

は、術前日よりLVFX点眼液1日4回点眼を行い、眼脂培養でLVFX耐性菌が陽性の場合には、検出菌に感受性の高い抗菌薬とLVFX点眼液との2剤併用を行っている。また、腸球菌やメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)などのハイリスクな菌が検出されたときには、感受性のある抗菌薬を術前1~2週間前から点眼し、手術日までに眼脂培養が可能な場合には、眼脂培養を再検し、陰性になることを確認してから手術を行うように努めている。再検できない場合には、手術後も点眼を継続し、感染予防に努めている。このような術前の抗菌薬点眼の術後感染予防効果については議論がある¹⁰⁾が、当科では過去10年以上術後重篤な感染症を生じた症例を経験していない。また、術前の細菌学的検査結果は、いったん術後眼内炎が発症した際には治療上有用な情報になるものと思われる。

当院におけるフルオロキノロン耐性率の経年変化を、Kurokawaらの報告⁷⁾と今回の結果をもとに図1に示す。

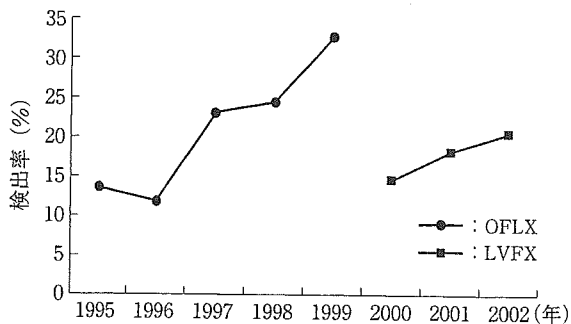


図1 フルオロキノロン系薬剤耐性菌検出率

OFLX: オフロキサシン, LVFX: レボフロキサシン. 1995~1999年はOFLX耐性率を, 2000~2002年はLVFX耐性率を示す. LVFX耐性率は20%前後とOFLX耐性率より低くなっているが, 増加傾向を呈している。

1995~1999年はOFLXの耐性率, 2000~2002年はLVFXの耐性率で示してある. OFLX耐性率は1995年の13.5%から1999年の32.8%と経年的に増加していたが, 2000年よりLVFXに切り替えたために, LVFX耐性率は20%前後となっている. OFLXとLVFXの有効成分は本質的に同一であるが, LVFXのほうがOFLXよりも耐性率が低いのは, LVFXの抗菌活性はOFLXの約2倍であり, MICが1/2であるためと考えられる. LVFXについては3年間の検討であるために年度別に耐性率の有意の変化はみられなかったが, 徐々に耐性率が増加している傾向が見受けられ, 今後注意して引き続き動向を観察していく必要があると考えられた。

当院における結果を過去の他施設の報告と比較したところ^{5,7,11~13)}, 対象や検査方法が各施設で異なるため一概には比較できないが, OFLX耐性率は他施設でも経年的に増加していることが推測された(表5). LVFXについては, 関らによる介護施設に通う眼感染症のない高齢者46名92眼を対象とした調査で, コアグラゼ陰性ブドウ球菌(CNS)が51.9%に検出され, うちOFLX耐性率29.3%, LVFX耐性率19.5%という報告¹⁴⁾があり, 筆者らのLVFX耐性率(2000年14.5%, 2001年18.3%, 2002年20.5%)はこれとほぼ一致していた。

今回の結果は, 薬剤耐性率はその時代の抗菌薬使用率を反映し, 抗菌薬の汎用が容易に耐性菌を出現させることを示唆している. 眼感染症や眼手術時における抗菌薬の使い方について十分な配慮が必要であるとともに, 適切な抗菌薬選択のために結膜囊細菌培養および薬剤感受性試験の重要性を再認識するべきと考えられた。

表5 過去の報告との比較

| 報告者 | 対象 | 年 | 菌種 | OFLX耐性率 (%) |
|------------------|--------------------------|---------------|---------|-------------|
| 宮尾ら 1993年 | 眼感染症クリニック 受診者(2,472眼) | 1989 | 黄色ブドウ球菌 | 13.6 |
| | | | 表皮ブドウ球菌 | 4.3 |
| 菅井ら 1997年 | 内眼手術患者 (2,340眼) | 1990 1994 | 検出菌全体 | 3.1 |
| | | | 検出菌全体 | 25.7 |
| 大澤ら 1996年 | 白内障・緑内障手術 患者(459眼) | 1995 | 表皮ブドウ球菌 | 25.1 |
| 大橋ら 1998年 | 65歳以上高齢者 (1,000眼) | 1996 | 表皮ブドウ球菌 | 約35 |
| 黒川ら(当院) 2002年 | 内眼手術患者 (1,455眼) | 1995 ~1999 | 検出菌全体 | 13.5~32.8 |
| 櫻井ら(当院) 2004年 | | | 検出菌全体 | 14.5~20.5* |

* レボフロキサシン(LVFX)耐性率(%). オフロキサシン(OFLX)耐性率は他施設においても経年的に増加していると推測された。

文 献

- 1) 大石正夫：MRSA 眼感染症. 眼紀 41：18-25, 1990
- 2) 山形 忍, 真砂めぐみ, 松橋正和ほか：長期入院患者におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌とメチシリン耐性表皮ブドウ球菌. あたらしい眼科 10：1715-1718, 1993
- 3) 三崎昌史, 西原 勝, 松村香代子ほか：国立善通寺病院眼科外来におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA), メチシリン耐性表皮ブドウ球菌 (MASE) 検出状況—1992年4月～12月—. あたらしい眼科 10：1719-1721, 1993
- 4) 丸山勝彦, 藤田 聡, 熊倉重人ほか：手術前の外来患者における結膜嚢内常在菌. あたらしい眼科 18：646-650, 2001
- 5) 大橋秀行, 福田昌彦, 大鳥利文：高齢者 1,000 眼の結膜嚢内常在菌. あたらしい眼科 15：105-108, 1998
- 6) Kowalski RP, Pandya AN, Karenchak LM et al：An in vitro resistance study of levofloxacin, ciprofloxacin, and ofloxacin using keratitis isolates of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Ophthalmology* 108：1826-1829, 2001
- 7) Kurokawa N, Hayashi K, Konishi M et al：Increasing ofloxacin resistance of bacterial flora from conjunctive sac of preoperative ophthalmic patients in Japan. *Jpn J Ophthalmol* 46：586-589, 2002
- 8) Ernst ME, Ernst EJ, Klepser ME：Levofloxacin and trovafloxacin：the next generation of fluoroquinolones? *Am J Health-Syst Pharm* 54：2569-2584, 1997
- 9) Wimer SM, Schoonover L, Garrison MW：Levofloxacin：a therapeutic review. *Clin Ther* 20：1049-1070, 1998
- 10) Ciulla TA, Starr MB, Masket S：Bacterial endophthalmitis prophylaxis for cataract surgery. An evidence-based update. *Ophthalmology* 109：13-26, 2002
- 11) 宮尾益也, 本山まり子, 阿部達也ほか：新潟大学眼感染症クリニックにおける検出菌と薬剤感受性の成績 (1982-1991年). 眼紀 44：1577-1583, 1993
- 12) 菅井哲也, 井上慎三, 松村香代子ほか：術前結膜嚢細菌培養と1濃度ディスク法による抗菌耐性菌の評価. 眼紀 48：730-735, 1997
- 13) 大澤秀也, 初田高明, 宮谷博史ほか：結膜嚢内細菌叢及びその薬剤感受性について. 京都第二赤十字病院医学雑誌 17：68-72, 1996
- 14) 関 奈央子, 亀井裕子, 松原正男：高齢者の結膜嚢内コアグラゼ陰性ブドウ球菌の検出率と薬剤感受性. あたらしい眼科 20：677-680, 2003

