



Bilophila wadsworthiaに関する臨床細菌学的研究
1) 嫌気性無芽胞グラム陰性桿菌であるBilophila wadsworthiaの同定法 2) Bilophila wadsworthiaの17抗菌薬に対する感受性と β -ラクタマーゼ活性

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2008-02-22 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 澤村, 治樹 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/15019

氏名 (本籍) 澤村 治 樹 (岐阜県)
 学位の種類 博士 (医学)
 学位授与番号 乙第 1253 号
 学位授与日付 平成 12 年 9 月 13 日
 学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当
 学位論文題目 *Bilophila wadsworthia*に関する臨床細菌学的研究
 1) 嫌気性無芽胞グラム陰性桿菌である*Bilophila wadsworthia*の同定法
 2) *Bilophila wadsworthia*の17抗菌薬に対する感受性と β -ラクタマーゼ活性
 審査委員 (主査) 教授 渡邊 邦 友
 (副査) 教授 江崎 孝 行 教授 清島 満

論 文 内 容 の 要 旨

嫌気性グラム陰性桿菌*Bilophila wadsworthia*は、1989年にBaronらにより記載された菌種である。本菌は壊疽性、および穿孔性虫垂炎の炎症組織内から、嫌気性菌の中では、*Bacteroides* spp.について2番目に高頻度に、しかも*Escherichia coli*などの腸内細菌の通性菌とともに分離されることが知られている。また、菌血症を始め、各種感染症からも分離される。本菌は遅発育菌であり、5日以上長時間の培養を行うことが必要で、嫌気性培養を行っていた施設でも、長く見逃され続けていた。申請者は、1994年、ダグラス窩膿瘍から*Bacteroides Bile Esculin*培地を用いて、本菌を日本で初めて分離し、*B. wadsworthia*感染症の本邦第一例として報告した。その後臨床材料と糞便から本菌の分離を継続して試み、得られた菌株を用い、本菌の簡易同定法ならびに本菌の抗菌薬耐性について研究、そして耐性機構についても研究を行った。

対象と方法

使用菌株：臨床材料および糞便から、BBE寒天培地を用いて分離した32株を対象とした。*B. wadsworthia* WAL7959と*Desulfomonas pigra* DSM749を参考菌株として用いた。

細菌学的検査法：BBE寒天培地、バクテロイデス寒天培地、変法FM寒天培地での発育の有無、カタラーゼ試験、20%胆汁に対する感受性、H₂S産生性、ウレアーゼ産生性、アピザイムによる各種酵素活性の検出などを行った。感受性試験：29株を対象として、カルバペネム、ペニシリン、セフェム、メトロニダゾール、クリンダマイシン、新キノロンなど17種類の抗菌薬に対する感受性を寒天平板希釈法（日本化学療法学会標準法）にて検討した。発育の終末点の決定が困難であったため、Triphenyltetrazolium chloride (TTC) の還元による呈色反応を利用する判定方法も採用した。

酵素学的検討：臨床材料由来の1株*B. wadsworthia* GAI-94193を用いて、ブルセラHK液体培地で増菌し、菌体を収集した後、超音波処理による菌体破砕法と超遠心分離法により粗酵素液を調整し、*E. coli*を検定菌とするバイオアッセイ法により、 β -ラクタム薬（アンピシリン、ピペラシリン、セファロリジン、セフォペラゾン、セフトゾキシム、セフォキシチン）の不活化能を検討した。

結果と考察

BBE寒天培地で7日間嫌気培養して分離された32株は、いずれも参考菌株の*B. wadsworthia* WAL7959と性状が完全に一致した。*D. pigra*とは、BBE寒天培地とバクテロイデス寒天培地上での所見、カタラーゼおよび酸性フォスファターゼ活性の相違で鑑別可能であった。

また、*B. wadsworthia*は、カルバペネム、クリンダマイシン、新世代ニューキノロン、メトロニダゾールに極めて感受性であった。しかし、カルバペネムを除く β -ラクタム薬には耐性傾向を示した。本菌に対する β -ラ

クタム薬のMICは、接種菌量により大きく影響され、著しく高い値を示した。しかし、TTCを用いる判定法は、接種菌量による影響を最小限にすることが可能であり本菌のMICの決定に極めて有用であった。

さらに、*B. wadsworthia* GAI-94193から調整した粗酵素は、試験したイミペネムを除く β -ラクタム薬の全てを不活化した。このことから、本菌の β -ラクタム耐性は β -ラクタマーゼが関係していることが明らかになった。胆汁、腹水からも本菌を分離しており、本菌種を含む複数菌感染症の治療の際には、本菌の抗菌薬活性という間接的病原性に注意する必要があると考えられた。

論文審査の結果の要旨

申請者 澤村治樹は、日本の多くの研究者がそれまで分離ができなかった*Bilophila wadsworthia*の分離方法について検討し、その分離同定方法の指針を与えた。また、わが国で汎用される17種の抗菌薬に対する感受性の程度を検討し、本菌の β -ラクタム薬耐性傾向が強いこと、さらに、その耐性に β -ラクタマーゼが関与していることを明らかにした。本研究成果は、嫌気性菌学および臨床微生物学の進歩に少なからず寄与すると認める。

[主論文公表誌]

*Bilophila wadsworthia*に関する臨床細菌学的研究

- 1) 嫌気性無芽胞グラム陰性桿菌である*Bilophila wadsworthia*の同定法
1997年 感染症学雑誌 71: 614~619
- 2) *Bilophila wadsworthia*の17抗菌薬に対する感受性と β -ラクタマーゼ活性
2000年 日本臨床微生物学雑誌 10: 36~44