

図 4 Epithelial crack line.

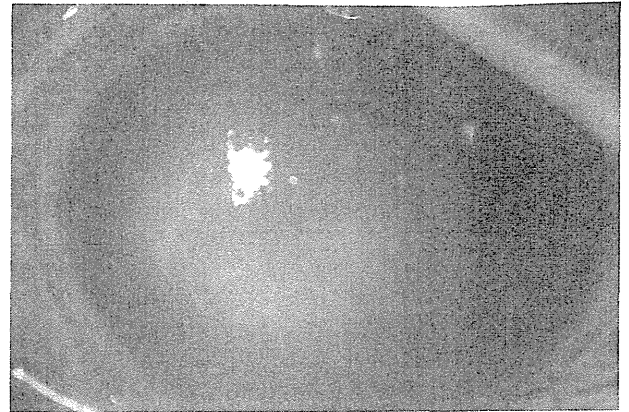


図 6 アカントアメーバ角膜炎に伴う偽樹枝状角膜炎.



図 5 再発性角膜びらんに伴う偽樹枝状角膜炎.



図 7 地図状角膜炎.

上皮下混濁.

- ② 放射状角膜神経炎(radial keratoneuritis)：周辺部の角膜神経に沿う浸潤.
- ③ 強い毛様充血.

眼痛，コンタクトレンズの使用，治療歴(角膜ヘルペスとして治療されているケースが非常に多い)などについての詳細な問診も，診断上，きわめて重要である.

3) 地図状病変

樹枝状角膜炎が治療されず遷延化すると，上皮欠損部が拡大して地図状角膜炎(geographic keratitis, 図7)の形をとるが，その場合も全体が縁どられたような特徴は継承されており，またどこかに樹枝状を疑わせる部分(dendritic tail)があるので，診断上役立つ．特徴と鑑別すべき疾患は以下のとおりである．

- ① 単純性角膜上皮欠損(単純性角膜びらん)(外傷，その他)：上皮欠損辺縁部や欠損部実質に混濁を認めない．これが再発性に生じれば再発性角膜びらんである(前述).
- ② 細菌・真菌感染に伴う角膜上皮欠損：実質の浸潤，前房の炎症反応を認める.
- ③ 遷延性角膜上皮欠損・栄養障害性角膜潰瘍：典型

例は地図状ではなく，辺縁が平滑な楕円形となる．辺縁の上皮は混濁して丸く隆起している.

- ④ シールド潰瘍：辺縁が平滑な楕円形で，上皮欠損部の底が均一に灰白色に混濁している．上眼瞼結膜の巨大乳頭を認める.

4) 星芒状病変

樹枝状角膜炎が非常に小規模で発症した場合，樹枝状というより，星形と表現した方が合致する場合があります．星芒状角膜炎といわれている．HSVによる星芒状角膜炎と鑑別を要するものは以下のとおりである．

- ① 眼部帯状疱疹に伴う星芒状角膜炎：前述.
- ② Thygeson 点状表層角膜炎(Thygeson's superficial punctate keratitis, 図8)：両眼性・再発性に星芒状の上皮混濁を発症する原因不明の疾患(ウイルス性が疑われている)である．複数の星芒状の上皮混濁が散在性に認められ，病変部はフルオレセインにより染色される．病変部以外の上皮は正常で，実質・内皮・前房に異常を認めず，充血も認められない.

b) 実質病変

感染性角膜炎を疑わせる実質病変に，浸潤，膿瘍，潰

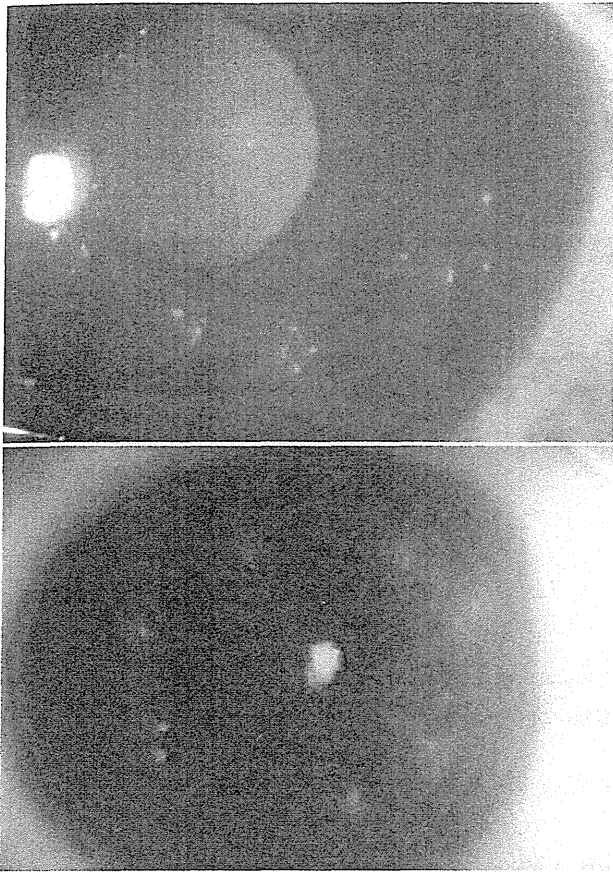


図 8 Thygeson 点状表層角膜炎.

瘍がある。浸潤は初期病変として重要であり、病原体が細菌あるいは真菌である場合には、進行とともに膿瘍や潰瘍へと進展する。原因は多様である(表 1)。

1) 定義

i) 浸潤

角膜上皮あるいは実質に生じる好中球やリンパ球を主体とする細胞集積像の総称で、角膜炎における代表的臨床所見の一つである。一般に、中央部に生じた場合は感染性、周辺部に生じた場合は非感染性のことが多い。

ii) 膿瘍

浸潤のうち、角膜内に侵入した細菌や真菌に対して主として好中球が集簇したものである。浸潤した炎症細胞内に含まれる蛋白質分解酵素や活性酸素などにより組織破壊が生じる。治癒後には通常、組織の菲薄化が生じる。

iii) 潰瘍

角膜上皮全層および実質に欠損が生じた状態をいい、多くは浸潤から発展する。典型的な感染症のパターンでは、好中球やリンパ球を主体とした炎症細胞の集積を角膜実質内に伴う。膿瘍では、角膜上皮と実質に欠損が生じる場合が多く、感染性角膜潰瘍とも呼ぶ。中央部の潰瘍は感染や神経麻痺(角膜知覚低下)に、周辺部の潰瘍は自己免疫疾患や感染アレルギーに起因することが多い。

