

チフス菌・パラチフスA菌
検査・診断マニュアル

(2021年9月改訂)

目次

I. 概説.....	1
II. 検査（図1）	2
1. 作業上の一般的注意.....	2
2. 分離培地および増菌培地.....	2
3. 検査材料の採取および検査方法.....	3
4. 同定法	4
5. 遺伝子検査法	7
6. ファージ型別	8
III. 参考文献.....	9
IV. 執筆者一覧.....	10

I. 概説

サルモネラの一部の血清型は腸チフス・パラチフスなどの全身性感染症の原因となる。ここで述べる検査法はそれぞれ腸チフス、パラチフスの起因菌である、*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhi (チフス菌)、*S. enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi A (パラチフスA菌)に限定する。チフス菌、パラチフスA菌はヒトを固有宿主とし、原則として動物からは分離されない。これらの菌は、同定のための生化学的性状が一般のサルモネラのそれとはかなり異なるため、通常のサルモネラ検出法では見逃される恐れがある。

【法律における取扱い】

「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律」により、腸チフス、パラチフスは三類感染症に位置づけられており、患者、無症状病原体保有者、及び死亡者（死亡疑い例を含む）を診断した医師は直ちに最寄りの保健所に届け出なければならない。また同法により、チフス菌、パラチフスA菌は四種病原体等に含まれている。食品衛生法においては、チフス菌、パラチフスA菌を細菌性食中毒の病因物質として取扱うことが通達されている。したがって食中毒の発生が疑われた場合には、チフス菌、パラチフスA菌も考慮して原因菌の分離を行わなくてはならない。

【症状の経過と検査材料】（表1）

腸チフスとパラチフスの臨床症状や重症度はほとんど同じである。通常10-14日の潜伏期の後に発熱、頭痛、食欲不振、全身倦怠感などの症状を発する。定型的な経過は4病期に分けられる。第1病期では段階的に体温が上昇して39-40℃に達し、さらに典型的な症例では、三主徴である徐脈、バラ疹、脾腫が出現する。近年は、三主徴の出現頻度は低く発熱と同期に下痢を伴う症例が多い。第2病期は極期であり、40℃台の稽留熱（最高38℃以上、日内差1℃以内）、下痢または便秘を呈する。チフス性顔貌と呼ばれる無欲状顔貌が見られる。重症例では意識障害、難聴などが見られることもある。第3病期には弛張熱を呈することが多く、その後徐々に解熱する。また腸出血をきたしやすい病期であり、腸穿孔を起こすことがある。第4病期には、解熱し、回復に向かう。

腸チフス・パラチフスの細菌学的検査材料は、病期の第1病期は血液から高率に菌が検出される。第2,3病期では血液培養、便培養ともに菌の検出率はもっとも高い。第4病期では血液中に菌は証明されないが、便中には排菌がみられる。骨髄中にはほとんどの場合全経過を通して菌が証明される。また、菌は尿中にも排泄されるので大便と同様に菌の検出を行う。胆汁にもしばしば菌が

証明できるので必要に応じて検査材料とする。回復期に入っても菌はなお数週間ないし数ヶ月にわたって便・尿から排出されることもあり、時には永久保菌者となる。不顕性感染者を含めて保菌者の検査には便、尿及び胆汁等を検査材料とする。

わが国では、かつて腸チフス・パラチフスの感染源の大半は国内保菌者であったが、現在は主に輸入感染症である。海外からの不明熱発症者では血液を検査材料とすることがチフス菌・パラチフスA菌の速やかな検出につながる。

以下に述べる検査法の基本的事項は、(財)日本公衆衛生協会出版の「微生物検査必携細菌・真菌検査」に詳述されており、そちらも参照されたい。

II. 検査

1. 作業上の一般的注意

検査工程の概要を図1に示す。チフス菌、パラチフスA菌はバイオセーフティレベル (BSL) 3に属するため、それに適合した実験施設内での取り扱いが必要である。しかし、患者又は疑わしい患者由来の検査材料を検査するときには、菌種が同定されるまではBSL2 の施設を備えた細菌検査室で行うことができる。

2. 分離培地および増菌培地

① 分離培地

選択分離培地として亜硫酸ビスマス寒天培地、SS寒天培地、DHL寒天培地、酵素基質培地 (クロモアガーサルモネラ寒天培地、ESサルモネラII培地等) を、非選択分離培地として血液寒天培地を用いる。

各選択分離培地の優劣は一概にいえませんがチフス菌に対しては亜硫酸ビスマス寒天培地がもっとも高い検出率を示す。しかし、パラチフスA菌は、この培地では後述するようなサルモネラの特徴的な集落を作らないので大腸菌等として見逃される可能性が高く、SS寒天培地、DHL寒天培地または酵素基質培地を併用すべきである。酵素基質培地のサルモネラ集落は特異的な色調を呈するため、他菌種との鑑別が容易である。

② 増菌培地

セレナイトーマンニット培地、セレナイトーシスチン培地、血液培養用ブイヨンを用いる。前者二つは選択増菌培地で、他菌の混入が著しい検査材料、たとえば糞便などからの増菌の際に用いる。他のサルモネラ増菌培地よりもチフス性サルモネラをよく増殖させる。サルモネラの増菌培地の一つであるRV (Rappaport-Vassiliadis) ブイヨンは、チフス菌およびパラチフスA菌の増菌培地には適さない。これはマラカイトグリーンがこれ

