

平成24年度千臨技精度管理調査報告

微生物検査

【検査項目】

- 試料1 肺組織より得られた膿のグラム染色
- 試料2 猫咬傷による創部検体の分離と同定検査
- 試料3 血液からの分離菌を同定・感受性検査
- 試料4 フォトサーベイ、グラム染色の判定(3例出題)
- 試料5 血液培養陽性時の塗抹標本

(夜間休日で細菌検査技師以外の技師や医師がグラム染色を実施している施設をお願いします)

試料1 肺組織より得られた膿のグラム染色

【目的】

- グラム染色は、迅速性に優れ、感染症診断において重要な情報を提供できる検査である。この染色が確実に実施されているか、また、原因菌をどの程度推定できているかを調査するために実施した。

【方法】

- 切除された右上葉から作成した直接塗抹標本4枚(固定済み)を各施設に配布した。
- グラム染色の実施と判定の後、染色良好な標本と、**グラム染色以外で併用した染色標本**を返送してもらった。
- この標本について精度管理委員6名により評価を行った。

試料1 症例

- 62歳男性。
- 58歳のとき慢性腎不全に対し腎移植が施行され、免疫抑制剤を内服中。
- 2011年末より発熱。2012年1月右上葉に小結節影を認め近医に入院。CZOP投与で一時改善し退院したが、発熱と陰影の増大と減少を繰り返した。
- 3月に右前胸部痛の出現により紹介受信、気管支洗浄鏡を施行。経気管支生検では悪性所見はなく炎症を伴う器質化病変のみの所見。
- LVFX内服で一時炎症反応が改善したが、発熱の再燃と陰影の増大がみられ、6月に右上葉切除術を施行した。

【使用菌株】 *Nocardia farcinica*

- ノカルジアは放線菌目ノカルジア科に属する好気性グラム陽性桿菌で、土壤中に広く分布し弱抗酸性を有する。
- 感染のリスクファクターとして、ステロイド治療中、COPD(慢性閉塞性肺疾患)、臓器移植、HIV感染、などがある。
- 診断には感染局所からの菌の証明が重要であるが、培養に1～2週間を要するため、グラム染色が最も有用な早期診断法である。
- サルファ剤やST合剤の単独またはMINOとの併用を数ヶ月から半年以上の長期にわたり内服する。

試料1 グラム染色の評価基準

	A評価 良	B評価 可	D評価 不可
グラム染色	グラム陽性桿菌		左記以外
推定菌種	<i>Nocardia</i> sp. <i>Nocardia asteroides</i> <i>Nocardia brasiliensis</i>	<i>Actinomyces</i> sp. <i>Actinomyces israelii</i>	推定なし 左記以外の菌種
菌体の染色性	染色良好 (80%以上)	やや不良 (50~80%)	不良 (50%以下)
バックグラウンド	きれい 顆粒なし 脱色良好	やや汚い 顆粒認める 脱色不良50~90%	汚い 顆粒多数 脱色不良90%以上

試料1 グラム染色の評価結果(46施設)

	A評価 良	B評価 可	D評価 不可
グラム染色	46 (100%)	—	0
推定菌種	41 (89%)	4 (9%)	1 (2%)
菌体の染色性	46 (100%)	0	0
バックグラウンド	38 (83%)	8 (17%)	0

推定菌種 B評価:4施設 C評価:1施設

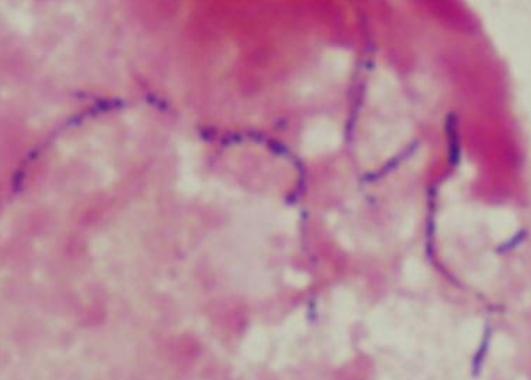
	グラム染色			抗酸菌染色	推定菌種	判定
	菌体	背景	試薬			
11	良	良	バーミーM染色キット	陰性	<i>Actinomyces</i> sp.	B
12	良	良	バーミーM染色キット	陰性	<i>Actinomyces</i> sp.	B
14	良	脱色不良	フェイバーGセットF(フクシン染色液とのセット)	陰性	<i>Actinomyces</i> sp.	B
15	良	良	グラム染色液neo-B&Mワコー	陰性	<i>Actinomyces</i> sp.	B
36	良	良	フェイバーGセットF(フクシン染色液とのセット)	未実施	推定せず	C

