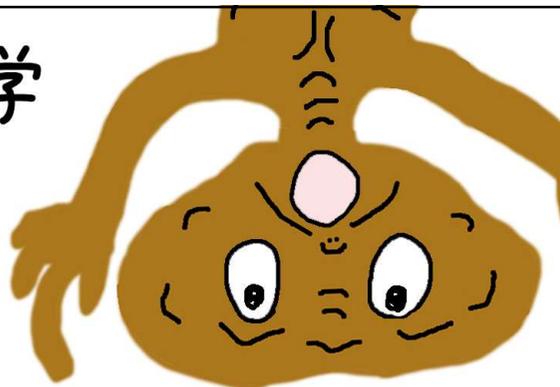


微生物学

5回目



感染症の検査について

病原体を検出

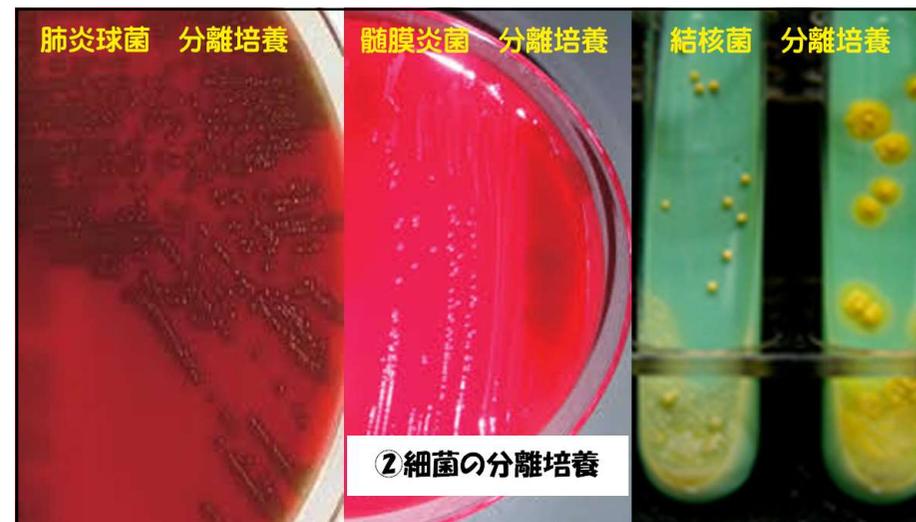
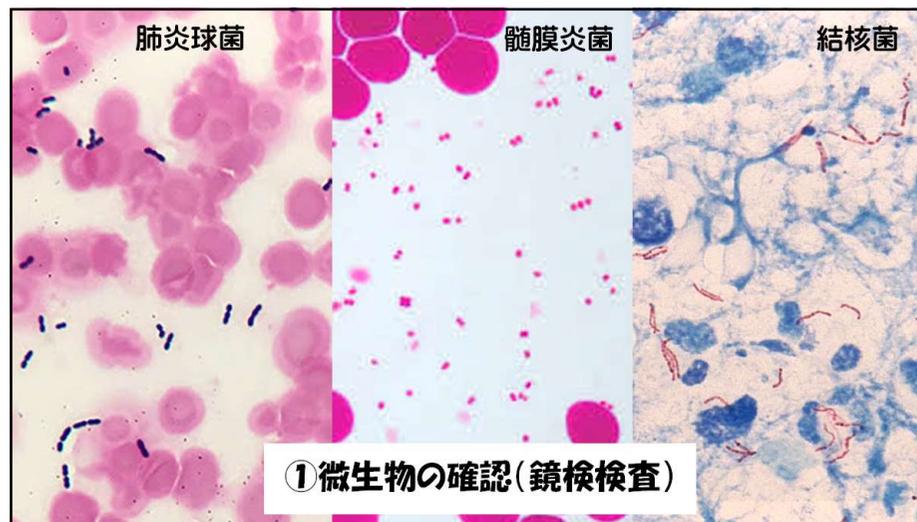
- ①微生物の確認 …… 標本を作り顕微鏡で確認
- ②微生物の分離培養 …… 細菌や原虫が対象

