

Loopamp[®]百日咳菌検出試薬キットDの 臨床的評価

岡藤輝夫¹⁾ 黒木春郎²⁾ 西村直子³⁾
野上裕子⁴⁾ 藤野元子⁵⁾ 宮田章子⁶⁾
中山哲夫⁷⁾

CLINICAL EVALUATION OF THE LOOPAMP[®] (LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION) *Bordetella pertussis* DETECTION KIT D

Teruo OKAFUJI¹⁾, Haruo KUROKI²⁾, Naoko NISHIMURA³⁾, Hiroko NOGAMI⁴⁾,
Motoko FUJINO⁵⁾, Akiko MIYATA⁶⁾, and Tetsuo NAKAYAMA⁷⁾

1) Okafuji Pediatric Clinic 2) Medical Corporation Shigyonokai Sotobo Children's Clinic
3) Departments of Pediatrics, Konan Kosei Hospital 4) National Hospital Organization Fukuoka National Hospital
5) Tokyo Saiseikai Central Hospital 6) Saiwai Pediatric Clinic 7) Kitasato Institute for Life Sciences

Abstract

A clinical performance study of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP)-based test reagent (Loopamp[®] *Bordetella pertussis* detection kit D) was conducted in 6 medical institutions. A total of 103 samples from a prospective study and 88 preserved positive samples (nucleic acid extract) were analyzed.

Pertussis detection by four assays in 18 samples from patients with a definitive diagnosis of pertussis in the prospective study was compared to clinical diagnosis. Pertussis was detected with a sensitivity, specificity, and overall agreement rate of 27.8%, 100.0%, and 87.4% using the LAMP-based test; 38.9%, 100.0%, and 89.3% using real-time PCR analysis, which is also a genetic test; 11.1%, 100.0%, and 84.5% using the cultural method; and 93.8%, 86.8%, and 88.1% using the anti-PT antibody assay, although some samples were indeterminate. The sensitivity was highest for the anti-PT antibody assay and lowest for the cultural method. The specificity was as high as 100.0% for the cultural method, real-time PCR analysis, and LAMP-based test. It was shown that the genetic tests had higher sensitivity than the cultural method and higher specificity than the anti-PT antibody assay. According to the diagnostic flowchart for pertussis described in the Japanese Respiratory Society Guidelines for Management of Cough (2nd edition), 11 samples were supposed to be positive when analyzed using the LAMP-based test reagent; in actuality, 5 of the 11 samples were positive (5/11, 45.5%). The LAMP-based test had an approximately 2.5 times higher detection rate than the cultural method. Since the remaining 6 samples were negative when analyzed by both the LAMP-based test and real-time PCR analysis, the amount of *Bordetella pertussis* in the samples may have been very low. In the prospective study, the two reagents for genetic testing yielded inconsistent results in only 2 samples (negative with the LAMP-based test reagent and positive in the real-time PCR analysis); however, sequence analysis revealed that the

1) 岡藤小児科医院 2) 医療法人嗣業の会 外房こどもクリニック 3) JA愛知県厚生連江南厚生病院 こども医療センター
4) 独立行政法人国立病院機構 福岡病院 5) 東京都済生会中央病院 6) さいわいこどもクリニック
7) 北里生命科学研究所

bacteria in these 2 samples were *Bordetella* species other than *Bordetella pertussis*. When the 88 preserved positive samples were analyzed using the two reagents for genetic testing, the LAMP-based test reagent had a sensitivity of 96.5% and an overall agreement rate of 96.5%. The amounts of *Bordetella pertussis* in the 3 positive samples that were negative in the LAMP-based test may have been below the detectable limit.

The LAMP-based test results were highly correlated with the real-time PCR results. In addition, the LAMP-based test reagent is very reliable and requires no specialized instrumentation, indicating that the test can easily be performed in ordinary hospital settings and contribute to early diagnosis of pertussis, which is still difficult to diagnose in the early stage.

