

岡田 侑也 論文内容の要旨

主 論 文

Molecular epidemiology of *Clostridioides difficile* and risk factors for the detection of toxin gene-positive strains

(*Clostridioides difficile* の分子疫学的解析並びに toxin 遺伝子陽性群でのリスク因子の解析)

岡田 侑也、賀来 敬仁、小佐井 康介、宇野 直輝、
森永 芳智、長谷川 寛雄、柳原 克紀

(Journal of Infection and Chemotherapy : In press)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員：柳原 克紀教授)

【緒 言】

Clostridioides difficile (*C. difficile*) はグラム陽性の嫌気性菌で抗菌薬関連下痢症／腸炎の主要な原因菌である。*C. difficile* 感染症 (CDI) の発症には、toxin A、toxin B の 2 つの毒素が重要であるが、わが国で検出される *C. difficile* における毒素保有状況は不明である。また、近年 binary toxin (CDT) という毒素を産生する株の出現が海外で問題となっているが、我が国における現状は明らかになっていない。そこで、長崎大学病院で分離された *C. difficile* の toxin 遺伝子、CDT 遺伝子の解析と分子疫学的解析を行った。また、toxin 遺伝子保有株の有無による患者背景の比較を行った。

【対象と方法】

対象:2012年1月から2014年12月までに長崎大学病院検査部で便検体より分離された *C. difficile* 保存菌株のうち、培養で発育が認められた 213 株。

方法: 遺伝子解析では *tcdA* (toxin A 遺伝子)、*tcdB* (toxin B 遺伝子)、*cdtA/cdtB* (CDT 遺伝子) を multiplex PCR を用いて解析を行った。また、toxin 遺伝子保有株については、PCR のプロダクトをシーケンサーで測定し、データベース (webribo: <https://webribo.ages.at/>) を用いて PCR リボタイピングを解析した。また、Toxin 遺伝子陽性株が検出される患者の特徴を検討するために、診療録をもとに患者背景の調査を行った。

【結 果】

① Toxin 遺伝子ならびに CDT 遺伝子保有状況の解析

Toxin 遺伝子の解析では、toxin A、toxin B、CDT 遺伝子陽性株はそれぞれ 134 株 (62.9%)、135 株 (63.4%)、6 株 (2.8%) であった。

② Toxin 遺伝子陽性株における PCR リボタイプの解析

PCR リボタイプによる遺伝子型解析では、リボタイプ 047 (14.1%) と最も多く、次いで 014/0 (11.1%)、002/0 (8.1%) など合計 48 種類のリボタイプが検出された。また、CDT 遺伝子陽性株 6 株の PCR リボタイプは 016 が 2 株、131 が 3 株、413 が 1 株であった。

③ Toxin 遺伝子陽性株と陰性株での患者背景の比較

Toxin 遺伝子陽性株が検出された群と陰性株が検出された群で患者背景を比較したところ、平均年齢 (54.2 vs 42.4 ; $p=0.0034$)、15 歳未満の割合 (17.0% vs 33.3% ; $p=0.0072$)、65 歳以上の割合 (48.9% vs 32.0% ; $p=0.0159$) で有意な差を認めた。また、アルブミン値 (3.1 vs 3.3 ; $p=0.0017$) とマクロライド系抗菌薬の投与歴 (5.2% vs 0.0% ; $p=0.0107$) でも両群に有意な差が認められた。

④ CDT 遺伝子陽性の *C. difficile* が検出された患者の特徴

CDT 遺伝子陽性株が検出された 6 症例の患者背景を調べたところ、症状としては下痢を 6 例 (100.0%)、腹痛を 2 例 (33.3%)、38.5°C 以上の発熱を 3 例 (50.0%) で認めた。検査所見では、白血球数増加を 1 例のみでみとめた ($29.7 \times 10^3 / \mu\text{l}$)。また、CRP 値上昇を 5 例で上昇が認められた (1.66–11.72 mg/dl)。*C. difficile* および toxin の抗原検査は 4 例で実施され、そのうち 3 例 (75.0%) で陽性であった。抗原検査法で陽性であった症例については、CDI の治療 (バンコマイシンもしくはメトロニダゾール) が行われていた。巨大結腸症を呈するような重症例は認められなかった。

【考 察】

本研究での toxin 遺伝子保有率は 63.4% であり、これまでの日本の報告の 73% と比較して低かった。その理由として、本研究で便検体から検出された全ての *C. difficile* を対象としているため、CDI を発症していない保菌のみの菌株が含まれていることが考えられた。CDT 遺伝子保有率は以前の報告と違いはなかった。リボタイプの解析では、国内のアウトブレイクで検出されることの多い 018 ではなく 047 が最も多かった。これに関しては、アウトブレイクが起こっていない状況で検討を行ったことが影響していると考えられた。