育し、37°C が最適である。至適 PH は 6.6~7.4 である。カタラーゼ陽性、オキシダーゼ弱陽性、通常の培地では炭水化物から酸の産生を示さず、DNA の GC 含量は約 58%である。

2. 主な臨床像

感染源は感染動物の組織、乳汁、血液、尿、胎盤、陰排泄物、流産胎児などである。*B. canis* に感染したイヌの尿も感染源になる。潜伏期間は 1~18 週、通常 2~8 週。ブルセラ症は全身症状を呈し、あらゆる臓器に感染を起こす。その症状に特異的なものはなく、発熱、発汗、疲労、体重減少、うつ状態などがみられる。感染初期にはインフルエンザ様症状を呈することも多い。身体所見では、発熱（数週間~数カ月続くことがある）、リンパ節腫脹、肝脾腫大がみられる。感染によって誘導される所見として比較的共通のものは脾腫、リンパ節特に頸部および鼠径部リンパ節の腫脹、および関節の腫脹と痛みがあり、その他に 20~50%の患者に、進行の時期によって泌尿生殖器症状があらわれる。*B. melitensis* の感染では約 70%の患者に肝腫大が認められる。本感染による死亡率は一般的には低率であるが、心内膜炎を併発している場合には致死率は上昇し、ヒトのブルセラ症による死亡の多くはこれが原因である。ヒトブルセラ症の 3~5%に神経症状や精神神経的な症状との関連性があるとされる (1, 2)。

3. 臨床検査所見

通常の血液検査で特異的な所見はない。一般的な血液検査や尿検査は、他の感染症を除外する以外はあまり意義がない。白血球数は

正常かむしろ減少しており、軽度の貧血が認められ、赤沈は正常かやや亢進している。

4. 確定診断(病原体診断)

a. 検体の採取、輸送、保存など

検査材料としては血液や臓器である。病原菌株の送付は一般的な病原体の輸送と同じに可能である。保存は凍結乾燥が適しているが、通常の細菌保存で数ヶ月は問題がない。しかし、ブルセラ症は検査室内や実験室内感染が多く報告されており、エアロゾールによる感染が容易におこる。

b. 微生物学的検査法

直接患部からとって塗抹染色するか、蛍光抗体法で観察する。血液から、またリンパ節、肝臓、骨髄の生検から菌を分離する。培養は少なくとも4週間炭酸ガス存在下で行う。集落が出現したら、染色および生化学性状を調べる。また、Phagetypingは菌種、生物型の同定に重要である。更には、診断的価値は低い、ツベルクリン反応と同様の皮内反応(ブルセロリン反応:ブルセラ菌体抽出物を用いた皮内反応(遅延型皮内反応))を行うことができるが、補助診断である。

また病原体に対する抗体を血清凝集反応(1:160倍以上の力価)または酵素抗体法、補体結合反応(CF、急性期と回復期で4倍以上の力価上昇)で検出することが必要である(3-6)。しかし、菌体表層のポリサッカライドの構造が細菌の血清型診断に重要な影響を及ぼし、他菌種との交差凝集がある。即ち、*Yersinia enterocolitica* O9、*Vibrio cholerae*、*Salmonella* O30、*Escherichia coli* O157:H7、*Pseudomonas maltophilia*、*Francisella tularensis*、*Campylobacter* などに対して血清学的に交差反応を起こす(7-10)。特に、大きな問題となるのはO側鎖の構成が同一である血清型O9群の*Y. enterocolitica*との交差凝集であり、ヒトのエルシニア症とブルセラ症の血清診断に大きな支障となっている。しかし、*Y. enterocolitica* O9は、我国で輸入動物以外から分離された報告はなく、血清診断上問題にな

ることはないが、*Y. enterocolitica* O9の常在地であるモンゴルや中国などの国ではブルセラに対する血清診断法の限界があると言われており、正確なブルセラ症の実態把握ができない状態にある。しかし、近年ブルセラ特異的な血清診断法が報告されている。この反応では、ワクチン接種動物をも区別可能である(11-13)。さらにPCRなども用いられている(14)。

鑑別診断としては、血液培養で*Moraxella*や*Haemophilus*と誤認されることがあり注意を要する。他の不明熱との鑑別が必要(マラリア、腸チフス、結核、野兔病、悪性疾患、膠原病など)である。

5. 治療

a. 薬物療法(抗菌薬療法)

一般に治療は、本菌が細胞内寄生であるため困難である。tetracyclineとstreptomycinを長期間併用すると有効であるが、菌は細胞内に存在するので、根治は実際には難しい。その他、doxycyclineとrifampicinとの併用や、ST合剤とgentamicinとの併用で治療する。

β -lactam剤は試験管内では有効であるが、細部内寄生菌であるので実際には無効である。一方、家畜では検査・淘汰による防疫を行っているので治療は許されない。

具体的には100 mgのdoxycyclineを1日2回で6週間与え、streptomycinの1gを筋注で1日1回2週間併用する。または、doxycyclineの100 mgを1日2回与え、rifampicinの600~900 mgを1日1回6週間併用する(15)。キノロン系抗生剤とrifampicinの併用も効果がある(16)。

