

Clostridium difficile 感染症
(**CDI**: *Clostridium difficile*
infection)

第46回医療及び公衆衛生従事者のための
感染予防に関する研修会

2012.2.4(日) 15:45 ~ 16:30

アリーア メディカル(株)
営業企画推進部
営業人材開発/研修
原 哲郎

Clostridium difficile 感染症 (CDI)

- 嫌気性菌・*Clostridium* 属
- CDI・CDAD・AAD・PMC
- 危険因子・検査所見・臨床症状
- 検査法・*Clostridium difficile* の同定
- BI/NAP1/027株
- 診断・総合診断
- 治療・治療薬
- 予防・感染対策
- SHEA/IDSAガイドライン2010
- 製品・「C.DIFF QUIK CHEK コンプリート」
- 検査の流れ・訴訟

(偏性・絶対)嫌気性菌

Alere™

グラム(+)球菌

Peptococcus

Peptostreptococcus

Finegoldia

グラム(-)桿菌

Bacteroides

Porphyromonas

Prevotella

Fusobacterium

グラム(-)球菌

Veillonella

Acidaminococcus

Megasphaera

グラム(+)桿菌

Eubacterium

Bifidobacterium

Lactobacillus

Propionibacterium

Actinomyces

芽胞形成

Clostridium

Genus *Clostridium* (100種以上)

- ・ 土壌や生物の腸内などの酸素濃度が低い環境に生息する偏性嫌気性菌であり、酸素存在下では増殖できない
- ・ 芽胞を形成する

C.tetani : 破傷風

C.botulinum : 毒素型食中毒、乳児ボツリヌス症

C.perfringens : 毒素型食中毒、化膿性感染、
敗血症、ガス壊疽

C.novyi : ガス壊疽

C.difficile

Clostridium difficile 関連下痢症 / 腸炎 (**CDAD**; *C.difficile* associated diarrhea)

健全な腸内細菌叢 (**腸内フローラ**; バクテロイデス属を中心とした
偏性嫌気性菌が多い)

C.difficile を消化管内に保有している健全人は少ない (7 ~ 8%)

抗菌薬 (腸管内の嫌気性菌に抗菌作用を

有する薬剤が誘因となりやすい)、抗がん薬、ステロイド薬

クリンダマイシン、広域ペニシリン系薬、広域セフェム系薬、

カルバペネム系薬、キノロン系薬など

腸内細菌叢が攪乱 (菌交代現象)

AlereTM

原因となる病原菌の過増殖、毒素を産生 (放出)

↳ 抗菌薬関連下痢症 (AAD; antibiotic associated diarrhea)

「菌交代症」10 ~ 30%が *C.difficile*

- AADの多くの症例は「下痢症」であり「腸炎」ではないことが多い

「腸炎」の場合50 ~ 70%が *C.difficile*

- 細菌による炭水化物の分解が阻害され、腸内の浸透圧が上昇するために起こる「浸透圧性下痢症」がもっとも多く、この場合には「腸炎」(発熱・腹痛)は存在しない
- 偽膜を形成する原因微生物は *C.difficile*以外にもあるが、抗菌薬使用に関連したと判断される場合は、ほとんどが *C.difficile*が原因であるといわれている

Clostridium difficile 関連下痢症 / 腸炎

Alert

- ・抗菌薬関連 (誘因) 下痢症・腸炎の主要原因菌
C.difficile の他にMRSA、緑膿菌、*Klebsiella oxytoca*、カンジダ
- ・**偽膜性大腸炎 (PMC ; pseudomembranous colitis) の原因菌**
 - ・偽膜を形成する原因微生物は、*C.difficile* 以外にもあるが、抗菌薬使用に関連したと判断される場合は、ほとんどが *C.difficile* が原因であるといわれている
 - ・*C.difficile*による下痢症や腸炎のすべての症例で、消化管 (大腸) に偽膜形成が認められるわけではない
- ・***C.difficile*は院内感染の原因菌として重要**
 - ・**芽胞**を形成する菌
 - ・特に入院患者や老人ホーム入居者で**施設内集団発生**が頻発
 - ・同一タイプの菌株が病棟を越えて広がっており、**院内伝播**しやすい菌である

