The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Rapid screening for Staphylococcus aureus infection by measuring enterotoxin B
Author(s)	細坪, 貴久美
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37847
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【90】

氏　　名	細　坪　貴久美（ほそ　つぼ　きくみ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医学）
学位記番号	第　10088　号
学位授与年月日	平成4年3月16日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	**Rapid screening for Staphylococcus aureus infection by measuring enterotoxin B** **（メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）感染症の迅速診断法）**
論文審査委員	（主査） 教　授　吉矢　生人 （副査） 教　授　井上　公蔵　　教　授　宮井　　潔

論文内容の要旨

（目　　的）

医学医療の進歩にともない感染抵抗力の低下した易感染患者の数が急増し，これらの患者に発生する院内感染が大きな問題となり，なかでもメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）による感染症が注目されている。MRSA は抗菌薬に耐性を示し，重症化しやすく治療が困難であるからである。従来より，本菌感染症の確定診断は培養した菌の薬剤感受性試験の結果に基づいており，判定までに数日以上を要する。しかし，本菌に感染した患者を救命するため，また，院内感染症の拡大を最小限にくいとめるためには早期診断が必須であり，したがって，本菌による感染症の迅速診断法を開発することには重要な意味がある。

黄色ブドウ球菌の産生する外毒素であるエンテロトキシンB（SEB）の産生とメチシリン耐性機構の発現とは密接な関係があるとされている。そこで，患者血漿中の SEB を定量することにより MRSA 感染症の早期診断が可能であると考え，SEB と抗ウサギ SEB 抗体との免疫複合体をレーザーネフェロメーターを用いて検出定量する免疫比濁法（レーザーネフェロメトリー）を開発し，臨床応用することを本研究の目的とした。

（方　　法）

① 免疫比濁法

SEB 標準物質として黄色ブドウ球菌由来の SEB（Sigma 社）を用い，リン酸緩衝生理食塩水（PBS）中，室温にて抗 SEB ウサギ抗体（Sigma 社）との抗原抗体反応をおこなった。生成された抗原抗体複合体をレーザーネフェロメーター（Hyland 社）にて検出し，光散乱強度から SEB 濃度を換算定

量した。検出感度を増大する目的で，ポリエチレングリコール（PEG，和光純薬）を反応系に加えた。

② SEBの定量

MRSA株からのSEBの産生能はMRSA臨床分離株（6株）をBrain Heart lnfusion Broth（Difco社）内で，37℃一昼夜培養した上清を試料として検索した。

患者血漿SEBレベルは健常人10名（A群）と術後ICUに入室し，一過性にMRSAが検出されたが感染症状を示さなかった2名（10検体，B群），ブドウ球菌は検出されずグラム陰性菌あるいは真菌感染の兆候を示した6名（6検体，C群），二カ所以上からMRSA以外の黄色ブドウ玉菌が検出され感染症状を示した15名（26検体，D群）およびMRSA感染症の5名（22検体，E群）において測定した。起因菌の検索は喀痰，尿，ドレーン，創部あるいは血液にておこなった。

（成　　績）

① 血漿ＳＥＢ測定条件

PBS（0.15M，pH 7.4）下，室温にて1.5時間抗原抗体反応させ，Hyland laser-nephelometer PDQにてレーザーネフェロメトリーをおこなった。試料血漿をPBSにて300倍希釈することにより共存物質の影響は回避された。抗血清の至適希釈倍数は500倍であった。PEG終濃度4％にて抗体過剰域が最も拡大された。

② 標準液における測定域は0.2～100ng／ml，試料血漿における最小検出濃度は60 ng／mlであった。

③ MRSA株全ての培養上清から7～21fg／ml／cellのSEBが検出された。

④ 血漿SEB濃度

ICU入室患者の測定値はＢ群（n＝10）0.29±0.11，Ｃ群（n ＝6）0.23±0.10，Ｄ群（n ＝26）1.34±0.27，E群（n ＝22）3.46±0.76 μg／mlであった（mean ± SE）。A群（n ＝10）においては全く検出されなかった。

（総　　括）

SEBの血清学的検査法を開発し，患者血漿の濃度を測定した。本法は採血後二時間以内に結果が得られ日常検査法として適している。MRSA感染患者血漿SEB濃度は他の感染症患者に比べ有意に高値を示し，血漿SEB濃度は黄色ブドウ球菌，特にMRSAによる感染の鑑別診断の指針となり得る。

論文審査の結果の要旨

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）による院内感染が問題となっており，この拡大を最小限にいとめるためには早期診断が必須である，従来は，確定診断のためには細菌培養の薬剤感受性の結果を必要とし，診断に数日を要した。本研究はMRSAの迅速診断法としてレーザーネフェロメトリーによる血漿黄色ブドウ球菌産生エンテロトキシンＢ濃度測定法を開発し，その臨床的有用性を検討したものである。その結果，MRSA感染症における同エンテロトキシンＢ濃度は非感染群ならびにMRSA以外の感染症のそれに比して有意に高く，臨床的スクリーニングテストとして有用であることがわかった。その臨床的意義は高く，本研究は学位授与に値する内容と判断する。