

図2 わが国における百日咳患者報告数の推移(1982～2007年)  
厚生労働省感染症発生動向調査事業による。成人患者(≥20歳)  
は1999年から調査開始

と、百日咳は1995年頃まで4年周期の流行を繰り返していたが、その後流行は徐々に小さくなり、2000年以降では流行の痕跡を認めるだけとなった(図2)。2005年までは患者の中心は0～1歳児であったが、2002年以降成人患者の報告数が急増し、2007年には全報告数の31%を占めた。一方、0～3歳児における患者報告数に著しい増加は認められず<sup>2)</sup>、この年齢層ではワクチンによる免疫効果が十分に発揮されている。なお、わが国の百日咳患者は小児科定点より報告されているため、報告されない成人患者はかなりの数に上るものと推察されている。

米国では1980年代後半から青年・成人層での罹患者が徐々に増加し、2004年における成人患者は全体の27%を占めた。この原因として、1) ワクチンによる免疫効果の減弱、2) 環境中の百日咳菌が減り自然感染によるブースター効果が減少、3) PCRなどの高感度な検査法の導入により成人患者が検出され易くなった、などが指摘されている<sup>3)4)</sup>。わが国では1970年代に一時百日咳ワクチンの接種率が低下し、ワクチン未接種の世代が存在することも一因として挙げられる。なお、成人と乳幼児に罹患する百日咳菌に細菌学的な差異は認められていない<sup>5)</sup>。成人百日咳については不明な点が多いが、成人患者は症状が軽いため本人が気づかないうちに小児、特にワクチン未接種の乳幼児への感染源となることが問題視されている。

#### ◆百日咳の診断

百日咳菌の潜伏期間は6～20日であり、通常7～10日である。発症から回復までに数週間以上を

必要とし、病期によりカタル期(感冒症状、1～2週間)、痙咳期(乾燥咳嗽と発作性の咳、3～6週間)、回復期(6週間以降)に分けられる。菌の排出は主にカタル期に行われる。百日咳の臨床診断は、長期間持続する咳や末梢血リンパ球の増多を指標に行われている。乳幼児では長期の咳以外に特徴的な吸気性笛声(whooping)や咳き込みによる嘔吐(vomiting)が認められるが、成人患者では長期と発作性の咳だけのこ

とが多い(表1)。また、成人患者ではリンパ球増多はほとんど認められないため、他の疾患との区別が付き難く、臨床症状からの診断は困難である。

百日咳の実験室診断には、菌培養検査、血清学的検査、遺伝子検査がある。最も高感度なものは遺伝子検査であり、百日咳菌の挿入配列IS481を標的としたPCRが世界的に用いられている<sup>6)</sup>。ただし、IS481は他のBordetella属細菌にも存在するため、特異性が低いという欠点がある。検査材料は患者の鼻腔分泌物が通常用いられるが、病日数や抗菌薬投与によりその陽性率は大きく変動する。そのため、検査が陰性となったからといって直ちに百日咳感染を否定することはできない。血清学的検査は乳幼児に対する感度は高いが、ワクチン既接種の成人患者では低い傾向にある。同様に、培養検査の感度も低く、実験室診断として有効とはいえない。なお、近年PTのプロモーター領域を標的としたLAMP法(loop-mediated isothermal amplification)が開発され、PCR法より特異性に優れ、さらに簡便かつ迅速に診断することが可能となった<sup>7)</sup>。国立感染症研究所では百日咳LAMPキットを全国の百日咳レファレンスセンター(地方衛生研究所、8施設)に配布し、検査体制の強化・拡充を図っている。

#### ◆百日咳の治療

治療はマクロライド系抗菌薬の投与が有効であり、第一選択薬はエリスロマイシンである。発病日数がかなり経過した場合、咳などの病状改善効果の期待は薄い。他者、特にワクチン未接種児への感染伝播を防ぐためにも抗菌薬投与は行うべきである。米国ではエリスロマイシン耐性の百日咳菌が数例報告

