

感染症の検査方法

臨床現場において、感染性の病原体によって引き起こされる臨床兆候は日常的に見られます。個体情報、病歴、身体検査所見を総合して、最も関与が疑われる病原体から順位付けして鑑別診断表を自分で作成していきます。たとえば、ワクチン歴、一般検査（CBC）、血清化学検査、尿検査、X線検査、超音波検査の成績から感染症が推定されます。しかし、一般的には、治療、予防、人畜共通感染症の問題に適切に対処するために確定診断するのが望ましいです。確定診断の最良の方法は、感染因子の検出にありますので、正しい検出を試みましょう。

1 寄生虫の検査

糞便検査は消化器及び呼吸器の寄生虫性疾患の診断を進める際に利用されます。手技としては、直接および生理食塩水塗抹、染色塗抹、糞便浮遊法、ペールマン法が最も利用されます。

（1）直接塗抹法

直接生理食塩水塗抹によって、運動性原虫（ジアルジア、トリコモナス）の観察が可能となります。マッチ棒の頭を覆う程度の量の糞便を1滴の生理食塩水とよく混和します。カバーガラスを載せた後、100倍の倍率で観察し、運動性原虫を検索します。

（2）塗抹染色法

下痢を呈している場合は糞便薄層塗抹標本を作成します。検査材料は白血球を検出する可能性を大きくする意味で可能なら直腸からスワブを採取します。滅菌綿棒に生理食塩水を滴下すれば肛門の通過が容易になり、また、細胞の形態的特徴にも影響はありません。スワブはスライドガラスの上で何度も回転させ、厚さにばらつきのある塗布部分を作ります。風乾後、Diff-Quickあるいはギムザ染色で染色すると、各種細菌や原虫が確認できます。なお、クリプトスポリジウムの検出には上記方法で塗抹、風乾後、抗酸菌染色を行います。

（3）糞便浮遊法

糞便中のシスト、オーシスト、虫卵の検出感度を上げるためには、以下の方法で濃縮し、検出します。本法は原虫シスト検出に最適で、臨床現場における日常的な浮遊法としては優れたものです。一方、糞便遠沈法は、ほとんどのシストと虫卵を回収しますが、同時に糞便残さが混入します。糞便遠沈法は吸虫卵の検査法としては浮遊法よりすぐれています。

* 硫酸亜鉛遠心浮遊法

- 1 糞材料1gを15ml容の尖底試験管に採取する
- 2 ルゴールヨウ素液を8滴加えてよく攪拌する。
- 3 7～8mlの*硫酸亜鉛液（比重1.18）を加えてよく攪拌する
- 4 表面張力でわずかに盛り上がるまで硫酸亜鉛溶液を加える
- 5 試験管頭部にカバーガラスをとり、検査のため清浄なスライドガラス上に載せる
- 6 100倍でカバーガラス下の全視野について虫卵、オーシスト、子虫の有無を検査する

* 670mlの蒸留水に硫酸亜鉛330gを加える

(4) ベールマン法

本法は糞便中の運動性子虫を検出するのに用いられます。

* ベールマン法

大型の漏斗（尖底の適当なガラス器でもよい）の上部に篩を置き、その上にガーゼ（綿布）をしき、材料をのせる。材料の下部が浸る程度に温水を入れ、この装置全体を保温する。あらかじめ下のピンチコックだけをしめておき、子虫の採取時には上をしめたのち、下のコックを開ける。

運動の不活発なもの（回虫、鉤虫）は水底に沈むが、活発なもの（糞線虫など）は液面近くに見られる。

(5) 寄生虫検査のための糞便の保存方法

糞便は検査まで冷蔵保存し、凍結させてはいけません。試料を追加検査のため検査施設に送付する場合もしくは48時間以内の検査が不可能な場合は、保存処理する必要があります。通常10%ホルマリンが使用され、臨床現場では糞便1容にたいして、10%ホルマリン9を加えて十分に混和します。

