

[原 著]

糞便検体に対する *Clostridioides difficile* 特異抗原・毒素検出試薬の多施設臨床性能試験

鈴木広道<sup>1)</sup>・戸井之裕<sup>2)</sup>・千葉潤一<sup>3)</sup>・佐藤守彦<sup>4)</sup>  
小野祐太郎<sup>5)</sup>・野竹重幸<sup>6)</sup>・大柳忠智<sup>7)</sup>・國島広之<sup>8)</sup>

<sup>1)</sup> 筑波メディカルセンター病院感染症内科・臨床検査医学科

<sup>2)</sup> 仙台厚生病院呼吸器内科

<sup>3)</sup> 仙台厚生病院病理診断・臨床検査科

<sup>4)</sup> 湘南鎌倉総合病院感染管理対策室

<sup>5)</sup> 湘南鎌倉総合病院検査部

<sup>6)</sup> 筑波メディカルセンター病院臨床検査科

<sup>7)</sup> 聖マリアンナ医科大学病院臨床検査部・感染制御部

<sup>8)</sup> 聖マリアンナ医科大学感染症学

(平成 30 年 1 月 5 日受付, 平成 30 年 4 月 5 日受理)

【目的】本邦において, *Clostridioides difficile* (*Clostridium difficile*) 感染症の診断の補助として上市されている糞便中の *C. difficile* 特異抗原 (GDH) 及び毒素を検出する 2 試薬の性能を比較した。

【方法】2017 年 5 月~10 月に 4 施設の日常診療で, *C. difficile* 感染症が疑われ検査 (*C.DIFF* QUIK CHEK コンプリート, 以下 QUIK CHEK) のため提出された泥状便・水様便の残余検体を対象として, 連続的に GE テスト イムノクロマト-CD GDH/TOX 「ニッスイ」(以下 GE テスト) 及び *C. difficile* 培養検査を実施し, 培養法を基準検査法として評価した。

【結果】229 検体を評価し, 55 検体より *C. difficile* が培養検査で検出され, 71% (39 検体) で毒素産生株であった。GDH の糞便検体中の *C. difficile* 検出に対する陽性一致率・陰性一致率・陽性的中率・陰性的中率は, QUIK CHEK で 91% (50/55 検体), 99% (172/174 検体), 96% (50/52 検体), 97% (172/177 検体), GE テストで 93% (51/55 検体), 95% (166/174 検体), 86% (51/59 検体), 98% (166/170 検体) であった。毒素検査の毒素産生 *C. difficile* 検出に対する陽性一致率・陰性一致率・陽性的中率・陰性的中率は, いずれも 49% (19/39 検体), 100% (190/190 検体), 100% (19/19 検体), 90% (190/210 検体) であった。今回の試験で用いた毒素産生 *C. difficile* 陽性検体の内, Verigene システムを用いた遺伝子検査において 4 検体より binary toxin 遺伝子 (*cdt*) を検出し, 1 検体より *tcdC* 変異を認めた。

【考察】上市の 2 試薬はいずれも毒素検出についての感度は不十分であった。一方, GDH は *C. difficile* 検出において培養法と比較し高い一致率を認めた。

**Key words:** *Clostridioides difficile*, *Clostridium difficile*, GDH, *C. DIFF* QUIK CHEK コンプリート, GE テスト イムノクロマト-CD GDH/TOX 「ニッスイ」

序 文

*Clostridioides difficile* (以下 *C. difficile*)<sup>1)</sup> は, *C. difficile* が産生する toxin A (腸管毒素) および toxin B (細胞毒素) により, *C. difficile* 感染症 (*C. difficile* infection; CDI) を引き起こす。CDI の多くが抗菌薬使用後の医療関連感染症であり, 高齢者や胃酸抑制剤では発症のリスクが高まる<sup>2)</sup>。近年, 北米及び欧州におい

著者連絡先: (〒305-8558) 茨城県つくば市天久保 1-3-1  
筑波メディカルセンター病院感染症内科・臨床検査医学科  
鈴木広道  
TEL: 029-851-3511  
FAX: 029-858-2773  
E-mail: hsuzuki@tmch.or.jp

