

[原 著]

血管内留置カテーテル培養「改良 Brun-Buisson 法」における
塗抹検査の有用性に関する検討

谷道由美子¹⁾・矢越美智子²⁾・矢内 充³⁾・中山智祥¹⁾⁴⁾

¹⁾ 日本大学医学部附属板橋病院臨床検査部

²⁾ 日本大学医学部附属板橋病院感染予防対策室

³⁾ 日本大学医学部内科学系総合内科総合診療医学分野

⁴⁾ 日本大学医学部病態病理学系臨床検査医学分野

(平成 28 年 11 月 15 日受付, 平成 29 年 6 月 29 日受理)

カテーテル関連血流感染症 (catheter-related bloodstream infections : CRBSI) の早期診断のために, Brun-Buisson 法を改良した細断法による血管内留置カテーテル先端 (血管カテーテル) 検体の塗抹検査を日常臨床検査に導入し, その有用性について検討した。2006 年 6 月から 2011 年 5 月までの 5 年間に, 血液培養と同時期に提出された血管カテーテル培養検体 1,976 検体を対象としグラム染色所見, 培養結果および血液培養結果について比較検討した。血管カテーテル先端培養で菌が検出された 790 検体における塗抹陽性率は 34.2% であった。血液培養結果とあわせて CRBSI と診断された 419 検体の塗抹陽性率は 50.8%, Colonization 例 371 検体の塗抹陽性率は 15.4% となり, CRBSI の場合には塗抹検査で確認される可能性が高いと考えられた。CRBSI 症例における塗抹検査の結果は, 培養同定菌名に合致するものであった。また, 血液培養陽性判明前に塗抹検査結果が報告されていた 109 例のうち, 塗抹検査の推定菌名を参考に, 適正な抗菌薬投与の開始または変更を行った症例は 21 例であった。細断法による塗抹検査は CRBSI 診断の手助けとなり, 迅速検査として有用である。

Key words: カテーテル関連血流感染症, 改良 Brun-Buisson 法 (細断法), 塗抹検査

序 文

血管内留置カテーテル (血管カテーテル) は日常臨床で多用されているが, 重篤なカテーテル関連血流感染症 (catheter-related bloodstream infections : CRBSI) を引き起こす可能性があり, 感染管理が重要である。CRBSI の診断には, 血液培養ならびに抜去された血管カテーテル先端の培養が不可欠である¹⁾。血管カテーテル培養法としては, 半定量的培養法の Maki 法²⁾, 定量培養法の Cleri 法³⁾および Brun-Buisson 法⁴⁾が知られているが, 近年, 細断法を取り入れた改

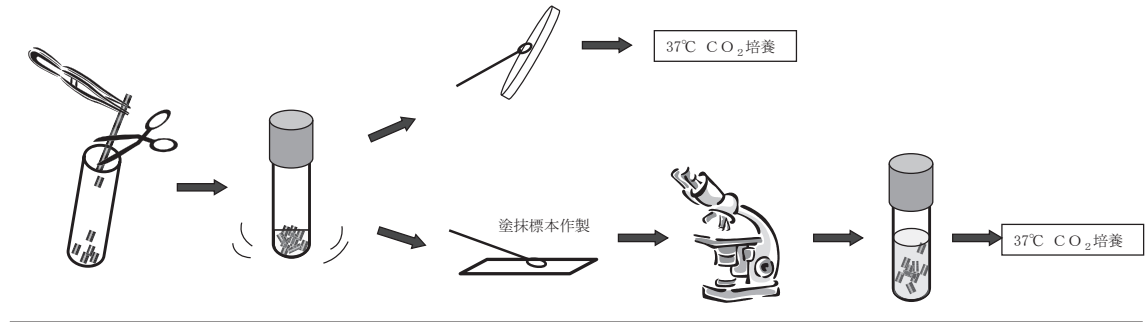
良 Brun-Buisson 法 (細断法) が提唱された⁵⁾⁶⁾。細断法は血管カテーテルを細かく切断することで, カテーテル内腔に付着した菌を効率よく寒天平板培地に分離培養することができ, かつ, 塗抹標本の作製を可能にした方法である。当院では, 塗抹検査を報告するため血管カテーテル培養法を 2006 年から従来実施していた Maki 法から細断法に変更した。今回, 血管カテーテルの塗抹検査の報告状況およびその有用性について調査したので報告する。

