



非医療機器 自動グラム染色機 PoCGS[®]-iE Technical Note Ver3：抗酸菌染色

冷染色下・高濃度フクシンでの自動グラム染色機PoCGS[®]-iEによる抗酸菌染色の追加検討はじめに

Ziehl-Neelsen染色は、抗酸菌の検出に用いられている染色法であり、微生物学や病理学における重要な診断手法の一つです。従来のZiehl-Neelsen染色法では、染色時に加熱工程が必要であり、作業の煩雑さなどが課題とされてきました。前回のテクニカルノートでは弊社が開発した自動グラム染色機PoCGS[®]-iE（Point-of-Care GramStainer：以下PoCGSと略）を用い、冷染色下にて高濃度のフクシン（キノヨン・カルボールフクシン液）での抗酸菌染色の実施可能性について検討しましたが、今回は菌株数をさらに増やしその染色性について熟練者と比較しました。

使用試薬

- キノヨン・カルボールフクシン液（抗酸菌染色用）（武藤化学）
- 3%塩酸アルコール（武藤化学）
- レフレルカリメチレンブルー液（武藤化学）

検証検体

臨床分離株 19株

M. avium 3株、*M. intracellulare* 3株、*M. abscessus* 3株、*M. fortuitum* 3株、*M. kansasii* 3株、

M. chelonae 3株、*M. bovis* 1株

* 共同研究機関：神戸大学医学部附属病院

染色プロトコール

- 1：検体を塗抹したスライドガラスをメタノールで固定
- 2：スライドガラスをアルコールランプで5往復程度あぶる
- 3：PoCGSへスライドガラスを設置し染色
- 4：キノヨン・カルボールフクシン液：3秒滴下^{※1}、5分待機^{※2}、10秒水洗
- 5：3%塩酸アルコール：3秒滴下^{※1}、15秒待機^{※2}、10秒水洗
- 6：3%塩酸アルコール：3秒滴下^{※1}、15秒待機^{※2}、10秒水洗
- 7：レフレルカリメチレンブルー液：3秒滴下^{※1}、1分待機^{※2}、10秒水洗

※1 滴下：染色液を滴下する時間 ※2 待機：染色液を滴下後、待機する時間



自動グラム染色機 PoCGS[®]-iE
研究目的用の機器であり診断にはご利用できません

結果

評価項目	熟練技師 (n=19)	PoCGS (n=19)
染色ムラがない	14 (73.7%)	17 (89.5%)
背景が青色	19 (100%)	14 (73.7%)
アーチファクトなし	18 (94.7%)	2 (10.5%)
抗酸染色性（陽性）	19 (100%)	19 (100%)

PoCGSは熟練者と比較して染色ムラの発生が少なかった。

PoCGSは背景の過染・脱色不良がやや多かった。

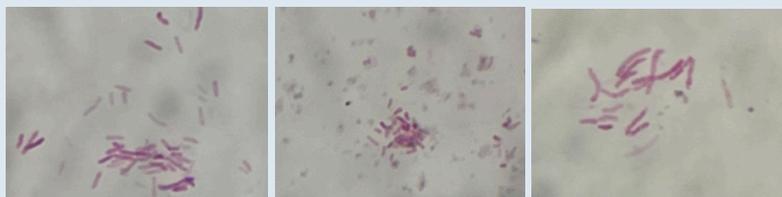
またPoCGSではアーチファクトの発生が多かった。

抗酸菌の染色性（陽性率）においては熟練者と同等であった。

熟練者



PoCGS



M. avium

M. intracellulare

M. kansasii

考察・今後の展望

今回の比較から、PoCGSを用いた高濃度フクシンによる抗酸菌染色は、抗酸菌の染色性（陽性率）においては熟練者と同等の性能を示しました。これは、PoCGSが抗酸菌の基本染色能を十分に担保できることを示す重要な結果であると推察されます。

一方、背景の青色の適正さおよびアーチファクトの少なさの点では、PoCGSは熟練技師に劣っていました。特にアーチファクトは熟練者18点に対しPoCGSは2点と大きな差が見られ、自動化における手技依存性の排除というメリットの一方で、背景染色・脱色工程は現行プロトコルではもう少し改良が必要です。ただしPoCGSは滴下時間・反応時間・水洗時間・乾燥時間が全て1秒単位で調整可能であるため、背景やアーチファクトに関しては改良の余地があると思われます。PoCGSで染色ムラの点数に関しては熟練者より高かったことから、標本面への試薬の浸透・均一塗布はむしろ自動化の方が安定しやすいと推察されました。

今後の展望としては、臨床検体での染色可能性また臨床への導入実現性についても検討していきます。



【お問い合わせ先】カーブジェン株式会社

〒150-0041 東京都渋谷区神南1-5-13 ルート神南6F TEL：03-6431-8148（平日10：00～18：00）