間接的に存在を知る

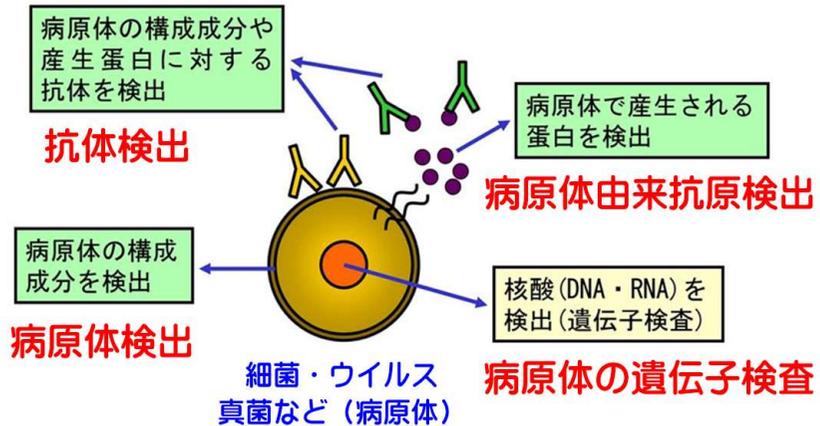
- ③病原体の遺伝子を確認 …… PCR検査
- ④病原体の抗原を確認 …… 免疫学検査
- ⑤患者の抗体等を確認 …… 免疫学検査

身体に現れる特徴的な症状で知る

- ⑥内皮反応 …… ツベルクリン反応ほか
- ⑦その他 …… 生理的検査ほか



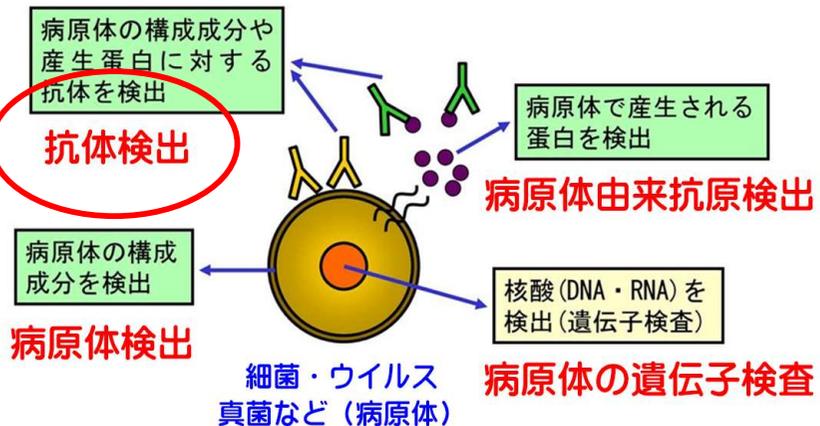
③間接的に病原体の存在を知る



免疫学的検査は大きく3種類がある

	PCR検査	抗原検査	抗体検査
目的	今感染しているかどうかを判定	今感染しているかどうかを判定	過去に感染したか
検体	鼻や喉の粘液唾液	鼻や喉の粘液唾液	血液
時間	4~8時間	15分程度	15分程度
手順	専門スタッフ必要	簡易キット使用	簡易キット使用
精度(感度)	高い(70~80%)	PCRの80%程度	84%~95%程度
調べるもの	ウイルスの遺伝子を 増幅して調べる	ウイルスに特徴的な タンパク質	免疫反応で作られる タンパク質
特徴	陽性の場合、病原体の 核酸があったと証明される。 時間はかかるけど確実に 高感度な判定が可能。	陽性の場合、病原体由来の特 有物質(抗原)があったと証明 される。操作は短時間でPCR の次に高感度な判定が可能。	陽性の場合、病原体が過去に 感染していたと証明される。 検体は血液でできる。感染初期 では陽性にならない欠点あり。

③間接的に病原体の存在を知る



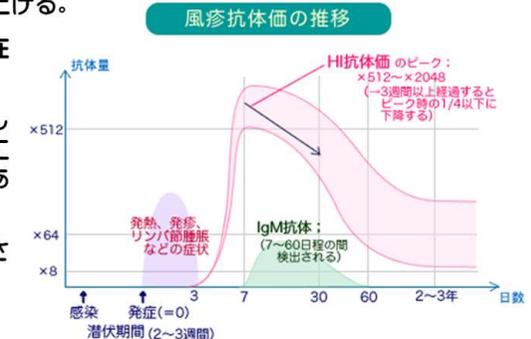
患者が感染した抗体を確認する方法

細菌・ウイルスなどの病原体に対する抗体の量を調べる検査。
患者の血清から、さまざまな感染症の抗体価を調べることができる。
B型肝炎や風疹などのワクチン接種後、抗体価が低いと感染リスクが高まるため、
再度予防接種によって抗体価を上げる。