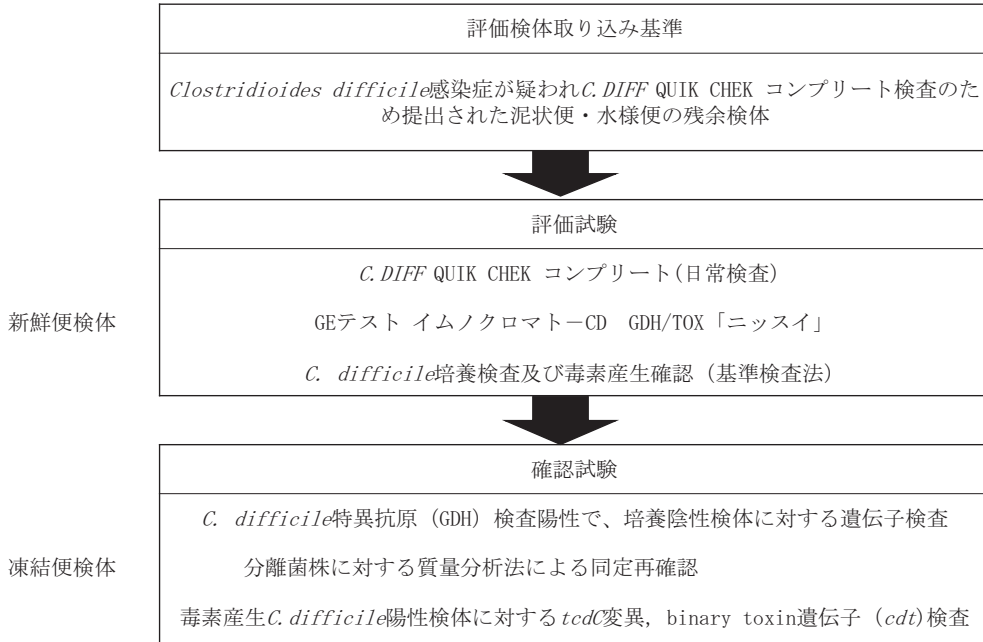


図1. 研究の概要

て従来の toxin A/toxin B 産生に加えて、第3の毒素である binary toxin を産生し、*tcdC* 遺伝子変異に伴う toxin A/toxin B 過剰産生株が主流を占めており<sup>3)</sup>、市中感染型 CDI の増加<sup>2)</sup>、重症化<sup>4)</sup>と関連し診療で問題となっている。

CDI の検査診断には、糞便からの毒素産生 *C. difficile* 分離培養は高い感度を認めるが、時間を要するため CDI の迅速診断は行うことはできない。このため、本邦では、*C. difficile* の特異抗原であるグルタミン酸脱水素酵素 (glutamate dehydrogenase ; GDH) 及び、toxin A および toxin B をイムノクロマト法などで検出する迅速検査キットが、日常診療として用いられている。

本邦では、GDH 及び toxin A/toxin B 検出に対する、迅速検査キットとして、*C. DIFF* QUIK CHEK コンプリート (以下 QUIK CHEK, アリーア メディカル株式会社) 及び、GE テスト イムノクロマト-CD GDH/TOX 「ニッスイ」 (以下 GE テスト, 日本製薬株式会社) が体外診断用医薬品として上市されている。いずれも提出された糞便を用い、簡便な前処理で、GDH 及び toxinA/toxinB を迅速に同時検出できるキットである。現時点で、両法の比較試験は実施されておらず、臨床的な差異については明らかでない。今回、両キットの臨床性能について多施設前向き比較研

究を実施し、報告する。

## 材料と方法

### 1. 研究概要 (図1)

筑波メディカルセンター病院 (TMCH)、仙台厚生病院 (SD)、湘南鎌倉総合病院 (SK)、聖マリアンナ医科大学病院 (SM) において、2017年5月から2017年10月の期間で、CDI が疑われ検査 (QUIK CHEK) のため提出された泥状便・水様便の残余検体を対象として、連続的に GE テスト及び *C. difficile* 培養検査を実施し、培養法を基準検査法として評価した。評価項目はそれぞれ、培養法での *C. difficile* 検出に対する糞便検体を用いた GDH 抗原検査の一致率、的中率、培養法での毒素産生 *C. difficile* 検出に対する糞便検査を用いた毒素検出検査の一致率・的中率を評価した。これらの評価はいずれも各施設において実施し、QUIK CHEK 及び GE テストはそれぞれ添付文書に従い実施した。

本試験を行うに際し十分 (小指第一関節大程度) な便検体が得られなかった場合、試験担当者の不在により便検体に対して、QUIK CHEK 検査実施の翌日までに GE テスト及び培養検査を行うことができなかった場合については検査対象から除外した。

