

ジフテリア

2020 年版

目次

1.	ジフテリアについて	Page 2
2.	細菌学的検査の対象	Page 2
3.	細菌学的検査の進め方	Page 3
4.	PCR によるジフテリア毒素遺伝子検出法	Page 4
5.	文献	Page 5
6.	問い合わせ先	Page 5
7	図	Page 6

1. ジフテリアとジフテリア菌について

- ① ジフテリアは、ジフテリア毒素を産生する *Corynebacterium diphtheriae* による急性感染症である。ジフテリア毒素遺伝子を含むバクテリオファージの溶原化により *C. diphtheriae* 菌株はジフテリア毒素を産生する。*C. diphtheriae* が常在菌として、あるいは、他の菌とともに臨床材料から分離されることがあるが、毒素を産生しない菌であれば、ジフテリアの原因にはならない。
- ② 一方、*Corynebacterium diphtheriae* 以外では、*Corynebacterium ulcerans* および *Corynebacterium pseudotuberculosis* のうち、毒素を産生する菌株が、ジフテリア様の感染症を引き起こすことが報告されているが、*C. diphtheriae* による感染と異なり、動物由来感染症である。
- ③ ジフテリアは、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に基づき診断後直ちに届出が義務付けられている第二類感染症である。1999 年の届出を最後に日本では報告がない。
<https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou11/01-02-03.html>
- ④ *Corynebacterium diphtheriae* は、通性嫌気性(好気性)グラム陽性桿菌で、病原体の BSL 分類はレベル 2 である。

IDWR 感染症の話「ジフテリア」を参照

<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/411-diphtheria-intro.html>

2. 細菌学的検査の対象

- ① 臨床症状から強くジフテリアが疑われた場合
 - 1) 偽膜形成が認められる等のジフテリア症状がみとめられる場合は、毒素産生性 *Corynebacterium diphtheriae*、あるいは、*Corynebacterium ulcerans* および *Corynebacterium pseudotuberculosis* による感染を疑う。
 - 2) *Corynebacterium diphtheriae*、あるいは、*Corynebacterium ulcerans* および *Corynebacterium pseudotuberculosis* の分離同定、および、分離菌株における培養細胞法等によるジフテリア毒素産生性の検討を実施している地方衛生研究所、あるいは、国立感染症研究所で検査を行う。
 - 3) ジフテリア毒素遺伝子(*tox*)を保有していても、毒素を産生しない菌株(non-toxigenic *tox*-bearing *Corynebacterium diphtheriae*)が存在するため、PCR による毒素遺伝子検査で陽性結果が得られた場合には、菌株の毒素産生性を確認する必要がある。
 - 4) 毒素産生株の場合、*Corynebacterium diphtheriae* による感染なのか、あるいは、*Corynebacterium ulcerans*、*Corynebacterium pseudotuberculosis* による感染なのかにより、公衆衛生学的対応が大きく異なる。
 - 5) 毒素産生性 *Corynebacterium diphtheriae* による感染は、診断後直ちに届出が義務付けられている第二類感染症であり、隔離等による飛沫感染対

策、接触感染対策が必要である。一方、毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans*、あるいは、*Corynebacterium pseudotuberculosis* による感染は、動物由来感染症であるため、動物飼育歴の聞き取りが必要である。

② ジフテリア患者との濃厚接触者

- 1) 毒素産生性 *Corynebacterium diphtheriae* が分離され、ジフテリアと診断された患者の同居家族を含む濃厚接触者、および、患者の感染部位からの分泌物に暴露の可能性があった人について調査を行う。
- 2) *Corynebacterium diphtheriae* の分離同定、分離菌株のジフテリア毒素産生性の検討を実施している施設で検査を行う。
- 3) 毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans*、*Corynebacterium pseudotuberculosis* による感染の場合は、濃厚接触者の調査や検査は不要である。

③ ジフテリア患者における治療後の陰性確認

- 1) ジフテリアと診断された場合、2 週間の抗菌薬治療後に、24 時間あけて 2 回の陰性確認を行う必要がある。
- 2) 鼻、咽頭から、検体を採取し、毒素産生性 *Corynebacterium diphtheriae* の培養検査を行う。

④ ジフテリア様症状は認められないが、臨床材料から分離された菌株が、*Corynebacterium diphtheriae*、*Corynebacterium ulcerans*、*Corynebacterium pseudotuberculosis* のいずれかと同定された場合

- 1) 細菌の同定に質量分析が広く用いられるようになり、従来、常在菌の混入あるいは他の細菌との混合感染菌として *Corynebacterium sp.* と同定されていた菌が、*Corynebacterium diphtheriae*、*Corynebacterium ulcerans*、あるいは、*Corynebacterium pseudotuberculosis* と同定されるようになった。
- 2) 海外渡航歴や動物飼育歴などの臨床背景から、ジフテリア毒素産生性陰性確認が必要と判断されれば、各地方衛生研究所で、PCR によるジフテリア毒素遺伝子検出検査を行う。
- 3) PCR で陽性結果、あるいは判定困難と考えられた結果が得られた場合は、国立感染症研究所で、再同定およびジフテリア毒素産生性の検討を行う。

