

話題の感染症

ディフィシル菌感染症の基礎と臨床

Basic science and clinical aspect of *Clostridium difficile* infection

かみ や しげる
神 谷 茂
Shigeru KAMIYA

要 旨

ディフィシル菌 (*Clostridium difficile*) は一部の健康者の腸内に定着するグラム陽性偏性嫌気性細菌である。本菌保有者に対して抗菌薬治療が行われると、正常腸内細菌叢が攪乱される結果、本菌の異常増殖と毒素 (トキシン A, トキシン B など) 産生が起こり、抗菌薬関連下痢症や偽膜性大腸炎などのディフィシル菌関連下痢症 (疾患) (CDAD) が発症する。トキシン A, B は低分子量 GTP 結合蛋白質である Rho 蛋白質をグリコシル化し、腸管上皮細胞のアクチン細胞骨格を傷害することにより、細胞を死滅させる。本菌の実験室内診断法として嫌気性培養、細胞障害性試験、抗原検出法、トキシン検出試験などがある。治療には原因抗菌薬の中止とバンコマイシンの投与が有効であるが、再発性 CDAD 症例も多い。

2002年より欧米にて強毒型ディフィシル菌によるアウトブレイクが起きた。本強毒株は制限酵素処理解析により BI 型、パルスフィールド電気泳動により North America PFGE 1 型、PCR-リボタイピングにより 027 型を示すため BI/NAP1/027 型と呼ばれ、第3のトキシンであるバイナリートキシンを産生する。また、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、トキシン A, トキシン B の産生亢進がみられる。

本菌の病院内感染を防止するために、病院内環境の清掃、医療従事者および患者の手洗いの励行、糞便の衛生的処理、ディフィシル菌感染症の啓発教育の推進などが行われる。

I. はじめに

ディフィシル菌 (*Clostridium difficile*) はグラム陽性の偏性嫌気性細菌であり、当初培養が困難 (difficult) なことより、*Clostridium difficile* と命名された。本菌はトキシン A, トキシン B, バイナリートキシンなどの種々の毒素を産生する。感染症治療の際に抗菌薬が投与され、腸内フローラが攪乱されることにより、本菌の異常増殖と上記トキシンの産生により、抗菌薬関連下痢症 (antibiotic-associated diarrhea : AAD) や偽膜性大腸炎 (pseudomembranous colitis : PMC) などのディフィシル菌関連下痢症 (疾患) (*C. difficile*-associated diarrhea/disease : CDAD) を引き起こす。本稿ではディフィシル菌の細菌学的性状や同感染症の臨床を解説するとともに、強毒型ディフィシル菌の欧米における流行を紹介し、院内感染対策を論じる。

II. ディフィシル菌の細菌学的性状

ディフィシル菌は $0.5 \times 6 \sim 8 \mu\text{m}$ 大のグラム陽性偏性嫌気性細菌である (図 1)。亜端在性の楕円形の芽胞を産生する。土壌、干し草、砂などの自然環境やヒト、動物 (ウシ、ウマ、イヌ、ネコなど) の腸管および糞に棲息する。ヒトでの本菌陽性率は年齢により大きく異なる。新生児では約半数において糞便より検出されるのに対して、2歳以降になるとその検出率は5%以下とされる (報告では1.9~15.4%)。健康人に比べ、CDAD 患者でのディフィシル菌検出率は高く、AAD 患者では20~30%、PMC 患者では95%以上を示す¹⁾。新生児では本菌の検出率が

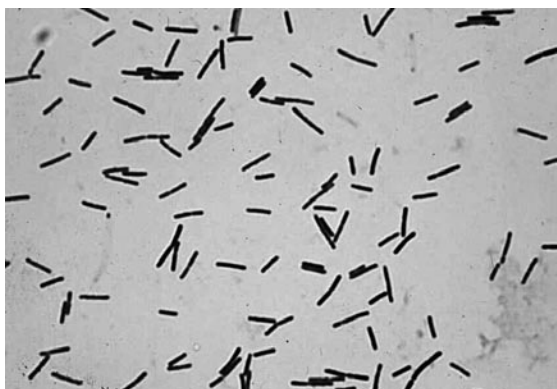


図1 ディフィシル菌のグラム染色像

極めて高いにもかかわらず、症状はまったく認められない。興味深いことに、近年の分子遺伝学的検査により本菌の検出率は予想よりはるかに高く、50%以上を示すとの報告がされている²⁾。

ほとんどの分離株はペニシリン、エリスロマイシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、クリンダマイシンなどの抗菌薬に感受性であるが、臨床的にはバンコマイシンおよびメトロニダゾールが使用される。後述の強毒性ディフィシル菌はフルオロキノロン耐性を示すことが知られている。

Ⅲ. ディフィシル菌感染における病態

本菌はトキシン A、トキシン B の毒素を産生する有毒株とトキシン産生性のない無毒株とに分けられる。無毒株には病原性がない。有毒株は CDAD の原因となる。抗菌薬の投与により腸内フローラが攪乱され、ディフィシル菌の異常増殖とトキシン産生が上記疾患の発症基盤となる。トキシン A は 308kDa のエンテロトキシンで腸管ループ活性を示す (図 2)。

