

原著

Real-time PCR 法で B 群溶連菌による
遅発型髄膜炎と推定診断した 1 例*中野 有也¹⁾ 谷口 貴美子¹⁾ 京田 学 是¹⁾
松岡 孝¹⁾ 曾我 恭司¹⁾ 梅田 陽¹⁾

要旨 抗菌薬投与前に採取した髄液の細菌培養が陰性のため診断に苦慮したが、同一検体で施行した real-time PCR 法から B 群溶連菌 (GBS) 特異遺伝子が検出され、GBS による細菌性髄膜炎と推定診断した症例を経験した。髄液培養陰性症例に対する PCR 法での起炎菌遺伝子検索は、特に早期症例や抗菌薬使用症例に対する治療方針決定の際に臨床上有用であり、その普及が本症の予後改善に寄与する可能性が示唆された。

はじめに

細菌性髄膜炎は、小児科医が日常診療で遭遇する機会の多い疾患である。細菌性髄膜炎における初期治療の遅れはその予後に直結するため、正確な診断と早期の治療開始は予後改善に重要である。その確定診断ならびに起炎菌の同定は、主に髄液検査の性状とその細菌培養検査によるが、髄液の細菌培養の感度は必ずしも十分とはいえず、その起炎菌の同定に苦慮することも多い。

今回われわれは、抗菌薬投与前の初回髄液検査で髄液培養が陰性であったが、培養陰性を確認後に、保存してあった同一検体で real-time PCR 法を施行し、遅発型 B 群溶連菌 (GBS) 感染症と推定診断した症例を経験した。細菌性髄膜炎の起炎菌診断と、遅発型 GBS 感染症に関する過去の文献も合わせて考察し報告する。

I. 症 例

症例の経過を図に示す。

症例：生後 2 カ月 14 日の男児。

家族歴：特記すべきことなし。

既往歴：在胎 39 週出生の正期産児。母体の妊娠・分娩歴に特記すべき異常はなし (母体は妊娠中に GBS 培養検査を施行しておらず、GBS 感染・保菌の有無は不明)。

現病歴：入院当日の午後、発熱と不機嫌を認め、当院救急外来を受診した。受診時、39.5°C の発熱を認めたため、発熱の精査加療目的で同日入院となった。

入院時所見：体温 39.5°C、心拍数 163 回/分、呼吸数 26 回/分、血圧 96/52 mmHg、大泉門は平坦で、胸部・腹部に明らかな異常所見を認めなかった。意識状態は清明であったが、不機嫌で軽度の易刺激性を認めた。入院時検査所見を (表) に示

* A case of late-onset GBS meningitis diagnosed by real-time PCR

Key words：遅発型 B 群溶連菌感染症，細菌性髄膜炎，髄液培養陰性，real-time PCR

1) 昭和大学横浜市北部病院こどもセンター Yuya Nakano, Kimiko Taniguchi, Takayoshi Kyoda, Takashi Matuoka, Takashi Soga, You Umeda
〔〒 224-8503 横浜市都筑区茅ヶ崎中央 35-1〕

