

日本臨床微生物学会
微生物検査標準化検討委員会

患者検体のGram染色による 塗抹顕微鏡検査に関する基礎調査 結果報告

アンケート調査期間：2023年12月14日～1月10日

有効回答：460件

報告：第35回日本臨床微生物学会総会・学術集会 2024年2月10日（土）

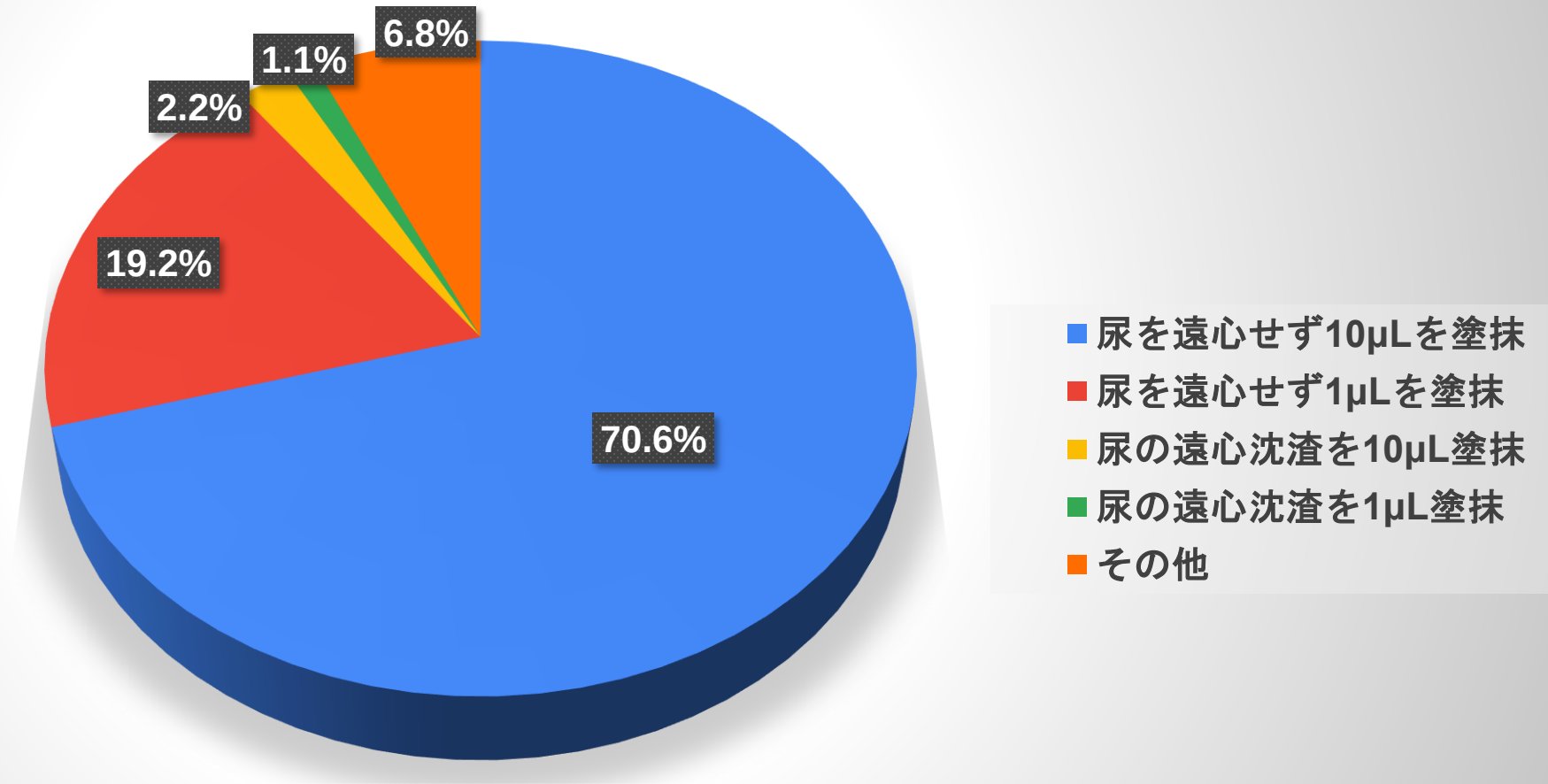
【はじめに】

- ・ 日本臨床微生物学会は2023年度より微生物検査標準化検討委員会を設置
- ・ 国内の微生物学的検査は検査手順や結果報告が統一されていない現状があるため、日本臨床微生物学会は2023年度より微生物検査標準化検討委員会を設置し、微生物学的検査の標準化、統一化を目標として活動開始
- ・ 今回は尿と喀痰を中心としたGram染色による塗抹顕微鏡検査およびその精度管理に関するアンケート調査を実施し、この調査を元に塗抹顕微鏡検査の現状を把握し、検査手順および結果報告の標準化、統一化のための基礎データとして活用を目指す

【対象】

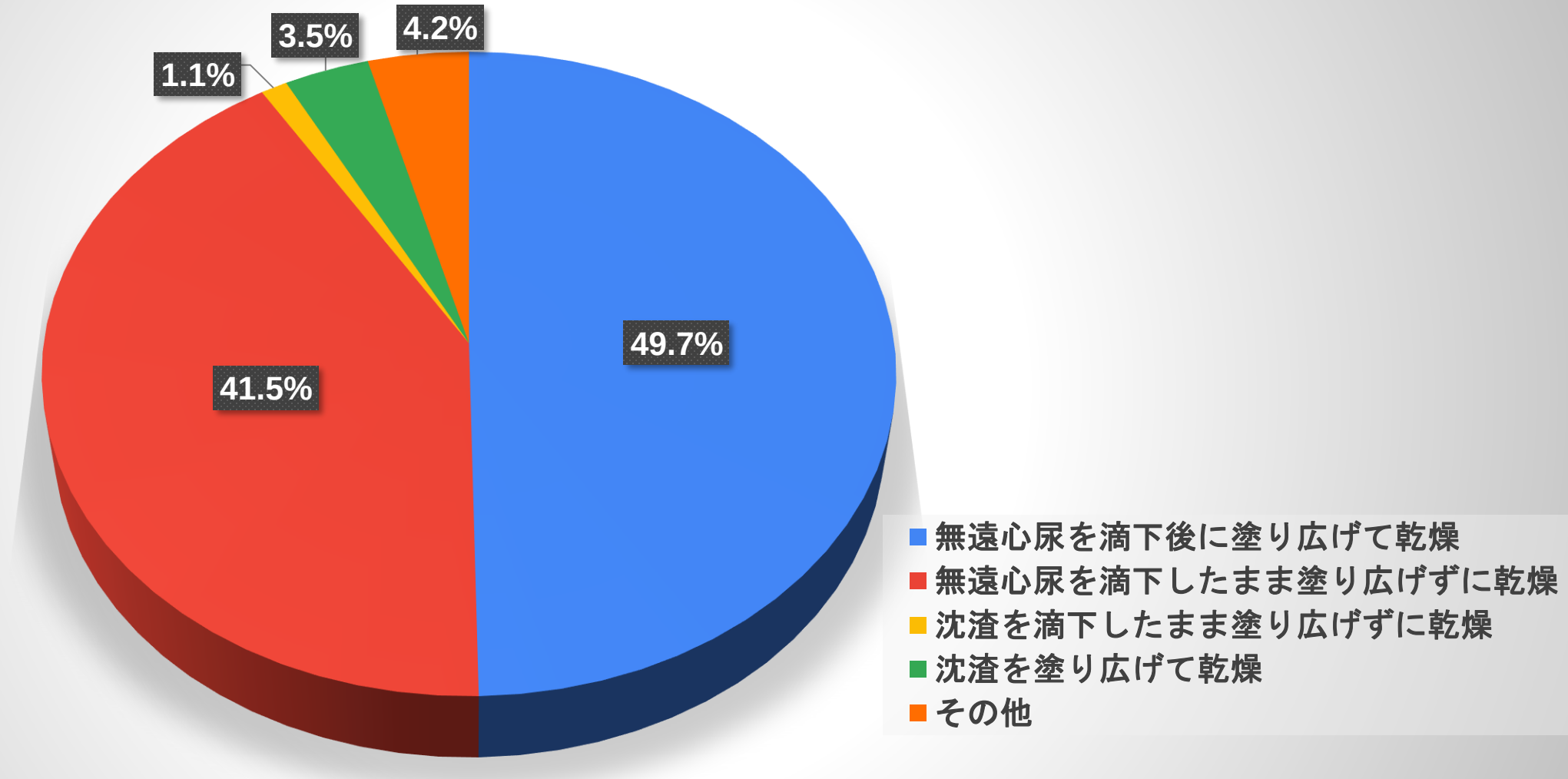
- 対象：日本臨床微生物学会会員
- 方法：日本臨床微生物学会HPでの掲示、および会員メールアドレスへの配布
- 回答条件：1施設につき1名の回答
- 回答期間：2023年12月14日～1月10日
- 有効回答：460件
- 回答があったものの、自施設でGram染色を実施していないとの回答は除外とした

問1：尿の一般細菌を対象としたGram染色標本は
どのように作製していますか。



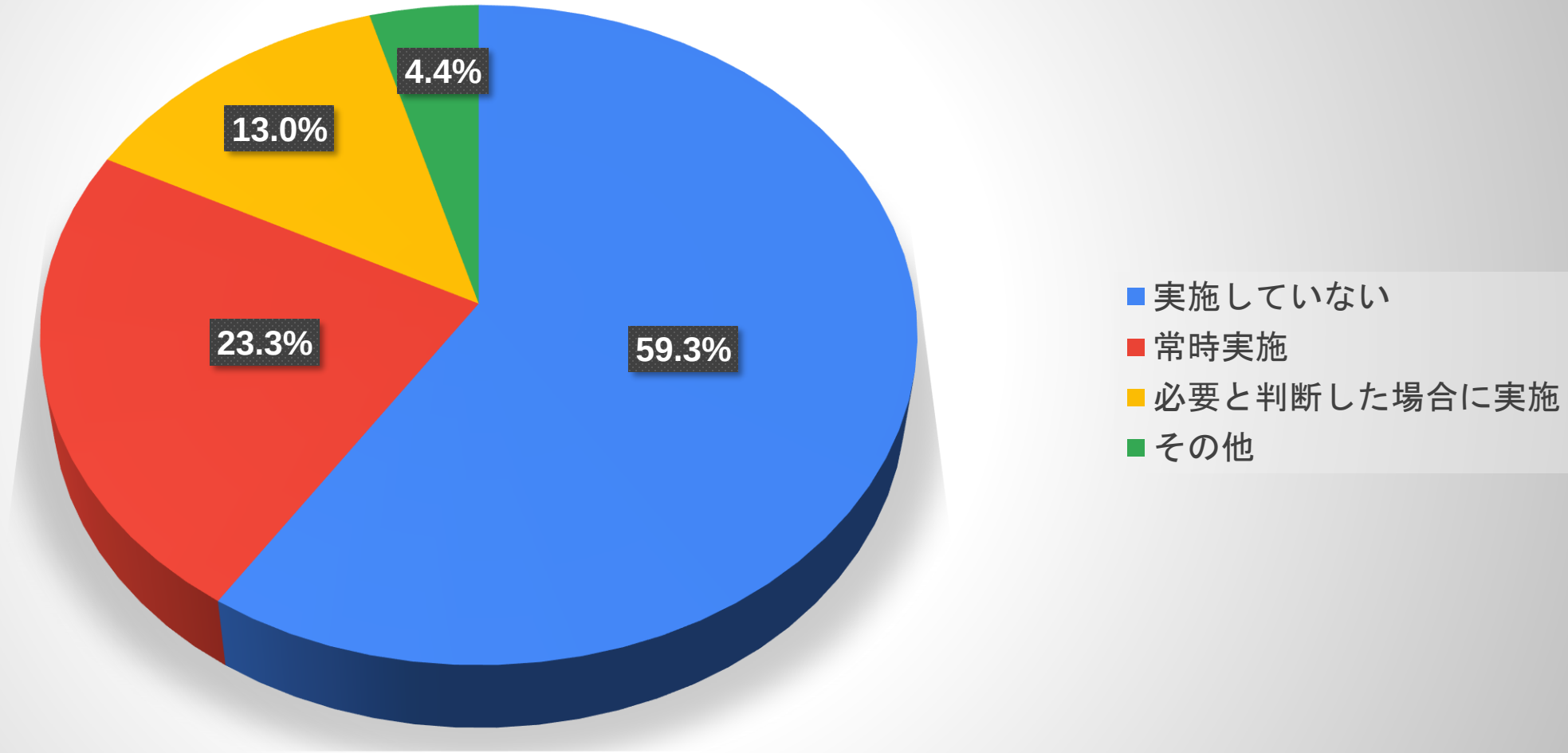
その他：遠心せず1～5μLを塗抹、
尿を遠心せずスポイトで適量塗抹など
遠心沈渣を使用する施設：3.5%