一方、トキシン B は 270kDa のサイトトキシンで強い細胞傷害性を示す (図 3)。トキシン A 遺伝子 (*tcdA*) およびトキシン B 遺伝子 (*tcdB*) は 19.6kb の *PaLoc* と (pathogenicity locus の意) と呼ばれる遺伝子領域に近接して存在している。この両遺伝子の他に *tcdD* (positive regulator), *tcdE* (hollin-like protein), *tcdC* (negative regulator) の 3 つの遺伝子が存在し、*PaLoc* を形成する (図 4)³⁾。

トキシン A, B いずれも glycosyltransferase 活性をもち、低分子量 GTP 結合蛋白質の一種である Rho 蛋白質を uridine diphosphate-glucose 依存的にグリコシル化することにより、腸管上皮細胞のアクチン細胞骨格を傷害することにより、細胞を死滅させる (図 5)⁴⁾。また、両トキシンは腸管上皮細胞のタイトジャンクション (TJ) を傷害することにより、腸管上皮のバリアー機能を低下させる。

加えて、両トキシンは好中球の浸潤を誘導するとともに interleukin (IL)-8, IL-6, IL-1 β , ロイコトリエン B4、インターフェロン γ などのサイトカイン

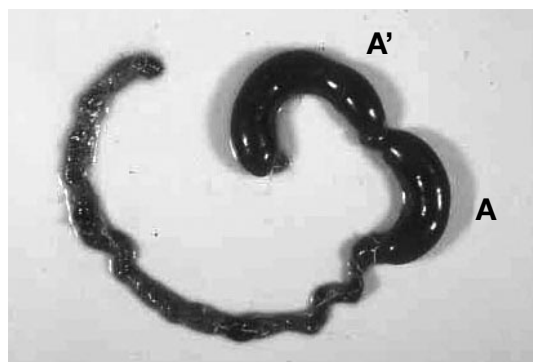


図2 ディフィシル菌トキシン A の腸管ループ活性
ウサギ腸管の水分貯留と出血が認められる
(写真右端の A および A' の試料が陽性)

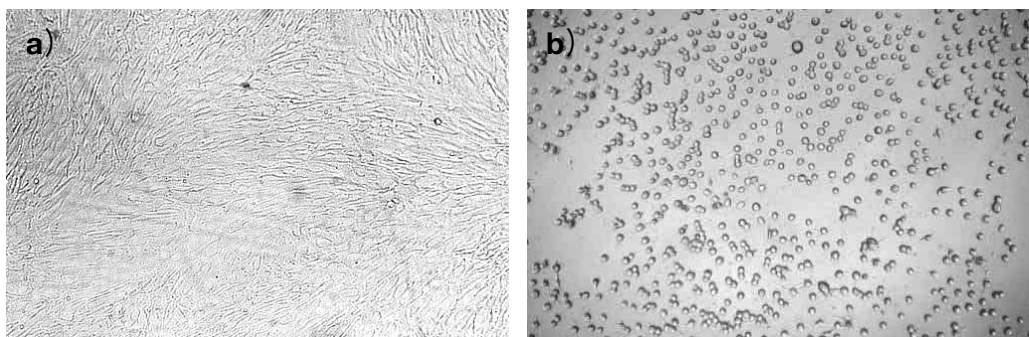


図3 ディフィシル菌トキシン B の細胞傷害作用 (BHK21 細胞使用)

a) 無処理対照細胞 b) トキシン B 処理細胞
紡錘形の細胞が円形化して死滅する

の産生を促進させ、免疫応答を高めることにより、細胞傷害を引き起こす⁵⁾。

通常の有毒株は両トキシンを産生するが、atypicalな株はトキシンBのみを産生する(A⁻/B⁺株)。A⁻/B⁺株は病院内感染にリンクし、その分離頻度は5%前後であると報告されている⁶⁾。後述の強毒性ディフィシル菌は第3のトキシンであるバイナリートキシンを産生する。

好中球、粘膜上皮細胞、皮膚細胞などから産生されるデフェンシンは抗菌性ペプチドであり、感染防御のみならず創傷治癒、遊走能、サイトカイン機能などにも関与することが知られている⁷⁾。ヒトα-デフェンシンはディフィシル菌のトキシンBによる細胞毒性を抑制することが報告された⁸⁾。α-デフェンシンはトキシンBによるRho GTPaseのグリコシル化を*in vitro*にて競合的に抑制することが明らか

にされた。しかし、α-デフェンシンのこのような抑制効果はトキシンAに対しては認められなかった。また、高濃度(2μmol/L以上)のα-デフェンシンはトキシンA, Bを凝集させ、標的細胞に対する毒素効果を減弱させる。腸管性ヒトデフェンシン(enteric human defensin (HD)-5)は小腸に高濃度に存在するため、HD-5のトキシンB阻害作用により、ディフィシル菌感染病変は小腸には発生しないものと想定される。ディフィシル菌の保有者すべてが症状を示さないこと、ディフィシル菌トキシンが糞便中より検出されるにもかかわらず粘膜病変が認められないこと等の一因として、各個人による腸管内HD-5量の差に基づくことが想定される。

Ⅳ. ディフィシル菌感染症の臨床

1. リスク因子

ディフィシル菌感染におけるリスク因子を表1に示す⁵⁾。

1) 薬剤投与者

抗菌薬の投与は最も高いCDADのリスク因子となる。フルオロキノロン、クリンダマイシン、セファロスポリン、ペニシリンなどの投与がCDADの原因となることが多いが、基本的にはどんな抗菌薬でもCDADを発症し得る。プロトンポンプインヒビター(PPI)の投与は胃酸の分泌を低下させ、再発性CDADの発症を4.2倍増加させる⁹⁾。

