

全自動尿統合分析装置 UX-2000 を用いた 尿路感染症スクリーニングの有用性について

山口 一剛, 宇木 望, 池田 弘典, 川崎 誠司,
永沢 善三, 太田 昭一郎, 末岡 榮三朗

佐賀大学医学部附属病院 検査部：佐賀市鍋島 5-1-1 (〒 849-0937)

要 旨

UX-2000 (UX-2000; シスメックス社) は尿定性試験と有形成分測定を一つの装置で行う全自動尿統合分析装置である。今回、フローサイトメトリー法を用いた細菌数測定から迅速に尿路感染症 (以下, UTI) を推定することについて、および細菌スキヤッタグラムの表示パターンによる菌種推定の可能性について、細菌学的検査との比較により検討した。

結果、細菌陽性とするカットオフを $1.0 \times 10^5/\text{mL}$ とした場合の UX 法と定量培養法の一致率は 89% であり、UTI の診断確率は感度 94%、特異度 85%、一致率 89% であった。また、スキヤッタグラムパターンによる菌種推定において、グラム染色鏡検の結果との一致率は、球菌で 62%、桿菌で 87%、複数菌で 73% であった。

よって UX-2000 の細菌数の情報は細菌培養検査が必要か否かのスクリーニングとして、細菌スキヤッタグラムの表示パターンによりある程度の菌種推定ができることについて、それぞれ有用性が示唆された。

キーワード UX-2000, スキヤッタグラムパターン, UTI

はじめに

尿路感染症 (以下, UTI) は、診療科を問わず遭遇頻度の高い感染症の一つである。UTI を的確に診断し治療するには、臨床症状と検尿所見に加え、原因微生物の検索と薬剤感受性試験が重要である。しかしながら、現実的には原因微生物を同定する前に、検尿所見のみで診断し治療するケースも少なくない¹⁾。今回報告する全自動尿統合分析装置 UX-2000 (UX-2000; シスメックス社) は、フローサイトメトリー (以下, FCM) 法を用いることで、赤血球・白血球・細菌・上皮細胞・円柱等の有形成分を約 1 分で定量測定できる。さらに、細菌スキヤッタグラムの表示パターンから、おおよその細菌の形態 (グラム陽性菌・グラム陰性菌) を推定することが可能であるといわれている^{2,3)}。この点に焦点をあて、迅速に UTI を推定する UX-2000 の細菌数と形態推定の信頼性について、細菌学的検査と比較した検討結果を報告する。

UX-2000 の特長

UX-2000 は尿定性試験と FCM 法による有形成分測定を一つの装置で行う全自動尿統合分析装置である (図 1)。一元管理されたデータをもとに、定性と有形成分の乖離結果をクロスチェックする機能や定性の異常結果から自動的に FCM を測定するリフレックステスト機能等が本装置の最大の特長といえる。測定結果画面を図 2 に示す。

細菌測定チャンネルでは、細菌を特異的に染色・測定を行い、定量値とともにスキヤッタグラムが表示される (図 3)。細菌スキヤッタグラムの Y 軸の前方散乱光は粒子あるいは細菌集塊などの大きさを反映し、X 軸の蛍光信号強度はそれらの細胞核染色度を反映している。細菌スキヤッタグラムでは菌体集団を 1 つのドットとして表示することがあり、グラム陽性菌は 2 から 3 平面内で不規則に分裂・増殖するため、比較的大きく染色性の強いドットとして表

