

百日咳抗原定性検査

Rapid immunochromatographic test for detection of *Bordetella pertussis* antigen

おか だ けん じ
岡 田 賢 司
Kenji OKADA

<キーワード>

百日咳、抗原検査、イムノクロマト法

はじめに

感染症法では、百日咳と診断した医師には届出が義務付けられている。診断には検査での確定が求められている。必要な検査としては、(1) 分離・同定

による病原体の検出 (2) 核酸増幅法による病原体遺伝子の検出 (PCR法・LAMP法・その他) (3) イムノクロマト法による病原体の抗原の検出 (4) 抗体の検出 (ペア血清による抗体陽転又は抗体価の有意な上昇、又は単一血清で抗体価の高値) となっている (表1)¹⁾。

感染症検査の基本は、病原体の分離・同定、あるいは病原体遺伝子あるいは抗原の検出である。

今回、抗原定性検査が新たに追加されたため、本稿では抗原定性検査を中心に解説する。

表1 感染症法に基づく医師及び獣医師の届出について：百日咳

- (1) 定義 *Bordetella pertussis* によって起こる急性の気道感染症である。
- (2) 臨床的特徴
潜伏期は通常5～10日(最大3週間程度)であり、かぜ様症状で始まるが、次第に咳が著しくなり、百日咳特有の咳が出始める。乳児(特に新生児や乳児早期)ではまれに咳が先行しない場合がある。典型的な臨床像は、顔を真っ赤にしてコンコンと激しく発作性に咳込み(スタッカート)、最後にヒューと音を立てて息を吸う発作(ウープ)となる。嘔吐や無呼吸発作(チアノーゼの有無は問わない)を伴うことがある。血液所見としては白血球数増多が認められることがある。乳児(特に新生児や乳児早期)では重症になり、肺炎、脳症を合併し、まれに致死的となることがある。ワクチン既接種の小児や成人では典型的な症状がみられず、持続する咳が所見としてみられることも多い。
- (3) 届出基準
ア 患者(確定例)
医師は、(2)の臨床的特徴を有する者を診察した結果、症状や所見から百日咳が疑われ、かつ、(4)により、百日咳患者と診断した場合には、法第12条第1項の規定による届出を、7日以内に行わなければならない。ただし、検査確定例と接触があり、(2)の臨床的特徴を有する者については、必ずしも検査所見を必要としない。
イ 感染症死亡者の死体
医師は、(2)の臨床的特徴を有する死体を検案した結果、症状や所見から、百日咳が疑われ、かつ、(4)により、百日咳により死亡したと判断した場合には、法第12条第1項の規定による届出を、7日以内に行わなければならない。
- (4) 届出のために必要な検査所見

検査方法	検査材料
分離・同定による病原体の検出	鼻腔、咽頭、気管支などから採取された検体
核酸増幅法による病原体の遺伝子の検出 (PCR法・LAMP法・その他)	
イムノクロマト法による病原体の抗原の検出	鼻咽頭拭い液
抗体の検出 (ペア血清による抗体陽転又は抗体価の有意な上昇、又は単一血清で抗体価の高値)	血清

出典：「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律第12条第1項及び第14条第2項に基づく届出の基準等について」の一部改正について(厚生労働省) (<https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/000788097.pdf> 文献1) より抜粋)

I. 病原体の分離・同定

後鼻腔検体からの百日咳菌分離が基本である。BG 培地あるいは CSM 培地など選択培地が必要なため、「目的菌が“百日咳菌”であることを事前に検査室や検査センターへ知らせること」が分離率を上げるポイントである。百日咳菌の分離は、特異性に優れるが、①抗菌薬が使用されている場合、②発症後1か月以上経過している場合、③ワクチン接種者および成人では菌量が少なく感度は低下することには注意が必要となる。

