

細菌尿検出における簡易検査法の評価：白血球エステラーゼ試験と 亜硝酸塩試験について

琉球大学医学部保健学科臨床病理学教室

猪 狩 淳

琉球大学医学部付属病院臨床検査部

崎山 健信 仲宗根 勇 平良 真幸 外間 政哲

(昭和62年1月12日受付)

(昭和62年1月23日受理)

*Key words : Pyuria, Bacteriuria, leukocyte esterase test
Nitrite test*

要 旨

白血球エステラーゼ試験と亜硝酸塩試験の細菌尿スクリーニングテストとしての評価を行なった。両者の試験を組合せた場合の感度 (sensitivity) は91.3%, 特異度 (specificity) は67.4%, 陽性ときの細菌尿予測値 (positive predictive value) は49.8%, 陰性ときの非細菌尿予測値 (negative predictive value) は95.6%で, 単独で行なった成績より感度と陰性ときの非細菌尿予測値がすぐれており, 細菌尿のときの陽性率 (両者が共に陽性およびいずれか一方が陽性を示す場合) は高いが, 陽性ときは非細菌尿である率も高い。しかし, 陰性とき, 非細菌尿である確率は極めて高い。

I. 緒 言

近年, 尿路感染症のスクリーニングテストに対する関心がたかまっており, 簡易迅速検査法が開発されている¹⁾。これらの方法は細菌尿を直接的にあるいは間接的に検出するものであり, 膿尿を検出するものではない。最近になり, 尿中白血球のエステラーゼ活性を化学的にしらべ, 膿尿の有無を検出する試験紙法が開発された。

尿中に白血球が有意に存在することは腎・尿路系に炎症性変化が起っていることを示す重要な所見であり, 尿路感染症の約90%に尿中に白血球が排泄されているといわれる¹⁾²⁾。したがって, 膿尿の有無は尿路感染症の診断に有力な症候であり, このために尿沈渣で白血球の多少をしらべることが広く臨床検査で行われている。しかし, 尿沈渣

検査は熟練した者によらなければ成績の信頼性は低く, 尿の放置・保存状態, 尿の性状, 標本作成時の諸条件により成績が左右されるなど検査精度上の問題があるため³⁾, より精度の高い, 簡単に迅速に検査ができる方法が望まれていた。

尿中白血球エステラーゼ活性を試験紙で検査する方法は手技が簡単であり, 直ちに成績を知ることができるなどの点で, 尿沈渣検査に代る膿尿の検査として多くの期待を集めた^{4)~9)}。尿中白血球エステラーゼ試験 (以下, LE) は直接細菌尿を検出する方法ではないが, 尿中細菌検出用の簡易試験紙法の亜硝酸塩試験 (以下 NT) と併用すれば, 尿路感染症のスクリーニングにより効果的であると考えるのは当然のことであろう^{6)8)~14)}。そこで, 私共は両者を併用した場合の細菌尿スクリーニングテストとしての臨床的評価を行なったので報告する。

II. 対象および実験方法

尿路感染の検査の目的で琉球大学医学部付属病

別刷請求先: (〒903-01) 沖縄県中頭郡西原町字上原
宮里207

琉球大学医学部保健学科臨床病理学教室
猪狩 淳

Table 1 Distribution of specimens

Reference method Colony count (CFU/ml)	No. of Specimen	Leukocyte esterase		Nitrite	
		positive	negative	positive	negative
≥10 ⁵ (all organisms)	162	137	25	90	72
≥10 ⁵ (pure pathogens)	82	72	11	50	32
≥10 ⁵ (two pathogens)	43	35	8	27	23
10 ³ -10 ⁴	90	42	48	2	88
<10 ³	87	30	57	0	87
no growth	179	44	135	0	179

