

シリーズ 原因微生物の推定・同定のための検査法 9

中枢神経系感染症領域について

こ さい こう すけ やなぎ はら かつ のり
小佐井 康 介 : 柳 原 克 紀
Kosuke KOSAI Katsunori YANAGIHARA

はじめに

中枢神経系の感染症、特に髄膜炎を疑う場合の原因微生物の推定・同定においては、脳脊髄液検査が鍵となる。本稿では脳脊髄液を用いた原因微生物の検出法について概説する。

I. 脳脊髄液の一般的な検査

髄膜炎や脳炎が疑われる場合、臨床所見や頭部CT検査により出血や頭蓋内圧亢進による脳ヘルニアが疑われず、かつ脳脊髄液検査の禁忌でなければ腰椎穿刺による脳脊髄液検査を行う。脳脊髄液検査では一般検査として初圧、細胞数と分画、糖濃度、蛋白濃度の測定、グラム染色と培養検査を行う。採取された脳脊髄液は速やかに検査室に提出する。髄膜炎菌は低温で死滅するため、細菌培養を目的とする脳脊髄液検体は冷蔵保存を避ける^{1~4)}。髄膜炎における原因微生物ごとの典型的な細胞数と分画、糖濃度、蛋白濃度を表1に示す³⁾。

II. 脳脊髄液からの微生物の検出法

1. 染色・培養

脳脊髄液のグラム染色は、簡便・迅速に実施できる検査である。その感度は50～90%、特異度は60～90%であり、感度は抗菌薬投与前では75～90%であるが投与後では40～60%に低下するとされている。また、菌ごとの検出感度は肺炎球菌が90%、インフルエンザ菌が86%、髄膜炎菌が75%、リステリアが50%以下と報告されており、肺炎球菌の検出において最も有用性が高い^{2,4)}。

培養検査は細菌性髄膜炎のゴールドスタンダードと考えられる。その陽性率は、抗菌薬投与前は70～80%であるが、抗菌薬投与後は50%以下に低下するとされている^{2,4)}。細菌性髄膜炎の主な原因菌を表2に、米国における市中で発症した細菌性髄膜炎の原因微生物の長期的な変化を表3に、髄膜炎の臨床経過ごとの原因微生物を表4に示す^{1,3,4)}。また、肺炎球菌の薬剤感受性の判定の際には、髄膜炎と髄

表1 髄膜炎における一般的な検査所見

原因微生物	細胞数 (cells/mm ³)	主な細胞	糖 (mg/dL)	蛋白 (mg/dL)
ウイルス	50-1000	単核球性 ^a	> 45	< 200
細菌	1000-5000 ^b	好中球性 ^c	< 40 ^d	100-500
結核	50-300	単核球性 ^e	< 45	50-300
クリプトコックス	20-500 ^f	単核球性	< 40	> 45

^a 病初期には好中球性である可能性がある。

^b 範囲は< 100から> 10,000/mm³である。

^c 約10%の患者はリンパ球が優位である。

^d 同時に測定した血糖値との比較が必要で、多くの症例では脳脊髄液/血清比が0.4以下である。

^e 抗結核薬による治療中に好中球性となる可能性がある。

^f 後天性免疫不全症候群を有する患者のうち75%を超える症例では20 cells/mm³未満である。

文献3) を基に作成

膜炎以外でブレイクポイントが異なる薬剤がある点に留意する（表5）⁵⁾。

結核性髄膜炎における脳脊髄液の抗酸菌染色も迅速な方法であるが感度が低い。その正確性に関するシステマティックレビューとメタアナリシスでは、感度は8%（95%信頼区間：3～21%）、特異度は100%（95%信頼区間：90～100%）と報告されている⁶⁾。脳脊髄液を用いた結核性髄膜炎の微生物学的診断に関するシ

ステマティックレビューとメタアナリシスでは、脳脊髄液培養が陽性となる結核性髄膜炎の推定値は29.72%（95%信頼区間：21.42～38.02%）であったと報告されている⁷⁾。

