(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第4554218号
(P4554218)

(45)発行日　平成22年9月29日(2010.9.29)　(24)登録日　平成22年7月23日(2010.7.23)

(51)Int.Cl.　F I
G01N 33/571 (2006.01)　G01N 33/571
G01N 33/543 (2006.01)　G01N 33/543 521

請求項の数 8　(全 27 頁)

(21)出願番号　特願2003-582539 (P2003-582539)
(86)(22)出願日　平成15年3月27日 (2003.3.27)
(65)公表番号　特表2005-521888 (P2005-521888A)
(43)公表日　平成17年7月21日 (2005.7.21)
(86)国際出願番号　PCT/US2003/009474
(87)国際公開番号　WO2003/085403
(87)国際公開日　平成15年10月16日 (2003.10.16)
審査請求日　平成18年3月27日 (2006.3.27)
(31)優先権主張番号　10/112,410
(32)優先日　平成14年3月30日 (2002.3.30)
(33)優先権主張国　米国 (US)

前置審査

(73)特許権者　504367586
ゼノトープ・ダイアグノスティクス，インコーポレイテッド
アメリカ合衆国テキサス州７８２４５，サン・アントニオ，オミクロン・ドライヴ　１４７８５，スウィート　１０３
(74)代理人　100099623
弁理士　奥山　尚一
(74)代理人　100096769
弁理士　有原　幸一
(74)代理人　100107319
弁理士　松島　鉄男
(74)代理人　100114591
弁理士　河村　英文

最終頁に続く

(54)【発明の名称】トリコモナスを検出するための方法および装置

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
ヒト対象における膣トリコモナス感染症を検出する方法であって、
該対象由来のサンプルをドライストリップの第一端部のサンプル適用領域に適用するステップにより、該サンプルが毛管現象により該ドライストリップに沿って第二端部へ向かって移動し、これにより、移動性標識アドヘシンタンパク質－抗体複合体を形成させるために有効なトリコモナスアドヘシンタンパク質エピトープに対して特異的な非固定化標識一次モノクローナル抗体を含む反応ゾーンを最初に通過し、
その後、該複合体内のトリコモナスアドヘシンタンパク質エピトープに対して特異的な固定化二次モノクローナル抗体を含む検出ゾーンを通過し、
該対象がトリコモナスに感染している場合は抗原－抗体複合体が形成される条件であって、該移動性標識アドヘシンタンパク質－抗体複合体が該検出ゾーン内で該固定化二次モノクローナル抗体に結合する条件下で、該一次モノクローナル抗体及び該二次モノクローナル抗体が該サンプルを適用する前にテストストリップ上に存在し、該一次モノクローナル抗体及び該二次モノクローナル抗体が同一のトリコモナスアドヘシンタンパク質上の異なるエピトープに対して特異的であり、
（ｂ）該検出ゾーン内の該結合した複合体の存在を検出することにより、該結合した複合体の存在が該対象のトリコモナス感染を検出するステップと、を含む方法。
【請求項２】
前記一次モノクローナル抗体及び前記二次モノクローナル抗体はＡＰ６５アドヘシンタ

ンパク質、ＡＰ５１アドヘシンタンパク質、ＡＰ３３アドヘシンタンパク質、及びＡＰ２３アドヘシンタンパク質からなる群から選択されるアドヘシンタンパク質のエピトープに対して特異的である、請求項１の方法。

【請求項３】

前記方法が、女性対象由来の膣スワブサンプルでは８０％を超える信頼性、および男性または女性対象由来の尿サンプルでは４０％を超える信頼性で膣サンプルからトリコモナス感染症を検出するために有効である、請求項１の方法。

【請求項４】

前記サンプルがパップスミアである、請求項１の方法。

【請求項５】

前記サンプルが尿である、請求項１に記載の方法。

【請求項６】

前記対象が男性である、請求項１に記載の方法。

【請求項７】

ヒト対象における膣トリコモナス感染症を検出するためのキットであって、
ドライストリップに適用された液体を該ストリップ内の毛管現象によって吸い上げることのできるドライストリップを含み、該ストリップが第一端部における上流から第二端部における下流方向に、以下の順番で、
（ａ）サンプル適用ゾーン、
（ｂ）反応ゾーン、及び
（ｃ）検出ゾーン
を含み、

該反応ゾーンはさらに移動性標識アドヘシンタンパク質－抗体複合体を形成させるために有効なトリコモナスアドヘシンタンパク質のエピトープに対して特異的な非固定化標識一次モノクローナル抗体を含み、

該検出ゾーンは該複合体内のトリコモナスアドヘシンタンパク質のエピトープに対して特異的な固定化二次モノクローナル抗体を含み、

該一次モノクローナル抗体及び該二次モノクローナル抗体は、サンプルを適用する前に該ストリップ上に存在し、

該一次モノクローナル抗体及び該二次モノクローナル抗体は、同一のトリコモナスアドヘシンタンパク質上の異なるエピトープに特異的であり、

ここで、体液サンプルを該第一端部の該サンプル適用ゾーンへ適用した後に、
（ｉ）サンプルは該ストリップ上を該反応ゾーンに向かって下流方向に移動し、
（ｉｉ）該サンプル中のアドヘシンタンパク質は該反応ゾーン内にあらかじめ存在する該一次モノクローナル抗体と反応して移動性標識アドヘシンタンパク質－抗体複合体を形成し、
（ｉｉｉ）該移動性標識アドヘシンタンパク質－抗体複合体は該第二端部の該検出ゾーンに向かって移動し、
（ｉｖ）該移動性標識アドヘシンタンパク質－抗体複合体は該検出ゾーン内にあらかじめ存在する該固定化二次モノクローナル抗体に結合して、それにより該検出ゾーン内で該複合体を固定化する、
キット。

【請求項８】

前記一次モノクローナル抗体及び前記二次モノクローナル抗体はそれぞれＡＰ６５アドヘシンタンパク質、ＡＰ５１アドヘシンタンパク質、ＡＰ３３アドヘシンタンパク質、及びＡＰ２３アドヘシンタンパク質からなる群から選択されるアドヘシンタンパク質のエピトープに対して特異的である、請求項７のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は、トリコモナス感染を検出するためのイムノアッセイ法およびキットに関する。

【０００２】

（引用文献）

Ａｌｄｅｒｅｔｅ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｆｅｃｔ．Ｉｍｍｕｎ．，４０：２８４－２９１，１９８３．
Ａｌｄｅｒｅｔｅ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｆｅｃｔ．Ｉｍｍｕｎ．，４９：４６３－４６８，１９８５．
Ａｌｄｅｒｅｔｅ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｆｅｃｔ．Ｉｍｍｕｎ．，５２：７０－７５，１９８６．
Ａｌｄｅｒｅｔｅ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｆｅｃｔ．Ｉｍｍｕｎ．，５３：２８５－２９３，１９８６．
Ａｌｄｅｒｅｔｅ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｆｅｃｔ．Ｉｍｍｕｎ．，５３：６９７－６９９，１９８６．
Ａｌｄｅｒｅｔｅ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｆｅｃｔ．Ｉｍｍｕｎ．，５５：１０３７－１０４１，１９８７．
Ａｌｄｅｒｅｔｅ ａｎｄ Ｇａｒｚａ，Ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ ａｎｄ Ｉｍｍｕｎｉｔｙ，５６（１）：２８－３３，１９８８．
Ａｌｄｅｒｅｔｅ ａｎｄ Ｇａｒｚａ，Ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ ａｎｄ Ｉｍｍｕｎｉｔｙ，５６（１０）：２２５６－２５６２，１９８８．
Ａｌｏｎｚｏ ａｎｄ Ｐｅｐｅ，Ｓｔａｔｉｓｔｉｃｓ ｉｎ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ，１８：２９８７－３０００，１９９９．
Ａｒｒｏｙｏ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌｏｇｙ，６（７）：８５３－８６２，１９９２．
Ａｒｒｏｙｏ ｅｔ ａｌ．，Ａｒｃｈ．Ｍｅｄ．Ｒｅｓ．２６（４）：３６－３６９，１９９５．
Ａｒｒｏｙｏ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌｏｇｙ，７（２）：２９９－３０９，１９９３．
Ｃｕａｔｒｅｃａｓａｓ，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２４５：３０５９，１９７０．
Ｌｅｈｋｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．，１７４：３１１－３１８，１９９１．
ｖａｎ Ｄｅｒ Ｓｃｈｅｅ Ｃ．ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．１９９９ Ｄｅｃ：３７（１２）４１２７－３０．
Ｗａｓｓｅｒｈｅｉｔ，Ｊ．Ｎ．，Ｓｅｘ．Ｔｒａｎｓ．Ｄｉｓ．，１９：６１－７７，１９９２．
Ｙａｐ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｉｔｏｕｒｉａ．Ｍｅｄ．，７１：４０２－４０４，１９９５．
Ｚｈａｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎ．Ｅｐｉｄｅｍｏｉｌ．，５：３２５－３３２，１９９５．

【背景技術】

【０００３】

トリコモナス原虫は、ヒトおよび動物に感染する寄生原虫類である。トリコモナス原虫の種類は１５種を超える。膣トリコモナス（Ｔｒｉｃｈｏｍｏｎａｓ ｖａｇｉｎａｌｉｓ）は、ヒトに感染し、男性および女性のどちらにおいてもトリコモナス症の状態を引き起こすトリコモナス原虫の１種である。この寄生虫は性行為で感染し、現在は世界中で最も一般的な非ウイルス性の性行為感染症（ＳＴＤ）の病因である。米国では年間五百万人から八百万人の女性がトリコモナス症に罹患し、性的に活動的な女性の２５％までがいずれかの時点に感染すると推定されている。

【０００４】

男性では、トリコモナス症は非クラミジア性、非淋菌性尿道炎の１７％を占めると推測

されている。女性間では臨床症状は著しく相違し、無症候性の状態から顕性の膣炎までに及び、そしてこの感染症は無期限に持続することがある。重篤な症状には、腐敗臭のする分泌物を伴う腹痛が含まれ、膣酵母菌感染症に類似する炎症や不快感が付随する。男性は平均４ヵ月間持続するほとんど無症候性の疾患を有する傾向があるが、感染した男性において尿道炎、前立腺炎、亀頭包皮炎等の疾患発現が記録されている。

【０００５】

ヒトでは、トリコモナスへの感染は健康上の重篤な結果をもたらす。トリコモナスは膣内の抗体、保護細胞層および免疫応答細胞を分解するプロテイナーゼを分泌し、それによって感染女性の他の性行為感染症に対する感受性を増加させる。試験によって、ＨＩＶに対して高リスクの女性は膣トリコモナスに感染しているとＨＩＶ感染症の２～１０倍高いリスクを有していること、そしてＨＩＶおよびトリコモナスのどちらも陽性の男性は精液中に６倍高いＨＩＶを有しているので、それによりパートナーを感染させる確率が増加することが証明されている（Ｗａｓｓｅｒｈｅｉｔ，１９９２）。さらに、トリコモナスによる感染は、子宮頸癌に罹患するリスクを増加させ、そして受精率および妊娠のどちらにも有害な影響を及ぼす可能性がある（Ｙａｐ　ｅｔ　ａｌ．，１９９５；Ｚｈａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，１９９５）。幸運にも、寄生虫による感染が的確に診断されれば、ほとんどの症例で患者を治療することができる。

【０００６】

現在のトリコモナス症の診断は女性の膣腔または男性の尿道から抽出した生存微生物の検出および形態学的同定に基づいている。同定は、運動性微生物を直接視認するために生理食塩水液浸標本の顕微鏡検査によって遂行される。液浸標本が陽性である場合は高度に特異的であるが、無症候性または軽度の症候性患者および検査前２４時間以内に膣洗浄していた女性では陰性になることが多い。液浸標本顕微鏡検査の総合的感受性もしくは信頼性は５８％であり（Ｗｅｉｓｅ　ｅｔ　ａｌ．）、３０％という低さになることもある。液浸標本顕微鏡検査はさらにまた、ペレット中にトリコモナス原虫を濃縮させるために遠心した後の尿試料から試みることもでき、尿試料はその後再懸濁されて検査される。液浸標本顕微鏡検査は尿サンプルについて実施した場合は高度に非効率的であり、感受性が（培養法では４０％であるのと比較して）７％と低い（ｖａｎ　Ｄｅｒ　Ｓｃｈｅｅ　Ｃ．ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．１９９９　Ｄｅｃ：３７（１２）４１２７－３０）。さらに、上記に記載したいずれかのサンプルタイプを利用した液浸標本顕微鏡検査による検出法は、主観的で冗長かつ時間がかかり、さらに熟練者を必要とする。

