國內外新知

困難梭狀桿菌 (*Clostridium difficile*) 診斷新知

困難梭狀桿菌 (*Clostridium difficile*) 為一種革蘭氏陽性、產孢子之厭氧桿菌。研究顯示，百分之三的正常成年人腸道中帶有此細菌，但不造成任何症狀[1]。然而，當病人因使用抗生素或者其他抗微生物效果之藥物而破壞正常腸道菌叢時，困難梭狀桿菌即可能於腸道中大量繁殖並產生毒素而造成腹瀉、發燒、以及結腸炎 (colitis)，稱為 *Clostridium difficile* associated disease (CDAD)。困難梭狀桿菌之孢子對環境之耐受力強，因此容易污染環境，再經由糞口傳播方式造成群聚感染，是目前醫療照護相關感染必須重視且予以監控之項目。

住院中病人如有腹瀉之症狀，皆須將 CDAD 列入鑑別診斷，特別是有使用抗生素病史之病人。即時診斷 CDAD 對院內感染控制至關重要。延遲診斷 CDAD 不僅造成治療之盲點，增加病人之併發症及死亡率，也將造成群聚感染之機率上升。如何迅速有效的診斷 CDAD，成為臨床照護上常需要面對的問題。

目前對於 CDAD 的診斷方式有：

1. 細胞毒素中和測試 (Cell cytotoxic neutralization assay, CCNA) [2]，於組織培養皿中放入糞便檢體濾出物，若檢體中含有困難梭狀桿菌毒素，則會產生細胞毒性；同時將此檢體加入抗毒素抗體後，可中和此細胞毒性，則此試驗即為陽性結果。此試驗為診斷 CDAD 之黃金標準 (gold standard)，在良好的環境下有優越的敏感度及特異性；然而其敏感度隨實驗室條件、操作差異、以及使用的細胞種類不同而變化甚大。實驗室需要有組織培養之能力，較耗費人力與資金，且其操作至少需要 24~48 小時以上的時間，診斷之時效性也較差。因此目前大多數醫院之實驗室皆無法進行此項檢驗。

2. 細菌培養暨毒素測試 (toxigenic bacterial culture for *Clostridium difficile*)。將糞便檢體於厭氧環境下培養出困難梭狀桿菌菌落，再檢測其菌落是否產生毒素；不產生毒素之菌落則並非致病菌。細菌培養對於流行病學研究及藥敏試驗至為重要，然而此

項檢驗對實驗室人力及設備之需求較高，且需要 48 小時以上才能得到初步結果，因此較無法即時診斷出 CDAD。

3. 困難梭狀桿菌毒素測驗 (*Clostridium difficile* toxin test)，目前一般使用免疫螢光法偵測困難梭狀桿菌所分泌之毒素 A 及 B。其優點為操作簡單、快速，其診斷之特異性高，但敏感性不足。Wren 等人研究市面上數種毒素測驗之結果顯示，其特異性約 99~100%，但敏感度僅有 30~50% [3]。因此毒素試驗陰性之結果並不能排除 CDAD 之診斷，往往需要重複數次之檢驗以提高其敏感度。

4. 谷氨酸去氫酶試驗 (Glutamate dehydrogenase, GDH test)。GDH 為困難梭狀桿菌所分泌之代謝性酵素，可以相當敏感且快速的偵測細菌之存在。然而 GDH 試驗無法區分此菌株是否具有釋放毒素之能力，而沒有釋放毒素能力之困難梭狀桿菌僅為移生菌種 (colonization)，沒有致病力。Wren 等人研究之研究顯示，GDH 試驗之敏感度接近 100%，特異性為 98.5% [3]。由於 GDH 試驗提供良好的陰性預測值 (Negative predict value, NPV)，目前已有同時檢測 GDH 及毒素試驗之商業化檢驗製劑，以期截長補短。然而 GDH 陽性但毒素測驗陰性的病人，有可能為 CDAD，也有可能為困難梭狀桿菌之移生，尚無法有效區分兩者之差異。

5. 毒素 B 基因之聚合酶連鎖試驗 (PCR test for toxin B gene, tcdB)，在研究中顯示其診斷之敏感性及特異性相近於細菌培養暨毒素測試[3,4]，且比細菌培養更能快速得到結果。其缺點為價格昂貴，且由於其偵測項目為基因，而非實際分泌的毒素；CDAD 經治療過後之病人，其糞便中仍有可能持續偵測出 tcdB 基因長達 4 周，但臨床並無症狀。因此聚合酶連鎖試驗對於復發的 CDAD 較無診斷價值。

綜合上述診斷方式之優缺點，Orendi[5] 及 Swindells[6] 等人建議採用兩步驟流程以期迅速正確的診斷 CDAD，並兼顧經濟效益：首先同時測驗 GDH 以及毒素 A 及 B，若 GDH 及毒性測驗皆為陽性者，即可診斷為 CDAD；若 GDH 及毒性測驗皆為陰性者，則排除 CDAD；若 GDH 陽性而毒素測驗陰性者，再進一步使用 PCR 檢驗 tcdB 基因，PCR 陽性者亦可診斷為 CDAD。根據 Orendi[5] 之研究結果，在 GDH 陽性而毒素測驗陰性的病人中，使用 PCR 檢測 tcdB 基因，發現有高達 59% 的病人呈現陽性結果；若單用毒素測驗以篩檢 CDAD 的狀況下，此群病人則將因偽陰性結果而延遲診斷與治療。

【譯者評】此兩步驟之診斷方式，相對於 CCNA 及細菌培養較為快速得到診斷，相較於單用 GDH 或毒素測驗，則可提高敏感度及特異性；在 GDH 與毒素測驗出現爭議性結果時，PCR 提供另一項確認性的檢測，

也可避免廣泛使用 PCR 所造成醫療資源的耗費，或可成為國內之參考與借鏡。【台中榮總 曾淑婷 摘評】

參考文獻

1. Orendi JM, Monnery DJ, Manzoor S, et al: A two-stage algorithm for *Clostridium difficile* including PCR: can we replace the toxin EIA? J Hosp Infect 2012;80:82-4.
2. Swindells J, Brenwald N, Reading N, et al: Evaluation of diagnostic tests for *Clostridium difficile* infection. J Clin Microbiol 2010;48:606-8
3. Wren MW, Sivapalan M, Kinson R, et al: Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infection: an evaluation of tests for faecal toxin, glutamate dehydrogenase, lactoferrin and toxigenic culture in the diagnostic laboratory. Br J Biomed Sci 2009;66:1-5.
4. Wilcox MH, Planche T, Fang FC, et al: What is the current role of algorithmic approaches for diagnosis of *Clostridium difficile* infection? J Clin Microbiol 2010;48:4347-53.
5. Tenover FC, Novak-Weekley S, Woods CW, et al: Impact of strain type on detection of toxigenic *Clostridium difficile*: comparison of molecular diagnostic and enzyme immunoassay approaches. J Clin Microbiol 2010;48:3719-24.
6. Larson HE, Parry JV, Price AB, et al: Undescribed toxin in pseudomembranous colitis. Br Med J 1977;1:1246-8.