

南京都病院

# 結核菌の検査

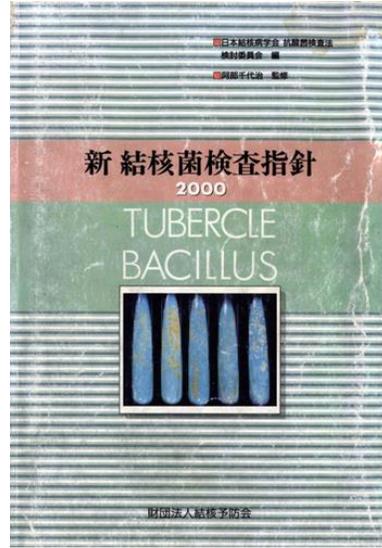
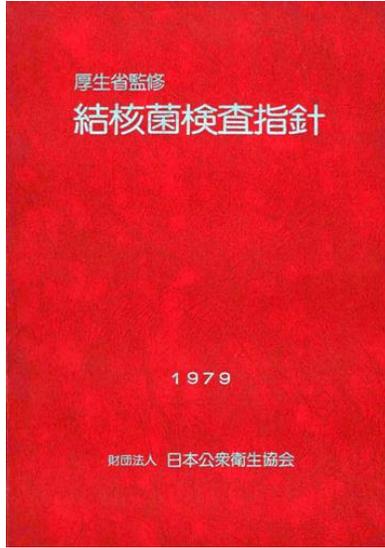


南京都病院

臨床検査科

福田 修

1950年  
結核菌検査指針  
刊行



# 検査科としての役割・・・

細菌学的バイオマーカーとして活用いただくこと！

- 塗抹は迅速、でも感度は低い
- 培養は高感度、でも時間がかかる
- 培養を経ずして迅速に治療効果判定ができないか・・・



# Diagnostic Utility of a Mycobacterium Multiplex PCR Detection Panel for Tuberculosis and Nontuberculous Mycobacterial Infections

Yoshifumi Uwamino,<sup>a,b</sup> Akio Aono,<sup>c</sup> Yu Tomita,<sup>d</sup> Kozo Morimoto,<sup>e</sup> Masahiro Kawashima,<sup>f</sup> Hirofumi Kamata,<sup>g</sup> Yuka Sasaki,<sup>f</sup> Hideaki Nagai,<sup>f</sup> Naoki Hasegawa,<sup>b</sup> Satoshi Mitarai<sup>c</sup>

検体から直接、28菌種の同定が可能！

[体外診断用医薬品]

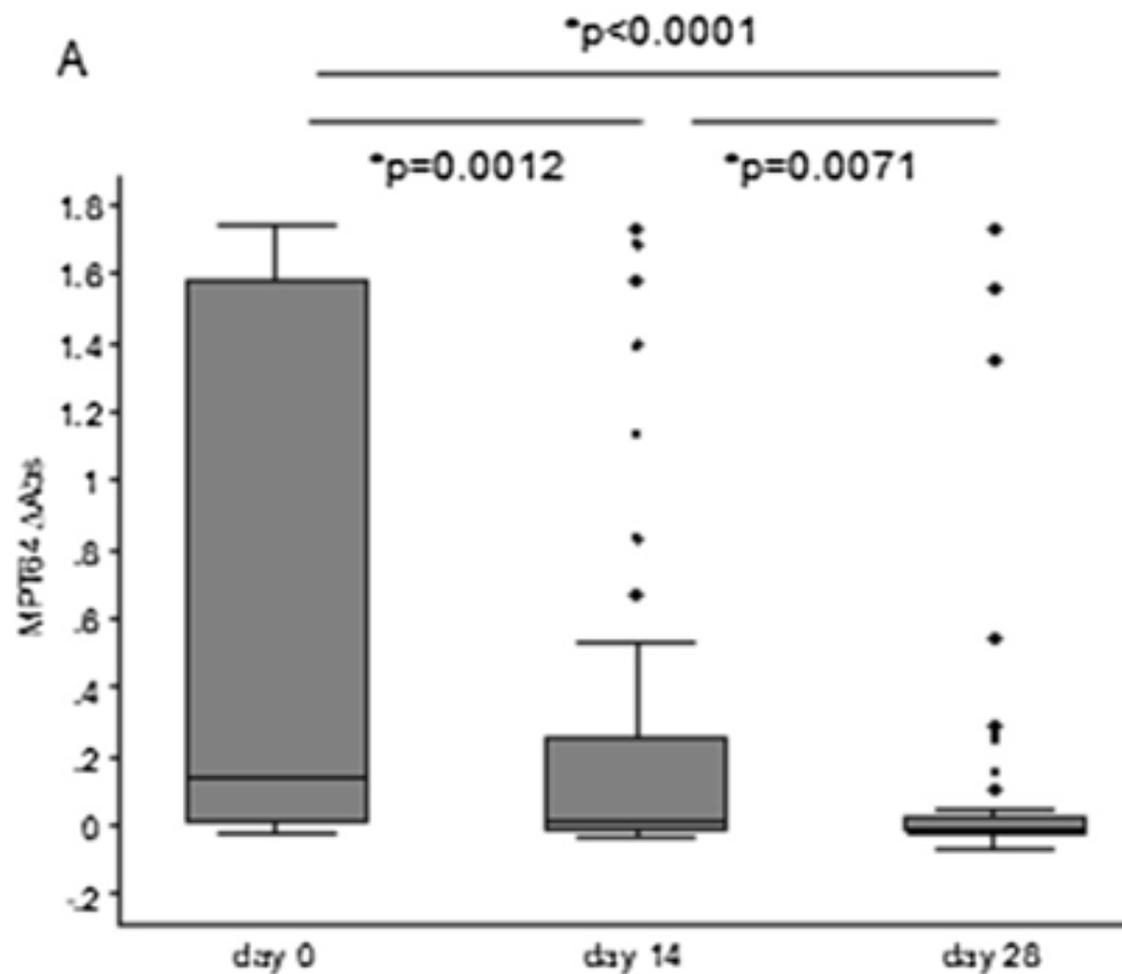
製品名： MEBGEN™ 抗酸菌核酸同定 キット  
承認番号： 30600EZX00020000  
使用目的： 喀痰又は培養菌中の抗酸菌 (*M. tuberculosis*, *M. tuberculosis* var. BCG, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. chimaera*, *M. kansasii*, *M. abscessus* subsp. *abscessus*, *M. abscessus* subsp. *bolletii*, *M. abscessus* subsp. *massiliense*, *M. chelonae*, *M. gordonae*, *M. xenopi*, *M. fortuitum*, *M. szulgai*, *M. marinum/ulcerans*, *M. scrofulaceum*, *M. simiae*, *M. asiaticum*, *M. lentiflavum*, *M. nonchromogenicus*, *M. shimoidei*, *M. terrae*, *M. shinjukuense*, *M. mucogenicum*, *M. peregrinum*, *M. trivialis*, *M. malmoense*, *M. heckeshornense*) DNA の検出 (結核又は非結核性抗酸菌感染の診断の補助)

測定原理： PCR-rSSO 法

包装単位： 96 回包装

有効期間： 12 箇月

# MPT64 production during anti-TB treatment



MTB培養結果を予測できるかも？

Int J Infect Dis. 2020 Jul;96:244-253.

