

細菌尿診断における亜硝酸試験の検討

岐阜大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 河田幸道教授)

尾関 茂彦, 河村 毅, 西野 好則

石原 哲, 坂 義人, 河田 幸道

CLINICAL EVALUATION OF NITRITE TEST
FOR THE DETECTION OF BACTERIURIA

Shigehiko OZEKI, Takeshi KAWAMURA, Yoshinori NISHINO

Satoshi ISHIHARA, Yoshihito BAN and Yukimichi KAWADA

From the Department of Urology, Gifu University School of Medicine

A nitrite test for bacteriuria was compared with routine microscopic examination in 1,318 clinical urine specimens and with bacterial culture in 132. Sensitivity, specificity, positive predictive value and accuracy rate are as follows; for diagnosis of bacteriuria more than 10^4 CFU/ml, 53.4%, 88.6%, 90.4 and 65.2%, respectively; for more than 10^5 CFU/ml, 55.4%, 87.8%, 88.4% and 67.2%, respectively. The positive rate for the nitrite test was 21.4% for bacteriuria of $\geq 10^4$ CFU/ml in gram positive cocci and 56.9% in gram negative rods. False negative results were obtained from gram positive cocci without nitrate reductive activity or from patients with acute uncomplicated cystitis because of insufficient incubation time in urinary tract. However, this simple test is valuable in the detection of bacteriuria in clinical practice with high specificity.

(Acta Urol. Jpn. 43 : 861-865, 1997)

Key words : Detection of bacteriuria, Nitrite test

緒 言

1980年代に実用化された亜硝酸試験を用いた試験紙による細菌尿の検出は、その簡便性のため多くの施設で採用されている。しかし偽陰性となることが多いなど、臨床使用に際して種々の問題を有しているため、今回改めて、細菌尿における亜硝酸試験の信頼性について検討した。

対 象

最近約3年間に当院泌尿器科外来にて、尿試験紙法と尿沈渣鏡検法を同時に施行した1,318検体を対象とした。検体は原則として初診患者からの尿を用い1検体1症例とした。これらの検体のうち132検体に尿定量培養を施行した。

方 法

被検尿において、尿中細菌検出用亜硝酸試験にはNマルチスチェック SG-L (バイエル 三共) の反応部分を用い、判定はクリニテック®200 (バイエル 三共) 自動分析機にて読みとった。

尿沈渣標本の作成、判定は、UTI 薬効評価基準第3版¹⁾に従い、グラム染色を行い油浸で細胞を鏡検した。標本は、20年の経験をもつ検査助手が、同一規格

のスピッツを用い、尿 10 ml を1,500回転、10分間遠心沈殿して作成した。検鏡は10年以上の経験をもつ泌尿器科学会認定指導医が施行した。

尿培養による尿中細菌数判定は、簡易定量培養法としてウロメディウム (ニッスイ) を用い、細菌同定は当病院中央検査部にて行った。

結 果

1 亜硝酸試験の陽性率

亜硝酸試験陽性率は対象1,318検体中102検体(8.4%)であった。

2. 亜硝酸試験と尿沈渣鏡検法との関係

亜硝酸試験と尿沈渣鏡検法による細菌尿の関係を Table 1 に示す。尿沈渣の鏡検でグラム陰性桿菌、陽性球菌のいずれかが±以上であった場合を陽性とした場合、亜硝酸試験の特異度は両者に差を認めなかったが、感度はグラム陰性桿菌において優れていた。

3. 亜硝酸試験と細菌数との関係

亜硝酸試験と尿定量培養との関係を Table 2 に示した。 10^3 CFU/ml 以上、 10^4 CFU/ml 以上、 10^5 CFU/ml 以上を各々陽性とした場合の亜硝酸試験の感度、特異度、陽性一致率、正診率を示したが、いずれの場合も感度が低く、特異度が高い傾向が見られた。すなわち偽陰性が多く、偽陽性が少ない成績で、

Table 1. Relationship between nitrite test and microscopic findings

	Nitrite test	Urinary sediment		Total		
		Negative ^{a)}	Positive ^{b)}			
GPC ^{c)}	Negative	1,173	43	1,216	Sensitivity	=40.3%
	Positive	73	29	102	Specificity	=94.1%
					Positive predictive value	=28.4%
	Total	1,246	72	1,318	Accuracy rate	=91.2%
GNR ^{d)}	Negative	1,169	47	1,216	Sensitivity	=53.0%
	Positive	49	53	102	Specificity	=96.0%
					Positive predictive value	=52.0%
	Total	1,218	100	1,318	Accuracy rate	=92.7%
GPC+GNR	Negative	1,132	84	1,216	Sensitivity	=44.0%
	Positive	36	66	102	Specificity	=96.9%
					Positive predictive value	=64.7%
	Total	1,168	150	1,318	Accuracy rate	=91.0%

a) Absence of bacteria under oil immersion microscopy b) Presence of bacteria at least one bacterium in some fields or more densely c) Gram positive coccus d) Gram negative rod