墨汁法は脳脊髄液中のクリプトコックスの検出に用いられる。感度は菌量が1,000 cfu/mL以下の場合に42%であり、最も良い場合で85%であるとされている⁴⁾。また、培養陽性、または培養陰性であるが2つ

表2 細菌性髄膜炎の主な原因菌

新生児（生後1か月未満）	<i>S. agalactiae</i> 、大腸菌 ^a 、 <i>L. monocytogenes</i>
生後1～3か月	<i>S. agalactiae</i> 、大腸菌 ^a 、肺炎球菌、インフルエンザ菌 ^b
生後4か月以上の乳児、幼児、小児	肺炎球菌、インフルエンザ菌 ^b
50歳未満の成人	肺炎球菌、髄膜炎菌
50歳以上	肺炎球菌、 <i>L. monocytogenes</i> 、グラム陰性桿菌 ^a
免疫不全	肺炎球菌、髄膜炎菌、 <i>L. monocytogene</i> 、グラム陰性桿菌（緑膿菌を含む）
頭蓋骨骨折	肺炎球菌、インフルエンザ菌、 <i>S. pyogenes</i>
頭部損傷、脳神経外科術後	黄色ブドウ球菌、コアグラゼ陰性ブドウ球菌（CNS）、グラム陰性桿菌（緑膿菌を含む）、 <i>C. acnes</i>

^a 施設によっては当初からextended-spectrum β -lactamase（ESBL）産生菌である可能性を考慮する。

^b ほとんどがHibによるものでHibワクチン導入後は大幅に減少した。

文献1) より抜粋して引用・改変

表3 米国における細菌性髄膜炎の原因微生物 [全体に占める割合（%）]

	1978～1981年	1986年	1995年	2003～2007年
インフルエンザ菌	48	45	7	7
髄膜炎菌	20	14	25	14
肺炎球菌	13	18	47	58
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3	6	12	18
<i>Listeria monocytogenes</i>	2	3	8	3
その他	8	14	-	-
不明	6	-	-	-

文献3) を基に作成

表4 髄膜炎の臨床経過と原因微生物

急性（5日未満）	亜急性（5～30日）	慢性（30日を超える）
細菌性 ^a	<i>Listeria monocytogenes</i> ^b	クリプトコックス
ウイルス性	クリプトコックス	結核
	結核	ヒストプラズマ
	ヒストプラズマ	プラストミセス
	コクシジオイデス	コクシジオイデス

^a 臓器移植の既往がある患者は通常よりも臨床経過が長い可能性がある。

^b *Listeria monocytogenes*を原因とする患者の3分の1は4日以上、症状が持続する。

文献4) を基に作成

表5 肺炎球菌の薬剤感受性

抗菌薬	疾患	最小発育阻止濃度（ μ g/mL）		
		感性	中間	耐性
ペニシリン（非経口）	髄膜炎	≤ 0.06	-	≥ 0.12
	非髄膜炎	≤ 2	4	≥ 8
セフォタキシム・セフトリアキソン・セフェピム	髄膜炎	≤ 0.5	1	≥ 2
	非髄膜炎	≤ 1	2	≥ 4

文献5) を基に作成



以上の検査（墨汁法、ラテックス凝集法あるいはラテラルフローアッセイ法）が陽性で他の原因が明らかでない場合を基準とした場合、墨汁法の感度は 86.1%、特異度は 97.3%、培養法の感度は 82.4 ~ 94.2%、特異度は 100%とされている⁸⁾。

2. 抗原検査

抗原検査は、脳脊髄液に含まれる微生物の検出に用いられている。肺炎球菌性髄膜炎の診断における脳脊髄液中の抗原検査の精度に関するシステムティックレビューとメタアナリシスによれば、感度は 99.5%（95%信頼区間：92.4 ~ 100%）、特異度は 98.2%（95%信頼区間：96.9 ~ 98.9%）であり、その有用性が報告されている⁹⁾。