バックグラウンド

可:8施設 不可:0施設

	菌体	背景	内容	試薬
14	良	可	脱色不良	フェイバーGセットF(フクシン染色液とのセット)
17	良	可	脱色不良	自家製染色液を使用
18	良	可	顆粒	グラム染色液B&Mワコー
26	良	可	脱色不良	その他のBD製品
35	良	可	脱色不良	フェイバーGセットF(フクシン染色液とのセット)
40	良	可	脱色不良	グラムハッカー染色液(I, II, III)
44	良	可	脱色不良	バーミーM染色キット
47	良	可	脱色不良	バーミーM染色キット

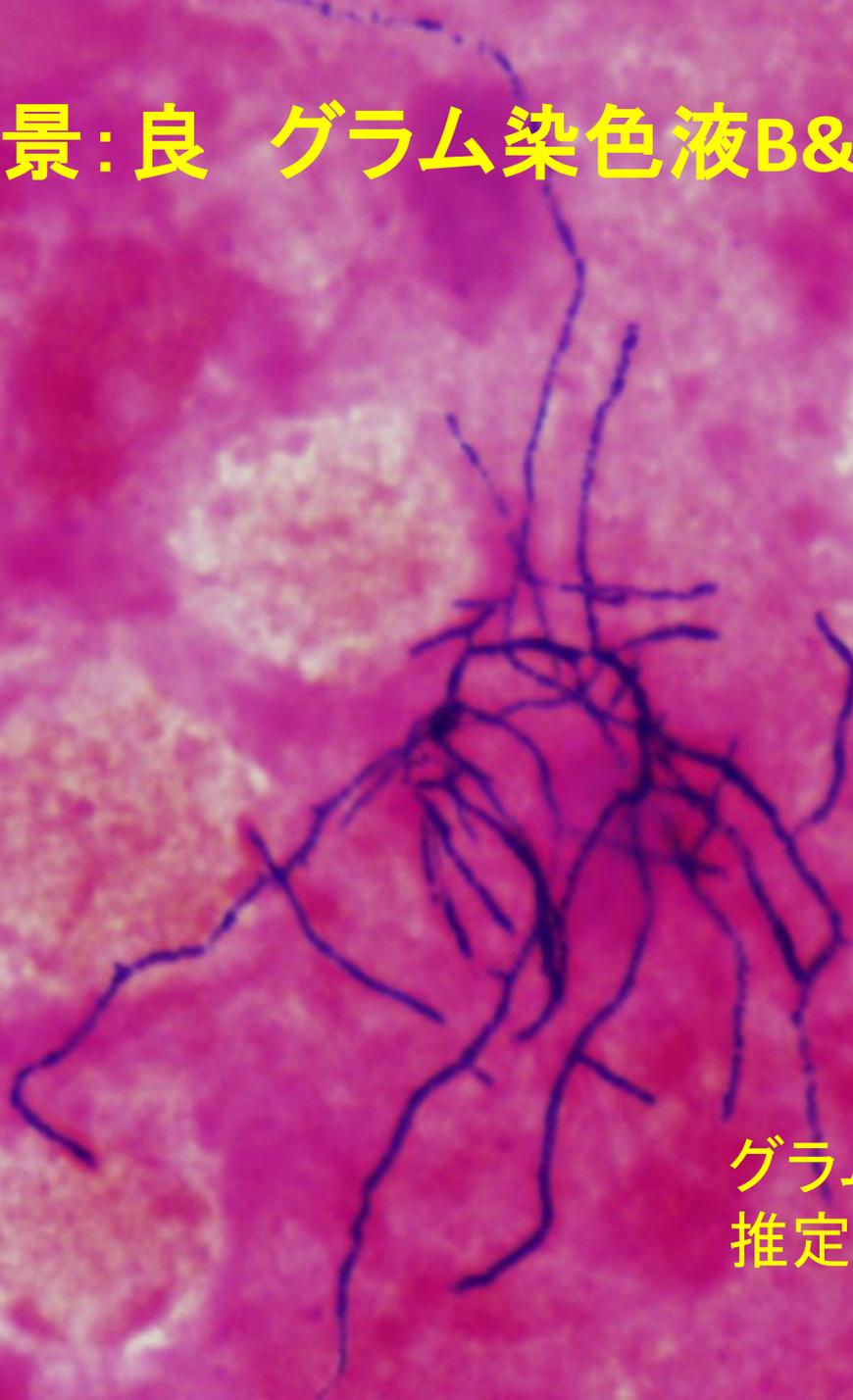
菌体:良 背景:良 バーミーM染色キット



No1 1000倍

グラム染色結果 A
推定起因菌 A

菌体:良 背景:良 グラム染色液B&Mワコー



No2 1000倍

グラム染色結果 A
推定起因菌 A

菌体:良 背景:良 グラムハッカー染色液(I, II, III)

