

直接塗抹の Ziehl-Neelsen 染色と集菌塗抹の 蛍光染色の比較

^{1,2}伊藤 邦彦

要旨:〔目的〕集菌塗抹の蛍光染色（以下、集菌塗抹）と直接塗抹の Ziehl-Neelsen 染色（以下、直接塗抹）の感度および塗抹グレードを比較したデータを示し、以前の報告での「喀痰 2 回の集菌塗抹の蛍光染色の感度および塗抹グレードは、従来の喀痰 3 回の直接塗抹 Ziehl-Neelsen 染色の感度と同等かそれ以上である」という主張を補強する。〔対象と方法〕2003 年 1 月 1 日～2005 年 9 月 30 日の間にわれわれの所属する病院で行われた抗酸菌検査の後ろ向き調査。〔結果〕同一の喀痰検体で直接塗抹と集菌塗抹の両方を行った 899 検体中少なくともどちらか一方で陽性であった 170 例のうち、集菌塗抹陽性検体は 167 例 (98.2%)、直接塗抹陽性検体は 113 例 (66.5%) で、前者で有意に陽性率は高い ($p < 0.001$)。集菌塗抹と直接塗抹の両方で陽性の 110 例中、集菌塗抹結果のほうが直接塗抹よりも塗抹陽性度が高いものは 65 例 (59.1%)、直接塗抹結果のほうが集菌塗抹よりも塗抹陽性度が高いものは 3 例 (2.7%) で、集菌塗抹で有意に塗抹陽性度が高い ($p < 0.001$)。〔結論〕塗抹陽性率および塗抹陽性度の点において集菌塗抹は直接塗抹の感度よりも高い。以前の報告を考慮した場合、2 回の集菌塗抹の感度は 3 回の直接塗抹と同等かそれ以上である可能性が高い。

キーワード: 肺結核, 検痰, Ziehl-Neelsen 染色, 蛍光染色, 直接塗抹, 集菌塗抹

1. 背景と目的

以前の報告「肺結核の感染性評価に必要な喀痰集菌塗抹検査の回数」において、われわれは肺結核の適切な感染性評価の観点から、喀痰 2 回の集菌塗抹の蛍光染色（以下、集菌塗抹蛍光染色と略記）の感度は、従来の喀痰 3 回の直接塗抹 Ziehl-Neelsen 染色（以下、直接塗抹 Z-N 染色と略記）の感度と同等かそれ以上である可能性を示唆した¹⁾。この論文では 3 回の喀痰集菌塗抹蛍光染色による全喀痰塗抹陽性患者 304 名のうち、2 回までの喀痰集菌塗抹蛍光染色によって 91.4% が陽性であった。海外の報告²⁾では 3 回集菌塗抹検査の感度に対する 3 回直接塗抹検査の感度の比は 89.0% (1 回の比較では 77.0%) と上記 91.2% の数値に近似しており、染色法が同一であった場合ですら 2 回の喀痰集菌塗抹検査の感度は 3 回の喀痰直接塗抹検査とはほぼ同等であるものと推測された。

しかしこの報告¹⁾では、1 回の集菌塗抹蛍光染色と直接塗抹 Z-N 染色の感度および塗抹グレードの比較データを欠いており、その代わり感度のみを比較した本邦他施設からの一報告³⁾を引用しえたのみであった。また、塗抹グレードの比較データについては引用できるデータはなく、推測を述べるにとどまっていた。これらは前報告¹⁾の大きな短所の一つとして考察にも述べたとおりである。集菌塗抹という語句は検体が濃縮されているような印象を与えるが実際にはそうではないことは原法にあるとおりである⁴⁾。従って「集菌塗抹は直接塗抹よりも感度が高い」ことはそれほど自明なことではなく、データによって示されるべきことであろう。

本報告は前報告の後、われわれの施設における 1 回の集菌塗抹蛍光染色と直接塗抹 Z-N 染色の感度を比較調査した結果を報告し、これによって以前の報告の短所を補うことが目的である。

¹結核予防会結核研究所研究部, ²結核予防会複十字病院呼吸器科

連絡先: 伊藤邦彦, 結核予防会結核研究所研究部, 〒204-8533 東京都清瀬市松山 3-1-24 (E-mail: ito@jata.or.jp)
(Received 12 Apr. 2006/Accepted 17 May 2006)

2. 対象と方法

2003年1月1日～2005年9月30日の間にわれわれの所属する結核病棟を有する病院（以下、当院）で行われた抗酸菌検査の後ろ向き研究（retrospective study）で検討した。

検体は喀痰にのみ限定し、喀痰にはネブライザー誘発喀痰や吸引痰をすべて含めた。分析対象の喀痰塗抹検査は当院で施行した集菌塗抹蛍光染色（蛍光染色はオーラミン染色）および直接塗抹 Z-N 染色による検査に限定した。実際の塗抹検査の施行と結果判定および記載は基本的に結核病学会の推奨⁹⁾に従って行った。ただし前処理にはスプータザイムを併用した。集菌塗抹蛍光染色検査結果が±であった場合には、同じスライドの Ziehl-Neelsen 染色で塗抹陽性と確認された検体のみ塗抹陽性に分類した。

