

Clostridium difficile 関連下痢症/腸炎について

国立感染症研究所 細菌第二部

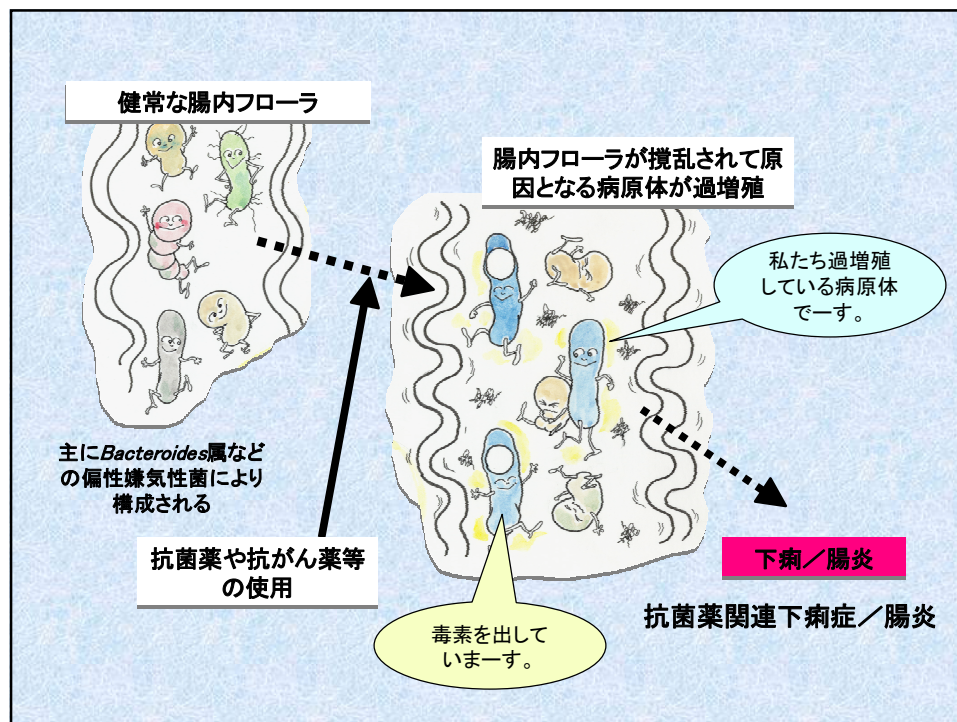
加藤はる

http://www.niid.go.jp/niid/bac2/C_difficile/



抗菌薬関連下痢症／腸炎

1. 消化管における抗菌薬の直接作用
2. 腸内フローラの攪乱
 1. 腸内フローラの変化による消化管の機能変化
 1. 消化管内胆汁酸代謝の変化による
 2. 消化管内糖代謝の変化による
 2. 特殊な病原体の過増殖(およびその病原体の産生する毒素による)



過増殖し抗菌薬関連下痢症の原因となっていると考えられている病原体

1. *Clostridium difficile* (毒素産生性)

2. そのほかに原因と考えられているものの確定されていない病原体

? *Klebsiella oxytoca* (細胞毒素産生 *in vitro*)

? *Clostridium perfringens* (エンテロトキシン産生性)

? *Staphylococcus aureus* (エンテロトキシン/ ロイコトキシン産生)

? *Candida* spp.

MRSA (メチシリン耐性 *Staphylococcus aureus*) 腸炎について

世界的には、抗菌薬関連腸炎の原因としては、
いまだに異論の多いところで――

検査法や動物実験モデルが
確立されていない。

1. *Clostridium difficile*に関する検査が陰性
 2. MRSAが過増殖
 3. 腸内細菌科の細菌が非常に少ない
 4. 他の病原体 (Rota virusやNoro virus)が陰性
- 等の条件を満たせば可能性が高い

*C. difficile*感染症を疑った症例からの3590検体中321検体でMRSAが分離され、そのうち上記クライテリアに合致した症例は13症例であり、11例で検体中の *S. aureus* enterotoxinが陽性であった。

Boyce, JM. et al. 2005 Am J Gastroenterol.100:1028-1034

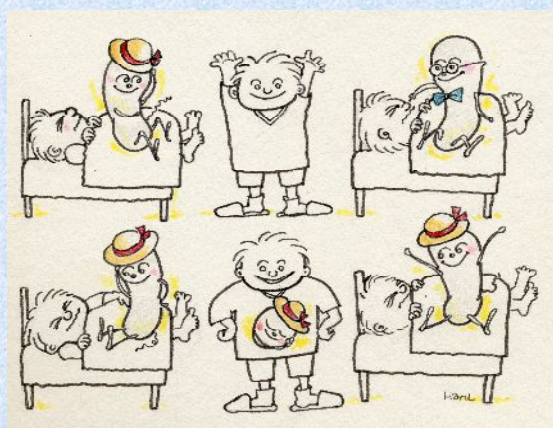
*Clostridium difficile*関連下痢症／腸炎

1. 抗菌薬関連下痢症／腸炎はすべて *C. difficile*による感染症ではない。
→適切な診断を行わずにバンコマイシンやメトロニダゾールによる治療を行うべきではない。
2. 偽膜性大腸炎 pseudomembranous colitis (PMC)は、内視鏡や外科手術、剖検で病理組織学的に診断される診断名である。
3. *C. difficile*関連下痢症では、必ずしも偽膜形成が認められるわけではない。
→内視鏡等で偽膜形成が認められなくても *C. difficile*関連腸炎の診断を否定できない。

*C. difficile*関連下痢症／腸炎の特徴

1. 軽度の下痢から、イレウス、消化管穿孔まで、症状に幅がある。
 - 重篤な症状をひきおこすことがある。
 - 下痢症状が認められない場合もある。
 - 入院症例では、無症候で消化管保有する場合も多い。
2. 再発例が多い。
 - 治療を困難なものとしている。
3. 院内感染の原因となる。
 - しばしば院内集団発生となる。