【０００７】

泌尿生殖器試料の培養法は検出症例数を増加させることができる。だが不都合なことに、この方法を完了するには数日間（典型的には２～５日間）を要し、熟練者がいる特殊な研究室で実施されなければならない。さらに、これらの方法はどちらも検出できる前にサンプル中で寄生虫が生育可能であることを必要とするので、適合性が一定タイプのサンプルに制約される。例えば尿は液浸標本より感受性が高いにもかかわらず、培養法に基づくトリコモナス症診断に適切なサンプル手段ではないと判断されている（Ｍｏｈａｍｅｄ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｅｘ．Ｔｒａｎｓｍｉｔｔｅｄ　Ｉｎｆｅｃｔ．，２００１．７７（１）７８－９）。尿ならびにその他のサンプルタイプからのトリコモナスの診断を改良するために、ＰＣＲ（ポリメラーゼ連鎖反応）を使用する多くの試みが実施されてきた。ＰＣＲは潜在的には液浸標本法または培養法より高感受性（上記の引用文献によると８７％）であるが、トリコモナス特異的であるプライマー配列に関して科学的合意は得られていない（ＰＣＲはＦＤＡ（米国食品医薬品局）に承認された診断方法ではない）。さらに、矛盾するサンプルおよび汚染した臨床的サンプルの両方における偽陽性の問題がこの技術の適用を妨害している。高度に増幅させたサンプルは、実際の感染症を明示するのではなく以前の感染症の痕跡を表す陽性結果を生じさせることがある。さらに、ＰＣＲは多数の操作および手順の制御を伴う高度の技術的方法であり、高価な装置を必要とし、ポイント・オブ・ケア診断を許容しない。これらはすべて、トリコモナスに対する実際的診断方法と

しての適合性を妨げる因子である。

【０００８】

サンプル中の微生物を溶解させてそれらの核酸を遊離させることによりトリコモナス感染症を検出する方法は開示されている。トリコモナスの存在は、プローブを用いて遊離した核酸をハイブリダイズすることによって決定される。この方法は極めて多数の操作や高価な検出装置の使用を含み、そして液浸標本顕微鏡検査より感受性が低い。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【０００９】

トリコモナス感染症は高頻度に発生し、さらに迅速に治療されなかった症例は有害な転帰を迎える可能性があることから、トリコモナス感染症を検出するための迅速で高感受性かつ正確な診断試験および治療の有効性を評価する能力が明らかに必要である。診断試験は、サンプルが生存微生物を含有するかどうかには関わらず、トリコモナスを含有することが疑われる様々なサンプルと一緒に使用するのに適合しなければならず、そして特に尿（男性および女性からサンプル採取するために）および膣スワブサンプル中での検出を可能にしなければならない。さらに、本方法は例えば感染した個体に対する陽性結果のような高度の信頼性を与えなければならない。

【課題を解決するための手段】

【００１０】

１つの態様では、本発明にはヒト対象における膣トリコモナス感染症を検出するための方法が含まれる。本方法を実践する際には、尿または膣スワブサンプル等の体液サンプルが対象から入手され、そして対象がトリコモナスに感染している場合は抗体－アドヘシンペプチド複合体を形成させるために、トリコモナスアドヘシンペプチドに対して特異的な抗体と接触させられる。この複合体の存在または不在は、臨床試料が膣スワブである場合は少なくとも約８０％、および典型的には９０％より良好な信頼性を、そして臨床試料が尿である場合は４０％より高い信頼性を備えているため診断に役立つ。

【００１１】

より一般的な態様では、本発明は、抗体試薬として膣トリコモナスアドヘシンタンパク質に対する抗体、または例えばＴｔ．ｆｏｅｔｕｓ等の感染種由来の相同アドヘシンタンパク質に対する抗体のどちらかを使用して、哺乳類、例えばウシまたはその他の家畜におけるトリコモナス感染症、例えばウシにおけるＴｔ．ｆｏｅｔｕｓ感染症を検出するために適合する。

【００１２】

ヒトにおける膣トリコモナス感染症を検出するための代表的なアドヘシンタンパク質は、膣トリコモナスＡＰ６５、ＡＰ５１、ＡＰ３３、ＡＰ２３アドヘシンタンパク質、およびそれらの免疫学的に反応性のあるフラグメント、特別にはＡＰ６５およびＡＰ３３アドヘシンタンパク質である。同様に、代表的な抗体は抗ＡＰ６５抗体、例えば細胞系ＤＭ１１６およびＣ５５によって産生した抗体である。非ヒトアッセイのための代表的ペプチドは、動物感染性トリコモナス種由来の相同アドヘシンペプチドである。

【００１３】

１つの好ましいアッセイフォーマットでは、接触させるステップには、上流から下流方向に、サンプル適用領域と、トリコモナスアドヘシンペプチドに対して特異的な非固定化標識抗体を含有する反応ゾーンと、および複合体内のトリコモナスアドヘシンペプチドに対して特異的な固定化抗体を含有する検出ゾーンと、を有するドライストリップのサンプル適用ゾーン上にサンプルを配置するステップが含まれる。作業中には、（ｉ）サンプルは前記ストリップ上でサンプル適用ゾーンから反応ゾーンに向かって下流方向に移動し、（ｉｉ）サンプル中のアドヘシンペプチド分析物は反応ゾーン内の非固定化抗体と反応して移動性の標識アドヘシンペプチド－抗体複合体を形成し、そして（ｉｉｉ）複合体は検出ゾーンに向かって移動し、（ｉｖ）前記複合体は検出ゾーン内の固定化抗体と反応して検出ゾーン内で固定化標識複合体を形成し、そして（ｖ）非複合体化非固定化標識抗体は

検出ゾーンの下流方向に移動する。検出ステップには、検出ゾーンにおける固定化標識複合体の存在または不在を検出するステップが含まれる。

【００１４】

また別のアッセイフォーマットでは、入手されるサンプルはパップスミアであり、サンプルは（例えばエタノールまたはメタノールを使用して）固定される。パップスミアは、伝統的なパップスミアまたはＣｙｔｙｃ社製Ｔｈｉｎ－Ｐｒｅｐ（薄層塗抹標本）パップスミアに代表されるリキッドベースのアッセイであってよい。サンプルは、固定プロセスの変性条件にさらされたアドヘシンタンパク質を検出する標識抗体の存在下で調製される。代表的な抗体はＡＰ３３抗体である。本方法は、非結合標識抗体を取り除くための薄層塗抹標本を処理するステップを含むことができる。

【００１５】

また別の態様では、本発明にはヒト対象における膣トリコモナス感染症を検出するキットが含まれる。本キットは、それに適用された液体をストリップ内の毛管現象によって上流のサンプル適用ゾーンから反応ゾーンを経由して下流の検出ゾーン内へ吸い上げることのできるドライストリップを含む。反応ゾーンはそれと一緒に移動性のアドヘシンタンパク質－抗体複合体を形成させるために有効な、トリコモナスアドヘシンペプチドに対して特異的な非固定化標識抗体を含み、そして検出ゾーンは複合体内のトリコモナスアドヘシンペプチドに対して特異的な固定化抗体を含有している。体液サンプルがサンプル適用ゾーンへ適用された後は、（ｉ）サンプルはストリップ上で反応ゾーンに向かって下流方向に移動し、（ｉｉ）サンプル中のアドヘシンペプチド分析物は反応ゾーン内の非固定化捕捉抗体と反応して移動性の標識アドヘシンペプチド－抗体複合体を形成し、（ｉｉｉ）複合体は検出ゾーンに向かって移動し、（ｉｖ）複合体は検出ゾーン内の固定化抗体と反応して検出ゾーン内で固定化標識複合体を形成し、そして（ｖ）非複合体化非固定化標識抗体は検出ゾーンの下流方向に移動する。対象におけるトリコモナス感染症の存在または不在は、検出ゾーンにおける検出可能な標識の存在または不在によって決定される。

【００１６】

キット内の代表的な非固定化抗体はＡＰ６５、ＡＰ５１、ＡＰ３３、ＡＰ２３アドヘシンタンパク質、およびそれらの免疫学的に反応性のあるフラグメントに対して免疫特異的であるが、その中でもＡＰ６５が好ましい。キット内の代表的抗体は、ＤＭ１１６細胞系により産生した抗体である。

【００１７】

さらにまた別の態様では、ヒト対象におけるトリコモナス感染症を検出する方法は、対象から唾液または血液等の体液サンプルを入手するステップと、対象がトリコモナス症に感染している場合は抗体－アドヘシンペプチド複合体を形成させるためにサンプルとトリコモナスアドヘシンペプチドとを接触させるステップと、を含む。複合体の存在または不在が、対象におけるトリコモナス感染症の存在または不在を各々確定するために検出される。

【００１８】

代表的なアドヘシンペプチドはＡＰ６５、ＡＰ５１、ＡＰ３３、ＡＰ２３アドヘシンタンパク質、およびそれらの免疫学的に反応性のフラグメントである。

【００１９】

１つのアッセイフォーマットでは、サンプルは上流から下流方向に、サンプル適用領域と、非固定化標識トリコモナスアドヘシンペプチドを含有し、移動性の抗体－アドヘシンペプチド複合体を形成させるためにトリコモナス症感染者の体内に存在する抗トリコモナス抗体と反応するのに効果的な反応ゾーンと、およびヒト抗体に対して特異的な固定化捕捉抗体を含有する検出ゾーンと、を有するドライストリップのサンプル適用ゾーン上に置かれる。サンプルが適用された後は、（ｉ）サンプルはストリップ上で反応ゾーンに向かって下流方向に移動し、（ｉｉ）サンプル中の抗トリコモナス抗体分析物は反応ゾーン内の非固定化標識アドヘシンペプチドと反応して移動性の標識アドヘシンペプチド－抗体複合体を形成し、そして（ｉｉｉ）複合体は検出ゾーンに向かって移動し、（ｉｖ）複合体

は検出ゾーン内の固定化抗体と反応して検出ゾーン内で固定化標識複合体を形成し、そして（ｖ）非複合体化非固定化標識アドヘシンは検出ゾーンの下流方向に移動する。キット内の代表的な固定化抗体は、Ｃ５５細胞系により産生した抗体である。検出ゾーンにおける固定化標識複合体の存在または不在は、検出ゾーンにおける標識複合体の存在または不在によって決定される。

【００２０】

本発明のこれら及びその他の目的および特徴は、添付の図面と結び付けて本発明の以下の詳細な説明を読むことによってより完全に理解できるであろう。

【発明を実施するための最良の形態】

【００２１】

Ｉ．用語の定義

下記の用語は、本明細書で他に特別に指示されない限り以下の意味を有する。

本明細書で使用する用語「トリコモナス」には、ヒトおよび動物の両方に感染する多数の種を含むＯｒｄｅｒ　Ｔｒｉｃｈｏｍｏｎａｄｉｄａ、Ｇｅｎｅｒａｓ　Ｄｉｔｒｉｃｈｏｍｏｎａｓ、Ｔｒｉｃｈｏｍｏｎａｓ、Ｔｒｉｔｒｉｃｈｏｍｏｎａｓ、およびＰｅｎｔａｔｒｉｃｈｏｍｏｎａｓが含まれるが、それらに限定されない。「トリコモナス」は、あらゆるトリコモナス種、例えばウシに感染するＴｒｉｔｒｉｃｈｏｍｏｎａｓ　ｆｏｅｔｕｓ（Ｔｒｉｃｈｏｍｏｎａｓ　ｆｏｅｔｕｓ、Ｔｔ．ｆｅｔｕｓとしても知られる）、Ｔｔ．ｅｎｔｅｒｉｓ、Ｔ．ｐａｖｌｏｖｉ、ブタに感染するＴｔ．ｓｕｉｓ、Ｔｔ．ｒｏｔｕｎｄａ、Ｔ．ｂｕｔｔｒｅｙｉ、ヒツジに感染するＤｔ．ｏｖｉｓ、ウマに感染するＴｔ．ｅｑｕｉ、Ｔ．ｅｑｕｉｂｕｃｃａｌｉｓ、トリに感染するＴ．ａｎａｔｉｓ、Ｔｔ．ｅｂｅｒｔｈｉ、Ｔ．ｇａｌｌｉｎａｅ、Ｔ．ｇａｌｌｉｎａｒｕｍ、齧歯類に感染するＴｔ．ｃａｖｉａｅ、Ｔｔ　ｍｕｒｉｓ、Ｔｔ．ｗｅｎｏｎｉ、Ｔｔ．ｍｉｎｕｔａ、Ｔ．ｍｉｃｒｏｔｉ、イヌやネコに感染するＴ．ｃａｎｉｓｔｏｍａｅ、Ｔ．ｆｅｌｉｓｔｏｍａｅ、生体サンプル中で霊長類（ヒトを含む）に感染するＴ．ｔｅｎａｘ、Ｔ．ｖａｇｉｎａｌｉｓ、Ｐｔ．Ｈｏｍｉｎｉｓ、およびＴ．ｍａｃａｃｏｖａｇｉｎａｅを意味する。ヒト疾患の場合には、「トリコモナス」は膣トリコモナス（Ｔ．ｖａｇｉｎａｌｉｓ）種を意味するが、それに限定されない。「膣トリコモナス」はヒトに感染できる膣トリコモナスのあらゆる菌株を意味する。

