



第2回 グラム染色

今回は微生物学的検査になくてはならない、グラム染色について特集します。

グラム染色って何？何がわかるの？

グラム染色は、検体中に存在する細菌を「青色」と「赤色」に染め分ける染色法です。そして、その染色性や菌の形態をから検体中にどのような細菌が存在するかを確認することができます。感染症の起原菌を推定することができます。起原菌を推定することで、初期治療に使用する抗菌薬の選択をより確実なものにすることができます。

グラム染色の原理と手順

グラム染色は、前染色・媒染・脱色・後染色の4つの工程があります。ここでは一般的に用いられている、ハッカー変法と呼ばれる方法を例にとって解説します。



まず、前染色液にクリスタル紫を使用して菌体を青く染め上げます。その後、アルコールで脱色しますが、この状態ではグラム陰性菌だけではなくグラム陽性菌も脱色されてしまいます。そのため、脱色する前にルゴール液（ヨウ素溶液）を作用させ、グラム陽性菌の細胞壁に存在するペプチドグリカンと呼ばれる層とクリスタル紫を強固に結合させます（媒染）。この操作を行った後に脱色操作を行うと、グラム陰性菌のみ脱色されます。そして最後にサフラニン液（またはピフェル液）で染色することで、グラム陰性菌が赤く染まり、細菌を綺麗に染め分けることができます。

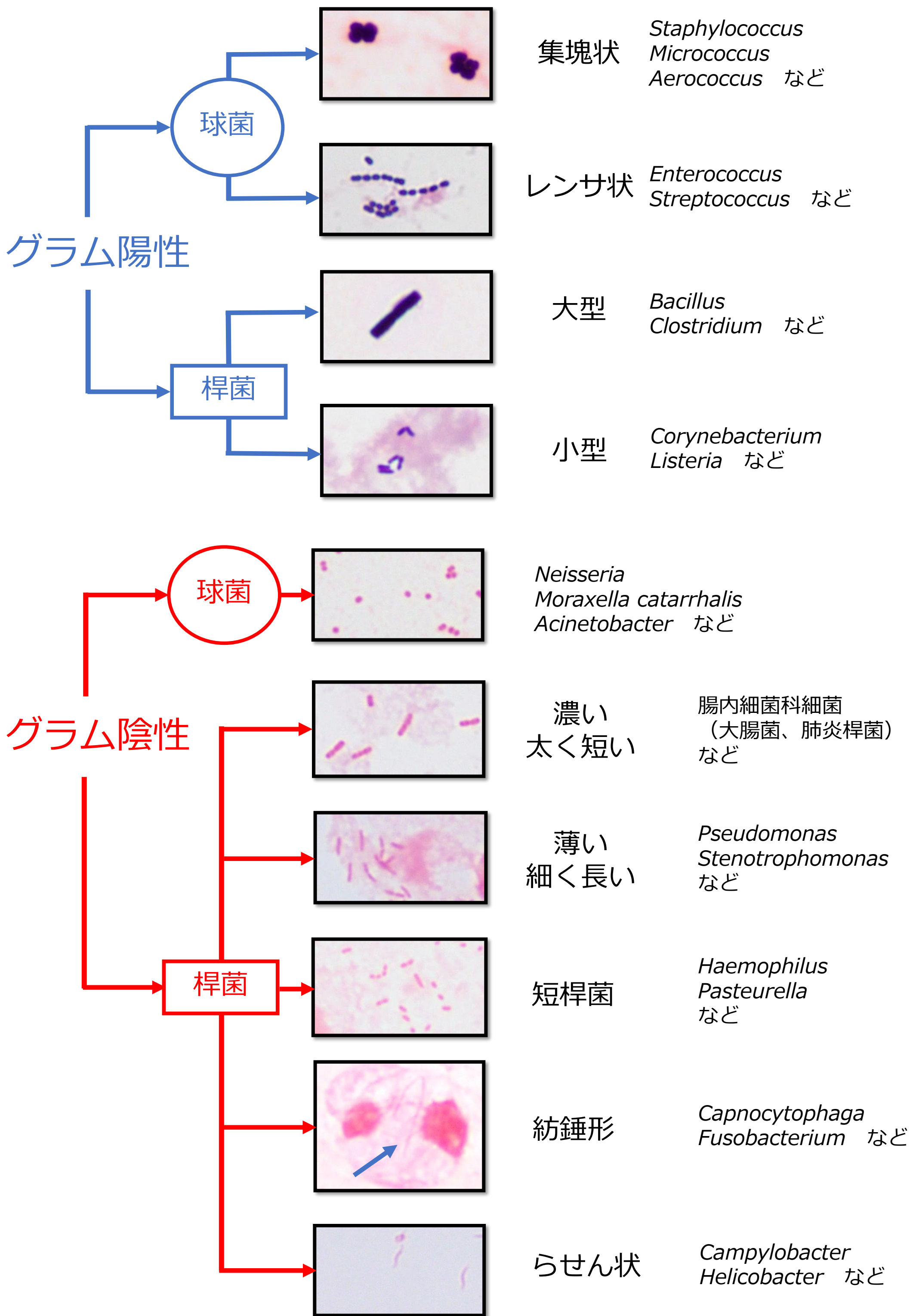
グラム染色の種類

ハッカー変法・バーミー法・西岡変法（フェイバー法）など、幾つか種類があります。西岡変法は媒染と脱色を同時に行うため1ステップ手順少ないです。また、ハッカー変法と比較して、西岡変法やバーミー法は過脱色されにくく陽性・陰性を染め分けやすいですが、実用性には大きな差はありません。

