

# 高感度肺炎球菌抗原検出キットおよび インフルエンザ菌抗原検出キットの使用成績

内 菌 明 裕<sup>1)</sup> 山 中 昇<sup>2)</sup>

1) せんだい耳鼻咽喉科

2) 和歌山県立医科大学 耳鼻咽喉科・頭頸部外科

**The clinical evaluation of the *S. pneumoniae* antigen detection kit, RAPIRUN<sup>®</sup> *S. pneumoniae* HS (otitis media/rhinosinusitis), and the *H. influenzae* antigen detection ELISA kit for middle ear fluids and nasopharyngeal secretions**

Akihiro UCHIZONO<sup>1)</sup>, Noboru YAMANAKA<sup>2)</sup>

1) Sendai ENT Clinic

2) Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Wakayama Medical University

The clinical performance of the *S. pneumoniae* antigen detection kit, RAPIRUN<sup>®</sup> *S. pneumoniae* HS (otitis media/rhinosinusitis), and the *H. influenzae* antigen detection ELISA kit for middle ear fluids and nasopharyngeal secretions were reported.

The sensitivity, specificity and agreement rate of RAPIRUN<sup>®</sup> *S. pneumoniae* HS (otitis media/rhinosinusitis) in Sendai ENT clinic were 91.7% (76.3% - all facilities average), 82.6% (83.3%) and 84.9% (80.6%). On the other hand, *H. influenzae* antigen detection kit yielded 83.3% sensitivity (75.8%), 88.1% specificity (88.3%) and 86.4% agreement rate (82.4%).

It is considered that both kits are important tools to assist for determination of the therapeutic strategy in acute otitis media and acute rhinosinusitis.

## はじめに

急性中耳炎及び急性副鼻腔炎の3大起炎菌は、肺炎球菌 (*S. pneumoniae*)、インフルエンザ菌 (*H. influenzae*)、モラキセラ・カタラリス (*M. catarrhalis*) であるが、近年特に反復性中耳炎や難治性副鼻腔炎の起炎菌として、ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) や  $\beta$ ラクタマーゼ非産生アンピシリン耐性インフルエンザ菌 (BLNAR) が問題になっている<sup>1) 2) 3)</sup>。治療開始時の適切な抗菌薬の選択が重要であるが、培養検査などによる

菌の同定までにはかなりの時間を要するため、投薬開始時点では、原因菌不明のままエンピリックセラピーが行われているのが現状である。これらの起炎菌をなるべく迅速に検出できれば日常診療に有用であることは想像に難くない。これまで、肺炎球菌に対する診断キット (ラピラン<sup>®</sup>肺炎球菌) は市場に出ているものの、耳鼻咽喉科領域での検出感度は十分とは言えなかった。筆者の施設では、このたび感度や特異性の点を改善すべく大塚製薬が新たに開発した高感度肺炎球菌抗原検出

キット(ラピラン®肺炎球菌 HS (中耳・副鼻腔炎))およびインフルエンザ菌抗原検出 ELISA キット(仮称, 以後インフルエンザ菌キット)の臨床性能試験に参加する機会を得た。その成績について当院での結果を中心に, 全国の成績と比較しながら両キットの有用性について検討したので報告する。

### 目 的

大塚製薬が新たに開発したラピラン®肺炎球菌 HS (中耳・副鼻腔炎) 及びインフルエンザ菌キットの感度, 特異度, ならびに一致率を検討することを目的とした。

### 対 象 と 方 法

急性中耳炎患者ならびに急性副鼻腔炎患者より採取された検体(中耳貯留液・耳漏・上咽頭(鼻咽腔)液・鼻汁)を両キットにて評価した。一方で同じ検体を培養検査に供して菌の検出を行った。キットによる陽性率と培養検査による陽性率を比較して, キットの感度並びに特異度, 一致率を検討した。更に, 同じ検体を北里大塚バイオメディカルアッセイ研究所にて PCR 法にて菌の検出を行った。今回の臨床試験に参加した全国の7医療機関及び責任医師は, Table 1 に示すとおり

