

[原 著]

有意義な血液培養を行うために試みた2セット採血法の動向調査

谷道由美子¹⁾・矢越美智子¹⁾・矢内 充²⁾・上原由紀³⁾・細川直登⁴⁾・
下口和雄¹⁾・山田ヒロ子¹⁾・大底睦子¹⁾・山本幸代¹⁾・熊坂一成^{1),2)}

¹⁾ 日本大学板橋病院臨床検査部

²⁾ 日本大学医学部臨床検査医学系

³⁾ 順天堂大学医学部 感染制御科学/総合診療科

⁴⁾ 亀田総合病院臨床検査科総合診療感染症科

(平成20年3月24日受付, 平成20年8月18日受理)

筆者らは血液培養の培養陽性率を向上させるため、2001年から異なる2カ所の部位からの採血法(2セット採血)の実施を推奨してきた。その結果、2004年には2セット採血の実施率が59.0%になった。2002年1月から2004年12月までの3年間のデータを調査した結果、菌陽性率は2セット採血22.1%、1セット採血14.0%となった。検出された菌群のうち、コアグララーゼ陰性ブドウ球菌群(CNS)、腸内細菌科グラム陰性桿菌群(腸内細菌群)、*Bacillus*属、およびブドウ非発酵グラム陰性桿菌群(非発酵菌群)において培養陽性率に有意差が認められた(χ^2 検定, $p < 0.01$)。菌検出時、起因菌の可能性が極めて高い腸内細菌群、非発酵菌群、黄色ブドウ球菌では2カ所の採血部位のうち1カ所のみから検出された症例が、それぞれ31.3%、41.9%、21.4%に認められた。この結果は、1セット採血ではこれらの菌を検出できない可能性があり、2セット採血を実施することが明らかに起因菌の陽性率向上につながることを示した。一方、検出菌の80%が採血時の汚染であるといわれているCNSについては、2カ所の採血部位のうち1カ所のみから検出された症例が74.3%に認められ、汚染菌の可能性が高いと考えられた。採血時に汚染菌として混入する可能性が高い菌群は2セット採血を実施することでさらに汚染率を上げる結果にはなるが、起因菌としての判断はボトルの陽性本数に依存するといわれているように、陽性となったボトルの本数が起因菌か汚染菌かの判断の手助けとなると考えられた。

Key words: cultivation of blood, two-sets blood culture, detection rate of germ

序 文

血液培養は敗血症や菌血症、さらには髄膜炎、肺炎、感染性心内膜炎などの重症感染症が疑われる場合には、必ず実施される重要でかつ基本的な検査である。原因菌を確実にとらえることが的確な診断と適切な抗菌薬の選択につながるが、本邦で行われている血液培養は必ずしも菌陽性率に優れた検査とはいえない。血液培養における菌の陽性率は採血回数と採血量に依存

するといわれており¹⁾、米国では2カ所以上の部位から採血する複数回採血が日常的に実施されている²⁾。しかしながら、本邦においてそれを導入している施設は少ない³⁾。複数回採血が実施されない理由として本邦にはそのガイドラインが存在しないこと、試薬代が高いこと、保険請求で査定されることなどが挙げられる。また、複数回採血を実施する以前の問題として、血液培養の重要性が十分理解されていないために、血液培養を行われるべき臨床状況においても積極的に実施されていないのではと考えられる。

日本大学板橋病院における血液培養の実施状況も例外ではなく、2000年まではほとんどが1カ所の部位からの採血法(1セット採血)であった。筆者らは2001年から血液培養の菌陽性率を向上させる目的で、異なる2カ所の部位からの採血法(2セット採血)