表 1 角膜実質病変の原因疾患

感染	<ul style="list-style-type: none"> ・細菌性角膜炎 ・真菌性角膜炎 ・アカントアメーバ角膜炎 ・角膜ヘルペス、眼帯帯状疱疹
免疫 反応	<ul style="list-style-type: none"> ・マイボーム腺炎角膜上皮症 ・ブドウ球菌アレルギー ・膠原病(関節リウマチなど) ・Mooren 潰瘍 ・Terrien 角膜変性 ・角膜実質炎 ・多目的用剤(MPS)アレルギー ・アデノウイルス結膜炎に伴う多発性角膜上皮浸潤 ・錢型角膜炎 ・diffuse lamellar keratitis : DLK

2) 細隙灯顕微鏡所見(主な臨床病型パターンを図 9 に示す)

i) 浸潤

上皮あるいは実質内の灰白色の微細な点状混濁の集合像として観察され、大きさや深さ、数は症例により異なる。表層レベルに生じた場合には、上皮欠損を伴うことがある。間接法(虹彩反帰法、強膜散乱法)を用いると、病変の活動性や分布を把握しやすい。単発性、多発性、びまん性、輪状などさまざまな形態をとる。

ii) 膿瘍

角膜実質内に軟性の濃厚な白色混濁として観察され、一般に、膿瘍上の角膜上皮は欠損する。形態としては、円形、類円形、弧状や輪状がある。細菌感染による角膜膿瘍のうち、グラム陽性球菌感染の場合は限局性の円形から類円形の膿瘍を、グラム陰性桿菌感染の場合は輪状膿瘍を呈しやすい。

iii) 潰瘍

角膜実質の不整な欠損とともに直上の上皮欠損が認められる。診断には、生体染色で潰瘍と思われる部位の上皮欠損の有無を確認する必要がある。色素の pooling や dellen などは潰瘍と紛らわしいことがあるので鑑別には注意する。

3) 鑑別フローチャート

鑑別診断の手順を図 10 に示す。

c) その他注意すべき所見

細菌性角膜炎、真菌性角膜炎に際しては、主要な病変として浸潤、膿瘍、潰瘍などを認めるだけでなく、充血、前房内細胞、前房蓄膿、角膜後面沈着物、角膜浮腫、角膜穿孔などの副次的所見が細隙灯顕微鏡にて観察され、診断・治療の上で重要なヒントとなる。もちろん、角膜ヘルペスでもこれらの所見は重要である。

以下に代表的な副次的所見の感染性角膜炎における特徴と診断・治療におけるポイントを述べる。細隙灯顕微鏡検査を行う前に眼瞼浮腫、眼瞼発赤、眼脂、流涙などの肉眼所見にも注意を払う必要があることはいうまでも

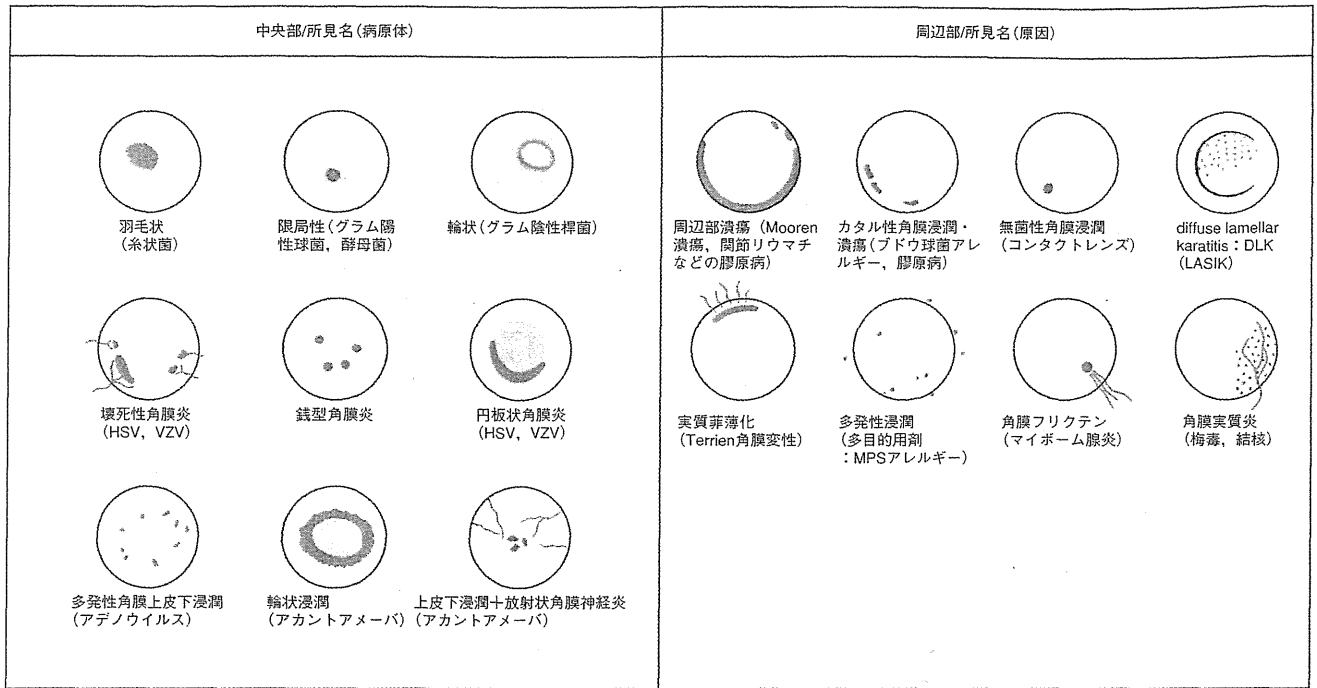


図 9 細隙灯顕微鏡所見のパターン.

○：浮腫，●：角膜浸潤，-：血管侵入。

HSV：単純ヘルペスウイルス，VZV：水痘帯状疱疹ウイルス，LASIK：laser in situ keratomileusis.