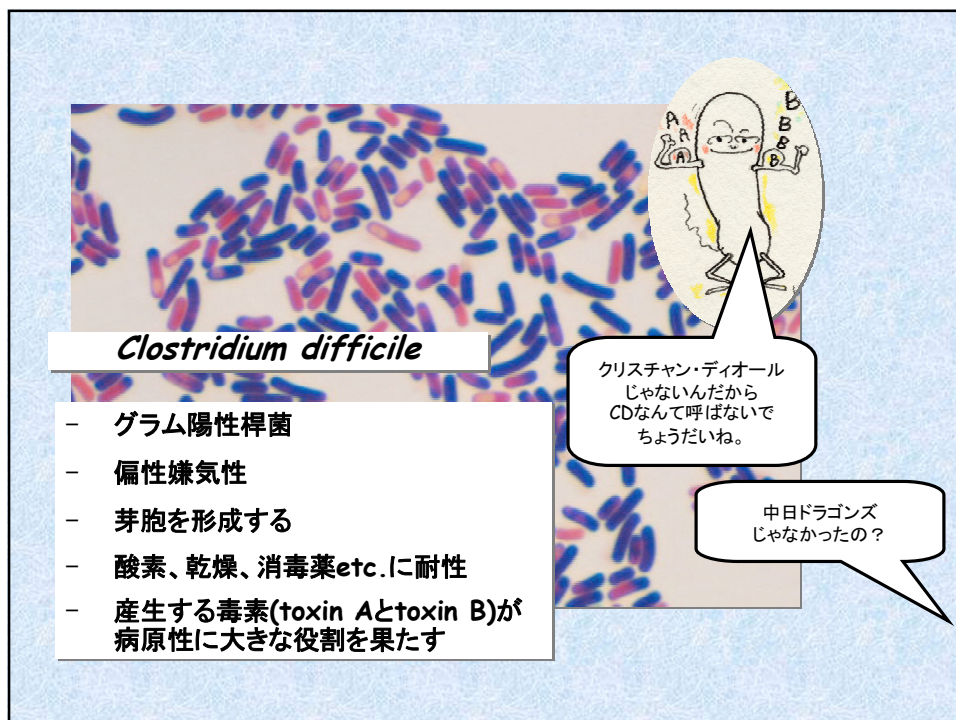
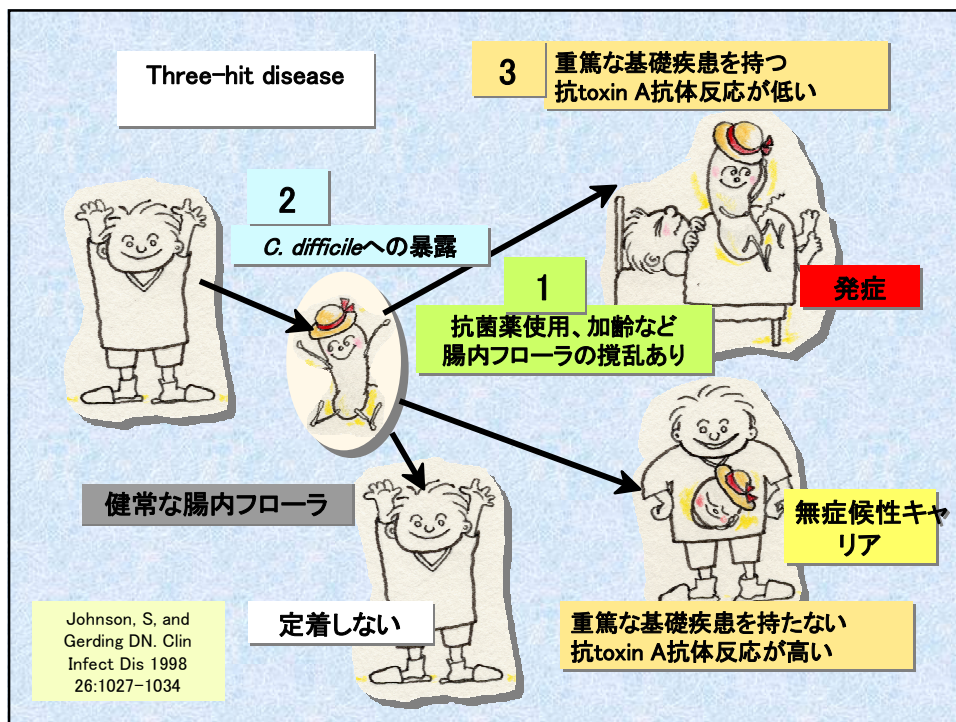
再発

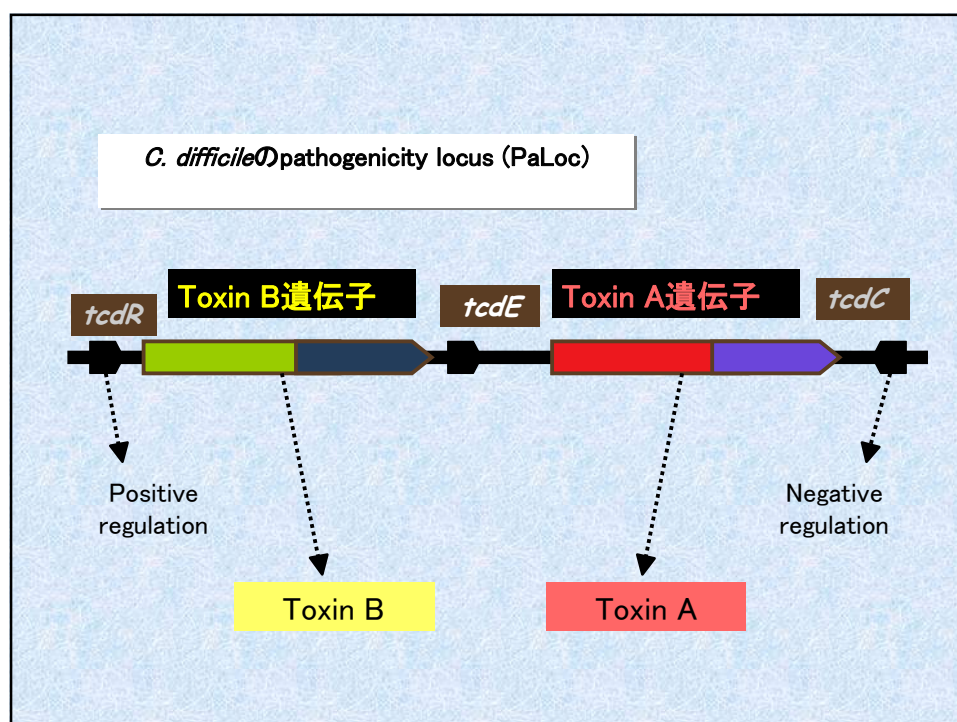
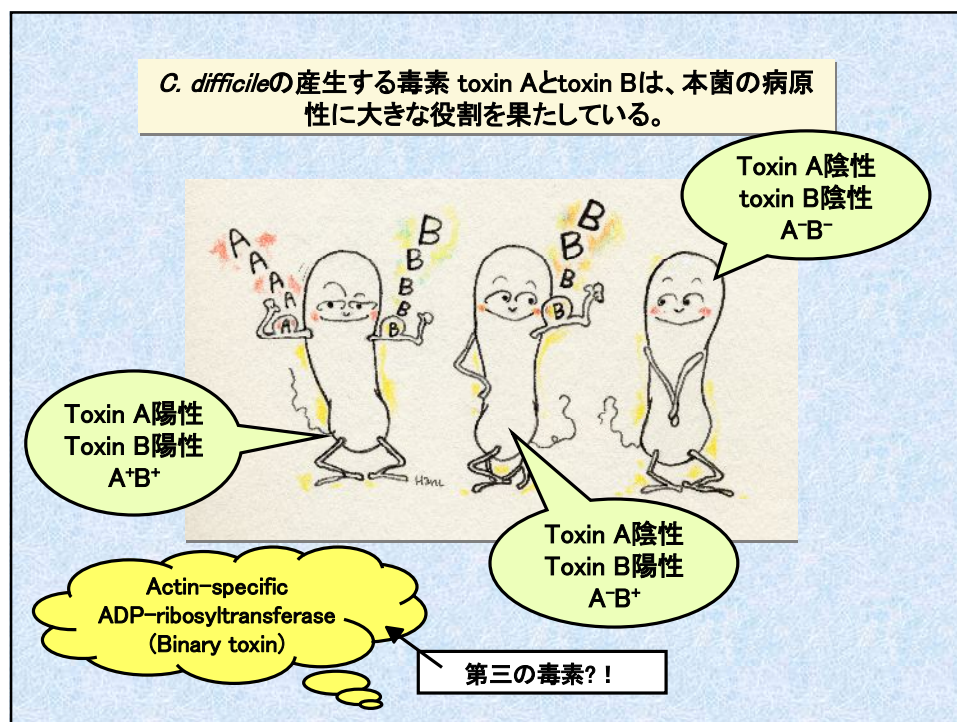


