

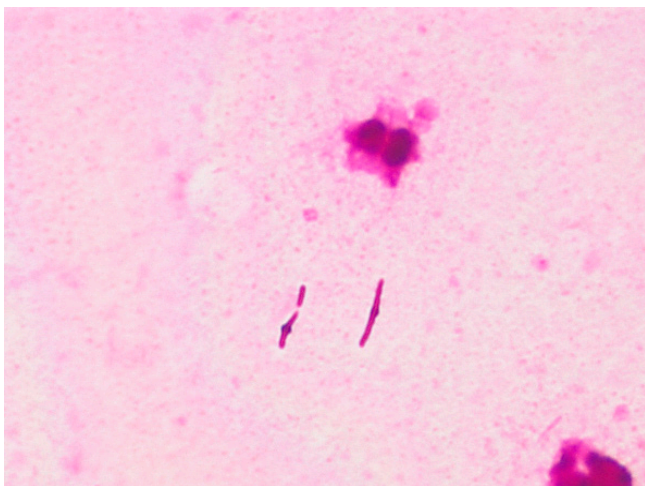
抗菌薬投与後の形状変化

一般に抗菌薬が作用すると、菌は脆弱化もしくは死滅してグラム染色や培養で起炎菌の確定が難しくなります。しかし、抗菌薬が作用し始めてすぐの時は、菌の形状変化のみが起こり、培養でも発育してくることがあります。

私たちは、菌の形状や染色性をアトラスなどの既存の情報により知り、それに基づいて鑑別していく癖がついています。しかし、抗菌薬が作用している像はアトラスには載っていません。日々、観察している中で覚えていくしかありません。グラム陰性桿菌で見かけることが多いと思います。

よく見かけるのが菌の延伸化。β-ラクタム薬がPBPに作用し、バルジ化と呼ばれる菌の両側に延長した形です。よく見ると菌体の中央部が膨れているものも確認できるでしょう。もう1つはキノロンです。キノロンはなぜ延伸するのでしょうか？作用機序から考えるとDNAが折りたためないために延伸するのでしょうか。

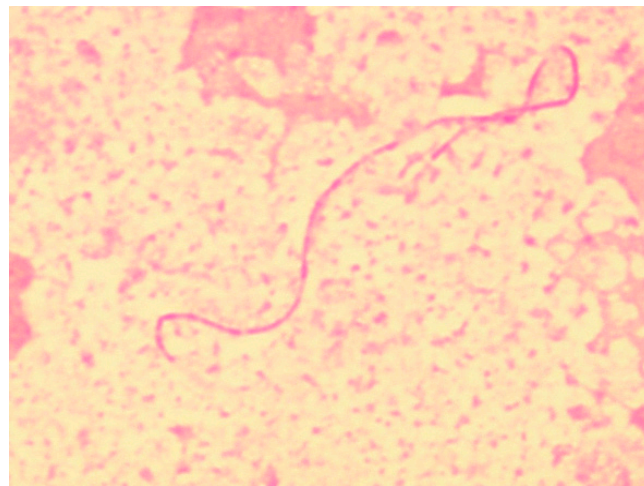
あと、膿瘍などで抗菌薬の移行が悪くMIC以下となっていると推測される場合にも延伸がよく確認されます。



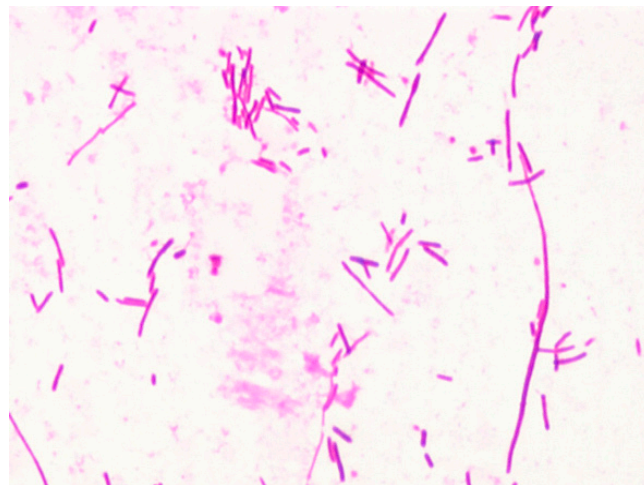
肺炎桿菌 (ABPC/STB 投与 1 時間後)

代表的な染色像を掲載しておきます。

こういった像を見たら、発育しないかもしれない、抗菌薬がすでに投与されているかもしれない、という情報を共有することが大切です。



大腸菌 (LVFX 作用後、投与時間不明)