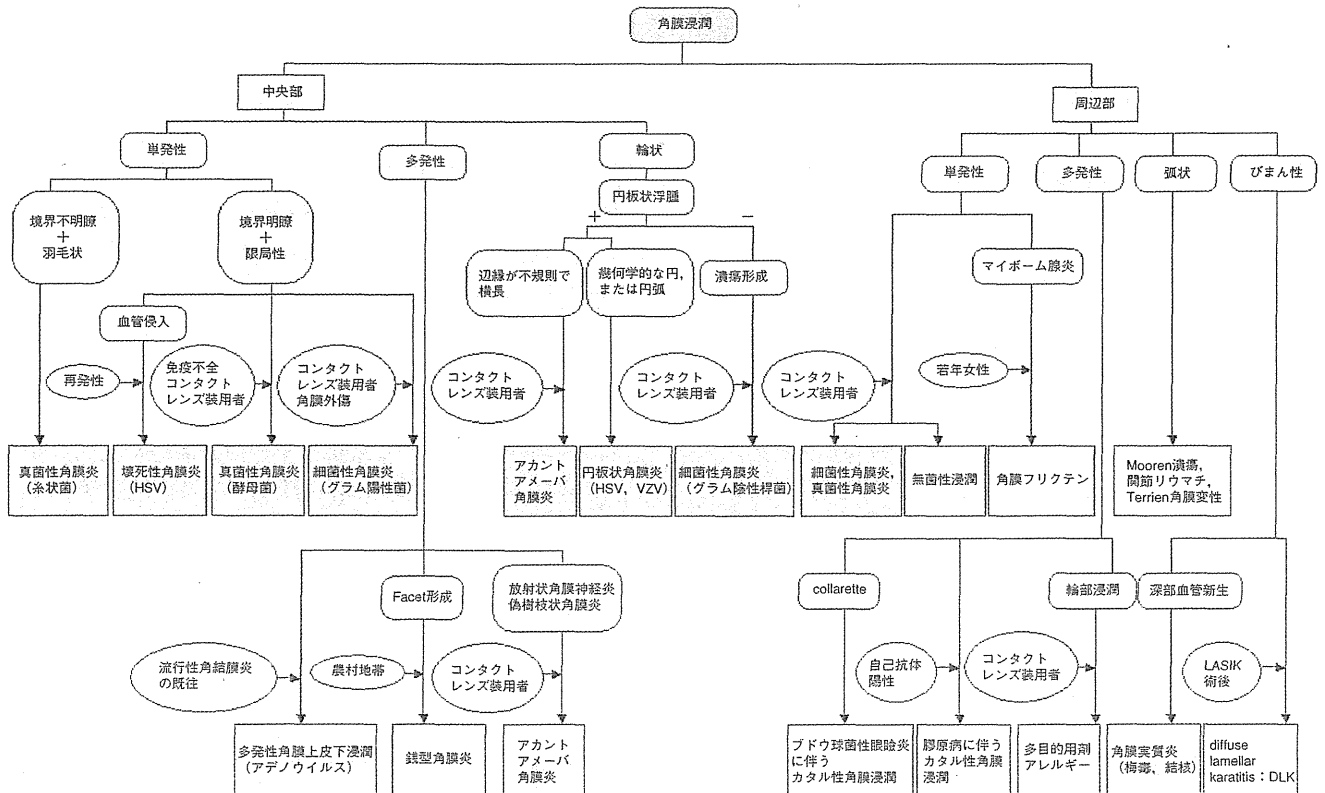


図 10 感染性角膜炎を主体とした実質病変のフローチャート.

○：細隙灯顕微鏡所見，□：問診・その他の所見，●：感染，○：非感染.

LASIK：laser in situ keratomileusis.

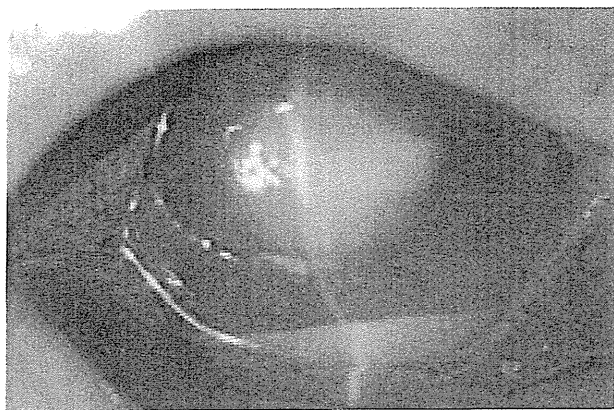


図 11 レンサ球菌による角膜炎で認められた前房蓄膿。

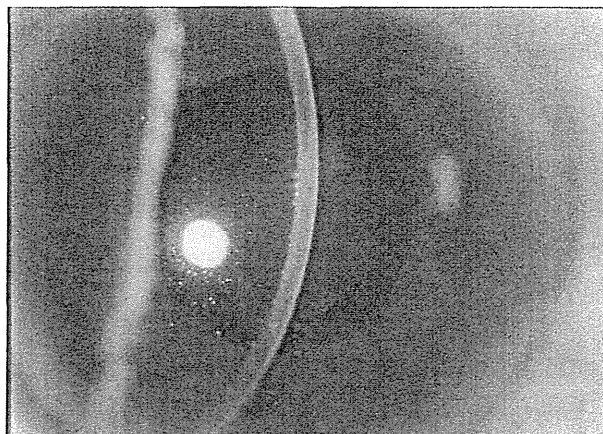


図 12 角膜後面沈着物(KPs)。

ない。

1) 充血

- ① 感染性角膜炎では原則的に充血を伴う。
- ② ただし、ステロイド点眼を投与されている場合は、角膜感染であるにもかかわらず、充血をまったく伴わない場合がある。
- ③ 球結膜充血と毛様充血(角膜に近い方がより強く充血する)の両者が混合した形をとる。重症では強膜充血も伴う。
- ④ 重症化すると球結膜のみならず瞼結膜も充血する。
- ⑤ 治療に反応すれば軽快してくるため、治療効果判定の一つの指標となる。

2) 前房内細胞

- ① 角膜に浸潤性混濁があれば感染をまず疑うが、併せて、前房内細胞が認められれば感染症と考えるとよい。逆に認められない場合には、感染症でない可能性を考慮する必要がある。例えばカタル性角膜浸潤・潰瘍では、感染源はマイボーム腺にあるため、前房内細胞は通常みられない。
- ② 多数の前房内細胞を認める場合には、虹彩後癒着を起こす可能性が高いので、瞳孔管理が必要である。
- ③ 前房内細胞の増減は、治療が奏効しているか否かを判断する一つの指標となる。
- ④ 治療とともに角膜浮腫が軽快してくると、前房内細胞がよくみえるようになるが、これを前房内細胞が増えたと判断してはならない。
- ⑤ 実質型角膜ヘルペスのうち、特に角膜ぶどう膜炎では多数の前房内細胞が認められる。

3) 前房蓄膿(図 11)

- ① 感染性角膜炎の重症例で認められる。
- ② 角膜炎で前房蓄膿を来す場合、多くは細菌、真菌感染であり、なかでも緑膿菌、レンサ球菌、糸状菌に多い。ヘルペス性の角膜ぶどう膜炎に伴う場合もある。

表 2 角膜後面沈着物を来す主な疾患

炎症性	非炎症性
・虹彩毛様体炎	・Fuchs 角膜内皮ジストロフィ
・内皮型拒絶反応	・偽落屑症候群
・角膜内皮炎	・仮面症候群(眼内腫瘍)
・実質型角膜ヘルペス	
・細菌性角膜炎	
・真菌性角膜炎	

- ③ 細菌性角膜炎、真菌性角膜炎で前房蓄膿を生じている場合でも、穿孔している例や糸状菌が Descemet 膜を破って進展している例を除いて、前房内は無菌である。
- ④ フィブリン反応を伴うと前房蓄膿は粘稠となり移動しにくくなる。逆に、アカントアメーバ角膜炎のようにフィブリン反応を伴わない場合には、移動しやすい。
- ⑤ 前房蓄膿の高さの変化は、前房内細胞数と同様に治療効果の目安となる。