# 結核診断は総合的に判断される

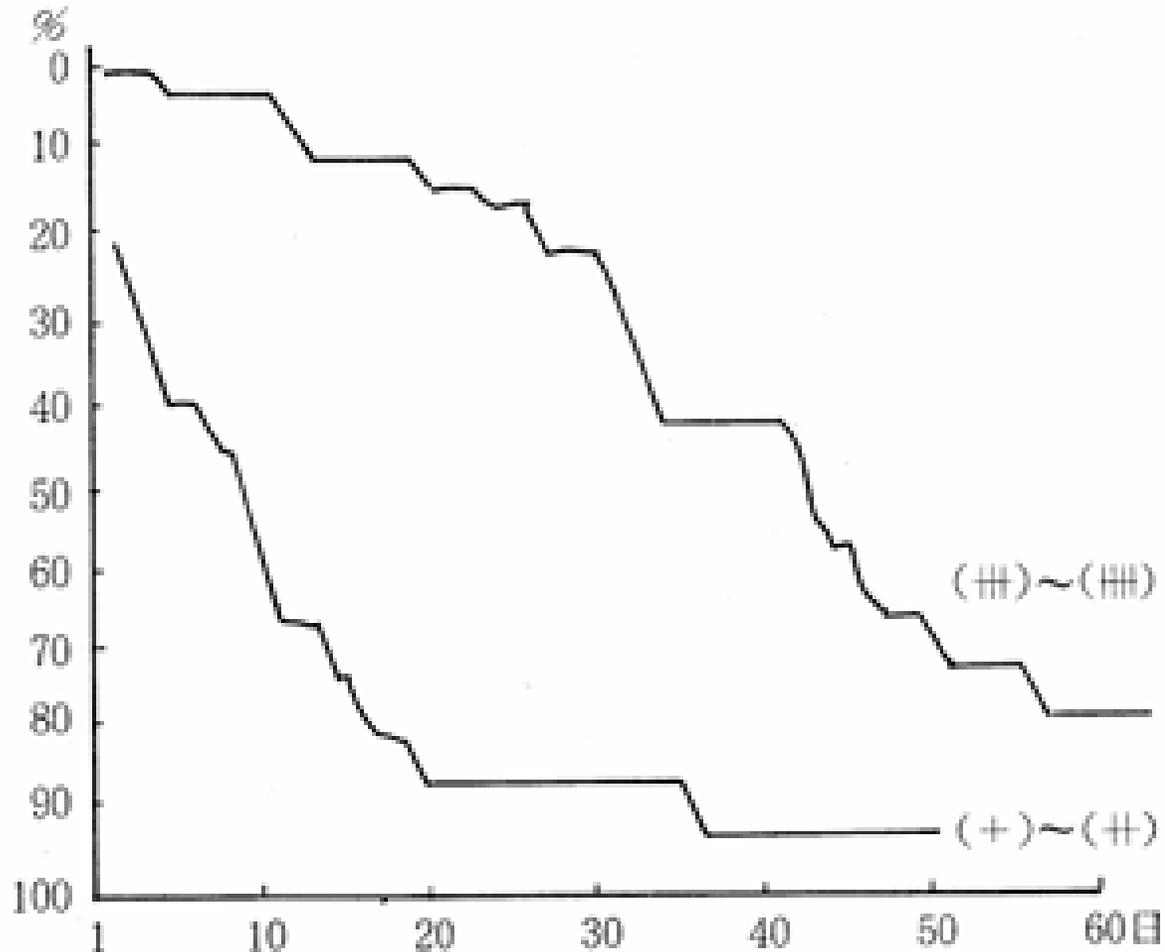
- 画像
- IGRA
- 病理組織診断
- 遺伝子検査 など

検体からの**病原体の検出**が確定診断

喀痰塗抹陽性患者は感染性が高い

Bull Int Union Tuberc. 1975;50(1):90-106.

# 結核菌陰性化の推移



治療開始後の排菌量は、  
ほぼ対数直線的に減少する

Kekkaku 60 538-543, 1985.

# ニューキノロン薬は結核をマスクする

Thorax. 2006 Oct;61(10):903-8.

Int J Tuberc Lung Dis.2012 Sep;16(9):1162-7.

# PCRの感度

塗抹陽性検体では、ほぼ**100%**

塗抹陰性検体では培養法と感度が同等～やや劣る

検査前確率の低い塗抹陰性検体には、  
むやみに検査を実施することは慎むべきである

結核 96 (3) 93-123, 2021.

# 塗抹検査

(smear)