対象および方法

1. 対象

2006 年 6 月から 2011 年 5 月までの 5 年間に, 日本大学医学部附属板橋病院の細菌検査室に提出された血管カテーテル培養検体のうち, 血液培養と同時期 (血液培養施行の前後 1 日以内) に検査依頼のあった中心静脈カテーテル (CV カテ) 1,749 検体と血液透析カ

著者連絡先 : (〒173-8610) 東京都板橋区大谷口上町 30-1
日本大学医学部附属板橋病院臨床検査部
谷道由美子
TEL: 03-9-3972-8111 内線 3985
FAX: 03-3972-8137
E-mail: tanimichi.yumiko@nihon-u.ac.jp



- ① カテーテルの細断 (口径15mmの試験管使用) ② ボルデックスミキサーで攪拌, 抽出
③ 標本作製, 平板培養 ④ 鏡検, 追加培養 ⑤ 液体培養

図1. 当院で実施している改良 Brum-Buisson 法 (細断法) の手技

テーテル (透析カテ) 227 検体の計 1,976 検体を対象とした。

2. 血管カテーテルの塗抹, 培養法 (図1)

提出された約 5 cm のカテーテル先端を滅菌済ピンセットで把持し, 滅菌済外科用はさみで約 5 mm の長さに細断し滅菌試験管内に入れた。次に, カテーテル内容物を抽出するため, 切断したカテーテルがようやく浸かる程度の少量の滅菌生理食塩水 (注射用水を用いて自家調製) を加え, ボルデックスミキサーで攪拌した。抽出液をエーゼ (約 5 μ L) で取り, 5% ヒツジ血液寒天平板培地 (日本バクトン・ディッキンソン株式会社) に分離培養し, 次に塗抹標本を直径 2 cm 程度の大きさで作製し塗抹検査を実施した。鏡検で菌体が確認された場合には, 菌名同定に必要な分離培地に追加培養した。追加培養後, 抽出液に自家調製のチオグリコレート培地 (臨床用チオグリコレート培地, 栄研化学株式会社) を 5 ml 加え, 増菌培養も併せて行った。チオグリコレート培地の分注にはディスプレイシリンジを使用し, 1 検体ごとに新しいものを使用した。培養は 37°C の 5% 炭酸ガス培養でヒツジ血液寒天培地は 2 日間, チオグリコレート培地は最長 5 日間培養した。培養 2 日後にチオグリコレート培地で濁りが確認できない場合はチオグリコレート培地からチョコレート寒天培地 (日本バクトン・ディッキンソン株式会社) とブルセラ HK 寒天培地 (極東製薬株式会社) にエーゼを用いサブカルチャーを行った。なお, 抽出作業において, 2006 年 6 月から 2007 年 2 月までの期間はチオグリコレート培地を用いていたが, 2007 年 2 月以降は現行法の滅菌生理食塩水に切り換えた。

3. 細断法で使用するはさみ, ピンセットの管理

外科用はさみ, ピンセットは高压滅菌専用袋に入れ高压蒸気滅菌したものを使用した。使用後は高压蒸気

滅菌→超音波洗浄器で洗浄→乾燥→高压滅菌専用袋に入れ滅菌の作業を行い, 繰り返し使用した。

4. 追加培養と菌種同定

塗抹検査で菌体が確認された場合, 以下のように追加培養を実施した。

ブドウ球菌が推定された場合には卵黄加マンニット食塩 A 寒天培地 (日研生物株式会社) とクロモアガー MRSA スクリーン培地 (関東化学株式会社), 連鎖球菌と推定された場合には EF 寒天培地 (自家調製: 日水製薬株式会社) と VREF 寒天培地 (日水製薬株式会社), グラム陰性桿菌の場合にはポアメディア ドリガルスキー改良培地 (栄研化学株式会社), 酵母様真菌の場合にはクロモアガーカンジダ培地 (関東化学株式会社) を使用した。

菌種同定は全自動細菌検査装置 (2010 年までバイオテック 2 <シスメックス・ビオメリュー株式会社>, 2011 年以降はライサスエニー <日水製薬株式会社>), または同定キット (N-ID テスト・SP-18 「ニッスイ」 <日水製薬株式会社>, API Coryne <シスメックス・ビオメリュー株式会社>), 用手法のいずれかの方法を用いて菌種を決定した。塗抹検査で追加培養を行った検体に関しても, 追加培地と併せ上記同定法を用いて菌種を決定した。

