

抗梅毒抗体検査キットの検討

高野 弘紀, 伊瀬 郁, 島田 信子, 貞升 健志, 甲斐 明美

Evaluation of Commercial Diagnostic Kits for Anti-syphilis Antibodies

Hiroki TAKANO, Iku ISE, Nobuko SHIMADA, Kenji SADAMASU and Akemi KAI

抗梅毒抗体検査キットの検討

高野弘紀*, 伊瀬郁*, 島田信子*, 貞升健志*, 甲斐明美**

梅毒検査法のうち、脂質抗原に対する抗体を検出する方法 (Serological Test for Syphilis : STS 法) であるガラス板抗原試薬が 2009 年 12 月に製造中止となったため、ガラス板法に変わり得る新たな検査試薬 (試薬 A, 試薬 B) の検討を行った。その結果、試薬 A はガラス板法と比べ凝集像が見にくく、低感度であった。また、強度のプロゾーン現象による偽陰性の出現が多い傾向が見られた。一方、*Treponema pallidum* (TP) の菌体成分を抗原として用いる試薬 B は感度が高く、ガラス板法と同等な結果が得られることが判明した。

キーワード : 梅毒, STS 法, TP 抗原法, プロゾーン現象, 確認試験, ラテックス法

はじめに

梅毒は *Treponema pallidum* (以下 TP と略す) を病原体とする疾患で性行為等により感染する。感染者は Human immunodeficiency virus (以下 HIV と略す) に感染しやすいことが指摘されており¹⁾、梅毒検査の実施は本疾患の治療目的としてばかりでなく、HIV 蔓延防止の上でも重要である²⁾。梅毒検査は TP 培養が困難なため、TP の感染によって産生される抗体を検出する方法と TP の菌体成分を抗原として検出する方法が用いられる。前者は Serological Test for Syphilis (以下 STS と略す) 法、後者は TP 抗原法であり、梅毒検査はこの 2 法を並行して行われるのが一般的である。

ガラス板法や Rapid Plasma Reagin Test (以下 RPR 法と略す) 等の STS 法は特異性が劣り偽陽性も存在するが、感染初期からの検出が可能であり、臨床症状をよく反映する。

一方、TP 抗原法は特異性は高いが、感染後、STS 法より陽性化が遅く、また治療後も長期間陽性となるため、STS 法でスクリーニング検査を実施後、TP 抗原法で確認検査を実施するのが一般的な梅毒検査法であった。当研究科では STS 法としてガラス板法と RPR 法によるダブルスクリーニング検査法を行ってきたが、ガラス板抗原試薬が 2009 年 12 月に製造中止となったため、ガラス板法に代わる検査法を選択する目的で、STS 法試薬 A および TP 抗原法試薬 B の比較検討を行ったので報告する。

材料及び方法

1. 血清検体 : 梅毒抗体検査依頼のあった血清 100 検体。(ガラス板法による陽性検体 50 検体, 判定保留検体 18 検体, 陰性検体 32 検体) を使用した。

2. 測定方法

1) 梅毒検査試薬 : STS 法 (ニューカルジオスライド試薬, 栄研化学), TP 抗原法 (メディエース TPLA, 極東製薬), ガラス板抗原試薬 (大日本住友製薬), RPR 法テスト (三光純薬), TPHA 法 (セロディア TP, 富士レビオ) を使用した。

なお、測定は試薬付属のキット使用説明書に従って使用したが、TP 抗原法における判定基準はスクリーニング試験で 10.0 T.U. 未満は陰性とし、判定保留領域を含めた 10.0 T.U. 以上の検体については中和試験を行い、TP 特異性を確認できた場合を陽性とした。

2) 測定機器 : TP 抗原法のみ東芝 TBA-120FR を使用した。

結 果

1. ガラス板法に対する STS 法試薬 A の結果

ガラス板法に対する STS 法試薬 A の結果を表 1 に示した。ガラス板法陽性 50 件中 33 件が STS 法試薬 A で陽性、11 件が ±、6 件が陰性となった。また、ガラス板法陰性 32 件中 24 件が STS 法試薬 A で陰性となり、一致率 60.0% (陽性一致率 66.0%, 陰性一致率 75.0%) であった。