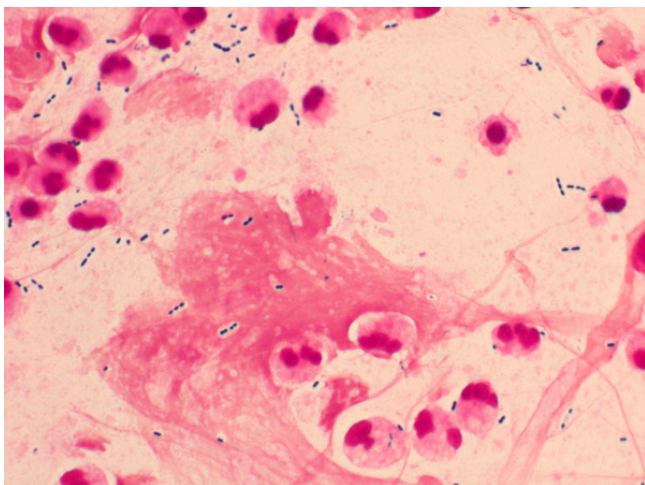
エンテロバクター (肝膿瘍、CPZ/SBT 投与 2 日後)

喀痰中の白血球から原因菌を推測する

グラム染色は修練を積むことで色々なことが分かるようになります。喀痰中の白血球の種類を分けることで、肺炎の原因菌の推測に活用することも可能です。

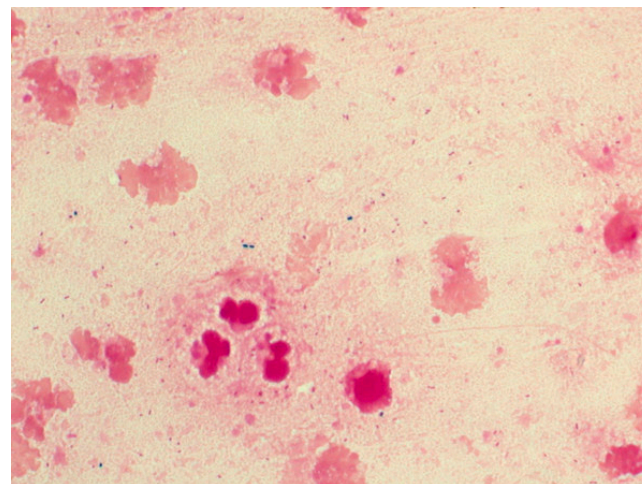
細菌性肺炎

細菌性肺炎の場合は、多核白血球（主に好中球）が多数確認されることが多くなります。なので、好中球が多数確認される場合には原因微生物は一般細菌と推測できることが多いです。



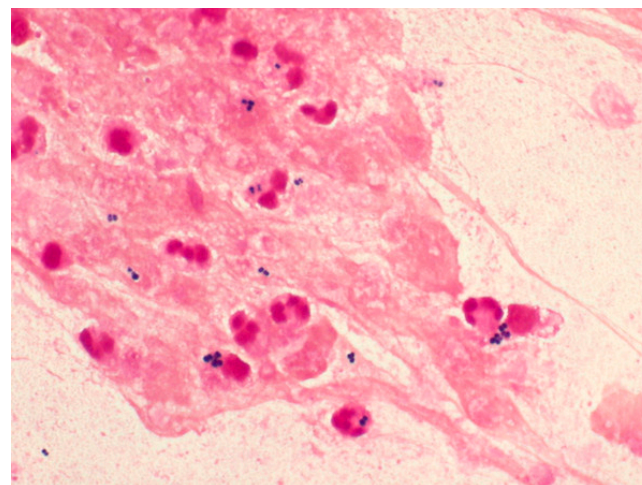
S. pneumoniae の大葉性肺炎

肺炎球菌の場合は特にフィブリンの析出が多くなり、背景は赤みの強いグラム染色像になります。



H. influenzae の気管支肺炎

インフルエンザ菌の肺炎は気管支肺炎が主体になるので、炎症細胞としての多核白血球（主に好中球）が多く見られますが、粘液が主体であり、背景はすりガラス様のピンク色になります。



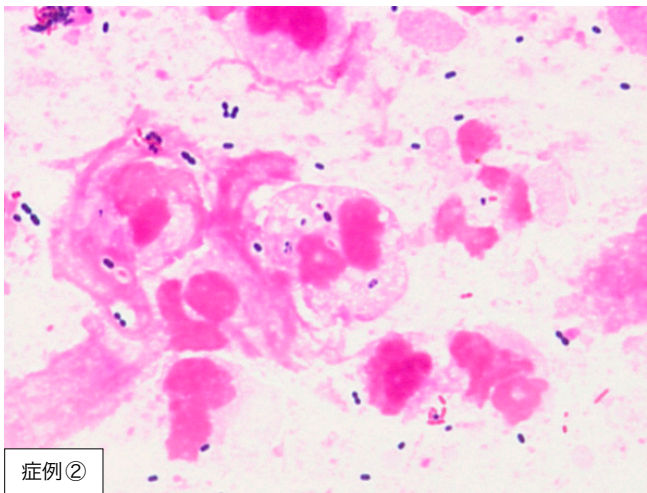
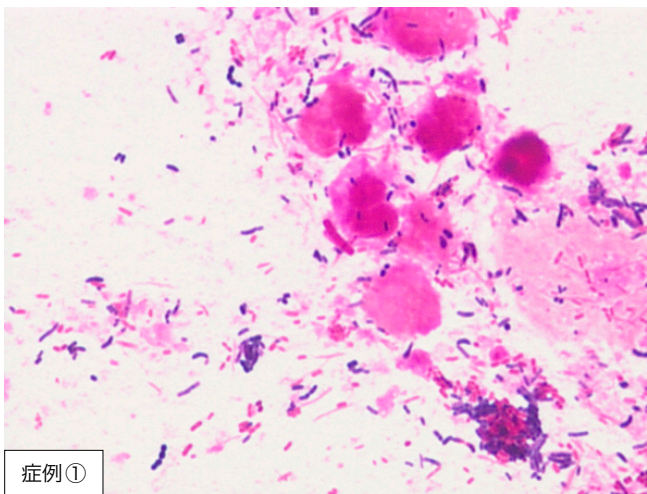
S. aureus の気管支肺炎