2 細胞診

滲出液、骨髓吸引、血液塗抹、滑液関節液、胃壁擦過標本、十二指腸液、尿、前立腺洗浄液、気道洗浄液、糞便塗抹標本、吸引生検標本の細胞学的評価は、感染因子の検査に関して安価で、極めて有効な手段です。感染因子を細胞学的に証明することは確定診断に直結しています。細菌の形態及びグラム染色の所見は、培養や感受性試験の結果を待つ間、抗生物質を経験的に選択するのに役に立ちます。

大部分の感染症微生物の検出には、薄層塗抹標本が適しています。血液の場合以下のように作成します。ほぼマッチの頭大の血液1滴を清浄なスライドガラス上の一端にのせます。もう1枚のスライドガラス上に約30度の角度で接地させ、血液まで引き戻して引きガラスに接触させます。血液が引きガラスの幅1杯に広がったところで、ガラスを滑らかにかつ素早くスライドの長辺方向に押しやります（押し塗抹標本）。試料が血液以外の時は引きスライドガラスを静かに試料の上に重ね、次いで滑らかにかつ素早く水平方向に引き延ばします（引き塗抹標本）。これとは別に、22ゲージ注射針の先端を何度か試料の中に通し、スライドガラスに沿って引き伸ばす方法もあります。気道洗浄液、前立腺洗浄液、尿、体液、脳脊髄液（CSF）中の細胞を染色前に2,000×gで5分間遠心します。CSFに関しては、臨床現場ではスライドガラスへの細胞付着を良くするため遠心前に22%アルブミン液もしくは正常血清を1滴加えます。可能なら常に複数の塗抹標本を作成します。スライドガラス上に塗抹後、試料を室温で風乾し、操作上必要な場合は固定して染色します。ただちに染色しないスライドガラスは、100%メタノール中に浸漬して固定し、風乾します。

細胞学的な検査材料は一般的な染色液で染色します。そのほか、ライトギムザ、Diff-Quick、グラム染色、抗酸菌染色、免疫細胞化学的方法（免疫学的検査法）などがあります。

(1) 細菌性疾患

細菌性疾患が疑われる場合試料は無菌的に採取し、まず最初に培養します。細胞学的検査用にスライドガラスを用意して、1枚はまずライトギムザあるいはDiff-quickで染色します。細菌が確認された場合は、グラム陰性、陽性を分別するためもう1枚のスライドガラスでグラム染色を実施します。この情報は、抗生物質を経験的に選択する助けとなります。塗抹標本における細菌は少数しか認められないことがあり、そのため、細胞学的に微生物が同定されなくてもその診断は完全には否定されません。好中球やマクロファージの増加が認められる材料は、すべて細菌培養を行うべきです。

いくつかの微生物は、検出するために特殊な染色法が必要です。たとえば、繊維状でグラム陽性桿菌が確

認められた場合、抗酸菌染色が *Actinomyces* (放線菌；非抗酸性) と *Nocardia* (ノカルジア属；抗酸性) の分別に役に立ちます。マクロファージあるいは好中球が認められた場合は、細胞質内の *Mycobacterium spp.* (マイコバクテリウム属) 検索のため、抗酸菌染色が必要になることがあります。胃壁を擦過して作製した細胞検査試料中の *Helicobacter spp.* (ヘリコバクター属) は、ワルチン・スタリー銀染色を施すと、観察されます。*Haemobartonella felis* もしくは、*H. canis* は一般的な染色法 (特にライトギムザ) で赤血球表面に観察されます。なお、*Haemobartonella* は、EDTA で保存すると赤血球表面から離脱し、検出できなくなります。採血は耳介周辺から行い、薄層血液塗抹標本を作成します。ヘパリン処理シリンジで採血すれば簡単です。

(2) リケッチア性疾患

Ehrlichia spp. (エールリヒア属) は末梢血、リンパ節吸引試料、骨髓吸引試料、関節液中の細胞質内に認められることがあります。*Ehrlichia spp.* の桑実胚は異なる種類の細胞に観察されます。*Ehrlichia spp.* 桑実胚の検出には、ライト染色や Diff-Quick 染色よりもライトギムザ染色の方が優れています。血管を被覆する内皮細胞中の *Rickettsia rickettsii* (紅斑熱リケッチア) は免疫組織化学的染色で検出されます。

