

「肺炎球菌細胞壁抗原検査」に関して

rapid immunochromatographic assay for detecting
Streptococcus pneumoniae antigen in sputum

やなぎ はら かつ のり
柳 原 克 紀
Katsunori YANAGIHARA

はじめに

呼吸器感染症の代表的な疾患である肺炎は昭和初期まで日本人の死因の第1位であった。その後、公衆衛生の改善や抗菌化学療法の発達に伴い急速に減少した。しかし、高齢者や易感染者の増加により、死亡率がふたたび上昇し、この30年間はずっと死因の第4位である。海外の報告では、年齢が上がる毎に、発症率ならびに死亡率が増加することが示されている(図1)¹⁾。超高齢社会の到来に伴い、肺炎に代表される呼吸器感染症はますます大きな問題となる。

表1に市中肺炎の一般的な原因微生物を示す²⁾。原因菌として肺炎球菌は最も検出頻度が高く、市中肺炎の死亡率とも密接に関与している。近年ペニシリン耐性肺炎球菌 (penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*: PRSP) が急速に増加しており、わが国では現在60~70%程度がPRSPであると推定される。ペニシリン系抗菌薬以外にもセフェム系抗菌薬ならびにマクロライド系抗菌薬にも耐性化が進んでおり、抗菌薬選択には注意が必要である。経口抗

表1 市中肺炎の主要病原微生物

	検出率 (%)
<i>S. pneumoniae</i>	24.6
<i>H. influenzae</i>	18.5
<i>C. pneumoniae</i>	6.5
<i>M. pneumoniae</i>	5.2
<i>Legionella</i>	3.9
<i>S. aureus</i>	3.4
<i>C. psittaci</i>	2.2
<i>M. catarrhalis</i>	2.2
<i>S. milleri group</i>	2.2
<i>K. pneumoniae</i>	1.3
<i>C. burnetii</i>	0.9
Influenza A virus	12.9
Adenovirus	2.2

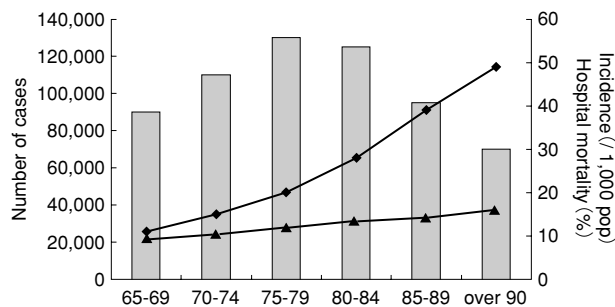
Saito A, et al. J Infect Chemother 12; 2006

菌薬で最も抗菌活性が高いのは、レスピラトリーキノロンであるが、安易な使用は耐性菌蔓延につながるおそれがある。

肺炎球菌性肺炎の早期の正確な診断と、それに基づく適切な抗菌薬選択がきわめて重要である。本稿では、新たに上市された「呼吸器検体を材料とする肺炎球菌の抗原検出法」について、グラム染色や尿中抗原検査と比較して概説する。

I. グラム染色

喀痰は、呼吸器感染症の原因菌を推定するためにはきわめて有用な臨床検体である。グラム染色は、塗抹、染色、乾燥ならびに鏡検の全行程が5分程度で可能であり、最も迅速かつ有用な検査のひとつである。すなわち、病棟で検体を受け取ってから、10~20分程度で結果が得られる。ベッドサイドで比較的容易に施行できる検査である。肺炎球菌は、グラム陽性に染まり、長軸方向に二個配列する双球



Kaplan et al. Am J Respir Crit Care Med 165, 766 2002

図1 高齢者における市中肺炎の発生率と致死率

菌で、典型像としては莢膜も有するなど、特徴的な所見が見られる(図2)。また、グラム染色では、炎症細胞の出現、ならびに貪食像も確認することができ、上気道に常在する肺炎球菌と下気道感染症の原因菌とを鑑別することも可能となる。Rosónらによる533例の市中肺炎の臨床研究において、グラム染色による肺炎球菌検出感度は57%、特異度は97%であると肯定的に報告されている³⁾。一方、Reedらのメタ解析では、検出率が低く迅速診断には向かないという報告もある⁴⁾。一方、検体処理の過程や判定などは実施者の技量、能力に依存するなどの欠点もある。

1. 尿中抗原検出法

尿中抗原検出法はイムノクロマトグラフィー法による肺炎球菌莢膜抗原の検出キットである。尿が検査対象であり、反応時間は15分で完了する。欧米の検討では、成人患者における感度は70～80%程度、特異度は90%以上とやや感度が低いことが報告されている^{5～8)}。抗菌薬投与がすでに開始され、喀痰培養で原因菌(肺炎球菌)の検出が困難な場合でも、陽性所見を得られることもある一方で、肺炎球

