

梅毒スクリーニング検査の自動化に向けて

前橋赤十字病院 検査部

伊佐野和代 天笠 道也 竹島 孝子

鈴木 和枝 林 繁樹 伊藤 秀明

Key words : 梅毒 TP抗体 脂質抗体 メディエース TPLA RPR

【 目 的 】

一般的に梅毒スクリーニング検査は、トレポネーマパリダム (Tp) を抗原として用いるTP抗体検査とカルジオリピソ・レシチソを抗原として用いる梅毒脂質抗体検査 (以下STSと略す) を組み合わせ、総合的に判定されている。前橋赤十字病院においてもTP抗体検査と梅毒脂質抗体検査をスクリーソグ検査として実施しているが、検体数が多く、また緊急検査項目として24時間体制で行っている事から、更なる検査の迅速性や安全性が求められる。今回、入力ミスの防止、判定の客観性、短時間での大量処理を目的として両項目を汎用自動分析機 (プレステージ24i) に移行すべく検討を行った。

【 対 象 及 び 方 法 】

対象は平成16年6月～8月までの3ヶ月間に当院にて、検査を依頼されたTP抗体2914件、STS3018件である。TP抗体検査は従来法であるルミパルスf TP抗体 (富士レピオ、以下TP-Nと略す) と汎用自動分析用試薬であるメディエースTPLA (極東製薬、以下TPLAと略す) について、STSは従来法のRPRカードテスト (オリンパス、以下カードテストと略す) とメディエースRPR (極東製薬、以下RPR略す) を比較し、相関を

検討した。又、4法の何れか1法でも陽性となった検体はELISA法の抗TP-IgG (IMNOGEN社)、抗TP-IgM (MICROGEN社)、TPHA法 (富士レピオ)、TPPA法 (富士レピオ) を追加測定し総合的に判定した。

当院の判定基準は表1に示す通り、TP-Nについては添付能書に従い実施しているが、当院では以前からTP-Nまたはカードテスト陽性検体は全て用手法のTPHA法で確認し、最終判定としている。メディエースTPLAは推奨される判定基準にて判定した。またSTSの判定基準は表2の通りである。今回は合わせて各定量試薬との相関と導入時の基礎的検討項目も報告する。

表1 TP抗体判定基準

<当院判定>

- ①ルミパルスII (TP-N) にて測定。
 - 1.0S/CO未満 陰性
 - 1.0S/CO以上 陽性
- ②TP-NまたはRPRカード陽性検体をTPHAにて測定し確認。以下の通りに判定。

当院判定	測定値
陰性	TP-N 1.0S/CO未満かつRPR陰性 またはTPHA確認後20倍未満
判定保留	TPHA 20倍または40倍
陽性	TPHA 80倍以上

<TPLA>

①メディエースTPLAにて測定。

判定	測定値
陰性	10.0T.U.未満
判定保留	10.0T.U.以上20.0T.U.未満
陽性	20.0T.U.以上

②陽性検体は、中和試験にて確認。中和率50%以上を陽性、50%未満は陰性と判定。

表2 脂質抗体の判定基準

	カードテスト	RPR
陰性	凝集なし	1.0R.U.未満
陽性	凝集	1.0R.U.以上

【結果】

1. 同時再現性

TPLAの同時再現性は、各3濃度連続20回測定を行い、CVは10%以内であった(表3)。

RPRの同時再現性は、3濃度連続20回測定を行い、陰性を除く2濃度のCVは10%以内であった(表4)。

表3 TPLAの再現性

Sample	A	B	C
N	20	20	20
MEAN	22.91	85.38	136.87
SD	0.43	1.13	2.46
CV(%)	1.90	1.32	1.80
Range	1.80	4.10	8.30

表4 RPRの再現性

Sample	1	2	3
N	20	20	20
MEAN	0.04	1.27	2.12
SD	0.05	0.09	0.14
CV(%)	125.66	7.27	6.56
Range	0.10	0.30	0.40