されているが、いまのところわが国では認められていない。また、マクロライド系以外の抗菌薬に耐性を示す百日咳菌の報告例はない。

#### ◆百日咳の院内感染

先進国では地域的な百日咳流行を認めることはすでに無くなったが、世界中で百日咳の院内感染は発生している<sup>8),9),10)</sup>。フランスでは感染者が91名という大規模な院内感染事例が発生し、その際42名の医療従事者が二次感染防止のため5日間の業務停止となっている<sup>11)</sup>。米国では医療従事者の1.3～3.6%が毎年百日咳に罹患すると見積もられており<sup>12)</sup>、医療従事者が感染源となった院内感染事例も報告されている。百日咳の院内感染防止策として、米国疾病予防センターCDCはマスクなどによる飛沫感染予

防対策を提唱しているが<sup>13)</sup>、飛沫感染対策だけでは百日咳の院内感染を防止することは難しい状況にある。そのため、米国CDCでは百日咳感染のハイリスク者に対しワクチン接種の勧奨を続け、2005年に米国FDAは青年・成人用ジフテリア・破傷風・百日咳三種混合ワクチン(Tdap;商品名ADACEL™, BOOSTRIX®)の使用を認可した。ADACEL (Sanofi Pasteur)とBOOSTRIX (GlaxoSmithKline Biologicals)の接種対象年齢はそれぞれ11～64歳と10～18歳であり、米国予防接種諮問委員会(ACIP)は医療従事者にADACELを接種することを推奨している。

わが国では、百日咳院内感染事例は産科や小児科病棟などで散見されているが<sup>14),15)</sup>、国外のような大規模院内感染事例はまだ認められていない。ただし、わが国の小児科医療従事者を対象とした抗体保有調査によると、防御レベル以上の抗PT IgG (> 10 EU/mL)を保有する医療従事者は全体の50%であり、半数が抗体非保有者である<sup>16)</sup>。そのため、現

表1 成人百日咳患者の臨床症状

咳の症状	有症率% <sup>a</sup>	平均% <sup>b</sup>	報告者
長期の咳(21日以上)	79-97	85	Postel-Multani et al, 1995 de Serres et al, 2000 Gilberg et al, 2002
発作性の咳	70-99	88	Postels-Multani et al, 1995 Schmidt-Grohe et al, 1995 de Serres et al, 2000 Strebel et al, 2001 Gilberg et al, 2002
夜間の咳	65-87	77	Postels-Multani et al, 1995 Sentilet et al, 2001 Gilberg et al, 2002
吸気性笛声(whooping)	8-82	38	Trolfors and Rabo, 1981 Postels-Multani et al, 1995 Schmidt-Grohe et al, 1995 de Serres et al, 2000 Strebel et al, 2001 Gilberg et al, 2002
咳による嘔吐(vomiting)	17-65	41	Trolfors and Rabo, 1981 Postels-Multani et al, 1995 Schmidt-Grohe et al, 1995 de Serres et al, 2000 Sentilet et al, 2001 Strebel et al, 2001 Gilberg et al, 2002

<sup>a</sup> 有症率の範囲を示した

<sup>b</sup> 有症率の平均値を示した

状の抗体保有率を考慮すると、今後大規模な院内感染事例が発生する可能性は否定できない。わが国ではTdapは認可されていないため、院内感染防止には飛沫感染予防の他に、発症者の早期探知と早期治療が重要となる。

#### ◆おわりに

わが国では2007年に大学などで百日咳集団感染が発生し、初めての大规模成人集団感染事例を経験した<sup>17)</sup>。成人集団感染事例の多くは、学校・職場といった狭い空間を長時間共有する施設で発生しており、百日咳菌がこのような環境に侵入すると感染が容易に拡大するものと考えられる。これら集団感染は特定の地域を発端とした全国流行ではなく、市中に潜在する百日咳菌が各々の地域で流行したことが指摘されているが、その直接的な要因はまだ明らかとなっていない。先進国では成人百日咳に対する新たな対策が必要となっており、わが国でもワクチン

