〈報 告〉

***Clostridium difficile* 感染症における迅速検査結果の解釈**

堀越 敦子

Interpretation of Quick Test Results in Clostridium difficile Infection

Atsuko HORIKOSHI

Department of Infection Control and Prevention, Osaka Nakatsu Saiseikai Hospital

(2013 年 10 月 18 日 受付・2014 年 2 月 18 日 受理)

要 旨

当院ではこれまで CDI の判定に毒素(トキシン A とトキシン B)のみを検知するキットを使用していたが、製造中止に伴い毒素に加え抗原の双方を検知できる製品に変更した。キットの変更により臨床現場が『抗原陽性、毒素陰性例』の解釈について混乱することが予測された。そこで『抗原陽性、毒素陰性例』に対し培養検査を実施し、発熱や炎症との相関を調査し、CDI 対策を追加すべきか否かを検討した。

2012 年 8～9 月の新キット直接法で『抗原陽性、毒素陰性』であった 31 例に対し、直接法での検体を用いて分離培養後、分離菌からの同キットでの再検査を行った。さらに下痢・発熱・炎症について調査した。下痢は 31 例全例に認めた。31 例中分離培養に成功した 24 例の再検査結果は、毒素陽性が 17 例、陰性が 7 例であった。「再検査による毒素陽性 17 例」において発熱は 17 例中 13 例(76.5%)に、12 例(70.6%)に炎症を認めた。一方「分離菌からの再検査毒素陰性 7 例および分離培養に成功しなかった 7 例」では、発熱は 14 例中 6 例(42.9%)に、6 例(42.9%)に炎症を認めた。

両者に有意差はなかったが、臨床所見から下痢・発熱・炎症を示す『抗原陽性、毒素陰性例』については CDI の可能性を否定できないものとし、今後『直接法での毒素陽性例』と同様に、速やかな接触感染対策の追加や治療開始の検討が必要であると考ええる。

Key words : *Clostridium difficile*, 迅速検査, 毒素, 抗原

はじめに

『*Clostridium difficile* 感染症(*Clostridium difficile* infection 以下 CDI)』は、抗菌薬関連下痢症の一つとして発症することの多い感染症であり、近年検査数・報告数の増えている注目すべき感染症である¹⁾。臨床症状として軽度の下痢からイレウス、巨大結腸症、消化管穿孔まで幅広く CDI が原因で死亡する症例もある²⁾。下痢や腹痛などの腹部症状以外にも発熱や白血球の上昇など多彩な症状を呈することがあり、再燃する症例も多い¹⁾。そして *Clostridium difficile* (*C. difficile*) は芽胞形成菌であり、CDI 対策には特別な対応が必要とされる。CDI 対策への早期介入のためにも CDI を速やかに診断する必

要がある。

当院ではこれまで CDI の診断にはイムノクロマトグラフィー法による糞便中の *C. difficile* 毒素(トキシン A およびトキシン B)を検知するタイプの迅速検査キット(TOX A/B QUIK CHEK「ニッスイ」®, 日水製薬㈱)を採用していた。しかしキットの製造中止に伴い、2012 年 6 月より毒素(トキシン A およびトキシン B)に加え抗原(グルタメートデヒドロゲナーゼ: GDH)の双方を検知できるもの(*C.DIFF* QUIK CHEK コンプリート®, アリーア・メディカル㈱)³⁾に変更することとなった。同キットの培養検査との毒素の相関性は、感度 88.5%・特異度 99.5%・陽性適中率 97.9%・陰性適中率 80.5%である。当院ではこれまで抗菌薬の使用歴があり、下痢などの消化器症状を呈する症例には CDI を

疑い迅速検査を行い、毒素陽性時は検査結果の返却と共に CDI として CDI 対策(隔離や治療の開始など)を追加してきた。しかし今回の検査キットの変更に伴い、『抗原陽性・毒素陰性』というパターンが生じることとなる。この結果から、臨床現場より『抗原陽性・毒素陰性』の場合 CDI 対策として隔離すべきかまた治療は必要かという意見が聞かれることが予測された。