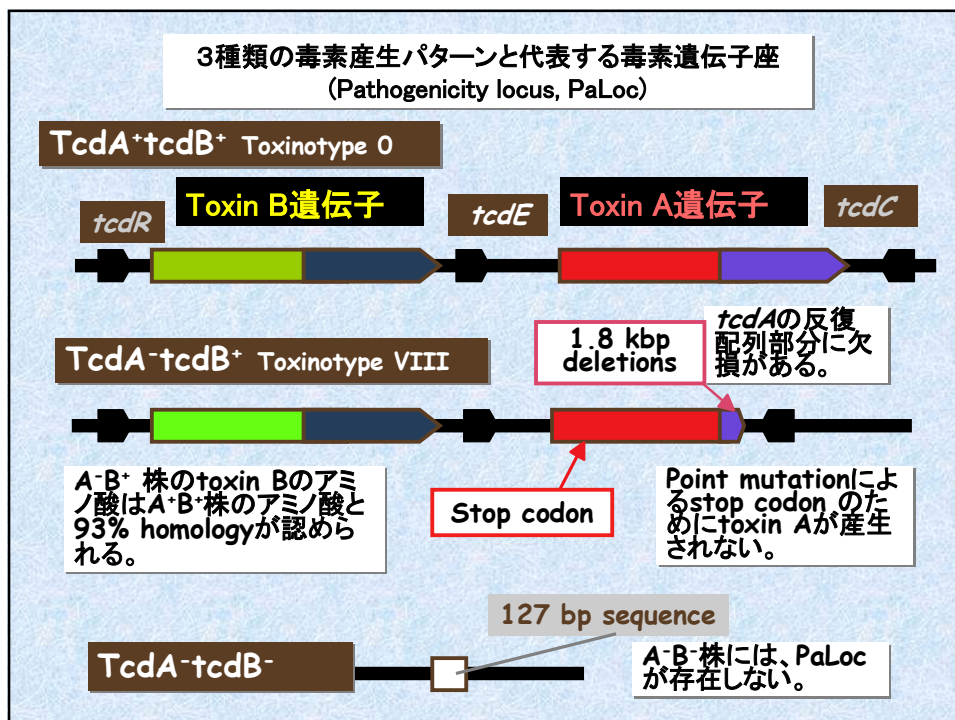
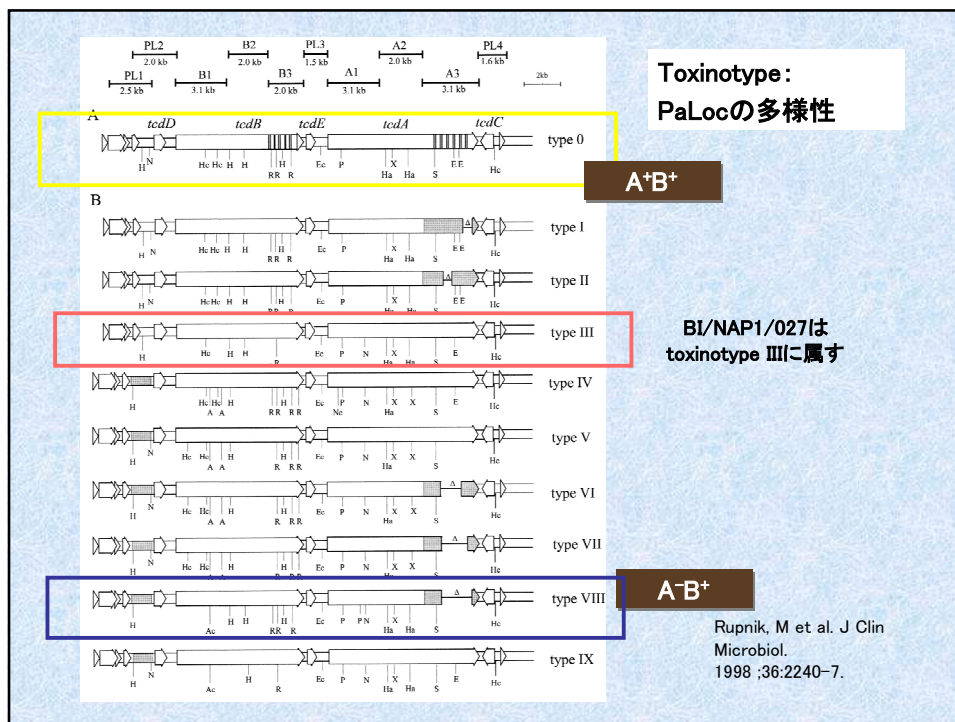
再感染