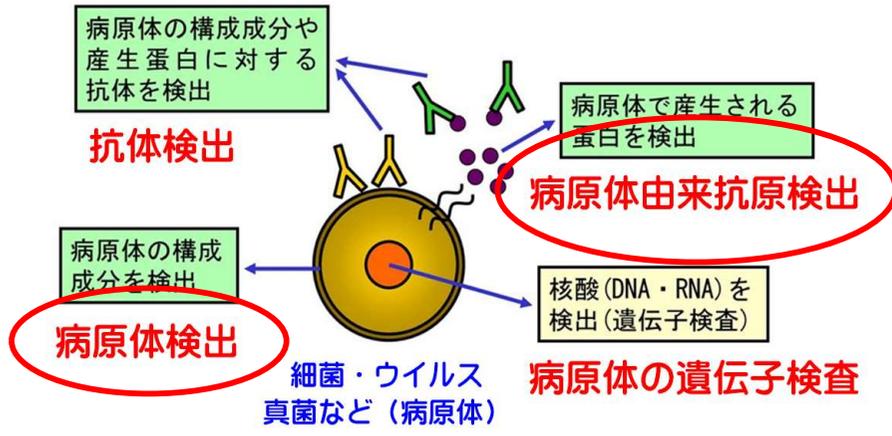
また、過去の感染の有無、現在の
免疫の程度などもわかる。

しかし、抗体検査が陰性だとし
ても潜伏期間中だったり、過去に
罹患していても抗体価の低下があ
ると陽性にならない。

IgMがIgGよりも早期に検出さ
れやすい。

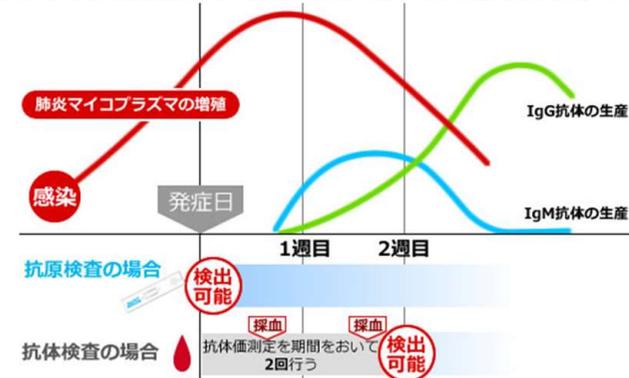


③間接的に病原体の存在を知る



病原体由来の抗原を確認

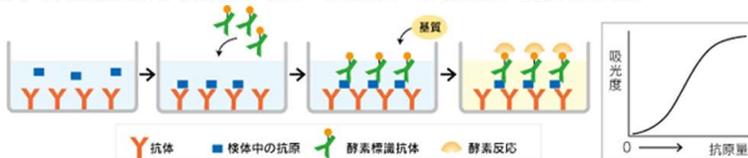
病原体が持つ特有の物質(抗原)を免疫学的に証明することで感染症の診断に役立つ検査手法。感染初期の増殖期や慢性期での活動状態が把握できる。



抗原の検出法

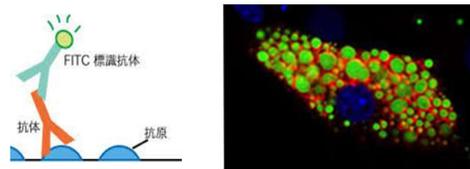
酵素免疫法 (EIA)

抗原と酵素を標識した特異抗体を反応させ、酵素の発色反応により検出する。反応の方法により高感度 (ng~pg/ml) の検出が可能である。

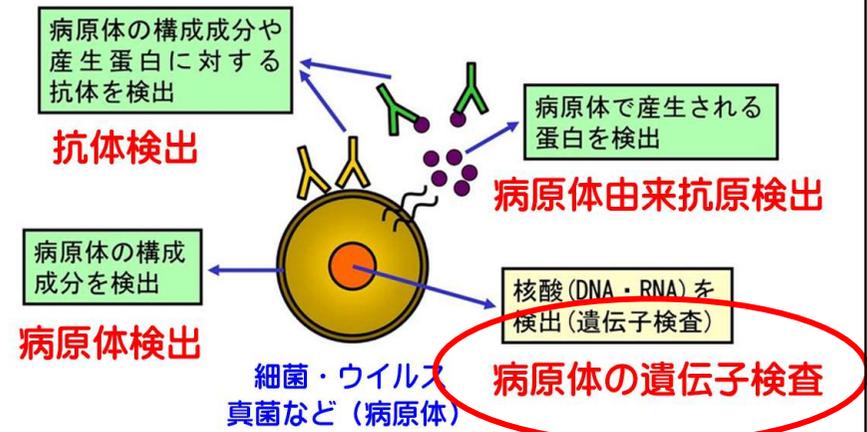


蛍光抗体法 (FA)

抗原と蛍光色素を標識した特異抗体を反応させ、蛍光発色反応により検出する。低感度だが特異性が高い。(μg~ng/ml)



