感染症関連検査迅速測定法の開発

株式会社エスアールエル試薬部

熊澤　俊明，木谷　孔保，田上　浩明，岡　　昌則

1. はじめに

われわれは，多孔性フィルタを担体とした免疫学測定法の開発を行っている。本フィルタを用いることにより，感染症関連検査の測定を簡便にしかも6分間で行うことを可能にした。測定は協和メデックス社ドライ免疫装置 ID-1000，または用手法で行うことができる。

2. 多孔性フィルタ

多孔性フィルタは，図1に示したように直径数 μm のグラスファイバを重ね合わせたものを使用している。フィルタの直径は8mm，厚さ2mmで，マイクロプレートのウェルと表面積を比較すると100倍以上にも達する。したがって，本フィルタの表面積は，抗原または抗体を固相化するのに充分な容量を確保することができ，感度の向上や反応時間の短縮を実現している。さらに，抗原または抗体のフィルタへの固相化は物理吸着を用いて数分で行うことができる。

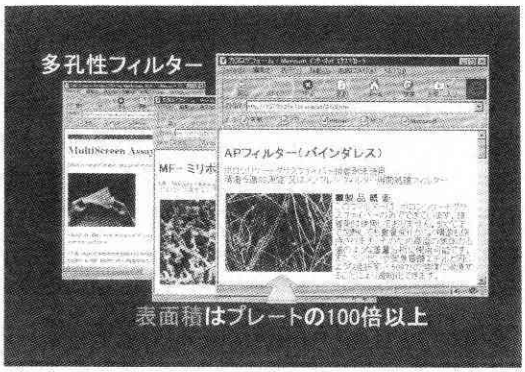

図1　多孔性フィルタ

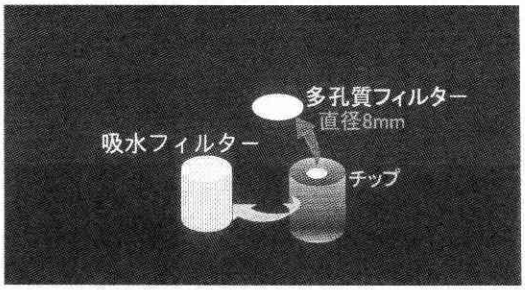

図2　反応容器の構造

3. 反応容器

反応容器の構造を図2に示した。反応容器の内部に多孔性フィルタと吸水性フィルタがセットされている。多孔性フィルタにはあらかじめ抗原，または抗体を固相されている。上部から反応に必要な溶液を滴下し，多孔性フィルタ層で抗原抗体

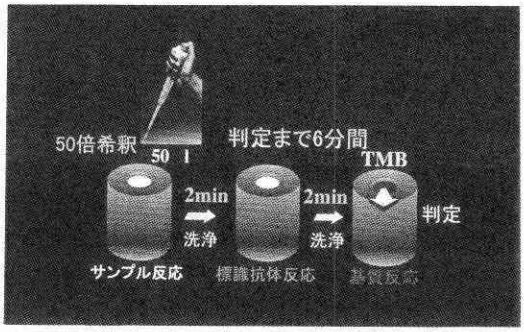

図3　分析手順

図4　判定例

Presented by Medical*Online

表1　測定開発項目

感染症診断薬のバリエーション
- HCV 第3世代抗体
- HCOcore 抗体
- HCVNS4（c100-3）抗体
- HCVNS5 抗体
- HCVセロタイプ
- HBs 抗体
- HBs 抗体
- TP 抗体

表2　HBs 抗体試薬の測定

ID 1000/PCR	HBVDNA 陽性	HBVDNA 陰性
HBs 抗体陽性	18	2
HBs 抗体陰性	0	0

反応を行う。余剰の溶液は吸水性フィルタへ吸水される。発色は上部からレーザ光を照射してこれを積分球で受光して測定するか，用手法の場合には青色の発色の度合いをリファレンスと対比して判定を行う。