II. 核酸増幅法による病原体遺伝子の検出 (PCR 法・LAMP 法・その他)

培養より感度の高い検査法で、世界的には PCR 法 (polymerase chain reaction) が採用されている。日本では LAMP 法 (loop-mediated isothermal amplification)²⁾ が開発され、PCR 法よりも簡便かつ迅速に診断することが可能で、2016 年 11 月から保険適用となっている。検体は、培養と同じく後鼻腔拭い液で、院内なら数時間、外注でも 1～3 日で結果が得られ、早期診断として有用である。とくに、これまで移行抗体の影響で正確な診断ができなかった重症化しやすい生後 3 か月未満児に使えることは、有用な検査と考えられる。

2019 年に届けられた症例の診断に使われた検査がまとめられた³⁾。複数の検査方法の記載がある場合、診断の確からしさに基づいて分離同定>遺伝子検査>ペア血清>単一血清抗体価高値、の順に一つの診断方法を選択して掲載された (図 1)。全届出症例 16,785 例のうち、医師届出ガイドライン (初版) に則った症例が 15,774 例 (94.0%) であった。診断の際に最も多く使われた検査法が遺伝子検査で、全体の 52% であった。

次いで多かった検査が、単一血清抗体価高値で 41% であった。血清抗体価に基づく診断は、出来るだけペア血清を用いることが望ましいが、ペア血清による有意な抗体価上昇のみで診断された患者は 2% であった。その他、百日咳菌の分離同定は 1%、臨床診断に加えて疫学的リンクありの患者は 2% であった。単一血清抗体価高値のみで診断・報告された全 6,674 例のうち、届出ガイドラインの基準を満たす検査結果 (抗 PT-IgG 抗体 100 EU/mL 以上、百日咳 IgM/IgA 抗体のいずれか、あるいは両方陽性) に基づいた報告例は 6,077 例 (91%) であった。

実施された検査方法の年齢別割合では、15 歳未満の小児は遺伝子検査の実施割合が高く、60-90% で、とくに患者が 6 か月未満の場合は 95% 以上が遺伝子検査で診断されていた。一方、15 歳以上になると、遺伝子検査の割合が次第に低下し、20 歳以上の成人に対しては 10-20% であり、単一血清抗体価による診断例の割合が 50% 以上と高かった。

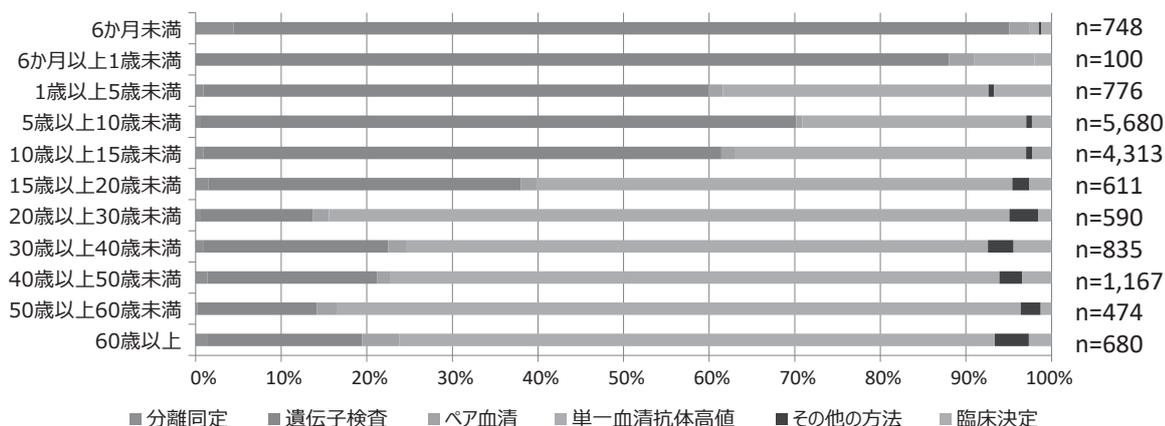


図 1 届出ガイドラインの診断基準を満たした百日咳症例 (*) の年齢群別百日咳診断検査法の割合 (2019 年第 1 週～第 52 週) (n=15,774)

(*) 百日咳 感染症法に基づく医師届出ガイドライン (初版) に則った症例のみを抽出

(文献3)より転載)

(図 1 は巻末にカラーで掲載しています)

