

抗原迅速診断を どのようにもちいるか

山辺こどもクリニック 板垣 勉

葛飾区医師会感染免疫懇話会2017.3.12.

病原体の診断には

1) 直接的証明法

a) 遺伝子学的検索法

(PCR法, LAMP法, IGRAなど)

b) 分離培養法

Golden standard

c) イムノクロマト法を利用した 抗原迅速診断法

2) 間接的証明法

a) 抗体価測定

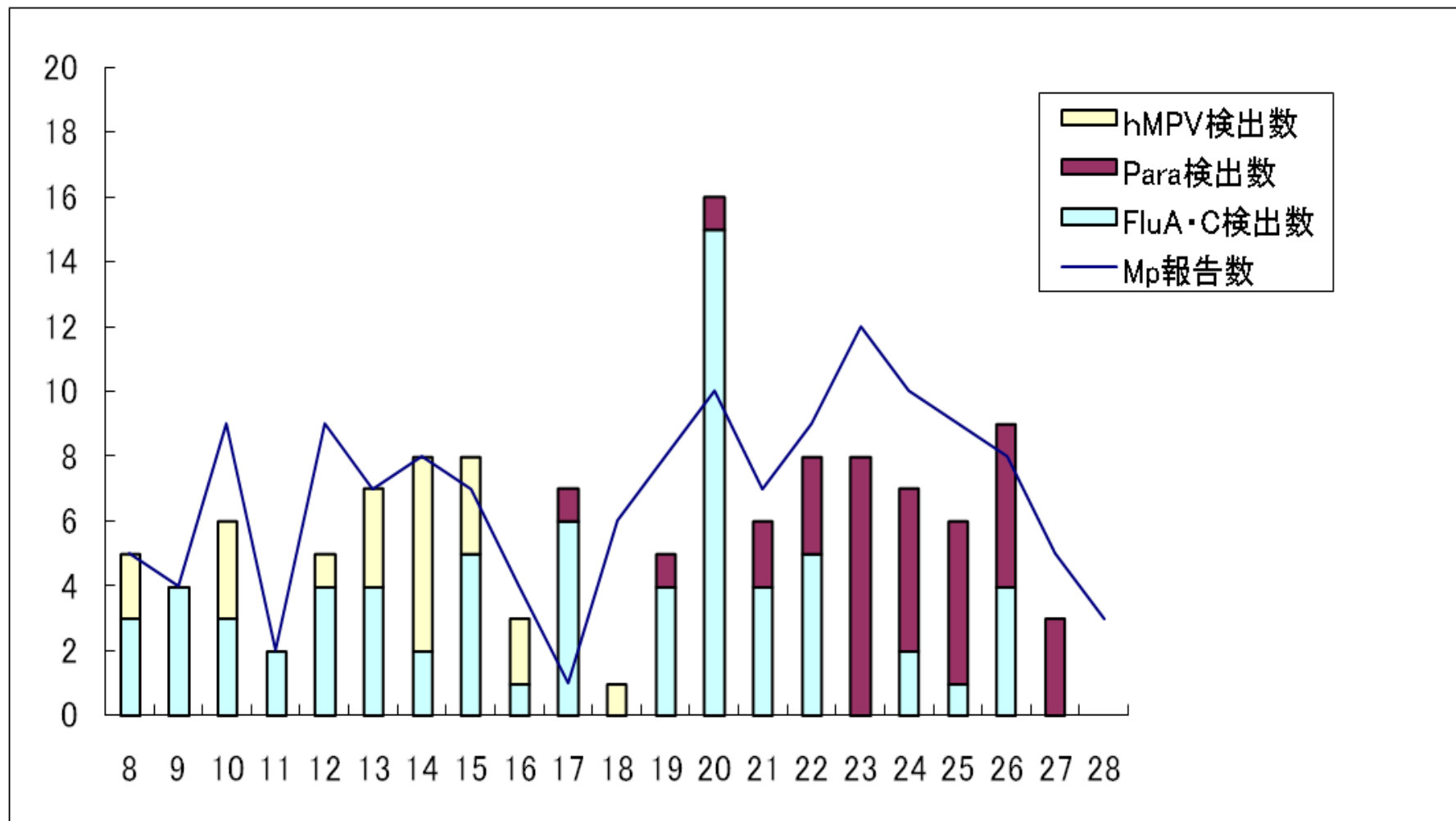
抗体測定法による問題点

感染した事実の**間接的証明**にはなるが
感染症の病原体として直接証明しているわけではない



その病原体によって起きた症状として妥当なのか
同様な症状を引き起こす他の病原体の否定が必要

マイコプラズマ肺炎報告数と気道感染ウイルス検出数 － 2004年第8週～28週 －

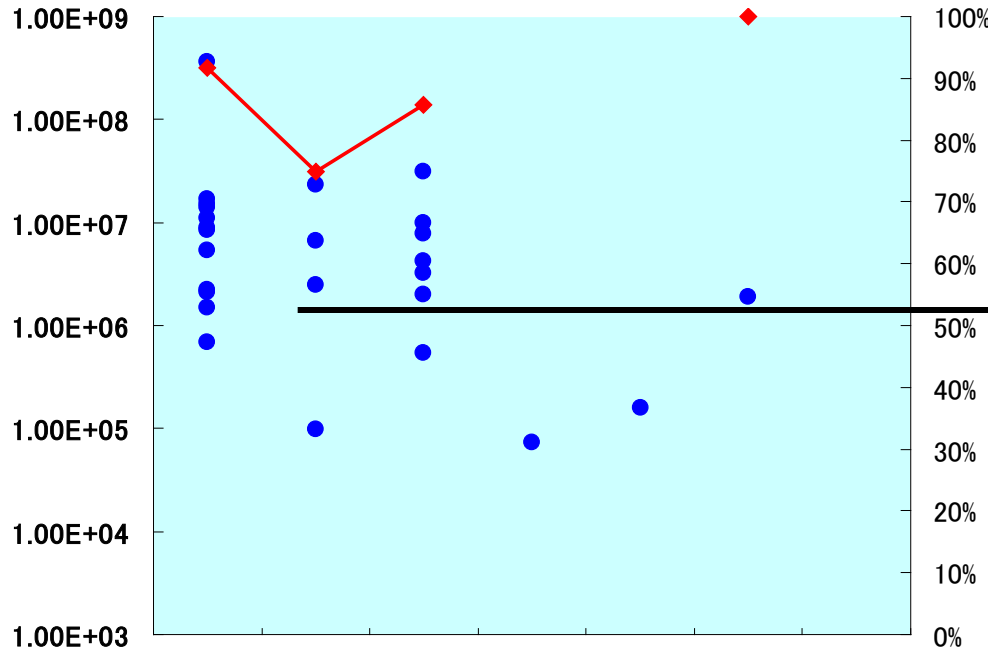


Mp感染時のMp細胞数

—PA抗体価とMp細胞数—

26例

cells/ml



10⁶cells/ml
以上の割合

PA抗体価	検体数	PCR+	培養+
<40	26	12	12
*40	9	4	4
*80	9	7	7
*160	1	1	1
*320	3	1	2
*640	2	1	1
*1280	1	—	1
計	51	26	28

慢性咳嗽診断との
利用は？

PA抗体価

	<40	*40	*80	*160	*320	*640	*1280
10 ⁶ cells/ml以上	11/12 91.7%	3/4 75.0%	6/7 85.7%	0/1	0/1	1/1 100%	0/0
10 ⁴	(-)	9.9	(-)	7.4	(-)	(-)	(-)
10 ⁵	6.9	(-)	5.4	(-)	1.6	(-)	(-)
