

マルホ皮膚科セミナー

2010年12月30日放送

第109回日本皮膚科学会総会⑬

教育講演25「ウイルス性発疹症の見極め方と対応」より

「ウイルス感染症診断に必要な検査とその読み方」

福岡大学 皮膚科准教授
今福 信一

はじめに

ウイルス感染症を診断する方法は大きく二つに分かれます。第一にウイルスそのもの、あるいはウイルスが細胞に感染したという証拠を検出する方法と、第二に血清学的にウイルス抗体価の上昇から感染を証明する方法です。

これらの検査の原則的な注意として、ウイルスが証明されてもそれが病変部以外や治癒した後も検出される場合は病変とは無関係な場合があります。また、血清抗体価も例えば水痘に感染した際には既存の単純ヘルペスウイルスの抗体価も一緒に上昇するなど必ずしも特異的ではない場合もあるので判断には注意を要します。

ウイルス感染の証明には、病原体と抗体価の両者が揃って証明されるのが望ましいのですが、種類によって証明しやすい検査とそうでないものがあります。

ウイルス感染による皮疹

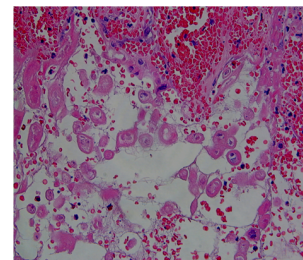
ウイルス感染によって生じる皮疹は三つに大別できます。

ウイルスによって生じる細胞の病的変化を細胞変性効果 cytopathic effect (CPE) と呼びますが、一つ目はこの CPE そのものが皮膚病変である群で、これには単純ヘルペスや水痘・带状疱疹、手足口病などが入ります。

2番目に麻疹や風疹などいわゆる初感

細胞変性効果 Cytopathic effect (CPE)

- ・ ウイルスが感染した細胞にみられる形態学的変化。膨化、円形化、融合、多核巨細胞形成、封入体形成など



染によって起きる病態とそれに対する免疫反応が中心でいわゆる発疹症の形態を取るもの、3番目にはウイルス感染が原因となり免疫複合体の出現などの免疫学的な異常を通して皮膚に病状をもたらすものになります。1群の場合はそこにウイルスがいるので、ウイルス分離または抗原検査、ウイルスDNA検査、病理組織学的検査などの直接的な証明方法が適しています。2群は初感染の病像が主体で、主に血清学的な診断が有効です。

ウイルス感染による皮膚症状

- 1. ウイルスのCPEが皮膚病変である場合**
ヘルペス、水痘、带状疱疹、尋常性疣贅、伝染性軟属腫
- 2. ウイルスに対する初感染免疫反応が皮膚病変である場合**
麻疹、風疹、伝染性紅斑、突発性発疹、伝染性単核球症、ジアンソティ病・症候群
- 3. ウイルス感染による免疫系の異常が皮膚病変の原因となる場合**
クリオグロブリン血症、扁平苔癬、結節性動脈炎HIVIにおける皮膚病変

ウイルス、CPEの検査

ウイルス、CPEをみる検査では、ウイルス培養が最も確実にウイルスを証明する方法です。しかし、結果が得られるまでに長時間かかり、保険適応もないことなどから、サーベイランスには重要ですが、臨床決断のための検査にはなりません。

ツァンク試験は水疱性の病変から塗抹標本を作ってギムザ染色で細胞診を行いCPEを見る方法です。ギムザ原液と蒸留水のみで可能で、ヘルペスウイルス感染以外に膿痂疹との鑑別や白血球も見ることが出来るので有用ですが、細胞診の診断能力が必要となります。

ウイルス抗原検査は前述した塗抹標本をギムザ染色せずにHSV、VZVなど主にヘルペスウイルスの蛋白をモノクローナル抗体で検出する方法で感度も特異度も高いものです。検査会社が専用の塗抹スライドグラス、綿棒、アセトンをキットにしたものを配布していて保険点数請求も可能です。

水疱底塗抹試験(ツァンク試験)

- 1. 水疱蓋をセーレで除去して、水疱底を綿棒・セーレで強めに擦過**
- 2. スライドグラスに塗抹・風乾**
- 3. メタノールまたはアセトンで固定(2,3分)**
- 4. 蒸留水3mlとギムザ原液数滴を混合、滴下**
- 5. 3から15分間染色**
- 6. 裏面から水道水で水洗して観察**
- 7. CBCと同様に染色可能(メイギムザ染色)**
- 8. 保険点数請求可能(微生物塗抹)**

