

33. 塗抹鏡検

江口 洋

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部
視覚病態学分野

感染症診療での検体の塗抹鏡検は最も古典的な検査だが、新たな診断技術が台頭してもその迅速性ではまだに群を抜いており、特異度も高い。日常診療ではとかく敬遠され、検体をすぐに分離培養しがちだが、培養では起炎微生物が検出されるとは限らない。感染症では塗抹鏡検像に基づいた必要最小限の薬剤使用が理想である。

●塗抹・鏡検の意義

感染症診療での塗抹鏡検の意義は、初期治療の方針決定、および治療方針の変更に際しての判断材料にある。

1. 初期治療方針の決定

眼感染症での初期治療は、その症例の視力予後に少なからず影響する。特異的な病歴と典型的な臨床所見があれば、治療方針の決定に迷わないが、実際は判断に迷う症例が少なくない。細菌の分離培養には24~48時間必要であり、菌の同定まで数日かかることが多い。真菌やアメーバはさらに時間を要することがある。嫌気性菌や淋菌では、培養そのものが容易ではない。つまり、多くの症例で分離培養の結果を待たずして初期治療方針を決定しなければならない。その判断材料として、最も迅速に得られ、かつ有用なものが塗抹鏡検像といえる。

もし塗抹鏡検で得られた情報と、後に分離培養で得られた情報に食い違いがある場合、検体の性状や症例の治療経過にもよるが、原則として前者を重視して治療方針を検討すべきである。塗抹鏡検で有用な情報が得られないときは、病歴と臨床像で方針を決め、後に分離培養の

結果を考慮して治療方針の再検討をすることになる。

2. 治療方針の変更

治療経過が長期にわたる場合、途中で治療方針の変更を検討せざるを得ないことがあるが、その際も塗抹鏡検の情報は有用である。もし標的微生物が誤っていた場合、経過途中で塗抹鏡検すれば、それを捉えられる可能性がある。菌交代現象を臨床像から判断することは困難だが、鏡検では判断できることがある。

●塗抹鏡検のコツと落とし穴

1. 塗抹方法

スライドガラスに検体を塗布し、しばらく風乾する。厚みのある検体は、脱水・脱色不良となり染色性のばらつきの原因になるので、滅菌済みのスパーテルかメスで薄く引き延ばす。風乾後エタノールで脱水固定し、各種染色方法に従う。

