

【委員会報告】

日本化学療法学会 公益目的事業プロジェクト
Clostridium difficile 感染症 “1 日” 多施設共同研究

C. difficile 感染症 1 日多施設共同研究ワーキング委員：館田 一博, 石井 良和, 大西 健児, 星野 一樹,
木村 利美, 岩田 敏, 渡辺 彰

公益社団法人日本化学療法学会理事長：清田 浩

公益社団法人日本化学療法学会前理事長：門田 淳一

はじめに

Clostridium difficile (*C. difficile*) は芽胞を形成するグラム陽性嫌気性桿菌で、偽膜性腸炎の原因として重要である。近年、欧米を中心に第 3 の毒素といわれる binary 毒素を産生する高病原性株 (BI/NAP1/027 株) の出現と蔓延が問題となっており、高齢者や免疫不全宿主においては死亡率が 5~6% に達するとの報告もみられている。本邦においても BI/NAP1/027 株による感染症例が数例報告されているが、全国レベルでみた binary 毒素産生性 *C. difficile* の分離頻度や *C. difficile* 感染症の実態に関する疫学情報は限られているというのが現状である。そこで本研究では、日本化学療法学会の会員を含む全国の感染症拠点病院 (97 施設) にご協力いただき、本邦における *C. difficile* 感染症の発生頻度および分離菌の細菌学的・遺伝学的特徴について検討した。これまでの疫学調査では数カ月から 1 年という長期間における分離菌や患者情報を解析することが一般的であったが、本研究では各医療機関における 1 日の下痢便を対象とした “One day survey” として実施したことが特徴である。なお、本研究で分離された *C. difficile* については、次世代シーケンサーを用いた全ゲノム遺伝子解析を実施しており、その結果は別に感染症専門誌に投稿される予定となっている。

“One day survey” 多施設共同研究

本学会会員を含む全国の感染症拠点病院 97 施設の先生方のご協力により本研究が実施された。Table 1 に参加施設および代表担当者の氏名を掲載させていただいた。それぞれの施設において、指定された日に微生物検査室から提出された便検体 (原則、各施設 10 検体まで) を研究対象とした。1 日で 10 検体が集まらなかった施設においては、その週に提出された検体を対象として検討を行った。提出された便検体は速やかに中央検査機関 (LSI メディエンス, 東京) に輸送し、以下の細菌学的検査を実施した。便からの *C. difficile* の分離培養は CCMA 培地を使用し、常法に従い嫌気培養を実施した。また提出された便を用いて *C. difficile* の存在を検出する GDH 試験および本菌の産生する toxin-A/B を検出するイムノクロマト法 (C. DIFF Quick Check コンプリート: アリーアメディカル) を実施した。便中の *C. difficile* toxin-B 遺伝子の検出は Xpert *C. difficile* (Cepheid 社) を用いて実施した。また分離された *C. difficile* を対象に、東邦大学医学部微生物・感染症学講座において全ゲノム解析による毒素遺伝子、薬剤耐性遺伝子の解析を実施した。登録施設はそれぞれ倫理委員会もしくは院内で承認を受け、便検体の提出に際しては患者に同意書を記載していただき研究が実施された。

結果概要

今回の研究においては、全国 97 施設から 574 の便検体が集められ、そのうち 526 症例において症例表を回収することができた。Table 2 に、便の培養結果、toxin-A/B 検出、GDH、toxinB 遺伝子検査、binary 毒素遺伝子を対象とした成績の概要を示した。本研究は主治医が何らかの腸管感染症を疑い提出された便検体を対象として実施されている。便 574 検体のうち、培養では 13.4% (77/574 検体) から *C. difficile* が分離された。また迅速診断法では、GDH 陽性が 23.3% (134/574 株)、toxin-A/B 陽性が 7.7% (44/574 株) となった。Xpert による迅速 toxin-B 遺伝子検査では、14.8% (85/574 株) が陽性を示したが、欧米で問題となっている binary 毒素遺伝子が検出された検体は 0.9% (5/574 株) のみであった。

Table 2 下段に、下痢便の回数、年齢、抗菌薬投与状況、入院日数とそれぞれの検査結果との関連を示した。下痢の回数と検査結果では、1 日の下痢回数が 2 回以下の症例のなかにも *C. difficile* 感染症が疑われる症例が多数認められることが改めて確認された。一般に *C. difficile* 感染症の診断には 1 日 3 回以上の下痢の出現が使用されることが多い。しかし今回の検討では、1 日 1~2 回の下痢しか認めない症例においても 5.8% で toxin-A/B 陽性、11.1% で toxin-B 遺伝子陽性となった。年齢との関連に関しては、これまで報告されているように、60 歳以上の高齢者において toxin-B