* * *

JIS

顯微鏡 一 倍率

JIS B 7254 : 0000

(ISO 8039 : 1997)

(JMMA/JSA)

制定

日本工業標準調査会 審議

主 務 大 臣：経済産業大臣 制定：平成 00.00.00

官 報 公 示：平成 00.00.00

原 案 作 成 者：日本顕微鏡工業会

(〒163-0914 東京都新宿区西新宿 2-3-1 新宿モノリス TEL 03-6901-4006)

財団法人日本規格協会

(〒107-8440 東京都港区赤坂 4 丁目 1-24 TEL 03-5770-1573)

審 議 部 会：日本工業標準調査会 標準部会 (部会長)

審議専門委員会：産業機械技術専門委員会 (委員長)

この規格についての意見又は質問は、上記原案作成者又は経済産業省産業技術環境局 標準課産業基盤標準化推進室
[〒100-8901 東京都千代田区霞が関 1 丁目 3-1 TEL 03-3501-1511 (代表)] にご連絡ください。

なお、日本工業規格は、工業標準化法第 15 条の規定によって、少なくとも 5 年を経過する日までに日本工業標準調査

まえがき

この規格は、工業標準化法第 12 条第 1 項の規定に基づき、日本顕微鏡工業会(JMMA)／財団法人日本規格協会(JSA)から、工業標準原案を具して日本工業規格を制定すべきとの申出があり、日本工業標準調査会の審議を経て、経済産業大臣が制定した日本工業規格である。

制定に当たっては、日本工業規格と国際規格との対比、国際規格に一致した日本工業規格の作成及び日本工業規格を基礎にした国際規格原案の提案を容易にするために、ISO 8039:1997, Optics and optical instruments-Microscopes-Magnification を基礎として用いた。

目 次

| | ページ |
|----------------------|-----|
| 序文 | 1 |
| 1. 適用範囲 | 1 |
| 2. 定義 | 1 |
| 2.1 倍率 | 1 |
| 2.2 観察倍率 | 1 |
| 2.3 横倍率 | 1 |
| 2.4 対物レンズの倍率 | 1 |
| 2.5 鏡筒倍率係数 | 1 |
| 2.6 接眼レンズの倍率 | 2 |
| 2.7 投影倍率係数 | 2 |
| 2.8 肉眼観察における顕微鏡の総合倍率 | 2 |
| 2.9 実像を作る顕微鏡の総合倍率 | 2 |
| 3. 結像要素の倍率記号 | 2 |
| 4. 計算方法 | 2 |
| 4.1 対物レンズの倍率 | 2 |
| 4.2 鏡筒倍率係数 | 2 |
| 4.3 接眼レンズの倍率 | 3 |
| 4.4 投影倍率係数 | 3 |
| 4.5 総合倍率 | 3 |
| 5. 倍率の値とその公差 | 4 |
| 5.1 倍率の値 | 4 |
| 5.2 各要素の倍率の公差 | 4 |
| 解 説 | 5 |

顕微鏡 — 倍率

Microscopes — Magnification

序文 この規格は、1997年に第1版として発行されたISO 8039:1997, Optics and optical instruments-Microscopes-Magnificationを翻訳し、技術的内容を変更することなく作成した日本工業規格である。

1. 適用範囲 この規格は、光学顕微鏡における対物レンズ、接眼レンズなど結像要素の一連の倍率値を規定するとともに、それが適用される拡大光学系につき定めたものである。

備考 この規格の対応国際規格を、次に示す。

なお、対応の程度を表す記号は、ISO/IEC Guide 21に基づき、IDT (一致している)、MOD (修正している)、NEQ (同等でない) とする。

ISO 8039:1997, Optics and optical instruments-Microscopes-Magnification (IDT)

2. 定義 この規格で用いる主な用語の定義は、次による。

2.1 倍率 光学系によって生じる像の大きさと、物体の大きさとの比。

備考1. 観察倍率や横倍率など倍率の種類についてはそのつど特定しておく必要がある。

2. 光学系の拡大能力を表わすより一般的な用語として「拡大能」があるが、この規格では実用面で広く使用されている「倍率」の用語を採用した。

2.2 観察倍率 ある物体を、拡大光学系を通して無限遠の位置にできた像を観察したときの観察角 θ' と、明視距離(250mm)において肉眼観察したときの観察角 θ との正接比 $\tan \theta' / \tan \theta$ 。