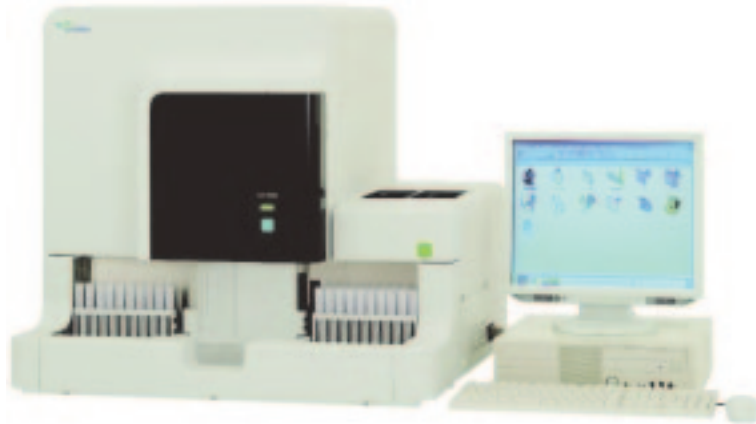


図1. 全自動尿統合分析装置 UX-2000

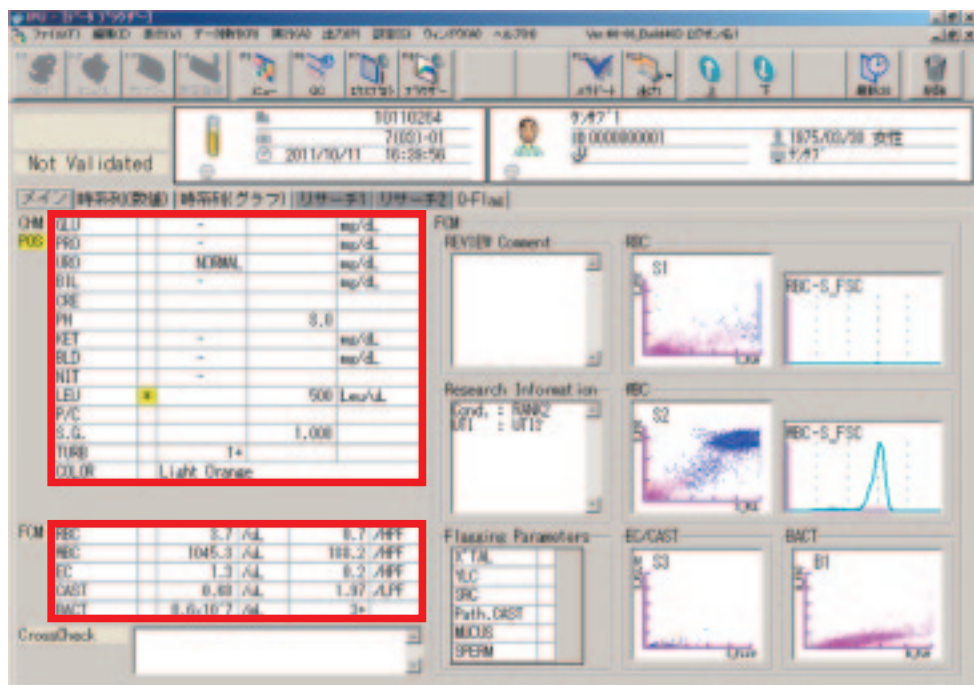


図2. UX-2000 の測定結果画面

示される。その結果、スキヤッタグラム上では、原点を通る X 軸から 30 度の線より上方に分布する (図 4-①)。一方、グラム陰性菌は一定以上になると分裂し個々の菌体は離散し単独で存在するため、染色性がほぼ一定となり球菌に比し、小さく染色性の弱いドットとして表示される。その結果、スキヤッタグラム上、原点を通る X 軸から 30 度の線より下方に分布する (図 4-②)。このような細菌の増殖の性状や形態の違いによりスキヤッタグラムパターンが変化し、ある程度の菌種 (グラム陽性菌・グラム陰性菌) の推定が可能といわれている^{2,3)}。