問2 尿をスライドガラスへどのように塗り広げていますか。



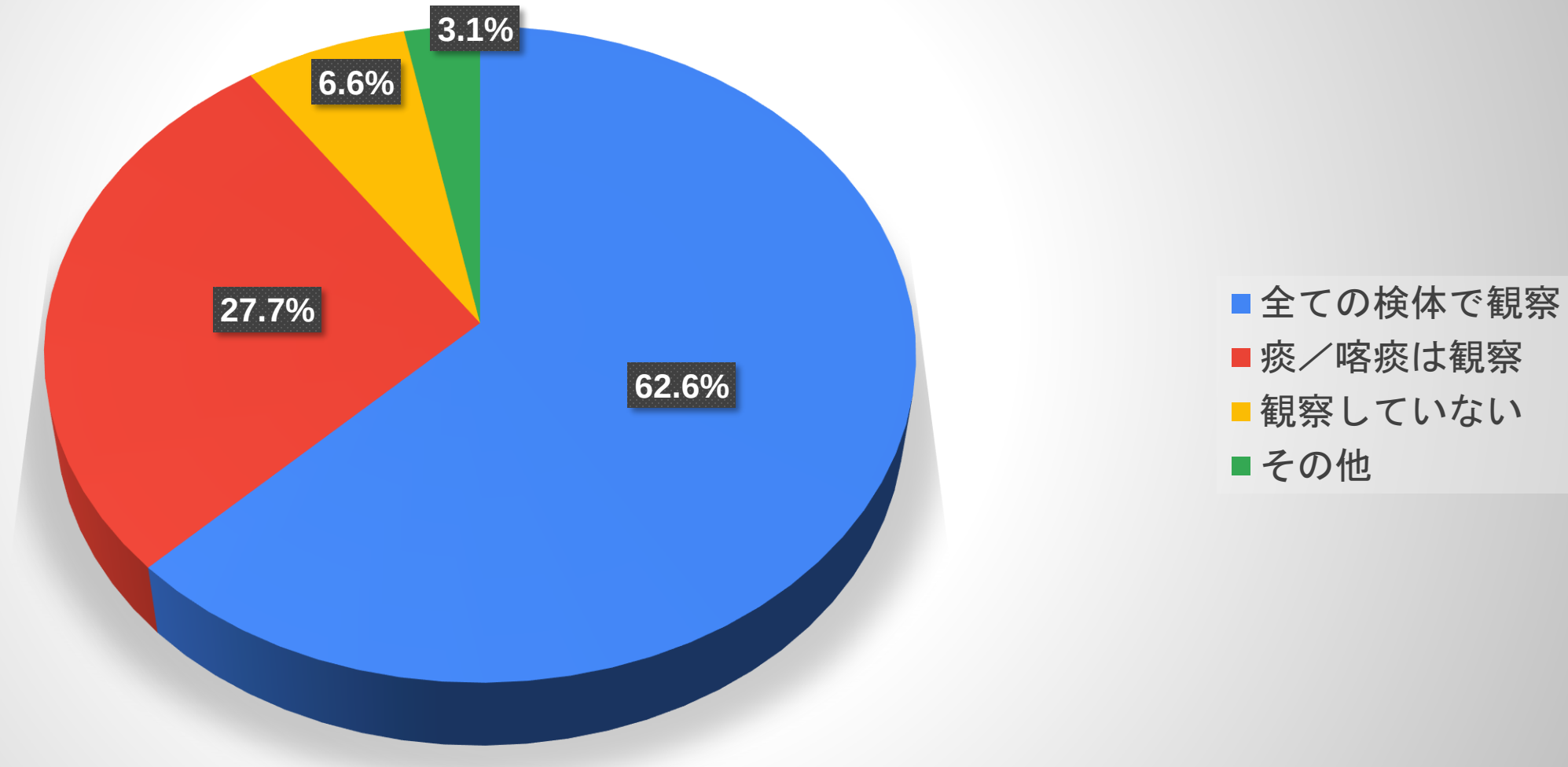
その他：基本的には塗り広げないが、膿尿の場合は、塗り広げて乾燥
無遠心で濁度具合で広げる度合いが違う

問3 喀痰の洗浄操作を実施していますか。



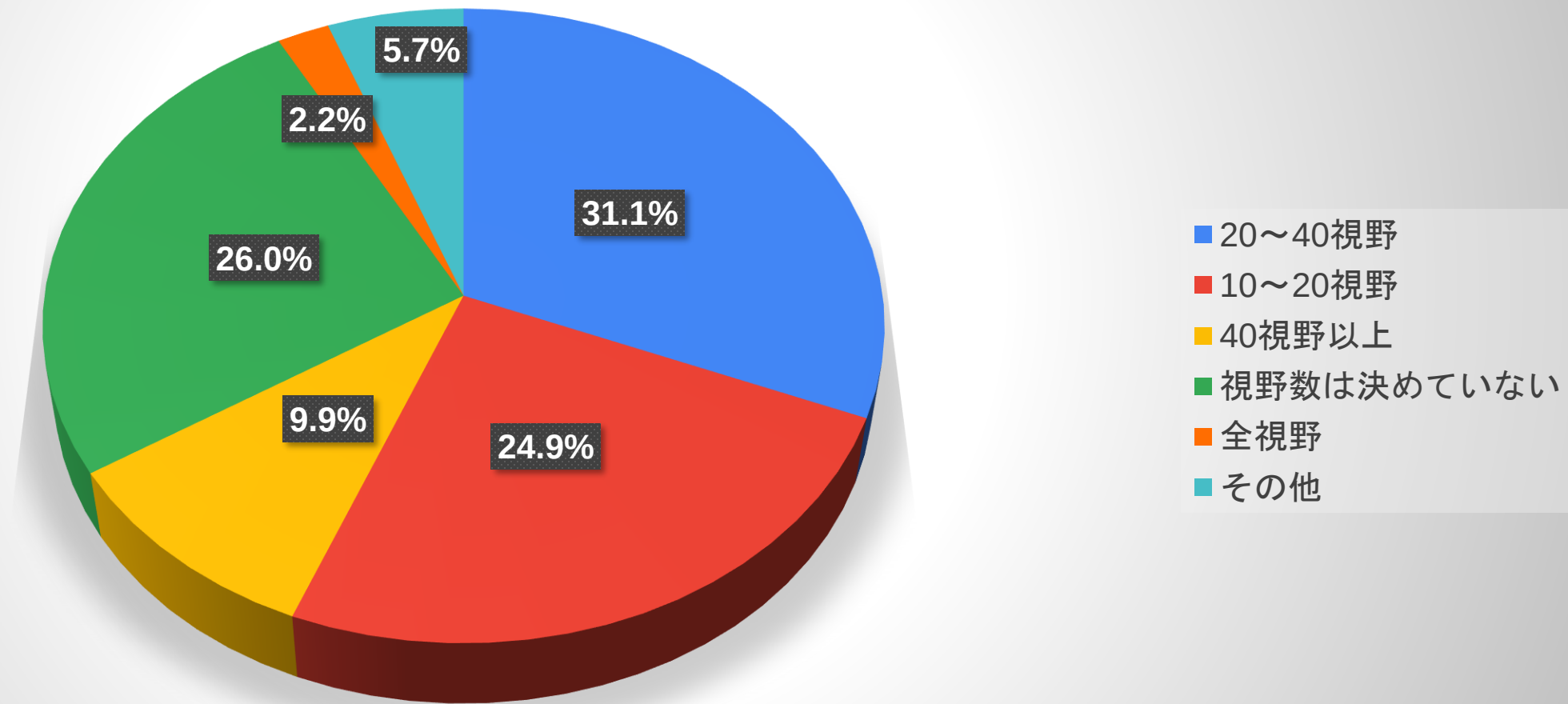
その他：膿性部分が少量の場合洗浄、
膿性部分と唾液が混在している場合
依頼が有る時実施など

問4 患者検体のGram染色標本の観察において、
低倍率（総合倍率×100倍）で炎症所見（白血球）を観察していますか。



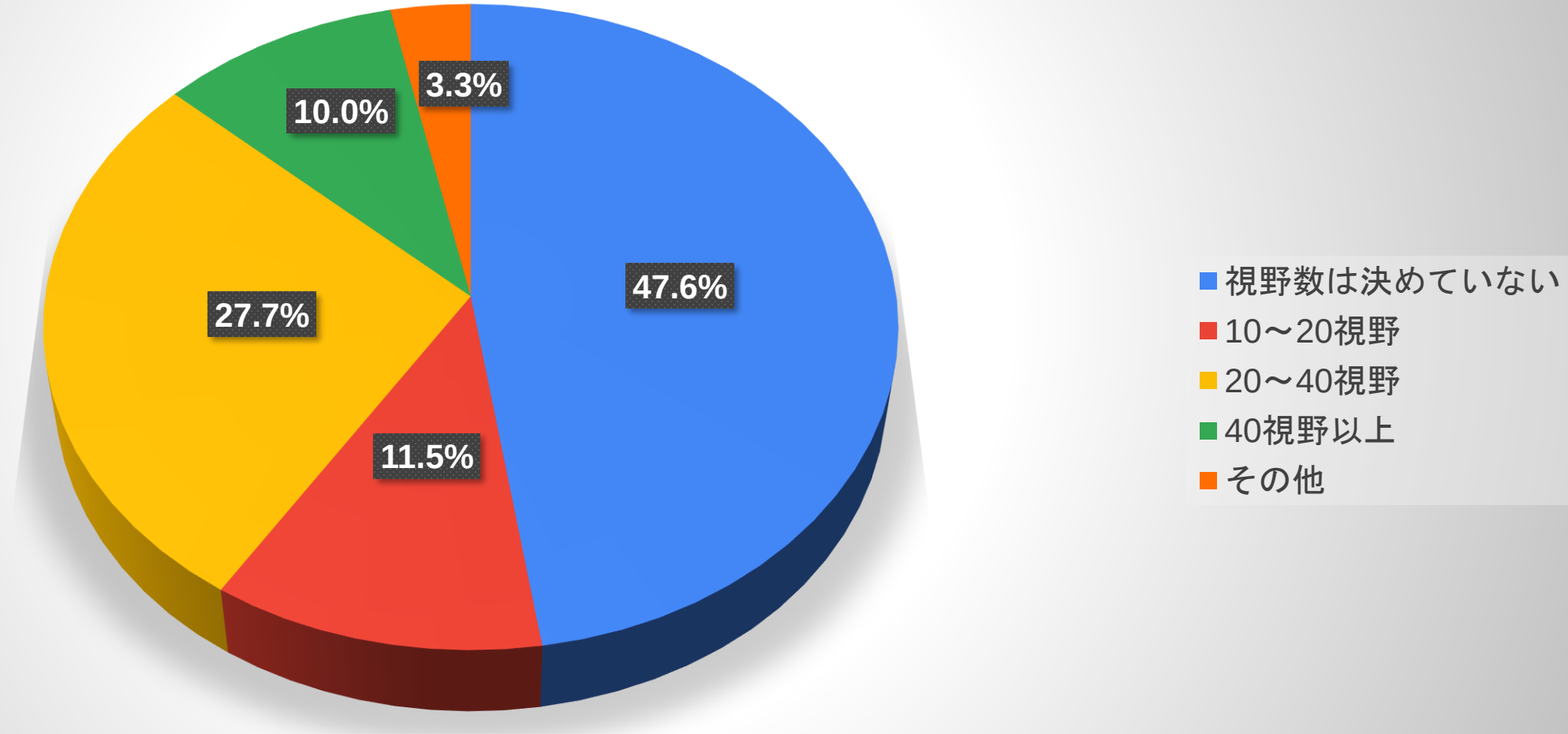
その他：特定の検体は観察
喀痰や細菌を認めない検体の場合、無菌検体で膿性部分の検索の場合に観察