わが国では、精度の高い LAMP 法が保険収載されており、より正確な百日咳の診断に有用であることから、LAMP 法を含む適切な時期の病原診断を積極的に活用することが推奨される。

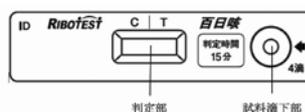
Ⅲ. 抗原定性検査⁴⁾

この検査は 2020 年 5 月 29 日に承認され、イムノクロマト法を原理として、鼻咽頭拭い液中の百日咳菌由来の抗原を検出するキットとして 2021 年 5 月 1 日に保険収載された (図 2)。専用の機器や設備が不要で、簡単な操作方法により 15 分で結果が出る。

(1) 測定原理 (図 3)

鼻咽頭拭い液中の百日咳菌 L7/L12 抗原を検出するイムノクロマト法で、テストプレートはサンプルパッド、コンジュゲートパッド、メンブレン、吸収パッドから構成されている。コンジュゲートパッドには金コロイド標識抗百日咳菌 L7/L12 モノクローナル抗体 (マウス) が含まれ、テストライン上には、抗百日咳菌 L7/L12 モノクローナル抗体 (マウス) が固相化されている。

百日咳菌 L7/L12 抗原を含む試料を試料滴下部に滴下すると、試料はサンプルパッドを通して、コンジュゲートパッドに移動し、試料溶液中の百日咳菌



一般的名称	百日咳菌抗原キット		
販売名	リポテスト 百日咳		
使用目的	鼻咽頭拭い液中の百日咳菌抗原の検出 (百日咳菌感染の診断の補助)		
製造販売承認番号	30200EZ00031000		
承認日	2020年5月29日		
保険収載日	2021年5月1日	217点	保医発0430第1号 令和3年4月30日*
発売日	2021年6月16日		

* (49) 百日咳菌抗原定性

- ア 関連学会が定めるガイドラインの百日咳診断基準における臨床判断例の定義を満たす患者に対して、イムノクロマト法により百日咳菌抗原を測定した場合は、区分番号「D 0 1 2」感染症免疫学的検査の「41」レジオネラ抗原定性 (尿) を準用して算定する。
- イ 本検査と区分番号「D 0 2 3」微生物核酸同定・定量検査の「10」百日咳菌核酸検出又は同区分「17」ウイルス・細菌核酸多項目同時検出を併せて実施した場合は、主たるもののみ算定する。

図 2 「鼻咽頭拭い液中の百日咳菌抗原の検出」を目的とした抗原定性検査キット (文献4)より引用)

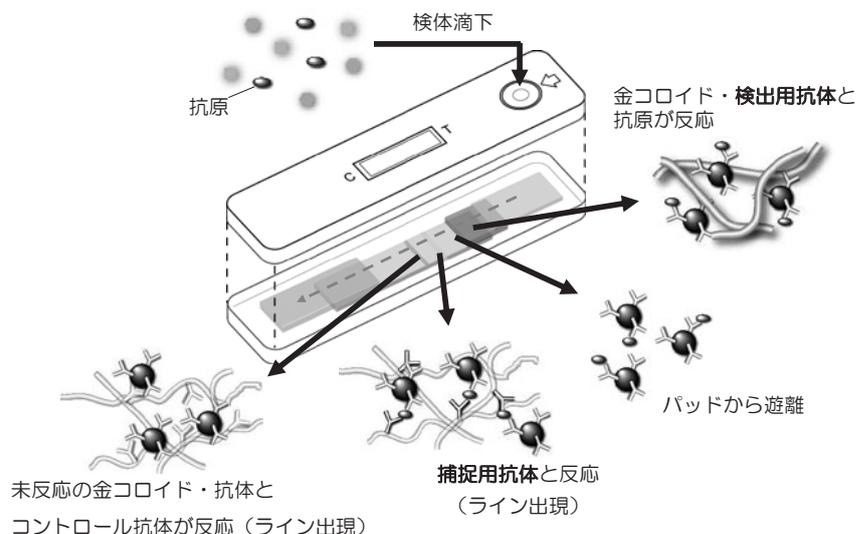


図 3 測定原理 (文献4)より引用)