らの発育を抑制させるためである。

3. 検査材料の採取および検査方法

① ヒトの検査材料の採取および検査方法

1) 血液

一般的には患者血液は10mLを正中静脈から無菌的に採取する。発病初期には、1日4回までの範囲で頻回行くと検出率が高くなる。血液からの直接分離培養は通常行わない。

採取した血液を、市販の血液培養セットに加えて37°Cで増菌培養する。市販の血液培養用ブイオンはポリアネトール硫酸ナトリウムあるいはアミロ硫酸ナトリウムが添加されている。これらの物質は抗血液凝固作用、補体不活化作用のほか、ある種の抗生物質の作用も不活化するので菌の発育を促進する。他の培地としてはチオグリコレート酸塩培地、コロンビア・ブイオンが勧められる。血液にクエン酸ナトリウムが加えられていないときは培地にあらかじめ0.1%を加えておく。菌の発育が認められない場合でも7日間培養を続け、毎日分離培地に塗抹する。自動機器を使用する場合はマニュアルに従う。分離培地は血液寒天、DHL寒天等を用いる。

2) 糞便

できるだけ新鮮なものを採取し、その場で培養に供するものが最もよいが、それができないときは、適当な容器に拇指頭大以上の大きさを採取し1-2時間以内に検査に供する。大便の輸送を要するとき、または、短時間に検査できないときは、綿棒で採取してCary-Blair培地で保存する。

培養は直接分離培養と増菌培養を行う。

【直接分離培養】 白金耳で直接又は約1g (1mL) を滅菌生食あるいはブイオン約10 mL に均等に浮遊させる。Cary-Blair培地で保存された綿材料は生理食塩水またはブイオン1 mL 中でよくしぼりだして浮遊させる。上記浮遊液の1～数白金耳を分離培地に塗抹する。採便管にスティックが付属している場合には、これを用いて塗抹する。

【増菌培養】 約1g (1 mL) の便をセレナイト培地12～15mLに接種し、37°Cで12～18時間培養する。セレナイト培地は溶存酸素が選択性を弱めることから、培地液高が6cm以上必要である。また、添加する亜セレン酸ナトリウムは毒性が強いため取り扱いに注意しなければならない。

分離培地は直接分離培養、増菌培養後ともに選択性の強い培地(SS寒天培地または亜硫酸ビスマス寒天培地)と、選択性の弱い培地(DHL寒天培地、XLD寒天培地等)を用いる。

3) 尿

新鮮な中間尿、またはカテーテルで採取した尿の40～50mLを3,000rpm、30分遠心した沈渣から1～数白金耳を塗抹して直接分離培養するほか、セレナイト培地で増菌培養する。採取後直ちに検査できないときは氷冷する。

4) 胆汁

早朝空腹時にゾンデで採取し、培養まで37℃で保温しておき、直接分離培養と増菌培養を糞便の方法に準じて行う。

5) その他のヒト由来の材料

患者もしくは保菌者の胆石、膿汁、内臓の膿瘍、死亡した患者からの臓器や腸内容物などが検査材料となることがある。固形物(臓器など)は無菌的に一片を採取、磨砕する。これらも糞便の方法に準じて培養する。

② 食品の検査方法

食中毒の原因と推定された食品からチフス菌、パラチフスA菌が分離された事例はなく、食品からの検査法は確立されていない。一般のサルモネラ検査法と同様に前培養を緩衝ペプトン水で行い、選択増菌培養にセレナイト培地を使用する方法が提案されている。ふき取り検体等の環境材料を対象とする場合も同様である。

③ 水系材料の検査方法

飲料水は1～10Lを0.45μmのメンブレンフィルターで濾過し、フィルターを増菌培地に入れて培養する。排水など夾雑物が多い検体は、あらかじめ滅菌ガーゼまたは0.6μmのメンブレンフィルターで濾過後、0.45μmのメンブレンフィルターで濾過する。いずれも前培養方法は通常のサルモネラ分離法に準じ、選択増菌培養はセレナイト培地で行う。

4. 同定法

分離培地上にチフス菌、パラチフスA菌を疑わせる集落が生じたら、できるだけ多く(5個以上)の集落を釣菌して確認培地(TSI寒天培地及びLIM培地)に植える。被検菌がチフス菌・パラチフスA菌であることの決定は生化学的性状試験と血清型別試験により行う。必要に応じて遺伝子検査を行う。

① 分離培地上の集落の特徴(図2)

- 1) 亜硫酸ビスマス寒天培地：チフス菌は黒色集落を作るが大腸菌および *Proteus* は無色ないし中心部暗色、緑色又は褐色の集落を作る。チフス菌の黒色集落は24時間後ますます黒色度を増し時には周辺集落の培地まで黒色化し金属光沢のある輪で囲まれる。ただし、多くのパラチフスA菌、*S. Sendai* のような硫化水素非産生性のサルモネラ集落は大腸菌のそれと鑑別しにくい。本培地の培養時間は48時間である。
- 2) SS寒天培地：大腸菌(乳糖分解菌)はレンガ色の混濁集落を、チフス菌、