【００２２】

本明細書で使用する用語「抗体」には、分析物（抗原または抗体）に特異的に結合して認識する、１つもしくは２つ以上の免疫グロブリン遺伝子、またはそのフラグメントによって実質的にコードされるポリペプチドが含まれるが、それに限定されない。「抗体」には、さらに１つ以上のトリコモナス抗原への曝露に反応して宿主によって産生される抗体の抗原特異的結合領域（イディオタイプ）に特異的に結合して認識する、１つもしくは２つ以上の免疫グロブリン遺伝子、またはそのフラグメントによって実質的にコードされるポリペプチドが含まれるが、それに限定されない。例には、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、および一本鎖抗体等が含まれる。免疫グロブリンのフラグメントには、Ｆａｂフラグメントおよびファージ提示法を含む発現ライブラリーによって産生するフラグメントが含まれる。例えば、抗体の構造および専門用語についてはＰａｕｌ，ＦＵＮＤＡＭＥＮＴＡＬ　ＩＭＭＵＮＯＬＯＧＹ，第三版，１９９３，Ｒａｖｅｎ　Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋを参照されたい。

【００２３】

用語「エピトープ」は、抗体へ特異的に結合できる抗原決定基を意味する。エピトープは、通常はアミノ酸または糖側鎖等の分子の表面配置から構成され、通常は特異的な三次元構造的特徴ならびに特異的な荷電特徴を有する。

【００２４】

用語「へ特異的に結合する」および「と特異的に免疫反応性である」は、タンパク質およびその他の生物製剤の異種集団の存在下で標的分析物の存在を決定する結合反応を意味する。そこで、指定アッセイ条件下では、規定の結合成分は特定標的分析物と優先的に結

合し、試験サンプル中に存在する他の成分には有意な量では結合しない。そのような条件下での標的分析物への特異的結合には、特定標的分析物に対する特異性について選択されている結合部分を必要とすることがある。特定抗原と特異的に免疫反応性がある抗体を選択するためには様々なイムノアッセイフォーマットを使用できる。例えば、分析物と特異的に免疫反応性があるモノクローナル抗体を選択するためには固相ＥＬＩＳＡイムノアッセイが日常的に使用されている。例えば、特異的免疫反応性を測定するために使用できるイムノアッセイフォーマットおよび条件の説明については、Ｈａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｌａｎｅ，ＡＮＴＩＢＯＤＩＥＳ：Ａ ＬＡＢＯＲＡＴＯＲＹ ＭＡＮＵＡＬ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇｓ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，（１９８８）を参照されたい。典型的には、特異的または選択的反応はバックグラウンドシグナル対雑音比の少なくとも２倍、およびより典型的にはバックグラウンドの１０～１００倍以上であろう。

【００２５】

「タンパク質」は、アミノ酸またはアミノ酸アナログサブユニット、典型的には生体タンパク質内で見いだされる２０種の一般的Ｌ－アミノ酸の一部または全部から構成される生体高分子を意味する。「タンパク質」は一般に例えば１００アミノ酸以上を含有する相当に大きなポリペプチドを意味し、「ペプチド」はより小さなポリペプチドを意味するが、これらの用語は本明細書では互換的に使用される。すなわち、用語のタンパク質は大きなポリペプチドならびに小さなペプチドを意味することができ、その逆も言える。

【００２６】

タンパク質の「免疫学的に反応性のあるフラグメント」は、タンパク質自体と免疫学的に反応性がある結合パートナー、例えば抗体と免疫学的に反応性があるタンパク質の一部分を意味する。

【００２７】

本発明のアッセイ方法に関連する「特異性」は、トリコモナス感染症を特異的に検出するアッセイの能力を意味する。

【００２８】

本発明のアッセイ方法に関連する「信頼性」は、真陽性として検出される集団のパーセンテージに関連する。例えば、少なくとも８０％の信頼性は、例えば培養法またはＰＣＲ等の確証試験によって決定したときに、本アッセイが実際にトリコモナスに感染している被検者の少なくとも８０％においてトリコモナス感染症を検出することを意味する。この用語もまた、「感度」と互換的に使用される。

【００２９】

ＩＩ．本発明のアッセイ

本発明は、ヒトにおけるトリコモナス感染症、特に膣トリコモナス感染症が、トリコモナスアドヘシンタンパク質、もしくはその免疫反応性フラグメントと、このタンパク質に対して免疫特異的である抗体との免疫複合体を形成させるステップと、および該複合体を検出するステップとによって、高感受性で容易に検出できるという発見に基づく。１つの一般的実施形態では、トリコモナス感染症は身体サンプル中、例えば尿サンプルまたは膣スワブ中のアドヘシンタンパク質もしくはその免疫学的フラグメントの存在によって検出される。この実施形態では、アッセイ試薬はサンプル中に存在するアドヘシンタンパク質と検出可能な複合体を形成することのできる標識抗アドヘシン抗体である。この試験の重要な長所は、そのようなアドヘシンタンパク質が本発明のアッセイによりトリコモナス感染症について試験されている実質的にすべてのトリコモナス感染女性における膣スワブ、すなわち膣道もしくは膣頸部、子宮頸管からの膣分泌物、擦過物もしくはスワブ、またはパップスミア内で検出可能な量で存在することが見いだされていることにある。同様に、アドヘシンタンパク質は、本発明のアッセイにより試験されているトリコモナス陽性の男性および女性における尿中で検出可能な量で見いだされている。そこで、本アッセイは感度が非常に高く、男性においては尿サンプルを用いて、ならびに女性では尿サンプルまたは膣もしくは子宮頸部スワブサンプルのどちらかを用いて容易に実施できる。

【００３０】
また別の一般的実施形態では、トリコモナス感染症は標識トリコモナスアドヘシンタンパク質アッセイ試薬と免疫反応性である身体サンプル抗体の存在によって検出される。この実施形態では、標識アッセイ試薬は感染者中に存在する抗アドヘシン抗体との検出可能な複合体を形成することのできる標識トリコモナスアドヘシンタンパク質である。
【００３１】
本発明のアッセイは、免疫学的結合反応に基づいている。イムノアッセイの一般的方法の概観については、これにより参照して組み込まれるＢＡＳＩＣ ＡＮＤ ＣＬＩＮＩＣＡＬ ＩＭＭＵＮＯＬＯＧＹ，第７版，Ｄ．Ｓｔｉｔｅｓ ａｎｄ Ａ．Ｔｅｒｒ編集，１９９１を参照されたい。本発明の１つの実施形態では、本アッセイはトリコモナス免疫原の存在を検出する。本発明のまた別の実施形態では、本アッセイは宿主が生成した抗トリコモナス抗体を検出する。生物学的サンプル中のトリコモナス免疫原または宿主が生成した抗トリコモナス抗体の存在は、トリコモナス感染症が発生したことを明示する。
【００３２】
本発明のアッセイは、高度に特異的かつ感受性である。上記で述べたように、膣トリコモナスに対して特異的な本発明のアッセイは約８０％を超える感度を有すること、そして液浸標本法陰性患者の２１％（２８／１３１）が膣トリコモナスに対して陽性であることが（確証的、または決定的試験として培養法を使用して）証明されている。この感受性レベルの上昇は、追加して３７％（１０３／７５）のトリコモナス感染症患者の同定を可能にする。本発明のアッセイの総合的特異性は約９８％である。
【００３３】
本方法を実施する際には、まず最初に被検者から体液サンプルを入手する。好ましい実施形態と同様に被検者がヒトである場合は、適切な体液サンプルは膣スワブ、すなわち女性における膣道もしくは膣頸部、または子宮頸管からの膣分泌物、擦過物もしくはスワブ、またはパップスミア、または女性または男性における尿サンプルである。特別には抗トリコモナス抗体を検出するためのその他の適切な体液には、血清、血液、および唾液が含まれる。被検者が家畜または飼育動物である場合は、尿および粘膜スワブ等の適切な体液が選択される。
【００３４】
あるいはまた、サンプルは例えば患者から、すなわち子宮頸管、子宮、卵管、精巣、肛門、咽喉、肺、皮膚、眼、消化管、または体腔を含むがそれらに限定されないあらゆる感染部位からの細胞から構成されてよい。これらのサンプルは、新鮮な状態で使用できる、または後で使用するために保存（必要に応じて、冷凍、乾燥、冷蔵）することができる。サンプルは、それらの天然形（尿）で使用できる、すなわち加工処理、抽出、可溶化、または操作することができる。これらのサンプル中のトリコモナスは、生存していても死滅していても、全細胞であっても分裂していても、加工処理されていても加工処理されていなくてもどちらでもよい。
【００３５】
トリコモナスを検出するためのイムノアッセイの開発は、安定性の種依存性抗原が欠如するためにそのほとんどが不成功に終わっている。本発明が成功するか否かは、一部にはトリコモナスにおけるアドヘシンタンパク質の安定性に左右される。トリコモナスは極めて大きな抗原異質性を示している（Ａｌｄｅｒｅｔｅ ｅｔ ａｌ．，１９８５ｂ；１９８６ａ，１９８７ａ）。感染症を確立および維持するために、寄生虫は泌尿生殖器官の敵対環境に抵抗すること、そして抵抗性の溶菌素生成抗体および宿主の補体等の免疫監視機構を回避することができる。寄生虫は、多数の寄生虫が検出を回避するために使用する戦略である表現型を変化させる能力を発達させてきた（Ａｌｄｅｒｅｔｅ ｅｔ ａｌ．，１９８６；Ａｌｄｅｒｅｔｅ ｅｔ ａｌ．，１９８５）。異なる２つの時点に同一患者から採取された単離物が異なる表現型を示す可能性があることが観察されている（Ａｌｄｅｒｅｔｅ ｅｔ ａｌ．，１９８７）。さらに、寄生虫はその環境に反応して表現型を変化させることも観察されている。例えば、インビボ環境は明白に特定の表面免疫原（Ｐ

２７０）の発現が欠如する膣トリコモナス菌を好む、または選択するが、インビトロ培養ではこの寄生虫はＰ２７０を産生する反対の表現型へ復帰する。また別の例では、アドヘシンタンパク質ＡＰ６５は典型的な培養環境では低レベルで発現するが、宿主内、またはインビボ様環境では有意な高レベルで発現する。そこで、インビトロ条件下で培養された微生物に対して作られた抗体は、インビボサンプル中に含有されたトリコモナスへ結合させるためには有効ではない可能性がある。典型的な培養環境中で増殖したトリコモナスによる発現レベルに基づくと、アドヘシンＡＰ６５タンパク質は診断アッセイに使用するための潜在的分析物であると容易には認識されないであろう。さらに、寄生虫はタンパク質分解性であり、すなわち、表面抗原および抗体を分解するプロテアーゼを分泌することができる。上記の防衛機構の結果として、抗トリコモナス抗体を開発するための環境において知られている安定性の免疫原はない。

【００３６】

トリコモナスアドヘシンタンパク質は、典型的には表面発現タンパク質であり、宿主動物の泌尿生殖器官の内側を覆っている上皮細胞への寄生虫の細胞付着と関連付けられてきた（Ａｌｄｅｒｅｔｅ ａｎｄ Ｇａｒｚａ，１９８８，Ａｒｒｏｙｏ ｅｔ ａｌ．，１９９２；Ｌｅｈｋｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９９１）。さらに、アドヘシンは機能的に活性な酵素である。