クリプトコックス髄膜炎の診断には、クリプトコックス抗原検査が有用である。ヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染者で、クリプトコックス髄膜炎が疑われる成人における抗原検査の正確性に関するシステムティックレビューとメタアナリシスでは、血清クリプトコックス抗原検査の感度は 99.7%（95%信頼区間：97.4 ~ 100%）、特異度は 94.1%（95%信頼区間：88.3 ~ 98.1%）、脳脊髄液のクリプトコックス抗原検査の感度は 98.8%（95%信頼区間：96.2 ~ 99.6%）、特異度は 99.3%（95%信頼区間：96.7 ~ 99.9%）であった。また、脳脊髄液のクリプトコックス抗原と培養の一致率は 98%（95%信頼区間：97 ~ 99%）であったことが報告されている¹⁰⁾。

3. 遺伝子検査

1) PCR を用いた自動遺伝子検査システム

近年、簡便な操作で迅速に病原体を検出できる自動遺伝子検査システムが使用されており、例として FilmArray[®]システムや GeneXpert[®]システムなどが挙げられる。FilmArray[®]髄膜炎・脳炎パネルは、中枢神経系感染症の原因微生物である 14 種類の病原体（ウイルス 7 種類、細菌 6 種類、*Cryptococcus neoformans/gattii*）を網羅的に検出できるマルチプレックス PCR 検査キットである（表 6）¹¹⁾。髄膜炎・脳炎が疑われる患者の診断における FilmArray[®]髄膜炎・脳炎パネルの精度に関するシステムティックレ

表6 FilmArray[®]髄膜炎・脳炎パネルの対象微生物

細菌	<i>Escherichia coli</i> K1
	<i>Haemophilus influenzae</i>
	<i>Listeria monocytogenes</i>
	<i>Neisseria meningitidis</i>
	<i>Streptococcus agalactiae</i>
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
ウイルス	Cytomegalovirus
	Human herpesvirus 6
	Human parechovirus
	Varicella zoster virus
	Enterovirus
	Herpes simplex virus 1
酵母用真菌	Herpes simplex virus 2
	<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>

文献11) を基に著者より作成

ビューとメタアナリシスでは、対照法と比較した感度は 90%（95%信頼区間：86 ~ 93%）、特異度は 97%（95%信頼区間：94 ~ 99%）と推定されたことが報告されている。対照法と比較して FilmArray[®]髄膜炎・脳炎パネルの結果が偽陽性（11.4%）、偽陰性（2.2%）となったものについて他の検査結果や臨床情報などに基づいて評価された結果、最終的な偽陽性は 4%、偽陰性は 1.5%であった。偽陽性の割合が最も高かったのは肺炎球菌（17.5%）であり、次いで *Streptococcus agalactiae*（15.4%）であった。偽陰性判定の割合が高かったのは、Herpes simplex virus 1 および 2、Enterovirus、*Cryptococcus neoformans/gattii* であった。*C. neoformans/gattii* が偽陰性となったのは、抗原が陽性で治療中または軽快した患者であったことが報告されている¹²⁾。また、中枢神経系の感染症が疑われた患者における FilmArray[®]髄膜炎・脳炎パネルの精度に関する別のシステムティックレビューとメタアナリシスでは、細菌に対しては脳脊髄液や血液培養、ウイルスに対しては PCR を対照法とした場合、すべての細菌の検出に関する感度は 89.5%（95%信頼区間：81.1 ~ 94.4%）、特異度は 97.4%（95%信頼区間：94 ~ 98.9%）と推定されている。さらに上述の対照法との比較で一致しなかった症例について、追加の検査や臨床経過に基づいて最終診断を行った場合、感度は 92.1%（95%信頼区間：86.8 ~ 95.3%）、特異度は 99.2%（95%信頼区間：98.3 ~