2) 複数疾患の合併

複数の疾患を有していることはディフィシル菌感染のリスク因子となる。CDAD患者は10以上の疾

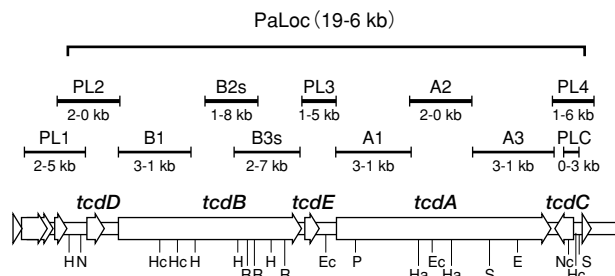


図4 ディフィシル菌の病原因子遺伝子群PaLocの構造(文献3より引用)

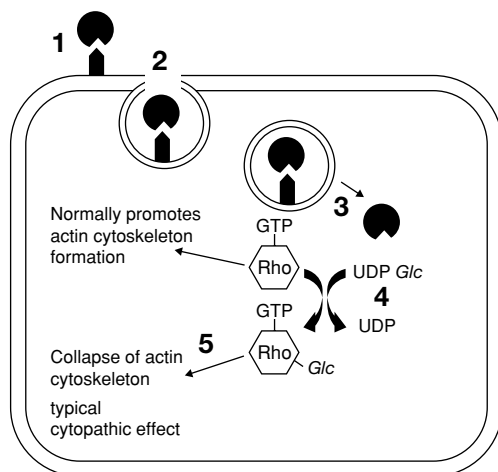


図5 ディフィシル菌トキシンAおよびBの細胞への作用

1. トキシンは特異的レセプターと結合する 2. トキシンはレセプター媒介エンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれる 3. エンドソーム/リソソームからの遊離 4. Rhoおよびsmall GTP binding proteinがグリコシル化される 5. グリコシル化されたGTP分解酵素はアクチン骨格の崩壊および細胞円形化を誘導する(文献4より引用)

表1 ディフィシル菌感染のリスク因子

| |
|-------------------------------|
| 1. 以下の薬剤を投与された患者 |
| ・ 抗菌薬 |
| ・ プロトンポンプインヒビター |
| ・ バラシコビル(アシクロビルの6-バリンエステル化合物) |
| 2. 以下の特徴を有する患者 |
| ・ 炎症性腸疾患 |
| ・ 複数疾患の合併 |
| ・ 消化管手術を受けた患者 |
| ・ 免疫低下患者(移植後患者) |
| ・ 周産期の婦人 |
| 3. 環境因子 |
| ・ 介護施設での長期間滞在 |
| 4. 検査所見 |
| ・ 低アルブミン血症 |
| ・ 抗トキシンB抗体価の低値 |

患を有していたのに対して CDAD ではない患者では平均 6 種類の疾患を有していたことが報告されている¹⁰⁾。

3) 臓器移植

関節移植、心臓移植、肝臓移植などを受けた患者はデフィシル菌感染のリスクをもつ。下痢を呈した同所性肝臓移植患者の糞便検体の 63% で *C. difficile* トキシンが検出された¹¹⁾。

4) 外科手術の既往

外科手術時の感染症予防のための抗菌薬投与はデフィシル菌感染のリスク因子となる。Carignan ら¹²⁾ の報告では、手術前に感染予防のための抗菌薬治療を受けた患者のデフィシル菌感染リスクは 2003～2005 年に 14.9 例/1000 例であり、1999～2002 年の 0.7 例/1000 例から著明に増加している。

5) 炎症性腸疾患 (inflammatory bowel syndrome : IBD)

IBD 患者のデフィシル菌感染のリスクは 2004 年時の 1.8% から 2005 年には 4.6% に増加している¹³⁾。IBD 患者においてデフィシル菌感染のリスクが高くなる理由として、抗菌薬を頻用すること、入院頻度が高いこと、免疫抑制薬を使用していることなどがあげられる。

6) 周産期女性

分娩後の周産期女性にデフィシル菌感染が起こりやすいことが知られている。ほとんどの周産期女性 (91%) が感染症予防のための抗菌薬投与が行われているとの報告⁵⁾ があり、臨床家は分娩後の女性における CDAD 発症を留意しなくてはならない。

2. 症状

抗菌薬投与後、発熱、腹痛、下痢などの症状がみられる。原因抗菌薬としてセファロスポリン、フルオロキノロンが多数の症例で使用されているが、基本的にどんな種類の抗菌薬投与も CDAD の原因となり得る。散発例のみならずコミュニティや病院内で多数の感染患者が発生することがある (強毒デフィシル菌の項を参照)。重症の CDAD では激しい下痢、脱水、下血、中毒性巨大結腸 (toxic megacolon)、腸穿孔などが認められ、死亡する症例もある。米国での報告では CDAD の死亡率は 1999 年の 5.7 人/100 万人から 2004 年には 23.7 人/100 万人に増加している⁵⁾。デフィシル菌感染

患者に対して適切な治療が行われたとしても、約 2% で再発が見られる。再発性デ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、⑤他疾患の併発などがあげられる。

3. 診断

1) 臨床診断

抗菌薬の投与歴があることをまず確認することが重要である。抗菌薬治療後の激しい下痢、腹痛、発熱などの臨床所見は本菌感染症の診断に有用である。PMC では大腸内視鏡検査により大腸粘膜における偽膜形成を観察する¹⁴⁾。

