

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 25 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23591480

研究課題名(和文) 抗菌薬関連性腸炎の臨床解析と感染対策の検討

研究課題名(英文) Clinical analysis and infection control of antibiotic-associated colitis

研究代表者

中村 敦 (Nakamura, Atsushi)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：40285200

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：わが国においてClostridium difficile感染症(CDI)の的確な診断、治療法、院内感染防止対策の確立が求められているものの、その臨床像は未だ十分把握されていない。CDI診療の指針策定の参考となるデータを提示する目的で、CDI症例および検出菌の解析を行った。その結果、保有する毒素遺伝子型と重症度の間に関連はみられなかった。現行治療薬に対する薬剤耐性はみられず、投与薬剤、投与量、投与期間による差異もみられなかった。毒素遺伝子迅速検出法は、現行の迅速診断法と比べ診断精度が高く、今後のCDI診断への有用性が期待できる。

研究成果の概要(英文)：In Japan, establishment of accurate methods of diagnosis, treatment, or nosocomial infection prevention measures against Clostridium difficile infection (CDI) is required, but the clinical informations have not yet been fully revealed. For the purpose of presenting the important reference data for constructing CDI practical guidelines, we carried out analysis of CDI cases and those critical isolates. As a result, it had not been observed the correlation between possessing toxin gene type and clinical severity. Drug resistance to the current therapeutic agents was not observed, and the difference by administered drug, the dosage, or administration period had not seen. Nucleic acid amplification test of toxin gene showed high diagnostic accuracy compared with the current rapid diagnostic method, and in the future, it could be expected the usefulness of CDI diagnosis.

研究分野：感染症学

キーワード：Clostridium difficile 抗菌薬関連性腸炎 毒素遺伝子 Binary toxin NAAT

1. 研究開始当初の背景

Clostridium difficile 感染症 (CDI) は近年北米やヨーロッパを中心として患者数の増加および重症化が報告されてきており、2013年にCDCは"Antibiotic resistance threats"の中で緊急の脅威レベルを有する微生物の筆頭に *C.difficile* を掲げている。

このような情勢の中で CDI の迅速かつ確かな診断、難治例・再発例に対する適切な治療法、必要十分かつ遅滞のない院内感染伝搬の防止対策の確立が求められてきている。

わが国においては、ごく最近まで CDI に対する認知度、関心度はあまり高くなく、学術的にも一部の識者による研究や、少数の散発的な報告にとどまって、全国規模あるいは一定規模の地域におけるサーベイランスも行われてこなかった。このため CDI について重症度などの臨床像はもちろん、その発生頻度すらも未だ十分把握されておらず、診断、治療上のわが国固有の問題点についても十分な考察がなされてこなかった。

2. 研究の目的

近年わが国において関心が高まりつつある CDI に関する診療の指針を策定するにあたって、日本の実情に沿ったものとするために参考となるデータを提示することを目的として、CDI 症例の臨床解析および症例から検出された臨床分離菌の解析を行った。

3. 研究の方法

2009年から2013年に検査室に提出された糞便検体のうち *C.difficile* 培養陽性を示した342検体(294症例)のうち、カルテ調査により臨床的に CDI に合致し、保存菌株の解析が可能であった125例について検討した。

対象患者の糞便から検出された *C.difficile* の保存株を用いて毒素産生性、毒素遺伝子型を検索した。毒素遺伝子の検出は加藤らの方法 (H. Kato et al., J Clin Microbiol, 1998, 36:2178-2182) を用いて行った。

保存菌株100株について metronidazole (MNZ)、vancomycin (VCM) およびニューキノロン系薬 (ciprofloxacin, levofloxacin, garenoxacin, moxifloxacin) に対する薬剤感受性検査を E-test を用いて行った。

なお PCR ribotyping による型別解析については再現性のある安定した成績が得られなかったため、今回の解析から除外した。

対象症例の臨床像をカルテベースで後方視的に調査し、分離菌の病原性と CDI の臨床像との関連を検討した。さらに CDI 診断法の診断精度についても検討した。

4. 研究成果

(1) 菌株の毒素産生性、毒素型

C.difficile 125株中107株(85.6%)で毒素遺伝子が検出された。また107株のうちの6株が binary toxin 遺伝子を有していた。

臨床におけるイムノクロマト法による迅速診断法では65株(60.7%)が毒素陽性を示していたことから、現行法による迅速診断では毒素遺伝子を有する *C.difficile* を検出した患者の約40%で偽陰性の結果を示したことになる。

(2) 菌株の薬剤感受性

C.difficile 保存株100株(うち1株は判定不可)を用いて薬剤感受性試験を施行した結果、すべての株が MNZ および VCM に対し感受性を示した。ニューキノロン系薬については一部に耐性が認めら

れており、今後、確認検査を検討している。

(3) 検出菌の病原性と臨床像

分離菌の毒素検出状況と患者の重症度、臨床検査値、合併症、再発率の間に差は認められなかった。binary toxin 遺伝子陽性株を検出した患者においても、重症度に明らかな差はみられなかった。これら6名の患者のなかで難治例、再発例が1名ずつ存在したが、この2名では高熱、高度の炎症反応、低アルブミン血症、多数の検出菌、検出菌のキノロン耐性などの特徴が認められ、米国臨床消化器病学会ガイドラインなどにおける重症度判定因子と合致していた。

