

●原 著

喀痰中肺炎球菌抗原検出キットの有用性 —尿中抗原検出キット・グラム染色との比較—

福島喜代康^a 中村 茂樹^{b,j} 高柳 昇^c 東山 康仁^d 石田 直^e
井上 祐一^f 澤井 豊光^{b,g} 吉村 邦彦^{h,k} 角川 智之^{i,j} 河野 茂^j

要旨：全国 14 施設において、喀痰グラム染色、喀痰培養、尿中抗原検出キット、喀痰抗原検出キットの 4 検査が同時に実施された成人市中肺炎 166 例を対象に、肺炎球菌の検出性能を比較した。感度はグラム染色：73.6%，尿中抗原検出キット：62.3%，喀痰抗原検出キット：88.7%であった。喀痰抗原検出キットは尿中抗原検出キットに比べ軽症群ならびに発症 2 日目までの症例群で有意に感度が高かった ($p < 0.03$, $p < 0.03$)。喀痰抗原検出キットはグラム染色より有意に一致率が高かった ($p < 0.01$)。成人市中肺炎の初期診療における喀痰抗原検出キットの有用性が示唆された。

キーワード：市中肺炎，肺炎球菌，迅速診断，喀痰，尿

Community acquired pneumonia, *Streptococcus pneumoniae*, Rapid diagnosis, Sputum, Urine

緒 言

肺炎は、長く日本の死因の第 4 位であったが、高齢化の影響を受け、脳血管障害を抜いて 2011 年に死因第 3 位に浮上した¹⁾。市中肺炎の原因菌としては *Streptococcus pneumoniae* (肺炎球菌) の検出頻度が最も高い^{2)~5)}。特に、肺炎球菌は、重症化する市中肺炎としてレジオネラ菌と並んで注意を要する起炎微生物である。市中肺炎診療において、菌の耐性化予防や医療資源の有効利用を目的とし、日本呼吸器学会から 2007 年 1 月に『成人市中肺炎診療ガイドライン』⁶⁾ (以下ガイドライン) が刊行

され、広く利用されている。成人市中肺炎の初期治療の基本は、A-DROP システムにより重症度を判定して治療の場を決定し、原因菌の推定結果に基づいて適切な治療薬を決定することである。実施する検査として、喀痰グラム染色、喀痰培養検査、尿中抗原検出キット (BinaxNow[®] 肺炎球菌：Alere Scarborough, Inc. Scarborough, USA, 以下 BinaxNow) を用いた肺炎球菌検査などが挙げられる。

近年我々は、新たに開発された喀痰を検体に用いる肺炎球菌抗原検出キットであるラピラン[®] 肺炎球菌 (大塚製薬株式会社, 以下ラピラン) が、BinaxNow とは異なる抗原を検出し、感度は有意に優れていることを報告した^{7,8)}。今回、肺炎発症からの日数ならびに重症度で層別し、喀痰培養法を基準に、ラピランと他の迅速診断法である喀痰グラム染色、BinaxNow との比較検討を行い、ラピランの臨床的有用性について検討した。

研究対象・方法

1. 対 象

2006 年 3 月～2007 年 3 月に、全国 14 施設においてインフォームド・コンセントを取得した 15 歳以上の肺炎または下気道感染症患者 246 例のうち、成人市中肺炎と診断された 166 例 (男性 113 例, 女性 53 例) を解析対象とした。年齢は平均 65.3 歳 (範囲：22～97 歳) であった。前治療の有無は問わなかった。喀痰の Geckler 分類は 1：6 例, 2：4 例, 3：26 例, 4：31 例, 5：82 例, 6：

連絡先：福島 喜代康

〒859-0497 長崎県諫早市多良見町化屋 986-2

^a 日本赤十字社長崎原爆諫早病院呼吸器科

^b 国立病院機構嬉野医療センター呼吸器内科

^c 埼玉県立循環器・呼吸器病センター呼吸器内科

^d 北松中央病院呼吸器内科

^e 倉敷中央病院呼吸器内科

^f 健康保険諫早総合病院呼吸器内科

^g 佐世保市立総合病院内科

^h 虎の門病院呼吸器センター内科

ⁱ 北九州市立八幡病院内科

^j 長崎大学医学部第二内科

^k 日本赤十字社大森赤十字病院呼吸器内科

(E-mail: kiyofuku@isahaya.jrc.or.jp)