接種プログラムの再評価と青年・成人層へのワクチン接種について検討を進める段階にきている。

#### 〔参考文献〕

- 1) Fennelly NK, Sisti F, Higgins SC, et al. *Bordetella pertussis* expresses a functional type III secretion system that subverts protective innate and adaptive immune responses. *Infect Immun* 2008; **76**:1257-66.
- 2) 百日咳 2005-2007. 病原微生物検出情報 (IASR) 2008; **29**:65-66 (<http://idsc.nih.gov/iasr/29/337/tpc337-j.html>).
- 3) Hewlett EL, Edwards KM. Pertussis — not just for kids. *N Engl J Med* 2005; **352**:1215-22.
- 4) von König CH, Halperin S, Riffelmann M, Guiso N. Pertussis of adults and infants. *Lancet Infect Dis* 2002; **2**:744-50.
- 5) Han HJ, Kamachi K, Okada K, Toyozumi-Ajisaka H, Sasaki Y, Arakawa Y. Antigenic variation in *Bordetella pertussis* isolates recovered from adults and children in Japan. *Vaccine* 2008; **26**:1530-4.
- 6) Dragsted DM, Dohn B, Madsen J, Jensen JS. Comparison of culture and PCR for detection of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* under routine laboratory conditions. *J Med Microbiol* 2004; **53**:749-54.
- 7) Kamachi K, Toyozumi-Ajisaka H, Toda K, et al. Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification method for rapid diagnosis of *Bordetella pertussis* infection. *J Clin Microbiol* 2006; **44**: 1899-902.
- 8) Bassinet L, Matrat M, Njamkepo E, Aberrane S, Housset B, Guiso N. Nosocomial pertussis outbreak among adult patients and healthcare workers. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004; **25** : 995-7.
- 9) Center for Disease Control and Prevention. Outbreaks of pertussis associated with hospitals — Kentucky, Pennsylvania, and Oregon, 2003. *MMWR* 2005; **54** : 67-71.
- 10) Calugar A, Ortega-Sánchez IR, Tiwari T, Oakes L, Jahre JA, Murphy TV. Nosocomial pertussis: costs of an outbreak and benefits of vaccinating health care workers. *Clin Infect Dis* 2006; **42** : 981-8.
- 11) Ward A, Caro J, Bassinet L, Housset B, O'Brien JA, Guiso N. Health and economic consequences of an outbreak of pertussis among healthcare workers in a hospital in France. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; **26**:288-92.
- 12) Wright SW, Decker MD, Edwards KM. Incidence of pertussis infection in healthcare workers. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; **20**:120-3.
- 13) Center for Disease Control and Prevention. Immunization of health-care workers: Recommendations of the advisory committee on immunization practices (ACIP) and the hospital infection control practices advisory committee (HICPAC). *MMWR* 1997; **46**:No. RR-18.
- 14) 狩野孝之, 大崎幸七, 中野英二, 沖本二郎. 重症心身障害児・者病棟で発生した百日咳集団感染についての検討. *感染症学雑誌* 2001; **75** : 916-22.
- 15) 中野貴司, 庵原俊昭, 神谷齊. 百日咳集団発生事例. 病原微生物検出情報 (IASR) 2005; **3** : 64-6 (<http://idsc.nih.gov/iasr/26/301/dj3012.html>).
- 16) 蒲地一成, 遠藤美代子, 小宮貴子, 他. わが国の小児科担当医療従事者における百日咳・ジフテリア菌の感染リスク評価. *感染症学雑誌* 2001; **81**:155-61.
- 17) 百日咳特集関連情報. 病原微生物検出情報 (IASR) 2008; **29**:67-77 (<http://idsc.nih.gov/iasr/29/337/inx337-j.html>).

#### 著者連絡先

蒲地 一成 (Kazunari KAMACHI)

国立感染症研究所 細菌第二部

Department of Bacterial Pathogenesis and Infection Control, National Institute of Infectious Diseases

〒 208-0011 東京都武蔵村山市学園 4-7-1

4-7-1 Gakuen, Musashimurayama, Tokyo 208-0011, Japan

# 国内で販売されている抗 HBs 抗体定量用体外診断用医薬品の評価：国内標準品を用いた検討\*

水落利明<sup>1)</sup>/小高千加子<sup>1)</sup>/山口一成<sup>1)</sup>

**(SUMMARY)** 国内で販売されている8種類の抗 HBs 抗体測定キットを用いて、抗 HBs ヒト免疫グロブリン(以下、抗 HBs 抗体)国内標準品の希釈系列検体を測定した。6種類のキットにおいてはほぼ期待される測定値を示した。しかしながら、期待値に比較して約0.5倍と1.5倍の測定値を示すキットが各1種類あった。このような乖離の原因を調査しその修正が行われた結果、1種類のキットは新規申請に向けて開発中であり、もう一種類のキットでは一部変更の手続きが行われている。これにより今後はHBV感染防御の基準と考えられる抗体価の“10 mIU/ml”という数値について、いずれのキットを用いてもほぼ均一な定量が可能になることが期待される。

