

喀痰におけるグラム染色からの検査体系構築の検討

木戸口芳弘¹⁾ 高橋 秀房²⁾

要 旨:塗抹検査は、安価で迅速診断できる検査法である。今回、その有用性（喀痰材料 147 件の炎症像評価）を検討し、さらに効率性を追求するため、同一患者から繰り返し検出された MRSA、緑膿菌の薬剤感受性（86 名、782 株）について解析を行い有用な結果を得た。炎症像分類は急性炎症像 23%、持続的炎症像 4%、炎症像無し 20%、唾液誤嚥像 33%、胃内容誤嚥像 3%、ウイルス像 2%、その他 15%認められた。同一患者から繰り返し検出された内科依頼喀痰の MRSA、緑膿菌の経時的耐性率を解析すると、緑膿菌は耐性傾向を示したが、MRSA の耐性傾向は認められず、薬剤感受性検査 540 株を削減できると考えられた。塗抹検査は、臨床所見と良好に一致する成績が得られた。同時に、塗抹標本の鏡検と薬剤感受性解析で得られた情報は、迅速診断を可能とし、不要な培養・同定および感受性検査の削減に寄与するものであり、来るべき包括化医療時代に即した検査法であると確信した。

【Key words】細菌感染、塗抹検鏡、感受性率

はじめに

塗抹検査は、そこで起こっている現象や特徴的な所見を正しく捉え、適切な解析を加えることで感染症のみならず様々な病態が把握でき、有用な情報を臨床に伝えることができる検査法である。

当院細菌検査室では平成15年4月より塗抹検査法¹⁾を導入した。今回、その有用性を検討した。さらに効率性を追求するためにMRSA、緑膿菌の薬剤感受性について解析を行い有用な結果を得たので報告する。

対 象

平成16年1月から5月までの5ヶ月間に提出された喀痰材料147件を炎症像評価した。平均年齢75.5歳 性別 男性103例 女性44例 また、平成17年1月から12月までの同一患者から繰り返し提出されたMRSA、緑膿菌（86名、782株）の経時的耐性率を解析した。

方 法

塗抹標本の作成は、痰が喀出される際に口腔・上気道の汚染をうける為、滅菌水で洗浄操作を繰り返し、表面の汚染を十分取り去った。その後少量の洗浄痰を2枚のスライドガラスに挟んで圧搾標本とし、定法に従って

グラム染色を実施した。塗抹標本の鏡検は対物10倍で全視野を観察し、喀痰の品質チェック後、炎症の評価、起炎菌推定および感染様態把握を行い、医師のクリニカルインプレッションとすり合わせをして検査所見の評価とした。（図1-1）炎症反応は感染部位の好中球の数、形態を詳細に観察することにより、新鮮な好中球が増加した急性像、新鮮な好中球と古くなった好中球が混在する炎症（持続）像、好中球の崩壊、脆弱化、数の低下がみられる炎症像に区別できる。誤嚥像は胃内容物と唾液性に分けられ、胃内容物は食物残渣（デンプン類）、胃酸による炎症細胞の破壊像など、唾液性は口腔常在菌の異常増殖が観察され、扁平上皮細胞と好中球の混在一体が認められる。（図1-2）