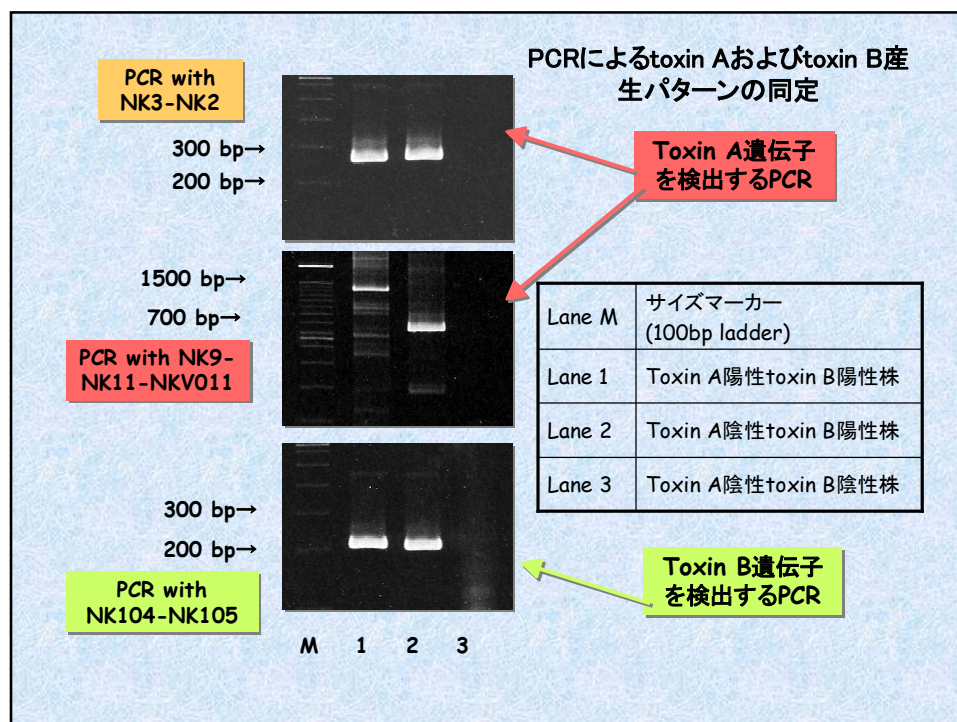
再燃

*C. difficile*関連下痢症は再発率が高く、治療を困難なものにしている。また、再発する症例は複数回再発することが多い。







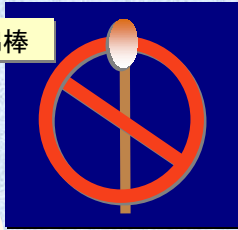


*Clostridium difficile*関連下痢症／腸炎の細菌学的検査

1. 糞便検体中の毒素検出
2. *C. difficile*分離培養
3. 分離菌株の毒素産生能の検討
4. 遺伝子検査

*C. difficile*関連下痢症／腸炎の細菌学的検査において最も重要なポイントは検体採取である！

禁綿棒





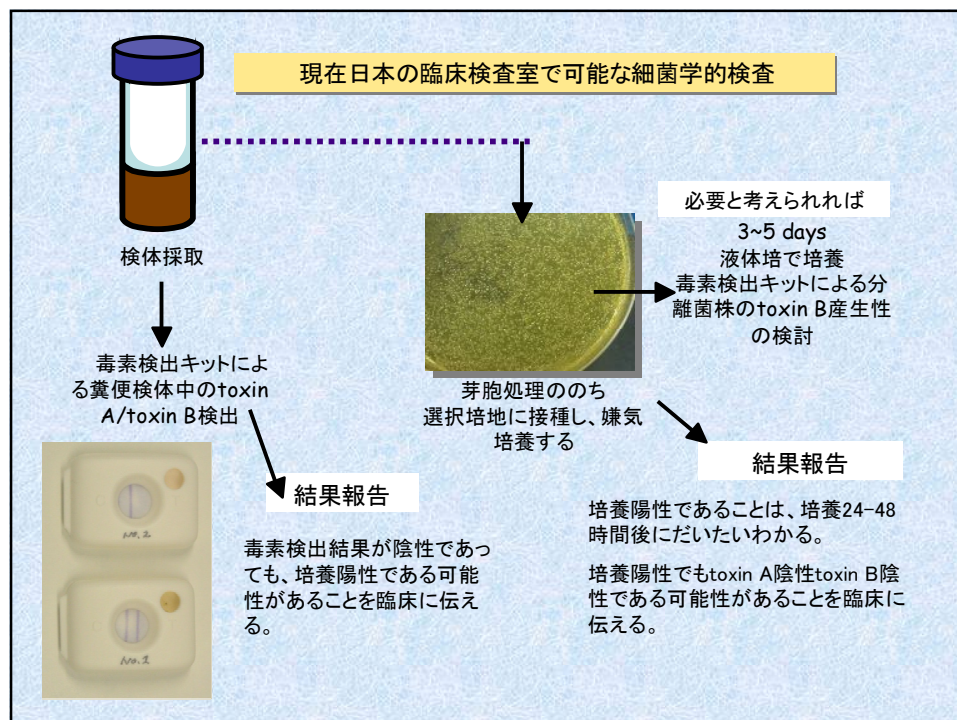
- 臨床的に*C. difficile*関連下痢症／腸炎が疑われる症例からの検体に限って検査を行う。
 - 消化管症状(おもに下痢症状)が認められる症例
 - (基本的には)無症候キャリアの検査や治療経過のチェック目的の検査は行わない。
- 充分量(5ml以上)の検体を採取する。
 - 嫌気培養用の輸送容器である必要はない。
- バンコマイシン等による治療開始前に検体採取する。
- *C. difficile*関連下痢症／腸炎を疑っていることを検査室に伝える。