L7/L12 抗原が金コロイド標識抗体と反応して免疫複合体を形成する。この免疫複合体は毛細管現象によりメンブレン上を移動し、テストライン上の固相化抗体に捕捉されると、赤紫色のラインが現れる。また、百日咳菌 L7/L12 抗原の有無に関わらず、金コロイド標識抗体はコントロールライン上に固相化されている抗マウス免疫グロブリンポリクローナル抗体に捕捉され、赤紫色のラインが現れる。

(2) 検体採取上の注意

検体は鼻咽頭拭い液を使用する。鼻咽頭拭い液は綿棒を後鼻腔まで挿入し採取する(図4)⁴⁾。

鼻咽頭拭い液以外の検体(血清、尿等)は使用しない。

(3) 交差反応性

百日咳菌以外の30菌種の交差反応性を表2に示す。*B. parapertussis* 及び *B. holmesii* に関しては、百日咳菌と共通する抗原を保有するため、検体中に存

在する場合、陽性と判定される可能性があることが判定上の注意点として挙げられている。

(4) 操作方法および測定結果の判定などは、図5および添付文書を参照ください。

表2 交差反応性

No.	菌名	結果
1	<i>Bordetella parapertussis</i>	+
2	<i>Bordetella holmesii</i>	+
3	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	-
4	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
5	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	-
6	<i>Moraxella catarrhalis</i>	-
7	<i>Escherichia coli</i>	-
8	<i>Serratia marcescens</i>	-
9	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
11	<i>Proteus mirabilis</i>	-
12	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
13	<i>Streptococcus agalactiae</i>	-
14	<i>Streptococcus salivarius</i>	-
15	<i>Streptococcus mutans</i>	-
16	<i>Propionibacterium acnes</i>	-
17	<i>Streptococcus mitis</i>	-
18	<i>Streptococcus oralis</i>	-
19	<i>Streptococcus intermedius</i>	-
20	<i>Streptococcus anginosus</i>	-
21	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
22	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
23	<i>Neisseria meningitidis</i>	-
24	<i>Neisseria lactamica</i>	-
25	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-
26	<i>Haemophilus influenzae</i>	-
27	<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	-
28	<i>Haemophilus haemolyticus</i>	-
29	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	-
30	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-

(文献4)より一部転載)

