

血液培養陽性症例における プロカルシトニン測定の見直し

小林 曜子*¹, 直本 拓己*¹, 高阪 智史*¹, 中村 正邦*¹,
林 伸英*¹, 木下 承皓*², 河野 誠司*¹

*1 神戸大学医学部附属病院 検査部：神戸市中央区楠木町 7-5-2 (〒 650-0017)

*2 神戸大学医学部附属病院 医療技術部

要 旨

プロカルシトニン (PCT) は全身性細菌感染症、敗血症などにおいて多臓器から産生され、血中濃度が著明に上昇するが、局所での感染やウイルス感染では高値を示さないことから、敗血症の特異的なマーカーとして用いられている。今回我々は簡便かつ測定時間が 20 分と迅速で、24 時間対応が可能であるミニバイダスを使用し、バイダスアッセイキット B・R・A・H・M・S PCT (共に、シスメックス・ビオメリュー社) を用いて PCT 値を測定し、血液培養陽性となった患者 61 症例および、病院職員の健常者 20 例を対象に血液培養陽性患者における敗血症の起原菌と PCT 値との関係について検討を行った。さらに血液培養陽性日からの PCT 値の推移を調査した。

敗血症の起原菌をグラム陰性桿菌 (GNR)、グラム陽性球菌 (GPC)、グラム陽性桿菌 (GPR) および真菌 (YE) の 4 群と健常者群の間で比較すると、全ての菌種群で有意な差がみられた。特に GNR は PCT 値が高く、GPC、GPR と比べても有意な差がみられた。YE は高値を示さず、PCT 値は軽度上昇にとどまった。PCT 値が 0.5ng/mL 未満の検体ではコンタミネーションを起こしやすい表皮常在菌が多く検出された例および、カテーテル関連の局所感染例が多かったことから、コンタミネーションの有無を判断することが重要であるとともに、局所感染の有無を注意深く観察する必要があると考えられた。また、PCT 値が高値の検体では重症外傷、手術など感染以外でも上昇する場合もあり、鑑別が重要である。PCT は血液培養提出日に感染かどうかの迅速な判断が可能であるが、一方で PCT 値が 0.5ng/mL 未満であっても翌日に上昇する可能性もあることから、継続して測定することが重要であると考えられた。

キーワード PCT, VIDAS, 血液培養陽性

はじめに

プロカルシトニン (PCT) はカルシトニンの前駆物質であり、116 個のアミノ酸からなる分子量 13kDa のタンパク質である¹⁻²⁾。PCT は甲状腺の C 細胞で産生され、カルシトニンとなり血中に分泌されるため、通常血中に遊離されることはない³⁻⁵⁾。しかし、全身性細菌感染症などでは甲状腺外の多臓器から PCT が産生され、重症感染や敗血症によって血中濃度が著明に上昇するといわれている⁶⁻⁷⁾。また局所での感染やウイルス感染では高値を示さないことから、

敗血症の特異的なマーカーとして注目されている⁸⁾。今回、我々は血液培養陽性患者における敗血症の起原菌と PCT との関係について検討を行った。

対 象

2009 年 12 月～2010 年 4 月までの 5 カ月間に血液培養陽性となった患者 61 症例および病院職員の健常者 20 例を対象とした。血液培養陽性日の前日から 10 日間の期間に提出された検体 (血清) を用いた。

試薬と方法

1. 試薬

PCTは蛍光基質を用いた酵素免疫測定法であるELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) 法を測定原理としたバイダスアッセイキットB・R・A・H・M・S PCTを用い、測定機器にはミニバイダス (共にシスメックス・ビオメリュー社) を使用して測定した。スパー内に抗カルシトニンマウスモノクローナル抗体が固相化されており、これと検体中のプロカルシトニンが試薬ストリップ中のアルカリフォスファターゼ標識抗カタカルシンマウスモノクローナル抗体と結合しサンドイッチを形成する。次いで、蛍光基質である4-メチルウンベリフェリリン酸がスパー内に吸引されアルカリフォスファターゼにより蛍光物質である4-メチルウンベリフェロンに加水分解される。そして、370nmの励起光を照射して得られる450nmの蛍光強度を測定することにより、検体中のPCT濃度を算出する。添付文書のとおりPCT値0.5ng/mL未満では敗血症の可能性は否定的であるのに対し、PCT値0.5ng/mL以上では敗血症の可能性があることから、PCT値0.5ng/mLをカットオフ値とした。さらに、重度敗血症のリスクが高くなるPCT値2ng/mL以上についても検討した。

