

FCM (フローサイトメトリー法) を用いた尿中有形成成分分析装置による尿中細菌形態情報とグラム染色, 培養同定結果との比較検討

矢島 尚子*¹, 小澤 秀夫*^{2, 3}, 濱野 政弘*¹, 小林 美紀*¹, 森下 恵*¹, 田中 政道*⁴,
小林 秀行*⁵, 沖本 二郎*¹

*1 川崎医科大学 総合医療センター 中央検査部：岡山市北区中山下二丁目 6 番 1 号 (〒700-8505)

*2 川崎医科大学 総合医療センター 泌尿器科

*3 水島中央病院 泌尿器科

*4 シスメックス株式会社 第二エンジニアリング本部

*5 シスメックス株式会社 日本・東アジア地域本部 カスタマーサポート部

FCM (フローサイトメトリー法) を用いた尿中有形成成分分析装置 (以下, FCM 装置) は赤色半導体レーザーを用いたフローサイトメトリーを原理とし, 非遠心尿中の有形成成分を分析する装置で, 細菌計測の専用チャンネル (BACT チャンネル) の採用により細菌数の定量を可能にしている. 今回我々は FCM 装置の細菌スキャットグラムを自動解析し, 細菌形態情報が表示されるプログラムを 2012 年に共同開発し, 2015 年にはグラム染色および細菌培養同定結果を比較検討した.

尿路感染症 (Urinary Tract Infection: UTI) と診断された患者の尿 137 例 (男性 16 例, 女性 121 例) を使用し, 培養法をもとに FCM 装置およびグラム染色法の結果を比較検討した. FCM 装置と培養法の一致率は全数において 78.8% で, グラム陰性菌に対する感度: 87.8%, 特異度: 59.0%, グラム陽性菌に対する感度: 56.4%, 特異度: 91.8% であった. 一方, グラム染色法と培養法の一致率は全数において 73.7% で, グラム陰性菌に対する感度: 83.7%, 特異度: 74.4%, グラム陽性菌に対する感度: 48.7%, 特異度: 92.9% であった. FCM 装置のグラム陰性菌に対する感度は 87.8% と良好な結果であったが, グラム陽性菌に対する感度は低かった. グラム染色に関しても同様な傾向であり, FCM 装置とグラム染色は同等の感度を有すると考えられた. FCM 装置の細菌形態情報から, 受診当日に UTI の起炎菌がグラム陰性菌単独であるか, それ以外かを推測でき, UTI 症例の抗菌薬選択の目安になる可能性が示唆された.

キーワード

尿路感染症 (UTI), FCM (フローサイトメトリー法) を用いた尿中有形成成分分析装置, 起炎菌, グラム染色

はじめに

尿路感染症 (Urinary Tract Infection: UTI) とは腎から腎盂, 尿管, 膀胱, 尿道に起こる感染症の総称で, 病原体の種類に関係なく同様の感染病像を呈する非特異的な尿路系の感染症を示す. 通常, 基礎疾患の有無により単純性と複雑性に分類され, 前者

には単純性膀胱炎と単純性腎盂腎炎があり, 後者には複雑性膀胱炎と複雑性腎盂腎炎がある.

UTI 診断の検査方法として, 尿細菌培養による同定・感受性検査や尿の塗抹のグラム染色, 尿沈渣法などがあり, それぞれにメリットとデメリットがある. 尿細菌培養は菌種の同定および感受性検査がで

き、適切な抗菌薬の投与が可能になる反面、その結果が出るまで数日かかるため、単純性尿路感染症のエンピリックな治療には使用できない。また、グラム染色は迅速な起炎菌推定に最も有効な検査である¹⁾と思われるが、判定に個人差が生じる可能性があり、リアルタイムで染色して鏡検できる施設は限られている。一方、尿沈渣法は、日本臨床検査基準協議会で定められている標本作成法では遠心力不足により尿中細菌が集菌できない²⁾うえ、細菌形態が確認し難い。