(日本流行菌株 北米流行株)

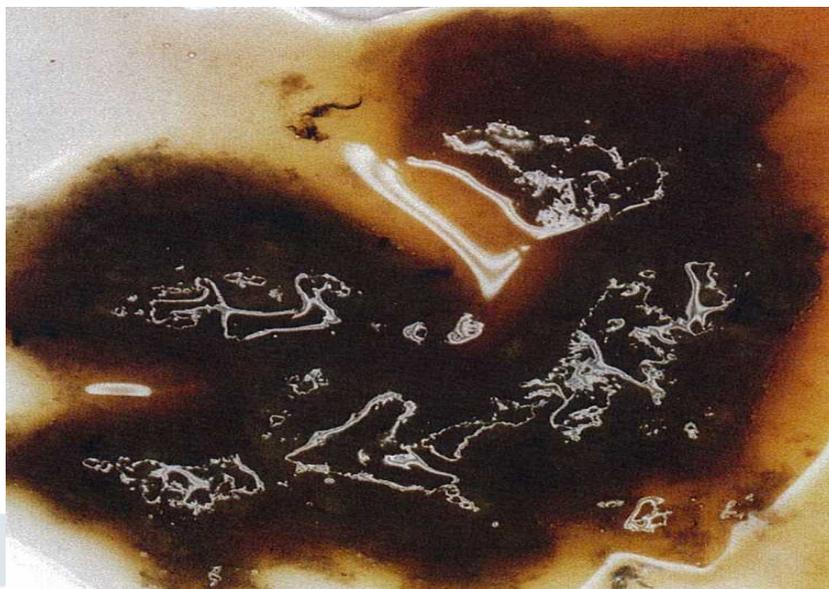
Clostridium difficile 関連下痢症・腸炎
発症のハイリスク患者

- ・高齡者
- ・基礎疾患が重症化している場合
- ・経鼻胃管挿管
- ・制酸剤の投与
- ・ICU入院歴
- ・長期入院経過中
- ・抗菌薬投与期間中
- ・抗菌薬の重複投与期間中

【臨床症状】

Alere™

- ・粘液血液を伴う下痢・腹痛・発熱(30%)・悪心・嘔吐
(比較的緩徐に発症)
- ・軽度の下痢症状から、腸閉塞、消化管穿孔、toxic megacolon (中毒性巨大結腸症)、さらには死に至る重篤な病態まで幅広く、**再発例**(再燃と再感染を含む)も多い
- ・再発性ディフィシル感染症の**リスク因子**として
 1. 抗菌薬の長期投与
 2. 長期間の入院
 3. 高齢(65歳以上)
 4. 大腸憩室の併発



膿粘血便(悪臭を伴う)

【検査所見】

1. 白血球数増多
2. CRP値上昇
3. 低アルブミン血症

**電解質異常や脱水を起こす重症例では、
痙攣を伴い数日で死亡する事もある**

【検査法】

AlereTM

無症候キャリアや治療経過をみるための検査は必要ない
嫌気性菌用輸送容器は特に必要ない

- 糞便検体採取(治療開始前に十分量 - 下痢便なら5 mL以上、綿棒での採取は行わない)
- ↳ 直接塗抹標本グラム染色(検体が新鮮でないとき白血球の検出が困難、*C.difficile*の存在の推定は難しい)
 - ↳ 検体中の抗原・毒素検出(簡易キット使用)
 - ↳ 分離培養(アルコール処理による芽胞選択:エタノールと糞便検体を同量混合、攪拌、30分~1時間室温放置)

選択分離培地(予備還元したCCFA培地/CCMA培地に100 μLをコラージ棒で塗布)

嫌気培養(24~48時間)

