

# 第1回皮膚真菌症指導者講習会 テキスト

日時 : 平成25年9月29日(日)

10:00~15:30

開催場所 : 〒173-8605 東京都板橋区加賀2-11-1

帝京大学板橋キャンパス大学本館3F(317)

生物学実験室

TEL : 03-3964-2140

一般社団法人 日本医真菌学会

はじめに

皮膚真菌症の最近のトピックスは、1. 足白癬・爪白癬の罹患率が、高率であることが判明したこと、2. *Trichophyton tonsurans* 感染症が蔓延していること、3. ペットブームに伴い、*T. mentagrophytes*の変種による白癬が拡大していること、4. 免疫不全患者の増加、超高齢化社会を迎え、診断の難しい深在性皮膚真菌症が増加していること、5. 新しい抗真菌剤が開発されていることなどである。今日、日々真菌症の重要性が増していることは間違いないが、医真菌学の普及は遅れているのが現状である。このような状況のもと、日本医真菌学会では教育委員会を中心として、第1回皮膚真菌症指導者講習会を企画した。

真菌は感染しても、ウイルス、細菌と異なり強い症状を起こすことが少なく、症状は他の皮膚疾患に類似する。従って非専門医による誤診が多い。診断には顕微鏡検査で、病巢中に菌を証明し、培養により菌の同定が必要である。分子生物学の進歩した今日でも、直接検鏡と培養は、医真菌学のGold standardである。臨床医が行う病原真菌の同定法は、分離された菌が単にどのような菌種であるのかではなく、正しく病変部位から分離されたものであるかを常に吟味しながら行うことにある。このためには日常診療で皮膚真菌症の鏡検・培養を繰り返し行い、菌の見え方、培養での菌の成長速度などを体得しておくことが大切である。

医学教育には、様々な教育技法が取り入れられているが、まだまだ手作業が主であり、「百聞は一見に如かず」といえる。本講習会が全国各地で企画されることを望んでいる。

比留間政太郎 日本医真菌学会理事長 お茶の水真菌アレルギー研究所・所長

K O H 直 接 鏡 検 法 の 実 際 の 手 引 き

帝 京 大 学 皮 膚 科 教 授

清 佳 浩

### 3 . 1 診 断 の 心 構 え

皮膚真菌症と同様の皮疹は真菌が存在しなくても生じ、ひとたび抗真菌剤による治療を開始すると菌要素を検出しにくくなる。したがって、その皮疹が真菌に起因するか否かの評価は治療に先立って決定的に重要である。一方真菌症を疑わなければ真菌検査も行わないので、誤診に直結する。

### 3 . 2 検 体 採 取

検体採取は診断能力と密接に関連する。皮疹は菌種、宿主の反応、病変の部位、あるいは前治療によって非常に多彩であるので、活きのいい菌要素が多量に存在しそうな部位を見定めて検体を採取する。病巣周辺部の鱗屑、小水疱があれば水疱蓋、爪ではなるべく健常部に近い病変部、毛は容易に抜去できたもの、あるいは毛包内から摘出した黒点を用いる。顔面、小児や乳児の白癬では安全のためにセロファン粘着テープを病巣に数回押し付けて鱗屑を採取してもよい。多くの例で菌は角質に寄生するので、出血するような検体採取は不適切である。

写 真

写真 足白癬



写真 2 このように乾燥しているところには菌はいない



写真 3 小水疱があると大量の菌が見つかる





写真 5 これは爪白癬



写真 6 変形した爪



写真 7 扁平苔癬の爪

写真 8 このようなブラックドットを採取

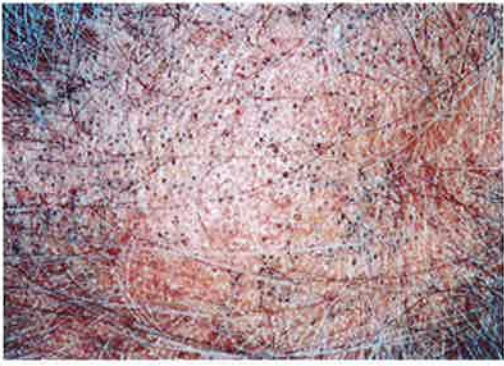


写真 9

### 3 . 3 K O H 直 接 鏡 検 法 ( K O H 法 )

本 法 は 皮 膚 科 の 後 期 研 修 医 が ま ず は じ め に 学 ぶ べ き 手 技 で あ り 、 ま た 皮 膚 科 医 が 生 涯 に わ た り 行 い 続 け る も の で あ る 。 真 菌 症 を 疑 っ て K O H 法 を 繰 り 返 す こ と で 真 菌 症 だ け で な く 皮 疹 の 見 え 方 が 変 わ っ て く る 。

操 作 性 が よ く 、 視 野 が 広 く て 明 る い 顕 微 鏡 、 K O H 液 、 ア ル コ ー ル ラ ン プ な ど 穏 や か な 加 熱 装 置 。 検 体 採 取 に 用 い る ピ ン セ ッ ト 、 刃 の な ま し て あ る メ ス の 刃 、 ニ ッ パ 型 の 爪 切 鉗 子 な ど は 各 自 使 い や す い も の を 用 意 す る 。 ス ラ イ ド ガ ラ ス 、 カ バ ー ガ ラ ス は 最 も 安 価 な 物 で よ い 。 検 体 採 取 に 用 い る 器 具 は あ ら か じ め 滅 菌 し て お く か 、 火 炎 あ る い は ア ル コ ー ル 綿 な ど で 除 菌 し て 用 い る 。 K O H 液 は 水 酸 化 カ リ ウ ム を 2 0 - 3 0 % に な る よ う に 水 に 溶 解 す る 。 こ れ に 1 0 - 2 0 % の Dimethylsulfoxide ( D M S O ) を 加 え る と 角 質 の 解 け が 速 や か に 進 む 。 市 販 の ズ ー ム 液 は 若 干 高 価 で あ る が 、 透 徹 に 優 れ 、 持 ち 運 び に も 便 利 で あ る 。

#### b) 観 察 の 実 際

細 か く し て お い た 検 体 に カ バ ー ガ ラ ス を か け 、 カ バ ー ガ ラ ス の 横 か ら K O H 液 を 浸 透 さ せ る 。 電 子 顕 微 鏡 用 品 の ヒ ー タ ー や ア ル コ ー ル ラ ン プ 、 ラ イ タ ー な ど を 用



いて沸騰しないように加温する。検体を良く溶かしてから余分な KOH 液を圧排し、薄い標本にする。菌を探す際には、100 倍で、コンデンサーの絞りをしぼってコントラストをつける。見えた構造が菌か否か見分けるには 200-400 倍で、絞りを開いて視野を明るくして観察する。両面セロファンテープはスライドガラスに貼付し、テープの上に少量の KOH 液を載せてカバーガラスを乗せる。