10 ⁶	1.5 2.1 2.2 5.4 8.5 9.0	2.5 6.6	2.0 3.2 4.2 7.8 9.8	(-)	(-)	1.9	(-)
10 ⁷	1.1 1.4 1.5 1.7	2.3	3.1	(-)	(-)	(-)	(-)
10 ⁸	3.6	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

2014年ある脳外科開業医が筋力低下を起こした2例を 某大学病院に紹介・その結果をエムスリーに報告

抗体価の上昇からパラインフルエンザ3型によると診断
同地区で数年前にも同じ症例が多発していたとコメント。
毎年流行するHPIV3によるものならば毎年類似症例が
出ないのか？(抗体測定法の落とし穴)

成人の流行性筋痛症を起こすものとしてHPeV-3がHPIV-3
と同時期に流行するので診断が異なる可能性を指摘



同時期にやはりHPeV3の流行が全国的に流行
(2016年夏に小流行,今年が本流行するかも！)

確実な診断は病原体の存在を確認すること



遺伝子学的検索・分離培養法・抗原迅速診断

混合感染例の存在 遺伝子学的検索法では非常に多い
プライマーの問題 病原体の排泄期間の問題など

主とする病原体の確認

リアルタイムPCR法で病原体数を確認する
(抗原迅速診断は一定数以上で陽性化)

臨床症状を説明できる→**臨床疫学の知識**が必要

診断法のメリット・デメリット

	遺伝子検索法	分離培養法	病原体迅速診断
遺伝子数(コピー数)	10^1	10^4	$10^3 \sim 10^5$
網 羅 性	+++ (限度あり)	++ (細胞親和性限度あり)	無
混 合 感 染	+++	++	無
妥 当 性	++	+++	+++
コ ス ト	高コスト	低コスト	低コスト
施 設 と 人 材	必要	必要	何処でも
迅 速 性	あり	数週間	その場で



