

A群β溶血連鎖球菌核酸検出 (等温核酸増幅検出法 (NEAR法))

ID NOW™ Strep A2, a Nicking Enzyme Amplification Reaction assay
for the detection of Group A Streptococcus

ひし き
菱 木 はるか
Haruka HISHIKI

はじめに

A群β溶血連鎖球菌 (Group A Streptococcus, *Streptococcus pyogenes*, 以下 GAS) 感染症は、外来診療でよく遭遇する疾患である。小児期の咽頭・扁桃炎が主であるが、健康小児の保菌から、劇症型溶血性レンサ球菌感染症 (streptococcal toxic shock syndrome: STSS) まで幅広い臨床像を呈する。鑑別診断と抗菌薬適正使用の観点から病原診断が重要であり、迅速抗原キットが汎用されている。このたび、GASを検出する体外診断用医薬品として初めての核酸キット「ID NOW™ ストレップ A 2」が、2022年2月に製造販売承認を受け (製造販売承認番号: 30400eZX00020000)、2023年8月に保険収載された¹⁾。GAS核酸検査は急性咽頭・扁桃炎診療アルゴリズムにも追加されている²⁾。本稿では、この検査方法について概説する。

I. GAS感染症

感染症法に基づく感染症発生動向調査において、GAS咽頭炎は5類小児科定点把握疾患、STSSは5類全数把握疾患と定められている。

GAS咽頭炎は、学童初期に最も多くみられる。発症は急激で、咽頭痛、倦怠感、発熱で始まり、頭痛、嘔気、腹痛などの消化器症状を伴うこともある。咽頭発赤、扁桃腫大、白苔付着、軟口蓋の発赤、莓舌、発疹などの所見を認め、アデノウイルス咽頭炎や川崎病などとの鑑別が必要となる。

例年、冬季および春から初夏にかけて流行がみら

れるが、新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の流行以降、その流行パターンに変化が生じている (図)³⁾。2020年の冬季の流行を最後に春～夏の報告数は少なく経過し、2021～2022年は季節性変動がほとんどみられなかった。

GAS咽頭炎の感染経路は、他の多くの感染症と同様に飛沫感染、接触感染であり、ユニバーサルマスキング、咳エチケット、手洗い・手指衛生励行などのコロナ禍の感染症対策により、発症数が減少したものと考えられた。2023年に入り感染対策が順次緩和され、GAS咽頭炎は再び季節性の流行をみせている。特に、秋～冬の報告数は過去10年間で最も多くなっている。

STSSは、急激かつ劇的な病状の進行を特徴とする致命率の高い感染症である。ショック症状に加えて肝不全、腎不全、急性呼吸窮迫症候群、播種性血管内凝固症候群、軟部組織炎、全身性紅斑性発疹、中枢神経症状のうち2つ以上を伴い、かつ通常無菌的な部位 (血液など) 等からβ溶血を示すレンサ球菌の検出という要件を満たした場合、届出対象となる。STSSはGASの他、B群、C群、G群の溶血性レンサ球菌なども原因となる。STSSもGAS咽頭炎と同様、2020～2022年の報告数は少なく経過していたが、2023年7月以降、50歳未満を中心として報告数が増加しており、注意喚起がなされている⁴⁾。