パラチフスA菌は無色透明の集落を作る。一般のサルモネラ集落は中心部暗色で（硫化水素産生による）、時間の経過とともに黒色となる。

Citrobacter freundii や *Proteus* も類似した黒色集落を作る。

- 3) DHL寒天培地：乳糖および白糖分解菌はレンガ色の混濁集落を作りかつ *C. freundii* では集落が強く黒色となる。これらに対し、チフス菌の集落はやや小さく無色または中心部のみが黒色で半透明である。パラチフスA菌は硫化水素非産生のため無色の集落を作る。
- 4) XLD寒天培地：乳糖、白糖の他にキシロースとL-リジンが含まれている。チフス菌は赤色で中心部が黒色集落を、パラチフスA菌は赤色集落を形成する。*C. freundii*、*Proteus*は不透明な黄色集落をつくる。
- 5) クロモアガーサルモネラ寒天培地：チフス菌、パラチフスA菌を含めサルモネラは均質で明るい紫（いわゆる藤色）の集落を作る。中心部のみが暗紫色の集落はサルモネラではない。大腸菌および *C. freundii* は青い集落、*Proteus* は白い集落を作る。
- 6) ESサルモネラⅡ培地：チフス菌およびパラチフスA菌は、他のサルモネラ属菌と同様に不透明なピンク色集落を形成する。
- 7) その他の酵素基質培地：各製造元の説明書を参照。

② 確認培地における性状(表2、図3)

【チフス菌】

TSI寒天培地：斜面がアルカリ性の赤色、高層部が酸性の黄色を示し、ガス産生はみられない。通常硫化水素産生による黒色が穿刺部分にわずかに認められる。硫化水素の産生を認めるまでに2日以上かかる場合もある。

LIM培地：リジン脱炭酸反応陽性の紫色を示し、インドール陰性で、運動性がみられる。運動性が弱い場合や、認められない場合もある。

【パラチフスA菌】

TSI寒天培地：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。硫化水素産生は通常は陰性である。

LIM培地：リジン脱炭酸反応陰性の黄色を示し、インドール陰性で、運動性がみられる。

③ 血清型別試験

チフス菌、パラチフスA菌の同定のためにVi血清、O9群血清およびH-d血清、ならびにO2群血清およびH-a血清を、それぞれ準備する。これらの診断用血清は市販のものを利用する。（なお、チフス菌、パラチフスA菌とも通常

H抗原のII相は有していない。)

【チフス菌】

O抗原、Vi抗原:TSI寒天培地の斜面部または普通寒天培地等の非選択培地上の菌を用いてスライド凝集試験を行う。まず、培地上の新鮮な生菌を釣菌しスライドガラス上で血清と混合させ、Vi血清とO9群血清の凝集をみる。通常患者からの新鮮分離株ではVi血清に凝集し、O9群血清は弱く凝集するか凝集しない(V型菌)。ときにはVi血清に凝集せず、O9群血清にのみ凝集する場合もある(W型菌)。V型菌のときには加熱死菌での凝集をみる。生理食塩水約1mLに菌を濃厚に浮遊させ、オートクレーブで121℃、15分、または100℃で30分間加熱した後、遠心する(3,000 rpm、約2000 g、15-30分間)。得られる沈渣を生理食塩水に再浮遊させ、これを抗原液としてスライド凝集試験に使用する。菌体表面のVi抗原は加熱によって菌体から遊離するため、加熱死菌はVi血清に凝集せず、O9群血清に強く凝集する。

H抗原:試験管内凝集試験で行う。

1) 抗原液はトリプトソイブイオンまたはHIブロスに接種し静置培養したものに、1%ホルマリン加生理食塩水を等量加えて調製する。チフス菌は他のサルモネラに比べて運動性が弱い場合が多く、クレイギー管を通過させて運動性を強化すると良い抗原液が得られる。

2) 試験は規定量のH-d血清(通常2-3滴)を小試験管にとり、上記抗原液を0.5mL加えてよく混和した後、50℃の温浴槽中に1時間、または37℃で2時間静置して綿状の凝集塊の有無を肉眼で判定する。凝集塊は試験管を振るとこわれるので、振らずに判定する。

《注》チフス菌は通常H-d血清に凝集するが、H抗原がjである場合があり、その場合はH-d血清に凝集しない。また通常はII相を持たないが、z₆₆抗原を有す場合もある。

【パラチフスA菌】

O抗原:TSI寒天培地の斜面部または普通寒天培地等の非選択培地上の菌を用いてスライド凝集試験でO2群血清への凝集をみる。

H抗原:試験管内凝集試験でH-a血清への凝集をみる。通常はII相を持たないが、1,5抗原を有す場合もある。

④ その他の性状試験

TSI、LIM培地以外に同定上確認すべき生化学的性状およびその試験に必要な培地または試薬は次の通りである。

- 1) クエン酸利用性* : Simmons クエン酸寒天培地
- 2) ズルシット発酵性 : 糖分解用基礎培地+1%ズルシット
- 3) アラビノース発酵性 : 糖分解用基礎培地+1%アラビノース
- 4) キシロース発酵性 : 糖分解用基礎培地+1%キシロース

- 5) マロン酸利用性：マロン酸塩培地
- 6) オルニチンデカルボキシラーゼ：オルニチン脱炭酸テスト用培地
- 7) d-酒石酸発酵性：変法K-P培地**
- 8) ONPG：ONPGディスク

《注*》実際には、Simmonsクエン酸培地にて、チフス菌が陰性を示すのは、チフス菌が当該培地中のアンモニウム塩からトリプトファンを合成できないためであり、クエン酸利用能がないためではない

《注**》ペプトン10 g/L, ブロモチモールブルー 0.024 g/L, d-酒石酸10 g/L, pH7.4。培地の黄変、または50%酢酸鉛を添加し、その沈殿量から陽性を判定する。