著者連絡先: (〒173-8610) 東京都板橋区大谷口上町30-1

日本大学板橋病院臨床検査部

谷道由美子

TEL: 03-3972-8111 内線 3985

FAX: 03-3972-8137

E-mail: tanimichi.yumiko@nihon-u.ac.jp

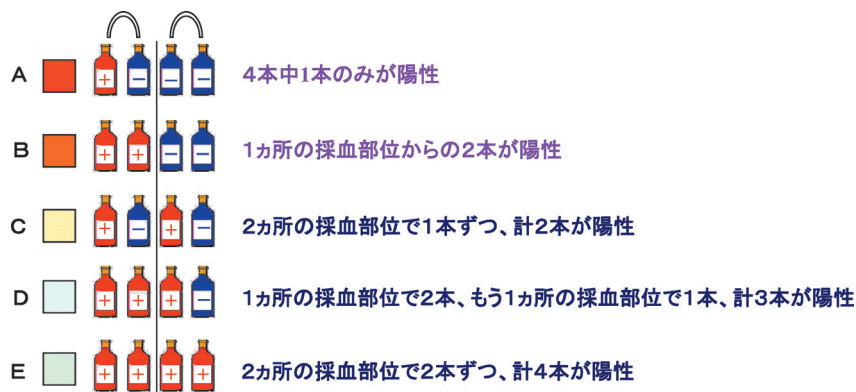


図1 2セット採血陽性検体の陽性ボトル検出パターン

の導入を推奨してきた。今回、1セット採血と2セット採血を実施した血液培養の菌の培養陽性状況を調査し、2セット採血の有用性について検証したので報告する。

対象および方法

2000年1月から2004年12月までの5年間に、日本大学板橋病院の入院および外来患者から採取された血液培養検体23,928件のうち、小児の血液培養検体3,580件を除いた20,348件を対象とした。

血液培養には日本ベクトン・ディッキンソン社(BD)の血液培養装置BACTEC 9240または9120を使用し、培養期間は7日間に設定した。

血液ボトルはBDの92F好気用レズンボトル(好気ボトル)と93F嫌気用レズンボトル(嫌気ボトル)を用い、それぞれ1本ずつを一組として使用した。異なる2カ所の部位から採血され血液培養が実施された場合を「2セット採血」と定義し、血液ボトルはそれぞれの部位で一組を、計二組使用した。採取された血液は空気の混入を防ぐため最初に嫌気ボトル、次に好気ボトルに半量ずつ分注するように指示した。

小児の血液培養はほとんど1回のみ採血が行われ、使用ボトル94F小児用レズンボトル(BD)1本のみであるため、2セット採血との比較調査が困難であることから、今回の対象からは除外した。

1. 血液培養検体数と採血患者の年次推移

2000年から2004年までの5年間における血液培養の依頼検体数と採血患者数の年次推移を調査した。依頼検体数は好気ボトル1本と嫌気ボトル1本の一組を1検体と数えた。

2. 2セット採血の実施率

2000年から2004年までの5年間における2セッ

ト採血の実施件数と実施率を年度ごとに調査した。

3. 1セット採血と2セット採血の陽性率の比較調査

2002年1月から2004年12月までの3年間に採取された血液培養を対象とし、1セット採血(5,613エピソード)と2セット採血(4,988エピソード)の菌陽性率を調査した。

1) 血液培養陽性率

培養陽性率を、1セット採血と2セット採血について調査をした。1セット採血はエピソード1と数え、血液ボトル2本中1本でも菌が培養された場合を陽性とした。2セット採血の場合もエピソードは1と数え、4本中1本でも菌が培養された場合を陽性とした。また、複数菌が陽性になった場合でもエピソードは1と数えた。

2) 菌群別の培養陽性率

1セット採血と2セット採血から検出された菌の検出数と陽性率を調査した。陽性率は1セット採血と2セット採血の総エピソード件数を分母として算出した。

4. 2セット採血陽性検体の陽性ボトル本数と検出パターンの調査

2002年1月から2004年12月までの3年間に2セット採血で菌が陽性だった検体について陽性ボトル本数を調査した。2セット採血の場合血液ボトルは1エピソード4本であるため、陽性ボトルは図1に示したA～Eの5通りのパターンに分けられる。方法3で検出数の多かった腸内細菌科グラム陰性桿菌群(腸内細菌群)、ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌群(非発酵菌群)、黄色ブドウ球菌、コアグラールゼ陰性ブドウ球菌群(CNS)、連鎖球菌群、および*Bacillus*属の6菌群について調査した。