黄色ブドウ球菌の場合は毒素によるフィブリン析出が多く、また化膿性病変が強いため、肺炎球菌性肺炎のような赤みの強い背景になります。ただし、血行性が経気管的な感染かで少し像が変わるので注意が必要です。

コモンな症例

日直中に、喀痰グラム染色を急いで欲しいという依頼が2件ありました。「グラム染色の結果を見てから抗菌薬を選びますので…」と、やる気をそる言葉をかけてくれます。

すぐに染めて、結果を報告しました。

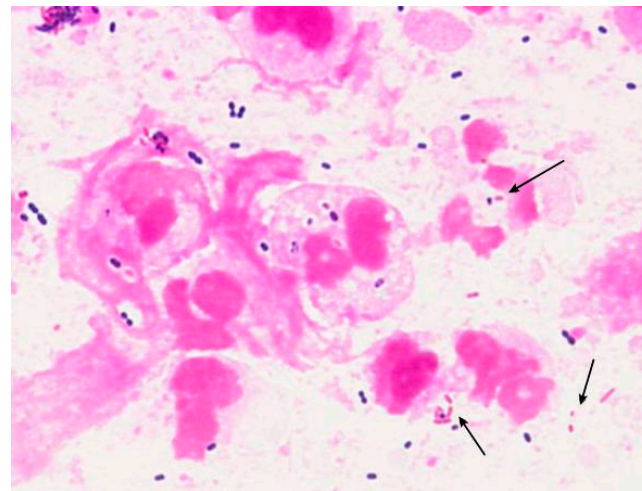


症例①は誤嚥性肺炎を疑う所見です。雑多な菌種の貪食像を認めることが鑑別点の1つですが、それだけで誤嚥性肺炎を疑うことにはなりません。いくつかの条件があります。

- 痰がしっかり採取され、非常に膿性で、染めれば多菌種が確認されること。
- 扁平上皮が確認されること。
- 白血球の核が不鮮明で、慢性的な感染を繰り返すこと。

この標本の場合は、白血球がやや古く、多数認められ、一部(右下)に扁平上皮があります。多菌種が確認されるため、唾液誤嚥を強く示唆する所見です。ただし、口腔衛生が悪い患者での唾液混入の場合は、所見を間違える場合があるので、痰の性状を確認することが大事です。

症例②は肺炎球菌とインフルエンザ菌との混合感染を疑います。引っかけ問題みたいですが、インフルエンザ菌を矢印で示します。



肺炎球菌もそうですが、一面の菌に目を奪われると、周囲にある色々な菌が見えなくなり、見落とす可能性があるという教訓です。**グラム染色は炎症像が強いほどじっくり読まないといけません。**