Table 1 The chairman and medical institutions participated in this study

医学専門家	和歌山県立医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科	教授	山中 昇
試験実施施設	医療法人社団順風会杉田耳鼻咽喉科	院長	杉田麟也
	医療法人社団藤巻耳鼻咽喉科医院	院長	藤巻 豊
	かみで耳鼻咽喉科クリニック	院長	上出洋介
	せんだい耳鼻咽喉科	院長	内藤明裕
	耳鼻咽喉科のはなクリニック	院長	兼定啓子
	さわか耳鼻咽喉科・眼科	院長	澤田正一
	独立行政法人労働者健康福祉機構		
	東北労災病院 耳鼻咽喉科	副部長	沖津尚弘

Table 2 List of Samples from Sendai ENT Clinic

疾患名	採取検体	
	中耳貯留液又は鼻汁	上咽頭(鼻咽腔)鼻汁
中耳炎	○	
鼻副鼻腔炎		○
中耳炎・鼻副鼻腔炎	○	○
総数	64	41

である。当院にてラピラン®肺炎球菌 HS (中耳・副鼻腔炎) に供した検体の内訳は, 急性中耳炎患者及び急性中耳炎と急性鼻副鼻腔炎合併患者から得られた中耳貯留液または耳漏が 64 検体(全国総検体数 264 件), 急性鼻副鼻腔炎患者及び急性中耳炎と急性鼻副鼻腔炎合併患者から得られた上咽頭液または鼻汁が 41 検体(同 268 件)であった。一方インフルエンザ菌抗原キットでは, 中耳貯留液・耳漏が 64 検体(全国 257 件), 鼻汁・上咽頭液が 39 件(同 265 件)であった (Table 2)。

ラピラン®肺炎球菌 HS (中耳・副鼻腔炎) は, イムノクロマト法を測定原理としており, 肺炎球菌細胞壁由来の多糖類 (C-polysaccharide) を検出できるよう, 金コロイドで標識した抗肺炎球菌多糖類抗原抗体を反応させてラインを目視で判定する方法である。反応時間はおよそ 15 分

### ラピラン肺炎球菌HS(中耳・副鼻腔炎) 測定原理

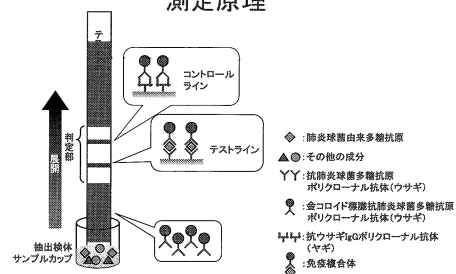
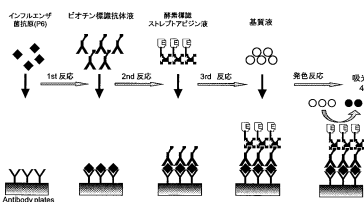


Fig. 1 Assay principle of RAPIRUN S.pneumococcal HS (otitis media/rhinosinusitis)

### インフルエンザ菌抗原検出ELISAキットの測定原理



ELISA法を原理としてインフルエンザ菌抗原を検出する。  
 第1反応 抗体固相プレートにインフルエンザ菌抗原が抗体プレートに結合する。  
 第2反応 ビオチン標識インフルエンザ菌抗原ポリクローナル抗体液(ビオチン標識抗体液)を反応させる。  
 第3反応 西洋ワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン(酵素標識ストレプトアビジン液)を反応させる。  
 発色反応 基質液を加えて発色させ、450 nm で測定する。

Fig. 2 Assay principle of *H. influenzae* antigen detection ELISA kit

ある (Fig. 1). 一方, インフルエンザ菌キットは, インフルエンザ菌の膜抗原の P6 を検出する ELISA 法を原理とするキットである (Fig. 2).