我々は非遠心尿を用いて約1分で結果が得られるFCM装置の細菌スキャッタグラムにおけるドットパターンによって細菌種の判別がある程度可能なことを報告してきた³⁾。今回その原理を用いて細菌スキャッタグラムを自動解析し細菌形態情報を表示するプログラムを2012年に共同開発し、2015年にグラム染色および細菌培養同定結果を比較検討したので報告する。

対象および方法

1. 対象検体

2012年5月から2015年1月に当院泌尿器科を受診し、尿路感染症と診断され、インフォームドコンセントが得られた患者の尿検体の中で、FCM装置測定において白血球10個/ μ L以上かつ細菌100個/ μ L以上および、培養法で細菌数が 10^3 CFU/mL以上の尿検体137例(男性16例、女性121例)を対象とした。

なお、本研究は、2012年3月に川崎医科大学および同附属病院の倫理委員会の承認を受けたものである。対象とする個人のデータはデータベースより抽出後、連結不可能匿名化したうえで管理した。なお、本研究は外部の企業、団体、学会などとの利益相反はない。

2. 方法

FCM装置で測定後の尿をよく混和し、1滴スライドグラスに滴下し乾燥させ、火炎固定後グラム染色(neo-B&M Wako)を実施した。グラム染色の鏡検は認定臨床微生物検査技師の指導のもと結果判定した。細菌培養同定は、よく混和した尿を10 μ Lの定量白金耳で採り、5%羊血液寒天培地(極東製薬工

業株式会社:以下、極東)とBTB寒天培地(極東)に塗布し、定量培養を行った。5%羊血液寒天培地は35°C9%炭酸ガス培養の環境で、BTB寒天培地は35°C好気培養でいずれも24~48時間培養した後生えてきたコロニーを同定した。発育菌はマイクロスキャン WalkAway(ベックマン・コールター株式会社)やApiシステム(bioMérieux社)などの生化学的な反応にて同定を行った。

FCM装置で判定の後、菌の形態(球菌、桿菌)に関わらず、グラム染色が一致した場合を一致、異なる場合を不一致とし、培養同定法をもとにFCM装置とグラム染色法について検討を行った。また、グラム陰性菌、グラム陽性菌別の評価、不一致例についても検討した。

3. FCM装置の測定原理および細菌形態情報の判定方法

FCM装置は赤色半導体レーザーを採用したフローサイトメトリー法を測定原理として、約1分で赤血球や白血球、円柱、上皮細胞、細菌の定量を行うことができる。特に細菌の測定にはポリメチン系の蛍光染色で細菌の核酸を特異的に染色し、細菌用独立チャンネル(BACTチャンネル)で細菌定量するとともに、その細菌スキャッタグラムを画像表示できる。このスキャッタグラムのドット分布とX軸のなす角度により菌種推測がある程度可能であることはOzawa³⁾、Muratani⁴⁾などが報告してきた。Y軸は粒子や細菌集塊などの大きさを反映し、X軸は粒子や集塊の細胞核染色度を反映している。集塊を形成するブドウ球菌では、大きさも染色度も強くなるため高い角度に分布すると考えられる。逆に、単体で存在する桿菌は前方散乱光が弱くなるため、低い角度に分布する(図1)。細菌形態情報は細菌スキャッタグラムにおいて原点からの角度 θ におけるドット分布を粒度分布化して、それから最も多くのドットが集中する角度(ピーク角度)と、低角度の領域に存在する粒子の割合、という2つのパラメータによって細菌形態を判定する(図2)。分布の範囲だけではなくどこに集中しているかという2つの指標をもつことで精度良く判定できると考えた。大腸菌などの桿菌単独で出現する場合は、ピーク角度