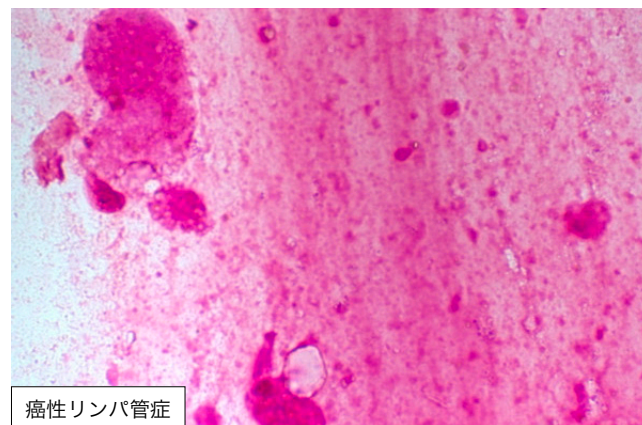
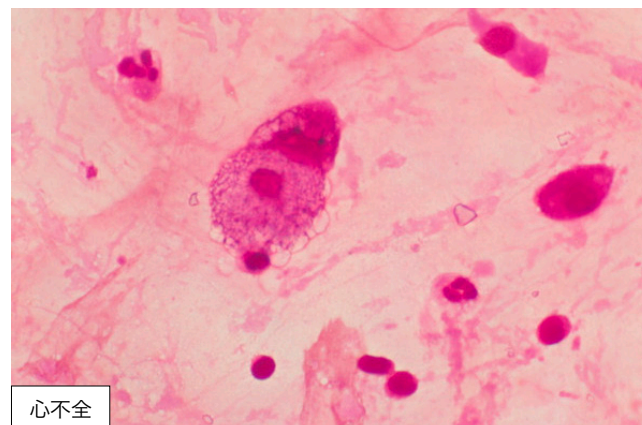
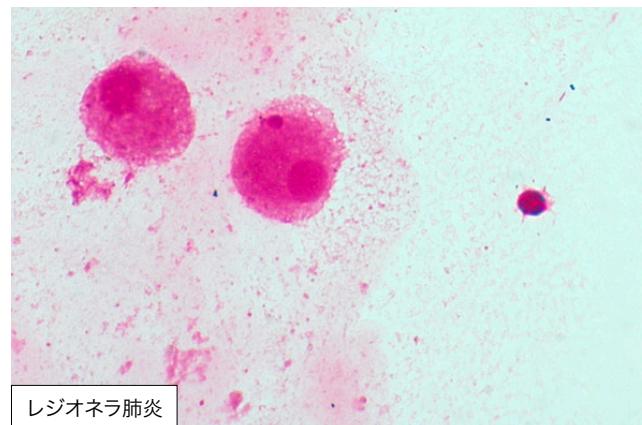
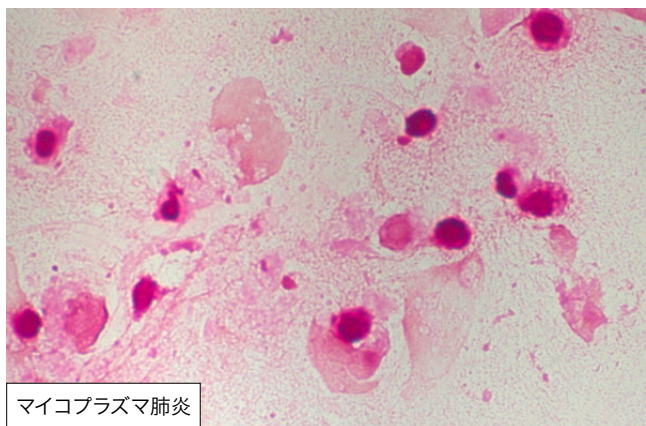
菌が見えなくても役に立つ

グラム染色は微生物を確認して、診断を行い、起炎菌に見合った抗菌薬を投与する、というのが標準的な使い道です。しかし、別に菌が見えなくても、診断に寄与することは可能です。

例えば喀痰中に菌が見えない場合は、次のようなことを考える必要があります。

- ① 染まらない or 数が少ない微生物がいるのではないか（レジオネラ肺炎やマイコプラズマ肺炎など）
- ② 見えるはずが見えなくなったのか（抗菌薬の投与歴があり消失した）
- ③ 感染症以外なので見えるはずがないのか（肺水腫、間質性肺炎、心不全、癌性リンパ管症など）

微生物検査ばかりしていると、検体が来るとあたかも起炎菌を検出しな
いといけないかのような錯覚に陥りますが、実はそうでないケースがしば
しば混じっているのです。医師が何を期待して喀痰検査をオーダーしたの
かを考えることも必要でしょう。



尿路感染症診断のためのグラム染色①

尿路感染症を疑って尿が提出されたら、ひとまずグラム染色をしますが、こういった点に注意して見ていくのが良いでしょうか？

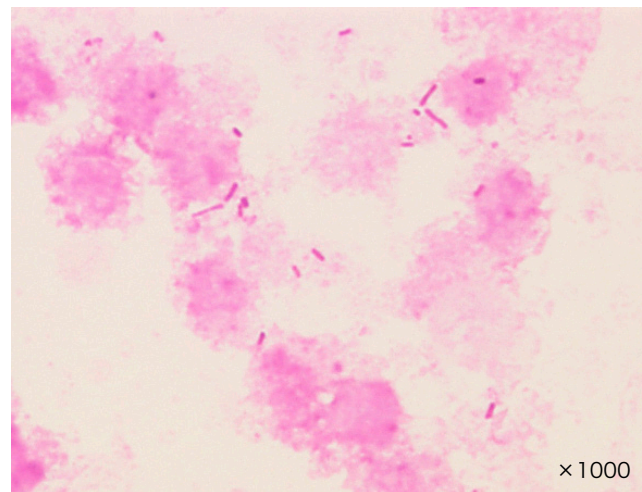
細菌検査室で毎日培養結果を見ている人は、本当に良く分かっていながらも大事な点を見逃しているかもしれません。また、第一線で染色をしている方は培養を目の当たりにしないこともあり、文献的もしくは経験に合わせた見方になっていると思います。

尿のグラム染色を見る場合、最も気をつけるのは、大腸菌に代表される腸内細菌群でしょう。腸内細菌は染色態度が良く、中～大型のグラム陰性桿菌に見えるものが多く、慣れてくると他のグラム陰性桿菌である緑膿菌やインフルエンザ菌との違いが分かります。