備考 この比は、例えば10×のように数値と掛け算記号を用いて表す。

2.3 横倍率 実像の光軸に垂直方向における寸法 h' と、それに対応する物体面における寸法 h の比 h' / h 。

備考 この比は、例えば10:1のように比例式で表す。

2.4 対物レンズの倍率

2.4.1 有限系対物レンズの倍率(光学筒長が有限である対物レンズの倍率) 対物レンズの設計時に定められた位置に作られた一次像の横倍率。

2.4.2 無限遠補正対物レンズの倍率(光学筒長が無限遠である対物レンズの倍率) 対物レンズとその基準となる結像レンズとの組合せで作られた一次像の横倍率。

備考 4.1章参照

2.5 鏡筒倍率係数 対物レンズと一次像との間に挿入された中間レンズにより一次像の横倍率が変換される係数。

備考 中間レンズには、固定式のもの、変換可能なもの、中間鏡筒に組み込まれたものなどがあり、それぞれ個々の鏡筒倍率係数を持つ(4.2参照)。

2.6 接眼レンズの倍率 接眼レンズにより一次像から作られた虚像の観察倍率。

備考 4.3 参照

2.7 投影倍率係数 カメラ又はテレビ撮像面のような受光素子面上に物体の実像が作られる場合に、顕微鏡の総合倍率を求めるための係数。

備考 像の形成には様々な方式がある (4.4 参照)。

2.8 肉眼観察における顕微鏡の総合倍率 顕微鏡によって作られる虚像の観察倍率。

備考 4.5 参照

2.9 実像を作る顕微鏡の総合倍率 実像の横倍率。

備考 4.5 参照

3. 結像要素の倍率記号 表1に対物レンズ、接眼レンズなど結像要素と、それらの組合せの倍率を表す場合に用いる記号及びその表記例を示す。

表 1 倍率の記号と表記方法

| 系/要素 | 記号 | 表記方法 | |
|--------------|----------------|----------------------------|----------|
| | | 推奨 | 他の表記 |
| 対物レンズ | | | |
| a)光学筒長 有限補正 | M_o | $M_o = 25:1$ | 25:1又は25 |
| b)光学筒長 無限遠補正 | $M_{o\infty}$ | $M_{o\infty} = 25 \times$ | 25 × |
| 接眼レンズ | M_E | $M_E = 10 \times$ | 10 × |
| 鏡筒倍率係数 | q | $q = 1.25 \times$ | 1.25 |
| 実像の投影倍率係数 | p | $p = 0.32 \times$ | 0.32 |
| 写真用投影レンズ | M_{PHOT} | $M_{PHOT} = 2.5 \times$ | 2.5 × |
| 顕微鏡の総合倍率 | | | |
| a)観察用 | $M_{TOT VIS}$ | $M_{TOT VIS} = 500 \times$ | 500 × |
| b)実像用 | $M_{TOT PROJ}$ | $M_{TOT PROJ} = 500:1$ | 500:1 |

4. 計算方法

4.1 対物レンズの倍率 無限遠補正対物レンズの倍率は、基準となる結像レンズと対物レンズとの焦点距離の比で表す。

$$M_{o\infty} = f_{NTL}/f_{o\infty}$$

ここに、 $M_{o\infty}$: 無限遠補正対物レンズの倍率

f_{NTL} : 基準結像レンズの焦点距離 (mm)

$f_{o\infty}$: 対物レンズの焦点距離 (mm)

4.2 鏡筒倍率係数

4.2.1 中間レンズを用いた場合、全体の鏡筒倍率係数は中間レンズ個々の倍率係数の積となる。

4.2.2 無限遠補正対物レンズの場合、基準となる結像レンズと異なる結像レンズが組合されたときの鏡筒倍率係数は、その結像レンズと基準結像レンズとの焦点距離の比で表す。

$$q = f_{TL}/f_{NTL}$$

ここに、 q : 全体の鏡筒倍率係数

f_{TL} : 結像レンズの焦点距離 (mm)

f_{NTL} : 基準結像レンズの焦点距離 (mm)

4.3 接眼レンズの倍率 接眼レンズの倍率は、明視距離と接眼レンズの焦点距離との比で表す。

$$ME = 250 / f_e$$

ここに、 ME : 接眼レンズの観察倍率

f_e : 接眼レンズの焦点距離(mm)

250 : 明視距離(mm)

4.4 投影倍率係数 投影倍率係数の計算は、像の作り方で異なる。

4.4.1 観察用の接眼レンズと無限遠距離に合わせたカメラ又は投影レンズとを用いて実像を作る場合、投影倍率係数は、カメラ又は投影レンズの焦点距離と明視距離との比で表す。

$$p = f_{PROJ} / 250$$

ここに、 p : 投影倍率係数

f_{PROJ} : カメラ又は投影レンズの焦点距離(mm)

250 : 明視距離 (mm)

4.4.2 観察用の接眼レンズのみを用いて実像を作る場合、投影倍率係数は、接眼レンズの後側焦点位置から投影像までの距離 a と明視距離との比によって表す。

$$p = a / 250$$

ここに、 p : 投影倍率係数

a : 接眼レンズの後側焦点位置から投影像までの距離(mm)

250 : 明視距離(mm)

4.4.3 顕微鏡写真撮影のように専用に設計された投影レンズを用いて実像を作る場合、このレンズは定められた像面への投影倍率が規定される。顕微鏡で実像を作る場合の総合倍率を計算するときには、投影レンズの倍率 M_{PHOT} を用い、観察用接眼レンズは結像に関与しないため投影倍率係数 p は用いない。

4.5 総合倍率

4.5.1 顕微鏡における総合観察倍率は、対物レンズの倍率、鏡筒倍率係数、接眼レンズの観察倍率の積によって表す。

$$M_{TOT VIS} = M_o \cdot q \cdot ME$$

ここに、 $M_{TOT VIS}$: 顕微鏡の総合観察倍率

M_o : 対物レンズの倍率

q : 鏡筒倍率係数

ME : 接眼レンズの観察倍率

4.5.2 観察用接眼レンズ、又は投影倍率係数が既知の写真投影レンズを用いて実像を作る場合の顕微鏡総合倍率は、対物レンズの倍率、鏡筒倍率係数、接眼レンズの倍率及び投影倍率係数の積によって表す。

$$M_{TOT PROJ} = M_o \cdot q \cdot ME \cdot p$$

ここに、 $M_{TOT PROJ}$: 顕微鏡の総合横倍率

M_o : 対物レンズの倍率

q : 鏡筒倍率係数

ME : 接眼レンズの観察倍率

p : 投影倍率係数

4.5.3 専用に設計された写真用投影レンズを用いて実像を作る場合の顕微鏡総合倍率は、対物レンズの倍率、鏡筒倍率係数及び写真用投影レンズの倍率の積によって表す。

$$M_{TOT PROJ} = M_o \cdot q \cdot M_{PHOT}$$

ここに、 $M_{TOT PROJ}$: 顕微鏡の総合横倍率

M_o : 対物レンズの倍率

q : 鏡筒倍率係数

M_{PHOT} : 写真用投影レンズの横倍率

5. 倍率の値とその公差

5.1 倍率の値 対物レンズや接眼レンズなどの結像要素又は結像系の倍率値は、表2の値を用いる。この表中のどの2つの値から積又は商を求めても、その値はこの表内に示されたものになる。この表は1行につき係数10で拡張していくことができる。

表2 倍率の値

| | | | | | | | | | |
|--|------|------|------|------|------|-----|-----|------|-----|
| | | | | ... | 0.32 | 0.4 | 0.5 | 0.63 | 0.8 |
| 1 | 1.25 | 1.6 | 2 | 2.5 | 3.2 | 4 | 5 | 6.3 | 8 |
| 10 | 12.5 | 16 | 20 | 25 | 32 | 40 | 50 | 63 | 80 |
| 100 | 125 | 160 | 200 | 250 | 320 | 400 | 500 | 630 | 800 |
| 1000 | 1250 | 1600 | 2000 | 2500 | ... | | | | |
| <p>備考1. この値は ISO 3:1973 の R10 シリーズ (標準数—標準数の数列) からの採用である。(JIS Z 8601:標準数)</p> <p>2. 上記の中で 3.2 はその R10 数列の値 3.15 を丸めたものである。</p> <p>3. 本表の値以外にも以下の値が使用されている。</p> <p>1.5-15-30-60-150</p> | | | | | | | | | |

