

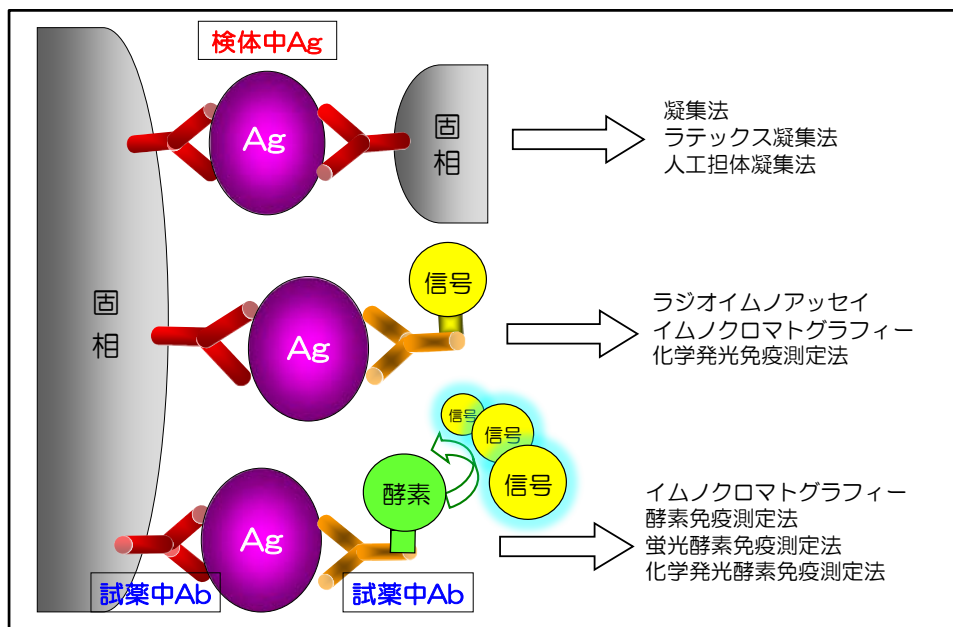
感染症検査の主な測定原理

感染症検査に用いられている主な測定原理を以下に示しました。

	測定原理	利用されている検査項目
01	赤血球凝集抑制法 (HI)	風疹 (抗体), 麻疹 (抗体), ムンプス (抗体), 日本脳炎 (抗体), インフルエンザ (抗体), エコー (抗体) など
02	補体結合法 (CF)	梅毒 (抗体), 麻疹 (抗体), ムンプス (抗体), 水痘 (抗体), サイトメガロ (抗体), インフルエンザ (抗体), RS (抗体), ポリオ (抗体), 日本脳炎 (抗体) など
03	中和法 (NT)	麻疹 (抗体), ムンプス (抗体), 水痘 (抗体), アデノ (抗体), RS (抗体), ポリオ (抗体), コクサッキー (抗体), エコー (抗体) など
04	凝集法 赤血球凝集法 (HA) 人工担体凝集法 (PA, LA)	肝炎ウイルス関連 (抗原・抗体), 梅毒関連 (抗体), マイコプラズマ (抗体), 麻疹 (抗体), HIV スクリーニング (抗原・抗体), HTLV-I (抗体), クリプトコッカス (抗原), ロタ (抗原) など
05	蛍光抗体法 (FA)	クラミジア・トラコマチス (抗原), 水痘 (抗原・IgG 抗体/ IgM 抗体), 梅毒 TP (抗原・IgG 抗体/ IgM 抗体) など
06	ラジオイムノアッセイ (RIA・IRMA)	HCV コア (抗原・抗体) など
07	酵素免疫測定法 (EIA, ELISA)	麻疹 (IgG 抗体/ IgM 抗体), 風疹 (IgG 抗体/ IgM 抗体), 水痘 (IgG 抗体/ IgM 抗体), ムンプス (IgG 抗体/ IgM 抗体), サイトメガロ (IgG 抗体/ IgM 抗体), 肝炎ウイルス関連 (抗原・抗体) など
08	蛍光酵素免疫測定法 (FLEIA)	トキソプラズマ (IgG 抗体/ IgM 抗体)・風疹 (IgG 抗体/ IgM 抗体), 肝炎ウイルス関連 (抗原・IgG 抗体/ IgM 抗体), HIV スクリーニング (抗原・抗体), クラミジア (抗原), ロタウイルス (抗原), クロストリジウム・ディフィシル (毒素 A/B) など
09	化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA)	肝炎ウイルス関連 (抗原・IgG 抗体/ IgM 抗体), HIV スクリーニング (抗原・抗体), HIV-I (抗原), 梅毒 TP (抗体), HTLV-I (抗体) など