が小さく、低角度領域に存在する割合が大きいため「桿菌のみを疑う」“Rods?”に判定される。ブドウ球菌などの球菌が出現する場合には、ピーク角度が大

きく、低角度領域に存在する割合が小さいので「球菌のみ、もしくは球菌と桿菌の混合を疑う」を表す“Cocci/Mixed?”に判定される。

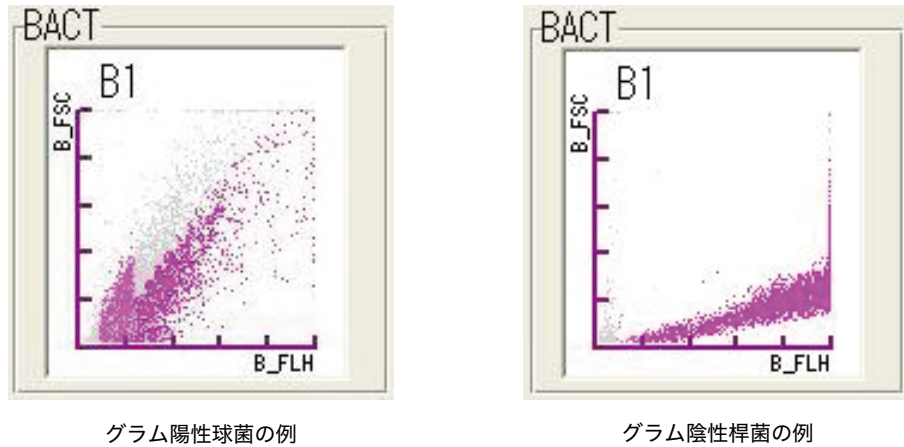


図1. FCM装置でのBACTスカッタグラム

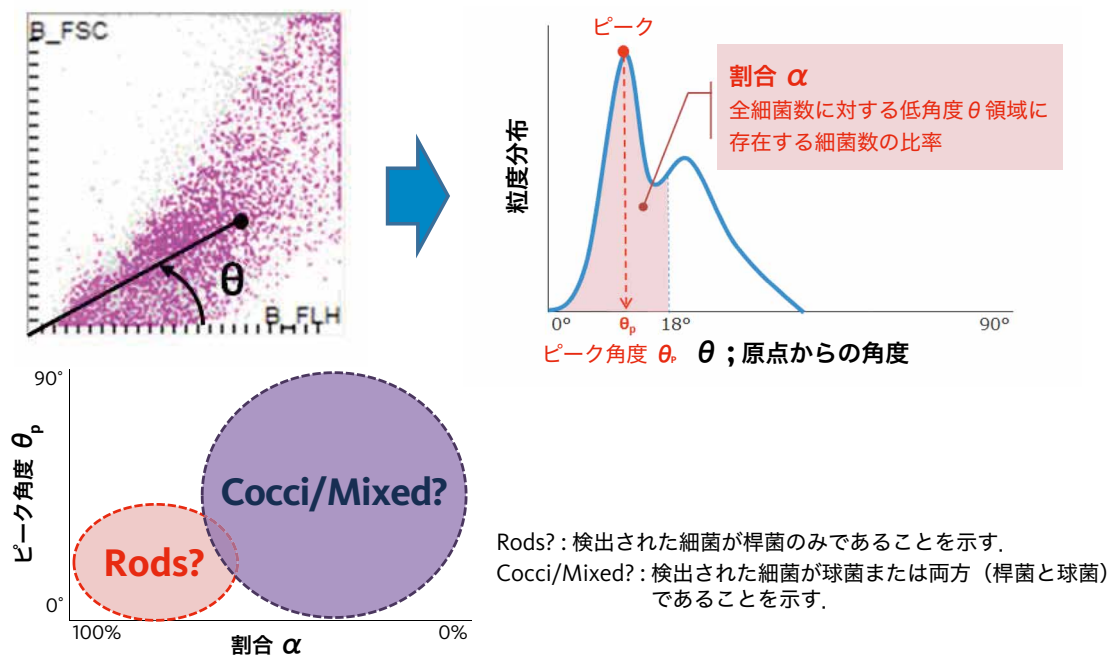


図2. 評価方法

結果

症例の年齢分布は6～99歳で、平均65.4±18.9歳であった。全症例のうち、60歳以上の女性が66.4%を占めていた。

尿培養で同定された細菌菌種を表1に示す。グラム陰性菌が全体の78.2% (115例)、グラム陽性菌が21.1% (31例)、真菌が0.7% (1例)であった。中でも *Escherichia coli* (以下、*E. coli*) が最も多く、全体の55%、グラム陰性菌全体の70%を占めていた。このうちグラム陰性菌のみ1菌種検出されているものが98例 (66.7%)、グラム陽性菌のみが23例

