

クロストリジオイデス ディフィシル (*Clostridioides difficile*) 027 株について

2019 年 5 月

国立国際医療研究センター病院 国際感染症センター

鈴木哲也

国立国際医療研究センター病院 AMR 臨床リファレンスセンター

具 芳明、田島太一、藤友結実子、大曲貴夫

1. クロストリジオイデス ディフィシル 027 株が注目された経緯

新生児の腸管からグラム陽性で芽胞を形成する嫌気性桿菌が 1935 年に報告されており、これが現在のクロストリジオイデス ディフィシル(*Clostridioides difficile*)の最初の報告とされている[1]. 1970 年代にクリンダマイシンと偽膜性腸炎の関連が指摘されてから[2], 短期間のうちにさまざまな研究が行われた結果, この *C. difficile* が偽膜性腸炎の原因となっていることが明らかにされた[3].

C. difficile と, それにより引き起こされる感染症であるクロストリジオイデス ディフィシル感染症 (CDI)は, 2000 年代に入って急速に関心が寄せられるようになった. 北米を中心にその症例数が急激に増加し, 症状も重症化していたことがきっかけである. カナダ・ケベック州で 1991 年から 2003 年までの CDI を後方視的に解析した研究[4]では, CDI の発生率は 35.6 例/人口 10 万(1991 年)から 156.3 例/人口 10 万(2003 年)と 4 倍に増加していた. 特に 65 歳以上の高齢者においては, 102 例/人口 10 万(1991 年)から, 866.5 例/人口 10 万(2003 年)まで増加していた. 重症例の発生率も 7.1%(1991-1992 年)から 18.2%(2003 年)に増加し, 30 日死亡率は 4.7%(1991-1992 年)から 13.8%(2003 年)まで増加していた. CDI の増加や重症化の原因を探るために, 2004 年にケベック州にある 12 の病院でケースコントロール研究[5]が実施された結果, CDI の患者はフルオロキノロン系抗菌薬の投与(オッズ比 3.9, 95%CI 2.3-6.6)およびセファロスポリン系抗菌薬の投与(オッズ比 3.8, 95%CI 2.2-6.6)を多く受けていることがわかった. そして検出された *C. difficile* の菌株は, 84.1%がバイナリートキシン産生遺伝子を有しており, *tcdC* 遺伝子が欠損していることがわかった. また, 82.2%がフルオロキノロン耐性だった. 米国においても同じ時期に CDI の症例の増加と重症化が報告されており, 従来とは異なる新しい菌株が流行している可能性が指摘された. そして症例の菌株を解析することによって, ケベック州の *C. difficile* と同様の特徴を持つ, 現在の BI/NAP1/027 株(以下 027 株)が流行していることが確認された[6].

2. 027 株の in vitro での特徴

① バイナリートキシン

C. difficile の多くはトキシン A とトキシン B という毒素を産生する. これらのトキシンが腸管内で産

生まれ、腸管粘膜に取り込まれることで炎症が起こり、CDI の症状を生じる。一部の菌株では毒素を産生する遺伝子を持たないことがわかっており、そのような菌株は病原性を持たず、CDI も起こさないとされている。一方、このトキシン A、トキシン B に加えて、新たに第 3 のトキシンと呼ばれるバイナリートキシンという毒素を産生する菌株が存在することがわかってきた。バイナリートキシン(*C.difficile* binary toxin: CDT)は、CDTa と CDTb という二つの構成要素からなる毒素である。バイナリートキシンを産生する株は *C. difficile* の中でも限られているが、027 株はそのバイナリートキシンを産生する株のひとつである[7]。この毒素自体が実際の病原性に対して担う役割の詳細は完全には解明されていない。しかし一部の研究成果によると、バイナリートキシンは腸管上皮細胞内に取り込まれると、細胞骨格を構成するアクチンをリボシル化して破壊することがわかってきた。そして細胞表面を構成するアクチンが破壊されると、本来はこのアクチンによってせき止められていた微小管が細胞表面まで延びて突起を形成するようになり、この突起を利用して細菌が腸管上皮細胞と強固に接着できるようになるといわれている[8]。

リボタイプごとのトキシン A、トキシン B、バイナリートキシン産生の有無について下記の表にまとめた。

表. 各トキシンの産生の有無とリボタイプ

産生するトキシン	リボタイプ	備考
A(+), B(+), CDT(+)	019, 023, 027, 034, 045, 063, 066, 075, 078, 080, 111, 112	078 はオランダで増加中, 欧州で 3 番目に多く, 023 は欧州で 10 番目に多い.
A(-), B(+), CDT(+)	036, 237, 280, 281	
A(-), B(-), CDT(+)	033	基本的に無症候の患者から検出.