99.6%)と推定されたことが報告されている¹³⁾。

GeneXpert[®] EV アッセイは、Enterovirus による髄膜炎の診断に用いられる。その性能に関するシステムティックレビューとメタアナリシスでは、感度は 0.96 (95%信頼区間: 0.94 ~ 0.97)、特異度は 0.99 (95%信頼区間: 0.98 ~ 0.99) であったと報告されている¹⁴⁾。

一方で、結核の診断に関してさまざまな病型や検体について GeneXpert[®] MTB/RIF アッセイの有効性を評価したシステムティックレビューとメタアナリシスでは、肺結核の診断において喀痰 [感度 0.95 (95%信頼区間: 0.91 ~ 0.98)、特異度 0.96 (95%信頼区間: 0.93 ~ 0.98)] や胃液 [感度 0.94 (95%信頼区間: 0.84 ~ 0.98)、特異度 0.96 (95%信頼区間: 0.93 ~ 0.98)] を用いて検査を行った場合には高い感度を示したが、気管支肺胞洗浄液 (BALF) の場合では、感度がやや低下した [感度 0.88 (95%信頼区間: 0.79 ~ 0.96)、特異度 0.94 (95%信頼区間: 0.90 ~ 0.97)] ことが報告されている。また、結核性胸膜炎の診断において、胸水を用いた場合の感度は 0.30 (95%信頼区間: 0.21 ~ 0.40)、特異度は 0.99 (95%信頼区間: 0.94 ~ 1.00)、結核性髄膜炎の診断において脳脊髄液を用いた場合の感度は 0.60 (95%信頼区間: 0.37 ~ 0.81)、特異度は 0.98 (95%信頼区間: 0.95 ~ 1.00) であったことが示されている¹⁵⁾。このように同じ方法でも病型や検体の種類によって精度に違いがあることが示されている。

2) 次世代シーケンシング法

PCR 法では、対象とする微生物があらかじめ決まっているが、次世代シーケンシング法は、多くの塩基配列を効率よく解析することにより微生物を網羅的に検出できる方法である。脳脊髄液を対象としたメタゲノム次世代シーケンシング法による診断の正確性に関するシステムティックレビューとメタアナリシスでは、感度は 75% (95%信頼区間: 54 ~ 89%)、特異度は 96% (95%信頼区間: 72 ~ 100%) であった¹⁶⁾。また、細菌性髄膜炎が疑われた患者における脳脊髄液を用いたメタゲノム次世代シーケンシング法による診断の正確性に関するシステムティックレビューとメタアナリシスでは、感度は 33% (95%信頼区間: 13 ~ 62%) から 98% (95%信頼区間: 76 ~ 99%)、特異度は 67% (95%信頼区

間: 55 ~ 78%) から 98% (95%信頼区間: 95 ~ 99%) の範囲であり、全体として感度は 73.8% (95%信頼区間: 59 ~ 84%)、特異度は 93.3% (95%信頼区間: 87 ~ 96%) であったと報告されている¹⁷⁾。脳脊髄液を用いた結核性髄膜炎の診断におけるメタゲノム次世代シーケンシング法の正確性に関するシステムティックレビューとメタアナリシスでは、感度は 62% (95%信頼区間: 0.46 ~ 0.76)、特異度は 99% (95%信頼区間: 0.94 ~ 1.00) であり¹⁸⁾、別の報告では感度は 27% (95%信頼区間: 15 ~ 43%) から 84% (95%信頼区間: 71 ~ 94%)、特異度は 96% (95%信頼区間: 92 ~ 99%) から 100% (95%信頼区間: 54 ~ 100%) の範囲であり、全体として感度は 61% (95%信頼区間: 33 ~ 83%)、特異度は 98% (95%信頼区間: 87 ~ 100%) であったことが示されている¹⁹⁾。

おわりに

中枢神経系の感染症を疑う場合の脳脊髄液を用いた原因微生物の検出法について概説した。今後も技術の進歩に伴い、新しい検査法が医療現場で活用されていくことが期待される。それぞれの検査法の特徴を理解し、効果的に使い分けることが重要である。