結 果

ラピラン®肺炎球菌 HS (中耳・副鼻腔炎) の成績について報告する. 当院における中耳貯留液または耳漏検体 (総検体数 64) における検出感度(陽性一致率)は 94.7%であった. また特異度(陰性一致率)は, 77.8%で一致率は, 81.3%であった. 一方, 上咽頭液・鼻汁検体 (総数 41 検体) の感度は 88.2%で, 特異度は 91.7%で一致率は 90.2%であった.

なお, 全検体での感度は, 91.7%, 特異度は 82.6%, 一致率は 84.9%であった (Table 3).

Table 3 The results of RAPIRUN® *S.pneumoniae* HS (otitis media/rhinosinusitis) based on culture test for Sendai ENT Clinic samples

キット判定	培養検査		
	陽性	陰性	合計
	陽性	33	12
陰性	3	57	60
合計	36	69	105

PCR 法との比較成績について報告する. 中耳貯留液または耳漏を対象とした試験では, キットが陰性を示した 36 件のうち, PCR 法で陽性を示した検体は 9 件認められた. しかしながら, うち 8 件は培養陰性であった. 一方, キットでの陽性検体 28 件のうち PCR 法で陰性を示したのは 1 件のみであった. キットによる判定結果について陽性検体と陰性検体の間には PCR 法による陽性率において明らかな有意差 ( $P < 0.001$ ) が認められた (Fig. 3). また, 上咽頭 (鼻咽腔) 鼻汁を対象とした試験では, キットが陰性を示した 24 件のうち, PCR 法で陽性を示した検体は 8 件認められたが, このうち 6 件は培養陰性であった. 一方, キットが陽性を示した 17 件のうち PCR 法で陰性を示したのは 1 件のみであった. 本検体においても PCR 法による陽性率に関して明らかな有意差 ( $P < 0.001$ ) が認められた (Fig. 3).

ラピラン肺炎球菌HS (中耳・副鼻腔炎) の陽性例と陰性例での肺炎球菌PCRの比較 <せんだい耳鼻咽喉科>

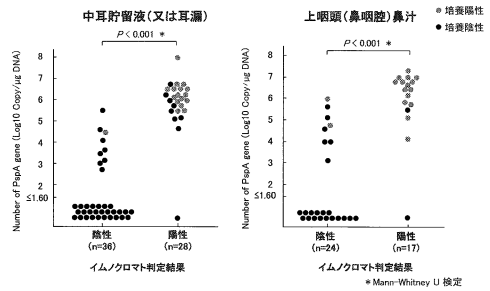


Fig. 3 Distribution of copy numbers of PspA gene in positive/negative group for middle ear fluids (left) and nasopharyngeal secretions (right) Black and gray circle showed culture negative and positive, respectively.

意差 ( $P < 0.001$ ) が認められた (Fig. 3).

次いで, 当院におけるインフルエンザ菌キットの成績を報告する. 中耳貯留液または耳漏検体 (総検体数 64) における検出感度は 85.0%で, 特異度は 88.6%, 一致率は 87.5%であった. 上咽頭液・鼻汁検体 (総数 41 検体) の感度は 81.3%, 特異度は 87.0%, 一致率は 84.6%であった. 全検体における感度は 83.3%, 特異度は 88.1%, 一致率は 86.4%であった (Table 4).

PCR 法との比較では, 中耳貯留液・耳漏を対象とした試験では, キットが陰性を示した 42 件中 PCR 法で陽性を示したものが 10 件認められたが, うち 7 例は培養陰性であった. キットで陽性を示した 22 件中 PCR 法で陰性を示した検体は認められなかった. 一方, 上咽頭 (鼻咽腔)・鼻汁を対象とした試験では, キットが陰性を示した 23 件中 PCR 法で陽性を示したものが 6 例認められたが, うち半数の 3 例は培養陰性であった.

Table 4 The results of *H.influenzae* antigen detection ELISA kit based on culture test for Sendai ENT Clinic samples

キット判定	培養検査		
	陽性	陰性	合計
	陽性	30	8
陰性	6	59	65
合計	36	67	103

本キットに於いても、キットによる判定結果について陽性検体と陰性検体の間にはPCR法による陽性率に於いて明らかな有意差 ( $P < 0.001$ ) が認められた (Fig. 4).