5. CRBSI 群と Colonization 群の定義

Mermel らの定義¹⁾の通り, 血液培養検出菌と同じ菌が検出された場合を「CRBSI 群」, 血液培養検出菌と異なる菌が検出された場合, および血液培養が陰性であった場合を「Colonization 群」とした。また, 複数菌が検出された場合には検出菌の何れかが一致すれば「CRBSI 群」とした。

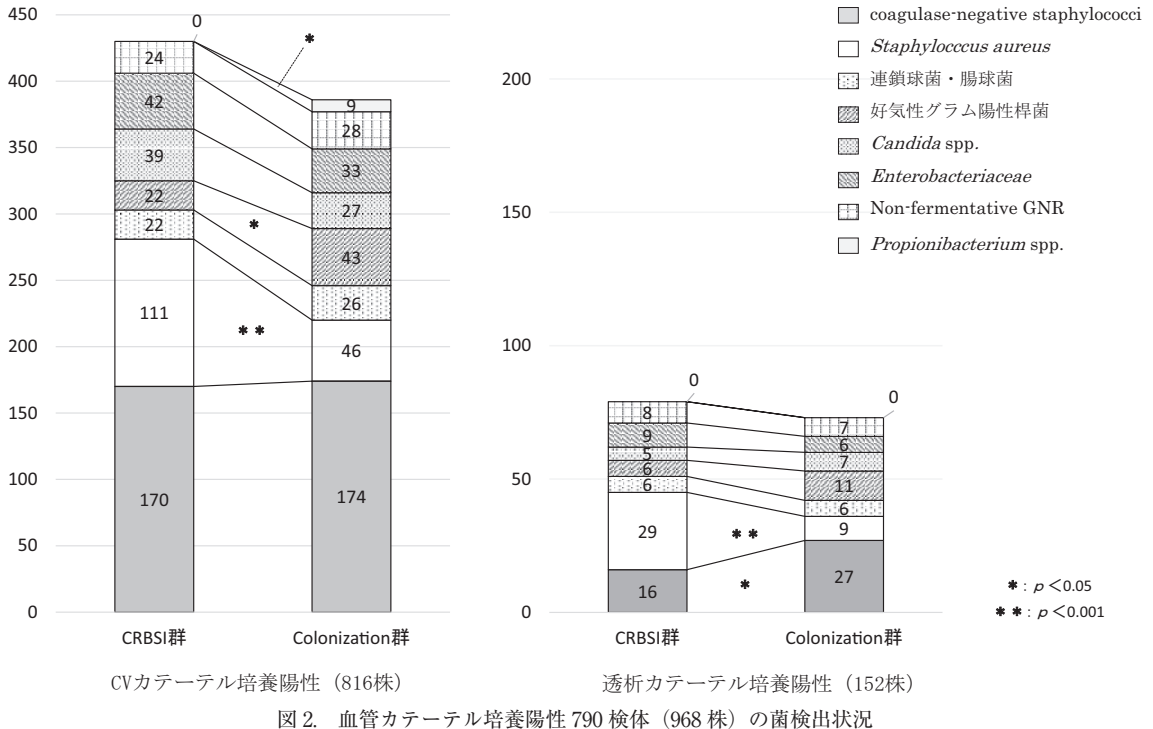


図2. 血管カテーテル培養陽性790検体(968株)の菌検出状況

6. 検討方法

1) CVカテと透析カテの菌検出状況

CVカテおよび透析カテの菌検出状況をCRBSI群とColonization群に分類し調査した。

2) 発育菌量の調査

CVカテおよび透析カテから検出された菌の発育菌量をCRBSI群とColonization群に分類し調査した。発育菌量は5%ヒツジ血液寒天平板培地に発育した菌量を基準に以下①~③に示した定義に基づき集計した。

①1+以上：100 cfu/plate 以上

②少数：10 cfu/plate 以上で100 cfu/plate 未満

③極少数：10 cfu/plate 未満、もしくは5%ヒツジ血液寒天平板培地に発育を認めず、チオグリコレート培地のみに発育

3) 血液培養との比較

血管カテーテル培養結果、血液培養結果を塗抹検査の結果と比較検討した。塗抹検査の結果報告の方法は血液培養陽性時の報告方法と同様に、推定可能な限り具体的に報告をした。