(Received 26 Nov 2012 / Accepted 27 Dec 2012)

Table 1 Detection results of rapid testing methods for *Streptococcus pneumoniae* based on the sputum culture results (all patients)

Test	Result	Sputum culture		
		Positive	Negative	Total
Gram stain	Positive	39	19	58
	Negative	14	94	108
Rapirun	Positive	47	9	56
	Negative	6	104	110
BinaxNow	Positive	33	7	40
	Negative	20	106	126
Total		53	113	166

Table 2 Sensitivity, specificity, concordance rates, predictive values, and likelihood ratios of rapid testing methods based on the sputum culture results (all patients)

	Gram stain	Rapirun	BinaxNow
Sensitivity	73.6%	88.7%	62.3%
Specificity	83.2%	92.0%	93.8%
Concordance rate	80.1%	91.0%	83.7%
Positive predictive value	67.2%	83.9%	82.5%
Negative predictive value	87.0%	94.5%	84.0%
Positive likelihood ratio	4.4	11.1	10.1
Negative likelihood ratio	0.32	0.12	0.40

Table 3 Detection results of rapid testing methods for *Streptococcus pneumoniae* by time point of tests after onset (all patients)

Test	Result	A*			B*		
		Sputum culture			Sputum culture		
		Positive	Negative	Total	Positive	Negative	Total
Gram stain	Positive	20	7	27	19	12	31
	Negative	7	44	51	7	50	57
Rapirun	Positive	24	2	26	23	7	30
	Negative	3	49	52	3	55	58
BinaxNow	Positive	16	2	18	17	5	22
	Negative	11	49	60	9	57	66
Total		27	51	78	26	62	88

*A: Patients tested within 2 days of onset (n = 78); B: Patients tested 3 or more days after onset (n = 88).

Table 4 Performance comparison between Rapirun and BinaxNow in patients tested within 2 days of onset

		Number of days after onset		
		0 days (n = 35)	1 day (n = 19)	2 days (n = 24)
Rapirun	Sensitivity	100% (9/9)	71.4% (5/7)	90.9% (10/11)
	Specificity	96.2% (25/26)	100% (12/12)	92.3% (12/13)
	Concordance rate	97.1% (34/35)	89.5% (17/19)	91.7% (22/24)
BinaxNow	Sensitivity	77.8% (7/9)	57.1% (4/7)	45.5% (5/11)
	Specificity	96.2% (25/26)	100% (12/12)	92.3% (12/13)
	Concordance rate	91.4% (32/35)	84.2% (16/19)	70.8% (17/24)

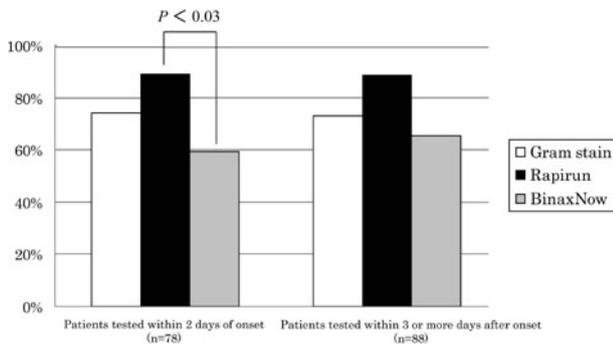


Fig. 1 Comparison of sensitivity for detecting *Streptococcus pneumoniae* among rapid testing methods by time point of tests after onset.

17例であった。

2. 方 法

解析対象全例で、略痰グラム染色、略痰培養、略痰を検体としたラピランおよび尿を検体としたBinaxNowによる検査結果を比較した。略痰培養法を基準とし、他の迅速検査結果の感度、特異度、一致率、陽性的中率、陰性的中率、陽性尤度比、陰性尤度比を求めた。重症度は、ガイドラインのA-DROPシステムに基づき、軽症、中等症、重症、超重症に分類した。発症からの日数は、発症当日を0日として算出した。