検体中の抗酸菌の有無・菌量を知れる

検査感度や検査法の標準化が課題



検体採取

塗抹

培養

同定

感受性

下気道から喀出された検体なら、  
膿性度は気にしない！？

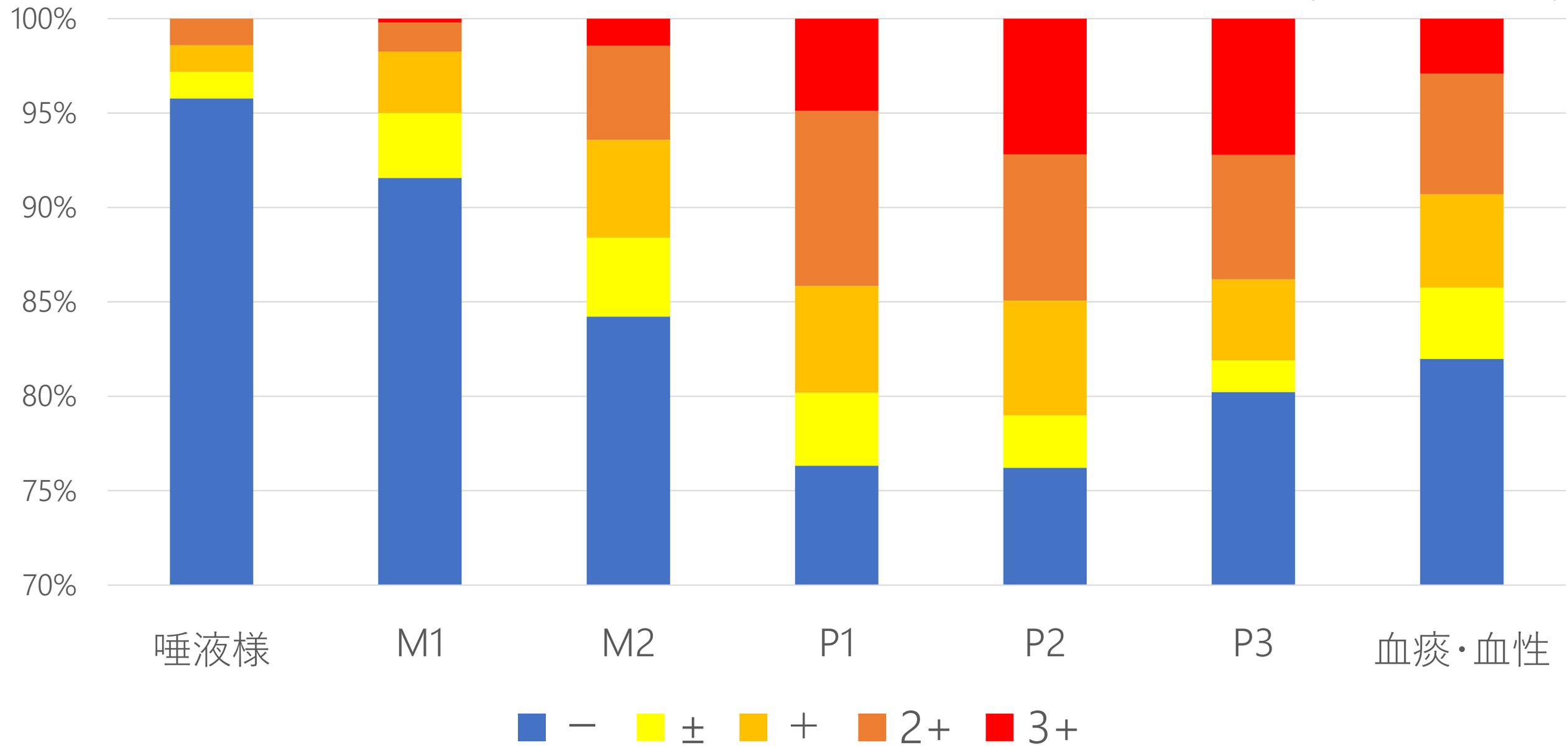
Diagn Microbiol Infect Dis. 2022 Nov;104(3):115773

唾液でしても、**1/3**しか塗抹陽性にならない

Medical Technology 47 (2) 115-118, 2019.

# 喀痰品質評価（Miller & Jones分類）と抗酸菌検出割合 (n:13044)

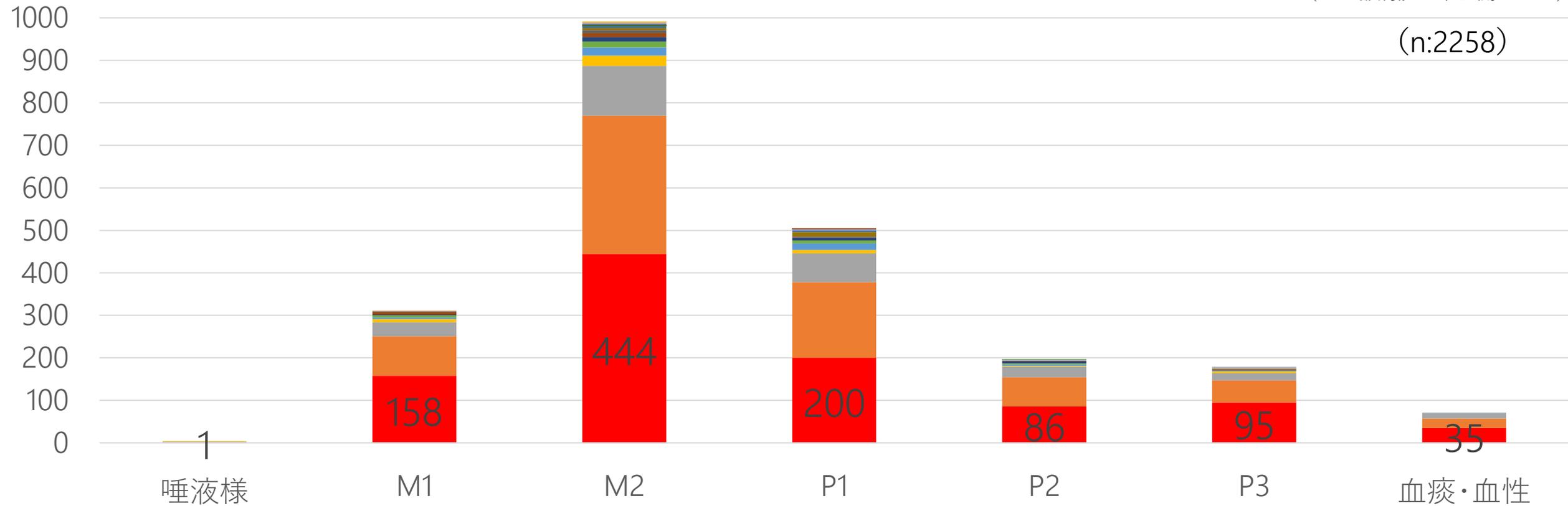
(南京都病院 未公開データ)



# 喀痰品質評価（Miller & Jones分類）と抗酸菌菌種同定の内訳

（東京都病院 未公開データ）

(n:2258)



- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Mycobacterium avium*
- *Mycobacterium intracellulare*
- *Mycobacterium gordonae*
- *Mycobacterium abscessus*
- *Mycobacterium sp.*
- *Mycobacterium paragordoniae*
- *Mycobacterium kansasii*
- *Mycobacterium avium complex*
- *M. avium + M. intracellulare*
- *Mycobacterium fortuitum*
- *Mycobacterium lentiflavum*
- *Mycobacterium mucogenicum/phocaicum*
- *Mycobacterium peregrinum*
- *Mycobacterium chelonae*
- *Mycobacterium nonchromogenicum*
- *Mycobacterium lentiflavum*
- *Mycobacterium neoaurum*
- *Mycobacterium goodii*
- *Mycobacterium wolinskyi*