8歳以上の子供の場合は、doxycyclineを体重1kgあたり30 mgの量を経口で一日4回に分けて3週間投与し、gentamicin(1日5 mg/kg)を筋注で初めの5日間併用する(16)。一方、8歳以下の子供の場合はtrimethoprim/sulfamethoxazole(TMP/SMZ)合剤を1日2回に分けて3週間体重1kgあたり10および50 mg与え、はじめの5日間はgentamicinを併用する。TMP/SMZ単独もしくはrifampicinか

gentamicin との併用は妊婦や tetracycline 投与患者にも有効である (18)。

髄膜炎や心内膜炎では doxycycline と他の薬剤との併用療法が効果があり、特に TMP/SMZ と rifampicin との併用が効果がある (19, 20)。

b. その他治療上の留意点

心内膜炎、骨髄炎などでは外科的処置も必要ことが多い。再発は抗生剤の服用期間が短かかったり、外科的処置が適切になされなかった場合に起こる。

6. 予防(ワクチン)

ブルセラは細胞内寄生菌であるために、抗体による免疫は成立せず、再感染が起こりやすい。細胞性免疫が関与している。即ち、ブルセラ症の予防には死菌より生菌ワクチンが効果があり、抗体の予防効果はわずかであると考えられている。実際に、諸外国では、仔牛の時期に接種する生菌 *B. abortus* 19 株ワクチンや *B. melitensis* Rev I 株を用いた予防対策がとられ、家畜の感染が減少した (21)。しかしこれらのワクチン株は副作用が強いので、ヒトへは応用されていない。

7. 参考文献

- 1) Corbell JM. Brucellosis: an overview. *Emerg. Infect Dis* 2: 213-221, 1997.
- 2) Fosgate GT, Carpenter TE, Chomel BB, Case JT, DeBess EE, Reilly KF. Time-space clustering of human brucellosis, California, 1973-1992. *Emerg Infect Dis* 8: 672-678, 2002.
- 3) Diaz-Aporicio et al. Evaluation of serological tests for diagnosis of *Brucella melitensis* infection of goats. *J Clin Microbiol* 32: 1159-1165, 1994.
- 4) Jacques I, Oliver-Bernardin V, Dubray G. Efficacy of ELISA compared to conventional tests (RBT and CFT) for the diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep. *Vet Microbiol* 64: 61-73, 1998.
- 5) MacMillan A. Conventional serological tests. In: Neilsen KN, Duncan JR, eds. *Animal brucellosis*. Boca Raton (Fla): CRC Press, inc, pp153-197, 2000.
- 6) Saravi et al. Comparative performance of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and conventional assays in the diagnosis of bovine brucellosis in Argentina. *Vet Immun Immunopath* 47: 93-99, 1995.
- 7) Kittelberger et al. Serological cross-reactivity between *Brucella abortus* and *Yersinia enterocolitica* O:9: IV. Evaluation of the M- and C-epitope antibody response for the specific detection of *B. abortus* infections. *Vet Microbiol* 60: 45-57, 1998.
- 8) Caroff M, Bundle DR, Perry MB. Structure of the O-chain of the phenol-phase soluble cellular lipopolysaccharide of *Yersinia enterocolitica* serotype O:9. *Eur J Biochem* 139: 195-200, 1984.
- 9) Sutherland SS and Searson J. The immune response to *Brucella abortus*: The humoral immune response. In: Neilsen KN, Duncan JR, Eds. *Animal brucellosis*. Boca Raton (Fla): CRC Press, Inc, pp66-81, 1990.
- 10) Weynants et al. Infection of cattle with *Yersinia enterocolitica* O:9 a cause the false positive serological reactions in bovine brucellosis diagnostic tests. *Vet Microbiol* 48: 101-112, 1996.
- 11) Erdenebaatar et al. Serological Differentiation of *Brucella*-Vaccinated and -Infected Domesticated Animals by the Agar Gel Immunodiffusion Test using *Brucella* Polysaccharide in Mongolia. *J Vet Med Sci* 64: 839-841, 2000.
- 12) Erdenebaatar et al. Enzyme-linked immunosorbent assay to differentiate the antibody responses of animals infected with *Brucella* species from those of animals infected with *Yersinia enterocolitica* O9. *Clin Diagn Lab Immunol* 10: 710-714, 2003.

- 13) Erdenebaatar et al. Epidemiological serological survey of brucellosis in Mongolia by ELISA using sarcosine extracts. *Microb Immun* 2004 (in press).
- 14) Bricker et al. Evaluation of the *Brucella abortus* species-specific polymerase chain reaction assay, an improved version of the *Brucella* AMOS polymerase chain reaction assay for cattle. *J Vet Diagn Invest* 15: 374-378, 2003.
- 15) Joint FAO / WHO Expert Committee on Brucellosis. Sixth Report. World Health Organ Tech Rep Ser No. 740. Geneva: World Health Organization, 1986.
- 16) Akova et al. Quinolones in the treatment of human brucellosis; comparative trial of ofloxacin-rifampin versus doxycycline-rifampin. *J Antimicrob Chemother* 37: 1831-1834, 1998.
- 17) Lubani et al. A multi-center therapeutic study of 1100 children with brucellosis. *Pediatr Infect Dis* 8: 75-78, 1989.
- 18) Young EJ. Treatment of brucellosis in humans. In: Young EJ, Corbel MJ, eds. *Brucellosis : Clinical and Laboratory Aspects*. Boca Raton, FL: CRC Press, 127-141, 1989.
- 19) McLean et al. Neurobrucellosis : Clinical and therapeutic features. *Clin Infect Dis* 15: 582-590, 1992.
- 20) Jacobs F, Abramowicz D, Vereerstraeten P, et al . *Brucella endocarditis : The role of combined medical and surgical treatment*. *Rev. Infect. Dis.* 12: 740-744, 1990.
- 21) Nicoletti P. Vaccination. In: Neilsen KN, Duncan JR, Eds. *Animal brucellosis*: Boca Raton (Fla): CRC Press, Inc, pp284-96, 1990.