(15.6%)、両方の菌種が検出されているものが16例 (10.9%) となった。

1. 尿培養結果とFCM装置、培養結果とグラム染色との比較

表2に尿培養結果とFCM装置との比較を示す。全体の一致率は78.8% (108/137)、FCM装置で“Rods?”と判定された検体の感度は87.8%、特異度は59.0%となった。また、“Cocci/Mixed?”と判定された検体の感度は56.4%、特異度は91.8%となった。

表1. 尿培養で検出された菌種

検出された菌種	数	%
<i>E. coli</i>	81	55.1
<i>Klebsiella</i>	15	10.2
<i>Citrobacter</i>	7	4.8
<i>Proteus</i>	4	2.7
その他 <i>Enterobacteriaceae</i>	6	4.1
<i>Pseudomonas</i>	2	1.4
<i>Streptococcus</i>	14	9.5
<i>Staphylococcus</i>	8	5.4
<i>Enterococcus</i>	8	5.4
<i>Aerococcus</i>	1	0.7
<i>Candida</i>	1	0.7
合計	147	100.0

補足：グラム陰性菌を桃色セル、グラム陽性菌を青色セルで示す。

表2. 尿培養とFCM装置の一致率

		尿培養			合計
		桿菌	球菌	両方 (桿菌と球菌)	
FCM装置	Rods?	86	7	9	102
	Cocci/Mixed?	8	15	7	30
	フラグ表示なし	4	1	0	5
	合計	98	23	16	137

補足：一致した検体を青色セルで示す。

1) 尿培養とFCM装置の一致率

全体の一致率 78.8% (108/137)

2) 感度と特異度

	感度 [%]		特異度 [%]	
Rods?	87.8%	(86/98)	59.0%	(23/39)
Cocci/Mixed?	56.4%	(22/39)	91.8%	(90/98)

表3に尿培養結果とグラム染色との比較を示す。全体の一致率は73.7% (101/137), グラム染色のグラム陰性菌 (GN) に対する感度は83.7%, 特異度は74.4%になった。グラム染色でグラム陽性菌 (GP), もしくはグラム陽性菌を含む (GP or Mix) と判定された検体の感度は48.7%, 特異度は92.9%となった。

2. グラム陰性菌およびグラム陽性菌の方法別比較

表4に尿培養検査でグラム陰性菌 (GN) のみが検出された98検体の他法での結果を示す。グラム染色でグラム陰性菌と判定された検体は82検体 (83.7%), FCM装置で“Rods?”と判定された検体

は86検体 (87.8%), グラム染色, FCM装置の二法と結果が一致した検体は75検体 (76.5%)であった。FCM装置では8検体, グラム染色では7検体をグラム陽性菌が含まれると判定した。

次に, 表5に尿培養検査でグラム陽性菌が検出された39検体の他法での結果を示す。グラム染色でグラム陽性菌 (GP) かグラム陽性菌を含む (GP or Mix) は19検体 (48.7%), FCM装置で“Cocci/Mixed?”になったものが22検体 (56.4%), 二法とも結果が一致した検体は15検体 (38.5%)であった。FCM装置では16検体, グラム染色では10検体をグラム陰性菌のみと判定した。

表3. 尿培養結果とグラム染色との比較

		尿培養			合計
		桿菌	球菌	両方 (桿菌と球菌)	
グラム染色	GN	82	1	9	92
	GP or Mix	7	12	7	26
	None	9	10	0	19
合計		98	23	16	137