4) 角膜後面沈着物(図 12)

角膜後面沈着物を来す主な疾患を表 2 に示す。

- ① 通常、角膜浸潤、膿瘍、潰瘍に一致した角膜後面に出現するが、炎症が強いときには、二次的に角膜下方にも沈着する。
- ② 感染性角膜炎に呼応する角膜後面沈着物は豚脂様を呈することが多い。
- ③ 糸状菌による真菌性角膜炎では、非常に大きな面状の沈着物を生じる。これは、endothelial plaque と呼ばれ、前房ないし実質深層に菌糸が及んでいる可能性が考えられている。
- ④ 角膜後面沈着物も前房内細胞数や前房蓄膿に連動しており、炎症の鎮静化とともに数や大きさは減少し、色素塊に変化していく。

5) 角膜浮腫

角膜浮腫を来す主な疾患を表 3 に示す。

表 3 角膜浮腫(上皮+実質)を来す主な疾患

炎症性	非炎症性
・内皮型拒絶反応	・水疱性角膜症
・角膜内皮炎	Fuchs 角膜内皮ジストロフィ
・実質型角膜ヘルペス	内眼手術後
・細菌性角膜炎	レーザー虹彩切開術後
・真菌性角膜炎	偽落屑症候群
	・円錐角膜の急性水腫

- ① 感染性角膜炎による浮腫は、角膜内や前房内の炎症、角膜後面沈着物などの影響で内皮が機能不全を生じた結果起こるものであり、感染の鎮静化とともに軽減する。
 - ② しかし、感染が長期化あるいは重症化した場合には、内皮細胞数が著明に減少し、不可逆的な浮腫へと移行することもある。
 - ③ 角膜実質の感染病巣では、上皮と実質の両者に浮腫を生じる。
 - ④ 角膜混濁のない浮腫では、細菌、真菌感染は考えにくい。
 - ⑤ 実質型角膜ヘルペスや角膜内皮炎では、特に重要な所見であり、角膜後面沈着物を伴い、局所性の角膜浮腫(上皮+実質)として認められる。内皮炎では、実質内混濁を伴わない浮腫を呈するのが特徴である。
- 6) 角膜穿孔
- ① 感染性角膜炎が十分にコントロールされないと、角膜実質の融解が進行し、角膜穿孔を来すことがある。
 - ② 病原体に対する治療が奏効した場合でも、薬剤の毒性や炎症の遷延化などをベースに生じることもある。
 - ③ 外科的治療を考慮すべき重要な所見であり、特に感染性の穿孔では治療的角膜移植を行わざるを得ないケースが多い。

2. 角膜知覚検査

1) 検査方法

角膜知覚検査は感染性角膜炎の診療において必要不可欠で、特に角膜ヘルペスの診断には重要である。

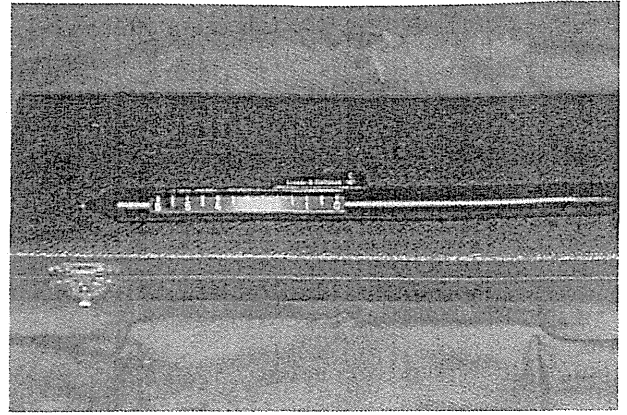


図 13 Cochet-Bonnet 型角膜知覚計。

一般的に角膜知覚を測定するには Cochet-Bonnet 型角膜知覚計(図 13)が広く用いられている。方法は、ナイロン糸の長さを 60~5 mm まで調節し、まず 60 mm の長さで角膜中央に垂直に当て、軽く屈曲させる。その後、5 mm ずつ短くしていき、患者が自覚的に感じるか、瞬目反射が出たときのナイロン糸の長さを知覚の値とする。ナイロン糸と毛圧圧迫値の関係を表 4 に示す。

2) 検査のポイント

- ① 一定の速度で角膜に近づける。
- ② 角膜の乾燥が測定結果に影響するため、検査中は適宜瞬目させる。
- ③ できれば細隙灯顕微鏡下で行うと、角膜中央の表面に垂直に接触させることが可能となる。

3) 角膜知覚低下を認める疾患

加齢により角膜知覚は低下するため、何 mm から異常と正確な規定はできないが、角膜ヘルペス、コンタクトレンズ装着などでは低下する。左右眼を比較することも重要である。

III 塗抹検鏡

1. 検体採取

1) 準備(図 14)

i) 点眼麻酔薬

引き続き培養目的の擦過をすることが多いので、原則として防腐剤なしのものが望ましい。

表 4 ナイロン糸と毛圧圧迫値の関係

糸長 (mm)	60	55	50	45	40	35	30	25	20	15	10	5
毛力 (mg)	19	24	25	32	36	55	67	108	157	290	520	1.710
圧迫値 (g/mm ²)	1.47	1.86	1.94	2.48	2.79	4.26	5.19	8.37	12.17	22.48	40.3	132.5

(東レナイロン研究所で AS 3-A 型記録計にて測定)

使用ナイロン糸は東レナイロンモノフィラメントタイプ 100(ナイロン 6 号)0.6 号、標準直径 0.027 mm(断面積 S=0.0129)。

ii) 擦過用スパーテル

Kimura spatula (E1091R, Storz 社, 図 15) が標準器具である。スパーテル以外では滅菌済みの円刃刀、ゴルフ刀、ピンセット、綿棒などを使用してもよい。

