

N I C Uにおける *Cl. difficile* の動向について

聖マリアンナ医科大学小児科

堀内 勁, 宝樹 真理
森 直行, 宮平 寛
塚田 健介, 依田 卓

研究目的

新生児壊死性腸炎の発生, 増悪因子として腸内細菌の意義を知る目的で昭和58年度は我々の施設で発生した *Cl. difficile* 腸炎の流行とそれに伴う我々の施設内での *Cl. difficile* の検出について1時点に限って検討した。昭和59年度には全国における壊死性腸炎の発生動向について昭和56年1月から昭和58年12月迄を対象としたアンケート調査をおこなった。その結果通常の便培養では壊死性腸炎に特異的な細菌は証明されなかったが, 嫌気性培養は対象となった101例中わずか4例にのみおこなわれていたにすぎないことも判明した。そのためか嫌気性菌の検出された例は皆無であった。そこで本年は *Cl. difficile* のNICU内での動向およびその病原性を知る目的で定期的に我々の施設での *Cl. difficile* の培養検出および, *Cl. difficile* の病原性と関係があるとされている Enterotoxin と Cytotoxin の測定も合せおこなった。

対象と方法

対象は昭和59年12月から昭和60年5月までの6ヶ月間に聖マリアンナ医科大学病院NICUに入院した病的新生児, 未熟児のべ116名のうち糞便が採取できた82名である。方法はこれらの対象児について毎月1回0.5~1grの糞便を嫌気ポーターに採取し, その一部を用いてCCFA培地(中塩変法)で嫌気性培養をおこなった。残りの糞便の10倍希釈乳剤を1200回転20分遠心し, 上清の一部を Enterotoxin 測定用とし, 残りをミリポアフィルターで濾過して Cytotoxin 検出に用いた。Enterotoxin の測定は Latex凝集法を用いて定性的におこない, 凝集の程度から(-), (±), (+), (++)とした。Cytotoxin の検出はHela

細胞を用い2倍希釈系で定量した。また1月および2月は *Cl. perfringens* についても検出を試みた。

研究結果

表1に *Cl. difficile* の培養結果および Enterotoxin, Cytotoxin の検出率を示した。*Cl. difficile* の培養検出率は全体で82例中53例64.6%に証明されたが月別では変動があり, 最低は昭和59年12月の38.5%, 最高は昭和60年5月の80.0%であった。*Cl. perfringens* の分離は1月と2月のみしかおこなわれなかったが, 1月は7名, 41.2%に証明されたが, 2月は検出は皆無であった。便中 Cytotoxin の検出率は12月7.7%, 1月5.9%, 2,3月0.4月47.1%, 5月66.7%であり, 全体では82例中20例24.4%に証明された。しかしその力価をみると2例を除いて2倍という低力価であり, 残りの2例も16倍, 32倍という値であった。Enterotoxin の証明率は82例中67例81.7%であり, 培養結果より高い値を示したが, 凝集度(±)のものが15例あり, それを除くと52例63.4%となりほぼ培養検出率と等しい値を示した。

図1に *Cl. difficile* の培養結果と Enterotoxin の力価との相関関係をしめしたが, 軽度の相関があり, 手技が難しい嫌気性培養をおこなわなくても, ある意味ではどこでもできるラテックス凝集法をおこなえば *Cl. difficile* が腸内細菌叢となっているかどうかを判定できるとかんがえられる。

図2に生後日数と *Cl. difficile* の分離率の推移をしめしたが, 生後1週以内はそれ以後と比較して危険率0.01以下で有意に低率であった。これは *Cl. difficile* が母体から感染したというよりもNICU内で介護者あるいは環境より獲得したことを物語っている。

今回も抗生物質投与の有無による *Cl. difficile* の分離率について検討したが成人領域でいわれているような抗生物質投与による分離率の増加は見られず、また逆にNICU内で通常もちいられている抗生物質投与によって分離率が低下することもなかった。また栄養法別の分離率の検討も母乳単独、人工栄養、混合栄養、非経口栄養についても有意差は無かった。