水疱底塗抹試験



検体の取扱法

1. 検体の採取

水疱の場合
小水疱、膿疱、結核
針を挿入し、上部の液を採取し、綿棒で拭き取ります。

水疱でない場合
高乾部細胞の採取
ピンセットで、裏面から表皮を剥がします。

水疱底塗抹試験は、高乾部細胞を採取し、綿棒で拭き取ります。

水疱底塗抹試験は、高乾部細胞を採取し、綿棒で拭き取ります。

(注意)

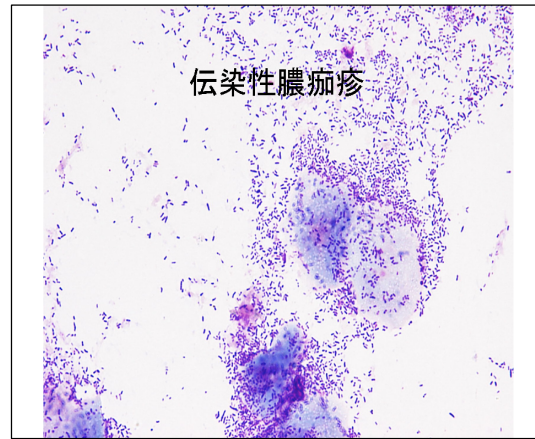
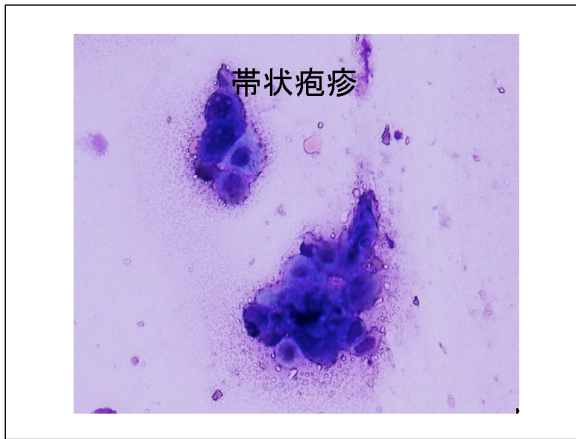
1. 早期の水疱病変が検体として最適です。
2. 水疱内液は検体として不適です。
3. ウイルス検出細胞は病変基底部にありますので、患者が痛いところから採取してください。高乾部の細胞を採取します。
4. 膿が出ている場合は、病変基底部をかき取らないように注意し、綿棒で膿をぬいてください。別の綿棒で検体を採取してください。

2. 検体の塗抹

スライドグラスの中心部に内側から円を描くようにすりすり、軽く叩くように塗抹してください。この際、綿棒に付着している検体全てが、塗抹されるように綿棒を少しずつ回しながら、中心部から外側へ塗抹してください。

風乾
検体中の水分が乾燥するまで、検体を乾燥させてください。

アセトン固定
検体を乾燥した後にアセトンで固定してください。乾燥させます。



その他の抗原・DNA検査

近年は微量の DNA を増幅できる PCR 法によりウイルスの DNA を検出することでウイルスの証明が出来るようになりました。残念ながら一般に保険適応がなく、また感度が高い方法であるだけに、検出できても本当に病原体かどうかを判断する必要があります。

病理組織検査は CPE を直接観察できる検査として特異性には乏しいのですが、やはり大変有用な検査です。

その他の抗原・DNA検査		
検査項目	材料	検査方法
EBウイルスDNA	血液・血清・髄液・患部ぬぐい液・組織	PCR
EBウイルスDNA (クロナリティ)	血液・組織	サザンブロット
EBウイルスDNA定量	血液	PCR(リアルタイムPCR)
サイトメガロウイルス DNA	血液・髄液・患部ぬぐい液・部分尿・組織	PCR
サイトメガロウイルス DNA定量	血液	PCR(リアルタイムPCR)
サイトメガロウイルス pp65抗原 (Ct+IFP)	血液	直接酵素抗体法
水痘・帯状ヘルペスウイルスDNA	患部ぬぐい液・血液・髄液	PCR
水痘・帯状ヘルペスウイルス抗原	塗抹標本	FA
単純ヘルペスウイルス DNA	血液・髄液・患部ぬぐい液・組織	PCR
単純ヘルペスウイルス DNA定量	血液	PCR(リアルタイムPCR)
単純ヘルペスウイルス特異抗原	塗抹標本	FA
ヒトパルボウイルス B19DNA	血清	PCR
ヒトヘルペスウイルス 6型DNA	血液・血清・髄液・患部ぬぐい液・組織	PCR
ヒトヘルペスウイルス 7型DNA	血液・血清・髄液・患部ぬぐい液・組織	PCR