**(KEYWORDS)** HBV, 抗 HBs 抗体測定キット, 抗 HBs 抗体国内標準品

## ■ 緒言

HBV (hepatitis B virus) 感染者数は全国民の約2%にも及ぶと推定されており、B型肝炎は「国民病」とも言われている。HBV感染防御については、安全で副作用の少ないワクチンが既に開発され、わが国ではハイリスクグループおよびHBV感染者から出産した児に投与され効果をあげている。HBV感染防御に有効な抗HBs抗体価については、WHO(世界保健機関)やCDC(米

疾病予防管理センター)では10 mIU/mlという数値を提唱している<sup>1-3)</sup>。日本国内においても同様な基準を採用するかについては議論の余地があるが、それ以前の問題として、現在国内で使用されている様々な抗HBs抗体測定キット(定量キット)が、お互いに乖離がない測定値を提供できるかについての検証がなされていない。本研究では、抗HBs抗体国内標準品(WHO国際標準品を用いて値付けしたもの)の希釈系列検体を、国内で販売されている8種類の測定キットを用いて測定し、その値を比較検討した。

## ■ 材料および方法

### 1. 抗HBs抗体国内標準品

原料はグラクソスミスクライン社製 ENGER-IX-B®(HBs抗原のサブタイプはadwと考えられる)の接種により抗体価を高めた国外血由来の血漿である。内容物は白色粉末凍結乾燥品で、1バイアル(含湿度0.5%)を1.0 ml注射用水で溶解したとき320 IU/mlとなる。またpH=6.94, 浸透圧=1.65, 蛋白質含量=29.2 mg/ml, 免疫グロブリンG含量=99.6%であり、HBsAg, HAV-RNA, HBV-DNA, HCV-RNA, HIV-1-RNAはすべて陰性である。なお本標準品の力価は国際標準品(WHO 1st, 1977)を基にして値付けされ、2001年4月より国立感染症研究所から供与され

\* Evaluation of anti-HBs antibody assay kits commercially available in Japan by utilizing the national standard

1) MIZUOCHI Toshiaki, ODAKA Chikako, YAMAGUCHI Kazunari: Department of Research on Blood and Biological Products, National Institute of Infectious Diseases

国立感染症研究所 血液・安全性研究部

(〒208-0011 東京都武蔵村山市学園4-7-1)

表 使用した抗 HBs 抗体測定キットの名称, 測定方法, および抗体検出に用いた HBs 抗原のサブタイプ

Kit No.	メーカー名	製品名	原理/方法
1	アボット・ジャパン	アキシム オーサブ・ダイナパック	EIA
2	アボット・ジャパン	アーキテクト・オーサブ	CLIA
3	アボット・ジャパン	IMx オーサブ・ダイナパック	EIA
4	オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス	ビトロス HBs 抗体	CLEIA
5	東ソー	E テスト「TOSOH」Ⅱ (HBsAb)	EIA
6	デイドベーリング	エンザイグノスト Anti-HBs Ⅱ	EIA
7	富士レビオ	ルミバルスⅡ HBsAb	CLEIA
8	和光純薬	スフィアライト HBs 抗体	CLEIA

CLIA : chemiluminescent immunoassay (蛍光免疫法).

EIA : enzyme immunoassay (酵素免疫法).

CLEIA : chemiluminescent enzyme immunoassay (蛍光酵素免疫法).

ている.

## 2. 希釈系列作成手順

- (1) 抗 HBs 抗体国内標準品 (320 IU/vial) 1 バイアルを 1 ml の精製水で溶解した.
- (2) 標準品溶液 0.1 ml に検体希釈液 9.9 ml を加え均一な溶液にした (3,200 mIU/ml).
- (3) 3,200 mIU/ml の溶液を 5 倍希釈 (溶液 1 ml + 検体希釈液 4 ml) して 640 mIU/ml の抗体液 (5 ml) を作成した.
- (4) 以下, 順次 2 倍希釈系列を作成した. (2.5 ml + 2.5 ml) 系列: 0, 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640 (mIU/ml).