院臨床検査部細菌検査室へ提出された中間尿またはカテーテル尿518件を対象とした。

被験尿につき日常の細菌検査を型通り実施し、さらに LE と NT の検査を施行した。なお、上記諸検査が実施されるまで、被験尿を 4℃ の冷蔵庫に保存した。

尿中細菌数定量は市販簡易培地ウリカルト® (第一化学)により行ない、尿中細菌数10⁵CFU/ml以上を有意の細菌尿 (以下細菌尿と呼ぶ)とした。LE は Leukostix® (マイルス・三共)、NT は N-マルティスティックス® (マイルス・三共)により行なった。両試験紙法とも付属の使用説明書に準じて施行した。すなわち、試験紙の反応部分を尿に浸し、直ちに引上げ、余分な尿を尿コップの縁で取り去り、室温で空气中に放置した。LE は 2 分後、NT は 40 秒後に付属の色調表と比較し肉眼的に判定した。なお、判定の個人差をできるだけ少なくするために、判定は同一人が行なった。

III. 結 果

1. 細菌検査成績

尿中細菌定量培養により、総検体518件のうち、細菌数≥10⁵CFU/ml は162件(31.3%)、このうち単独細菌検出が82件(総検体の15.8%)、2菌種検出が43件(同8.4%)であった。

細菌数<10⁵CFU/ml は356件(68.7%)であり、菌が陰性尿は179件(総検体の34.6%)あった。

2. LE と NT の成績

LE と NT の成績と尿中細菌数との関連を Table 1, 2 に示した。

LE 陽性は253件、うち137件(54.1%)は細菌数≥10⁵CFU/mlで、107件(42.3%)は単独ないし2菌種検出尿であった。116件(44.9%)は<10⁵CFU/

Table 2 Screening of urine specimens tested with LE and NT tests

Quantitative culture results (CFU/ml)	No. of specimens with following LE and NT results			
	+/+	+/-	-/+	-/- ^{a)}
≥10 ⁵ , 1 or 2 potential pathogens	69	38	8	11
≥10 ⁵ , multiple pathogens or nonpathogens	12	18	1	5
10 ³ -10 ⁴	2	40	0	48
<10 ³	0	30	0	57
no growth	0	44	0	135

a) LE/NT

ml または菌陰性尿であった。LE 陰性は265件で、240件(90.6%)は<10⁵CFU/ml または菌陰性尿であり、25件(9.4%)が≥10⁵CFU/ml の尿であった。

NT 陽性は92件あり、90件(97.8%)が≥10⁵CFU/mlで、77件(83.7%)は単独ないし2菌種検出尿であった。NT 陰性は426件で、354件(83.1%)は細菌数<10⁵CFU/ml または菌陰性尿であり、72件(16.9%)は偽陰性尿であった。

LE と NT を組合せた場合は、両者が共に陽性を示したのが83件、いずれか一方が陽性であったのが179件で、これらを合計すると262件となる。このうち146件(55.7%)は≥10⁵CFU/ml であり、うち115件(43.9%)は単独ないし2菌種検出尿であった。両者共に陰性であった尿は256件、うち240件(93.8%)は<10⁵CFU/ml または菌陰性尿であった。

3. 敏感度, 特異度, 疾患予測値

細菌数が≥10⁵CFU/ml を示した尿および単独ないし2菌種が検出された尿を臨床的細菌尿 (clinical significant bacteriuria) とした時の LE,

Table 3 Predictive values for LE and NT tests

Determination	Colony count ($\geq 10^5$ CFU/ml)					
	LE		NT		LE-NT ^{a)}	
	All organisms	1 or 2 pathogens	All organisms	1 or 2 pathogens	All organisms	1 or 2 pathogens
Sensitivity	84.6%	84.9%	55.6%	61.1%	90.1%	91.3%
Specificity	67.4	67.4	99.4	99.4	67.4	67.4
Predictive value						
Positive	54.2	48.0	97.8	97.5	55.7	49.8
Negative	90.6	92.7	83.1	87.8	93.8	95.6

a) positive test when LE or NT or both are positive, and a negative test is when both are negative.