4) 塗抹検査の臨床的有用性の検討

血液培養が陽性になる前に血管カテーテルの塗抹検査

で陽性報告を行った症例について、抗菌薬の開始または変更に関与したかを診療録で確認した。

5) 統計学的解析

統計学的処理はFisher正確確率検定により行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

結 果

1. 血管カテーテル培養陽性検体における菌検出状況と発育菌量

対象1,976検体のうち790検体が培養陽性(CVカテ679検体、透析カテ111検体)、1,186検体が培養陰性(CVカテ1070検体、透析カテ116検体)であり、培養陽性率はCVカテ38.8%、透析カテ48.9%であった。培養陽性検体を、CRBSI群とColonization群に分類し、それぞれの培養検出菌の種類と検出数を図2に示した。CRBSI群とColonization群で分離・同定された菌種に差は認められなかった。しかしCRBSI群では、両者のカテにて*Staphylococcus aureus*の分離数は有意に多かった($p < 0.001$)。Colonization群で有意に多かった菌種は、CVカテでは好気性グラム陽性桿菌と*Propionibacterium* spp.であり、透析カテで

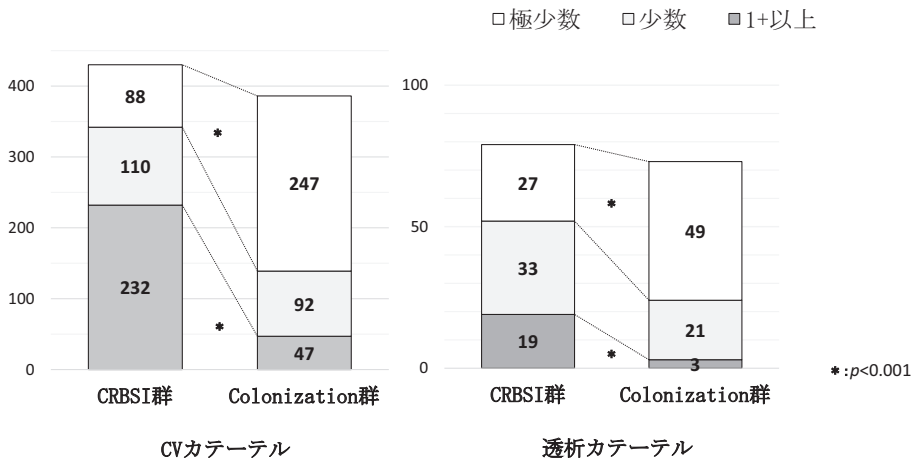


図3. CRBSI群とColonization群の発育菌量

表1. 血管カテーテル培養結果と血液培養結果の組み合わせによる塗抹陽性率

血管カテーテル 培養結果 (検体数)	血液培養結果 (検体数)	血管カテーテル 塗抹結果		塗抹 陽性率 (%)	
		陽性	陰性		
培養陽性 (790)	検出菌一致 (419)	213	206	50.8*	※CRBSI群
	検出菌不一致 (71)	12	59	16.9	
	陰性 (300)	45	255	15.0	※Colonization群
培養陰性 (1186)	陽性 (210)	0	210	0	
	陰性 (976)	7	969	0.7	

* : p<0.001

CRBSI群以外の塗抹陽性数：64件

CRBSI群以外の塗抹陰性数：1493件

・感度 (%) : 213 / (213 + 206) × 100 = 50.8%

・特異度 (%) : 1493 / (1493 + 64) × 100 = 95.9%

は coagulase-negative staphylococci であった (p<0.05)。発育菌量は CV カテ、透析カテともに CRBSI 群の方が有意に多く、Colonization 群では少なかった (p<0.001)。しかし、Colonization 群でも 1+ 以上の菌量が発育する例が 50 例 (CV カテ 47 株、透析カテ 3 株) に認められた。(図 3)

2. 塗抹検査の報告状況

血管カテーテルの培養結果と血液培養結果を状況別に分類し、それぞれの塗抹陽性率を表 1 に示した。血管カテーテル培養陽性の 790 検体において塗抹で菌体を確認できたものは 270 検体 (塗抹陽性率：34.2%) であり、培養陰性検体では 7 件で菌陽性と判定された。血液培養結果と併せた各状況別の塗抹陽性数は CRBSI 群で有意に高値となった (p<0.001)。CRBSI

群の塗抹検査の感度は 50.8%、特異度 95.9% であった。

CRBSI 群 419 検体の塗抹検査結果と培養結果を表 2 に示した。塗抹検査結果と培養結果との間に矛盾は認められなかったが、塗抹検査で菌が認められ、培養結果がブドウ球菌であった 158 検体においては、推定菌をブドウ球菌と報告 (123 検体、77.8%) する場合は、単に GPC と報告 (35 検体、22.2%) する場合はあった (表 2)。

