

百日咳菌 LAMP 法における判定乖離への対応と考察

◎白星 美麗¹⁾、麻生 哉太¹⁾、入江 光哉¹⁾、松永 秀幸¹⁾、和田 智呼¹⁾、室井 亮磨¹⁾、原田 桂輔¹⁾、宮原 一代¹⁾
株式会社 シー・アール・シー 総合研究所¹⁾

【はじめに】百日咳は *Bordetella pertussis* による急性呼吸器感染症で、小児に多く、特にワクチン未接種の乳児で重症化することがある。早期診断と適切な感染対策のため、迅速かつ高感度な検査法が求められる。当社は百日咳菌の核酸検出に LAMP 法を採用している。LAMP 法は増幅産物の生成に伴って産生されるピロリン酸マグネシウムによる白濁を測定することで標的遺伝子配列を検出する。今回、濁度測定装置で陰性判定されたが目視で白濁を認め、電気泳動では百日咳菌特異的なバンドが確認された事例を経験したので報告する。

【試薬・機器・対象検体】核酸抽出：Loopamp SR DNA 抽出キット、検出試薬：Loopamp 百日咳菌検出試薬キット D、機器：リアルタイム濁度測定装置 LoopampEXIA (いずれも栄研化学株式会社)。対象検体：百日咳を疑われた後鼻腔ぬぐい液検体。

【内容】ある検体において、機器判定は陰性であったが、目視で反応チューブに濁りを確認した。核酸抽出からの再検査では、機器判定は再び陰性であったが、反応終了

直前に微細な立ち上がりを認め、目視で再び濁りを確認した。メーカーに精査依頼したところ、電気泳動で百日咳菌特異的なバンドを検出し DNA 陽性との回答を得た。また、機器判定で初回陰性、再検査陽性となった事例も複数例経験した。

【考察】精査依頼した検体は菌量僅少での弱い増幅が、初回陰性、再検査陽性の複数事例では再抽出での検体希釈で阻害物質の影響が軽減された可能性が考えられた。上気道ぬぐい液はムチン等の粘液成分を含みやすく、核酸抽出や反応に影響を及ぼすことがあるとされている。SR DNA 抽出キットは迅速で簡便な一方、検体性状によっては阻害物質が残存し、抽出 DNA の純度や量がばらつく可能性がある。また、LAMP 法は阻害耐性を有するが高濃度 DNA や粘性物質の存在下では反応性の低下が報告されている。これらの点を踏まえ、機器判定だけに頼らず目視による濁り確認を判定補助として活用し、疑義がある場合には再検査を行うことで、偽陰性の回避につながると考えられた。連絡先：092-623-2111