Table 2. Relationship between nitrite test and quantitative urine culture

	Nitrite test	Bacterial count (CFU/ml)		Total		
		N.G. ^{a)}	$\geq 10^3$			
Positive bacterial count $\geq 10^3$ (CFU/ml)	Negative	33	47	80	Sensitivity	=51.0%
	Positive	3	49	52	Specificity	=91.7%
					Positive predictive value	=94.2%
	Total	36	96	132	Accuracy rate	=62.1%
	Nitrite test	Bacterial count (CFU/ml)		Total		
		$\leq 10^3$	$\geq 10^4$			
Positive bacterial count $\geq 10^4$ (CFU/ml)	Negative	39	41	80	Sensitivity	=53.4%
	Positive	5	47	52	Specificity	=88.6%
					Positive predictive value	=90.4%
	Total	44	88	132	Accuracy rate	=65.2%
	Nitrite test	Bacterial count (CFU/ml)		Total		
		$\leq 10^4$	$\geq 10^5$			
Positive bacterial count $\geq 10^5$ (CFU/ml)	Negative	43	37	80	Sensitivity	=55.4%
	Positive	6	46	52	Specificity	=87.8%
					Positive predictive value	=88.4%
	Total	49	83	132	Accuracy rate	=67.2%

a) No growth

菌数が多いほど正診率は上昇した。

4. 亜硝酸試験と菌種との関係

これらの結果に対する菌種の影響を検討した。尿中細菌数が 10^4 CFU/ml 以上であった菌種において、その検体数を、亜硝酸試験が陽性と陰性、さらに単数菌感染と複数菌感染に分けて Table 3 に示した。グラム陽性菌では単数菌感染の場合、亜硝酸試験が陽性となった例は *Staphylococcus aureus* が2検体、*Streptococcus agalactiae* が2検体であった。

次に亜硝酸試験陰性で尿中細菌数が 10^4 CFU/ml 以上であった検体、すなわち亜硝酸試験が偽陰性で

あった菌種は、グラム陽性球菌の比率が増加したが、グラム陰性桿菌も偽陰性となる例が多く見られた。

菌種毎の検出率を Table 4 に示した。グラム陽性球菌に関しては *S. aureus* の2例はともに陽性であったが、*Enterococcus faecalis* は全例陰性であり、全体では21.4%の検出率であった。グラム陰性菌に関しては、多くが陽性であったが *Escherichia coli* は5割程度の陽性率で、グラム陰性菌全体では56.9%の検出率であった。

Table 3. Results of nitrite test related to the bacterial species

Isolates	Nitrite test			
	Monomicrobial infection		Polymicrobial infection	
	Positive	Negative	Positive	Negative
<i>S. aureus</i>	2		3	1
<i>S. epidermidis</i>			2	
<i>S. warneri</i>			1	1
<i>S. saprophyticus</i>		1		2
<i>S. haemolyticus</i>			1	
<i>S. intermedius</i>			1	
<i>Staphylococcus</i> sp.			1	
<i>S. agalactiae</i>	1		1	3
<i>S. mitis</i>		1		1
<i>Streptococcus</i> spp.			2	
<i>E. faecalis</i>		9	4	13
<i>E. faecium</i>				1
<i>E. avium</i>				2
GPC ^{a)} subtotal	3 (9.4%)	11 (33.3%)	16 (41.0%)	24 (63.2%)
<i>E. coli</i>	19	17	7	4
<i>K. pneumoniae</i>	4	1	7	1
<i>E. cloacae</i>				1
<i>P. mirabilis</i>	1	3	1	3
<i>P. rettgeri</i>				1
<i>M. morganii</i>	1		2	1
<i>P. aeruginosa</i>	1		2	1
<i>S. maltophilia</i>		1		1
<i>A. calcoaceticus</i>	1		2	1
<i>E. aerogenes</i>	2		2	
GNR ^{b)} subtotal	29 (90.6%)	22 (66.7%)	23 (59.0%)	14 (36.8%)
Total	32 (100%)	33 (100%)	39 (100%)	38 (100%)

a) Gram positive coccus, b) Gram negative rod

Table 4. Positive rate of nitrite test for bacteriuria of $\geq 10^4$ CFU/ml among the bacterial species from uncomplicated urinary tract infection