補足：一致した検体を青色セルで示す。

1) 尿培養とグラム染色の一致率

全体の一致率 73.7% (101/137)

2) 感度と特異度

	感度 [%]		特異度 [%]	
GN	83.7%	(82/98)	74.4%	(29/39)
GP or Mix	48.7%	(19/39)	92.9%	(91/98)

表4. 尿培養でグラム陰性桿菌のみが検出された98検体の他法の結果

		グラム染色			合計
		GN	GP or Mix	none	
FCM装置	Rods?	75	6	5	86
	Cocci/Mixed?	6	1	1	8
	フラグなし表示	1	0	3	4
合計		82	7	9	98

補足：一致した検体を青色セルで示す。

表5. 尿培養でグラム陽性球菌を含む39検体の他法の結果

		グラム染色			合計
		GN	GP or Mix	none	
FCM装置	Rods?	8	4	4	16
	Cocci/Mixed?	2	15	5	22
	フラグなし表示	0	0	1	1
合計		10	19	10	39

補足：グラム陽性菌を含む (GP or Mix) を桃色セル, “Cocci/Mixed?” の検体を青色セルで示す。

3. 不一致検体の内訳

表6に尿培養結果とFCM装置の結果が不一致であった29検体の結果を示す。培養でグラム陰性桿菌のみが検出されていたがFCM装置では“Cocci/Mixed?”になった検体が8検体(No.1~8)および判定不能の検体が4検体(No.9~12)であった。この12検体中8検体(66.7%)が 10^5 以下の菌量で、グラム染色でも検出できていない検体が4検体あった(No.8~11)。培養がグラム陽性菌を含む結果で

あったが、FCM装置が“Rods?”および判定不能と判定された検体が17検体(No.13~29)であった。この17検体中、培養でグラム陽性球菌単独の検体が8検体(No.13~20)、グラム陰性桿菌との混合が9検体であった(No.21~29)。グラム陰性桿菌とグラム陽性球菌との混合検体のうちほとんどがグラム陰性桿菌の濃度が高い検体で、グラム染色でも陰性桿菌しか検出できていない検体が多かった(No.21~27)。

表6. 尿培養とFCM装置の結果が不一致であった内訳

No.	尿培養結果	(CFU/mL)	FCM装置	グラム染色
1	<i>E. coli</i>	10^4	Cocci/mixed?	GNR
2	<i>E. coli</i> (ESBL)	10^4	Cocci/mixed?	GNR
3	<i>E. coli</i> (ESBL)	10^5	Cocci/mixed?	GNR
4	<i>E. coli</i>	10^5	Cocci/mixed?	GNR
5	<i>E. coli</i>	10^6	Cocci/mixed?	GNR
6	<i>S. marcescens</i>	10^6	Cocci/mixed?	GNR
7	<i>K. oxytoca</i>	10^6	Cocci/mixed?	Mix*
8	<i>K. pneumoniae</i>	10^3	Cocci/mixed?	陰性
9	<i>E. coli</i>	10^3	判定不能	陰性
10	<i>S. marcescens</i>	10^6	判定不能	陰性
11	<i>P. aeruginosa</i>	10^3	判定不能	陰性
12	<i>E. coli</i>	10^4	判定不能	GNR
13	<i>Streptococcus</i> sp.	10^6	Rods?	GNR
14	<i>S. aureus</i> (MSSA)	10^7	Rods?	GPC
15	<i>Enterococcus</i> sp.	10^4	Rods?	GPC
16	B群β- <i>Streptococcus</i>	10^3	Rods?	陰性
17	<i>S. aureus</i> (MSSA)	10^3	Rods?	陰性
18	コアグラウゼ(-) <i>Staphylococcus</i> (MRS)	10^3	Rods?	陰性
19	コアグラウゼ(-) <i>Staphylococcus</i> (MRS)	10^3	Rods?	陰性
20	<i>E. faecalis</i>	10^3	判定不能	陰性
21	<i>E. coli</i>	10^5	Rods?	GNR
	<i>E. faecalis</i>	10^4		
22	<i>K. pneumoniae</i> (ESBL)	10^6	Rods?	GNR
	<i>S. sanguis</i>	10^5		
23	<i>E. coli</i>	10^5	Rods?	GNR
	コアグラウゼ(-) <i>Staphylococcus</i> (MRS)	10^3		
24	<i>E. coli</i>	10^6	Rods?	GNR
	コアグラウゼ(-) <i>Staphylococcus</i>	10^5		
	<i>Streptococcus</i> sp.	10^4		
25	<i>E. coli</i>	10^6	Rods?	GNR
	コアグラウゼ(-) <i>Staphylococcus</i>	10^4		
26	<i>E. coli</i>	10^6	Rods?	GNR
	<i>S. bovis</i>	10^4		
27	<i>E. coli</i>	10^5	Rods?	GNR
	B群β- <i>Streptococcus</i>	10^3		
28	<i>E. coli</i>	10^6	Rods?	Mix*
	<i>S. bovis</i>	10^5		
29	<i>E. coli</i>	10^6	Rods?	Mix*
	<i>S. anginosus</i>	10^5		