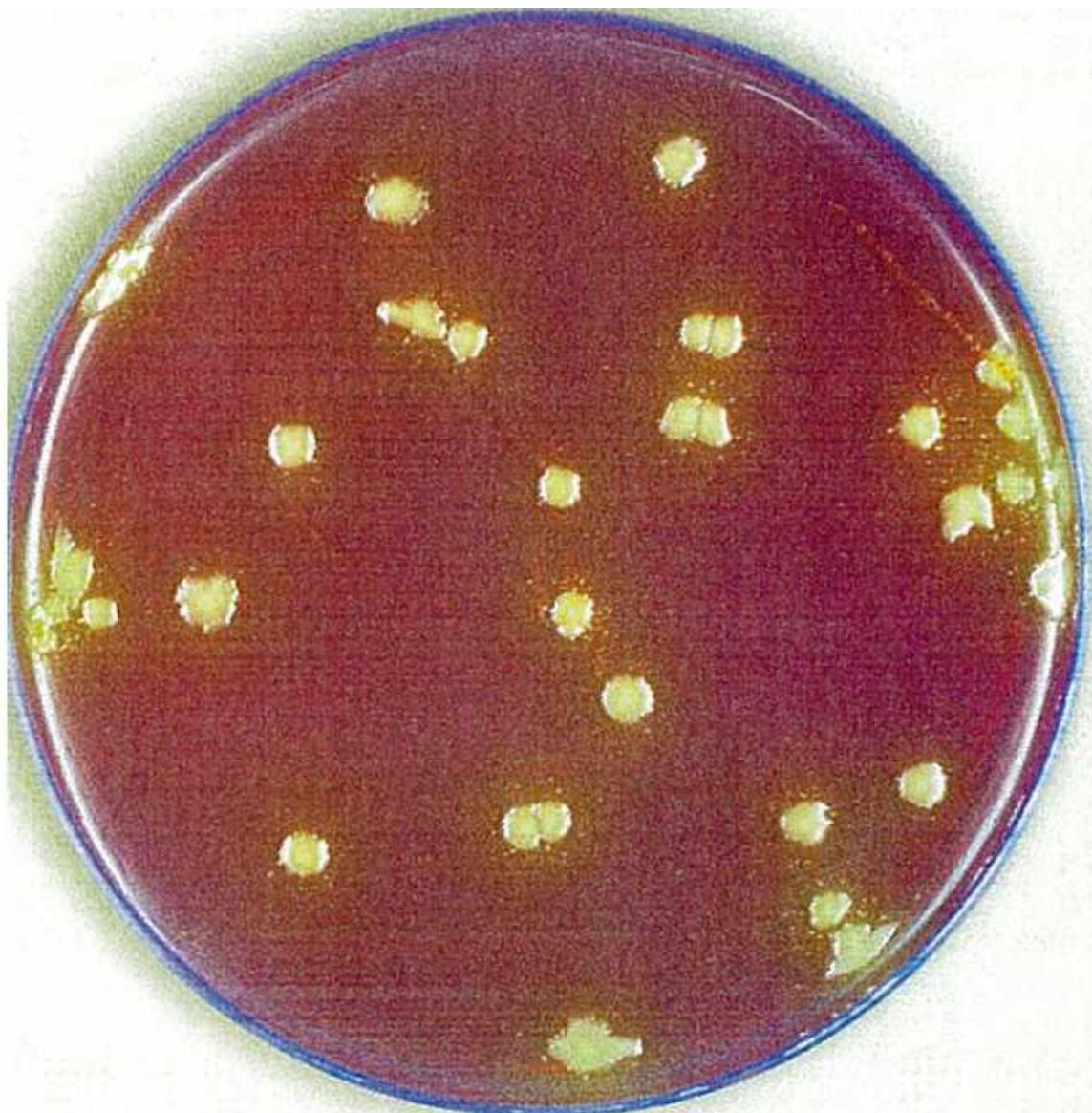
黄色コロニー(大きな黄色辺縁不整R型コロニー)

同定:グラム染色(グラム陽性桿菌)、ラテックス凝集反応による簡易同定
分離菌株の毒素産生性の検討:毒素遺伝子の検出(PCR)
継代培養:トキシンの検出、タイピング等による疫学的解析