#### c) 評価

皮膚糸状菌は隔壁を持った、少し屈曲し、時に分枝する糸状の構造に見える。菌糸のかわりに分節分生子（孢子）の連鎖や、爪の dermatophytoma（楔状、縦走る帯状の混濁）では菌塊のみが観察されることがある。見誤りやすいものとして混入した真皮の弾性線維や、細胞膜の脂質による菌様モザイクがある。モザイクは 400 倍で絞りを開いて観察すると壁の滑らかな菌要素と異なり、幅が一定ではなく、細胞内小器官がはっきり見えない（図 4）。あるいはさらに数分でも時間を置いて観察すると溶解が進み、消失していることがある。黒色真菌症においても痂皮内に褐色の菌要素が認められることがある。

Parker-苛性カリ法：この方法は、前述の苛性カリ液（苛性カリ DMSO 液は、Parker ink が変質してしまうため、

使用できない)に Parker ink (Parker-black-inkのみが使用可能で、その他のブランド、色は染色効果が無いため使用できない)を 10~50%の割合に加えて作製する。

#### 臨床診断

マラセチアは常在真菌であるため培養法には診断的価値はない。マラセチアは毛包内では orbicularis 型孢子(球形)がほとんどで菌糸はまず認められないため、Parker Black ink KOH 染色や酸性メチレンブルー染色などの染色を行わなければ直接鏡検で孢子を見出すことは出来ない。

#### 直接鏡検

マラセチア毛包炎では教科書では数回の生検が必要と書いてあるが実際の外来診療ではなかなか施行できない。我々は水いぼをとるときのように眼科用ピンセットで丘疹をつまんで材料とし、酸性メチレンブルー染色液をかけて数分後に鏡検している。(写真2)

#### 酸性メチレンブルー染色液 組成

0.2 M 酢酸液 . . . . . 44.0 ml

0.2 M 酢酸ナトリウム . . . . . 6.0 ml

純水 . . . . . 50.0 ml

メチレンブルー . . . . . 0.06 g

From Manual of clinical microbiology fourth edition  
1985.

マラセチアブラックインク セイラー万年筆で受注生産している。

Parker black インク - KOH 染色

ズームブルー 染色液

ギムザ染色

PAS 染色

Hemacolor 染色セット などが用いられる。

検鏡のさいに顕微鏡のコンデンサーを一番上まで上げて絞りを開いて視野を明るくする。ついで菌要素が見つかったら倍率を挙げて（対物レンズ 40X）雪達磨のように単極性に分芽している胞子を確認することが、胞子を観察するコツである。認められる胞子は癩風病巣に見られる球形の胞子と同じだが、菌糸は認められない。胞子が一毛包中 10 個以上検出されれば陽性と判定するが、通常数十個の胞子が認められる。

**真菌培養法 —実習の手引き— 担当 五十樓 健（東京警察病院）**  
[2013年10月5日改訂]

表在性真菌症の診断に関しては、直接鏡頭が重要であることは繰り返し強調されてきた。一方で、真菌培養は、その重要性は認識されているものの、直接鏡頭や、一般細菌の培養に比して、実施頻度はきわめて低いことが指摘される。

**培養検査はなぜ必要なのか？**

- 1) 直接鏡頭、病理検査では病原体を視覚でとらえるのみであるため、真菌症の診断までは確定できるものの、菌の種や特性までは特定できない。一方、培養により同定や菌の特性を明らかにすることができる。
- 2) 菌が生存していて、病原性を発揮していたことを証明でき、真菌症の診断をさらに深く裏付けることが可能となる。
- 3) 増菌、継代、MICの測定を通して、真菌症の特性、研究、将来的に有用な情報につき提供可能となる。
- 4) 生存、発育した菌の形態を観察することで、病変内に存在する菌要素を検出する臨床医学的な能力の向上に資することが可能である。

**真菌培養の注意点**

- I. 想定される起因菌を可能な限り発育しやすい条件で発育させる
  - （犯罪捜査に例えると犯人を逃走させず、見失わず、可能な限り確実に捕獲し、殺傷せずに生け捕りにする）
- II. Contamination および、競合する常在細菌、非病原真菌、環境真菌などを可能な限り発育させない
  - （犯罪捜査に例えると、犯罪とは無関係であるが、たまたま現場近くにいる通りすがりの通行人などを可能な限り誤認逮捕しない）
- III. 発症部位、臨床症状、および罹患した地区の実情を勘案し、種々の菌種を想定して、複数の培地、複数の培養条件にて培養させる
  - （犯罪捜査に例えると、想定される犯罪組織、常習犯の犯行手口から効率の良い捕獲方法を採用し、複数の場所で、複数回、同一の犯罪組織が関与していることを確認しながら、組織の全容解明および壊滅を志向する）

## I. 起因菌は可能な限りよい条件で発育させる

- 1) 起因菌の存在する確率の高い部位から材料を採取する
- 2) 材料を細かく採取または細切して、培地との接触面積を増大させる
- 3) 適切な培地を選択する（後述Ⅲ）
- 4) 適切な培養温度を選択する（後述Ⅲ）
- 5) 適切な処理をする（培地を乾燥させない、密封で窒息させない）
- 6) 適切な期間培養を継続する（通常1ヶ月以上）

## II. Contamination および、競合する常在細菌、非病原真菌、環境真菌などを可能な限り発育させない

- 1) 環境菌を混入させない操作方法、操作手技にて検体を接種する  
（白金耳を適度に熱して冷却するか、滅菌処理された道具を使用する、培地の口を上に向けないか、ふたを必要最小限の大きさだけあけて、完全にとらない、なるべく短時間で操作を終了する、しずくをたれさせない、おしゃべりをしない、必要に応じてマスクをする、可能ならフード内で作業する）、
- 2) 想定される常在菌または腐生菌の存在する部位をアルコール綿でふく、または深在性真菌症生検組織では表皮部分を切り捨てる
- 3) クロラムフェニコール、ゲンタマイシン、アクチジオン（劇薬扱い、皮膚糸状菌以外の種々の真菌の発育を抑制する傾向があることに注意）などを添加した培地を添加した培地を選択する

## III. 種々の菌種を想定して、複数の培地、複数の培養条件にて培養させる

### 分離培養：

・**酵母様真菌**：各種さまざまな培地が考案されているため、組み合わせて培養するとよい。形態を観察するにはコーンミール寒天培地が用いられる。クロモアガー・カンジダ培地はスクリーニングとして有効。以前は、*Malassezia* 属の培養にオリーブ油を重層させる必要があったが、効率よく培養可能な**クロモアガー・マラセチア/カンジダ培地**が市販されている