5.2 各要素の倍率の公差 倍率の公差は表3に示す。

表3 倍率の公差

| 系/要素 | 公差 (%) |
|--------|--------|
| 対物レンズ | ±5 |
| 鏡筒倍率係数 | ±2 |
| 投影倍率係数 | ±2 |
| 接眼レンズ | ±5 |

JIS B 7254 : 0000
(ISO 8039 : 1997)
顕微鏡 一 倍率
解 説

この解説は、本体に規定した事柄，これらに関連した事柄を説明するもので，規格の一部ではない。

この解説は，財団法人日本規格協会が編集・発行するものであり，この解説に関する問合せは，財団法人日本規格協会へお願いします。

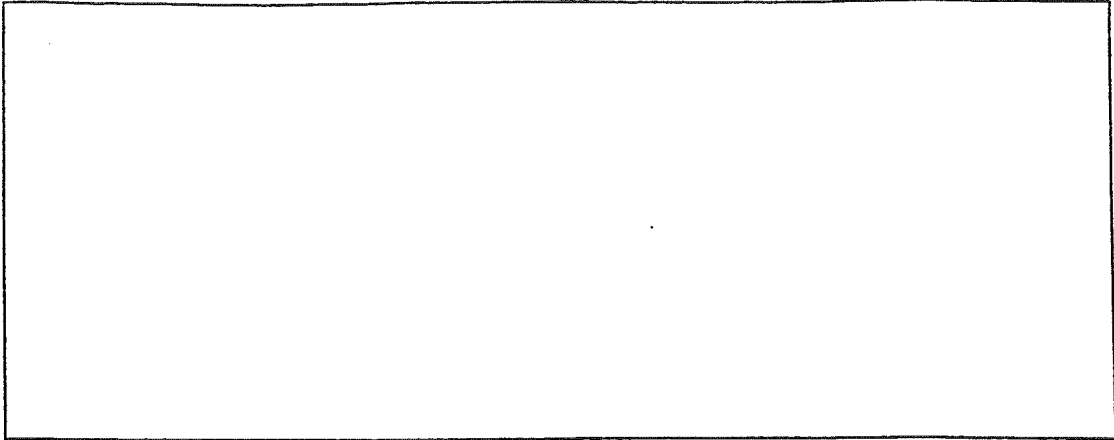
1. 制定の趣旨 顕微鏡の倍率に関する規格が ISO で制定された。我が国には顕微鏡の倍率に関して、一部の顕微鏡に対応した対物レンズの倍率に関する JIS は有ったが、現在は日本顕微鏡工業会規格として残されている。これを契機に全ての光学顕微鏡に適用する新しい JIS を制定することになった。ここに制定した JIS は既に存在する ISO 8039:1997(Optics and optical instruments-Microscopes-Magnification)を翻訳したものである。翻訳に際し、文言の変更は有るが、技術的内容において一致している。

2. 原案作成委員会の構成表 原案作成委員会の構成表を次に示す。

JIS B 7254 (顕微鏡一倍率) 原案作成委員会 構成表

| | 氏名 | 所属 |
|-------|---------|-------------|
| (委員長) | 太 田 次 郎 | 学校法人江戸川学園 |
| | 小 宮 義 則 | 経済産業省製造産業局 |
| | 永 井 克 尚 | 財団法人日本規格協会 |
| | 根 本 心 一 | お茶の水女子大学 |
| | 木 村 孝 一 | 江戸川大学 |
| | 野 田 徹 | 国立病院 |
| | 瀬 谷 正 樹 | ユニオン光学株式会社 |
| | 藤 原 忠 史 | オリンパス株式会社 |
| | 阪 本 忍 | 株式会社ニコン |
| | 木 村 正 資 | 株式会社清和光学製作所 |
| (事務局) | 片 桐 正 秀 | 日本顕微鏡工業会 |

(文責 片桐 正秀)



JIS B 7254 (ISO 8039)
顕微鏡 一 倍率

平成 年 月 日 第 1 刷発行

編集兼
発行人

発 行 所

JAPANESE INDUSTRIAL STANDARD

Microscopes — Magnification

JIS B 7254 : 0000

(ISO 8039 : 1997)

(JMMA/JSA)

Established 0000-00-00

Investigated by
Japanese Industrial Standards Committee

Published by

定価 : 本体 0,000 円 (税別)

ICS (例)999.99.99.99(例)

Reference number : JIS B 7254:0000(J)

PRACTICAL 2003

OPHTHALMOLOGY

97

細隙灯顕微鏡の
すべて

細隙灯顕微鏡観察の基本テクニック

1. 細隙灯顕微鏡観察法の基本原則

◆ 野田 徹 [国立病院東京医療センター眼科]

東京 文光堂 本郷

1. 細隙灯顕微鏡観察法の基本原則

◇——野田 徹 [国立病院東京医療センター眼科]

細隙灯顕微鏡のすべて

●はじめに

細隙灯顕微鏡観察の最大の特徴は、スリット光束を斜め方向から照明して、通常の顕微鏡の照明法では観察できない透明(半透明)組織を可視化して観察できる点にある。以下の照明法と観察法を適切に選択し、組み合わせて用いることにより、さまざまな眼組織の詳細な評価が可能となる。

(I. 照明法

各照明法については、「角膜観察法」の項(28頁)で、臨床例とともにきわめてわかりやすく詳述されているので、本稿と併せてご参照いただきたい。

1. 直接照明法

1) スリット光による直接照明

① 幅広いスリット光による組織表面の観察

スリット光を幅広く照明することにより、照明された組織表面を観察する方法である。

② ごく細いスリット光(スリットナイフ)による透明組織の断面の観察

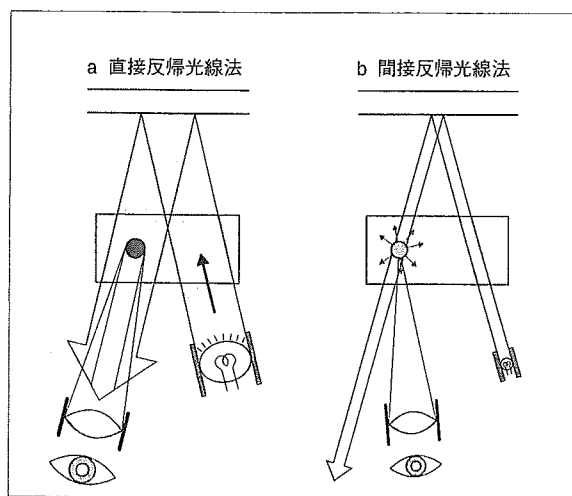
スリット光束をきわめて細くして照明することにより、透明(半透明)組織の内部を断面として観察することが可能となる。

