

平成25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 関節液の塗抹標本のグラム染色

試料2 健常若年者からの咽頭炎分離菌の同定検査

試料3 尿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 関節液の塗抹標本のグラム染色

【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】

- 関節液から作成した直接塗抹標本2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

- 70歳女性。
- 右膝関節腫脹のため近医を受診。
- 外傷はなく、X線検査で半月板の石灰化が認められた。
- 来院時の血液検査結果
WBC 19,200/ μ L (Neu 97.0%)、CRP 18.5mg/dL、
尿酸 2.3mg/dL
- 右膝関節穿刺にて関節液を採取、培養検査を実施したが菌の発育は認められなかった。

【病原因子】 ピロリン酸カルシウム結晶

- 偽痛風:ピロリン酸カルシウム結晶沈着症
- 男性 $\leq$ 女性 好発年齢65～80歳
- 好発部位は膝関節
- ピロリン酸カルシウムが、関節内の軟骨に沈着し、これが何らかの原因で関節内にはがれ落ちたときに、白血球が反応して炎症症状を起こし発症
- 細菌性の関節炎と鑑別する必要がある、関節穿刺で関節中にピロリン酸カルシウム結晶を顕微鏡で確認することが重要
- X線で軟骨の石灰化を見つけることも診断の重要なポイント

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			
推定菌種			
菌体の染色性			
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
菌種コメント	ピロリン酸Ca結晶 偽痛風	—	結晶の報告なし 推定菌の報告

試料1 グラム染色の評価結果(45施設)

	A評価 良	B評価 可	D評価 不可
菌種コメント	35 (78%)	0	10 (22%)
バックグラウンド	35 (78%)	8 (18%)	2 (4%)

菌種コメント B評価:0施設 D評価:10施設

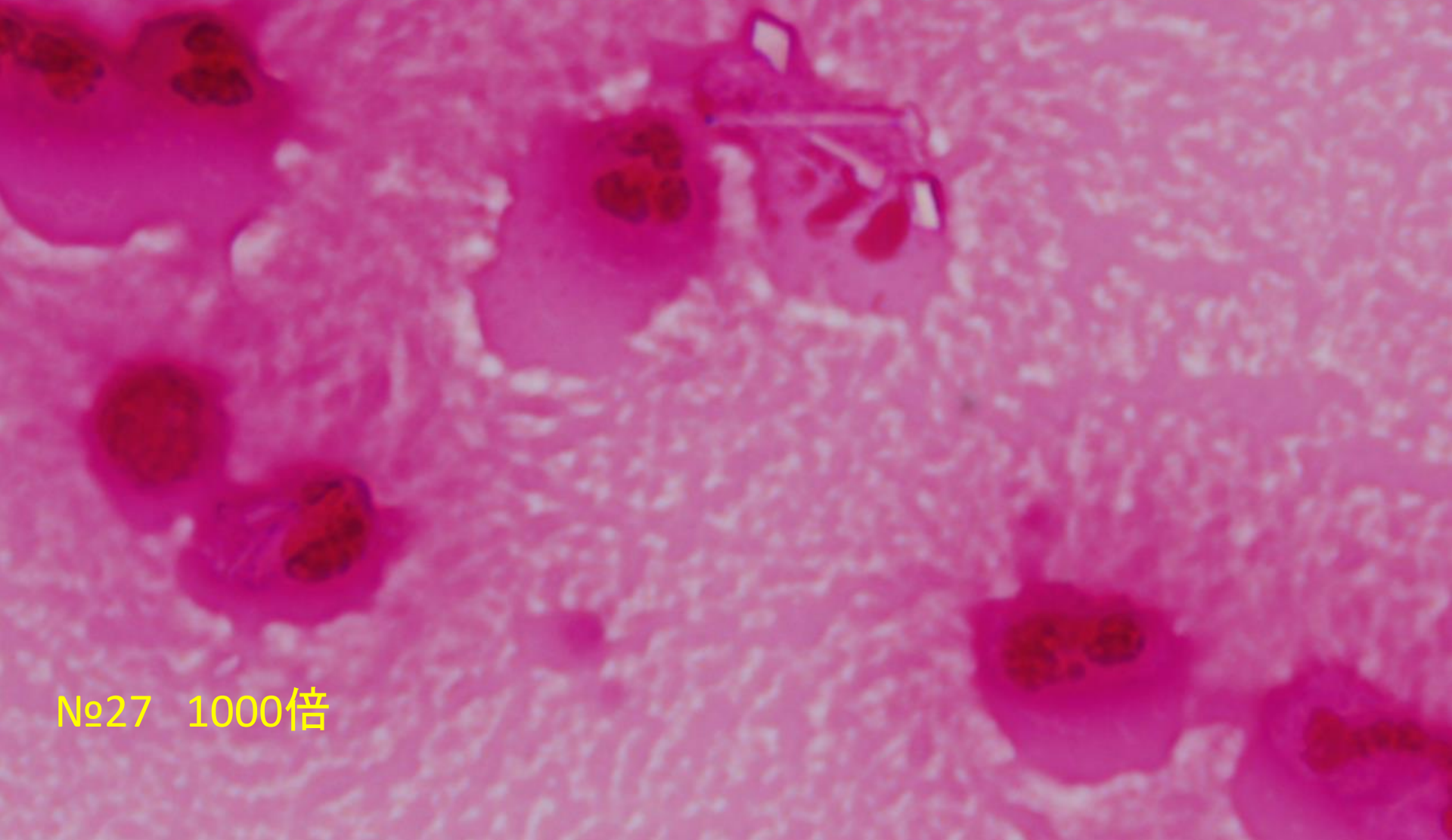
	グラム染色			推定菌種	結晶のコメント	判定
	結果	背景	試薬			
6	細菌陰性	脱色不良	フェイバーGセットS(サフラニン染色液とのセット)		記載なし	D
8	細菌陰性	脱色不良	グラムハッカー染色液(I, II, III)		記載なし	D
9	細菌陰性	良	バーミーM染色キット		記載なし	D
21	細菌陰性	良	バーミーM染色キット	Cryptococcus neoformans	記載なし	D
28	細菌陰性	良	バーミーM染色キット		記載なし	D
71	細菌陰性	良	バーミーM染色キット		記載なし	D
96	GPR	良	バーミーM染色キット	Mycobacterium sp.	記載なし	D
125	酵母	良	バーミーM染色キット	Cryptococcus sp.	記載なし	D
135	細菌陰性	良	グラム染色液B&Mワコー		記載なし	D
141	細菌陰性	脱色不良	グラム染色液neo-B&Mワコー	結核菌	記載なし	D