補足：グラム陰性菌を桃色セル，グラム陽性菌を青色セルで示す。

* グラム染色 Mix = GNR+GPC

Gram Negative Rods: GNR (グラム陰性桿菌)

Gram Positive Cocci: GPC (グラム陽性球菌)

考 察

今回検討の対象患者は女性が88.3%を占め、培養でグラム陰性菌が71.5% (98/137) 検出されていることより、対象の多くが単純性膀胱炎患者であったと推測された。

これは、単純性尿路感染症は基礎疾患を有さない若年女性から閉経期前後の中老年女性に好発する⁵⁾という報告と一致する。また、単純性と複雑性では起炎菌の種類だけでなく、治療に対する反応性や抗菌薬に対する耐性度にも違いがあるため、抗菌薬選択においては分けて考える必要がある⁶⁾。UTI診断において、短時間で尿中白血球数と同時に細菌数、細菌形態情報が確認可能であれば、培養結果を待つことなくエンピリックセラピーが容易になると思われる。今回我々は、当院泌尿器科を受診しUTIと診断された患者尿を用いて、FCM装置とグラム染色および培養同定結果との比較を行った。

培養法を標準法としての検証では、グラム陰性菌のみの検体を対象とすると、FCM装置の感度は87.8%、グラム染色の感度は83.7%であった。一方グラム陽性菌を含む検体を対象とすると、FCM装置の感度は56.4%、グラム染色の感度は48.7%となり、二法ともにグラム陰性菌に対する感度が優れていた。特異度に関しては、グラム陰性菌のみの検出検体ではFCM装置で59.0%、グラム染色で74.4%であった。一方グラム陽性菌を含む検体ではFCM装置で91.8%、グラム染色で92.9%となり、グラム陽性菌を含む検体の方が優れている結果となった。FCM装置で“Cocci/Mixed?”と判定された場合は複雑性尿路感染症の可能性が疑われ、培養結果を待たずに原因検索に早急に取り掛かれる可能性が示唆された。FCM装置の細菌数定量性は既存の報告⁷⁾によって高精度な細菌定量測定が可能なことは証明されているが、細菌形態情報に関してはスキュアットグラムのプロットの傾きを目視判定した検討報告しかなかった。Ozawa³⁾やMuratani⁴⁾らの報告の細菌スキュアットグラムにおけるドットパターンによる菌種推測は、原点からの傾きが30度の角度より上か下かにより桿菌か球菌かを目視で判定しているため、表示された二次元の分布しか確認できないうえ、個人差が生じる可能性があった。しかし、