(4) 投与薬剤との臨床像

ほとんどの症例においてVCMの投与による治療がなされており、投与薬剤による比較はできなかった。VCMの投与量、投与期間と治療経過や再発などの予後との間に相関はみられなかった。

(5) 診断法の検証

71名のCDI患者から検出された毒素遺伝子陽性*C.difficile*保存株について、コロニー再釣菌による菌液を用いたイムノクロマト法と迅速毒素遺伝子検出法(Nucleic acid amplification test: NAAT)による毒素遺伝子の検出感度を比較検討した。前者では53株(74.6%)が陽性となり診療時の臨床検体による陽性19株(26.8%)から約3倍に上昇した。しかしNAATでは71株全株(100%)が陽性となりイムノクロマト法の成績を凌駕した。さらに14名のCDI患者の臨床検体においても、イムノクロマト法の8検体(57%)と比べて13検体(93%)と良好な感度を示し、今後のCDI診断への有用性が期待でき成績であった。

(6) 他の医療施設におけるCDIの解析 中部地方で検出される*C.difficile*の特

徴を明らかにするため、他の医療施設におけるCDI症例と分離された菌株の解析も予定していたが、*C.difficile*の培養検査を実施している施設が少なく、また検査を実施している施設での検出頻度が低いこと、さらにリポタイピングによる型別解析の技術が安定しなかったことから、これらの解析は行わなかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

- 1) 岩垣津志穂, 中村 敦, 新実彰男, 脇山直樹, 畑七奈子, 脇本幸夫, 塩田有史, 若杉健弘: *Clostridium difficile* に対する高感度迅速診断検査の検討. 日本嫌気性菌感染症研究 43: 24-26, 2014. (査読なし)
- 2) 岩島康仁, 中村 敦, 加藤はる, 加藤秀章, 福留元美, 脇山直樹, 柴山順子, 大橋実, 脇本幸夫: 名古屋市立大学における binary toxin 遺伝子陽性 *Clostridium difficile* 検出症例の検討. 日本嫌気性菌感染症研究 41: 137-140, 2012. (査読なし)

[学会発表](計8件)

- 1) 中村 敦: シンポジウム「*Clostridium difficile* 感染症対策」 どう治療するか? 第27回日本外科感染症学会 2014.12.4 東京コンファレンスセンター・有明(東京都・江東区).
- 2) 中村 敦: シンポジウム「*Clostridium difficile* 感染症治療の最近のトレンド」 *Clostridium difficile* 感染症の新たな診断法. 第57回日本感染症学会中日本地方会総会 2014.10.23 岡山コンベンションセンター(岡山県・岡山市).
- 3) 中村 敦, 岩垣津志穂, 佐藤由美子, 中村梓乃, 脇山直樹, 塩田有史, 福留

- 元美, 岩島康仁, 新実彰男: 名古屋市立大学における binary toxin 遺伝子陽性 *Clostridium difficile* 検出症例の検討-第 2 報-. 第 44 回日本嫌気性菌感染症研究会 2014.2.22 沖縄県医師会館 (沖縄県・島尻郡).
- 4) 脇山直樹, 岩垣津志穂, 中村 敦: リアルタイム PCR 法による自動化遺伝子検査システムを用いた *Clostridium difficile* 毒素遺伝子迅速診断法. 第 25 回日本臨床微生物学会 2014.2.1 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市).
- 5) 中村 敦: シンポジウム「院内感染で問題となる微生物の感染制御」*Clostridium difficile* 感染症の予防と管理 . 第 56 回日本感染症学会中日本地方会総会 2013.11.8 大阪国際会議場 (大阪府・大阪市).
- 6) 塩田有史, 中村 敦, 岩垣津志穂, 脇山直樹, 畑七奈子, 脇本幸夫, 新実彰男: 迅速自動化遺伝子検査システムを用いた *Clostridium difficile* の毒素遺伝子検出. 第 56 回日本感染症学会中日本地方会総会 2013.11.7 大阪国際会議場 (大阪府・大阪市).
- 7) 岩垣津志穂, 中村 敦, 新実彰男, 脇山直樹, 畑七奈子, 脇本幸夫, 塩田有史, 若杉健弘: *Clostridium difficile* に対する高感度迅速診断検査の検討. 第 43 回日本嫌気性菌感染症研究会 2013.3.30 名古屋市立大学病院(愛知県・名古屋市).
- 8) 中村 敦, 脇山直樹, 塩田有史, 畑七奈子, 脇本幸夫: 臨床検体からの *Clostridium difficile* の検出について. 第 28 回日本環境感染学会総会 2013.3.1 パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜).

〔図書〕(計 1 件)

国公立大学附属病院感染対策協議会編: 病院感染対策ガイドライン改訂第 2 版. 第 3 章 病原体別ガイドライン-クロストリジウム・ディフィシル感染症対策. 84-89, じほう (東京), 2015

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 敦 (Nakamura, Atsushi)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号: 40285200

(2) 研究分担者

加藤 秀章 (Kato, Hideaki)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号: 30418868