【糞便検体を培養(48時間)したCCMA培地】

黄色辺縁不整のコロニーが認められる

表面の平滑な**辺縁整**の非定型的なコロニーを形成することもある



Alert



CCMA培地上のコロニー(48時間培養)のグラム染色

CCMAおよびCCFA培地では芽胞形成が悪いので、顕微鏡観察で芽胞が認めにくい。

Alert



ブルセラHK培地上のコロニー(48時間培養)のグラム染色
グラム陽性桿菌で、亜先端に卵円形の芽胞が認められる。

Clostridium difficile の同定

AlereTM

- グラム染色　グラム陽性大型の有芽胞桿菌
- 抗原 (GDH) による同定
(一夜培養の若いコロニーでは凝集反応では、認められないことがある)
- 分離菌株の毒素産生性の検討: **トキシンA/B**の検出
(簡易キット)
- 毒素遺伝子検出 (PCRなど)
- 非選択培地 (ブルセラHK血液寒天、変法GAM寒天など) に継代
保存: DNAタイピングによる**疫学的解析** (PFGE)
(医療関連施設におけるアウトブレイクでは同一クローンの菌株が伝播していることが多い)

BI/NAP1/027株

Alere™

2002年頃より欧米で強毒型 *C.difficile* によるアウトブレイクが問題となっている

BI/NAP1/027株:

制限酵素処理解析により**BI型**

PFGEにより **North America PFGE 1型**

PCRリボタイピングにより**027型**

Toxin A・Bの産生亢進

Binary toxinの産生:細菌話題となっている第三の毒素
actin-specific ADP-ribosyltransferase

カナダ、米国、ヨーロッパにおける流行が明らかになっている
本毒素を産生する菌株が分離された症例は臨床的に重症であった

ニューキノロン系抗菌薬に耐性を示す

BI/NAP1/027株の流行 (epidemic strain)

Alere™

- ・カナダ、米国で2000年ごろから *Clostridium difficile* 感染症例数 (5倍) が、特に高齢者 (8倍) で増加した
- ・重篤な合併症 (中毒性巨大結腸、消化管穿孔、緊急手術が必要、ショック) を伴う症例 (2.5倍) が増加した
- ・*Clostridium difficile* 感染症と診断され30日以内に死亡する症例 (3倍) が増加した
- ・2000年以前には、流行していなかったタイプの菌株が優勢になっていた
- ・ヨーロッパでは、英国、アイルランド、オランダ、ベルギー、ルクセンブルグおよびフランスで、アウトブレイクが報告された
- ・オーストリア、スコットランド、スイス、ポーランド、デンマーク、ドイツ、フィンランド、ノルウェー等において感染症例が報告されている
- ・トキシンAおよびBの産生量が多い (抑制遺伝子 *tcdC* の変異による)

BI/NAP1/027株による流行を疑う場合

- 再発を繰り返す症例、重篤な合併症を伴う症例、死亡例が認められたとき
- 医療施設内で、*Clostridium difficile*感染症例数が明らかに増加したとき
- 臨床診断および細菌学的検査が適切に行われていることが前提であり、それぞれの医療施設における一定期間の*Clostridium difficile*感染症発症率のベースラインが把握されている必要がある
- *Clostridium difficile*関連下痢症・腸炎は、その発症に宿主側因子の影響を強く受ける感染症なのでBI/NAP1/027株以外の菌株も、重篤な腸炎を引き起こし得ること、施設内アウトブレイクの流行株となることに留意
- BI/NAP1/027株による感染事例が疑われた場合は、保健所、地方衛生研究所、国立感染症研究所に適宜相談し、技術的支援を得ること
(厚生労働省医政局指導課からの事務連絡、平成19年4月2日)

Clostridium difficile 診断

Alert

1. 糞便の直接グラム染色(特徴ある形態、白血球の検出)
2. 糞便の分離培養検査(アルコール処理による芽胞選択、予備還元培地使用)

3. 糞便からの毒素の検出

Toxin A: 分子量(308,000)、腸管毒素(enterotoxin)

腸管ループ試験(陽性)、細胞毒性試験(陽性)

Toxin B: 分子量(269,000)、細胞毒素(cytotoxin、Vero細胞)

腸管ループ試験(陰性)、細胞毒性試験(陽性)

toxin Aの100～1000倍の細胞毒性をもつが、toxin B単独での細胞傷害性は弱く、toxin Aにより細胞透過性が亢進した状態でtoxin Bが細胞内に容易に入り込み強い細胞傷害性を発揮する。