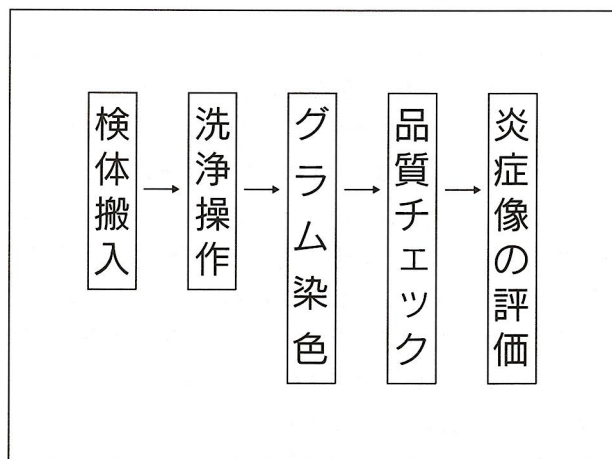


図1-1. 塗抹標本・検鏡作成法

¹⁾ 福井総合病院 検査科

²⁾ 福井総合病院 内科

（受付日 2007年3月）

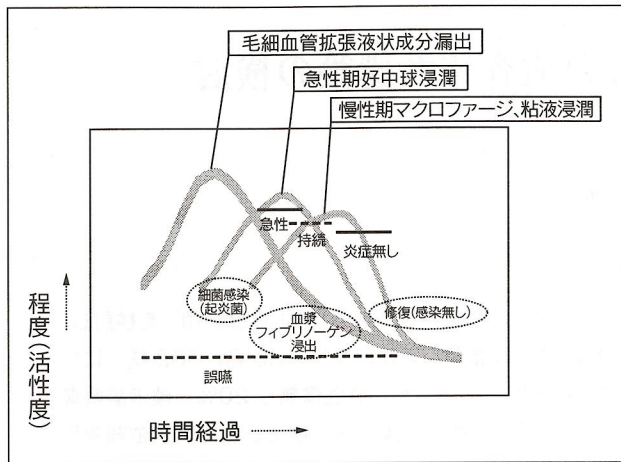


図1-2. 炎症経過

結 果

当院の5ヶ月間の炎症分類は急性炎症像23%、持続的炎症像4%、炎症像無し20%、唾液誤嚥像33%、胃内誤嚥像3%、ウイルス像2%、その他15%であった。急性炎症像の検出菌でS.pneumonia, M(B). catarrhalis, H.influenzae を示した40%は初期治療の情報²⁾として報告した。(図2)肺炎球菌の培養検出件数をみると、H14年16件、H15年43件、H16年75件と、塗抹検査法を導入した平成15年より分離率の向上が認められた。これは塗抹標本の検鏡は、感染現場を肉眼で直接検証する作業であり、その作業で得られる所見は培養で得られる成績よりもバイアスがかからず(抗菌薬の作用等)、真実を把握できるため検出率が高くなった。(図3)

炎症像分類の臨床所見を評価するために、喀痰を採取した時点における末梢白血球数、白血球分類、およびCRPとの関係を調べた。白血球数、分類、CRPとも急性、持続的炎症像では炎症性反応が有意に高く、炎症像無しにいくほど低かった。(図4)また、喀痰材料を提出した時点での体温と患者背景を調べた。急性、持続的炎症像では、中程度または高熱の患者の割合が高く、炎症像無しでは、正常体温の割合が有意に高く示された。患者背景を調査すると、急性炎症像は肺炎、MRSA肺炎、咽喉頭炎が80%を示し、急性炎症像(23%)と判断した34例中29例から肺炎球菌を含む既知の下気道感染菌が検出され、当該疾患における感染菌と判断された。持続型炎症像はMRSA肺炎が83%占めた。持続型炎症像(4%)と判断した7例中6例から緑膿菌を含む下気道感染菌が検出され、そのうち6例は当該疾患の感染菌として認知された。また、炎症像無しは特異疾患なし、MRSA保菌者

が大部分を占めていた。(図5)最も多く認められた唾液誤嚥と評価したものは48件(平均年齢81.1歳)認められたが、口腔常在菌のみ検出例が18例、既知の下気道感染菌は30例検出された。患者背景を調査すると基礎疾患は脳血管疾患29件、肺疾患11件、逆流性食道炎3件、神経筋疾患29件、悪性腫瘍2件、心疾患1件であった。これらでは、意識レベルの低く、いわゆる寝たきり状態の人が多く認められた。そのうち明らかな誤嚥障害は38件74%に臨床所見との一致が確認された。(図6)複数菌による感染の原因は就寝時などによる起こる唾液の下気道への落ち込み(誤嚥)と考えられているため³⁾、検鏡での感染所見の判読が重要になってくる。

症例は88歳男性、喀痰、咳、発熱を認め当科紹介受診となった。顕微鏡検査での菌検出状況は検体提出時、急性像の肺炎球菌が認められ、その後抗生剤投与により喀痰での炎症像および肺炎球菌は消失し、MRSAは残存菌となった。(図7)

同一患者から繰り返し検出された緑膿菌の経時的耐性率(PIPC,CAZ,IPM,MEPM,GM,FOM,ISP,AMK,LVFXの合計感受性)を検討した。なかでも6ヵ月以上長期的に提出された4人、72株の耐性率を解析すると、症例1では9ヵ月間で16%、症例2では6ヵ月間で40%の耐性化が認められた。また、当院では多剤耐性緑膿菌はみられなかった。(図8)次に繰り返し検出されたMRSAの経時的耐性率を検討した。なかでも6ヵ月間以上長期的に提出された10人、258株の耐性率を解析すると耐性傾向は認められなかった。また、当院でのバンコマイシン、タゴシッド、ハベカシンの耐性菌はみられなかった。(図9)