表2には排便回数と *Cl. difficile* の関係をしめたが、菌の分離そのものと排便回数とのあいだには χ^2 検定をおこなっても有意な関係は得られなかった。同様に Enterotoxin とのあいだにも有意な関係はなかった。また便の性状と *Cl. difficile* の分離および enterotoxin とのあいだにも有意な関係は見られなかった。これらのことより Cytotoxin の力価の低い *Cl. difficile* はたとえ Enterotoxin が陽性であったとしても、少なくとも新生児期は病原性を発揮することは少ないといえる。

考 察

新生児壊死性腸炎の病原体として *Cl. difficile* が注目されてきたが、一方新生児期はこの細菌は正常腸内細菌叢としても存在しうことは、諸家の多くの報告がある。我々もこの菌によると思われる新生児期に烈しい粘血性のしかも悪臭の強い下痢をともなった腸炎の流行を経験した。そこで経時的に *Cl. difficile* の半定量分離と便中 Cytotoxin および Enterotoxin のふたつの毒素を測定し、その意義を検討した。その結果病児の入院するNICU内では *Cl. difficile* は正常新生児室よりも高いコロニー率をしめたが、そのコロニー

率は月により大きく変動していた。また Enterotoxin の証明は便の嫌気性培養による菌の証明とよく一致していたが、培養の程度と毒素量そのものとは軽度の相関がみられたがかならずしも一致はしなかった。しかし、嫌気性培養をルーチンにおこなうことの困難さを考えると手技が容易である Enterotoxin の検出は意義深いといえる。今回我々がおこなった範囲では便中 Cytotoxin の検出は培養および Enterotoxin の検出に比較して低率であり、しかも毒素の力価は低く、ふたつの毒素には解離がみられたことが注目される。げんに我々の施設内ではこの6ヶ月の間に壊死性腸炎はもとより、その他の細菌性の腸炎の発生も見えていない。また排便回数、便性状と *Cl. difficile* の分離および Enterotoxin とのあいだには有意な関係は無かった。すなわち Cytotoxin が低力価である *Cl. difficile* はたとえ Enterotoxin が強陽性であっても新生児期には病原性を発揮しないものとおもわれた。

要 約

NICUにおいて6ヶ月間毎月1回入院患者の便中 *Cl. difficile* の分離、Enterotoxin、Cytotoxin の測定をおこなった。その結果極めて高率に菌の分離と Enterotoxin の証明がなされ、NICU内の環境、あるいは介護者から伝播するものとおもわれた。しかしその病原性については Cytotoxin の照明率が低く、またその力価が低いことから否定的であった。今後壊死性腸炎の病因とこの菌の病原性について検討する場合には Cytotoxin の測定が不可欠であると考えられた。

表1 聖マリアンナ医科大学病院NICUにおける *Cl. difficile* の証明率

	12月	1月	2月	3月	4月	5月	計
入院患者数	20	19	20	19	19	19	116
検体数	13	17	12	8	17	15	82
<i>Cl. difficile</i> (+)	5(38.5)	11(64.7)	9(75.0)	5(62.5)	11(64.7)	12(80.0)	53(64.6)
<i>Cl. perfringens</i> (+)	ND	7(41.2)	0	ND	ND	ND	
Cytotoxin (+)	1(7.7)	1(5.9)	0	0	8(47.1)	10(66.7)	20(24.4)
Enterotoxin (+)	10(76.9)	13(76.5)	11(91.7)	8(100)	13(76.6)	12(80.0)	67(81.7)

表2 排便回数とCl. difficileの分離とEnterotoxin

Cl. difficileの分離と排便回数

排便回数	(-)	(+)	(++)	(+++)	計
0~3回	6	14	4	9	33
4~6回	12	7	5	6	30
7回以上	11	3	2	3	19
計	29	24	11	18	82

Enterotoxinと排便回数

排便回数	(-~±)	(+)	(++)	計
0~3回	12	4	17	33
4~6回	8	10	12	30
7回以上	9	2	8	19
計	29	16	35	82

便の性状とCl. difficileの分離とEnterotoxin

Cl. difficileの分離と便の性状

便の性状	(-)	(+)	(++)	(+++)	計
普通便	9	8	3	8	28
軟便	11	12	6	10	39
泥状便	3	0	0	0	3
水様便	3	4	0	0	7
粘液便	1	0	1	0	2
胎便	2	0	1	0	3
計	29	24	11	18	82