# 直接塗抹+チール・ネルゼン染色

厚生省監修

## 結核菌検査指針

1979

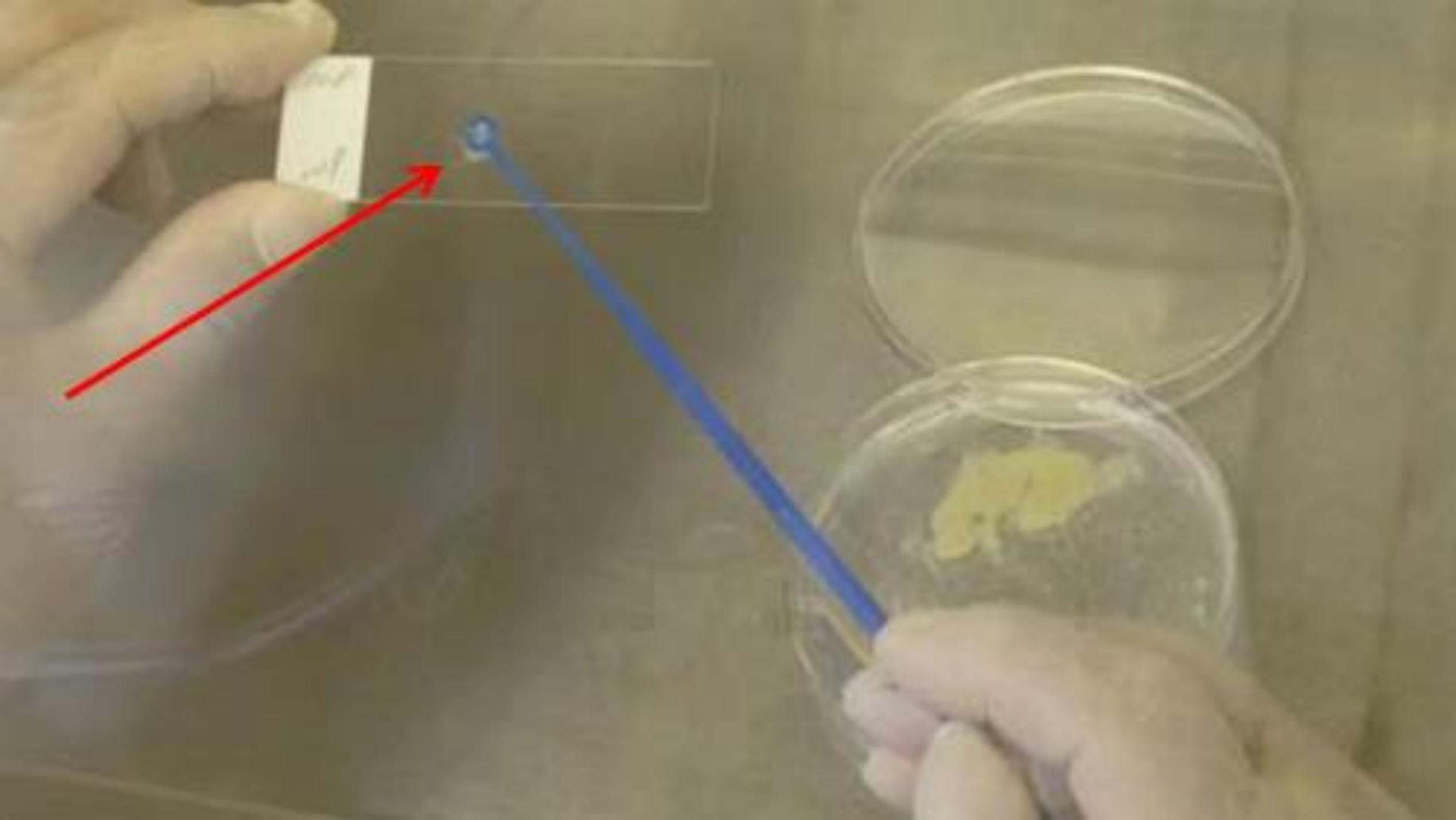
財団法人 日本公衆衛生協会



検体のどこに菌がいるのかわからない・・・

チールの鏡検は1000倍で300視野以上を・・・

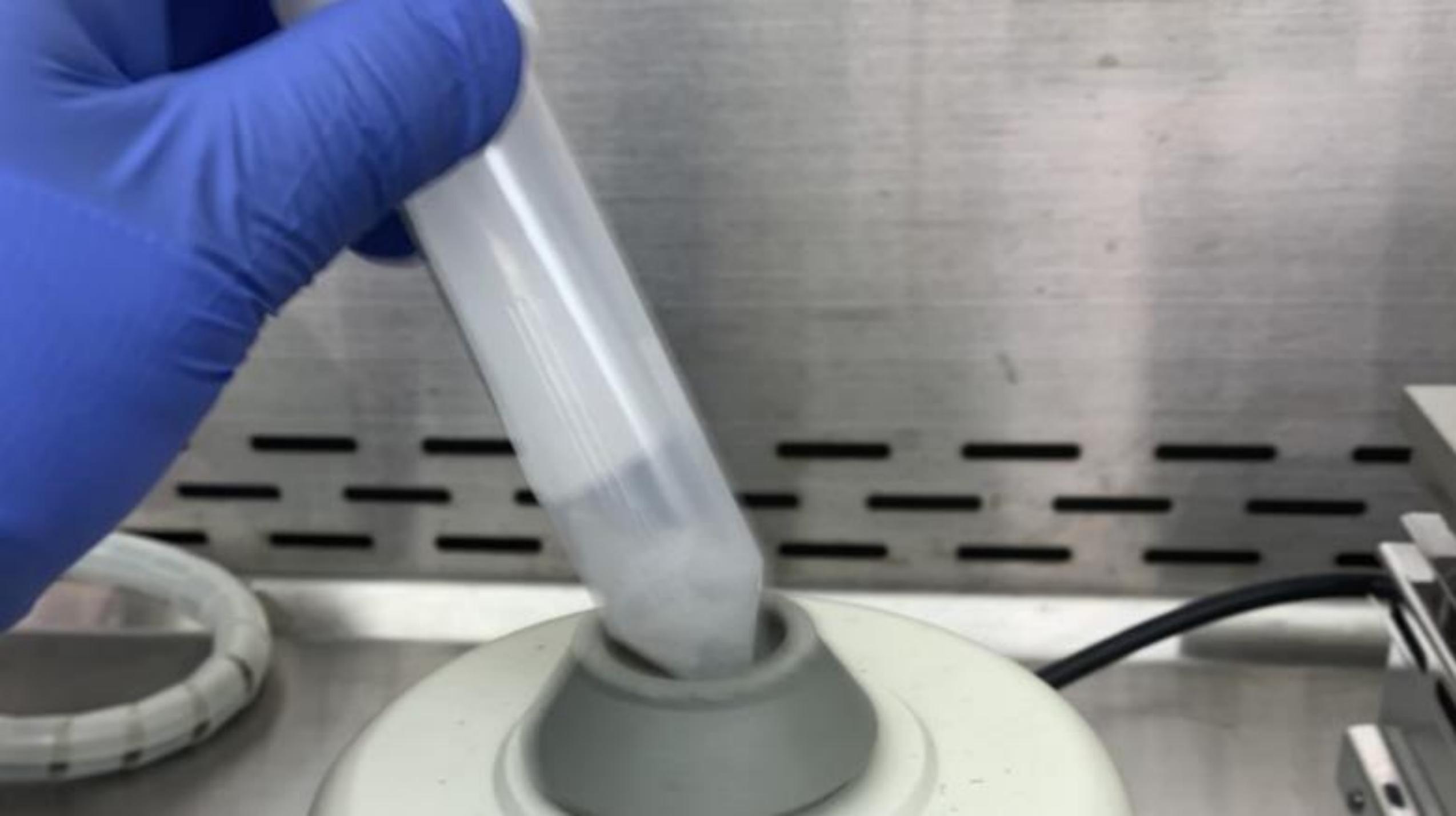
とほほほ・・・





重なると見にくい！！

チール・ネルゼン染色、1,000倍



3,000G、20分間で...

95%

Medical Technology 47 (2) 115-118, 2019.

均質化集菌法は…

直接塗抹法に比し、**20%** 高感度！