【００３７】

アドヘシンタンパク質は、代謝酵素であり、そしてそれらが典型的培養環境内では発現しないという事実のために、当業者による診断使用のための明白な候補ではない。代謝酵素は、全微生物中で基本的な役割を共有しているために高度に保存されており、偏在性宿主タンパク質（他の代謝酵素等）と相同性を共有している。一般に見いだされるタンパク質との相同性を共有する抗原は、一般には抗体産生および診断試験における使用には不適当である。それらは典型的には免疫反応性ではない、または強度の免疫応答を引き出す可能性が極めて低い。そこで、そのような抗原は検出のために十分な感染－反応抗体を誘導する可能性が低く、または抗原自体を検出するために適切なポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を生成する可能性も低いと思われる。さらに、アドヘシンは実験動物において高力価抗血清およびモノクローナル抗体（ｍＡｂ）を生成する困難によって証明されるように、免疫劣性であると思われることも報告されている（Ａｌｄｅｒｅｔｅ ａｎｄ Ｇａｒｚａ，１９８８；Ａｒｒｏｙｏ ｅｔ ａｌ．，１９９２，１９９３；Ｌｅｈｋｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９９１）。さらに、そのような抗原に対して作られた抗体は、宿主およびその他の共病原体由来の類似のタンパク質との反応のために、低特異性に苦しむと思われる。実際に、宿主タンパク質に対するアドヘシンの類似性（模倣）は検出および免疫攻撃を回避する病原体の能力の根拠となる可能性がある。本発明者らは、一定のアドヘシンタンパク質が動物宿主内で高度に発現し、特殊なインビボ様培養環境下で免疫反応性であることを決定した。アドヘシンはさらにまた、抗体を作ることを許容する十分な量で発現した。そこで、アドヘシンタンパク質の選択は、免疫学に基づく診断アッセイのための抗原選択における新規戦略を意味する。

【００３８】

ヒト寄生虫膣トリコモナスについてのアドヘシンタンパク質およびそれらのコーディング配列は米国特許第５，９２２，５６３号に開示されており、その開示は参照により本明細書に組み込まれている。アドヘシンタンパク質の４つのファミリー（ＡＰ６５、ＡＰ５１、ＡＰ３３、およびＡＰ２３）は、膣上皮細胞の受容体への結合を特異的に媒介するアドヘシンとして同定されている。４つの膣トリコモナスアドヘシンファミリーであるＡＰ６５（６５ｋＤａ）、ＡＰ５１（５１ｋＤａ）、ＡＰ３３（３３ｋＤａ）、およびＡＰ２３（２３ｋＤａ）は、それらの相対分子量（M_r）に基づいて分類されている。少なくとも３つのアドヘシンファミリーには、密接に関連している可能性がある独特の核酸基準を有するメンバーが含まれる。このため、各アドヘシンは多重遺伝子ファミリーのメンバーであり、本明細書で使用するように用語ＡＰ６５、ＡＰ５１、ＡＰ３３、およびＡＰ２３は対応するM_rの膣トリコモナスアドヘシンタンパク質ファミリーの全メンバーを表す。

さらに、アドヘシンは膣トリコモナスのゲノム内に複数のコピーで存在する。

【００３９】

本発明の１つの実施形態では、ＡＰ６５アドヘシンタンパク質ファミリーが診断アッセイのための免疫原として選択される。ＡＰ６５が好ましいが、他の安定性のアドヘシンタンパク質を診断アッセイのための免疫原として選択することもできる。ＡＰ６５タンパク質の遺伝子は、長さがおよそ１．８ｋｂである。ＡＰ６５アドヘシンタンパク質ファミリーには６つの知られているメンバーが含まれており、そのうちの（ＡＰ６５－１、ＡＰ６５－２、およびＡＰ６５－３）を有する３つは、参照により本明細書中に組み込まれるＡｌｄｅｒｅｔｅへの米国特許第５，９２２，５６３号に詳細に記載されている。各メンバーは、別個のＡＰ６５遺伝子によってコードされる。ＡＰ６５－１およびＡＰ６５－２のＮ－末端配列は、１２アミノ酸中９アミノ酸は同一で極めて類似している。ＡＰ６５－１、ＡＰ６５－２およびＡｐ６５－３の疎水親水度プロット（Ｋｙｔｅ　ａｎｄ　Ｄｏｏｌｉｔｔｌｅ，１９８２）は、極めて類似していてほんの少しの相違しか伴わない。ＡＰ６５アドヘシンタンパク質は膣トリコモナスに対して独特である。膣トリコモナス、Ｔ．ｓｕｉｓ（ブタトリコモナス原虫）およびＴｔ．ｆｏｅｔｕｓ（ウシトリコモナス原虫）に対するプローブとしてｃＤＮＡインサートを使用するクロス・ハイブリダイゼーション試験と同時に実施されるリガンドアッセイを使用して、膣トリコモナスアドヘシンから産生した血清が他の種とは交差反応性を示さないことが証明されている。

【００４０】

Ａ．アッセイフォーマット

本発明のアッセイは、直接的または競合的のどちらであってもよい。競合的結合アッセイでは、標的分析物、例えば膣トリコモナスアドヘシンタンパク質は、好ましくは固定化結合剤、例えば適切な固体表面、例えばニトロセルロース、ナイロン、ＰＶＣまたはポリスチレン表面へ結合したアドヘシンタンパク質へ特異的に結合する抗体上での特異的結合部位に対する標識分析物アナログと競合する。捕捉試薬に結合した標識分析物の濃度は、サンプル中に存在する遊離分析物の量に反比例しており、これは溶液形または結合形で定性的に検出できる、または例えば溶液中の標識アドヘシンタンパク質の分光学的測定によって定量することができる。

【００４１】

直接的アッセイは、典型的にはサンドイッチアッセイであり、標的分析物、例えば膣トリコモナスアドヘシンタンパク質は、標識結合剤、例えば標識抗体および固定化捕捉抗体の両方に結合し、検出可能な固定化標識サンドイッチ複合体を形成する。アッセイの正確なフォーマットは、一般にはアッセイに対して予測される感受性または特異性に左右される。一部のアッセイでは、特別には不安定な試薬を使用するアッセイについては、標識試薬または捕捉試薬のどちらかの有効性を確認するためにコントロール試薬を添加してもよい。

【００４２】

特にパップスミア分析に使用される別の直接結合アッセイフォーマットでは、女性対象からの子宮頸部スワブサンプルが干渉物質を除去するために処理され、スワブ成分、例えば膣トリコモナスアドヘシンタンパク質が例えば処理されたガラススライド表面に結合させることによって固定化される固体上に置かれる。次に標識結合剤、例えば蛍光標識抗アドヘシン抗体がスライドに適用され、免疫特異的標的に結合させられ、続いて非結合抗体を除去するために洗浄される。その結果スワブサンプル中の分析物の存在または不在は、スライドの蛍光顕微鏡検査によって決定することができる。米国特許第６，１７４，７４２号および第５，７４１，６６２号は、例として膣スワブ材料を採取および処理する方法、および染色した材料を検出する方法を記載している。パップスミア試験のために適切な１つのフォーマットは、Ｃｙｔｙｃ社により提供されるＴｈｉｎ－Ｐｒｅｐ（登録商標）パップテストである（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃｙｔｙｃ．ｃｏｍを参照されたい）。

【００４３】

直接的アッセイフォーマットの好ましい実施形態であるドライストリップ型アッセイキ

ットについては下記の第ＩＩＩ章で詳述する。このアッセイフォーマットでは、毛細管流動を可能にする多孔性または繊維性テストストリップは、上流から下流方向に、サンプル適用ゾーン、反応ゾーン、および検出ゾーンを含む。サンプル適用ゾーンは、単純にはサンプルが添加されるストリップ上の領域であってよい。反応ゾーンは、移動性の標識複合体、すなわちテストストリップを通って典型的には毛細管流動によって、検出ゾーンへ向かう下流方向に移動することのできる複合体を形成させるために、サンプル分析物、例えばアドヘシンタンパク質へ結合することのできる非固定化標識試薬を含有する。分析物がアドヘシンタンパク質である場合、標識試薬は典型的には下記で詳述するように標識抗アドヘシン抗体である。分析物が抗トリコモナス抗体である場合、標識試薬は標識アドヘシンタンパク質である。典型的には、試薬は可溶形でストリップに添加され、ストリップへサンプルを適用して湿潤すると、乾燥した試薬が可溶相に進入してストリップ媒質を通って移動できるように、乾燥させられる。詳細は、実施例３を含む下記に提供する。

【００４４】

検出ゾーンは、このゾーン内の標識複合体を固定化するために移動性複合体の分析物部分に結合できる固定化捕捉試薬を含有するが、他方では標識されているが非複合体化試薬は移動しているサンプル液媒質とともにこのゾーンを通過する。固定化結合試薬は、ストリップ基質に共有結合されてよく、または非共有結合、例えば静電気力もしくは分散力によって強固に結合されてよい。いずれにせよ固定化は、サンプル液が検出ゾーンを通って移動するにつれて結合試薬が標識複合体を捕捉して固定化することを可能にするために十分である。分析物がアドヘシンタンパク質である場合は、固定化結合試薬は好ましくは複合体形内の分析物に接近できるアドヘシンエピトープへ特異的に結合することのできる抗アドヘシン抗体である。すなわち、標識抗体および固定化捕捉抗体は、好ましくはアドヘシンタンパク質中で別個かつ独特のエピトープを認識する。分析物がヒト抗トリコモナス抗体である場合は、結合剤は好ましくはヒト抗体との一般的免疫反応性を有する非ヒト抗ヒト抗体である。

【００４５】

ストリップは、さらに標識試薬がストリップを通って移動するために反応ゾーンから遊離していること、および標識試薬が固定化捕捉物質によって捕捉されていることを確認するためのコントロールとして役立つように、非複合体化標識試薬をそこで捕捉できる第２捕捉ゾーンを含むことができる。標識試薬が標識抗アドヘシン抗体である場合は、コントロール捕捉物質は好ましくは標識抗体と免疫反応性がある抗体である。そこで、例えば標識抗体がマウスモノクローナル抗体である場合は、コントロール捕捉試薬はウサギ抗マウス抗体であろう。

【００４６】

明らかなように、標識試薬および捕捉試薬の様々な組み合わせを使用することによって、本発明のアッセイはトリコモナスまたは宿主生成抗トリコモナス抗体いずれかの免疫原を検出するために適している。動物の生物学的サンプル中におけるその存在はトリコモナス感染症を明示する。例えば、トリコモナスの免疫原、例えば膣トリコモナスのＡＰ６５アドヘシンタンパク質を検出するために特異的なアッセイでは、標識試薬および捕捉試薬における結合部分は膣トリコモナスのＡＰ６５に対して作られた抗体であり、そして標識試薬の定常（非エピトープ）領域に対して特異的である抗体または抗原がコントロール試薬として使用される。宿主生成抗体、例えば抗ＡＰ６５抗体の検出のために特異的なアッセイでは、標識試薬および捕捉試薬における結合部分はＡＰ６５アドヘシンタンパク質である。アドヘシンタンパク質は、ＡＰ６５アドヘシンタンパク質の天然形、キメラ形、フラグメントまたは組換え形のいずれであってもよい。

【００４７】

同様に、本発明のアッセイは、トリコモナスの様々な変種に対して特異的な様々な標識試薬および捕捉試薬を使用することによってトリコモナスの様々な変種を検出するために適合する。例えば、ｄｓＲＮＡウイルスに感染している膣トリコモナスに対して特異的な抗体が使用された場合は、アッセイはウイルス感染膣トリコモナスと非ウイルス感染膣ト

リコモナス単離物とを弁別することができる。また別の例では、診断アッセイは抗体を使用して、トリコモナス原虫の薬物耐性または薬物感受性を与える、またはさもなければ指示する分析物の存在または不在を検出することができる。そのようなアッセイは、例えば特定感染症を治療するために適した特定用量または薬物タイプに関して治療法の決定の指針となるであろう。

【００４８】

標識試薬を形成するために結合部分（抗体または抗原）と一緒に使用できる極めて広範囲の標識がある。標識の選択は、必要とされる感受性、結合部分との共役結合の容易さ、安定性要件、利用できる器具類、およびディスポーザル供給品に左右される。本発明の標識は、可溶性、または微粒子状、金属、有機もしくは無機であってよく、そして緑色蛍光タンパク質、蛍光色素（例、フルオレセインおよびその誘導体、ローダミンおよびその誘導体、ビオチン、アビジン、およびストレプトアビジン）、化学発光化合物（例、ルシフェリンおよびルミノール）等のスペクトル標識；および酵素（例、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ等）、コロイド状金等のスペクトル比色標識、もしくは炭素粒子、または着色ガラスもしくはプラスチック（例、ポリスチレン、ポリプロピレン、ラテックス等）ビーズを含むことができる。

【００４９】

標識は、各々が参照により本明細書中に組み込まれる米国特許第４，８６３，８７５号および第４，３７３，９３２号に記載されているような当分野において周知の方法によって、結合部分の成分に直接的または間接的に結合させることができる。非放射性標識は、しばしば間接的手段によって付着させられる。一般に、リガンド分子（例、ビオチン）は、結合部分へ共有的に結合する。リガンドは次に、本質的に検出可能である、または検出可能な酵素、蛍光化合物、または化学発光化合物等のシグナル系へ共有的に結合している抗リガンド（例、ストレプトアビジン）分子へ結合する。標識は、化学リンカーによって結合部分へ付着させることができる。リンカードメインは、典型的には約５～２００アミノ酸のポリ－グリ配列等のポリペプチド配列である。好ましいリンカーは、しばしば柔軟性のアミノ酸サブ配列である。そのような柔軟性リンカーは、当業者には知られている。例えば、ポリ（エチレングリコール）は市販で入手できる（Ｓｈｅａｒｗａｔｅｒ　Ｐｏｌｙｍｅｒｓ社、アラバマ州ハンツビル）。検出部分は、さらにまた例えば酵素もしくは蛍光体との結合によって、シグナル発生化合物へ直接に共役結合させることもできる。