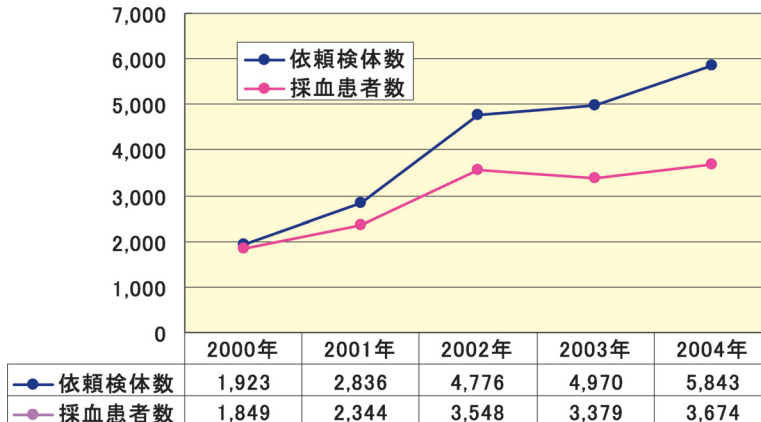


図2 血液培養依頼検体数と採血実施患者の年次推移

結 果

1. 血液培養検体数と採血患者の年次推移

2000年から2004年までの年度ごとの血液培養の依頼検体数と採血患者数を図2に示した。依頼検体数は年々増加傾向を示し、2004年には2000年の約3.0倍となった。採血患者数は緩やかな増加傾向を示し約2.0倍となった。

2. 2セット採血の実施率

2000年から2004年までの2セット採血の実施患者数は、74名、492名、1,228名、1,591名、2,167名であり、2セット採血の実施率は4.0%、21.0%、34.6%、47.1%、59.0%と増加した。

3. 1セット採血と2セット採血の培養陽性率

1) 培養陽性率

2002年、2003年、2004年の3年間における1セット採血と2セット採血の培養陽性率を表1に示した。3年間の平均培養陽性率は、1セット採血14.0%、2セット採血22.1%となり、8.1ポイントの差が認められた。2セット採血の培養陽性率は統計学的に有意であった (χ^2 検定, $p < 0.001$)。

2) 菌群別の培養陽性率

2002年、2003年、2004年の3年間において、1セット採血と2セット採血から検出された菌を9種類の菌群に分類し、それぞれの検出数と陽性率を表2に示した。1セット採血と2セット採血の陽性率に有意差が統計学的に認められた菌群はCNS、腸内細菌群、*Bacillus* 属、非発酵菌群であった (χ^2 検定, $p < 0.01$)。

4. 2セット採血陽性検体の陽性ボトル本数と検出パターン

6菌群についてパターン別に検出数を調査し図3に

表1 1セット採血と2セット採血の培養陽性率

	2002年	2003年	2004年	合計
1セット採血患者数	2,320	1,788	1,505	5,613
陽性患者数	306	231	251	788
陽性率	13.2%	12.9%	16.7%	14.0%
<hr/>				
	2002年	2003年	2004年	合計
2セット採血患者数	1,228	1,591	2,169	4,988
陽性患者数	243	347	514	1,104
陽性率	19.8%	21.8%	23.7%	22.1%

χ^2 値 = 1.72123E-27 となり 0.1%の危険率で1回採血と2回採血の間には有意差が認められる

示した。

1) 腸内細菌群

検出された240株の内訳は *Escherichia coli* 88株 (36.7%), *Klebsiella* spp. 75株 (31.3%), *Enterobacter* spp. 39株 (16.3%), *Serratia* spp. 20株 (8.3%), その他18株 (7.5%)であった。2カ所の採血部位のうち、1カ所のみが陽性 (AとBパターン)であったのは31.3%であった。なお、菌種間での検出パターンに大きな差は認められなかった。

2) 非発酵菌群

検出された93株の内訳は *Pseudomonas aeruginosa* 67株 (72.0%), *Acinetobacter* spp. 9株 (9.7%), *Stenotrophomonas maltophilia* 7株 (7.5%), その他10株 (10.8%)であった。通常、非発酵菌群は嫌気ボトルに発育しないために陽性本数は好気ボトルに発育するA, Cパターンで示される。2カ所の採血部位のうち、1カ所の採血部位の好気ボトル1本のみが発育するAパターンを示したものは41.9%であった。

表2 1セット採血と2セット採血の菌群別培養陽性率

	1セット採血 5,613 エピソード		2セット採血 4,988 エピソード	
	検出数	(陽性率%)	検出数	(陽性率%)
腸内細菌群	208	(3.71)	240	(4.80)
非発酵菌群	55	(0.98)	93	(1.86)
黄色ブドウ球菌群	168	(2.99)	171	(3.26)
CNS	172	(3.06)	319	(6.38)
連鎖球菌群	72	(1.28)	95	(1.90)
嫌気性菌群*	27	(0.77)	35	(1.14)
酵母様真菌	28	(0.50)	30	(0.60)
<i>Bacillus</i> 属	32	(0.57)	83	(1.66)
その他の菌群	34	(0.61)	48	(0.96)
合計	796	(14.18)	1,114	(22.33)

*Propionibacterium を除く

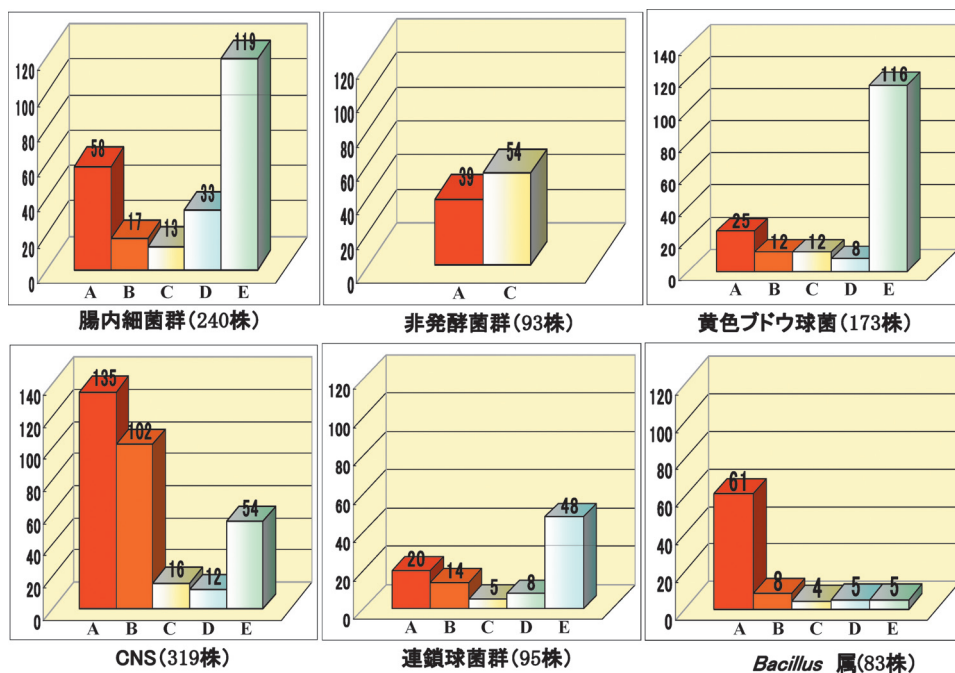


図3 陽性ボトル検出パターン (6菌群)

3) 黄色ブドウ球菌

検出された173株の内訳はMRSAが121株(69.9%), MSSAが52株(30.1%)であった。MRSAとMSSAで検出パターンに大きな差は認められなかった。

4) CNS

検出された319株の内訳は *Staphylococcus epidermidis* 209株(65.5%), *S. epidermidis* 以外のCNS 110株(34.5%)であった。2カ所の採血部位のうち、1

カ所のみが陽性となるAまたはBパターンを示すものが74.3%を占めた。また、*S. epidermidis* 以外のCNSは1本のみが陽性となるAパターンが56.4%(62株)を占めた。

5) 連鎖球菌群

検出された95株の内訳は *Enterococcus* spp. 51株, Viridans streptococci 22株, *Streptococcus pneumoniae* 13株, その他9株であった。4本すべて陽性となるEパターンの割合が50.5%を占めた。*Enterococcus*

spp. の 35.3%, Viridans streptococci の 53.8%, *S. pneumoniae* の 68.2% が E パターンに含まれ、菌種による違いが見られた。