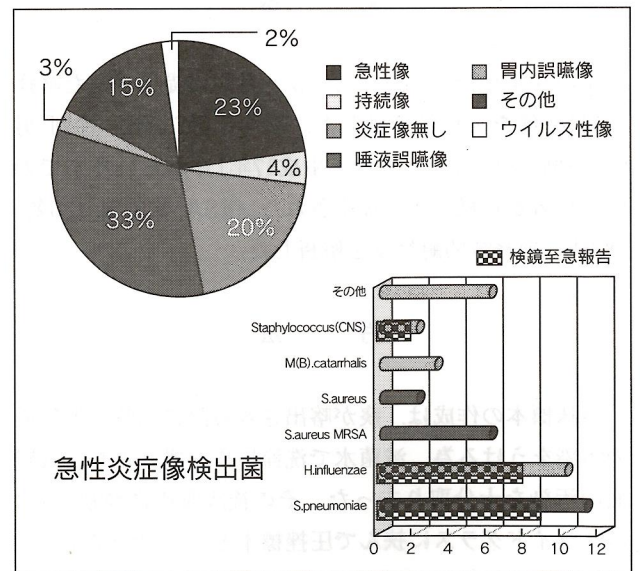


図2. 炎症分類

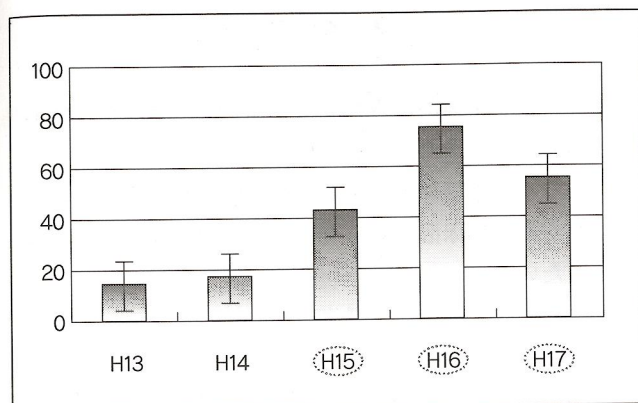


図3. 検出件数(肺炎球菌)