抗原迅速診断使用の目的

- 1) 病原体を臨床現場で診断
 - 治療に直結
 - 不必要な検査を排除
 - 病態と経過を予測
- 2) 流行の確認
 - 治療・予防対策に

抗原迅速診断使用の目的

施設・家族ごとに異なるニード

高齢者, 低年齢児など弱者の存在

都会・地方での異なるニード

都会: 漠然とした流行, 個人として

地方: 明確な流行, 集団として

抗原迅速診断の対象となる病原体

- 1) 安全性:検査者の安全,被検者の偽陰性の問題
- 2) 治療薬の有無
- 3) 重症化しやすい
- 4) 大きな流行を引き起こす
- 5) 短い排泄期間(混合感染の問題)

偽陽性・偽陰性が起きてもあまり問題にならない病原体

抗原迅速診断の精度について(チェックhMPV)

		A clinic			B clinic			C clinic		
		RT-PCR法			RT-PCR法			RT-PCR法		
SAS test		+	－	計	+	－	計	+	－	計
	+	39	5	44	3	0	3	9	5	14
	－	6	75	81	5	41	46	0	36	36
	計	45	80	125	8	41	49	9	41	50

感 度	39/45	86.7%	3/8	37.5%	9/9	100%
特異度	75/80	93.8%	41/41	100%	36/41	87.8%
一致率	114/125	91.2%	44/49	89.8%	45/50	90.0%

	A clinic	B clinic	C clinic
感度	86.7%	37.5%	100%
特異度	93.8%	100%	87.8%
全体一致率	91.2%	89.8%	90.0%

A clinic: 通常判断

B clinic: 確実に見えるものを陽性と判断

C clinic: 見逃さないように注視して判断

視的判定誤差は医療機関のスタンスで大きく異なる

デンストメトリー分析装置値(リーダー値)と目視判定

Kit No.	リーダー値	A	B	C	D	E	F	G	+	±	-
14	53	+	+	+	+	+	+	+	7	0	0
19	53	+	+	+	+	+	+	+	7	0	0
7	51	+	+	+	+	+	+	+	7	0	0
18	25	+	±	+	+	+	+	+	6	1	0
6	23	+	+	+	±	+	+	+	6	1	0
13	23	+	+	+	+	+	+	+	7	0	0
17	20	±	±	+	±	+	+	±	3	4	0
5	19	±	±	+	±	+	+	±	3	4	0
12	19	+	+	+	+	+	+	+	7	0	0
11	16	±	±	+	±	+	+	±	3	4	0
4	14	±	±	+	±	+	+	+	3	4	0
3	12	±	±	+	±	+	+	+	4	3	0
10	12	±	±	+	±	+	±	±	2	5	0
16	6	-	-	±	-	-	-	-	0	1	6
9	5	-	-	-	-	-	-	-	0	0	7
2	3	-	-	-	-	-	±	-	0	1	6
1	0	-	-	-	-	-	-	-	0	0	7
8	0	-	-	-	-	-	-	-	0	0	7
15	0	-	-	-	-	-	-	-	0	0	7

+:誰でもみえる ±:見えるが、他人はどうか不安 誤判定リスク(4/133、3.0%)
 見える限界はほとんど同じと考えられる。規定時間内なら±までが陽性として考える。

抗原迅速診断の精度表示

CFU (colony forming unit): 溶連菌迅速診断

TCID₅₀(50% tissue culture infective dose:50%組織培養感染量)
分離が可能なウイルスでおこなわれる評価法:
インフルエンザなど

病原体粒子数:新しい評価法

リアルタイムPCR法で病原体数を確認

いずれも低い値ほどキットの性能が良いといわれている指標

使用者が理解しやすく

同一基準の評価法である必要性

抗原迅速診断にもちいられる検体

鼻咽腔拭い液：インフルエンザ,RSウイルス,
ヒトメタニューモウイルス

吸引液：上記のほかアデノウイルスは
咽頭拭い液と精度に変化なし

咽頭拭い液：溶連菌,アデノウイルス,肺炎マイコプラズマ

尿：レジオネラ,肺炎球菌

便：ロタウイルス,アデノウイルス,ノロウイルス

鼻汁吸引液でわかる感染症

粘性：強 RSウイルス,ヒトメタニューモウイルス,ライノウイルス

量：多 RSウイルス,ヒトメタニューモウイルス(年齢で異なる)
ライノウイルス

少 アデノウイルス 黄色のカス様吸引物
パラインフルエンザ,インフルエンザ
(アレルギー性鼻炎の有無により異なる)