Table 1. 参加施設および代表担当者

所属県	氏名	施設名	所属県	氏名	施設名
北海道	坂田 宏	旭川厚生病院	石川県	飯沼 由嗣	金沢医科大学病院
北海道	高橋 聡	札幌医科大学附属病院	石川県	西 耕一	石川県立中央病院
北海道	岸田 直樹	砂川市立病院	石川県	道輪 良男	浅ノ川総合病院
北海道	石黒 信久	北海道大学病院	石川県	真智 俊彦	恵寿総合病院
北海道	網島 優	国立病院機構北海道医療センター	富山県	山本 善裕	富山大学附属病院
北海道	角谷 不二雄	富良野協会病院	富山県	彼谷 裕康	富山県立中央病院
北海道	堀田 裕	旭川赤十字病院	福井県	岩崎 博道	福井大学医学部附属病院
岩手県	諏訪部 章	岩手医科大学附属病院	福井県	井上 仁	国立病院機構敦賀医療センター (旧：国立病院機構福井病院)
岩手県	高橋 幹夫	岩手県立磐井病院	福井県	藤澤 克憲	福井県済生会病院
岩手県	下沖 収	岩手県立久慈病院	静岡県	小野寺 昭一	富士市立中央病院
宮城県	高橋 洋	坂総合病院	愛知県	三嶋 廣繁	愛知医科大学病院
宮城県	賀来 満夫	東北大学病院	愛知県	中村 敦	名古屋市立大学病院
宮城県	三木 誠	仙台赤十字病院	愛知県	八木 哲也	名古屋大学医学部附属病院
宮城県	本田 芳宏	仙台厚生病院	愛知県	長谷川 千尋	名古屋市立東部医療センター
山形県	武田 博明	済生会山形済生病院	岐阜県	村上 啓雄	岐阜大学医学部附属病院
山形県	阿部 修一	山形大学医学部附属病院	京都府	一山 智	京都大学医学部附属病院
福島県	金光 敬二	福島県立医科大学附属病院	京都府	藤田 直久	京都府立医科大学附属病院
栃木県	福島 篤仁	獨協医科大学病院	京都府	清水 恒広	京都市立病院機構 京都市立病院
群馬県	徳江 豊	群馬大学医学部附属病院	大阪府	吉田 耕一郎	近畿大学医学部附属病院
群馬県	佐藤 吉壮	富士重工業健康保険組合 太田記念病院	大阪府	関 雅文	大阪大学医学部附属病院
群馬県	北原 陽之助	群馬中央病院	大阪府	掛屋 弘	大阪市立大学医学部附属病院
群馬県	石崎 政利	原立藤岡総合病院	大阪府	宮良 高維	関西医科大学附属枚方病院
群馬県	内田 信之	原町赤十字病院	大阪府	浮村 聡	大阪医科大学附属病院
群馬県	桑島 信	桐生厚生総合病院	奈良県	石丸 裕康	天理よろづ相談所病院
埼玉県	天野 宏一	埼玉医科大学総合医療センター	兵庫県	荒川 創一	神戸大学医学部附属病院
埼玉県	光武 耕太郎	埼玉医科大学国際医療センター	兵庫県	竹末 芳生	兵庫医科大学病院
埼玉県	岡田 基	越谷市立病院	兵庫県	稲本 真也	神戸労災病院
埼玉県	春木 宏介	獨協医科大学越谷病院	岡山県	尾内 一信	川崎医科大学附属病院
埼玉県	川名 明彦	防衛医科大学校病院	岡山県	石田 直	倉敷中央病院
東京都	足立 拓也	豊島病院	山口県	吉田 順一	下関市立市民病院
東京都	皿谷 健	杏林大学医学部附属病院	広島県	桑原 正雄	県立広島病院
東京都	岩田 敏	慶應義塾大学病院	広島県	赤木 真治	マツダ病院
東京都	小田 智三	公立昭和病院	広島県	田崎 達也	JA 広島総合病院
東京都	中森 祥隆	国家公務員共済組合連合会 三宿病院	島根県	中村 嗣	島根県立中央病院
東京都	三澤 成毅	順天堂大学医学部附属順天堂医院	愛媛県	安川 正貴	愛媛大学医学部附属病院
東京都	二木 芳人	昭和大学病院	愛媛県	横田 英介	松山赤十字病院
東京都	松永 直久	帝京大学医学部附属病院	香川県	網谷 良一	高松赤十字病院
東京都	岩本 愛吉	東京大学医科学研究所附属病院	福岡県	渡邊 浩	久留米大学病院
東京都	稲松 孝思	東京都健康長寿医療センター	福岡県	迎 寛	産業医科大学病院
東京都	大西 健児	東京都立墨東病院	福岡県	宮崎 博章	小倉記念病院
東京都	森 伸晃	国立病院機構 東京医療センター	福岡県	高田 徹	福岡大学病院
神奈川県	竹村 弘	聖マリアンナ医科大学病院	福岡県	眞柴 晃一	北九州市立医療センター
神奈川県	駒瀬 裕子	聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院	長崎県	柳原 克紀	長崎大学病院
神奈川県	宮島 栄治	横浜市立大学附属市民総合医療センター	長崎県	福田 雄一	佐世保市立総合病院
茨城県	大石 毅	東京医科大学茨城医療センター	長崎県	澤井 豊光	長崎みなとメディカルセンター市民病院
茨城県	齋藤 武文	国立病院機構茨城東病院	熊本県	菅 守隆	済生会熊本病院
新潟県	青木 信樹	信楽園病院	大分県	門田 淳一	大分大学医学部附属病院
新潟県	塚田 弘樹	新潟市民病院	沖縄県	比嘉 太	琉球大学医学部附属病院
新潟県	田邊 嘉也	新潟大学医歯学総合病院			

