

原 著

肺炎マイコプラズマ感染症における各種診断検査の有用性の検討

上越総合病院、検査科；臨床検査技師¹⁾、小児科；小児科医²⁾

藤田 勝嘉¹⁾、柴田 桜¹⁾、小池 芳一¹⁾、土谷 修一²⁾

目的：測定原理の異なる2種類の肺炎マイコプラズマ抗原迅速検査と血清抗体測定検査を比較し、どの検査方法が肺炎マイコプラズマ感染症の診断に有用であるかを検討する。

対象と方法：当院小児科の肺炎マイコプラズマ感染症疑いの患者を対象とし、咽頭後壁ぬぐい液、血液を採取した。それらの検体を用いて、肺炎マイコプラズマ抗原検査、血清抗体価をPA法で測定し、同時採取したLAMP法でのデータを基準として比較検討を行った。

結果：1. LSIメディエンス社の肺炎マイコプラズマ抗原検査試薬であるプロラスト Myco はLAMP法を基準とした感度が18.1%となり、添付文章に記載されている感度の79.5%を著しく下回った。
2. ミズホメディー社の銀増幅IC法を測定原理としたQC AUTO Myco では感度87.1%、特異度100%、一致率96.9%と良好な結果が得られた。
3. 血清抗体価 (PA法) の単回測定とLAMP法との比較感度は17.2%であった。
4. 特異的IgM抗体検査とLAMP法の比較はn=7であったが、感度50%、特異度40%であった。

考察：銀増幅IC法によるMp抗原検査であるQC AUTO Myco は、読み取り装置への初期投資は必要であるが、LAMP法との一致率も96.9%と非常に高く、Mp感染症の迅速診断に有用な検査であると思われた。

キーワード：銀増幅イムノクロマトグラフィー法、肺炎マイコプラズマ抗原迅速検査

緒 言

Mycoplasma pneumoniae (肺炎マイコプラズマ；以下Mp) は、若年層に好発する上気道～下気道感染症の起因菌であり、わが国では市中肺炎の起因菌として上位3菌種に含まれる。

本菌はβラクタム系薬は無効であるため、的確な診断と治療が必要となる。

従来では、PA法などの血清抗体価を調べる方法が主流であったが、PA法は確実な診断のためには急性期と回復期のペア血清が必要である。また、特異的IgM抗体測定法 (イムノカードテストマイコ) は、判定が必

ずしもマイコプラズマ感染症の診断に直結するものではないことが指摘されており (1,2,3)、確定診断に使用するには不確実な検査といわざるを得ない。

近年、これら血清診断に次ぐ検査として抗原迅速検査が保険適応となり複数社から販売されている。しかしながら、これら抗原検査キットも、感度・特異度共に十分とは言えず、性能面での改善が望まれている。

現在、肺炎マイコプラズマの診断基準としては日本マイコプラズマ学会、小児科呼吸器感染症ガイドラインでLAMP法による遺伝子検出が推奨されており、Gold Standardとなっている。

しかし、当院ではLAMP法は外注であるため、結果を得るために3～6日程度要し、迅速に診断を行うことができない。

今回、我々は従来のイムノクロマトグラフィーを測定原理とした迅速抗原検査キットと、その代替検査として、新たに販売となった銀増幅イムノクロマトグラフィーを原理とした迅速抗原検査キットの2種類の迅速抗原検査キットを使用する機会を得た。また、それらと同時に採取したLAMP法検体と、採取した血液から血清抗体価 (PA法) の検査を行うこととした。

対 象 と 方 法

対象は当院小児科外来を受診し、マイコプラズマ肺炎感染症が疑われた患者検体とした。

各患者より、咽頭後壁ぬぐい液 (LAMP法専用スワブと迅速Mp抗原専用スワブ) 及び血液を採取し、各検査を行った。

LAMP法を基準として各検査との比較検討を行った。検討に用いた検査試薬名を表1に示す。

尚、Mp特異的IgM抗体検出試薬であるイムノカードテストマイコは特異性の問題等 (1,2,3,4) から、現在、当院小児科では使用されていないため、過去の検査結果を元にデータを算出した。

結 果

1. 2016年4月～同年11月までの期間において、イムノクロマトグラフィー法を原理としたマイコプラズマ抗原検査試薬であるLSIメディエンス社のプロラスト Myco の検討を行った。同検査とLAMP法の比較結果を表2に示す。(n=189) (5)