II. GAS感染症の診断

主に GAS咽頭炎について概説する。

1. 臨床診断

GAS咽頭炎は、典型的な症例では所属集団・家族

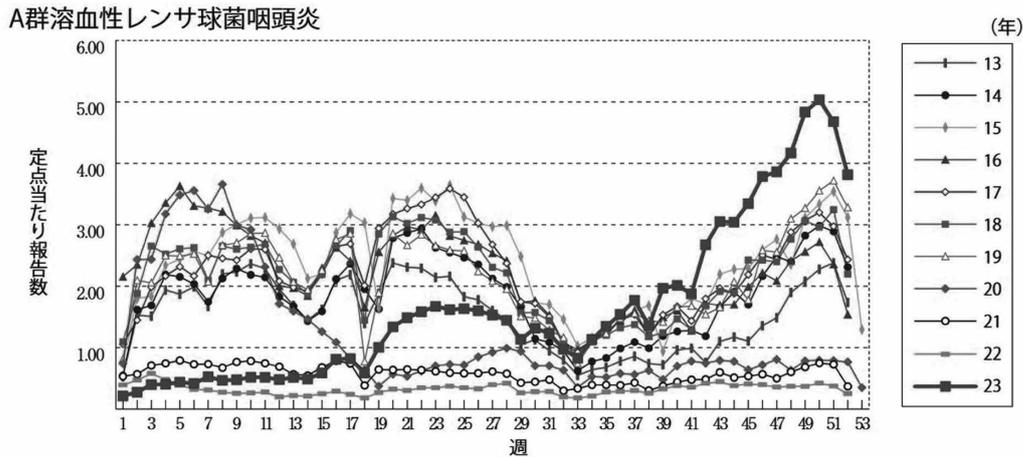


図 2023 年感染症発生動向調査・感染症週報 第 1～53 週

出典：国立感染症研究所 (<https://www.niid.go.jp/niid/images/idsc/idwr/IDWR2023/idwr2023-51-52.pdf>)

(図は巻末にカラーで掲載しています)

内での流行、臨床症状などから診断可能である。臨床診断した場合、咽頭培養を提出したうえで抗菌薬治療を開始し、結果が判明した後に治療継続を決定することも可能である。

2. 咽頭培養

診断のゴールデンスタンダードは咽頭培養である。扁桃の白色斑点部および咽頭後壁を綿棒で拭い、血液寒天培地で培養する。一晩でコロニーの周囲にβ溶血を認めればほぼ確定できる。培養の利点として、A群以外の連鎖球菌も検出できること、薬剤感受性試験が可能なことが挙げられる。

3. 迅速抗原キット (イムノクロマト法)

咽頭培養では結果判明までに日数が掛かることから、A群多糖体を標的としたイムノクロマト法による迅速抗原キットが汎用されている。咽頭培養と同様、扁桃および咽頭後壁の拭い液を材料とし、酸または酵素を用いて多糖体抗原を抽出し、特異抗体により検出する。外来において10分以内に結果を得ることができ、早期診断・早期治療に有用である。抗原キット陰性であれば、多くの場合ウイルス性咽頭炎と考えられ、不要な抗菌薬を投与しないという選択ができる。迅速抗原キットの感度は90%以上、特異度は95%以上と優れており、検体あたり $10^4 \sim 10^5$ CFU以上で陽性となる。保険点数は実施料が124点、免疫学的検査判断料が144点と定められている。

4. 血清学的診断

GAS感染症の補助診断として、抗streptolysin-O抗体(ASO)測定が診断に用いられる。ASOはA群、C群、G群が産生する溶血毒素(streptolysin-o)に対する抗体で、GAS感染後1週間頃から上昇し、2～3か月後には感染前の値に低下する。外来症例に採血を行うことは少ないが、重症例や他疾患との鑑別目的での測定は有用である。

5. 核酸検出法

GASのDNAを増幅して検出することで感染を証明する方法である。患者のそばで行えるポイントオブケアテスト(Point of care test: POCT)として、海外においては既に実用化されており^{5,6)}、特に臨床症状の目立たない発症早期において高い感度が示されている⁶⁾。現在わが国でも、保険適応のあるGAS核酸キットが診断方法の1つとして選択できるようになった。保険点数は実施料が204点、微生物学的検査判断料が150点と定められている。

Ⅲ. GAS核酸検出法について⁷⁾

1. 使用目的

GAS核酸検出法(以下、本法)の使用目的は、「咽頭ぬぐい液中のGAS核酸の検出(GAS感染の診断

の補助)」である。

2. 測定原理

本検査は、専用機器 (ID NOW™ インストゥルメント) を使用して、等温核酸増幅法の1つである NEAR (Nicking Enzyme Amplification Reaction) 法により GAS の DNA の検出を行うものである。テストカートリッジの2本の反応チューブにそれぞれ GAS の *cepA* (*cell envelope proteinase A*) 遺伝子の標的配列の増幅に必要な試薬が含まれている。