Key words: loop-mediated isothermal amplification, LAMP, *Bordetella pertussis*, pertussis, diagnosis

要 旨

6医療施設による Loopamp®百日咳菌検出試薬キットDの臨床性能試験を実施した。解析対象として、前向き試験103検体、陽性保存検体(核酸抽出液)88検体を用いた。

前向き試験の臨床診断(百日咳確定診断18検体)に対して、LAMP法被験試薬は感度27.8%、特異度100.0%、全体一致率は87.4%を示した。同じ遺伝子検査であるreal-time PCR法は感度38.9%、特異度100.0%、全体一致率89.3%を示した。培養法は感度11.1%、特異度100.0%、全体一致率84.5%を示した。一部判定不能例があったが、抗PT抗体測定法は感度93.8%、特異度86.8%、全体一致率88.1%を示した。感度は、抗PT抗体価が最も高く、培養法が最も低かった。特異度は、培養法、real-time PCR法、LAMP法被験試薬ともに100.0%を示し非常に高かった。遺伝子検査は、培養法よりも高い感度を、抗PT抗体価よりも高い特異度を有することが明らかとなった。

日本呼吸器学会による「咳嗽に関するガイドライン第2版」の百日咳診断フローチャートに則ると、11検体はLAMP法被験試薬で検出されるべき検体と考えられ、そのうち5検体を検出することができた(5/11, 45.5%)。培養法と比較すると、LAMP法被験試薬は約2.5倍の検出率であった。検出できなかった残り6検体はreal-time PCR法でも未検出であったことから、検体中の百日咳菌がごく微量であったためと考えられた。遺伝子検査試薬間の相関は、前向き試験において2検体のみ乖離(LAMP法被験試薬陰性、real-time PCR法陽性)がみられたが、配列解析の結果2検体ともに百日咳菌以外の*Bordetella*属菌であることがわかった。また、陽性保存88検体を両遺伝子検査試薬に供試したところ、LAMP法被験試薬はreal-time PCR法に対して感度、全体一致率ともに96.5%を示した。LAMP法被験試薬で陰性を示した乖離3検体は、検体中の百日咳菌が少なかったためと考えられた。

LAMP法被験試薬は、real-time PCR法と良好な相関を示しており、操作性に優れ、特殊な機器を必要としないことから、一般の病院での使用を容易とし、今まで困難であった百日咳の早期診断に寄与するものと考えられた。

序 論

百日咳は、グラム陰性桿菌である百日咳菌(*Bordetella pertussis*)の気道感染により引き起こされる急性呼吸器感染症である。百日咳の症状は、発作性咳き込み、吸気性笛声、咳き込み後の嘔吐等であるが、早期新生児や年長児および成人ではこれらの典型的な症状がみられず、診断が困難なケースが少なくない。新生児やワクチン未接種乳児の感染による死亡例がいまだに認められ、成人は症状が軽度で発見が遅れるため、集団感染や院内感染あるいは乳幼児に対する感染源となることが知られている¹⁾。

百日咳の検査には培養法と血清学的検査がある

が、培養法は同定までに6~7日間を要すること、血清学的検査では測定時間が長いこと、交差性、ワクチン接種による抗体価上昇との区別が困難などの課題がある他に、ペア血清での判定が基本であることから、迅速かつ精確な検査が臨床現場で要望されている。

Loop-mediated isothermal amplification(以下、LAMP)法は、①遺伝子増幅反応が恒温で進行する、②6領域を認識する4種類のプライマーを使用するため特異性が高い、③増幅効率が高く、短時間の増幅が可能である、④増幅産物が多く、副産物による目視検出が可能で簡易検出に適している、等の特長を有した方法である。また一般的なPCR法と比較してLAMP法は遺伝子増幅反応を阻