2. 希釈直線性

TPLAは300T.U.まで直線性が認められた(図1)。RPRは8.0R.U.まで直線性が認

められた(図2)。

図1 TPLAの直線性

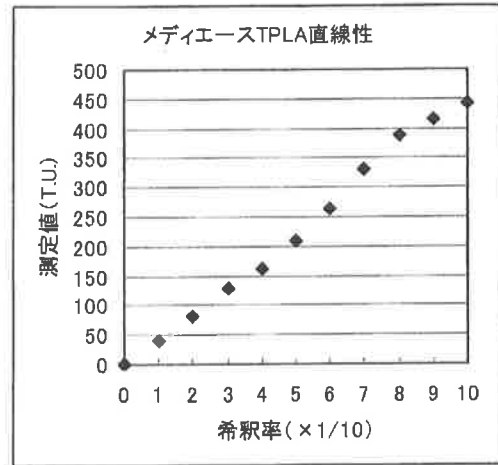
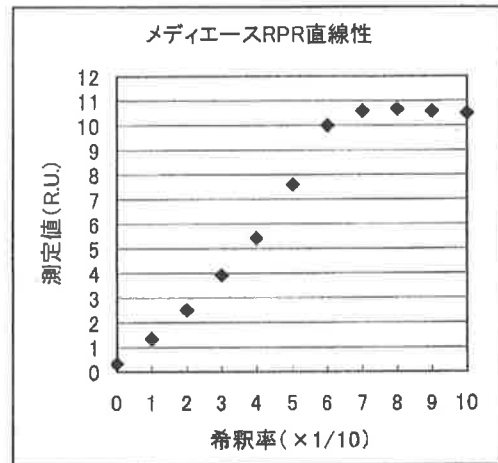


図2 RPRの直線性



3. 干渉物質の影響

干渉物質の影響については、干渉チェックAプラス(シスメックス社)を用いて検討した。TPLAでは、アスコルビン酸は50mg/dL、ビリルビンCは20mg/dL、ビリルビンFは22mg/dL、溶血ヘモグロビンは450mg/dL、乳びはホルマジン濁度2890度までは影響は認められなかった(図3)。RPRでは、アスコルビン酸は50mg/dL、ビリルビンCは22mg/dL、ビリルビンFは20mg/dL、溶血ヘモグロビンは450mg/dLまで影響は認められなかった。乳びについては、正誤差を認めた(図4)。しかし、検討した乳びは擬似乳びであり、実際の乳び検体ではほとんど影

響がみられないことから測定上それほど問題は無いと考えられた。

4. キャリーオーバーの影響

高濃度検体測定後の測定値への影響を確認した。TPLA約5000T.U.の血清を測定後、陰性血清を5重測定した。高濃度検体測定直後の陰性検体測定値は5.4T.U.それ以降は0.0T.U.であり、直後の検体に若干の影響が見られた。また、RPRについても同様に30R.U.の高値血清を用いて検討を行ったが、陰性血清はすべて0.0-0.1R.U.であり、特に影響は見られなかった。高値検体測定直後の検体については判定が陽性に至らずとも若干注意が必要と思われた。

また、当院の感染症検査は同一採血管を使用しており、アーキテクト測定TMのHBs抗原及びHCV抗体検査を実施後、プレステージでの梅毒検査を実施している。その為、アー

図3 TPLA干渉物質の影響

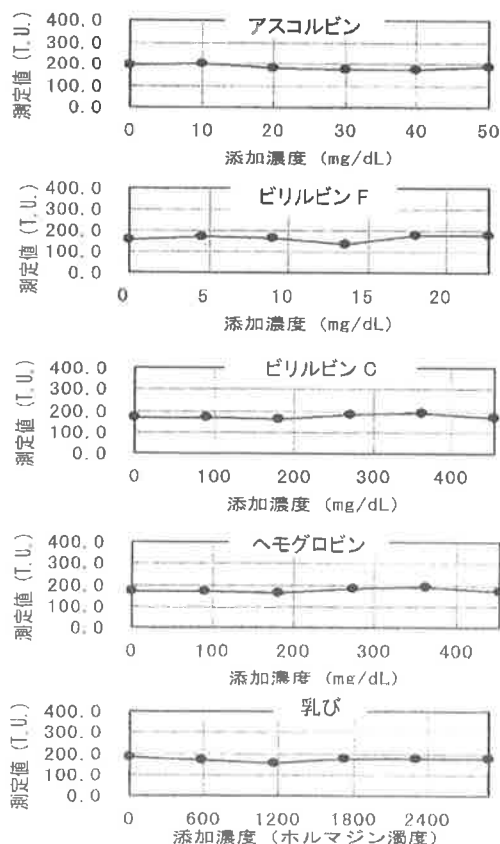
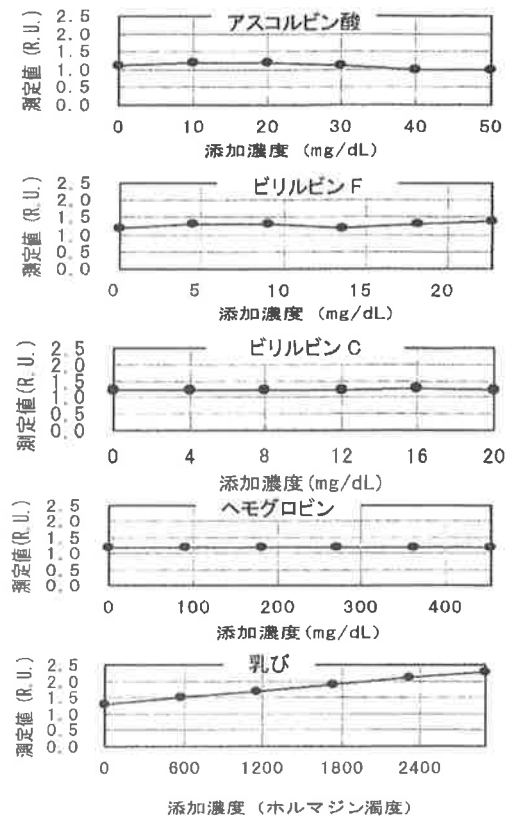


