

*Clostridium difficile*について ～臨床検査技師の立場から～

福岡県済生会八幡総合病院
中央検査部 細菌検査室
田村 優樹

*Clostridium difficile*とは

- 0.5×6～8μmほどの偏性嫌気性グラム陽性桿菌
- 垂端在性の楕円形の芽胞を産生する
→ アルコールに抵抗性を示す
- 本菌の異常増殖と毒素産生によって、抗菌薬関連下痢症 (AAD) や偽膜性大腸炎 (PMC) などの *C. difficile* 関連下痢症/疾患 (CDAD) を引き起こす
- 院内感染対策上重要な菌
→ 接触感染対策が必要

*C. difficile*のグラム染色像



*C. difficile*の病原性

産生する2種類の毒素が大きな役割を果たしている。

- ① トキシンA：腸管毒素
- ② トキシンB：細胞毒素

*C. difficile*の毒素産生性による分類

- ① トキシンAならびにトキシンBの両毒素を産生する菌株 (A+B+)
→ 病原性あり
- ② トキシンBは産生するがトキシンAは産生しない変異株 (A-B+)
→ 病原性あり
- ③ 両毒素とも産生しない非病原性株 (A-B-)
→ 病原性はないといわれている

*C. difficile*感染症の発生機序

- ① 胃の酸性度に耐性を示す芽胞を経口摂取することにより、*C. difficile*が獲得される。
↓
- ② 芽胞は小腸内で発芽して栄養型の細菌になる。
↓
- ③ 抗菌薬に曝露することによって正常大腸細菌叢が変化し、*C. difficile*が増殖、成長し、大腸炎の原因となる菌体外毒素(トキシンAおよびトキシンB)を産生する。

C. difficile感染症の主な危険因子

- ① 抗菌薬への曝露
- ② 入院
- ③ 高齢 等

糞便検体採取について①

- CDADが疑われる症例からの検体において検査を行う。
→ 無症候キャリアや治療経過のチェック
目的に検査を行う必要はない。



症状が軽快してもC. difficileを保菌しトキシンが持続的に陽性となることがある。

糞便検体採取について②

- 治療開始前(抗菌薬投与前)に検体を採取する。
→ 培養検査では抗菌薬投与後に検体を採取すると結果が偽陰性となる可能性がある。

C. difficileの検査法

検査法	検出対象
トキシンB検出法	トキシンB活性
トキシンA&B検出法	トキシンAおよびトキシンB抗原
トキシンA検出法	トキシンA抗原
抗原検出法	GDH(グルタミン酸脱水素酵素)
分離培養法	菌体
トキシン遺伝子検出法	トキシン遺伝子

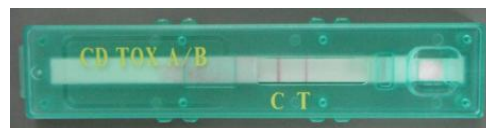
トキシンB検出法(細胞培養法)が検査法のGold standard

糞便中トキシンA&B検出法の特徴

- 細胞培養法に比べ検出感度は劣るが、短時間(30分程度)で検出が可能(分離培養法は2日程度かかる)
- 結果が陽性でもトキシンAおよびトキシンBの区別はできない
- 分離培養より感度が悪いので、トキシンA&B検出法が陰性であっても、CDADを否定できない場合がある

当院での糞便中トキシンA&B検出法の実際

GEテストイムノクロマト-CD TOX A/B「ニッセイ」による陽性例



糞便中トキシンA検出法の特徴

- 細胞培養法に比べ検出感度が低く、さらに、A-B+株は検出できない
→ A+B+株のみ検出可能

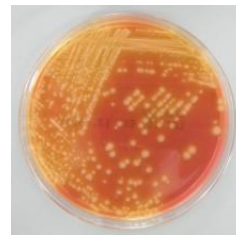
糞便中*C. difficile*抗原検出法の特徴

- C. difficile*の産生するGDHを検出するので、毒素を直接検出しているのではない
- A-B+株を検出可能というメリットを有しているが、同時に毒素非産生株をも検出してしまうため、陽性を示した場合に毒素産生株か否かの判別ができない
- CDADのスクリーニング試験としての有用性は高いが、単独での使用は好ましくない
→ 毒素産生性試験を併用した方がよい

分離培養法の特徴

- 高感度に糞便中の*C. difficile*を検出可能
- 分離培養法のみでは糞便中*C. difficile*抗原検出法と同様に毒素産生株か否かの判別ができないため、毒素産生性試験による確認が必要
- 分離培養法は高感度ゆえに無症候性消化管キャリアからも検出してしまう可能性があるため、原則的にはCDADが疑われる患者についてのみ実施すべき
- 抗菌薬(バンコマイシンやメトロニダゾール)投与が開始されてから検体を採取すると、分離培養が難しい

当院での分離培養法の実際



CCMA培地における
*C. difficile*のコロニーの特徴

- ・ 辺縁不整、R型の黄色集落
- ・ 特徴的な臭気を発する

CCMA培地

当院では*C. difficile*の分離培養は依頼がないと実施していない。

トキシンA&B検出法と分離培養法の検査結果の不一致について①

トキシンA&B検出法(-)・分離培養法(+)

- ① トキシンA&B検出キットの感度等で偽陰性
- ② 非病原性のA-B-株

トキシンA&B検出法と分離培養法の検査結果の不一致について②

トキシンA&B検出法(+)-分離培養法(-)

- ① 検体採取や培養の不適切により、分離培養できなかった
- ② トキシンA&B検出法で偽陽性

強毒型ディフィシル菌①
(epidemic *C. difficile* strain)

- 強毒型ディフィシル菌(変異株)では毒素の産生をネガティブに調節する *tcdC* の欠損があるため、菌自体が毒素の産生をコントロールすることができず、トキシンAおよびトキシンBの産生性が亢進している。
- 強毒変異株では第3の毒素といわれるバイナリートキシンの産生がみられる。

強毒型ディフィシル菌①
(epidemic *C. difficile* strain)

- 強毒型ディフィシル菌(変異株)では毒素の産生をネガティブに調節する *tcdC* の欠損があるため、菌自体が毒素の産生をコントロールすることができず、トキシンAおよびトキシンBの産生性が亢進している。
- 強毒変異株では第3の毒素といわれる**バイナリートキシンの産生がみられる。**

強毒型ディフィシル菌②
(epidemic *C. difficile* strain)

- 強毒型ディフィシル菌感染により下痢、偽膜性大腸炎の他、トキシック巨大結腸症、類白血病反応、敗血症、腎不全などの重篤な病態が引き起こされることがある。
- 強毒型ディフィシル菌感染の診断および治療に関しては通常型に対するそれと相違はない。

検査：糞便中の毒素検出および分離培養

治療：バンコマイシンおよびメトロニダゾール