

[委員会報告]

Clostridium difficile 毒素遺伝子検査を踏まえた検査アルゴリズム

一般社団法人日本臨床微生物学会

理事長 賀来満夫

感染症領域新規検査検討委員会

委員長 三鴨廣繁

副委員長 柳原克紀

委員 石井良和, 大楠清文, 大塚喜人, 大曲貴夫

國島広之, 鈴木広道, 細川直登, 柳沢英二

1. 背景

Clostridium difficile 感染症 (CDI) は、腸管内において毒素産生 *C. difficile* が腸炎や下痢症を引き起こす感染症である。*C. difficile* は芽胞の状態为好気的環境、乾燥、熱、アルコールなど一部の消毒薬などに耐性を示し、環境表面に長期間生存する。*C. difficile* の病原性は toxin A, toxin B, binary toxin という3種類の毒素に由来すると考えられているが、毒素非産生 *C. difficile* 株も存在し、毒素産生 *C. difficile* 株を含め健康成人でも一定の割合で *C. difficile* を保有している。高齢、重篤な基礎疾患、制酸薬投与、経管栄養などの危険因子を有する患者および、抗菌薬や抗がん薬などの投与を受け腸内細菌叢が攪乱される状況下において *C. difficile* が定着あるいは獲得されていると、消化管内で *C. difficile* が増殖し CDI を発症する。CDI の発症には患者の内的要因と周囲環境などによる外的要因の両者が密接に関与しており、発症は施設環境や患者層、診療内容により異なってくる。近年では、CDI は北米やヨーロッパを中心に増加傾向にあり、リボタイプ 027 株、リボタイプ 078 株などに代表されるいわゆる強毒株による重症例や死亡例が増加してきたことから、CDI の診断、治療、感染管理に対する関心が急速に高まってきた。米国では *C. difficile* は、MRSA 以上に主要な医療関連感染の原因微生物として認識されるようになっており、Centers for Disease Control and Prevention (CDC) はカルバペネム耐性腸内細菌科細菌などと並ぶ耐性菌の脅威として *C. difficile* を挙げて警戒を促しているという現状がある。CDI を早期に診断し、適切な治療を遅滞なく開始することによって患者の重篤化や死亡を防ぐと同時に、CDI を発症した患者に対し速やかに感染対策を実行することにより医療施設内での感染伝播を防ぐことが重要である。一般的に、CDI は、「下痢などの症状を呈し、直接糞便検査で *C. difficile* 毒素ないし毒素産生性の *C. difficile* が陽性、または内視鏡的あるいは病理学的に偽膜性腸炎の所見を認めるもの」と定義される。施設によって状況は異なると推察されるが、入院患者では一定の割合で *C. difficile* の保菌が認められるため、下痢症状がない人の検査で菌が検出されても「陽性」としての診断的意義は乏しい。一方、CDI を疑って検体を提出する場合には、*C. difficile* の検出を目的としていることを検査室へ伝えてこの菌の検出に適した培養検査を行うことが「偽陰性」を回避する上で重要である。培養検査は菌検出までに日数を要するため、治療の開始や感染管理の遂行を迅速に判断する手段としては適していない。この弱点を補う目的もあって *C. difficile* の存在を迅速に確認するために糞便中の *C. difficile* の抗原 (glutamate dehydrogenase : GDH) や病原因子であるトキシンを検出するキットが開発され、最近では GDH と毒素の両者を検出する迅速診断キットが臨床現場において汎用されている。しかし、これらの迅速診断法の感度は十分ではないとする報告もある¹⁾²⁾。したがって本検査のみに頼った下痢症の診断は *C. difficile* の病原性を過小評価する可能性があり、より正確な CDI の診断法が求

められてきた。欧米のガイドラインにおいては、より効率的な CDI の診断手順として、はじめに GDH によるスクリーニングを実施した後、抗原陽性例に対して細胞毒性試験あるいは分離菌の毒素産生性の確認を実施する 2 段階アルゴリズムが提唱されている¹⁾²⁾。しかし、細胞毒性試験や培養検査は一般の医療機関では実施されていない場合も多く、判定までの時間も 48~96 時間程度の時間を要する。GDH の検出感度についても、以前より改良されたものの偽陰性の存在が指摘されている。我が国においても GDH スクリーニングによる 2 段階アルゴリズムで、培養にて発育したコロニーを用いて迅速診断キットにより再度毒素の検出を実施することにより高い感度が得られたとの報告も見受けられる。しかし、この方法では診断までのタイム・ラグがあり、診断手順の手間やコストの面などから一般の施設に広く応用されるに至っていない。より感度、特異度が高く、かつ迅速に結果が得られる診断法として PCR 法などの遺伝子検査法を用いた検出法として、Nucleic acid amplification test (NAAT) が開発され、欧米では CDI の診断法として 2 段階アルゴリズムに加えられようになってきている。我が国でも NAAT が臨床現場に導入されることになったが、NAAT の問題点として検査費用が高いこと、偽陽性のために CDI と過剰診断する可能性もあることなどに留意する必要がある。いずれにしても適切な検査対象の選択と適正な検体の提出が正しい診断の基本となることは言うまでもないが、今回、一般社団法人日本臨床微生物学会では、CDI 診断における NAAT 法も含めたフローチャートを作成することになった。