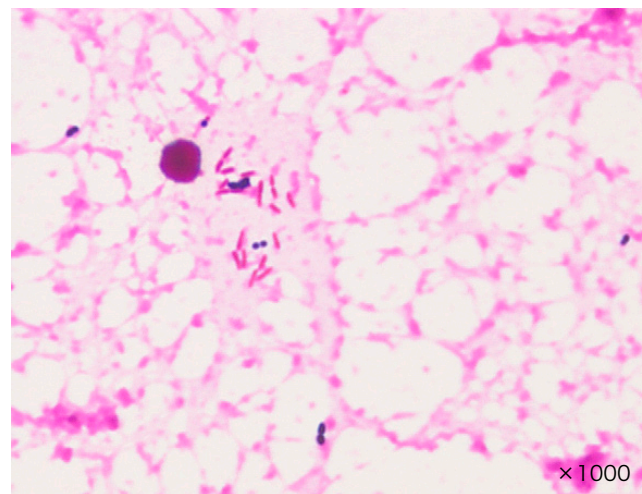
緑膿菌はやや細めの菌体で、染色性がやや悪く、両端が細く見えます。また、単体で見えるより塊形成をしたりします。

インフルエンザ菌は尿から出てくる頻度は非常に少なく、もし鏡検で確認されたとしてもインフルエンザ菌だろうという予測は付きにくいと思います。グラム染色は、臓器特異性を加味した検査前確率の高い起炎菌の推定を肉眼的に行い、検証をする手段の1つと言えます。

写真は、尿から出た大腸菌と緑膿菌です。見比べるとちょっとした違いに気づくはずです。



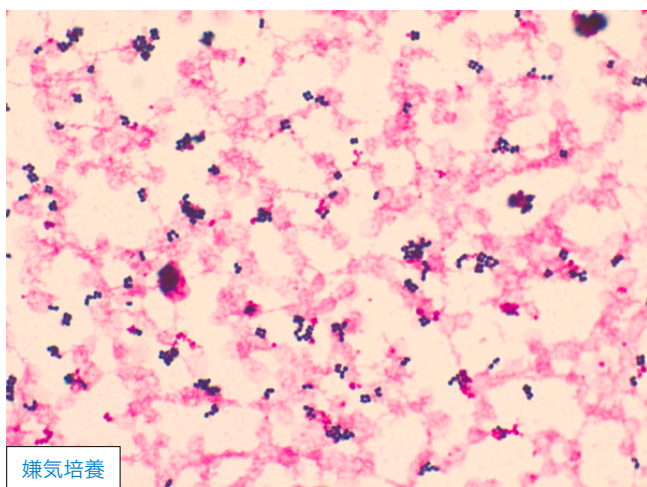
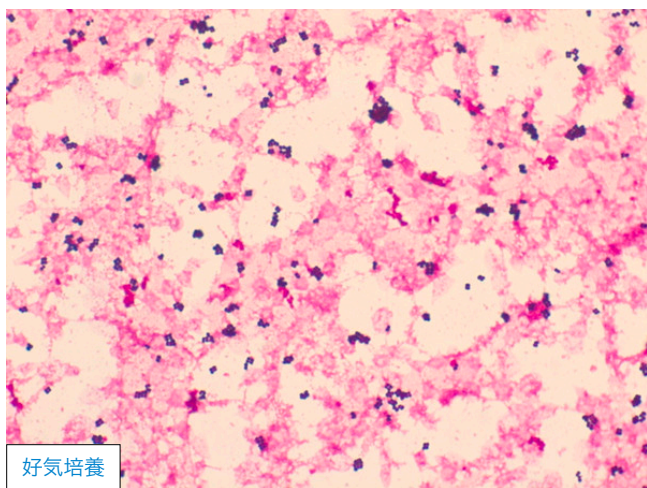
大腸菌（染色性が良い、中～大型のグラム陰性桿菌）



緑膿菌（染色性がやや悪く、両端が細く、塊を形成）

Aerococcus は良く間違える菌の1つです

血液培養が2セット陽性になりました。グラム染色をするとこのように染まりました。

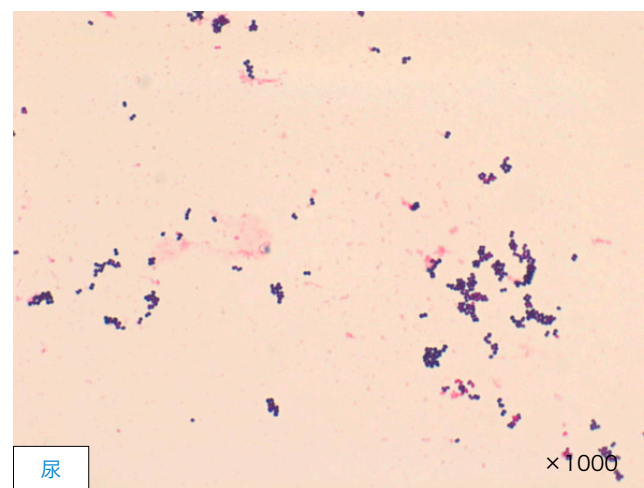


菌を推定していきましょう。

- 好気ボトルと嫌気ボトルの両方に発育しています。特に溶血は認めません。陽性シグナルは1日以内です。
- グラム陽性球菌で、クラスター形成をしています。クラスターは大きくないですが、菌は少々大小不同を伴ってます。