問5 尿のGram染色標本の鏡検において、
総合倍率1,000倍で鏡検する視野数を決めていますか。



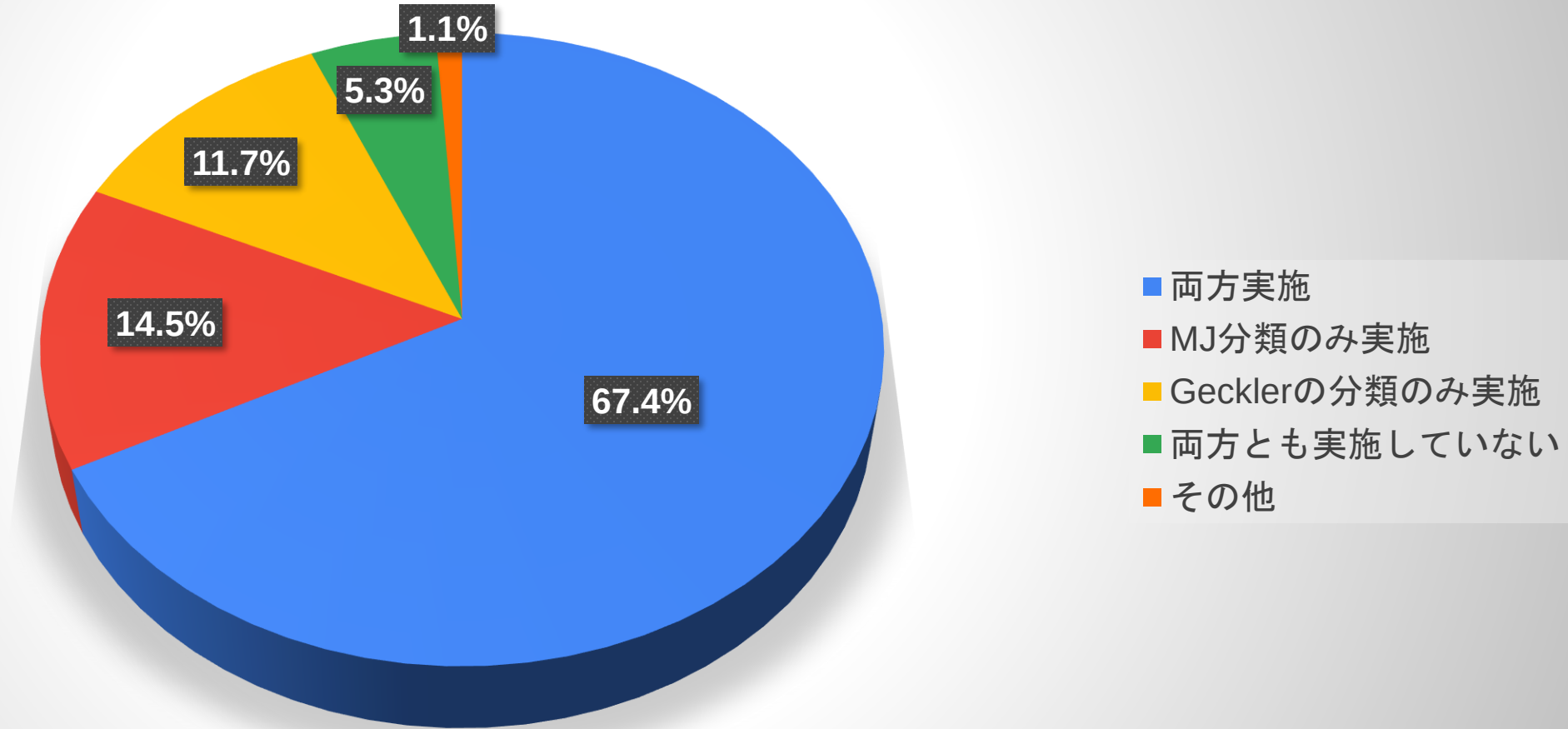
その他：決めていないが20-30視野程度
検体の質により変えている
検体の品質や目的菌に応じて視野数を変えている

問6 喀痰のGram染色標本の鏡検において、
総合倍率1,000倍で鏡検する視野数を決めていますか。



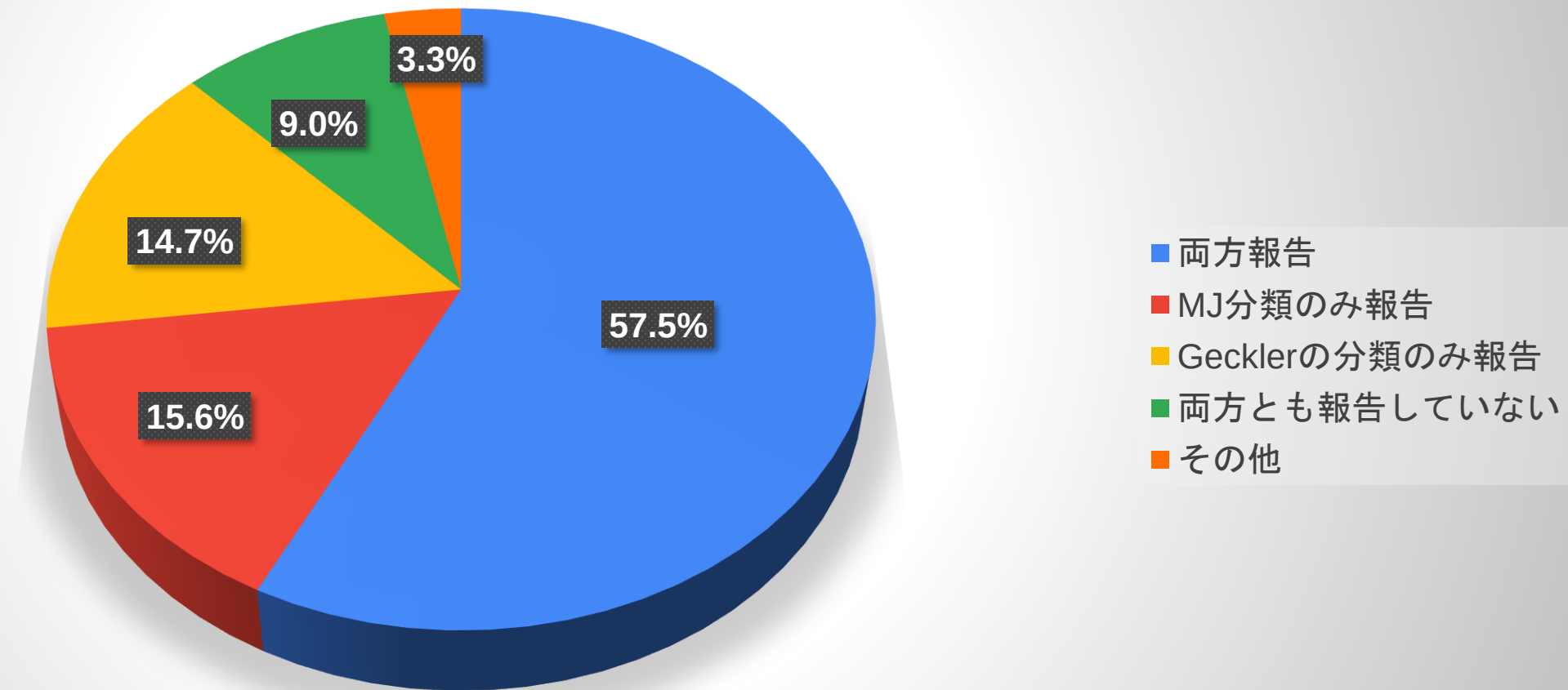
その他：全体を観察
検体の質により変えている

問7 喀痰の品質評価法であるMiller & Jonesの分類（MJ分類）や
Gecklerの分類を実施していますか。



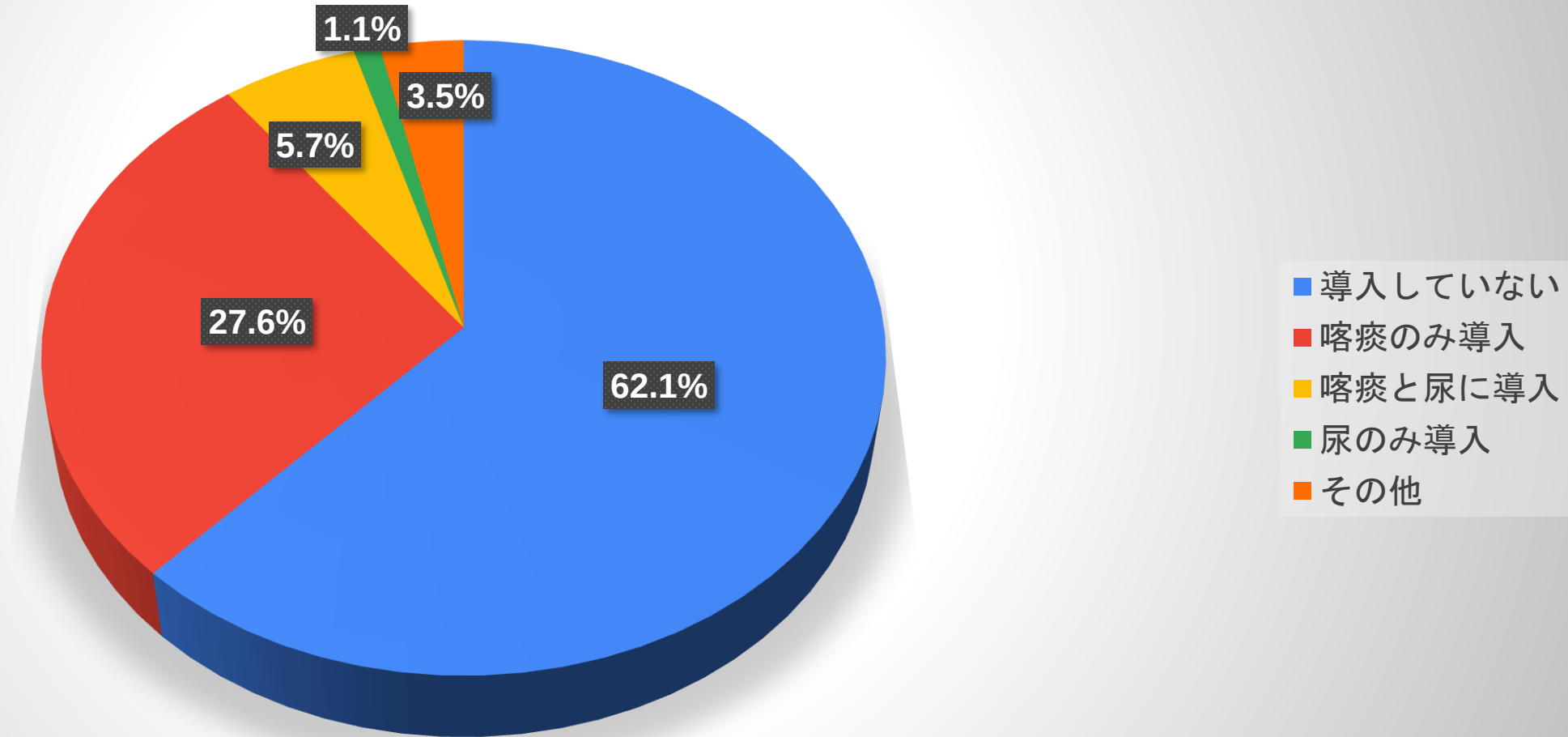
その他：依頼による
状況に応じてMJ分類かGecklerの分類を実施
Gecklerの分類と、自施設独自の品質評価法実施
上皮細胞主体などコメントを報告している。