対象および方法

2011 年 10 月から 12 月までに細菌検査を依頼された尿検体 225 件を対象とした。細菌数は UX-2000

による FCM 法の結果と細菌定量培養法の成績とを比較し、両測定法において細菌陽性とするカットオフを $1.0 \times 10^5/\text{mL}$ とした場合の一致率を求めた。さらに UTI との関連として UX-2000 で白血球数 $10/\mu\text{L}$ 以上、かつ細菌数 $1.0 \times 10^4/\text{mL}$, $1.0 \times 10^5/\text{mL}$, $1.0 \times 10^6/\text{mL}$ 以上の 3 通りの条件における UTI 診断確率を算出した。

菌種推定では UX-2000 で $1.0 \times 10^5/\text{mL}$ 以上の細菌数と判定した 102 例の内、グラム染色で明らかに細菌の菌体が確認された 93 例を対象とした。UX-2000 のスキヤッタグラムで、①上方パターン：球菌推定、②下方パターン：桿菌推定、③幅広パターン：複数菌推定の 3 種類に分類し、この結果とグラム染色鏡検結果、および培養同定結果との一致率を検討した。

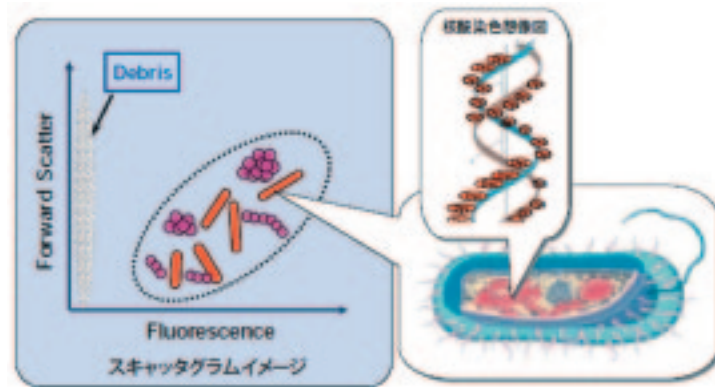
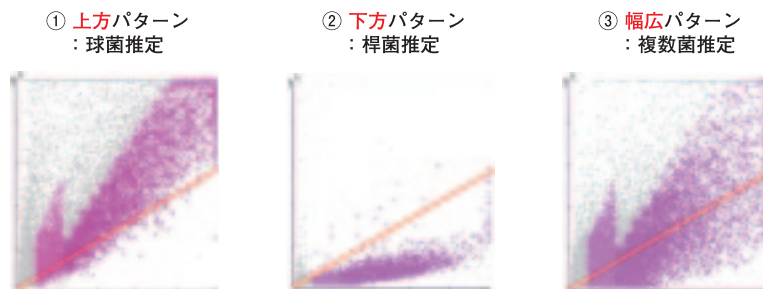


図 3. UX-2000 細菌測定イメージ³⁾



UXでのスキヤッタグラムパターンによる形態推定は、原点を通るX軸から30度の線を境に、①上方：球菌、②下方：桿菌、③幅広：複数菌の3種類で分類する

図 4. スキヤッタグラムパターン

結果

1. 細菌数の相関

UX 法と定量培養法の相関を図5に示す。対数表示で求めた回帰式から傾き0.37, 相関係数0.855と比較的良好な相関が得られた。細菌陽性とするカットオフを両測定法において $1.0 \times 10^5/\text{mL}$ とした場合の陽性群と陰性群の一致率は89% (199/225)であった。定量培養法陽性でUX法陰性群は0%, 不一致を示した培養法陰性でUX法陽性群は11% (26/225)であり, その培養同定結果の内訳は培養陰性が9例 (7例は抗菌薬投与あり), 少数の常在菌同定が9例, $10^3 \sim 10^4\text{CFU}/\text{mL}$ の菌同定が6例, 真菌同定が2例であった。