4.　分析の手順

分析の手順を図3に示した。ドライ免疫装置 ID-1000 を用いた場合には測定結果のプリントアウトまですべて自動に行われる。

まず，検体はサンプル希釈液で50倍に希釈後 50 μl を滴下する。2分後，洗浄液 50 μl を1回滴下して洗浄を行う，続いて標識抗体溶液 50 μl を滴下する。2分後，洗浄液 80 μl を2回滴下する。そして，TMB 基質を 30 μl 滴下，30～60 秒間に発色率 ΔK/S 値を測定する。用手法の場合にはリファレンスとの対比から判定を行う。すべては6分間に行われる。

判定例を図4に示した。ID-1000 の場合は ΔK/S 値，または各項目所定の単位で表示され，陽性および陰性の判定が示される。用手法の場合には陽性，弱陽性，陰性の3種類の判定となる。

表3　梅毒測定試薬の測定

BBIPANAEL PSS201

ID 1000/TPHA	TPHA 陽性	TPHA 陰性
TP 抗体陽性	23	0
TP 抗体陰性	0	2

表4　HCV NS5 抗体試薬の測定

	RIBA TESTⅢ	RIBA TESTⅢ
HCV NS5 抗体	陽　性	陰　性
陽　性	15	0
陰　性	0	15

5.　測定項目

測定項目は，表1に示したように感染症関連の項目を中心として，HCV 抗体，HBs 抗体，梅毒抗体などの開発が終了しており，HIV 抗体および HTLV-I 抗体に着手している。

6.　測定結果

今回は，HB_s 抗体，梅毒抗体，HCV NS5 抗体の各試薬を用いて測定を行った。

B 型肝炎慢性肝疾患で HBV-DNA 陽性18例，HBV-DNA 陰性2例と本法 HBS 抗体測定試薬を ID-1000 を用いて測定した結果を表2に示した。いずれも陽性を示した。

梅毒（TPHA）抗体陽性者23例，健常者2例と本法梅毒（TP）測定試薬を ID-1000 を用いて測定した結果を表3に示した。陽性および陰性とも一致した。HCV 3rd 抗体陽性で RIBA TEST III　NS5 抗体陽性15例，陰性15例と本法 HCV NS5 抗体測定試薬を ID-1000 を用いて測定した結果を表4に示した。陽性および陰性ともに一致した。

7.　まとめ

本法は迅速性と簡便性を備えた測定法であり，6分間で測定を行うことが可能である。感染症関連検査は，緊急検査として迅速性が重視され，本

Presented by Medical*Online

法は臨床上きわめて有用な測定法として位置付けされると考えられた。今後も，さらに診断薬の開発を進めていきたい。

文　献

1) Choo Q-L, et al : Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. Science 244 : 359-362, 1989.
2) Kuo G, et al : An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. Science 244 : 362-364, 1989.
3) Hinuma Y, et al : Adult T-cell leukemia ; Antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. Proc Natl Acad Sci USA 78 : 6476-6480, 1981.
4) Blumberg, B. S., et al : J. Am. Med. Assoc. 191 : 541-546, 1965
5) Motokazu M, et al : Nucleic Acids Research 20 : 6105, 1992
6) Dane, D. S., et al : Lanceti : 695-698, 1965
7) R. Sanchez-Pescader, et al : Science 227 : 484, 1985
8) M. Guyader, et al : Nature 326 : 662, 1987
9) Toshiaki K., Yoshiyasu K., et al : The Japanese Journmal of Clinical Pathology 45 : 302, 1997
10) Toshiaki K., Yoshiyasu K., et al : The Japanese Journal of Clinical Pathology 44 : 256, 1996
11) Toshiaki K., Yoshiyasu K., et al : The Japanese Journal of Clinical Pathology 42 : 175, 1997
12) Yoshinobu H., et al : Japanese Journal of Clinical Laboratory Automation 22 : 342, 1997

Presented by Medical*Online