ブドウ球菌かな？と思うものの、染色性がやや悪い。コアグラゼ陰性ブドウ球菌の可能性があるが、菌の形態的な特徴からは黄色ブドウ球菌の可能性もあります。そもそもコアグラゼ陰性ブドウ球菌が2セット陽性となると、事情は複雑そうです。

追加で検体が出ていないか探すと、尿が出ています。尿路感染症を疑っているのかな、と考えながらグラム染色をしたところ…



これまたブドウ球菌です。

長期にわたる尿道カテーテルの留置中は黄色ブドウ球菌の尿路感染症が起こりやすく、血液培養陽性例も多くみられることはよく知られています。でも、この患者はカテーテルの挿入はありません。ピュアな市中感染なのです。

球菌に見えない連鎖球菌

グラム染色について頂く相談の中に、「グラム陽性桿菌と思いましたが、同定したら *Streptococcus* でした。どうしてですか？」という質問が多くあります。確かに、球菌なのに桿菌に見えるとは、何ともややこしいですね。

連鎖球菌または連鎖状の球菌には、*Streptococcus* や *Enterococcus* があります。*Streptococcus* については、丸いものから楕円形のもの、短桿菌、大小不同まで様々な特徴を持ちます。ここでは、連鎖状球菌についてまとめたいと思います。

Viridans group streptococci

楕円形から短桿菌まで形状は様々です。連鎖が長い場合は、グラム陽性桿菌との鑑別は可能なことがあります。ただし、連鎖が短い菌しか見えない場合は、グラム陽性桿菌との鑑別が困難です。血液培養からグラム陽性桿菌が検出されるケースは比較的少ないため、陽性球菌の可能性は高くなります。



Nutritionally variant streptococci との鑑別は非常に困難ですが、血液培養の発育状況を観察項目に加えることで鑑別可能です。

この菌が血液培養で検出された場合は、亜急性の感染であることが多く、疾患としては感染性心内膜炎や粘膜潰瘍、髄膜炎などを疑います。

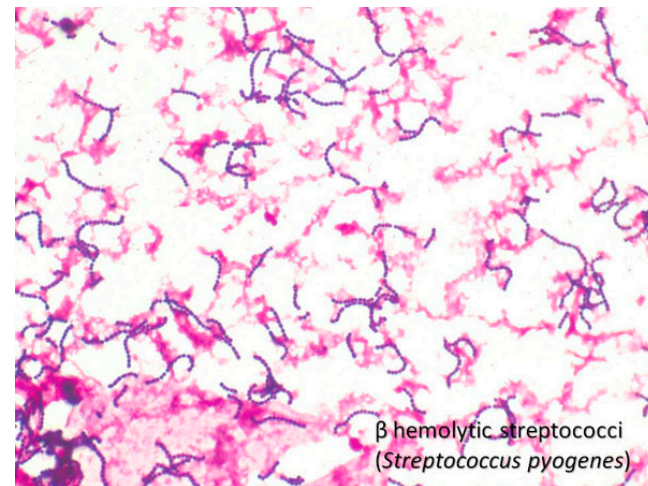
β -ラクタムに耐性菌が存在し、ペニシリンの MIC 測定は非常に重要です。発熱性好中球減少時に分離された場合には CFPM の感受性はやや不良なものが多いので注意したいです。

β hemolytic streptococci

丸い球菌状に観察されるものがほとんどです。連鎖は比較的長く、外毒素を産生する菌種では菌周囲 (BM 法であれば高率に) が赤みを帯びて確認されることもあります。

S. agalactiae は、*S. pyogenes* や *S. dysgalactiae* subsp. *equilimilis* と比べると連鎖が短いものが多く、また菌体はやや大きく観察されます。*S. pyogenes* や *S. dysgalactiae* subsp. *equilimilis* が検出された場合は皮膚軟部組織疾患や菌血症など、*S. agalactiae* ではそれらに加えて尿路感染症などがフォーカスとなっていることが多いです。急速に病態が進むことが多いので、いち早く報告する必要があります。

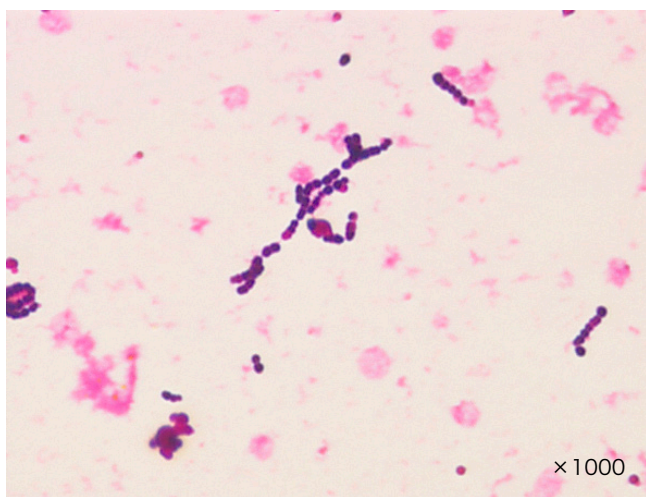
糖尿病をベースに持つ症例もあり、血糖値が高い場合は感染リスクは高



重症例は待ってくれません

なぜだか知りませんが、年末年始の休暇中に決まって見る疾患があります。それは、溶連菌感染症。

朝、職場に行くと、血液培養が陽性になっていました。溶血しており不吉な予感がします。すぐにスミアを作り染色したところ、予感中です。



グラム陽性球菌 + 連鎖球菌 + 菌周囲が紅い = 溶連菌 (の法則)