問8 喀痰の品質評価（MJ分類、Gecklerの分類）を報告していますか。



その他：依頼があるとき
状況に応じてMJ分類かGecklerの分類を実施
Gecklerの分類と、自施設独自の品質評価法実施
上皮細胞主体などコメントを報告している。

問9 喀痰および尿のRejection Criteria
(リジェクションルール)を導入していますか。



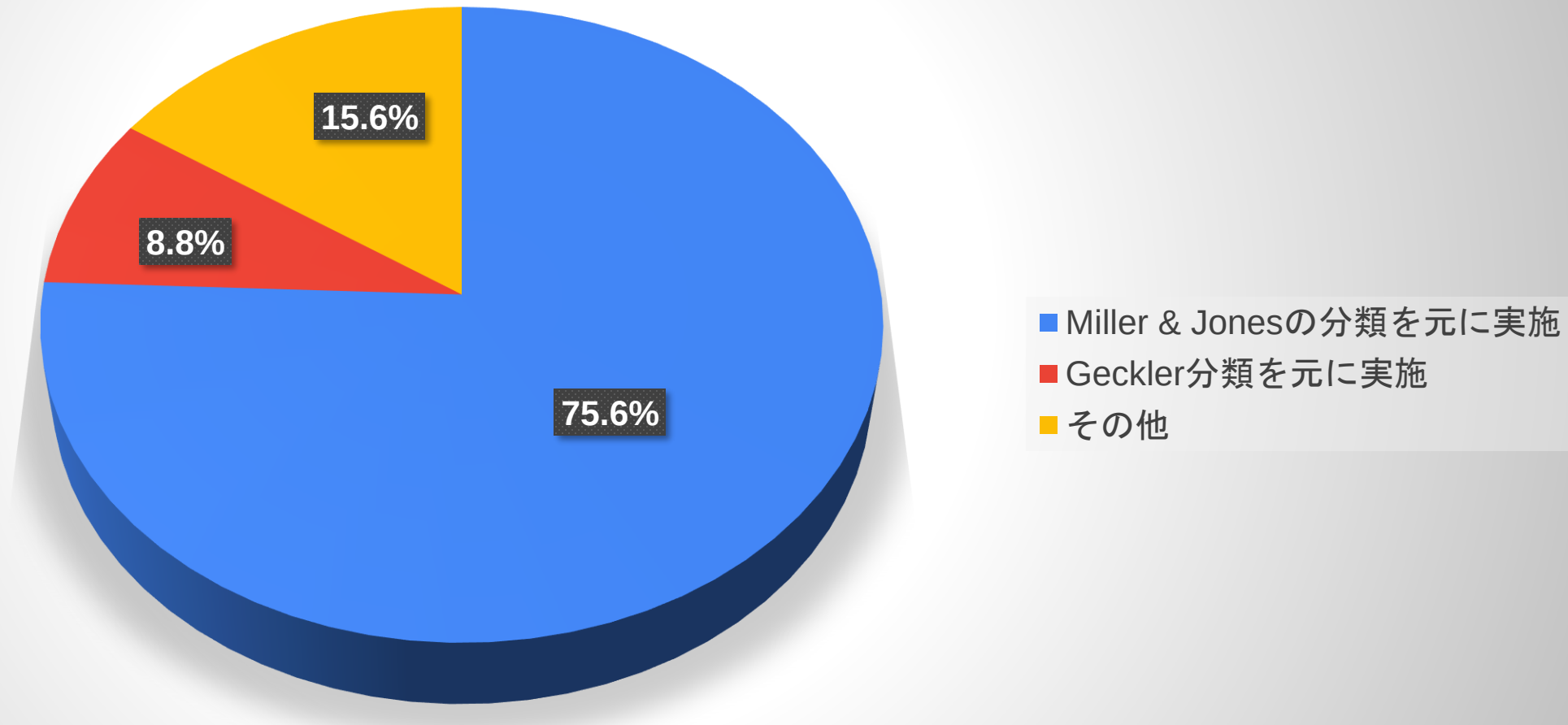
その他：喀痰と便に導入

量と性状と患者状態で主治医や看護師さんと相談

明確なルールは定めていないが個々の判断で取り直し依頼はしている

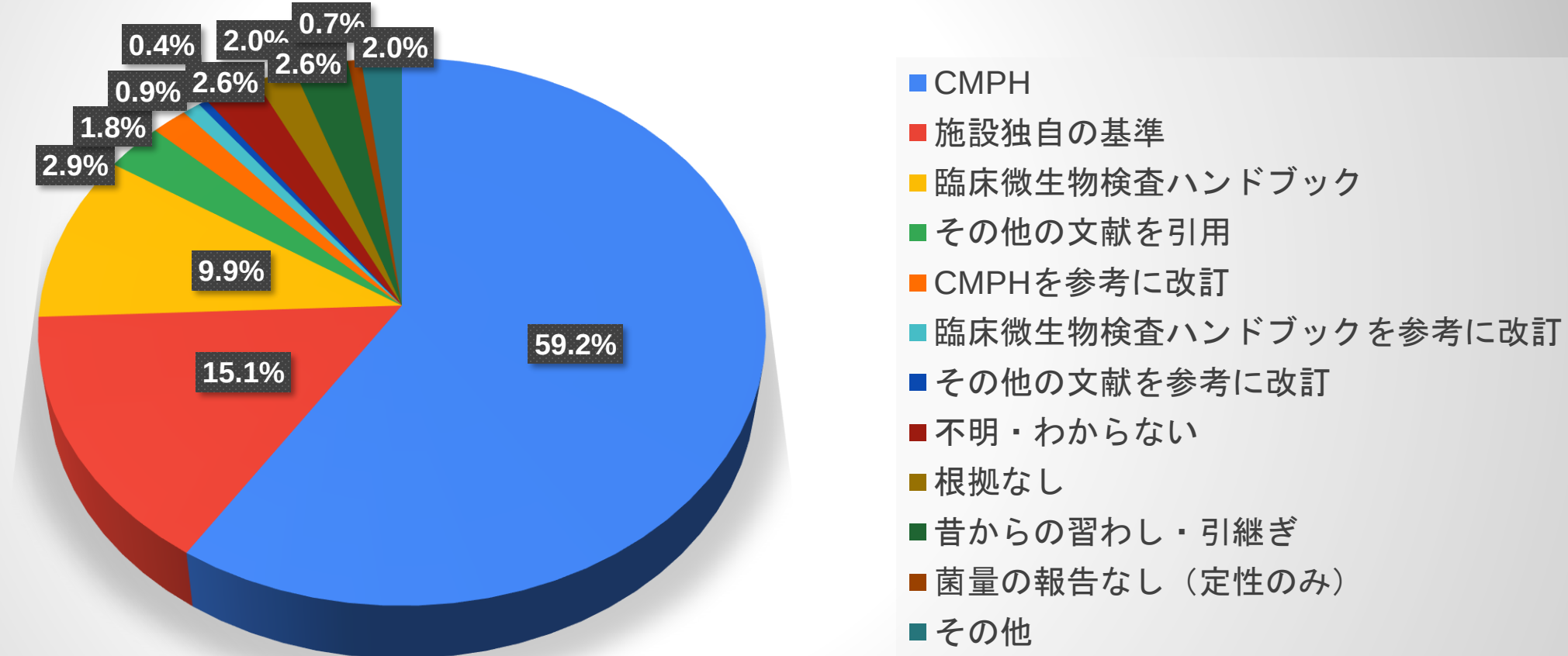
問10 喀痰のRejection Criteria（リジェクションルール）をご回答ください。

導入施設のみ：n=160



その他：Miller&JonesとGecklerの分類を元に実施
Miller & Jones分類、及び白血球数で評価
明らかに唾液のみである場合

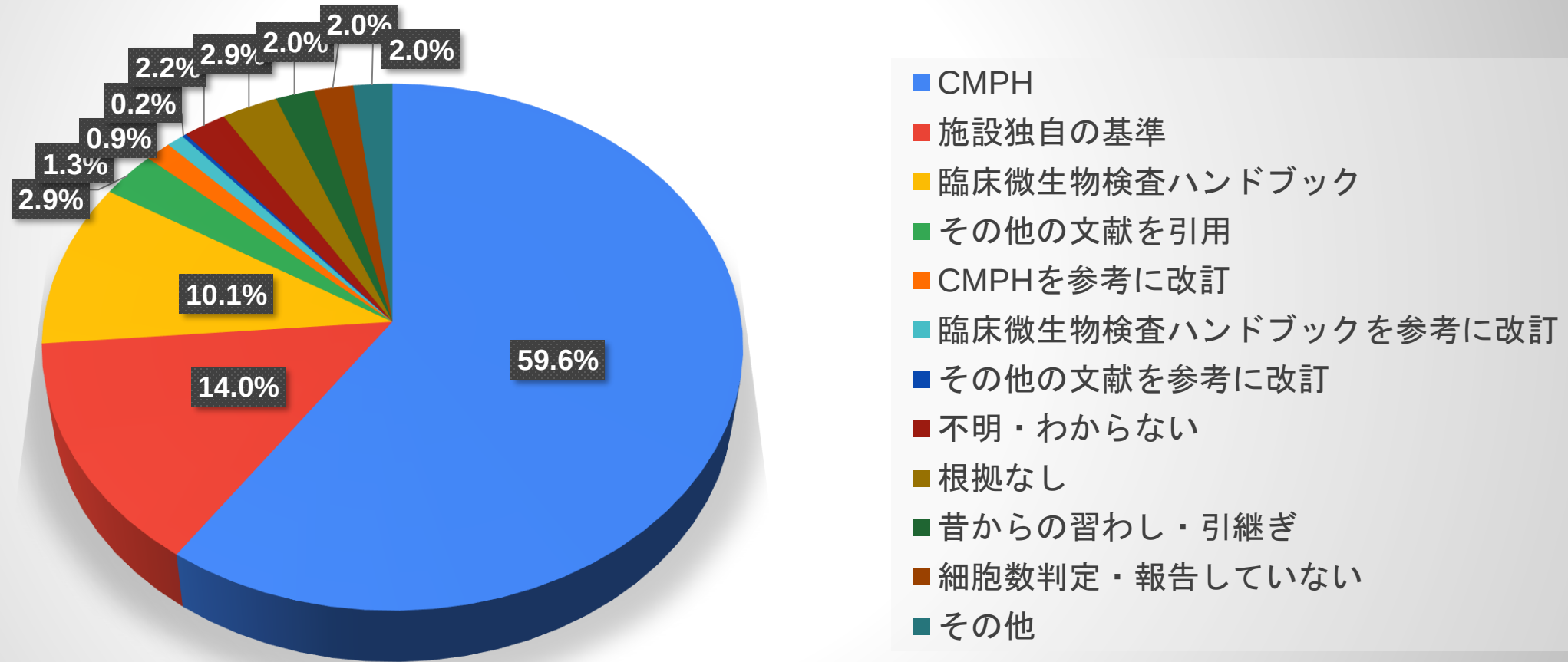
問11 Gram染色標本の鏡検における細菌数の判定および表記は どれを根拠としていますか。