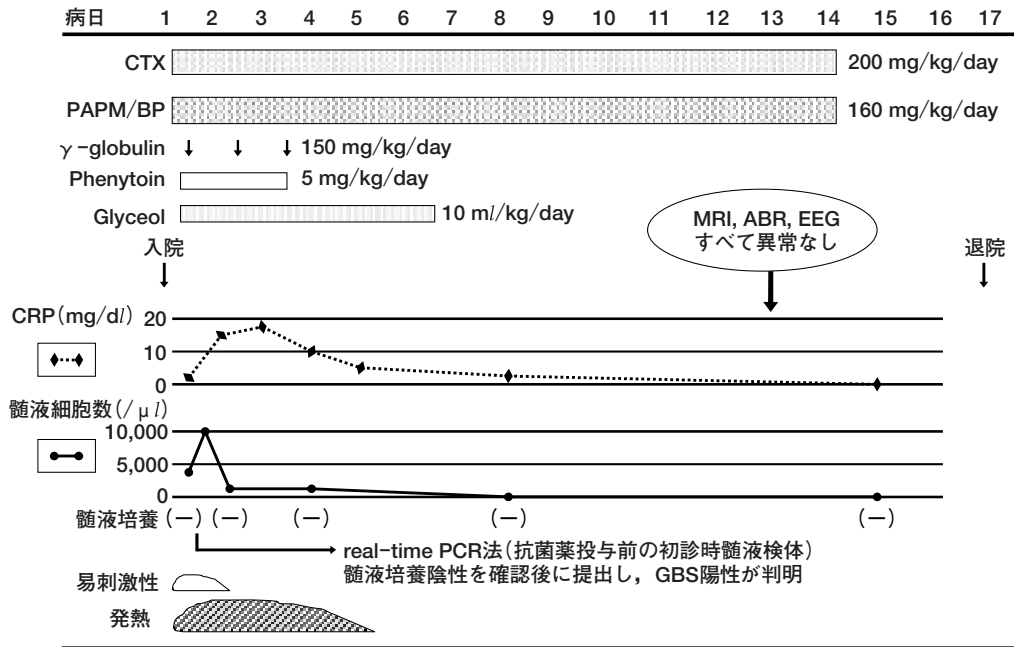


図 臨床経過

表 入院時検査所見

【血液検査所見】				【髄液検査所見】	
WBC	6,590/ μ l	BUN	7.0 mg/dl	外観	無色混濁
Stab	3.0%	Cr	0.2 mg/dl	細胞数	3,584/ μ l
Seg	70.0%	Na	134 mEq/l	単核球	16%
Lym	21.0%	K	3.9 mEq/l	多核球	84%
Mono	5.5%	Cl	103 mEq/l	髄液蛋白	145 mg/dl
Eosino	0.0%	CK	81 IU/l	髄液糖	38 mg/dl
Baso	0.0%	BS	137 mg/dl	髄液塗抹	陰性
Aty	0.5%	Ca	9.5 mg/dl	培養	陰性
RBC	372 \times 10 ⁴ / μ l	CRP	1.38 mg/dl	髄液 real-time PCR	GBS 陽性 (10 ⁴ /ml の菌量に相当)
Hb	10.4 g/dl				
Ht	31.1%				
Plt	36.9 \times 10 ⁴ / μ l				

す。血液検査で白血球数は 6,590/ μ l と正常であったが、その分画は好中球優位であり、CRP は 1.38 mg/dl と軽度上昇していた。入院時に採取した咽頭培養、便培養から GBS は分離されなかった。尿検査に異常を認めず、髄液検査で多核球優位の髄液細胞数の上昇 (3,584/ μ l : 多核球 84%) と髄液糖の低下 (38 mg/dl) を認めた。髄液の抗原検査は施行しなかった。

入院後経過：髄液検査結果から細菌性髄膜炎を

疑い、抗菌薬 (セフトキシム+パニペナム) による治療を開始した。髄液細胞数は第 2 病日に 9,813/ μ l まで増加し、臨床経過は細菌性髄膜炎と考えられたが、抗菌薬投与前の髄液検体のグラム染色で起炎菌が認められず、培養結果も陰性であった。血液培養は入院時に採取されておらず、抗菌薬投与後の第 2 病日に採取したが、細菌は分離されなかった。本児の入院後の経過は良好で抗菌薬は 14 日間使用し、明らかな後遺症なく第 17 病日

に退院した。その後、入院時採取した抗菌薬投与前の髄液保存検体の real-time PCR で、GBS が検出されたことがわかり、遅発型 GBS 感染症であると考えられた。