3. 検体採取と試料の準備

キットに付属する咽頭拭い液用滅菌綿棒を使用し、患者の扁桃および咽頭後壁から咽頭拭い液を採取する。その際、綿棒が口腔内の舌、頬、歯に触れないように注意する。検体採取後できるだけ早く検査する。保管する場合は2～22℃とし、72時間以内に検査する。

4. 検体の測定

専用機器 (ID NOW™ インストゥルメント) のガイドに従い、テストカートリッジ、サンプルカートリッジを所定の位置に順次挿入する。画面表示に従って、咽頭拭い液を採取した綿棒をサンプルカートリッジの検体抽出液中でしっかり混ぜて綿棒を取り除く。その後、分注カートリッジをサンプルカートリッジ、テストカートリッジに順次接続すると、2つの反応チューブにそれぞれ試料液が分注され、増幅反応が開始される。測定は自動的に終了し、陽性検体は最短2分で、陰性でも6分以内に結果が表示される。

5. 妨害物質・妨害薬剤

咽頭に存在、または添加される可能性のある物質として、内因性物質 (全血、ムチン、ヒト唾液)、鎮痛剤、気管支拡張薬、抗ヒスタミン薬、のど飴、洗口液、歯磨き粉、のどスプレー、市販風邪薬 (錠剤)、市販風邪薬 (液剤) について検討された結果、通常存在する濃度で本法への影響は認められなかった。

6. 交差反応性

咽頭に存在する 34 種の細菌および1種の真菌について検討された結果、最小濃度 2.0×10^6 cells/mL において本法への影響は認められなかった。さらに、*in silico* 分析の結果から、本キットの標的配列と上気

道微生物 (8 種の細菌、8 種のウイルス、1 種の真菌) の遺伝子配列に有意な相同性は認めなかった。

7. 本法に用いる測定機器

本法の測定には、ID NOW™ インストゥルメントを用いる。この機器は GAS の他に、新型コロナウイルス、インフルエンザ A/B の検査が可能である。1度に1検体しか検査できないが、測定時間が2～6分と短時間なことから、POCTとして診療の傍らに十分施行可能である。

8. 臨床性能試験成績

培養法を基準として、本法の陽性一致率、陰性一致率、全体一致率はそれぞれ 98.7%、88.4%、92.5% であった。既承認品 (イムノクロマト法) の陽性一致率、陰性一致率、全体一致率はそれぞれ 100%、89.3%、93.6% であり、従来のキットと遜色のない結果であった。

9. 注意点

検体取り扱い時は感染の危険性を考慮して使い捨て手袋を装着する。培養、迅速抗原キットでも同様であるが、健常保菌者でも陽性となりうるため、結果の解釈には注意を要する。

10. 得られる効果

推定適用患者数 (ピーク時) 初年度 393 万人 / 年、市場規模予測 (ピーク時) 予測年度 10 年度 本体外診断用医薬品使用患者数 11.6 万人 / 年、予測販売金額 2.1 億円と推定されている¹⁾。

11. 保険点数

準用保険点数は、D023 微生物核酸同定・定量検査 3 淋菌核酸検出 204 点を参考に、204 点と定められた¹⁾。保険診療上、「GAS 核酸検出は、15 歳未満の GAS 感染が疑われる患者に対し、等温核酸増幅法により測定し、当日中に結果を説明した場合に本区分「3」淋菌核酸検出を準用して算定できる。なお、本検査と区分番号「D012」感染症免疫学的検査「18」の GAS 迅速試験定性又は区分番号「D 018」細菌培養同定検査を同時に実施した場合は、主たるもののみ算定する。」となっている。

おわりに

本検査法は、GAS の核酸検出キットとして初めて保険適用となった。専用の機器が必要であるが、小児一般外来における病原体診断方法として迅速性、高感度に優れた検査である。既感染者、保菌者など、陽性時の判定に注意を要するが、一方で陰性時には抗菌薬を使用しないという選択ができる。本キットを適切に使用することで、GAS 感染症の合併症予防、伝播防止に寄与するものと期待される。