その他：臨床微生物検査技術教本
BML診断・検査の手引き
微生物検査アトラス
愛知県臨床検査値統一ガイドライン
DSの実践ガイド

CMPH: Clinical Microbiology Procedures Handbook

問12 Gram染色標本の鏡検における細胞数の判定および表記は どれを根拠としていますか。



その他：臨床微生物検査技術教本
BML診断・検査の手引き
微生物検査アトラス
愛知県臨床検査値統一ガイドライン
DSの実践ガイド

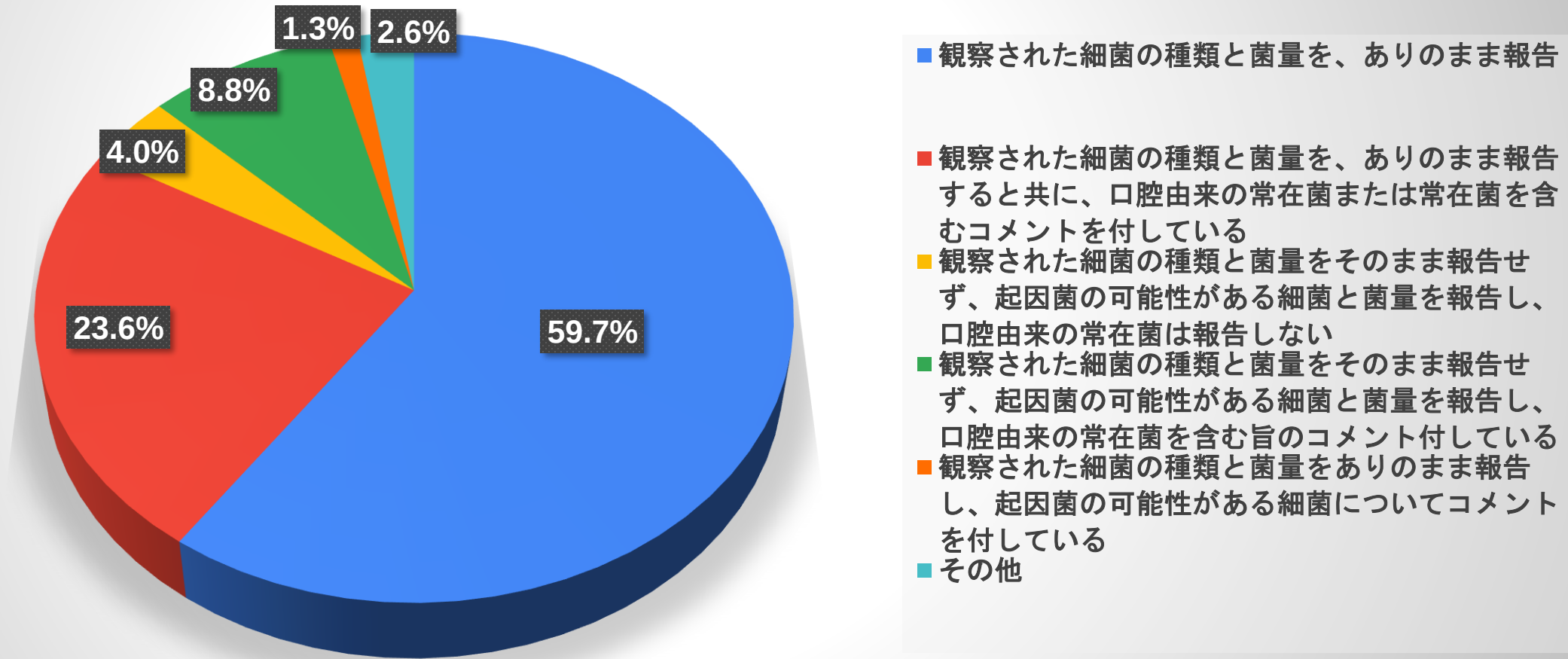
CMPH: Clinical Microbiology Procedures Handbook

細胞数を1000倍で判定：10施設（2.2%）

問13 喀痰のGram染色標本の鏡検では口腔内の常在菌を含む多種類の細菌が観察されます。

観察された各細菌の種類と菌量はどのように報告していますか。

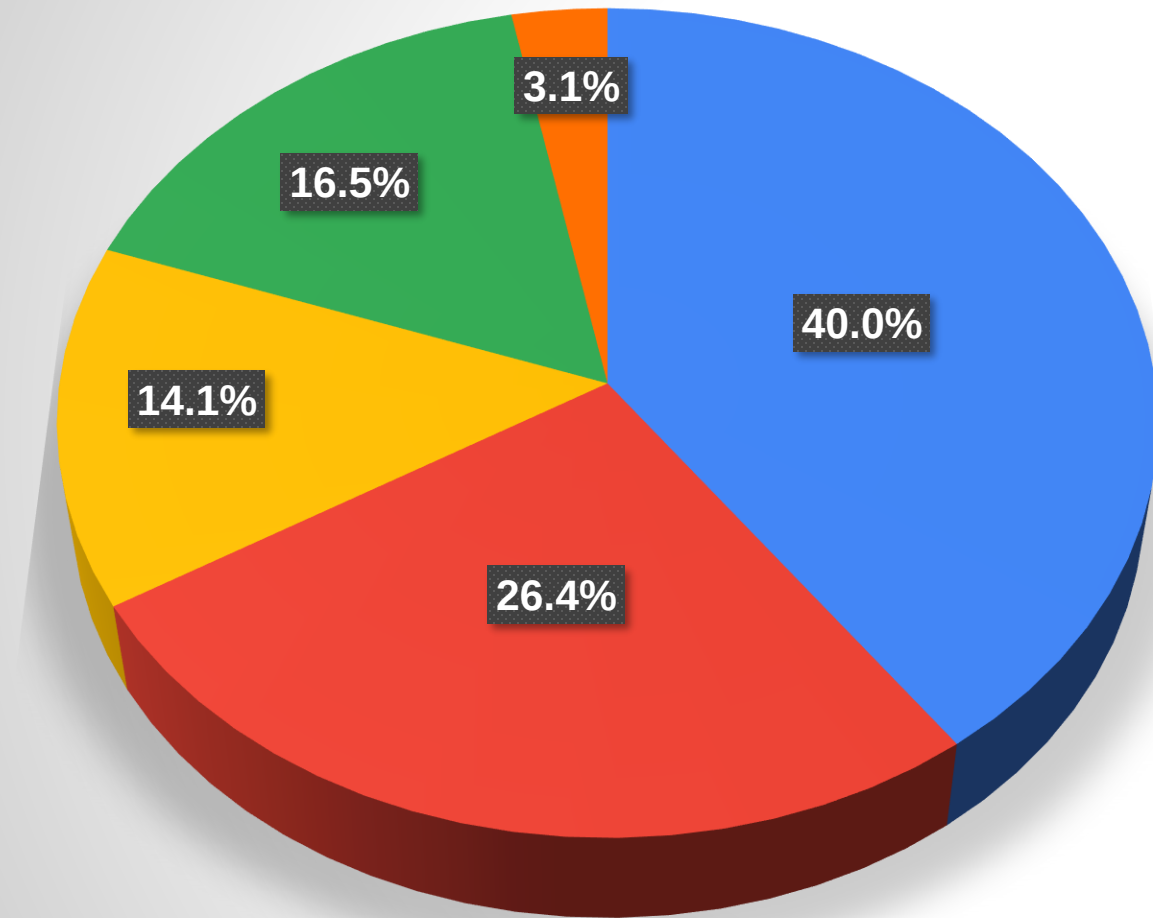
(例：膿性痰で複数の口腔内常在菌を認める喀痰など)



その他：観察された細菌の種類と菌量を報告し、培養結果に常在菌として報告

起炎菌と推測される菌は菌の種類と菌量を報告＋常在菌と推測される菌は「口腔内常在菌」として菌量を報告

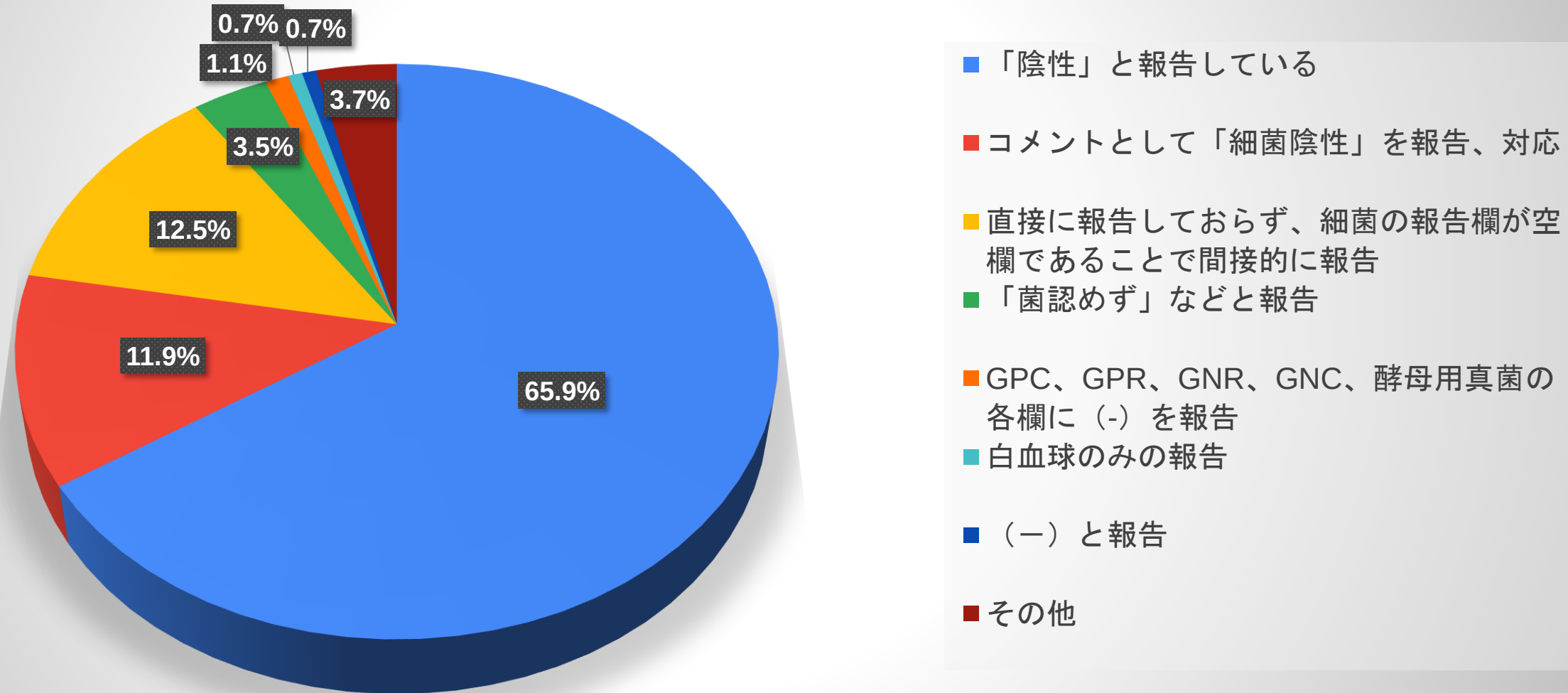
問14 細菌のGram染色形態別の報告はどのようにしていますか。



- 1. Gram陽性球菌（またはGPC）、Gram陽性桿菌（またはGPR）、Gram陰性球菌（またはGNC）、Gram陰性桿菌（またはGNR）、酵母様真菌について、それぞれ報告
- 2. 1に加え、形態から推定可能な菌属（例：Staphylococcusまたはブドウ球菌様）または菌種（例：Streptococcus pneumoniaeまたは肺炎球菌）を報告
- 3. 1に加え、起因菌と考えられる細菌はコメントで報告
- 4. 1と2に加え、起因菌と考えられるものはコメントで報告
- その他