本研究は後述する確認試験を含め、厚生労働省・文

部科学省により定められた「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守し、各検体に対しては研究用番号を符番し、対応表を用いない匿名化情報・試料として研究を実施した。本研究は筑波メディカルセンター病院（承認番号：2016-068）及び各施設の倫理審査委員会「仙台厚生病院（承認番号：29-31）、湘南鎌倉総合病院（承認番号：849）、聖マリアンナ医科大学（承認番号：第3671号）」での承認を得て実施した。

### 2. *C. difficile* 分離培養及び toxin A/toxin B の検出

*C. difficile* の分離培養は、必要に応じて糞便検体を等量のトリプティックソイブロス（日本バクソン・ディッキンソン）で均質化後、糞便検体に99% エタノールを等量混合し、攪拌して室温に30分間放置した後、100 µL を CCMA 培地 EX（日水製薬）に塗抹し、嫌気条件下にて48時間培養した。選択分離培地上の典型的な性状を呈したコロニーに対して、グラム染色により菌体の大きなグラム陽性桿菌であることを確認した後に、QUIK CHEK 及び GE テストによる GDH 抗原の陽性により判定した。分離菌株からの迅速検査キットによる toxin A/toxin B の検出は QUIK CHEK および GE テストを使用した。濃度については選択分離培地上のコロニー複数個を希釈液 500 µL に McFarland No.3 の濁度となるように懸濁し、以降は添付文書に従って糞便検体と同様の手順で測定した。

培養検査実施後において残余検体がある場合、約20℃以下で各施設において保管の後、筑波メディカルセンター病院に輸送し約-80℃で冷凍保管し、確認試験に用いた。

### 3. 確認試験

評価試験において GDH 抗原陽性を示し、培養検査で *C. difficile* の検出を認めなかった凍結残余検体に対して、全自動遺伝子検査装置 Verigene システム専用試薬 *C. difficile* 毒素産生関連遺伝子検出キット（CDF パネル、日立ハイテクノロジーズ）を用い毒素産生 *C. difficile* 検出の有無を確認した。培養検査で、*C. difficile* の検出を認めた凍結残余検体に対しては、残余検体があり、再培養により発育を認めた場合、LSI メディエンス株式会社に依頼し、質量分析法（バイテック MS、バイオメリュール・ジャパン）による確認試験を実施した。

また、評価試験における培養検査で、毒素産生 *C. difficile* の検出を認めた凍結残余検体に対して、Verigene システム及び CDF パネルを用いて検査を実施し、*tcdC* 変異（117 番目塩基対の欠失）及び binary toxin 遺伝子（*cdt*）の有無を確認した<sup>5)</sup>。Verigene システム及び CDF パネルの実施に十分な凍結残余検体

がない場合、凍結残余検体に対して、*C. difficile* toxin A/toxin B 産生遺伝子（*tcdA/tcdB*）を検出できない場合には、凍結残余検体に対して再度培養検査を実施し、分離コロニーを用いて Verigene システム及び CDF パネルを実施し解析を行った。*tcdC* 変異もしくは *cdt* 遺伝子陽性を認めた株に対しては、株式会社ミロクメディカルラボラトリーに依頼し PCR ribotyping 解析を実施した。方法は、16S rRNA から 23S rRNA へ向かうプライマー（5'-CTGGGGTGAAGTCG TAACAAGG-3'）と、23S から 16S に向かうプライマー（5'-GCGCCCTTTGTAGCTTGACC-3'）を用いて PCR を行った<sup>6)</sup>。

PCR 産物についてアガロースゲル電気泳動を行いエチジウムプロマイドで染色後、出現したバンドの位置の違いから菌株の相同性を判定した。

## 結 果

### 1. 評価実施検体数、培養検査での *C. difficile* 陽性検体数及び毒素産生 *C. difficile* 陽性検体数

対象期間で、累計 229 検体（TMCH 98 検体、SD 62 検体、SK 42 検体、SM 27 検体）に対して評価試験を実施した。結果として、229 検体の内、55 検体（24%）より *C. difficile* の発育を認め、毒素産生 *C. difficile* の発育は 39 検体（39/55 検体：71%）で認めた。分離培養した *C. difficile* のコロニーを用いた GDH 抗原検査、毒素検査で、QUIK CHEK、GE テストの 2 法で不一致は認めなかった。