2) ディフューザーを用いた全体照明

全視野を均一に照明して観察する場合は、ディフューザーを通した照明光を用いる。

◆背景照明

背景照明は、スリット照明と独立したディフューズ照明である。従来は、フォトスリット装置の写真撮影のための補助照明であった。診断的な見地からは、背景照明は不要であり、スリット照明(直接照明、間接照明)のみで十分な観察評価が行えるため、診断用顕微鏡には補助的にディフューザーが反射板の前に用意されているに



【図1】 間接照明法(反帰光線法)

a 直接反帰光線法, b 間接反帰光線法

不透明な吸収性病変は a 直接反帰光線法で高いコントラストで観察され、半透明な淡い病変は、b 間接反帰光線法で鋭敏に検出される。

すぎなかった。しかし最近では、デジタル技術の進歩により CCD カメラによる動画モニター、静止画撮影が容易に行えるようになったため、診断用顕微鏡にも背景照明装置を独立して備えることが、患者説明などの面からも有用となっている。

2. 間接照明法(図1)

1) 反帰光線法(虹彩反帰光線法, 水晶体反帰光線法, 眼底反帰光線法)

観察対象以外の眼組織に照明光を当て、その反射光で観察する照明法である。照明光を反射させる組織により、虹彩反帰光線法、水晶体反帰光線法、眼底反帰光線法がある。

① 直接反帰光線法(図1 a)

照明光が当たっている反射面上に観察対象を置

き、強い背景照明を通して対象組織を観察する。不透明性の強い吸収性組織が高いコントラストで観察される。

② 間接反帰光線法(図1b)

照明光が当たっている反射面を避けた位置で対象を観察する。特に、淡く微細な混濁が最も鋭敏に検出できる。

◆微照法

眼底反帰光線法を利用したもので、水晶体の観察などで汎用されている。間接照明である点以外にも、眼底からの(赤色光系の)反射光は散乱が少なく透過性が高いため、直接照明光とは異なる特性の照明光束が形成される。その反帰光線を通した観察により、組織の透過、吸収、屈折特性の違いによる評価が可能となる。

2) 強膜散乱法(図2)

角膜輪部付近に照明光を当てることにより、強膜の角膜との接合面で反射した光が角膜実質組織に平行な方向に向かって入射すると、角膜上皮面と内皮面それぞれの光学的境界面を透過できずに全反射を繰り返して進むことにより、角膜全体が照明され(ちょうど光ファイバーの原理と同様)、角膜全体にわたって混濁組織の観察が可能となる。

◆照明法の原則

直接照明光は間接照明による観察(後方からの照明による観察なので)を妨げる。したがって、同一視野での両者の混在を避けることが照明法の原則となる。つまり、間接照明で観察する場合は、観察部位にできるだけ直接照明による反射光が生じないように照明を配置する。つまり、

① スリット幅に応じて照明角をより大きくとる(図3) スリット幅を広くするほど、観察系と照明系の角度を大きく離して配置する。

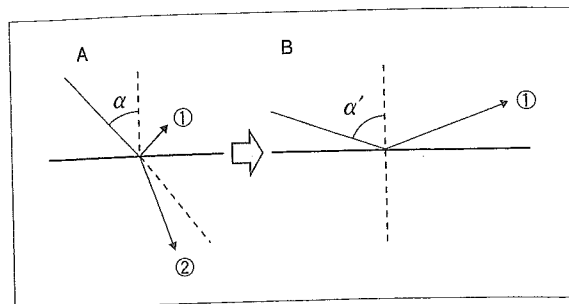
② 照明部位と観察部位とをずらして観察する(図4) これには二つの方法がある。

(1) 周辺視野で観察する(図4b①)

観察対象を視野の中心から観察平面上を水平方向にずらした位置で観察することにより、直接照明を観察対象からずらして観察できる。細いスリット光ではある程度これだけで間接照明による観察が行える。

(2) 観察系と照明系の同軸を解除する(図4b②)

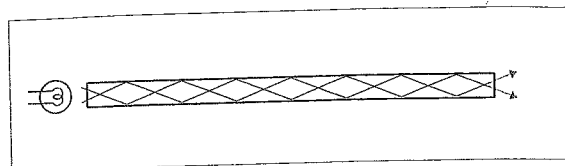
観察対象組織を視野の中心において顕微鏡観察系の焦点を合わせると、そこに直接照明光が当たるように細隙灯顕微鏡は調整されている。間接照明で観察する対象から直接照明が当たらないようにするためには、(Goldmannタイプの顕微鏡では)同軸固定ネジ(図5)をゆる



〔図2〕強膜散乱法の原理

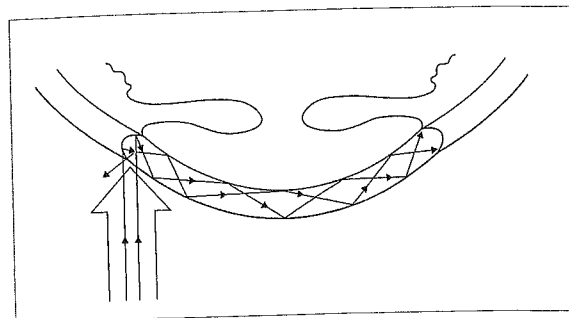
a 全反射

入射角(α)の大きさがある限界(臨界角)以上に大きくなると、光はすべて反射する。



b 光ファイバーのしくみ

光ファイバーの断面から平行に近い方向で入射した光は、ファイバーの壁面と空気との屈折率の差から全反射を繰り返すため、他端の断端に到達する。



c 強膜散乱法

めて観察系と照明系の同軸を解除し、観察対象に観察系の焦点を合わせたまま、最も背面からの反帰照明が得られやすい位置に照明系のみの方向を調節する。

(II. 観察法

観察のポイントは、多様な透過性(透明、半透明、不透明)および多様な形状を有する眼組織の性状を、上記の照明法に対して生じる、「反射」、「屈折」、「吸収」の光学現象を利用して判別することにある(図6)。特に、一般の顕微鏡観察系では困難な、透明な眼光学組織の評価が最も重要な課題である。

1. 直接照明に対する「反射」現象を利用した観察法 (図7)

光学的な「反射」には、鏡面反射と散乱反射がある。最もわかりやすい例をとれば、角膜をある一定の幅のスリット光で照明すると、角膜の光学断面が観察されるが、それをよく観察すると、照明の当たっている角膜の上皮面の頂点付近にはきわめて輝度の高い小さな反射面がある。そのみが鏡面反射の部分である。照明光束が通過しているそれ以外の部分は、角膜の半透明組織内で散乱反射が生じて観察されているものである(図8)。