【００５０】

標識の存在は、検査、または特定プローブもしくはプローブの組み合わせを監視する検出器によって検出できる。典型的な検出器には、分光光度計、光電管および光ダイオード、顕微鏡、シンチレーションカウンター、カメラ、フィルム等、ならびにそれらの組み合わせが含まれる。適切な検出器の例は、当業者に知られている様々な市販入手源から広汎に入手できる。

【００５１】

本発明のためには、好ましい標識は非放射性であり、高性能の器具類を使用せずに容易に検出される。好ましくは、標識は目視検査によって、または蛍光検出によって直ちに識別できる視認できるシグナルを産生するであろう。好ましい標識には、１）化学発光（分解産物として光子を産生する基質とともにホースラディッシュペルオキシダーゼおよび／またはアルカリホスファターゼを使用する）；２）変色（免疫反応性事象に伴い着色沈降物を生じさせるコロイド状金）、および３）蛍光（例えばフルオレセイン、およびその他の蛍光タグを使用して）として観察できる標識が含まれる。本発明の１つの好ましい実施形態では、コロイド状金が標識として使用され、標識は結合部分（抗体または抗原）へ直接的に共役結合させられる。金が標識として使用される場合は、標識試薬－分析物複合体と捕捉試薬との反応は赤色沈着物の外観を生じさせる。当業者によって理解されるように、複合体と捕捉ゾーンで固定化された捕捉試薬とが反応すると出現する色は使用した標識に左右される。

【００５２】

本発明の好ましいアッセイフォーマットでは、捕捉試薬およびコントロール捕捉試薬が固体基質上に固定化される。本発明と一緒に使用するのに適している、当分野に知られている様々な固体支持体がある。例えば、固体支持体はビーズ、膜（例、ニトロセルロース）、マイクロタイターウェル（例、ＰＶＣもしくはポリスチレン）、ストリング、プラスチック、ストリップまたはその上に抗体を配置または固定化することのできるあらゆる表面であってよい。さらに、天然および合成両方の、広範囲の有機および無機ポリマーを固体表面のための材料として使用できる。実例となるポリマーには、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ（４－メチルブテン）、ポリスチレン、ポリメタクリレート、ポリ（エチレンテレフタレート）、レーヨン、ナイロン、ポリ（ビニルブチレート）、ポリビニリデンジフルオリド（ＰＶＤＦ）、シリコーン、ポリホルムアルデヒド、セルロース、酢酸セルロース、ニトロセルロース等が含まれる。その他の使用できる材料には、紙、ガラス、セラミック、金属、メタロイド、半導性材料、セメント等が含まれる。さらに、タンパク質（例、ゼラチン）等のゲルを形成する物質、リポ多糖類、ケイ酸塩、アガロースおよびポリアクリルアミドを使用できる。デキストランおよびポリアルキレングリコール等のいくつかの水相を形成するポリマーまたはリン脂質もしくは長鎖（１２～２４炭素原子）アルキルアンモニウム塩等の界面活性剤もまた適している。

【００５３】

様々な表面へ広範囲の化合物を結合させる方法は周知であり、文献に十分に例示されている。例えば、それらの開示が参照により本明細書中に組み込まれるＩＭＭＯＢＩＬＩＺＥＤ　ＥＮＺＹＭＥＳ，Ｉｃｈｉｒｏ　Ｃｈｉｂａｔａ，Ｈａｌｓｔｅｄ　Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，１９７８，および　Ｃｕａｔｒｅｃａｓａｓ，１９７０を参照されたい。捕捉試薬およびコントロール試薬は、非特異的結合を通して共有的に結合させることができる、または非共有的に結合させることができる。化合物と表面との共有結合が所望である場合は、表面は通常は多官能、または多官能化することができるであろう。表面上に存在していて結合のために使用できる官能基には、カルボン酸、アルデヒド、アミノ基、シアノ基、エチレン基、ヒドロキシル基、メルカプト基等を含むことができる。共有結合に加えて、アッセイ成分を非共有的に結合するための様々な方法を使用できる。非共有結合は、典型的には化合物の表面への非特異的吸収である。典型的には、表面は標識アッセイ成分の非特異的結合を防止するために第二化合物を用いて遮断される。

【００５４】

本発明の好ましい実施形態では、実施例３に記載するように、捕捉試薬およびコントロール試薬はニトロセルロース膜上に非特異的に吸収され、ブロッキングバッファー（４％のショ糖を含むＰＢＳ中に０．５％のＢＳＡ）によって遮断される。

【００５５】

１つの好ましい実施形態では、本アッセイはトリコモナス特異的免疫原、例えば膣トリコモナスのＡＰ６５アドヘシンタンパク質を検出する。標識試薬および捕捉試薬の結合部分は、免疫原のエピトープに対して作られた、または実質的に作られた抗体である。本アッセイは、さらに内部または外部コントロールのいずれかであってよいコントロール試薬が含まれる。内部コントロールは、場合によっては標識試薬および捕捉試薬の抗体を作るために使用された種とは潜在的に相違する種から入手される抗－抗体から構成されてよい、すなわち、標識試薬および捕捉試薬がウサギから入手された場合は、コントロール領域に配置される抗体はヤギ抗マウスＩｇＧ、ヒツジ抗マウスＩｇＧ、ブタ抗マウスＩｇＧ等であってよい。そのような抗体の産生については以下で考察する。外部コントロールは、それに標識試薬および捕捉試薬が結合する細胞精製物、粗抽出液、または組換えタンパク質いずれかからのトリコモナス由来抗原から構成することができる。

【００５６】

これらの抗体はモノクローナル抗体またはポリクローナル抗体のいずれであってもよいが、好ましくはモノクローナル抗体である。一本鎖抗体および抗体のフラグメントもまた結合部分として有用である。そこで、本明細書で使用する用語「抗体」には、さらにまた一本鎖抗体、および抗体全体の修飾により産生した、あるいは組換えＤＮＡ方法を使用し

て新規に合成されたいずれかの抗体フラグメントが含まれる。

【００５７】

本発明のアッセイに使用される抗体は、従来型の抗体作製技術によって入手できる。例えば、Ｈａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｌａｎｅ ｅｄｓ．，ＡＮＴＩＢＯＤＩＥＳ；Ａ ＬＡＢＯＲＡＴＯＲＹ ＭＡＮＵＡＬ，Ｃｏｌｄｓｐｒｉｎｇ Ｈａｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｃｏｌｄｓｐｒｉｎｇ，Ｎ．Ｙ．を参照されたい。抗体を調製するために適切な接種体には、天然タンパク質、組換えタンパク質、粗膜調製物または寄生虫の粗調製物が含まれるがそれらに限定されない。適切な抗体は、水性およびイオン性および非イオン性洗剤バッファー条件下で免疫反応性でなければならない。

【００５８】

ポリクローナル抗体は、例えばＨａｒｂｏｅ ａｎｄ Ｉｎｇｉｌｄ，Ｓｃａｎｄ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎ．２（別巻１），１６１－１６４頁，（１９７３）に記載されている通りに調製できる。より詳細には、ポリクローナル抗体はウサギ、マウス、ラット、ヒツジ、ヤギ等を含むがそれらに限定されない種々の宿主動物のいずれかにフロイント不完全または完全アジュバント等の適切なアジュバント中に含まれる上記の接種物を接種することによって入手できる。接種後には、適切な間隔（例、１もしくは２週間から１ヵ月間）をあけて１もしくは２回以上のブースター注射を行うことができる。動物からは例えば１週間間隔で定期的に採血し、そして血清から抗体を単離する。

【００５９】

好ましくは、モノクローナル抗体は（例えば、Ｋｏｈｌｅｒ ａｎｄ Ｍｉｌｓｔｅｉｎ，Ｎａｔｕｒｅ ２５６，１９７５、第４９５頁、またはＡｌｄｅｒｅｔｅへの米国特許第４，７０７，４４２に記載されているように）ハイブリドーマ細胞系を使用して産生させる。融合細胞ハイブリッドを産生させるためには、Ｐ３／Ｘ６３－Ａｇ ８、Ｐ３／ＮＳＩ／１－Ａｇ ４－１、Ｓｐ２／１０－Ａｇ１４およびＳ１９４／５．ＸＸＯ．ＢＵＴ．１を含む数種の骨髄腫細胞系を使用できる。典型的な融合法では、選択した抗原に対して免役した動物由来の脾リンパ球が骨髄腫細胞と融合させられる。得られたハイブリドーマは次に、所望の抗体を産生する培養液についてスクリーニングするために一連の個別培養管またはマイクロタイタープレートウェル中に分散される。陽性培養は、単一細胞から発生するコロニー（クローン）を入手するためにさらに希釈される。クローンは再び、所望の抗体の産生についてスクリーニングされる。モノクローナル抗体を作製するために使用されたハイブリドーマ細胞はインビトロまたは動物の体腔内で増殖させられる。モノクローナル抗体は、培養したハイブリドーマ細胞の上清または腹水から、遠心濾過法、沈降法、クロマトグラフィー法またはそれらの組み合わせ等の従来型方法を使用して単離かつ精製できる。

【００６０】

本発明の１つの好ましい実施形態では、結合抗体は膣トリコモナスアドヘシンタンパク質ＡＰ６５に対して作られ、ＤＭ１１６およびＣ５５細胞系によって産生される。これらおよびその他の抗アドヘシンＭａｂはテキサス州サンアントニオ所在のテキサス大学保健科学センターのハイブリドーマ貯蔵所に保管されている。そのような抗体は、高い確率および予測可能性で、参照により本明細書中に組み込まれる上記に挙げた引用文献の中で開示されている２つの一般的方法のどちらかを使用して作製できる。

【００６１】

第一の一般的方法では、動物、例えばマウスに膣トリコモナス由来の全細胞または膜タンパク質が注射される（例えば、Ａｌｄｅｒｅｔｅ，１９８６を参照）。マウスからの抗体産生細胞が不死化され、不死化細胞により産生したＭａｂは例えば培養中で膣トリコモナスとの反応性でスクリーニングされる。Ｍａｂは次に、１つもしくは２つ以上のアドヘシンタンパク質に対する反応性についてさらにスクリーニングされる。同一アドヘシンタンパク質の様々なエピトープと相互作用する２種のＭａｂを同定するために、タンパク質は例えば１０～２５アミノ酸残基の別個の重複するフラグメントに分割し、そしてこれらのフラグメントをさらに相違する個別アドヘシンフラグメントと免疫反応性である上記で

同定されたそれらの２つもしくは３つ以上のＭａｂに対する免疫反応性についてスクリーニングすることができる。あるいはまた、標準競合的結合試験を使用して同一アドヘシンタンパク質の相違するエピトープへ結合する対のＭａｂを試験することができる。

【００６２】

もう１つの一般的方法では、アドヘシンタンパク質またはタンパク質フラグメントは、例えば上記で言及した米国特許第５，９２２，５６３号に開示されているように、例えば膣トリコモナスアドヘシンコーディング配列の組換え発現によって調製できる。単離した１つ以上のアドヘシンタンパク質または１つ以上のタンパク質フラグメントは次に、例えばマウスにおいてハイブリドーマ細胞系を産生するための免疫原として直接使用される。細胞系により産生したＭａｂは、次にアドヘシンタンパク質に対して免疫反応性の抗体についてスクリーニングされる。上記に開示した方法の１つは、次にアドヘシンタンパク質の様々なエピトープと免疫反応性である２つ以上のＭａｂを同定するために使用できる。

【００６３】

アドヘシン抗体は、広範囲の様々なアプローチを使用して複数の機会に作製されてきた。例えば、ハイブリドーマ細胞系を分泌する抗ＡＰ６５抗体は、全トリコモナス菌、トリコモナス膜調製物、精製天然ＡＰ６５、組換えＡＰ６５ならびにホルムアルデヒドおよびグルタルアルデヒド固定全トリコモナス菌のいずれかに対するマウスの接種から生成されている。使用されるアジュバントには、フロイントアジュバント、アクリルアミド（ゲル精製タンパク質の場合）およびＡＰ６５へ融合したキメラタンパク質の非ＡＰ６５部分が含まれた。免疫反応性抗体を産生する細胞系の典型的収率は、ハイブリドーマ融合から生成する全細胞系の５～１０％であり、この割合は他の非アドヘシン抗体細胞系の生成についての典型的割合に一致している。