・**糸状菌**：発育が遅く起炎菌を覆ってしまうくらい迅速に発育する腐生真菌の発育を抑えるためには**シクロヘキシミド加サブローデキストロース寒天培地 (SDA)** を、細菌の汚染を抑えるためには**クロラムフェニコールやゲンタマイシン加 SDA** を用いるとよい。真菌を分離培養するために広い面積を必要とする場合には平板培地を用いるが、**主として試験管培地（斜面培地）**を用いる。純培養には、分生子の発育が良好な**ポテトデキストロース寒天培地**が用いられる。一般的に糸状菌は分生子が飛散しやすいため、検査による曝露はもとより、検体間のコンタミネーションを防ぐためにも、作業は安全キャビネット内で行うこ

と、感染力の強い *Coccidioides immitis* が疑われる場合には、決して平板培地による培養を行ってはならない。(今日の診療プレミアム Vol. 21 (C) 2011 IGAKU-SHOIN より引用)

**巨大培養：** 純培養した真菌を平板培地で培養し、集落の大きさ、性状、色菌要素などを肉眼および顕微鏡で観察する。

**スライドカルチャー：** 分離培養された菌の形態観察に有用。

**表 1 臨床検体の処理法と培養条件**

**表 2 東京警察病院の場合**

**表 3 真菌培養に用いられる主な培地**

**表 4 主な市販培地と希望小売価格**

**図 1 マラセチアの培養 (マラセチアカンジダクロモアガー)**

**図 2 カンジダの培養 (マラセチアカンジダクロモアガー)**

**図 3 東京警察病院で使用している道具類**

**図 4 培養手技 1：白金耳の加熱**

**図 5 培養手技 2：平板培地のふたの開閉**

**図 6 培養手技 3：斜面培地への臨床検体の接種**

**図 7 スライドカルチャー (ディスポシャーレ使用、ろ紙を省略)**

## 用語解説

### 釣菌 チョウキン

[英] fishing

分離培地に発育した細菌の孤立コロニーから菌を取る操作をいう。白金線を火炎滅菌した後、冷まし、先端をコロニーに触れて菌を取る。新しい培地に菌を接種したり、塗抹標本作製したりする場合に行われる。

医学書院 医学大辞典 第2版 20090215

### 分離培養 ブンリバイヨウ

[英] isolation culture

検体中の細菌や真菌を分離、独立した集落として培養すること。この目的のために使用する培地が分離培地である。例えば、糞便培養では赤痢菌やサルモネラなどの病原菌が容易に発育し、分離培養の目的としない非病原菌の発育を抑制する（発育したとしても両者が区別しやすい）ように工夫された種々の培地がある。また菌種によっては、特殊な栄養要求を満たす特別に調製された培地や特定の培養条件下でないと分離培養ができないものがある。

医学書院 医学大辞典 第2版 20090215

### 純培養 ジュンバイヨウ

[英] pure culture

同一の性質を有する純粋な微生物または細胞を培養したもの。患者検体中の細菌を同定する場合には、検体中に複数種類の細菌が含まれている場合があるので、寒天培地に分離培養を行い、孤立集落（single colony）を形成させる。これは同じ性質を有する菌の集団であり、これを継代培養することにより純粋の細菌を大量に得ることができる。細菌の同定検査や薬剤感受性検査には純培養菌を用いなければならない。

医学書院 医学大辞典 第2版 20090215

### 分離培地 ブンリバイチ

[英] isolation medium

材料から目的菌の独立コロニーを得るための固形培地。特定の菌種を鑑別できるように工夫された**鑑別分離培地（鑑別培地）**、目的菌以外の発育を抑制するように工夫された**選択分離培地（選択培地）**、特に一部の菌の発育促進や抑制を目的としない**非選択分離培地**がある。

医学書院 医学大辞典 第2版 20090215

**確認培地** カクニンバイチ

[英] confirmatory medium

純培養菌の生化学的、生理学的性状を検査して、菌種同定の手がかりとするための培地。原則として性状検査のための基質成分と増殖に必要な成分からなり、選択成分は含まれていない。例えば腸内細菌の確認培地として、TSI 寒天培地や SIM 培地などがある。**鑑別培地**があらかじめ見当をつけるための培地であるのに対し、**確認培地**は同定の最終判断をする。いずれも習慣的名称。

医学書院 医学大辞典 第2版 20090215

**スライドカルチャー法** スライドカルチャーホウ

[英] slide culture method

コロニーの微細構造を発育状態のまま観察するための方法。シャーレ内に濾紙、ガラス棒、その上にスライドガラス、カバーガラスを載せたものを滅菌しておき、スライドガラスの上に厚さ2~4mmのコーンミール寒天培地を約1cm角に切り載せる。正方形の各辺に菌を少量接種し、カバーガラスを載せて濾紙に滅菌蒸留水を滴下し、適度な湿度を保ちながら、25℃で1日~数日間培養し、スライドガラスごと顕微鏡鏡台に置き、弱拡大~中拡大で観察する。

医学書院 医学大辞典 第2版 20090215

**巨大培養** キョダイバイヨウ

純培養した真菌を平板培地で培養し、集落の大きさ、性状、色菌要素などを肉眼および顕微鏡で観察するための培養。

(以上、文責 五十棲)