1) 鏡面反射を利用した観察法

鏡面反射は、いわゆる一般にいわれている鏡面などによる「反射」の概念を考えればよい。実際には、鏡面反射は、屈折率の異なる境界面に形成され、その前後の組織の屈折率の違いが大きいほど強く生じ、入射角(照明光束)=反射角(観察光束)となる位置のみで観察される。

- ① 角膜前面(実際には涙液層と空気との境界面): 最強(図8上, 9)
- ② 角膜後面: (図9)
- ③ 水晶体前面: 強(図8下)
- ④ 水晶体後面: 中

■観察方法

照明角と観察角を調整して、(テカッと光る)輝度の高い反射部分を同定し、その面に顕微鏡の焦点を合わせ、倍率を拡大して観察する。

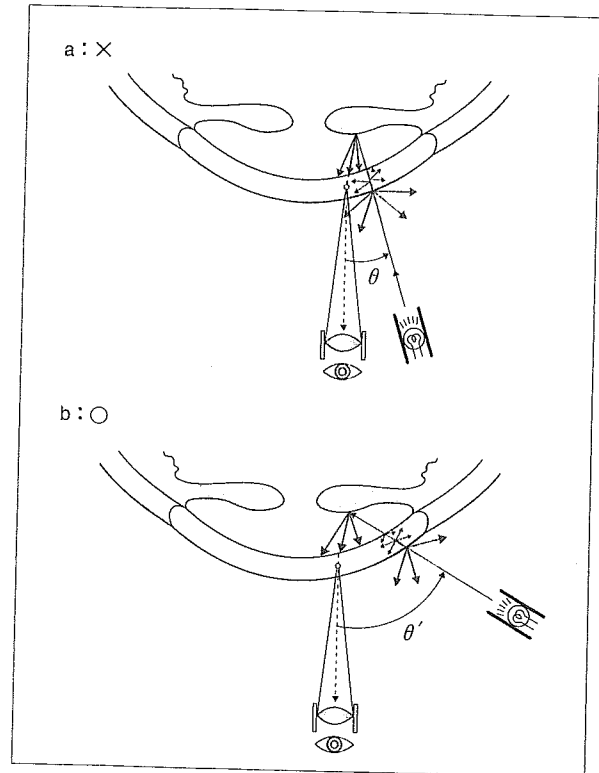
■鏡面反射を利用した観察法: 目的と利点

(1) 組織表面の形状の判定

スリット光束が当たっている組織表面の中で鏡面反射の生じている面積を見ることにより、組織面の形状(曲率)が判定できる。つまり、組織表面が平面なら広く鏡面反射が観察され、局面ならスリット照明束の中央(頂点)部分のみに局限して観察される。

(2) 組織表面の性状(テクスチャー: 表面模様)の詳細な観察

鏡面反射面の生じている部分では、組織表面のテクスチャーも観察できる。



【図3】 間接照明法を有効に利用するためのコツ(1)

a ×

照明系と観察系のなす角が小さいと直接照明によって生じる散乱・鏡面反射光(青)が重なって間接照明光(赤)による詳細な観察が行えない。

b ○

θ を大きくとることにより観察対象から直接照明光に伴う反射の影響を遠ざけることができる。

◆例: 水晶体前囊のテクスチャーの観察

水晶体前面の鏡面反射部分では、水晶体前囊のテクスチャーが観察される。

◆例: 角膜内皮の観察(図9)

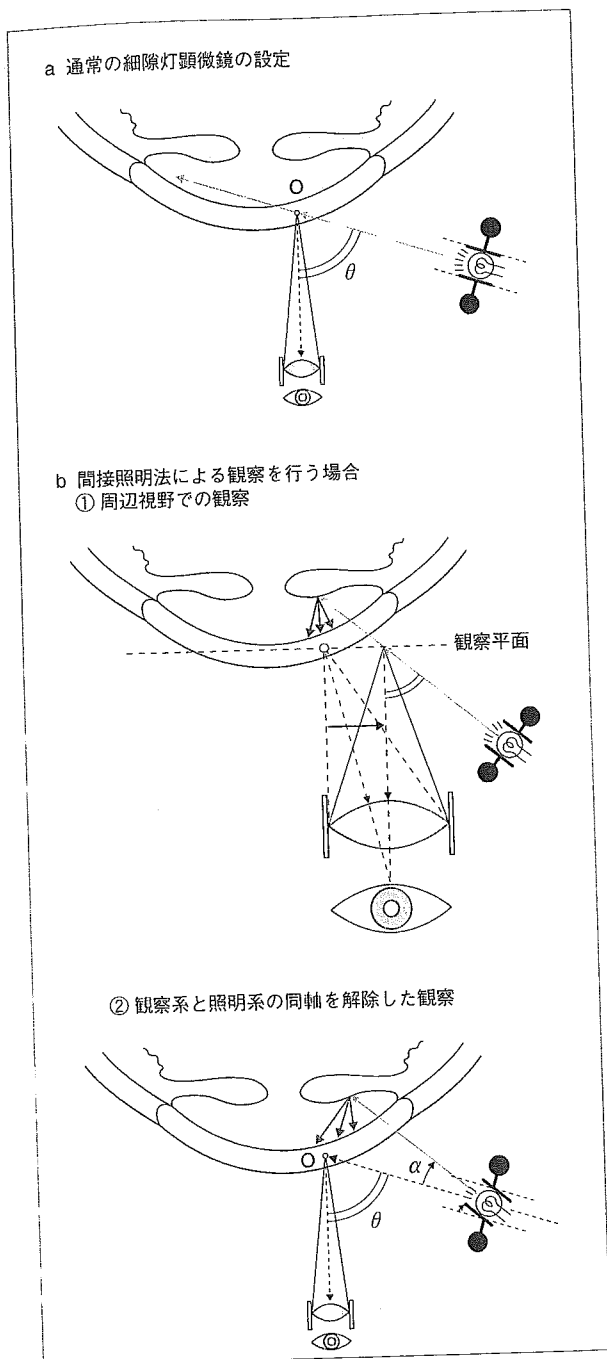
角膜後面からの鏡面反射部分に顕微鏡の焦点を合わせて観察することにより、角膜内皮細胞が直接観察できる。スペキュラーマイクروسコープのスペキュラーとは、鏡面反射 specular reflex のことである。

(3) 微妙な組織の位置関係の判定

鏡面反射を手がかりに、きわめて判定が微妙な薄い隣接組織の位置関係を容易に判定することができる。

◆例: 後囊下白内障(PSC)は後囊の前面にあるか後面にあるか?の判定。

PSCがある部分とない部分での後囊の鏡面反射の出



【図4】 間接照明法を有効に利用するためのコツ(2)