3. 塗抹検査報告の有用性について

CRBSI 群のうち、血液培養が陽性になる前に塗抹検査で菌陽性の報告を行った例は 111 例 (26.5%) であり、そのうち 109 例で診療録の調査が可能であった。それらの抗菌薬使用状況を表 3 に示した。塗抹検

表2. CRBSI 群 419 検体の塗抹検査結果と培養同定結果

推定菌名	件数	同定菌名	検出菌数
ブドウ球菌	123	coagulase-negative staphylococci	71
		<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA, MSSA)	60
GPC	35	coagulase-negative staphylococci	23
		<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA, MSSA)	16
連鎖球菌	4	<i>Enterococcus</i> spp.	4
GPR	11	<i>Corynebacterium</i> spp.	8
		<i>Bacillus</i> spp.	3
酵母様真菌	32	<i>Candida albicans</i>	18
		non-albicans <i>Candida</i>	15
		<i>Malassezia furfur</i>	1
GNR	14	Enterobacteriaceae	9
		Non-fermentative GNR	8
緑膿菌	2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2
腸内細菌科 GNR	2	Enterobacteriaceae	2
菌見えず	206	coagulase-negative staphylococci	94
		<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA, MSSA)	64
		Enterobacteriaceae	40
		<i>Enterococcus</i> spp.	20
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
		<i>Corynebacterium</i> spp.	11
		<i>Candida</i> spp.	8
		<i>Bacillus</i> spp.	6
		Non-fermentative GNR	6
		<i>Streptococcus</i> spp.	6
計 419 検体		計 511 株	

査の推定菌名をもとに、抗菌薬投与が開始された症例が21例認められ、それらの推定菌名は酵母様真菌10例、ブドウ球菌10例、グラム陰性桿菌1例であった(表3)。血管カテーテルの塗抹陽性報告から血液培養が陽性となるまでの時間は16~72時間、平均26.8時間であった。時間経過と検出菌について図4に示した。塗抹陽性報告から2日以上経過して血液培養が陽性となった8症例のうち6例は *Candida* spp. 検出例であった。

考 察

血管カテーテル培養における細断法は、第17回日本臨床微生物学会総会ワークショップ「臨床微生物検査効率化」で新たな培養法として推奨された方法であり、現在、血管カテーテル先端培養の標準的な方法として推奨されている⁵⁾⁶⁾。それまで、我々は Maki 法を用いていたが、塗抹標本の作製ができないことと、カテーテル内腔に付着した菌を直接平板培地に培養でき

ないという点が欠点であった。細断法はこれらの欠点を改良できる方法であると考え、日常臨床検査に導入した。しかしながら、細断法は手技が煩雑であるため操作中の汚染に注意が必要である。特に、塗抹偽陽性が発生しないように①はさみとピンセットは超音波洗浄機で洗浄する、②滅菌生理食塩水とチオグリコレート培地を作製する水は注射用水を用いる、③使用する試験管は中でカテーテルを切断し易いよう管口が広いものを使用し使い捨てにすることにした。

2015年、Guembeらは血管カテーテルの表面を直接スライドガラスに付けグラム染色を行う Maki 法を改良し塗抹検査を行う方法⁷⁾を報告したが、彼らの方法では CRBSI 群の塗抹検査感度は35.7%、特異度93.0%であり、今回の検討の方が良好な感度が得られた。Guembeらの方法でも血管カテーテルの表面に付着した菌の検出は可能であるが、カテーテル内腔の菌の検出は難しい。また、強固なバイオフィーム内に菌が存在している場合も検出は困難である。カテーテル

表 3. 血液培養陽性前の塗抹報告例（109 例）の抗菌薬使用状況（変更状況）

		菌の種類（検出数）
・適正抗菌薬がすでに投与されていた例	…14 例	CNS (8), MRSA (1), MSSA (1) Candida spp. (2) Enterobacteriaceae (2)
・カテーテル抜去後すぐに抗菌薬投与（塗抹検査実施前）	適正 …28 例	CNS (8), MRSA (1), MSSA (5) Candida spp. (4) Enterobacteriaceae (3) P. aeruginosa (2) Non-fermentative GNR (1) Corynebacterium spp. (2) Bacillus spp. (1) Enterococcus spp. (1)
	不適正 …12 例*	CNS (3), MRSA (2) Candida spp. (4) P. aeruginosa (1) Corynebacterium spp. (2)
・塗抹陽性報告後に抗菌薬投与または変更	…21 例	CNS (5), MRSA (4), MSSA (1) Candida spp. (10) P. aeruginosa (1)
・血液培養陽性後に抗菌薬投与または変更	…29 例	CNS (9), MRSA (11), MSSA (1) Candida spp. (2) Enterobacteriaceae (2) Corynebacterium spp. (2) Enterococcus spp. (2)
・抗菌薬使用無し	…5 例	CNS (2), MRSA (1) Candida spp. (1) P. aeruginosa (1)