2. UTI 診断確率

UTIの判定は細菌学的検査を含め, 患者カルテ, および感染症専門医の確認により実施した。UTI診断確率はUTI: 83例, 非UTI: 142例をUX-2000で白血球数 $\geq 10/\mu\text{L}$ で細菌数のカットオフを $1.0 \times 10^4/\text{mL}$, $1.0 \times 10^5/\text{mL}$, $1.0 \times 10^6/\text{mL}$ とした場合の3段階の検査対象群で算出した。その結果, $\geq 1.0 \times 10^4/\text{mL}$ では, 感度96%, 特異度54%, 一致率68%, $\geq 1.0 \times 10^5/\text{mL}$ では, 感度94%, 特異度85%, 一致率89%, $\geq 1.0 \times 10^6/\text{mL}$ では, 感度72%, 特異度97%, 一致率88%であった。 $1.0 \times 10^5/\text{mL}$ のカットオフラインにおいて感度・特異度・一致率は良好であり, UX-2000でUTIとする条件は, 細菌数 $\geq 1.0 \times 10^5/\text{mL}$ が妥当であると考えられた(表1)。

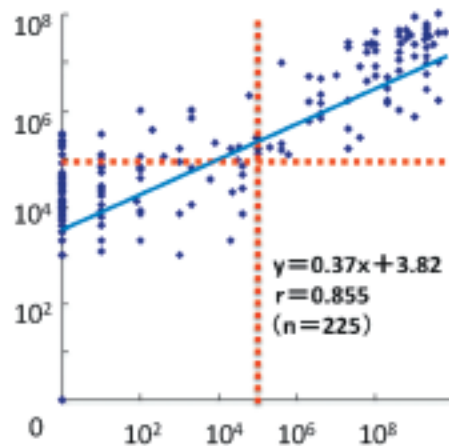


図5. UX-2000 細菌数と尿細菌培養法との相関

表1. UTI 診断確率

	感度	特異度	一致率
$\geq 10^4$	96%	54%	68%
$\geq 10^5$	94%	85%	89%
$\geq 10^6$	72%	97%	88%

UTI: 83例, 非UTI: 142例を下記の検査対象群で算出
(カットオフをUXでWBC $\geq 10/\mu\text{L}$ かつ細菌数 $\geq 10^4$, $\geq 10^5$, $\geq 10^6$ とした場合)

3. 菌種推定の一致率

菌種推定はUX法において細菌数 $1.0 \times 10^5/\text{mL}$ 以上かつグラム染色鏡検陽性の検体について、スキヤッタグラムパターンより図4に示すように分類し、グラム染色鏡検結果と比較した。その一致率は、上方パターンを示した26例(図6)においてグラム染色鏡検で球菌が同定された検体が62%(16/26)で、菌種の内訳は *Staphylococcus* 属:13例, *Streptococcus* 属:3例, *Enterococcus* 属:2例, *Escherichia* 属:2例, *Pseudomonas* 属:2例, の順であった。

下方パターン45例(図7)のうち、桿菌と同定された検体が87%(39/45)で、菌種の内訳は *Escherichia* 属:24例, *Pseudomonas* 属:6例, *Klebsiella* 属:5例, *Citrobacter* 属:4例, *Serratia* 属:2例, の順であった。幅広パターン22例(図8)のうち、複数菌が同定された検体が73%(16/22)で、菌種の内訳はグラム陽性球菌と陰性桿菌の混在が15例, 単独では *Escherichia* 属:3例, *Klebsiella* 属:2例, の順であった。

球菌と一致: 62% (16/26) (グラム染色所見との比較)

<i>Staphylococcus</i> 属: 13株	<i>Enterococcus</i> 属: 2株	<i>Streptococcus</i> 属: 1株	(すべて単独)
------------------------------	---------------------------	----------------------------	---------