表1 臨床性能試験検体数集計

施設名	解析対象 検体	保存核酸 抽出液
独立行政法人国立病院機構 福岡病院	21	8
JA 愛知県厚生連 江南厚生病院 こども医療センター	29	64
医療法人社団嗣業の会 外房こどもクリニック	29	16
東京都済生会中央病院	1	—
岡藤小児科医院	7	—
さいわいこどもクリニック	16	—
合計検体数	103	88

害する生体成分の影響を受けにくいことが知られており、簡易な前処理で得られた粗核酸抽出サンプルからの増幅反応も可能である。今日、LAMP法は様々な病原体の検出に応用されており、百日咳菌の検出も2006年にKamachiら²⁾によって報告された。

今回我々は、栄研化学株式会社がKamachiらの方法を基に改良開発したLoopamp[®]百日咳菌検出試薬キットDの臨床性能試験を行ったので、その結果について報告する。

試料と方法

1. 患者と臨床検体

前向き試験の対象は、2013年4月～2014年2月の間に百日咳疑いで、表1に示す医療機関を受診した生後26日～65歳の患者である。患者は、発作性の咳き込み、吸気性笛声、咳き込み後の嘔吐（成人の場合は、夜間の咳き込みによる不眠症状、胸痛）等の臨床症状・所見を伴い、患者本人あるいは未成年者の場合は保護者等の代諾者に自由意志に基づく書面による同意取得後、後鼻腔拭い液（初診時に1本あるいは2本）と血液（初診時と発症から4～8週後）を採取した。抗菌剤治療を検体採取前に開始した患者、試験途中で患者本人又は代諾者による同意が撤回された患者、血液未採取の患者は解析から除外した。

また、本期間中は百日咳の流行がみられず陽性検体が少なかったため、福岡病院より8検体、江南厚生病院より64検体、外房こどもクリニックより16検体の合計88検体（核酸抽出液）の提供を受けた。

2. LAMP法被験試薬

被験試薬は、LAMP法を原理とし、百日咳菌特異的な百日咳毒素のプロモーター領域を標的としたKamachiら²⁾のLAMPプライマーを基に改良され

た液状のプライマーミックスと、酵素や基質をチューブフタ部分に乾燥固着化された試薬よりなる。

3. 培養法

採取した後鼻腔拭い液を培地に直接塗布、もしくは1.0 mLのカザミノ酸溶液に懸濁の後、その30 μ LをポルデテラCFDN寒天培地（日研生物医学研究所）に塗抹した。江南厚生病院こども医療センターの保存検体については、Charcoal寒天培地（OXOID）を使用した。培地に塗抹後、37°Cで7日間培養し、毎日観察した。発育したコロニーを釣菌後に増菌させ、最終的に百日せきI相菌免疫血清「生研」（デンカ生研株式会社）による凝集の有無を調べ、凝集した菌体を百日咳菌と同定した。

4. 遺伝子検査

採取した後鼻腔拭い液を生理食塩水、もしくはカザミノ酸溶液に懸濁し、その一部をQIAamp DNA Micro Kit（QIAGEN）に供試した。抽出操作は、キットの取扱い説明書に従って行い、最終的に100 μ Lの核酸抽出液を得た。

抽出したDNAは、栄研化学株式会社生物化学第二研究所にて遺伝子検査に供試された。LAMP法被験試薬は、操作方法に従って測定され、40分間以内に増幅（濁度の上昇）が認められた検体を陽性と判定した。real-time PCR法は、国立感染症研究所による「病原体検査マニュアル百日咳」記載のIS 481を標的とした方法³⁾を用い、専用の機器によって測定を行い、百日咳菌DNA 10 fg/testのCt値よりも低いCt値を示した検体をIS 481陽性とした。

また、一部の検体は16S rRNA遺伝子やIS 481の配列を増幅後にシーケンスした。

表2 年代別の検体分布, ならびに各測定法の感度, 特異度, 全体一致率

【年齢別検体数】

		年齢層 (歳)						合 計
		<1	1～6	7～12	13～19	20～29	30<	
臨床診断	百日咳	4	5	4	2	0	3	18
	非百日咳	15	37	14	5	3	11	85
	合 計	19	42	18	7	3	14	103