NTそれぞれ単独の、および両者の成績を組合せた場合の感度、特異度および疾患予測値を求めて Table 3 に示した。なお、これら数値の算出は Galen, Gambino の方式に従った¹⁵⁾。

臨床的細菌尿の場合の LE の感度（細菌尿陽性で陽性反応を示す割合）は84.9%，特異度（細菌尿でない尿で陰性を示す割合）は67.4%，陽性するとき細菌尿とする予測値（positive predictive value）は48.0%，陰性するとき細菌尿でないとする予測値（negative predictive value）は92.7%であった。NT の場合は、感度61.1%，特異度99.4%，陽性とき細菌尿予測値97.5%，陰性とき非細菌尿予測値は87.8%である。LE, NT 両者を組合せた場合は、感度91.3%，特異度67.4%，陽性とき細菌尿予測値49.8%，陰性とき非細菌尿予測値は95.6%であった。

4. 検出菌種との関連

単独で細菌が検出された細菌尿 ($\geq 10^5$ CFU/ml) について、検出菌種と LE および NT の成績の関連をみた。その内訳を Table 4 に示した。グラム陰性桿菌は8種62株、グラム陽性菌は *Candida* spp. を含めて5種19株、2株は同定不能株であった。

LE 試験ではグラム陰性桿菌検出尿62件中57株(91.9%)が陽性、グラム陽性球菌検出尿19件中13件(68.4%)が陽性を示した。NT ではそれぞれ62件中47件(75.8%)、19件中3件(15.8%)であった。両者共に陰性であった尿から検出された菌種は *E. faecalis* 3件、 *α -streptococcus* 1件、*P.*

Table 4 Detection of pure pathogens by LE and NT tests

Organism	No. of isolates	LE positive	NT positive
Gram negative			
<i>E. coli</i>	22	19	21
<i>K. pneumoniae</i>	6	6	3
<i>E. cloacae</i>	2	2	2
<i>S. marcescens</i>	2	2	1
<i>P. mirabilis</i>	2	1	0
<i>P. vulgaris</i>	8	8	7
<i>P. penneri</i>	1	1	1
<i>P. aeruginosa</i>	19	18	12
Gram positive			
<i>S. aureus</i>	1	1	1
<i>S. epidermidis</i>	2	2	1
<i>α-streptococcus</i>	1	0	0
<i>E. faecalis</i>	9	6	1
<i>Candida</i> spp.	6	4	0

mirabilis 1件、*Candida* spp. 2株で、グラム陽性菌がほとんどであった。

IV. 考 察

細菌尿のスクリーニングテストとして必要なことは迅速に結果がわかり、費用が安く済み、影響される妨害物質が少なく、しかも正確な方法であることであろう¹³⁾。NT は以前より細菌尿の化学的簡易検出法として用いられているが、この試験の難点は細菌尿に対する感度が低く、偽陰性が多いことである⁶⁾¹³⁾。この偽陰性反応は尿中に硝酸塩が少ないとき、亜硝酸塩非産生菌による細菌尿のとき、硝酸塩還元菌と尿中硝酸塩との接触時間が短かく十分量の亜硝酸塩が産生されないと

きなどで認められる⁶⁾。しかし、本試験の特異度は良いことも知られている。今回の私共のNTの実験成績は上記の諸点を裏付けているものであり、臨床的細菌尿についての敏感度は61.1%と良好とはいえない。一方、細菌尿でないときに陰性を示す割合は99.4%と極めて良好であった。

尿白血球エステラーゼ活性は計算板を用い算定した尿中白血球数とかなり良い相関を示すことが報告されており^{6)~9)}、尿中白血球数が ≥ 10 個/ μ lを臨床的に有意の白血球尿(膿尿)としたときに、その敏感度、特異度が高いことも知られている⁸⁾⁹⁾。