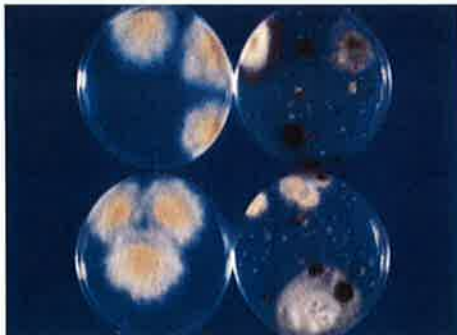


第1回皮膚真菌症指導者講習会  
講義 3-2 ワンポイントアドバイス  
真菌培養法の工夫

済生会川口総合病院皮膚科 加藤卓朗

演者の属する真菌研究班（東京医科歯科大学皮膚科）が開発・工夫し、行ってきた真菌培養法を紹介する。

① 塵埃培養法



対象 掃除機塵埃（ゴミ）

菌種 *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis*

方法 少量の塵埃を平板培地に撒く

特徴 室内環境の菌量を評価

② フットプレス法



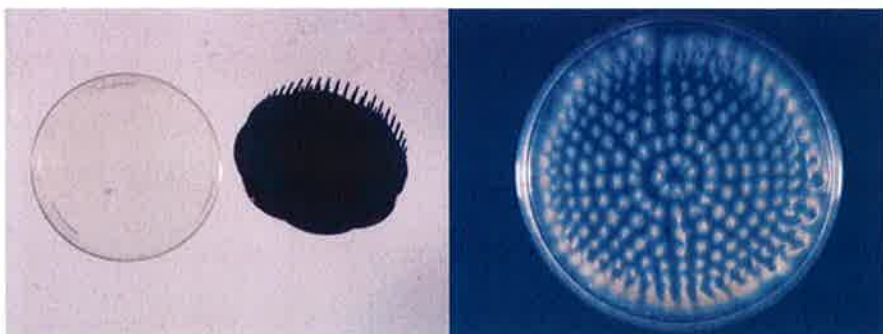
対象 足底

菌種 *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*

方法 巨大平板培地に足底を圧抵

特徴 患者からの散布と環境での付着を評価

### ③ ヘアブラシ法



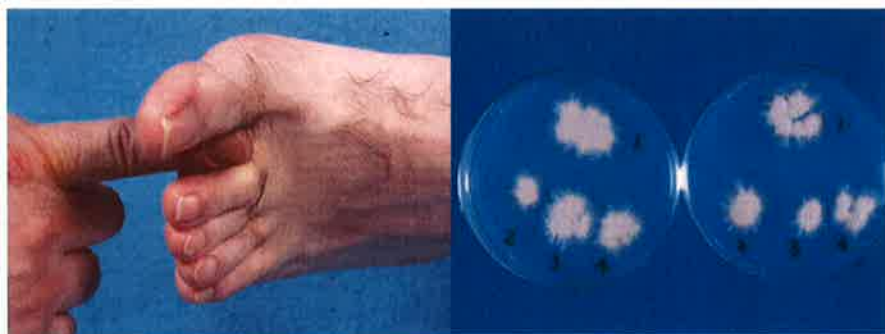
対象 ヒトの頭髮、動物

菌種 *Microsporum canis*, *Trichophyton tonsurans*

方法 プラスティック製ヘアブラシでブッシング後に平板培地に圧抵

特徴 病変のない保菌状態も評価可能

### ④ Finger-sampling 法



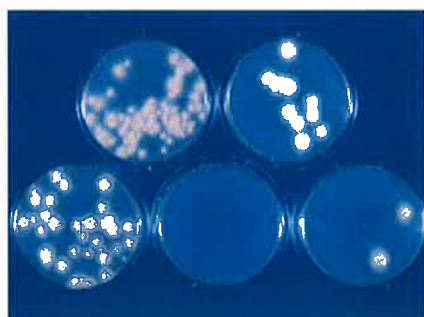
対象 足の趾間

菌種 *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*

方法 趾間を術者の指で擦過後、平板培地に圧抵

特徴 各趾間ごとに病変のない保菌状態も評価可能

### ⑤ スタンプ法



対象 病変部、環境、靴、靴下

菌種 *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis*

方法 培地を満たした小さい平板培地を直接圧抵

特徴 簡単な方法で、狭い範囲の培養に適する

# 生えた真菌をどうするか

## -よくみる皮膚真菌症原因菌の同定法-

金沢医科大学 皮膚科学  
望月 隆・安澤数史

皮膚科領域の検体の培養で得られた真菌の分離株をどのように同定するか知っておくことは臨床の幅を広げる上で大きな意味がある。形態の特徴から多くの菌は同定可能である。このテキスト中にもごく基本的な画像を掲載しておいたが、手元にもカラー図譜などを用意しておきたい。

### 1 培地に生えた菌は予想の想定内か

まず、培地に置いた検体から菌が一様に生えているかを観察しよう。もし検体が接触していない所からコロニーが生じているならば雑菌であろう。

次に、臨床所見から予想された真菌か否かを考えよう。白癬、あるいは黒色真菌症やスポロトリコーシスを疑ったのかを思い出し、糸状菌か酵母様真菌か、白いか黒くあるべきかを考えよう。現在本邦では *Trichophyton rubrum* と *T. mentagrophytes* で分離菌の 99%以上を占める。格闘技競技者からは *T. tonsurans* が、小児や女性の頭部白癬や露出部の体部白癬では *Microsporum (M.) canis* や動物由来の *T. mentagrophytes* が稀ならず分離される。高齢者の頭部白癬からは *T. violaceum* が分離されることがある。このような疫学的知識は良いヒントになる。予想とかけ離れた菌が分離された場合は多くの場合雑菌であろう。

### 2 「雑菌でないかも」と思えば巨大培養、スライドカルチャーへ

皮膚真菌症の主な原因菌を列挙するが、これでほぼ 100%を網羅する。

白癬

*Trichophyton mentagrophytes* (体、頭では動物と関連)

*T. rubrum*

*T. tonsurans* (格闘技と関連)

*Microsporum canis* (動物と関連)

*M. gypseum* (土、動物と関連)

*Epidermophyton floccosum*

黒色真菌症

*Fonsecaea pedrosoi* (外傷と関連)

*Exophiala jeanselmei* (免疫抑制状態、外傷と関連)

スポロトリコーシス

*Sporothrix schenckii* (外傷と関連)

その他

*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* (免疫抑制状態) など

繰り返しになるが、病巣、KOH法や病理学的所見から予想される真菌と培養された菌に矛盾がないことを確認しておきたい。

### 3 コロニーの性状の観察

コロニーの形態のみで皮膚糸状菌(白癬菌)群の種を正しく同定することは専門家でも困難である。まずは白癬菌群と、これら以外の菌、そして雑菌の区別をつけられれば良しと考えたい。

着眼点はコロニーの成長速度(2週間でどの位の大きさに成長するか)、色(コロニーの表・裏の色、白、赤、黄、黒など、周囲に色素が滲み出ているか)、表面の肌あい(平ら、皺になる、毛羽立っている、顆粒状、粉状、ロウ様など)などである。また発育温度も重要であり、白癬菌でも *T. verrucosum* は室温での発育が悪く 37℃での培養が奨められる。一方 *E. jeanselmei* や *S. schenckii* では 37℃での発育が悪く、室温や 27℃での培養が奨められている。

### 4 菌糸や分生子形成過程の顕微鏡的観察

顕微鏡を用いた分生子形成過程の観察(掻取り標本、スライド培養)の要点について述べる。生えた菌は試験管の壁から、あるいは初代の培養からごく少量の菌を掻き取り、あるいはスライド培養をおこない、ラクトフェノールコットン青をなじませて観察する。

菌糸は隔壁の有無、色(褐色、透明、コットンブルーに染まる、染まらないなど)、伸び方(直線的、曲がる、螺旋状の構造がある=螺旋体など)、分枝の仕方(頻繁に分枝する、長く伸びて分枝する、Y字状に分かれる、T字状に分かれる、一度に3方以上に分かれる)、太さ(変わらず伸びている、所々太くなっている、細い菌糸と太い菌糸がある)などである。黒色真菌はラクトフェノールコットン青で染めると菌糸の褐色調、暗色調がはっきりしなくなるので注意する。

分生子は、色、隔壁の有無、形(球形、ゴマ粒状、棍棒状、紡錘形など)、数(多数、少数、稀、見られない)、菌糸からの出来方(側壁に1列に並ぶ、葡萄の房状、花弁状、数珠状など)などである。また分生子形成細胞から作ら

れる際には、分生子形成細胞の先端を詳細に観察する。

以下、よく見られる皮膚糸状菌4種 (*T. mentagrophytes*, *T. rubrum*, *T. tonsurans*, *M. canis*)、*S. schenckii* および黒色真菌の *F. pedrosoi* (*F. monophora*)、*E. jeanselmei* (*E. xenobiotica*) について観察の要点を述べる。