無 肺炎マイコプラズマ

色：黄緑色 ライノウイルス

黄色 インフルエンザ,パラインフルエンザ
アデノウイルス

透明~白色 RSウイルス,ヒトメタニューモウイルス

採取方法(鼻咽腔吸引液・拭い液)とhMPV量

年齢	検査日	体温	迅速診断	吸引液 (copies/ml)	拭い液 (copies/ml)	吸引液/拭い液
1	2日	38.6	2+	2.55×10^6	2.85×10^5	8.95
6	2日	37.4	2+	1.45×10^6	2.22×10^5	6.53
0	2日	37.5	—	2.27×10^4	3.61×10^3	6.29
4	3日	38.4	2+	4.23×10^6	2.19×10^6	1.93
1	2日	39.1	2+	2.09×10^6	2.03×10^6	1.03
2	2日	37.3	2+	8.59×10^4	9.39×10^4	0.91
0	5日	38.8	2+	5.73×10^4	3.68×10^5	0.16
11	1日	37.8	1+	5.01×10^2	4.35×10^3	0.12
0	1日	38.1	1+	1.98×10^3	検出せず	

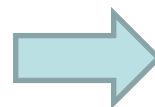
吸引液 > 拭い液 5 / 9 吸引液 = 拭い液 2 / 9 吸引液 < 拭い液 2 / 9
 吸引液のウィルス量は拭い液とほぼ同じか多い傾向がある。

鼻咽腔拭い液
粘性の強い鼻汁を避ける
(できるだけサラサラした鼻汁を)

鼻をかませる



綿棒を適切な位置へ挿入
放置
検体採取



鼻ムズムズ



サラサラした鼻汁

綿棒を鼻前庭に置き
鼻を再度かませる
出てきた粘性の弱い鼻汁も採取して検体に

鼻咽腔吸引液

ニプロ10Fr.吸引カテーテルを使用
低年齢児における鼻閉の改善という治療側面も
(RSV,hMPV,ライノウィルスなど)

サーベランス定点としての検体提出 1回で終了

採取吸引液に綿棒を浸し吹き付けも
検体の粘性が高くなるため抽出液は量の多いもの
検体採取量が少ない時には抽出液でWash outして
啼泣時に涙で薄くなる可能性あり手短に採取を

便検体

アデノウイルス,ロタウイルスでは激しい下痢で来院する
→直接直腸拭い液で診断可能

ノロウイルスでは嘔吐後の来院が多く排便がないことも
(小腸での麻痺による小腸ガス像と
胃の拡張したガス像が特徴)
浣腸しても普通便が最初に排泄される！

→ 直腸拭い液では偽陰性が多い
下痢便を利用する必要性

精度を上げるには(企業側の努力) 抗原の選定と標識の工夫

抽出液を減らす・・・抗原濃度を上げる
(積水メディカル, アルフレッサファーマなど)
採取検体の問題(ドロドロor サラサラ)

標識の増幅法・・・金粒子標識の銀増幅
(富士フィルム) キャッチコピーに迷わないで

抗原の選択・・・リボゾームに対する抗体
(旭化成ファーマ)

抗原迅速診断の企業側努力

機械(デンシトメトリー)による判定
各社で発売

1flowで多種類抗原判定(代替え請求の問題)
積水メディカル, アルフレッサファーマ
RSV + AdV or Flu

同一抽出液で多種類抗原判定
タウンズ(AdV, Flu, RSV, hMPV)
明治製菓ファーマ(RSV, hMPV)

➡ 医療機関のメーカーによる囲い込み

精度を上げるには 医療機関側

検体採取時期(ウイルスの排泄期間)

採取する人(医師,看護師,検査技師など)

拭い液,吸引液?