表3を参考に鑑別する。このほか、VP反応試験、並びに、普通寒天培地上の菌を用いたオキシダーゼ試験を行い、それぞれ陰性を確認する。これらの培地の代わりに市販の同定キットを使用してもよい。判定の結果、同定確率の低いものは追加試験を行わなければならない。自動同定機を使用した場合も同様である。

5. 遺伝子検査法

PCR法によりチフス菌、パラチフスA菌に特徴的な遺伝子の検出を行う。

① テンプレートDNAの調製

普通寒天培地等の非選択培地上の純培養菌を200 μ Lの滅菌蒸留水に懸濁し、95°C10分間加熱後、15,000rpmで5分間遠心し、その上清をテンプレートDNAとして使用する。（市販キットなど他の方法で精製したDNAを使用してもよい）

② PCR反応液の調製

1) *tyv*, *fliC-d*, *fliC-a*

滅菌精製水	15.175 μ L
10x反応バッファー	2.5 μ L
dNTP Mixture (各2.5mM)	2 μ L
Taq DNAポリメラーゼ (5U/ μ L)	0.125 μ L
Forward primer (25 μ M)	0.1 μ L
Reverse primer (25 μ M)	0.1 μ L
テンプレートDNA	5 μ L
総容量	25 μ L

2) *viaB*, *pri*

滅菌精製水	14.975 μ L
10x反応バッファー	2.5 μ L
dNTP Mixture (各2.5mM)	2 μ L
Taq DNAポリメラーゼ (5U/ μ L)	0.125 μ L
Forward primer (25 μ M)	0.2 μ L
Reverse primer (25 μ M)	0.2 μ L
テンプレートDNA	5 μ L
総容量	25 μ L

③ PCR反応条件

初期熱変性 (95°C2分など) 後

95°C30秒、55°C60秒、72°C90秒を25サイクル。

但し、*tyv*については非特異産物が増幅されるため、アニーリング温度を64°Cに設定する。

④ 電気泳動

アガロースゲル (2% 1xTAEバッファーなど) を用いた電気泳動により増幅産物を確認する。

《注》上記はシングルPCRの条件で、結果の一例を図4に示す。マルチプレックスPCRを行う場合は、*tyv+pri*、*fliC-d+fliC-a*の組み合わせ、アニーリング温度55°Cで実施可能である。但し、前者においてパラチフスA菌では約1.2kbに非特異のバンドが出ることがある。*viaB*はシングルPCRが望ましい。その他参考となるPCR法について表4に記載した。

6. ファージ型別

わが国では「腸チフス防疫対策実施要綱」(昭和41年11月、衛発788号、「腸チフス対策の推進について」)に基づいて感染経路等の疫学解析と患者の把握のために、日本国内で分離されたチフス菌、パラチフスA菌は国立感染症研究所細菌第一部に送付することとされている。国立感染症研究所細菌第一部では、送付された菌のファージ型別を行い、疫学情報としてファージ型別の結果を整理し各地方衛生研究所、保健所に情報を提供している。

III. 参考文献

1. 坂崎利一、田村和満：チフス性疾患—チフス・パラチフス菌、微生物検査必携細菌真菌検査 第2版、日本公衆衛生協会、120-139、1978.
2. 中村明子：チフス菌、パラチフス菌 微生物検査必携 細菌真菌検査 第3版、日本公衆衛生協会、E2-E19、1987.
3. 坂崎利一、吉崎悦郎、三木寛司：新培地学講座 第2版、近代出版、1988.
4. 依田清江, 内村眞佐子：食品中の微生物検査法と食中毒発生時の疫学調査法 16 チフス菌・パラチフス A 菌、防菌防黴誌、35: 609-619, 2007.
5. 依田清江：便からのチフス菌およびパラチフス A 菌の検出法、検査と技術、37:253-258, 2009.
6. 田口真澄、泉谷秀昌：食品由来感染症と食品微生物、中央法規出版、154-191, 2009.
7. Hirose K, Itoh K, Nakajima H, Kurazono T, Yamaguchi M, Moriya K, Ezaki T, Kawamura Y, Tamura K, Watanabe H. Selective amplification of *tyv* (*rfbE*), *prt* (*rfbS*), *viaB*, and *fliC* genes by multiplex PCR for identification of *Salmonella enterica* serovars Typhi and Paratyphi A. J Clin Microbiol. 2002 Feb;40(2):633-6.
8. Levy H, Diallo S, Tennant SM, Livio S, Sow SO, Tapia M, Fields PI, Mikoleit M, Tamboura B, Kotloff KL, Lagos R, Nataro JP, Galen JE, Levine MM. PCR method to identify *Salmonella enterica* serovars Typhi, Paratyphi A, and Paratyphi B among *Salmonella* Isolates from the blood of patients with clinical enteric fever. J Clin Microbiol. 2008 May;46(5):1861-6.
9. Fabre L, Le Hello S, Roux C, Issenhuth-Jeanjean S, Weill FX. CRISPR is an optimal target for the design of specific PCR assays for *Salmonella enterica* serotypes Typhi and Paratyphi A. PLoS Negl Trop Dis. 2014 Jan 30;8(1):e2671.
10. Rahn K, de Grandis SA, Clarke RC, McEwen SA, Galán JE, Ginocchio C, Curtiss R 3rd, Gyles CL. Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. Mol Cell

Probes. 1992 Aug;6(4):271-9.

