

第 3 章 診断法・検査法

アデノウイルス結膜炎患者を的確かつ迅速に診断し対処することは、院内感染拡大を防ぐ重要な対策の一つである。感染症の診断は、一般に臨床診断と病原診断から確定診断へと導かれる。通常、多くの眼科医は臨床所見と迅速診断キットの結果から、アデノウイルス結膜炎の診断を行っている。流行性角結膜炎(EKC)の典型的な症状を呈し、迅速診断キットが陽性であれば、診断は容易である。問題は、典型的なアデノウイルス結膜炎症状を示さず、迅速診断キットが陰性を示した患者、あるいは眼科医が症状のみでアデノウイルス結膜炎を否定し、迅速診断キットによる病原診断を施行しなかった患者の中にも、アデノウイルス結膜炎患者が存在している可能性があり、感染源となりうる。しかし、熟練した医師でも臨床所見のみで確定診断が困難な症例が存在し、そのような症例の多くは迅速診断キットが陰性となる。眼科手術後の患者は、もともと充血症状を呈していることが多く、診断が一層困難となる。眼科医は、アデノウイルス結膜炎の病態や特徴的な所見を理解したうえで注意深

く臨床診断し、実施可能な検査法で病原診断を行いアデノウイルスの証明を試み、確定診断に近づけるよう努力すべきである。本章では、前半の「診断法」では臨床診断について、後半の「検査法」では病原診断について述べる。

I 診断法(図 1)

1. 疫学情報

常にアデノウイルス結膜炎流行の有無を把握しておくことは、感染対策の一助となる。流行性角結膜炎と咽頭結膜熱は、感染症法の 5 類感染症の定点調査疾患に分類され、各都道府県の医療定点からの発症状況が集約される。全国情報は、国立感染症研究所感染症情報センターのホームページ(<http://idsc.nih.go.jp/index-j.html>)から、地域情報は、各都道府県衛生研究所が発症状況を統括している。アデノウイルス結膜炎の発症状況はオンライン上で容易に入手可能であり、施設レベルで疫学情報を入手掲示しておくのもよい。