これらのケースは、(1) 毒素非産生株であり CDI は否定される、(2) 偽陰性であり CDI である、(3) 抗原偽陽性であり CDI は否定される、の3つの可能性がある。感染対策上問題となるのは2の『偽陰性であり CDI である』場合である。CDI は重症化する症例も多く、感染対策への早期介入はキーポイントとなる。そこで新しい検査キットを使用した場合に、どのくらいの割合で偽陰性(見逃し症例)が存在するのかを知り、臨床所見との相関を調査することで検査結果をどのように解釈すべきか、また隔離や次亜塩素ナトリウムによる環境消毒などの CDI 対策を追加すべきか否かを明確にすることを目的に取り組みを行ったので報告する。

方 法

2012 年 8 月～9 月の 2 ヶ月間に新しいキットを使用して実施した *C. difficile* 迅速検査(直接法)にて『抗原陽性・毒素陰性』例をピックアップして分離培養を行い、分離菌を同キットにて再検することとした。

この期間に実施した迅速検査 155 例のうち、直接法での『抗原陽性・毒素陰性』となったのは 31 例であった。なお 31 例には同一患者で期間を空けて再度検査をし、『抗原陽性・毒素陰性』の結果を得た 3 例も含む。

分離培養には直接法で使用した検体を用い、迅速検査結果判明後直ちに分離培養を行った。培養の方法としてはエタノールと糞便検体を同量混合して攪拌後 30～60 分室温放置し、その後 CCFA 培地(日本 BD 株)に接種して 48 時間嫌気培養を行った。48 時間後、*C. difficile* 様のコロニー 3～5 個を QUIK CHEK コンプリート®希釈液 1 mL に混濁し、迅速検査キットにて再検を行った。

続いて、31 例の下痢の状況・37℃ 以上の発熱の有無・炎症の増悪の有無などの臨床所見について調査した。

更に、CDI に対する治療(vancomycin, または metronidazole 投与)開始の有無について調査した。

結 果

2 ヶ月間で実施した *C. difficile* 迅速検査(直接法) 155 例のうち『抗原陽性・毒素陽性』は 22 例、『抗原陰性・毒素陰性』は 102 例、『抗原陽性・毒素陰性』は 31 例であった(表 1)。直接法での『抗原陽性・毒素陰性』31 検体中、7 検体は菌を分離培養することが出来なかった。分離培養に成功した 24 検体について分離菌からの

表 1 新キット(*Clostridium difficile* キット)による迅速検査(直接法)の結果(2012 年 8～9 月)

抗原 \ 毒素	陽性	陰性	計
陽 性	22	31	53
陰 性	0	102	102
計	22	133	155

表 2 直接法「抗原陽性・毒素陰性例」31 例の分離培養後の分離菌からの再検結果と臨床所見(発熱)

発熱 \ 分離培養および分離菌からの再検結果	分離菌からの再検毒素陽性	分離菌からの再検毒素陰性および分離培養不成功例	計
あ り	13	6	19
な し	4	8	12
計	17	14	31

表 3 直接法「抗原陽性・毒素陰性例」31 例の分離培養後の分離菌からの再検結果と臨床所見(炎症の増悪)

炎症の増悪 \ 分離培養および分離菌からの再検結果	分離菌からの再検毒素陽性	分離菌からの再検毒素陰性および分離培養不成功例	計
あ り	12	6	18
な し	5	8	13
計	17	14	31

迅速検査を実施した。その結果は抗原は全て陽性、毒素に関しては 17 検体が陽性(70.8%)、7 検体が陰性(29.2%)であった。

臨床所見では、31 例全例に「軟便～下痢便」の何らかの便性変化を認めた。「分離培養に成功した 24 検体の再検毒素陽性 17 例」では発熱は 17 例中 13 例(76.5%)に認めた。炎症の増悪(発症前採血から CRP 1 mg/dL 以上の上昇、または白血球数正常範囲内から 10,000 以上に増加)は 12 例(70.6%)に認めた。一方「分離菌からの再検毒素陰性 7 例および分離培養に成功しなかった 7 例」では、発熱は 14 例中 6 例(42.9%)に、炎症の増悪は 6 例(42.9%)に認めた(表 2, 3)。

発熱・炎症の増悪ともに、 χ^2 検定では「分離菌からの再検による毒素陽性」例と「再検陰性および分離培養に成功しなかった」例に有意差は認められなかった。比較のため調査した同時期の『直接法による毒素陽性例 30 例』では、30 例中 25 例(83.3%)に発熱と炎症の増悪を認めている。

