

## 原著

## 髄液検体に対する肺炎球菌尿中抗原迅速検出キットの使用が診断上有用であった肺炎球菌性髄膜炎の1例\*

稲見由紀子<sup>1)</sup> 石和田稔彦<sup>1)</sup> 深沢千絵<sup>1)</sup>  
大楠清文<sup>3)</sup> 菱木はるか<sup>1)</sup> 武田紳江<sup>1,2)</sup>  
河野陽一<sup>1)</sup>

**要旨** 抗菌薬静注開始後10日目の髄液検体において Binax NOW *Streptococcus pneumoniae* (NOW) が陽性、PCR法で肺炎球菌特異遺伝子の存在を確認し肺炎球菌性髄膜炎と診断し得た症例を経験した。NOWは、従来使用されてきた抗原検査に比べ感度が良く、髄液を検体とした髄膜炎の病原検索、特に抗菌薬投与後の症例など病原菌の特定が困難な症例に適応があると考えられた。

## はじめに

Binax NOW *Streptococcus pneumoniae* (以下、NOW)は、免疫クロマトグラフィー法を利用して肺炎球菌の莢膜多糖体抗原を認識するキットで、わが国では尿中抗原検出法としてのみ保険適応が認められている。同法は成人市中肺炎の起炎菌診断法として有用であるという報告がある<sup>1)</sup>。しかし、感度が良いため、肺炎球菌を鼻咽腔に多く保菌している乳幼児の場合は、健康な状態でも尿中抗原が陽性となることが示されており<sup>2,3)</sup>、小児肺炎の起炎菌診断の目的で尿中抗原検出に用いる際には偽陽性が多いため、その解釈には注意を要する。

一方、臨床現場において、診断前に抗菌薬を前投与されており、髄液培養陰性で起炎菌診断が困

難な化膿性髄膜炎症例に遭遇することがある。このような症例に対し従来用いられている抗原検査は有用な場合もあるが、その感度は7%とされ臨床の有用性を疑問視する意見もある<sup>4)</sup>。今回、10日間抗菌薬を使用された症例において、髄液検体のNOWが陽性であり、PCR法で肺炎球菌の特異遺伝子を確認し得た症例を経験した。検出限界に関して従来法との比較検討を加え、NOWの髄液中抗原検出法としての有用性について報告する。

## I. 症例 (図1)

上海在住の日本人3歳女児。生来健康で、病前に歯科処置などのエピソードはなかった。

発熱、頭痛で発症し、第4病日に白血球数 $19,200/\mu\text{l}$ 、CRP $28.3\text{ mg/dl}$ であったため、現地大学病院に入院した。同日より、ceftriaxone

\* A case of pneumococcal meningitis diagnosed by *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen test kit with cerebrospinal fluid

**Key words** : 肺炎球菌, 髄膜炎, 迅速診断, 抗原検査, Binax NOW *Streptococcus pneumoniae*

1) 千葉大学大学院医学研究院小児病態学 Yukiko Inami, Naruhiko Ishiwada, Chie Fukasawa, Haruka Hishiki, Nobue Takeda, Yoichi Kohno

[〒260-8670 千葉市中央区亥鼻1-8-1]

2) 千葉市立海浜病院小児科 Nobue Takeda

3) 岐阜大学大学院医学研究科病原体制御学分野 Kiyofumi Ohkusu

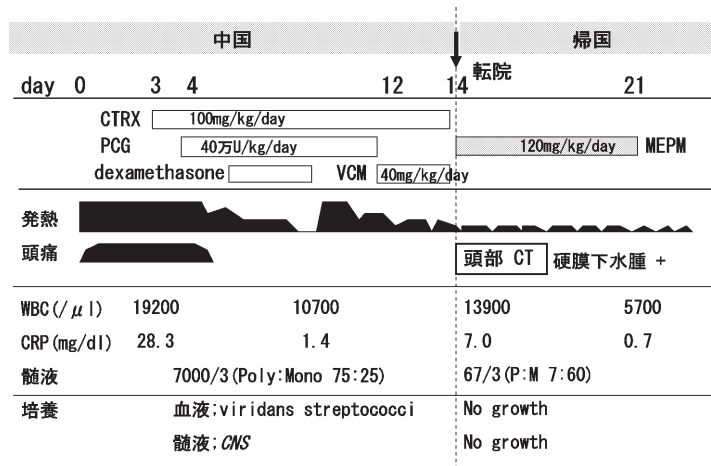


図1 臨床経過

CTR<sub>X</sub> : ceftriaxone, PCG : penicillin G, VCM : vancomycin, MEPM : meropenem