観察系と照明系の同軸を避ける方法。

a 通常の細隙灯顕微鏡の設定

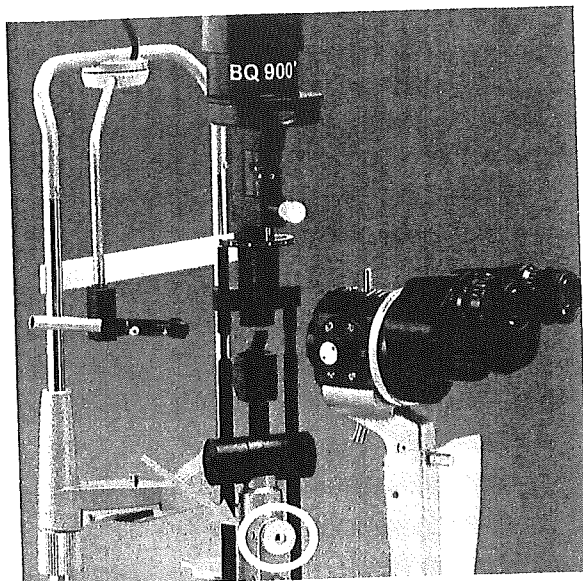
細隙灯顕微鏡は観察系と照明系のなす角 θ にかかわらず、観察系の焦点を合わせた位置に照明光束が当たるしくみとなっている。

b 間接照明法による観察を行う場合

① 周辺視野での観察

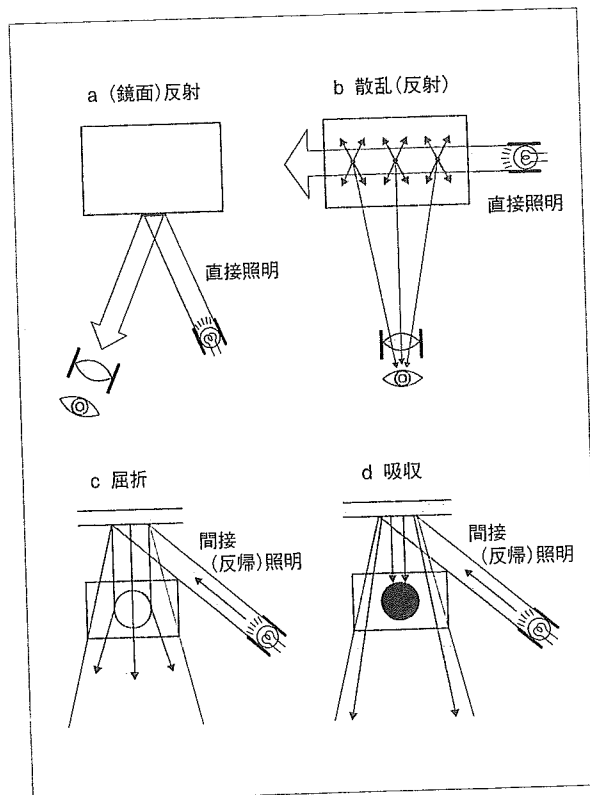
② 観察系と照明系の同軸を解除した観察

観察系と照明系の同軸を解除し、観察系は固定したまま照明系の方向のみを独立して変更する(α)。



【図5】 同軸固定(解除)ネジ

图中丸印のネジを半時計方向に回してゆるめ、観察系と照明系の同軸を解除した後、照明系タワー全体の位置は変えずに、反射鏡の方向だけを独立して調整する。



【図6】 細隙灯顕微鏡観察の基本となる四つの光学現象

a (鏡面)反射, b 散乱(反射)は主に直接照明により, c 屈折, d 吸収は間接(反帰)照明により観察される。

方の違いを観察すればはっきり判定できる。もしもPSCが後囊の直後方に付着していれば、後囊の鏡面反射はそのまま観察される。しかし、PSCは後囊の前面にあるため、PSCのある部分では後囊の鏡面反射が障害される。

2) 散乱反射を利用した観察法

散乱反射は、一般にいわゆる「散乱」である。細隙灯顕微鏡では、スリット光束が半透明組織内部を通過する際に生じる散乱反射により組織の性状を評価する。

■観察方法

- ・照明光束は観察方向に対して90°に設置する(横から照明する)のが原則である。
- ・観察対象の背景が暗い組織となる位置を選んで観察する(例：瞳孔など)。
- ・必要に応じて光束の縦幅を短くすることにより、照明光束の上下辺縁部で照明のある部分とない部分でコントラストの差を判定する。

■散乱反射を利用した観察法：目的と利点

散乱反射を利用して観察することにより、透明・半透明組織内のかすかな混濁もきわめて鋭敏に検出できる。

◆例：角膜断面、水晶体断面の観察

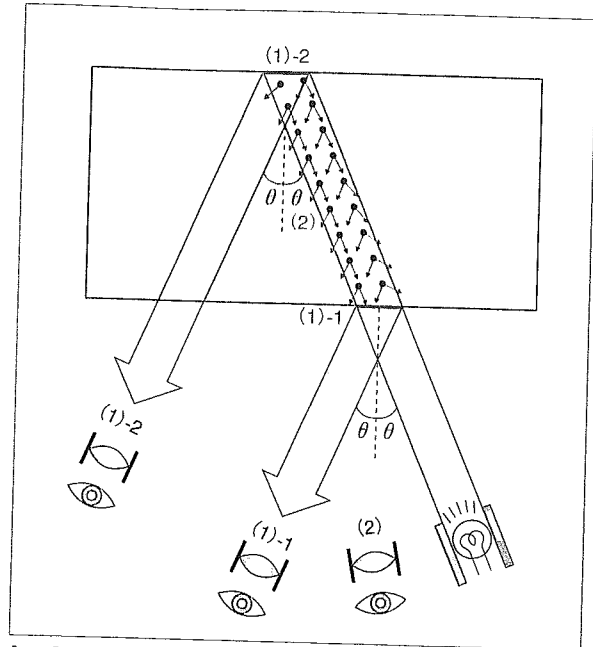
これらの半透明組織光学ナイフによる組織断面は、散乱光により観察されている。

◆例：前房内のセル・フレアの観察

スリット光束の縦幅を短くして照明光束のある部分とない部分を作り、光束の上下辺縁部のコントラストを比較することにより、光束が当たっている部分の散乱の有無、程度の判定が明確に行える。

2. 間接照明光に対する組織の「屈折」と「吸収」現象を利用した観察法

透過性の低い半透明の組織は、直接照明で正面から照明してしまうと、半透明なのか不透明なのかの判定は困難であるが、間接照明により後方からの照明に透かして見ればその判定が容易にできる。つまり、組織を背面から照明してその光が吸収されるか透過されるか、透過された場合にはどのように光が屈折するかを観察することにより、直接照明ではわからない組織の形状・性状、微細な形態の判定が可能となる。



【図7】 直接照明に対する「反射」の観察

a 鏡面反射(1)-1, 2.