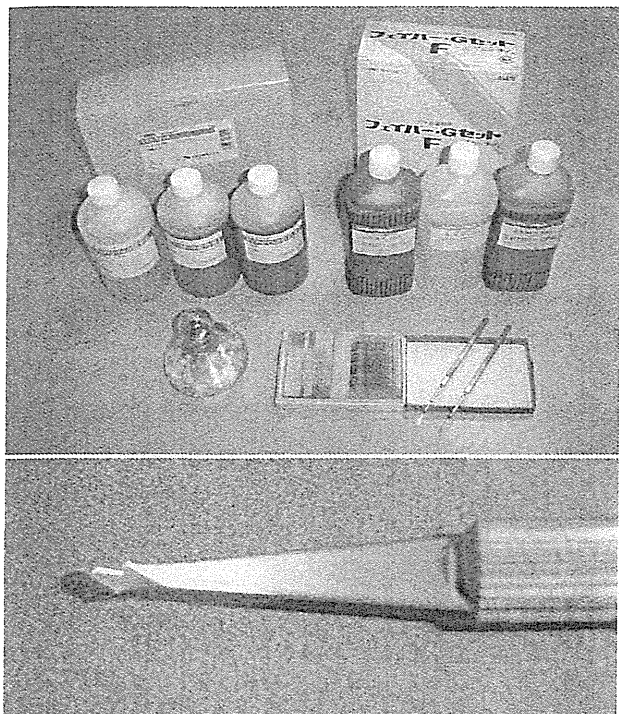


図 14 擦過塗抹標本セット。

上：前列左から、アルコールランプ、スライドガラス、スパーテル、後列左から、ディフ・クイック、フェイバー・G。下：ゴルフ刀。

iii) その他

スライドガラス、アルコールランプ、メタノールまたはエタノールを用意する。

2) 採取(擦過・塗抹・固定)の実際

スライドガラスの隅に患者氏名、日時などを書き、中央のサンプル塗抹部にダイヤモンドペンシルで丸印を書き入れる。もともと丸印の書いてあるスライドガラスも入手できる。擦過操作に先立ち、スパーテル先端を火炎滅菌するなど、滅菌済みの器具を用いる。Kimura spatula はプラチナ製であり、冷却が早い。必要に応じて点眼麻酔し、細隙灯顕微鏡下ないし肉眼で行う。擦過は開瞼器をかけて、潰瘍では底部よりも辺縁部を擦過する(図 16)。擦過物は、スパーテルの場合はスライドガラス上の丸印内に薄くのばす。綿棒の場合は、サンプル量が比較的多ければ転がすように塗抹し、少なければスタンプを押すようにする(図 17)が、角膜擦過物ではスタンプ法が適切である。スライドガラスは風乾した後で、固定はギムザ染色、グラム染色とも 2 分程度メタノールにつける(アルコール固定)。ただし、メタノールは毒性が強いいため、エタノール(5~10 分間浸漬)を使用することも可

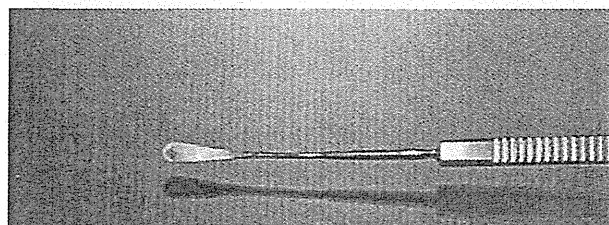
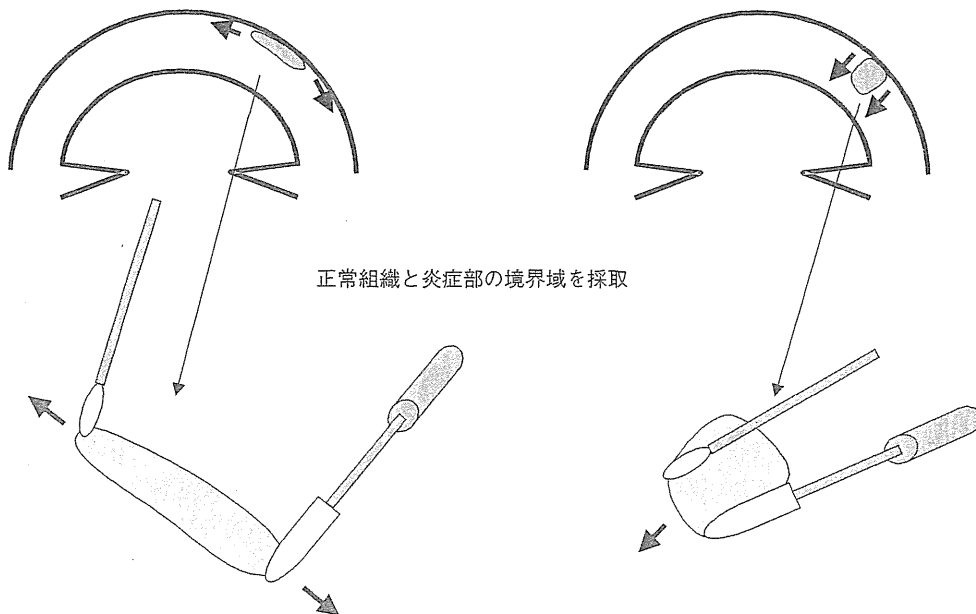


図 15 Kimura spatula.

病巣が水平方向に拡大している場合

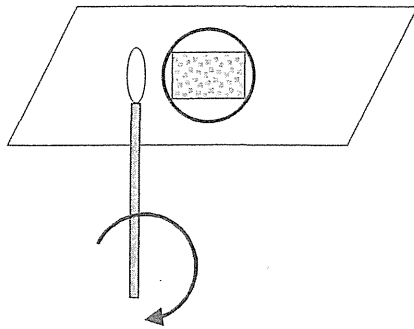
病巣が垂直方向に拡大している場合



正常組織と炎症部の境界域を採取

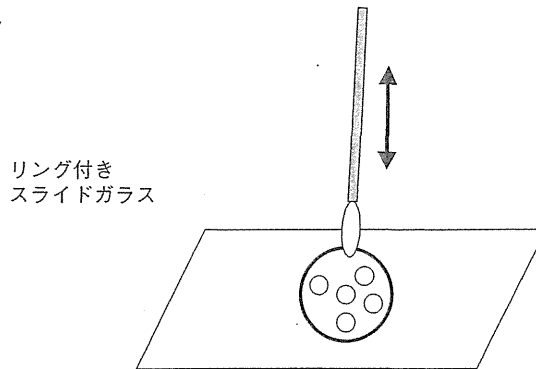
図 16 病変部位の採取。

サンプル量の比較的多い場合



単層を作るように転がす

サンプル量の比較的小さい場合

リング付き
スライドガラス

スタンプで単層を作る

図 17 塗抹標本の作製法.

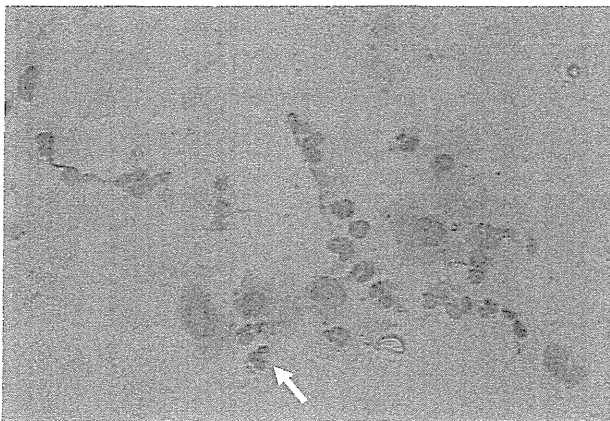


図 18 多核球(キムザ染色, ×200).