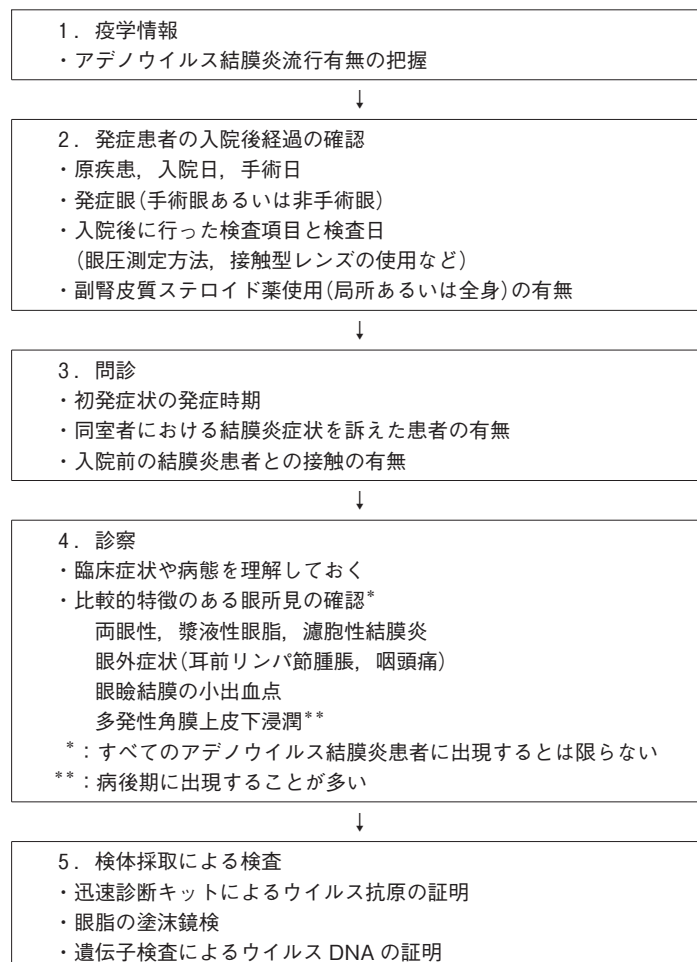


図 1 アデノウイルス結膜炎診断の流れ。

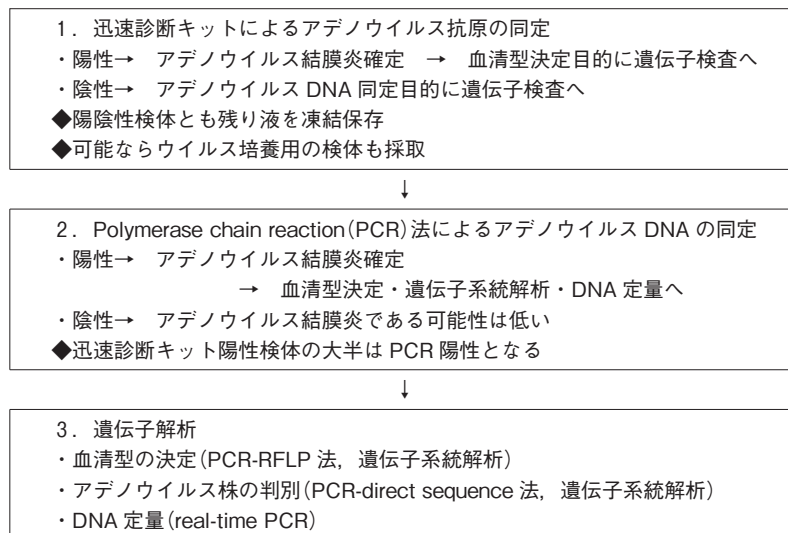


図 2 アデノウイルス結膜炎病原検査の流れ。

2. 発症患者の経過・背景

入院患者にアデノウイルス結膜炎が発症した際、患者の原疾患、入院日などを含めた入院後の経過を再確認し、アデノウイルスが感染しやすい状況にあったかを検討する。我々の調査では、術後患者、特に術眼の発症頻度が高く、術前後の頻回の診察、手術侵襲、術後の副腎皮質ステロイド薬点眼が結膜炎発症の誘因と考えられた⁶⁾。また、眼に器具などが接触する侵襲のある検査(眼圧測定、接触型レンズ使用)も、医療従事者の手指を介するため、発症誘因の可能性が高い。アデノウイルスの潜伏期間(1~2週間)から逆算し、感染時期や感染源を推測してみる。

3. 問診

患者が、アデノウイルス結膜炎に感染しやすい状況にあったかを詳細に問診する。初発症状の発症時期、同室者や交流のあった患者の発症の有無、入院前の結膜炎患者との接触などを聴取する。アデノウイルス結膜炎は著明な充血や眼脂が発症する前に、流涙、羞明、異物感などが出現する場合がある。発症者が出た場合、患者ごとに詳しく問診し、早期発見に努める。

4. 診察

前章(臨床像)や前ガイドライン⁷⁾に示されているアデノウイルス結膜炎の臨床症状を十分に理解したうえで、詳細かつ丁寧に診察を行う。特にアデノウイルス結膜炎に比較的特徴のある所見が確認できれば、可能性が高い。特に、眼瞼結膜の小出血点は、比較的特徴のある所見である。上眼瞼は運動性があるので出血点が多いため、反転して診察する。鑑別疾患として、細菌、クラミジア、単純ヘルペスウイルス、アレルギーなどによる結膜炎の臨床所見も把握しておく。

II 検査法(図2)

1. 院内感染時の病原体解析の意義

結膜炎症状が認められ、検体からアデノウイルスが同定できれば確定といってよい。病原体検査は、迅速診断キットでのアデノウイルス抗原の同定が基本であるが、必ずしも陽性とはならず、血清型も決定できない。したがって、キットの残り液を遺伝子検査法でアデノウイルス DNA の同定と血清型の決定を行う。院内感染発症時は、血清型を含むアデノウイルスの正確な特定は必須であり、仮に怠れば、未特定の不十分な院内感染対策となり、医療機関の質を問われかねない。

2. 検体採取法

点眼麻酔をしたうえで、眼瞼結膜を滅菌綿棒で十分に擦過し採取する。十分に検体を採ることが陽性率の向上につながるの、綿棒に少々血がにじむくらい強く擦過する。結膜上皮細胞の核内で増殖しているアデノウイルスの同定が目的であり、涙液や眼脂のみの採取は意味がない。点眼麻酔は、抗ウイルス作用があるので避けた方がよいという意見もあるが、十分な擦過ができないため、点眼麻酔は行った方がよいが、点眼時は睫毛に触れるなどの点眼瓶汚染に注意する。点眼麻酔をしても、擦過時は患者に痛みを伴うことが多い。事前に痛みを伴うことを十分に説明したうえで擦過する。

3. 検体保存法

アデノウイルスに限らずウイルス検体は、凍結保存が原則である。迅速診断キットの残り液は、後日、遺伝子検査が可能のため、綿棒を入れたままチューブをビニール袋などに入れ、凍結保存する。-80℃以下での凍結保存が理想であるが、不可能な場合は通常の冷凍庫(-10℃前後)でもよい。室温放置はウイルスが失活するので、とにかく検体は凍結させることをスタッフにも周知