検出例および toxin-B 遺伝子検出の頻度が高いことが示された。また、抗菌薬の投与歴との関係では、抗菌薬投与群で toxin-A/B の検出頻度が高かったが、培養および GDH では逆に抗菌薬投与歴のない宿主において陽性率が高かった。入院期間との関連では、入院期間が長くなるに従い、培養陽性率および toxin-B 遺伝子陽性率が高くなる傾向が観察された。

まとめ

本研究は、分離菌・耐性菌の疫学調査に関して本学会がはじめて実施した“One day survey”である。学会員をは

Table 2. Results of microbiological tests in several clinical conditions

Factors	Number	Positive rate (cases/total)				
		Culture	GDH	Toxin protein	Toxin-B gene	Binary toxin
Total cases	574	13.4 (77/574)	23.3 (134/574)	7.7 (44/574)	14.8 (85/574)	0.9 (5/574)
Frequency of diarrhea						
1-2/day	189	13.8 (26/189)	21.2 (40/189)	5.8 (11/189)	11.1 (21/189)	0.0 (0/189)
3 or more/day	308	13.6 (42/308)	26.3 (81/308)	8.8 (27/308)	17.2 (53/308)	1.0 (3/308)
Ages						
0-19	22	9.1 (2/22)	18.2 (4/22)	9.1 (2/22)	9.1 (2/22)	0.0 (0/22)
20-59	135	10.4 (14/135)	20.0 (27/135)	3.7 (5/135)	11.1 (15/135)	0.0 (0/135)
60 or older	366	15.3 (56/366)	25.7 (94/366)	9.3 (34/366)	16.4 (60/366)	1.1 (4/366)
Antibiotics						
Yes	399	12.3 (49/399)	23.1 (92/399)	9.0 (36/399)	15.3 (61/399)	0.8 (3/399)
No	127	18.1 (23/127)	26.8 (34/127)	3.9 (5/127)	13.4 (17/127)	0.8 (1/127)
Days of Admission						
1-14	231	10.8 (25/231)	24.2 (56/231)	7.8 (18/231)	12.6 (29/231)	0.9 (2/231)
15-28	96	12.5 (12/96)	20.8 (20/96)	7.3 (7/96)	16.7 (16/96)	1.0 (1/96)
29 or longer	169	19.5 (33/169)	27.8 (47/169)	8.9 (15/169)	18.3 (31/169)	0.6 (1/169)

じめとする先生方のご協力により約 100 施設のご参加をいただき、短期間に信頼性の高い前向き疫学研究を実施することができた。以下、その結果の概要を示す。

1. toxin-B 遺伝子検出法の陽性率は Toxin-A/B 検出法に比べて約 2 倍であった。
2. 下痢の回数が 1 日 2 回以下の症例において、toxin-A/B 検出例および toxin-B 遺伝子陽性例がそれぞれ 5.8%、11.1% で認められた。
3. 60 歳以上の宿主において、toxin-A/B 検出率、toxin-B 遺伝子陽性率が高い傾向が観察された。
4. 抗菌薬の投与歴のある患者で 2 倍以上に toxin-A/B 陽性率が高い結果が得られた。
5. 入院 1 週間以内、抗菌薬投与歴なしの症例においても *C. difficile* 感染症が発症していることが確認された。
6. 今回の検討では、binary 毒素産生株の分離頻度は 1% 以下であった。

感染症の原因菌・耐性菌の頻度は国や地域、あるいは施設間でも大きく異なる可能性があり、しかもそれが時間とともに変化することが知られている。今回の “One day survey” は、限られた施設の腸管感染症疑い症例を対象とした前向き・疫学研究であるが、本研究の結果から本邦における *C. difficile* 感染症の重要性が改めて明らかになった。幸いなことに、欧米で蔓延している binary 毒素産生株の分離頻度は 1% 以下であることが確認されたが、これからどのように *C. difficile* 感染症の疫学が変化していくのか、継続したサーベイランスを実施していく必要がある。

近年、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (carbapenem-resistant Enterobacteriaceae : CRE) の増加が報告されている。CRE も健常人の腸管に定着して水面下で広がる可能性が指摘されている病原体の一つである。現在、“One day survey” の第 2 弾として CRE および基質拡張型 β -ラクタマーゼ産生菌を対象とした疫学調査が進行中である。これら疫学情報を感染症・耐性菌対策の徹底のためのエビデンスとして集積し、適切かつ効果的な抗菌薬療法の実践に活用していくことが重要である。