検体採取本数を1本から複数に

精度を上げるには 医療機関側

目視判定と機械判定

目視判定で偽陰性が不安なら
数分おいて判定

流行期(精度アップ) 慣れ

非流行期(偽陽性,偽陰性の増加) 心理の影響

病原体の排泄期間

RSV : 6日以降減少

hMPV: 5日以降減少

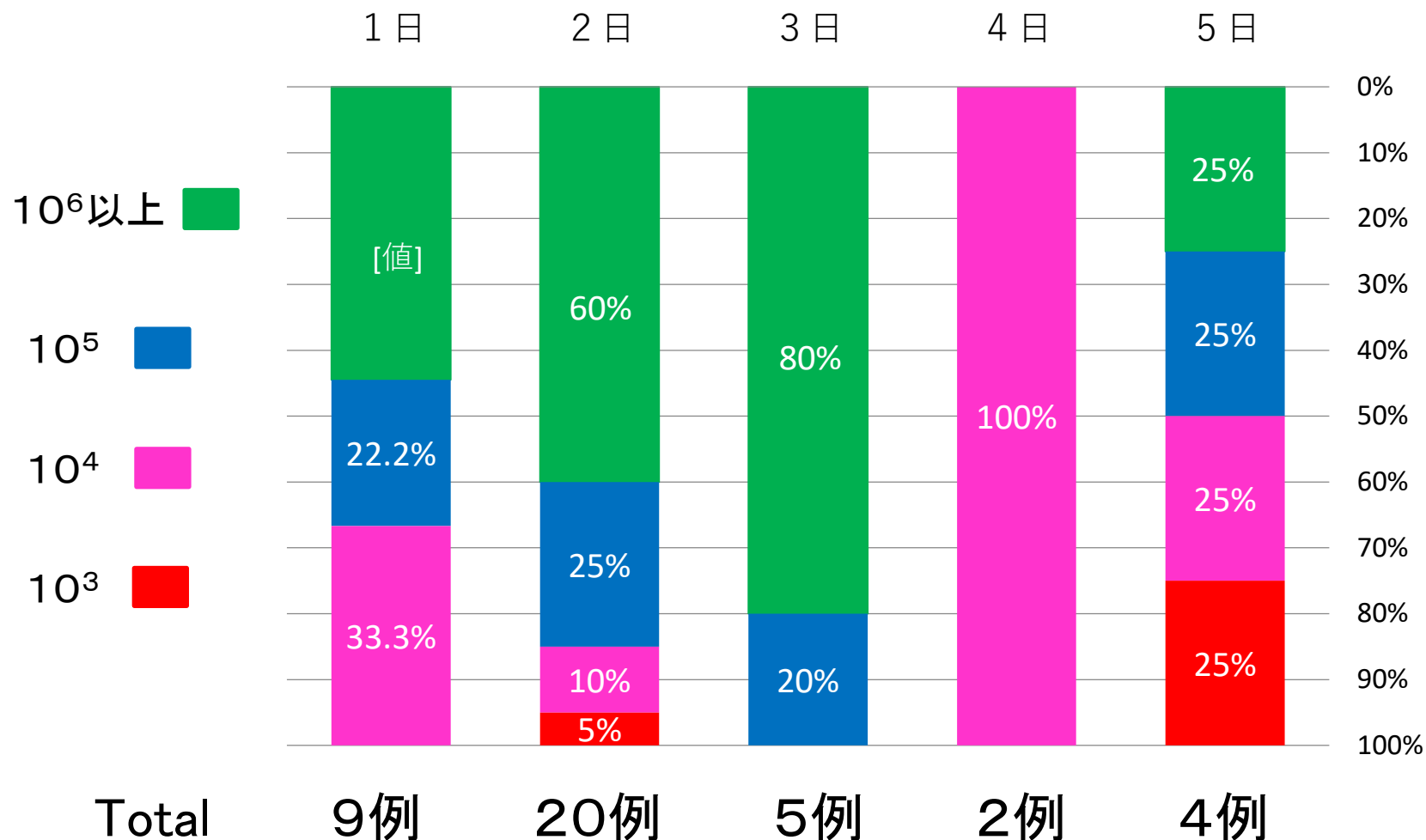
肺炎マイコプラズマ

数か月後でも排泄していることも

ノロウイルス: 7日以降減少

発熱のない時には主症状の出現日を基準に

hMPVの病日と遺伝子量





流行とは

施設内流行と地域流行

1クラス単位として考える
同時期に3名以上の類似症状の発生
罹患者の兄弟間・家族内感染で
異なる学年,施設への波及



地域流行へ

流行とは

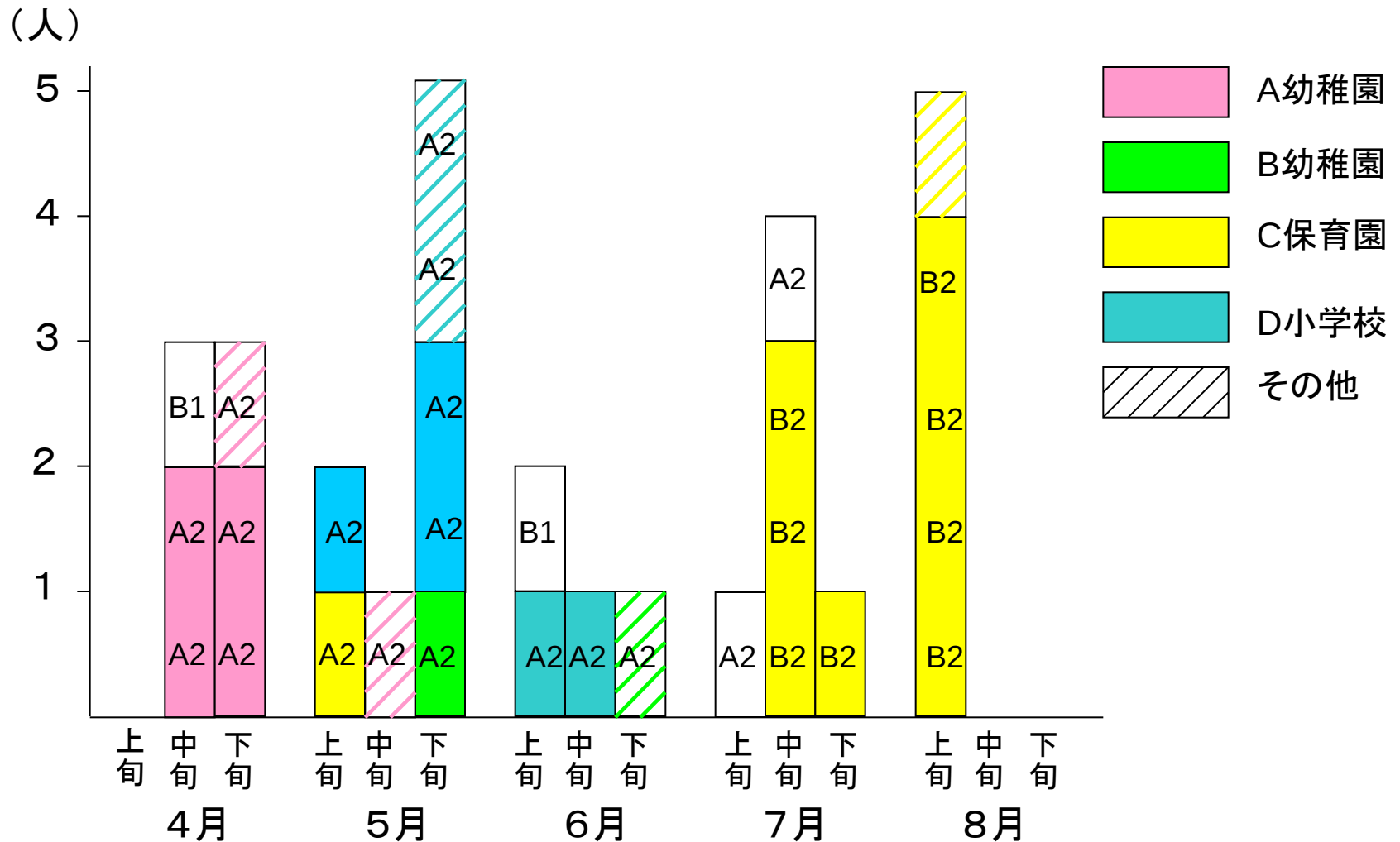
施設内流行と地域流行

地域流行の終焉は家庭内保育児での散発例

感染力,免疫保有率,潜伏期などで
異なる流行パターン

縦割りクラス編成では流行がわかりにくくなる

hMPVの施設内流行



cf. 5月上旬・8月上旬に分離:1症例

Abiko C.J.Clin.Microbiol. 2007;45:1912-1919 一部改変

実際の地域流行（肺炎マイコプラズマ）

Y町の通園通学施設における患者発生数と耐性株数

	1～4月	9～10月	11月	12月	計