LEは尿中好中球に対して特異性が高く、エステラーゼは正常な血清、尿、腎組織には存在しない¹⁶⁾。また、本試験は細菌尿、尿pHや浸透圧、尿中赤血球により影響されないが、高度の蛋白尿、アスコルビン酸、ある種の抗生剤(ゲンタマイシン、セフェム剤)により反応が妨害されるとの報告がある⁴⁾⁸⁾。LEは細菌尿を検出するための検査ではないが、膿尿は細菌尿に加えて、尿路感染症の存在を示す有力な所見であることから、尿路感染症の補助診断法として利用できるであろうことは容易に考えられる。かかる観点から、細菌尿を検出するNTと膿尿を検出するLEを同時に行なう試験紙法も開発され、実用に供している。また、これら試験紙法についての基礎的、臨床的研究が多く行われている^{6)8)~14)}。それらによれば、尿路感染症または細菌尿のスクリーニングに有用であるとするものと、否とするものとその評価はまちまちである。

私共の実験結果は、NTは細菌尿を証明する手段とするには敏感度が低すぎ、偽陰性が多すぎる点で、その有用性は低いといわざるを得ない。LEのみのときは、細菌尿における陽性率はNTより高く、約85%台であったが、偽陽性率も約50%にみられ、諸家のいう膿尿のスクリーニングには適しているようだが、細菌尿のスクリーニングには問題があろう。両者の成績を組合せた場合、両者とも、あるいは両者のいずれか一方が陽性となった尿を陽性と表現すると、NTのみ、あるいはLEのみの場合より、前述した“臨床的細菌尿”での陽性率

は高く、91.3%に上昇し、敏感度ではスクリーニングテストとして満足すべき条件であるが、陽性のときの細菌尿予測値が50%前後であり、これは裏をかえせば、偽陽性率も50%近くであり、陽性的場合に細菌尿であるとする信頼性は低いことになる。ただ、尿中菌数が $< 10^5$ CFU/mlの尿を検出するには鋭敏な方法で、陰性の信頼性は極めて高い。他の報告でも同様のことを述べており、細菌尿を除外するには有効であるとしている。また、臨床細菌検査室で尿中細菌の定量培養をする際に、そのふりわけに用いて、検査業務の軽減に役立つのではないだろうかとの意見もある⁷⁾⁹⁾¹⁰⁾¹²⁾¹³⁾。

V. 結 語

LEとNTの細菌尿スクリーニングテストとしての評価を尿路感染の診断の目的で提出された尿518件について行なった。

両試験を単独で実施した場合と両者を組合せた場合の成績の敏感度、特異度、細菌尿および非細菌尿予測値を比較した。

両者の成績を組合せた時の敏感度91.3%、特異度67.4%、陽性のときの細菌尿予測値49.8%、陰性のときの非細菌尿予測値95.6%であった。これらのうち、敏感度と陰性のときの非細菌尿予測値が、それぞれ単独で行なった成績よりすぐれていた。つまり、両者を組合せた方が単独の場合より、細菌尿における陽性率は高く、また、両者共に陰性のときの非細菌尿の確率は高い。

文 献

- 1) 猪狩 淳：尿細菌と膿尿の検査。山中学、村地孝、林 康之編、臨床検査Mook増刊、No. 2、ベットサイドテスト、p. 31-42、金原出版、東京、1985。
- 2) Stamm, W.E.: Measurement of pyuria and its relation to bacteriuria. *Am. J. Med.*, 28: 53-58, 1982.
- 3) Winkel, P., Statland, B.E., Jorgansen, K.: Urine microscopy: An ill-defined method examined by a multifactorial technique. *Clin. Chem.*, 20: 436-439, 1974.
- 4) Kusumi, R.K., Grover, P.J. & Kumin, C.M.: Rapid detection of pyuria by leukocyte esterase activity. *J.A.M.A.*, 245: 1653-1655, 1981.
- 5) Samalley, D. & Bryan, J.A.: Comparative evaluation of biochemical and microscopic urina-