また、上記のごときリスク因子となり得る基礎疾患等は診断の助けとなる。

2) 実験室内診断

デフィシル菌の実験室内検査法として、培養法、細胞毒素検査法、抗原検出法、トキシン検出法などがある。

①分離培養法

糞便からのデフィシル菌の分離培養には CCFA (cycloserin-cefoxitin fructose agar) 培地および CCMA (cycloserin-cefoxitin mannitol agar) 培地が用いられる。糞便材料を培地に接種後、37℃、48～72hr 嫌気培養を行う。コロニーは辺縁不整の菊花状を呈し (図 6)、長波長 (3600 オングトローム) の紫外線照射により蛍光を発する。デフィシル菌の分離を行うために嫌気培養法は必須であり、分離菌の性状を調べることは疫学のみならず治療の際にも重要である。しかし、結果の判定に 2～3 日必要となること、試料中に少数の菌が存在した場合、必ずしも分離培養が成功しないことが欠点としてあげら

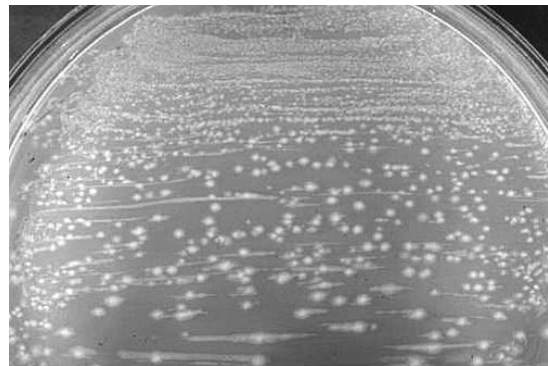


図 6 デフィシル菌の CCFA 培地上でのコロニー

れる。また、本菌は有毒株と無毒株をもつため、嫌気培養法のみでは分離菌株の毒素産生性は判定できない。

②細胞毒性試験 Cytotoxicity assay

Vero (サル腎臓由来) 細胞や BHK-21 (ハムスター腎臓由来) 細胞などの培養細胞を用いて、トキシンにより引き起こされる細胞毒性 (細胞の円形化など) を倒立顕微鏡下で観察する (図 3)。被験材料を培養液にて 2 倍段階希釈を行い、マイクロプレート内に培養された細胞に接種する。37℃、1 夜培養後、細胞毒性を判定する。細胞毒性が認められる最大希釈度を毒素活性と判定する。トキシン A, B いずれも細胞毒性を有するが、トキシン B の方が最少毒性発現量が小さいため、本試験は基本的にトキシン B 検出試験となる。細胞毒性試験はデフィシル菌トキシン検出のための Gold standard とされるが、糞便中の物質が細胞毒性を示すことがあり、偽陽性所見が出やすい。培養細胞キット (C. difficile tox-B Test) が市販されているが、細胞培養の際、無菌操作を行う必要があり、手技が煩雑となる。

③デフィシル菌抗原検出法

デフィシル菌抗原であるグルタミン酸脱水素酵素 (glutamate dehydrogenase : GDH) を検出する方法であり、酵素免疫法 (EIA) (イムノカード C. デフィシル) とラテックス凝集法 (C.D. チェック D-1) とがある (表 2)。無毒株のデフィシル菌や他のクロストリジウム属細菌でも GDH を産生し、陽性となることに注意する必要がある¹⁵⁾。検査手技は簡便であるが、低感度であり、偽陰性を示しやすい。

④デフィシル菌トキシン検出法

測定原理として酵素免疫蛍光法 (ELFA)、酵素結

合免疫吸着法 (ELISA)、イムノクロマト法などを用いた検査キットが市販されている (表 2)。トキシン A を検出するものとして VIDAS CDA II (ELFA 法) およびクロストリジウムデフィシルトキシン A 検出キット「ユニクイック」(イムノクロマト法) がある。前者は大量処理に優れているが、高価な専用機器が必要となる。後者は高感度な検査法であるが、近年問題となっているトキシン A 非産生性・トキシン B 産生性菌株 (A⁻/B⁺ 株) の検出ができない。トキシン A または B を検出する検査キットとして ELISA 法およびイムノクロマト法を測定原理とした検査キットが市販されている。高感度であり、簡便かつ迅速な検査法であるため、頻用されている。トキシン A 検出キットとトキシン A/B 検出キットを併用することにより、A⁻/B⁺ 株の検出が可能となる。

4. 治療

1) 原因抗菌薬の中止

抗菌薬の投与が CDAD 発症の原因となるため、当該抗菌薬を早急に中止することが重要である。他の感染性腸炎を疑い、本菌に無効な抗菌薬の投与に切り替えることは患者の状態を増悪させるので、慎まなくてはならない。

2) 抗菌薬の投与

ほとんどの分離株はペニシリン、エリスロマイシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、クリンダマイシンなどの抗菌薬に感受性であるが、臨床的にはバンコマイシン (VAN) およびメトロニダゾール (MNZ) が使用される。VAN は 0.5 ~ 2.0g/日 (分 4) にて 7 ~ 14 日間、MNZ は 1.0 ~ 1.5g/日 (分