腸管毒性はないが病原性に大きな役割を果たす。

毒素産生パターン：

toxin A (陽性) toxin B (陽性)

toxin A (陰性) toxin B (陽性)

toxin A (陰性) toxin B (陰性)の3パターンを示す

【診断】

- ・ **偽膜性大腸炎** (PMC; pseudomembranous colitis) は病理学的診断名
 - 大腸内視鏡検査・手術・剖検により偽膜(黄色味を帯びたプラーク)の形成が認められた場合に診断
- ・ 非特異的炎症を示す *C.difficile* 関連下痢症/腸炎も多いので偽膜形成を認めなくても、*C.difficile* 関連下痢症/腸炎を否定できない。
- ・ 大腸内視鏡検査下では、直径2～5mmの半球状の偽膜(白黄色の隆起)が直腸を中心に多発(固く粘膜に付着)
- ・ 内視鏡像ではこのような典型的な厚い偽膜を呈するもの(隆起型:図1)と、ごく淡い混濁した粘膜を呈するもの(薄膜型:図2)が存在する。

【診断】

AlereTM

- 1 . toxin test (enzyme immunoassay)
toxinAの変異により陰性と判定されてしまうことがある
- 2 . toxin test (cytotoxicity test)
toxin同定のゴールドスタンダード
便検体を、哺乳類の組織培地に toxin neutralizing antibody とともに培養し
判定する
- 3 . 便培養
「3day-rule」: 入院3日以上経過した患者の下痢症は、*C.difficile*のみ(場合により*K.oxytoca*)の培養でよい
- 4 . 内視鏡検査
好発部位は直腸からS状結腸の間
偽膜性腸炎の1/3の症例では、右側結腸にのみ偽膜が存在するため、S状結腸までの内視鏡では見つからないことがある
- 5 . 画像検査(CTなど)

【総合診断】

- ・臨床経過・臨床背景

 - 臨床症状(消化器症状、炎症反応所見など)

 - 抗菌薬使用などの発症誘因となる因子

 - 下痢・腸炎の原因となる他の原因がないか

- ・細菌学的検査結果

 - 糞便検体中毒素検出結果

 - 分離培養結果

 - 分離菌株の毒素産生性の検討

以上を総合して、診断する

【治療】

AlereTM

- ・*C.difficile*関連下痢症/腸炎の治療は、誘因となっている薬剤(抗菌薬や抗がん薬)の**投与中止が第一**
- ・2～3日で消化管症状が改善しない場合、あるいは臨床症状が重篤な場合は**バンコマイシン**(腸管から吸収されない)の内服(500～1,000mg/日、分4、10日間)を行う **乱用は慎む**
- ・芽胞が残ると再燃する場合がある **パルス(間歇)療法**
- ・欧米では薬剤価格の問題(**安価**)と**バンコマイシン耐性菌出現**への危惧から**メトロニダゾール**が第一選択薬 日本では*C.difficile*感染症に保険適応なし
- ・内科的治療が奏功しない、あるいは消化管穿孔やtoxic megacolon(中毒性巨大結腸症)が認められる重症例では、消化管手術が必要。
- ・抗菌薬以外では、*Saccharomyces boulardii* に代表されるプロバイオティクスや毒素吸着薬(陰イオン結合型レジン)が注目されている。

治療薬

AlereTM

軽症～中等症

- **メロニダゾール(経口)** 1,000mg/日(分4)または
1,500mg/日(分3)、10～14日間

重症

- **バンコマイシン(経口)** 500～1,000mg/日(分4)、
10～14日間

経口投与困難な場合は胃管チューブ
あるいは注腸による投与

- **メロニダゾール(静注)** 500mg/回 6時間ごと、
10日間

【予防】

- **抗菌薬の使用制限**が最も効果的
特に抗嫌気性菌作用の強い抗菌薬や広域スペクトルの
抗菌薬の過剰使用の制限が必要
- 水平感染予防策：手指洗淨・消毒
芽胞状態の菌はアルコール・ヨード消毒薬には耐性
石ケンと流水による十分な手洗いが必須
- 環境からの感染予防
0.1～0.5%次亜塩素酸ナトリウム、
2W/V%グルタール、
0.3W/V%過酢酸