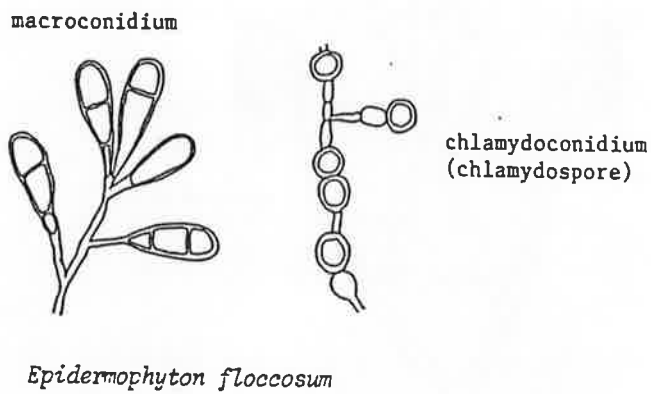
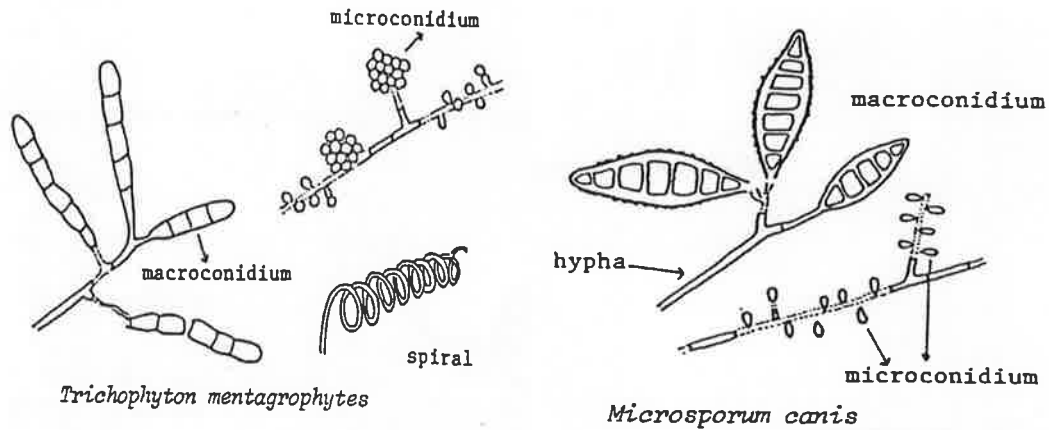


図1. *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis*, *Epidermophyton floccosum* の比較 (西村による)

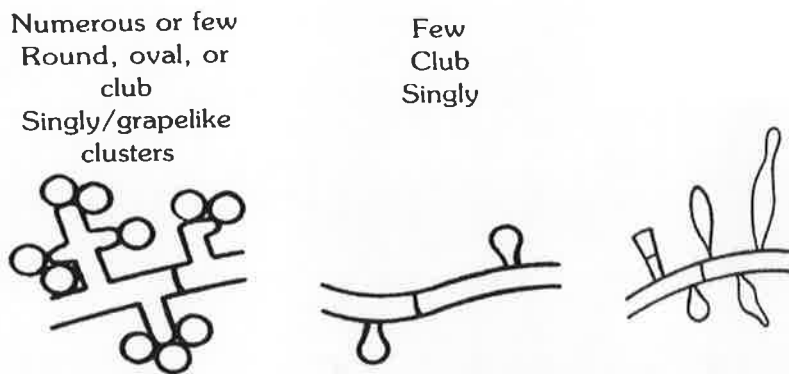


図2. *Trichophyton mentagrophytes* (左)、*T. rubrum* (中)、*T. tonsurans* (右) の小分生子の比較 (Kern による)

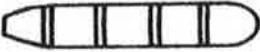

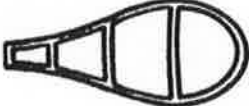
<b>TRICHOPHYTON</b>	<b>MICROSPORUM</b>	<b>EPIDERMOPHYTON</b>
Usually rare Smooth Pencil Thin Usually 3-8	Numerous Rough Elliptical/spindle Thick or thin Usually 3-7	Numerous Smooth Club Thin Usually 2-4
		

図3. 皮膚糸状菌3属の大分生子の差異 (Kernによる)

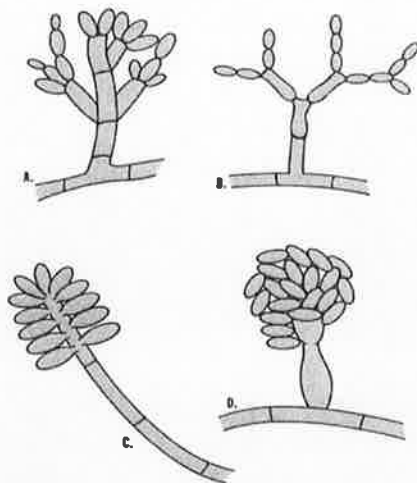
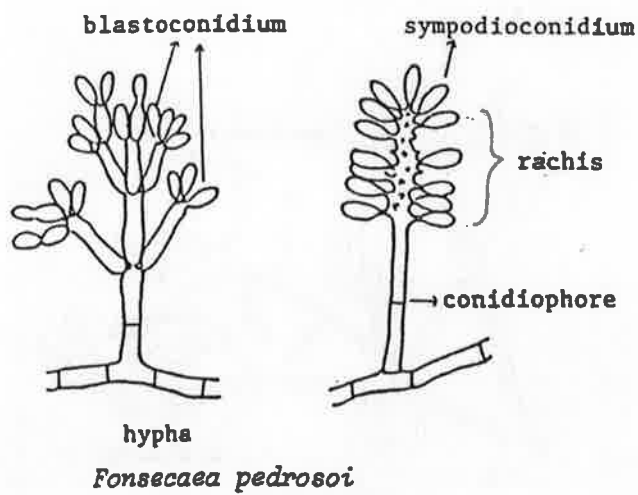


FIGURE 6-12. *Fonsecaea pedrosoi*.