【全 検 体】

		臨床診断			感 度	特 異 度	全体一致率
		百 日 咳	非百日咳	合 計			
培 養 法	陽 性	2	0	2	11.1%	100.0%	84.5%
	陰 性	16	85	101			
	合 計	18	85	103			
抗 PT 抗体価 ^{*1}	陽 性	15	9	24	93.8%	86.8%	88.1%
	陰 性	1	59	60			
	合 計	16	68	84			
real-time PCR 法	陽 性	7	0	7	38.9%	100.0%	89.3%
	陰 性	11	85	96			
	合 計	18	85	103			
LAMP 法被験試薬	陽 性	5	0	5	27.8%	100.0%	87.4%
	陰 性	13	85	98			
	合 計	18	85	103			

*1: 19 検体が判定不能であったため, 合計 84 検体で集計

5. 血清抗体価 (抗 PT 抗体価)

抗 PT 抗体価は, 百日せき抗体 EIA 「生研」(デンカ生研株式会社) を用い, キットの添付文書に従って測定した。抗 PT 抗体価の判定は, 日本呼吸器学会による「咳嗽に関するガイドライン第2版」⁴⁾ に準じて行ったが, 10 EU/mL 未満はすべて「<10」とした。このため, 4～8 週時のペア血清による2倍の上昇の判断には, 少なくとも 20 EU/mL 以上を示した時に陽性と判定した。

6. 解析方法

被験試薬と培養法, PCR 法, 臨床診断の判定結果のそれぞれについて相関性 2×2 の分割表にまとめ, 陽性一致率, 陰性一致率, 全体一致率を求めた。

結 果

1. 患者の診断

各施設から登録された患者のうち, 103 検体が解

析対象とされた(表1)。そのなかで18検体が臨床症状から百日咳と診断された。残り85検体は, 百日咳の確定診断には至らなかった(表2)。

2. 各測定法の感度, 特異度, 全体一致率

対象検体を年齢で層別した(表2)。また, 臨床診断に対する各測定法の全体, 年代別にそれぞれ感度, 特異度, 全体一致率を算出した(図1)。

20～29歳を除き, 少数ながら各年代に陽性検体が存在した。

全検体における相関表をみたとき, 培養法の感度は11.1%, 特異度100.0%, 全体一致率84.5%であった。抗 PT 抗体測定法は, 同様に93.8%, 86.8%, 88.1%を示した。遺伝子検査の real-time PCR 法においてはそれぞれ38.9%, 100.0%, 89.3%, LAMP 法被験試薬は27.8%, 100.0%, 87.4%を示した。なお, 培養法で得られた陽性2検体は抗 PT 抗体測定法, 遺伝子検査2法ともすべて陽性を示した。