A=トキシン A, B=トキシン B, CDT=バイナリートキシン
(文献[8]を一部改変)

② バイナリートキシン以外の 027 株の特徴

BI/NAP/027 株はバイナリートキシンに加えて、他にもいくつかの細菌学的な特徴を有しており、これらの細菌学的な特徴が臨床的な感染の広がりやすさや重症度と関連していることが示唆されている。まず、この菌株はトキシン A とトキシン B を抑制する役割を担う *TcdC* 遺伝子が欠損している[9]。このため、この菌株では最大でトキシン A が通常株の 16 倍、トキシン B が通常株の 23 倍も産生されることが示されている[10]。さらに、in vitro の研究では、027 株の中でも芽胞を形成する能力に違いがあることが示されており、その中でもカナダや米国でアウトブレイクを起こした株は芽胞を形成する能力が高いことが示唆されている[11]。一方で、027 株と 027 以外の株で、芽胞を形成する能力に明らかな違いはな

いことを示す報告[12]もあり、芽胞を形成する能力とアウトブレイクの起こりやすさについては依然として明確な見解は得られていない。

③ 027 株の抗菌薬耐性

027 株とそれ以外の株の抗菌薬感受性に関して調べた研究[13]では、モキシフロキサシン耐性株の頻度は、027 株で 92.2%に対し、027 以外の株では 11.2%にとどまっていた。同様にセフトリアキソン耐性株の頻度は、027 株で 78.2%に対し、027 以外の株では 15.7%だった。また、メトロニダゾール耐性は 027 株、027 以外の株のいずれでも認めなかったが、027 以外の株では MIC₉₀=1μg/mL に対して、027 株は MIC₉₀=4μg/mL と明らかに上昇していた。バンコマイシンに対しては 027 株、027 以外の株のいずれも MIC₉₀=2μg/mL であり、フィダキソマイシンに対しては 027 株で MIC₉₀=2μg/mL、027 以外の株で MIC₉₀=1μg/mL だった。

3. 027 株の臨床的な特徴

① 重症度

2014年に発表された2,057例のCDIを解析した研究[14]では、027株はイレウスや中毒性巨大結腸症、偽膜性腸炎といったCDIの重症例を起こしやすく(調整 OR 1.74, 95% CI 1.36-2.22), ICU入室や腸切除, 30日以内の死亡といった重篤な転帰を辿りやすい(調整 OR 1.66, 95%CI 1.09-2.54)といわれている, この調査では14日死亡率も上昇していた(調整 OR 2.12, 95%CI 1.22-3.68). 同様に, 1,144例のCDI症例(そのうち, 027株が137例)を対象とした研究[15]では, 027株で重症例が多く(OR 1.73, 95%CI 1.03-2.89), 30日死亡率も上昇していた(OR 2.02, 95%CI 1.19-3.43). これらの研究においては, 027株は臨床的な予後が悪い株と考えられている。

一方, 292例のCDIを解析した研究[16]では, 027株でむしろ重症症例は減少しており(調整 OR 0.35, 95%CI 0.13-0.93), 院内死亡率も変わらなかった(OR 1.02, 95%CI 0.53-1.96). 同様の研究結果は, 123例のCDI(そのうち, 027株が51例)の研究[17]や, 236例のCDI(そのうち, 027株が59例)の研究[18]でも示されている。

② 治療の奏効率

米国や欧州でのデータでは, 027株のCDI患者は他の株の患者と比較して治療成功率が低かった(87% vs 94%, p<0.001). そのため, 他のCDIに比べて027株は治療に難渋しやすい可能性が示されている[19]. また, 027株に対するバンコマイシンとフィダキソマイシンの治療効果について, extended-pulsed fidaxomicin(200mg 1日2回 day1-5, 200mg/回を48時間毎 day7-25) vs バンコマイシン(125mg 1日4回 10日間)で30日目の治癒維持率を比較した研究[20]では, 027株の中ではフィダキソマイシン 80% vs バンコマイシン 40.9%(p=0.006)と, フィダキソマイシンの方が高い治癒維持率を示していた. ただし, この研究では extended-pulse というフィダキソマイシンの例外的な使い方に対して, 通常量のバンコマイシンという対照群を設定しており, 027株に対してバンコマイシンよりもフィダキソマイシンを使

