

DETECTION OF CHLAMYDIA TRACHOMATIS ANTIGEN OF OROPHARYNX

Noriko Ueda, Yoshitaka Miyano, Yasuko, Arai, Hajime Aramaki

Department of Otolaryngology, Tokyo Women's Medical College, Daini Hospital

Recently, the number of cases of sexually transmitted disease, *Chlamydia trachomatis*' infection of the oropharynx, is on the increase.

We detected the *C.trachomatis* antigen in mucosal epithelium from tonsillar crypt using both enzyme immunoassay and fluorescent antibody technique. We also

examined *C.trachomatis* serum antibody titer in *C.trachomatis* antigen positive patients.

The three testing methods produced very different results. We believe therefore that it is necessary to more thoroughly study *C.trachomatis* detection methods.

EIA による咽喉 *Chlamydia trachomatis* の検出

上 田 範 子 宮 野 良 隆
新 井 寧 子 荒 牧 元

東京女子医大附属第二病院耳鼻咽喉科

I. はじめに

近年、性行動の多様化に伴い性行為感染症も広がりを見せ、泌尿器科・婦人科領域にとどまらず、耳鼻咽喉科をはじめ多くの科と関わってきている。我々は性行為感染症のひとつである *Chlamydia trachomatis* (以下 *C.trachomatis*) による口腔咽頭感染の検査法について検討した。

C.trachomatis 抗原の検出方法として主なものに酵素抗体法 (enzyme immunoassay ; 以下 EIA 法), 蛍光抗体法 (fluorescent antibody ; 以下 FA 法), 細胞培養法, DNAプローブ法などがある。

今回我々は EIA 法・FA 法により抗原の検出を行い、同時に血清抗体価の測定も行った。

II. 対象および方法

対象 ; 1990年11月から1991年8月に東京女子医科大学附属第二病院耳鼻咽喉科外来を訪れた慢性扁桃炎が凝われる患者を中心に一部急性扁桃炎患者を含めた163例を対象とした。内訳は男性55例, 女性108例であった。年齢は14歳~66歳で平均42.3歳であった。

材料 ; 綿棒により擦過した扁桃陰窩の粘膜上皮細胞を検体とした。

方法 ;

Table 1 のように、まず全例に対し、EIA 法による *C.trachomatis* 抗原検出キット Chlamydiazyme[®] (Dainabot 社) によって抗原検出を行った。次に、EIA 法での陽性例に対し、FA 法による測定キット MicroTrak

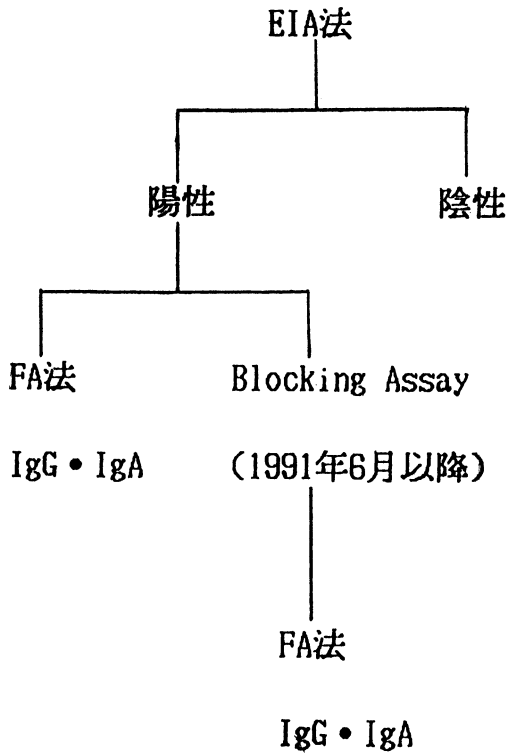


Table 1 Detection methods of *C.trachomatis*

® (Syva 社) によって抗原の有無を再検し、同時に *C.trachomatis* 抗体 IgG・IgA を測定キット IPA zyme® (Savyon Diagnostics社) によって検討した。これは IgG 64倍と128倍、IgA 16倍の三者が測定でき、この三者の組合せによって、感染の活動性の参考にしようというものである。

尚、EIA 法は1991年 6 月以降、Blocking Assay を取り入れるようになった。これは従来の Chlamydiazyme での常在菌との非特異反応による偽陽性を減少させる目的で開発されたものである。従来の Chlamydiazyme 法 (ポリクローナル抗体を使用している) に、ブロッキング試薬としてマウスの腹水より抽出したモノクローナル抗体を添加した上で、同様の測定を行い、従来の Chlamydiazyme 法に比し、吸光度が50%以上減少した場合そ