IV. 執筆者一覧

三重県保健環境研究所 岩出義人

東京都健康安全研究センター 小西典子

東京都健康安全研究センター 河村真保

大阪健康安全基盤研究所 原田哲也

愛知県衛生研究所 山田和弘

国立感染症研究所感染症危機管理研究センター 村上光一

国立感染症研究所細菌第一部 森田昌知

国立感染症研究所細菌第一部 泉谷秀昌

表 1. 臨床経過と検体

経過	主な症状	検査材料	
		血液・骨髓液	便・尿・胆汁
潜伏期 (10-14 日)			
病期 1	段階的体温上昇 39-40°C、バラ疹、比較的徐脈、肝脾腫、便秘ときには下痢	↓	
病期 2	稽留熱 40°C、無欲状顔貌、意識障害、気管支炎、難聴、心不全		
病期 3	徐々に解熱、腸出血、腸穿孔		↓
病期 4	解熱、回復		

表 2. サルモネラと類似菌の鑑別性状

	TSI 寒天培地			
	斜面	高層	ガス	硫化水素
チフス菌	—	A	—	+w or —
パラチフス A 菌	—	A	+	— or (+w)
その他のサルモネラ	—	A	+	+
<i>Citrobacter freundii</i>	A or —	A	+	+
<i>Edwardsiella tarda</i>	—	A	+	+
<i>Proteus mirabilis</i>	—	A	+	+

	LIM 培地		
	リジン	インドール	運動性
チフス菌	+	—	+
パラチフス A 菌	—	—	+
その他のサルモネラ	+	—	+
<i>Citrobacter freundii</i>	—	—	+
<i>Edwardsiella tarda</i>	+	+	+
<i>Proteus mirabilis</i>	—	—	+

A 酸産生； — 90%以上陰性； + 90%以上陽性

+w 弱い反応； () まれな反応

表 3. チフス菌、パラチフス A 菌およびその他のサルモネラの性状

性状		チフス菌	パラチフス A 菌	S. Sendai	その他の サルモネラ
TSI LIM	硫化水素産生	+w or -	- or (+w)	-	+
	ブドウ糖からの ガス産生	-	+ or (-)	+	+
	リジンデカルボ キシラーゼ	+	- (+)	d	+
	運動性	+	+	+	+
	インドール	-	-	-	-
	クエン酸塩 (Simmons)	-	-	-	+
その他の 性状	ズルシット	d	+	+	d
	アラビノース	-	+	+	+
	キシロース	d	-	[+]	+
	マロン酸塩	-	-	-	d
	オルニチンデカ ルボキシラーゼ	-	+	+	+
	d-酒石酸塩	+	-	-	+
	ONPG	-	-	-	d
血清型別	0 群別				
		02	-	+	-
		09	- or +	-	+
		Vi	+ or -	-	-
	H 型別	H-a	-	+	+
	H-d	+	-	-	
抗原構造		9, 12, [Vi]:d:- 1, 2, 12:a:- 1, 9, 12:a:1, 5			

+w 弱い反応 ; () まれな反応 ; d 菌株により異なる

[+] 遅れて陽性

表 4. PCR 用プライマー

プライマー	標的遺伝子	配列 (5' -3')	増幅産物の サイズ/bp	参考文献
tyv-s	<i>tyv/rfbE</i>	GAGGAAGGGAAATGAAGCTTTT	615	7, 8
tyv-as	(O 抗原)	TAGCAAAGTGTCTCCCACCATAC		
vi-s	<i>viaB</i>	GTTATTTTCAGCATAAGGAG	439	
vi-as	(Vi 抗原)	CTTCATACCACTTTCCG		
pvt-s	<i>pvt/rfbS</i>	CTTGCTATGGAAGACATAACGAACC	258	
pvt-as	(O 抗原)	CGTCTCCATCAAAAGCTCCATAGA		
fliCcom-s	<i>fliC</i> (H 抗原)	AATCAACAACAACCTGCAGCG	329	7
fliCa-as	(H-a)	TAGTGCTTAATGTAGCCGAAGG		
fliCd-as	(H-d/j)	GCATAGCCACCATCAATAACC		
H-for	<i>fliC</i> (H 抗原)	ACTCAGGCTTCCCCTAACGC	423	8
Ha-rev	(H-a)	GAGGCCAGCACCATCAAGTGC		
Hd-rev	(H-d/j)	GGCTAGTATTGTCCTTATCGG		
TY-F	CRISPR2	ACGTAGACTCATCCTCGACC	245	9
TY-R		GCGTGTAGCAGTATTCACCA		
PA-F	CRISPR1	ACGGGTTGCTGTAATGATGC	410	
PA-R		GCATCATCGCGCATAGTGTC		
invA-139	<i>invA</i>	GTGAAATTATCGCCACGTTCCGGCAA	284	10
invA-141		TCATCGCACCGTCAAAGGAACC		