No41 1000倍

グラム染色結果 A
推定起因菌 A

菌体:良 背景:可 グラム染色液B&Mワコー



№18 1000倍

グラム染色結果 A
推定起因菌 A

菌体:良 背景:可 その他のBD製品

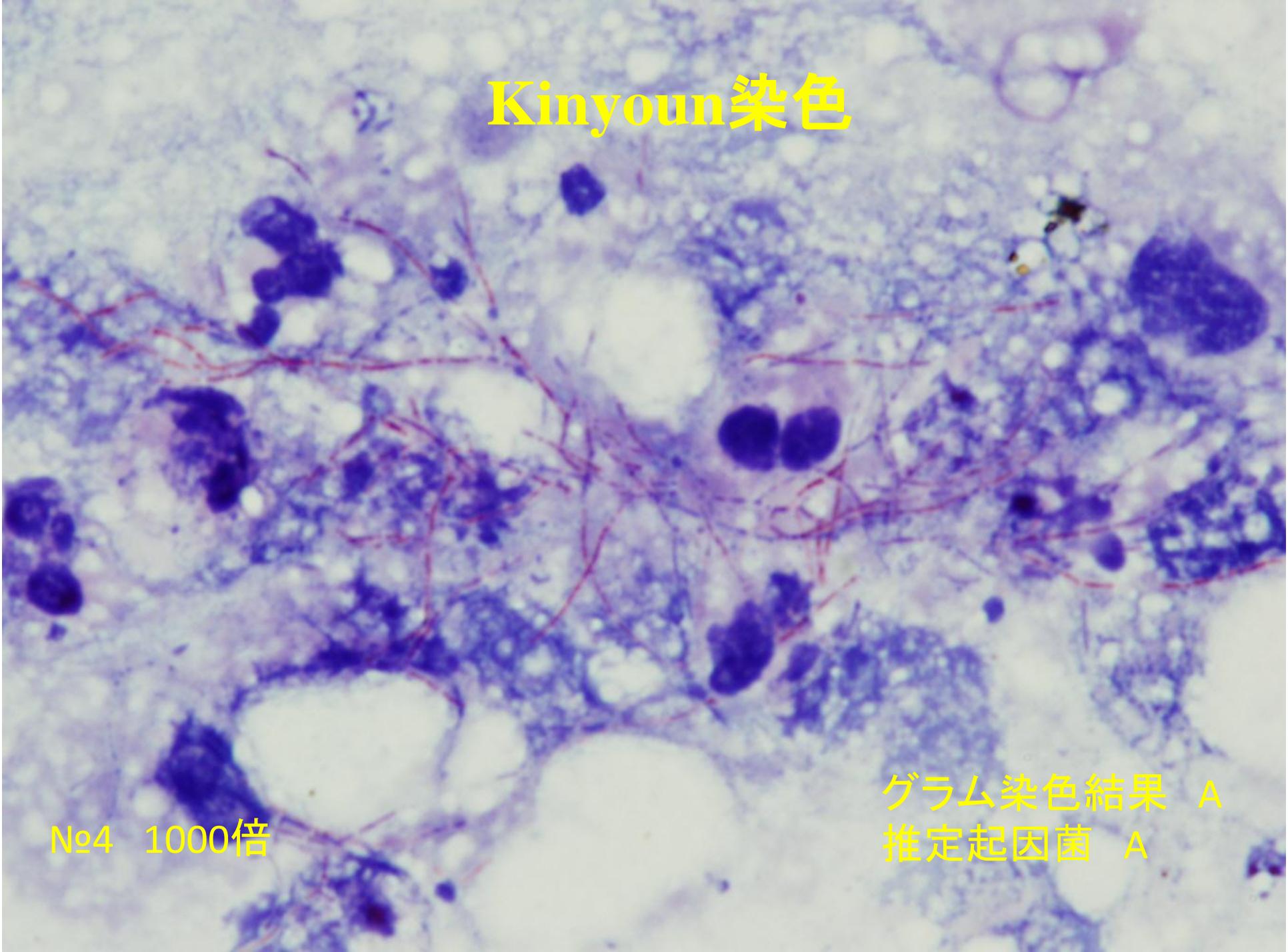
No26 1000倍

グラム染色結果 A
推定起因菌 A

Kinyoun染色

1. 固定
2. 抗酸菌の染色 石炭酸フクシン液(加温不要)
3. 水洗
4. 分別 0.5~1%硫酸水
5. 水洗
6. 後染色 メチレン青液
7. 水洗
8. 乾燥
9. 鏡検