③間接的に病原体の存在を知る



病原体の遺伝子を確認

遺伝子増幅法

(PCR polymerase chain reaction)

1983年、キャリー・マリスがガールフレンドと夜道をドライブ中、オリゴヌクレオチドとDNAポリメラーゼを用いたDNA合成反応を繰り返すことで核酸の一定領域の増幅を思いつく。

多くの科学雑誌に投稿したが掲載されず、シータス社の同僚の手により鎌状赤血球症の迅速な診断手段としてサイエンス誌に掲載され、オリジナル論文より前に世界の科学者の注目を集めることとなった。

1993年ノーベル賞受賞



PCRの長所

- ・ 培養操作が不要（分離培養困難な病原体でも検査ができる）
結核菌・レジオネラ菌の培養は1ヵ月かかる
ウイルスは一般施設では分離不可能
培養困難な微生物が検査できる
- ・ 単純操作で短時間で結果が出る（迅速に診断ができる）
プロセスが単純で、熟練は必要ない
増幅時間は約2時間
検査開始から数時間で結果が出る
- ・ 同時に多くの検体が検査可能
1台1回の操作で96検体を分析する
複数台数で実施すると数百検体の処理が可能
- ・ 遺伝的特徴の分析も可能（同定のほかに遺伝子解析可能）
同種病原体の遺伝的鑑別が可能
分子生物学の発展・進化に期待

PCRの短所

- ・ 病原体が不活化してても陽性になる
菌やウイルスが死滅していても遺伝子が存在すると反応が進む
- ・ 病原性の機能がなくても陽性になる
病原性のない同種の微生物がいれば陽性になる
- ・ 感度が高すぎる
器具汚染があると陽性コンタミネーション要注意
- ・ 増幅阻害因子が多い
プライマー選別不良
誤った手技など
陰性であっても病原体の存在は否定できない



その他の目的の免疫検査

献血の血液に対する、免疫学的検査

病院実習等における、感染症予防のための免疫学的検査

結核に対する免疫の有無を調べるツベルクリン反応検査

献血手帳の免疫検査結果			
氏名	様		
カルテNo.			
検査項目名	判定	測定値	単位
梅毒定性：RPR法	(-)		
梅毒定性：TP抗体法	(-)		
トキソ抗体：PHA	(-)	80未満	倍
HBs抗原：凝集法	(-)	8未満	倍
HCV抗体II CLIA	(-)	0.08	S/CO
風疹：HI	(+)	64	倍
不規則性抗体	(-)		

血液型検査証明書			
医療機関名	外表		
氏名	様		
カルテNo.	様		
ABO式	(O)	Rho(D)因子	(+)
受付日	年 02 月 28 日		
報告日	年 03 月 03 日		

病院実習前の看護学生さんの抗体検査結果	
項目名	結果
#ムンプス-IgG抗体	
# IgG 判定	(+)
# EIA価	63.4
#麻疹-IgG抗体	
# IgG 判定	(+)
# EIA価	19.0
#風疹-IgG抗体	
# IgG 判定	(+)
# EIA価	46.6
#VZV-IgG抗体	
# IgG 判定	(+)
# EIA価	53.0
項目名	結果
#結核菌IFN- γ /TSP	(-)

細胞性免疫検査(遅延型アレルギー検査)

結核に対する免疫の有無を調べる検査法。抗原のツベルクリンは結核菌体から得た精製タンパク質で、一定量を皮内注射し、その部位の発赤が48時間後に直径10mm以上を呈した場合は陽性とする。



発赤の長径	皮膚所見	判定	
9mm以下		陰性	菌への抵抗力が弱い。感染後6~8週や重症結核の場合に示すことあり。陰転化した場合、免疫系疾患(エイズなど)の疑いあり。
10mm以上	硬結なし	弱陽性(正常)	感染に対する抵抗力あり。非定型抗酸菌(結核菌以外)でも示す。
	硬結あり	中等度陽性	BCG陽性、感染の可能性あり。
	硬結、二重発赤、水疱、壊死	強陽性	結核菌に感染している疑いが強い。

今日の授業のまとめ

1. 感染症は、免疫学的な検査が診断の役に立つ。
2. 免疫学的検査には、抗原の検出と抗体の検出法がある。
3. 病原体の検出法には、PCR検査もある。

お詫び

微生物学は、最初から遠隔授業となり、どうやら最後まで遠隔授業になってしまいそうです。

質問やその他聞きたい事柄がありましたら、メールにて受け付けますので利用してください。

長い説明になりそうなヘビーな質問も下記アドレスにメールをしてください。よろしくお願い致します。

akio@makasete294.com

専門学校高崎福祉医療カレッジ 非常勤講師 森岡昭雄