させておく。検体を移動させる場合は、氷中に入れて行う。ウイルス分離培養用の採取検体も同様に凍結保存する。

4. 各種検査法

a. アデノウイルス迅速診断キット⁸⁾⁹⁾

イムノクロマトグラフィー法によるアデノウイルス迅速診断キットは、ベッドサイドで迅速かつ簡便にアデノウイルス抗原の同定が可能な唯一の検査法であり、いまやアデノウイルス結膜炎診断に欠かせない必須の検査である。迅速診断キットによるアデノウイルス同定を行わずに、患者の診断が遅れば、院内感染時には致命的であり、キットは常備しておく必要がある。現在、数種類のキットが市販されているが、キャピリアアデノアイ[®]とアデノチェック[®]が主に使用されている。感度は、ほぼ同等だが、血清型によって若干感度に差があるといわれている。原理と詳細は別紙に譲る。検体を滴下し、ラインが 2 本出れば陽性、1 本であれば陰性である。特異性が 100% であるため陽性であればアデノウイルス感染確定だが、感度が 70% 程度のため、陰性であってもアデノウイルス感染を否定できない。検体量の少ないことが感度低下の一因であるため、点眼麻酔を行い、上記の検体採取法に従い十分に擦過・採取を行う。残り液からアデノウイルス DNA の同定などの遺伝子解析が可能であるため、陽性と陰性両方の検体とも必ず凍結保存する。

b. 塗沫鏡検

眼脂の塗沫標本をギムザ染色し、単核球が優位であれば、ウイルス感染が疑われる。つまり、アデノウイルス結膜炎症状を呈したものの、イムノクロマトグラフィー法が陰性であった場合に行うのがよい(日本眼科学会雑誌掲載の前ガイドライン⁷⁾参照)。比較的簡便かつ迅速に結果が得られるが、アデノウイルスの病原体を証明したわけではなく、単純ヘルペスウイルスやエンテロウイルスなど、他のウイルス感染でも単核球優位となる。また、単核球優位という結果に当てはまらないこともあり、あくまで補助診断として考えるべきである。

c. 遺伝子検査

近年、急速に普及した検査法であり、迅速診断キットの残り液から比較的迅速かつ高感度にアデノウイルス DNA の同定や定量が可能である。迅速に行えば、当日遅くても翌日には結果が得られる。アデノウイルス結膜炎が疑われたが、迅速診断キットが陰性を示した場合、遺伝子検査でウイルス DNA の同定を試みる。また、

キット陽性検体は、DNA 量が多く遺伝子検査でも陽性になる確率が非常に高いため、血清型の決定に用いる。陽性検体は、塩基配列の決定、遺伝子系統解析、DNA 定量も可能である。迅速診断キットと比較し感度が高く、型判別も可能のため、病原体の正確な特定という点からも、院内感染発症時には必須の検査法である。実際には、nested-PCR 法¹⁰⁾、PCR-RFLP 法¹⁰⁾、遺伝子系統解析¹¹⁾¹²⁾、real-time PCR 法などがある。現実問題として、臨床現場でこれらすべての検出系を確立するのは困難である。しかし、アデノウイルス DNA 同定の実験系を 1 つでも確立しておけば、迅速診断キット陰性患者の検体の再検が可能となり、アデノウイルス患者の早期発見や対処という感染対策に有用である。自分の施設での施行が困難な場合は、検査施設に外注する(外注に関しては、「検体の依頼」の項を参照)。

d. ウイルス分離

ウイルス分離は、同定まで時間を要し、設備も必要であるため、院内感染対策の迅速検査法として実際的ではなく、臨床の場に還元できない。しかし、分離培養法はウイルス検査の基本であり、生きたウイルスを分離できるため、病原体の確実な証明となる。また、これまで分離ウイルスから、さまざまな知見が得られている。迅速診断キット残り液からは分離は難しいので、培養用に再度もう 1 検体採取する。ウイルス増殖用培地に採取綿棒を浸すのがよいが、通常の施設にはないので、滅菌蒸留水でもよい。

5. 検体の依頼

遺伝子検査やウイルス分離などが自分の施設での施行が困難な場合は、検査施設に外注して結果を得ることが可能である。三菱化学メディエンス社などがアデノウイルス DNA 同定・定量、遺伝子系統解析の検査受託を行っている。

6. 結果の解釈

イムノクロマトグラフィー法が陽性であればアデノウイルス感染と判断してよい。ウイルス分離同定ができれば、ウイルスの存在は確実である。遺伝子検査は、いわゆる DNA の一部の存在を同定しただけであり、生きたウイルスを証明しているわけではない。結膜炎が軽快した後でも DNA は存在すると予測され、臨床症状を加味しながら慎重に解釈する必要がある。Real-time PCR で、相当量の DNA 量が証明できれば、アデノウイルス感染の可能性が高い。