

マルホ皮膚科セミナー

2013年12月5日放送

「第112回日本皮膚科学会総会④ 教育講演 15-2

セロファン粘着テープを用いた真菌検査の利点」

揖斐厚生病院
皮膚科部長 藤広 満智子

はじめに

透明粘着テープをわが国で最初に皮膚真菌症の診断に利用したのは、当時横浜市立大学助教授の中嶋 弘先生でした。それ以来、50年間両面テープは真菌症診断ツールとして外来診療にひろく取り入れられています。片面粘着テープであるセロファンテープも、生毛部白癬の診断や、白癬病巣周囲の健常部での白癬菌の証明、環境や履物からの白癬菌検出など、真菌症の診断や研究に用いられてきました（表1）。これらの報告は主にセロファンテープで採取した角質を、培養することによって白癬菌の存在を証明するといったものです。つまり両面テープは顕微鏡検査用、セロファンテープは培養用というように、用途が分かれていました。私たちの病院では、この20数年、セロファンテープを使ってKOH直接鏡検と培養の両方を同時に行ってきましたので、その方法やコツ、真菌検査法としてのメリットについて紹介します。

表1: セロファン粘着テープを皮膚真菌症に応用した歴史

1964	中嶋 弘	両面スコッチテープを癬風の診断に利用
1968	小林明博	生毛部白癬の診断にスコッチテープを
1971	Knudsen EA	生毛部白癬からスコッチテープで培養
1974	Knudsen EA	スコッチテープの培養陽性率は従来法に及ばない
1975	Knudsen EA	周囲の正常部に白癬菌を証明
1980	Knudsen EA	スコッチテープでスライドガラスに張り付けた白癬菌の 生存期間は長い
1986	Knudsen EA	履物から白癬菌を採取、培養できる
1993	藤広満智子	足白癬患者からの白癬菌散布
1994	藤広満智子	病院環境からの白癬菌分離
1996	藤広満智子	生毛部白癬の診断(KOH・培養)に有用

セロファンテープ検体採取法

セロファンテープ法は、皮膚にセロファンテープを張り付けることによって検体となる角層を採取する方法です。したがって対象となる疾患は角層が薄くて取りやすい体部白癬、股部白癬などの生毛部の白癬、皮膚カンジダ症、癬風の三つです。足白癬は角層をテープで剥がすことが困難なため行っていません。

まずテープカッターから 10 センチほどのセロファンテープを切りとります。端を手にとって、病巣の中央から辺縁に向かって、上から指で押しえながら、すこしずつずらして接着剥離を繰り返します（図1）。顔面のように皮脂が多くてうまく鱗屑を剥離できない場合は、その 1 枚目は捨て、新しいテープで剥離を繰り返します。肉眼的に大きい鱗屑が確認できたテープを検体として使います。不慣れなうちは予備にもう 1 枚採取しておくといでしょう。



図1: セロファンテープでの鱗屑採取方法

KOH 直接鏡検法

テープの鱗屑が多く付着した平らな部分を、カバーグラス大に切ります。ピンセットで持って、スライドグラスの上に接着面を下にしてそっと軽く浮かして置きます。続いてテープの縁から、1/2 滴ほどのわずかな量の 20% KOH 液を毛細管現象を利用して入れます（図2）。空気が入ってしまった場合は上からピンセットで押しえて抜き、KOH 液が全体にゆきわたるようにします。数分間そのまま待ってから鏡検します。カバーグラスの標本は温めて角質を早く溶かしますが、テープはあたためると波打って見にくくなるので、常温で待つことが重要です。透明度が増したところで、通常通りコンデンサーを下げて鏡検し、真菌を探します。多少の湾曲があるため、フォーカスを合わせるためにステージの上げ下げを要しますが、慣れてくれば気にならなくなります。コツは大き

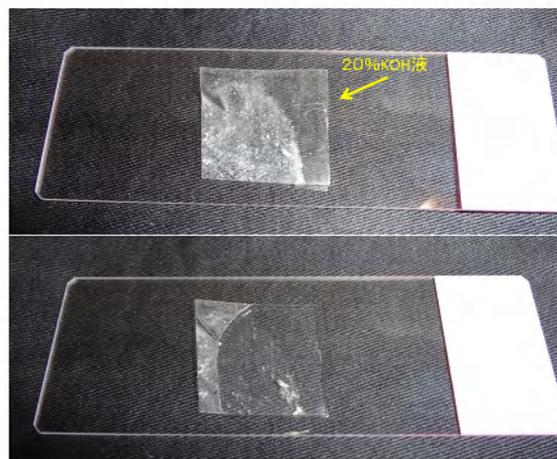


図2: セロファンテープKOH標本作製方法



図3: セロファンテープKOH鏡検所見(→ 白癬菌)

い鱗屑内を集中的にさがすことです（図3）。

「セロファンテープの KOH 鏡検は難しい」という声をよく耳にしますが、その理由は KOH 液がうまく見たい鱗屑の部分に入らないためようです。その対策として、カバーグラス大に切る事のほかに、切ってスライドグラスに載せるまで、テープをフラットな状態にしておくことが意外に重要です。セロファンテープは何かに張り付けると、はがす際に接着面を外側にしてくるっと丸くなってしまう性質があるためです。そうなってしまっはスライドグラスに平らに載せることができません。ただし鏡検に自信がない場合や判断に迷った場合に備え、セロファンテープの一部をシャーレなどに張り付けて保存しておくことは可能です。KOH 処理してしまったテープは1時間ともちませんが、そのままの状態なら、数日後でも KOH 標本を作成して、指導医に診てもらうことができますし、培養に使うこともできます。

