

資料

## 神奈川県域の定点調査における 百日咳菌の検出状況 (平成19年度)

高橋智恵子, 大屋日登美, 渡辺祐子, 岡崎則男

### Surveillance of *Bordetella pertussis* in Kanagawa Prefecture (April, 2007~March, 2008)

Chieko TAKAHASHI<sup>1</sup>, Hitomi OHYA<sup>1</sup>,  
Yuko WATANABE<sup>1</sup> and Norio OKAZAKI<sup>1</sup>

百日咳の発生は、世界各国でワクチン接種が普及するとともに激減しているが、近年、先進諸国ではワクチン接種の効果が減弱した青年・成人層での百日咳罹患が新たな問題となっている。わが国においても2002年以降成人患者の罹患率が上昇傾向にあり、2007年には大学での百日咳集団感染が発生している<sup>1)</sup>。

百日咳は百日咳菌 (*Bordetella pertussis*) の感染により引き起こされる小児の急性呼吸器感染症であり、その感染経路は、鼻咽頭や気道からの分泌物による飛沫感染および接触感染である。この疾患は厚生労働省の感染症発生動向調査事業実施要項において5類感染症の小児科定点把握疾患とされており、全国的な調査が進められている。当研究所においても神奈川県域の小児科病原体定点医療機関から送付される検体について、培養および遺伝子診断法による検査を実施している。2006年以前は、送付される検体数も少なく、この数年間は検出例も無かったが、2007年には検体数が急増し、検出例も見られたのでその検出状況を報告する。

検体は、2007年4月より2008年3月までに県域内病原体定点医療機関において、百日咳を疑われた患者より採取された咽頭ぬぐい液22検体、鼻腔ぬぐい液51検体および由来不明6検体の計79検体であった。これらの検体はカルチャースワブチャコール (ベクトン・ディッキンソン) を用いて採取され、検査時まで-40℃に保存した。患者の年齢分布は15歳以下が47名で全体の約6割を占

神奈川県衛生研究所 微生物部  
〒253-0087 茅ヶ崎市下町屋1-3-1  
chieko.vvme@pref.kanagawa.jp

めたが、成人を含む広い範囲 (0~66歳) におよび、性別は男性28名、女性51名であった。また、検体数は8月より急増した。

百日咳菌の検出は、培養法および遺伝子診断法で行った。培養法は、ボルデー・ジャング培地を使用して実施するのが定法であるが、分離率は低いとされ、遺伝子診断法による検出に期待が寄せられている。本菌の遺伝子診断法には Polymerase chain reaction (PCR) 法と Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法があるが、当所では前者を利用しており、百日咳菌DNAの挿入塩基配列IS481を標的にした方法 (IS481-PCR)<sup>2)</sup> と百日咳毒素遺伝子を標的にした方法 (PTp1/p2-PCR)<sup>3)</sup> を実施している。これら両法の感度を調べた結果、IS481-PCRがPTp1/p2-PCRよりも100倍高かった (図1)。IS481は染色体DNA上に50~250コ

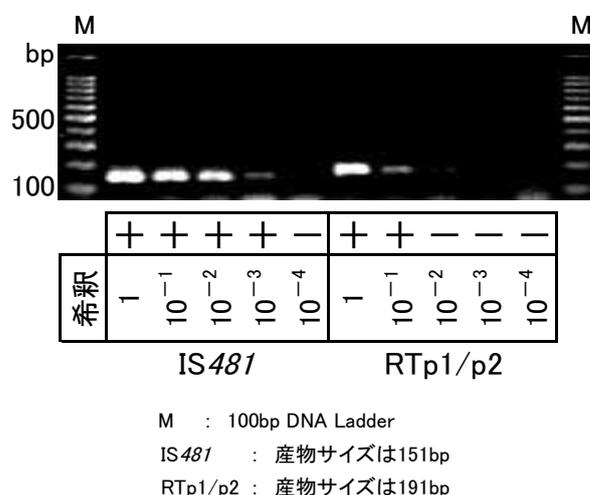


図1 IS481-PCRとPTp1/PTp2-PCRの感度の比較

ピー存在するため感度は高いが、他の *Bordetella* 属細菌にも存在するため、これを標的にしたPCR法は特異性に欠ける。一方、PTp1/p2-PCRは百日咳菌の毒素遺伝子を標的にしているのもので特異的ではあるものの、上述のように十分な感度が得られない。これらのことから、感度の高いIS481-PCRは検体からの直接検出に、特異性の高いPTp1/p2-PCRは百日咳菌の同定に用いることとし、以下のように検査を実施した。

検体をボルデー・ジャング培地に塗抹し、3日目以降に発育してきた百日咳菌様コロニーから抗百日咳菌血清 (デンカ生研) によるスライド凝集反応およびPTp1/p2-PCRを実施して同定した。また、検体から直接DNAを抽出し、IS481-PCR法に利用した。