図1. チフス菌・パラチフスA菌分離・同定の手順

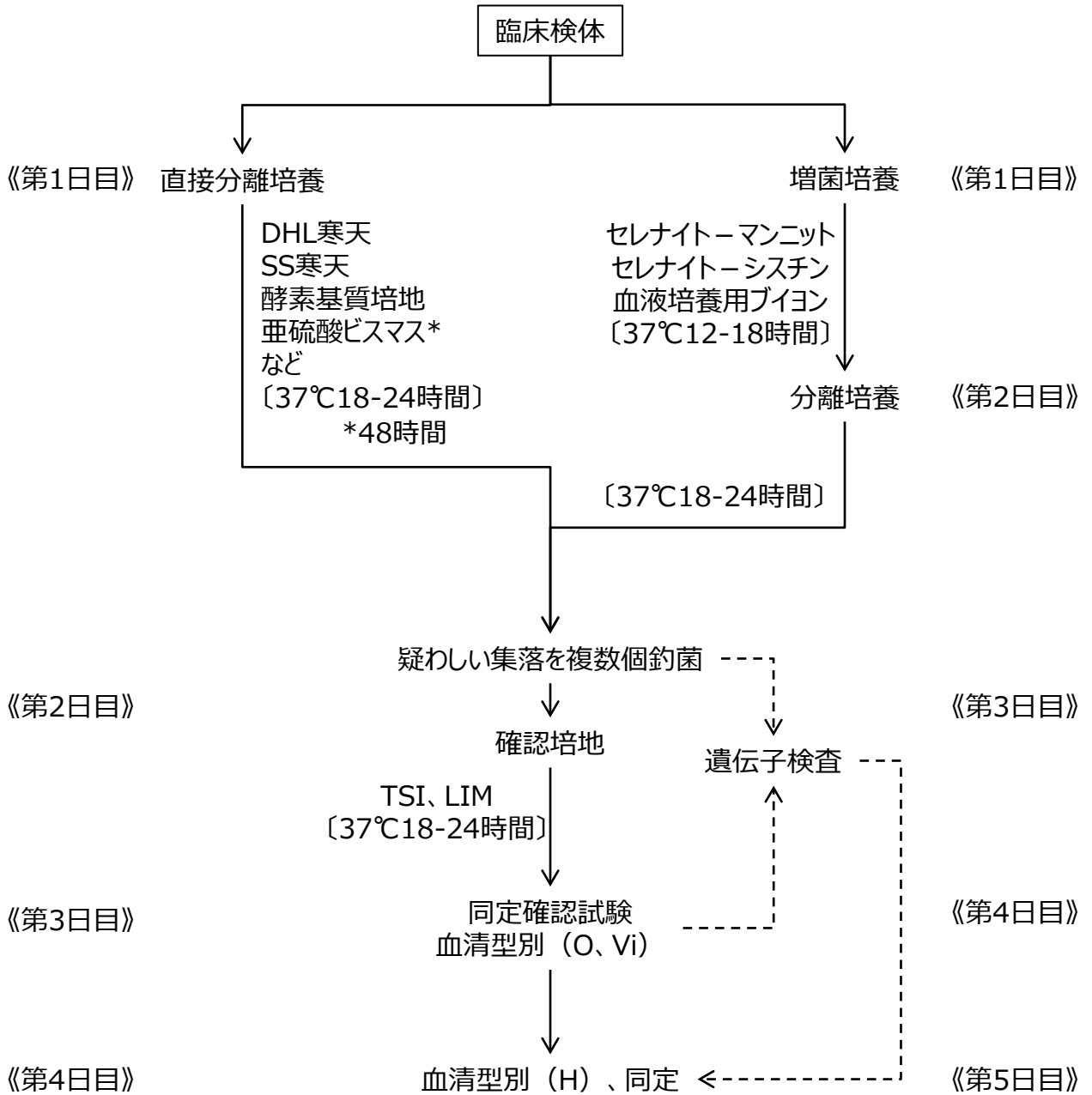


図2. 分離培地上の集落

SS寒天

S. Typhi

S. Paratyphi A



DHL寒天

S. Typhi

S. Paratyphi A

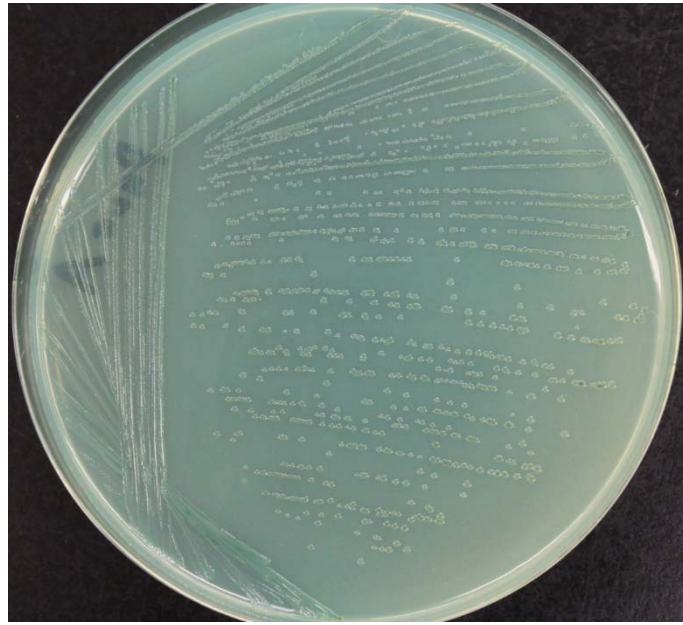


図2. 分離培地上の集落 (続き)