## 3. 抗 HBs 抗体測定キット

抗 HBs 抗体測定に使用したキットは, 表に示した 8 種類である. 測定は各検体につき 3 重測定で行った.

## ■ 結果

図 1 は各キットでの抗 HBs 抗体国内標準品希釈系列検体の測定結果である. いずれのキットも測定範囲内 (0~640 mIU/ml) で期待値と測定値の関係において非常に良好な直線性が得られた ( $r^2 = 0.98 \sim 1.00$ ). しかし, キット #7 と #8 では直線の傾きがそれぞれ 1.7, および 0.56 と理想である 1.0 からの明らかな乖離がみられた. そこで, 対表示値を算定し, それらの結果を図 2 にまとめた. ここでの対表示値とは, 各検体の抗体濃度 (期待値) と測定値の比を, 各濃度ごとに計算しそ

れらを平均した値のことである. したがって理想的な対表示値は 100 となる.

図 2 に示したように, #1~#6 のキットではおおよそ 120 前後の対表示値を示しているが, 図 1 の結果から予想されたように, キット #7, #8 の対表示値はそれぞれ 169.2 および 50.1 であり, 100 からの乖離が大きかった. なお WHO や CDC が提唱している, HBV 感染防御に有効な免疫獲得の基準と考えられる 10 mIU/ml の低濃度検体を用いた測定値を比較したところ, 図 2 に示した「対表示値」と良く相関していることが確認された. このような測定値乖離の原因について, それぞれのメーカーと協議した結果, 以下の結論に達した. #7 においてはキットを製造する際の検討に, WHO 国際標準品の抗 HBs 抗体を基準にしていなかったことが原因であると結論された. そこで現在新たなキットが開発され, それを用いた測定では対表示値が 117.2 となった (未発表データ). また #8 においては, 乖離の原因は不明であるが, WHO 国際標準品を用いて見直しを行い, 再測定の結果, 対表示値が 88.4 となった (未発表データ, なおこのキットは現在一部変更申請中である).

## ■ 考察

現在国内における抗 HBs 抗体価の表示には, 凝集法による「管数」表示と, EIA (enzyme immunoassay), CLIA (chemiluminescent immuno-