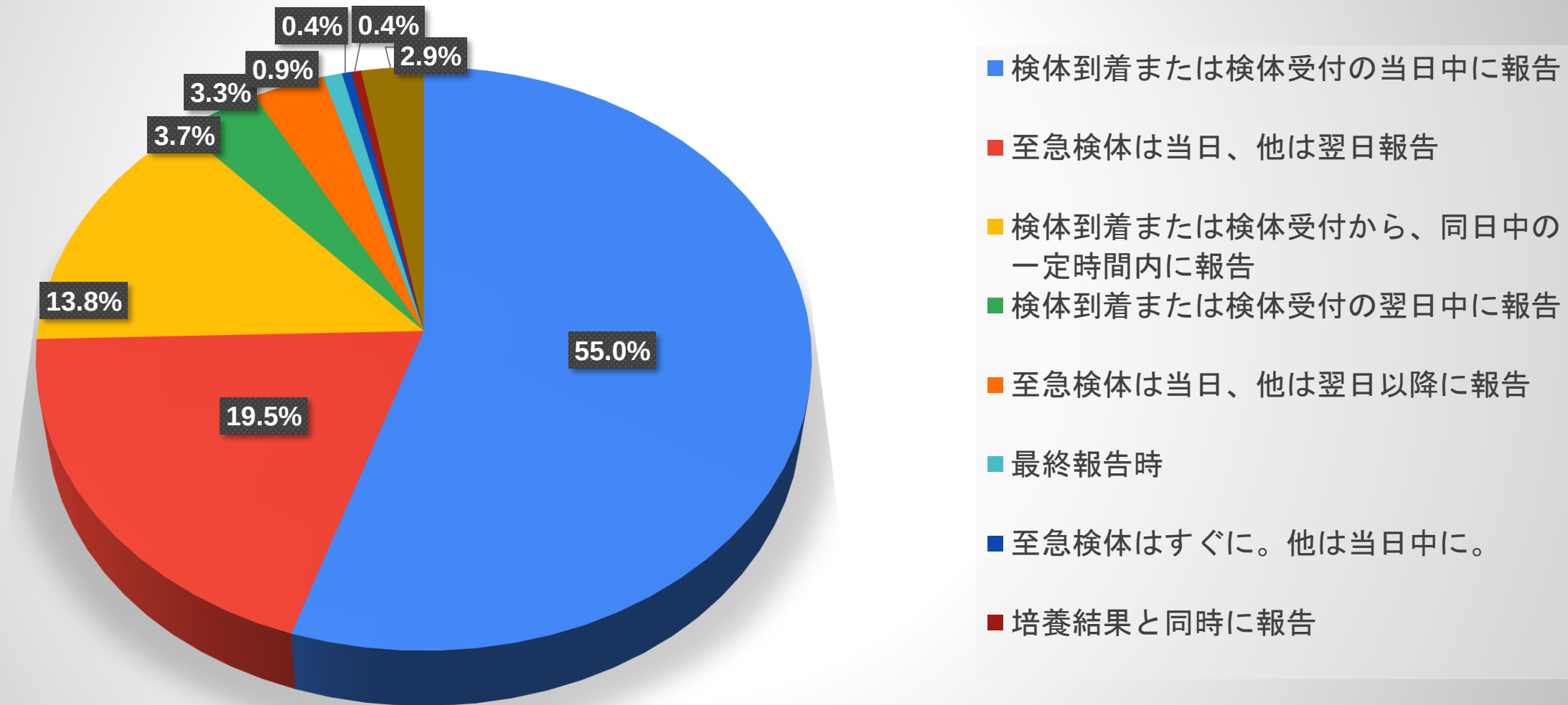
その他：基本的には1での報告だが、材料により推定菌報告をしている
通常は1、血液培養は2（推定菌種）

問15 鏡検で細菌が認められない場合、
細菌陰性を意味する「陰性」と直接に報告していますか。



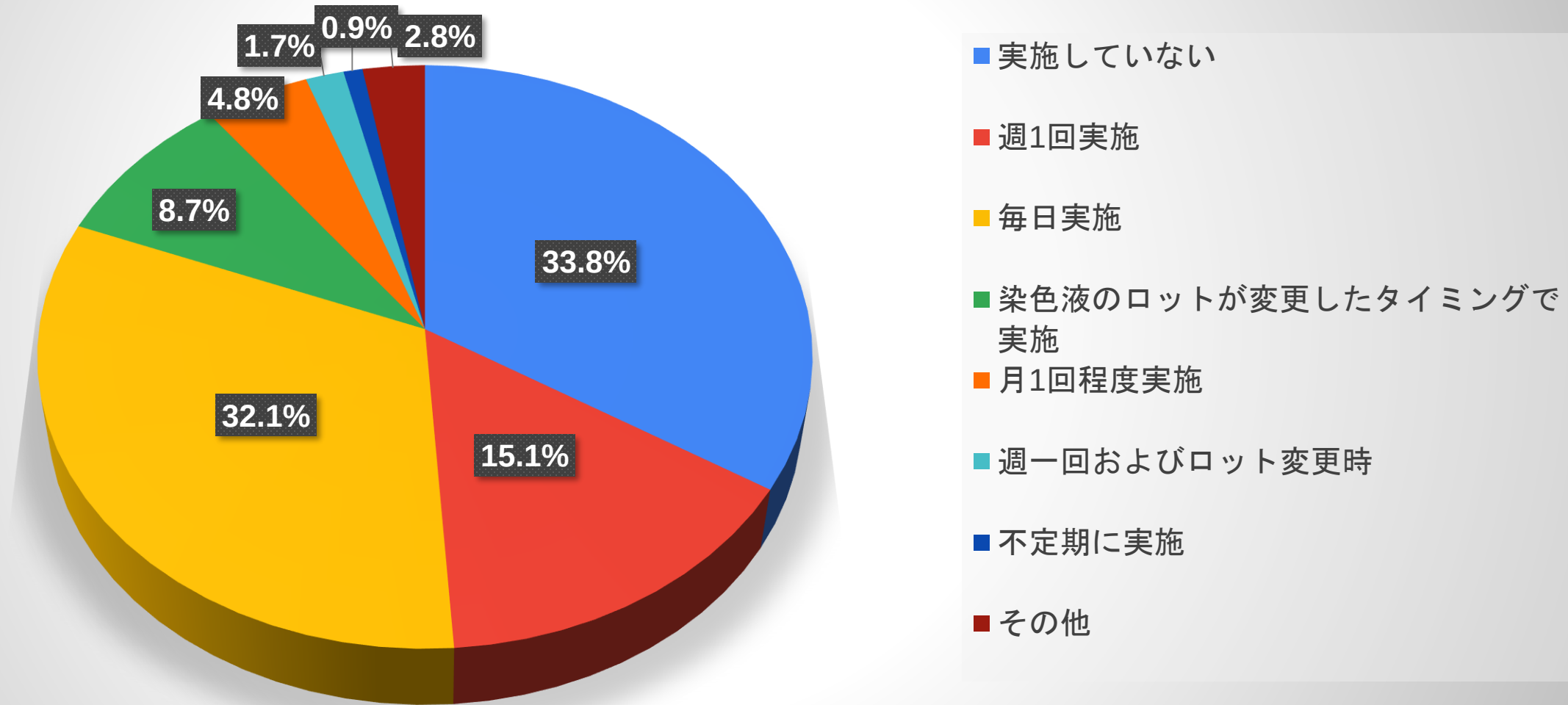
その他：塗抹（－）に加え、「グラム染色上、菌を認めず。」のコメントで中間報告

問16 患者検体のGram染色による塗抹顕微鏡検査の医師への 結果報告はいつ行っていますか。



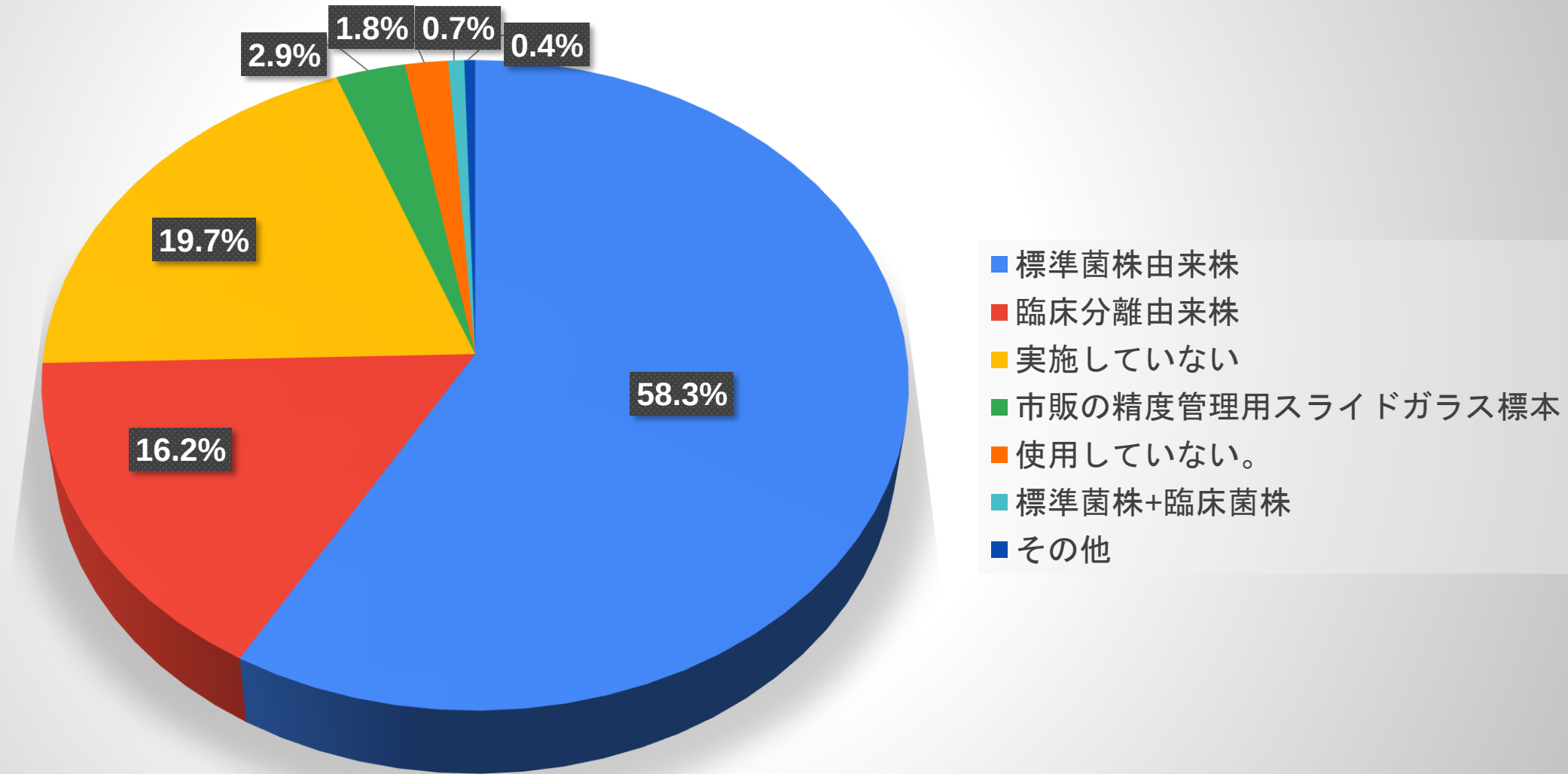
その他：至急検体は都度、無菌材料検体は当日または翌日中、その他は最終報告時
尿、無菌材料は検体受付当日報告その他は翌日