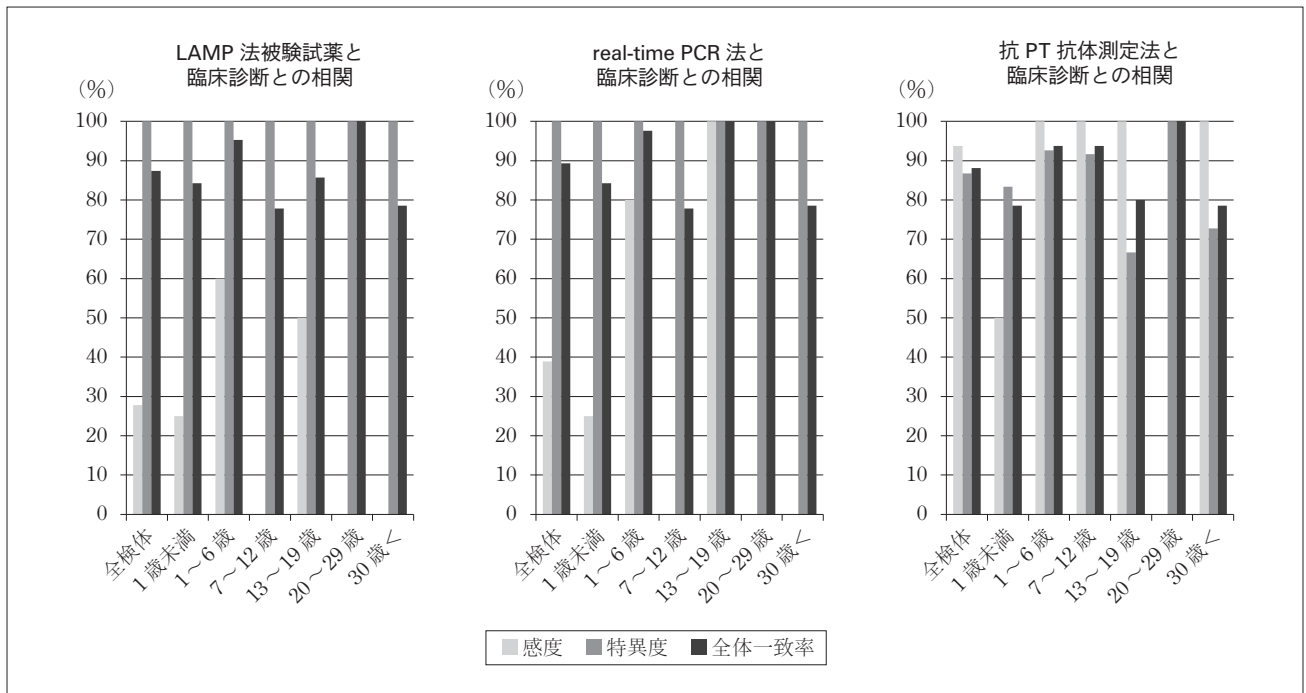


図1 遺伝子検査法と抗 PT 抗体測定法の臨床診断との相関

表3 LAMP 法被験試薬の real-time PCR 法に対する相関 (1)

		real-time PCR 法				
		陽 性	陰 性	合 計		
LAMP 法 被験試薬	陽 性	5	0	5	感 度 特 異 度 全体一致率	71.4% 100.0% 98.1%
	陰 性	2	96	98		
	合 計	7	96	103		

感度は、培養法が最も低く (11.1%)、抗 PT 抗体測定法が最も高かった (93.8%)。抗 PT 抗体測定法の感度は、1歳未満の年齢層で50%を示し、陽性検体のなかった20~29歳代を除いた他のすべての年齢層で100%を示した。一方、培養法と遺伝子検査法の偽陽性はなかったが、抗 PT 抗体価では9検体の偽陽性がみられた。

百日咳菌の遺伝子検査は、培養法よりも感度が高く、抗 PT 抗体測定法より特異度が高いことが明らかとなった。

3. 遺伝子検査法における相関 (1)

同じ遺伝子検査法である real-time PCR 法と LAMP 法被験試薬の相関を表3に示した。real-time PCR 法と比較して、感度71.4%、特異度100.0%、全体一致率98.1%を示した。不一致を示した2検体のうち1検体は16S rRNA 遺伝子のシーケンス解析の結果 *Bordetella holmesii* と同定され

た。もう1検体は、IS 481 遺伝子のシーケンス解析の結果から、百日咳菌以外の *Bordetella* 属菌であることがわかった。

4. 確定百日咳 (ガイドラインに則った診断) に対する LAMP 法被験試薬の判定結果

表4に百日咳と臨床診断された18検体に加え、ガイドライン⁴⁾に示されている診断フローチャートに照らし合わせ、百日咳感染症が強く疑われる4検体を加えた22検体のプロファイルを示した。