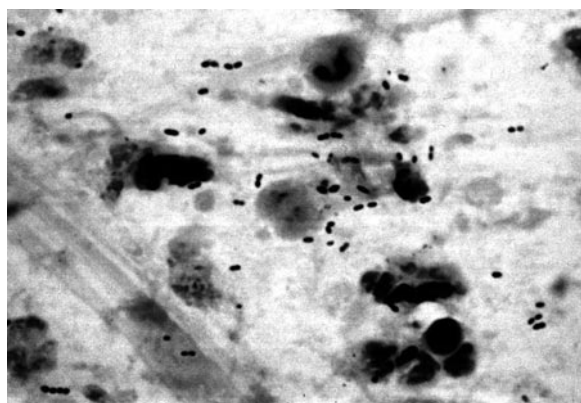


図2 肺炎球菌のグラム染色診断

表2 肺炎球菌尿中抗原検査の感度・特異度

Reference	感度	特異度
Boulware DR. et al. J Infect 55 : 300-9, 2007.	74%	94%
Smith M. D. et al. J Clin Microbiol. 41 : 2810-2813, 2003.	82%	97%
Farina C. et al. New Microbiol. 25 : 259-263, 2002.	77.7%	98.8%
Dominguez J. et al. Chest. 119 : 243-249, 2001.	80.4%	97.2%

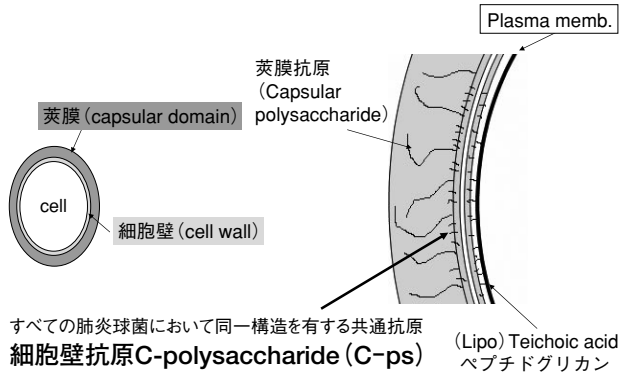
菌性肺炎治療後でも、1～3カ月にわたって陽性が続く場合もあり治療効果判定には使用できない。また、小児においては、上気道における常在肺炎球菌により偽陽性を示すことが報告されており、鼻腔保菌例で50%程度の偽陽性を示すことも報告されている。さらに、肺炎球菌ワクチン接種後は、偽陽性を示す可能性もあり、ワクチン接種後5日間は検査を行わないことが推奨されている。

2. 喀痰中細胞壁多糖体の検出(ラピラン®肺炎球菌)

ラピラン®肺炎球菌は(図3)、C-polysaccharide(C-ps)(図4)⁹⁾を特異的に認識する抗肺炎球菌C-psポリクローナル抗体を用いてイムノクロマトグラフィー法で検出する(図5)。喀痰、上咽頭ぬぐい、中耳貯留液などを臨床検体とし、全行程が25～30分程度で完了する(図6)。われわれの成人下気道感染症160症例あまりを対象とした検討では感度89.1%、特異度95.3%であった¹⁰⁾(表3)。さらに、尿検体が同時に採取できた症例で尿中抗原検査と直接比較したところ、特異度はほぼ同等、感度が有意に上昇していた(図7)¹⁰⁾。喀痰からの直接的な診断法であり、前述した尿中抗原の欠点を克服できることが期待される。一方、肺炎球菌は一定の割合で上気道に常在しており、特に小児ではその割合が高い。常在している肺炎球菌の検出による偽陽性を示す可能性があることに留意する。われわれの臨床研究における結果では、喀痰中の少量の肺炎球菌(約 1×10^6 CFU/ml以下)は本キットでは陽性になりにくいことが確認されている(図8)¹⁰⁾。しかし、喀痰の質を評価することは重要であり、膿性部分の少ない喀痰での結果の解釈には注意を要する。