2. ガラス板法に対する TP 抗原法試薬 B の結果

ガラス板法に対する TP 抗原法試薬 B の結果を表 2 に示した。ガラス板法陽性 50 件中 47 件が TP 抗原法試薬 B で陽性となった。また、ガラス板法陰性 32 件中 31 件が TP 抗原法試薬 B で陰性となり、一致率は 78.0% (陽性一致率 94.0%, 陰性一致率 96.9%) であった。

3. プロゾーン現象により偽陰性となった 4 例の精査結果

表 1 に示したガラス板法が陽性、STS 法試薬 A で陰性であった検体 6 検体を希釈して実施したところ 4 検体が陽性となり、強いプロゾーン現象のためスクリーニングで用いる血清原液では偽陰性を示したものと判明した。この 4 検体の RPR 法によるスクリーニングでの凝集像は ± から弱陽性を示し、強いプロゾーン現象が見られた。一方、TP 抗原法試薬 B のスクリーニングではプロゾーン現象は認められたものの陽性と判定できた。表 3 にはこれら 4 検体の各法による定量値を示した。なお、表 1 に示したガラス板法が陽性、STS 法試薬 A で陰性であった残りの 2 検体と ± と判定された 11 検体のガラス板法陽性の定量値は全て 1 倍であり、STS 法試薬 A はガラス板法に比べ低感度であった。

* 東京都健康安全研究センター微生物部病原細菌研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

** 東京都健康安全研究センター微生物部

表1. ガラス板法とSTS法試薬Aの結果の比較

	STS法試薬A				
	+	±	-	合計	
ガラス板法	+	33	11	6	50
	±	2	3	13	18
	-	0	8	24	32
	合計	35	22	43	100

表2. ガラス板法とTP抗原法試薬Bの結果の比較

	TB抗原法試薬B				
	+	±	-	合計	
ガラス板法	+	47	0	3	50
	±	0	0	18	18
	-	1	0	31	32
	合計	48	0	52	100

表3. STS法試薬Aでプロゾーン現象により偽陰性となった4例の精査結果

検体No	ガラス板法 (2 ⁿ 希釈法)	STS法試薬A (2 ⁿ 希釈法)	TP抗原法試薬B (T.U.*)	RPR法 (2 ⁿ 希釈法)	TPHA法 (2 ⁿ 希釈法)
1	64 (+)	64 (+)	2010.0 (+)	128 (+)	10240 (+)
2	128 (+)	64 (+)	1060.0 (+)	128 (+)	10240 (+)
3	64 (+)	32 (+)	2899.0 (+)	64 (+)	81920 (+)
4	128 (+)	64 (+)	5032.0 (+)	64 (+)	81920 (+)

ガラス板法, STS法試薬A, RPR法及びTPHA法の力価は (+) を示した血清希釈倍数

*: T.U. はTITER UNITS の略

表4. 脂質抗原を使用した各抗梅毒抗体検査法の比較

検査法	ガラス板法*1	STS法試薬A	RPR法
検査原理	凝集法	凝集法	凝集法
抗原担体	なし	炭素末粒子	炭素末粒子
検査手法	用手法	用手法	用手法
判定法	肉眼判定 (顕微鏡)	肉眼判定	肉眼判定
非働化	必要	不要	不要
陽性基準	1倍以上	1倍以上	1倍以上
必要機器	既存の機器	既存の機器	既存の機器
特異性	低い	低い	やや低い

*1: 2009年度12月31日で販売終了

表5. TP抗原を使用した各抗梅毒抗体検査法の比較

検査法	TPHA法	TP抗原試薬B
検査原理	凝集法	凝集法
抗原担体	赤血球	ラテックス粒子
検査手法	用手法	自動測定
判定法	肉眼判定	光学判定
非働化	不要	不要
陽性基準	80倍以上	10.0T.U. 以上
必要機器	既存の機器	自動分析機器
特異性	高い	高い
感度	高い	高い
主な検出抗体	IgG	IgM, IgG

考 察

梅毒検査法には STS 法と TP 抗原法の原理に基づいた多くの検査試薬が発売されている (表 4, 表 5)。今回, 古くから使用されてきた STS 法の一つであるガラス板法が 2009 年末で製造中止になった。当センターでは, ガラス板法と RPR 法は反応性の違いとともに, わずかであるが, 抗体・抗原反応域の至適濃度が異なることからお互いの検査法を補完する目的でこの 2 法を用いて梅毒ダブルスクリーニング検査を行い, どちらかでも陽性の場合に TPHA 法による確認検査を実施してきた。