【００６４】

標識試薬および捕捉試薬の結合部分は、トリコモナスアドヘシンタンパク質、例えば膣トリコモナスＡＰ６５、ＡＰ５１、ＡＰ３３、ＡＰ２３アドヘシンタンパク質等の膣トリコモナスアドヘシンタンパク質、およびそれらの免疫学的に反応性を有するフラグメント、特別にはＡＰ６５アドヘシンタンパク質またはそれらの免疫学的フラグメントである。本発明のアッセイに使用するためには、トリコモナスアドヘシンタンパク質は天然、化学合成または組換え作製した、全分子またはフラグメントであってよい。１つの実施形態では、アドヘシンタンパク質は組換え手段により調製される。少なくとも１つの免疫反応性エピトープを含有する組換え免疫原を調製する方法は、当業者には知られており、そしてそれらの開示が参照により本明細書中に組み込まれる米国特許第５，８７６，９８５号および第５，９２２，５６３号に開示されている。手短には、組換え免疫原は抗原をコードする１つもしくは２つ以上の遺伝子を含有する発現ベクターを使用して調製できる。コーディング遺伝子は、標的トリコモナス原虫のｃＤＮＡ発現ライブラリーから、当該抗原の粗調製物に対して作られているポリクローナル抗体を用いてライブラリーをスクリーニングすることによって選択できる。当該抗原を発現する発現プラスミドからのｃＤＮＡインサートは次にサブクローニングおよびシーケンシングされる。免疫原ファミリー、または数種の非関連性免疫原のファミリーの相違するメンバーをコードする抗原コーディングインサートはプールされ、発現ベクター内にクローニングされ、大腸菌またはその他の適切な宿主細胞を形質転換させるために使用される。様々な膣トリコモナスアドヘシンタンパク質の代表的コーディング配列は、上記に挙げた米国特許に提供されている。免疫原が膣トリコモナスのアドヘシンタンパク質ファミリーＡＰ６５である本発明の１つの実施形態では、組換え抗原は保存されたエピトープを有するほぼ同一の６つのＡＰ６５アドヘシン遺伝子のカセットから発現される。結果として得られた組換え抗原は高度に保存されており、抗体作製に対して安定性がある。しかし、組換え抗原混合物を産生するための発現カセット内には様々な数の遺伝子および遺伝子フラグメントを含めることができると理解されており、そして適切な遺伝子および遺伝子フラグメントの選択は当業者の知識の範囲内にある。

【００６５】

親もしくは天然アドヘシンタンパク質の所望の免疫反応性を有する免疫学的フラグメントを選択するためには、タンパク質は例えばタンパク質分解性消化、および天然タンパク質に対する抗体への結合についてのフラグメント試験によってフラグメント化することができる。結合したフラグメントの限定されたＮ－末端またはＣ－末端アミノ酸分析は当該結合フラグメントを同定するために使用できる。あるいはまた、組換え発現状況では、アドヘシンコーディング配列は長さが約２５～３００アミノ酸のアドヘシンフラグメントをコードできるフラグメントを形成する従来型手段によってフラグメント化することができる。そのようにコードされたフラグメントは、例えばｇｔ１０またはｇｔ１１発現系等の標準発現系において、標識抗アドヘシン抗体に対して選択することにより、従来型方法で分析できる。

【００６６】

ＩＩＩ．ドライストリップ型アッセイキット

上記でドライストリップ側方流動アッセイキットと呼ばれた本発明のキットは、生体サンプル中に存在するトリコモナス分析物（アドヘシンタンパク質または抗トリコモナス抗体）を検出するための「ワンステップ」側方流動アッセイを提供する。上記のように、本キットには一般に流路に沿ってサンプル溶液の毛管流を許容する材料から構成されたマトリックスが含まれる。マトリックスは、サンプル適用ゾーン、反応ゾーン、検出ゾーン、および任意でコントロール捕捉ゾーンを規定する。

【００６７】

本アッセイ装置のマトリックスは、典型的には非吸収性側方流動が可能な多孔性材料であろう。「非吸収性側方流動」は、例えば１つ以上の成分を吸着または吸収することのできる材料中において発生するような１つ以上の成分の優先的滞留とは対照的に、液体の溶解または分散した成分が実質的に等しい速度および膜を通って側方へあまり妨害されない流動が実施される液体流動を意味する。

【００６８】

典型的な非吸収性マトリックス材料はガラス繊維濾紙である。ポリスルホンマイクロポーラス膜、ニトロセルロース、酢酸セルロース膜、ポリ塩化ビニル、ポリ酢酸ビニル、酢酸ビニルおよび塩化ビニルのコポリマー、ポリアミド、ポリカーボネート、ナイロン、オーロン、ポリエステル、ポリエステル、ポリスチレン等の他の非吸収性膜または混合物もまた使用できる。所望の材料特性および流速を備えるマトリックス材料の選択は、一般に当業者の知識の範囲内に含まれる。

【００６９】

マトリックスのサイズおよび形状は、決定的に重要ではなく変動してよい。一般に、マトリックスは長方形で流路は軸方向である。多孔性マトリックスは、一般には概して不浸透性の固体支持体によって裏張りされている。マトリックスはさらにまた、典型的にはプラスチックもしくは類似の耐水性材料から製造されたハウジングまたは容器の内部に含有されていてよい、もしくは一部分が内部に含有されていてよい。

【００７０】

吸収ゾーンは、一般には本発明の装置に含まれている。吸収ゾーンは、捕捉ゾーンから下流に位置する。吸収ゾーンは、流路に沿って所望の毛細管流動を維持するために、装置のマトリックスから過剰なサンプルおよび非結合標識を除去するための手段である。一般に、吸収ゾーンには濾紙、ガラス繊維フィルター等の吸収性材料が含まれる。

【００７１】

液体サンプル、典型的には抽出された子宮頸管内膜スワブもしくは膣スワブ、尿、または血清もしくは唾液がサンプル受入ゾーンでマトリックスにアプライされる。調製したサンプルが検出ゾーンを通って流れるにつれて、サンプル中に分析物が存在する場合は、標識試薬は標的分析物に結合して標識試薬－分析物複合体を形成する。サンプルが捕捉ゾーンに流入するにつれて、標識標的分析物は固定化された免疫グロブリンに結合され、それにより捕捉ゾーン内に標識を保持する。サンプルがコントロールゾーンに流入するにつれて、サンプル液と一緒に運ばれた過剰な標識試薬はコントロール試薬に結合され、それに

よりコントロールゾーン内に非複合化標識を保持する。

【００７２】

視認可能な標識の蓄積は、視覚的に、または光学的検出装置のどちらかによって評価できる。捕捉ゾーン内の標識の保持は、サンプル中の標的分析物の存在を明示する。コントロールゾーン内の標識の保持は、十分な液体が標識ゾーンおよび捕捉ゾーンを流れて通過すること、そして標識試薬が保管、バッファー組成およびサンプル組成等に起因して変性または分解しないこと、そしてアッセイが妥当であることを明示する。

【００７３】

さらに、蓄積した標識の視認可能な強度は患者サンプル中の分析物の濃度または力価（希釈）と関連付けることができる。蓄積した標識の視認可能な強度および分析物の濃度は、視認可能な強度と参照標準との比較によって関連付けることができる。そこで、分析物の標識は本発明の装置によって測定できる。

【００７４】

図１および２は、本発明のアッセイ方法を実施するために有用な本発明の装置の実施形態であるテストストリップ１０を示している。テストストリップ１０には、固体支持体１３によって支持された、各々上流端および下流端１４、１５を有する細長い多孔性マトリックス１２が含まれている。多孔性材料パッド１６は、マトリックス１２の上流部分上に配置されている。このパッドには、その上でアドヘシンペプチドを含有するサンプルがストリップへアプライされるサンプル装填もしくはサンプル受入ゾーンもしくは領域１７、およびサンプル装填ゾーンの下流で、移動性のレポーター標識抗アドヘシン抗体を含有する反応領域もしくはゾーン２０が含まれている。

【００７５】

図２に明らかなように、パッド１６はマトリックス１２の上面に取り付けられており、毛細管液体流動によってマトリックス１２と連絡している。そこで、サンプル適用パッドにアプライされるサンプル液は、パッド１６内へ、パッド１６を経由して反応領域内へ流動する。この場合、サンプル液は溶液内への移動性の抗体の遊離を引き起こし、そこでサンプルアドヘシンと反応し、パッドを経由して、パッドおよび隣接するマトリックスを通る毛細管流動によってマトリックス１２内へ移動できる移動性アドヘシン標識複合体を形成する。

【００７６】

マトリックス１２には、順に捕捉試薬のストライプが置かれている検出ゾーン２２およびコントロール試薬のストライプが置かれているコントロールゾーン２４が含まれる。この例示した実施形態では、捕捉試薬およびコントロール試薬はストライプが細長いマトリックス１２の幅を横切るように配置されている。しかし、捕捉試薬およびコントロール試薬はあらゆる適切なフォーマット内に配置できることが理解されている。

【００７７】

その下流端でマトリックス１２を被覆しているのは、吸収性パッド２８である。吸収性パッド２８の上方のテープカバーは、テストストリップのためのつかみ面またはつかみ部を提供する。パッド２８の目的は、検出ゾーンおよびコントロールゾーンを通して適用ゾーンからサンプル液を吸引し続けるための吸収性リザーバーとして機能することである。

【００７８】

マトリックス１２は、サンプル受入ゾーン１７に受け入れられたサンプルがテストストリップ１０の長手軸に沿って毛細管作用によって流動することを可能にするガラス繊維濾紙から構成される。上記に記載した非吸収性マトリックス材料等の他の多孔性材料もまた使用できる。固体支持体１３はニトロセルロース膜から形成されている。紙、ナイロン膜、ガラス、プラスチック、金属等のその他の適切材料もまた使用できる。

【００７９】

１つの特定実施形態では、テストストリップ１０は膣トリコモナスのアドヘシンタンパク質ＡＰ６５（分析物）を検出するために設計されており、検出ゾーンは金共役結合ウサギ抗ＡＰ６５ＩｇＧを用いてストライプ状にされ、捕捉ゾーンは抗ＡＰ６５ＩｇＧを用い

てストライプ状にされている。テストストリップ１０を製造するための代表的方法は、実施例１～６に記載されている。

【００８０】

テストストリップ１０は、ストリップの取扱いを容易にするためにハウジング内に収容することができる。図３および４は、ハウジング５２内に封入されたテストストリップ１０を含むテストストリップカセット５０を図示している。ハウジング５２は、アッセイ実施者が容易につかめるように設計されている。ハウジング５２は、各々上方部分および下方部分５４および５６から構成される。下方部分５６は、その中にテストストリップ１０を受け入れるためのウェル５８を含有する。上方部分５６には、２つの窓６０および６２が含まれる。窓６０は、液体サンプルを受け入れるために適合する。窓６２はアッセイ結果を視認するための窓である。上方部分５４には、テストストリップをウェル内に固定するために、ウェル５８の上方にアライメントされたペグ６４が用意されている。２つの部分は、部分５６内の穴６８等の対応する穴に受け入れられた部分５４におけるピン６６等のコーナーピンによって一直線上に一緒に保持されている。

【００８１】

ハウジング５２は、例えばポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン等のプラスチック材料のような適正な強度を有するいずれかの耐水性材料から構築できる。プラスチック材料が使用される場合は、ハウジング５２はいずれかの従来型成形技術によって製造できる。

【００８２】

カセット５０は、最初に下方部分５６のウェル５８内にテストストリップ１０を配置することにより容易に組み立てることができる。上方部分５４は次に、窓６０をサンプル装填ゾーン１７にアライメントし、窓６２を検出（捕捉）ゾーンおよびコントロールゾーン２２、２４にアライメントし、そしてペグ６４を吸収性パッド２８と接触させて下方部分に接触させることで配置される。これら２つの部分は次に、嵌合ピンおよび開口部を通して噛み合わせることができる。

【００８３】

本発明のキットには、上記のような単一アッセイストリップ、または複数のテストストリップを含めることができる。複数のストリップは、二重試験のため、または相違するトリコモナス種、単離物または薬物耐性マーカーについて試験するために設計することができる、または１パネルの他のＳＴＤ（例えば、クラミジア）、もしくは他の膣炎を引き起こす物質（例えば、カンジダ酵母菌およびＧａｒｄｎｅｒｅｌｌａ菌）の追加の病原体、または数種の動物トリコモナス種を検出することのできる複数の装置を試験するために設計されている。本キットは、サンプリングツール、例えば子宮頸管内膜サンプルを入手するための無菌綿棒、およびサンプル濾過および濃縮装置を含むことができる。本キットは、さらにまたサンプル調製溶液、例えばサンプルを中和するため、またはトリコモナス抗原を溶液内で抽出／可溶化するためのバッファーも含むことができる。アッセイを実施するために有用な試験管、ホールピペット等を含む、その他の材料もまたキット内に含めることができる。含まれる装置および試薬は実施される試験のタイプに依存して変動し、一般には当業者の知識の範囲内に含まれる。