亜硫酸ビスマス寒天

S. Typhi

S. Paratyphi A



XLD寒天

S. Typhi

S. Paratyphi A

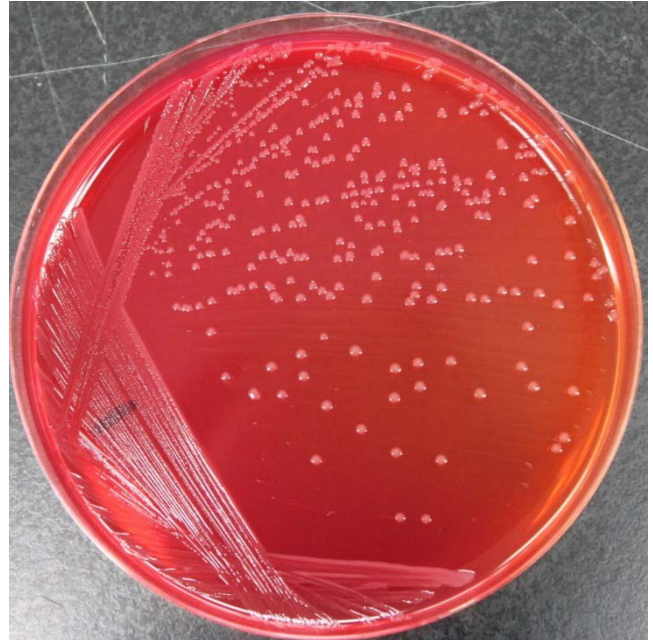
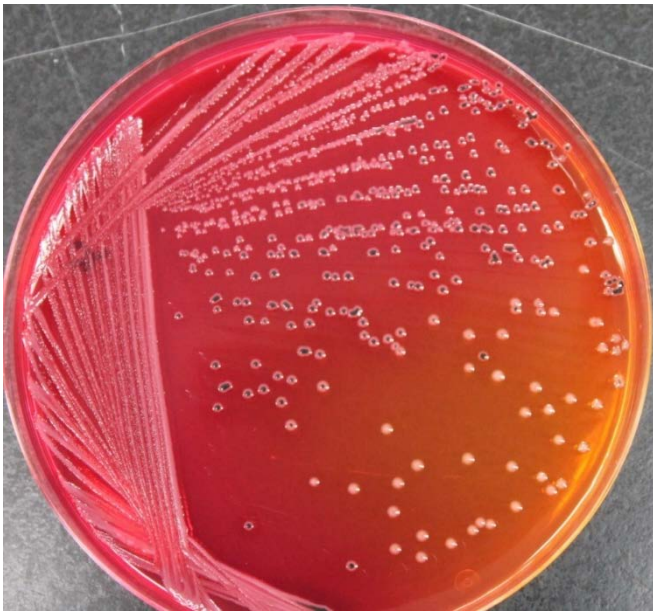
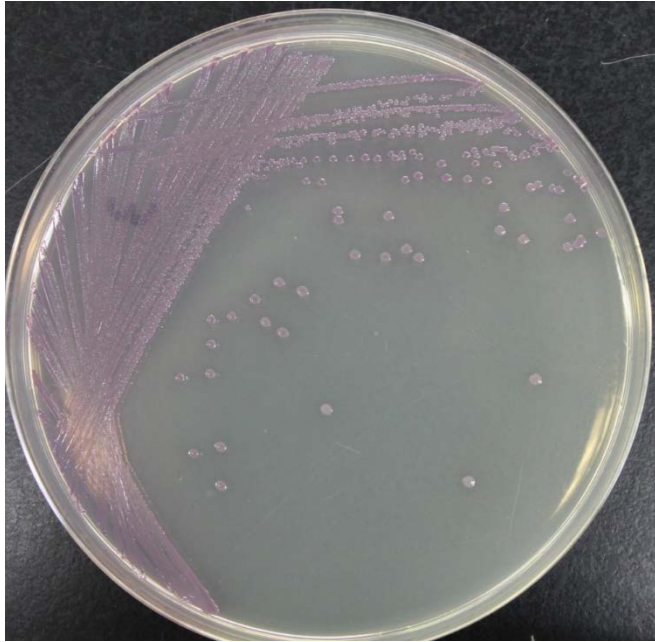


