

“Gram stain グラム染色”

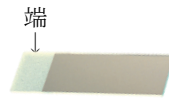
作成：池田恵理子(後期研修医) 監修：佐野正浩(熱研内科) 2016.7.18

●方法

①検体を伸ばしたスライドガラスを自然乾燥させる。

※検体はスライドガラスのオモテ(端がざらざらしている面)に垂らす。

※検体はできるだけ均一に伸ばす！



②ガスバーナーの炎に1~2回スライドガラスをさっとさらす(火炎固定)。

※もしくは①~②をドライヤーの熱風をスライドガラスのウラから当てて乾燥&熱固定してもOK。

③下の表を参考に順番に薬液を乗せ、時間がたったらその都度よく水洗する。

※脱色の時間は標本の厚さによって異なる。青色が程よく抜けるまで行う。

※水洗はスライドガラスのウラ側から流水を当てること！

④乾かす。



バーミー法		フェイバー法	
①クリスタルバイオレット	30秒	①ビクトリアブルー	1分
②ヨウ素・水酸化Na	30秒	②脱色液	30秒
③アセトンエチルアルコール	10秒	③フクシンもしくは	
④フクシン	30秒	サフラン	1分



●原理：細胞壁の染色性によって細菌を分類する。

細胞壁(ペプチドグルカン)が厚いと脱色されず青いまま→**グラム陽性**

細胞壁が薄いと青は脱色され、最後の赤が着色する→**グラム陰性**

●感度・特異度

- ・細菌性髄膜炎：感度 60-90%、特異度 100%
- ・市中肺炎：感度 57-82%、特異度 95-100%
- ・尿路感染：感度 83-94%、特異度 79-99%

●利点・欠点

誰にでもすぐにできる簡便さと迅速さが利点。また、使用するのはスライドガラス1枚と染色液が少量のみと非常に安価。嫌気性菌や肺炎球菌などのように、培養されにくい細菌を確認できる。治療効果判定にも有用。一方、菌数が少ないと検出できず(検出限界 $\geq 10^5/\mu\text{L}$)、結核菌などの抗酸菌、レジオネラ、マイコプラズマ、クラミジア等の細胞内寄生菌は染まりにくい。手技の熟練度が結果に大きく影響することが欠点。

●喀痰の場合の評価方法

・ Miller&Jones 分類

M1	唾液
M2	唾液の中に少量膿性痰
P1	膿性部分<1/3
P2	膿性部分1/3-2/3
P3	膿性部分>2/3

・ Geckler 分類(個/100倍1視野あたり)












	白血球	扁平上皮
1	<10	>25
2	10-25	>25
3	>25	>25
4	>25	10-25
5	>25	<10
6	<25	<25



良い痰が取れないときは…

- ①ネブライザー吸入
 - ・ ビソルボンなど去痰薬
 - ・ 高張食塩水 (10%NaCl 3ml + 注射用水 7ml)
- ②吸引

●臨床上よく遭遇する細菌一覧

	グラム陽性	グラム陰性
球菌	ブドウ状、集塊状  <i>Staphylococcus</i> 属 レンサ状  <i>Enterococcus</i> <i>-faecalis, -faecium</i>  <i>Streptococcus</i> 属  <i>Streptococcus pneumoniae</i>	双球菌  <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Neisseria</i> 属 (淋菌、髄膜炎菌)
桿菌	四角めで太い  <i>Clostridium, Bacillus</i> 分枝状  <i>Nocardia</i> その他  <i>Corynebacterium</i>  <i>Listeria</i>	端までパンパンに膨れている  <i>Escherichia coli</i> (大腸菌) <i>Klebsiella pneumoniae</i> 他の腸内細菌科 それ以外  <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (緑膿菌) <u>☆緑膿菌を見逃さないことがとても重要！</u> <u>疑ったら緑膿菌カバーを！</u>

参考：

レジデントのための感染症診療マニュアル 第3版

感染症 999 の謎

感度と特異度からひもとく 感染症診療の Decision Making