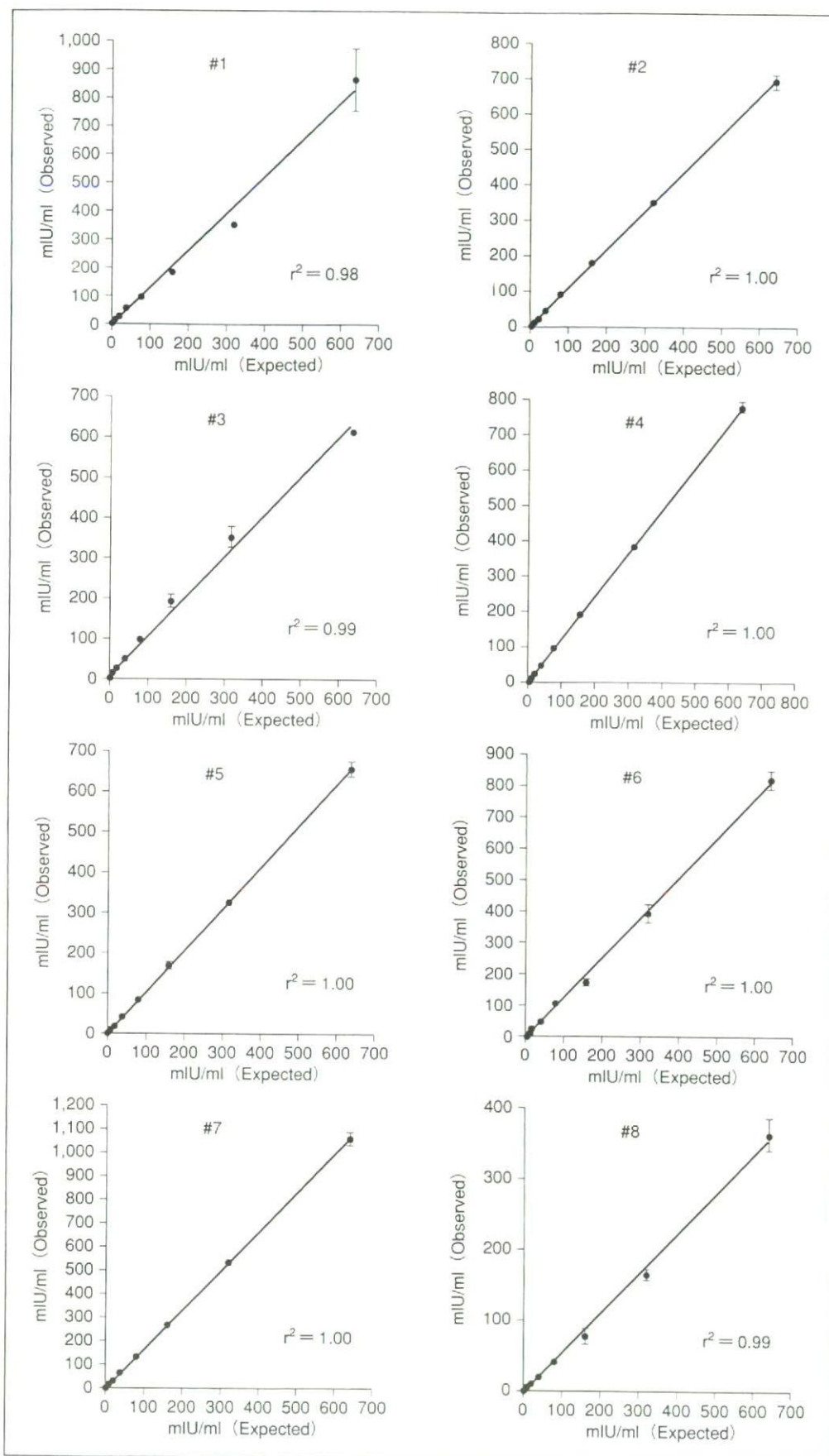


図1 各キットを用いた抗HBs抗体希釈系列検体の測定結果

表に示した8種類のキットを用いて抗HBs抗体国内標準品の希釈系列検体(0~640 mIU/ml)を測定した結果を表す。なお、図におけるキットの番号は、表におけるキットの番号に対応する。