これら22検体のうち、8検体 (No. 12~19) は、ガイドライン上で LAMP 法による測定が推奨されていない発症から4週間以上経過した検体である。さらに real-time PCR 法陽性、LAMP 法被験試薬陰性の乖離2検体 (No. 20, 21) は、シーケンス解析の結果から百日咳以外の *Bordetella* 属菌であることがわかった。また、百日咳と臨床診断されたが、抗 PT 抗体価の判定で陰性を示した No. 22

表4 臨床百日咳症例および百日咳感染疑い例

No.	年齢 (歳)	発症日からの期間 (日)	ワクチン歴	培養	LAMP 被験試薬	real-time PCR	抗 PT 抗体 初診時	抗 PT 抗体 4～8 週後	抗 PT 抗体 判定	臨床診断名
1	3カ月	7	なし	(-)	(+)	(+)	<10	—	判定不能	百日咳
2	1	3	あり	(-)	(-)	(-)	<10	31	(+)	百日咳
3	2	21	なし	(-)	(+)	(+)	43	92	(+)	百日咳
4	4	7	なし	(-)	(+)	(+)	<10	97	(+)	百日咳
5	6	18	あり	(+)	(+)	(+)	11	181	(+)	百日咳
6	9	2	あり	(-)	(-)	(-)	36	≥160	(+)	百日咳
7	10	2	あり	(-)	(-)	(-)	≥160	≥160	(+)	百日咳
8	13	15	あり	(+)	(+)	(+)	115	65	(+)	百日咳
9	13	15	あり	(-)	(-)	(-)	167	77	(+)	その他 (百日咳疑)
10	42	24	不明	(-)	(-)	(-)	≥160	≥160	(+)	不明
11	52	2	不明	(-)	(-)	(-)	486	504	(+)	不明
12	3カ月	30	あり1回	(-)	(-)	(-)	<10	—	(-)	百日咳
13	3カ月	60	なし	(-)	(-)	(-)	117	—	(+)	百日咳
14	9	60	あり4回	(-)	(-)	(-)	≥160	≥160	(+)	百日咳
15	10	44	あり	(-)	(-)	(-)	≥160	≥160	(+)	百日咳
16	35	60	不明	(-)	(-)	(-)	444	—	(+)	百日咳
17	49	30	不明	(-)	(-)	(-)	644	226	(+)	百日咳
18	65	75	不明	(-)	(-)	(-)	≥160	≥160	(+)	百日咳
19	2	30	あり	(-)	(-)	(-)	≥160	125	(+)	その他*1
20	1	14	あり	(-)	(-)	(+)	21	42	(+)	百日咳
21	18	24	あり	(-)	(-)	(+)	13	51	(+)	百日咳
22	10カ月	6	あり1回	(-)	(-)	(-)	24	44	(-)	百日咳

*1: 抗体上昇であり possible diagnosis

表5 LAMP 法被験試薬の real-time PCR 法に対する相関 (2)

		real-time PCR 法				
		陽性	陰性	合計		
LAMP 法 被験試薬	陽性	83	0	83	感 度 特 異 度 全体一致率	96.5% — 96.5%
	陰性	3	0	3		
	合計	86	0	86		

は、ガイドラインの診断フローチャートに則って診断した場合、百日咳感染症と確定できない検体である。

以上のことから、22 検体から上記 11 検体 (No. 12～22) を除いた残り 11 検体が、LAMP 法被験試薬で検出されるべき検体と考えられる。この 11 検体のうち、その後鼻腔スワブ検体から LAMP 法被験試薬では 5 検体を検出することができ、検出感度 45.5% を示した。また、同じ遺伝子検査である real-time PCR 法による測定結果ともすべて一致した。LAMP 法被験試薬で検出できなかった 6 検体は、real-time PCR 法でも検出できていないことから、検出可能な菌量を採取できなかった可能性が考

えられる。

5. 保存検体を用いた性能評価 (遺伝子検査法における相関 (2))