*C. difficile* の発育を認めた 55 検体の内、1 検体は当初、培養検査で毒素非産生 *C. difficile* 株の発育と判定され、培養前の糞便検体に対する GE テストでの毒素検出検査でも毒素陰性を示していた一方で、QUIK CHEK で毒素陽性を示していた。同凍結残余検体に対して後日、Verigene システムにおける解析を実施し、結果として *tcdC* 遺伝子変異、*cdt* 遺伝子陽性、*tcdA/tcdB* 遺伝子陽性と判定された。同凍結残余検体に対して、再度分離培養を行った結果、毒素産生株と毒素非産生株を検出し、最終的に同検体は毒素産生 *C. difficile* を有する検体として判定した。毒素産生株のコロニーと毒素非産生株のコロニーは、コロニー所見での相違は認められず区別困難であった。

### 2. 糞便検体中の *C. difficile* 検出に対する QUIK CHEK 及び、GE テストでの *C. difficile* 特異抗原（GDH）検査の一致率・的中率（表 1）

糞便検体に対する培養検査で、*C. difficile* を検出した 55 検体の内、QUIK CHEK では 50 検体（91%）、GE テストでは 51 検体（93%）で GDH 抗原陽性を示

表1. 培養検査での *Clostridioides difficile* 検出を基準検査法とした *C. difficile* 特異抗原 (GDH) 検査の一致率・的中率

		陽性一致率	陰性一致率	陽性的中率	陰性一致率
<i>C.DIFF</i> QUIK CHEK コンプリート	%	91	99	96	97
	N	50/55	172/174	50/52	172/177
GE テスト イムノクロマト-CD GDH/TOX 「ニッスイ」	%	93	95	86	98
	N	51/55	166/174	51/59	166/170

表2. 培養検査での毒素産生 *Clostridioides difficile* 検出を基準検査法とした糞便検体中に対する毒素検査の一致率・的中率

		陽性一致率	陰性一致率	陽性的中率	陰性一致率
<i>C.DIFF</i> QUIK CHEK コンプリート	%	49	100	100	90
	N	19/39	190/190	19/19	190/210
GE テスト イムノクロマト-CD GDH/TOX 「ニッスイ」	%	49	100	100	90
	N	19/39	190/190	19/19	190/210

した。一方、*C. difficile* が培養されなかった 174 検体内、QUIK CHEK では 2 検体 (1%)、GE テストでは 8 検体 (5%) で GDH 抗原陽性を示した。QUIK CHEK の 2 検体はいずれも GE テストでも GDH 抗原陽性を示していた。

以上より、GDH 抗原検査の糞便検体中の *C. difficile* 検出に対する陽性一致率、陰性一致率、陽性的中率、陰性的中率は、QUIK CHEK で、91% (50/55 検体)、99% (172/174 検体)、96% (50/52 検体)、97% (172/177 検体)、GE テストで 93% (51/55 検体)、95% (166/174 検体)、86% (51/59 検体)、98% (166/170 検体) であった。

### 3. 糞便検体中の毒素産生 *C. difficile* 検出に対する QUIK CHEK 及び、GE テストでの毒素検査の一致率・的中率 (表 2)

糞便検体に対する培養検査で、毒素産生 *C. difficile* を検出した 39 検体内、QUIK CHEK、GE テスト共に 19 検体 (49%) で毒素検査陽性を示した。一方、毒素産生 *C. difficile* を検出しなかった 190 検体では、QUIK CHEK、GE テスト共に毒素検査陽性を示した検体は認めなかった。

以上より、毒素検査の糞便検体中の毒素産生 *C. difficile* 検出に対する陽性一致率、陰性一致率、陽性的中率、陰性的中率は、QUIK CHEK、GE テスト共に、49% (19/39 検体)、100% (190/190 検体)、100% (19/19 検体)、90% (190/210 検体) であった。

糞便検体を用いた検査で、GDH 抗原陽性、毒素検査陰性を示した検体数は、QUIK CHEK では 33 検体、GE テストでは 40 検体であり、これらの内、毒素産生 *C. difficile* の陽性率はそれぞれ 48% (16/33 検

体)、40% (16/40 検体) であった。

### 4. 凍結残余検体に対する各種確認試験結果

糞便検体に対する GDH 抗原検査陽性、培養検査で *C. difficile* の検出を認めなかった凍結残余 8 検体内、5 検体で Verigene システム及び CDF パネルを用いた遺伝子検査に十分な便量を認め、検査を実施した。結果として 5 検体のいずれからも *tcdA/tcdB* は検出しなかった。