(3) 真菌性疾患

真菌性疾患が疑われる場合、病変部の擦過、押捺標本を作り、95%エタノールで固定後、PAS染色を行い、菌体を確認します。その形態から診断します。

(4) 皮膚の寄生虫

Cheyletiella spp. (ツメダニ属)、*Demodex spp.* (ニキビダニ属)、*Sarcoptes scabiei* (ヒゼンダニ属)、*Notoedres cati* (ネコショウコウヒゼンダニ)、*Otodectes cynotis* (ミミヒゼンダニ) が最も一般的な小動物の皮膚疾患です。寄生虫の形態的な特徴にもとづいて確定診断がされます。ツメダニでは痂皮部分にセロハンテープ片を押し当て、これをスライドガラス上に移し、鏡検することによって診断します。ニキビダニは、皮膚の深層搔爬や小胞の分泌物中で最も高率に検出され、ツメダニ、ヒゼンダニ、ネコショウコウヒゼンダニは表層の広範な搔爬で検出されます。ミミヒゼンダニあるいはその虫卵は外耳道の耳道腺分泌中に検出されます。

(5) 全身性原虫疾患

これらの原虫を形態的に証明することによって疾病の仮診断あるいは確定診断します。*Leishmania spp.*、*Babesia spp.*、*Hepatozoon canis*、*Cytauzoon felis* の検索には血液薄層塗抹標本のライトギムザ染色あるいはギムザ染色を利用します。耳介血管から採血を行うと、血中に検出される原虫の検出率が増大します。*Babesia spp.*、*Cytauzoon felis*、*Toxoplasma gondii*、*Noplasma caninum* は犬で類似の症状を惹起しますが、これらのタキゾイドは形態的に識別が不可能であるため、これらを鑑別するには血清学的検査あるいは免疫組織化学的染色が必要となります。なお、*T. gondii* と *N. caninum* を除いて、原虫が全身に及ぶことはまれです。

(6) 組織学的検査法

感染性疾患が疑われる動物から採取した組織は、いくつかの異なる方法で検査することが可能です。細菌学的検査用の組織押捺標本は、断面の余分な血液をペーパータオルで静かに吸い取って除去し、次いで顕微鏡用スライドガラス上に組織を何度か軽く押しつけるようにして作成します。

その後、組織標本は凍結するか、10%緩衝ホルマリン液に保存します。日常的な病理組織学的検査はホルマリン固定組織で実施されます。病理組織学的検査室における適切な染色法の選択のために、最も疑わしい感染病原体を推測し検査機関に通知するのがよいでしょう。

(7) 培養検査法

細菌、真菌、ウイルス、原虫の一部は培養が可能です。一般的には培養が陽性であることで確定診断が行われます。細菌培養は最適な薬物療法を決定するため薬剤感受性試験と組み合わせて行われます。培養の成功は、汚染のない最適な材料を採取すること、病原微生物の死滅あるいは非病原微生物の過剰増殖を最小限とするために、可能な限り速やかに材料を試験施設に輸送することにかかっています。

皮膚、耳道、口腔、鼻腔、気管、糞便、腔など正常菌叢のおおくみられる生体器官の培養結果は、解釈が最も難しくなります。培養結果陽性と炎症細胞が確認されたなら、細胞学的には微生物が疾患を引き起こしていると推定されます。分離菌が単一で、それが抗菌剤に耐性の場合にはなおさら、複数の感受性菌が分離される場合よりも、疾病を引き起こしている感染原因である可能性が高くなります。日常的な好気性菌の培養は材料を通常の滅菌綿棒で採取し、スワブを湿潤状態に保ち採取後3時間以内に適切な培地に接種します。3時間以上遅延することが想定される場合は、輸送培地を用います。4時間以内に培養することができない場合、細菌増殖を防止するためスワブを冷蔵あるいは冷凍します。ある細菌が他のものよりも急速に増殖し、条件の厳しい菌を覆い隠してしまう可能性があるためです。

嫌気性菌は、10分以内に培地に接種可能であれば、材料を注射筒を用いて無菌的に採取し、針先をゴム栓で塞ぐなどします。検査までに時間的制約があるような場合は、一般に輸送培地が必要になります。これらの培地は4℃に保存すれば48時間はほとんどの嫌気性菌が保持されています。