不一致: 38% (10/26) ※球菌以外の染色所見を示した場合

同定菌種	培養結果 (菌数: CFU/mL)	G染色特徴所見
<i>Escherichia</i> 属 2株	①菌数 4×10^8 で極少の <i>Staphylococcus</i> 属 と混在 ②単独で菌数 1×10^8	球菌状の桿菌, フィラメント化
<i>Pseudomonas</i> 属 2株	2例とも単独で菌数 2×10^2 と 1×10^5	
<i>Providencia</i> 属 1株	単独で菌数 2×10^7	塗抹ではGPCも+
<i>Morganella</i> 属 1株	菌数 4×10^2 で少数の <i>Streptococcus</i> 属 と混在	
<i>Corynebacterium</i> 属 1株	少数の <i>Streptococcus</i> 属 との混在	
培養陰性3例		GPC+1例, GPR+2例

図6. 上方パターン 26 例の内訳

桿菌と一致: 87% (39/45) (グラム染色所見との比較)

<i>Escherichia</i> 属: 24株	<i>Klebsiella</i> 属: 5株	<i>Citrobacter</i> 属: 4株
<i>Serratia</i> 属: 2株	<i>Pseudomonas</i> 属: 6株	<i>Acinetobacter</i> 属: 1株

(重複例含む)

不一致: 13% (6/45) ※桿菌以外の染色所見を示した場合

同定菌種	培養結果 (菌数: CFU/mL)	G染色特徴所見
<i>Enterococcus</i> 属 2株	①菌数 2×10^8 , 2×10^9 の <i>Klebsiella</i> 属 と混在 ②単独で菌数 1×10^8	
<i>Streptococcus</i> 属 1株	単独で菌数 1×10^9	連鎖状球菌
<i>Staphylococcus</i> 属 2株	①菌数 3×10^4 で 2×10^4 の <i>Acinetobacter</i> 属 と混在 ②菌数 6×10^4 で少数の <i>Corynebacterium</i> 属 と混在	
培養陰性1例		GNR+1例

図7. 下方パターン 45 例の内訳

複数菌と一致: 73% (16/22) (グラム染色所見との比較)

グラム陽性球菌+陰性桿菌: 15例
グラム陽性菌のみ: 1例

不一致: 13% (6/45) ※桿菌以外の染色所見を示した場合

同定菌種	培養結果 (菌数: CFU/mL)	G染色特徴所見
<i>Escherichia</i> 属 3株	菌数 4×10^8 , 2×10^9 , 4×10^6	菌体の大小不同3例, フィラメント化2例
<i>Klebsiella</i> 属 2株	菌数 2×10^7 , 2×10^6	菌体の大小不同1例, フィラメント化1例
<i>Citrobacter</i> 属 1株	菌数 1×10^8	菌体の大小不同1例

図8. 幅広パターン 22 例の内訳

考 察

細菌数の相関において、UX法は定量培養法に比べ 1.0×10^4 /mL以下で高値傾向、 1.0×10^6 /mL以上で低値傾向にあった。それはUX-2000の細菌測定における分析感度が 5.0×10^3 /mLであることと検出限界が 9.9×10^7 /mLによる感度と測定範囲に起因するものと考えられた。また 1.0×10^6 /mL以上のような多数の菌が存在する場合は、菌の集塊を1個とカウントすることがあるため、見掛け上、低値を示すことも考えられた⁴⁾。細菌陽性とするカットオフを 1.0×10^5 /mLとした場合の一致率は良好であった。定量培養法陽性でUX法陰性群は0%であり定量培養法を基準とした場合のUX-2000の偽陰性例はなかった。一方、定量培養法陰性でUX法陽性群は11% (26例)あり、この不一致の原因として、死菌をカウントした可能性や抗菌薬投与により菌が発育しなかった可能性、白血球の微小断片等を誤認した可能性が考えられた。

