

WST-8 法による G6PD 活性スクリーニングテストにおける、 濾紙スポット血液サンプルの反応性の検討

新井 明治¹ 小菅 和子¹ OKECH BERNARD² 松岡 裕之¹

自治医科大学 医学部 感染・免疫学講座 医動物学部門¹
Centre for Biotechnology, Research and Development,
Kenya Medical Research Institute, Nairobi, Kenya²

G6PD 活性のスクリーニング法として最近開発された WST-8 法は、フィールドで簡便に実施することができる優れた検査法であり、中等度の活性低下を示すヘテロ接合体をほぼ確実に検出することが可能である。同法を G6PD 異常症の疫学調査に用いる場合、より定量的な解析を行うためには多数検体をまとめて検査することが望ましいことから、今回我々は WST-8 法において全血のかわりに濾紙スポット血液を用いる場合の反応性について検討を行った。G6PD 活性正常者より採取した血液を 4 種類の濾紙 (Whatman 社製 31ET-CHR、3MM、P81 および、ADVANTEC 社製 No. 2) に多数スポットし、乾燥後パンチで切り取ったものをサンプルとして用いた。各々の濾紙スポットサンプルを反応溶液の入ったチューブに入れて混和し、経時的に反応溶液の一部をとって波長 450 nm における吸光度を測定した。初回の測定で用いた残りの血液スポット濾紙を 4 と室温に分けて保存し、保存期間による反応性の変化を調べた。さらに反応溶液にサポニンを添加する場合と添加しない場合における、各濾紙の反応性の比較を行った。新鮮な濾紙スポット血液サンプルを用いた実験での反応性は、31ET > AD = 3MM > P81 の順となった。新鮮サンプルでの反応性を基準として、その後の経時変化をみた場合、いずれの濾紙サンプルでも反応性の低下がみられたが、その程度は 31ET で最も小さく、次いで AD と 3MM が同程度で続き、P81 が最も低下の度合いが大きかった。保存条件の違いでは、4 で保存した場合には 2 週間程度までは反応性の大きな低下は認められなかったが、室温保存では数日の間に反応性が大きく低下した。サポニンの有無については、いずれの濾紙でもサポニンを含まない方が、サポニンを含む場合よりも反応性が高かった。本研究により、濾紙スポット血液をサンプルとして WST-8 法を実施する場合には、1) 用いる濾紙としては反応性と保存性に優れる Whatman 社製 31ET-CHR 濾紙が適している、2) 濾紙スポットサンプルは冷蔵保存し、2 週間以内に検査することが望ましい、3) 反応溶液にサポニンを加える必要はない、ということがわかった。

Reactivity of blood samples spotted onto filter papers in the WST-8 method for screening of G6PD deficiency

MEIJI ARAI

Division of Medical Zoology, Dept of Infection and Immunity, Jichi Medical School, Tochigi, Japan