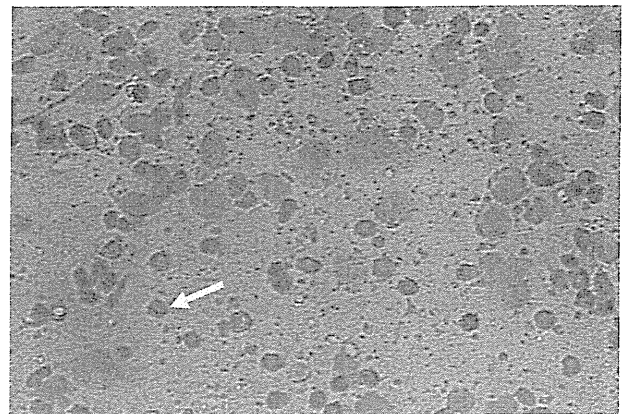


図 19 単核球(キムザ染色, ×200).

能である。グラム染色では火炎固定でもよい。その他、検鏡にあたっては撮影装置があれば望ましい。

なお、擦過操作はサンプリング目的だけでなく一種の触診ともいえる。潰瘍の付着分泌物を擦過除去して見直すと、病変本来の形状が分かり、細菌感染、真菌感染の鑑別などではかなり参考になる。

真菌など病原体が角膜実質内部に存在すると考えられる場合は、滅菌済みの尖刃などで実質の一部を切離す必要がある(角膜実質生検)。

2. 染色の種類と方法

a) ギムザ染色

1) ギムザ染色とは

本染色は感染、非感染すべてを含んだあらゆる病態を対象とする多目的スクリーニング染色である。現在、この簡易迅速染色液セットであるディフ・クイック(図14)もあり、15秒でギムザ染色とほぼ等価の染色が得られる。具体的には固定液で5秒固定、続きI液で5秒染色、水洗、II液で5秒染色、水洗後に風乾する。

検鏡ではまず、弱拡大の対物20, 40, 60倍などのいずれかで概観する。ここでは多核球、単核球、好酸球などの炎症細胞の存在、角膜・結膜上皮細胞の状態を観察する。さらに強拡大の対物100倍にすれば、細菌自体やクラミジアの識別が可能である。ただし、細菌はこの染色ではすべてブルーに染まり、グラム陽性・陰性の区別はできない。

2) 所見例

多核球(図18)は細菌、真菌、アカントアメーバなどの感染の際の主要炎症細胞であり、単核球(図19)はウイルス感染の主要細胞である。また、好酸球(図20)はアレルギー性角結膜疾患で見られる。角膜上皮細胞は、HSVあるいは水痘帯状疱疹ウイルス(varicella-zoster virus: VZV)感染時は複数細胞融合することにより多核巨細胞(図21)としてみられることがある。これは*in vivo* cell sheet上でのウイルスによる細胞変性効果(cytopathic effect: CPE)である。微生物の染色像として細菌(図22)と真菌(図23)の検鏡例を示す。

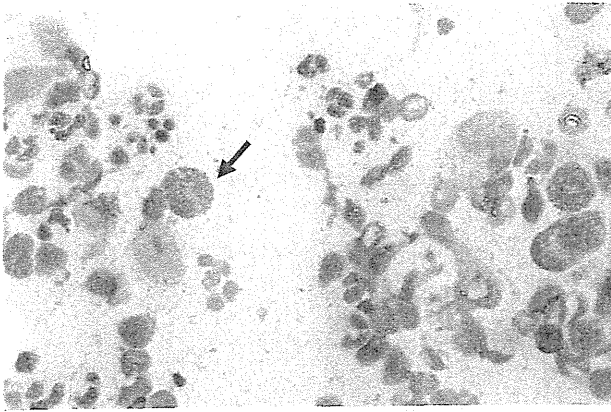


図 20 好酸球(キムザ染色, ×200).

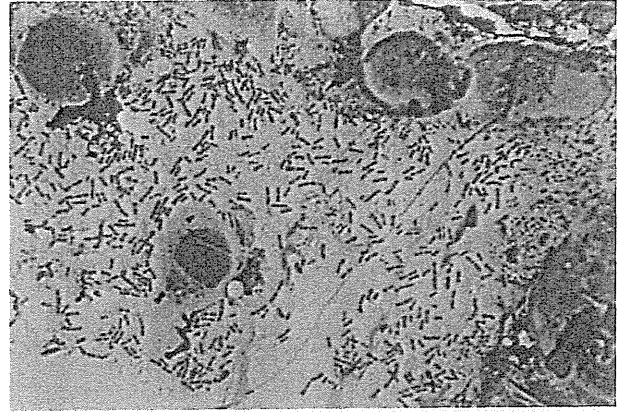


図 22 モラクセラ(キムザ染色, ×600).

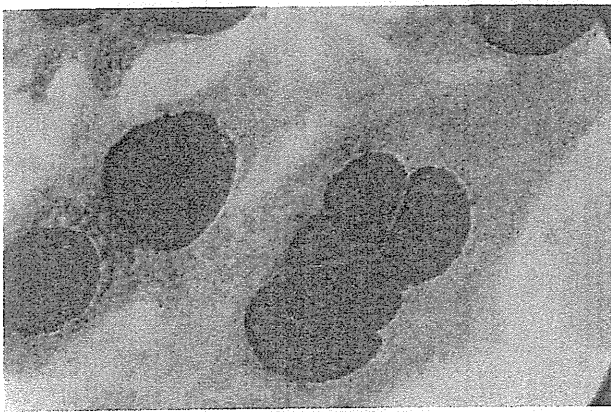


図 21 多核巨細胞(キムザ染色, ×1,000).

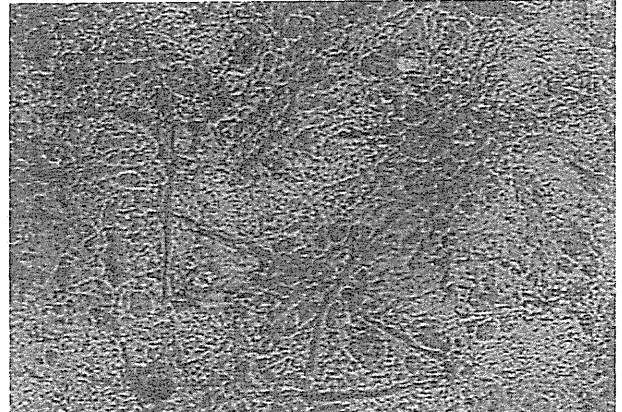


図 23 フザリウム(キムザ染色, ×200).