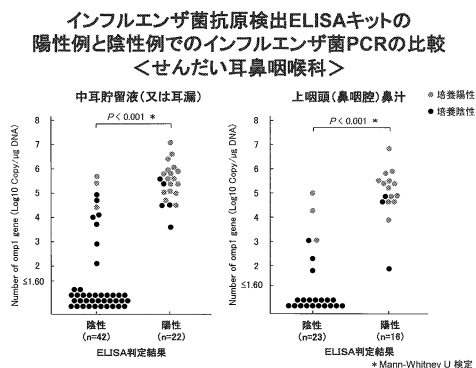


Fig. 4 Distribution of copy numbers of ompI gene in positive/negative group for middle ear fluids (left) and nasopharyngeal secretions (right) Black and gray circle showed culture negative and positive, respectively.

Table 5 Comparison the result of RAPIRUN® S.pneumoniae HS (otitis media/rhinosinusitis) between in all facilities and in this clinic

ラピラン肺炎球菌®HS (中耳・副鼻腔炎)	全体 (n=532)	当院 (n=106)
感度	76.8%	91.7%
特異度	83.3%	82.6%
一致率	80.6%	84.9%

Table 6 Comparison the result of H.influenzae antigen detection ELISA test between In all facilities and in this clinic

インフルエンザ菌抗原検出 ELISA キット	全体 (n=522)	当院 (n=103)
感度	75.8%	83.3%
特異度	88.3%	88.1%
一致率	82.4%	86.4%

全国7施設での平均成績と当院とのそれを比較した。ラピラン®肺炎球菌 HS (中耳・副鼻腔炎) 並びにインフルエンザ菌キット共に、感度、一致率で当院の成績がやや全国平均を上回っており、一致率では共に80%以上の成績を得た (Table 5, 6).

## 考 察

耐性肺炎球菌や耐性インフルエンザ菌による耳鼻咽喉科領域感染症の重症化が問題にされるようになってから久しい<sup>1) 2) 3)</sup>。特に小児反復性中耳炎に対する治療は、時にきわめて難渋することがある。2006年に急性中耳炎診療ガイドラインが作成され、2009年の改訂を経て日常臨床に寄与しているものの反復性中耳炎に対する対処法が盛り込まれておらず、その対処法の困難さが推察される<sup>4)</sup>。代表的な起炎菌は、肺炎球菌とインフルエンザ菌であることは分かっているも真に適切な抗菌剤を選択することは困難である。その理由の一つは、起炎菌の同定を培養検査で行うには数日間を要し、第一処方の際には起炎菌不明のままエンピリックに治療を開始せざるを得ない点にある。さらに、採取した検体をその場でグラム染色して菌を推定することや好中球貪食像を確認して細菌感染症の存在を確定する作業は有用であることは分かっているも多忙な日常の臨床で行うのは難しい場合もある。

一方、インフルエンザウイルスの迅速診断キットや溶血性連鎖球菌迅速診断キットなどは、すでに日常臨床でなくてはならない診断ツールとなっている<sup>5)</sup>。これらのキットのように外来で迅速にしかも正確に肺炎球菌とインフルエンザ菌の同定が出来れば中耳炎や副鼻腔炎に対する治療の精度は更に高まるであろうと推察される。2010年、すでに肺炎球菌抗原検出キット (ラピラン®肺炎球菌) が上市されているが<sup>6) 7)</sup>、感度の点で未だ不十分と言わざるを得ない。今回我々は、新たに開発された高感度の肺炎球菌抗原検出キット (ラピラン®肺炎球菌 HS (中耳・副鼻腔炎)) とインフルエンザ菌キットを用いて、その有用性を臨床的に検討した。