組織の境界面に観察される。入射角=反射角= θ の観察位置：(1)-1, 2のみで観察される。

b 散乱反射(2).

(半)透明組織の内部の照明光束の通過部に形成される。不規則に多方向に反射光が生じているため、任意の方向から(2)観察できる。光束をきわめて細く照明することにより、(半)透明組織の断面を観察できる(スリットナイフ)。

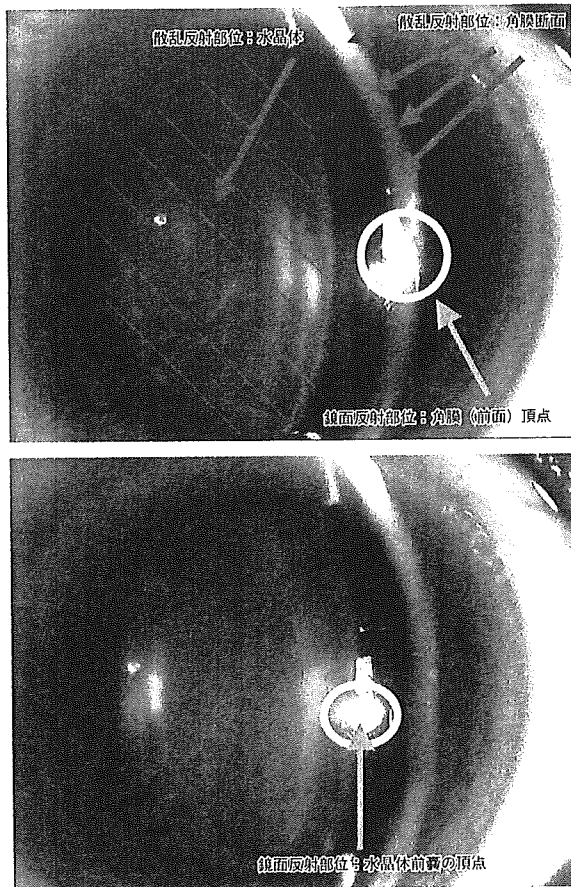
そのためには、観察する方向と逆の方向からの照明(逆光)が必要となるが、細隙灯顕微鏡では、照明光そのものを眼組織の後方に設置することはできない。その代わりに、間接照明による反帰光線法(虹彩、水晶体、眼底)を利用する。

■観察方法

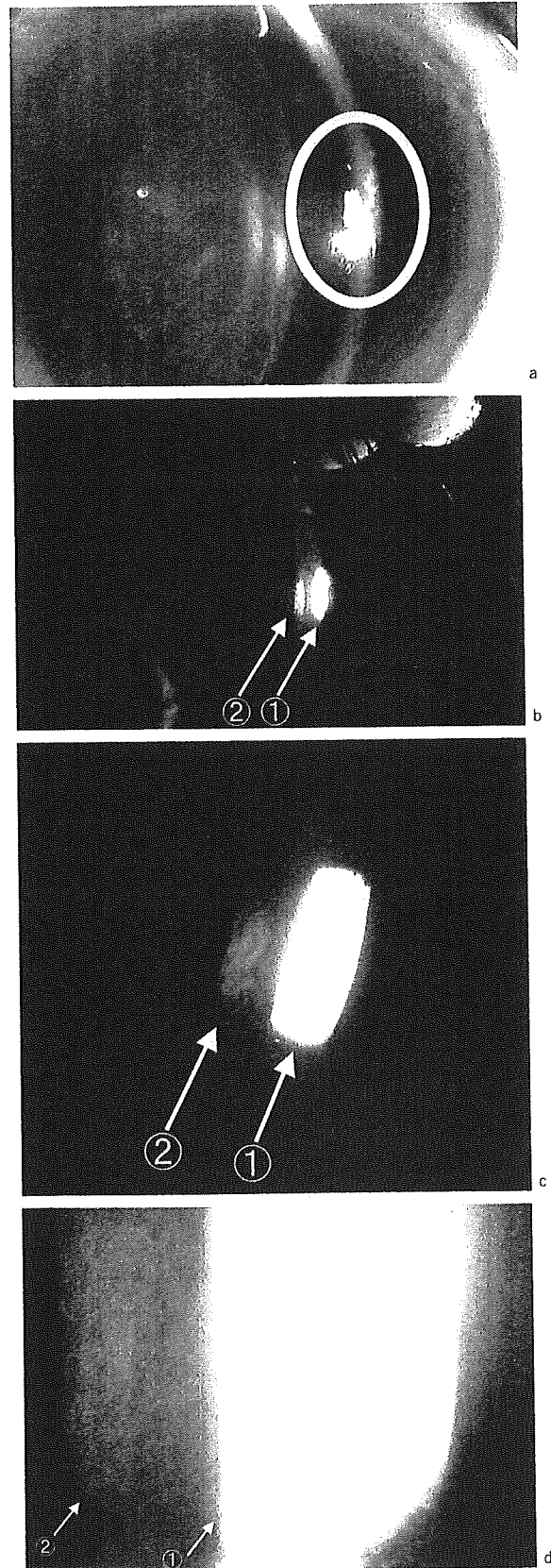
間接照明法、つまり反帰光線法を用いる(図1)。観察対象により、虹彩反帰光線法、水晶体反帰光線法、眼底反帰光線法・徹照法を選択して用いる。

(1) 吸収特性の強い不透明組織の観察→直接反帰光線法

照明光が当たっている反射面上で強い背景照明を通して対象組織を観察することにより、不透明性の強い吸収性組織は高いコントラストで観察される。



【図8】 鏡面反射と散乱反射が観察される部位



【図9】 鏡面反射による角膜内皮細胞の観察

(観察: TOPCON SL-D7, 撮影: Nikon D1X)

a 内皮細胞数が正常な症例でも、特別な前置レンズなどを使用しなくても、通常の細隙灯顕微鏡で内皮細胞の観察は容易に行える。

b 鏡面反射を生じている部分をよく観察してみると、①角膜前面、②角膜裏面のそれぞれに、2箇所の鏡面反射面が観察される。

c, d 角膜裏面の鏡面反射部位 ② によく焦点を合わせて、その模様を強拡大で観察する。

(2) 吸収特性の低い透明・半透明組織の観察→間接反帰光線法

照明光が当たっている反射面からずれた位置で対象を観察する。

◆観察のコツ

コントラストの変わる境目付近(例:瞳孔の辺縁付近, 例:スリット光束の境界付近)を背景にすると最も微細な混濁病変の観察が可能となる(例:角膜内の微細な新生血管の観察など)。