



2013年7月10日放送

「新たな Clostridium difficile 関連腸炎の診断－抗原検査の利用法」

国立国際医療研究センター病院 国際感染症センター長
大曲 貴夫

はじめに

Clostridium difficile はグラム陽性の芽胞形成性嫌気性菌で、1978年に偽膜性腸炎の原因であることが認識されました。この菌による感染症を、*Clostridium difficile* infection、略して CDI と呼びます。CDI は抗菌薬関連の下痢症の原因のなかでもっとも頻度が高いと考えられています。

C. difficile は保菌患者および汚染された環境から、医療従事者の手等による直接の接触を介して伝搬していきます。経口感染であり、*C. difficile* の芽胞が経口的に消化管内に侵入し、胃の酸性環境を生き延び、小腸で芽胞が発芽します。ここで抗菌薬の使用などによって腸内細菌叢が破綻していると、本菌が結腸内で増殖し、腸炎を発症します。

10年ほど前から北米や欧州中心に CDI のアウトブレイクや重症例の増加が報告されています。欧米で広がっている株は “BI/NAP1/027 (びーわん ナップワン ゼロツークーセブン) 株” と呼ばれます。CDI は *Clostridium difficile* の産生する腸管毒素であるトキシン A やトキシン B や腸管に炎症を起こすことで発症する疾患ですが、欧米で広がっている株ではトキシン A やトキシン B の産生が亢進しています。加えて第3の毒素 “バイナリートキシン” を産生することが特徴です。北米ではこのような株による CDI の増加によって医療費が増大しているとの報告もあり、社会的にも大きな問題となっています。

さて、日本では状況がかなり異なっており、本株の検出率は低いと言われています。CDI そのものもまだあまり大きな問題とはなっておりません。とはいえ、日本は高齢化社会です。つまり CDI のハイリスク状態の方が社会の中に多く存在しています。よって今後本邦でも CDI が大きな問題となる可能性があります。よって適切な対応方法を知って準備しておくことが必要です。

CDI の危険因子と臨床像

CDI 発症の危険因子としては高齢であること・抗菌薬の使用・プロトンポンプ阻害薬の使用などがあげられています。

CDI の臨床像ですが、重症度は、軽度の水様性下痢症から敗血症を伴う中毒性巨大結腸症まで様々です。本疾患は抗菌薬投与後に発症することが多く、便は悪臭を伴う水様性または粘液性の下痢のことが多いです。発熱・腹痛を

伴いますが、必ずしも出ない場合もあり、重症例ではむしろ便秘の場合もあります。とはいえ院内発症の下痢症の原因として頻度が高いため、入院患者の下痢を見つけた場合には早期に CDI のチェックをすることが重要です。またイレウスによる麻痺で下痢は見られないこともあります。しかしこの状態では進行した状況であることが多く注意が必要です。先ほど挙げた危険因子のある患者で、消化器症状を呈している場合に、この疾患を鑑別診断の一つとして想起することが重要です。重症化した例では中毒性巨大結腸を呈します。発熱、腹痛、腹満が診られ、画像検査では腸壁の明らかな浮腫と内腔の著大な拡張がみられます。合併症として結腸穿孔、敗血症がみられることもあります。このようなケースでは治療のために腸管の切除が必要となる場合もあります。死亡率の高い危険な病態です。

CDI の患者に見られる検査値異常ですが、約半数の患者で末梢血白血球数が増加すると言われていています。また高度の増加が見られ、末梢血の白血球数が 2-3 万を超えることもあります。このため、院内で発生した原因不明の白血球増加の鑑別疾患のひとつに挙げられることもあります。

また消化管内視鏡の所見としては、いわゆる偽膜性大腸炎、つまり大腸への偽膜形成が特徴的な所見として見られます。盛り上がった黄白色のプラークが診られるのが特徴です。しかしこの所見は CDI の場合に必ず診られるものではありません。よってこの所見がないからといって CDI を否定できるわけではありません。画像所見ですが、腹部 CT では結腸壁の著大な肥厚を認めることが多いと言われていています。この病変は回盲部を中心に特に右半結腸でみられることが多いです。しかしこの所見は CDI だけでなく他の腸管感染症でも見られることがありますので、これがあるからといって CDI と断定できるわけではありません。

C. difficile 感染症の危険因子

■感染に関連する因子：

■高齢・抗菌薬使用・PPI

■保菌に関連する因子：

■2ヶ月以内の入院・抗がん剤治療・PPI・H2

ブロッカー・抗トキシシンB抗体

N Engl J Med 2011;365:1693-703.