用すべきであるということを示したものではない点に注意が必要である。

③ 再発率

027 株と non-027 株の CDI における再発のリスクファクターを検討した研究[21]では、027 株においてメトロニダゾール単独治療(subdistributional HR 2.38, 95%CI 1.549-3.60)と免疫抑制状態(sHR 3.116, 95%CI 1.906-5.090)が再発のリスクファクターと報告されている。

一方、使用する抗菌薬については、バンコマイシン vs フィダキソマイシンの比較で再発率に統計学的な有意差は認めなかった(バンコマイシン 31.3% vs フィダキソマイシン 23.3%, $p=0.23$)[19]といわれている。また、スペインの病院で 2014 年に発生した 027 株のアウトブレイク($n=141$)における解析[22]では、経口バンコマイシンの長期使用 vs 従来の治療レジメン(メトロニダゾール 1500mg/日内服 10-14 日か、バンコマイシン内服 125mg4 回 10-14 日間)では、再発率が 8.6% vs 44.7% ($p<0.01$, OR 0.091, 95% OR 0.028-0.294)であり、死亡率も 0% vs 7.1%($p=0.058$)だった。

これらの結果からは、少なくとも再発率という点においては、027 株による CDI に対してメトロニダゾールによる治療よりもバンコマイシン散による治療を検討すべきであると考えられるだろう。

そのほか、CDI の再発を抑制する方法として、通常の初期治療の後に Bezlotoxumab (ジーンプラバ®) を投与すると、プラセボと比較して優位に再発率を低下させることが示されている。この研究には 027 株が 18.1%含まれており、この 027 株においても同様の結果を得られている[23]。そのほか、病原性のない *C. difficile* (nontoxigenic strains of *C. difficile*, NTCD) が腸管内にコロナイズしていると、病原性のある *C. difficile* に対して予防効果を発揮することがわかってきており[24]、この結果を用いた治療薬の開発も研究されている。

4. 027 株の世界的な状況

CDI を起こす菌株にはもともと地域差があり、アジアでは 001 株, 002 株, 014 株, 017 株, 018 株が多く報告されており、中東では 001 株, 002 株, 014 株, 046 株, 078 株, 126 株, 140 株が多い。欧州や北米では 001 株, 014 株, 020 株, 027 株, 078 株が多いとされており、特に 027 株がこの 10 年で増加傾向にある[9]。

2011 年には、米国の 10 の地域において、027 株は検出される *C. difficile* の中でもっとも頻度の高い株となり、医療施設関連 CDI 全体の 31%を占めるようになった[25]。しかし 2013 年から 2016 年までの米国のある病院では、その 4 年間の合計の 027 株の検出率は全 *C. difficile* 中で 22.0%であり、年毎に比較すると 2013 年 26.2%、2016 年 16.9%と経年的に低下傾向を示している[26]。

カナダでも 027 株の流行が報告されているが、その検出率は地域によって差があり、検出される全 *C. difficile* のなかで 10%に満たない地域から、75%にまで達する地域までさまざまであるといわれている[27]。

欧州では 2005 年以降、027 株が各国に広がっており、抗菌薬の感受性も現在進行形で変化している[28]。

英国では2007-2008年に行われた研究で *C. difficile* の40%以上がこの027株だったといわれている[29]. しかしさまざまな対策により2010年には英国での027株の検出率は21%まで減少したと報告されており, その原因のひとつにはフルオロキノロン系抗菌薬とセファロスポリン系抗菌薬の使用量が低下したことが挙げられている[30].

アジア各国においては027株の分離頻度は少ないといわれており, その文献的な報告も限られている. 中国でCDI疑いの患者を検査した2016年から2017年にかけての研究では, 839例のCDI疑い患者の便から107例の *C. difficile* が検出された. そのうち027株はわずか1例だけであり, これが中国から最初に報告された027株といわれている[31].