b) グラム染色

1) グラム染色とは

細菌、真菌およびアカントアメーバ感染が疑われる場合に実施する。後二者は基本的にすべてグラム陽性に染まる。ギムザ染色(ディフ・クイック)に比べ、ターゲットは狭い。感染症専用の染色である。従来法のほか、3分でできる簡便なフェイバー・G(図 14)がある。検鏡はギムザ染色のときと同様に、弱拡大の対物 20, 40, 60 倍などから始め、対物 100 倍まで拡大する。菌の大きさは多くのもので $1\mu\text{m}$ 前後なので、対物 100 倍では大体 1 mm 前後に見える。炎症細胞のサイズはその 10~30 倍くらいである。

2) 所見例

図 24~28 に代表的なグラム染色検鏡像を示す。

肺炎球菌は、球菌に分類されるが完全な球形ではなく、ランセット型という両端が尖った双球菌である。また、肺炎球菌の多くは莢膜を産生するが、莢膜はグラム染色では菌体周囲が白く抜けた状態として観察される(図 24)。他方、黄色ブドウ球菌は正円形である。普通は菌が集積して房状に見えるが、1~2 個のみのことも多い(図 25)。緑膿菌は大小不揃いの小桿菌であり、その他に特徴的な

点はない(図 26)。モラクセラは、通常みる細菌の中で最も大きいもので大双桿菌といわれる。端から端まで同じ太さの桿菌が 2 本つながった形が特徴的である(図 27)。

c) ファンギフローラ Y[®]染色

真菌・アカントアメーバについてはパーカーインク KOH 法が有用であったが、現時点では入手が困難であり、これらに特異性の高い方法としてはファンギフローラ Y[®]染色が使用できる。ファンギフローラ Y[®]は、スチルベンジルスルホン酸系蛍光染料を利用した染色法であり、 β 構造を持つ多糖類であるキチン、セルロースを特異的に染色することにより、真菌、アカントアメーバのシストを特異的かつ鋭敏に検出することができる。染色後の試料は、蛍光顕微鏡にて観察する。菌糸、酵母、アカントアメーバのシストにそれぞれ相当する形態を持った青緑色蛍光像を認めた場合に、陽性と判定する。採取後時間が経過した試料においても染色性は低下せず、染色後の試料の保存性、発色性も良好であり、感度も高いという特徴がある。

詳細については Appendix を参照のこと。

d) 蛍光抗体法(HSV, VZV)

蛍光抗体法はウイルス抗原の直接的な証明法である。

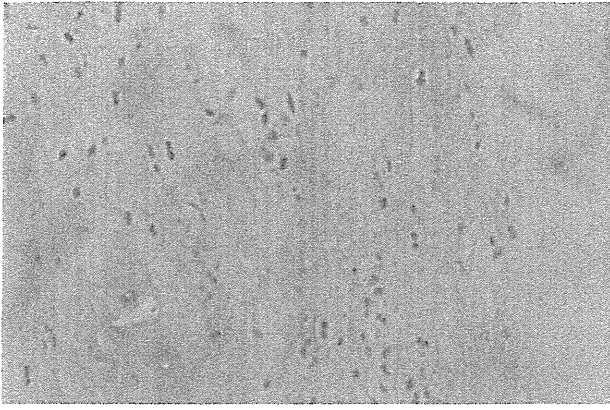


図 24 肺炎球菌(グラム陽性, ランセット型双球菌, ×1,000).

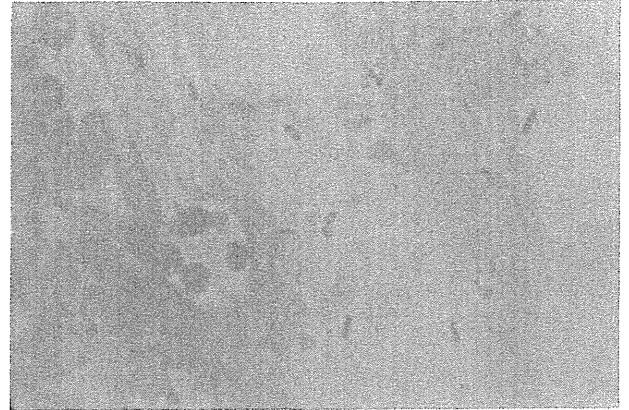


図 27 モラクセラ(グラム陰性, 大双桿菌, ×1,000).

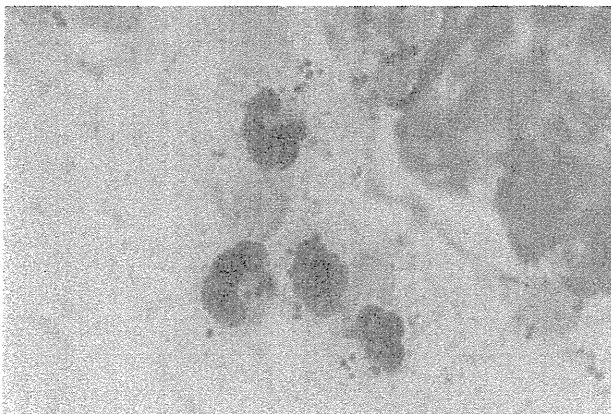


図 25 黄色ブドウ球菌(グラム陽性, 丸型房状, ×1,000).

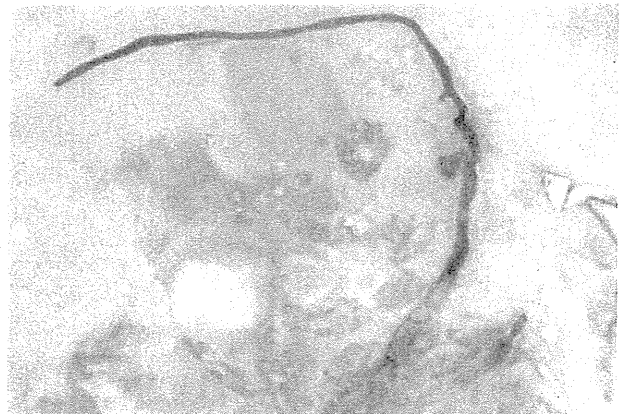


図 28 フザリウム(グラム陽性, ×1,000).

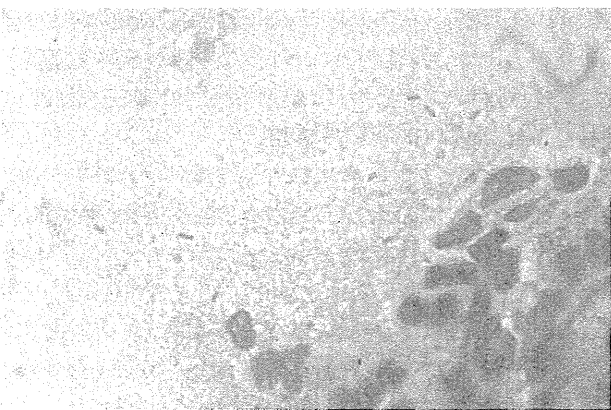


図 26 緑膿菌(グラム陰性, 小桿菌, ×1,000).