*血液培養から菌を検出後に抗菌薬変更 9 例，変更なし 3 例

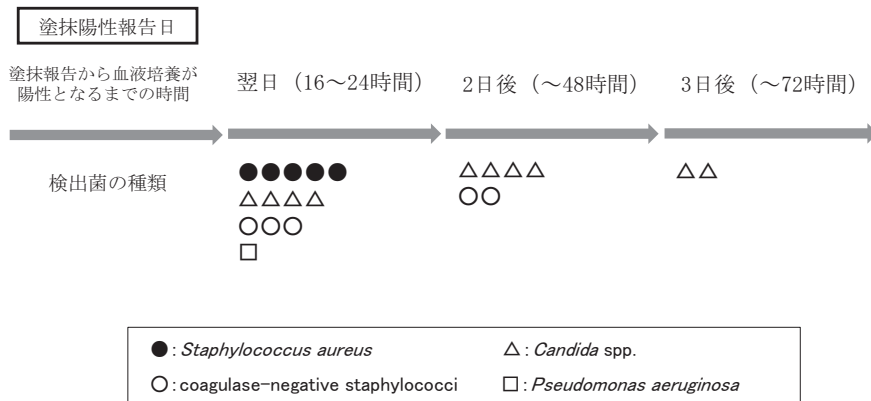


図 4. 塗抹陽性報告から血液培養陽性までの時間経過と検出菌

に付着したバイオフィーム内の菌を検出するためには、ボルデックス操作，超音波処理が有効⁸⁾とされている。細断法で良好な感度が得られた要因は，カテー

テル内腔に存在する菌を検出できたこと，さらにカテーテルの細かい細断とボルデックス操作により，バイオフィーム内の菌が抽出できたことが感度上昇につ

なだったと考えられた。

当細菌検査室に提出される血管内留置カテーテル培養検体は、CVカテーテルと透析カテーテルの2種類が全体の9割以上を占めており、CRBSI診断のための重要な検査材料となっている。今回の検討では、カテーテル先端培養と血液培養が同時に提出されCRBSIが疑われた症例について検討を行なった為、その陽性率はかなり高くなっていると考えられる。CVカテーテルと透析カテーテルでは用途や構造、カテーテルの太さ等が異なるため個々に調査した結果、培養陽性率は透析カテーテルの方が高かった。透析カテーテルはCVカテーテルに比べ細菌の定着率が高く、CRBSIの発生率が高いという報告⁹⁾があり、当院でも同様の結果となった。また、起因菌と考えられるCRBSI群の検出菌をみるとCVカテーテルと透析カテーテルで検出される菌種に違いは認められなかったが、CVカテーテルではcoagulase-negative staphylococciが最も多く検出されているのに対し、透析カテーテルでは *Staphylococcus aureus* が最も多い結果となり、カテーテルの種類によって起因菌の検出頻度に違いがあることが確認された。

発育菌量はCRBSI群で有意に多かったが、Colonization群の中には1+以上と多くの菌が発育する例が50例(10.9%)に認められた。カテーテル挿入部の局所感染で血流感染には至っていない可能性も考えられるが、発熱や血圧低下など血流感染を否定できない場合には血液培養が適切なタイミングで採取されているかどうかを臨床に確認する必要はあると考えられた。

塗抹推定菌については、培養結果との乖離はなく、信頼性の高い結果が得られた。しかしながら、最も多く検出されているブドウ球菌に関しては単にGPCと報告している場合も少なくなく、我々が以前報告した血液培養における一致率100%¹⁰⁾には至っていなかった。その原因として、①菌数が少ない場合にはブドウ球菌の特徴的なクラスター形成の形態が見られない、②技師の熟練度によってはブドウ球菌と判定できずGPCと報告した場合があったためと推測された。血液培養と同様、塗抹でGPCが認められた場合には、ブドウ球菌か連鎖球菌かを判定することは抗菌薬選択の上でも非常に重要であるため、判定に迷った場合には熟練者に確認してもらうなどの対応が必要であると考えられた。また、CRBSI群で検出された *Candida* spp.の塗抹陽性率は76.2% (42例中32例陽性)と高率であり、菌量が少ない場合でもグラム染色性や大きさから菌体の存在を発見しやすいと考えられた。