今回, RPR 法と組み合わせるガラス板法に代わり得る, 新たな検査キットを選択する目的で, STS 法試薬 A および TP 抗原法試薬 B の検討を行った。その結果, ガラス板法に対する STS 法試薬 A の一致率は 60.0% (陽性一致率 66.0%, 陰性一致率 75.0%) であったのに対し, TP 抗原法試薬 B の一致率は 78.0% (陽性一致率 94.0%, 陰性一致率 96.9%) であり, TP 抗原法試薬 B の方が一致率が高く良好な結果が得られた。この理由として, STS 法試薬 A は凝集が見にくいために陰性, 陽性の判断がつきにくいこと, ガラス板法や RPR 法よりも強度のプロゾーン現象を示す傾向があることと思われた。一方, TP 抗原法試薬 B の今回の検討においては, プロゾーン現象を示したものの偽陰性となった検体はなかった。TP 抗原法試薬 B の測定原理は, 精製した TP 菌体成分を人工担体であるラテックス粒子に感作し, 検体の TP 抗体との反応により生じる凝集を濁度の変化として光学的に測定するものである。TP 抗体の濃度を定量的に測定できる方法であるため, 検査値が数値化される。更に, TP 抗原精製抗原液による中和試験を行うことにより TP 特異性を確認することができ, 偽陽性を排除できる。また, 生化学自動分析機器で測定することから, 多くの検体を処理すること

ができ, スクリーニング検査法としては TP 抗原法試薬 B の方が優れていると判断された。しかしながら, TP 抗原法試薬 B はガラス板法では陽性とならなかった治療後の低値の抗体も検出することから, 今まで陰性とされていた検体がスクリーニング検査陽性として捕捉される場合が生ずる。この場合においては, 同時に実施する RPR 法では陰性となるため, この両者の結果を比較することで治療後の抗体かどうかの推測が可能である。一方で, 東京都内での梅毒や HIV 感染症が増加傾向にある現状からは, 過去の梅毒感染抗体の有無を疫学的に調査していくことも必要であり, 本法によるスクリーニングがそのための情報として有用であることが期待される。

ま と め

1) ガラス板法に対する STS 法試薬 A の一致率は 60.0% (陽性一致率 66.0%, 陰性一致率 75.0%), TP 抗原法試薬 B の一致率は 78.0% (陽性一致率 94.0%, 陰性一致率 96.9%) と TP 抗原法試薬 B の方が良好であった。また, STS 法試薬 A は抗体価が高い検体において強いプロゾーン現象を生じ偽陰性化し, 見落とす可能性があることがわかった。

2) STS 法試薬 A でプロゾーン現象を示した検体でも TP 抗原法試薬 B では, 陽性と判定でき見逃しを回避することができた。また, 中和試験を行うことで TP 特異性の確認ができ, TP 抗原法試薬 B はガラス板法に代わり得る検査法として用いることが可能であると判断された。

文 献

- 1) 熊本悦明: アニムス, **6**, 33-38, 2001.
- 2) 大里和久: 日本性感染症学会誌, **13**, 124-130, 2002.

Evaluation of Commercial Diagnostic Kits for Anti-syphilis Antibodies

Hiroki TAKANO*, Iku ISE*, Nobuko SHIMADA*, Kenji SADAMASU* and Akemi KAI*

Serological syphilis testing is performed by a combination assay termed the serological test for syphilis method (STS) using lipid antigens and *Treponema pallidum* (TP) antigen. However, the manufacture of the slide test antigen reagent needed for one of the STS methods was stopped in December 2009. We evaluated 2 commercial test kits (A, B) as alternatives to the slide test antigen method. Kit A had lower sensitivity than the slide test antigen method. High sample titer caused difficulty in visualization of the agglutination picture and detection zone phenomenon.

However, kit B had sufficiently high sensitivity and did not show the zone phenomenon.

In conclusion, kit B is a suitable alternative to the syphilis combination assay and can provide equivalent test results to the slide test antigen method.

Keywords: syphilis, STS method, TP method, zone phenomenon, identification, latex method

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan