



血液培養の迅速報告 ～従来法でどこまでできる？～

鈴鹿回生病院 種村百合香

血液培養検査とは・・・

血液培養検査は患者さんの血液を採取し、培養することから始まる検査で、感染症診療において重要な検査の一つです。血液培養から検出された菌は菌血症や敗血症の原因であることが推測され、この結果から原因部位の推定や、治療薬の選択なども行われるため迅速な結果報告が求められます。血液培養陽性は微生物検査室にとってのパニック値であり、結果を早く報告するよう工夫する必要があります。

陽性転化後の検査の流れ・・・



これまでは血液培養ボトル陽転化後、菌名及び薬剤感受性結果が判明するまでに 2-3 日必要でしたが、質量分析装置や遺伝子検査機器の導入等により、早ければ陽転化当日に菌名や耐性菌かどうかの結果報告が可能となりました。しかしながら、機器が高価なため、まだまだ従来の方法で数日かけて結果報告している施設が多数あります。今回は従来の方法でしか検査できなくても、有用な情報を迅速に報告するにはどうすればいいかを考えていきたいと思います。



迅速報告のポイント……

従来の方法で検査を行ったときの血液培養の結果報告のタイミングや迅速化を目的とした場合のポイントを示します。



これをもとに当直帯や休日の時、自分たちの施設はどれだけのことをやれているのか考えてみてください。

- STEP1 提出された血液培養ボトルを培養装置に装填する
- STEP2 陽性ボトルを取り出して血液寒天培地等への分離培養と塗抹標本を作製する
- STEP3 グラム染色を行い判読する
- STEP4 グラム染色結果を臨床医に報告する
- STEP5 同定検査、薬剤感受性検査を実施する
- STEP6 同定検査、薬剤感受性検査の結果を報告する

微生物検査未経験の技師が臨床医に連絡するというのはかなりハードルが高いと思われるので、まずはSTEP1の血液培養ボトルの機械への装填、STEP2のサブカルチャーといった内容が実施しやすいと思います。サブカルチャーだけでもしてもらえば出勤日に簡易検査や機械での同定感受性検査が行え、翌日には結果報告できますので十分時間短縮の効果はあります。血流感染症の主要な菌種であれば10-20時間で陽性になり、陽性検体の約8割が24時間以内に陽転化すると言われていています。昼間提出された検体の多くは夜間に陽性になると考えると当直者の役割は重要であり、この時間帯に検査を進めることは時間短縮にもかなり効果があるといえます。



より有用な第1報および中間報告について・・・

最初に報告するグラム染色は大きく5つに菌種を分類でき、染色性や形態から推定できる菌種もあります。染色像に臨床情報や発育条件等を考慮することで菌種の推定もしやすくなると思います。

グラム染色形態		推定菌種	グラム染色形態		推定菌種
グラム陽性球菌	ブドウ状	<i>Staphylococcus</i> spp.	グラム陰性桿菌	直線状	<i>Enterobacterales</i> (腸内細菌目細菌) 大部分のブドウ糖非発酵菌
	長い(5菌体以上)レンサ状	<i>Streptococcus</i> spp.		球桿菌状	<i>Acinetobacter</i> spp.
	短い(4菌体以下)レンサ状	<i>Streptococcus</i> spp. <i>Enterococcus</i> spp.		らせん状	<i>Campylobacter</i> spp. <i>Helicobacter</i> spp.
	ランセット型双球菌	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Enterococcus faecalis</i>		湾曲(コンマ)状	<i>Vibrio</i> spp.
グラム陽性桿菌	棍棒状(小型)	<i>Corynebacterium</i> spp. <i>Propionibacterium</i> spp.	真菌	短桿菌	<i>Haemophilus</i> spp.
	直線状(大型)	<i>Bacillus</i> spp. <i>Clostridium</i> spp.		酵母(仮性菌糸あり)	<i>Candida</i> spp. (<i>Candida glabrata</i> 以外)
	直線状(小型)	<i>Listeria</i> spp.		酵母(仮性菌糸なし)	<i>Candida glabrata</i>
グラム陰性球菌	腎臓型双球菌	<i>Moraxella</i> spp. <i>Neisseria</i> spp.	球形	<i>Cryptococcus</i> spp.	
	*単独(双球菌でない)の菌体が多数観察される場合は、抗菌薬(カルバペネム)の影響によるグラム陰性桿菌の形態変化や <i>Acinetobacter</i> spp.の可能性がある		ポーリングピン様	<i>Trichosporon</i> spp.	
			三日月様	<i>Fusarium</i> spp.	

今回は従来法での工夫がポイントなので、この5グループのなかでも出現頻度の高いグラム陽性球菌とグラム陰性桿菌について説明します。

グラム陽性球菌の分類ポイント・・・

まずはグラム染色像でブドウ球菌かレンサ球菌を鑑別します。

☆ブドウ球菌☆

point!! 抗MRSA薬が必要かな？

- ・ *S. aureus*? CNS? → コアグララーゼ試験、クランピング因子の検出で鑑別
- ・ MSSA? MRSA? → スクリーニング培地で鑑別

菌種	集落着色	遊離型 コアグララーゼ	クランピング 因子	P Y R	耐熱性 Dnase
<i>S.aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	+	+	+	-	+
<i>S.hyicus</i>	-	d	-	-	+
<i>S.intermedius</i>	-	+	d	+	+
<i>S.pseudintermedius</i>	-	+	-	+	+
<i>S.lugdunensis</i>	d	-	+	+	-
<i>S.schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i>	-	+	-	+	+
<i>S.schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i>	-	-	+	+	+



☆レンサ球菌☆

point!! ペニシリン系？セフェム系？抗MRSA薬？どれを選択すればいいの？

- ・ 溶血の有無 (α , β , γ)、ランスフィールド分類、PYR 試験で鑑別
- ・ *S. pneumoniae* の鑑別 → オプトヒン (+)
胆汁溶解試験 (+)
脳脊髄膜炎起炎菌莢膜多糖体抗原

菌種	Lancefield分類	PYR	備考
<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	+	
<i>Streptococcus agalactiae</i>	B	-	
<i>Streptococcus dysagalactiae</i> subsp. <i>dysagalactiae</i>	C	-	
<i>Streptococcus dysagalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	A, C, G,L	-	
<i>Enterococcus</i> spp.	D	+	<i>S.gallolyticus</i> PYR(-)

グラム陰性桿菌の分類ポイント・・・

point!! 腸内細菌目細菌？ぶどう糖非発酵菌？嫌気性菌？どれなのかな？

- ・ 発育ボトルで鑑別
 - ブドウ糖非発酵菌 → 好気ボトルのみのことが多い、陽性転化時間が長め
 - 嫌気性菌 → 嫌気ボトルのみ発育
- ・ オキシダーゼ試験で鑑別
 - 陽性：ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌
 - 例外) *Acinetobacter* 属, *Stenotrophomonas maltophilia* は陰性
 - その他の陽性菌
Aeromonas 属, *Vibrio* 属, *Neisseria* 属, *Campylobacter* 属
Legionella 属, *Pasteurella* 属など
- ・ 耐性菌スクリーニング培地や酵素基質培地の発色により菌種や耐性菌の推定も可能

まとめ・・・

機械で菌名や感受性結果が判明していなくても、グラム染色の結果や発育条件、簡易検査の結果に臨床情報を加えればかなり有用な情報が得られると思います。また、今回紹介した検査法はコロニーが発育してから行うものが多いので、ぜひ！夜間休日のサブカルチャーを実施するようにして、第1報の連絡時に菌種を絞った臨床側が助かる情報提供をしていくようにしましょう！



(参考文献)

血液培養検査ガイド 日本臨床微生物学会編集 南江堂

臨床微生物検査技術教本 日本臨床生成検査技師会監修 丸善出版

臨床微生物検査ハンドブック 第5版 小栗豊子編集 三輪書店

血液培養の手順 三重県臨床検査技師会・臨床微生物部門 標準化委員会発行

グラム染色道場 2 山本剛 日本医事新報社