スキヤッタグラムパターンによる菌種の推定においては、グラム染色所見と高い一致率を示した。グラム染色所見と不一致を示した検体の鏡検画像と培養同定結果を詳細に解析した結果、上方パターンで球菌以外を示した10例の内、グラム陰性桿菌がグラム陽性球菌と混在していた例が3例、グラム染色所見で球菌状の桿菌を示していた例とフィラメント化した*Escherichia*属がそれぞれ1例であった。下方パターンで桿菌以外を示した6例の内、グラム陽性球菌がグラム陰性桿菌と混在していた例が3例、グラム染色所見で連鎖状の球菌を示していた*Streptococcus*属が1例であった。幅広パターンで複数菌ではなく単独のグラム陰性桿菌同定例が6例あり、ほぼ全例においてグラム染色所見で菌体の大小不同、フィラメント化が見られた。このように、菌の混在例やグラム染色所見で形態的な変化が存在するとスキヤッタグラムの分布パターンも変化し、菌種推定の信頼性が低くなることが考えられた。

まとめ

UX-2000による細菌数とスキヤッタグラムパターンによる菌種推定は、細菌学的検査と高い一致率を示したことからUTIの迅速スクリーニング検査として有用であると考えられた。

UX-2000による菌種推定は桿菌推定において高い一致率を示したが、菌種の確定には細菌学的検査を実施する必要がある。

また、UX-2000は尿定性のみの依頼でも白血球・亜硝酸塩・混濁の結果から自動的に判断し、FCM法による有形成分測定を行う機能も有しており、UTIを示唆する情報をリアルタイムに取得できる(図3)。これらにより、UX-2000の細菌数の情報は細菌培養検査が必要か否かのスクリーニングとして、またスキヤッタグラムの表示パターンにより、ある程度の菌種推定ができることから、抗菌薬選択の目安として利用できる可能性が示唆された。

本内容は、第23回日本臨床化学会九州支部総会において発表した。

参考文献

- 1) 五島瑳智子. Q&Aで読む細菌感染症の臨床と検査. 東京. 国際医学出版; 2005. 254p.
- 2) 小澤秀夫 他. 全自動尿中有形成分分析装置 UF-1000i による細菌スキヤッタグラムと尿培養による細菌同定結果の比較. *Systemex J.* 2011; **34**, Suppl.1: 19-24
- 3) 村谷哲郎 他. 尿路感染症患者由来尿を用いた全自動尿中有形成分分析装置 UF-1000i による細菌種推定の可能性の検討. *Systemex J.* 2011; **34**, Suppl.1: 27-36
- 4) 藤波清香 他. 全自動尿中有形成分分析装置 UF-1000i の細菌測定と培養検査, 亜硝酸塩反応との比較検討. *Systemex J.* 2011; **34**, Suppl.1: 48-52

About the Usefulness of the Urinary Tract Infection Screening Using UX-2000

Ikkou YAMAGUTI, Nozomi UKI, Hironori IKEDA, Seiji KAWASAKI,
Zenzou NAGASAWA, Syouchirou OHTA and Eisaburou SUEOKA

Clinical Laboratory, Saga University Hospital, 5-1-1 Nabeshima, Saga 849-8501

SUMMARY

The UX-2000 is a fully automated integrated urine analyzer, combining the automated urine cell analyzer and the urine chemistry (urine test strips) analyzer. The UX-2000 quantitative bacterial count, for the rapid assumption of UTI, and bacteria scattergram pattern, for the assumption of the bacterial species were compared to with the microbiological examination reference method.

In the quantitative measurement performance study, it was found that the agreement ratio between UX (cut off = 1.0×10^5 /mL) and quantitative microbiological examination was 89%. Sensitivity, specificity and agreement of the UX for the diagnostics of UTI were 94%, 85% and 89% respectively.

In the comparison study between the bacteria scattergram pattern and bacteria species, 62% of agreement was obtained between UX and gram positive coccus. In the case of gram negative rods, the agreement was 87% and in mixed rod and coccus samples, the agreement was 73%.

Accordingly, it was suggested that the quantitative bacterial count by the UX could be available as a screening method to determine the necessity for microbiological examination and the scattergram pattern could be available as a rough estimation of the bacterial species.

Key Words UX-2000, Scattergram Pattern, UTI
