

百日咳の検査について

2025年7月現在、国内で百日咳が流行しており、マクロライド耐性菌の報告もなされています。臨床現場において百日咳の検査診断のニーズも高まっていることから、百日咳検査についてQ&Aとしてまとめることとしました。

なお、百日咳菌検査の詳細については、国立健康危機管理研究機構（国立感染症研究所）から「病原体検出マニュアル 百日咳 第4.0版 2024年3月改訂版」が公表されているので、参考にしてください。

国立健康危機管理研究機構 感染症情報提供サイトホームページ

<https://id-info.jihs.go.jp/relevant/manual/010/Pertussis20240327.pdf>

百日咳の検査に関する Q&A

Q1 百日咳菌の分離培養・同定の留意点はなにか？

検体採取

検体採取は鼻咽腔からスワブを用いて行う。スワブは可能な限りフロックスワブあるいはeスワブを使用する。

早期診断には核酸増幅法やイムノクロマト法が有用だが、マクロライド耐性菌判別のために、初期診断時に培養用の検体を同時に採取するよう心がける。

グラム染色

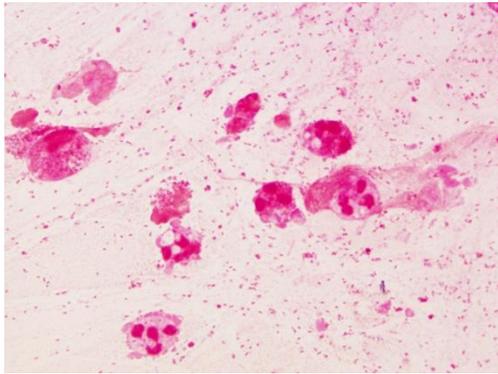
グラム染色では、グラム陰性の小（短）桿菌として観察される。

分離培養

・百日咳菌の分離には Bordet-Gengou 血液寒天培地（BG 培地）、サイクロデキストリン寒天培地（CSM）が一般的に用いられている。CSM 培地はボルデテラ CFDN 寒天培地として日研生物医学研究所から市販されている（製品コード P96511-005）。

・36~37°Cの好気条件下で7日間培養する。炭酸ガス培養は百日咳菌の増殖を阻害する可能性があるため使用しない。

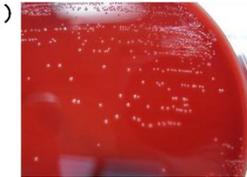
・百日咳菌は培養 4~5 日後に直径約 1 mm 以下の小さな集落を形成する。真珠または水銀様の光沢のある集落を選択し、菌同定のため再度新しい BG 培地（CEX 不含）に植え継ぐ。培養 2日以前に発育した菌は百日咳菌ではないと考えて間違いはない。



ホルデー・ジャング培地(4日目)



ホルデー・ジャング培地(5日目)



百日咳菌喀痰塗抹グラム染色像と培地上のコロニー所見
(千葉市立海浜病院 静野健一先生提供写真)

同定

・百日咳菌の同定は抗百日咳菌血清を用いたスライド凝集法により行う。
自己凝集により菌同定が出来なかった場合、菌同定は遺伝子解析(16S rRNA 遺伝子のシーケンスまたは LAMP 法、PCR 法など)により行う。

・MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry) による菌種同定は可能である。

分離培養・同定の意義

・近年マクロライド耐性菌の増加が問題となっており、分離培養は感受性検査を実施可能とする点で重要である。

Q2 培養以外の検査はどのようなものがあるのか？

核酸増幅検査

近年、百日咳菌の検出に感度の高い核酸増幅検査が普及している。2024年6月からはLAMP法に加えてPCR法も保険適用となった。ジーンキューブ百日咳®(東洋紡株式会社)や全自動遺伝子解析装置であるFilmArray®呼吸器パネル、Spotfire® Rパネル(バイオメリュー・ジャパン株式会社)などでは百日咳菌のほか、パラ百日咳菌も検出可能である。

イムノクロマト法

リボテスト®百日咳(極東製薬工業株式会社)がある。15分程度で結果が得られるが、核酸増幅検査と比較すると感度は低下する。パラ百日咳菌、*Bordetella holmesii*などの類縁菌と交差反応性が認められる。また、偽陽性が多く特異度が低いことが指摘されている。