3. 細菌学的検査の進め方(図参照)

① 臨床症状から強くジフテリアが疑われた場合

- 1) 鼻、咽頭、偽膜組織から、検体を採取する。
- 2) ジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium diphtheriae* 培養検査を実施しない自治体では、国立感染症研究所へ、臨床検体を冷蔵 (2~8℃) で送付する。
- 3) 国立感染症研究所では、検体から、*Corynebacterium diphtheriae*、*Corynebacterium ulcerans*、*Corynebacterium pseudotuberculosis* を分離同定し、分離菌株における毒素産生性を検討する。

- ② ジフテリア患者との濃厚接触者における検査
 - 1) 鼻、咽頭から、検体を採取する。
 - 2) 毒素産生性 *Corynebacterium diphtheriae* 培養検査を実施しない自治体では、国立感染症研究所へ検体を冷蔵 (2~8°C) で送付する。
 - 3) 国立感染症研究所では、検体から、*Corynebacterium diphtheriae* を分離同定し、分離菌株における毒素産生性を検討する。
- ③ ジフテリア患者における治療後の陰性確認
 - 1) ジフテリア患者の抗菌薬終了後、24 時間空けて 2 回、鼻、咽頭から、検体を採取する。
 - 2) ジフテリア毒素産生性の検討を実施しない自治体では、国立感染症研究所へ検体を冷蔵 (2~8°C) で送付する。
 - 3) 国立感染症研究所では、毒素産生性 *Corynebacterium diphtheriae* 培養検査を行う。
- ④ ジフテリア様症状は認められないが、臨床材料から分離された菌株が、*Corynebacterium diphtheriae*、*Corynebacterium ulcerans*、*Corynebacterium pseudotuberculosis* のいずれかと質量分析などで同定された場合
 - 1) 必要と判断されれば、各衛生研究所で PCR によるジフテリア毒素遺伝子検出検査を行う。
 - 2) PCR によるジフテリア毒素遺伝子検出陰性であれば、*Corynebacterium diphtheriae*、*Corynebacterium ulcerans*、*Corynebacterium pseudotuberculosis* の同定結果を再同定する意義はない。
 - 3) PCR によるジフテリア毒素遺伝子検出検査において陽性結果、あるいは、判断に迷う結果が得られた場合は、国立感染症研究所に菌株を送付し、詳細な検査を行う。

4. PCR によるジフテリア毒素遺伝子検出法

- ① 臨床菌株からの DNA 抽出
 - 1) 羊血液寒天培地など、血液培地を使用し、35-37°C、48 時間好気培養する。48 時間培養したほうが、コロニーが大きくなり扱いやすい。
 - 2) 市販の DNA 抽出キット(グラム陽性菌用プロトコール)を使用。
- ② 毒素遺伝子検出用 PCR
 - 1) 使用するプライマーセット (文献 1)

Tox 1	5'-ATCCAATTTTAGTGCGAGAACCTTCGTCA-3'
Tox 2	5'-GAAACTTTTCTTCGTACCACGGGACTAA-3'
 - 2) アニリング温度 55°C で反応
 - 3) 陽性コントロールでは、248 bp の PCR 産物が得られる
 - 4) 陽性コントロールについて

Corynebacterium diphtheriae PW8 株からの DNA 抽出物の配布*

③ DNA 抽出過程の確認

1) DNA 抽出過程の確認を行いたい場合は、*rpoB* gene 検出 PCR、あるいは、16S rRNA gene 検出 PCR を同時に行う

2) *rpoB* gene 検出用プライマー・セット (文献 2)

C2700F 5'-CGWATGAACATYGGBCAGGT-3'

C3130R 5'-TCCATYTCRCCRAARCGCTG-3'

3) 16S rRNA gene 検出プライマー・セット(例)(文献 3)

10F 5'-GTTTGATCCTGGCTCA-3'

800R 5'-TACCAGGGTATCTAATCC-3'

*ジフテリア毒素遺伝子検出用 PCR 陽性コントロール(*Corynebacterium diphtheriae* PW8 株からの DNA 抽出物)配布については、国立感染症研究所細菌第二部第三室まで
国立感染症研究所(代表) 042-561-0771, ダイレクト 042-848-7097

5. 文献

1. Nakao H, Popovic T. Development of a direct PCR assay for detection of the diphtheria toxin gene. J Clin Microbiol 1997;35(7):1651-5.
2. Khamis A, Raoult D, La Scola B. *rpoB* gene sequencing for identification of *Corynebacterium* species. J Clin Microbiol 2004;42(9):3925-31.
3. 佐々木次雄ら. 新 GMP 微生物試験法. じほう社. 2008:132.

参照ホームページ

<https://www.cdc.gov/diphtheria/index.html>

https://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/vpd/WHO_SurveillanceVaccinePreventable_04_Diphtheria_R2.pdf?ua=1

6. 問い合わせ先

〒208-0011

東京都武蔵村山市学園 4-7-1

細菌第二部第三室

電話 042-561-0771 (内線 3544, 3545)

7. 図 検査フローチャート