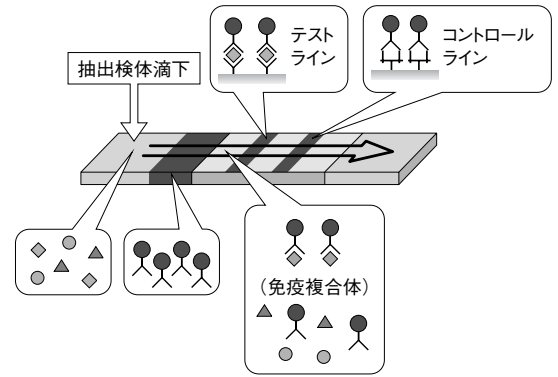
図3 ラピラン®肺炎球菌 キットの構成



すべての肺炎球菌において同一構造を有する共通抗原
細胞壁抗原C-polysaccharide (C-ps) (Lipo) Teichoic acid
 ペプチドグリカン

Sørensen, U.B.S.: Danish Medical Bulletin, 42 (1), 47-53, 1995 (Fig.2より作成)

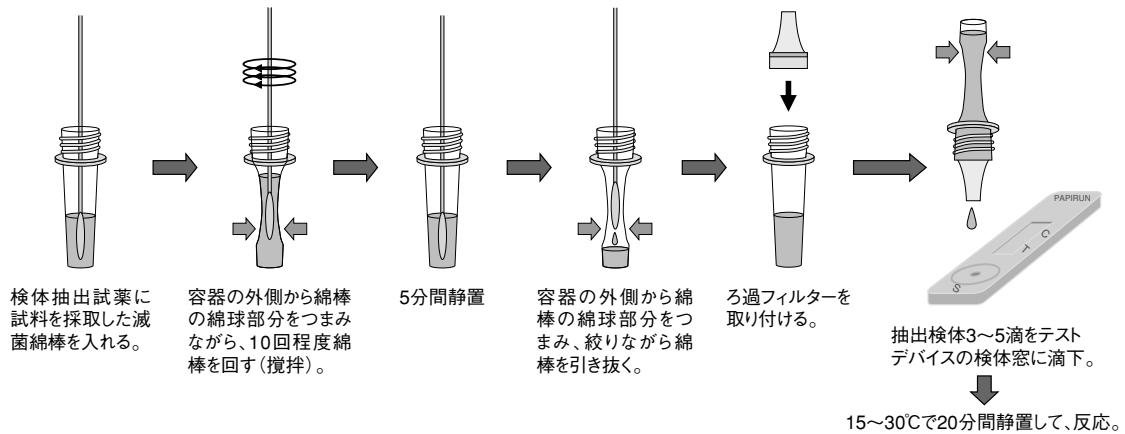
図4 ラピラン®肺炎球菌が検出する抗原



- ◆ : 肺炎球菌由来C-ps抗原
- ▲● : その他の成分
- YY : 抗肺炎球菌C-psポリクローナル抗体 (ウサギ)
- Ⓜ : 金コロイド標識抗肺炎球菌C-psポリクローナル抗体 (ウサギ)
- ⓂⓂ : 抗ウサギIgGポリクローナル抗体 (ヤギ)

2011年3月現在 ラピラン®肺炎球菌添付文書

図5 測定原理



検体抽出試薬に試料を採取した滅菌綿棒を入れる。

容器の外側から綿棒の綿球部分をつまみながら、10回程度綿棒を回す(攪拌)。

5分間静置

容器の外側から綿棒の綿球部分をつまみ、絞りながら綿棒を引き抜く。

ろ過フィルターを取り付ける。

抽出検体3~5滴をテストデバイスの検体窓に滴下。

15~30℃で20分間静置して、反応。

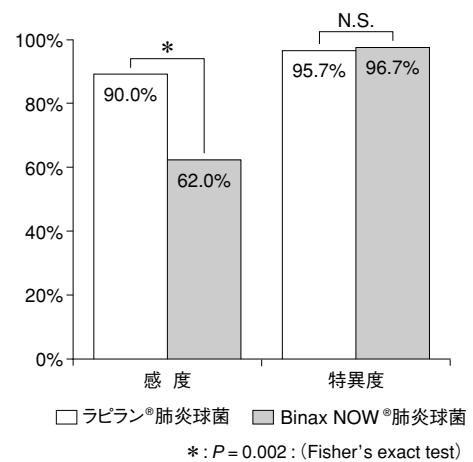
2011年3月現在 ラピラン®肺炎球菌添付文書

図6 操作方法

表3 喀痰抗原検出と喀痰培養の比較

感度 : 89.1% (49/55)
 特異度 : 95.3% (101/106)

		喀痰培養		
		陽性	陰性	合計
喀痰抗原	陽性	49	5	54
	陰性	6	101	107
合計		55	106	161



* : P = 0.002 : (Fisher's exact test)

