

周産期のヘルペスウイルス感染症予防対策

—ヘルペスウイルス感染迅速診断法の開発—

東大産婦人科 川 名 尚

全身性新生児ヘルペス症の報告例が増加しつつあるが、その感染経路としては、母体の産道に感染しているヘルペスウイルス (HSV) による垂直感染と院内感染による水平感染がある。筆者は、産科的な立場から前者について検討をしてきている。

諸々の状況から垂直感染によって発症した新生児ヘルペスについて、母体の分娩時の産道の状況を見ると、大部分がヘルペスウイルス感染を疑う症状はなかったとされている。しかし、ここには、二つの問題がある。一つは、性器ヘルペス症を診断するのに絶対に必要なウイルス学的検査が日常的に行えないため誤診していた可能性、もう一つは、子宮頸管の不顕性感染を見逃がしている可能性である。いづれにせよ、簡単に行える検査の開発が望まれる。従来組織培養法は、確実ではあるが、時間と手数がかかり極く特殊な機関でなければできないものであった。

今回、簡便で迅速にヘルペスウイルス感染を診断できるモノクローナル抗体を用いた蛍光抗体法のキットが開発されたのでその臨床応用の可能性を追求し、使用上の問題点を検討した。

研究 方 法

1. 蛍光標識抗ヘルペスウイルス・マウスモノクローナル抗体

米国シバ社開発の MicroTrak Herpes culture test キット及び MicroTrak Herpes direct キット。それぞれ抗ヘルペスウイルス1型と抗ヘルペスウイルス2型抗体より成る。

2. 検体の作成と検鏡

a) カルチャーテスト

Vero 細胞にて分離が陽性で CPE が 80~100% になった所でその細胞を無蛍光スライドグラスに塗抹し、乾燥後アセトン固定した。

b) ダイレクトテスト

患者の病変部から細い綿棒にて細胞を採取し、これを無蛍光スライドグラスに塗抹し、乾燥後、アセトン固定した。

(a), (b) の検体に蛍光標識抗 HSV-1 及び抗 HSV-2 抗体をかけ、37℃ 30分反応後、PBS(-)にて、2回洗滌しマウント後、オリンパス蛍光顕微鏡 (透過型 BHF) を用いて観察した。

3. ウイルス分離培養

患者の病変部から細い綿棒で擦過して検体を採取した。これを抗生物質の入った培養液にてすすぎ、遠心後、上清を培養 Vero 細胞に接種した。判定は、CPE の出現をもって行った。ウイルスの同定と型の決定は、マイクロプレートを用いた血清学的な方法によった。

結 果

1. カルチャーテスト (表1)

既に型の判明している HSV 37 株について、Vero 細胞にて増殖させ、感染 Vero 細胞にて作成した塗抹標本に抗 HSV-1 及び抗 HSV-2 抗体を反応させて検討した。表1に示すように HSV-1 13 株、HSV-2 24 株がこのキットによっても全く同じように同定された。判定は、容易で明瞭であった。

2. ダイレクトテスト (表2)

23 例の臨床例について、病変部より採取した塗抹標本を本キットにて検討した。同時に行ったウイルス分離成績と比較した。HSV-1 を分離した6例のうち2例、HSV-2 を分離した9例のうち7例が、本キットによっても HSV-1 又は HSV-2 感染が証明された。分離陰性の9例のうち8例は陰性であったが1例に非特異的な軽い反応がみられた。

新生児ヘルペスにて死亡した新生児の肝臓の病変部より塗抹標本を作って検討した所 HSV-1

抗原が検出され、本例がHSV-1の感染によることが証明された。

考 察

分離培養できたウイルスの同定の型と決定には、通常、数日間を要したが、本キットを用いることにより2時間以内に可能であった。判定も明らかで容易でありその有用性が認められた。

病変部より採取した塗抹標本を直接染色し、HSVを診断する方法は、74%の一致率であり一応評価できる。又、分離陽性例にも拘らず本法にて陰性となった症例が15例中6例40%もあったが、その理由を検討してみた。

第一に、病変部の感染ウイルス量に関係していると思われた。即ち、ウイルス分離を行って、翌日にCPEが認められるようなウイルス量の多い症例では、11例中8例、73%に陽性所見が得られたが、2日以後にCPEが出現した6例では、1例しか陽性所見が得られていない。このことは、ウイルス量が少ないことは、当然のこと乍ら、ウイルス感染細胞が少ないことを意味している。

次に、ウイルス量の多い症例でも陰性所見となった3例について、従来から抗HSV抗体を用いて検討した結果やはりHSV感染細胞がみられなかった。つまり、本キットに問題があるのではなく、HSV感染細胞が採取されていなかったと考えざるを得ない。

以上、本キットによる診断能力は、74%と理想的とは云えないが、簡易性、迅速性、特異性の高い点を考慮に入れると有用な診断薬と云える。ただ、検体の採取法に十分な配慮が必要であること。病変部が殆ど治っているような時期には陽性細胞の採取が困難であること。等を考慮に入れる必要がある。

新生児ヘルペス症によって死亡したと思われた1例に、肝病変の塗抹標本に陽性所見が得られ短時間のうちに診断できたことは、院内感染予防対策を早急にたてられるなど臨床的価値は高い。

<謝辞>

本キットを提供して頂いた、株式会社ダイシバ並びに、研究協力頂いた同社橋戸、円氏に深謝します。

表1 分離ウイルスの迅速同定と型決定

中和法	マイクロトラックカルチャーテスト	
	HSV-1	HSV-2
HSV-1	13	0
HSV-2	0	24

表2 塗抹標本中のHSV型特異抗原の検出

分離成績	マイクロトラックダイレクトテスト			
	HSV-1	HSV-2	陰性	判定困難
HSV-1	2	0	4	0
HSV-2	0	7	2	0
(-)	0	0	8	1



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



全身性新生児ヘルペス症の報告例が増加しつつあるが、その感染経路としては、母体の産道に感染しているヘルペスウイルス(HSV)による垂直感染と院内感染による水平感染がある。筆者は、産科的な立場から前者について検討をしてきている。諸々の状況から垂直感染によって発症した新生児ヘルペスについて、母体の分娩時の産道の状況を見ると、大部分がヘルペスウイルス感染を疑う症状はなかったとされている。しかし、ここには、二つの問題がある。一つは、性器ヘルペス症を診断するのに絶対に必要なウイルス学的検査が日常的に行えないため誤診していた可能性、もう一つは、子宮頸管の不顕性感染を見逃がしている可能性である。いづれにせよ、簡単に行える検査の開発が望まれる。従来の組織培養法は、確実ではあるが、時間と手数がかかり極く特殊な機関でなければできないものであった。今回、簡便で迅速にヘルペスウイルス感染を診断できるモノクローナル抗体を用いた蛍光抗体法のキットが開発されたのでその臨床応用の可能性を追求し、使用上の問題点を検討した。