Kinyoun染色



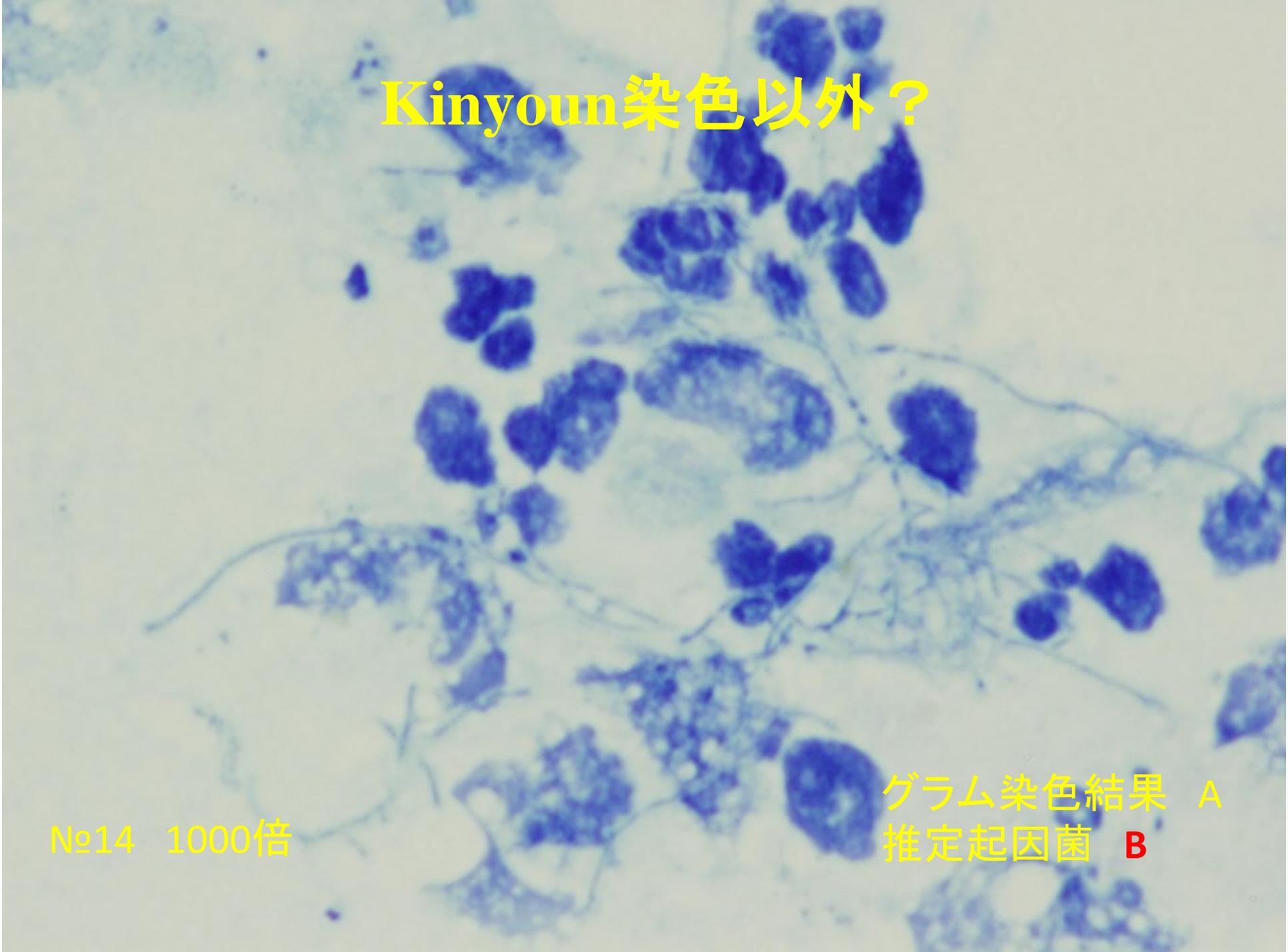
№4 1000倍

グラム染色結果 A
推定起因菌 A

Kinyoun染色以外？

№14 1000倍

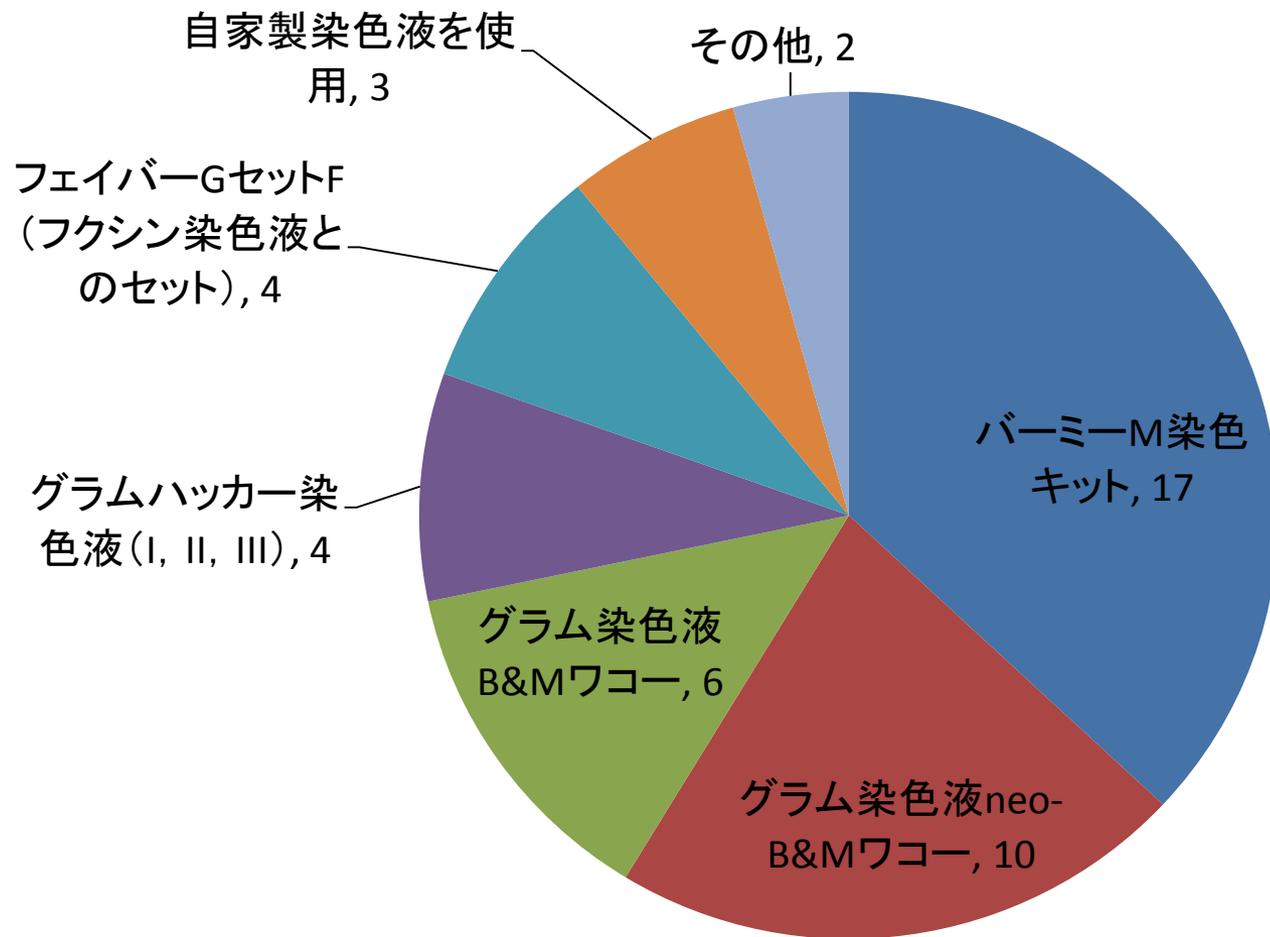
グラム染色結果 A
推定起因菌 B



まとめ

- グラム染色結果、推定起因菌、染色性(菌体・バックグラウンド)すべてにおいて昨年と同等かそれ以上の結果が得られた
- グラム染色試薬の種類によって染色性に差がみられなかった
- グラム染色はノカルジア症の早期診断に有用
- Kinyoun染色による*Actinomyces sp.*との鑑別は臨床的意義が高い