5. 日本における027株の状況

日本においては, 2005年に海外渡航歴のない潰瘍性大腸炎治療中の30歳女性が発症した偽膜性腸炎の培養から027株が検出されており, これが日本から学術的に最初に報告された027株の臨床症例である[32]. 日本においてフィダキソマイシンの有効性を検討した第3相試験[33]では, バンコマイシンに対する非劣性を証明できなかったが, この研究では027株はわずか1株のみだった. また, 日本においてバイナリートキシン産生の *C. difficile* が検出された劇症型CDIの46歳女性患者からは, 027株ではなく, リボタイプts0592が報告されている[34]. この患者は抗菌薬の先行投与やPPI内服, 腹部手術などのリスクファクターはなく, 非定型精神病に対して抗精神病薬の内服があるのみだった. 経口バンコマイシン(2,000mg/日)+メトロニダゾール点滴で最終的に後遺症なく退院している.

このように, 日本では027株の分離頻度は低く, 上記の通り単発の症例報告や, まとまった症例数の研究において数例の検出が報告されているのみである. Pubmed や医中誌での検索では日本国内の公式なアウトブレイク報告は認めなかった.

6. まとめ

027株のアウトブレイクは北米や欧州で報告されており, その微生物学のおよび臨床的な特徴について研究が進んでいる. しかし重症度や再発率などについては, それぞれ相反する結果が示されていることが多く, いまだに明らかにされていない部分も多い. 研究の結果が一致しない原因は, 研究デザインや対象患者, サンプルサイズや *C. difficile* の検出方法など, さまざまな要因が関係しているといわれている[9]. また, *in vitro* の研究で指摘されているような芽胞を形成する能力の違いや, 抗菌薬の感受性の違い, 使用する抗菌薬に対する再発率の違いなどについても, まだまだ研究の余地が残されている. さらに, 日本においては027株自体の報告が非常に少なく, 欧州や米国における研究結果やCDIの治療レジメンをどこまで適応すべきかを, 慎重に判断する必要がある. 現時点では, 027株であっても, それ以外の株であっても, 基本的なCDIの予防方法である抗菌薬適正利用と, CDIの拡大を防ぐための接触感染対策, 流水と石鹸による手洗い, 環境整備などを粛々に行うことが大切である. また, 臨床医は菌株の種類の特定にこだわるのではなく, 現場の臨床的な判断や患者の個々の背景, 治療経過に応じて, 治

療方針を決定していくべきであると考える.

7. 引用文献

- [1] Hall IC. Intestinal flora in newborn infants with a description of a new pathogenic anaerobe, *Bacillus difficilis*. *Am J Dis Child* 1935; 49: 390- 402.
- [2] Tedesco FJ. Clindamycin-associated colitis. A prospective study. *Ann Intern Med.* 1974; 81: 429-33.
- [3] Bartlett JG. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia. *N Engl J Med.* 1978; 298: 531-4.
- [4] Pépin J. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a region of Quebec from 1991 to 2003: a changing pattern of disease severity. *CMAJ.* 2004; 171: 466-72.
- [5] Loo VG. A Predominantly Clonal Multi-Institutional Outbreak of *Clostridium difficile*–Associated Diarrhea with High Morbidity and Mortality. *N Engl J Med* 2005; 353:2442-2449.
- [6] McDonald et al. An Epidemic, Toxin Gene–Variant Strain of *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2005; 353:2433-2441.
- [7] Bennett JE. Mandell, Douglas, and Bennett’s Principles and Practice of Infectious Diseases 8th edition. 2015. 2745-2749.
- [8] Gerding DN. *Clostridium difficile* binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. *Gut Microbes.* 2014; 5: 15-27.
- [9] Fatima R. The Hypervirulent Strain of *Clostridium Difficile*: NAP1/B1/027 - A Brief Overview. *Cureus.* 2019; 11: e3977.
- [10] Warny M. Toxin production by an emerging strain of *Clostridium difficile* associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe. *Lancet.* 2005. 30; 366: 1079-84.
- [11] Akerlund T. Increased sporulation rate of epidemic *Clostridium difficile* Type 027/NAP1. *Clin Microbiol.* 2008;46:1530-1533.
- [12] Burns DA. Reconsidering the sporulation characteristics of hypervirulent *Clostridium difficile* BI/NAP1/027. *PLoS One.* 2011; 6: e24894.
- [13] Karlowsky JA. PCR ribotyping and antimicrobial susceptibility testing of isolates of *Clostridium difficile* cultured from toxin-positive diarrheal stools of patients receiving medical care in Canadian hospitals: the Canadian *Clostridium difficile* Surveillance Study (CAN-DIFF) 2013-2015. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2018; 91: 105-111.
- [14] See I. NAP1 strain type predicts outcomes from *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis.* 2014; 58: 1394-400.
- [15] Rao K. *Clostridium difficile* Ribotype 027: Relationship to Age, Detectability of Toxins A or B in