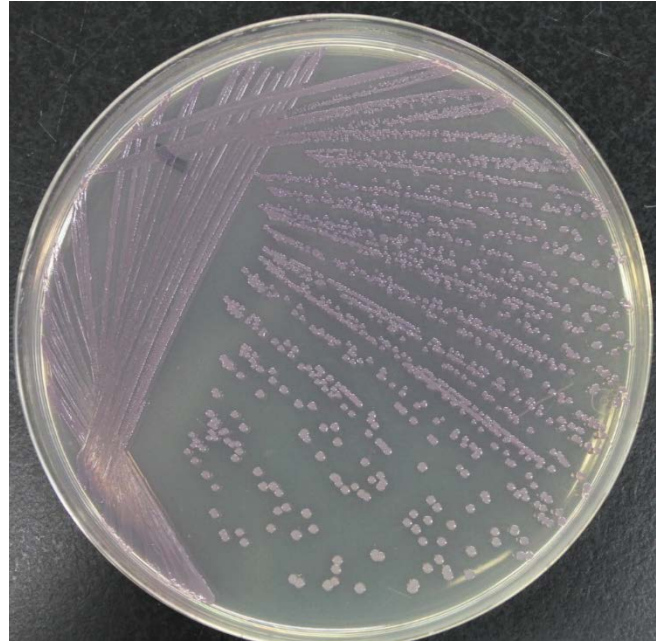
図2. 分離培地上の集落（続き）

クロモアガーサルモネラ

S. Typhi



S. Paratyphi A



ES サルモネラⅡ寒天

S. Typhi

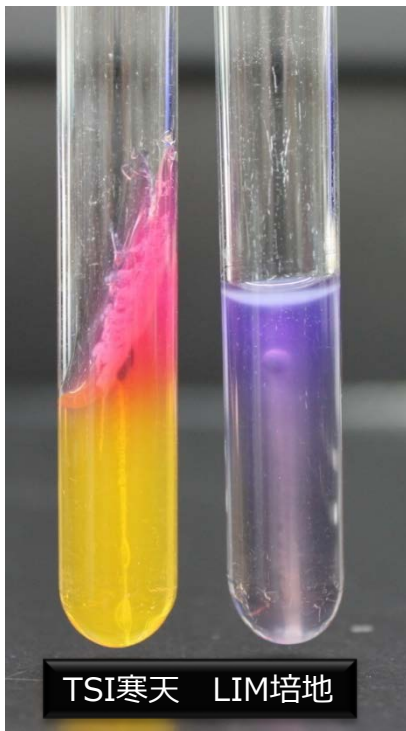


S. Paratyphi A

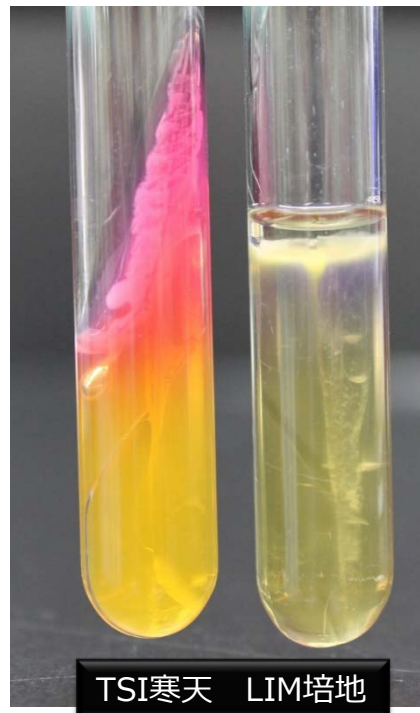


図3. 確認培地の所見

S. Typhi

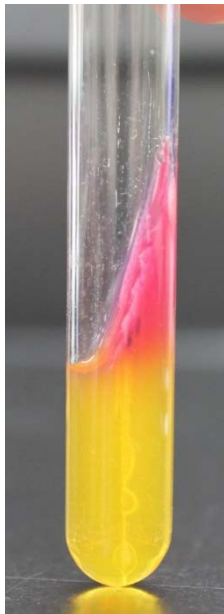


S. Paratyphi A



TSI寒天での硫化水素産生性 (S. Typhi)

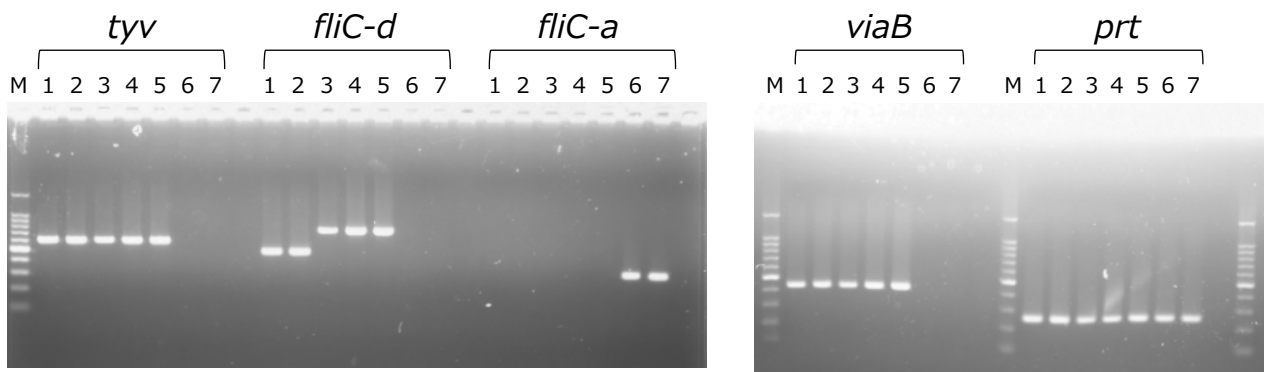
① 穿刺した部分のみに
認められる場合



② 斜面と高層部の境界部に
認められる場合



図4. PCR法実施例



Lane M; 100 bp ladder (TaKaRa)

Lane No.	血清型	血清型別結果			特異的遺伝子検出結果				
		O抗原	H抗原 I相	H抗原 II相	<i>tyv</i> (615)*	<i>fliC-d</i> (750) (j; 489)	<i>fliC-a</i> (329)	<i>viaB</i> (439)	<i>prt</i> (258)
1	Typhi	O9,Vi	j	Z ₆₆	+	+ (489)	-	+	+
2	Typhi	O9,Vi	ND		+	+ (489)	-	+	+
3	Typhi	O9,Vi	d	-	+	+ (750)	-	+	+
4	Typhi	O9	d	-	+	+ (750)	-	+	+
5	Typhi	O9,Vi	d	-	+	+ (750)	-	+	+
6	Paratyphi A	O2	a	-	-	-	+	-	+
7	Paratyphi A	O2	a	-	-	-	+	-	+

*カッコ内の数値は増幅産物のサイズ (bp)