2. 染色方法

通常は、ディフ・クイック®染色とグラム染色(ファイバーG®セット)を施行するのがよい。ディフ・クイック®染色はわずか20秒弱でギムザ染色相当の像が得ら



図1 好酸球のディフ・クイック®染色像
エオジン染色同様、好酸性顆粒が赤色に染色される。

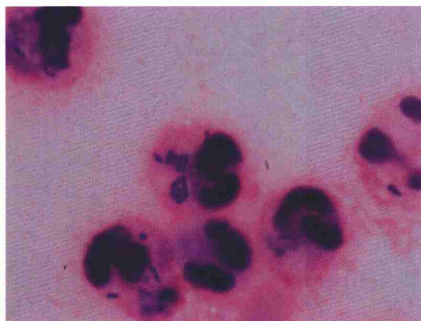


図2 フルオロキノロン耐性 *Corynebacterium* 結膜炎患者の眼脂染色
グラム染色で、多核白血球への菌体の取り込み像がある。

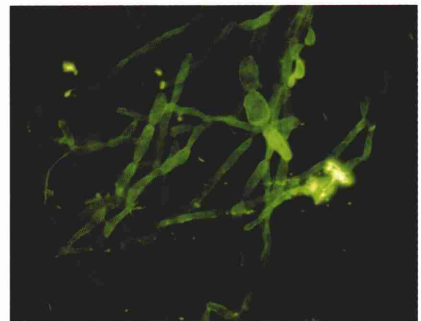


図3 コンタクトレンズケース内保存液のファンギフローラY®染色像
Alternaria がアップルグリーンに染色されている。

表 1 おもな細菌・真菌の光学顕微鏡レベルでの形態とグラム染色性

細菌・真菌の種類	形態と特徴	グラム染色性
ブドウ球菌	ほぼ球形, 直径 0.5~1.5 μm , ブドウの房状	陽性
肺炎レンサ球菌	球形または卵円形, 直径 0.8~1.0 μm , 双球菌	陽性
コリネバクテリウム属菌	0.3~0.8 \times 1~8 μm の桿菌, 時にこん棒状	陽性
緑膿菌	0.5~0.8 \times 1.5~5.0 μm の桿菌, 両端が鈍な円形	陰性
淋菌	腎形またはそら豆形, 直径 0.6~1.0 μm , 双球菌	陰性
モラクセラ菌	約 1.0 \times 2.0 μm の桿状または直径 0.6~1.0 μm の球状	陰性
インフルエンザ菌	0.3~0.5 \times 0.5 の小桿菌, 多形態性	陰性
カンジダ	酵母型では 3~5 μm の円形ないし卵円形	陽性
アスペルギルス	二分岐性真菌菌糸	陽性

れる。好酸球顆粒が染色され(図1), 感染症とアレルギーの鑑別が可能なので, 感染症であることが明らかな場合を除いて, グラム染色と併用するとよい。おおむね, この2種の染色法で症例の鑑別は可能だが, ウイルス感染を疑う場合は単染色も有用である。その場合も, 必ずグラム染色を併用する。蛍光顕微鏡があり, 真菌感染を疑う場合は, ファンギフローラ Y[®] 染色を, ウイルス感染やクラミジア感染を疑う場合は, 各種蛍光抗体法による染色をする。

3. 判定方法

100倍か200倍でオリエンテーションをつけた後, 400倍と油浸1,000倍で精査する。グラム染色の良し悪しは, 人体由来組織がグラム陰性に染まることから判断できる。細菌や真菌感染の場合, 多核白血球を見つけた後, その近傍を油浸1,000倍で観察すると菌を検出しやすい。多核白血球への菌体の取り込み像(図2)があれば, 臨床的にはそれが起炎菌だと考えてよい。眼科領域で検出される細菌や真菌でおもなものは, 光学顕微鏡レベルでの形態とグラム染色性(表1)について, つねに頭に入れておく必要がある。ウイルス感染の場合, リンパ球優位の像が得られる。蛍光抗体法での染色では, 陰性が赤色に, 陽性が鮮やかなアップルグリーンに染色される(図3)。

●コロニーの塗抹鏡検も忘れずに

分離培養でコロニー形成を確認した場合, 培地を検査機関へ提出する前に, コロニーを染色し鏡検すべきである。その理由は, 分離培養で得られた情報が, 塗抹鏡検のつぎに迅速で, かつ信頼できる治療方針決定のためのエビデンスとなる可能性がある。さらには, 自らの鏡検像の判定能力が向上するからである。

検体中の残渣物と微生物を見間違わないために, 常日

頃から自ら検体を塗抹鏡検し, 判定能力の向上に努める必要があるが, 最も効率よく微生物を観察できるのは, 分離培養で得られたコロニー染色である。均一な形態の微生物を間違いなく観察できるので, 微生物の検出能力を向上させる格好の学習材料といえる。コロニー染色の際, 培地に形成されたコロニーの色調や大きさや臭い, 血液寒天培地であれば溶血の有無などを一緒に観察し, 後に得られる結果と照らし合わせてみるとよい。おもに細菌培養でいえることであるが, 培養条件が一定であれば, 属によって形成されるコロニーの形態が均一なので, 慣れるとコロニーを見ただけでおおざっぱな属の推定が可能になる。

文 献

- 1) 小栗豊子: 感染症の迅速検査としての塗抹検査. 臨床微生物検査ハンドブック, p8-18, 三輪書店, 2005
- 2) Mahon CR, Manuselis G: Use of colonial morphology for the presumptive identification of microorganisms. Textbook of Diagnostic Microbiology, p312-325, WB Saunders, Philadelphia, 2000

■コメント■

塗抹鏡検は感染症の診断に古くから広く用いられている検査法であるが, 筆者も述べているように迅速性・特異性にすぐれた方法で, 今も臨床上の価値は低下しておらず, 蛍光抗体法などの導入でさらにその有用性が高まっている。ただ, まったくの初心者だと何をみているかわからないので, 特異性も何もないということになってしまうことから, やはり日頃から自分で塗抹鏡検を行って目を養っておく必要がある。その点で筆者の推奨しているコロニー鏡検は非常によい訓練になると思われる。

鳥取大学医学部視覚病態学 井上幸次