迅速検査(直接法)による『抗原陽性、毒素陰性』の検査結果を受けて、metronidazole または vancomycin に

よる治療が開始されたかどうかを調べた。31 例中、同一患者で期間を空けて再度検査をし『抗原陽性、毒素陰性』の結果を得た 3 例を除く 28 例について調査した。28 例中治療開始ありは 13 例、治療なしは 8 例、前検査で直接法により毒素陽性で既に治療開始済みの症例が 7 例であった。

「検査結果判明後、症状軽快するまで」の日数についても調査した。症状軽快の定義は「検査結果判明後、軟便および下痢が消失するまで」とした。

治療開始あり 13 例のうち 3 例は治療開始時点で既に症状消失済み(23.1%)であった。7 例が 2 日以内に症状消失(53.8%)し、1 例は 8 日で症状消失(7.7%)となった。1 ヶ月以上症状が持続した例が 2 例(15.4%)であった。

一方治療なし 8 例中 1 例は検査の翌日に転院となり判定不能であり、残り 7 例について調査した。7 例中 2 例が 2 日以内(28.6%)、4 例が 3～8 日で症状消失(57.1%)し、1 ヶ月以上症状が持続した例が 1 例(14.3%)であった。1 ヶ月以上症状の持続した 3 例の背景として、入院時より軟便～下痢持続が 1 例、経管栄養実施中が 2 例であり治療による効果の判定が困難であった。

考 察

発熱・炎症の増悪などの臨床所見については、症例数も少なく、有意な差はでなかった。しかし直接法にて『抗原陽性・毒素陰性例』31 例のうち分離培養後の再検で毒素陽性となった例の 7 割以上に発熱や炎症の増悪を認めた。また同時期の直接法での毒素陽性例においても約 8 割に発熱および炎症の増悪を認めている。これらのことから、下痢・発熱・炎症の増悪を示す例は、直接法で「毒素陰性」であっても「抗原陽性」であれば、「毒素偽陰性」の可能性が示唆される。よって『抗原陽性、毒素陰性例』31 例の分離培養後の再検で「毒素陽性」を示した 17 例は「偽陰性」であり見逃し症例であった可能性が高い。2012 年 8 月～9 月までの迅速検査実施のべ 155 例のうち、直接法で毒素が陽性となったのは 22 例(14.2%)であり、この 22 例に対しては CDI として結果判明と同時に感染対策や治療が開始されている。直接法で「毒素陰性」であっても、「抗原陽性」であり下痢・発熱・炎症の増悪を同時に認める場合は「毒素陽性」と同等とみなして感染対策や治療を行うと仮定すると、今回の場合はこの 22 例に分離培養後の再検で毒素陽性であった 17 例を加えた 39 例(25.2%)に対し速やかな CDI 対策を実践することが可能であったことになる。治療の開始が有症状期間の短縮につながったか否かについては、症例数が少なく今回の結果だけでは評価できない。しかし 2 日以内の症状消失について、治

療開始の有無で比較するとそれぞれ 53.8%(13 例中 7 例)と 28.6%(7 例中 2 例)であり、短縮につながる可能性もある。

以上のことから、下痢・発熱・炎症の増悪を示す『抗原陽性、毒素陰性例』については CDI の可能性を否定できないものとし、今後『直接法での毒素陽性例』と同様に、速やかな接触感染対策の追加や治療開始の検討が必要であると考ええる。*C. difficile* は芽胞形成菌であり、水平伝播防止には特別な対応を必要とする。具体的には石けんと流水による手指衛生、手袋やガウンなどの个人防护具の装着、1,000 ppm の塩素による環境表面の消毒、個室隔離またはコホート隔離など^{4,5)}である。菌株を用いた毒素検出では高い感度があるため、培養により菌が分離されていれば CDI の診断をより確実に行うことが可能である。『抗原陽性・毒素陰性例』に培養法を併用すれば全ての検査に培養法を併用するよりも労力やコストの削減となり、さらに感度の高い CDI 診断につながる事が期待される⁶⁾。しかし院内で実施できる検査には人的要因や経済的要因により限りがあり、それすらも実施出来ない場合もある。そのような場合、迅速検査(直接法)結果の解釈によってさらに CDI の感度を上げ、速やかな感染対策への介入を行うことが、現場の感染管理者として CDI 伝播防止に最大限寄与できることであると考ええる。今回の研究は臨床現場で検査実施などに制約のある中での取り組みとなり、データとしては症例数も少なく、十分な評価・考察には至らなかった。しかし、限られたデータの中で臨床所見や治療開始の有無による効果などを確認することで、当院として『抗原陽性・毒素陰性』の結果をどのように解釈して臨床現場にフィードバックするかの方向性を見出すことは出来た。