表 2 デフィシル菌トキシンおよび同抗原の検出法

| 検出対象 | 測定原理 | 製品名 | 感度 | 備考 |
|-----------|----------|---|--|---|
| Toxin A | イムノクロマト法 | クロストリジウムデフィシルトキシン A 検出キット「ユニクイック」 | ToxinA : 1.4ng/mL | 高感度であり、簡便、迅速。A ⁻ B ⁺ 株の検出ができない。 |
| Toxin A/B | ELISA 法 | C. DIFFICILE TOX A/B II | ToxinA : 0.8ng/mL ToxinB : 2.5ng/mL | 大量処理が可能であり、高感度であるが、時間がかかる。 |
| | イムノクロマト法 | TOX A/B QUIK CHEK X/Pect Clostridium difficile Toxin A/B | ToxinA : 0.63ng/mL ToxinB : 1.25ng/mL ToxinA : 0.6ng/mL ToxinB : 3.8ng/mL | 高感度であり、簡便、迅速。A ⁻ B ⁺ 株の検出が可能。 |
| 抗原検出 | EIA 法 | イムノカード C. デフィシル | 125ng/mL | 毒素産生株、非産生株の区別不能。低感度。 |
| | ラテックス凝集法 | C.D. チェック・D-1 | 500ng/mL | 非常に簡便であり迅速であるが、毒素産生株、非産生株の区別不能。低感度。 |

3 または分4) にて7～14日間投与する。通常のCDADの場合、VANとMNZは同様に奏功する。しかし、重症のCDADの場合、VANおよびMNZによる治癒率はそれぞれ97%および76%であり、VANの治療効果が優れていた¹⁶⁾。しかし、VANおよびMNZ投与患者の再発性CDADの発生率は14%および15%であり、両者に差異は認められなかった。

Nitrazoxamide (NZX) は新規の抗原虫薬であり、小児の下痢症患者に投与される。無作為臨床治験(RCT)の結果、NZXはMNZと同様の治療効果をもつとともに、MNZよりも副反応が少なくコンプライアンスを高めることが可能である¹⁷⁾。リファマイシン誘導体であるrifalazilおよびrifaximinがハムスターモデルにおいてCDADの予防および治療に有効であることが報告され¹⁸⁾、現在臨床治験が行われている。

3) 毒素吸着剤

陰イオン結合性レジンであるcolestipolおよびcholestyramineはデオフィシル菌トキシンと結合し、トキシンを吸着することにより、病態の改善を引き起こすことが期待される⁵⁾。新規の毒素吸着剤であるTolvamerは*in vitro*においてデオフィシル菌のトキシンA/Bを中和することが示されたが、米国では認可されていない。

4) 免疫グロブリン

重症型で再発性のCDAD患者に対して免疫グロブリンの静脈内投与が行われる。重症CDADが疑われる14名の患者に対して免疫グロブリン治療(150～400mg/kg)が行われた。すべての患者で副反応は認められず、9名(64%)の患者では症状の改善を認めた¹⁹⁾。

5) 糞便注腸法 (fecal bacteriotherapy)

歴史的に重症CDADおよび再発性CDAD患者に対して、健常者の糞便を採取し、これを希釈後、患

者の肛門より直接的に注入する治療法が行われた。本法は健康人の腸内フローラ構成菌をCDAD患者の腸内へ投与するもので、一種の細菌治療法(Bacteriotherapy)である²⁰⁾。84名の重症および再発性CDAD患者に対して糞便注腸法が実施され、このうち80%の患者で症状の軽快および治癒が認められたことが報告されている²¹⁾。

6) プロバイオティクス

プロバイオティクス probiotics は「生体内、特に腸管内の正常細菌叢に作用し、そのバランスを改善することにより生体に利益をもたらすきた微生物」と定義されるが²²⁾、プロバイオティクスのAAD予防効果について、これまでに多数の研究者により報告されている(表3)^{23～28)}。*Saccharomyces boulardii* は非病原性の酵母で、種々の下痢症の予防および治療に用いられる。*S. boulardii*の経口投与によりAADの発生率の低下と下痢持続日数の短縮化が明らかにされている。乳酸桿菌(*Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. rhamnosus*)や腸球菌(*Enterococcus faecium*)などを用いたプロバイオティクスにもAAD予防効果がみられる。また、芽胞産生性の偏性嫌気性菌である*Clostridium butyricum*を用いたプロバイオティクスが抗菌薬投与後の小児(n=110)においてAADの発症率を低下させる(59% vs 5～9%)ことが報告されている²⁹⁾。AADの予防のみならず、プロバイオティクスによるAAD治療効果も知られている。*L. rhamnosus*, *E. faecium*, *S. boulardii*, *L. reuteri*などの投与はAAD患者における下痢持続期間および入院期間を短縮するとともに、体重増加の経過を早めることが明らかにされている。

近年、Szajewskaら³⁰⁾によりプロバイオティクスおよびプラセボ投与を受けた小児におけるAADの発症リスクに関するメタ解析結果が報告された(表4)。6つの臨床研究^{31～36)}が解析の対象とされ、