問17 Gram染色液の内部精度管理を実施していますか。



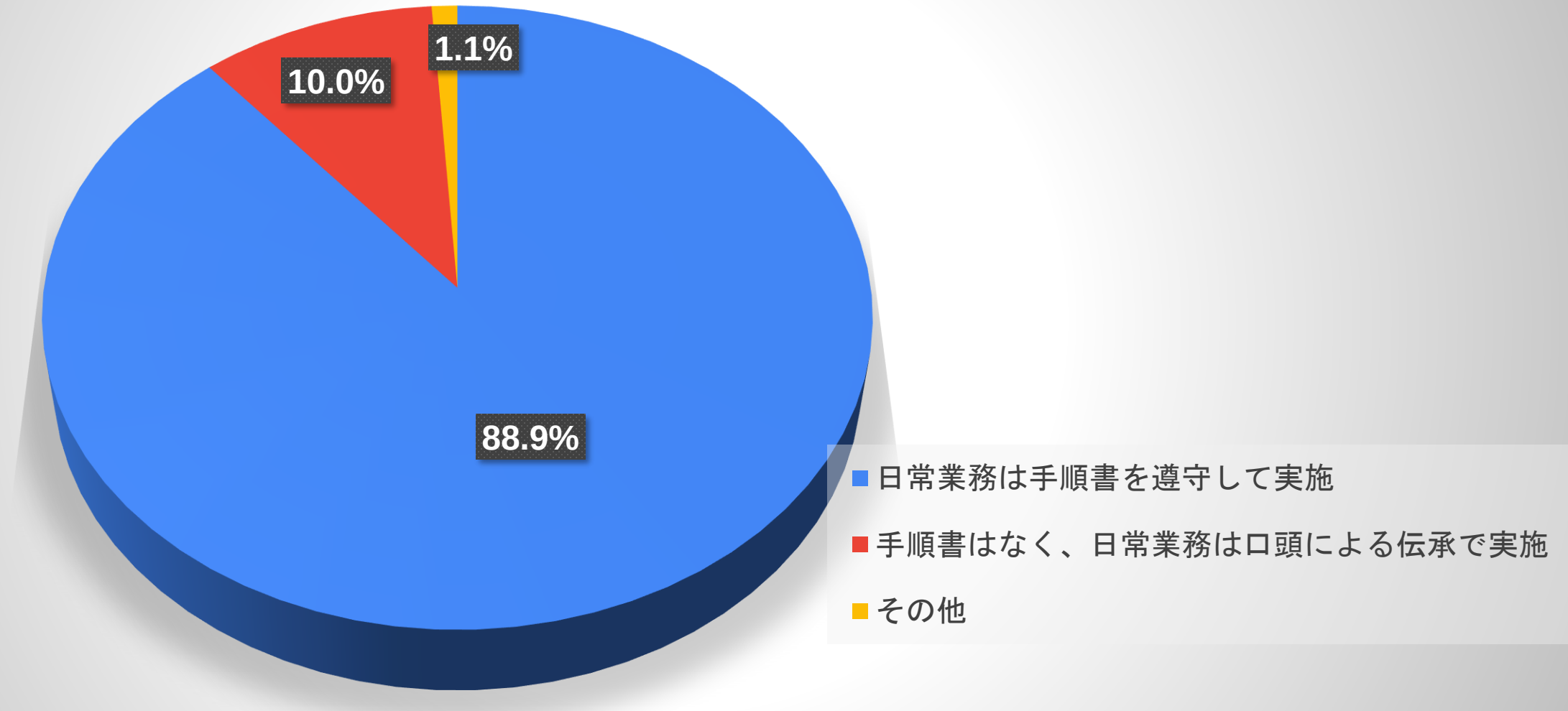
その他：染色液入庫時（同一ロットでも実施）
2週間に1度
週2回実施

問18 Gram染色液および染色工程の内部精度管理に
どのような試料を使用していますか。



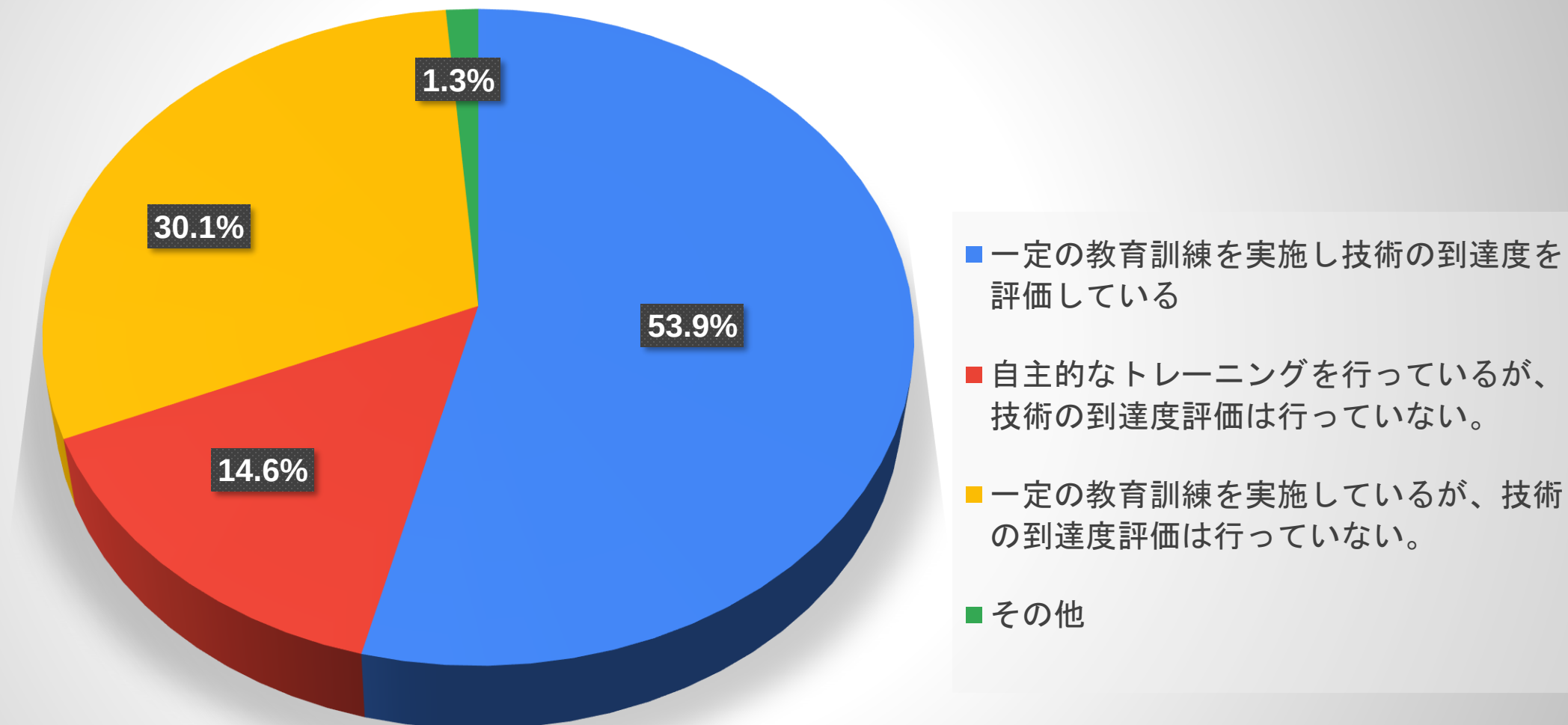
その他：県技師会の精度管理を活用

問19 Gram染色および鏡検に関する手順書を使用していますか。



その他：手順書を作成しているが、それですべて教えられるわけではない
染色手技は手順書、鏡検は口頭伝承で実施
手順書はあるが、検査担当者の判断にて変更はありうる

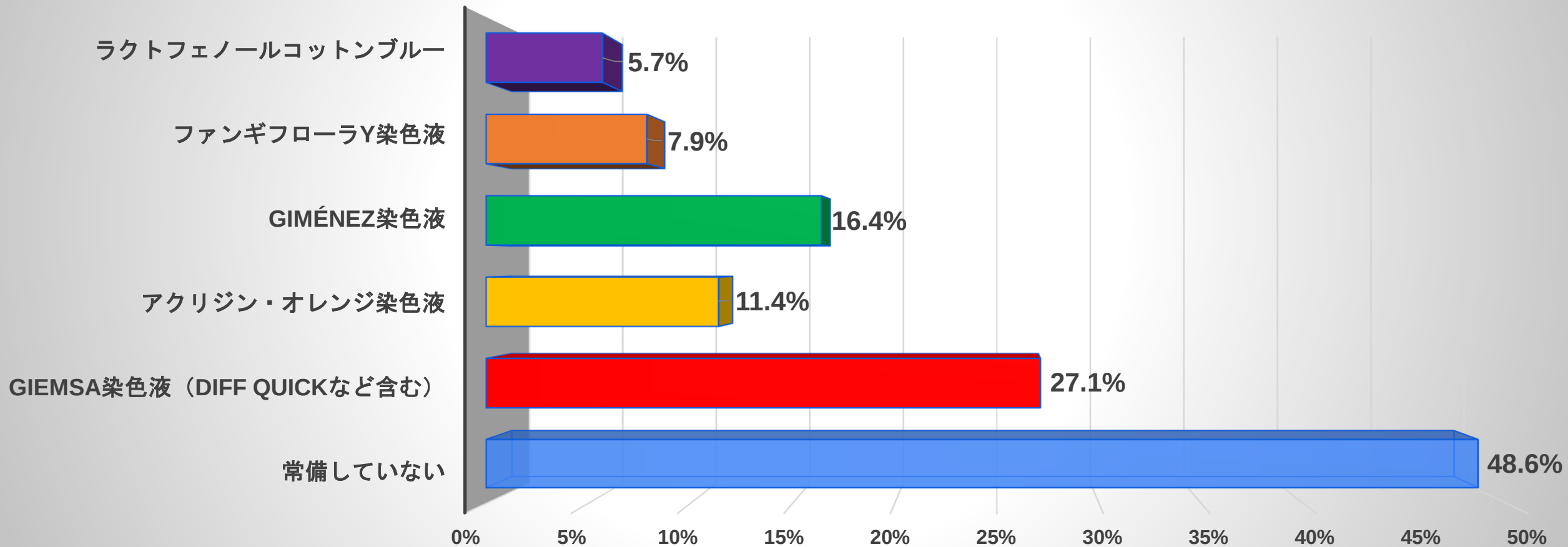
問20 Gram染色および鏡検技術の教育訓練を実施していますか



その他：実施していない

年一回の精度管理調査時に染色と鏡検の目合わせをしている

問21 抗酸性染色以外の塗抹検査で用いる 染色試薬を常備していますか。（複数回答可）



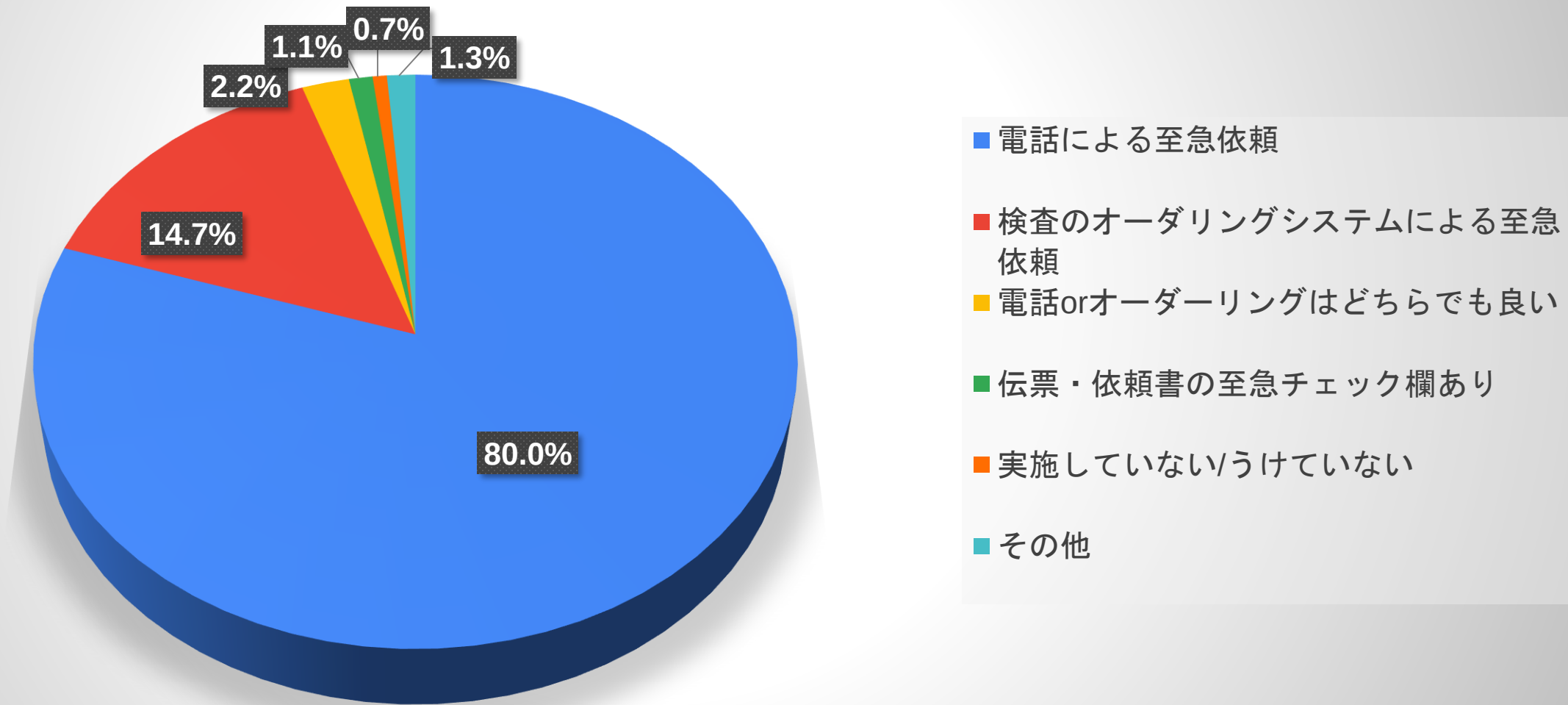
その他：墨汁染色

コーン染色

ウイルツ染色（芽胞染色）