ラピランとBinaxNowおよびグラム染色の感度、特異度、一致率などの比較はFisher's exact testで検定した。

成 績

成人市中肺炎166例における略痰培養法による肺炎球菌陽性例は53例(31.9%)であった。全症例を対象とするときのグラム染色、ラピラン、BinaxNowの肺炎球菌検出結果をTable 1に、各検査法の感度、特異度、一致率、陽性的中率、陰性的中率、陽性尤度比、陰性尤度比をTable 2に示した。各検査法の感度はラピラン>グラム染色>BinaxNowの順に高く、ラピランの感度はBinaxNowに比し有意に高いことが確認できた($p < 0.003$)。特異度はBinaxNow、ラピラン>グラム染色の順であった。また、一致率はいずれの検査法でも80%以上を示したが、ラピラン>BinaxNow>グラム染色の順であり、ラピランはグラム染色と比較して有意に高いことが確認できた($p < 0.01$)。各検査法の陽性的中率には有意差は認められなかったが、ラピランはグラム染色に比して高い陽性的中率を示す傾向が認められた($p < 0.06$)。さらに、陰性的中率に関しては、BinaxNowとグラム染色間には差が認められなかったが、ラピランはBinaxNowに比べ有意に高く($p < 0.02$)、グラム染色に比べても高い傾向($p < 0.07$)を示した。

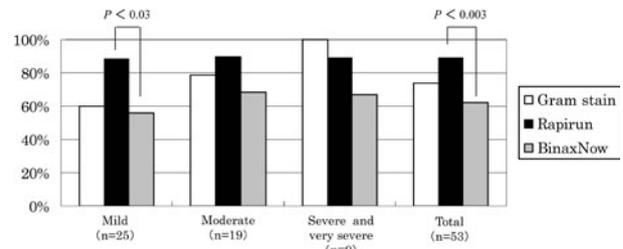


Fig. 2 Comparison of sensitivity for detecting *Streptococcus pneumoniae* among rapid testing methods by severity.

次に、肺炎発症日からの日数が2日目までの症例(n=78)と3日目以降の症例(n=88)の2群に分け、各迅速検査法の感度、特異度、一致率を比較した。その結果、発症日から2日目までの症例群における感度は、ラピラン88.9%、BinaxNow 59.3%であり、ラピランが有意($p < 0.03$)に高い感度を示した(Table 3, Fig. 1)。さらに、発症日からの日数を0日(n=35)、1日(n=19)、2日(n=24)に細分化してラピランとBinaxNowの感度、特異度、一致率を比較したところ、有意差は認められなかったが、ラピランの感度は常にBinaxNowよりも高かった(Table 4)。

さらに、略痰肺炎球菌培養陽性53例を対象に、各迅速検査法の重症度別での感度を比較した(Fig. 2)。各重症度別の症例数は、軽症25例、中等症19例、重症8例、超重症1例であった。グラム染色、ラピラン、BinaxNowの感度は、軽症例で各々60.0%、88.0%、56.0%、全症例で73.6%、88.7%、62.3%であり、ラピランはBinaxNowに比べ有意に感度が高かった($p < 0.03$, $p < 0.003$)。また、グラム染色およびBinaxNowは重症度が高くなるにしたがい検出感度が高くなる傾向が確認されたが、ラピランはいずれの重症度においても常に高い感度を得られることが確認できた。

考 察

今回、成人市中肺炎において肺炎球菌の迅速診断法であるグラム染色、ラピラン、BinaxNowの比較検討を行った。

まず、ラピランとグラム染色の比較では、感度と特異度はラピランの方が高い傾向が確認され[感度:88.7% vs. 73.6% ($p < 0.09$), 特異度:92.0% vs. 83.2% ($p < 0.07$)], 一致率はラピランが有意に高かった[91.0% vs. 80.1% ($p < 0.01$)]. 我が国での既報⁹⁾では、グラム染色における肺炎球菌の陽性率は、軽症93.1%、中等症74.4%、重症65.5%、超重症45.5%であり、重症例になるほど陽性率

は低下していた ($p=0.046$) と報告されている。その理由として、重症肺炎では良質な喀痰が得にくく、また喀痰が採取できるような上気道に多くの菌が存在せず、血液中や肺胞に菌が多く存在する可能性などを挙げている。我々の検討では、グラム染色の感度は重症例ほど高値を示し、逆の結果となった。既報における肺炎球菌検出は複数の起炎菌検査の総合結果に基づいており、今回の検討は喀痰培養法を基準とした肺炎球菌の検出であることが、結果の違いの一因と考えられた。グラム染色は、安価で迅速にできる検査で、形態と染色性から菌の推定が可能である、炎症細胞の出現や貪食像の確認も可能である、という長所をもつが、欠点として、場所や設備（顕微鏡）が必要で、実施者の検体処理の技量や熟練した判定能力などに検査結果の判定が左右されることがある。実際、既報のグラム染色の感度は43~100%、特異度は11~94%のばらつきがあり¹⁰⁾、経験豊富な臨床検査技師であっても薄い莢膜の肺炎球菌をとらえるのは難しいことがある。