J Clin Microbiol. 1999 Nov;37(11):3564-8.

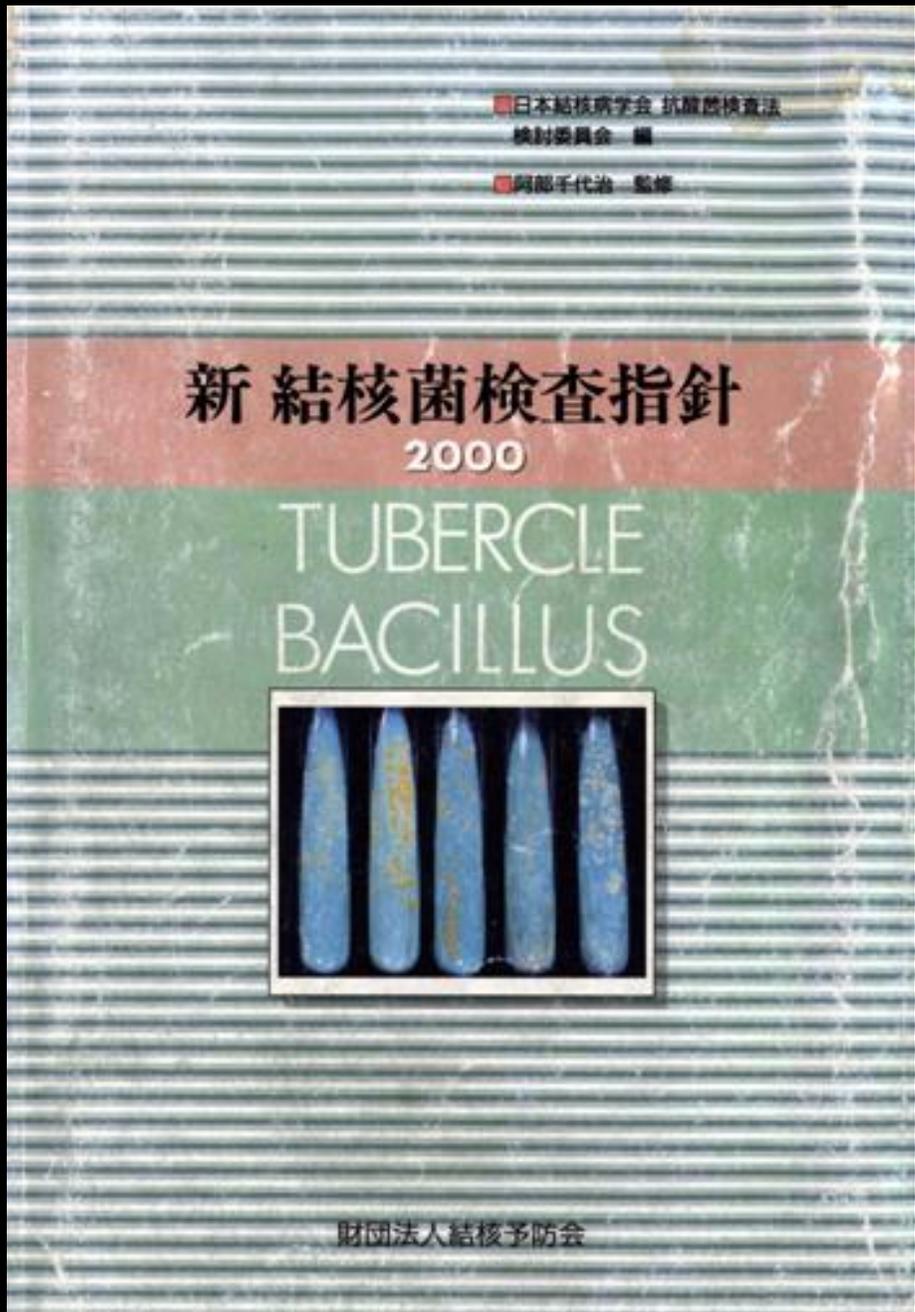
BMC Infect Dis. 2011 May 13;11:125.

**Table 2** Smear results for acid-fast bacilli

	Smear(+)	Smear(-)	Total
1999 Direct smear	1,186 (21.7%)	4,279 (78.3%)	5,465 (100%)
2000 Collective smear	1,438 (27.8%)	3,737 (72.2%)	5,175 (100%)

1999 vs 2000  $p < 0.01$  (Chi square test)