2. 方法

- 1) 血液培養陽性患者61例を分離菌種別に、グラム陰性桿菌 (GNR) 21例、グラム陽性球菌 (GPC) 23例、グラム陽性桿菌 (GPR) 14例および真菌 (YE) 3例の4群に分け、健常者群とPCT値を比較した。
- 2) 分離菌種別のPCT値と病態の関連をみるためにGNR、GPC、GPRおよびYEについてグラム染色および測定機器Micro scan WalkAWay40SI (シーメンス・ダイアグノスティクス社) により同定した菌種ごとにPCT値を0.5ng/mL未満、0.5~2ng/mL、2~10ng/mL、10ng/mL以上の4段階に分類した。
- 3) 血液培養陽性症例について患者の臨床症状、検出菌および抗菌薬の投与などの情報に基づいて分類された、感染、コンタミネーション疑いお

よび不明の3群および健常者群のPCT値の比較を行った。

- 4) 血液培養陽性症例のうち、3)にて感染と判断した患者の血液培養陽性日の前日から10日間のPCT値の測定を行い、PCT値の変動を観察した。
- 5) 分離菌種群等の2群間の比較にはMedCalc (ver.12.1, ベルギー) を用いてMann-Whitney検定を行う。p値は0.05未満を有意とした。

結果

1. 分離菌種4群と健常者群におけるPCT値の比較

分離菌種4群と健常者群におけるPCTの中央値 (25%タイル値 - 75%タイル値) はそれぞれ、GNRが8.9ng/mL (6.0ng/mL - 14.1ng/mL)、GPCが0.6ng/mL (0.3ng/mL - 6.0ng/mL)、GNRが0.8ng/mL (0.3ng/mL - 1.3ng/mL)、YEが4.5ng/mL (2.4ng/mL - 5.2ng/mL) および健常者が0.05ng/mL未満 (0.05ng/mL未満) であった。健常者群よりGNR、GPC、GPRおよびYEの4群それぞれにおいて有意に高値であった ($p < 0.001$)。また、GNRがGPC ($p < 0.01$)、GPR ($p < 0.001$) いずれの群より高値を示した (図1)。カットオフ値を0.5ng/mLとしたPCT値の陽性率はそれぞれGNR 90.5% (19/21例)、GPC 65.2% (15/23例)、GPR 57.1% (8/14例) およびYE 66.7% (2/3例) であった。

2. GNR, GPC, GPR, YEの菌種別PCT値の分布

菌種別にPCT値0.5ng/mL以下、0.5ng/mL~2ng/mL、2ng/mL~10ng/mLおよび10ng/mL以上に分類した。GNRから検出した菌種別の内訳は*Escherichia coli* (33.3%)、*Pseudomonas aeruginosa* (23.8%)、*Enterobacter cloacae* (14.3%)、*Klebsiella* spp. (9.5%)、*Citrobacter freundii* (4.8%)、*Acinetobacter baumannii* (4.8%)、*Stenotrophomonas maltophilia* (4.8%) および*Bacteroides fragilis* (4.8%) であった。GNRはPCT値が2ng/mL以上示す検体が85.7% (18/21株) を占め、0.5ng/mL未満は9.5% (2/21株) であった。今回の検討で、最も検出率が高かった*Escherichia coli* ではPCT値が10ng/mL以上を示す検体が85.7% (6/7株) と多くみとめられた。一方、

Escherichiacoli に次いで多く検出された *Pseudomonas aeruginosa* では PCT 値が高値ながらも数値にばらつきがみられた。分離菌種ごとの比較を行ったが、検体数が少なく有意差は求められなかった。