セロファンテープ培養法

培養には白癬菌分離培地であるアクチジオン・クロラムフェニコール添加ブドウ糖寒天培地の平板を用います。これは“マイコセル培地”という名前で粉末培地が市販されています。鱗屑の付着したテープを、2、3センチに切って、できるだけ広い接着面が培地に接するように置きます。素手で行っても失敗することはありません（図4）。シャーレの蓋をビニールテープで密封し、室温で培養します。当科では20年来この方法で生毛部白癬の培養をしています。培養成功率は90%前後と好成績を示しています。これはピンセットやメスで採取する従来の方法より、多量の鱗屑が得られるためだと考えます。



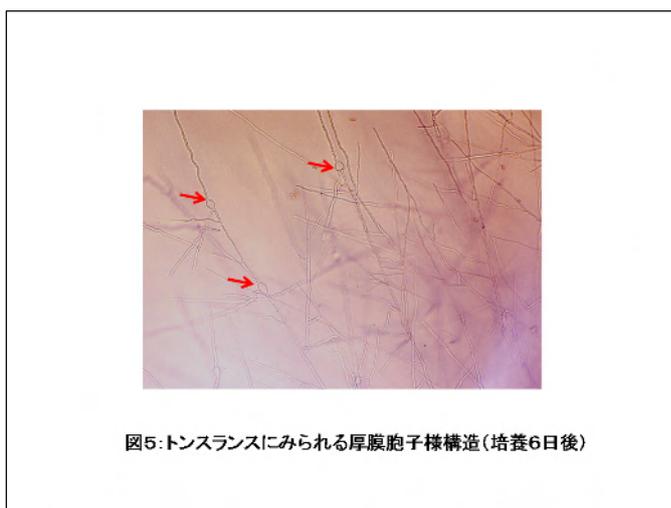
図4:セロファンテープ培養方法

セロファンテープとトンスランス感染症

2000年ころから我が国でも急速にトンスランス感染症が増えてきました。最近では啓蒙が行き届き、格闘技選手の顔面、頭部の白癬をみれば、だれもがトンスランス感染症を疑いますが、流行当初は一部の真菌専門医の施設でなければ、この感染症を疑って培養することはありませんでした。本症は臨床的にはもっともありふれた *Trichophyton rubrum* による体部白癬、頭部白癬と区別ができません。この感染力の強い白癬菌は、まず高校生を中心として蔓延したため、教育現場への指導が必要でした。しかし培養をしなければトンスランス感染症という確定診断ができません。つまり KOH 検査による診断だけでは、感

染予防対策をとってもらうための根拠に欠けるわけです。日本医真菌学会ではシャンプーブラシを使った、キャリアの発見のための培養の依頼を受け付けていましたが、実際に患者を診る機会が多いのは学校の近くにある開業医の先生方です。現実的にはまず目の前の患者の原因菌の同定が必要で、患者の毛や鱗屑を送って、早急に同定してもらえる仕組みがほしい、というのが現場のニーズと考えられました。それを叶えたのがセロファンテープ法です。セロファンテープを使えば、検体をクリアファイルなどに張り付けて、封書で簡単に送ることができます。当院では 2002 年からそのサービスを始め、この 10 年で 200 件ほどの依頼を受け付けました¹⁾。

なるべく早く同定結果を出そうと、毎日平板培地を観察していましたが、ある日、他の白癬菌では見られない特徴があることに気付きました。セロファンテープは透明なので付着した鱗屑を、経時的に平板培地の裏から顕微鏡で観察することができます。通常、培養 2 日目には菌糸を出し始めますが、4 日目ころからその一部に丸く膨らんだ形状をしばしば認めました (図 5)。これは他の白癬菌にもまれにみられますが、もっとも鑑別したい *T. rubrum* にはありません。数多くの菌株を検討したところ、その厚膜胞子様の形態はトンスランスの 100% に発現し、なおかつ培養 1 週間という早期に多量に形成されることがわかりました。その後、金沢医科大学の望月隆先生たちのグループが他の白癬菌と比較検討した詳細なデータを報告してくださいました。その結果、この所見はトンスランスだけに特徴的であり、同定の迅速化に役立つということが医真菌学会でも認められました²⁾。



セロファンテープ法の長所と短所

一番の長所は患者に痛みを与えずに多くの鱗屑の採取が可能なこと。そのほか KOH 鏡検と同時に培養もできること、採取した検体を持ち歩くことや郵送が容易であること、また粘着性が生毛の採取を容易にし、生毛での白癬菌の寄生形態の観察が可能になったこと、検体は数か月の保存にも耐えることなども利点としてあげられます。一方短所は、KOH 標本は空気や粘着剤のため慣れないと見にくいこと、セロファンは親水性であるため KOH 処理後短時間に湾曲してしまい、鏡検できる時間が短いこと、培養では雑菌汚染が多いことなどです。

日常外来診療で遭遇する皮膚真菌症は、そのほとんどが KOH 直接鏡検法という短時間の検査で確定診断が可能です。真菌の有無を確認してから説明することは、皮膚科専門医と

して患者の信頼を得るうえで必要不可欠なことと考えられます。面倒がらずにコツコツと鏡検をすることを習慣化すれば、思わぬ誤診を防ぐことにもなります。そのためにこのセロファンテープ法が少しでも役立てば幸いです。

文献

- 1) 藤広満智子：病院皮膚科医の地域における役割－*Trichophyton tonsurans* 蔓延防止の取り組み－,真菌誌,49:191-195,2008.
- 2) 望月 隆,安澤数史,坂田祐一,藤広満智子：*Trichophyton tonsurans* の厚膜孢子様構造は培養早期のスクリーニングに有用である,真菌誌,53 suppl.1,80,2012.