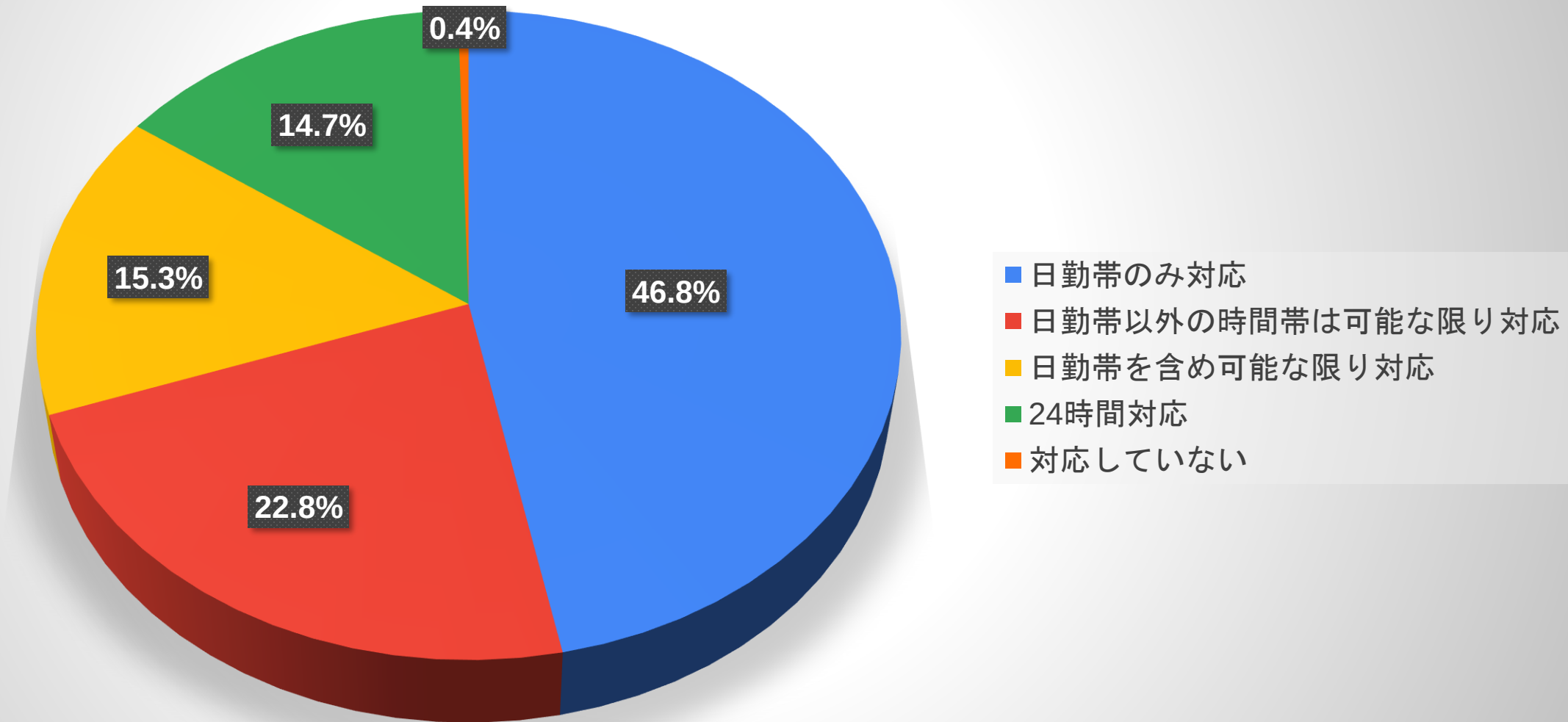
ニューモシスチス モノクローナル抗体染色

問22 患者検体のGram染色標本の塗抹顕微鏡検査の至急検査依頼はどのように受け付けていますか。

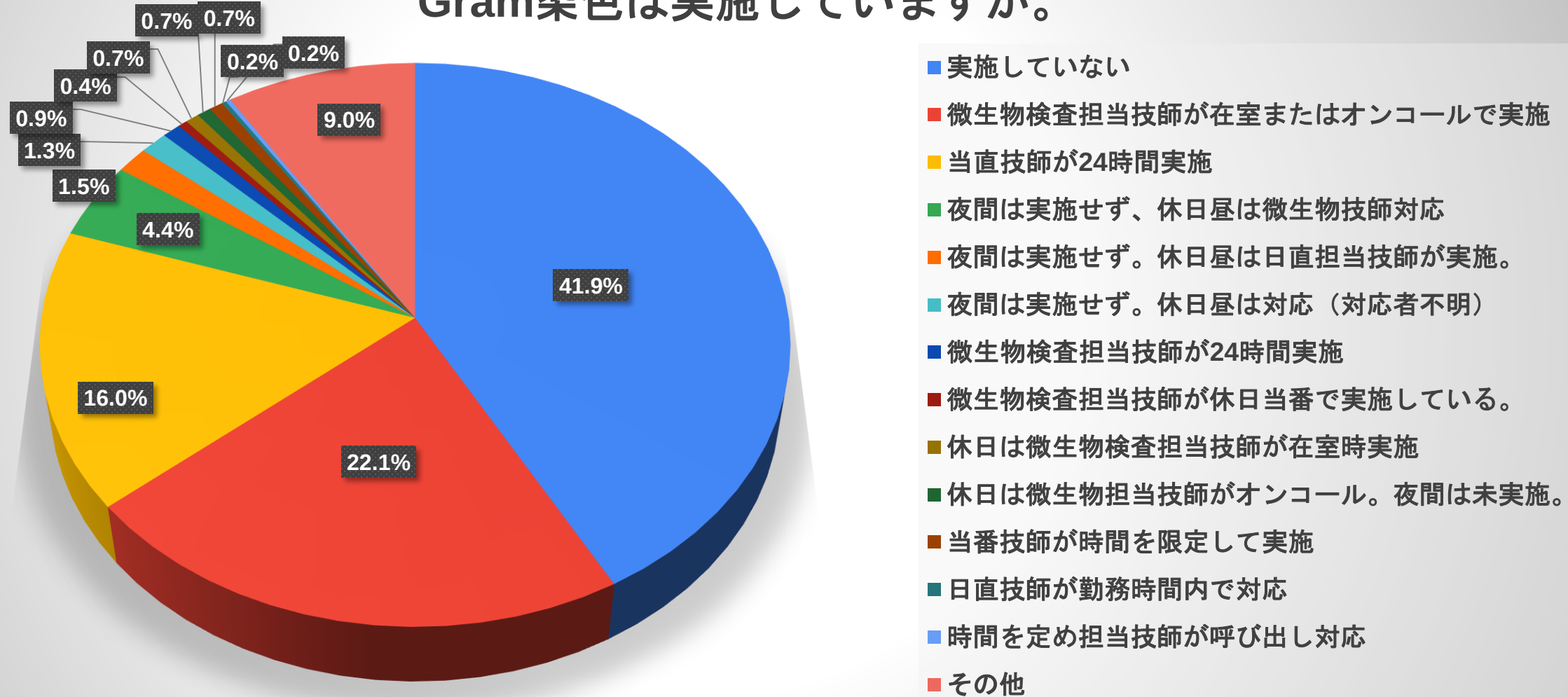


その他：対面で直接伝える
電話および検体搬入時に口頭で依頼
電子カルテでオーダーの上、電話で依頼

問23 患者検体のGram染色標本の塗抹顕微鏡検査の至急検査依頼はどこまで対応していますか。



問24 日勤帯以外（夜間・休日）の血液培養陽性ボトルの Gram染色は実施していますか。



その他：24時間血培陽性のサブカルチャーと標本作製のみ実施し、当直帯は染色・鏡検しない
待機番技師が対応
必要に応じて感染症内科医師or微生物担当技師が実施

【まとめ】

- 本調査により、尿と喀痰を主としたGram染色による塗抹顕微鏡検査およびその精度管理に関する調査を実施し、本邦における検査運用状況を知ることができた。
- 本調査は、今学会における標準化事業を進めていくうえで、貴重なデータとなるものと思われるため、委員会として活用していきたいと考える。
- 本調査回答にご協力いただきました会員の皆様に、心より感謝申し上げます。