Yu幼稚園	0/1	—	—	1/1	1/2
Ya幼稚園	—	—	—	1/1	1/1
Ya保育所	0/1	0/2	0/3	0/1	0/7
S小学校	0/1	—	—	2/3	2/4
O小学校	0/1	—	—	—	0/1
Ya小学校	0/2	3/4	4/6	5/5	12/17
Ya中学校	0/1	—	—	—	0/1
計	0/7	3/6	4/9	9/11	16/33
耐性率(%)	(0.0)	(50.0)	(44.4)	(81.8)	(48.5)

（MLs耐性株数/Mpn分離株数）

肺炎マイコプラズマの施設内流行(2016年山辺町)

	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計
Ya 小1年	1		2			2	1	6
2年			1				2	3
3年						9	2	11
4年								0
5年				1	1	7		9
6年			1				1	2
Ya保 年長				1	2			3
年中			5	1				6
年少					1			1
2歳児					2			2

最後の流行は2012年，小学校では学年によってバラツキ
保育所では長期休暇がないため3か月で終焉

病原体を推定するには

- 1) 流行しやすい季節の設定・・・毎年,周期性
罹患者の年齢構成から推定
- 2) 家族内発症の日数差
短期間: 2～4日,
長めの期間: 4～6日,
長期間: 14日前後