培養検査で *C. difficile* を検出した 55 検体中の内、凍結残余検体が保管されていた 49 検体に対して、再度分離培養を行った。46 検体から発育が得られ、質量分析法で再確認した所、全て *C. difficile* と判定された。

培養検査で毒素産生 *C. difficile* を検出した 39 検体中の内、35 検体に対して、凍結残余検体もしくは、再培養したコロニーを用いて、Verigene システム及び CDF パネルによる *tcdC* 変異もしくは *cdt* 遺伝子解析を実施した。結果として、35 検体全てよりトキシン A 遺伝子 (*tcdA*) 及びトキシン B 遺伝子 (*tcdB*) 遺伝子を検出し、4 検体 (11%) で *cdt* 遺伝子陽性を認めた。内 1 検体では *tcdC* 変異を同時に認めた (表 3)。*cdt* 遺伝子陽性で *tcdC* 変異を認めなかった 3 検体はいずれも同一施設であった。PCR ribotyping 解析において、*cdt* 遺伝子陽性、*tcdC* 変異を同時に認めた検体より分離された株は、BI/NAP1/027 型 *C. difficile* 株 (ATCC<sup>®</sup> BAA-1870<sup>™</sup>) と同一の泳動パターンを示した (図 2)。*cdt* 遺伝子陽性で *tcdC* 変異を認めなかった 3 検体より分離された株は、同一の泳動パターンで、BI/NAP1/027 型 *C. difficile* 株 (ATCC<sup>®</sup> BAA-1870<sup>™</sup>) とは異なっていた。

表3. 凍結残余糞便検体 (35 検体) を用いた, Verigene システム及び専用試薬 *C. difficile* 毒素産生関連遺伝子検出キットを用いた *tcdC* 変異, binary toxin 遺伝子 (*cdt*) 解析で陽性を示した 4 検体

検体	1	2	3	4
検出施設	A	A	A	B
<i>tcdC</i> 変異 (117 番目塩基対の欠失)	陰性	陰性	陰性	陽性
binary toxin 遺伝子 ( <i>cdt</i> )	陽性	陽性	陽性	陽性

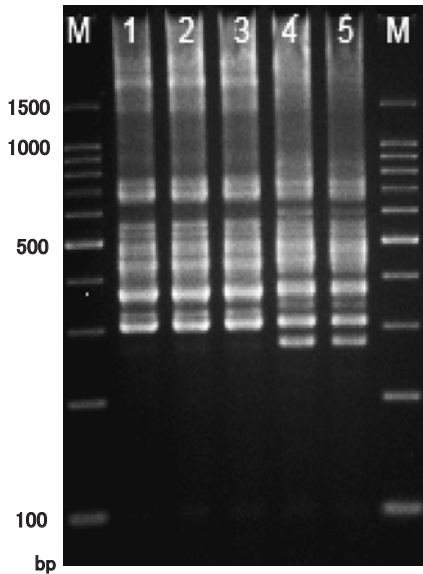


図2. PCR ribotyping アガロースゲル電気泳動写真  
写真の泳動番号 No. 1～3 はトキシン A 遺伝子 (*tcdA*) 陽性, トキシン B 遺伝子 (*tcdB*) 陽性, binary toxin 遺伝子 (*cdt*) 陽性で *tcdC* 変異を認めなかった 3 検体より分離された 3 株。No. 4 は *tcdA* 遺伝子陽性, *tcdB* 遺伝子陽性, *cdt* 遺伝子陽性で *tcdC* 変異を認めた検体より分離された株。No.5 は BI/NAP1/027 型 *C. difficile* 株 (ATCC® BAA-1870™), *tcdA* 遺伝子陽性, *tcdB* 遺伝子陽性, *cdt* 遺伝子陽性, *tcdC* 変異を認める株。M: 100 bp マーカー。

## 考 察

迅速検査キットにおける毒素検出は当初において高い感度が報告されていたが<sup>87)</sup>, 近年の海外における報告では, 糞便検体中の毒素産生 *C. difficile* の検出に対して 5 割程度しか検査診断できず, 特に軽症 CDI では迅速検査キットにおいて毒素陰性となりやすいことが指摘されている<sup>89)</sup>。今回の多施設臨床性能試験においても, 培養法と比較した陽性的中率は 100% であったが, 陽性一致率は QUIK CHEK, GE テストのいずれの試薬でも約 5 割であった。本研究により本邦でも, 毒素検出のみでは, 糞便中の毒素産生 *C. difficile*

