短 報

菌種同定にアルシアン青-PAS 重染色を応用した
肺クリプトコッカス症の1例PCL 大阪病理細胞診センター¹⁾, PCL ジャパン²⁾秋山 典子¹⁾ 西宮 雅世¹⁾ 上野喜三郎²⁾ 羽山 忠良²⁾
田中 昇²⁾

I. はじめに

病原性酵母 *Cryptococcus neoformans* は厚い多糖莢膜を持つ事の特徴とし、広く自然界に分布する。ヒトの感染は気道を介して起こり通常日和見感染症として肺、中枢神経系、その他の臓器に感染が成立する¹⁾。

今回われわれは日和見感染症患者喀痰中に *C. neoformans* を多数認めた症例において特殊染色を応用しその特徴的所見である莢膜に関する若干の知見を得たので報告する。

II. 症 例

患 者：81 歳，男性

主 訴：呼吸困難および発熱

臨床経過：1994 年頃より胸部 X 線写真上肺野に網状影が一部に出現。その後、両下肺野に及び、1999 年 1 月頃には心拡大傾向、発熱あり、呼吸困難増悪したため、入院。その後の喀痰細菌検査により MRSA, *C. neoformans*, *Candida albicans* が分離培養された。

A case of pulmonary cryptococcosis diagnosed by Alcian blue-PAS multi-staining

Noriko AKIYAMA¹⁾, C.T., I.A.C., Masayo NISHIMIYA¹⁾, C.T., J.S.C., Kisaburou UENO²⁾, C.T., I.A.C. Tadayoshi HAYAMA²⁾, M.D., Noboru TANAKA²⁾, M.D., F.I.A.C., D.D. S.,

¹⁾PCL-Osaka

²⁾PCL-Japan

論文別刷請求先 〒567-0034 大阪府茨木市中穂積 3 の 15 の

24 PCL 大阪病理細胞診センター

平成 11 年 10 月 18 日受付

平成 12 年 2 月 18 日受理

III. 細胞所見

パパニコロウ染色：患者喀痰中に直径約 3~15 μm の透明不染性およびヘマトキシリンやライトグリーンに染まる類円形、涙滴状の菌体が多数観察された。背景に粘液を認める部分では菌体の回りに不明瞭ながら不染部分を認め、莢膜を有する事が示唆された。また、同時に観察された *C. albicans* の酵母型との鑑別が困難なものもあった (Photo. 1 a)。

ムチカルミン染色：直径 10 μm 以上の大型の菌体は菌体膜辺縁が最も濃く、莢膜の外縁に向かって次第に薄く陽性に染まった。10 μm 以下の小型の菌体中染色性明瞭でないものが 62% に認められた (Photo. 2 a)。

アルシアン青染色 (pH 2.5)：ムチカルミン染色近似の染色態度で陽性部分は青色に染まるのが観察された。10 μm 以下の小型菌体中染色性明瞭でないものを 65% に認めた (Photo. 2 b)。

アルシアン青 (pH 2.5) -PAS 重染色：背景の喀痰粘液およびクリプトコッカス菌体は PAS 染色にて赤紫色に陽性に染まり、莢膜はアルシアン青にて陽性に染まる事が観察された。10 μm 以下の小型菌体でも 99% に明瞭なアルシアン青陽性所見が認められ、莢膜を有している事が明らかであった。対照とした *C. albicans* はアルシアン青陰性で両者の鑑別は容易であった (Photo. 1 b)。

IV. 考 察

C. neoformans を形態学的に同定する染色法として莢膜を染めるアルシアン青染色、ムチカルミン染色、

Photo. 1 a : *C. neoformans* in sputum. Oval organisms 3 to 15 μm in diameter are stained palely with hematoxylin. *C. neoformans* is difficult to differentiate from other yeasts if the capsules cannot be recognized as a clear halo (Pap staining, $\times 100$), b : *C. neoformans* in sputum. The organisms are positive for PAS. *C. neoformans* is clearly positive for Alcian blue and is therefore easily identified despite its thin capsule (arrows). *C. albicans* is negative for Alcian blue and positive for PAS. Although oval in shape, this fungus has no capsule and can therefore be easily differentiated from *C. neoformans* (arrow heads) (Alcian blue-PAS multi-staining, $\times 100$)

ヒス染色, アルカリ性ビスマス染色²⁾などが挙げられる。他, 墨汁染色による不染部分としての莢膜の確認が可能である。菌体は他の真菌同様 PAS, グロコット染色にて陽性に染まり, 細胞壁はフォンタナマッソン染色にて特異的に染まる³⁾。われわれの検索した限り, クリプトコッカスに対してアルシアン青-PAS 重染色を実施した報告例をみず, 今回のケースにおいては特に 10 μm 以下の小型の菌の有する薄い莢膜は実施した他の単染色法に比し明瞭であった。また, 真菌要素である菌体の多糖類は PAS 染色にて陽性に染まるため, 他の真菌も観察できる利点を有する事およびクリプトコッカスの最大の特徴である莢膜の酸性ムコ多糖類のそれぞれの成分を同時に証明する事は形態学的同定方法として有用であると思われる。

Photo 2 a : Mucicarmine staining ($\times 100$), b : Alcian blue staining ($\times 100$). *C. neoformans* in sputum. With both stainings (a and b), large fungi with thick capsules are strongly positive, while some of the capsules of small fungi are stained indistinctly

Abstract

We report a case of pulmonary cryptococcosis. An 81-year-old man presented with dyspnea, fever, and an abnormal chest X-ray. Sputum cytology revealed the presence in abundance of oval organisms, 3–15 μm in diameter and palely stained with hematoxylin. *C. neoformans* was identified by multi-staining with Alcian blue-PAS. The organisms were positive for PAS, and their capsules for Alcian blue. The capsules of the small organisms ($< 10 \mu\text{m}$) were not clearly stained (control and Mucicarmine 65% ; Alcian blue 62%). On Alcian blue-PAS multi-staining, however, the capsules of 99% of *C. neoformans* cells were clearly observed and readily distinguished from the coexistent *Candida albicans*.

Thus, Alcian blue-PAS multi-staining is useful for identifying *C. neoformans*, and for distinguishing them from other fungi.

文 献

- 1) 小松信彦, 大谷 明 監訳, ジャウエツ微生物学 (下) 1991 : 506.
- 2) 引野利明. 莢膜形成型クリプトコッカスに有用なアルカリ性ビスマス染色. 臨床検査 1991 ; 35 : 890~891.
- 3) 中井由香, 木村雅友, 上杉忠雄, 蛭間真悟, 佐藤隆夫. 肺クリプトコッカス症の一例. 日臨細胞誌 1997 ; 36 : 452~453.