

グラム染色における固定方法の検討

～メタノール固定とエタノール固定の比較～

◎坂西 清¹⁾、杉山 貴大¹⁾、馬場 満¹⁾、伊藤 桜織¹⁾、柴田 真由美¹⁾
新潟大学地域医療教育センター・魚沼基幹病院¹⁾

【はじめに】

グラム染色における固定作業は、火炎（加熱）固定やアルコール固定が用いられるが、火炎固定は加熱による細菌の変形や収縮、背景の汚れや析出物が残ることがある。一方、アルコール固定は分子量の小さいメタノールを用いる施設が多いが、有機溶剤であり人体に影響がある物質のため使用には注意が必要である。今回、我々はメタノールの代用としてエタノールでの固定が日常業務で有用かどうか検討したので報告する。

【方法】

検討①（菌体のみ検討）：グラム陽性・陰性、桿菌・球菌、真菌のスライドを作成し、それぞれメタノール、エタノールで固定を実施した。グラム染色は個人差を評価するために細菌担当技師2名で行い、鏡顕は細菌担当者4名、他部門4名にてブラインドテストを実施した。

検討②（材料別検討）：細胞像、貪食像の観察をするため、各材料における検体スライドを細菌担当者4名にてブラインドテストを実施した。

【結果】

検討①：一部の技師で球菌・桿菌の判断の差があったが、固定方法及び技師の手技による染色の差は無かった。

検討②：各検体とも固定法による染色の差は無く、菌体及び上皮、貪食像における技師による判断の差も無かった。

【まとめ及び考察】

今回、グラム染色におけるメタノール固定とエタノール固定を比較検討した。検討①、検討②において、両検討とも固定法の違いによる各技師の判断に差はみられなかった。また技師による染色差も無いことから日常の業務においてエタノール固定は有用であると考ええる。ASM 臨床微生物学ハンドブック（米国臨床微生物学会発刊）にはメタノール固定が望ましいと記載されているが、有機溶剤中毒予防規則で第2種有機溶剤に定められており作業環境測定や健康診断が必要な有害物質である。今後も日常検査に照らし合わせて検査実施者にとってより安全な検査が実施できるよう検討を重ねていきたい。

魚沼基幹病院 025-777-3200

適切な尿定量培養実施に向けた施設内検討

◎菊池 桂舟¹⁾、達子 瑠美¹⁾、石山 史奈¹⁾、齋藤 幸子¹⁾、鎌田 衣織¹⁾、高橋 智映¹⁾、守時 由起²⁾、植木 重治²⁾
秋田大学医学部附属病院 中央検査部¹⁾、秋田大学大学院医学系研究科 総合診療・検査診断学講座²⁾

【目的】尿培養によって検出された細菌が起因菌か汚染菌かの鑑別のため定量培養が実施される。当施設では白金耳ループ部分で検体を採取し、培地上に画線する方法で実施しているが、この方法の妥当性の確認と、より良い方法がないか検討することを目的として検討を行った。【方法】①培地への塗布方法の検討; *Escherichia coli* ATCC25922 を用いて、McFarland No.5 に調製した菌液を 10^8 CFU/mL とし、段階的に 10^7 CFU/mL から 10^3 CFU/mL まで希釈を繰り返して試料とした。それぞれの試料を2枚の5%ヒツジ血液寒天培地に塗布し、 35°C 、18～24時間培養を行い発育したコロニーの観察を行った。塗布方法は現行法を含めて、分画の方法を変えながら5つの方法で実施した。また、菌液の採取方法は白金耳での採取とマイクロピペットでの採取の2通りで行った。②技師間差の検討; ①の結果から、3分画で塗布する方法と現行法を微生物検査室に所属する技師5名が実施し、技師間差がどの程度生じるか検討した。菌液調整と培地への菌液接種、培養条件等は①同様に行った。【結果】①; 現行法含め各塗布方法で概ね同様の発育量であった。

10^6 と 10^7 では培地上の発育の差が小さく、評価が困難であった。また、ピペット採取と比較し、白金耳採取では発育量が少なくなる傾向が認められた。②; ①の結果同様に白金耳採取では発育量が少なる傾向が認められた。また、塗布した2枚の培地でばらつきが生じる傾向も認められた。

【考察】白金耳採取では生じる表面張力によって採取量にばらつきが生じ、発育量が変わってしまう可能性がある。検体性状により、採取量が一定しないことで過大、または過少評価につながる可能性が示唆された。また、塗布分画を統一しても技師間差が生じうるが、白金耳を走らせる速度や培地との角度、圧力の差などが複合して影響していると考えられる。すべての条件を同一に行うことは難しいが、定期的な評価を行い、検査室内で共有することで技師間差を少なくすることに繋がると思われる。【まとめ】検査室内での定期的な手技の確認、技術的な「目合わせ」の実施が重要であり、その積み重ねが適切な尿定量培養に繋がると考えられる。

連絡先 018-834-1111 (内線 2448)

東北地区における同定検査に関するアンケート結果報告

◎茜谷 大輔¹⁾、金澤 雄大²⁾、菊池 桂舟³⁾、佐藤 愛理⁴⁾、大杉 悠平⁵⁾、今井 美菜子⁶⁾、千葉 美紀子⁵⁾
山形県立新庄病院¹⁾、八戸市立市民病院²⁾、秋田大学医学部附属病院³⁾、地方独立行政法人 宮城県立こども病院⁴⁾、東北大学病院⁵⁾、福島県立医科大学附属病院⁶⁾

【はじめに】

近年、同定検査における検査体制は、遺伝子検査や質量分析装置の普及により施設間で大きく異なりつつある。そこで今回、東北地区の各施設における同定検査の現状および工夫について把握することを目的に、アンケート調査を実施したので報告する。

【対象および方法】

2024年11月20日～29日の期間、東北6県の医療施設を対象に、同定検査に関する事項（使用機器、釣菌対象、遺伝子検査や用手法の使用状況、各施設の工夫など）について、Googleフォームを用いてアンケート調査を行った。

【結果】

東北6県の34施設から回答を得た。集計対象施設の病床数の内訳は、200床未満が5施設（14.7%）、200～399床が9施設（26.5%）、400～599床が9施設（26.5%）、600床以上が8施設（23.5%）、その他が3施設（8.8%）であった。

自動分析装置を導入している施設は31施設（91.2%）であり、質量分析装置を導入している施設は12施設

（35.3%）であった。血液培養検査に関する遺伝子検査機器は14施設（41.2%）が導入しており、使用機器の内訳はFilmArrayが6施設、GeneXpertが4施設、両機器併用が4施設であった。また、血液培養における用手法を実施している施設は19施設（55.9%）あり、ブドウ球菌に対してイムノクロマト法によるPBP2'の検出、溶血性レンサ球菌を疑う菌に対して直接ラテックス凝集によるLancefield分類、グラム陰性桿菌に対して生鮮標本を作成して運動性を観察するなど各施設で迅速な報告を目指した多様な工夫が見られた。

【まとめ】

東北地方の医療施設を対象とした同定検査に関するアンケート結果から、各施設で使用されている機器や手法に多くの施設間差が認められた。また、血液培養検査では迅速な結果報告が求められることから、感染症診療に寄与する情報提供のための各施設の工夫が随所に見られた。当日は、これらの取り組みを含めさらに詳細な情報を共有する。
連絡先：山形県立新庄病院（内線 2033）