(CTR<sub>X</sub>) 投与開始, 翌日の髄液検査で, 細胞数 7,000/3 (多核球優位), 糖 30.6 mg/dl, 蛋白 80.2 mg/dl であったことから, 細菌性髄膜炎と診断された. 抗菌薬投与後の髄液検体の培養では Coagulase negative *Staphylococcus* が, 血液培養からは viridans streptococci が検出された (培養検査に関しては, 日本まで同行してきた担当医師に事実関係を確認したが, 紹介状の内容以上の情報は得られず, 正確な培養結果, 感受性結果は確認できていない). 治療はその後, CTR<sub>X</sub> に加え penicillin G (PCG), dexamethasone 投与が追加された. 第10病日に一旦解熱が得られたものの, 第11病日より再度発熱し, PCG を vancomycin に変更された. 家族の希望により, 第14病日に帰国し当院に転院となった.

起炎菌検索目的に, 当院転院時 (第14病日, 治療開始後10日目) に髄液穿刺を行ったところ, 細胞数 67/3 (単核球優位), 糖 50 mg/dl, 蛋白 20 mg/dl であった. 髄液塗抹, 髄液培養はともに陰性であり, ラテックス凝集法抗原検査 (スライデックスメニンギートキット<sup>®</sup>) で b 型インフルエンザ菌, 肺炎球菌, A 群髄膜炎菌, B 群髄膜炎菌, C 群髄膜炎菌, 大腸菌 K 1 抗原はいずれも陰性であった. 前医の経過からインフルエンザ菌と肺炎球菌による細菌性髄膜炎の可能性を考慮し, 治療

薬は, meropenem (MEPM) を選択した. 後に NOW を用い, 尿中抗原を調べたところ陽性を示し, 髄液検体でも陽性であった (図2). 肺炎球菌が起炎菌として強く示唆されたが, 経過良好だったため PAPM/BP への薬剤変更は行わず第21病日まで MEPM での治療を継続した. なお, 転院時の頭部 CT で硬膜下水腫が認められ, 発熱の遷延は硬膜下水腫に起因する可能性が高いと考えた. 転院後は, 38°C前半の発熱が第30病日頃まで続いていたが, 徐々に解熱傾向となり, 神経学的後遺症を残すことなく軽快, 退院した. 発症6カ月後の頭部 CT では硬膜下水腫は消失していた.

後日, NOW の陽性反応の妥当性を確認するために, 第14病日の髄液検体を用いて PCR 法による肺炎球菌遺伝子の検出を岐阜大学病原体制御学分野へ依頼した. Fukasawa らの PCR 法<sup>5)</sup>に従って, 肺炎球菌に特異的な autolysin (*lytA*), pneumolysin (*ply*) 遺伝子の検出を試みた. その結果, 双方の遺伝子ともに目的サイズの増幅産物が検出された (図3). 増幅 DNA の塩基配列を解析し<sup>5)</sup>, *lytA* および *ply* 遺伝子に特異的な領域が増幅されたことを確認できたため, 本症例の起炎菌を肺炎球菌と確定した.

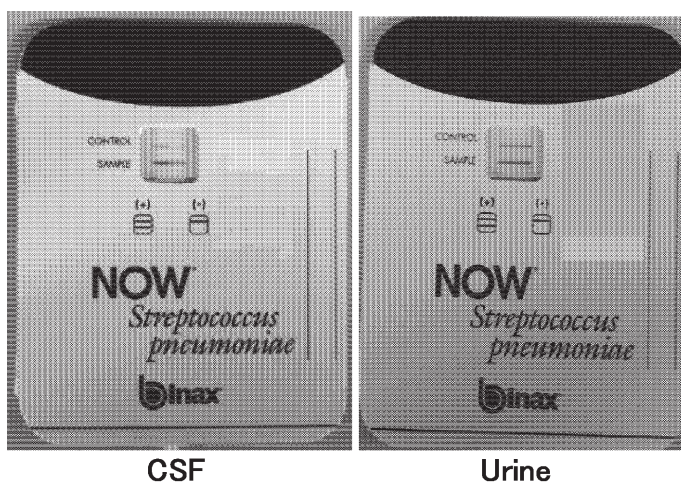


図 2 肺炎球菌抗原 Binax NOW 反応 (治療開始後 10 日の検体)  
髄液, 尿ともに陽性反応を得た.