前向き試験を実施した時期は、百日咳感染症の流行期ではなかったことから陽性検体数が極めて少なかった。そのため、福岡病院、江南厚生病院、外房こどもクリニックの施設で保存されていた核酸抽出液 88 検体 (福岡病院: 8 検体、江南厚生病院: 64 検体、外房こどもクリニック: 16 検体) を real-time PCR 法と LAMP 法被験試薬に供試してその相関性を確認した (表 5)。

その結果、LAMP 法被験試薬の real-time PCR 法に対する感度、全体一致率はともに 96.5% を示し

た。LAMP法被験試薬で検出できなかった3検体は、反応阻害は認められなかったことから、検体中の百日咳菌がごく微量であったためと考えられた。

考 察

百日咳感染症の診断に用いられる既存の検査法にはそれぞれ利点があるが、場合によっては正確な判定結果が得られないケースが存在する。WHOでゴールドスタンダードとされている培養法⁵⁾は、百日咳感染症における限られた排菌期間の存在、検体採取前に投与された抗菌薬の治療効果により病原菌が消失して陰性となる場合や、成人における排菌量の少なさ等が要因となって陰性を示す場合があり、その診断に困難を伴う^{6)~8)}。一方、血清抗体価(抗PT抗体価)測定法はワクチン接種の影響を受けることや、一定の割合で高力価抗体を有す健常者の存在が明らかとなり、正確な判定に注意を要する。またペア血清による診断が基本であることから、判定までに数週間を要するといった問題点も挙げられている。今回の試験においても、培養法では2検体のみ陽性(6歳と13歳の検体)を示したことから、血清抗体価に関しては移行抗体に関する医師コメントや、少なくとも5検体の偽陽性がみられたことなどからもその困難さが推察できる。

百日咳は再興感染症としても注目されており、最も危惧されるのは成人やワクチン接種歴を有する小児での重篤でない非定型な百日咳が正確に診断されず、ハイリスクなワクチン未接種児への感染源となることである¹⁾。そのため、臨床現場では迅速かつ高感度で正確な検査法が望まれており、遺伝子検査法はこの要求に応え得る最有力の検査法と考えられる。本試験の結果から、遺伝子検査は培養法よりも高感度であり、抗PT抗体価測定法よりも特異度が高く、さらに両検査よりも短時間で判定結果を得ることができた。また、除外基準項目に該当するために解析対象から除いたが、抗菌剤投与後の患者(培養検査陰性)検体も遺伝子検査陽性であったことから、患者が治療中であっても確定診断が可能である。

米国では百日咳の診断に遺伝子増幅法を応用したPCR法が最も多いと言われている⁹⁾。世界的に利用されているPCR法はIS 481を標的配列とした方法¹⁰⁾で、高感度である反面、同じ配列を有する

Bordetella holmesii や、一部の *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica* と交差反応し、やや特異性が低い。また、解析に時間を要すること、高価で特殊な機器・試薬を必要とすること、操作が煩雑であることなどから市中の病院で容易に測定することができない。

今回、real-time PCR法とLAMP法被験試薬を比較評価したところ、前向き試験による特異度は100.0%、保存検体(核酸抽出液)を用いた感度は96.5%と極めて良好であった。LAMP法被験試薬は、real-time PCR法よりも高い特異性と、同等の感度を有していることが明らかとなった上、操作性に優れ、特殊な機器を必要とせず一般病院で容易に使用可能である。さらに、検体採取から2時間以内に検査結果を得ることができることから、受診当日に確定診断することが可能であり、その臨床的な有用性は極めて高い。