バックグラウンド

B評価:8施設 D評価:2施設

	菌種 コメント	背景	内容	試薬
6	D	B	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)
7	A	B	染色薄い	フェイバーGセットF(フクシン染色液とのセット)
8	D	B	脱色不良	グラムハッカー染色液(I, II, III)
14	A	B	異物混入	バーミーM染色キット
18	A	B	脱色不良・顆粒	バーミーM染色キット
30	A	D	異物混入	グラムハッカー染色液(I, II, III)
45	A	B	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)
86	A	D	脱色不良・顆粒	自家製染色液を使用
106	A	B	脱色不良・異物混入	グラムハッカー染色液(I, II, III)
141	D	B	脱色不良	グラム染色液neo-B&Mワコー

菌種コメント:A 背景:A
バーミーM染色キット



No27 1000倍

菌種コメント:A 背景:A
グラム染色液B&Mワコー

No3 1000倍

菌種コメント:A 背景:B
バーミーM染色キット

脱色不良
顆粒析出

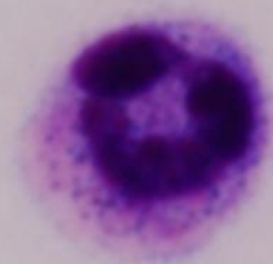
No18 1000倍

菌種コメント:A 背景:D
グラムハッカー染色液(I, II, III)

異物析出

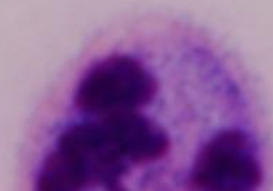
No30 1000倍

菌種コメント:D 背景:B
グラム染色液neo-B&Mワコー



脱色不良

No141 1000倍



菌種コメント:A 背景:B
グラムハッカー染色液(I, II, III)

脱色不良
異物

No106 1000倍

菌種コメント:A 背景:B
フェイバーGセットF(フクシン染色液とのセット)