10	化学発光免疫測定法 (CLIA)	肝炎ウイルス関連 (抗原・IgG 抗体/ IgM 抗体), HIV スクリーニング (抗原・抗体), 梅毒 TP (抗体) など
11	電気化学発光免疫測定法 (ECLIA)	肝炎ウイルス関連 (抗原・IgG 抗体/ IgM 抗体), HIV (抗体) など
12	イムノクロマトグラフィー法 (ICA)	肝炎ウイルス関連 (抗原・抗体), HIV スクリーニング (抗原・抗体), 梅毒 TP (抗体), インフルエンザ (抗原), アデノウイルス (抗原), 肺炎球菌 (抗原), レジオネラ (抗原), ロタウイルス (抗原) など
13	ウェスタンブロット法 (WB)	HIV-I (抗体確認), HIV-II (抗体確認), HTLV-I (抗体確認) など
14	イムノブロット法	HCV (抗体確認) など
15	ハイブリダイゼーション法	抗酸菌群 (DNA), 結核菌群 (rRNA), マイコバクテリウム・アビウムコンプレックス (rRNA), クラミジア・トラコマチス (rRNA), 淋菌 (rRNA) など
16	PCR 法	HCV (RNA), HBV (DNA), HIV-I (RNA), 結核菌群 (DNA), マイコバクテリウム・アビウム (DNA), マイコバクテリウム・イントラセルラー (DNA), クラミジア・トラコマチス/淋菌 (DNA) など
17	リアルタイムPCR 法	HCV (RNA), HBV (DNA), HIV-I (RNA), 結核菌群 (DNA) など
18	TMA 法	HCV (RNA), HBV (DNA), クラミジア・トラコマチス/淋菌 (rRNA) など
19	TRC 法	結核菌群 (rRNA), マイコバクテリウム・アビウムコンプレックス (rRNA) など
20	比濁時間分析法	β -D グルカン, エンドトキシン など

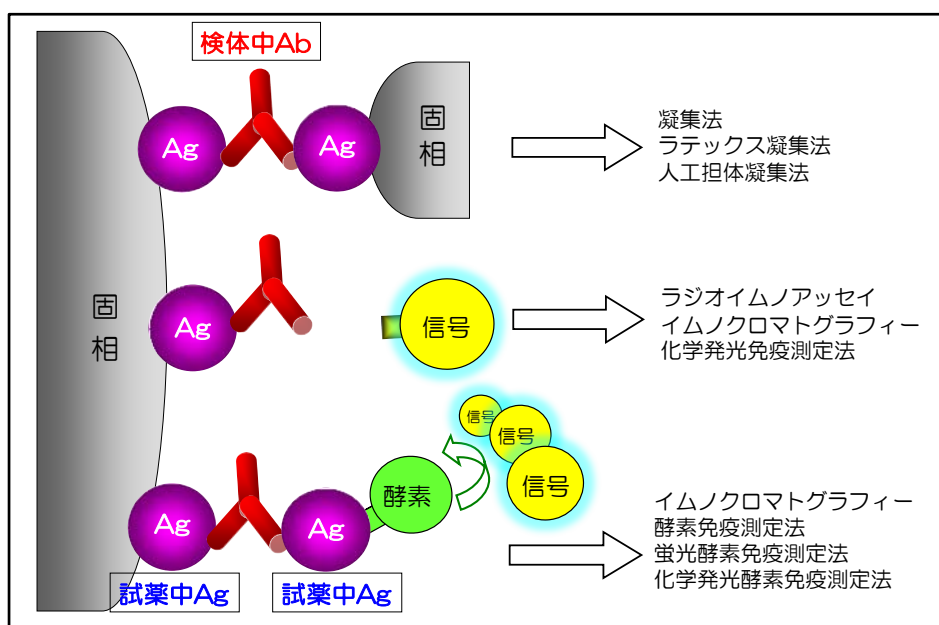
A. 抗原測定法の主な測定原理

抗原測定に用いられている主な測定原理を以下に示しました。抗原を捕捉するための抗体には、ヤギ、モルモット、マウスなどに免疫して得られたモノクローナル抗体やポリクローナル抗体が使用されています。また、測定行程には1ステップ法と2ステップ法があり、1ステップ法は測定時間が短いという長所がありますが、定量性に欠けるという短所があります。