今回開発したFCM装置のプログラム判定では、人の目に頼らず、粒度分布から最も多くの細菌が集中する角度(ピーク角度)と、角度の低い領域に存在する粒子の割合という2つのパラメータを使っているため、目視判定より精度良く判定できていると考えられた。グラム染色結果にFCM装置の結果を合わせると、培養法においてグラム陰性菌のみが検出された検体の94.9% (93/98)、グラム陽性菌を含む検体の66.7% (26/39)が検出可能になり、グラム染色法単独での検出率(グラム陰性菌:83.7%、グラム陽性菌:48.7%)に比べて高くなり、2法の結果を合わせることによって、より感度が上がると思われた。

培養法とグラム染色、培養法とFCM装置の不一致検体の検討では、菌量が少ない $10^3 \sim 10^5$ CFU/mLの場合に不一致になりやすい傾向があった。しかし、一部、菌量が 10^6 CFU/mL(表6)の検体にも不一致例が見受けられた。抗菌薬の影響で、菌がフィラメント化してスキュアットグラムに影響を与える報告⁷⁾もあり、今後は抗菌薬の投与の情報を含めて検討する必要があると考えられた。しかし、グラム染色で判定不能な検体でもFCM装置では検出可能である場合(表4,5)があり、低い菌量の検体に関してはFCM装置の方が特異的に検出可能であると思われた。尿路感染症の診断基準における尿中細菌濃度は $10^3 \sim 10^4$ CFU/mLの低濃度が必要な場合もあり⁸⁾、その点においてはFCM装置とグラム染色をうまく組み合わせることによって、両者の弱点をカバーできる可能性が示唆された。

UTI診断において、尿沈渣の測定結果と同時に細菌数、細菌形態情報が確認可能であれば、培養結果を待つことなくエンピリックセラピーが容易になると思われる。UTI患者診療時において、例えば単純性膀胱炎の場合、その起炎菌の結果が桿菌と推測された場合にはそれに適正な抗菌薬⁹⁾を投与でき短期間で治療可能になる。また、複数菌(桿菌と球菌など)と推測された場合には複雑性尿路感染症が疑われるので、重症な場合を除きエンピリックな抗生剤投与はせずに、尿培養やグラム染色の報告を待つて尿路疾患の原因検索を行える。このことは抗菌薬の適正使用にも繋がり、耐性菌を増やさないためにも

役立つと考えられる。FCM装置で細菌数定量を行い、細菌培養同定する検体を選択することによって、微生物検査室の労力負担の軽減や経費削減ができるとする報告¹⁰⁾もある。現時点では研究用途としてしか使えないが、将来的に臨床実用化された場合には、これらのことが期待できると考える。

結 語

FCM装置での尿中細菌の形態判定結果は、尿中有形成分（尿沈渣）の結果と同時に、起炎菌がグラム陰性菌か、それともグラム陽性菌かの推測を可能にした。この即時性により、外来患者の診療時間内にその結果を利用することが期待される。

今回は約5年前に収集した臨床データを論文化した。臨床機器の進歩は目覚ましく、新たなFCM装置も販売されており、現状ではその分解能力はさらに向上していると考えられる。