以上の方法で実施した結果、培養法およびIS481-PCR法ともに79検体中3検体 (3.8%) が陽性であった。検体

は、検査時まで-40℃に保存されたが、今回の陽性検体はいずれも12日間凍結保存されたもので、ある程度の期間は検体を凍結保存しても菌分離が可能と思われた。また、培養法とPCR法の検出例が一致していたことから、菌が死滅していないことが示された。

百日咳は春から夏が流行のシーズンといわれているが、19年度は8月から検体が急増し、秋から冬にかけて多少減少したものの、再び春先に検体の増加がみられた。菌検出は3月に提出された検体からの3検体のみであった(図2)。その3検体の患者年齢は5、6および7歳の小児で、5歳と7歳は姉妹で同時期の感染であった(表1)。検体は鼻腔ぬぐい液の方が咽頭ぬぐい液より雑菌の混入が少ない傾向があり、平板上のコロニー観察を容易に行うことができた。今回の陽性例はすべて鼻腔ぬぐい液由来であった。

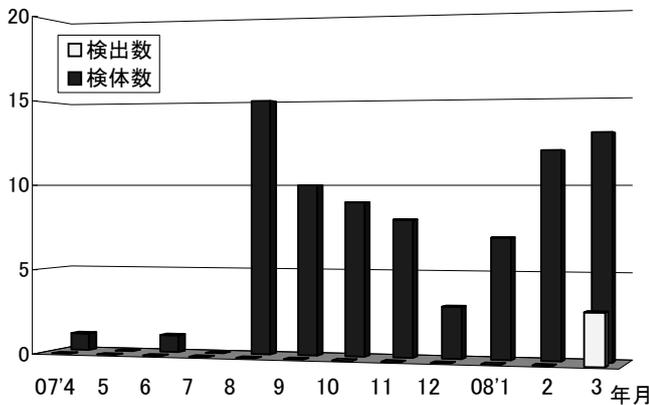


図2 月別百日咳菌検体数と検出数

表1 年齢別百日咳菌の検出数

年齢	検体数	検出数
0	2	0
1	8	0
2	4	0
3	5	0
4	8	0
5	4	1
6	4	1
7	4	1
8	5	0
9	0	0
10	0	0
11~15	3	0
16~20	2	0
21~30	4	0
31~40	17	0
41~50	3	0
51~60	3	0
61~70	3	0
計	79	3

百日咳は、7から10日程度の潜伏期を経て発症し、約2週間の風邪症状(カタル期)が続き、この時期の後半に高率に菌が検出されるが、以後、病日を追うごとに検出率は低下していくとされている<sup>4)</sup>。今回の検体採取時期は第1病日から第60病日で、52検体(65.8%)が発病1週間以内であった(表2)。菌検出陽性の3検体は第14、30および60病日に採取されており、長期間経過後に菌が検出されている例も見られた。したがって、百日咳菌の検出率は検体採取の病日を配慮することで上がると考えられた。同時に、少ない菌量を検出するために検出感度の向上を図ることにより改善される可能性があり、今後、LAMP法等の高感度遺伝子検出法への取り組みも必要と考えられた。

表2 病日別百日咳菌の検出数

病日	検体数	検出数
1	36	0
2	3	0
3	3	0
4	1	0
5	2	0
6	4	0
7	3	0
8	1	0
9	3	0
10	2	0
11~20	10	1
21~30	9	1
31~40	0	0
41~50	1	0
51~60	1	1
計	79	3

百日咳は、青年および成人においては軽症例が多いため百日咳と診断されないまま、ワクチン接種をしていない乳幼児への感染源となることも懸念されている。しかし、本疾患は感染症発生動向調査において小児科定点把握となっているため、小児以外における発生を正確に把握することができない現状にある。今回もすべて小児科定点からの検体であったが、百日咳が疑われる成人からの検体が多く含まれていた。これら成人からの検出陽性例はみられず、確認することはできなかったが、知らないうちに感染源にならないためにも、小児だけの調査に留まらず、百日咳の調査は成人を含めたものとしていく必要があると思われた。

## 謝 辞

検体の収集にご協力いただきました小児科定点医療機関の方々に深謝いたします。

(平成20年7月28日受理)

## 参考文献

- 1) 鎌野 寛, 森 知美, 前田 肇, 岸本伸人, 形見智彦, 佐藤 誠ほか: 香川大学における百日咳感染事例, 病原微生物検出情報, 29, 68-69 (2008)
- 2) Ditte, M. D. , Birthe, D., Jesper, M. and Jensen, J. S. : Comparison of culture and PCR for detection of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* under routine laboratory conditions, J. Bacteriol., 53, 749-754 (2004)
- 3) 蒲池一成, 近田俊文, 落合雅樹, 山本昭彦, 堀内善信, 荒川宣親ほか: 百日咳, 病原体検出マニュアル, 国立感染症研究所, 衛生微生物技術協議会レファレンス委員会編, pp1002-1025 (2003)  
<<http://www.nih.go.jp/niid/reference/pathogen-manual-60.pdf>>
- 4) 多田有希, 岡部信彦: 感染症の話, 百日咳, 感染症週報, 5(36)12-15 (2003)  
<<http://idsc.nih.go.jp/idwr/kanja/idwr/idwr2003-36.pdf>>