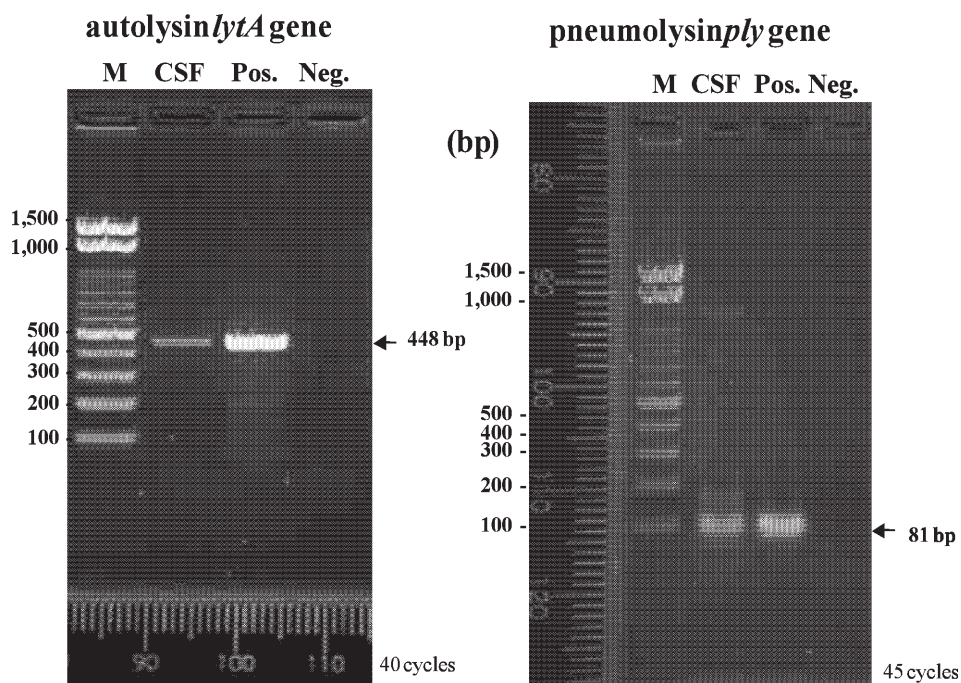


図 3

第 14 病日の髄液検体において, *lyt A* gene を 448 bp の位置に, *ply* gene を 81 bp の位置に検出した.

## II. 抗原検査キットの検出限界値に関する検討

今回治療開始後 10 日目の検体で, 従来用いられている髄液抗原検査キット (ラテックス凝集法)

では肺炎球菌抗原は陰性であったが, 同検体で NOW では陽性反応を得た. 各々の抗原検査キットの検出限界値は, 使用説明書には菌体数(濃度)あるいは抗原量といった異なる基準で示されてお

り、単純に比較することができない。そこで希釈菌液を用いて、各髄液抗原検査の検出限界値の比較検討を行った。

### 1. 方 法

髄膜炎由来の肺炎球菌保存株を血液寒天培地で一晚培養し、コロニーを釣菌、生理食塩水で希釈し、McFarland濁度を基準に希釈菌液(10<sup>8</sup>CFU/ml)を作成した。この菌液から希釈系列を作成し各抗原検査の検体とした。各検査方法は、説明書に従って行った。すなわち、ラテックス凝集法は検体を100°Cで5分間煮沸処理した後、2,000回転/分で10分間遠心し、その上清30 μlをラテックス試薬30 μlと反応させ、凝集の有無を目視で判定した。また、NOWにおいては、添付綿棒に検体を浸しキット台紙に装着後、試薬で展開し反応の有無を判定した。希釈菌液は、速やかに寒天培地に接種し、培養で菌数の実数を確認した。

### 2. 結 果

NOWの検出限界は2~5×10<sup>4</sup>CFU/mlであった。これは使用説明書上の検出限界と一致した。一方、ラテックス凝集法では2~5×10<sup>7</sup>CFU/mlであった。以上よりNOWはラテックス凝集法に比して約1,000分の1の菌量での検出が可能であり、ラテックス凝集法に比べてより低い検出限界を示した。