II. 考 察

細菌性髄膜炎は小児科医が遭遇する疾患のなかで、初期治療が予後を大きく左右する疾患の一つである。その治療で最も重要なことは、有効な抗菌薬を可能な限り早期に投与することであり、治療開始のための起炎菌の推定と確定診断のために、髄液検査は必要不可欠な検査である^{1~3)}。

また、多くの細菌性髄膜炎の初期には敗血症を伴うので、この診断と起炎菌の推定には、血液培養も有用である³⁾。本症例では入院時の抗菌薬投与前に血液培養を施行しておらず、起炎菌の確定が遅れた要因と考えられ反省すべき点である。

本児が罹患した GBS 感染症は、乳児期前半の細菌性髄膜炎の原因菌として最も重要な起炎菌の一つである。さらに遅発型 GBS 感染症は、症状は緩徐で早発型と比べると予後は良いとされるが、GBS 陽性母体への抗菌薬投与でも十分予防できない⁴⁾。GBS による細菌性髄膜炎に罹患した場合、5 歳時の後遺症率は 50%と報告されており⁵⁾、これらを改善させるための早期診断・早期治療が本疾患における今後の課題である。

本症例は髄液培養陰性例であり、その推定診断は real-time PCR 法による遺伝子検索でなされた。髄液培養陰性の細菌性髄膜炎は、診断と初期治療の遅れから、予後不良と関連していることが報告されている⁶⁾。初期治療開始前に抗菌薬を投与された症例や、極早期の細菌性髄膜炎は、菌量が少なく髄液培養が陰性となりやすい。感受性のある抗菌薬を投与した場合、髄液中の起炎菌の完全な消失は数時間で起こり得るので^{1,7)}、髄液検査施行前の抗菌薬投与は正確な診断と治療の妨げとなる可能性があり好ましくない⁷⁾。しかし、近年の患者背景から⁸⁾、外来での抗菌薬治療がしばしば盲目的になされている側面もある。髄液培養陰性症例に対する迅速な診断と治療の重要性は細菌性髄膜炎の予後改善に重要であると考えられる。

近年、細菌性髄膜炎の補助診断として、さまざ

まな検査法が提案されている。そのなかで PCR 法による髄液中の細菌遺伝子検索は感度、特異度とも高いことが知られている^{1,2)}。髄液検体のグラム染色による塗抹検査の感度は菌量に左右される。その感度は、 10^3 CFU/ml 以下の菌量では 25%、 $10^3 \sim 10^5$ CFU/ml で 60%、 10^5 CFU/ml 以上で 97%とされ³⁾、最小検出感度は 10^5 CFU/ml 以上と報告されている²⁾。髄液の細菌培養における感度と菌量の量的な評価は実際的ではないが、その培養感度は生菌の菌量（濃度）と髄液検体の量に依存するため⁹⁾、死菌でも診断可能な PCR 法に比べて感度が低い。実際、細菌性髄膜炎での検査法による診断感度の違いに関して、PCR 法 100%、髄液培養 57.5~66.7%、ラテックス凝集を用いた抗原検査 40~58.3%と報告した文献がある¹⁰⁾。

今回本症例に用いた real-time PCR 法^{11,12)}による細菌性髄膜炎の起炎菌推定診断は、髄液検査の培養陰性を確認後、後日検査機関に入院時採取した抗菌薬投与前の同一検体を提出し明らかとなったものである。よって、実際は治療に際し、この結果を反映させることができたわけではない。また、2 回目以降の髄液検査では real-time PCR 法を施行しておらず、治療効果の判定にも用いることはできなかった。

しかし、本法は GBS 以外にも、肺炎球菌、インフルエンザ菌、マイコプラズマ、クラミジア、レジオネラ、A 群溶血性連鎖球菌に加えて、adenovirus, influenza virus A および B (Flu A, Flu B), respiratory syncytial virus (RSV), parainfluenza virus 1~3, rhinovirus, enterovirus, coronavirus, human metapneumovirus, human bocavirus などの 12 種のウイルスを同時に測定できる利点がある。さらに検査自体に要する時間も約 2 時間と短時間であるとされる。また、感度・特異度は従来の PCR 法よりも、さらに優れていると報告されている^{11,12)}。よって、塗抹検査や抗原検査が陰性で、髄液培養陰性の可能性が考えられる症例には、本法による遺伝子検索を治療開始後少なくとも数日以内には施行することで、その結果を治療に反映させることが可能であり、本法は細菌性髄膜炎の治療方針を決定・変更するうえで、临床上、非常に有用であると考えられる。