図4. *Fonsecaea pedrosoi* の特徴 (上 西村による、下 Kernによる)

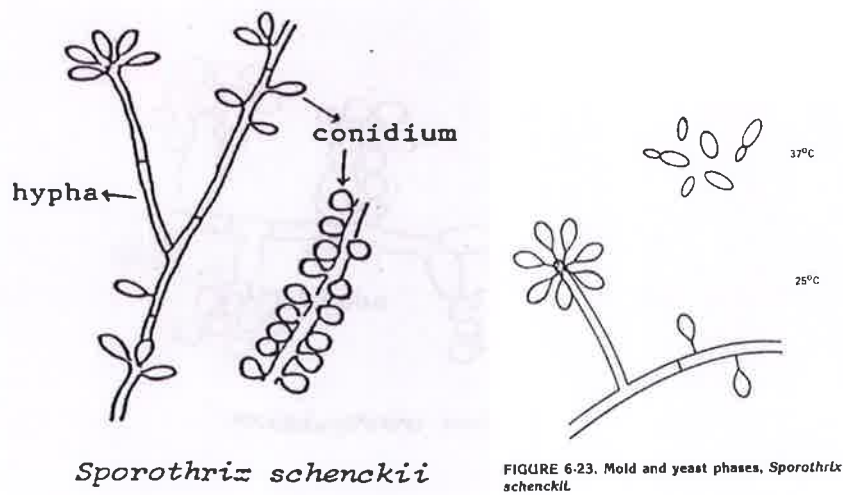


図5. *Sporothrix schenckii* の特徴 (左 西村による、右 Kern による)

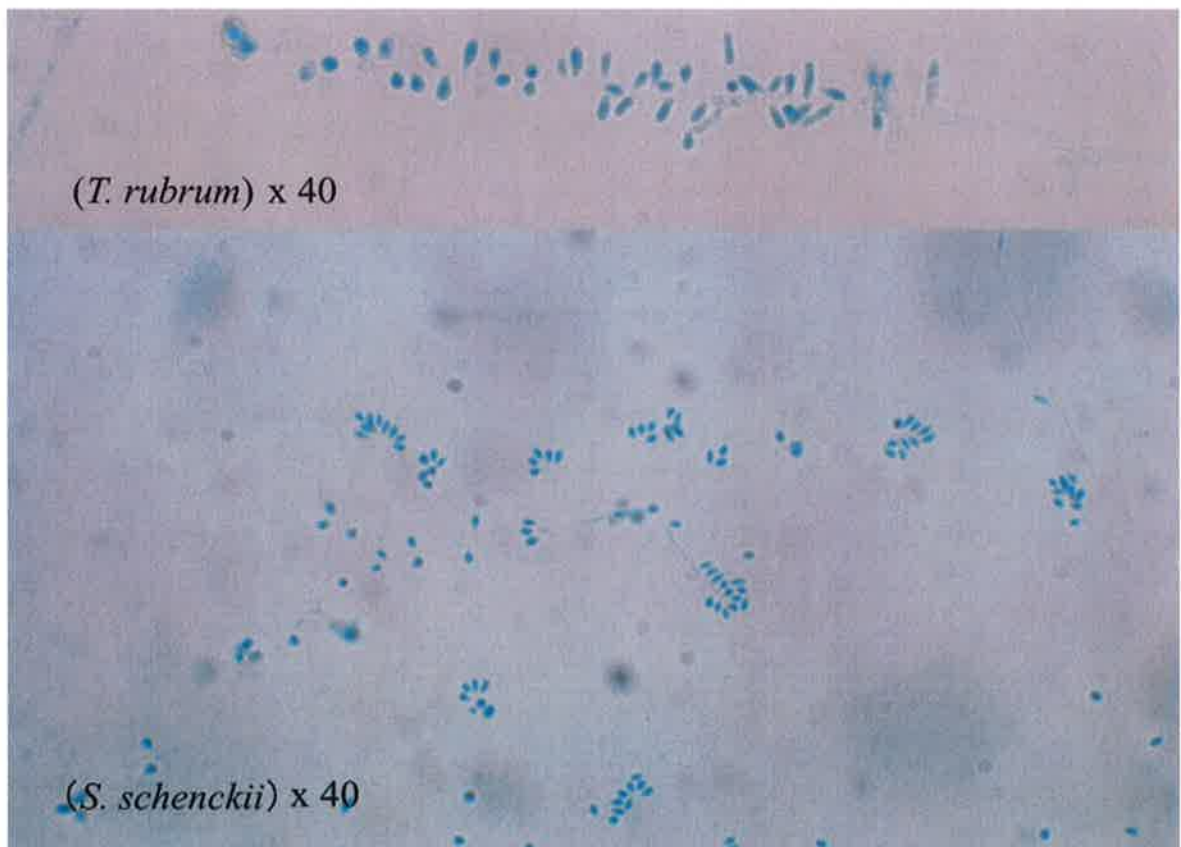


図6. *Trichophyton rubrum* と *Sporothrix schenckii* の分生子の大きさと菌糸の太さの比較



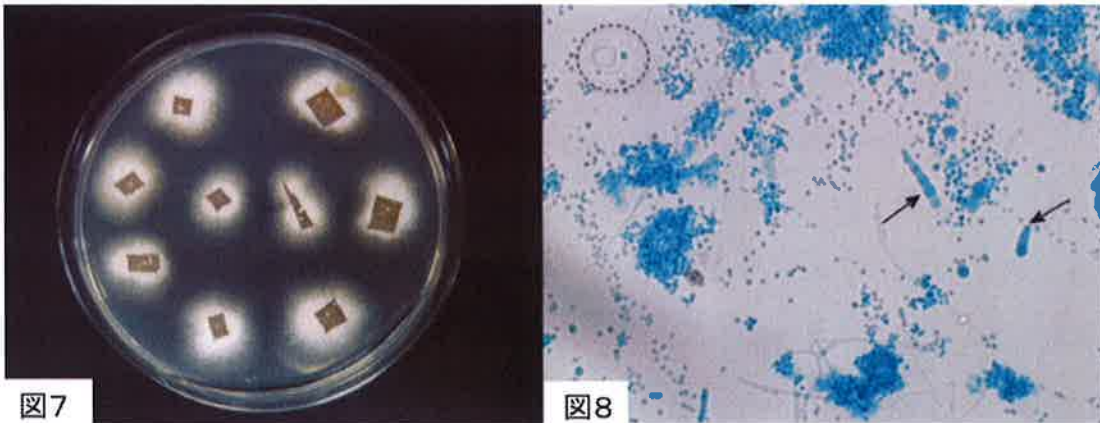


図7. *Trichophyton mentagrophytes* 初代培養 (マイコセル培地、室温、11日)、集落表面は平坦で白色から黄白色、粉状や顆粒状となる。有性世代として *Arthroderma vanbreuseghemii* と *A. benhamiae* が知られ、鑑別のために交配試験が行われている。コロニーは軟かく、掻き取ると培地を残してコロニーだけが取れてくる。

図8. *Trichophyton mentagrophytes* スライド培養 (SDA 培地、27℃、2週)、球状や洋梨状の小分生子が豊富にみられる。らせん体 (○印) や大分生子 (矢印) がみられる。