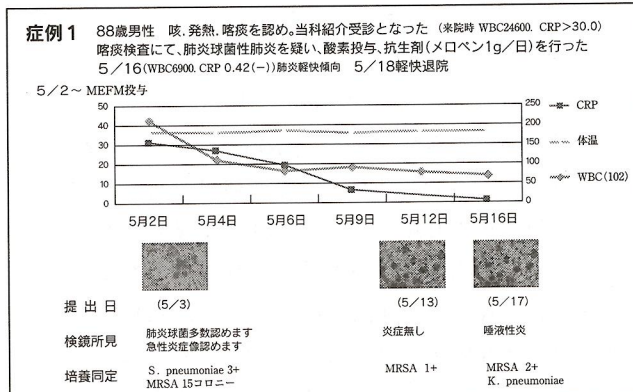


図7. 症例

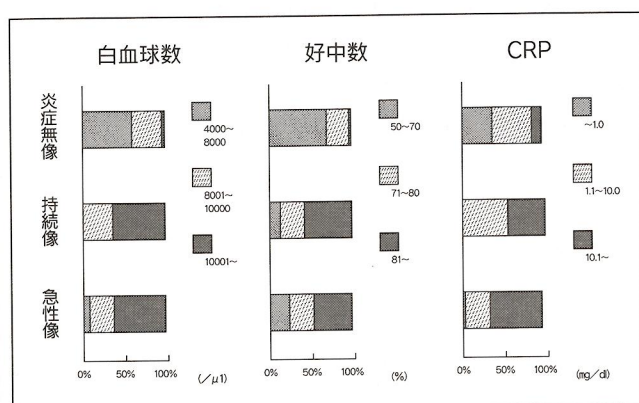


図4. 炎症分類と検査値

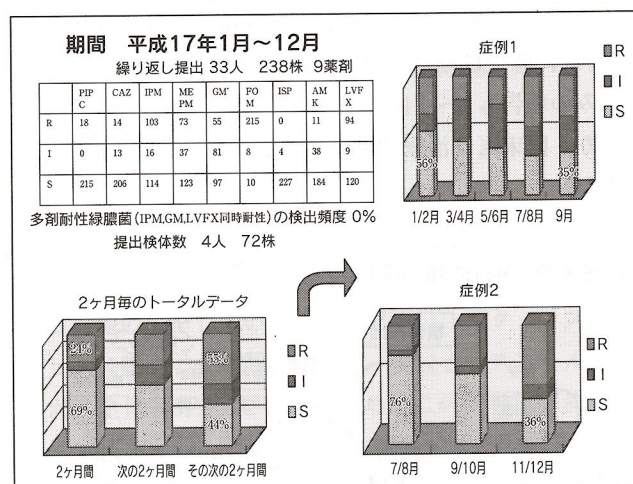


図8. 緑膿菌薬剤感受性解析

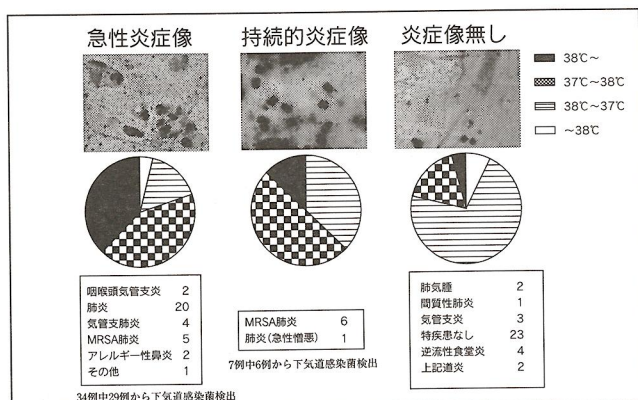


図5. 炎症分類と患者背景(体温区分)

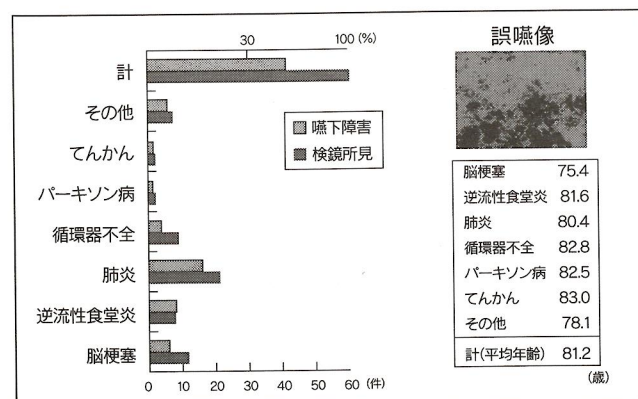


図6. 誤嚥所見と臨床所見の関係

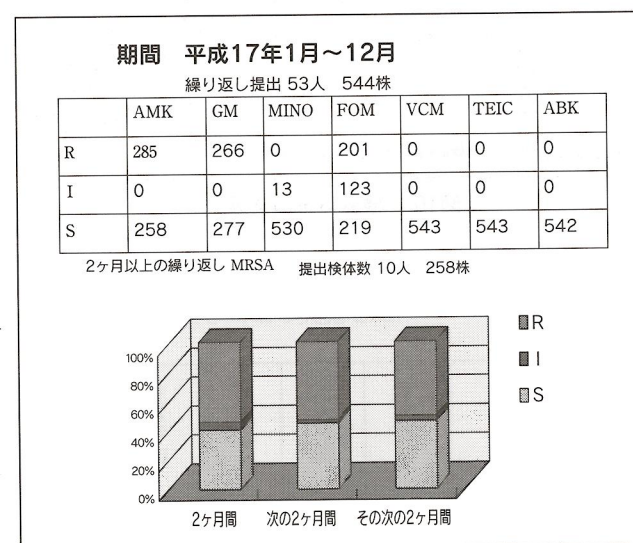


図9. MRSA薬剤感受性解析

ま と め

塗抹検査を積極的に導入する事により、分離率の向上が認められた。また、検査の構築をマニュアル化することにより不要な培養・同定および感受性検査を省くことにつながる。臨床医と共に時代に即した検査法を追求していきたい。

- 1) 相原雅典：感染症診断に必要な微生物検査：ライフサイエンス 2003；vol 6-20
- 2) 菅野治重：感染症検査の迅速化：検査と技術 2006；34：464-465
- 3) Marik P.E：Aspiration pneumonitis and aspiration pneumonia N.Engl.J.Med.344:665-671.2001.

(图 10)

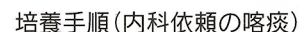


図10. 検査体系の構築