感染対策

1. 発症患者の個室収容: トイレの有る個室、衝立・カーテンの使用(物品の共有や接触の機会を減らす)
2. 石けん・流水による**手洗いの徹底**: 有芽胞菌、高水準消毒薬、手袋を着用していても手洗いは必要
3. **防護具の使用**: 手袋・ガウン・エプロンの着用
4. 排泄物の処理・消毒: 感染性廃棄物、次亜塩素酸Naで清拭消毒
5. 環境整備: 患者周囲の次亜塩素酸Naによる清拭消毒
6. 医療器具の取り扱い: 患者専用(血圧計・聴診器など)、次亜塩素酸Naによる浸漬消毒
7. リネンの取り扱い: 80 以上の熱水洗濯
8. **患者・家族への教育: 手洗い方法及び手洗いの励行の指導**

SHEA-IDSAガイドライン2010年

Ale

SHEA-IDSA GUIDELINE

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)

Stuart H. Cohen, MD; Dale N. Gerding, MD; Stuart Johnson, MD; Ciaran P. Kelly, MD; Vivian G. Loo, MD;
L. Clifford McDonald, MD; Jacques Pepin, MD; Mark H. Wilcox, MD

SHEA(米国病院疫学学会)及びIDSA(米国感染症学会)は2010年に合同で成人におけるCDI(C.difficile感染症)の診療に関するガイドラインを最新の知見に基づいて改訂しました。

SHEA-IDSAガイドライン2010年

Alere™

ガイドラインは全部で36項目の推奨事項からなるがそのうち5. ~ 12. までの8項目が検査に関する推奨事項である

5. *C.difficile* またはそのtoxinの検査は、*C.difficile*によるイレウスが疑われなければ**下痢便**で行うべきである。
6. **症状がない患者での便検査は有用でない**。疫学的研究以外で推奨しない。
7. 便培養は最も感度が高く、疫学的研究に効果的である。
8. 便検査は発育時間が遅いので臨床的に実践的でないが、熟練した検査室が施行した場合は、便培養、Toxin産生株の分離は感度・特異度において他の検査より優れている。
9. EIA法でのToxin A, Bの検査は迅速だがcell cytotoxin assayに比べると感度が低いため、代替手段となっている。
10. Toxin 検査は臨床的に最も重要だが、感度が問題である。案としてGDH(Glutamate dehydrogenase)のEIA検出を行い、陽性例に対してCell cytotoxicity assayあるいはtoxigenic cultureを行う。GDHキットによってその結果は異なるため、GDHに対する感度のデータがそろくまでは暫定的推奨としておく。
11. PCRは迅速で感度、特異度がよく最終的に有用な検査手段の可能性はある。ルーチンとして推奨されるまでは今後の有用性に関するデータが必要である。
12. **下痢の複数回の検査は効果が限定されており、推奨されない**。

【製品】

AlereTM

(E49) クロストリジウムデフィシルキット、保険点数:80点、判断料:144点、合計:224点

(05) AR (凝集反応)

- ・ C.D.チェック・D-1 三菱化学メディエンス、シオキ製薬

*C.difficile*が有する酵素(GDH;グルタメートデヒドロゲナーゼ)を検出

(25) CG (クロマトグラフィー)

- ・ TOX A/B QUIK CHEK「ニッスイ」 日水製薬

トキシンAとBは区別できない

- ・ クロストリジウムデフィシルトキシンA検出キット「ユニクック」関東化学
- ・ X/Pect Clostridium difficile Toxin A/B 関東化学

トキシンAとBは区別できない

(40) EIA (酵素免疫測定法)

- ・ イムノカードC.デフィシル テイエフビ-

*C.difficile*が有する酵素(GDH;グルタメートデヒドロゲナーゼ)を検出

- ・ イムノカード CD トキシンA&B テイエフビ- トキシンAとBは区別できない

- ・ バイダス アッセイキット CDA2 シスメックス

C.DIFF QUIK CHEK コンプリートの特徴

- ・抗原 (GDH) とトキシンA/Bが同時に検出できる
- ・抗原 (GDH) については高感度で培養法と90%以上で一致
↳GDH陰性の場合には培養を省略可能
- ・トキシンA/Bについても既存製品に比べ高感度 (特にトキシンB)
- ・保存剤にチメロサル (水銀化合物) を使用していない

便検体について培養同定を実施した場合

細菌培養同定検査のうち「2」消化管からの検体 (D018-2)