の検体を陽性と判断するものである。¹⁾

Table 1 に示すごとく、1991年 6 月以降、従来の Chlamydiazyme で陽性のもの全例に対し Blocking Assay を行い、Blocking Assay 陽性のものだけに、FA法、抗体価の測定を行った。

III. 結 果

1 : EIA 法

1) Blocking Assay 導入前

対象104例中陽性40例38.5%であった。

2) Blocking Assay 導入後

対象59例中陽性 5 例8.5%であった。

1) 2) とも男女間で陽性率に有意差はなかった。

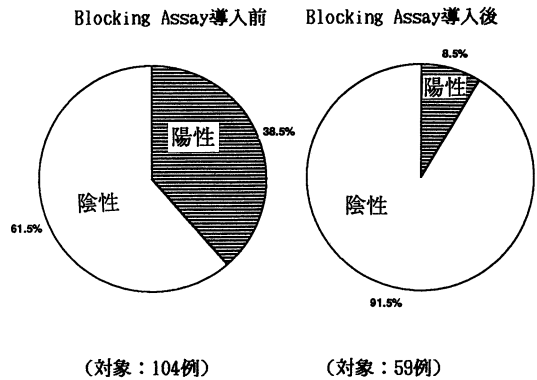
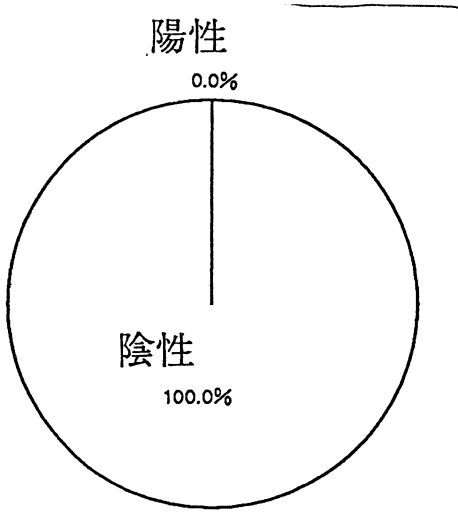


Fig 1 Positive ratio of *C.trachomatis* antigen by Chlamydiazyme

2 : FA 法

EIA 法での陽性例20例を対象としたが、20例全て陰性となった。



(対象 : EIA 法での陽性者20例)

Fig 2 Positive ratio of *C.trachomatis* antigen by MicroTrak

3 : IgG・IgA

FA 法で陰性となった20例のうち14例を対象に IgG64倍・128倍, IgA 16倍について測定した。

| 判定 | 活動性感染 | | 陽性 | | | | | 陰性 | | 計 |
|-----------|-------|---|----|---|---|---|---|----|----|---|
| | + | - | + | ± | - | - | + | - | | |
| IgG 1:64 | + | + | + | + | + | + | - | - | | |
| IgG 1:128 | + | - | - | + | ± | - | - | - | | |
| IgA 1:16 | + | + | ± | - | - | - | + | - | | |
| 症例数 | 2 | 0 | 0 | 3 | 0 | 4 | 0 | 5 | 14 | |

Table 2 Activity of *C.trachomatis* infection decided by the combination of IgG and IgA.

内訳は Table 2 に示すごとく

1) IgG・IgA 全て陽性のものが2例

2) IgG 64倍・128倍が陽性で IgA 16倍が陰性のものが3例

3) IgG 64倍のみ陽性のものが4例

4) IgG・IgA 全て陽性のものが5例であった。

IV. 考 察

現在, *C.trachomatis* 抗原の検出に用いられる検査法には EIA 法 FA 法のほか, 細胞培養法, DNA プローブ法などがある。各検査の長所, 短所をまとめると Table 3 のようになる。

| | 長所 | 短所 |
|---------|-------------------------|-------------------------------------|
| EIA法 | 判定に習熟を要さず 検体保存が簡便である | 口腔咽頭の常在菌が大量に存在する検体では非特異反応による偽陽性を呈する |
| FA法 | 判定が迅速に下せる | 判定に習熟を要する |
| 細胞培養法 | 特異度が高い | 培養に特殊設備が必要 分離に時間がかかる |
| DNAプローブ | 特異度が高い | |

Table 3 Strong point and weak point of each method.

