

溶連菌感染症における ADNase-B測定の意義

—健常人の抗体価分布—

山梨医科大学微生物学

山 田 俊 彦

防衛医科大学校中央検査部

蒲 池 正 次 山 本 陽 子

順天堂大学医学部内科

塩 川 優 一

順天堂大学医学部臨床病理

小 酒 井 望

(昭和55年2月19日受付)

(昭和55年3月18日受理)

Key words: ADNase-B, ASO, Geometric mean, Population sample, streptococcal infections

溶血連鎖球菌(以下溶連菌)は上気道炎や皮膚化膿症の原因菌として、また続発症としてのリウマチ熱や糸球体腎炎の起炎菌であり、とくにA群溶連菌は他群に比し、ヒトに対する病原性の上で重要である¹⁾²⁾。A群溶連菌の同定と、血清抗体価の測定による溶連菌感染症の診断法は、二次症の予防の上で重要であり迅速性と正確性が要求される³⁾。

さきに著者らはA群溶連菌の簡易同定法としての核酸分解試験の応用、および学童におけるStreptozyme test, Anti-deoxyribonuclease-B (ADNase-B) 価, Anti-streptolysin O (ASO) 価の比較検討を行ない報告した⁴⁾。しかし、ADNase-B 価の評価に関して、我国に於ける成績はきわめて乏しく、臨床応用の為のいわゆる正常値の検討が要求されている。

今回、著者らは、WHO 溶連菌センターの J. Rotta らの区分に従い、各年齢層の ADNase-B 価の成績を ASO 価と対比し検討した。

対象と方法

所沢地区に居住する住民のうち、上気道炎およ

び皮膚化膿症等を有しない、いわゆる健常人を対象とし、J. Rotta らの年齢区分⁵⁾である2歳以下、3～5歳、6～10歳、11～15歳、16～25歳、26歳以上の年齢層に区分した。各年齢層20名づつとし、計120名を対象とし、血清 ADNase-B、および ASO の測定を行なった。

ADNase-B は酵素阻止法を利用した Streptonase B test (Wampole Laboratories, Dist. 製, 杏林製薬提供) を用い、血清60倍、および85倍稀釈からの2系列試験管稀釈により測定した。ASO は、Rantz-Randall 変法⁶⁾により、ウサギ赤血球の完全溶血阻止をもつて判定、Streptolysin O は日本製薬、稀釈は血清20倍、30倍より始め、マイクロタイターを用いて測定した。

血清抗体価について各年齢層ごとの幾何平均を求め、ADNase-B および ASO 価の比較を行なった。

成 績

ADNase-B および ASO の各年齢層における分布とその幾何平均値(以下 GM と略)をFig. 1, 2に示す。

ADNase-B 価の分布は2歳以下で60>～85単位

Fig. 1 ADNase-B titer in sera from a population sample (N=120)

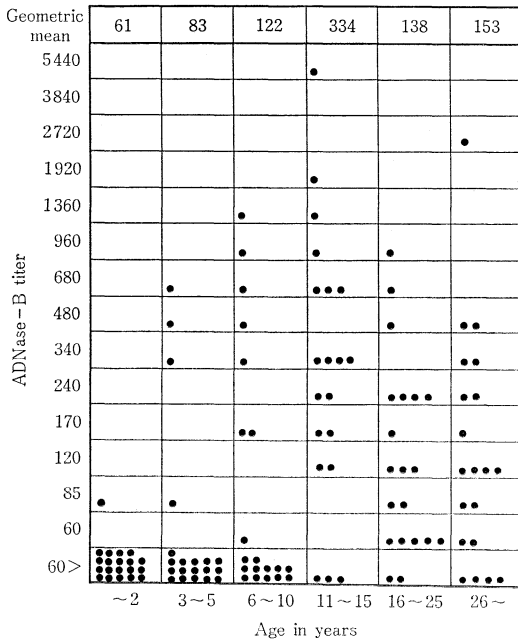
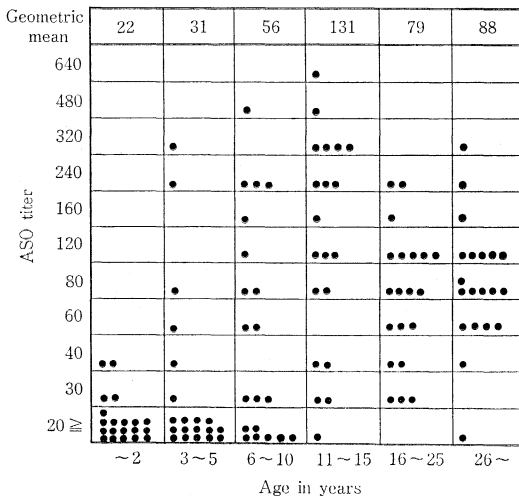