病原体を推定するには

3) 症状から

咳,鼻汁,発熱,咽頭痛,皮疹,嘔吐,下痢

4) 咽頭所見

呼吸器感染病原体

咳あり	流行	季節(月)	兄弟間発症(日)
Ful A	毎年	12～2	1～3
Ful B	不定期	3～5	2～4
RSV	毎年	10～12	2～4
hMPV	毎年	2～5	4～6
Mpn	不定期	9～1	14日前後
HPIV 1,2	毎年	4～5, 9～10	4～6
HPIV 3	毎年	5～7	4～6
HPIV 4	毎年	11～12	4～6
HcoV OC43	不定期	1～3	3～5
HRV	毎年	3～5, 9～11	2～4
EV-D68	5年毎？	8～10	3～5

赤:抗原迅速診断 有 黒:抗原迅速診断 無
兄弟間発症:被感染者発症日－発端者発症日

呼吸器感染病原体

咳のない風邪	流行	季節	兄弟間発症(日)
AdV	毎年	通年(5～6)	7～10
Strep A	毎年	通年(10～12)	2～4
CV A	毎年	5～10	2～4
CV B	毎年	4～9	2～4
SAFV 2	4年ごと?	9～11	3～5
Echo V	不定期	9～11	5日前後
HSV	毎年	冬季	感染なし
HPeV3	3年毎	6～8	3～5

赤:抗原迅速診断 有 黒:抗原迅速診断 無
兄弟間発症:被感染者発症日ー発端者発症日

罹患年齢層から推定する

- 1) 低年齢層(0～3歳)に多くみられる
(毎年流行する病原体)

RSV,hMPV,AdV,CV A&B など

罹患年齢層から推定する

2) やや高い年齢層(小学低学年) も罹患する

(数年に一度流行する病原体,
大きな遺伝子変異を伴う場合)
非流行年による感受性者の増加
Mpn, EV-D68, SAFV, HPeV-3など

罹患年齢層から推定する

3) 高い年齢層に多くみられる

遺伝子変異の多い病原体・・・FluAなど

遺伝子型の多い病原体・・・HRVなど

新興感染症, VPD, 輸入感染症

SARS, Measles, Pertusus, Dengue virusなど

呼吸器症状から推定する

咳の出ない風邪

咽頭・扁桃炎をおこしやすい

咽頭痛による評価

下方への移動性あり: 咳の出る風邪

下方への移動性なし: 咽頭・扁桃炎

飲み込み時疼痛 強: 溶連菌, Hib, HSVなど

流唾を伴う: Hib, HSVなど

口内炎 有: CV A, HPeV3, HSVなど

呼吸器症状から推定する

咳の出る風邪

咳・鼻汁・発熱の関係

(月齢, アレ鼻の有無で異なる)

咳→鼻汁→発熱: 咳先行型

hMPV, RSVなど

鼻汁→咳→発熱: 鼻汁先行型

HRV, FluCなど

発熱→咳→鼻汁(含む無): 発熱先行型

Flu A&B, HPIV1-4, Mpnなど

分泌物の多い病原体

HRV, hMPV, RSV, FluCなど

分泌物の少ない病原体

Flu A&B, HPIV1-4, EV-D68, Mpn, HCoV-OC43など

皮疹から推定する

毒素によるもの:

溶連菌: 胸部・下腹部のバラ疹, 頸部・臀部紅斑
手指の粟粒状丘疹など

ブドウ球菌: 膿痂疹, 多型紅斑, など

ウイルス性発疹: 初感染・ウイルス血症・左右対称性
一般には低年齢児0～1歳児に多い

上下肢の遠位部の点状発疹:

EV, CV A, Echo V, HPeV3 など

体幹～顔: Measles, Rubella, HHV6.7など

水泡形成: Chickenpox, CV A, EV, HSVなど

咽頭所見から推定する

注意すべき部位

軟口蓋:

水泡形成 CV A, HSV, HPeV3など

点状, 火炎状発赤 溶連菌

軟口蓋辺縁:

発赤強・隆起性 CV A, AdV, HHV6,7

発赤弱・隆起性 CV B, SAFVなど

口蓋垂:

発赤強 溶連菌

咽頭所見から推定する

注意すべき部位

扁桃:

頬粘膜と接する部位の灰色滲出物

溶連菌

点状滲出物

CV B,SAFVなど

線状滲出物

AdVなど

咽頭後壁:

リンパ濾胞腫大と発赤

(influenza follicle,イクラ様変化)