GPC, GPR, YE の 40 例より検出した菌種別の内訳では CNS (32.5%), *Bacillus* spp. (32.5%), *Staphylococcus aureus* (15%), *Streptococcus* spp. (7.5%), *Candida* spp. (7.5%), *Enterococcus faecalis* (2.5%) および *Corynebacterium* spp. (2.5%) であった。PCT 値が 0.5ng/mL 未満の検体は 37.5% (15/40 株) と高率であり, *S.aureus*, CNS, *Bacillus* spp. および *Corynebacterium* spp. などの表皮常在菌が検出された。また, PCT 値が 2ng/mL 以上を示す検体は 62.5% (25/40 株) であった (表 1)。

3. 感染とコンタミネーション疑いの PCT 値の分布

血液培養陽性患者 61 例について患者の臨床症状, 検出菌, 抗菌薬の投与, 検査データなどを調査し, 感染 42 例, コンタミネーション疑い (主治医による臨床診断, 投薬歴から判断) 13 例および, 不明 6 例の 3 群に分類した。3 群の PCT の中央値 (25% タイル値 - 75% タイル値) はそれぞれ, 感染群が 6.1ng/mL (1.4ng/mL - 13.1ng/mL), コンタミネーション疑い群が 0.4ng/mL (0.1 ng/mL - 0.6ng/mL), 不明が 3.0ng/mL (0.4ng/mL - 5.8ng/mL) および健常者群が 0.05ng/mL 未満 (0.05ng/mL 未満) であった。

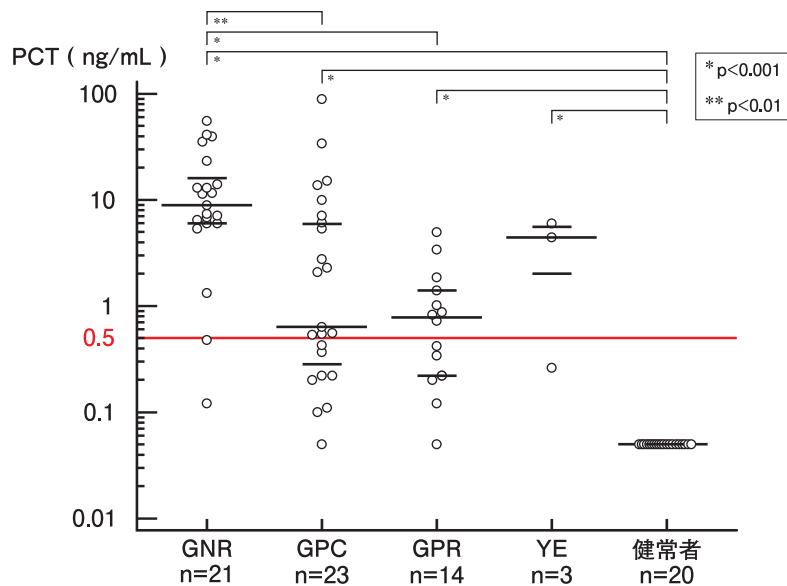


図 1. 分離菌種別血液培養陽性患者および健常者の PCT 値の分布

血液培養陽性患者の陽性を示した日の分離菌 4 群および健常者群の PCT 値を比較した。
GNR：グラム陰性桿菌, GPC：グラム陽性球菌, GPR：グラム陽性桿菌, YE：真菌短棒
(下)：25% タイル値, 長棒 (中央)：中央値, 短棒 (上)：75% タイル値を示す。

表 1. 分離菌種別 PCT 値の分布

菌種	菌名	<0.5	0.5~2.0	2.0~10.0	>10ng/mL	計
GNR	<i>Escherichia coli</i>	1			6	7
	<i>Klebsiella spp.</i>			1	1	2
	<i>Citrobacter freundii</i>				1	1
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1	2	1	5
	<i>Acinetobacter baumannii</i>			1		1
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>				1	1
	<i>Enterobacter cloacae</i>			2	1	3
	<i>Bacteroides fragilis</i>			1		1
GPC	<i>Staphylococcus aureus</i>	2		2	2	6
	CNS	6	4	2	1	13
	<i>Streptococcus spp.</i>			2	1	3
	<i>Enterococcus faecalis</i>			1		1
GPR	<i>Bacillus spp.</i>	5	6	2		13
	<i>Corynebacterium spp.</i>	1				1
YE	<i>Candida spp.</i>	1		2		3
計		17	11	18	15	61