Fig. 2 ASO titer in sera from a population sample (N=120)



(GM 61単位), 3~5歳で60>~680単位 (GM 83単位), 6~10歳で60>~1360単位 (GM 122単位), 11~15歳で60>~5440単位 (GM 334単位), 16~25歳で60>~960単位 (GM 138単位), 26歳以上では60>~2760単位 (GM 153単位)であつ

た. 全年齢層 120名の幾何平均は 128単位であつた.

一方 ASO の年齢別分布および幾何平均は 2歳以下で $20 \geq \sim 40$ 単位 (GM 22単位), 3~5歳で $20 \geq \sim 320$ 単位 (GM 31単位), 6~10歳で $20 \geq \sim 480$ 単位 (GM 56単位), 11~15歳で $20 \geq \sim 640$ 単位 (GM 131単位), 16~25歳で $30 \sim 240$ 単位 (GM 79単位), 26歳以上では $20 \geq \sim 320$ 単位 (GM 88単位)であり, 全年層の GM は57単位であつた.

さらに, 各年齢層集団の80%を占める抗体価の上限値について検討すると (Table 1), ADNase-B では, 2歳以下, 3~5歳いづれも60単位以下であり, 6~10歳で340単位, 11~15歳で680単位, 16~25歳で240単位, 26歳以上では340単位となる. 一方 ASO は, 2歳以下で20単位, 3~5歳で40単位, 6~10歳で160単位, 11~15歳で320単位, 16~25歳で120単位, 26歳以上で120単位となる.

Table 1 Upper limits* of serum ADNase-B and ASO titers in age group

Age group	Antibody titers	
	ADNase B	ASO
~ 2	60>	$20 \geq$
3~5	60>	40
6~10	340	160
11~15	680	320
16~25	240	120
26~	340	120

* From cumulative% = the titer which 80% of sera included

ADNase-B 60単位以下, および ASO 20単位以下のいわゆる低抗体価の保有率は年齢の増加するに従い減少する傾向がみられる. とくに6歳以上ではその頻度は減少する.

考案

ADNase-B 測定は ASO 価に次いで行なわれるべき溶連菌感染症の血清診断法として WHO のマニュアル⁷⁾にも記されており, 我国においても広く行なわれる必要があるが, 未だにルチン化されるに至っていない. ADNase-B の測定法には, マイクロタイターを用いる米 CDC・ADN-Btest と

試験管法による本法 Streptonase B test があり、両側定法は1管以内の誤差で96%が一致し、相関もきわめて良好である⁹⁾。いずれも酵素阻止による DNA 分解を指示薬の色調の変化でとらえる点で、ASO や ASK のような溶血阻止判定より安定した成績が得られる様である。CDC による方法は DNA との結合指示薬としてメチルグリーンを用い、Wampole 社のものはトルイジン青(推定)と思われ、色調の変化による判定では Wampole 社の方が優れていると思われる。しかし、大量処理、微量化のためのマイクロタイターの使用及び開発には、いずれの方法もゼラチン緩衝液が用いられているため、気泡の混入による誤差の発生に細心の注意を払らなければならない。