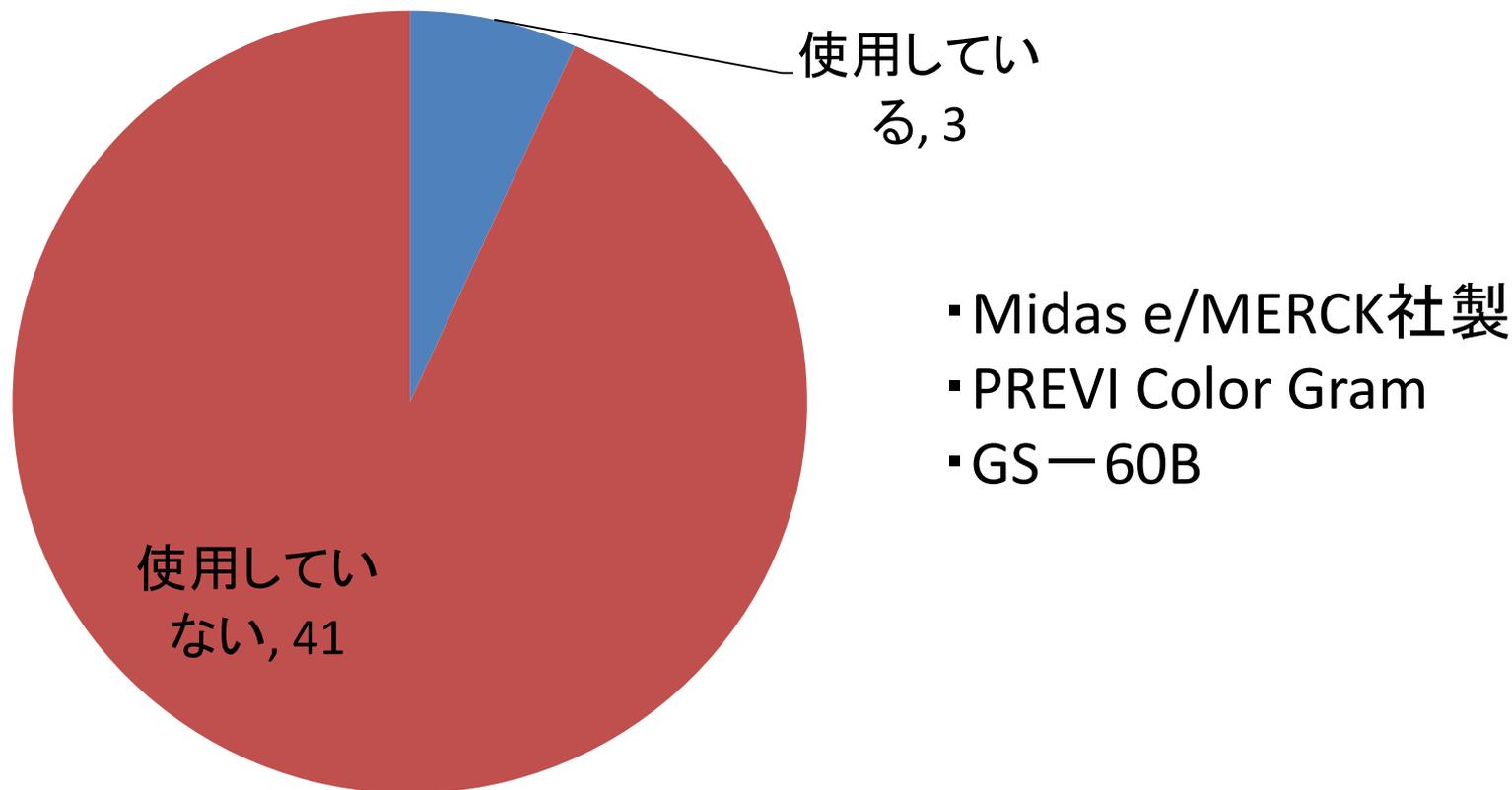
試薬



バーミー法
72%

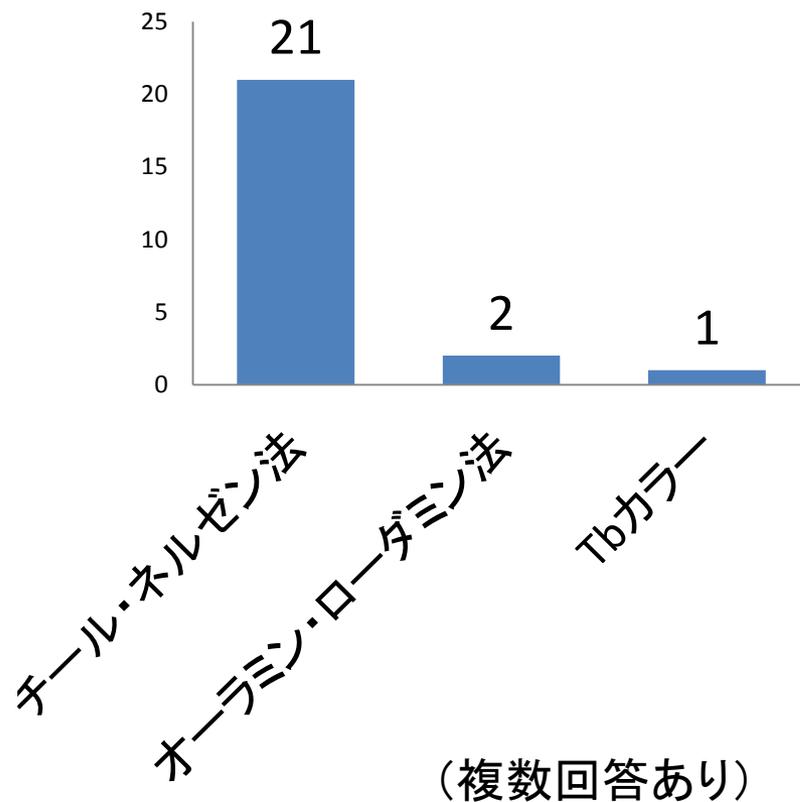
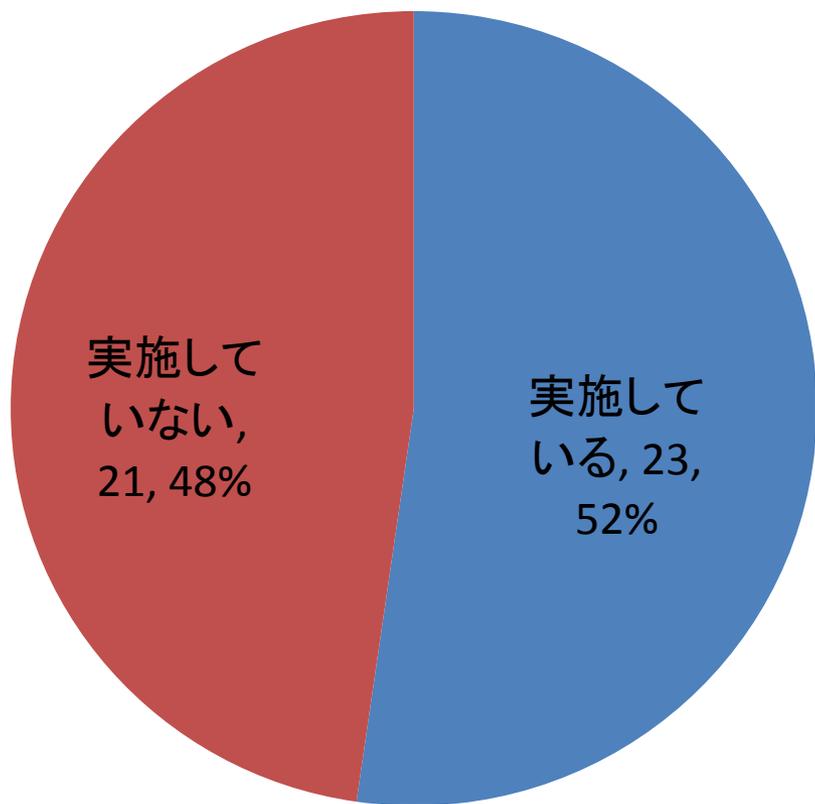
46施設回答