実際、本症例のような髄液培養陰性の細菌性髄膜炎の診断に対して、PCR法の有用性を報告する文献も散見されるようになった^{13~15)}。今後、PCR法による起炎菌遺伝子の検索が普及すれば、極早期の髄液培養陰性症例や、抗菌薬投与症例において、その診断感度が大きく前進することが期待され^{2,14,15)}、その普及が細菌性髄膜炎の診断と予後改善に大きな役割を担う可能性が考えられた。

謝辞：本症例の診断に際し、real-time PCR法を施行していただいた北里大学北里生命科学研究所の諸角美由紀先生、生方公子先生に深謝いたします。

文 献

- 1) EI Bashir H, et al : Diagnosis and treatment of bacterial meningitis. Arch Dis Child 88 (7) : 615-620, 2003
- 2) Saez-Llorens X, et al : Bacterial meningitis in children. Lancet 361 (9375) : 2139-2148, 2003
- 3) Feigin RD, et al : Diagnosis and management of meningitis. Pediatr Infect Dis J 11 (9) : 785-814, 1992
- 4) Berardi A, et al : Group B streptococcal infections in a northern region of Italy. Pediatrics 120 (3) : e487-493, 2007
- 5) Bedford H, et al : Meningitis in infancy in England and Wales : follow up at age 5 years. BMJ 323 (7312) : 533-536, 2001
- 6) Fuglsang-Damgaard D, et al : Positive blood cultures and diagnosis of bacterial meningitis in cases with negative culture of cerebrospinal fluid. Scand J Infect Dis 40 (3) : 229-233, 2008
- 7) Kanegaye JT, et al : Lumbar puncture in pediatric bacterial meningitis : defining the time interval for recovery of cerebrospinal fluid pathogens after parenteral antibiotic pretreatment. Pediatrics 108 (5) : 1169-1174, 2001
- 8) Christakis DA, et al : Association between parental satisfaction and antibiotic prescription for children with cough and cold symptoms. Pediatr Infect Dis J 24 (9) : 774-777, 2005
- 9) Gray LD, et al : Laboratory diagnosis of bacterial meningitis. Clin Microbiol Rev 5 (2) : 130-145, 1992
- 10) Kennedy WA, et al : Incidence of bacterial meningitis in Asia using enhanced CSF testing : polymerase chain reaction, latex agglutination and culture. Epidemiol Infect 135 (7) : 1217-1226, 2007
- 11) 諸角美由紀, 他 : リアルタイム PCR法の原理と呼吸器感染症原因菌の網羅的検索への応用. Medical Technology 36 (10) : 1071-1077, 2008
- 12) 生方公子, 他 : 呼吸器感染症原因微生物—Real-time PCRによる迅速検索—. 小児科診療 71 (1) : 111-116, 2008
- 13) Lorino G, et al : Polymerase chain reaction, with sequencing, as a diagnostic tool in culture-negative bacterial meningitis. Clin Microbiol Infect 5 (2) : 92-96, 1999
- 14) Margall Coscojuela N, et al : Use of universal PCR on cerebrospinal fluid to diagnosis bacterial meningitis in culture-negative patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 21 (1) : 67-69, 2002
- 15) Janner DL, et al : Ribosomal DNA assay of culture-negative streptococcus pneumoniae meningitis. Pediatr Neurol 37 (1) : 55-58, 2007

(受付：2008年8月1日, 受理：2008年12月11日)

* * *