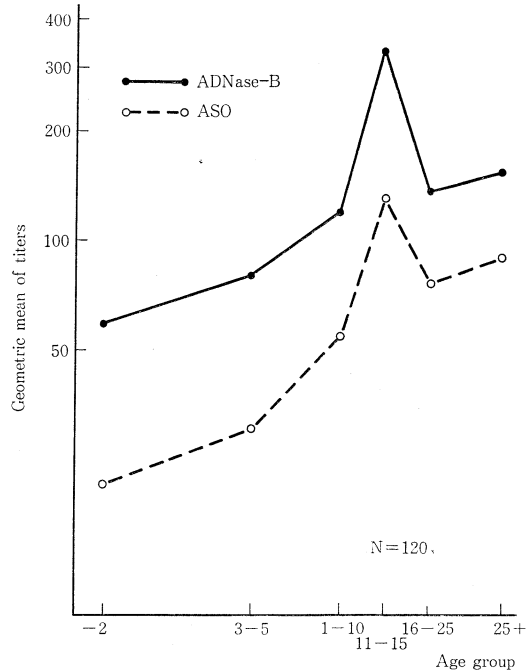
ADNase-B 測定 の 意義 は、A 群溶連菌感染に特異的であり⁹⁾ 又感染部位による抗体産生の差が少ない点で、さらにリウマチ熱や急性腎炎のいずれの場合にも抗体価の上昇がみられ、溶連菌感染症の血清診断法として優位な点があげられている¹⁰⁾。

A 群溶連菌の産生する streptolysin O には型による差があり、流行菌型の差により血清抗体価の上昇にも影響がみられる¹⁵⁾。一方 DNase 産生能には型による差がきわめて少なく、その診断的応用価値は高いと思われる⁴⁾。しかし菌の型別をも含めた臨床例におけるこれら血清抗体価の成績はきわめて乏しく今後広く検討されるべきものである¹¹⁾。

いわゆる正常値の検討は ASO 価についてはくわしく、Rantz により5歳以上の小児では333単位以上、成人については250単位以上を異常値として報告し、広く受け入れられている¹²⁾。しかし、学童の成績を日本各地で検討するときわめて変化にとみ、報告者によつても多種多様である¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾。このことから、ペア血清による2管以上の差をもつて陽性と判定するのが最も望ましい判定であることが従来からの定説である。

一方 ADNase B の正常値は我国では未だ検討されていない。今回の著者らの成績では抗体価分布

Fig. 3 Geometric mean of titers in sera from a population sample



は ASO の分布に近似し (Fig. 3), 又 J. Rotta らの年齢別抗体価ともよく一致する⁵⁾。すなわち溶連菌抗体産生能が11~15歳に最も高く、5歳以下の乳幼児で最も低く、16歳以上の成人で中間位を示している。

幾何平均値及び各年齢層の80%を占める抗体価の上限値を ADNase-B と ASO で比較すると ADNase-B 価は ASO 価の約2~2.5倍とよく一致しており、Rantz らの小児 ASO 価333単位以上、成人240単位以上を異常値とすると ADNase-B は小児680単位以上、成人480単位以上という結果が導かれる。すなわち、ADNase B の正常上限値については小児480単位、成人340単位となる。しかし、著者らの成績では5歳以下の乳幼児で上限が ADNase-B 60単位、ASO 40単位であり、上記異常値とかなりのへだたりが認められる。