2. 2016年12月~2017年5月の期間、銀増幅イムノクロマトグラフィー法のミズホメディー社のQC AUTO Myco で抗原検査の検討を行った。結果を表3に示す。(n=117)(5)

LAMP法との比較で感度87.1%、特異度100%、一致率96.6%と良好な結果を得た。この値は、メーカーの添付文章における感度87.5%と同等であった。

3. PA法の単回測定の結果を表4に示す。(n=164)

PA法のカットオフは厚生労働省のマイコプラズマ肺炎の届け出基準(6)の、単回測定での基準の320倍とした。

PA法のLAMP法との比較では感度17.2%、特異度は96.2%であった。

4. PCR法とLAMP法との相関を確認するため、両データの比較を行った。結果を表5に示す。(n=21)

PCR法とLAMP法は96.8%の一致率を示した。

5. Mp特異的IgM抗体検出試薬であるイムノカードテストマイコプラズマとLAMP法との比較結果を表6に示した。(n=7)この値は、2013年~2016年の間に、LAMP法と同時測定されていたデータから算出したものであるが、n数が少なく、参考値程度であるが、感度50%、特異度40%、一致率は42.9%であった。

考 察

LSIメディエンス社のプロラスト Myco は、メーカー公表の感度の79.5%を大きく下回る18.1%の感度という結果となった。メーカーの公表値との乖離の原因は不明であるが、公表値には疑問が残る。咽頭後壁部から検体採取しなければならぬ難しさもあるが、この試薬に限らず、他のIC法を原理とした抗原検査試薬でも、添付文章よりも極端に感度が低いという報告もあり、試薬を選択する際には注意が必要である。この試薬の感度ではMp感染症を見逃す可能性が高いことが示唆された。

LAMP法とPCR法の一致率は96.8%と高く、LAMP法はPCR法に匹敵する方法であることが確認された。

また、従来より使用されているPA法の感度は17.2%でPA法単回測定のみでの確定診断は難しいことが示唆された。

また、特異的IgM抗体検出試薬は、20分程度で結果は出るものの、急性期での偽陰性や抗体価の持続による擬陽性、目視判定の難しさ(2)など他の複数の文献から散見される(1,3,6)ように、特異性に乏しく、確定診断には不向きであることが示唆される。

QC AUTO Myco 銀増幅IC法は他のマイコプラズマ抗原検査試薬と違い、LAMP法との一致率が96.9%非常に高く、診断に有用な検査だと思われた。

結 語

LAMP法との比較で最も優れていた検査は、銀増幅イムノクロマトグラフィーを原理とする、ミズホメディー社のQC AUTO Myco となった。この試薬は標識抗体にAgを付着させ、ターゲットを増大することにより感度の増幅を図っている。また、このメーカーが販売する他の迅速検査にも使用できる読取装置によ

る自動読み取りであるため、目視判定の煩わしさや個人差がない。読み取り装置(富士フイルム製)への初期投資(約5万円)は必要であるが、感度、特異度ともにLAMP法に匹敵し、20分程度で結果を得ることができる。この検査キットが、肺炎マイコプラズマ感染症の診断に最も有用性が高い検査であると考えられた。

今回の検討を通じ、我々は、添付文章などのデータが臨床データと乖離することがしばしばあることを事実として受け止めなければならない。第三者の適切な評価や、自らの検討の必要性を強く感じた。

また、医師に、これら診断補助試薬の感度や特異性などの情報も提供し、正確な診断ができるようサポートしていく責務があると感じた。

利益相反の有無：なし

文 献

1. 成田光生. 肺炎マイコプラズマ感染症の血清学的診断法. 臨床とウイルス 2013; 41: 294-301.
2. 田中敏博. 特集:マイコプラズマ感染症一再流行に備えて 検査法の進歩と有用性—迅速診断法. 小児科 2017; 56(6): 769-73.
3. 鈴木英太郎, 斉藤しほ, 三原友美, 木村友美. マイコプラズマ感染症におけるIgM抗体迅速検査の意義. 外来小児科 2006; 9(2): 178-80.
4. 下澤克宜他. 小児肺炎マイコプラズマ感染症診断におけるIgM抗体迅速検査の臨床的検討. 小児科臨床 2016; 69: 879-85.
5. 加藤康幸. 迅速診断検査の感度と特異度. Medical Practice 2009; 26(7): 1121-7.
6. 厚生労働省. 感染症法によるマイコプラズマの届出基準. <https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou11/01-05-38.html>

英 文 抄 録

Original article

Investigation of usefulness of various diagnostic tests for *Mycoplasma pneumoniae* infections

Joetsu General Hospital, Clinical laboratory; Medical technologist¹⁾, Department of Pediatrics; Medical Doctor²⁾ Katsuyoshi Fujita¹⁾, Sakura Tanaka¹⁾, Yoshikazu Koike¹⁾, Syuuichi Tsuchiya²⁾

Objective: We compare two types of *Mycoplasma pneumoniae* antigen detect rapid test and serum antibody measurement test which have different measurement principles and examine which test method is useful for diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection.