1. グラム染色に自動機器を使用していますか



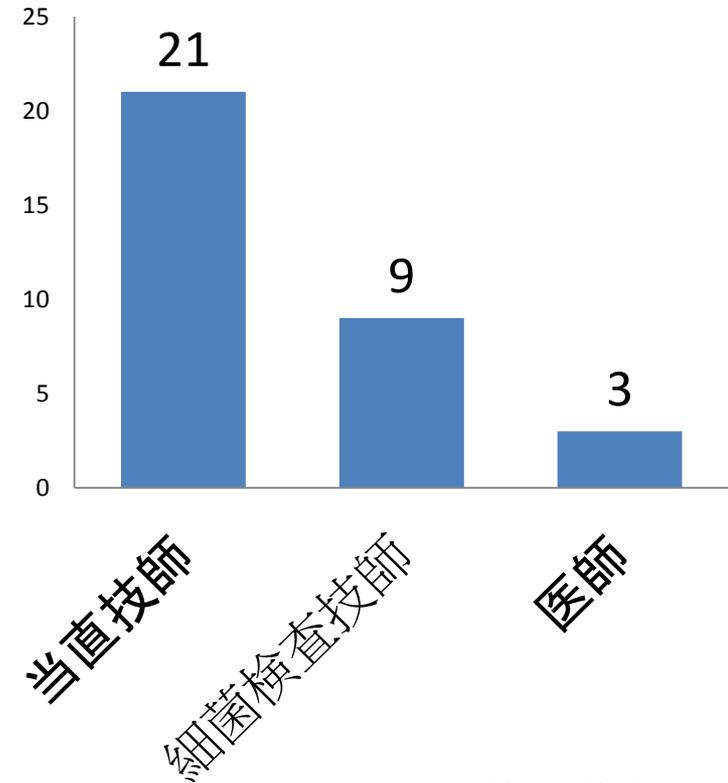
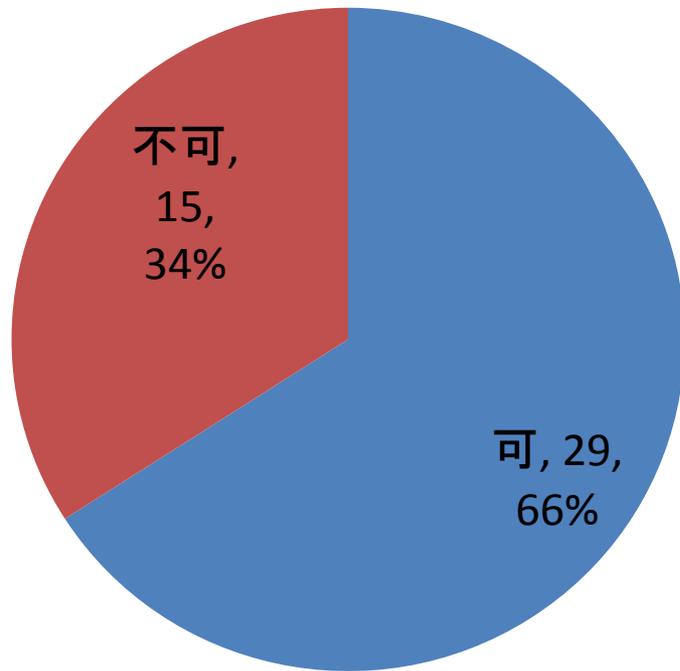
44施設回答