B. 抗体測定法の主な測定原理

抗体測定に用いられている主な測定原理を以下に示しました。抗体を捕捉するための抗原には、精製抗原、リコンビナント抗原、合成ペプチド抗原などがあります。また、測定行程には1ステップ法と2ステップ法があり、1ステップ法は測定時間が短いという長所がありますが、定量性に欠けるという短所があります。



1. 赤血球凝集抑制法 hemagglutination inhibition (HI)

多くのウイルスが動物の赤血球レセプターと結合する性質（赤血球凝集素）を利用した本法は、①検体中の抗体とウイルス（抗原）を反応させた後、②動物の赤血球を反応させるもので、検体中の抗体がウイルスと結合（抗原抗体反応）すると、ウイルスの赤血球凝集作用を抑制する現象が認められます。抗体価はこの凝集を完全に抑制した最高血清希釈倍数で表わします。採血時期の異なるペア血清（2週間以上間隔をあけて採血）を測定して、抗体価に4倍以上の上昇が認められた場合を最近の感染と判断します。

2. 補体結合法 complement fixation (CF)

抗原抗体反応が起こると抗体のFc部に補体が結合するという性質を利用した本法は、①検体中の抗体とウイルス（抗原）および補体を加え反応（1次反応）させた後、②感作赤血球（赤血球と溶血素）を加え反応（2次反応）させるもので、検体中の抗体がウイルスと結合（抗原抗体反応）すると、さらに補体が結合する現象が認められます。感作血球を用いた溶血反応は補体の消費を観察するための二次反応で、その抗体価は溶血阻止が観察された最高血清希釈倍数で表わします。採血時期の異なるペア血清（2週間以上間隔をあけて採血）を測定して、抗体価に4倍以上の上昇が認められた場合を最近の感染と判断します。

3. 中和法 neutralization test (NT)

本法は、①検体中の抗体とウイルス（抗原）を反応させた後、②それらをウイルス感受性細胞に接種して培養を行なうもので、検体中の中和抗体がウイルスと結合（抗原抗体反応）すると、ウイルスによる細胞変性が抑制されることを利用した方法です。細胞変性効果 cytopathic effect (CPE) 抑制法における抗体価は、CPEの出現を完全に抑制した最高血清希釈倍数で表わします。採血時期の異なるペア血清（2週間以上間隔をあけて採血）を測定して、抗体価に4倍以上の上昇が認められた場合を最近の感染と判断します。なお、本法は上記の赤血球凝集抑制法や補体結合法に比べると比較的特異性の高い方法です。

4. 凝集法 agglutination test (HA, PA, LA)

本法は、検体中の抗体（または抗原）と試薬中の抗原（または抗体）を反応させ、目視あるいは分析装置にて凝集を観察するものです。本法には固相を用いない方法や、固相として赤血球を用いる赤血球凝集法 hemagglutination (HA)、固相として人工的に作られた粒子を用いる粒子凝集法 particle agglutination (PA) があり、PAの中でもラテックス粒子を用いた方法をラテックス凝集法 latex agglutination (LA) とよびます。さらに、測定法には定性法、半定量法および定量法があり、抗体価の表示方法はさまざまです。また、測定試薬によって特異度や感度は大きく異なります。

5. 蛍光抗体法 fluorescent antibody technique (FA)

本法には直接法と間接法があります。直接法 direct fluorescent antibody technique (DFA) は、①スライドガラスに固定した検体中の抗原と蛍光色素標識抗体を反応させた後、洗浄（B (bound) / F (free) 分離）し、②蛍光顕微鏡で発色を観察する方法です。一方、間接法 indirect fluorescent antibody technique (IFA) は、①検体中の抗体とスライドガラスに固定した抗原を反応させた後、洗浄（B/F 分離）し、②蛍光標識抗ヒト抗体を反応させ、再度洗浄（B/F 分離）後、③蛍光顕微鏡で発色を観察する方法です。蛍光色素には FITC (fluorescein isothiocyanate) などが用いられています。

