



グラム染色から考える症例検討

三重大学医学部附属病院 中央検査部
永田恵一

患者背景

40 歳男性

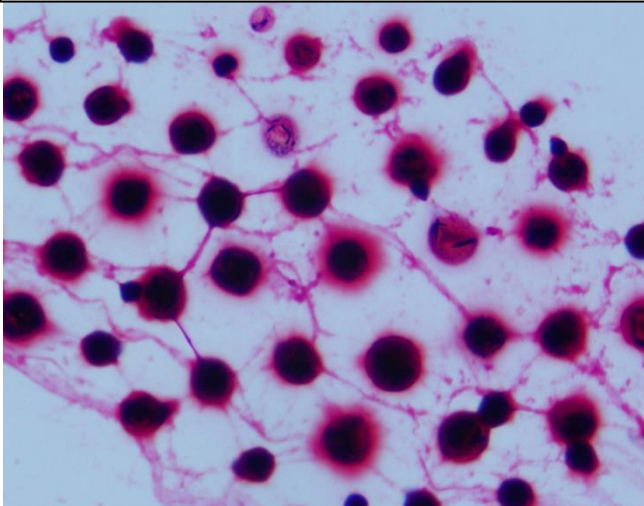
主訴：発熱・頭痛・嘔吐

1 週間前から 38℃を超える高熱。

その後、頭痛、嘔吐の症状が出現し近医を受診。項部硬直を認めたため入院となった。

最近このような不明熱を繰り返しているとのこと。髄液検査が施行され、グラム染色を行った。

グラム染色像と血液・髄液検査



WBC	3000/ μ L	TP	7.5g/dl
Neut	60%	Alb	4.1g/dl
Lym	30%	T-Bil	0.8mg/dl
Mono	10%	ALP	290U/l
Eos	0%	γ GTP	50u/l
Baso	0%	LD	350U/l
RBC	300×10^4 / μ L	ALT	150U/l
Hb	9.0g/dL	AST	150U/l
HCT	30.0%	Cre	0.90mg/dl
PLT	9.0×10^4 / μ L	BUN	10mg/dl
髄液検査		UA	4.0mg/dl
色調: 日光微塵		Glu	100mg/dl
細胞数	11/ μ L	CRP	3.0mg/dl
蛋白	65mg/dL	Na	130mmol/L
糖	40mg/dL	K	3.6mmol/L
		Cl	101mmol/L
		B-D-グルカン	<6pg/mL

問 1. 結果から推定される、最も可能性が高い菌名はどれか

1. *Staphylococcus aureus*
2. *Candida* spp.
3. *Cryptococcus* spp.
4. ゴミ

問 2. 追加した方がよい検査は？（複数回答可）

1. 墨汁染色
2. HIV 検査
3. クリプトコッカス抗原
4. 追加検査の必要はない



正解 問1. ③ *Cryptococcus* spp.

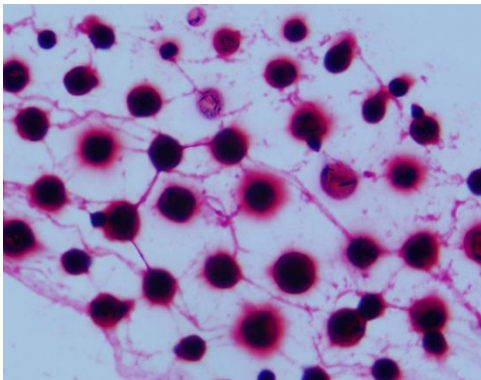
問2. ①墨汁染色、②HIV検査、③クリプトコッカス抗原

【クリプトコッカス症】

- *Cryptococcus* 属真菌による感染症。
日本では *Cryptococcus neoformans* によるものがほとんど。
- 環境中に多く存在し、鳥糞などがある土壌で増殖しやすい。
- 主に肺や皮膚から感染し病巣を形成する。
- 病型は肺クリプトコッカス症・中枢神経系クリプトコッカス症・皮膚クリプトコッカス症があり、最多は肺クリプトコッカス症である。
- 多くは免疫不全を背景にもつ患者に発病するが、健常者にも発病することもある。特に CD4 陽性リンパ球が 100/ μ L 未満の場合は髄膜炎を起こすことが多い。
 - 背景に免疫不全をもつ患者が多いので基礎疾患がはっきりしない患者には HIV の検査を行った方がよい。

【*Cryptococcus* 属】

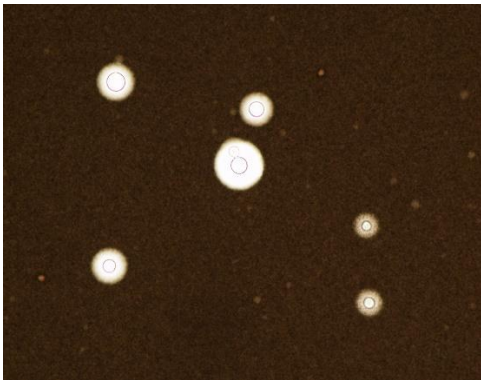
- *C. neoformans* と *C. gattii* に大別される。
- 細胞壁の外側に多糖体で構成される厚い莢膜を有する。(主成分：グルクロノキシロマンタン抗原) → この莢膜を墨汁染色で証明することが診断に有用である。