染色法	前染色	媒染	脱色	後染色
ハッカー変法	クリスタル紫	ルゴール液	アルコール	サフラニン液 または ピフェル液
Bertholomew & Mittwer法 (バーミー法)	クリスタル紫	ルゴール液	アセトン・アルコール	
西岡変法（フェイバー法）	ビクトリア青	ピクリン酸		

グラム染色像によるおおまかな菌の分類

他にも多くの細菌が存在しますが、特徴的な形態を示す一部の菌種についてお示しします



グラム染色の利点と欠点

グラム染色は使い方によっては非常に有用な検査ですが、やはり欠点もあります。次の表に利点と欠点についてまとめてみました。

利点	欠点
迅速（培養は数日、グラム染色は数分）	技術と経験を要する
ある程度の菌種や起因菌の推定が可能	ある程度の菌量（ $10^4 \sim 10^5/\text{ml}$ ）が必要
白血球の存在から炎症の有無が確認できる	検体の質に左右される
治療効果判定が可能（菌の減少が確認できる）	難染色性の菌が存在（レジオネラや結核菌等）
低コスト	

細菌検査は菌を培養して検査するため、発育するまでに日数を要します。一方でグラム染色は標本作成・染色・鏡検まで、慣れれば数分で検査することが可能な**大変迅速性に富んだ検査**です。

菌の染色性や配列などから検体中に存在する菌がある程度推定できますし、白血球やフィブリンなどから炎症の存在を確認できます。これらの情報から細菌感染の有無と起因菌の推定が可能となり、**初期治療に使用する抗菌薬の選択をより確実なものにすることができます。**

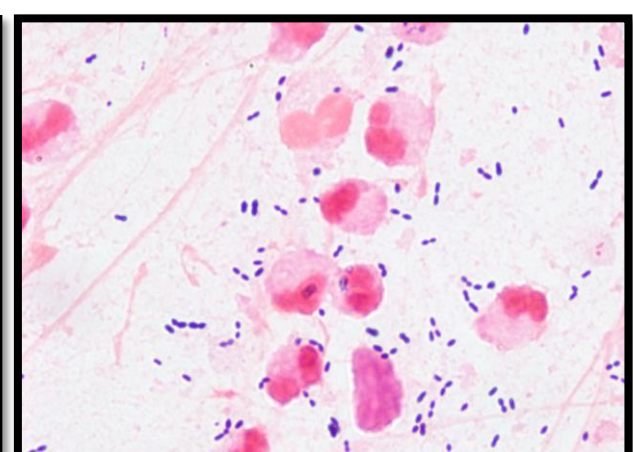
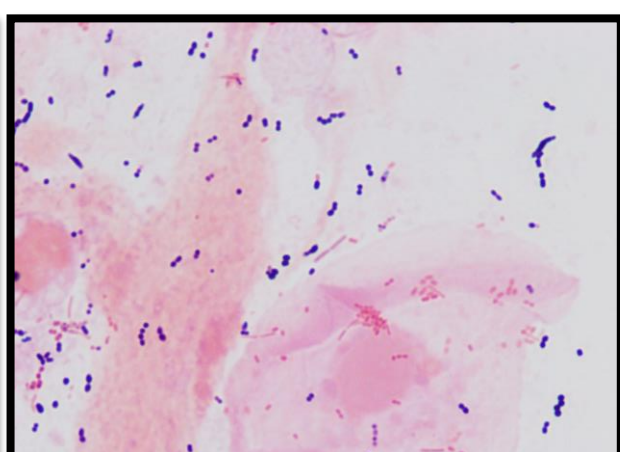
適切な抗菌薬が選択されている場合は、感染巣の細菌は速やかに減少していきますので、抗菌薬投与後翌日に検体を再採取しグラム染色することで治療効果を判定することもできます。また、顕微鏡とスライドグラス、そして染色液さえあれば検査ができるため非常に低コストで検査可能です。

グラム染色は大変有用な検査ですが、一方で欠点もあります。

鏡検には技術と経験が必要です。慣れるまでは菌体の鑑別に苦労しますし、**検体中にある程度の菌量がないと確認できません**（ $10^4 \sim 10^5/\text{ml}$ 必要と言われていています）。また、レジオネラや結核菌などはグラム染色では確認困難です。

特に重要な点は結果が検体の質に左右される点です（グラム染色に限った話ではないですが）。例えば、喀痰の場合、膿性部分の多い、いわゆる**痰らしい痰**を検査しないと、唾液中に存在する口腔細菌が多数混入するため、有意な菌体を確認することができません。

下の写真は、市中肺炎を疑うから患者さんから採取された喀痰とグラム染色の写真です。どちらも同じ患者さんから採取されたものですが、痰の性状によって全く鏡検像が異なります。**適切な検体を検査しないと、患者さんの病態を反映した結果が得られませんので注意してください。**



唾液様の喀痰

グラム染色では特に有意な菌体を確認できません

膿性の喀痰

グラム染色で肺炎球菌様のグラム陽性球菌が見えます

次回は、「培養・同定検査」について特集します。お楽しみに！