Enterotoxinと便の性状

便の性状	(-~±)	(+)	(++)	計
普通便	10	5	13	28
軟便	12	7	20	39
泥状便	0	2	1	3
水様便	3	2	2	7
粘液便	2	0	0	2
胎便	2	0	1	3
計	29	16	37	82

Correlation between Cl. difficile Colonies and Enterotoxin

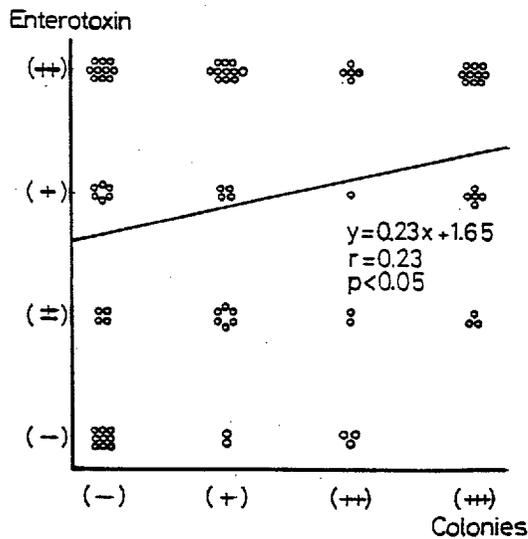
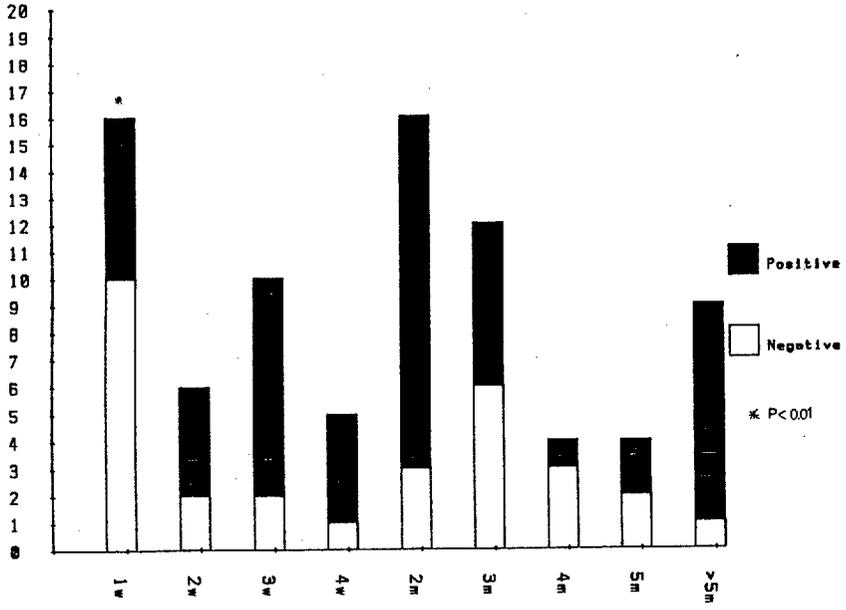


図1.

Positive Rate of Cl.difficile by Age



⊠ 2.

↓ 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用 ↓
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります

研究目的

新生児壊死性腸炎の発生,増悪因子として腸内細菌の意義を知る目的で昭和58年度は我々の施設で発生した Cl.difficile 腸炎の流行とそれに伴う我々の施設内での Cl.difficile の検出について1時点に限って検討した。昭和59年度には全国における壊死性腸炎の発生動向について昭和56年1月から昭和58年12月迄を対象としたアンケート調査をおこなった。その結果通常の便培養では壊死性腸炎に特異的な細菌は証明されなかったが,嫌気性培養は対象となった101例中わずか4例にのみおこなわれていたにすぎないことも判明した。そのためか嫌気性菌の検出された例は皆無であった。そこで本年は Cl.difficile の NICU 内での動向およびその病原性を知る目的で定期的に我々の施設での Cl.difficile の培養検出および,Cl.difficile の病原性と関係があるとされている Enterotoxin と Cytotoxin の測定も合せおこなった。