こういうのは直感が働きます。ラテックスをすると、しっかりとA群。早速電話します。

「熱はそうでもないが、腎機能が落ちてきて、少し血圧低下も。フォーカス不明なんやと…」

すでに ABPC/SBT は初期投与されていましたが、毒素性ショックの可能性を考え CLDM が追加されました。

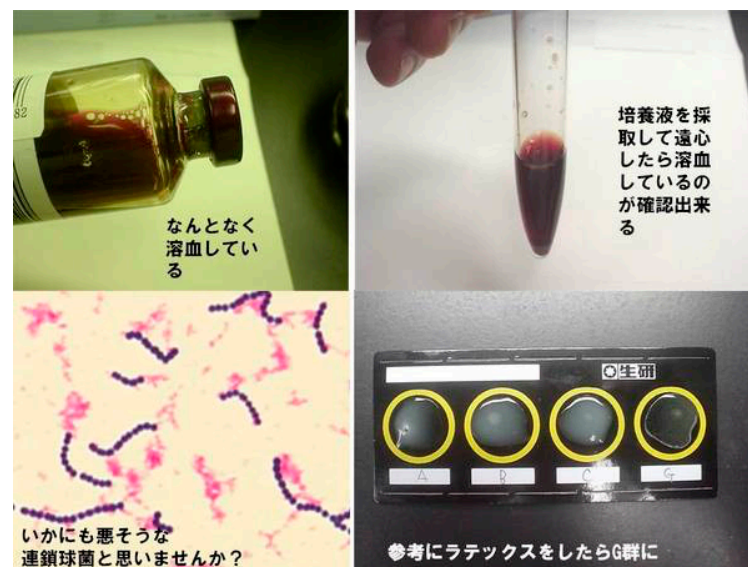
サマリーを見ると、アルコール多飲で糖尿病があります。ハイリスクですが皮膚病変も咽頭炎もなく、侵入門戸は不明です。文献検索してみると約10%はそうなんだと。やはり血液培養は大切ですね。

悪い予感

当直中に、血液培養が陽性になりました。

いつものように、陽性になった時間を記録し、ボトルの外観を確認した時点で、もしや！と少し悪い予感がしました。

グラム染色で確認したところ… 案の定、溶連菌です。



すぐに当直医と病棟に電話して、溶連菌の可能性が高いことを知らせ、患者の状態を聞き、抗菌薬の検討をしました。とりあえず CLDM は追加することになりました。

血液腫瘍の患者で、血圧は安定していますが、毒素性ショックを起こす可能性もあり、夜勤の看護師さんに観察強化項目としてケアをしてもらいました。結局ショック状態には陥らず、解熱し軽快したのですが、これからのケアが大変です。

私が当直していると、なぜか事件が起こります。呼んでいるのでしょうか？でも患者が早く治れば本望ですので眠気も吹っ飛びます。

閉塞性胆管炎の原因菌

80代の男性で、上腹部痛を主訴として治療を受けていた患者です。総胆管結石を疑い、抗菌薬を数種類使用したが改善がみられないため、当院へ紹介となりました。

腹部CTで閉塞性胆管炎を疑い、緊急ERCPを施行しましたが幽門輪狭窄があり、PTCD下で穿刺し胆汁培養を実施しました。

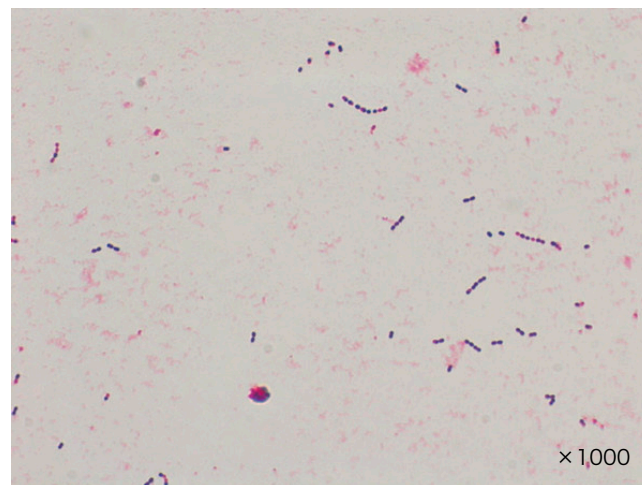
消化器内科の先生が後輩と研修医を連れてグラム染色をしました。見慣れない菌種なのか、私も一緒に見るようになりました。



「あ、これ腸球菌ですよ。形状から言うと *E. faecium* が濃厚ですね。VCMは必須でしょう」と答えました。

さらに、「MEPMはカルバペネムですが、腸球菌には抗菌活性が悪いんです。*E. faecalis* であってもMEPMは著効しないことが多いので、やはりVCMは必要でしょう」と細菌学的なコメントを追加しました。抗菌薬の選択はMEPM + VCMとなりました。