実施料: 140点 判断料: 150点

注: 同一検体について一般培養と併せて嫌気培養を行った場合は80点を加算する。

留意事項: 嫌気培養のみを行った場合は区分「2」の所定点数のみ算定し注: (80点) の加算はできない

各判定の考え方



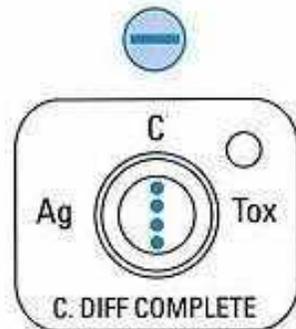
抗原及び毒素陽性

クロストリジウムディフィシルの毒素産生株の存在を示す



抗原陽性

クロストリジウムディフィシルの存在を示す。毒素に関しては非産生株の可能性と毒素産生株だが検出感度以下のため検出できなかった可能性の両方を考慮する 医師による臨床症状、疫学情報等を考慮した治療方針、追加試験(培養他)の決定が必要



陰性

否定はできないがクロストリジウムディフィシルの関与の可能性は非常に低いと考えられる

2ステップの検査の流れを1度に

GDH 及びトキシン
A/Bスクリーニング

99% NPV

88%



全検体の77%

除外



全検体の11%

治療



全検体の12%

判断が必要

全検体の88%が約30分で治療方針が決定できます

(製造元におけるN=1126 検体による細胞毒性試験との比較データより)

GDHは培養法の代わりになるか 添付文書データより

表2 抗原検出：培養法との相関性

		培養法		合計
		陽性	陰性	
本キット	陽性	58	2	60
	陰性	2	54	56
合計		60	56	116
陽性一致率		96.7% (58/60)		
陰性一致率		96.4% (54/56)		
全体一致率		96.6% (112/116)		

培養法陽性、本キット陰性の2例は、培養法で菌数の少ない例であった。培養法陰性、本キット陽性の2例は、本キットの偽陽性と考えられた。

添付文書データ

Alere

表4 トキシン検出：細胞培養法との相関性

		細胞培養法		合計
		陽性	陰性	
本キット	陽性	46	1	47
	陰性	6	213	219
合計		52	214	266
陽性一致率		88.5% (46/52)		
陰性一致率		99.5% (213/214)		
全体一致率		97.4% (259/266)		

細胞培養陽性、本キット陰性の6例は、対照法Cは陰性であった。
細胞培養陰性、本キット陽性の1例は、対照法Cは陽性であった。

高感度なC.DIFF検査が必要な理由

AleraTM

さぬき市民病院医療事故、6100万円で和解へ / 香川四国新聞 2007年6月29日

http://www.shikoku-np.co.jp/kagawa_news/social/article.aspx?id=20070629000137

さぬき市民病院(香川県さぬき市市寒川町)で2004年11月、出産後入院していた女性 = 当時(31) = が死亡する医療事故があり、市は28日までに、女性の遺族に約6100万円を支払うことで和解する方針を固めた。29日、市議会6月定例会に病院事業会計補正予算として追加議案を提出する。

関係者らによると、女性は04年11月4日、同病院で男児を出産。同7日から発熱が続いたが、医師は産褥(じょく)熱などと診断し、抗生物質を投与していた。同18日、容態が悪化したため香川医大付属病院に転院したが、同21日、転院先で死亡。死因は偽膜性大腸炎だった。

病院は、女性の遺族から経緯の説明を求められ、医療事故対策委員会を立ち上げ原因を調査。その結果、「偽膜性大腸炎と診断できず、治療が遅れた」と判断、双方の代理人らが和解交渉を続けていた。和解金は6137万円。責任の明確化をめぐって、市は28日、「病態の変化に関する十分な認識を欠き、診断と治療が遅れた」として、当時の主治医を訓告処分とした。

ご清聴有難う御座いました

AlereTM

アリーア メディカル(株)

〒160 - 0023

東京都新宿区西新宿1 - 24 - 1

エステック情報ビル 18階

TEL 03 - 5326 - 7747

FAX 03 - 5326 - 7177

URL <http://www.alere.co.jp>

お客様相談室 0120 - 1874 - 86