微生物学的検査

微生物学的検査ですが、本来は分離株を用いた細胞毒性試験、あるいはPCR法による毒素産生遺伝子の確認が必要です。これら特殊検査を日本の医療現場で通常の医療の範疇で行うのは極めて難しいです。よって従来より便検体を用いたEIA法によるトキシンのアッセイが検査の中心です。トキシンAのみを同定するキット、あるいはA、B両方を同定するキットがありますが、

A/B両方検出出来るキットのほうが感度が高いと言われています。このトキシン検査ですが、検査時間も15分程度と短いです。この検査の問題は、感度が低い点です。トキシンAのみのアッセイでは感度は50%前後、A/Bともに検出可能な方法でもやや感度が改善する程度です。よってこの検査で陰性であっても、CDIを否定することは現実には難しいといえます。また診断の目的で、便培養検査が用いられる場合があります。これは嫌気性菌であるC. difficileを専用の培地を用いて培養する検査です。本菌の分離培養に関しては、CCFA培地やCCMA培地を用いた嫌気培養が一般的です。しかし問題は、分離されるC. difficileの中には毒素非産生株も含まれてしまうということです。よって便培養で陽性でも、確定診断がついたとは言えません。厳密には検出した株が毒素を産生することを確認する必要があります。加えて便培養の感度は57%と低い上に、検査時間も最短でも48-72時間と時間がかかりすぎるという欠点があります。

確定診断: 細胞毒性検査

確定診断にはtoxin産生の証明が必要

細胞毒性検査

- 細胞培養を用いてtoxin B検出
- **一般医療機関ではまず行えない**

- J Clin Microbiol. 1998; 36: 2178-82.

2

確定診断: トキシン産生の証明

トキシン迅速検査

- 迅速である
- 感度が低い
 - トキシンAアッセイ 50%
 - A/Bアッセイ ~80%

- J Clin Microbiol. 2001 ;39(8):2846-9

3

新たな検査方法

近年注目されている検査方法として、C. difficileが保有するglutamate dehydrogenaseすなわちグルタミン酸脱水素酵素(略してGDH)がありますが、このGDHの抗原を検出する方法があります。この方法は、便培養と比較した場合に菌の検出に関しては検査結果の一致率が高いと言われています。便培養で菌を検出するには数日間時間がかかりますが、この抗原検査を用いれば同様の結果を30分以内に得ることが出来ます。つまり培養法よりもはるかに早く、菌がいるかどうかを判定することが出来るわ

けです。一方、CDI の診断に以前から用いられている Gold standard の検査法は先ほども述べた細胞培養法ですが、この細胞培養法を対照としたときに、EIA 法によるトキシン A/B 部分の特異度は極めて高いとされています。そこでこの GDH 検査と、トキシン A、B の両方を検出する迅速診断法も開発され、実際に臨床現場で使われています。この検査法の解釈として、抗原・トキシンがともに陽性ならば真の陽性、そして抗原・トキシンがともに陰性ならばほぼ真の陰性と考えて良いとされています。問題は、GDH 陽性・トキシン陰性の場合です。この場合考えられることは、本来はトキシン陽性であるのにトキシン検査部分が偽陰性となっているか、もしくは GDH 部分の偽陽性ということです。この場合は判断が必要です。ただ、これまでの研究の中で、遺伝子検査を用いてトキシン産生を確定した CDI 症例において、EIA 法で陽性の例と陰性であった例の臨床像を比較した研究では、基礎疾患や抗菌薬使用歴および下痢の重症度や再発の割合などに差がなかったという報告があります。よって一般的には、CDI を疑って便の検査をした場合に、GDH 抗原が陽性、トキシン検査が陰性の場合には、真の CDI の可能性は十分にあるので治療すると考えるのが妥当です。

グルタメートデヒドロゲナーゼ(GDH)検出法 (EIA法) と A/Bアッセイ (EIA法) のコンボキット

■便培養と比較: GDH部分の感度特異度は高い

■細胞培養法と比較: トキシンA/B部分の特異度は高い

■抗原・トキシンがともに陽性もしくは陰性→ 真の陽性・真の陰性と報告できるかもしれない

■GDH陽性・トキシン陰性の場合→ 偽陰性もしくはGDH部分の偽陽性の可能性

J Infect Chemother. 2011 Dec;17(6):807-11.

2013 年に発表された米国消化器学会から CDI の診断・治療・予防のガイドラインでは、CDI の診断に関して、GDH 抗原のスクリーニングに引き続き、陽性の場合には PCR 法などの遺伝子診断による毒素遺伝子の検出が推奨されています。しかし本邦では遺伝子検査が一般的ではありません。よって厳密な意味での CDI の診断は難しい場合が多くあります。現時点では、前述の GDH 抗原およびトキシン検査をうまく利用して、治療するかどうかを判断していくことになります。