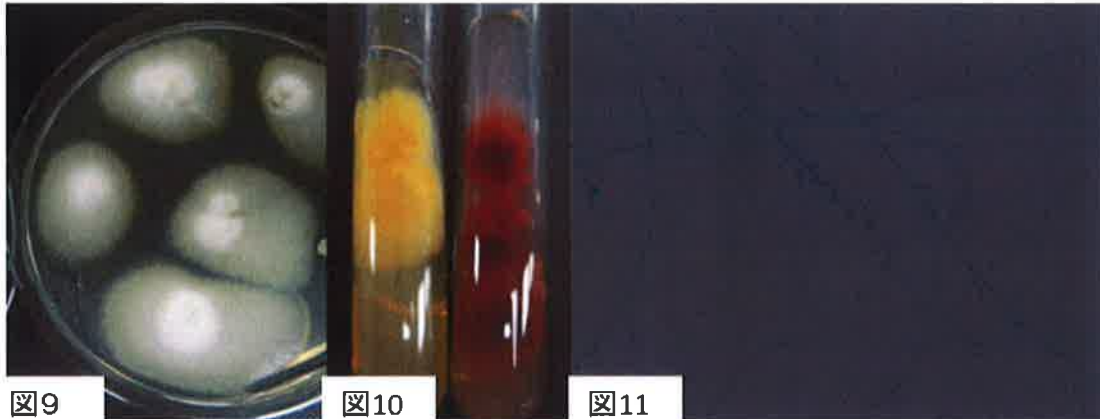


図9. *Trichophyton rubrum* 初代培養 (マイコセル培地、室温、3週)、表面白色絨毛状。コロニーは硬く、コロニーを掻き取ると培地まで取れてくる。

図10. *Trichophyton rubrum* 斜面培地裏面 (左-SDA 培地、右-PDA 培地、室温、3週)、PDA 培地でほとんどの株が赤色色素を産生する。

図11. *Trichophyton rubrum* スライド培養 (SDA 培地、27℃、3週)、棍棒状やゴマ粒状の小分生子が菌糸に沿って並ぶ。数は少ない。大分生子はほとんどみられない。



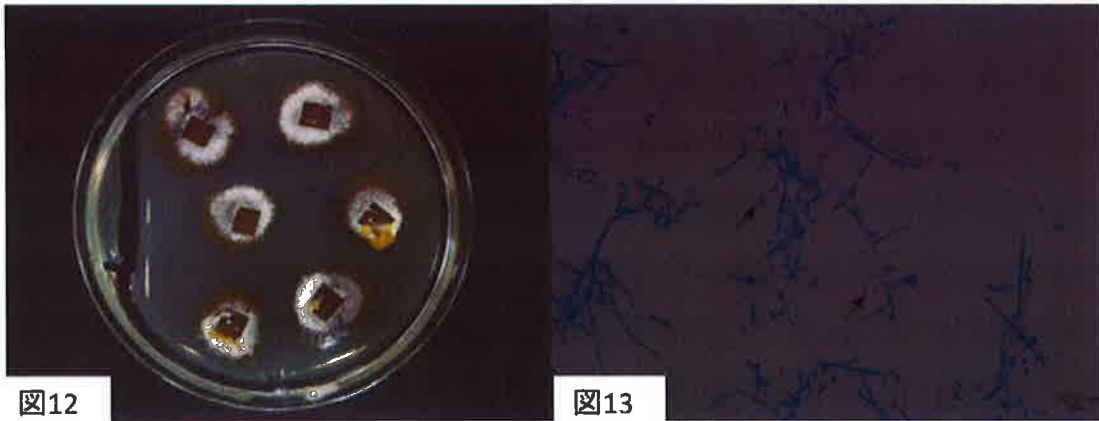


図12

図13

図 12. *Trichophyton tonsurans* 初代培養 (マイコセル培地、室温、3 週)、集落表面は白色、培地中では紅褐色に色づく。コロニーは硬く、コロニーを掻き取ると培地まで取れてくる。

図 13. *Trichophyton tonsurans* スライド培養 (SDA 培地、室温、1 カ月)、小分生子の形は様々。分生子柄の先端ではマッチ棒様にみえる (矢印)。菌糸は部分的にラクトフェノールコットン青による染色性が異なる。硬膜孢子様構造は培養のごく初期から認められる。

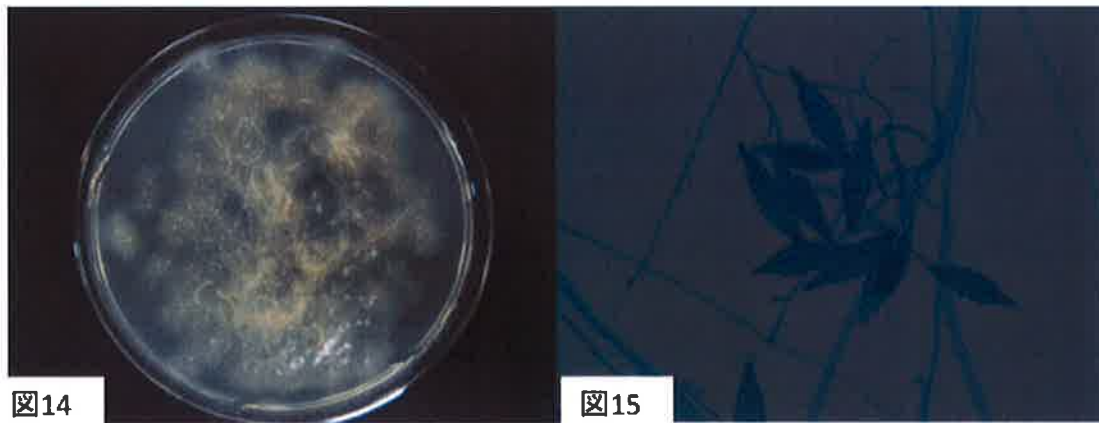


図14

図15

図 14. *Microsporium canis* 初代培養 (マイコセル培地、室温、8 日、ネコの毛)、発育は早い。当初菌糸が培地中を放射状、細い針の様に伸び、結晶のように輝く。後に絨毛状に毛羽立つ。表面は *M. gypseum* 程粉状にはならない。

図 15. *Microsporium canis* スライド培養 (SDA 培地、室温、3 週)、紡錘形の大分生子は先端が細く、細胞壁は厚い。小分生子は棍棒状で菌糸に側生する。



図16. *Sporothrix schenckii* 初代培養 (マイコセル培地)、集落は湿性で皺状、灰白色から黒色となる。継代培養を繰り返す事によりほぼ全ての株が白色の集落となる。37℃での発育は悪く、酵母状コロニーを作る。40℃では発育しない。  
 図17a, 図17b. *Sporothrix schenckii* スライド培養 (PDA 培地、室温、3 週)、3 種類の分生子を形成する。一つは大型で褐色、球形。小型のものは色が薄くゴマ粒状や棍棒状、菌糸先端で花びら状を呈する