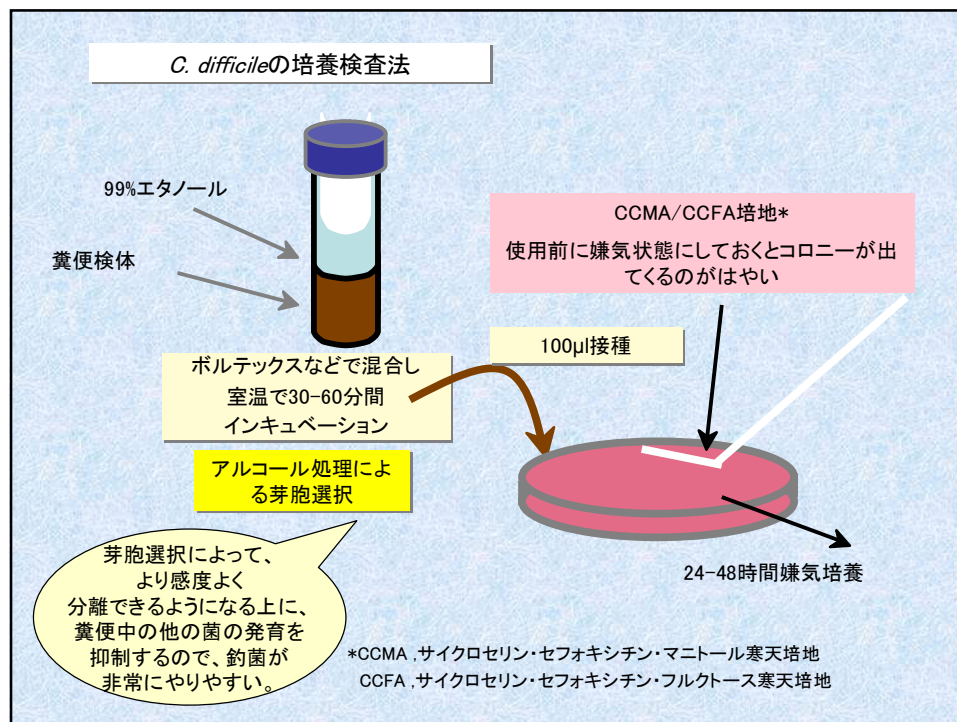
<i>C. difficile</i> 感染症の細菌学的検査の特徴		
試験法	利点	欠点
Toxin A/B検出 TOX A/B QUIK CHEK	A-B*による感染症も診断検査可能。 迅速かつ施行が容易。	細胞培養法によるtoxin B検出や <i>C. difficile</i> 培養と比較するとやや感度が低い。
<i>C. difficile</i>培養法	感度が良好。タイピング解析等による院内感染調査が可能。	嫌気培養が必要。 A-B株も分離されることに注意。
Toxin A検出 VIDAS CDA2 ユニクイック	迅速かつ施行が容易。	感度が細胞培養法や菌の分離培養法と比較するとやや低い。 A-B*による感染は診断できない。
Toxin B検出 細胞培養法 (中和試験)	感度、特異度ともに優れている。	病院の検査室では細胞の管理は難しい。 標準化されていない。
毒素遺伝子検出 (PCR, LAMP等)	感度が良好。 施行が迅速。	経済的かつ施行が簡易な方法の開発が必要。

CDチェックD-1(グルタメートデヒドロゲナーゼ検出検査)は、感度も特異度も低く経済的でもないので、単独での使用は*C. difficile*感染症の細菌学的検査としては適切ではない。

*C. difficile*分離培養検査

1. 毒素検出よりも感度が良好である。
2. Toxin A陰性toxin B陰性菌株の分離があり得る。
3. 院内集団発生が疑われた際に、タイピング等による菌株の解析が可能である。
4. 菌量が 10^3 cfu/g程度以上あれば、培養開始24時間後には陽性であることが報告できる。

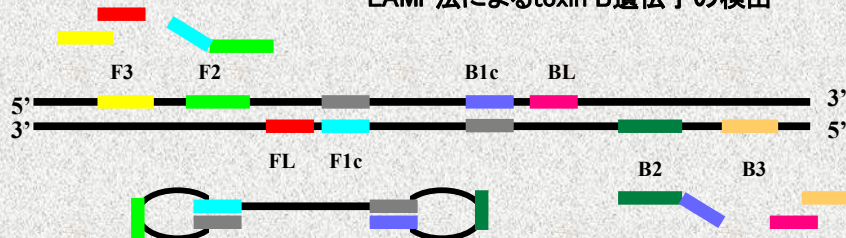




*C. difficile*分離培養検査を施行した方がいい場合

1. *C. difficile*感染症例が多い病院、病棟
2. 病院内でも特定の病棟
 1. 高齢者が多い病棟
 2. 大きな手術を施行した症例が多く入院する外科病棟
 3. 重篤な基礎疾患を持つ症例が多い病棟 などなど
3. 毒素検出検査を行い、結果が陰性であるが臨床的に*C. difficile*感染症が強く疑われる症例
4. 日常検査で毒素検出検査を行い、一定期間の症例数の増加や複数の下痢症例が続く等の、院内感染が疑われる場合

LAMP法によるtoxin B遺伝子の検出



Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法は、対象となる遺伝子において8プライマーを設計して行う遺伝子増幅法のひとつである。