図4 RPR干渉物質の影響



キテクト測定時に次の採血管への検体持越しについて確認したが、高値検体測定後の陰性検体に影響がないため、採血管へのコンタミネーションはないと思われた。

5. TP抗体の相関

TP-NとTPLAとの相関は、陽性一致率73.7% (28/38)、陰性一致率99.9% (2872/2876)、全体一致率99.5% (2900/2914)であった (表5)。当院判定 (TP-N陽性検体を全件TPHAにて確認し判定) とTPLAでは、陽性一致率91.7% (22/24)、陰性一致率99.9% (2877/2881)、全体一致率99.6% (2901/2914)であった (表6)。

TP-N陽性、TPLA陰性であった6件はTPHA法を実施し陰性であったため当院判定は陰性となった (表7)。一方、TP-N陰性、TPLA陽性であった1件は、RPRカードテストは陽性 (1+) であり、TPHAを実施した結果も陽性 (80倍) であったため、当院

判定は陽性とした（表8）。なお、この検体についてはTPLAや他法においても陽性であった。

TPLA陽性例のうち中和試験で陰性を確認

表5 TP-NとTPLAの相関

全体一致率		TPLA			計
99.5%		+	±	-	
TP-N	+	28	4	6	38
	-	1	3	2872	2876
計		29	7	2878	2914

した検体が4例あった（表9）。

非特異率は、TP-Nでは0.21%（6/2914）、TPLAでは0.14%（4/2914）であった。

表6 当院判定とTPLAの相関

全体一致率		TPLA			計
99.6%		+	±	-	
当院判定	+	22	2	0	24
	±	7	2	1	10
	-	0	3	2877	2880
計		29	7	2878	2914

表7 TP-N陽性、TPHA確認後陰性

	TP-N S/CO	TPLA				TPHA 倍	当院 判定	TPPA 80倍	ELISA-抗TP	
		規定値 T.U.	中和後 T.U.	中和率 %	最終 判定				IgG C.O.I.	IgM C.O.I.
1	1.8 (+)	0.0 (-)	-	-	(-)	20倍未満 (-)	陰性	(-)	0.76 (-)	0.58 (-)
2	2.6 (+)	0.0 (-)	-	-	(-)	20倍未満 (-)	陰性	(-)	0.36 (-)	0.19 (-)
3	1.1 (+)	0.0 (-)	-	-	(-)	20倍未満 (-)	陰性	検体 不足	検体 不足	検体 不足
4	3.3 (+)	0.0 (-)	-	-	(-)	20倍未満 (-)	陰性	検体 不足	検体 不足	検体 不足
5	2.7 (+)	0.0 (-)	-	-	(-)	20倍未満 (-)	陰性	(-)	0.38 (-)	0.25 (-)
6	3.3 (+)	0.0 (-)	-	-	(-)	20倍未満 (-)	陰性	(-)	0.48 (-)	0.25 (-)

表8 TP-N陰性、他法陽性

	TP-N S/CO	TPLA				TPHA 倍	当院 判定	TPPA 80倍	ELISA-抗TP	
		規定値 T.U.	中和後 T.U.	中和率 %	最終 判定				IgG C.O.I.	IgM C.O.I.
1	0.9 (-)	67.3 (+)	0.0	100.0	(+)	80倍 (+)	陽性	(+)	1.09 (+)	0.22 (-)