# 均質化集菌塗抹+蛍光染色



蛍光の鏡検は200倍で30視野以上  
光ったやつが、いつも抗酸菌とは限らない・・・

とほほほ・・・

悪



良

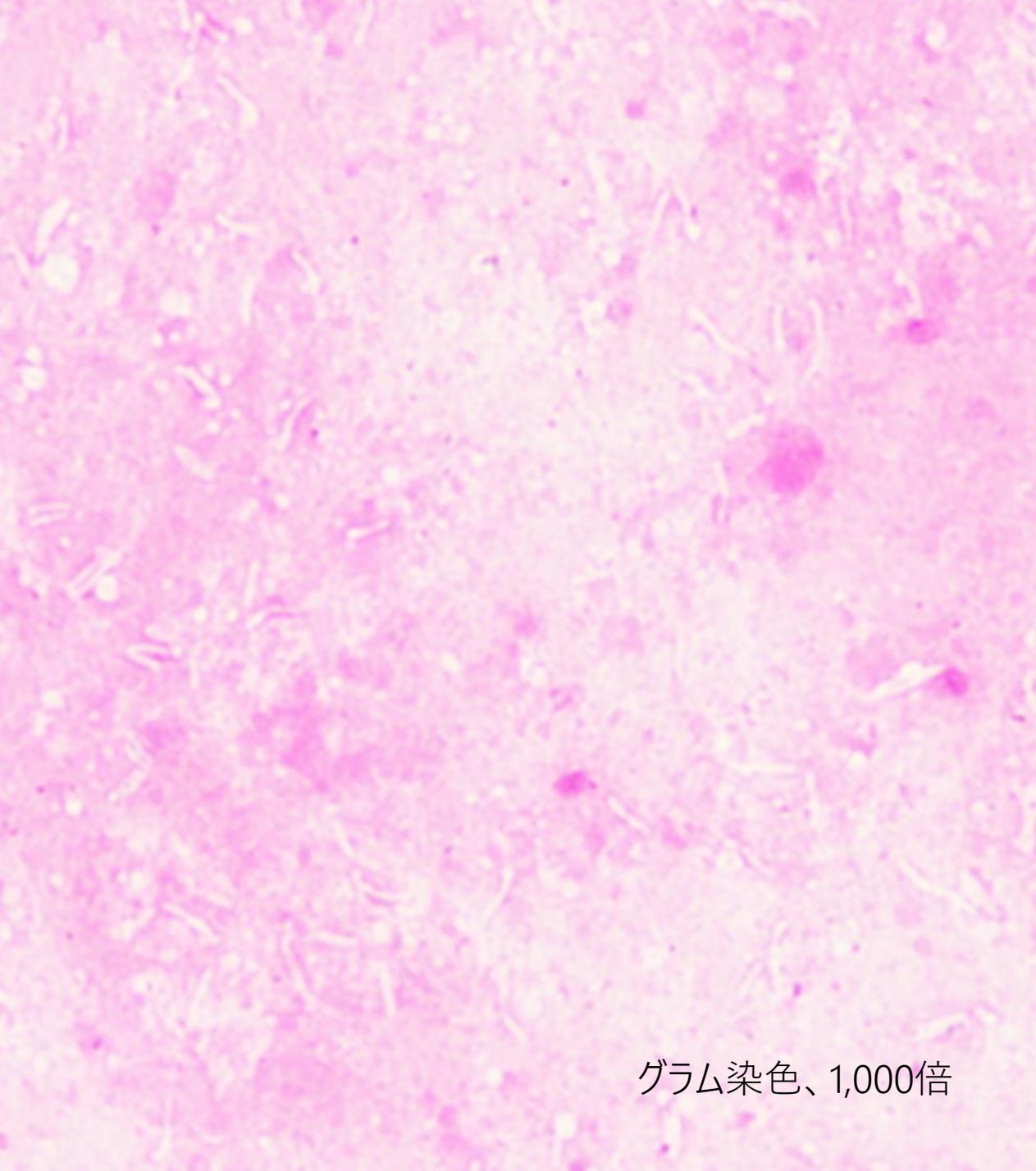


# 抗酸菌

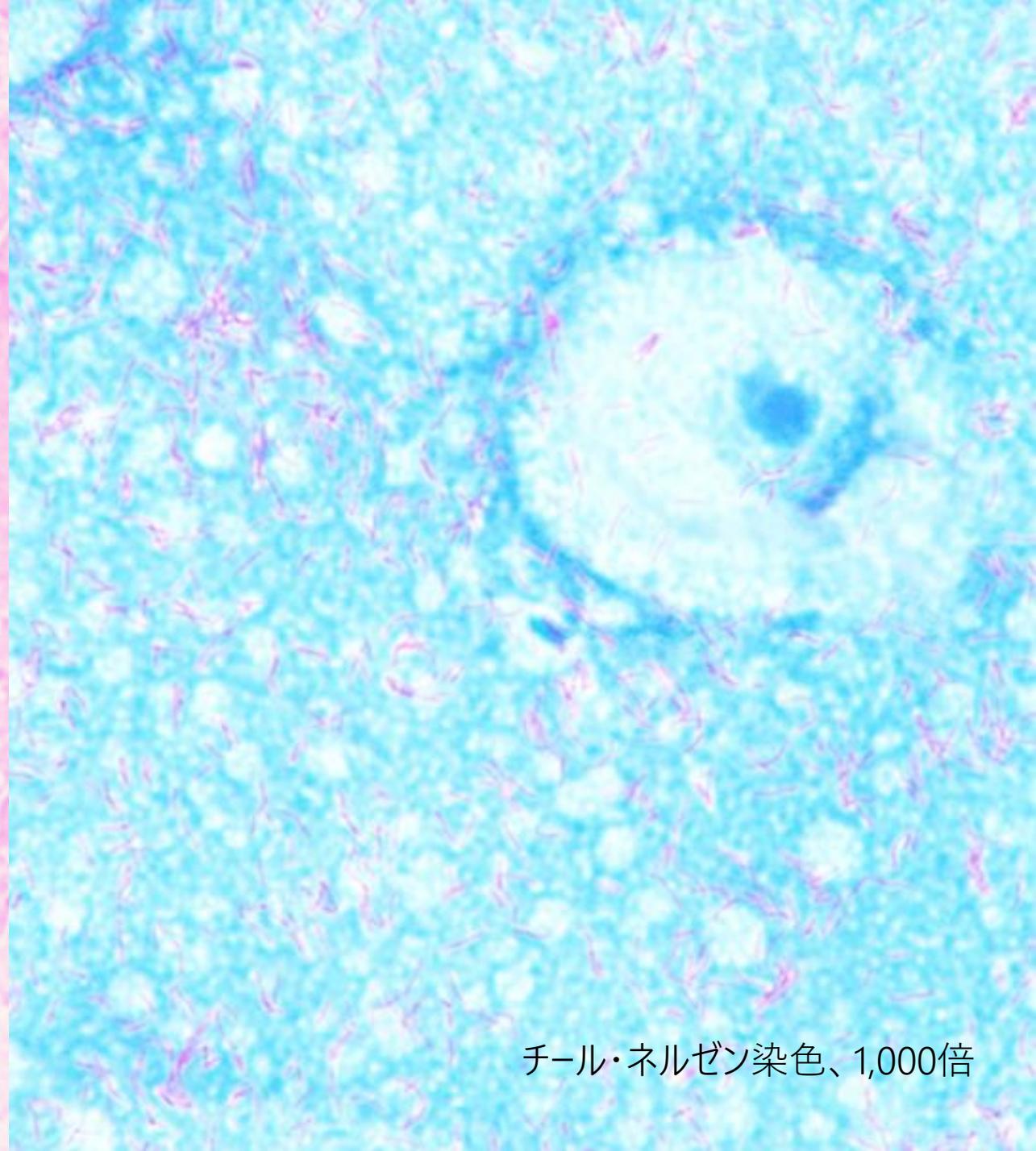
= acid fast bacilli

- マイコバクテリア属
- ノカルジア属 など

一般的な細菌がアニリン系色素染色液により容易に染まり、かつ染められた菌体が酸やアルカリ、アルコール液により瞬時に脱色するのに対して、これらの色素水溶液では難色性であり、媒染剤と加熱処理といった方法を添加することにより染色が可能となる性質のことを抗酸性という