文 献

- 1) JAID/JSC 感染症治療ガイド・ガイドライン作成委員会. JAID/JSC 感染症治療ガイド 2023. 日本感染症学会・日本化学療法学会. 2023;11.
- 2) 日本神経学会・日本神経治療学会・日本神経感染症学会監修、「細菌性髄膜炎診療ガイドライン」作成委員会編集. 細菌性髄膜炎診療ガイドライン 2014. 南江堂. 2015;1.
- 3) Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 9th ed. Elsevier; 2019.
- 4) Poplin V, Boulware DR, Bahr NC. Methods for rapid diagnosis of meningitis etiology in adults. Biomark Med. 2020;14(6):459-479.
- 5) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 35th ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute 2025.
- 6) Stadelman AM, Ssebambulidde K, Buller A, et al. Cerebrospinal fluid AFB smear in adults with tuberculous meningitis: A systematic review and diagnostic test accu-



- racy meta-analysis. *Tuberculosis*. 2022;135:102230.
- 7) Seid G, Alemu A, Dagne B, et al. Microbiological diagnosis and mortality of tuberculosis meningitis: Systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2023;18(2): e0279203.
 - 8) Tugume L, Ssebambulidde K, Kasibante J, et al. Cryptococcal meningitis. *Nat Rev Dis Primers*. 2023;9(1):62.
 - 9) Someko H, Okazaki Y, Tsujimoto Y, et al. Diagnostic accuracy of rapid antigen tests in cerebrospinal fluid for pneumococcal meningitis: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. 2023;29(3):310-319.
 - 10) Temfack E, Rim JJB, Spijker R, et al. Cryptococcal antigen in serum and cerebrospinal fluid for detecting cryptococcal meningitis in adults living with human immunodeficiency virus: Systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy studies. *Clin Infect Dis*. 2021;72(7):1268-1278.
 - 11) FilmArray 髄膜炎・脳炎パネル添付文書.
https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/ivdDetail/Result-DataSetPDF/530633_23100EZX00012000_A_01_02
 - 12) Tansarli GS, Chapin KC. Diagnostic test accuracy of the BioFire® FilmArray® meningitis/encephalitis panel: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(3):281-290.
 - 13) Trujillo-Gómez J, Tsokani S, Arango-Ferreira C, et al. Biofire FilmArray Meningitis/Encephalitis panel for the aetiological diagnosis of central nervous system infections: A systematic review and diagnostic test accuracy meta-analysis. *EClinicalMedicine*. 2022;44:101275.
 - 14) Lin M, Li YR, Lan QW, et al. Evaluation of GeneXpert EV assay for the rapid diagnosis of enteroviral meningitis: a systematic review and meta-analysis. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2022;21(1):25.
 - 15) Gong X, He Y, Zhou K, et al. Efficacy of Xpert in tuberculosis diagnosis based on various specimens: a systematic review and meta-analysis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023;13:1149741.
 - 16) Govender KN, Street TL, Sanderson ND, et al. Metagenomic sequencing as a pathogen-agnostic clinical diagnostic tool for infectious diseases: a systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy studies. *J Clin Microbiol*. 2021;59(9):e0291620.
 - 17) Kanaujia R, Biswal M, Angrup A, et al. Diagnostic accuracy of the metagenomic next-generation sequencing (mNGS) for detection of bacterial meningoencephalitis: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2022;41(6):881-891.
 - 18) Xiang ZB, Leng EL, Cao WF et al. A systematic review and meta-analysis of the diagnostic accuracy of metagenomic next-generation sequencing for diagnosing tuberculous meningitis. *Front Immunol*. 2023; 14: 1223675.
 - 19) Yu G, Zhao W, Shen Y, et al. Metagenomic next generation sequencing for the diagnosis of tuberculosis meningitis: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2020; Dec 1:15(12):e0243161.