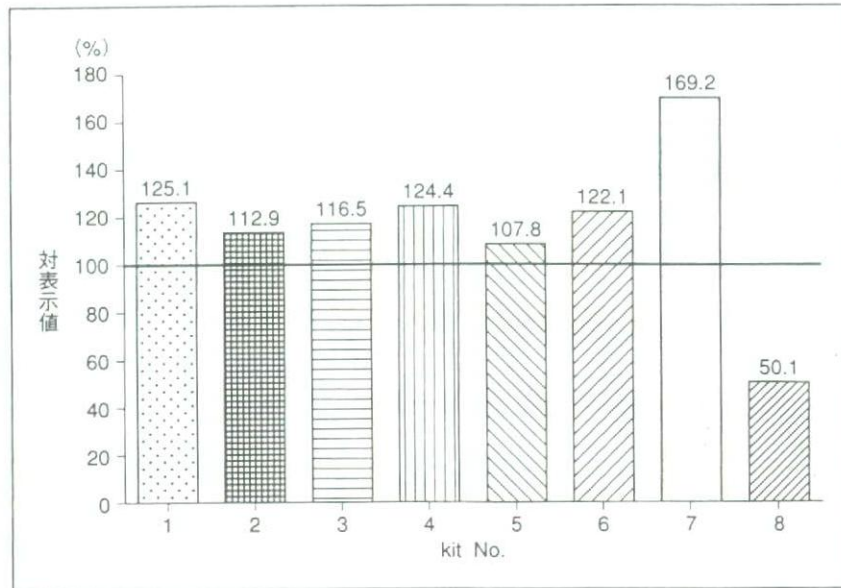


図2 各キットの対表示値

対表示値(%)とは、各検体の抗体濃度(期待値)と測定値の比を各濃度ごとに計算し、それらを平均した値のことである。

assay), CLEIA 法による「mIU/ml」表示の両者が混在して用いられている。しかし今後は国際的調和の観点からも、WHO の国際標準品を基にした「mIU/ml」に統一されるべきである。また“緒言”でも述べたように、HBV 感染防御に有効な抗 HBs 抗体価の基準について、WHO や CDC が提唱する 10 mIU/ml という基準についてわが国でも詳細に検討するべき時期がきている。以上の観点から、現在国内で承認を受け販売/使用されている抗 HBs 抗体測定キットにおいて、同一検体系列を測定しその結果を比較した場合、使用するキットによる測定結果に乖離がないことが今後の基準作成の前提条件となるだろうと考える。

本研究の結果から、現在国内で使用されている 8 種類のキットのなかで、6 種類のキットにおいてはほぼ同様の測定値を示したが、2 種類のキットではそれぞれ約 1.5 倍、約 0.5 倍の測定値を示した(図 2)。この結果は Ogata によってすでに報告されているアーキテクト(#2)とルミパルス(#7)における測定値の乖離と良く一致する<sup>4,5)</sup>。そこでこれらのキットについて製造メーカーと検討した結果、その原因が判明し、それに従いキットが改善されることとなった。そして、それぞれのキットにおいて現在申請に向けて開発中、および一部変更申請が行われている。したがって、こ

れらの申請が認められた段階では、8 種類すべてのキットで同一検体に対してほぼ同一の測定値を示すことになるだろう。

今後は HB ワクチン投与の有効性(感染防御能の獲得)を検証するためにも、抗 HBs 抗体価の正確な測定が重要である。そのためには測定キット間での測定結果に乖離がないことが必須であり、今回の報告でそれが実現されつつあることが示された。

#### 謝辞

本研究における抗 HBs 抗体価の測定にあたり、各キットの製造/販売会社の方々に多大な御協力をいただきましたことを深謝いたします。また本研究の遂行にあたり、数多くの御助言をいただきました燕労災病院の小方則夫博士に深く御礼申し上げます。

#### 文献

- 1) Meeting on hepatitis B control through immunization. RS/2002/GE/05, Japan, 2002
- 2) A Comprehensive Immunization Strategy to Eliminate Transmission of Hepatitis B Virus Infection in the United States. Part 1: Immunization of Infants, Children, and Adolescents. MMWR 54(RR16): 1-23, 2005
- 3) A Comprehensive Immunization Strategy to Eliminate

nate Transmission of Hepatitis B Virus Infection in the United States. Part II : Immunization of Adults. MMWR 55(RR16) : 1-25, 2006

- 4) Ogata N : Requirement of standardizing anti-HBs assay methods in Japan for HBV infection-preventing strategy-discrepancy of anti-HBs measurements among three different kits widely used in Japan. Rinsho Byori 54 : 960-965, 2006

- 5) Ogata N : Measurements in international units of antibody to hepatitis B surface antigen (anti-HBs) after immunization with a yeast-derived, subtype adr hepatitis B vaccine are considerably different between chemiluminescent immunoassay (CLIA) and chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA). Rinsho Byori 54 : 340-343, 2006

## 許諾済複写物シールについてのお知らせ

日本著作出版権管理システム

JCLSが許諾した複写物には、許諾済複写物シールが貼付されています。

日本著作出版権管理システム(JCLS)が正規に許諾した複写物のうち、

- ①スポット契約(個人や団体の利用者が複写利用のつど事前に申告してJCLSがこれを許可する複写利用契約)の複写物
- ②利用者による第三者への頒布を目的とした複写物
- ③JCLSと利用契約を締結している複写事業者(ドキュメントサプライヤー=DS)が提供する複写物

については、当該複写物が著作権法に基づいた正規の許諾複写物であることを証明するため、下記見本の「許諾済複写物シール」を2006年1月1日より複写物に貼付いたします。

なお、社内利用を目的とした包括契約(自社の保有資料を自社で複写し、自社内で使用)分の複写物にはシール貼付の必要はありません。

許諾済複写物シールについてのお問い合わせは、  
(株)日本著作出版権管理システム(JCLS)までお願い申し上げます。  
電話 03-3817-5670、Fax 03-3815-8199、E-mail : info@jcls.co.jp



シール見本(実物は直径17mm)