BinaxNowの海外報告では、その感度は約50~80%であった^{11)~13)}。我が国の市中肺炎でのBinaxNowの検討では、肺炎球菌性呼吸器感染症と診断された155検体での陽性率について、軽症63.3%、中等症67.1%、重症72.4%、超重症72.7%と報告されている⁹⁾。また、小林らの報告では市中肺炎66例をBinaxNow陽性群と陰性群で比較したところ、両群の肺炎の重症度については有意な差を認めず、陽性群の血中CRP値は有意に高値であったと述べられている¹⁴⁾。肺炎球菌性呼吸器感染症と診断された57回の感染エピソードにおける重症度別のBinaxNow陽性率の比較でも、綿貫らの報告には重症例ほど陽性率が高いことが確認されたと記されている¹⁵⁾。我々の検討でも、A-DROPシステムの軽症例は中等症以上に比べBinaxNowの感度が低く、喀痰を検体としたラピランの感度は重症度に関係せずBinaxNowよりも常に高値であることが確認できた。また、BinaxNowは「尿中の肺炎球菌莢膜抗原は症例によって異なるが、尿中に排出されるのは通常症状出現後3日目以降であり発症後間もない検体では検出できない恐れがある」と従来の添付文書において注意喚起されていた。今回、迅速検査3法について、発症からの日数別での感度を比較検討した。その結果、3法ともに発症日数に応じた感度の有意な変動は確認されなかったが、ラピランはBinaxNowに比して有意 ($p<0.003$) に高い感度を示した。この感度差の第一番目の理由として、抗原の体内分布・動態によるものが挙げられる。すなわち、尿に肺炎球菌抗原が出現するには、肺から体内循環を経由して腎排泄されなければならないため、肺炎病巣由来の喀痰を検体とした検出法よりも遅れて陽性になることが予想される。

一方、ラピランは肺炎局所由来の喀痰を検体として直接的に検査するために、有意に高い感度を示したと考えられた。また、BinaxNowは肺炎球菌莢膜抗原を検出する試薬であるが、ラピランはすべての肺炎球菌に共通な細胞壁抗原C-polysaccharideを検出する試薬であり⁷⁾、90種類以上あるとされる莢膜血清型¹⁶⁾にかかわらず肺炎球菌の検出ができることも、感度の差をもたらす原因であると推察された。また、ラピランは、口腔内常在菌である *Micromonas micros* 8.0×10^6 CFU/ml および *Streptococcus intermedius* 7.0×10^7 CFU/ml の高濃度で交差反応が認められる⁷⁾。市中肺炎症例における *Streptococcus milleri (anginosus) group* (*S. anginosus*, *S. intermedius*, *S. constellatus*) の検出は、若年者群からの検出はなく、高齢者群 (114例) においては5例 (4.4%) 検出されたと報告されている⁴⁾。我々は、下気道感染症患者161例の検討で喀痰ラピラン偽陽性5例のうち喀痰肺炎球菌リアルタイムPCRでPspA遺伝子が 6×10^6 copies/ μ g DNA 以上であった2症例はBinaxNowも陽性であったことを報告した⁸⁾。肺炎球菌の培養菌数 (CFU/ml) と肺炎球菌のリアルタイムPCRでのPspA遺伝子コピー数 (copies/ μ g DNA) は、ほぼ1:1であり、PspA遺伝子が 1×10^4 copies/ μ g DNA, 7×10^2 copies/ μ g DNA の症例でも、喀痰ラピラン偽陽性例であった⁸⁾。以上より、唾液 (口腔内常在菌) の混入のない良質な膿性痰で検査を実施すれば、これらの細菌の交差反応による偽陽性の可能性は非常に低いと考えられる。しかし、偽陽性の場合には、*S. intermedius* による交差反応の可能性、肺炎球菌の菌量が十分でも培養活性がない (死菌) あるいは菌量が少なく培養陰性なども考える必要がある。