染色薄い

No7 1000倍

菌種コメント:A 背景:D
自家製染色液を使用

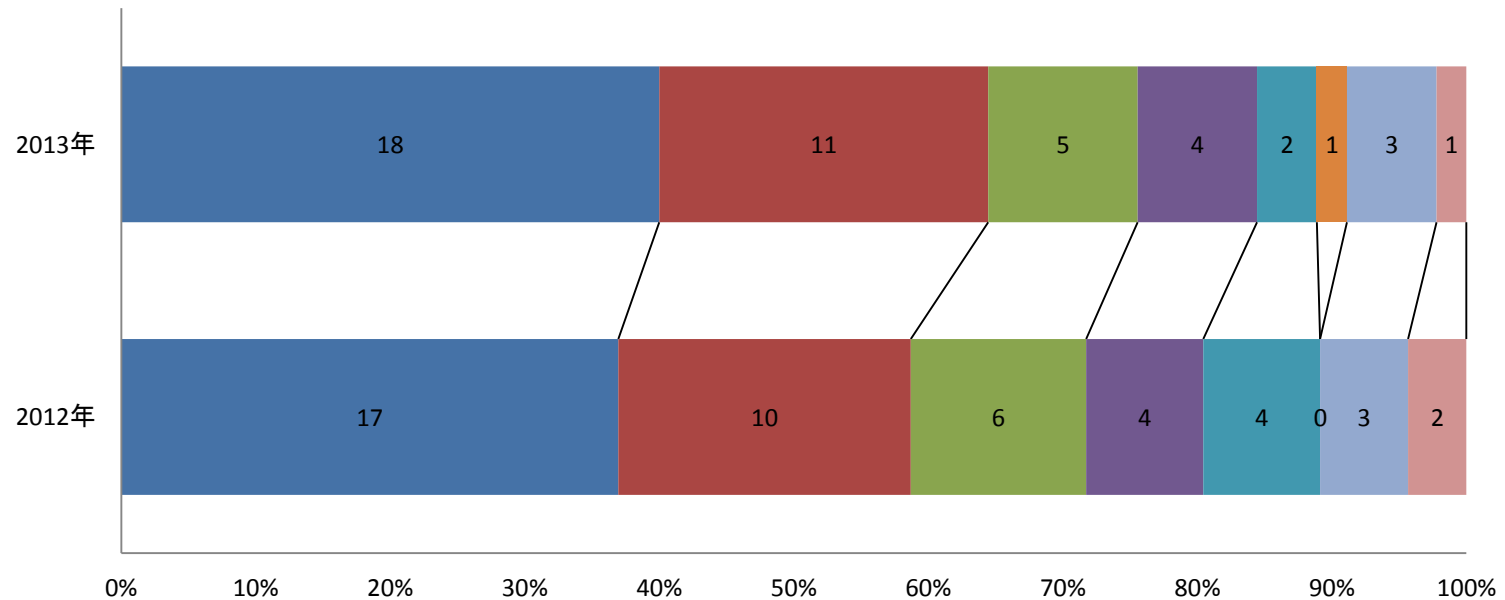
顆粒析出

No86 1000倍

まとめ

- 菌種コメント、バックグラウンドにおいて昨年と同等の結果が得られた
- 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
- 関節液のグラム染色は関節炎の鑑別・診断に有用
- 好中球多数で菌が検出されない場合は、結晶の有無を観察するとよい

試薬



- バーミーM染色キット
- グラム染色液neo-B&Mワコー
- グラム染色液B&Mワコー
- グラムハッカー染色液(I, II, III)
- フェイバーGセットF(フクシン染色液とのセット)
- フェイバーGセットS(サフラニン染色液とのセット)
- 自家製染色液を使用
- その他

バーミー法
75%

45施設回答

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25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

- 13歳女児。
- 血液悪性腫瘍の化学療法のため入院中に発熱を認めた。
- 発熱時の血液検査は、WBC 200/ μ L、CRP 16.4mg/dL、(1 $\rightarrow$ 3)- β -D-グルカン 93.0pg/mLであった。
- 血液培養が実施され、2日後に好気ボトルが陽性になった。

【使用菌株】 *Candida* sp.

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	酵母		左記以外
推定菌種	酵母を 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(25施設)

	A評価 良	B評価 可	D評価 不可
グラム染色	25 (100%)	—	0
推定菌種	24 (96%)	—	1 (4%)
菌体の染色性	24 (96%)	0	1 (4%)
バックグラウンド	19 (76%)	5 (20%)	1 (4%)

1.実施者

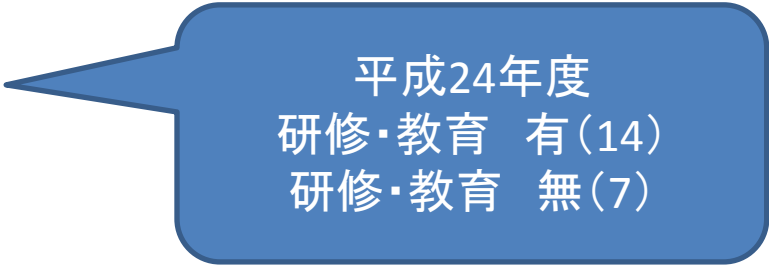
検査技師(20)、医師(4)

2.実施頻度

ほぼ毎日(1)、2～3日に1回(4)、週1回(3)、
月1回(5)、年数回(6)、ほとんどなし(4)

3.研修・教育

有(19)、無(4)



平成24年度
研修・教育 有(14)
研修・教育 無(7)

4.自動機器

使用していない(23)、使用している(0)

5.マニュアル

有(20)、無(3)

6.グラム染色と定期的な研修・教育

有(6)、無(17)

年1回(1) 年数回(1) 随時(1)