表3 抗菌薬関連下痢症に対するプロバイオティクスの効果

| 使用抗菌薬 | 使用プロバイオティクス ^{a)} | 治療効果 ^{b)} (症例数) | 文献 |
|--------------------|--|--------------------------|----|
| アンピシリン | <i>L. acidophilus</i> + <i>L. bulgaricus</i> | 8% vs 21% (n=98) | 23 |
| ネオマイシン | <i>L. acidophilus</i> + <i>L. bulgaricus</i> | 20% vs 42% (n=39) | 24 |
| 種々 | <i>E. faecium</i> SF68 | 9% vs 27% (n=45) | 25 |
| β-ラクタム | <i>S. boulardii</i> | 7% vs 15% (n=193) | 26 |
| クラリスロマイシン & チニダゾール | <i>L. rhamnosus</i> GG | 3% vs 27% (n=60) | 27 |
| クラリスロマイシン & チニダゾール | <i>L. rhamnosus</i> GG | 5% vs 30% (n=85) | 28 |

a) *L*, *Lactobacillus*; *E*, *Enterococcus*; *S*, *Saccharomyces*

b) プロバイオティクス投与群とコントロール群における有症状者のパーセント

L. rhamnosus GG, *L. acidophilus*/*B. infantis*, *L. acidophilus*/*L. bulgaricus*, *B. lactis*/*S. thermophilus*, *S. boulardii* などのプロバイオティクスが使用された。AAD の発症リスクは使用プロバイオティクスにより異なり、*S. boulardii*, *L. rhamnosus* GG で低く、*L. acidophilus*/*L. bulgaricus* で高い結果が示された。すべての研究結果からプロバイオティクス使用時のAAD 発症相対リスクは0.44を示し、小児のAAD 発症予防にプロバイオティクス投与は有効であった。

V. 強毒型ディフィシル菌

2002年よりカナダ、米国、英国、オランダ、ベルギー、フランスなどの医療施設や高齢者施設などで免疫抵抗性が低下した宿主を中心に強毒型ディフィシル菌 (epidemic *C. difficile* strain と呼ばれる) によるアウトブレイクが起きた³⁷⁾。カナダのケベック地域の *C. difficile* 腸炎の2003～2004年における発生率 (2500～4300人/10万人) は1991年に比べ4倍に増加し、65歳以上の年齢層ではその増加は10倍となった³⁸⁾。この強毒株は制限酵素処理解析によりBI型、パルスフィールド電気泳動によりNorth America PFGE 1型、PCR-リボタイピングにより027型を示すためBI/NAP1/027型と呼ばれている。ディフィシル菌はそのPaLoc構造の変異にしたがい、通常型を0型として、変異型が24型のtoxintypeに分類されている。本強毒株はtoxintype IIIの遺伝子型を示す。この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の産生性が16倍、トキシンBの産生性が23倍、亢進している³⁹⁾。さらに、本強毒変異株では第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。この毒素は活性を担うAサブユニットと、結合を担うBサブユニットの2つのコンポーネント (それぞれ*cdtA* および*cdtB* 遺伝子によりコードされる) から成り、ADPリボシル化作用および下痢惹起能をもつことが知られている。加えてBI/NAP1/027 toxintypeIIIの強毒変異株はフルオロキノロン (シプロフロキサシン、ガチフロキサシンなど) に対する耐性を獲得しており、フルオロキノロンの投与が強毒変異株によるCDAD発症の誘因となるものと想定されている。わが国では2001年に本強毒型変異株の検出が確認されているがアウトブレイクとはなっていない。2008年よりオーストラリア、韓国、香港などのアジア地域においてもBI/NAP1/027型の強毒型ディフィシル菌の感染事例が報告され、変異型ディフィシル菌が世界的に伝播していることが明らかとなった⁴⁰⁾。

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症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。糞便中の毒素検出およびディフィシル菌分離培養検査を行う。BI/NAP1/027型の同定は専門的な研究施設で可能となる。治療にはバンコマイシンおよびメトロニダゾールが使用される。

VI. 院内感染対策

本菌は芽胞を産生するため、病院内環境中 (トイレ、ベッド、床など) に生残し、長期入院者へ感染することが知られている。入院患者からの本菌検出率は入院期間と相関し、4週間以上の入院により約50%という高い検出率を示すとの報告もある

表4 プロバイオティクスまたはプラセボ投与を受けた小児における抗菌薬関連下痢症発症リスク

| 研究 | 使用プロバイオティクス | 処置群 (n/N) ^{a)} | プラセボ群 (n/N) | 相対的リスク (95%CI) ^{b)} | 文献 |
|----|--|-------------------------|-------------|------------------------------|----|
| 1 | <i>L. rhamnosus</i> GG | 7/93 | 25/95 | 0.29 (0.13, 0.63) | 31 |
| 2 | <i>L. rhamnosus</i> GG | 3/61 | 9/158 | 0.32 (0.09, 1.11) | 32 |
| 3 | <i>L. acidophilus</i> / <i>B. infantis</i> | 3/8 | 8/10 | 0.47 (0.18, 1.21) | 33 |
| 4 | <i>L. acidophilus</i> / <i>L. bulgaricus</i> | 10/15 | 16/23 | 0.96 (0.61, 1.50) | 34 |
| 5 | <i>B. lactis</i> / <i>S. thermophilus</i> | 13/80 | 24/77 | 0.52 (0.29, 0.95) | 35 |
| 6 | <i>S. boulardii</i> | 4/119 | 22/127 | 0.19 (0.07, 0.55) | 36 |
| | 合計 | 40/376 | 104/490 | 0.44 (0.25, 0.77) | |

a) n, 下痢発症患者数; N, 対象とした患者数

b) 95%信頼区間

(Szajewska らによるメタ解析³⁰⁾より抜粋)