PCR法と比較して、反応が迅速である。

増幅産物の検出を、濁度計あるいは蛍光色素反応によるので、電気泳動が不要であり、増幅産物による環境汚染のおそれがない。

<http://loopamp.eiken.co.jp/e/lamp/index.html>

Toxin B遺伝子検出用LAMPのプライマー

```

HK101-F3 → 5'-TTGAATTAAGTCAACTGCATTAGATGAAAC-3'
HK101-F2 → 3'-AACCTAATCATAGTTGACGTAATCTACTTTGATATCTGAATGAAGGATGTAATAGACTTC-5'

5'-GATTACCTATAATTGCAACTATTATAGATGGTGTAAAGTTTGGTGCAGCAATCAAAGAGC-3'
3'-CTAATGGATATTAACGTTGATAATATCTACCACATTCAAATCCAGTTCGTTAGTTTCTCG-5'
      ← HK101-FL      ← HK101-F1c

HK101-B1c → 3'-TAACTGAAACGAGTGACCCATTATTAAGACAGAAATAGAAGCTAAGATAG-5'
HK101-BL → 5'-ATTCACCTTTGCTCACTGGGTAATAATTCTGTTCTTTATCTTCGATTCATCCATATTA-3'

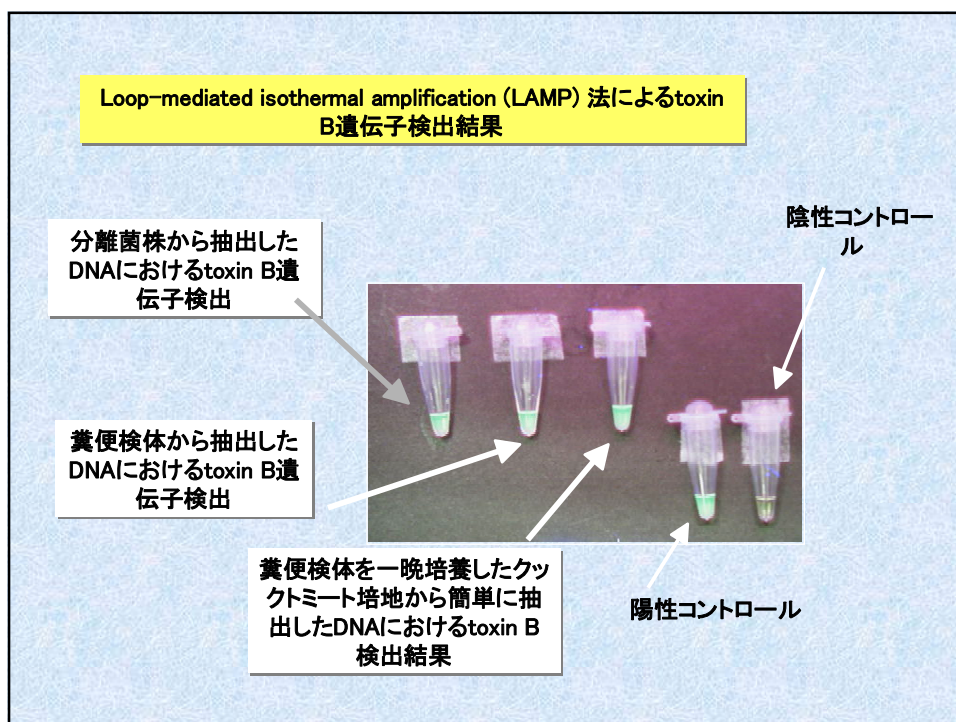
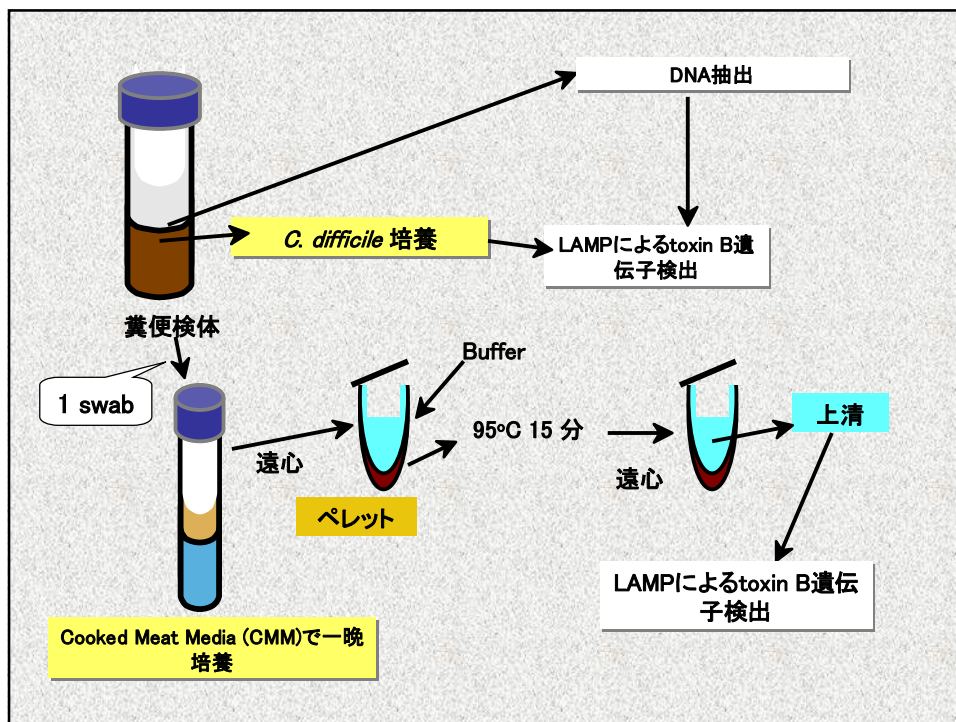
3'-CAGTAAATTTAACAACAGCTACAACGCAATCATTACTTCATCTTTGGGGATAGCTAGTG-3'
5'-GTCATTTAAATTGTTGTCGATGTTGACGTTAGTAATGAAGTAGAAACCCCTATCGATCAC-5'
      ← HK101-B2      ← HK101-B3
    
```

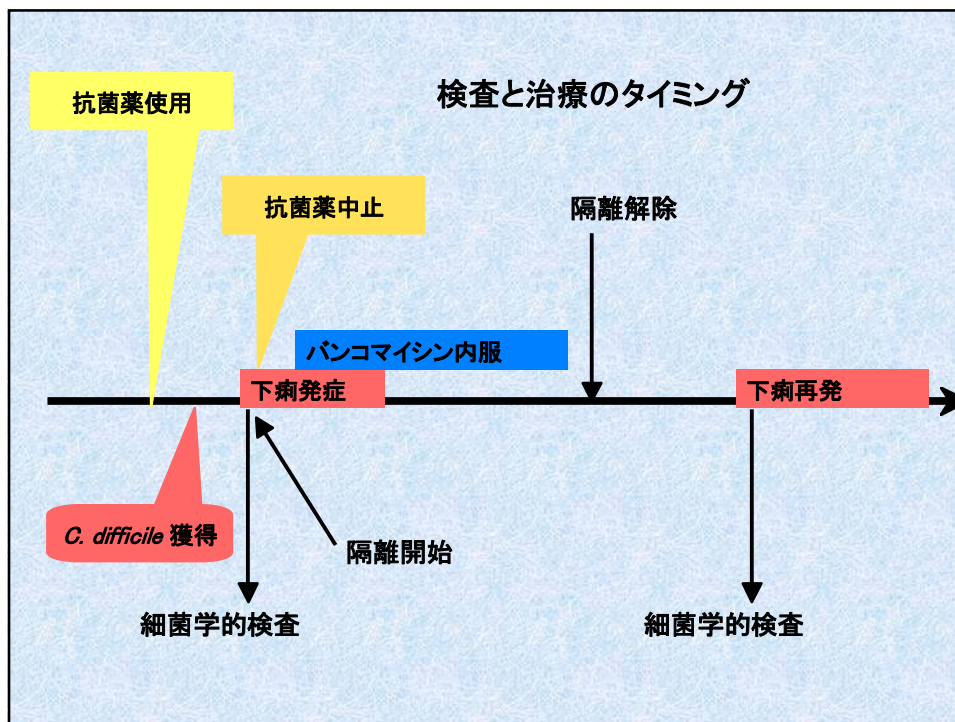
Primers for the LAMP (5'-3')

```

Outer primer
HK101-F3: GTATCAACTGCATTAGATGAAAC
HK101-B3: CCAAAGATGAAGTAATGATTGC
Inner primer
HK101-FIP: CTGCACCTAAACTTACACCATCTATCTTCTACATTATCTGAAGGATT
HK101-BIP: GAGCTAAGTGAACGAGTGACCCGCTGTTGTTAAATTTACTGCC
Loop-primer
HK101-FL: AATAGTTGCAATTATAGG
HK101-BL: AGACAAGAAATAGAAGCTAAGATAGG
    
```

Kato, H, *et al.* J Clin Microbiol 2005 43:6108-6112.