本検討で、軽症例や肺炎発症からの日数が少ない症例ではBinaxNowの感度が低いことが示された。これらのほか、BinaxNowの問題点としては、透析や高度の脱水などによる無尿患者では検査できない、治療後数週間~数ヶ月陽性が持続することがある¹⁵⁾¹⁷⁾¹⁸⁾、*Streptococcus mitis* などによる偽陽性¹⁸⁾、肺炎球菌ワクチン接種後の偽陽性¹⁹⁾などが挙げられる。一方、ラピランの臨床的な感度はBinaxNowよりも高かったが、喀痰採取ができない場合は検査はできない欠点がある。したがって、喀痰が採取できる場合はグラム染色およびそれよりも感度の高いラピランで検査し、喀痰が採取できない場合は尿でBinaxNowの検査を行うことが望ましい。また、再発した肺炎症例において数ヶ月以内に肺炎球菌性肺炎の既往のある場合はラピランを使用するなど、検査材料や患者の状態に応じて迅速検査法を選択することが重要である。

ラピランは、従来のインフルエンザウイルス簡易キッ

トと同様のイムノクロマトグラフィーキットであるため、日常臨床においてベッドサイドや夜間休日診療などの専門技師不在の場合でも使用可能である。これらのことから、肺炎球菌による呼吸器感染症が疑われる患者が来院した場合、適切な抗菌薬選択の場面で、あらゆる重症度の症例に使用できる迅速検査法と考えられた。ラピランと BinaxNow は、ともに特異性の高い診断法であるが、ラピランはより感度が高いため、日常臨床での迅速診断に有用であり、より適切な肺炎球菌性肺炎の治療法の選択に有用と考えられる。

本稿の一部は、第54回日本感染症学会中日本地方会学術集会・第59回日本化学療法学会西日本支部総会（2011年11月、奈良）で発表した。

謝辞：本研究の実施に際し、ご参加いただいた下記施設の先生方（敬称略）に深謝いたします。嬉野医療センター呼吸器内科 副島佳文、埼玉県立循環器・呼吸器病センター呼吸器内科 杉田 裕、徳島大学呼吸器・膠原病内科 西岡安彦、大道呼吸器科クリニック 大道光秀、中浜医院 中浜 力、信楽園病院呼吸器内科 青木信樹、長崎大学第二内科 泉川公一。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：河野 茂（寄付金、大塚製薬）。他は本論文発表内容に関して特に申告なし。

引用文献

- 厚生労働省大臣官房統計情報部. 平成23年人口動態統計月報年計（概数）の概況. 2011.
- Ishida T, Hashimoto T, Arita M, et al. A 3-year prospective study of a urinary antigen-detection test for *Streptococcus pneumoniae* in community-acquired pneumonia: utility and clinical impact on the reported etiology. *J Infect Chemother* 2004; 10: 359-63.
- Miyashita N, Fukano H, Mouri K, et al. Community-acquired pneumonia in Japan: a prospective ambulatory and hospitalized patient study. *J Med Microbiol* 2005; 54: 395-400.
- Saito A, Kohno S, Matsushima T, et al. Prospective multicenter study of the causative organisms of community-acquired pneumonia in adults in Japan. *J Infect Chemother* 2006; 12: 63-9.
- 高柳 昇, 原健一郎, 徳永大道, 他. 市中肺炎入院症例の年齢別・重症度別原因微生物と予後. *日呼吸会誌* 2006; 44: 906-15.
- 日本呼吸器学会（編）. 「呼吸器感染症に関するガイドライン」, 成人市中肺炎診療ガイドライン. 2007
- Ehara N, Fukushima K, Kakeya H, et al. A novel method for rapid detection of *Streptococcus pneumoniae* antigen in sputum and its application in adult respiratory tract infections. *J Med Microbiol* 2008; 57: 820-6.
- Izumikawa K, Akamatsu S, Kageyama A, et al. Evaluation of a rapid immunochromatographic ODK0501 assay for detecting *Streptococcus pneumoniae* antigen in sputum samples from patients with lower respiratory tract infection. *Clin Vaccine Immunol* 2009; 16: 672-8.
- 布施 閔, 源馬 均, 佐藤雅樹, 他. 肺炎球菌呼吸器感染症における尿中抗原迅速診断キットの有用性と肺炎重症度の検討. *日呼吸会誌* 2008; 46: 10-8.
- Reed WW, Byrd GS, Gates RH Jr, et al. Sputum gram's stain in community-acquired pneumococcal pneumonia. A meta-analysis. *West J Med* 1996; 165: 197-204.
- Domínguez J, Galí N, Blanco S, et al. Detection of *Streptococcus pneumoniae* antigen by a rapid immunochromatographic assay in urine samples. *Chest* 2001; 119: 243-9.
- Murdoch DR, Laing RT, Mills GD, et al. Evaluation of a rapid immunochromatographic test for detection of *Streptococcus pneumoniae* antigen in urine samples from adults with community-acquired pneumonia. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 3495-8.
- Gutiérrez F, Masiá M, Rodríguez JC, et al. Evaluation of the immunochromatographic Binax NOW assay for detection of *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen in a prospective study of community-acquired pneumonia in Spain. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 286-92.
- 小林隆夫, 松本哲哉, 館田一博, 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* 2002; 76: 995-1002.
- 綿貫祐司, 高橋 宏, 小倉高志, 他. 肺炎球菌性呼吸器感染症迅速診断における尿中抗原検査と略痰グラム染色検査の有用性の検討. *感染症誌* 2005; 79: 13-9.
- Henrichsen J. Six newly recognized types of *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2759-62.
- 吉田佳成子, 篠沢陽子, 草野英美子, 他. 肺炎球菌尿中抗原検出キットを用いた尿中抗原陽性持続期間についての検討. *日呼吸会誌* 2003; 41: 521-5.
- 佐藤長人, 高柳 昇, 倉島一喜, 他. 肺炎球菌尿中抗原迅速検出キットの有用性と抗原反応強度・持続期間の検討. *日呼吸会誌* 2004; 42: 247-52.
- Priner M, Cornillon C, Forestier D, et al. Might *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen test be positive because of pneumococcal vaccine? *J Am Geriatr Soc* 2008; 56: 170-1.