の検出には不十分であることが確認された。

近年, 欧米では迅速遺伝子検査の普及により, GDH, 毒素検査を用いた簡易検査キットと, PCR 法などの糞便中毒素遺伝子検査による 2 段階検査が推奨されている<sup>10)</sup>。本邦でも, 2016 年に BD マックス CDIFF (製造販売承認番号: 22800EZX00002000), 2017 年に Xpert *C. difficile* 「セフィエド」 (製造販売承認番号: 22900EZX00024000) が認可され, 2017 年 7 月に「*Clostridium difficile* 毒素遺伝子検査を踏まえた検査アルゴリズム」が日本臨床微生物学会 感染症領域新規検査検討委員会より公開され, 2 段階検査が推奨された<sup>11)</sup>。

2 段階検査法として GDH は糞便中の *C. difficile* の有無に対するスクリーニング検査として用いられる。海外における先行研究において, QUIK CHEK は培養法と比較し陽性一致率 94%, 陰性一致率 97%, 遺伝子検査法と比較し, 陽性一致率 96% と高い一致率を認めている<sup>7)</sup>。今回の多施設臨床性能試験においても, 培養法と比較し, QUIK CHEK, GE テストの両試薬ともに高い陽性一致率を認めた。陽性的中率については QUIK CHEK については先行研究と同様に高い中率を認めたが, GE テストについては 86% であった。GE テストの GDH 抗原検査は偽陽性が多いことが示唆されるが, 本研究では培養検査で *C. difficile* の発育を認めなかった検体に対して, Verigene システム及び CDF パネルにより毒素遺伝子の陰性は確認したが, 菌体の遺伝子検出は検討していない。このため, 先行抗菌薬の影響などを受けた可能性は否定できず<sup>12)</sup>, 本結果については追試が必要である。GE テストについては, 前処理が簡便であることから, 今後の試薬改良もしくは不一致を示した結果の特徴を明らかにすることにより, 利便性の向上が望まれる。

今回実施した多施設臨床性能試験において, 35 検体中 4 検体より *cdt* 遺伝子を毒素産生 *C. difficile* 陽性株より検出し, *tcdC* 遺伝子変異も 1 検体で検出した。東アジアにおいては, 強毒株の検出は稀であり<sup>13)</sup>, 本邦においても散発的な報告のみである<sup>14)</sup>。我々が

2015-2016年で実施した単施設研究では、*cdt* 遺伝子陽性及び *tcdC* 遺伝子変異のいずれも認めなかった<sup>15)</sup>。今回、我々は匿名化検体を用いており、臨床背景は不明であるが、4検体中3検体はいずれも1施設より検出しており、院内感染あるいは地域での広がりが懸念される。強毒株を判定できる遺伝子検査試薬として、Verigene CDF パネル、Xpert C. difficile「セフィエド」がある。今後 *C. difficile* に対する遺伝子検査の普及に伴い、本邦でも *cdt* 遺伝子保有株及び *tcdC* 遺伝子変異株強毒株の疫学がより明らかになっていくと考えられ、早期の検出により拡散防止に努めていく必要がある。また、今回我々の研究では、*cdt* 遺伝子陽性及び *tcdC* 遺伝子変異双方を保有する毒素産生 *C. difficile* について毒素非産生株が同一検体に存在していたため、当初、同毒素産生株を検出することができなかつた。培養検査は感度が高い検査ではあるが、本研究のように複数株の存在により、毒素産生株を見落とす場合があり注意する必要がある。

本研究結果の解釈において留意事項がある。*C. difficile* は CDI 発症時には糞便中に多く検出されるが、入院患者では毒素産生 *C. difficile* を無症候性に保菌している割合が高く<sup>16)</sup>、*C. difficile* は一部の健康人でも腸内細菌叢として約  $5.0 \times 10^6$  CFU/g<sup>17)</sup>、CDI 治療後も  $1.0 \times 10^4$  CFU/g 程度糞便中に存在しており、培養検査、遺伝子検査で検出される。今回の多施設臨床性能試験では、CDI が疑われ検査のため提出された泥状便・水様便を連続性に評価しており、培養検査で毒素産生 *C. difficile* を検出した検体が CDI を発症していない場合があり、これらの糞便検体では *C. difficile* の菌量が少ないため、糞便検体を対象として GDH、毒素検査が偽陰性となりやすい可能性がある。欧米では、*C. difficile* に対する迅速遺伝子検査の普及に伴う CDI の過剰診断が指摘されている<sup>18)</sup>。本研究結果はこれらの可能性を考慮した上で解釈する必要がある。