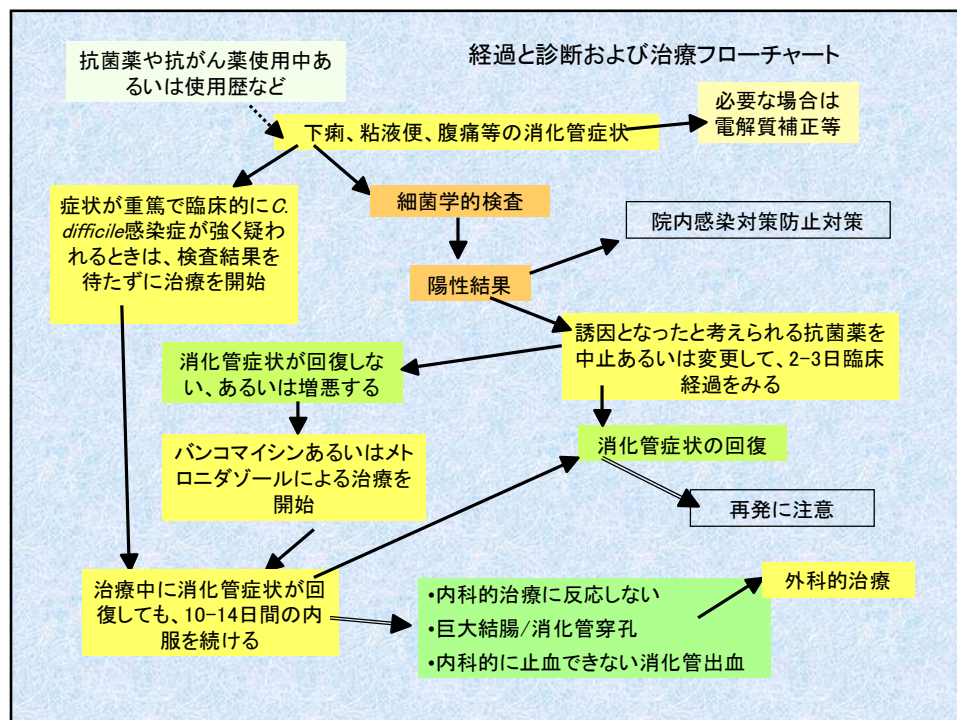




*C. difficile*関連下痢症／腸炎の治療

1. 誘因と考えられる抗菌薬使用中止あるいは変更する。
2. 必要な場合は、電解質補正等を行う。
→約20-25%の症例はバンコマイシン使用を必要とせずに回復する
3. *C. difficile*関連下痢症／腸炎が細菌学的検査により確認され、下痢症状が2-3日以上続く場合は、バンコマイシン内服(10-14 days)を開始する(メトロニダゾールは、米国では*C. difficile*関連下痢症／腸炎の治療のfirst choiceであるが日本では嫌気性菌感染症には保険適応になっていない)。
4. バンコマイシンを開始したら、10-14日間内服を続ける。通常、治療経過をみるための治療中や治療終了後の細菌学的検査は行わない。
5. 臨床症状が重篤で、臨床的に*C. difficile*関連下痢症／腸炎が強く疑われる場合は、検査結果を待たずにバンコマイシンを開始する。
6. バンコマイシン内服が難しい場合は、注腸などで直接消化管に注入することもある。
→バンコマイシンは静注しても消化管内腔では高い薬剤濃度は得られない。

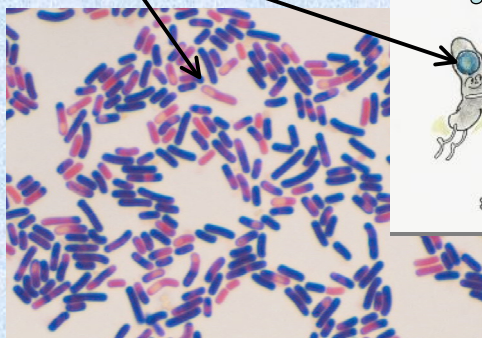
7. *C. difficile*関連腸炎では、塩酸ロペラミド等の消化管蠕動をとめる作用のある薬剤は使用してはいけない。
 8. 再発時の治療は初発時の治療と基本的には同じであるが、再発を繰り返す症例にはバンコマイシンのパルス療法や漸減療法が有効であったという報告がある。
 9. 以下のような症例には外科的治療が必要である。
 - 内科的治療に反応しない
 - Toxic megacolon
 - 内科的に止血できない消化管出血
 - 消化管穿孔
 10. 抗菌薬以外の治療
 - プロバイオティクス
Saccharomyces boulardii 等による再発予防効果が報告されている。
 - そのほか、毒素吸着薬や免疫学的治療の効果について検討されている。
- 4-11 無症候キャリアは治療しない。



*C. difficile*は偏性嫌気性菌であるが、院内伝播し、しばしば院内集団発生を引き起こす。

芽胞 (spore)

酸素や乾燥、消毒薬に耐性



な—んか、
このごろ、下痢症例
多くない？



カナダ、ケベックにおける*C. difficile*感染症例数の増加に関する報告

(Pepin, J. L. *et al.* 2004. CMAJ 171:466-72.)