(図7)¹⁴⁾。また医療従事者および患者の手指に本菌が付着している可能性があるため、手洗いの励行や糞便の衛生的処理(ディスポーザブル手袋の使用など)を行う。病院内環境の清掃に努める他、経管チューブや内視鏡の清潔管理にも留意する⁴¹⁾。加えて、医師はCDAD発症の原因となるような不適切な抗菌薬処方を行わないことが肝要であり、医療従事者のみならず患者を含む一般市民に、ディフィシル菌感染症(CDAD)の理解を深めるための啓発教育を推進すべきである。

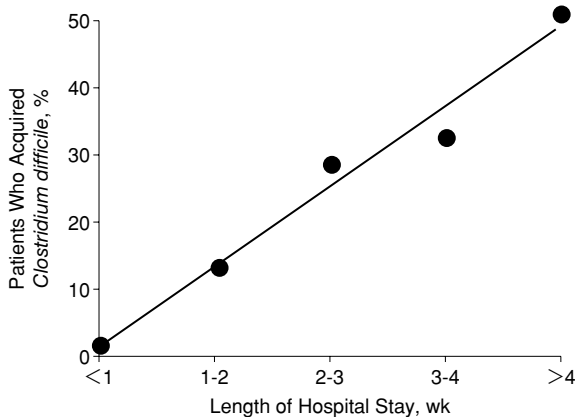


図7 入院患者における入院期間とディフィシル菌検出率の相関 (文献14より引用)

VII. おわりに

ディフィシル菌感染症の基礎と臨床について解説した。近年の遺伝子解析結果によると、本菌ゲノムの健常人での検出率は極めて高く、正常腸内細菌叢の一種として腸管に常在している可能性がある。本菌の最も重要な病原因子はトキシンA, トキシンB(バイナリートキシン?)であり、これらの毒素の腸管内蓄積が腸内病変を引き起こす。BI/NAP1/027型の新型ディフィシル菌が欧米で猛威をふるった理由として、その強い毒素産生性にあることが想定されているが、腸管内での毒素産生の調節メカニズムは不明である。欧米と異なり何故わが国でディフィシル菌感染症が深刻化しないのか、毒素産生性のディフィシル菌が定着しても何故乳幼児に病気を起こさないか等の疑問には未だ明確な解答が得られていない。今後のさらなる研究が期待される。

文 献

- 1) Kamiya S, Nakamura S : Virulence factors of *Clostridium difficile* and its pathogenesis in intestinal infection in man. *Bifidobacteria Microflora* **12** : 1-17, 1993.
- 2) 松田一乗、辻 浩和、Raish Oozeer 他 : 定量的 RT-PCR 法 (YIF-SCAN) による健常成人の大便中 *Clostridium difficile* の定量、第 12 回日本腸内細菌学会総会、抄録集 2008.
- 3) Geric B, Rupnik M, Gerding DN et al.: Distribution of *Clostridium difficile* variant toxinotypes and strains with binary toxin genes among colinical isolates in an American hospital. *J Med Microbiol* **53** : 887-894, 2004.
- 4) Voth DE, Ballard JD : *Clostridium difficile* toxins : Mechanism of action and role in disease. *Clin Microbiol Rev* **18** : 247-263, 2005.
- 5) Hookman P, Barkin JS : *Clostridium difficile* associated infection, diarrhea and colitis. *World J Gastroenterol* **15** : 1554-1580, 2009.
- 6) Brazier JS, Stubbs SL, Duerden BI : Prevalence of toxin A negative/B positive *Clostridium difficile* strains. *J Hosp Infect* **42** : 248-249, 1999.
- 7) Yang D, Biragyn A, Hoover DM et al.: Multiple roles of antimicrobial defensins, cathelicidins, and eosinophil-derived neurotoxin in host defense. *Annu Rev Immunol* **22** : 181-215, 2004.
- 8) Griesmann T, Guttenberg G, Aktories K : Human alpha-defensins inhibit *Clostridium difficile* toxin B. *Gastroenterology* **134** : 2049-2058, 2008.
- 9) Cadle RM, Mansouri MD, Logan N et al.: Association of proton-pump inhibitors with outcomes in *Clostridium difficile* colitis. *Am J Health Syst Pharm* **64** : 2359-2363, 2007.
- 10) Elixhauser A, Jhung MA : *Clostridium difficile*-associated disease in U. S. hospitals, 1993-2005. HCUP Statistical Biref #50. <http://www.hcup-us.ahrq.gov/reports/statbri/efs/sb50.pdf>
- 11) Kawecki D, Chmura A, Pacholczyk M et al.: Detection of *Clostridium difficile* in stool samples from patients in the early period after liver transplantation. *Transplant Proc* **39** : 2812-2815, 2007.
- 12) Carignan A, Allard C, Pepin J et al.: Risk of *Clostridium difficile* infection after perioperative antibacterial prophylaxis before and during an outbreak of infection due to a hypervirulent strain. *Clin Infect Dis* **46** : 1838-1843, 2008.
- 13) Issa M, Vijayapal A, Graham MB et al.: Impact of *Clostridium difficile* on inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* **5** : 345-351, 2007.
- 14) Hurley BW, Nguyen CC : The spectrum of pseudomembranous enterocolitis and antibiotic-associated diarrhea. *Arch Intern Med* **162** : 2177-2184, 2002.
- 15) Kamiya S, Nakamura S, Yamakawa K et al.: Evaluation of a commercially available latex immunoagglutination test kit for detection of *Clostridium difficile* D-1 toxin. *Microbi-*