なお、本文中のFCM装置による細菌形態情報は研究用であり、診断に用いることはできない。

参考文献

- 1) 川上小夜子, 斧 康雄, 宮澤幸久. 尿路感染症における迅速診断と精密同定診断. 臨床検査 2007; **51**(2): 143-149.
- 2) 小林とも子, 村谷哲郎, 高橋 綾. 尿路感染症診断に用いる尿沈渣作成時の遠心力の違いが血球および細菌に与える影響. Sysmex J. 2011; **34**: 37-40.
- 3) Hideo OZAWA, Naoko YAJIMA, Hideyuki KOBAYASHI. Estimation of the Causative Bacterial Group from Bacterial Scattergrams of the Fully Automated Urine Particle Analyzer UF-1000i. Sysmex J Int'l. 2011; **34** (Suppl. 1) 19-26.
- 4) Tetsuro MURATANI, Tomoko KOBAYASHI, Yuki MINAMOTO et al. The Possibility of the Bacterial Class Estimate Using Urine from Patients with the Urinary Tract Infection by the Fully Automated Urine Particle Analyzer UF-1000i. Sysmex J. Int'l. 2010; **33**: 87-96.
- 5) 上原慎也, 公文裕己. カテーテル感染防止 尿路カテーテル. 臨床と研究. 2011; **88**(5): 569-573.
- 6) 村谷哲郎. 尿路感染症における薬剤耐性菌の現状と耐性メカニズム. Urology View 2005; **3**(1): 28-34.
- 7) Hiroshi OKADA, Shigeo HORIE, Junya INOUE, et al. The Basic Performance of Bacteria Counting for Diagnosis of Urinary Tract Infection Using the Fully Automated Urine Particle Analyzer UF-1000i. Sysmex J. Int'l. 2007; **17**(2): 95-101.
- 8) 日本化学療法学会 UTI 薬物評価基準見直しのための委員会. 尿路性器感染症に関する臨床試験実施のためのガイドライン—第1版—. 日本化学療法学会雑誌. 2009; **57**(6): 511-525.
- 9) JAID/JSC 感染症治療ガイド 2014. JAID/JSC 感染症治療ガイド・ガイドライン作成委員会編.
- 10) 安間恵子 他. 全自動尿中有形成分分析装置 UF-1000i を用いた尿培養検体のスクリーニングの有用性 臨床病理. 2012; **60**(11): 1070-1074.

Comparison of Morphological Information about Bacteria Obtained Using a Flow Cytometry Based Urinary Formed Element Analyzer and Gram Staining with the Results of Culture and Identification

Naoko YAJIMA^{*1}, Hideo OZAWA^{*2,3}, Masahiro HAMANO^{*1}, Miki KOBAYASHI^{*1},
Megumi MORISHITA^{*1}, Masamichi TANAKA^{*4}, Hideyuki KOBAYASHI^{*5} and Niro OKIMOTO^{*1}

^{*1} Clinical laboratory, Kawasaki Medical School General Medical Center, 2-6-1, Nakasange, Kita-ku, Okayama, Japan

^{*2} Department of Urology, Kawasaki Medical School General Medical Center

^{*3} Department of Urology, Mizushima Central Hospital

^{*4} UB Product Engineering Division, Sysmex Corporation

^{*5} Customer Support, JEA Region, Sysmex Corporation

The urinary formed element analyzer based on flow cytometry (hereinafter referred to as FCM analyzer) uses a red semiconductor laser to analyze the formed elements in uncentrifuged urine. It can quantify the number of bacteria by using its dedicated channel for counting bacteria (the BACT channel). In 2012, we jointly developed a program that automatically analyzed bacterial scattergrams generated by the FCM analyzer and displayed morphological information about the bacteria. In 2015, we compared such morphological information with the results of Gram staining and identification of cultured bacteria.

Urine specimens of 137 patients (16 males and 121 females) diagnosed with urinary tract infection (UTI) were analyzed with an FCM analyzer and by Gram staining and the results were compared by verifying the results with the culture and identification method. The overall agreement between the results of FCM analysis and the culture method was 78.8%. The sensitivity and specificity of the FCM analysis for Gram-negative bacteria were 87.8% and 59.0% respectively. The corresponding values of Gram-positive bacteria were 56.4% and 91.8%. The overall agreement of results between the Gram staining and culture method was 73.7%. The sensitivity and specificity for Gram-negative bacteria were 83.7% and 74.4% and those for Gram-positive bacteria were 48.7% and 92.9% respectively. The sensitivity of the FCM analysis for Gram-negative bacteria was good at 87.8% but it showed a low sensitivity for Gram-positive bacteria. A similar trend was seen in Gram staining as well. It appeared that both the FCM analysis and Gram staining had similar levels of sensitivity. It was possible to estimate on the day of examination itself whether the causal agent of the UTI is a Gram-negative bacterium alone or something else, from the morphological information about the bacteria obtained using the FCM analyzer. This suggests the possibility of such assessments indicating suitable antimicrobial agents for UTI cases.

Key Words

Urinary Tract Infection, FCM (Flow Cytometry), Causal Microorganism, Gram Staining