培養結果で発育菌量は多いが塗抹検査で菌を確認で

きない例は65例に認められた。それらの症例において菌種による有意差は認められなかったことから、抽出が不十分であった可能性が考えられた。カテーテルの細断は通常、約5mmの長さで細断するとされているが、血管カテーテルの太さや形状によってはさらに細かく丁寧に切断し、十分なボルデックス操作を行うことが検出率向上に繋がると考えられた。

塗抹偽陽性例は培養陰性1,186検体中7検体に認められた。7件のうち2例は塗抹検査でブドウ球菌と報告した症例であった。同時期にも血液培養が提出されていたが培養結果は陰性であり、すでに抗菌薬が投与され死菌の可能性が高いと考えられたが、他の5件については原因を特定できなかった。塗抹検査の報告を始めた2006年6月から2007年5月の最初の1年間で2件の偽陽性例が認められており、第19回日本臨床微生物学会総会で報告¹¹⁾した際、チオグリコレート培地に含まれる寒天には自然環境菌が含まれている場合があるため、塗抹検査で検出する可能性があるとの助言を受けたことから、抽出操作を自家調整のチオグリコレート培地から滅菌生理食塩水に変更した。しかし、その後の4年間においても同様の偽陽性例は3件に発生した。これらの原因として、皮膚に表在していた菌がカテーテル付着したものの消毒薬の影響をうけて分裂増殖できないVNC (viable but non-culturable) や死菌の可能性があると考えられた。抽出方法の変更後においても偽陽性例は同様に発生したことから培地内に含まれる自然環境菌の影響を考慮する必要性は乏しく、日本臨床微生物学会が推奨している細断法の培養手順で問題はないものと考えられた。

塗抹検査がCRBSIの早期診断と治療に有用な検査であると確認できた21症例のうち10例は *Candida* spp.検出例であった。 *Candida* spp.によるCRBSIは、特に予後が悪く¹²⁾¹³⁾、抗真菌薬の迅速な投与が必要であるが、血液培養が陽性となるまでには時間がかかり、2日間で約50%の検出率といわれている⁶⁾。当院においても同様に酵母様真菌が塗抹検査で確認されているにもかかわらず、血液培養が陽性になるまでに2日以上かかるケースが複数認められた。今回、 *Candida* spp.が検出された10例のうち7例で塗抹検査の報告後にβ-グルカン検査が依頼され、両者の結果から *Candida* spp.によるCRBSIを強く疑い、抗真菌薬の投与が迅速に開始されていた。また、バイオフィームがカテーテルの外側に形成された場合には、必ずしも血液培養が陽性になるとは限らないという報告¹⁴⁾もあり、血液培養が陰性でもカテーテルから *Candida* spp.が検出された場合には、臨床医に臨床所見を確認する必

要があると考えられた。

塗抹検査で菌が認められた全例が CRBSI 症例ではなく、皮膚の定着菌や汚染菌を拾ってしまう場合があり、Colonization を治療してしまう可能性もある。塗抹検査は早期治療のために重要な検査である反面、注意も必要であると考えられた。

改良 Brun-Buisson 法の有用性をより厳密に評価するためには、既存法と比較検討されることが望ましいが、血管カテーテル培養においては2種類の培養法を同時に実施し検証することは困難であるため本研究では実施していない。また、今回の調査は単一施設での検討であるため、結果の外挿性（一般化可能性）には限界がある。

結 語

改良 Brun-Buisson 法による塗抹検査は血管カテーテル周囲および内腔に付着した菌を検出することができる有用な検査法であり、CRBSI の早期診断と治療に役立つ臨床的意義が高い検査である。