Abstract

Usefulness of a sputum antigen detection kit for *Streptococcus pneumoniae* in the rapid diagnosis of community-acquired pneumonia: Comparison with urinary antigen detection test and sputum Gram stain

Kiyoyasu Fukushima^a, Shigeki Nakamura^{b,j}, Noboru Takayanagi^c, Yasuhito Higashiyama^d,
Tadashi Ishida^e, Yuichi Inoue^f, Toyomitsu Sawai^{b,g}, Kunihiko Yoshimura^{h,k},
Tomoyuki Kakugawaⁱ and Shigeru Kohno^j

^aDepartment of Respiratory Medicine, Japanese Red Cross Nagasaki Genbaku Isahaya Hospital

^bDepartment of Respiratory Medicine, Ureshino Medical Center

^cDepartment of Respiratory Medicine, Saitama Cardiovascular and Respiratory Center

^dDepartment of Respiratory Medicine, Hokusho Central Hospital

^eDepartment of Respiratory Medicine, Kurashiki Central Hospital

^fDepartment of Respiratory Medicine, Isahaya Health Insurance General Hospital

^gDepartment of Internal Medicine, Sasebo City General Hospital

^hDepartment of Respiratory Medicine, Respiratory Center, Toranomon Hospital

ⁱDepartment of Internal Medicine, Kitakyushu Municipal Yahata Hospital

^jSecond Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine

^kDepartment of Respiratory Medicine, Japanese Red Cross Omori Red Cross Hospital

We evaluated the usefulness of a sputum antigen detection kit for *Streptococcus pneumoniae* in a rapid diagnosis in 166 adult patients (113 males and 53 females) with community-acquired pneumonia who simultaneously underwent all 4 tests of sputum Gram stain, sputum culture, urinary antigen detection test, and sputum antigen detection test in 14 sites in Japan. A total of 53 patients (31.9%) were sputum culture-positive for *S. pneumoniae*. Based on the sputum culture results, the sensitivity for detecting *S. pneumoniae* was 73.6% in sputum Gram stain, 62.3% in urinary antigen detection test, and 88.7% in sputum antigen detection test. The sensitivity in the sputum antigen detection test was significantly higher than that in the urinary antigen detection test in patients with mild infection ($p < 0.03$) and in patients whose symptoms started within 2 days before the tests ($p < 0.03$). Sputum antigen detection tests showed a significantly higher concordance rate than the sputum Gram stain tests ($p < 0.01$). These results suggest that the sputum antigen detection kit is useful in the rapid diagnosis of community-acquired pneumococcal pneumonia in adults.