

新生児感染症の迅速診断法の確立に関する研究

名古屋市立城北病院小児科

後藤 玄 夫

研究目的

APR-Sc (Acute phase reactants score)の新生児感染症に対する信憑性は高く、臨床的にその有効性が確認されつつある。しかし、このAPR-Scについても次のような問題点があげられる。

1) 血漿中のAPR (Acute phase reactants)は、感染手術侵襲などに反応して有意の上昇を示すが、その上昇がみられるまでには一定のResponse timeが必要である。(CRP 6~10時間, α_1 AGおよびHp 24時間)

2) 極小・超未熟児の早発型敗血症ではResponse timeは更におくれる傾向がある。

3) 生後24時間以内に発症する早発型敗血症ではAPR-ScはFalse negativeになることがある。

4) APR-Scの測定はImmunoplateを使用するので、成績判定が翌日になり緊急時の要求に応じられない。

これらの問題のうち、4)の問題の解決のためLatex凝集を利用したAPR-Scの迅速判定法を検討した。

方法および材料

1) 試薬 APR-Sc測定用ラテックスキット(医学微生物学研究所)を使用した。

キットの内容

感作ラテックス	CRP感作ラテックス α_1 AG感作ラテックス Hp感作ラテックス
前処理用抗血清	α_1 AG定性用 (30mg/dl) α_1 AG定性用 (40mg/dl) α_1 AG定性用 (50mg/dl) Hp定性用 (20mg/dl) Hp定性用 (50mg/dl) Hp定性用 (100mg/dl)
検体希釈液	

2) 操作手順

a) 検体の調整

検体血漿 0.01 mlに希釈液 0.09 mlを加え、検体を10倍に希釈する。

b) 検体の前処理および反応

下表に従って各検体に供する前処理用抗血清を選ぶ。CRPには本操作不要。

前処理用血清	成熟児	未熟児
α_1 AG定性用(30mg/dl)	0~24h.	0~72h.
α_1 AG定性用(40mg/dl)		72h. 以上
α_1 AG定性用(50mg/dl)	24h. 以上	
Hp 定性用 (20 mg/dl)	0~24h.	0~72h.
Hp 定性用 (50mg/dl)	24~48h. 7d. 以上	72h. 以上
Hp 定性用 (100 mg/dl)	48h.~7d.	

調整検体 5 μ g をテストスライド上に2箇所滴下する。

α_1 AGおよびHpの前処理用抗血清のどちらか一方を夫々1滴滴下する。

検体と前処理用抗血清をかくはん棒でよくかくはんしたのち、1分間静置反応させる。

CRPについては調整検体50 μ lをテストスライド上に滴下し、かくはん棒で棒一杯に検体を広げる。

前処理した α_1 AG, HpおよびCRPの検体上に、対応する感作ラテックスを1滴滴下する。

テストスライド上のリング内でよくよう動させ、よう動開始後2分後に凝集の有無を観察し判定する。

3) 判定

測定項目	前処理抗血清	判定	
		陰性	陽性
CRP		1 mg/dl ↓	1 mg/dl ↑
α_1 AG	α_1 AG 定性用 (30 mg/dl) を用いたとき	30 mg/dl ↓	30 mg/dl ↑
	α_1 AG 定性用 (40 mg/dl) を用いたとき	40 mg/dl ↓	40 mg/dl ↑
	α_1 AG 定性用 (50 mg/dl) を用いたとき	50 mg/dl ↓	50 mg/dl ↑
Hp	Hp 定性用 (20 mg/dl) を用いたとき	20 mg/dl ↓	20 mg/dl ↑
	Hp 定性用 (50 mg/dl) を用いたとき	50 mg/dl ↓	50 mg/dl ↑
	Hp 定性用 (100 mg/dl) を用いたとき	100 mg/dl ↓	100 mg/dl ↑

凝集を認めたとき陽性と判定

↓以下 ↑以上

結 果

各種臨床検体 150 検体について α_1 AG, Hp, および CRP のラテックス凝集を検査した。

1) α_1 AG について

調整検体 5 μ l をテストスライド上に 3 箇所滴下し、それぞれ 30 mg/dl, 40 mg/dl および 50 mg/dl の前処理用抗血清を滴下した後、 α_1 AG 感作ラテックスを滴下したときの判定を図 1 に示した。

前処理用抗血清で Cut off した Level 以下では陰性、それ以上では陽性であったが、Cut off level に近いところで α_1 AG 濃度と Latex との不一致がみられるが、ほぼ満足出来るものであった。(図 2)

2) Hp について

調整検体 5 μ l をテストスライド上に 3 箇所滴下し、それぞれ 20 mg/dl, 50 mg/dl, および 100 mg/dl の前処理用抗血清を滴下した後、Hp 感作ラテックスを滴下したときの判定を図 3 に示した。

前処理用抗血清で Cut off した Level 以下では陰性、それ以上では陽性であったが、Cut off に近いところで Hp 濃度と Latex との不一致がみられた。(図 4)