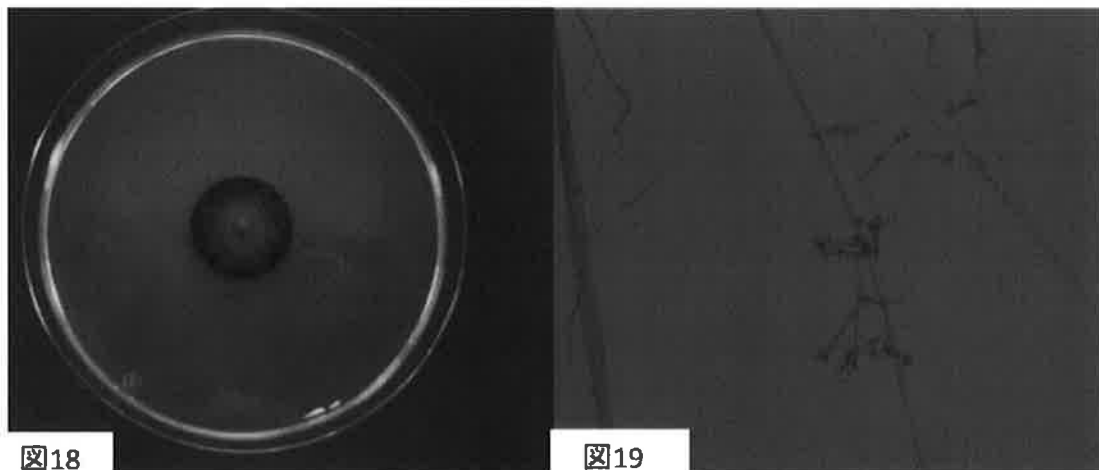


図18. *Fonsecaea pedrosoi* 巨大培養 (SDA 培地、室温、3 週)、発育は中程度。褐色から黒色の絨毛状の集落。  
 図19. *Fonsecaea pedrosoi* スライド培養 (SDA 培地)、菌糸は褐色。3 種類の分生子形成がみられるのが特徴。図は出芽型。*F. monophora* と記述されている菌は形態学的には本菌と区別できない。

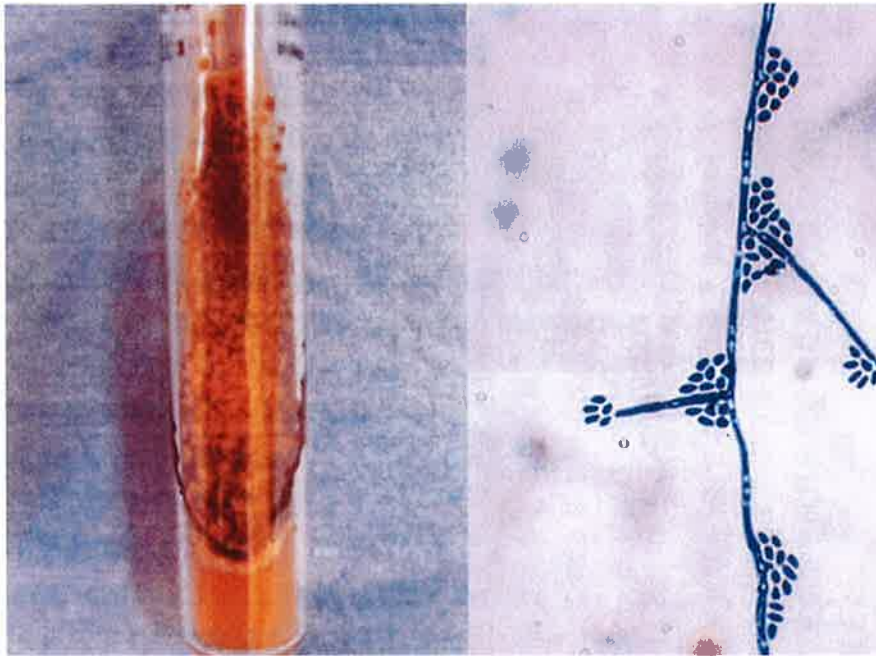


図 20. *Exophiala jeanselmei* 初代培養 (クロロマイセチン添加サブロー培地)、集落は当初湿性で、灰色から黒色。やがて菌糸状になる。37℃での発育は悪く、40℃では発育しない。マイコセル培地では発育しない。細くのびた分生子形成細胞の先端から単細胞の分生子が次々と生み出される。その際分生子形成細胞の先端には細い環紋が残される (アネロ型分生子形成)。(南部昌之ほか、皮の科 9:173-179, 2010 より引用)

## 5 分子生物学的診断法の位置づけ

近年発達した著しい分子生物学的的方法による真菌の同定が盛んに行われている。白癬菌ではリボゾーム RNA 遺伝子の ITS 領域を用いた菌種レベルの同定が実用化されているし、直接検体から DNA を抽出して PCR を行い、培養を経ずに原因菌を判定する手法 (direct PCR 法) も応用されている。黒色真菌や *S. schenckii* ではリボゾーム RNA 遺伝子の ITS 領域のほか D1/D2 領域を用いた同定が用いられている。使用にあたっては、感度、特異性から個々の事例についてどのような方法が適切か考えて適応する。また、その結果は臨床所見や他の真菌検査 (特に寄生形態) に矛盾しないか吟味する。特に形態学的特徴がはっきりしている糸状菌では形態学的同定を確認する意味合いをもつと考えればよく、日常の診療上での必要性は高くない。ただし、どこか依頼できる施設を確保しておくとう便利である。

## 6 最後に

皮膚真菌症の診断といえば検査の手技や分子マーカーを用いた同定法の開発のみが注目され、鋭敏な方法が開発されれば真菌症の診断をめぐる問題は解決するかのような風潮がある。しかし、KOH法や培養法が省略できるわけではなく、医療の進歩や国際交流、日常生活の多様化に伴って思わぬ真菌症に遭遇する可能性がある。したがって“伝統的”な真菌検査は以前より重要度を増していると考えられる。各施設では医局人事などでせつかくの知識、技術の継承がなされない可能性があり、一人でも多くの若い人たちに知識、技術を伝えていただきたいと願っている。

## 謝辞

このテキストの模式図は千葉大学真菌医学研究センターによる講習会で使われたテキスト、宮治誠、西村和子編著 医真菌学辞典（協和企画通信）の西村和子博士の図、および Martha E. Kern 著の *Medical Mycology, a self-instructional text* (FA Davis 出版) からの引用である。図 7-19 は安澤数史ほか著、皮膚科医のための真菌図譜. *MB Derma*. 179: 61-66, 2011 より引用した。原稿をまとめるにあたり、資料の整理にご尽力いただいた河崎昌子博士に深謝する。

## 補足

同定用の図説としては、西本勝太郎著、真菌の分類・検査法. 最新皮膚科学大系 14 細菌・真菌性疾患, 162-174, 2003 (玉置邦彦他編、中山書店、東京) や、比留間政太郎著、病原真菌の分離・同定の手引き. *Visual Dermatology* 1:794-803, 2002 が使いやすい。ネット上の情報としては帝京大学医真菌研究センター (<http://timm.main.teikyo-u.ac.jp/pfdb/>)、千葉大学真菌医学研究センター (<http://www.pf.chiba-u.ac.jp/>) が運営するサイトが利用できる。

<メモ1>

<メモ2>