翌日、血液培養が陽性になりました。



やはり腸球菌を疑う所見です。丸いので *E. faecium* でしょう。

すでに胆汁培養は一晚経ち、集落形成されています。*E. faecium* の集落のようです。*E. faecalis* とはやや集落性状が異なります。



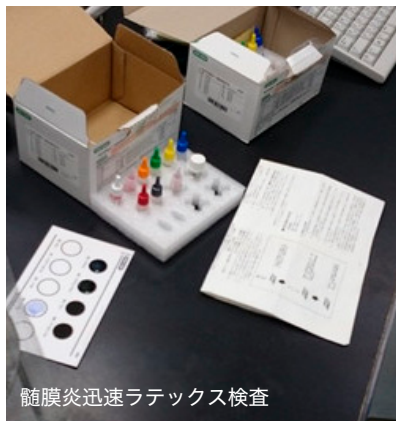
集落性状による菌種の違い

小児の細菌性髄膜炎での GBS

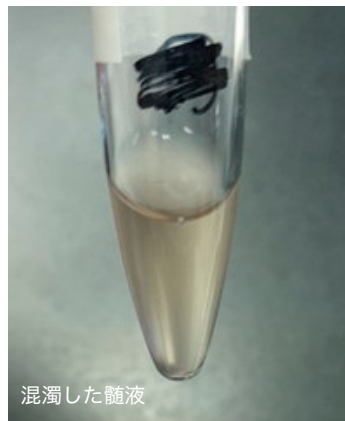
GBS は新生児髄膜炎の主要な菌の 1 つです。GBS は有効なワクチンがありませんので、小児の感染予防は周産期の母体の管理や、出産後の接触感染予防などしか有効な手段はありません。有効なワクチン開発が進み、接種を行わない限り、ある一定の人口で発生してしまうのです。

となれば、診断を早くすることが必要です。診断を早くするにはグラム染色もそうですが、迅速検査が役に立ちます。最近では肺炎球菌はイムノクロマト法による診断が可能になりましたが、GBS はそれがありません。そのため、別の検査キットが必要になります。

髄膜炎の起炎菌を調べるためにラテックス凝集法があります。肺炎球菌、Hib に加えて、GBS、*E. coli* (K1)、髄膜炎菌 (A, B, C, Y/W135) が同時に検出可能です。昔は常備していたところも多かったのですが、最近は少なくなってしまったようです。



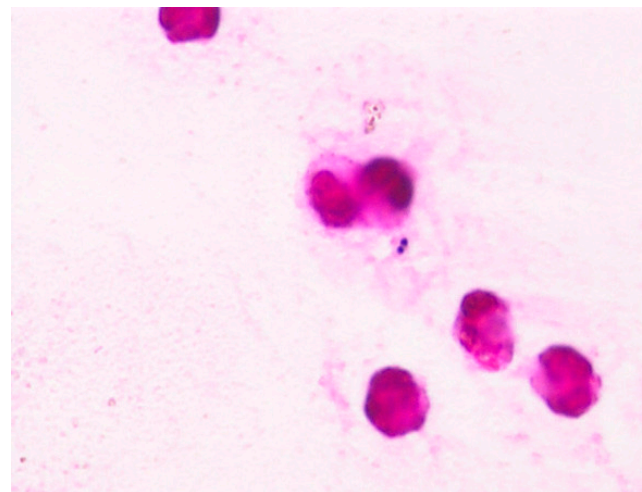
髄膜炎迅速ラテックス検査



混濁した髄液

こんな髄液が出たら、悠長に培養結果は待ってられません。

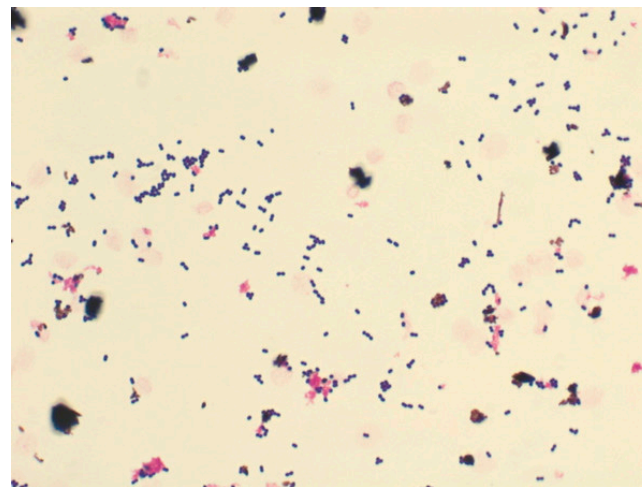
髄膜炎を診断して 1 時間も経たない間に抗菌薬治療を開始しなければなりませんので、グラム染色は本当に重要なミッションです。



髄液から検出された GBS

これだけでは GBS かどうか判断しきれないことがあるので、ラテックス凝集法による迅速検査が重要になります。

血液培養では翌日 GBS が陽性となってきますが、少し対応が遅れてしまいます。



血液培養からの GBS