- 厚い莢膜が濃いピンク色に染まる。
- 菌体の周りの莢膜がピンク色に染まっていることが確認できる。

このようなグラム染色像が見られた場合には
墨汁染色で莢膜を確認することが有用である。





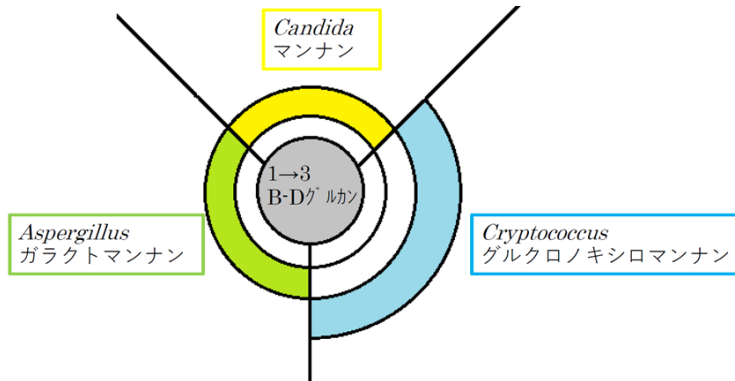
- 墨汁染色では菌体の周りにはある厚い莢膜が白く抜けて見える。

※ 莢膜は継代培養によって薄くなるため注意が必要。



【血清学的検査】

- 血清学的検査としてクリプトコッカス抗原検査（グルクロノキシロマンナン抗原を検出する方法）がある。
- クリプトコッカス抗原は感度・特異度とも高い検査であり信頼度は高い。しかし、*Trichosporon* spp. はクリプトコッカス抗原の共通抗原をもつため、クリプトコッカス抗原が陽性になることに注意が必要である。
- クリプトコッカス属やカンジダ属、アスペルギルス属などの真菌は細胞壁にβ-D グルカンが含まれている。β-D グルカン検査は深部真菌症の診断に有用であるが、クリプトコッカスの場合、細胞壁の外側に厚い莢膜が存在するためβ-D グルカンが高値になりにくいという特徴がある。そのため、クリプトコッカスの感染を疑う場合、β-D グルカンに加えてクリプトコッカス抗原の検査を行った方がよい。



血清学的検査の注意点

Cryptococcus spp.

- ✓ 分厚い莢膜のためβ-Dグルカンが(+)にならない。

Trichosporon spp.

- ✓ 外膜にクリプトコッカス抗原と共通抗原をもつため、クリプトコッカス抗原が(+)となる。

	<i>Candida</i> spp.	<i>Cryptococcus</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Trichosporon</i> spp.	<i>Mucor</i> spp.
β-Dグルカン	+	—	+	+	—
カンジダマンナン抗原	+	—	—	—	—
アスペルギルス抗原	—	—	+	—	—
クリプトコッカス抗原	—	+	—	+	—

【コロニーの特徴】

- クロモアガーカンジダ培地では薄い紫色に見えるので、他のカンジダ属と誤同定しないように注意する必要がある。
- ムコイドが強い菌株ではコロニーを釣菌した際に糸を引く場合もあり、クリプトコッカスを推定する助けになる。

【*Cryptococcus* 属の治療】

	AMPH-B	FLCZ	ITCZ	VRCZ	MCFG	5-FC
<i>C.neoformans</i>	○	△	○	○	×	△

○：概ね期待できる。△：菌株によって、または用量依存的に抗真菌活性が期待できることがある。×：期待できない。

酵母様真菌の治療に頻用されているカンディン系薬が無効であることに注意が必要。

- 髄膜炎症状がある場合：AMPH-B+5-FCの併用 維持療法としてFLCZ内服
- 髄膜炎症状がない場合：軽症～中等症の肺クリプトコッカス症 FLCZ
- 重症の肺クリプトコッカス症 髄膜炎と同様

【*Cryptococcus gattii*について】

- *C. neoformans*は世界的に広く分布しているが、*C. gattii*は主に熱帯・亜熱帯地域に分布している。
- 地球温暖化の影響により、*C. gattii*による発生地域が拡大している。
 - 1999年からカナダ・バンクーバーから米国北部太平洋岸で2006年頃から米国太平洋岸のワシントン州、オレゴン州、カリフォルニア州で*C. gattii*によるクリプトコックス症の多発が確認、報告されている。
 - 日本でも稀ではあるが*C. gattii*による症例は確認されてはいたものの輸入感染症と考えられていたが、2007年に海外渡航歴のない患者から分離され、本菌によるクリプトコッカス症の発生拡大が危惧されている。
- カナダ・米国でのクリプトコックス症多発事例で分離された3種類の遺伝子型(subtype; VGIIa、VGIIb、VGIIc)は病原性が高く、健常人においても髄膜炎を合併する頻度が高い。
- *C. gattii*に対する治療のエビデンスは少なく、*C. neoformans*に準じた治療が推奨される。