Study design: In our hospital pediatrics pediatric patient suspected of infection with *Mycoplasma pneumoniae*, pharyngeal posterior wall wiping fluid, blood was collected. Using these specimens, *Mycoplasma pneumoniae* antigen detect test and serum antibody titer were measured by the PA method and compared

and examined based on the data obtained by the simultaneous sampled LAMP method.

- Result : 1. PRORAST Myco which is a reagent for Mycoplasma pneumoniae antigen detect testing by LSI Mediens Co.Ltd. has a sensitivity of 18.1% based on the LAMP method, which is significantly lower than the sensitivity of 79.5% described in the attached text.
2. Good results were obtained with QC AUTO Myco with the sensitivity of 87.1%, specificity 100% and concordance rate 96.9% using the silver amplification immunochromatography method of MIZUHO mediens Co., Ltd. as the measurement principle.
3. The comparative sensitivity between the single measurement of the serum antibody titer (PA method) and the LAMP method was 17.2%.

4. Comparison of the specific IgM antibody test with the LAMP method was n = 7, but the sensitivity was 50% and the specificity was 40%.

Discussion : QC AUTO Myco which is the Mycoplasma pneumoniae antigen detect test by the silver amplification immunochromatography method requires initial investment in the reading device, but the coincidence rate with the LAMP method is very high, 96.9%, which is useful for rapid diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection. It seemed to be an examination.

Key words : silver amplification immunochromatography method, Mycoplasma pneumoniae antigen detection rapid test

表1. 検討に使用したマイコプラズマ診断試薬

方法	検査試薬名	材料	所要時間	測定場所
PA法	セロディア II-Myco	血清	3時間	院内
迅速IgM抗体検出	イムノカードテストマイコ	血清	20分程度	院内
LAMP法	栄研化学(外注)	咽頭ぬぐい液	3-6日	外注
迅速抗原検出	プロラスト Myco	咽頭ぬぐい液	20分程度	院内
	QC AUTO Myco			

表2. LAMP法とプロラストマイコの比較

n=189		LAMP法			
		陽性	陰性	合計	
プロラスト Myco	陽性	13	1	14	感度: 13/72 18.1%
	陰性	59	116	175	特異度: 116/117 99.1%
	合計	72	117	189	一致率: 119/189 11.2%

表3. LAMP法とQC AUTO Mycoの比較

n=117		LAMP法			
		陽性	陰性	合計	
QC AUTO Myco	陽性	27	0	27	感度: 27/31 87.1%
	陰性	4	86	90	特異度: 86/86 100.0%
	合計	31	86	117	一致率: 114/117 96.6%

表4. LAMP法とPA法の比較

n=164		LAMP法			
		陽性	陰性	合計	
PA法	320倍以上	10	4	14	感度: 10/58 17.2%
	320倍未満	48	102	150	特異度: 102/106 96.2%
	合計	58	106	164	一致率: 112/164 68.3%

表5. LAMP法とPCR法の比較

n=21		PCR法			
		陽性	陰性	合計	
LAMP法	陽性	11	0	11	感度: 11/12 91.7%
	陰性	1	19	20	特異度: 19/19 100.0%
	合計	12	19	31	一致率: 30/31 96.8%

表6. LAMP法とイムノカードマイコの比較

n=7		LAMP法		
		陽性	陰性	合計
イムノカードマイコ	陽性	1	3	4
	陰性	1	2	3
	合計	2	5	7

感度50%、特異度40%、一致率42.9%

本論文で使用した略語一覧

LAMP法	Loop-mediated isothermal amplification	ループ介在等温増幅法（栄研化学が独自に開発した遺伝子核酸増幅法）
MP	Mycoplasma Pneumoniae	肺炎マイコプラズマ
IC法	immunochromatography method	免疫クロマトグラフィー法
PA法	Particle agglutination method	粒子凝集反応
PCR法	Polymerase chain reaction	ポリメラーゼ連鎖反応（遺伝子核酸増幅法）