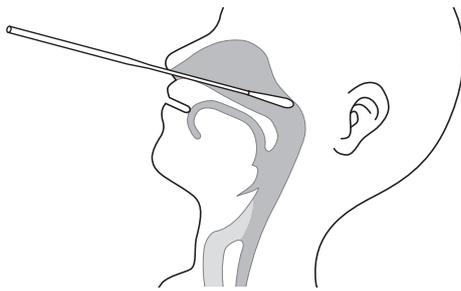


図4 後鼻腔からの検体採取

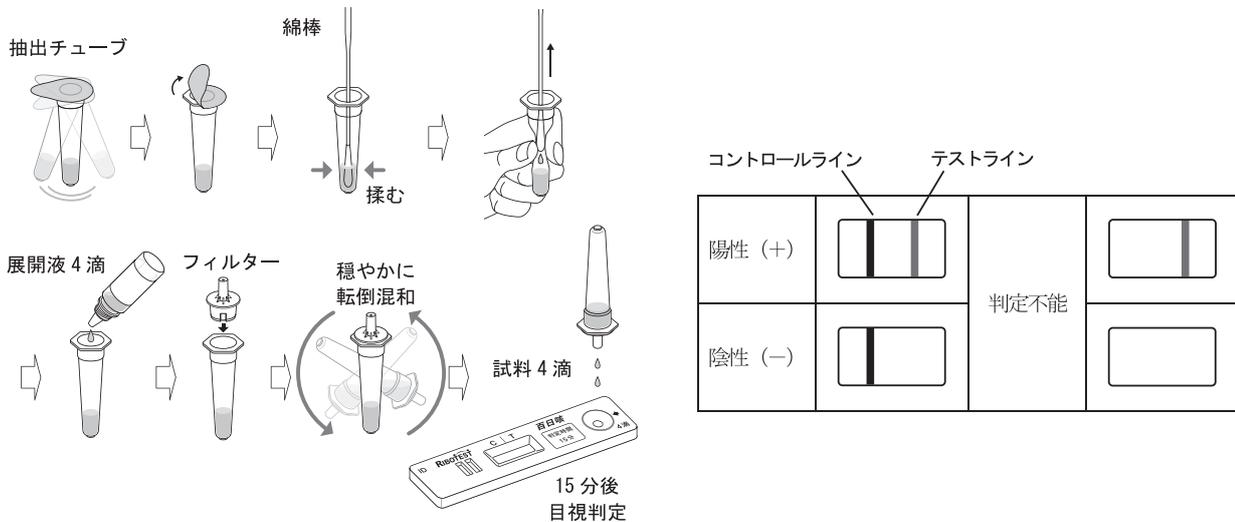


図5 操作方法と測定結果の判定法

(図4, 5: 文献4)より一部転載)

<判定上の注意>

- ・試料を滴下後 15 分での判定を厳守する。15 分以上も反応がわずかに進行・継続し発色する可能性がある。
- ・試料滴下後 15 分を過ぎてテストラインが出現した場合、陰性と判定する。
- ・判定部の位置に影のようなラインが見えることがあるが、赤紫色のテストラインを確認できない場合、陰性と判定する。
- ・色のにじみ、あるいはライン上もしくはその近傍での斑点状発色がまれに認められることがあるが、ラインとして認識できない場合、陰性と判定する。
- ・検体中の抗原濃度が検出感度に満たない場合、偽陰性となることがある。
- ・本キットは、金コロイドを用いたイムノクロマト法であるため、検体の性状により偽陽性となることがある。

(6) 培養法および PCR 法との一致率に対する本キットの一致率 (表 3)

培養法との一致率は、陽性一致率 72.2% (13/18)、陰性一致率 94.0% (158/168)、全体一致率 91.9% (171/186) となっている。PCR 法との一致率は、陽性一致率 86.4% (19/22)、陰性一致率 97.1% (168/173)、全体一致率 95.9% (187/195) とされている。

*最小検出感度： 2.2×10^4 CFU/mL (*Bordetella pertussis* 抗原)

但し、本キットが検出する百日咳菌抗原は菌全体ではなく、鼻咽頭拭い液中の百日咳菌 L7/L12 抗原。

(7) 使用上又は取扱い上の注意は、添付文書を参照ください。

(8) 臨床的意義

百日咳の臨床経過と各種検査の至適時期を図 6 に示す。感染症の検査は、病原体を検出することが基本である。発症後 4 病週以内なら、これまでは培養検査や LAMP 法などの遺伝子検査が使用されてきたが、今回新たに百日咳菌の抗原定性検査が可能となった。

本キットにより百日咳を適確に早期診断できれば、(1) 適確な治療介入により重症化の防止が期待できる。(2) 外来診療時間内に検査結果を得ることができるため、検査結果に基づき不要な抗菌薬を削減し抗菌薬の適正使用に貢献でき、耐性菌 (AMR) 対策の推進となることが期待できる。(3) 百日咳は学校や職場等での集団感染が報告されており、本検査により百日咳検査へ容易にアクセスできることは、早期の感染状況の把握に貢献でき、感染拡大の防止が期待できる。

この検査は、小児呼吸器感染症診療ガイドライン 2017⁵⁾「百日咳 臨床診断例の検査での確定フローチャート」に従い、培養、LAMP または PCR と同じ位置付けで使用できると考えられている⁶⁾。

おわりに

これまでの、百日咳の病原体診断は、結果が判明するまで数日間を要していた。本キットの導入により、短時間で判定ができ、抗菌薬の必要性も臨床医

表 3 臨床性能試験 (2016 年 10 月～2019 年 9 月)

● 培養との一致率

		培養		計
		陽性	陰性	
本キット	陽性	13	10	23
	陰性	5	158	163
計		18	168	186*

陽性一致率	72.2% (13 / 18)
陰性一致率	94.0% (158 / 168)
陽性陰性一致率	91.9% (171 / 186)