- ① CDAD症例数の増加
1991年: 35.6症例/10万人 → 2003年: 56.3症例/10万人
- ② 65歳以上の高齢者におけるCDAD症例数の増加
1991年: 102.0人/10万人 → 2003年: 866.5 /10万人
- ③ 合併症(巨大結腸、消化管破裂、緊急腸切除が必要、ショック)が認められた症例の増加
1991年-1992年: 7.1% → 2003年: 18.2%
- ④ CDADと診断されてから30日以内に死亡した症例の増加
1991年-1992年: 4.7% → 2003年: 13.8%

感染予防対策の結果、現在はピーク時の50%程度まで減少したが、ベースラインまではもどっていない。(Loo, V, G. 2007. 2nd ICDS)

ケベックの12病院において認められた *C. difficile* 感染1703症例 (1719エピソード) を調べた検討

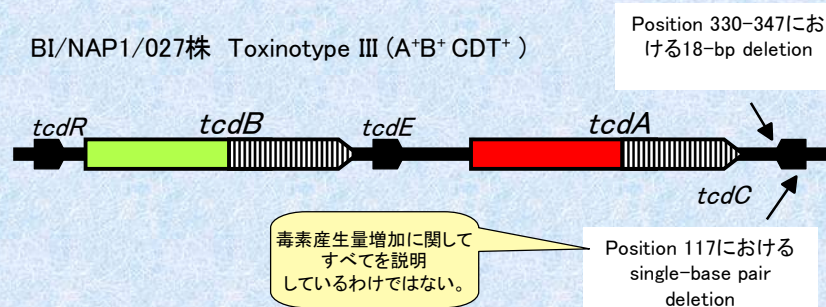
(Loo, VG *et al.* 2005. N Engl J Med 353:2442-9.)

1. CDADは22.5症例/1000入院に認められた。
2. 1703症例のうち、110症例がICUでの治療を、33症例が消化管切除術を必要とし、117症例が *C. difficile* 感染が原因で死亡した。
3. 分離された *Clostridium difficile* 157菌株を調べたところ、129株(82.2%)が同一のpulsed field gel electrophoresis (PFGE)解析により同一タイプであり、binary toxin遺伝子(*cdt*)が陽性であった。
4. コントロール症例と比較して、より多くの *C. difficile* 感染症例でフルオロキノロンおよびセファロスポリン抗菌薬が処方されていた。

現在、北米およびヨーロッパで流行している菌株の特徴

1. 毒素遺伝子変異型 Toxinotype III
2. Toxin Aおよびtoxin Bの産生量が *in vitro* で多い。毒素(toxin Aおよびtoxin B)産生において負の調節をしている遺伝子 *tcdC* に変異がある。

BI/NAP1/027株 Toxinotype III (A⁺B⁺ CDT⁺)



3. Binary toxin (actin-specific ADP-ribosyltransferase)を産生する。

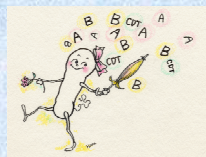
現在、北米およびヨーロッパで流行している菌株の特徴（続き）

4. 様々なタイピング解析により同一のタイプに属す。
 - Restriction Endonuclease Analysis (REA)によりtype **BI**
 - Pulsed field gel electrophoresis (PFGE)解析によりtype **NAP1** (North America PFGE type 1)
 - PCR ribotypingによりtype **027**
 - そのほかのタイピング法 (MLST, MLVA, AFLP, *slpA* sequence typing)によっても同一グループにタイプされる。
5. 1984–1990年に分離されている**BI/NAP1/027株 (historic)**が、ガチフロキサシンやモキシフロキサシンのような新しいニューキノロン抗菌薬に対して感性であることに對し、現在流行している**BI/NAP1/027株 (current)**は耐性である。

ヨーロッパでは、

英国、オランダ、ベルギー、フランスで、*C. difficile* 027による集団発生が認められ、

オーストリア、アイルランド、スイス、ルクセンブルグ、ポーランド、デンマークでも散发例が認められている。



BI/NAP1/027による院内感染を疑うとき

1. *C. difficile*感染症例数が増加している場合
2. より重篤な症状の*C. difficile*感染症例が増加していると考えられた場合
 - 治療(特にメロニダゾール内服)に対する反応が悪い症例
 - 再発を繰り返す症例
 - 開腹手術を必要とするような症例

ただし、

1. その医療施設における一定期間の*C. difficile*感染症例数が正しく把握されている
2. 各々の症例が適切に診断されている
——ことが前提となる

感染予防対策

1. *C. difficile*を獲得し感染症を発症する**宿主側のリスク**を軽減
2. *C. difficile*の**感染経路**を遮断

宿主側のリスクを軽減

抗菌薬の使用(処方)制限が感染予防に効果がある。

特に、*C. difficile*感染症に既に罹患歴のある症例は再発しやすいので、治療終了後2ヶ月間は抗菌薬の使用には注意が必要。

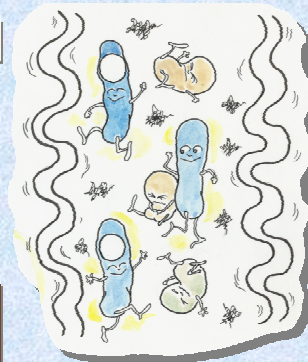
*C. difficile*感染症を誘因しやすい抗菌薬

古典的な誘因抗菌薬

- ・アンピシリン
- ・セフェム系抗菌薬
- ・クリンダマイシン

最近注目されている誘因抗菌薬

- ・フルオロキノロン系抗菌薬



フルオロキノロン使用と関連したoutbreakが報告されている

抗菌薬(広域スペクトラム抗菌薬、抗嫌気性菌作用のある抗菌薬)の**使用制限**が、*C. difficile*感染予防に効果的

***C. difficile*の感染経路の遮断**

1. *C. difficile*感染症例の個室隔離／コホーティング

便失禁のある症例や自分でトイレで排泄できない症例から優先的に隔離する。症例が多い場合は病棟ごと隔離する。

下痢症状が回復したとき、バンコマイシン治療終了時、あるいは、バンコマイシン終了3日後に隔離から解除する。

2. 接触予防策

1. *C. difficile*感染症例の排泄物を扱う際には、使い捨てプラスチック手袋を使用する。
2. 医療スタッフの手洗いは、まず、石けんと流水で物理的に洗うことが基本で、速乾性擦り込み式アルコール製剤はそのあと使用する（アルコールは芽胞には無効であることに注意）。

3. 環境清掃消毒

糞便で汚染されやすいところ、頻繁に接触するところを清掃消毒する。

*C. difficile*の芽胞を不活化し病院環境の消毒に安全に使用できる消毒薬がないので、現在のところ、次亜塩素酸ナトリウム（ブリーチ）を使用することが勧められている。

4. 医療機器の消毒

内視鏡等の、複数の症例に使用する医療機器の消毒に留意。