日本呼吸器学会による「咳嗽に関するガイドライン第2版」に則った確定百日咳に対するLAMP法被験試薬の検出率は45.5%(5/11)を示し、培養法の検出率18.2%(2/11)の2.5倍を示した。欧米で実施されているPCR法は、対象とする患者によって差があるものの40%程度を示していること¹¹⁾¹²⁾に加え、私達が実施した別の研究において、百日咳非流行期を含む期間のLAMP法の検出率は11.0%(23/209)を¹³⁾、流行期に実施した際の検出率は約56%(24/43)を¹⁴⁾示しており、今回の試験期間が非流行期であったことを考慮すると、本被験試薬は良好な検出率を示していると判断できる。また、他の報告における培養法の検出率は約10%(7.31%~14%)¹¹⁾¹²⁾を示し、LAMP法は概ね培養法の4倍程度の検出率を有するものと考えられる。特に百日咳のハイリスク群であるワクチン未接種乳幼児3検体はすべてLAMP法被験試薬で検出でき、抗体価が上昇しにくい、あるいは上昇する前の患者へのLAMP法被験試薬実施の有効性を示す結果と考えられる。

成人の場合には症状が非定型であることから、受診する時期の遅れが流行の蔓延や、乳児の感染源となることが指摘されている⁸⁾。今回の前向き試験においても、成人の確定百日咳診断検体のうち全3検体が発症から4週間以上経過していた。そのため、患者の家族をはじめ、成人の咳嗽においても本

疾患による重要性を周知させ、早めの受診と検査を啓発することが本感染症の蔓延防止に重要である。

結 論

以上をまとめると、百日咳感染症の診断において、ガイドラインに準じて Loopamp[®]百日咳菌検出試薬キット D を使用することは、百日咳の早期診断に大きく寄与し、早期治療、蔓延の防止に貢献するものと結論づけられる。

参 考 文 献

- 1) 伊東宏明, 中野貴司, 平山淳也, 他: 百日咳確定診断例のDPTワクチン接種歴について. 外来小児科 **13**: 125-131, 2010.
- 2) Kamachi K, Toyozumi-Ajisaka H, Toda K, et al: Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification method for rapid diagnosis of *Bordetella pertussis* infection. J Clin Microbiol, **44**: 1899-902, 2006.
- 3) 国立感染症研究所: 病原体検査マニュアル 百日咳 (平成23年10月), 2011.
- 4) 日本呼吸器学会: 咳嗽に関するガイドライン第2版, 2012.
- 5) WHO: Laboratory manual for the diagnosis of whooping cough caused by *Bordetella pertussis*/*Bordetella parapertussis*.
- 6) Nakamura Y, Kamachi K, Toyozumi-Ajisaka H, et al: Marked difference between adults and children in *Bordetella pertussis* DNA load in nasopharyngeal swabs. Clin Microbiol Infect, **17**: 365-370, 2011.
- 7) 辻祐一郎: 百日咳の最新動向と予防の重要性. 日本臨牀 **67**: 2207-2212, 2009.
- 8) 岡田賢司: わが国の予防接種—新しい制度の紹介と今後の展望 疾病に対する取り組み 成人百日咳流行に伴う問題と対策. 臨床と微生物 **36**: 29-34, 2009.
- 9) 国立感染症研究所: 菌凝集素価法を用いた百日咳血清診断について. 病原微生物検出情報 **32**: 236-237, 2011.
- 10) 国立感染症研究所: 百日咳に関するファクトシート (平成22年7月7日版), 2010.
- 11) Templeton KE, Scheltinga SA, van der Zee A, et al: Evaluation of real-time PCR for detection of and discrimination between *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, and *Bordetella holmesii* for clinical diagnosis. J Clin Microbiol **41**: 4121-4126, 2003.
- 12) Bamberger E, Lahat N, Gershtein V, et al: Diagnosing pertussis: the role of polymerase chain reaction. Isr Med Assoc J **7**: 351-354, 2005.
- 13) Oguchi K, Miyata A, Kazuyama Y, et al: Detection of antibodies against fimbria type 3 (Fim3) is useful diagnostic assay for pertussis. J Infect Chemother **21**: 639-646, 2015.
- 14) Fujino M, Suzuki E, Watanabe M, et al: Loop mediated isothermal amplification (LAMP) detected pertussis genome from patients suspected of pertussis. Jpn J Infect Dis, 2015 Aug 7. [Epub ahead of print]