結語として、今回の多施設臨床性能試験において、培養法と比較して *C. DIFF* QUIK CHEK コンプリート及び、GE テスト イムノクロマト-CD GDH/TOX「ニッスイ」はいずれも毒素検出について不十分であることが確認された。一方、GDH は *C. difficile* 検出において培養法と比較して高い一致率を認めた。

**謝辞：**本臨床性能試験における確認試験で、多大な御支援を頂きました日立ハイテクノロジーズ及び同社関係者の方々、ミロクメディカルラボラトリー玉井清子様及び同社関係者の方々に厚く御礼を申し上げます。

**利益相反：**個人において規定に定められた利益相反申告に該当する項目はない。但し、本臨床性能試験は、本試験の評価試薬である *C.DIFF* QUIK CHEK コンプリートの製造販売元であるアリーア メディカル株式会社への委託研究として実施した。評価施設に対しては臨床性能試験委託費用が支払われ、試験に必要な消耗品・試薬・外部試験委託費用は同社より無償で提供された。全自動遺伝子検査装置 Verigene システム専用試薬 *C. difficile* 毒素産生関連遺伝子検出キットについては、日立ハイテクノロジーズ社より無償提供を受け実施された。本研究で使用した Verigene システムプロセッサ 2 台の内、1 台について日立ハイテクノロジーズより無償で貸与を受けた。

## 文 献

- 1) Lawson, PA, DM Citron, KL Tyrrell, SM Finegold. 2016. Reclassification of *Clostridium difficile* as *Clostridioides difficile* (Hall and O'Toole 1935) Prevot 1938. *Anaerobe* 40: 95-99.
- 2) Evans, CT, N Safdar. 2015. Current Trends in the Epidemiology and Outcomes of *Clostridium difficile* Infection. *Clin Infect Dis* 60 Suppl 2: S66-S71.
- 3) McDonald, LC, GE Killgore, A Thompson, et al. 2005. An epidemic, toxin gene-variant strain of *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 353: 2433-2441.
- 4) Rao, K, D Micic, M Natarajan, et al. 2015. *Clostridium difficile* ribotype 027: relationship to age, detectability of toxins A or B in stool with rapid testing, severe infection, and mortality. *Clin Infect Dis* 61: 233-241.
- 5) Carroll, KC, BW Buchan, S Tan, et al. 2013. Multicenter evaluation of the Verigene *Clostridium difficile* nucleic acid assay. *J Clin Microbiol* 51: 4120-4125.
- 6) Stubbs, SL, JS Brazier, GL O'Neill, et al. 1999. PCR targeted to the 16S-23S rRNA gene intergenic spacer region of *Clostridium difficile* and construction of a library consisting of 116 different PCR ribotypes. *J Clin Microbiol* 37: 461-463.
- 7) Burnham, CA, KC Carroll. 2013. Diagnosis of *Clostridium difficile* infection: an ongoing conundrum for clinicians and for clinical laboratories. *Clin Microbiol Rev* 26: 604-630.
- 8) Humphries, RM, DZ Uslan, Z Rubin. 2013. Performance of *Clostridium difficile* toxin enzyme immunoassay and nucleic acid amplification tests stratified by patient disease severity. *J Clin Microbiol* 51: 869-873.
- 9) Origüen, J, L Corbella, MÀ Orellana, et al. 2017. Comparison of the clinical course of *Clostridium difficile*