【００８４】

１つの好ましい実施形態では、キットは膣トリコモナスを検出するためのキットである。本装置には、検出ゾーンの範囲内に含有されたアドヘシンタンパク質のＡＰ６５ファミリーに対して作られた金共役結合抗体ＤＭ１１６、および捕捉ゾーン内に固定化されたＤＭ１１６によって結合されたものとは相違するＡＰ６５エピトープに特異的に結合するＣ５５抗体またはそのフラグメントが含まれる。また別の好ましい実施形態では、キットには約４．０～約９．０のｐＨを有するバッファー溶液が含まれる。好ましくは、バッファーは再蒸留水中に約０．５％のＴｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００および０．１％ＢＳＡを含有するサンプル溶解バッファーである。装置、溶液試薬、容器およびサンプリングツールは、一般にはイムノアッセイキットのための従来型タイプの包装、例えば箱、バッグ、円筒、

シュリンクラップ・カード等内に一緒に含まれる。任意で、本キットはさらに本発明の方法ステップについて記載した文書による取扱説明書を含むことができる。分析用の生体サンプルを調製するためには、リン酸塩、Ｔｒｉｓ等の多数の標準バッファー水溶液、またはＴｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００、ＢＳＡおよび蒸留水を含有するバッファーのいずれかを約４．０～約９．０のｐＨで使用できる。適切なバッファーの選択は、当業者の知識の範囲内である。

【００８５】

尿が生体サンプルである場合は、サンプルは天然尿、天然尿の分別部分、またはさもなければ濃縮形もしくは希釈形のいずれかの例えば濾過によって処理された尿であってよい。尿試験サンプルの最適な単一ステップ濾過および試験のための代表的装置は、試験抗体およびコントロール抗体のための支持媒体として機能するフィルター基質を含有する。抗原または抗原／標識抗体複合体は、液体がフィルター基質の上方および中を通過するにつれて接触させられる。診断用装置内を通るそのような流動は当業者には知られており、この方法は本発明の方法と一致している。Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００またはリン酸バッファーを用いて天然尿を希釈するためにはいずれかの数のバッファー溶液を使用できるが、約４．０～約９．０のｐＨが好ましい。天然尿の液体分画および微粒子分画は、別個に分析できる。天然尿の２つの分画は、沈降法、遠心法、または濾過法等の当分野において知られているいずれかの固体－液体分離法によって分離することができ、液体および微粒子は別個に収集される。微粒子は次に当該分析物タンパク質を可溶化または抽出するために、バッファー中、例えばＴｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００バッファー溶液中に再懸濁させられる。懸濁液は、次に分析物の存在について分析することができる。分離された尿の液体分画は、そのままで、または分析前に前処理して分析することができる。前処理には、濃縮、希釈または中和を含むことができる。

【００８６】

膣スワブが生物学的サンプルであるまた別の実施形態では、スワブ内に含有される生体液体が最初に可溶化され、バッファー溶液中に抽出される。代表的抽出法は、実施例４に記載されている。好ましいバッファーには、０．５％のＴｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００、０．１％のＢＳＡ、および再蒸留水が含まれる。いずれか他のバッファー溶液、例えば約４～９のｐＨ範囲を有するリン酸バッファーもまた使用できる。

【００８７】

調製された液体サンプル（尿または膣スワブ）は次に本発明の装置の１つ、例えばテストストリップ１０または試験カセット５０にアプライされる（図１および３）。テストストリップを使用する場合は、ストリップはサンプル液を吸引するためのディップスティックとして使用できる。試験カセット５０を使用する場合は、サンプル液はピペットを使用して移すことによりサンプル受入窓６０内に入れることができる。受け入れられた液体は、検出ゾーン、捕捉ゾーンおよびコントロールゾーンに向かう毛細管作用下で多孔性マトリックスに沿って流動する。試験の結果は、捕捉ゾーンおよびコントロールゾーン内に捕捉された標識から直接読み取ることができる。捕捉ゾーンおよびコントロールゾーンの着色（標識がコロイド状金である場合は、赤色）ラインは、トリコモナス感染症を検出するための陽性結果を明示する。コントロールゾーンでの着色ラインは、陰性結果および試験が妥当でないことだけを明示する。線がないことは試験が妥当ではないことを明示する。

【００８８】

上記から、本発明の様々な目的および特徴が満たされる方法が理解されるであろう。本アッセイは、単純かつ迅速であり、医師の診察室または在宅環境に容易に適合する。本発明の１つの重要な特徴によると、本アッセイは高感度であり、膣トリコモナスに感染したヒト対象における実質的にすべての陽性を拾い上げる（以下の実施例４および５を参照されたい）。膣トリコモナス感染症を検出するための本発明のアッセイの実施形態の性能特徴は、複合参照標準サンプルセット（ＣＲＳ）から決定した。このサンプルセットは、膣炎の症状を提示する患者２０６例からの膣試料のコレクションである。これらの試料を液浸標本顕微鏡および本発明の装置によって膣トリコモナスの存在について試験した。２つ

のアッセイ間の不一致は、培養法（Ｉｎ－ｐｏｕｃｈ－Ｔｖ（商標）培養法、ＢｉｏＭｅｄ社、カリフォルニア州サンノゼ）によって解決した。

【００８９】

本発明の試験装置によって具現化したアッセイは、全液浸標本法陽性患者（７５例）を陽性結果と同定し、そして液浸標本法陰性患者の２１％（２８／１３１、培養法によって確証）についても膣トリコモナス陽性結果と同定したことが証明されている。アッセイの感度は、約１００％であると報告されている。アッセイの総合的感度は９８％であると報告されている。本特許出願に報告した研究の前には、検出プロトコールを使用してそのような高い感受性および特異性を達成する能力を予測できなかった。これらの結果は実施例５に詳述されている。

【００９０】

さらにその上、本アッセイの有益な特徴は、体液サンプルとして尿を使用して、便宜的かつ人目に触れないサンプル採取ならびに男性および女性両方にとってのアッセイ測定を可能にすることにより所見される。同様に、本アッセイを通常はパップスミアの一部として実施される１つもしくは２つ以上の他のアッセイに含めることを可能にすることにより、本アッセイの免疫反応性試薬はパップスミア試験、またはパップスミア試験からの残留液体に容易に適用できる。さらに、本アッセイの免疫反応性試薬は、サンプルが膜もしくはフィルター基質を通って流れる流動タイプの試験等の他の迅速な試験フォーマットに容易に適用できる。

【００９１】

以下の実施例では、本発明を例示し、サンプル中のトリコモナスの存在を同定および試験するために使用できる方法の説明を提供するために、そして当業者が本発明を理解および実施するのに役立つように、本発明の特定の態様を記載する。これらの実施例は、決して本発明を限定すると解釈されてはならない。

【実施例１】

【００９２】

モノクローナル抗体の精製

モノクローナル抗トリコモナス抗体（Ｍａｂ）は、Ａｌｄｅｒｅｔｅへの米国特許第４，７０７，４４２号に記載された通りに調製した。Ｍａｂは、培養上清または腹水のどちらかからタンパク質Ａ－セファロースクロマトグラフィーによって精製した（Ｇｏｄｉｎｇ，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈ．（１９７６）４２：１７）（ＰｈａｒｍａｃｉａＬＫＢ社）。適切なハイブリドーマから作製した約２～６ｍＬの腹水液は、１．５Ｍのグリシン、３ＭのＮａＣｌを含有するｐＨを約８．９に調製した結合バッファーを用いて１：１に希釈した。ＤＭ１１６　Ｍａｂ腹水は、室温で一晩かけて結合バッファーを用いて透析にかけた。透析したＭａｂ腹水は、０．５ｍＬ／分の速度で結合バッファーを用いてタンパク質Ａ－セファロースＣＬ－４Ｂアフィニティー・ゲルクロマトグラフィーから溶出した。溶出は、各サンプルの吸光度を２８０ｎｍで測定することによって監視し、そして吸光度が０．００１Ｏ．Ｄ．より下になるまでカラムを洗浄した。次に、約ｐＨ４．０へ調整した０．１Ｍのクエン酸バッファーを使用してカラムからＩｇＧを溶出した。免疫グロブリンの溶出は、２８０ｎｍで各サンプルの吸光度を測定することによって監視した。

【実施例２】

【００９３】

モノクローナル抗体－金コンジュゲートの調製

１００ｍＬの超純水を含有するフラスコを約８０～８５℃に加熱した。次に、穏やかに攪拌しながら、１ｍＬの１％のＡｕＣｌ（２×０．５ｍＬ）および１．７５ｍＬの１％のクエン酸ナトリウム溶液（２×０．５、および次に０．７５ｍＬのアリコート）を連続的に温水へ添加した。この溶液をかすかな黄色から紫色がかった黒色そしてチェリーワイン色へ変色するまでさらに８０～８５℃で加熱した。

【００９４】

ガラス管内で、上記の通りに調製した１０ｍＬの１：１．７５金溶液へ２００μＬの新たに調製した１００ｍＭの炭酸塩（１００ｍＭ）を添加した。この溶液を３秒間ボルテックスミキサーにかけた。次に３００μＬのＤＭ１１６　ＩｇＧ（１ｍ／ｍＬ）を添加し、そしてこの溶液を再び３秒間ボルテックスミキサーにかけた。この試験管を室温で３０分間培養し、３秒間ボルテックスミキサーにかけながら１００μＬのコンジュゲートブロッキング液を添加し、その後８，０００ｒｐｍで３０分間遠心した。この遠心機は、制動システムを使用せずに完全に停止させることができた。コンジュゲートブロッキング液は、約２５ｍＭのリン酸カリウム（ｐＨ７．４～７．６）、約５％のウシ血清アルブミンおよび約０．１０％の蔗糖から構成される。残留用量が約３００μＬとなるように上清を吸引して取り出した。次に濃縮コンジュゲートを新しい容器に移し、その用量を測定した。濃縮コンジュゲートは、コンジュゲート再懸濁液を添加することにより１０倍濃度へ希釈した。コンジュゲート再懸濁液は、２５ｍＭのリン酸カリウム（ｐＨ７．４～７．６）、約１％のウシ血清アルブミンおよび約０．１０％の蔗糖を含有していた。添加すべきコンジュゲート再懸濁液の量は、金溶液の総量を（１０－新規容器に移されている濃縮コンジュゲートの用量）で割ることによって決定した。モノクローナル抗体金コンジュゲートは、使用時まで、好ましくは約２～８℃で冷蔵庫に保管することができた。

【実施例３】

【００９５】

アッセイ用ドライストリップの調製

Ａ．ドライストリップへの固定化抗体の添加

１ｍｇ／ｍＬのウサギ抗膣トリコモナスＩｇＧの調製物は、室温で一晩かけて、５０ｍＭの炭酸塩－重炭酸塩バッファー（ｐＨ９．６）からなるコーティングバッファーに対して透析した。次にＩｇＧをＸ－Ｙ－Ｚ分注プラットフォーム（ＢＩＯ．ＤＯＴ社）上に装填し、１μＬ／ｃｍの液体をニトロセルロース膜上に送達するように機械をプログラミングした。次に膜を約３時間かけて室温から３７℃で乾燥させた。ブロッキングバッファー（４％のショ糖を含むＰＢＳ中に０．５％のＢＳＡ）を次に膜にスプレーし、膜を室温で一晩かけて乾燥させた。この膜を水分の不在下で約２～８℃で保管した。

【００９６】

Ｂ．反応ゾーンでの金－ＤＭ１１６抗体コンジュゲートの適用

ガラス繊維濾紙を金パッド前処理バッファー（０．５％（ｗ／ｖ）の多価アルコール；０．７１％（ｗ／ｖ）のリン酸二ナトリウム；０．１％（ｖ／ｖ）のＴｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００；０．５％のＢＳＡ（ｗ／ｖ）；ＤＤＷ；ｐＨ７．４）中に沈めた。ガラス繊維濾紙は３時間かけて４０～５０℃のオーブンで乾燥させるか、または一晩かけて風乾させた。金－ＤＭ１１６抗体コンジュゲートを次に処理したガラス繊維濾紙上に適用し、その後パッドが乾燥したように思われるまで、室温で一晩かけて風乾させるか、または３７℃のオーブン内で乾燥させた。このパッドは水分の不在下で約２～８℃で保管した。