表9 TPLA中和試験後陰性

	TP-N S/CO	TPLA				TPHA 倍	当院 判定	TPPA 80倍	ELISA-抗TP	
		規定値 T.U.	中和後 T.U.	中和率 %	最終 判定				IgG C.O.I.	IgM C.O.I.
1	0.3 (-)	74.5 (+)	72.0	3.4	(-)	20倍未満 (-)	陰性	(-)	0.15 (-)	0.25 (-)
2	0.2 (-)	63.4 (+)	53.3	15.9	(-)	20倍未満 (-)	陰性	(-)	0.01 (-)	0.37 (-)
3	0.1 (-)	28.9 (+)	19.9	31.0	(-)	20倍未満 (-)	陰性	(-)	0.20 (-)	0.09 (-)
4	0.1 (-)	60.9 (+)	41.1	32.0	(-)	20倍未満 (-)	陰性	(-)	0.04 (-)	0.31 (-)

6. 脂質抗体 (STS) の相関

カードテストとRPRの相関は、陽性一致率59.3% (16/27)、陰性一致率は99.5% (2975/2991)、全体一致率99.1% (2991/3018)であった (表10)。

カードテスト陽性、RPR陰性であった検体のうち6検体は、TP抗体法が陽性であったが、ELISA抗TP-IgMは陰性であり既往検体と考えられた (表11)。RPRは他法に比べ陰性化が早いとの報告があるが、今回も同様と

思われた。また、その他の乖離については、各試薬の使用抗原や生物学的偽陽性 (BFP) の違いによるものと考えられた。

表10 脂質抗体の相関

全体一致率 99.1%		RPR		
		+	-	計
カード テスト	+	16	11	27
	-	16	2975	2991
計		32	2986	3018

表11 カード法陽性、RPR陰性

	RPRカード		RPR	TP-N S/CO	TPLA		TPHA 倍	TPPA 80倍	ELISA-抗TP	
	定性	定量	測定値 R.U.		測定値(T.U) 中和率	判定			lgG C.O.I.	lgM C.O.I.
1	陽性	(2+)	0.8 (-)	16.1 (+)	545.0 100.0%	(+)	640 (+)	(+)	1.71 (+)	0.16 (-)
2	陽性	(+)	0.8 (-)	36.5 (+)	480.0 86.0%	(+)	320 (+)	(+)	2.69 (+)	0.40 (-)
3	陽性	(+)	0.2 (-)	27.3 (+)	554.0 99.0%	(+)	160 (+)	(+)	2.32 (+)	0.45 (-)
4	陽性	(+)	0.0 (-)	11.8 (+)	92.1 100.0%	(+)	160 (+)	(+)	1.10 (+)	0.20 (-)
5	陽性	(2+)	0.0 (-)	13.1 (+)	67.4 100.0%	(+)	80 (+)	(+)	0.94 (±)	0.09 (-)
6	陽性	(+)	0.0 (-)	16.2 (+)	37.4 100.0%	(+)	80 (+)	(+)	1.05 (+)	0.53 (-)

今回実施した検討の中で、TP抗体測定法のすべてが陰性であり、かついずれかの梅毒脂質抗体が陽性である生物学的偽陽性と考えられた検体は全部で19件あった。内訳としては、カードテスト、RPR共通の生物学的偽陽性と考えられた検体は3件、カードテスト単独の生物学的偽陽性と考えられた検体は4件、RPR単独の生物学的偽陽性と考えられた検体は12件であった。従ってカードテストの生物学的偽陽性率は0.23%、RPRの生物学的偽陽性率は0.50%であった。これらの検体については、一般的に生物学的偽陽性が生じるとされている疾患であった (表12)。

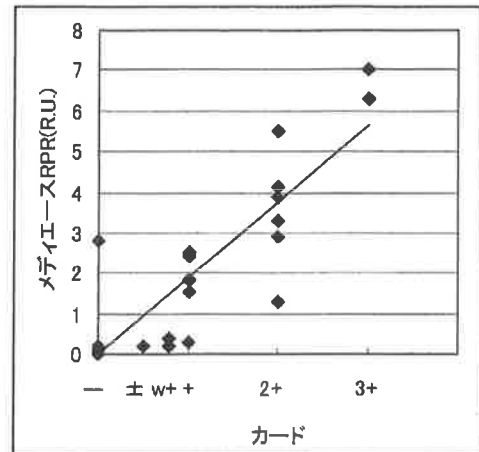
7. 相関 (定量)