我々は今回 *C.trachomatis* の口腔咽頭感染について検討したが, 抗原検査に関しては方法により結果に大きな差が出た。

EIA 法では Blocking Assay 導入前の陽性率は38.5%であり, Blocking Assay 導入後の陽性率は8.5%となり, 両者には大きな差がでた。山崎らは, 今回我々が使用した EIA 法によるキット Chlamydiazyme では *Neisseria* や *Branhamella catarrhalis* など, 内因性ペルオキシダーゼ活性を有する菌との交叉

反応が存在すると報告しており,²⁾ また, Chlamydiazyme ではクラミジア属特異のポリクローナル抗体を用いており, *Chlamydia psittaci* との交叉反応の可能性もある.

小川らは扁桃炎症例での扁桃陰窩よりの *C.trachomatis* の細胞培養法での検出率は26.7%と報告しており,³⁾ Blocking Assay 導入前の我々の陽性率より約10%少なかった. 注) 尚, 研究会当日小川により, その後の検討によりこの26.7%の中に約9% *C.pneumoniae* が含まれていたとの訂正があった.

以上より今回の我々の, Blocking Assay 導入前の従来のChlamydiazymeの結果には, 交叉反応による偽陽性がかかなり含まれていたのではないかと思われた.

EIA法で陽性になった20例に対してFA法で抗原を再検したが, FA法では全例陰性となりEIA法とFA法との一致が全くみられなかった. ここからもEIA法の偽陽性が考えられる. と同時にFA法の偽陰性も考えられる.

今回EIA法で陽性となった14例では, FA法と同時に抗体による感染の活動性の検討が行われたが, これはTable 2に示すようにIgG 64倍と128倍・IgA16倍の3つの組合せで, *Chlamydia* 感染が現在起こっているか否かの目安にしようというもので, 全8つの組合せに分かれ, 判定は, 活動性感染・陽性・陰性に区分される. しかし, 陽性・陰性に関してもさらに10日後に再検し, pair血清による抗体の推移により, クラミジア感染が現在のものか過去のものか知る必要がある. 今回14例中2例で活動性感染となり, FA法との食違いを見せた (FA法では陰性だった). またこの2例中の1例では治療後も抗体検査で再度活動性感染となり, 治療効果とは必ずしも一致しないことが伺えた. この判定はあくまでも, 連続的な抗体の推移の3ポイントしか見ておらず, 簡便である一方, 判定には限界があると思われた.

C.trachomatis の口腔咽頭感染に対し多種の検査法があるがそれぞれに問題点があり, 以上より我々は, 従来のChlamydiazymeのみによらず, Blocking Assay, FA法, 抗体検査を組み合わせでの診断が必要であると考え. また今回は行えなかったが, 今後, 従来のChlamydiazymeでは陽性であるもののBlocking Assayでは陰性となったものについても, FA法, 抗体検査を同時に検討していきたい.

さらに小島らは, 咽頭よりの検体に対してのDNAプローブ法の有用性を報告しており,⁴⁾ 今後DNAプローブ法も含めての各検査の検討を続けていきたい.

V. ま と め

口腔咽頭の *C.trachomatis* 感染について, 163例を対象にEIA法, FA法, 血清抗体IgG・IgAを用い検討を行った. EIA法での陽性率はBlocking Assay導入前は38.5%であり, Blocking Assay導入後は8.5%であった. 検査法によって陽性率に大きな差があり, 今後の検討が必要と思われた.

文 献

- 1) Moncada J., et al. : Confirmatory assay increases specificity of the Chlamydiazyme Test for *Chlamydia trachomatis* infection of the cervix. J. Clin. Microbiology. 28 (8) : 1770-1773, 1990.
- 2) 山崎 勉 他 : *Chlamydia trachomatis* 気道感染の診断における抗原検査法について, 第1編 気道常在細菌との交叉反応. 感染症学雑誌63 : 1195-1200, 1989.
- 3) 小川浩司 他 : *Chlamydia trachomatis* による耳鼻咽喉科疾患と検査法の問題点について. 日本耳鼻咽喉科感染症研究会誌 7 : 167-171, 1989.
- 4) 小島弘敬 他 : 淋病の臨床 淋菌性咽頭炎. JOHNS 7 : 327-335, 1991.

質 疑 応 答

追加 小川浩司（北里研究所病院）

私どものデーターは *C.pneumoniae* の診断が不可能だった頃のものですが，現在のデーターでは扁桃からの検出率は *C.trachomatis* が15%， *C.pneumoniae* が約9％です．

MicroTrak の検出率は先生のデーター同様に陽性率が低い．十分な量の感染細胞が採れないからであろうと考えます．