抗原抗体反応を応用し, 角膜上皮擦過物中のウイルス抗原と蛍光色素でラベルされた抗体が特異的に結合したものを蛍光顕微鏡下で観察する。緑色の特異蛍光を発する感染細胞を認めれば陽性と判断できる。HSV および VZV のモノクローナル抗体により, 上皮型角膜ヘルペスや眼部帯状疱疹など感染性角膜炎の原因診断として用いられる。蛍光抗体法はウイルス分離に比べ, 迅速に結果が得られ, 感度, 特異性ともに高い。HSV については, 抗原

の型別確認ができる。偽蛍光や偽発色があるため, 陽性対照, 陰性対照を同時に用いる必要がある。蛍光は時間とともに褪色するため, 検鏡は速やかに行う。

詳細については Appendix を参照のこと。

e) 免疫クロマトグラフィ法(HSV)

免疫クロマトグラフィ法は抗原抗体反応を応用して HSV 抗原を直接証明する迅速検査法である。角膜上皮細胞中の HSV 抗原と着色粒子をラベルして可視化されたモノクローナル抗体が特異的に結合し, さらにその結合物が判定部に固相化されたモノクローナル抗体に結合することで形成される着色ラインの出現を目視確認し, 陽性・陰性を判定する。HSV の検査としてはベッドサイドで簡便・迅速に行うことのできる唯一の方法である。特異性が 100% である一方, 感度は 60% 程度であるため, 陰性であっても HSV 感染を否定することはできない点に注意を要する⁴⁾。

詳細については Appendix を参照のこと。

IV 臨床検査

1. 細菌培養・感受性検査

1) 細菌検査依頼時の注意事項

検査依頼時に疑う菌名・菌群を明記すると選択培地が追加されるため検出率が向上する。また、培養検査では材料を 3~5 枚の培地に塗布するため、採取材料が極端に少ない場合は、目標菌群に優先順位を付記するとよい。

2) 起炎菌の判断

外眼部には多くの常在菌が存在するため、起炎菌を判断する場合は、塗抹検鏡結果と分離菌名の比較、分離菌名と炎症像の特徴の確認、分離菌名と薬剤治療効果(感受性スペクトル)などを考慮し、総合的に決定する。

3) 薬剤感受性試験結果の解釈

感染性角膜炎の起炎菌が、ある薬剤に「R: 耐性」と判定された場合でも、点眼薬の場合は濃度が非常に高いため効果が得られる場合もある。したがって、臨床的に明らかに効いている場合は当該点眼薬を継続してよい。しかし、角膜表面では起炎菌と薬剤との十分な接触時間が確保されないため、PAE(postantibiotic effect)を有するフルオロキノロン系抗菌点眼薬などでもさほどの治療効果が期待できないので、「R」と判定された薬剤をわざわざ新たに開始することは、ほかに方法がない場合を除いては避けた方がよい。

詳細については Appendix を参照のこと。

2. 真菌培養・感受性検査

真菌感染が疑われる感染性角膜炎の病巣部からサンプルを採取し、起炎菌を分離培養することによって真菌性角膜炎の確定診断が可能になる。サンプルは、潰瘍周辺部の正常角膜との境界部分を円刃刀で強めに擦過して角膜実質を採取する。角膜実質からサンプルを採取することが、真菌の検出率を上げるポイントである。得られたサンプルは 37℃ と室温で培養する。さらに感受性検査によって、分離培養できた真菌に有効な抗真菌薬を特定することが可能である。

詳細については Appendix を参照のこと。

3. アカントアメーバ培養

アカントアメーバの分離培養には、アカントアメーバ塩類溶液(KCM)と Bacto agar を用いて作製した 1.5% NN 寒天平板に、酵母溶液あるいは細菌浮遊液を塗布したものをを用いる。培地は冷蔵庫で 3 か月間保存できる。角膜擦過物あるいはコンタクトレンズ保存液などを塗布して 30℃ の暗所で培養すると、栄養体が 2~3 日目で見られ、5~7 日でシスト化する。アカントアメーバの同定は、ブリッジプレパラートと位相差顕微鏡を用いた生体観察か、BCB(brilliant cresyl blue)などを用いた染色標

本で行う。

詳細については Appendix を参照のこと。

4. ヘルペスウイルス培養

ウイルスは細菌や真菌と異なり、サンプルを細胞に接種し細胞内で増殖させてウイルスを回収する必要がある。角膜ヘルペス診断における HSV の分離は、感度が悪い、結果が出るのに日数を要する、培養細胞を用意する必要があるなどの欠点があり、日常的な臨床検査としては不向きな面があり、専門家以外に行う必要はない。しかし、眼科医としては少なくとも、ウイルス分離が陽性であれば角膜ヘルペスと確定診断でき、依然としてヘルペス診断のゴールド・スタンダードであることを理解しておいた方がよい。

詳細については Appendix を参照のこと。

5. Polymerase chain reaction(PCR)法

PCR 法は、少量の DNA から増幅反応により多量の DNA を得る方法である。眼科領域では、主に角膜ヘルペス、ウイルス性ぶどう膜炎の診断に用いられている。また、細菌性角膜炎、真菌性角膜炎、アカントアメーバ角膜炎の診断に応用した報告もある⁵⁾⁶⁾。PCR 法ではまず、検体を 94℃ 前後の高温に供し DNA 二本鎖変性により一本鎖にする(denaturation)。次に反応温度を 55~60℃ 前後に下げて、それぞれの一本鎖にプライマーを付着させる(annealing)。その後、再び温度を 72℃ 前後に上げて伸長反応を行う。従来法の PCR は、一定数の増幅サイクルの後の DNA の有無を確認する方法である。リアルタイム PCR は、PCR 増幅産物を経時的に測定して解析する定量的方法である。PCR 法は、あくまで DNA の存在が証明されるのみであり、ウイルスであれば活動性ウイルスの存在を証明しているわけではないため、その評価に注意を要する。

詳細については Appendix を参照のこと。

6. 血清抗体価

細菌・ウイルスには多数の抗原エпитープが存在し、これに対する特異的抗体が産生される。この血清中の抗体量の増加を捉えて、感染の有無を知る方法が血清学的診断法である。主にウイルス感染で用いられる。

一般にウイルス感染の初感染では、発症初期と発症 2 週後のペア血清を採取し、血清抗体価を比較して、4 倍以上の上昇で感染と判定するのが基本である。しかし、角膜ヘルペスの再発では抗体価はあまり変化しない。HSV の IgM 抗体価が上昇している場合には初感染が疑われる。成人では HSV および VZV の IgG 抗体保有率が高いため、IgG 抗体価が高いからといって診断的価値は低い。

詳細については Appendix を参照のこと。