Isolates	Number of isolates	Positive for nitrite test	%
<i>S. aureus</i>	2	2	100
<i>S. saprophyticus</i>	1	0	0
<i>S. agalactiae</i>	1	1	100
<i>S. mitis</i>	1	0	0
<i>E. faecalis</i>	9	0	0
GPC ^{a)} subtotal	14	3	21.4
<i>E. coli</i>	36	19	52.8
<i>K. pneumoniae</i>	5	4	80.0
<i>P. mirabilis</i>	4	1	25.0
<i>M. morganii</i>	1	1	100
<i>P. aeruginosa</i>	1	1	100
<i>S. maltophilia</i>	1	0	0
<i>A. calcoaceticus</i>	1	1	100
<i>E. aerogenes</i>	2	2	100
GNR ^{b)} subtotal	51	29	56.9
Total	65	32	49.2

a) Gram positive coccus, b) Gram negative rod

考 察

亜硝酸試験は細菌の硝酸還元能を利用した検査法である。細菌尿の存在は、そのまま尿路感染症を意味するものではないので、亜硝酸試験のみで尿路感染症を診断することは不適當である。しかし亜硝酸試験に白血球エステラーゼ反応や尿潜血反応を組合わせることにより、尿路感染症診断の精度を上げうると報告されている²⁻⁵⁾ したがって亜硝酸法は、これらの基本となる細菌尿検出法であり、その精度を正しく評価することが重要と思われる。今回は本法と尿沈渣、また菌数および菌種との関係について検討した。

亜硝酸試験は尿中の硝酸塩を細菌が還元して生ずる亜硝酸塩を定性的に判定する方法であるが、グラム陽性球菌には硝酸還元能の欠如している菌種、あるいは還元能の低い菌種が多いため、理論的に本法が陰性になる場合が多い。グラム陽性球菌のなかで硝酸還元能を有する菌種としては *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus simulans* などがあり、一方硝酸還元能を欠く菌種としては *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus mitis*, *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *Enterococcus avium* などがある^{6,7)} 今回の検討においても *E. faecalis*, *S. saprophyticus*, *S. mitis* による細菌尿は陰性であった。グラム陰性桿菌は通常、硝酸還元能を有しているが、これらによる細菌尿に対する本法の結果は、特異性に関しては優れていたものの、感度はグラム陽性球菌と同様劣っており偽陰性が多く見られた。

尿沈渣との関係においては、特異性はグラム陰性桿菌、グラム陽性球菌ともに従来の報告⁸⁾ 並みかあるいは上回る成績を示している。これは当施設での検体の作製および判定が、熟練者によって行われていることが反映されているためと思われる。感度はグラム陰性桿菌と比べてグラム陽性球菌の場合に明らかに低く、尿定量培養との関連と同様の傾向がみられた。

尿路感染症の原因菌として一般的に見られる *E. coli* に対する検出率は、従来80%以上という報告がほとんどであったが^{9,10)}、今回の検討では52.8%の検出率で従来の報告に比べて低い結果であった。通常、*E. coli* は硝酸還元能を有しているため高い正診率が予想されたが、今回は低値であったため、*E. coli* の単独菌感染の場合のみで、複雑性尿路感染症と単純性尿路感染症に分けて検討したところ、前者は71.2%の陽性率(28検体中20検体陽性)であったのに対して、後者は31.6%の陽性率(19検体中6検体陽性)にすぎず、単純性尿路感染症で偽陰性であった13例はすべて急性単

純性膀胱炎であった。

一方、尿中細菌数と本法の陽性率の関係は、菌数が多くなる程、感度、正診率が高くなるが、上昇率はそれほど大きくなく、感度に関しては51.0%から55.4%程度の上昇であった。亜硝酸試験で細菌尿を診断する場合には、①起炎菌が硝酸還元能を有していること、②尿中に硝酸塩が存在していること、③尿路での細菌の貯留時間が4時間以上であること、④尿中にアスコルビン酸が存在していないこと¹¹⁾ などが必要であるとされている。このような条件を満たしている場合に陽性の結果が得られるが、急性単純性膀胱炎の患者は強い頻尿のため、実際は4時間の蓄尿は困難である。また今回の検討では、外来患者の特に条件を設定しない来院時尿を用いているため、十分な菌量の *E. coli* が存在したにもかかわらず偽陰性になった例が多く見られたものと思われる。尿試験紙法はその簡便性から、日常の外来診療においてその有用性が発揮されるものであるが、急性単純性膀胱炎においてこのように偽陰性が高率であることは、充分認識しておくべきである。なお腸内細菌属の細菌であれば、亜硝酸試験を3回繰り返せば偽陰性がほとんど無くなるという報告¹²⁾ もあるが、その簡便性を相殺することになり実際的にはなくなる。