血液培養試料は、体表を消毒した後、大きな静脈から無菌的に採取します。一般的には5mlの血液を3回、症状の安定した動物では24時間以上の間隔で、菌血症では1～3時間の間隔で採取します。

寄生虫検査及び細菌検査はまずは鏡検しましょう！顕微鏡、染色液、スライドグラス、カバーガラスなどがあれば容易に行えます。寄生虫などはかなりの診断が簡易な方法でできると考えられます。早い診断は早い治療ができるいいチャンスではないでしょうか？

臨床抗菌薬の使い方

抗菌薬の選択のためには、培養と感受性の成績を得ることが理想なのですが、実際には実施されないことが多いです。重篤かつ急性の感染症については、培養成績が得られる前に抗菌薬の選択を行わざるをえません。

経験的に抗菌薬を選択するには、それぞれの組織器官に関して一般的な病原体（グラム陽性菌、グラム陰性菌、好気性菌、嫌気性菌）を知ることが必須で、抗菌薬は原因菌に対して的確な作用機序を示すとともに、感染組織において、有効な濃度に達するものでなくてはなりません。静菌的な薬剤が最大限の効果を発揮するためには、患者の免疫応答が前提であり、免疫抑制下にある動物の感染症に対する効果は限定的です。

治療には適切な間隔及び確実な抗菌薬の投与が重要です。また、抗菌薬が有する毒性作用は、重要検討事項です。

抗生物質・合成抗菌薬は今、耐性菌の問題でたちごっこになっています。安易に新しい抗生物質・合成抗菌薬を使うことは、耐性菌を生む温床となっています。また、直ったからといって、投薬を途中で中断することも、耐性菌を生みますので、好ましくありません。最終的には、薬剤感受性検査をし、適正な使用をお願いいたします。

届出書類の提出方法

栃木県の家畜保健衛生所では各種届出書類を県のホームページで直接ダウンロードできます。県のホームページ→出先機関一覧→県央家畜保健衛生所→お知らせ・行政情報獣医事情報をご覧になり、そして、必要な書類をダウンロードしてください。獣医書の書類は、開設届の他、変更届があります。変更届は★診療獣医師を追加・変更した場合★管理獣医師を変更した場合★軽微な増改築による構造設備の変更★エックス線装置を変更した場合★個人経営から法人格に変更があった場合などにも必要になります。ご注意ください。書類は事前にファックスで審査いたしますので、お電話の後、ファックス願います。ホームページにもありますが、獣医事関係の各種届出は届出事由が発生してから10日以内にお願いいたします。正式な書類は郵送、または、直接持参ください。また、書類処理には多少のお時間をいただきますのでご了承ください。

また、獣医師は2年ごとに12月31日現在における氏名、住所、業務内容等省令で定める事項を農林水産大臣に届け出なければなりません(獣医師法第22条)。平成20年12月31日の状況を平成21年の1月31日までに提出ください。提出先は畜産振興課(TEL028-623-2342・028-623-2343・FAX028-623-2353 〒320-8501宇都宮市塙田1丁目1番20号)または、栃木県県央家畜保健衛生所まで御提出ください。

届出の種類	診療施設開設届	診療施設届出事項変更届	診療施設休止(廃止)届	構造設備の概要	診療施設付近の見取り図	診療施設の平面図*	エックス線装置備付状況	診療を行う獣医師の免許証 (写し、原本照合)	法人の定款又は寄附行為
開設届	○			○	○	○	○	○	△
届出事項変更		○		△		△	△	△	
休・廃止届			○						

[注] ○：必ず提出していただくもの。△：該当する場合提出していただくもの。

*：居住区域、敷地内居住地域、エックス線装置を使用する室の遮へい物等の配置状況、遮へい物の長さ、厚さ及びエックス線診療室である旨の標識等の位置を示した平面図及び側面図を添付してください。

獣医事 <http://www.pref.tochigi.lg.jp/work/kyoka/shigoto/1180336699588.html>

栃木県県央家畜保健衛生所

〒321-0905 宇都宮市平出工業団地 6-8 E-mail : kenou-khe@pref.tochigi.lg.jp
TEL 028-689-1200 FAX 028-689-1279