その結果、当院での成績では、総検体の成績で、ラピラン®肺炎球菌 HS (中耳・副鼻腔炎) で、感度が91.7% (全国平均76.3%)、特異度が82.6% (同83.3%)、一致率が84.9% (同80.6%) であった。従来型のキットであるラピラン®肺炎球菌

における中耳炎と副鼻腔炎での総合成績（感度46.7%，特異度92.0%，一致率75.4%）に比較して，感度と一致率の点で高い臨床的有用性が確認できた<sup>8)</sup>。またインフルエンザ菌キットでも，感度が83.3%（全国平均75.8%），特異度が88.1%（同88.3%），一致率が86.4%（同82.4%）であった。この成績もまた同じように高い有用性を示す結果と考えられる。

ラピラン<sup>®</sup>肺炎球菌HS（中耳・副鼻腔炎）に関しては，実際に外来での操作時間は30分未満で，充分使用に耐えるものと考えられる。一方のインフルエンザ菌キットの方は，検体採取から結果が出るまでに数時間を要し，現時点では日常外来では利用しにくいと言えよう。今後更なる検出感度の向上により，イムノクロマト法によるキットの開発が期待される。

今後これらの迅速キットをどのように利用するかは，我々臨床家の考え方の転換を要することも明記すべきであろう。インターネットが発達し，患者がある程度の医学的知識や情報を持って受診するようになった昨今，インフォームド・コンセントの重要性はますます高くなってきている。とりわけ反復する難治性中耳炎児の家族への説明と治療への同意を得ることの困難さは増すばかりである。これらのキットは，難治性患者への説明においてこそ威力を発揮する重要な臨床ツールになりうると考えられる。

## ま と め

1. 新規に開発された高感度肺炎球菌抗原検出キット（ラピラン<sup>®</sup>肺炎球菌HS（中耳・副鼻腔炎））及びインフルエンザ菌キットの臨床的有効性について検討した。
2. 両キットは，それぞれ高い感度と特異度を持った検出法であり，急性中耳炎及び急性副鼻腔炎患者から肺炎球菌，インフルエンザ菌を同定するために優れた方法であると考えられる。
3. 両キットは，急性中耳炎および急性副鼻腔炎

患者の治療方針の決定を補助する重要なツールになりうると考えられる。

## 参 考 文 献

- 1) 藤沢利行，鈴木賢二，黒野祐一，他：第4回耳鼻咽喉科領域主要検出菌全国サーベランス－薬剤感受性を中心に－，耳鼻咽喉科感染症研究会誌 27：63-68，2009.
- 2) 保富宗城：全国疫学調査報告，第3回変貌する細菌による中耳炎および市中気道感染症研究会総会議事録，39-49，2009.
- 3) 内菌明裕：小児急性中耳炎検出菌の動向－最近9年間の推移－耳鼻咽喉科感染症研究会誌 25：45-49，2007.
- 4) 喜多村健，中山健夫，山中昇，他：小児急性中耳炎診療ガイドライン2009年版：10-11，2009.
- 5) 光野紀子，播智宏，玉川信吉：A群レンサ球菌迅速診断キットの基礎的検討，感染症雑誌 80：665-673，2006.
- 6) Koichi Izumikawa, Sugugu Akamatsu, Akiko Kageyama, et al：Evaluation of a rapid immunochromatographic ODK0501 assay for detection *Streptococcus pneumoniae* antigen in sputum samples with lower respiratory tract infection. *Clinical and Vaccine Immunology* 16：672-678，2009.
- 7) 岩田敏，松原啓太，川村尚久，他：小児呼吸器感染症における肺炎球菌抗原検出キット ODK0501 の臨床性能評価。小児感染免疫 23：3-9，2010.
- 8) 小坂 修，他：社内資料（ラピラン肺炎球菌－臨床性能試験に関するデータ），2007.

連絡先：内菌明裕

〒895-0211

鹿児島県薩摩川内市高城町1945-1

せんだい耳鼻咽喉科

TEL 0996-20-3311

E-mail s-ent@js6.so-net.ne.jp