IV

실험실 진단

1. 실험실 진단의 목적
2. 검체채취 및 의뢰방법
3. 검사방법

Ⅳ 실험실 진단

1 실험실 진단의 목적

○유행중인 수두 바이러스를 분리하여 유행양상을 파악하고, 새로운 형의 바이러스 출현을 감시

○진단은 대부분 임상 증상으로 판정할 수 있으므로 실험실 확진은 필수 사항은 아니며 연구목적이나 증상이 비전형적일 때 필요에 따라서 시행할 수 있음

2 검체채취 및 의뢰방법

가. 검체의 종류

○수두의 실험실 확인 진단을 위해 피부 병변 조직이 검체로 사용

○세 가지 형태의 피부 병변 부위

- 가피가 생긴 병변
- 붉게 융기된 반점구진성 병변
- 수포같은 혹은 액체가 가득 찬 소낭 병변

○혈청은 수두 항체가 검사시 사용(혈액은 최소한 1 mL이상이 필요하며 혈액 채취 후 혈청을 분리하여 진단에 사용)

나. 검체 채취방법

○가피가 생긴 병변

- 딱지 부위를 조심스럽게 들어올린 후 검체용 튜브나 무균용기에 보관(딱지가 한 개 이상인 경우 각각 다른 용기 보관)

○반점구진성 병변

- 충분한 양의 피부 세포 혹은 소낭 병변의 수포액이 진단에 가장 효과적인 검체

그림16. 검체채취방법

○검체 채취시 유의사항

- 상품화된 바이러스 수송배지(VTM) kit 안에 동봉된 면봉을 이용, 환자 피부 병변을 도찰한다.
- 수송배지가 담긴 병에 도말한 봉을 담그고 병마개 부위에서 봉을 부러뜨린 후 뚜껑을 꼭 잠그도록 한다.
- 부러뜨릴 때 안쪽에 손이 닿아 오염되지 않게 주의한다.
- 검체가 담긴 병은 즉시 4℃ 냉장고에 보관한다.

○바이러스 핵산 검출 및 바이러스 분리

- 검체 채취 종류 및 시기
  - 수포액: 수포성 병변이 있을 때
  - 그 외에도 비인두도찰물 (nasopharyngeal secretions), 침, 혈액, 소변, 기관

지 세척액, 뇌척수액, 말초혈단핵세포(PBMCs), 관절액, 심장, 간, 췌장, 장관, 뇌, 눈 등에서도 바이러스 검출이 가능함

○혈청학적 검사

- 검체 채취 시기
  - 1차 혈청 (급성기 혈청) : 발진 발생 후 2~6일 경과 후 채혈하며, 적어도 발진 발생 3주 이내 채혈
  - 2차 혈청 (회복기 혈청) : 발진 발생 후 2~6일 이내 채취한 혈청검사 결과, IgM(-)인 경우 채혈하며, 1차 채혈일로부터 2주~3주 이내에 채혈

※2차 채혈을 할 경우에는 반드시 1차 혈청도 확보하여 같이 비교검사 해야 함

검체		발진발생당일	1일	2일	3일	4일	5일	6일	7일	↔	14일	↔	21일
수포액		O	O	O	O	O	O						
		◎ 가피 형성 이전에 수포액 채취											
혈청	1차			O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
	2차	◎ 1차 채혈일로부터 14-21일 이내에 채혈									◎ 2차 채혈은 하지 않아도 됨		

그림 17. 발진발생일 이후의 검체별 채취가능 시기

다. 검체의 수송 및 의뢰 방법

○검체의뢰

- 국립보건연구원에 검체를 의뢰하고자 하는 경우, 유전자 검사나 세균배양검사 등을 위해 피부병변검체를 의뢰(혈청학적 검사가 필요한 경우 민간검사센터 이용)

○검체 수송

- 검체 수송시에는 아이스박스에 얼음 또는 냉매를 넣어 4℃ 정도로 내부가 유지하여 운송

- 장기 보관시 -70℃에서 보관가능하며, 1주일 이내에 검사가 가능할 때에는 -20℃ 보관 가능

※주의: 얼음이나 냉매가 검체에 바로 닿아 얼지 않도록 주의하여야 하며, 해동과 동결을 반복하지 않도록 한다.

- 국립보건연구원 간염·폴리오바이러스팀에 유선보고 후 냉장상태를 유지하여 24시간 이내에 검체 송부(수신자 택배부담)

○검체포장

- 수송시에는 검체를 플라스틱 백에 넣어 밀봉
- 냉장상태가 유지되도록 냉매를 위에 올려놓고 절연체 소재 박스를 사용
- 반드시 검체의뢰서를 별도 작성하여 동봉
- 검체 용기에 환자의 성별, 연령, 채취일 등을 정확히 기재

3 검사방법

가. 바이러스 분리 검사

○바이러스의 감염력을 확인할 수 있는 방법

○확인검사 시일이 오래 걸림

- 감염성 수두바이러스는 2~3일 동안 수두 부위 수포액에서 분리가능
- 대상포진 부위 수포액에서는 7일 이상 동안 세포배양에서 분리 가능
- 말초혈단핵세포(PBMCs), 관절액, 뇌척수액, 기관지 세척액, 심장, 간, 췌장, 장관, 뇌, 눈 등에서도 바이러스가 검출
- 면역결핍환자의 경우 혈액이나 뇌척수액에서 세포배양이 가능

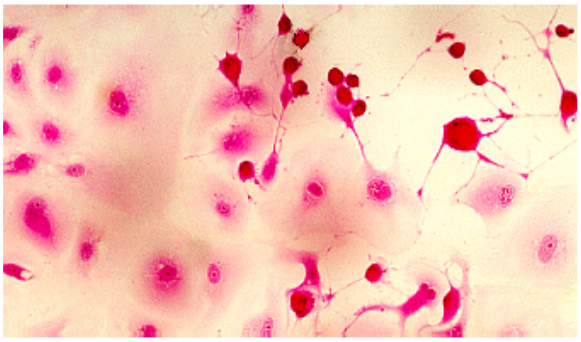

그림 18. 수두 바이러스에 의한 세포병변 효과

나. 유전자 검사 (PCR)

○바이러스에 특이한 primer를 사용한 검색

○세포배양 검사보다 민감도가 높고 신속한 진단이 가능

○현재 PCR 방법이 널리 사용

○딱지와 피부 조직의 검체 진단이 적당, 뇌척수액에서도 PCR 방법으로 검사 용이

- DNA 추출
- Nested PCR을 이용한 유전자 증폭

다. 직접형광항체법 (Direct fluorescent - antibody strain 1, DFA)

○검체

- 수포(액) 혹은 수포 부위에서 긁어낸 피부 세포
- 비인두도찰물, 침, 혈액, 소변, 기관지 세척액, 뇌척수액 등도 가능

○몇 시간내에 결과분석이 가능하며 인체 헤르페스바이러스(HSV), 수두대상포진바이러스(VZV), 수두바이러스(poxvirus)의 구별 가능

- 민감도와 특이성이 높아 널리 사용
- 바이러스가 세포배양에서 증식이 중단되더라도 바이러스 단백은 존재하므로 세포배양에서 음성이더라도 직접형광항체법에서는 양성결과가 나올 수 있음

라. 혈청학적 검사

○ 혈청에서 수두대상포진바이러스에 대한 IgM 항체를 검출하거나, 급성기와 회복기 혈청에서 IgG 항체가 4배 이상 증가시 진단이 가능