グラム染色および測定機器 Micro scan WalkAway40SI により同定した GNR, GPC, GPR および YE を菌種別に分類したものを PCT 値 0.5ng/mL 未満, 0.5~2ng/mL, 2~10ng/mL, 10ng/mL 以上の 4 段階に分類した。GNR: グラム陰性桿菌, GPC: グラム陽性球菌, GPR: グラム陽性桿菌, YE: 真菌

3 群と健常者群を比較すると PCT 値は 3 群で有意に高値を示した ($p < 0.001$) また感染とコンタミネーション疑いの間でも, 有意な差が認められた ($p < 0.001$) (図 2)。PCT 値は感染群で最も高く, 次いで不明, コンタミネーション疑い群の順となった。また, 感染群の 81.0% (34/42 例) が PCT 値 0.5ng/mL 以上であった。

4. 感染症例における PCT 値の推移

感染群に分類した 42 症例について血液培養提出日の前日から 10 日間の PCT 値推移を調べた。多くの症例で血液培養提出日から 1 日後ないしは 2 日後に PCT 値が上昇し, その後治療により低下していく傾向が認められた。血液培養提出日に PCT 値が 0.5ng/mL 以上の例は 59.5% (25/42 例) であり, 0.5ng/mL 未満の例は 40.5% (17/42 例) であった。血液培養提出

日には PCT 値 0.5ng/mL 未満であったが, 翌日以降に PCT 値が 0.5ng/mL 以上に上昇を示したものは 47.1% (8/17 例) 認められた。また, 今回時系列で測定した PCT 値が 0.5~2.0ng/mL の間を推移した 3 例中 2 例が熱傷と手術後の症例であった (図 3)。

考察

今回, 血液培養陽性症例について分離した GNR, GPC, GPR および YE の 4 菌種別に分けて PCT 値を比較した。GNR は GPC, GPR の群より高値を示し, 有意な差が認められた。血液培養陽性の場合, *E.coli*, *Klebsiella* などの腸内細菌ではほぼ 100% が感染の原因菌とされる。また, *Pseudomonas aeruginosa* では 96.4%, *S.aureus* では 87.2% が感染の原因菌とされる¹⁰⁾。GNR による菌血症では Lipopolysaccharide (LPS)

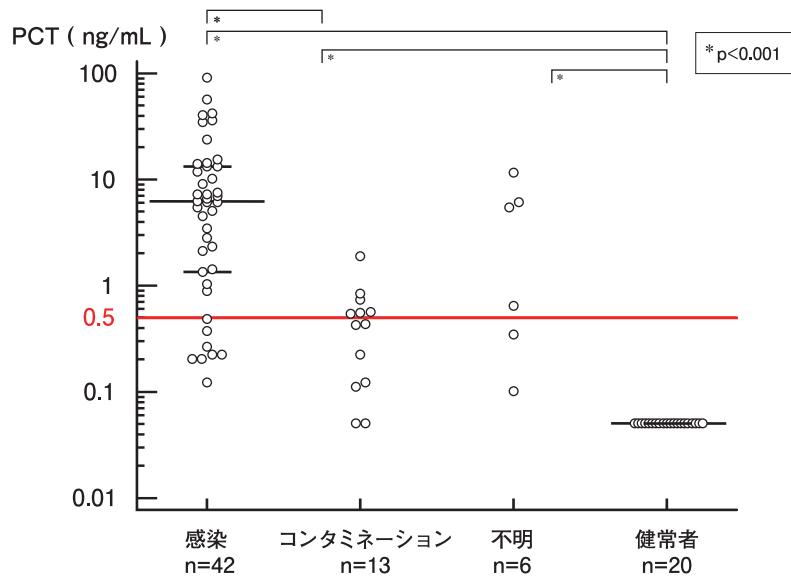


図2. 血液培養陽性症例について感染、コンタミネーション疑い、不明と分類した3群および健常者群のPCT値との関連性

血液培養陽性症例を患者の臨床症状、検出菌、抗菌薬の投与などに基づき、感染、コンタミネーション疑い、不明の3群に分類した。
 3群それぞれの血液培養陽性日のPCT値および健常者群のPCT値を比較した。
 短棒（下）：25%タイル値，長棒（中央）：中央値、短棒（上）：75%タイル値を示す。

