

授与機関名 順天堂大学

学位記番号 甲第 1898 号

Detection of *Arcobacter* species from human stool, by culture and real time PCR

(培養とリアルタイム PCR を用いたヒトの便からのアルコバクタの検出)

山内 悠子 (やまうち ゆうこ)

博士 (医学)

論文内容の要旨

近年、遺伝子解析技術が進歩し、16S rRNA の塩基配列解析によってアルコバクターによる菌血症と診断された症例が相次いで報告され、アルコバクターがヒトに病原性をもつ細菌として認識されつつある。アルコバクターはカンピロバクター科に属する細菌で、アルコバクター属には現在、27 以上の菌種が含まれる。その中で *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus*, *Arcobacter skirrowii* の 3 種はヒトに病原性をもつ。アルコバクターのコロニーやグラム染色所見、生化学的性状はカンピロバクターと類似しており鑑別困難だが、至適発育温度がカンピロバクターよりも低い点 (カンピロバクターは 30-42 °C、アルコバクターは 15-30 °C) と、発育環境 (酸素濃度) がカンピロバクターよりも幅広い点 (カンピロバクターは微好気 (酸素濃度 3-15 %) のみ、アルコバクターは好気 (酸素濃度 20 %) でも微好気でも発育する) が異なる。アルコバクターは水、肉、魚介類、野菜などに混入し、ヒトに腸炎や菌血症を起こす。アルコバクターによる腸炎は自然軽快することが多いが、中には投薬や入院が必要になる症例がある。これまでに 2 例のアウトブレイクと 1 例の垂直感染を疑う症例が報告されている。

アルコバクターが分離培養されてから 40 年以上もたつにも関わらず、アルコバクターを適切に分離培養同定する標準的な方法は確立してなく、アルコバクターがヒトに及ぼす影響がよくわかっていない。本研究では、ハイデルベルグ大学病院細菌検査室に提出された下痢患者の便 1650 件を用いて、従来行われている便培養でアルコバクターを分離培養できるかどうかを検討した。また属特異的なプライマーを作成し、下痢患者の便においてアルコバクターを検出できるかどうかを検討した。便培養は新鮮検体を用いて行い、選択培地の上に得られたコロニーを MALDI-TOF で同定した。便培養でアルコバクターが分離培養同定できた検体は 4 件であった (0.24 %)。リアルタイム PCR (RT-PCR) は凍結検体を用いて行った。PCR が陽性になった場合は、PCR 産物の塩基配列を解析し、菌名を同定した。RT-PCR と塩基配列解析でアルコバクターが同定できた検体は 12 件で (0.73 %)、そのうち 11 件は *A. butzleri* で、1 件は *A. skirrowii* であった。RT-PCR が陽性になった検体については凍結検体を用いて再度、便培養を試みたが分離培養同定されることはなかった。

これらの結果よりカンピロバクター選択培地はアルコバクターの分離培養に有用であり、カンピロバクターあるいはアルコバクターによる腸炎を疑った場合は便をカンピロバクター選択培地に接種し、37 °C (40°Cではなく)、微好気条件で培養するのが良いことがわかった。また本研究を含む先行研究で、下痢症の患者におけるアルコバクターの検出頻度は、培養法では 0.4 %から 1.5 %、PCR では 0.4 %から 57.0 %と報告されている。この差は培養法に用いる培地や培養温度、PCR の感度、地域差によるものと考えた。

アジアにおいては、アルコバクター腸炎の有病率はシンガポールやタイ (小児のみ) で評価されている。日本においては、畜産分野からの報告 3 つとヒトのアルコバクター菌血症の症例報告が 1 つあるのみで、アルコバクター腸炎の有病率は評価されていない。今後、本邦における疫学調査が必要と考える。