利益相反： 申告すべき利益相反なし。

文 献

- Mermel, LA, M Allon, E Bouza, et al. 2009. Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Intravascular Catheter-Related Infection. *IDSA Guidelines for Intravascular Catheter-Related Infection*, Clin Infect Dis 49: 1-45.
- Maki, DG, CE Weise, HW Sarafin, et al. 1977. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. *N Engl J Med* 296 (23): 1305-1309.
- Cleri, DJ, ML Corrado, SJ Seligman, et al. 1980. Quantitative culture of intravenous catheters and other intravascular inserts. *J Infect Dis* 141 (6): 781-786.
- Brun-Buisson, C, F Abrouk, P Legrand, et al. 1987. Diagnosis of central venous catheter-related sepsis: critical level of quantitative tip cultures. *Arch Intern Med* 147: 873-877.
- 小栗豊子, 三澤成毅, 西山宏幸. 2011. 臨床微生物検査ハンドブック第4版. p. 93-95, 三輪書店, 東京.
2013. 血液培養検査ガイド. *日臨微誌* 23: 22-26, 129-131.
- Guembe, M, MJ Pérez-Granda, ML Rivera, et al. 2015. Performing Gram stain directly on catheter tips: assessment of the quality of the observation process. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 34 (6): 1091-1095.
- Dobbins, BM, P Kite, MH Wilcox. 1999. Diagnosis of central venous catheter related sepsis—a critical look inside. *J Clin Pathol* 52: 165-172.
- 内山正子, 田中京子, 渡邊美登里, 他. 2002. 当院における血管内留置カテーテル関連血流感染サーベイランス—中心静脈カテーテルおよび透析用カテーテルについての検討—. *日本環境感染学会誌* 17 (2): 201-205.
- Uehara, Y, M Yagoshi, Y Tanimichi. 2009. Impact of Reporting Gram Stain Results From Blood Culture Bottles on the Selection of Antimicrobial Agents. *Am J Clin Pathol* 132: 18-25.
- 谷道由美子, 大底睦子, 山田ヒロ子, 他. 2007. 血管カテーテル「細断法」による塗抹検査はカテーテル関連血流感染症の診断に有用. 第19回日本臨床微生物学会総会, 一般演題. *日臨微誌* 17: 84.
- Morrell, M, VJ Fraser, MH Kollef, et al. 2005. Delaying the Empiric Treatment of Candida Bloodstream Infection until Positive Blood Culture Results Are Obtained: a Potential Risk Factor for Hospital Mortality. *Antimicrob Agents Chemother* 49: 3640-3645.
- 今泉貴弘, 田中久美子, 大川浩永, 他. 2012. 当院におけるカンジダ性カテーテル関連血流感染症の背景因子の解析—ICTの合併症対策への取り組み—. *日本環境感染学会誌* 27 (1): 8-12.
- 石原由華, 太田三智男. 2008. 中心静脈カテーテル関連血流感染におけるカテーテルに形成されたバイオフィームに関する検討. *日本環境感染学会誌* 23 (4): 258-265.

Gram staining using a modified Brun-Buisson method is useful for the diagnosis of catheter-related bloodstream infections

Yumiko Tanimichi¹⁾, Michiko Yagoshi²⁾, Mitsuru Yanai³⁾, Tomohiro Nakayama^{1) 4)}

¹⁾Clinical Laboratory, Nihon University Itabashi Hospital

²⁾Department of Infection Prevention, Nihon University Itabashi Hospital

³⁾Division of General Medicine, Department of Internal Medicine, Nihon University School of Medicine

⁴⁾Division of Laboratory Medicine, Department of Pathology of Microbiology, Nihon University School of Medicine

For the purpose of the early diagnosis of catheter-related bloodstream infections (CRBSI), we routinely perform Gram staining of a suspension of indwelling intravascular catheter tip samples. To evaluate the usefulness of this test, we investigated 1,976 specimens submitted to the microbiology laboratory during a 5-year period between June 2006 and May 2011. Among 790 catheter specimens in which microorganisms were detected from the cultures of catheter tips, 34.2% tested positive with Gram staining. Among 419 cases in which the microorganisms isolated from the catheter cultures were the same as those identified from blood cultures, 50.8% of the microorganisms were detected by Gram staining. However, among 371 cases of colonization (positive for cultures of catheter tips and negative for blood cultures), only 15.4% of the microorganisms were detected by Gram staining. These results indicate the high sensitivity of Gram staining of catheter tips for detecting the causative microorganisms of CRBSI. To examine whether the result of smear-positive catheter tips is useful for the diagnosis of CRBSI, we reviewed the medical records of 109 cases in which the results of the Gram staining of catheter tips were reported before the blood cultures became positive. In 21 cases, the physicians started or adjusted antibacterial treatment on the day of the report based on the presumptive findings of Gram staining. In conclusion, Gram staining of a suspension of indwelling intravascular catheter tip is useful for the early diagnosis of CRBSI.