- lysis. *Am. J. Med. Technol.* 49 : 237—239, 1983.
- 6) Wilkins, E., Ratcliffe, J. & Roberts, C. : Leukocyte esterase-nitrite screening method for pyuria and bacteriuria. *J. Clin. Pathol.*, 38 : 1342—1345, 1985.
 - 7) Brühl, P., Fuchs, T., Hannak, D., Kattermann, R., Peracino, A., Oldenziel, H., van Ondheusden, A.P.M., Vormittag, E., Zekert, F., Bergstroem, K., Jagenburg, R., Colombo, J.P., Peheim, E., Kutter, D. & Bananch, D. : Leukozyten-nachweis im urin mit einem teststreifen. Eine Kooperative studie an elf zentren. *Dtsch. Med. Wschr.*, 104 : 1236—1240, 1979.
 - 8) Sawyer, K.P. & Stone, L.L. : Evaluation of a leukocyte dip-stick test used for screening urine cultures. *J. Clin. Microbiol.*, 20 : 820—821, 1984.
 - 9) Pezzlo, M.T., Wetkowski, M.A., Peterson, E.M. & de la Maza, L.M. : Detection of bacteriuria and pyuria within two minutes. *J. Clin. Microbiol.*, 21 : 578—581, 1985.
 - 10) Bartertt, R.C., O'Neill, D. & McLaughlin, J.C. : Detection of bacteriuria by leukocyte esterase, nitrite, and the automicrobic system. *A.J.C.P.*, 82 : 683—687, 1984.
 - 11) Warkentin, D.L., Rawling, R.A., Koppel, W.E., Maher, G.L., Broder, P.H. & Marchand, A. : Three techniques compared for detecting bacteriuria in symptomatic patients. *Clin. Chem.*, 31 : 1361—1363, 1985.
 - 12) Pfaller, M.A. & Koontz, F.P. : Laboratory evaluation of leukocyte esterase and nitrite tests for the detection of bacteriuria. *J. Clin. Microbiol.*, 21 : 840—842, 1985.
 - 13) Oneson, R. & Gröschel, D.H.M. : Leukocyte esterase activity an nitrite test as a rapid screen for significant Bacteriuria. *A. J. Clin.*, 83 : 84—87, 1985.
 - 14) Jones, C., MacPherson, D.W. & Stevens, D.L. : Inability of the chemstrip LN compared with quantitative urine culture to predict significant bacteriuria. *J. Clin. Microbiol.*, 23 : 160—162, 1986.
 - 15) Galen, R.S. & Gambino, J.R. : Beyond normality : The predictive value and efficiency of medical diagnosis. New York, Jon Wiley and Sons, 1975.
 - 16) Rindler-Ludwig, R. Schmalaze, F. & Braunsteiner, H. : Esterases in human neutrophil graunocytes : Evidence for protease nature. *Br. J. Haematol.*, 27 : 57—64, 1974.

Laboratory Evaluation of Leukocyte Esterase and Nitrite Tests for the Detection of Bacteriuria

Jun IGARI

Department of Clinical Pathology, School of Health Science, Faculty of Medicine,
University of Ryukyus

Kenshin SAKIYAMA, Isamu NAKASONE, Shinkoh TAIRA & Seitetsu HOKAMA
Clinical Laboratories, Ryukyu University Hospital

A study was performed to evaluate the leukocyte esterase test and the test for urinary nitrite as screening tests for bacteriuria. A total of 518 clinical urine specimens were tested with both tests and compared with a semiquantitative plate culture method. The leukocyte esterase-nitrite combination had a sensitivity of 91.3%, a specificity of 67.4% and a negative predictive value of a negative test of 95.6% for specimens with one or two potential pathogens with colony counts of more than 10^5 CFU/ml. The performance of leukocyte esterase test in tandem with the nitrite test resulted in a screening test combination that was significantly better than either test alone.