培養は検体により BACTEC MGIT 960 ないし小川培地のどちらかで標準的方法によって行った。MGIT での雑菌汚染は再処理の有無やその結果にかかわらず雑菌汚染と判断し、小川培地では培養継続不能例のみを雑菌汚染とした。

培養結果が非結核性抗酸菌のみの場合も分析対象とした。

統計処理ソフトには SPSS 9.0J を使用し有意差の検定にはマクネマーテスト、フィッシャーの正確確率テスト、カイ 2 乗検定、ウイルコクソンの符号付き順位検定を適宜用いた。有意確率は 5% で判断した。

3. 結果

3.1. 対象

2003年1月1日～2005年9月30日の間に当院検査室へ抗酸菌検査のために提出された臨床例からの全 18,607 検体中、同一の喀痰検体で集菌塗抹蛍光染色と直接塗抹 Z-N 染色との両方を行ったものは 899 検体であった。そのほとんどは当院初診時の肺結核疑い例に対して外来で

施行されたものであった（当院では肺結核疑い例の場合、入院する病棟を決定するため 1～2 時間で結果の出る直接塗抹 Z-N 染色が最初に行われる場合が多い）。

3.2. 集菌塗抹蛍光染色と直接塗抹 Z-N 染色の陽性率の比較

899 検体の集菌塗抹蛍光染色および直接塗抹 Z-N 染色の結果サマリーを Table に示す。少なくともどちらか一方で陽性であった 170 検体のうち、集菌塗抹蛍光染色陽性は 167 検体 (167/170=98.2%)、直接塗抹 Z-N 染色陽性検体は 113 例 (113/170=66.5%) であった。集菌塗抹蛍光染色陽性率に対する直接塗抹 Z-N 染色陽性率の比は 67.7% であり、集菌塗抹蛍光染色で有意に陽性率は高かった ($p < 0.001$ /マクネマーテスト)。集菌塗抹蛍光染色陽性で直接塗抹 Z-N 染色陰性であるものが 57 検体に対して、直接塗抹 Z-N 染色陽性で集菌塗抹蛍光染色陰性は 3 検体であった。

3.3. 塗抹結果の陽性度の比較

集菌塗抹蛍光染色と直接塗抹 Z-N 染色の両者で陽性の 110 例中、集菌塗抹蛍光染色結果のほうが直接塗抹 Z-N 染色よりも塗抹陽性度が高いものは 65 検体 (65/110=59.1%)、2 段階以上陽性度が高い (±→2+ ないし 1+→3+) ものは 18 検体 (18/110=16.4%) であった。逆に直接塗抹 Z-N 染色結果のほうが集菌塗抹蛍光染色結果よりも陽性度が高いものは 3 検体 (3/110=2.7%)、2 段階以上高いものは 0 であった。集菌塗抹蛍光染色では直接塗抹 Z-N 染色よりも有意に塗抹結果の陽性度が高かった ($p < 0.001$ /ウイルコクソンの符号付き順位検定)。

3.4. 塗抹検査の信頼性

少なくともどちらかの塗抹検査で陽性であった 170 検体、集菌塗抹蛍光染色で陽性であった 167 検体、直接塗抹 Z-N 塗抹で陽性であった 113 検体、両者ともに陽性であった 110 検体、集菌塗抹のみ陽性の 57 検体の各カテゴリーで〔直接塗抹 Z-N 染色のみ陽性 (3 例) のカテゴリーを除いた〕結核菌の培養陽性率は 71.7～71.9% とほぼ同一であった（詳細データ略）。

Table Comparison of direct smear by Ziehl-Neelsen stain and concentrated smear by fluorochrome stain

		Results of concentrated smear by fluorochrome stain					Total
		Negative	±	1+	2+	3+	
Results of direct smear by Z-N stain*	Negative	729	6	27	22	2	786
	±	1	2	7	9	1	20
	1+		2	8	19	8	37
	2+	2		5	17	21	45
	3+				2	9	11
Total		732	10	47	69	41	899

*Ziehl-Neelsen stain

集菌蛍光塗抹で陽性の167検体と、直接Z-N染色で陽性の113検体での抗酸菌培養陰性率はそれぞれ3.6%、3.5%とほぼ同一であった。

集菌塗抹蛍光染色および直接塗抹Z-N染色の両方で陽性の110検体中抗酸菌培養陰性は3検体(3/110=2.7%)であるのに対して、集菌塗抹蛍光染色のみ陽性の57検体中3検体(3/57=5.3%)が抗酸菌培養陰性であった。両者で抗酸菌培養陰性率に有意差はなかった($p=0.401$ /フィッシャーの正確確率テスト)。