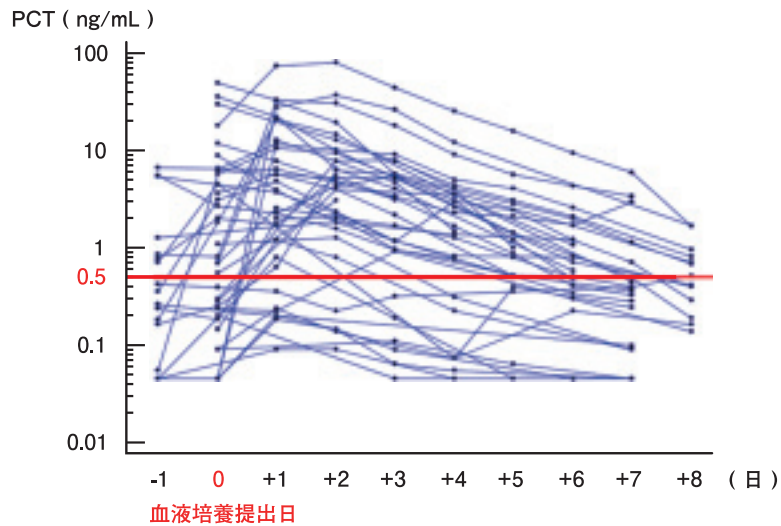


図3. 感染と判断した血液培養陽性症例のPCT値の推移

感染と判断した患者を血液培養陽性日の前日からの10日間の期間で提出された検体についてPCT値を測定し、PCT値の変動を観察した。

を含まない GPC による菌血症よりも PCT が高値となることが知られており⁹⁾、今回の検討についても PCT 値が GNR で高値を示した。GNR は感染が疑われた全ての症例で PCT 値が高値を示し、さらに PCT 値の推移に着目すると、GNR において 0.5ng/mL 未満を示した場合でも、血液培養陽性日の翌日以降に上昇する症例も認められた（結果には示していない）。しかしながら、GPC の一部の症例でも PCT 値が非常に高値を示していたことから、PCT 値が高値の場合であっても GNR によるものとは限らないため注意が必要である。

また、PCT 値が 0.5ng/mL 未満の検体は *S.aureus*, CNS, *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp. といったコンタミネーションを起こしやすい表皮常在菌が多く検出された。このことから 0.5ng/mL 未満の検体ではコンタミネーションの有無を判断することが重要である。

感染群とコンタミネーション疑い群の PCT 値の分布を見たところ、感染群はコンタミネーション疑い群、健常者群と比較すると有意に高値であり ($p < 0.001$)、81.0% (34/42 例) が PCT 値 0.5ng/mL 以上を示した。感染に伴い PCT 値が上昇し、治療とともに速やかな低下が認められた。また、感染群 42 例中 PCT 値 0.5ng/mL 未満であった 8 例の内 5 例がカテーテル関連感染であり、カテーテル挿入部位などで局所感染を起こした可能性が考えられた。さらに、重症外傷や手術後の影響により PCT 値が上昇するという報告がなされており¹⁰⁾、今回時系列で測定した PCT 値が 0.5 ~ 2.0ng/mL の間を推移した 3 例中 2 例が熱傷と手術後の症例であったことから、全身性細菌感染症との鑑別が重要である。また、PCT 値の推移に着目すると感染を疑って血液培養が提出された日に PCT 値が 0.5ng/mL 未満であっても、翌日には PCT 値が上昇する可能性が示唆された。

まとめ

今回、我々は血液培養陽性患者における敗血症の起原菌と PCT 値の関係について検討を行った。本検討の結果から、分離菌種別における PCT 値は GNR で高値を示す傾向にあるが、必ずしも GNR と

は限らないため注意が必要である。また PCT 値が 0.5ng/mL 未満の検体では血液培養におけるコンタミネーションの有無を判断することが重要であるとともに、局所感染の有無を注意深く観察する必要がある。さらに、PCT 値が陽性の検体では重症外傷、手術など感染以外でも上昇する場合もあり、鑑別が重要である。PCT は血液培養提出日に感染かどうかの迅速な判断が可能である一方で、感染を疑った日には PCT 値が 0.5ng/mL 未満でも翌日に上昇する可能性があることから、継続して測定することが重要であると考えられた。