6. ラジオイムノアッセイ radio immunoassay (RIA) , immunoradiometric assay (IRMA)

本法は、①検体中の抗体（または抗原）とビーズなどに固相した抗原（または抗体）を反応させた後、洗浄（B/F 分離）し、②放射性同位元素（ヨウ素 125 など）で標識した抗原（または抗体）を反応させ、再度洗浄（B/F 分離）後、③¹²⁵I の放射線量を測定する方法です。本法は放射性同位元素を用いることから、環境上の問題や特殊な施設が必要であり、できる限り廃止する方向で考えられています。また、測定法によっては1回目のB/F 分離を行わない方法もあります。

7. 酵素免疫測定法 enzyme immunoassay (EIA) , enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

本法は、①検体中の抗体（または抗原）とマイクロウエルなどに固相した抗原（または抗体）を反応させた後、洗浄（B/F 分離）し、②酵素で標識した抗原（または抗体）を反応させ、再度洗浄（B/F 分離）後、③酵素基質を加えて酵素反応後、吸光度を測定する方法です。標識酵素にはペルオキシダーゼやアルカリフォスファターゼなどが用いられています。また、測定法によっては1回目のB/F 分離を行わない方法もあります。

8. 蛍光酵素免疫測定法 fluorescent enzyme immunoassay (FLEIA)

本法は、①検体中の抗体（または抗原）とパーティクルやチューブなどに固相した抗原（または抗体）を反応させた後、洗浄（B/F 分離）し、②酵素で標識した抗原（または抗体）を反応させ、再度洗浄（B/F 分離）後、③蛍光基質を加えて酵素反応後、蛍光強度を測定する方法です。標識酵素にはペルオキシダーゼやアルカリフォスファターゼなどが用いられています。また、測定法によっては1回目のB/F 分離を行わない方法もあります。

9. 化学発光酵素免疫測定法 chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA)

本法は、①検体中の抗体（または抗原）と磁性粒子やビーズなどに固相した抗原（または抗体）を反応させた後、洗浄（B/F 分離）し、②酵素で標識した抗原（または抗体）を反応させ、再度洗浄（B/F 分離）後、③化学発光基質を加えて酵素反応後、発光強度を測定する方法です。なお、測定法によっては1回目のB/F 分離を行わない方法もあります。

10. 化学発光免疫測定法 chemiluminescent immunoassay (CLIA)

本法は、①検体中の抗体（または抗原）と磁性粒子などに固相した抗原（または抗体）を反応させた後、洗浄（B/F 分離）し、②化学発光物質で標識した抗原（または抗体）を反応させ、再度洗浄（B/F 分離）後、③発光強度を測定する方法です。標識物質にはアクリジニウムなどが用いられています。なお、測定法によっては1回目のB/F 分離を行わない方法もあります。

11. 電気化学発光免疫測定法 electro-chemiluminescence immunoassay (ECLIA)

本法は、①検体中の抗体（または抗原）と磁性粒子に固相した抗原（または抗体）および電気化学発光物質で標識した抗原（または抗体）を反応させた後、洗浄（B/F 分離）し、②電気エネルギーによる発光強度を測定する方法です。標識物質にはルテニウムなどが用いられています。

12. イムノクロマトグラフィー法 immunochromatography assay (ICA)

本法は、検体中の抗体（または抗原）と金コロイドなどで標識した抗原（または抗体）を反応させた後、ニトロセルロース膜に固相した抗原（または抗体）で標識免疫複合体を捕捉し、集積した標識物の色を目視にて観察する方法です。また、酵素免疫測定法を原理とした方法もあります。これは検体中の抗体（または抗原）と酵素標識抗原（または抗体）を反応させた後、膜に固相した抗原（または抗体）で酵素標識免疫複合体を捕捉し、さらに酵素基質が展開し、酵素反応させ、その発色を目視にて観察する方法です。これらの方法は、検出感度や特異性が低いという短所がありますが、迅速簡便であることから、迅速検査法として最も普及しています。

13. ウェスタンブロット法 western blot (WB)