同様に直接塗抹Z-N染色のみ陽性の3検体中1検体が培養陰性(33.3%)で、両方で陽性の110検体と比較した場合やはり抗酸菌培養陰性率に統計的有意差はなかった($p=0.103$ /フィッシャーの正確確率テスト)。

4. 考 察

本調査では、集菌塗抹蛍光染色陽性率に対する直接塗抹Z-N染色陽性率の比は67.7%であり、前回論文¹⁾で引用した本邦の報告³⁾の数値62.3%と非常に近似しており、前回論文で推測した予想範囲内(60.8~69.3%)の数値であった。

また前論文¹⁾では塗抹陽性度の比較については一切直接的なデータを示しえなかったが、本稿3.3.項のデータからはこの点においても集菌塗抹蛍光染色は直接塗抹Z-N染色を凌いでいた。

集菌塗抹蛍光染色が直接塗抹Z-N染色よりも感度が高いという事実は、その反面集菌塗抹蛍光染色での偽陽性増加の可能性を示唆するものであるが、本稿3.4.項のデータからはこうした可能性は低いことが予想される。

本稿の分析対象には培養結果が非結核性抗酸菌のみの

場合も含まれており、純粹に肺結核のみを対象としたものではない。しかし3.4.項の培養結果に見るように集菌塗抹蛍光染色陽性検体と直接塗抹Z-N染色陽性検体の培養結果では結核菌培養の占めるパーセントはほぼ同様であり、非結核性抗酸菌検体を分析対象に含めたことが、本稿の「肺結核の感染性評価からみた塗抹検査」について考える際の大きなバイアスの原因となることはないものと思われる。

本調査は単一施設での後ろ向き研究(retrospective study)であり、また直接に3回の直接塗抹Z-N染色と2回の集菌塗抹蛍光染色を比較したものでもないため、これらの比較に関して最終的な結論を導くものでないことは言うまでもない。

しかし本稿のデータは前論文¹⁾の短所を補うものであり、塗抹陽性率および塗抹陽性度の両者の点において喀痰2回の集菌塗抹蛍光染色の感度が喀痰3回の直接塗抹Z-N染色の感度と同等かそれ以上である可能性を側面から支持するデータであると思われる。

文 献

- 1) 伊藤邦彦：肺結核の感染性評価に必要な喀痰集菌塗抹検査の回数。結核。2006；81：357-362。
- 2) Peterson EM, Nakasone A, Platon-DeLeon JM, et al.: Comparison of direct and concentrated acid-fast smears to identify specimens culture positive for *Mycobacterium* spp. J Clin Microbiol. 1999；37：3564-3568。
- 3) 樋口武史, 丸井洋二, 螺良英郎：結核菌検査新指針の概要と考察。大塚薬報。2000；556：54-61。
- 4) 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会編：「新結核菌検査指針2000」, 結核予防会, 東京, 2000。

Short Report

COMPARISON BETWEEN DIRECT SMEAR BY ZIEHL-NEELSEN AND
CONCENTRATED SMEAR BY FLUOROCHROME STAIN^{1,2}Kunihiko ITO

Abstract [Purpose] For the purpose of supporting more completely our assertion that two times concentrated sputum smear tests by fluorochrome stain are more sensitive than or at least equal to 3 times direct smear tests by Ziehl-Neelsen stain, we compare the sensitivity of concentrated smear by stain (conc-smear) and direct smear by Ziehl-Neelsen stain (di-smear).

[Object and Method] Retrospective study of sputum acid-fast smear tests in our hospital with tuberculosis ward from Jan. 1, 2003 to Sep. 30, 2005.

[Result] 170 of 899 sputums on which both conc-smear and di-smear were done, were smear positive by at least one of the two smear method. Of those 170, 167 (98.2%) were positive by conc-smear and 113 (66.5%) were positive by di-smear, and the difference was statistically significant ($p < 0.001$). Of those 110 that were positive by both conc-smear and di-smear, in 65 (59.1%) smear grade by conc-smear were higher than that of di-smear, and in 3 (2.7%) smear grade by di-smear were higher than that of conc-smear. Smear grades in conc-

smear were significantly higher than that of di-smear ($p < 0.001$).

[Conclusion] In sensitivity and smear grades, conc-smear was superior to di-smear. Together with previous report, 2 times conc-smear tests are supposed to be superior to 3 times di-smear.

Key words: Pulmonary tuberculosis, Sputum, Ziehl-Neelsen stain, Fluorochrome stain, Direct smear, Concentrated smear

¹Department of Research, Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association (JATA), ²Department of Respiratory Medicine, Fukuji Hospital, JATA

Correspondence to: Kunihiko Ito, Department of Research, Research Institute of Tuberculosis, JATA, 3-1-24, Matsuyama, Kiyose-shi, Tokyo 204-8533 Japan.

(E-mail: ito@jata.or.jp)