亜硝酸試験は、特異性が高いこと、すなわち偽陽性が低いという点、およびその簡便性から臨床的に有用であると考えられる。しかし、ほとんどの起炎菌を *E. coli* が占める急性単純性膀胱炎においても、強い頻尿を有する場合にはその信頼性がかなり低くなるので、亜硝酸試験を行う場合には、採尿時の条件を考慮に入れる必要があることが、今回の調査で再確認された。

結 語

細菌尿に対する亜硝酸試験の有用性を、1,318検体の顕微鏡検査と、132検体の尿定量培養とで比較し、以下の結果を得た。

1) 尿沈渣細菌±以上に対する亜硝酸試験の感度は44.0%と劣っていたが、特異度は96.9%と優れていた。

2) 尿定量培養との関係において、 10^4 CFU/ml 以上を有意な細菌尿とした場合に、感度は53.4%と低かったが、特異度は88.6%と優れていた。

3) 検出率はグラム陽性球菌の場合の21.4%に比して、グラム陰性桿菌の場合56.9%と優れていた。

4) 偽陰性は亜硝酸還元能を持たないグラム陽性球菌と、尿路における不十分な貯留時間しか有さない急性単純性膀胱炎の患者の検体から多く得られた。

以上より、亜硝酸法を用いた尿中細菌検出法は、グラム陽性球菌のみならずグラム陰性桿菌においても感

度において劣るが, 特異度においては優れており, 簡易な補助診断法としてその欠点を考慮に入れば有用であると思われた.

稿を終えるにあたり, 本研究の検査助手として御尽力いただいた猿渡明子殿に感謝致します.

文 献

- 1) UTI 研究会 (代表: 大越正秋): UTI 薬効評価基準 (第3版) *Chemotherapy* **34**: 408-423, 1986
- 2) Bartlett RC, O'Neill D, MacLaughlin JC, et al.: Detection of bacteriuria by leukocyte esterase, nitrite, and automicrobis system. *Am J Clin Pathol* **82**: 683-689, 1984
- 3) Loo SY, Scottolini AG, Luangphinit S, et al.: Urine screening strategy employing dipstick analysis and selective culture: an evaluation. *Am J Clin Pathol* **81**: 634-642, 1984
- 4) Oneson R and Groschel DHM: Leukocyte esterase activity and nitrite test as a rapid screen for significant bacteriuria. *Am J Clin Pathol* **83**: 84-87, 1985
- 5) Pels RJ, Bor DH, Woolhandler S, et al.: Dipstick urinalysis screening of asymptomatic adults for urinary tract disorders. II. Bacteriuria. *JAMA* **262**: 1221-1224, 1989
- 6) Krieg NR, Holt JG, Murry RGE, et al.: *Bergey's manual of systematic bacteriology: Volume 1.* Edited by Krieg NR, Williams & Wilkins, Baltimore, 1984
- 7) Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, et al.: *Bergey's manual of systematic bacteriology: Volume 2.* Edited by Sneath PHA, Williams & Wilkins, Baltimore. 1986
- 8) 岩川愛一郎, 尾形信雄, 田中正利, 他: 膿尿・細菌尿検出における試験紙法の検討. *西日泌尿* **51**: 515-520, 1989
- 9) 林 俊秀, 公文裕巳, 大森弘之: 尿中細菌検出における簡易迅速検査法の有用性. *西日泌尿* **56**: 232-238, 1994
- 10) 猪狩 淳, 崎山建信, 仲宗根勇: 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試験について. *感染症誌* **61**: 676-680, 1987
- 11) Lie JT: Evaluation of a nitrite test kit (Stat-test) for the detection of significant bacteriuria. *J Clin Pathol* **21**: 443-444, 1968
- 12) Kunin CM and DeGroot JE: Self-screening for significant bacteriuria. evaluation of dip-strip combination nitrite/culture test. *JAMA* **231**: 1349-1353, 1975

(Received on April 1, 1997)

(Accepted on September 4, 1997)