血清学的検査

血清抗体価をみる検査には複数の測定方法があり、それぞれの原理を理解しておかないと解釈を間違ふことがあります。

グロブリンクラス別血清抗体価 (IgM, IgG) は初感染の診断に有用で感度、特異度も高い検査です。血清の抗体は感染後最初に IgM が産生され、続いて IgG 抗体が産生されてきます。感染初期に IgM 抗体が証明出来れば初感染と診断できます。また一度の血清検査で診断を確定できる容易さがあります。IgM 抗体が陰性の場合、IgG 抗体を測定してそれが陰性であれば未感染、陽性であれば以前に感染していたと考えられます。また IgG 抗体をペアで検査して有意な上昇があれば感染を証明することができます。検出方法には蛍光抗体法 (FA 法) と酵素抗体法 (EIA, ELISA 法) がありますが、EIA 法は倍数では表示されないのので、上昇の程度で判断するが明確な基準はないのが現状です。

補体結合反応 (CF 法) は、IgG, IgM の補体を結合する能力を利用するものです。抗体を含む患者血清に目的抗原と補体を入れると、抗原抗体複合物ができそれが補体を吸

着してしまうため、そこに補体により溶血を起こす感作赤血球を入れても溶血が起きなくなり、検体を希釈して溶血が起きるまでの濃度を計るのがCF法です。CF法は感染初期に一時期にしか陽性にならないので、現在の感染をより反映しますが、既感染かどうかは判断できません。また、リウマチ因子など血清中にもともと抗原抗体複合物が存在する患者の場合はそれが補体を消費するため正確な値が得られない場合があるので注意が必要です。

ヘムアグルチニン阻害法（HI法）は血球凝集素（ヘムアグルチニン）を持つ風疹、麻疹、インフルエンザなどウイルスに対して、その抗体が血球の凝集を阻害するのを利用した抗体価測定法です。感度が高く感染早期から上昇し、生涯続くので急性期ではペー血清で、また既感染の診断にも有用です。

中和抗体法（NT法）は培養細胞にウイルスを感染させ、その抗体が感染を阻止する濃度を測る方法です。感度が高くまた、多くの型があるウイルス（エンテロウイルス属など）の型別診断が可能という特徴があります。ただし、単純ヘルペスウイルスの1型と2型は交叉もあり完全には鑑別が難しい場合もあります。CF法より早く陽性になるので、感染初期でも上昇している場合があります。

血清学的検査				
種類	感度	特異度	時期	特徴
CF	低い	低い	やや遅れる	短期間で陰性化 スクリーニング用
HI	高い	高い	早期	HAを持つもののみ可。持続するので既感染の診断に有利
NT	高い	高い	早期	型特異性が高い
FA	高い	高い	IgMは早期	クラス別可能
EIA	高い	高い	IgMは早期	クラス別

CF, 補体結合反応 FA, 蛍光抗体法
 HI, 赤血球凝集抑制反応 EIA, 酵素抗体法
 NT, 中和反応

抗体価の結果には時間がかかる場合が多いですが、血液生化学および血液学的検査は迅速に結果が得られ、ウイルスを確定できる前に感染を類推できる手がかかりになることがあり重要です。

一般にウイルス感染は①発熱などの症状に比してCRPの上昇が少ない、②白血球の減少や血小板の減少など骨髄抑制がみられる、③異型リンパ球が出現しやすい、④AST、ALTなどの肝酵素上昇がみられやすい、などの点で細菌感染症と違いがあり、そのような手がかかりからウイルス感染症を考え、診断していきます。一般検査で特徴的な所見を出す感染症として伝染性単核球症ではWBC比で50%以上リンパ球増多を伴う白血球増多がみられ、10%以上の異型リンパ球が観察されることが多いものです。

以上、ウイルス感染症の検査について概論しました。