グラム染色、1,000倍



チール・ネルゼン染色、1,000倍

# QUIZ !

## 抗酸菌はどこにいる？

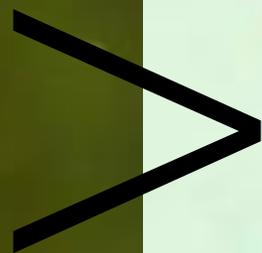


チール・ネルゼン染色、1,000倍

QUIZ !

抗酸菌はどこにいる？

蛍光法



Z-N法

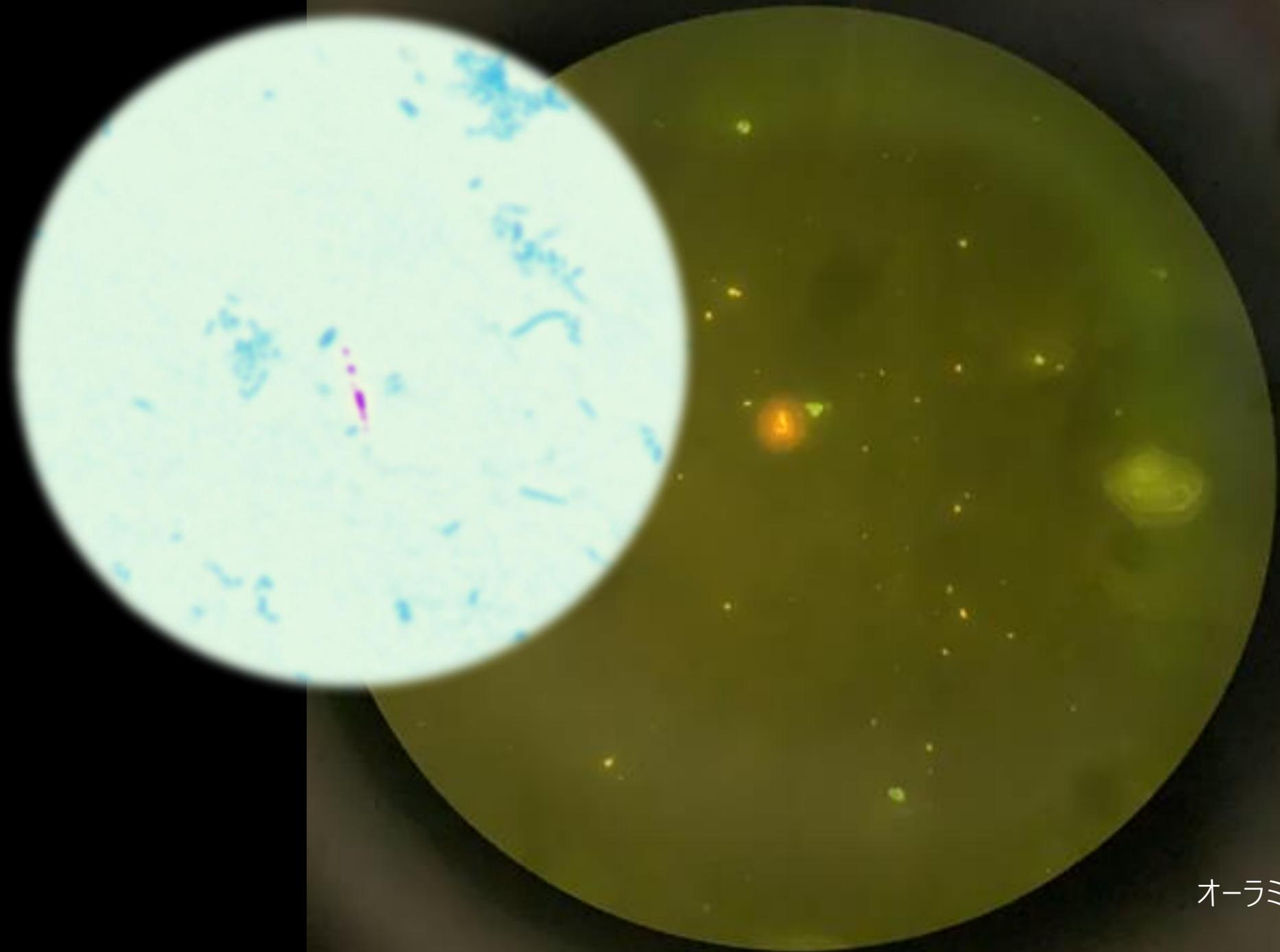
(Ziehl-Neelsen)

感度 10%↑

Review Lancet Infect Dis. 2006 Sep;6(9):570-81.