● PCRとの一致率

		PCR		計
		陽性	陰性	
本キット	陽性	19	5	24
	陰性	3	168	171
計		22	173	195

陽性一致率	86.4% (19 / 23)
陰性一致率	97.1% (168 / 173)
陽性陰性一致率	95.9% (187 / 195)

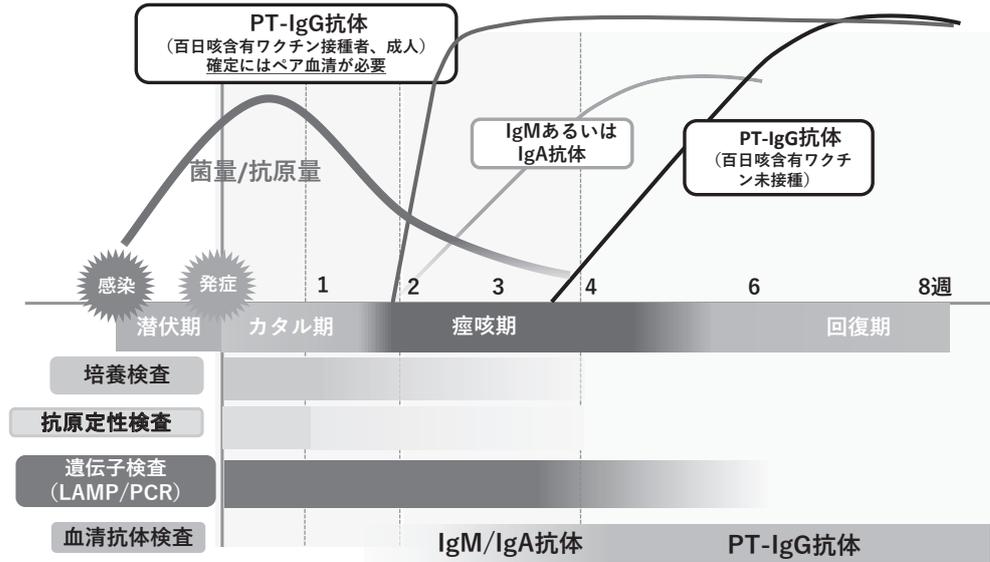


図6 百日咳の臨床経過と各種検査の至適時期

感染症の検査は、病原体を検出することが基本である。発症後4病週以内なら、これまでは培養検査やLAMP法などの遺伝子検査が使用されてきたが、今回新たに百日咳菌の抗原定性検査が可能となった。

(図6は巻末にカラーで掲載しています)

がベッドサイドで評価できるため、日常診療で使われることが期待される。

文 献

- 1) 厚生労働省HP：感染症法に基づく医師の届出のお願い
<https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kanse/nshou11/01-05-23.html>
- 2) Notomi, T. et al: Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res.* 2000; 28, E63
- 3) 全数報告サーベイランスによる国内の百日咳報告患者の疫学(更新情報) - 2019年疫学週第1週～52週 - 国立感染症研究所 感染症疫学センター・同細菌第二部 2020年1月8日現在(掲載日：2020年3月6日)
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/pertussis-m/pertussis-idwrs/9463-pertussis-20200306.html>
- 4) リボテスト® 百日咳 添付文書
https://www.info.pmda.go.jp/downfiles/ivd/PDF/100898_30200EZX00031000_B_01_01.pdf
- 5) 日本小児呼吸器学会・日本小児感染症学会. 小児呼吸器感染症診療ガイドライン2017. 小児呼吸器感染症診療ガイドライン作成委員会. 尾内一信, 他(監). 東京: 協和企画; 2016.
- 6) 百日咳菌抗原キットの臨床活用に関して：小児呼吸器感染症診療ガイドライン委員会(2020年10月29日掲載) 日本小児呼吸器学会HP
<http://jspp1969.umin.jp/pdf/guidelines20201029.pdf>