Izumikawa K. et al. Clin Vac Immunol 16 : 672-678, 2009

図7 成人下気道感染症におけるラピラン®肺炎球菌とBinax NOW®肺炎球菌との性能比較 (喀痰培養を基準)

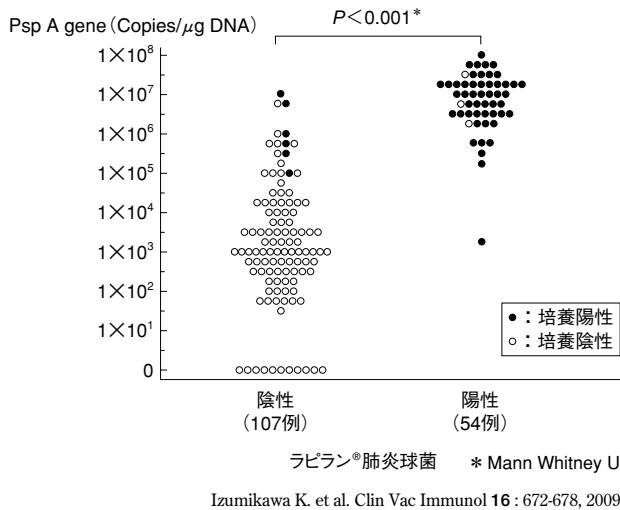


図8 成人下気道感染症におけるラピラン®肺炎球菌陰性例と陽性例での肺炎球菌リアルタイムPCRの比較

おわりに

新規保険収載された検査法「肺炎球菌細胞壁抗原検査」に関して概説した。

肺炎球菌性肺炎は、日常診療で遭遇することが多い疾患であり、重症化すると死亡率も高い。新しい迅速診断法の登場が適切な抗菌薬療法につながり、肺炎球菌性肺炎の診療に貢献できることが期待される。

文 献

- 1) Kaplan V, Angus DC, Griffin MF, Clermont G, Scott Watson R, Linde-Zwirble WT. Hospitalized community-acquired pneumonia in the elderly : age- and sex-related patterns of care and outcome in the United States. *Am J Respir Crit Care Med* **165** : 766, 2002.
- 2) Saito A, Kohno S, Matsushima T, Watanabe A, Oizumi K,

Yamaguchi K, Oda H ; Study Group. Prospective multi-center study of the causative organisms of community-acquired pneumonia in adults in Japan. *J Infect Chemother.* 2006 Apr ; **12** (2) : 63-69.

- 3) Rosón B, Carratalà J, Verdagué R, et al. Prospective study of the usefulness of sputum Gram stain in the initial approach to community-acquired pneumonia requiring hospitalization. *Clin Infect Dis* 2000 ; **31** : 869.
- 4) Reed WW, Byrd GS, Gates RHJ, et al. Sputum gram's stain in community-acquired pneumococcal pneumonia : a meta-analysis. *West J Med* 1996 ; **165** : 197.
- 5) Boulware DR, Daley CL, Merrifield C, Hopewell PC, Janoff EN. Rapid diagnosis of pneumococcal pneumonia among HIV-infected adults with urine antigen detection. *J Infect.* 2007 Oct ; **55** (4) : 300-309.
- 6) Smith MD, Derrington P, Evans R, Creek M, Morris R, Dance DA, Cartwright K. Rapid diagnosis of bacteremic pneumococcal infections in adults by using the Binax NOW *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen test : a prospective, controlled clinical evaluation. *J Clin Microbiol.* **41** : 2810-2813, 2003.
- 7) Farina C, Arosio M, Vailati F, Moiola F, Goglio A. Urinary detection of *Streptococcus pneumoniae* antigen for diagnosis of pneumonia. *New Microbiol.* **25** : 259-263, 2002.
- 8) Domínguez J, Gali N, Blanco S, Pedroso P, Prat C, Matas L, Ausina V. Detection of *Streptococcus pneumoniae* antigen by a rapid immunochromatographic assay in urine samples. *Chest.* **119** : 243-249, 2001.
- 9) Sørensen, U.B.S.: Pneumococcal polysaccharide antigens : capsules and C-polysaccharide. An immunochemical study. *Danish Medical Bulletin*, **42** (1) : 47-53, 1995.
- 10) Izumikawa K, Akamatsu S, Kageyama A, Okada K, Kazuyama Y, Takayanagi N, Nakamura S, Inoue Y, Higashiyama Y, Fukushima K, Ishida T, Sawai T, Yoshimura K, Nakahama C, Ohmichi M, Kakugawa T, Nishioka Y, Aoki N, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Kohno S. 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.* **16** : 672-678, 2009.