オーラミン・ローダミン染色、200倍

チール・ネルゼン染色、1,000倍



オーラミン・ローダミン染色、200倍

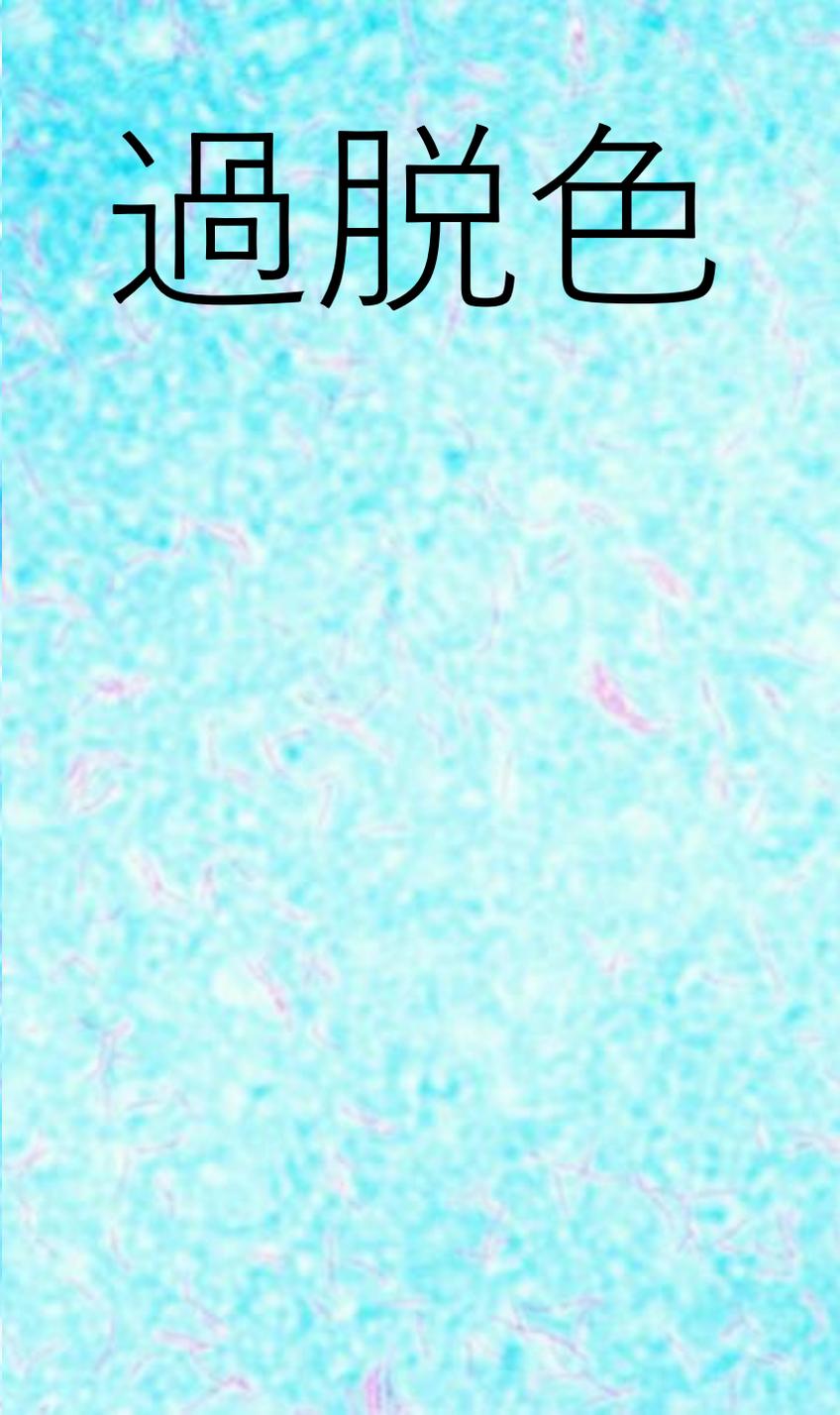
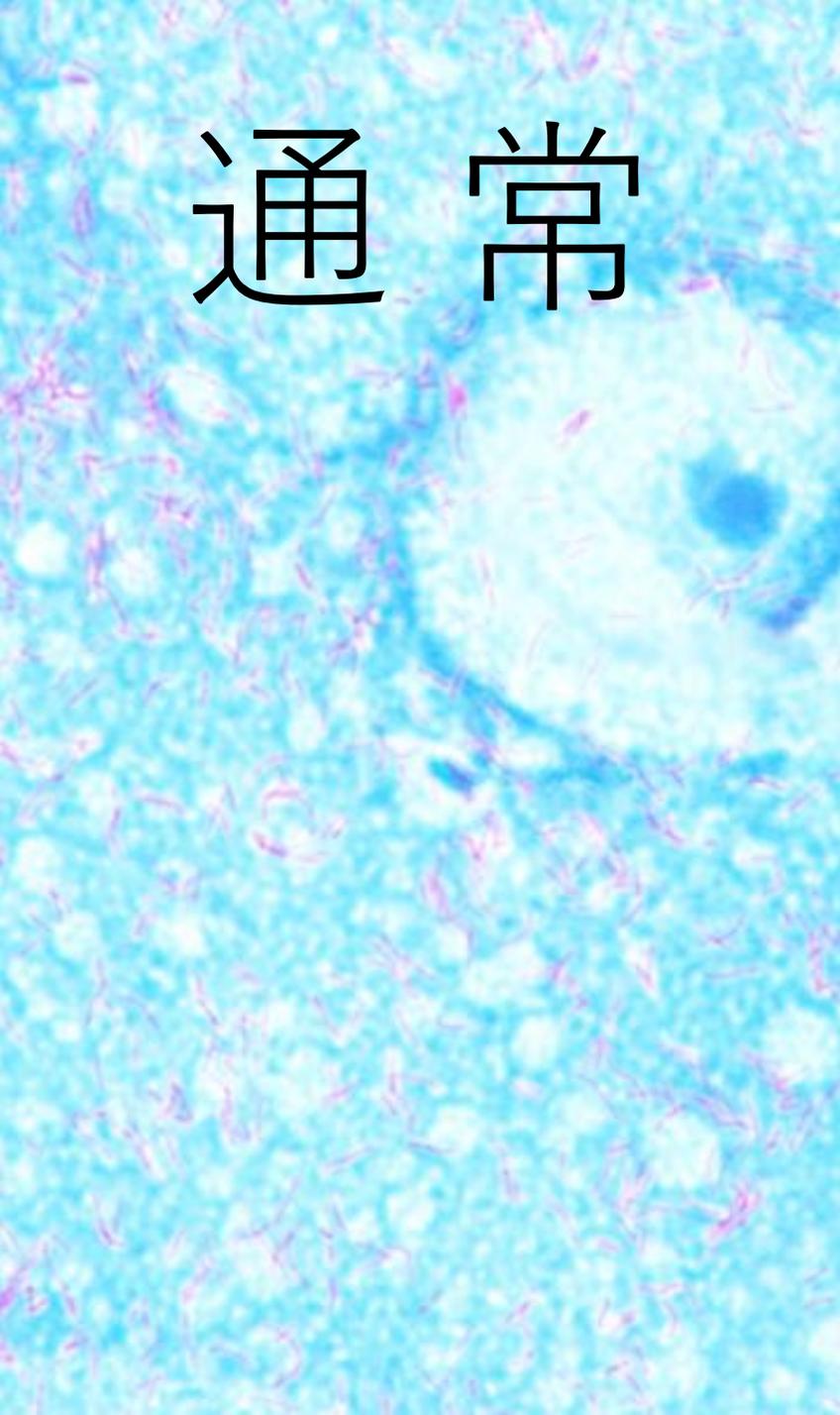




通常

過脱色

過固定



チール・ネルゼン染色、1,000倍

# 外部委託時における注意点

精度の高い集菌塗抹と蛍光法の組合せを依頼

検体性状の評価は自施設で

陽性時の検査センターからの連絡体制



検体採取

塗抹

培養

同定

感受性

南沢通病院

ありがとうございました