https://mhlw-grants.niph.go.jp/system/files/report_pdf/20231807A-sokatu.pdf

抗体検査

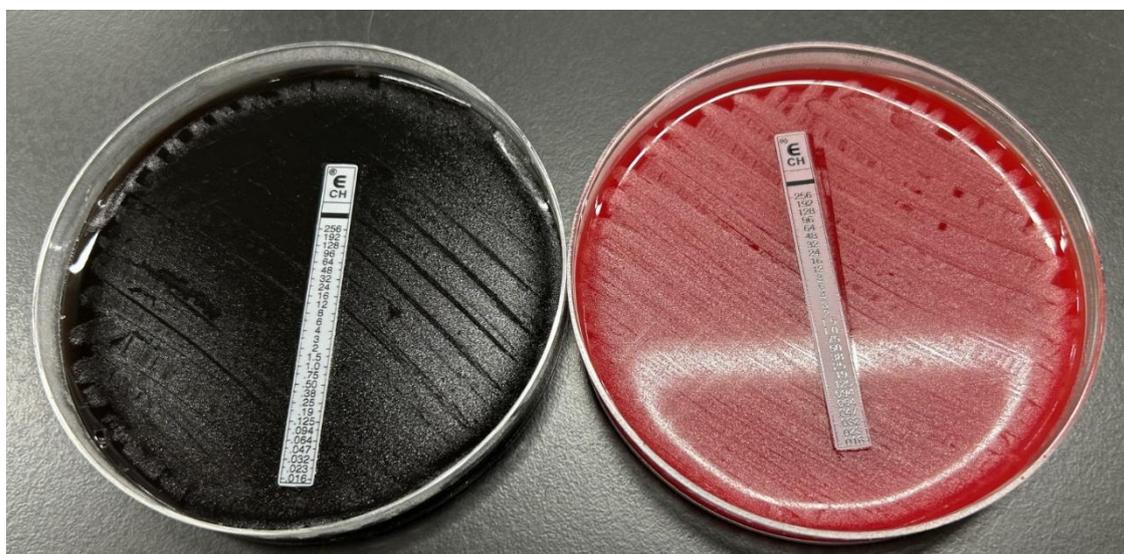
抗 PT(Pertussis Toxin)-IgG 抗体や IgM/IgA 抗体も診断に使用できる。PT 抗体は百日せき含有ワクチン既接種者では陽性になることから、基本的には急性期と回復期のペア血清で評価を行う。IgM/IgA 抗体はワクチンの影響を受けにくいものの偽陽性があるため判定には注意が必要である。

Q3 薬剤感受性試験はどのように行うのか？

・百日咳菌の抗菌薬感受性試験において MIC 測定は臨床的意義が高い。E-test は簡便であり、臨床現場で役立つ。

・薬剤感受性試験用 E-test (バイオメリュー・ジャパン株式会社)を使用し、培地は抗菌薬不含の BG 培地または Regan-Lowe チャコール寒天培地を用いる。

- ①BG 培地などに百日咳菌を接種し、36~37°C で 3~4日間培養する。
- ②菌を生理食塩液に懸濁し、マクファーランド (McF) 濃度 0.5 に合わせる。
- ③菌液を培地に均一に塗布し、E-test ストリップを 培地表面に設置する
- ④36-37°C で 3~4日間培養し、MIC 値を読みとる。



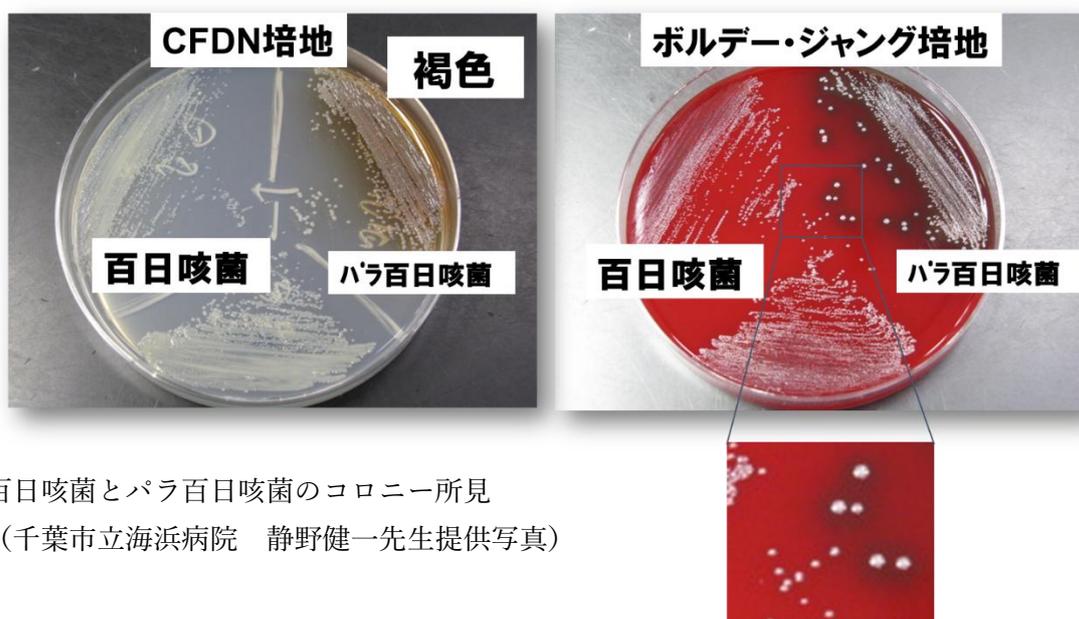
百日咳菌の E-test (エスアールエル細菌検査部 久保裕美先生提供写真)