6) *Bacillus* 属

検出された 83 株は 4 本中 1 本のみが陽性となる A パターンに集中した。2 カ所の採血部位ともに陽性となる割合は低く 16.9% であった。

考 察

1 セット採血と 2 セット採血の比較調査により、複数回採血が重症感染症の起病因菌検出に有用であることが再確認された。

2 セット採血における菌陽性率の向上は採血量が 2 倍に増加したことが大きな要因として挙げられる。また、2 カ所の採血部位のうち 1 カ所のみが陽性となる症例が多く存在したことも有意差に大きく影響したと考えられる。腸内細菌群や緑膿菌などのグラム陰性桿菌は採血時に汚染菌として混入する可能性は極めて低いため、検出された菌は起病因菌としての確率が非常に高い⁴⁾。筆者らの成績で、2 カ所の採血部位のうち 1 カ所のみが陽性となった症例は、腸内細菌群で 31.3%、非発酵菌群で 41.9% であった。すなわち、1 セット採血ではこれらの菌群を検出できない可能性があったと推測される。血液ボトルでの発育に偏りが見られる原因として、血液中に存在する菌量の少なかったことが示唆される。特に腸内細菌群が起病因菌の場合は血液 1 ml 中に存在する菌体が 10 個以下であるといわれており⁵⁾、それを裏付けるものと考えられた。グラム陰性桿菌による菌血症例では、腹腔内感染が疑われる場合や感染源が不明の場合も数多く見られ^{6, 7)}、最初に血液培養を行うことが非常に重要となる。また、菌が陽性となった場合の第一報を主治医に行う際には、推定菌群について可能な限りの情報を提供することが重要であると考えられる。筆者らはボトルの発育状況（腸内細菌群は嫌気ボトルに発育するが、緑膿菌など非発酵菌群は嫌気ボトルに発育しないなど）と菌液のグラム染色形態、および他検体の菌検出情報から、腸内細菌群か緑膿菌かを可能な限り推定し報告している。

菌陽性率を向上させるために導入した 2 セット採血ではあるが、必ずしも起病因菌のみの陽性率が向上するわけではなく、採血時の汚染と推測される CNS や *Bacillus* 属の陽性率も同時に増加する結果となった。

2 セット採血において検出頻度の最も高かった CNS は、皮膚の常在菌であるため採血時に混入する可能性が高く、検出菌の 80% が採血時の汚染といわれている¹⁾。しかし、カテーテル関連血流感染症や人

工弁置換後の感染性心内膜炎などの原因菌でもあり⁸⁾、起病因菌か否かを判断することは適切な治療を行ううえで非常に重要である。起病因菌としての判断はボトルの陽性本数に依存するといわれている¹⁾ことから、2 カ所の採血部位のうち 1 カ所のみが陽性であったものを、筆者らは汚染菌の可能性が高いと報告することができた。近年、大城らは検出時間を用いた CNS の起病因菌判断基準を報告⁹⁾したが、ボトルの陽性本数からでもそれが可能であると考ええる。また、CNS が検出された際には、臨床側との情報交換が重要である。血管内留置カテーテルの有無や基礎疾患、使用抗菌薬の種類などの患者情報に加え、ボトルの陽性本数を考慮することが起病因菌か否かをより判断しやすくし、適切な診断と治療につなげられると考えられた。*Bacillus* 属の場合も同様に検出菌の多くが汚染菌と考えられた。*Bacillus cereus* はまれに心内膜炎や敗血症の起病因菌となりうる^{10, 11)}が、2 カ所以上の採血部位から検出されない限りは起病因菌の可能性は低いと考えられる。

また、2002 年からの 3 年間の菌陽性例のうち複数菌分離例は 212 例 (11.2%) であった。これら複数菌分離例は必ずしも真の混合感染例ばかりではなく、検出菌の一部は汚染菌と推測される例も少なくない。212 例のうち 105 例は同時分離菌として CNS または *Bacillus* 属が検出されていた。これらが真の起病因菌か否かを知るうえでも複数回採血は有用であると考えられる。

筆者らの検査室では、血液培養から菌が検出された症例をすべて臨床検査医に報告している。臨床検査医はその情報をもとに病棟をラウンドし、病棟においてグラム染色所見、同定結果、薬剤感受性結果などを考慮し、主治医と十分に情報交換を行い抗菌薬の選択、適正使用などについて助言を行う¹²⁾。臨床検査医が介入することで検査と臨床との連絡が密になり、患者情報や経過を理解することが可能となっている。以前は「血液培養は菌陽性率の低い検査」という印象であったが、2 セット採血による明らかな菌陽性率の向上と臨床検査医のラウンドにより、臨床側の意識が変化し、現在では「血液培養は重症感染症が疑われたら最初に行うべき重要な検査」という考えが浸透したように思われる。

近年、複数回採血を推奨する報告は数多く存在するが^{1), 13), 14)}、コストや診療報酬の査定の問題などから実行することは容易なことではないと考えられる。しかし、当院のように「血液培養は感染症検査の基本である」という考えが定着すれば、2 セット採血の実施は

可能となる。さらに血液培養を行うことで起因菌の決定ができれば、診断的価値の低い検体の細菌検査を減らすことも可能である。より多くの施設が複数回採血による血液培養を実施できるよう、複数回採血を推奨法とする本邦におけるガイドライン設定が望まれる。