当院では陽性と判定されたTP抗体49件の相関は $r=0.912$ ($y=0.8785x-227.33$)であった (図5)。また脂質抗体30件の相関は、 $r=0.880$ ($y=1.8795x+0.0148$)であった (図6)。

表12 生物学的偽陽性と病状

測定法	年齢	病状
カード	44	・膠原病
テキスト・RPR	66	・肺癌、肝癌、MRSA、敗血症
	76	・HCV、肝癌、肝硬変
カード	67	・HCV、膠原病、脾臓癌
テストのみ	58	・HCV、胃癌
	32	・妊娠
	70	・肝癌、胃癌、肝硬変
PRPのみ	76	・HCV、肝癌
	74	・HCV、胃癌
	78	・HCV、肝癌
	36	・脂肪種
	94	・HCV、カンジダ症
	33	・妊娠、ムンプス耳下腺炎
	78	・肺結核、喉頭癌、転移性肝癌
	26	・伝染性単核球症、自己免疫性肝炎、ヘルペス
	50	・感冒
	83	・不明
	53	・膀胱腫瘍
	78	・不明

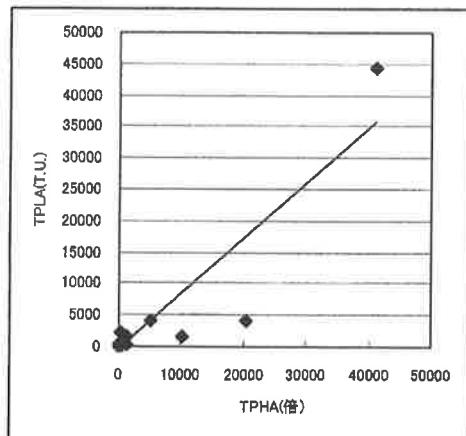
図6 カードテストとRPRの定量相関



【結 語】

1. TPLAはTP-Nより若干非特異が少なく、相関も良好であった。またTPLAには中和試験があるため、用手法のTPHAでの確認試験が省略可能となり、省力化に繋がると思われる。
2. RPRは数値で結果が出るため、人差の無い客観的なデータが得られると考えられた。生物学的偽陽性は0.50%であり、従来法より若干増えたが相関は良好であり、TPLAとRPRを総合的に判定すれば、スクリーニング検査としては問題ないと思われる。
3. 自動分析機で測定するため、両項目を一度に短時間に処理でき、さらにオンラインで結果が送られるため入力ミスの防止に繋がると考えられる。
4. 定量値であるTPLAとRPRは定量法の保険適用が認められている。相関性の検討でも良い結果が得られているのでTPHA定量、カードテスト定量からの移行に問題はないと考えられる。

図5 TPHAとTPLAの定量相関



参考文献

- 1) 大里和久、川井和久ほか : ラテックス凝集法による抗梅毒脂質抗体測定用試薬および抗TP抗体測定用試薬の臨床的評価, 日本性感染症学会誌 2002 ; 13 (1) : 124-130.
- 2) 川井和久、大里和久 : メディエースRPR、TPLAを用いた梅毒病期判別可能性について, 医療と検査機器・試薬 2003 ; 26(4) : 301-304.
- 3) 錦織寿 : ラテックス比濁法による梅毒抗体測定試薬メディエースTPLA, 日本臨床検査自動化学会会誌 1995 ; 20(3) : 255-259.
- 4) 千葉正志ほか : ラテックス粒子をコーティングした梅毒検査試薬の汎用自動分析装置での測定と反応特性解析, 医学検査 2004 ; 53(10) : 1217-1221.
- 5) 野田真希ほか : ラテックス凝集比濁法による梅毒脂質抗体測定試薬の基礎的検討, 医学検査 2003 ; 52(10) : 1279-1282.
- 6) 坂栗まゆみほか : 梅毒ラテックス免疫凝集試薬における乳ビの影響, 日本臨床自動化学会会誌 別冊 2003 ; 28(5) : 711-713.
- 7) 大里和久 : 輸血関連感染症検査 細菌・原虫 1. 梅毒, Medical Technology 2003 ; 31(13) : 1422-1426.
- 8) 津上久弥 : 梅毒血清反応検査と治癒判定の問題, 皮膚 1982 ; 24(1) : 11-18.
- 9) 金城徹ほか : ラテックス免疫比濁法を測定原理としたRPR定量用試薬メディエースRPRの日立7600型自動分析装置Pモジュールにおける性能評価, 日本臨床自動化学会会誌 2005 ; 30(3) : 257-262.