Q4 マクロライド耐性菌かどうかはどのように調べるのか？

国立感染症研究所で開発された マクロライド耐性菌のリアルタイム PCR 法 (A2047G-cycleave PCR) による迅速検出法を用いる。本法はサイクリングプローブ法によりマクロライド耐性に関与する 23S rRNA の SNP 変異を検出する。標的遺伝子は百日咳菌 23S rRNA の A2047* (2047 番目のアデニン) であり、2 種類のサイクリングプローブを用いて A2047G の変異導入を確認する。

Q5 百日咳菌とパラ百日咳菌等類縁菌はどのように鑑別するのか？

- ・イムノクロマト法では、百日咳菌とパラ百日咳菌、*B. holmesii* は全て陽性となり鑑別できない。
- ・ジーンキューブ®と Filmarray®呼吸器パネル、Spotfire®R パネルでは百日咳菌とパラ百日咳菌の鑑別が可能である。
- ・また、百日咳菌とパラ百日咳菌、*B. holmesii*の鑑別は real-time PCR 法で可能である。



百日咳菌とパラ百日咳菌のコロニー所見
(千葉市立海浜病院 静野健一先生提供写真)

Q6 百日咳検査の保険収載上の留意点はなにか？

各検査の保険点数を示す。

- ・分離培養検査 (口腔、気道又は呼吸器からの検体 170 点)
- ・核酸検出法 (LAMP 法/PCR 法 360 点)
- ・ウイルス・細菌核酸多項目同時検出 (1,350 点)

(COVID-19 の患者であることが疑われる者に対し、診断を目的として本検査を実施した場合は、診断の確定までの間に、1回に限り算定できる)

- ・抗原検査法 (217 点)
- ・抗体検査法 (PT-IgG 抗体 257 点/IgA・IgM 抗体 各 80 点)

なお、複数の検査を併せて実施した場合には、「主たるもの」のみ算定することが可能である。

検査項目	内容	保険点数	備考
培養検査	Bordet-Gengou 血液寒天培地 (BG 培地) サイクロデキストリン寒天培地 (ボルデテラ CFDN 寒天培地) 36~37°C、好気条件下で7日間培養 注) 炭酸ガス培養不可	170 点 (口腔、気道または呼吸器からの検体)	<ul style="list-style-type: none"> ・4~5 日後に直径 1 mm 以下の真珠様または水銀様の光沢をもつ小集落を形成 ・新しい BG 培地 (CEX 不含) に継代培養する (2 日以内に発育した菌は百日咳菌ではない可能性が高い)
同定検査	<ul style="list-style-type: none"> ①抗血清による確認検査: 抗百日咳菌血清を用いたスライド凝集法を行う。 ②遺伝子検査: スライド凝集法で判定できない場合、16S rRNA 遺伝子シーケンス、または LAMP 法、PCR 法で確認する。 ③MALDI-TOF MS: 菌種同定も可能 		
核酸増幅検査	<ul style="list-style-type: none"> ①LAMP 法 (栄研化学株式会社) ②PCR 法: ジーンキューブ百日咳® (東洋紡株式会社) ③多項目 PCR 法: FilmArray®呼吸器パネル・Spotfire® R パネル (ビオメリュー・ジャパン) 	<ul style="list-style-type: none"> ・LAMP と PCR は 360 点 ・多項目 PCR は 1,350 点 	<ul style="list-style-type: none"> ・高感度・高特異度 ・PCR と多項目 PCR は百日咳菌およびパラ百日咳菌の検出可能 ・多項目 PCR は、COVID-19 が疑われる場合に限り、診断確定まで 1 回限り算定可能
イムノクロマト法	リボテスト®百日咳 (極東製薬)	217 点	<ul style="list-style-type: none"> ・約 15 分で結果判定可能 ・感度は核酸増幅法に比べて低い ・パラ百日咳菌や <i>B. holmesii</i> と交差反応あり

抗体検査	①PT-IgG 抗体 ②IgM 抗体・IgA 抗体	①257 点 ②各 80 点	①ワクチン接種歴ありで陽性になるためペア血清で評価 ②ワクチンの影響を受けにくいが偽陽性に注意
------	------------------------------	-------------------	--

百日咳の検査について 2025年7月29日

執筆者一覧

石和田稔彦 千葉大学真菌医学研究センター 感染症制御分野

大楠 清文 東京医科大学 微生物学分野

小松 方 天理大学医療学部 臨床検査学科

細川 直登 亀田総合病院 感染症内科

山本 剛 大阪大学大学院医学系研究科 変革的感染制御システム開発学寄附講座

一般社団法人 日本臨床微生物学会

〒141-0022

東京都品川区東五反田 4-7-25 TY ビル 3F

TEL:03-5447-6800 FAX:03-5447-6801

E-mail:office@jscm.org