文 献

- 1) Weinstein M. P., M. L., Towns, S. M. Quartey, et al. 1997. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: A prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin. Infect. Dis.* 24: 584-602.
- 2) 米国 BD/日本 BD 社. 1998. 日本に於ける血液培養実施状況 (ベッド当たり 1 年間の血液培養実施数). 社内調査データ.
- 3) 山根誠久. 1998. 血液培養検査を取り巻く諸問題 (1). 細菌感染症と血液培養—検査室の対応. *臨床病理* 46: 887-892.
- 4) 小林芳夫. 1995. 検査結果をいかに読むか—血液培養検体について. *The Current Clinical Technologist* 1(1): 7-13.
- 5) Henny, N. K., et al. 1983. Microbiological and clinical evaluation of the isolator lysis centrifugation blood culture tube. *J. Clin. Microbiol.* 17: 864-869.
- 6) 稲松孝思. 1999. 細菌感染—全身感染症, 敗血症, 菌血症. 別冊日本臨床領域別症候群 感染症症候群 I 23: 258-269.
- 7) 船田 久. 2003. 心内膜炎・敗血症—今日の視点から—Febrile neutropenia (好中球減少に伴う発熱). *化学療法の領域* 19(6): 47-53.
- 8) 小林芳夫. 1996. 血液から分離された表皮ブドウ球菌. *検査と技術* 24: 459-462.
- 9) 大城健哉, 内間かおる, 大城涼子, 他. 2004. 血液培養より検出される coagulase-negative staphylococci の陽性検出時間を用いた有意菌判断基準の設定. *日本臨床微生物学雑誌* 14: 177-182.
- 10) 熊田徹平. 1985. 感染症特論 注目の感染症—セレウス菌感染症. *日本臨床 春季臨時増刊号* 43: 985-987.
- 11) 稲垣健二, 稲本賢弘, 福島康晃, 他. 2007. 白血病患者に発症した劇症型 *Bacillus cereus* 敗血症の 1 例. *日本臨床微生物学雑誌* 17: 119-123.
- 12) 矢内 充, 上原由紀, 矢越美智子, 他. 2006. 血液培養の結果の生かし方—臨床検査医の関わり方の紹介をかねて—. *臨床病理* 54: 1059-1065.
- 13) Washington J. A., 1975. Blood cultures. Principles and techniques. *Mayo. Clin. Proc.* 50: 91-98.
- 14) 大城健哉, 松堂裕子, 神田清秀, 他. 2004. 血液培養複数回採血の有用性. *医学検査* 53: 1127-1130.

Increasing two-sets blood cultures and its efficacy

Yumiko Tanimichi, Michiko Yagoshi, Mitsuru Yanai, Yuki Uehara, Naoto Hosokawa,
Kazuo Shimoguchi, Hiroko Yamada, Mutsuko Oosoko,
Sachiyo Yamamoto, Kazunari Kumasaka

- 1) Clinical Laboratory Nihon University Itabashi Hospital
- 2) Department of Laboratory Medicine, Nihon University School of Medicine
- 3) Department of Infection Control Science, Faculty of Medicine, Juntendo University
- 4) Department of Infectious Disease, Kameda General Hospital

Importance of multi-sets blood cultures is indicated so as to increase the positivity rate and help clinical judgment. But in Japan, the importance has not been recognized yet because multiple sets of blood cultures are troublesome and induce an increase in costs. In our hospital, we have encouraged to take two sets of blood cultures. As a result, the percentage of two-sets blood cultures increased from 21.0% in 2001 to 59.0% in 2004. The total positivity rate of two-sets blood cultures (22.1%) was significantly higher than that of one-set blood culture (14.0%, $p < 0.01$). Regarding the isolates, only one of two sets showed positive results in 31.3% of the family Enterobacteriaceae, 41.9% of Non-fermentative Gram-negative rods and 21.4% of *Staphylococcus aureus*, which should be the pathogens of bacteremia when they are isolated in blood cultures. On the other hand, coagulase-negative Staphylococci, which is frequently recognized as

contamination, 74.8% was positive in only one of two sets. In conclusion, two-sets blood cultures are useful to increase the positivity rate of blood culture significantly. Large percentage of essential pathogens can be detected by only one of two sets, and they also help for the interpretation of positive results of coagulase-negative Staphylococci usually recognized as contaminant.