- Stool With Rapid Testing, Severe Infection, and Mortality. *Clin Infect Dis*. 2015; 61: 233–241.
- [16] Bauer KA. Impact of the NAP-1 strain on disease severity, mortality, and recurrence of healthcare-associated *Clostridium difficile* infection. *Anaerobe*. 2017; 48: 1-6.
- [17] Morgan OW. Clinical Severity of *Clostridium difficile* PCR Ribotype 027: A Case-Case Study. *PLoS One*. 2008; 3: e1812.
- [18] Cloud J. *Clostridium difficile* strain NAP-1 is not associated with severe disease in a nonepidemic setting. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009; 7: 868-873.e2
- [19] Petrella LA, Decreased cure and increased recurrence rates for *Clostridium difficile* infection caused by the epidemic *C. difficile* BI strain. *Clin Infect Dis*. 2012; 55: 351-7.
- [20] Cornely OA. Extended-pulsed fidaxomicin versus vancomycin for *Clostridium difficile* infection: EXTEND study subgroup analyses. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019. doi: 10.1007/s10096-019-03525-y
- [21] Falcone M. Risk factors for recurrence in patients with *Clostridium difficile* infection due to 027 and non-027 ribotypes. *Clin Microbiol Infect*. 2019; 25: 474-480.
- [22] Bouza E. An outbreak of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 in Spain: risk factors for recurrence and a novel treatment strategy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017; 36: 1777-1786.
- [23] Wilcox MH. Bezlotoxumab for Prevention of Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *N Engl J Med*. 2017; 376: 305-317.
- [24] Kociolek LK. Clinical Utility of Laboratory Detection of *Clostridium difficile* Strain BI/NAP1/027. *J Clin Microbiol*. 2016; 54: 19–24.
- [25] Lessa FC et al. Burden of *Clostridium difficile* infection in the United States. *N Engl J Med*. 2015; 372: 825-34.
- [26] Giancola SE. Prevalence of the *Clostridium difficile* BI/NAP1/027 strain across the United States Veterans Health Administration. *Clin Microbiol Infect*. 2018; 24: 877-881.
- [27] MacCannell DR. Molecular Analysis of *Clostridium difficile* PCR Ribotype 027 Isolates from Eastern and Western Canada. *J Clin Microbiol*. 2006; 44: 2147-52.
- [28] Kuijper EJ. Update of *Clostridium difficile* infection due to PCR ribotype 027 in Europe, 2008. *Euro Surveill*. 2008; 13: pii=18942.
- [29] Brazier JS. Distribution and antimicrobial susceptibility patterns of *Clostridium difficile* PCR ribotypes in English hospitals, 2007-08. *Euro Surveill*. 2008; 13: pii=19000
- [30] Wilcox MH. Changing epidemiology of *Clostridium difficile* infection following the introduction of a national ribotyping-based surveillance scheme in England. *Clin Infect Dis*. 2012; 55: 1056-63.
- [31] Zhou Y. Epidemiology of *Clostridium difficile* infection in hospitalized adults and the first isolation of *C. difficile* PCR ribotype 027 in central China. *BMC Infect Dis*. 2019;19: 232.
- [32] H Kato et al. First isolation of *Clostridium difficile* 027 in Japan. *Euro Surveill*. 2007; 12:

pii=3110.

[33] Mikamo H. Efficacy and safety of fidaxomicin for the treatment of Clostridioides (Clostridium) difficile infection in a randomized, double-blind, comparative Phase III study in Japan. *J Infect Chemother.* 2018; 24: 744-752.

[34] Oguri N. Community-acquired fulminant colitis caused by binary toxin-producing Clostridium difficile in Japan. *Clin J Gastroenterol.* 2019. doi: 10.1007/s12328-019-00949-z.