著者らの成績は一時期、一地域のものであり、いわゆる正常値、異常値の評価に関しては地域、季節及び流行菌型を考慮した、広汎な疫学的調査が望まれる。

結 論

埼玉県所沢地区の健康人を対象に ADNase B, ASO の測定を行ない、抗体価分布を比較検討した。

1. 5歳以下の乳幼児では抗体価はきわめて低く、11～15歳の年齢層で高い抗体価を有する者の頻度が高かった。16歳以上の成人ではその中間であつた。

2. ADNase B の単位は ASO 価の約 2～2.5 倍とほぼ一致した。

3. 正常値の設定には更に広域疫学調査が必要である。

文 献

- 1) Wannamaker, L.W. and Matsen, J.M.: Streptococci and streptococcal disease, Academic Press, 1972.
- 2) Selless, T.F. Jr.: An epidemiologic view of rheumatic fever. *Prog. Cardiovasc. Dis.*, 16: 303—322, 1973.
- 3) Jones Criteria (Revised) for Guidance in the Diagnosis of Rheumatic Fever. New York, American Heart Association, 1967.
- 4) 山田俊彦, 設楽政次, 佐藤 恭, 菊池百合子, 奥田 稔, 小酒井望: 溶血連鎖球菌の核酸分解酵素に関する臨床細菌学的研究. *感染症学雑誌*, 53: 329—334, 1979.
- 5) J. Rotta: Antistreptolysin O surveys in the populations of some Asian and African countries, *Streptococcal Disease and the Community*, Excerpta Medica, American Elsevier Publishing Co., Inc. New York, 1974.
- 6) Rantz, L.A. and Randall, E.: A modification of the technic for determination of the anti-streptolysin titer. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 59: 22—25, 1945.
- 7) *Manual of Reference Procedures in Streptococcal Bacteriology and Serology*, revised in 1976, WHO.
- 8) Klein, G.C.: Evaluation of the wampole streptonase B test. *J. Clin. Microbiol.*, 6: 533, 1977.
- 9) Klein, G.C. and Jones, W.L.: Comparison of the streptozyme test with the antistreptolysin O, antideoxynuclease B and antihyaluronidase tests. *Appl. Microbiol.*, 21: 257—259, 1971.
- 10) Ayoub, E.M. and Wannamaker, L.W.: Evaluation of the streptococcal deoxyribonuclease B and diphosphopyridine nucleotidase antibody tests in acute rheumatic fever and acute glomerulonephritis. *Pediatrics*, 29: 527—538, 1962.
- 11) 渡辺言夫, 山本 勇, 大島正浩: 溶連菌感染症における抗 deoxyribonuclease B (ADNase-B) の測定意義について. *小児科*, 20: 105—110, 1979.
- 12) Rantz, L.A.: Antistreptolysin O; A study of the antibody in health and in hemolytic streptococcus respiratory disease in man. *Am. J. Med.*, 5: 3, 1948.
- 13) 鳥巢要道, 園崎秀吉, 吉川恭子: ASLO 抗体価の疫学的研究. *リウマチ*, 9: 284—290, 1969.
- 14) 山田俊彦, 只野寿太郎, 塩川優一, 宮本 泰: 沖縄における健康学童の咽頭溶連菌と血清抗体価に関する研究. *感染症学雑誌*, 49: 518—524, 1974.
- 15) 山田俊彦: 溶血連鎖球菌の臨床細菌学的研究. *防衛医科大学校雑誌*, 3: 161—171, 1978.

Evaluation of Anti-DNase B Titer in a Population Sample

Toshihiko YAMADA

Department of Microbiology, Yamanashi Medical School

Masatsugu KAMACHI and Yoko YAMAMOTO

Department of Laboratory Medicine, National Defense Medical College

Yuichi SHIOKAWA and Nozomu KOSAKAI

Juntendo University, School of Medicine

The anti-deoxyribonuclease B (ADNase B) test is valuable in the serological detection of group A streptococcal infections. The present paper reports on the evaluation of ADNase-B titer compared with anti-streptolysin O (ASO) titer from a population sample.

The samples were collected from healthy people living in Saitama, Japan.

This sample was divided into six age groups: less than 2 years, 3-5 years, 6-10 years, 11-15 years, 16-25 years and 26 years or more.

ADNase B titers were determined by measuring the enzyme inhibition method and also ASO titers were determined by the modified method of Rantz-Randall.

In this study, antibody response was poor with children 5 years old or younger. The geometric mean titer was the highest in the 11-15 years old group, and moderate in the adult group.

The epidemiological study must be accomplished for the further evaluation of antibody distribution.