II. *Clostridium difficile* 毒素遺伝子検査

Clostridium difficile 毒素遺伝子を検出する遺伝子検査として NAAT 法は、欧米で広く用いられており、*C. difficile* が特異的に産生する毒素遺伝子を約 1~2 時間以内に検出するため、米国臨床消化器病学会 (ACG) や欧州臨床微生物・感染症学会 (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: ESCMID) のガイドラインにおいても推奨されている²⁾³⁾。本検査は、以下のような有用性が認められる。

1. 高い感度を有しているため、従来の低い感度であるイムノクロマト法を用いたトキシン検査よりも、より確実に診断を行うことができる。
2. トキシン産生性を評価するため、トキシン非産生 *C. difficile* に対する不要な治療を回避することができる。
3. 迅速に診断を行うことができるため、細胞毒性試験や培養検査 (48~72 時間) よりも早期に治療を開始することができる。

上記により、迅速かつ確実な診断をもとに *C. difficile* 感染症に対する治療を開始できるとともに、不要な抗 *C. difficile* 薬の投与を抑制することができる。加えて、アウトブレイク時を含めて、適切な感染対策を実施することも期待できる。

III. *Clostridium difficile* 感染症の検査アルゴリズム

C. difficile 感染症 (CDI) の検査は、培養検査、細胞毒性試験、イムノクロマト法を用いたトキシン検査、GDH とトキシン検査を組み合わせた迅速診断キットおよび、*C. difficile* 毒素遺伝子検査である NAAT 検査がある。なお、本フローチャートで記載したアルゴリズムは、必ずしもそれぞれの施設の特長や考え方を規定するものではないとともに、地域や施設における CDI のサーベイランスに基づいて、必要があれば培養検査や NAAT をより早期から実施することも検討される。

1. 適切な検体採取

C. difficile は、健常人および入院患者を含め保菌者がみられるため、CDI の診断に際しては、下痢患者の

検体を用いて検査を行うことが必須である。CDIの診断に際して、検査に用いる便検体はBristol Stool Form Scale⁴⁾などの客観的指標を用いて評価し、Bristol Stoolが5~7の性状の検体を用いて検査を行うことを推奨する。固形便を用いた検査や治療効果判定を目的とした検査は推奨されない。

2. 通常診療における *C. difficile* 検査の考え方 (フローチャート1)

イムノクロマト法を用いた迅速診断キットでGDHおよびトキシン検査を行い、その結果に基づいてNAATを組み合わせるアルゴリズムである。

一般的にGDHの感度はある程度高いことが知られており、GDH陽性・トキシン陽性はCDI、GDH陰性・トキシン陰性の場合CDIは否定的となる。一方、糞便検体におけるトキシン検査の感度は低いことから、GDH陽性・トキシン陰性の結果では、トキシン産生株と非産生株を区別することはできない。したがって、GDH陽性・トキシン陰性結果の検体を対象として、NAAT法を行うことにより、トキシン産生であれば病態とともにCDIを判断し、トキシン非産生であればCDIは否定的で抗*C. difficile*薬は不要であり、下痢として他の原因を考慮することとなる。

3. アウトブレイク等における *C. difficile* 検査の考え方 (フローチャート2a, 2b)

フローチャート1に加えて、培養法およびGDH・トキシン検査の結果に関わらず、NAATを組み合わせたアルゴリズムである。

アウトブレイク等では、GDH偽陰性の可能性や保菌者を含めたより広範囲な発生状況の確認、リボタイピングなどの分子疫学的手法を用いた評価が必要となることがあることから、より高い感度を有するNAATおよび培養検査をより積極的に施行することを推奨する。培養検査は時間を要するものの、分離株のトキシン産生性を評価することにより、トキシン産生と非産生を区別できるとともに、菌株を保存することができる。施設内でNAATが検査可能な環境かなどを考慮して、NAATを当初から施行するか(フローチャート2a)、GDH・トキシン検査を考慮してNAATを施行するか(フローチャート2b)を検討する。

なお、糞便検体を用いてNAATを行う際には、トキシン産生*C. difficile*保菌者を含むOver Diagnosisに繋がる可能性に留意し、病態を含め丁寧に診断する必要がある。

IV. 引用文献

1. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, *et al.*, Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2010 May; 31 (5): 431-455.
2. Crobach MJ, Planche T, Eckert C, *et al.*, European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect.* 2016 Aug; 22 Suppl 4: S63-81.
3. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, *et al.*, Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *Am J Gastroenterol.* 2013 Apr; 108 (4): 478-498.
4. Lewis SJ, Heaton KW. Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. *Scand J Gastroenterol.* 1997 Sep; 32 (9): 920-924.