以上の取り組みから、当院としては、抗菌薬の使用歴があり直接法で「毒素陰性」でも「抗原陽性」であれば、下痢・発熱・炎症などの臨床所見を確認し認められた場合は速やかに感染対策への介入を行うこととした。このことが見逃し症例に対する感染対策介入の遅れを防ぐことになると考えた。

謝 辞：今回の研究において分離培養検査を行っていただいた検査技術部長高橋美由紀氏に深く感謝いたします。

利益相反について：利益相反はない。

文 献

- 1) 吉澤定子：医療関連感染症の新たな知見；腸管感染症対策の実践—*Clostridium difficile* 感染症—。小児内科 2012; 44(7): 1145–9.
- 2) 加藤はる：*Clostridium difficile* 関連疾患 (CDAD) vs ICT; *Clostridium difficile* 関連疾患について。感染対策 ICT ジャーナル 2008; 3(1): 11–8.

- 3) 山本由香梨, 大島利夫, 大菅 淳, 野宮沙織, 浅井さとみ, 宮地勇人: C.DIFF QUIK CHEK コンプリートによる *Clostridium difficile* 抗原およびトキシン A/B 検出の評価と運用について. 医療と検機器・試薬 2013; 36(3): 349-53.
 - 4) Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC, *et al.*: Clinical practice guideline for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infection diseases society of America (IDSA). Infect Control Hosp Epidemiol 2010; 31(5): 431-55.
 - 5) 尾家重治, 小林晃子, 古川裕之: *Clostridium difficile* の芽胞に対する次亜塩素酸ナトリウム清拭の消毒効果. 環境感染誌 2012; 27(5): 329-31.
 - 6) 赤羽貴行, 久住裕俊, 村山範行, 小穴こず枝, 川上由行: *Clostridium difficile* 抗原迅速診断キット(C.DIFF QUIK CHEK コンプリート)の有用性に関する検討. 日赤検査 2013; 46(1): 12-6.
- 〔連絡先: 〒530-0012 大阪市北区芝田2丁目10番39号
大阪府済生会中津病院感染管理室 堀越敦子
E-mail: a-horikoshi@nakatsu.saiseikai.or.jp〕

Interpretation of Quick Test Results in Clostridium difficile Infection

Atsuko HORIKOSHI

Department of Infection Control and Prevention, Osaka Nakatsu Saiseikai Hospital

Abstract

Until recently, the kit used in our hospital to determine *Clostridium difficile* infection (CDI) detected only toxins A and B. However, we recently switched to a kit that detects both toxins and antigens, after production of the previously used kit was discontinued. Accordingly, hospital staff expected that the change in kits could lead to confusion in the clinical setting concerning the interpretation of “antigen-positive toxin-negative” cases. To investigate whether countermeasures for CDI should be implemented, culture tests were performed for antigen-positive toxin-negative cases and correlations with fever and increased inflammatory marker values were examined. Isolation cultures were performed for specimens obtained from 31 antigen-positive toxin-negative cases, examined using the new kit with the direct method in August and September 2012. The isolates were then retested using the same kit. The presence of diarrhea, fever, and increased inflammatory marker values was also surveyed. Diarrhea was observed in all 31 cases. The preparation of isolation cultures was successful in 24 of the 31 cases. Retesting of these cases gave positive results for toxins in 17 cases and negative results in seven cases. Fever was observed in 13 cases (76.5%) and increased inflammatory marker values were observed in 12 cases (70.6%) of the 17 toxin-positive cases on retesting. Of the remaining 14 cases (seven toxin-negative cases on retesting and seven unsuccessful isolation culture cases), fever was observed in six cases (42.9%) and increased inflammatory marker values were observed in six cases (42.9%). There were no significant differences between the two groups. However, the possibility of CDI cannot be excluded in antigen-positive toxin-negative cases exhibiting diarrhea, fever, and increased inflammatory marker values. Therefore, contact infection countermeasures should be implemented quickly and treatment initiation should be considered in such cases in the future, as is now applied for toxin-positive cases identified using the direct method.

Key words : *Clostridium difficile*, quick inspection kit, toxin, antigen