- ol Immunol **30** : 177-181, 1986.
- 16) Zar FA, Bakkanagari SR, Moorthi KM et al.: A comparison of vancomycin and metronidazole for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea, stratified by disease severity. Clin Infect Dis **45** : 302-307, 2007.
 - 17) Musher DM, Logan N, Hamill RJ et al.: Nitazoxanide for the treatment of *Clostridium difficile* colitis. Clin Infect Dis **43** : 421-427, 2006.
 - 18) Kokkotou E, Moss AC, Michos A et al.: Comparative efficacies of rifaximin and vancomycin for treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea and prevention of disease recurrence in hamsters. Antimicrob Agents Chemother **52** : 1121-1126, 2008.
 - 19) McPherson S, Rees CJ, Ellis R et al.: Intravenous immunoglobulin for the treatment of severe, refractory, and recurrent *C. difficile* diarrhea. Dis Colon Rectum **49** : 640-645, 2006.
 - 20) van Nood E, Speelman P, Kuijper EJ et al.: Struggling with recurrent *Clostridium difficile* infections : Is donor faeces the solution? Eurosurveillance **14** : 1-6, 2009.
 - 21) Borody TJ, Warren EF, Leis SM et al.: Bacteriotherapy using fecal flora: toying with human motions. J Clin Gastroenterol **38** : 475-483, 2004.
 - 22) 神谷 茂 : 腸管感染症とプロバイオティクス、医学のあゆみ、**207** : 894-898, 2003.
 - 23) Gotz V, Romankiewicz JA, Moss J et al.: Prophylaxis against ampicillin-associated diarrhea with a lactobacillus preparation. Am J Hosp Pharm **36** : 754-757, 1979.
 - 24) Clements ML, Levine MM, Ristaino PA et al.: Exogenous lactobacilli fed to man. Their fate and ability to prevent diarrheal disease. Prog Food Nutr Sci **7** : 29-37, 1983.
 - 25) Wunderlich PF, Braun L, Fumagalli I et al.: Double-blind report on the efficacy of lactic acid-producing *Enterococcus* SF68 in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea and in the treatment of acute diarrhoea. J Int Med Res **17** : 333-338, 1989.
 - 26) McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg RN et al.: Prevention of beta-lactam-associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii* compared with placebo. Am J Gastroenterol **90** : 439-448, 1995.
 - 27) Armuzzi A, Cremonini F, Bartolozzi F et al.: The effect of oral administration of *Lactobacillus* GG on antibiotic-associated gastrointestinal side-effects during *Helicobacter pylori* eradication therapy. Aliment Pharmacol Ther **15** : 163-169, 2001.
 - 28) Cremonini F, Di Caro S, Covino M et al.: Effect of different probiotic preparations on anti-helicobacter pylori therapy-related side effects : a parallel group, triple blind, placebo-controlled study. Am J Gastroenterol **97** : 2744-2749, 2002.
 - 29) Seki H, Shiohara M, Matsumura T et al.: Prevention of antibiotic-associated diarrhea in children by *Clostridium butyricum* MIYAIRI. Pediatr Int **45** : 86-90, 2003.
 - 30) Szajewska H, Ruszczynski M, Radzikowski A : Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children : A meta-analysis of randomized controlled trials. J. Pediatr **149** : 367-372, 2006.
 - 31) Vanderhoof JA, Whitney DB, Antonson DL et al.: *Lactobacillus* GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. J. Pediatrics **135** : 564-568, 1999.
 - 32) Arvola T, Laiho K, Torkkeli S et al.: Prophylactic *Lactobacillus* GG reduces antibiotic-associated diarrhea in children with respiratory infections : a randomized study. Pediatrics **104** : 64, 1999.
 - 33) Jirapinyo P, Densupsoontorn N, Thamonsiri N et al.: Prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants by probiotics. J Med Assoc Thai **85** (Suppl 2) : S739-S742, 2002.
 - 34) Tankanow RM, Ross MB, Ertel IJ et al.: Double blind, placebo-controlled study of the efficacy of Lactinex in the prophylaxis of amoxicillin-induced diarrhea. Ann Pharm **24** : 382-384, 1990.
 - 35) Correa NB, Peret Filho LA, Penna FJ et al.: A randomized formula controlled trial of *Bifidobacterium lactis* and *Streptococcus thermophilus* for prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants. J Clin Gastroenterol **39** : 385-389, 2005.
 - 36) Kotowska M, Albrecht P, Szajewska H : *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children : a randomized double-blind placebo-controlled trials. Aliment Pharmacol Ther **21** : 583-590, 2005.
 - 37) 神谷 茂 : 強毒型デオフィシル菌感染症の発生とその対策、日本医事新報No.4372, p105, 2008.
 - 38) Bartlett JG : Narrative Review : The new epidemic of *Clostridium difficile*-associated enteric disease. Ann Intern Med **145** : 758-764, 2006.
 - 39) Warny M, Pepin J, Fang A et al.: Toxin production by an emerging strain of *Clostridium difficile* associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe. Lancet **366** : 1079-1084, 2005.
 - 40) Clements ACA, Magalhaes RJS, Tatem AJ et al.: *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 : assessing the risks of further worldwide spread. Lancet Infect Dis **10** : 395-404, 2010.
 - 41) 加藤はる : 院内感染としての *Clostridium difficile* 感染症、最新医学 **62** : 228-236, 2007.