2. 夜間・休日に抗酸菌染色を実施していますか



44施設回答

3.夜間・休日にグラム染色を至急で実施する体制ができていますか

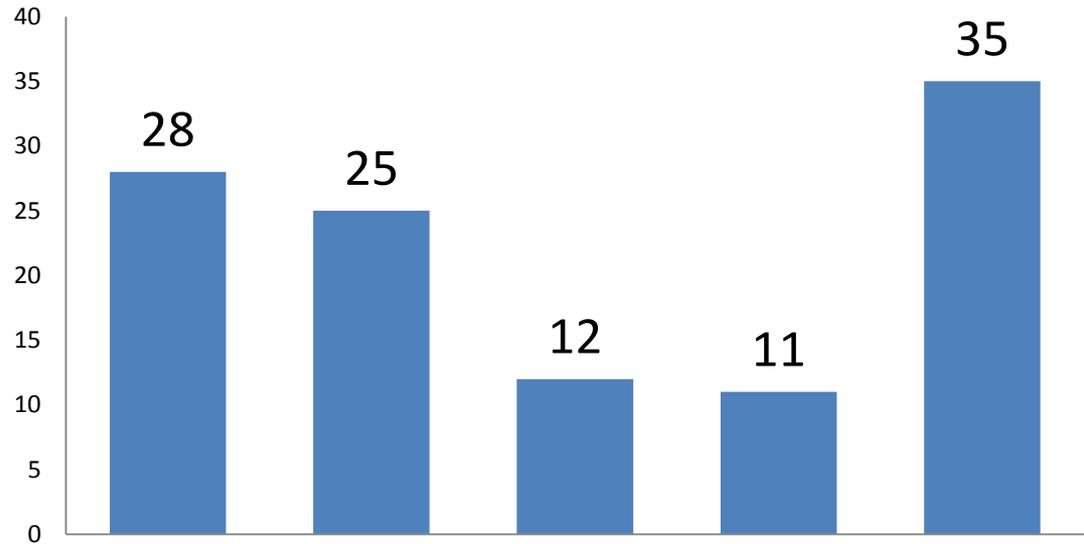


(複数回答あり)

44施設回答

4.迅速検査としてグラム染色以外に実施している項目がありますか（38施設回答）

実施者	施設数
当直技師	26
細菌検査技師	7
医師	3
その他	1



（複数回答あり）

肺炎球菌抗原尿中迅速検査
 レジオネラ抗原尿中迅速検査
 髄液肺炎球菌抗原検査
 髄液インフルエンザ菌抗原検査
 咽頭A群溶血連鎖球菌抗原検査

（複数回答あり）

試料5 血液培養陽性時の塗抹標本

【目的】平成20年度診療報酬改訂で、検体管理加算に緊急微生物検査が追加された。今後さらに、夜間休日にグラム染色を実施する必要性が高まると考えられる。例年に引き続き、県内施設におけるグラム染色実施の現状について調査した。

【対象】現在、夜間休日にグラム染色を実施している県内23施設。

【方法】血液培養陽性時の塗抹標本(固定済み)を、細菌検査技師以外の技師や医師が染色と判定を行った。試料1同様、精度管理委員6名により評価を行った。

試料5 症例

- 58歳女性。
- 約1年前の健康診断にて心雑音を指摘され、近医にて経過観察中であった。
- 1ヶ月前から38°Cの発熱を数日間認め、その後も断続的に37°C台の発熱が続いていた。
- 3～4日前から39°Cの発熱持続、食事摂取も困難となり衰弱が激しいため精査加療目的で入院となった。
- 入院時所見：WBC14400 μ l、CRP7.8mg/dl、画像診断において僧帽弁に疣贅を認めた。

【使用菌株】 *Streptococcus mitis*

試料5 グラム染色の評価基準

	A評価 良	B評価 可	D評価 不可
グラム染色	グラム陽性球菌		左記以外
推定菌種	レンサ球菌を 表す表記		推定なし 左記以外の菌種
菌体の染色性	染色良好 (80%以上)	やや不良 (50~80%)	不良 (50%以下)
バックグラウンド	きれい 顆粒なし 脱色良好	やや汚い 顆粒認める 脱色不良50~90%	汚い 顆粒多数 脱色不良90%以上

試料5 グラム染色の評価結果(23施設)

	A評価 良	B評価 可	D評価 不可
グラム染色	23 (100%)	—	0
推定菌種	19 (83%)	—	4 (17%)
菌体の染色性	21 (91%)	1 (5%)	1 (5%)
バックグラウンド	18 (83%)	5 (17%)	0

菌体:良 背景:可

フェイバーGセットF(フクシン染色液とのセット)

№14 1000倍

グラム染色結果 A
推定起因菌 A

菌体:不可 背景:可
グラムハッカー染色液(I, II, III)

No41 1000倍

グラム染色結果 A
推定起因菌 C

1.実施者

検査技師(19)、医師(3)

2.実施頻度

月1回(6)、年数回(5)、週1回(3)、ほとんどなし(3)

ほぼ毎日(2)、2~3日に1回(2)

3.研修・教育

有(14)、無(7)

染色手技や結果判定、医師や細菌検査技師からの指導

4.自動機器

使用していない(20)、使用している(0)

5.マニュアル

有(18)、無(3)

写真を利用、ポスター掲示

6.グラム染色と定期的な研修・教育

有(4)、無(16)

年1回(2) 数カ月に1回(1) 半年に1回(1)