【００９７】

Ｃ．テストストリップのアセンブリー

Ａ部で調製した抗体塗布ニトロセルロース膜上に、Ｗｈａｔｍａｎ／Ｇｅｌｍａｎ濾紙（２．５ｃｍ×３０．０ｃｍ）のストリップを２枚が一番上で１ｍｍ重複するように配置した。次にＢ部で調製した金コンジュゲートパッドを、底部で１ｍｍ重複するように配置した。金コンジュゲートパッドの底部１ｍｍとＷｈａｔｍａｎ／Ｇｅｌｍａｎ濾紙の第２ストリップと重なり合わせた。このアッセンブリーは、一重のプラスチック製粘着テープで被覆することにより適所に保持した。このアッセンブリーを次に幅約２ｍｍの小さなストリップに切断し、水分の不在下で約２～８℃で保管した。

【実施例４】

【００９８】

試験方法および結果

本発明のテストストリップを使用した試験方法は以下の通りである。

１．無菌綿棒を使用して患者の膣道から試験サンプルを採取する。試料の採取後、でき

る限り迅速に綿棒を処理する。しかし、本発明のアッセイは処理のために生存微生物を必要としないので、サンプル綿棒を保管したり、乾燥形で輸送したりすることができる。綿棒はさらにまた、抽出および試験の２４時間前まで２～８℃で保管することもできる。あるいはまた、綿棒を抽出し、抽出した試料を２４時間まで２～８℃で保管することができる。

【００９９】

２．スワブを約１ｍＬのサンプル溶解バッファー（０．５％のＴｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００；０．１％のＢＳＡ；ＤＤＷ）に浸ける。容器の側面に激しくぶつかるように綿棒を少なくとも１０回回転させて（浸漬したままで）この溶液を力強く混合する。試験結果は、試料を溶液中で力強く抽出したときに取得する。再度混合する前の１分間は、綿棒をサンプル中に浸漬させる。綿棒を抜き出すときに綿棒を試験管の側面に押しつけて回転させることにより、綿棒からできるだけ多量の液体を絞り出す。綿棒を廃棄する。

【０１００】

３．実施例７で調製したディップスティック型テストストリップを混合サンプル溶液のバイアルへ挿入する。

【０１０１】

４．１０分後に結果を読み取る（一部の陽性結果はもっと早く読み取れることがある）。１０分後に試験結果が陰性であると思われる場合は、試験結果を確認する前にバックグラウンドのすべての色が消失するまでさらに１０分間待つ。

【０１０２】

５．不均一な色むらを伴っている場合でも、赤い線は結果が妥当と見なされる。中等度もしくは高度の陽性試料の場合は、試験ラインの後ろに赤色が見えることがある。試験ラインおよびコントロールラインを視認できる限り、結果は妥当である。結果は以下のように解釈する。

２本の線－陽性。赤い試験ラインと赤いコントロールラインは、トリコモナス抗原の検出に対して陽性結果である。赤色の線が色の影であってよいことに注意すること。

１本の線－陰性。コントロールラインは赤いが試験ラインが赤くない場合は、推定陰性結果である。

線なし－試験が妥当ではない。赤いコントロールラインが現れない、またはバックグラウンドの色によって赤いコントロールラインの読取りが不可能な場合は、結果は妥当ではない。

【０１０３】

本発明のアッセイの性能特徴は、複合参照標準サンプルセット（ＣＲＳ）から決定した。このサンプルセットは、膣炎の症状を提示する患者２０６例からの膣試料のコレクションである。これらの試料を液浸標本顕微鏡検査および本発明のアッセイによってトリコモナスの存在について試験した。２つの方法間の不一致は、培養法（Ｉｎ－ｐｏｕｃｈ－Ｔｖ（商標）培養法、ＢｉｏＭｅｄ社、カリフォルニア州サンノゼ）によって解決した。Ａｌｏｎｚｏ　ａｎｄ　Ｐｅｐｅ（１９９９）も参照されたい。

【０１０４】

複合参照標準中の計２０６例のサンプルについて、液浸標本法によって７５例は陽性と同定され、そして１３１例は陰性と同定された。本発明の装置は、全液浸標本法陽性サンプル（７５例）を陽性と、そして１０１例の液浸標本法陰性サンプルを陰性と同定した。しかし本装置は、残りの液浸標本法陰性サンプルを膣トリコモナスの存在について陽性と同定した。

【０１０５】

さらに、液浸標本法と本発明の装置との不一致を解決するために、１３１例の液浸標本法陰性サンプルを培養法によって分析した。液浸標本法により陰性と判定されたが、本発明のアッセイにより陽性と判定された３０例のサンプル中、培養法によって２８例は陽性、そして２例は陰性と判定されたことが見いだされた。さらに、液浸標本法および本発明のアッセイのどちらによっても陰性であったサンプル１０１例は培養法によっても陰性で

あることが見いだされている。結果は、以下の表１に表示した。

【０１０６】

【表１】

液浸標本顕微鏡検査と比較して培養法により解決したＸＥＮＯＳＴＲＩＰ－ＴＶ

N=206	液浸標本(WM)	
	(+)	(-)
XenoStrip-Tv(商標)(+)	75	30
XenoStrip-Tv(商標)(-)	0	101

WM(-)サンプルを解決する(n=131)	
培養法(C)(+)	培養法(C)(-)
28	2
0	101

【０１０７】

液浸標本顕微鏡検査と比較して、培養法によって解決した本発明のアッセイの性能は以下の通りである。

ＸｅｎｏＳｔｒｉｐ－Ｔｖ（商標）の感度＝Ｘ（＋）ＷＭ（＋）＋Ｘ（＋）ＷＭ（－）Ｃ（＋）／Ｘ（＋）ＷＭ（＋）＋Ｘ（＋）ＷＭ（－）Ｃ（＋）＋
Ｘ（－）ＷＭ（＋）＋Ｘ（－）ＷＭ（－）Ｃ（＋）
＝７５＋２８／７５＋２８＋０＋０
＝１０３／１０３
＝１００．０％（Ｃ１　１００％－１００％）

【０１０８】

ＸｅｎｏＳｔｒｉｐ－Ｔｖ（商標）の特異性＝Ｘ（－）ＷＭ（－）Ｃ（－）／Ｘ（－）ＷＭ（－）Ｃ（－）＋Ｘ（＋）ＷＭ（－）Ｃ（－）
＝１０１／１０１＋２
＝１０１／１０３
＝９８．１％（Ｃ１　９５．４％－１００％）

【０１０９】

ＸｅｎｏＳｔｒｉｐ－ＴＶ（商標）のＮＰＶ＝Ｘ（－）ＷＭ（－）Ｃ（－）／Ｘ（－）ＷＭ（－）Ｃ（－）＋Ｘ（－）ＷＭ（＋）＋Ｘ（－）ＷＭ（－）Ｃ（＋）
１０１／１０１＋０＋０
＝１０１／１０１
＝１．０００（Ｃ１　１．０００－１．０００）

【０１１０】

ＸｅｎｏＳｔｒｉｐ－Ｔｖ（商標）のＰＰＶ＝Ｘ（＋）ＷＭ（＋）＋Ｘ（＋）ＷＭ（－）Ｃ（＋）／Ｘ（＋）ＷＭ（＋）＋Ｘ（＋）ＷＭ（－）Ｃ（＋）＋
Ｘ（＋）ＷＭ（－）Ｃ（－）
＝７５＋２８／７５＋２８＋２
＝１０３／１０５
＝０．９８１（Ｃ１　０．９５５－１．０００）

【０１１１】

本発明のアッセイに使用される抗体試薬は、正常膣フローラ、他の性交渉感染性細菌（Ｇａｒｄｎｅｒｅｌｌａ　ｖａｇｉｎａｌｉｓおよびカンジダ種を含む）および正常非感染個体由来の泌尿生殖器サンプルとは非反応性であることが証明されている。

【０１１２】

本発明の抗体装置は、膣スワブ由来材料中に患者の分泌物から予想されるより低濃度の１０～１０００個（微生物）で存在する可溶性抗原を検出した。

【０１１３】

液浸標本顕微鏡検査による分析結果を培養法と比較し、方法の性能について、液浸標本法対培養法および培養法対液浸標本法の比較を各々表２および３に表示した。

【０１１４】

【表２】

液浸標本顕微鏡検査対培養法の比較

N=206	培養法	
	(+)	(-)
液浸標本(WM)(+)	66	28
液浸標本(WM)(-)	28	103

液浸標本法対培養法の性能比較
感度=70.2%
特異性=95.4%

【０１１５】

【表３】

培養法対液浸標本顕微鏡検査の比較

N=206	培養法	
	(+)	(-)
培養法(C)(+)	66	28
液浸標本(WM)(-)	28	103

培養法対液浸標本法の性能比較
感度=88.0%
特異性=78.6%

【０１１６】

表４では、本発明のアッセイの性能を培養法および液浸標本顕微鏡検査と比較する。

【０１１７】

【表４】

ＸＥＮＯＳＴＲＩＰ－ＴＶ（商標）と培養法および液浸標本顕微鏡検査との比較

N=206	感度	特異性	PPV	NPV	精度
培養法	88.0%	78.6%	0.702	0.920	82.0%
液浸標本	70.2%	92.0%	0.880	0.786	82.0%
XenoStrip-Tv(商標)	100.0%	98.1%	0.981	1.000	99.0%
＄　数値はXenoStrip-TV(商標)についてのCRSである。培養法対液浸標本法、および液浸標本法対培養法。					

【実施例５】

【０１１８】

追加の試験

本発明のアッセイおよび装置の評価が３ヵ所の医師の診察室で実施された。各試験場所での試験は、教育に関する背景が異なった個人によって実施された。各試験場所では、陰性（３）、低陽性（３）、中陽性（３）、および高陽性（３）サンプルからなる無作為にコード化されたパネルを試験した。入手された試験結果は、予想された結果と１００％一致した。

【０１１９】

本発明の好ましい実施形態を例示かつ記載してきたが、本発明の精神および範囲から逸脱することなく様々な変更を加えられることは理解されるであろう。

【図面の簡単な説明】

【０１２０】

【図１】本発明によるトリコモナスアッセイキット内のテストストリップの平面図である。

【図２】図１のテストストリップの側面図である。

【図３】本発明によるアッセイキットの平面図である。

【図４】図３のキットの側断面図である。

【図１】

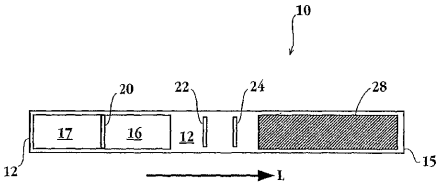

Fig. 1

【図２】

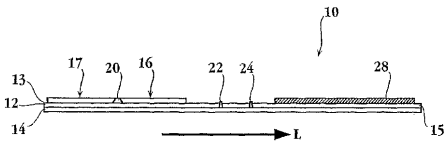

Fig. 2

【図３】

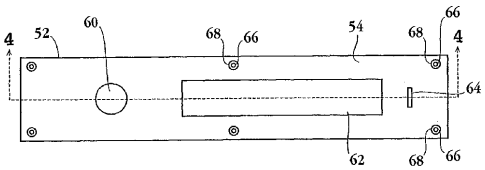

Fig. 3

【図４】

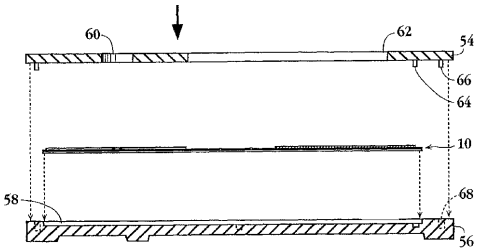

Fig. 4

フロントページの続き

(74)代理人 100118407
弁理士 吉田 尚美
(74)代理人 100125380
弁理士 中村 綾子
(74)代理人 100125036
弁理士 深川 英里
(74)代理人 100142996
弁理士 森本 聡二
(74)代理人 100154298
弁理士 角田 恭子
(72)発明者 アルダリート，ジョン・ピー
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４３０４，パロ・アルト，チャールズ・マークス・ウェイ １３６
(72)発明者 キャステラ，ポール・シー
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４１２７，サン・フランシスコ，デイルウッド・ウェイ １１７

審査官 赤坂 祐樹

(56)参考文献 米国特許第０５９２２５６３（ＵＳ，Ａ）
特開昭６１－１８５１８３（ＪＰ，Ａ）
特開２００１－３３７０９１（ＪＰ，Ａ）
ALDERETE, INFECTION AND IMMUNITY, １９８７年, V56 N5, P1037-1041
Lisi PJ et al., Monoclonal-antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for Trichomonas vaginalis., J Clin Microbiol., １９９８年 9月, 26(9), 1684-6

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
G01N 33/543-33/571