- infection in glutamate dehydrogenase-positive toxin-negative patients diagnosed by PCR to those with a positive toxin test. Clin Microbiol Infect pii: S1198-743X(17)30431-7.
- 10) Bagdasarian, N, K Rao, PN Malani. 2015. Diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* in adults: a systematic review. JAMA 313: 398-408.
  - 11) 賀来満夫, 三鴨廣繁, 柳原克紀, 他. 2017. 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. 臨床微生物 27: 222-226.
  - 12) Sunkesula, VC, S Kundrapu, C Muganda, et al. 2013. Does empirical *Clostridium difficile* infection (CDI) therapy result in false-negative CDI diagnostic test results? Clin Infect Dis 57: 494-500.
  - 13) Han, SH, H Kim, K Lee, et al. 2014. Epidemiology and clinical features of toxigenic culture-confirmed hospital-onset *Clostridium difficile* infection: a multi-centre prospective study in tertiary hospitals of South Korea. J Med Microbiol 63: 1542-1551.
  - 14) Nakamura, I, T Yamaguchi, A Tsukimori, et al. 2014. Fulminant colitis from *Clostridium difficile* infection, the epidemic strain ribotype 027, in Japan. J Infect Chemother 20: 380-383.
  - 15) 矢口勇治, 上田淳夫, 中村浩司, 他. 2017. 糞便中 *Clostridium difficile* 毒素産生関連遺伝子検出キット Verigene CDF パネルの臨床的性能評価. 臨床微生物 27: 188-194.
  - 16) Alasmari, F, SM Seiler, T Hink, et al. 2014. Prevalence and risk factors for asymptomatic *Clostridium difficile* carriage. Clin Infect Dis 59: 216-222.
  - 17) Louie, TJ, B Byrne, J Emery, et al. 2015. Differences of the Fecal Microflora With *Clostridium difficile* Therapies. Clin Infect Dis 60: S91-S97.
  - 18) Polage, CR, CE Gyorke, MA Kennedy, et al. 2015. Overdiagnosis of *Clostridium difficile* Infection in the Molecular Test Era. JAMA Intern Med 175: 1792-1801.

Comparison of Two Commercially Available *Clostridioides difficile* Toxin Detection Assays/Glutamate Dehydrogenase Detection Assay Kits (The C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE, GE Test Immunochromato -CD GDH/TOX[Nissui]) to a toxigenic Culture Method

Hiromichi Suzuki<sup>1)</sup>, Yukihiro Toi<sup>2)</sup>, Junichi Chiba<sup>3)</sup>, Morihiko Sato<sup>4)</sup>, Yutaro Ono<sup>5)</sup>, Shigeyuki Notake<sup>6)</sup>, Tadatomo Ohyanagi<sup>7)</sup>, Hiroyuki Kunishima<sup>8)</sup>

<sup>1)</sup> Division of Infectious Diseases, Department of Medicine/Department of Clinical Laboratory Medicine, Tsukuba Medical Center Hospital

<sup>2)</sup> Department of Respiratory Medicine, Sendai Kousei Hospital

<sup>3)</sup> Department of Pathology/Department of Clinical Laboratory, Sendai Kousei Hospital

<sup>4)</sup> Department of Infection Control, Shonan Kamakura General Hospital

<sup>5)</sup> Department of Clinical Laboratory, Shonan Kamakura General Hospital

<sup>6)</sup> Department of Clinical Laboratory, Tsukuba Medical Center Hospital

<sup>7)</sup> Department of Clinical Laboratory/Department of Infection Control, St. Marianna University School of Medicine Hospital

<sup>8)</sup> Department of Infectious Diseases, St. Marianna University School of Medicine

We prospectively evaluated the performance of two *Clostridioides difficile* toxin detection assays/glutamate dehydrogenase (GDH) detection assay Kits (The C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE; QUIK CHEK, GE Test Immunochromato -CD GDH/TOX [Nissui] ; GE Test) at four facilities in Japan from May 2017 to October 2017. *C. difficile* was cultivated from 55 of 229 stool samples; toxin producing *C. difficile* was detected in 39 stool samples (71%). In comparison to the culture method, the positive concordance rate, negative concordance rate, positive predictive value, negative predictive value of GDH test were 91% (50/55), 99% (172/174), 96% (50/52), 97% (172/177) for QUIK CHEK, and 93% (51/55), 95% (166/174), 86% (51/59), 98% (166/170) for GE Test, respectively. As for the detection of toxigenic *C. difficile*, the positive concordance rate, negative concordance rate, positive predictive value, negative predictive value of the two toxin kits were same: 49% (19/39), 100% (190/190), 100% (19/19), 90% (190/210). Binary toxin gene (*cdt*) were detected in 4 stool samples and a *tcdC* mutation was detected in one stool sample. In conclusion, the GDH tests using the two kits showed high rates of concordance with the cultivation of *C. difficile*; however, the two toxin kits only detected the presence of toxigenic *C. difficile* in approximately half of the samples.