α_1 AG に比して不一致の中が広く、その要因について更に検討をつづけてみたい。

3) CRP について

血漿中濃度が 1 mg/dl を超えるものでは Latex 凝集は陽性、1 mg/dl 以下では陰性を示し、満足できる成績が得られた。

Latex Estimation of α_1 Acid Glycoprotein
After Cutoff in Respective Levels

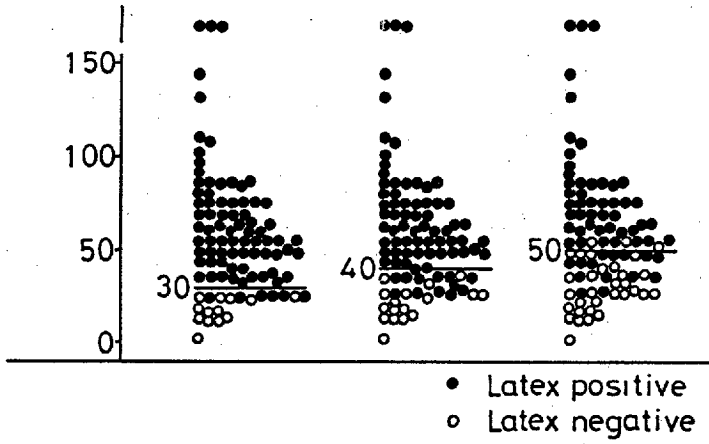


図1. α_1 AGの血漿中濃度と前処理用抗血清添加後のラテックス凝集の有無

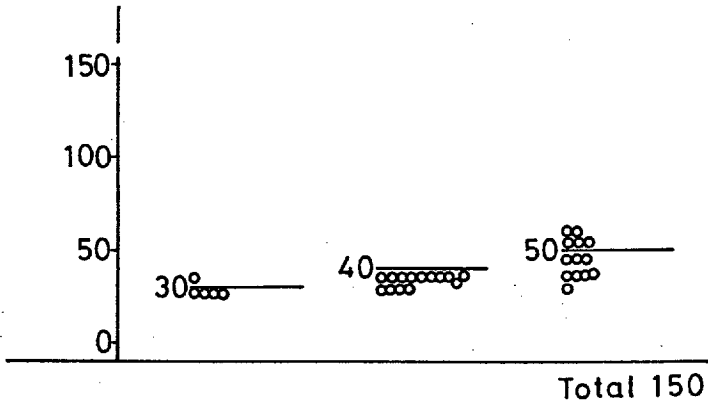


図2. α_1 AG濃度とLatex凝集の不一致

Latex Estimation of Haptoglobin After Cutoff in Respective Levels

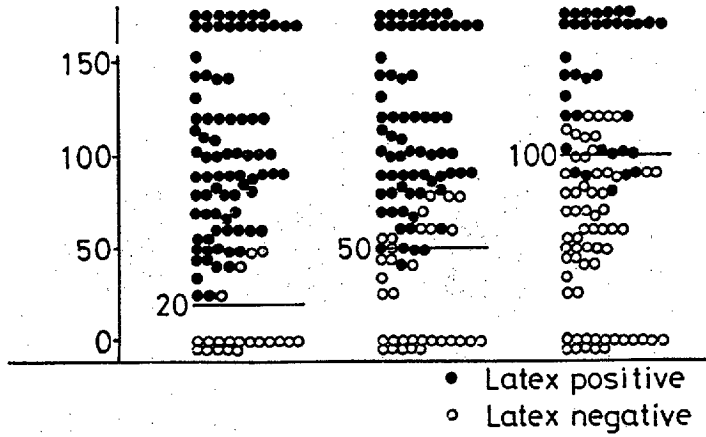


図3. Hpの血漿中濃度と前処理抗血清添加後のラテックス凝集の有無

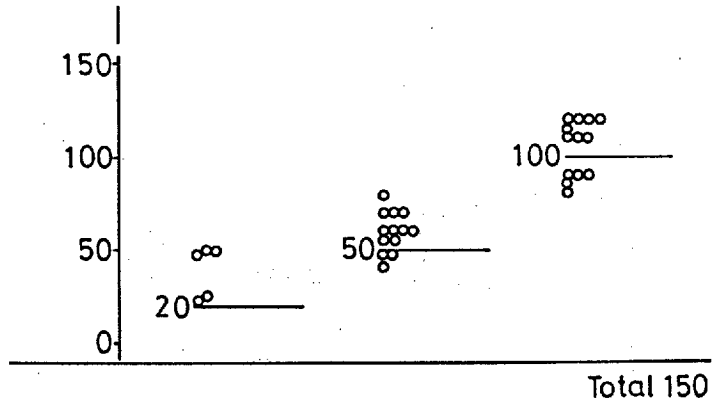
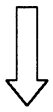


図4. Hp濃度とLatex凝集の不一致



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



研究目的

APR-Sc(Acute phase reactants score)の新生児感染症に対する信憑性は高く、臨床的にその有効性が確認されつつある。しかし、この APR-Sc についても次のような問題点があげられる。

- 1)血漿中の APR(Acute phase reactants)は、感染手術侵襲などに反応して有意の上昇を示すが、その上昇がみられるまでには一定の Response time が必要である。(CRP6～10時間、1 AG および Hp24 時間)
 - 2)極小・超未熟児の早発型敗血症では Response time は更におくれる傾向がある。
 - 3)生後 24 時間以内に発症する早発型敗血症では APR-Sc は False negative になることがある。
 - 4)APR-Sc の測定は Immunoplate を使用するので、成績判定が翌日になり緊急時の要求に応じられない。
- これらの問題のうち、4)の問題の解決のため Latex 凝集を利用した APR-Sc の迅速判定法を検討した。