## III. 考 案

今回、NOWは他の抗原検査に比して検出限界が低い、すなわち鋭敏な検査法であることが確認された。同方法での尿中抗原検出をもって、小児肺炎の起炎菌を判定することは、偽陽性が多く有用性が低いと評価される<sup>2,3)</sup>。治癒後症例、あるいは小児においては咽頭保菌例でも尿中抗原が陽性となる<sup>2,3)</sup>などがその具体例である。この検査の鋭敏さが、これらの偽陽性の原因となっていると考えられ、最近坂田は尿を希釈することで肺炎の診断に役立つ可能性を報告している<sup>9)</sup>。一方、今回報告した症例では、抗菌薬による治療開始後、時間が経過しており、髄液中の抗原量が少なかったと推察され、検出限界の低いNOWによってのみ起炎菌を検出することができた。NOWは、わが国では尿中抗原検査法として認可されているが、海外

では髄液での使用も認められており、感度、交差反応についても十分な検討がなされている<sup>7,8)</sup>。髄膜炎症例においては*Enterococcus*, *Streptococcus mitis*, *oralis*との交差反応が報告されており<sup>9)</sup>、口腔内外傷、外科的処置の有無などの臨床経過と合わせて反応結果の解釈を行う必要があるが、これらの起炎菌による細菌性髄膜炎症例の頻度は肺炎球菌性ものに比べ低く、通常の小児細菌性髄膜炎の診断には十分に有用であろう。なお、本症例においては、前医での血液培養検査でviridans streptococciが分離されていたとの情報があり、交差反応も懸念されたが、髄液のPCR検査では肺炎球菌特異的遺伝子が検出され、起炎菌を確定することができた。

最近の米国における髄膜炎診断、治療のガイドラインによると実際の髄膜炎の診断において、培養での同定、あるいは塗抹検査が基本となり、抗原検査の重要度は低いとされている<sup>10)</sup>。病原菌の検索は、菌の分離が基本であり、耐性化の問題に対応するためにも培養での診断は重要である。しかし今回のように前治療があった症例、あるいは治療開始後時間の経過した症例などで、起炎菌が不明な場合、鋭敏な検出感度をもつNOWを利用して起炎菌を検索することは有用であると考えられた。

本報告の要旨は第37回小児感染症学会(2005年11月)において発表した。

### 文 献

- 1) 小林隆夫, 他:肺炎球菌尿中抗原迅速検出キットの市中肺炎における有用性の検討. 感染症誌 76:995-1002, 2002
- 2) 成相昭吉, 他:肺炎球菌尿中抗原迅速検出キットの乳幼児における有用性の検討. 感染症誌 78:18-21, 2001
- 3) 坂田 宏, 他:小児感染症患者における*Streptococcus pneumoniae*尿中抗原迅速検出キットの有用性の検討. 感染症誌 77:606-610, 2003
- 4) Terafdar K, et al: Lack of sensitivity of the latex agglutination test to detect bacterial antigen in the cerebrospinal fluid of patients

- with culture-negative meningitis. Clin Infect Dis 33 : 406-408, 2001
- 5) Fukasawa C, et al : A mixed bacterial infection of a bronchogenic lung cyst diagnosed by PCR. J Med Microbiol 55 : 791-794, 2006
  - 6) 坂田 宏, 他 : 小児における肺炎球菌尿中抗原の半定量化の試み. 小児感染免疫 18 : 19-24, 2006
  - 7) Marcos M : New rapid antigen test for diagnosis of pneumococcal meningitis. Lancet 357 : 1499-1500, 2001
  - 8) Samra Z, et al : Use of the NOW *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen test in cerebrospinal fluid for diagnosis of pneumococcal meningitis. Diagn Microbiol Infect Dis 45 : 237-240, 2003
  - 9) Alonso-Tarres C : False-positive pneumococcal antigen test in meningitis diagnosis. Lancet 358 : 1273-1274, 2001
  - 10) Tunkel AR : Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. Clin Infect Dis 39 : 1267-1284, 2004

(受付 : 2006 年 8 月 14 日, 受理 : 2006 年 10 月 13 日)

\* \* \*