参考文献

- 1) Russwurm S et al. Procalcitonin -a novel biochemical marker for the mediator directed therapy of sepsis. *Mol Med Today*. 1999 ; **5** (7): 286-287
- 2) Oberhoffer M et al. Procalcitonin. A new diagnostic parameter for severe infections and sepsis. *Anaesthesist*. 1998 ; **47** (7): 581-587
- 3) Gendrel D, Bohuon C. Procalcitonin, a marker of bacterial infection. *Infection*. 1997 ; **25** (3): 133-134
- 4) 新井隆男, 行岡哲男, 松本哲哉. プロカルシトニン. *モダンメディア*. 2008 ; **52** (12): 385-388
- 5) 久志本成樹. ICU における細菌感染症診断の新しいマーカーとしてのプロカルシトニン. *ICU と CCU*. 2008 ; **32** (3): 199-207
- 6) Christ-Crain M, Müller B. Biomarkers in respiratory tract infections : diagnostic guides to antibiotic prescription, prognostic markers and mediators. *Eur Respir J*. 2007 ; **30** (3): 556-573
- 7) Brunkhost FM, Heinz U, Forycki ZF. Kinetics of procalcitonin in iatrogenic sepsis. *Intensive Care Med*. 1998 ; **24** (8): 888-889
- 8) Dornbush HJ et al. Procalcitonin-a marker of invasive fungal infection? *Support Care Cancer*. 2005 ; **13** (5): 343p.

- 9) Weinstein MP et al. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s : a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. Clin Infect Dis. 1997 ; 24 (4) : 584-602
- 10) Charles PE, et al. Serum procalcitonin elevation in critically ill patients at the onset of bacteremia caused by either Gram negative or Gram positive bacteria. BMC Infect Dis. 2008 ; 38p.
- 11) Nylen ES et al. Serum procalcitonin as an index of inhalation injury in burns. Horm Metab Res. 1992 ; 24 (9) ; 439-443
-

Examination of the Procalcitonin Measurement in a Blood Culture Positive Patient

Yoko KOBAYASHI^{*1}, Takumi JIKIMOTO^{*1}, Satoshi KOUSAKA^{*1}, Masakuni NAKAMURA^{*1},
Nobuhide HAYASHI^{*1}, Syohiro KINOSHITA^{*2} and Seiji KAWANO^{*1}

*1 Department of Clinical Laboratory, Kobe University Hospital, 7-5-2, Kusunoki-cho, Chuo-ku, Kobe 650-0017

*2 Department of Medical Technology Support, Kobe University Hospital

SUMMARY

Procalcitonin (PCT) is produced by many multiple organs and increases in generalized bacterial infection and sepsis etc. , however, it doesn't increase in the localized infection or the viral infection. Therefore, we use it as a specific marker for sepsis.

This time we evaluated a relationship between pathogenic bacteria for sepsis and PCT by miniVIDAS and VIDAS assay kit BRAHMS PCT, and examined PCT process from the day that blood culture got positive. 61 blood culture positive patients and 20 healthy persons were enrolled.

We classified pathogenic bacteria for sepsis into four groups ; Gram-negative Rod (GNR), Gram-positive Coccus (GPC), Gram-positive Rod (GPR) and fungi (YE) . Then we compared among all groups and confirmed a significant difference. Especially, the PCT value of GNR was much higher than other groups. However, the PCT value of YE was not high and accompanied by a modest increase. The cases that PCT was lower than 0.5pg/mL were patients who was suspicious of contamination by normal inhabitants of the epidermis or patients with catheter-related localized infection. Therefore, we realized it is important to confirm the presence or absence of contamination and localized infection. Moreover, we found that a diagnosis of sepsis could not make by only high level of PCT, because PCT sometimes increases by severe trauma or operation etc. . PCT enables a diagnosis of generalized bacterial infection on the day of submitted blood culture, however, PCT sometimes rises next day from measurement date. We realized it is important to continuing to measure PCT.

Key Words PCT, VIDAS, Blood Culture Positive