文 献

- 1) 厚生労働省. 臨床検査の保険適用について(令和 5 年 8 月収載予定). 中央社会保険医療協議会(中央社会保険医療協議会総会).
<https://www.mhlw.go.jp/content/12404000/001117409.pdf> (引用 2024 年 3 月 10 日)
- 2) 一般社団法人日本感染症学会委員会報告・気道感染症の抗菌薬適正使用に関する提言(改訂版)2022 年 11 月 20 日.
https://www.kansensho.or.jp/uploads/files/guidelines/2211_teigen.pdf (引用 2024 年 3 月 10 日)
- 3) IDWR. 感染症発生動向調査 感染症週報 2023 年第 51 週、2023 年第 52 週. 国立感染症研究所.
<https://www.niid.go.jp/niid/images/idsc/idwr/IDWR2023/idwr2023-51-52.pdf> (引用 2024 年 3 月 10 日)
- 4) IASR. A 群溶血性レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症の 50 歳未満を中心とした報告数の増加について(2023 年 12 月 17 日現在). 国立感染症研究所.
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/group-a-streptococcus-m/group-a-streptococcus-iasrs/12461-528p01.html> (引用 2024 年 3 月 10 日)
- 5) May L, Sickler J, Robbins EM, et al. The impact of point-of-care polymerase chain reaction testing on prescribing practices primary care for management of Strep A: A retrospective before-after study. *Open Forum Infect Dis.* 2022;9(5):0dac147.
- 6) Cohen DM, Russo ME, Jaggi P, et al. Multicenter clinical evaluation of the novel Alere i Strep A isothermal nucleic acid amplification test. *J Clin Microbiol.* 2015;53(7):2258-2261.
- 7) アボットダイアグノスティクスメディカル株式会社. ID NOW™ ストレップ A2 添付文書. 2023 年 1 月作成(第 1 版).
https://www.info.pmda.go.jp/downfiles/ivd/PDF/150266_30400EZX00020000_A_01_01.pdf (引用 2024 年 3 月 10 日)

臨床検査アップデート 95
A群β溶血連鎖球菌核酸検出
(等温核酸増幅検出法(NEAR法)) 菱木はるか

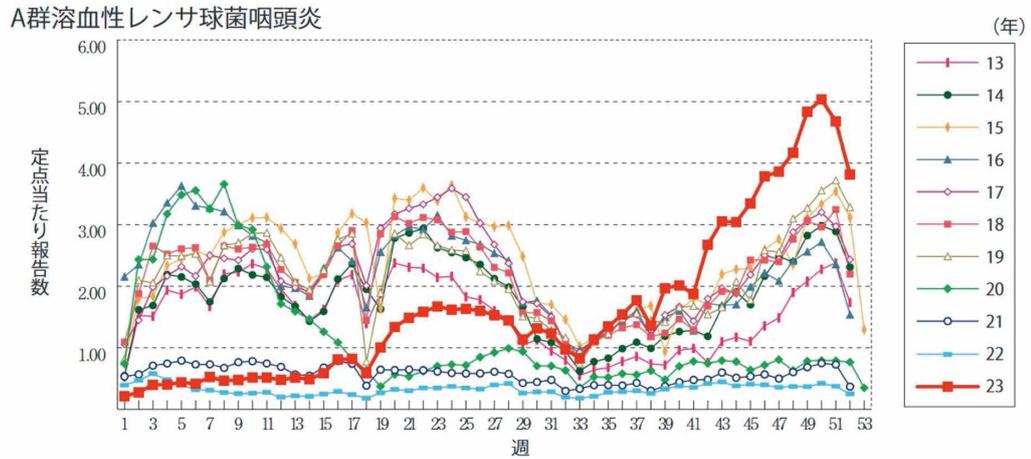


図 2023年感染症発生動向調査・感染症週報 第1～53週

出典：国立感染症研究所 (<https://www.niid.go.jp/niid/images/idsc/idwr/IDWR2023/idwr2023-51-52.pdf>)