

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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	細 坪 貴 久 美
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食い止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 Infusion Broth (Difco 社) 内で、37°C 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 以外の黄色ブドウ球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 0.2~100 ng/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 7~21 fg/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) $3.46 \pm 0.76 \mu\text{g/ml}$ であった (mean \pm 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。