Ful A, HPIV, AdVなど

咽頭側索:FluA,HPIV



咽頭・扁桃所見の捉え方

アングーナ様変化

口蓋垂周囲に単発性隆起性病変



Coxsackievirus B2; 1.6 year, Female, Day6



Coxsackievirus B3; 1.9 year, Male, herpangina

咽頭・扁桃所見の捉え方

ヘルパンギーナ

軟口蓋に多数の隆起性病変



Coxsackievirus A10; 4.2 year, Male, Herpangina

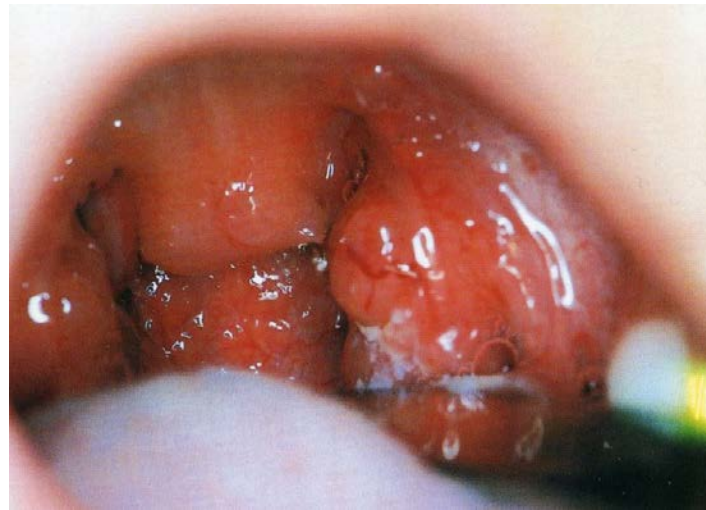


Coxsackievirus A10; 2.3 year, Female, Herpangina

咽頭・扁桃所見の捉え方

滲出性扁桃炎

扁桃に滲出物



Coxsackievirus B5; 2 year, Male,



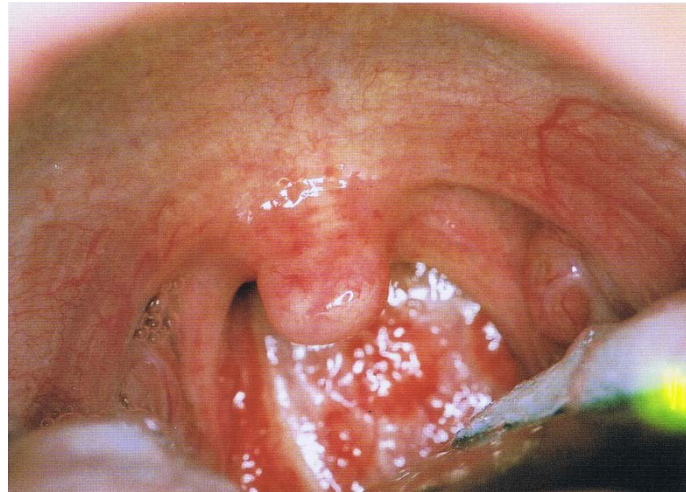
Coxsackievirus B5; 9 months, Male, Day2

咽喉・扁桃所見の捉え方

インフルエンザ

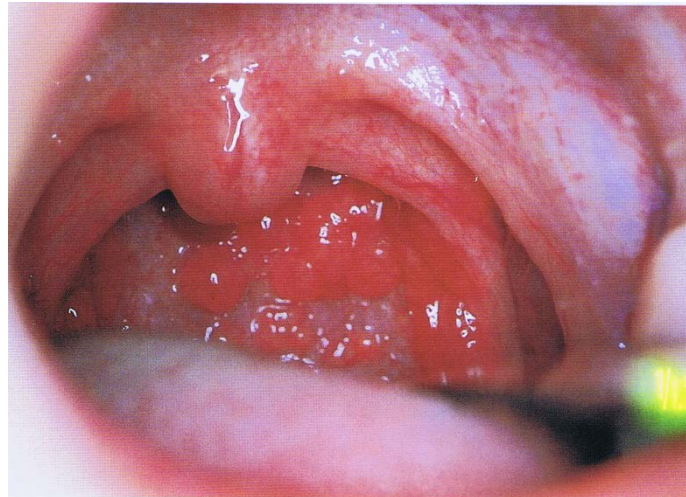
イクラ様病変

FluA



InfluenzaA; 13.5year,Female

FluB



InfluenzaB; 2.6 year,Male

まとめ

抗原迅速診断はコスト、メリット&デメリットを考えて使用する
適切な検体採取法であればそれほど精度が異なるわけではない
メーカーの選択は実際に使用してみて判断を
施設側・保護者側の意向と児のメリットは異なる



必ずしも診断しなくともよい場合がある
待つことも診断のうち

病原体を推定し抗原迅速診断を使用する



感染免疫懇話会 in Yamagata

暑い山形の夏を飲んで 踊って 楽しもう

8月5日 前夜祭 山形市 千歳館 18:30～
花笠音頭 パレード 20:30頃より

8月6日 勝手に話そう 9:30
山形駅西口 山形テルサ2階 研修室A
若きMRから、宗教と医療、マスコミから

8月6日 感染免疫懇話会 in Yamagata
11:00～ 山形駅西口 山形テルサ
病原体の診断と限界
結核の疫学(山形)
岡部信彦先生 講演会 題未定