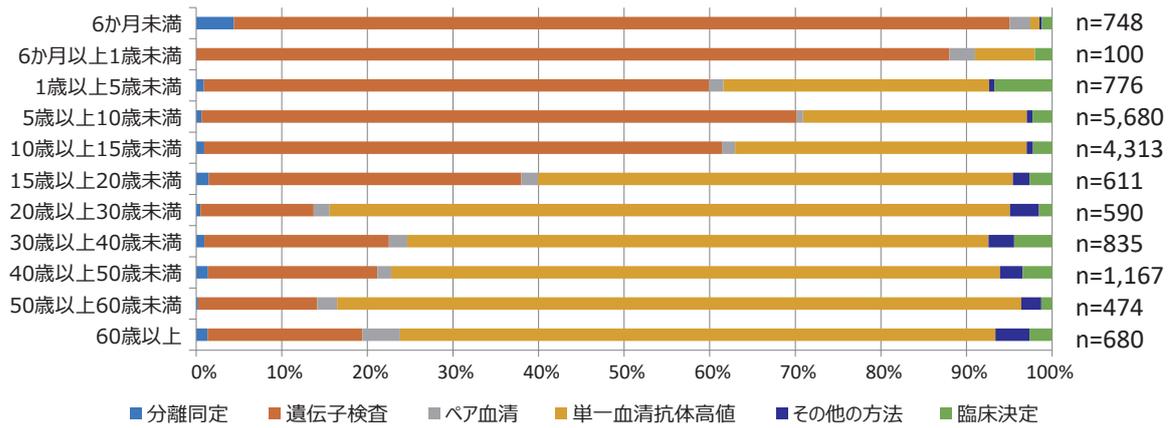


図1 届出ガイドラインの診断基準を満たした百日咳症例(*)の年齢群別百日咳診断検査法の割合(2019年第1週~第52週)(n=15,774)

(*)百日咳 感染症法に基づく医師届出ガイドライン(初版)に則った症例のみを抽出

(文献3)より転載

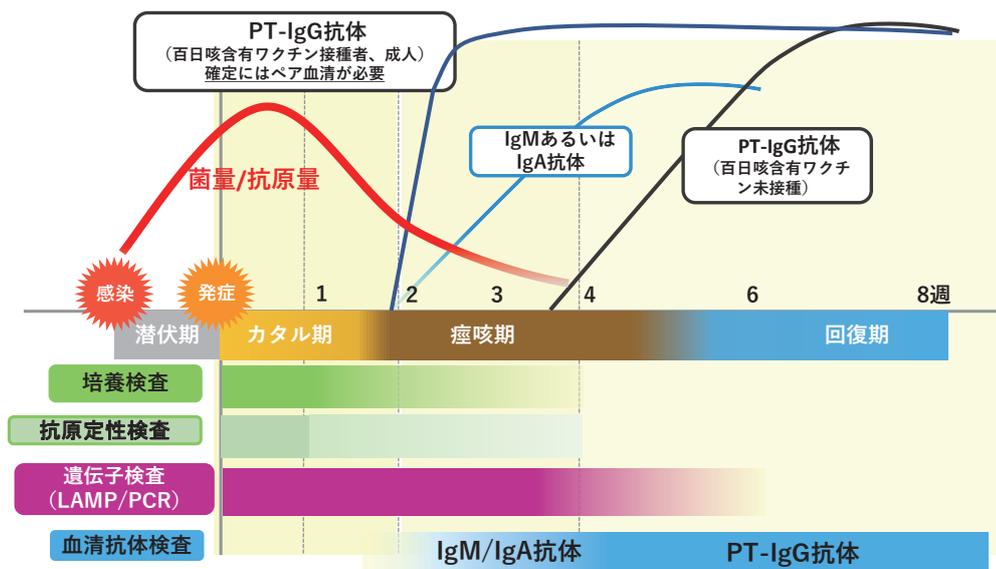


図6 百日咳の臨床経過と各種検査の至適時期

感染症の検査は、病原体を検出することが基本である。発症後4病週以内なら、これまでは培養検査やLAMP法などの遺伝子検査が使用されてきたが、今回新たに百日咳菌の抗原定性検査が可能となった。