本法は、①検体中の抗体とニトロセルロース膜に転写したウイルス構成成分（抗原）を反応させた後、洗浄（B/F 分離）し、②酵素で標識した抗体を反応させ、再度洗浄（B/F 分離）後、③酵素基質を加えて酵素反応により発色させ、その発色を目視にて観察する方法です。近年開発されている化学発光法などに比較すると検出感度は低いですが、多種類の抗体の存在を個別に観察できることから、主に確認検査として用いられています。

14. イムノブロット法 immunoblot assay

本法は、①検体中の抗体とニトロセルロース膜に固相したリコンビナント抗原や合成ペプチド抗原を反応させた後、洗浄（B/F 分離）し、②酵素で標識した抗体を反応させ、再度洗浄（B/F 分離）後、③酵素基質を加えて酵素反応により発色させ、その発色を目視にて観察する方法です。WB に比較して検出感度が高いという特徴を有し、多種類の特異抗体の存在を個別に観察できることから、主に確認検査として用いられています。

15. ハイブリダイゼーション法 hybridization assay

核酸増幅を行わずに DNA プローブを用いて DNA や RNA を検出する本法は、①検体（または培養集落）中の DNA や RNA と酵素（または化学発光物質など）標識 DNA プローブをハイブリダイゼーション反応させた後、洗浄（B/F 分離）し、②基質を加えて反応後、吸光度（または発光強度）を測定する方法です。核酸増幅法に比較して感度は劣ります。

16. PCR 法 polymerase chain reaction

DNA ポリメラーゼを用いた DNA 増幅法です。まず 2 本鎖 DNA を熱変性にて 1 本鎖とし、次に温度を下げ、標的とする DNA の相補的な位置に 2 種類のプライマーを各々結合させます（アニーリング）。各々の DNA を鋳型として DNA ポリメラーゼ反応によりヌクレオチドが相補的に結合し、新たな DNA が合成されます（エクステンション）。これを 1 サイクルとして 30 サイクル前後繰り返します。増幅産物の検出には上記のハイブリダイゼーション法や電気泳動法などが用いられています。また、RNA を増幅する際には最初に逆転写酵素反応を行ない、RNA に相補的な DNA (cDNA) を合成した後、核酸増幅を行ないます (reverse transcription-PCR: RT-PCR)。

17. リアルタイムPCR法

上記PCR法と同様にDNAポリメラーゼを用いたDNA増幅法です。上記PCR法は核酸増幅終了後に増幅産物の検出を行いますが、本法では核酸増幅と検出を同時に行います。検出には、蛍光物質と消光物質で標識したDNAプローブをハイブリダイゼーションさせる方法や、蛍光色素が2本鎖DNAに結合することで蛍光を発生させる方法などがあります。この蛍光強度をDNAが合成される1サイクル毎にモニタリングすることからリアルタイムPCRと言われ、上記PCR法よりも迅速性・定量性に優れています。

18. TMA法 transcription mediated amplification

本法は逆転写酵素とRNAポリメラーゼを用いたRNA増幅法です。まずプロモーター配列をもつプライマーが標的RNAに結合して相補的なDNA(cDNA)が合成されます。次にRNAが選択的に分解され、再びcDNAが合成されます。RNAポリメラーゼは、この2本鎖DNAを鋳型としてプロモーター配列を認識し相補的なRNA(cRNA)を合成します。増幅産物の検出には化学発光物質で標識したDNAプローブをハイブリダイゼーションさせる方法などが用いられています。また、DNAを増幅する際には最初に2本鎖DNAを熱変性にて1本鎖とし、cRNAを合成した後、核酸増幅を行いません。

19. TRC法 transcription reverse transcription concerted reaction

本法はTMA法と同様に逆転写酵素とRNAポリメラーゼを用いたRNA増幅法です。TMA法は核酸増幅終了後に増幅産物の検出を行いますが、本法では核酸増幅と検出を同時に行います。つまり、RNAを増幅するリアルタイム検出法です。なお、検出はインターカラー性蛍光色素で標識したDNAプローブをハイブリダイゼーションさせて蛍光強度を測定します。

20. 比濁時間分析法 turbidimetric time assay

本法は検体と試薬を混合した後、一定の透過光が生じるまでの時間であるゲル化時間を測定するものです。