

[総 説]

臨床微生物検査室の効率的な運用と検査法の体系化に向けて

小栗豊子

亀田総合病院臨床検査部

(平成 21 年 4 月 30 日受付)

はじめに

わが国の微生物検査の歴史は 1935 (昭和 10) 年に伝染病研究所講習会より細菌学実習提要在り出版され、これは現在でも微生物検査の基礎技術の基となっている。それから 15 年後の 1950 (昭和 25) 年に厚生省編纂の衛生検査指針が出版され、病原体別検査法が整備された。小酒井は「臨床細菌検査では個々の患者が対象であり、検体から特定の病原菌を検出するのでは不十分であって、検査材料別の病原体検索方法が必要である、また、薬剤感受性検査を迅速に実施するための工夫が当面の問題である」として日常検査のための検査材料別検査法の体系を整え、薬剤感受性検査は簡便に実施できるディスク法を採用して細菌検査技師の教育に取り入れた¹⁾。わが国の臨床微生物検査はこれが礎となり、現在に至っている。

微生物検査技術の発展は目覚ましく多くの検査技術が日常検査に使用可能となり、同定可能な菌種も拡大された。しかし、近年、医療法改正や診療報酬の減額により微生物検査は院内検査室で行わず、外部委託検査する施設が増加した。このような状況下で 2008 年の診療報酬点数の若干の増額は非常な朗報であり、医療施設内感染の問題などで微生物検査の果たす役割の重要性が理解されたものと受け止めたい。微生物検査を外部委託している検査室は多いが、髄液や血液の微生物検査は迅速性が要求される。これらを外部委託検査とした場合、成績の遅延が甚だしく、初期治療に役立つ検査とならないばかりか、患者の命を脅かすことにもなりかねない。微生物検査は院内検査室で行うべき検査である。微生物検査に求められるものは臨床に役立つ良質な情報を提供するためにさらなる効率化と迅速化を追求することであり、2004 年から目的を同じにする本学会会員らで集会を持ち検討を重ねてきた。すなわち、「良質な医療を提供するための微生物検査の質を維持し、迅速性、経済性を考慮した、診断と治療に役立つ検査体制を構築すること」を目的に検討を重ねてきた。これらのなかで①良質な検体を検査すること、検体の品質評価の実施、②検査目的を明確に

する、③迅速検査の活用、なかでも患者検体のグラム染色標本の鏡検、④臨床微生物検査技師の知識、技術のレベルアップ、⑤各種検体検査法の見直しが重要事項となった。本稿ではこれらをもとに検査法の体系化で特に重要な部分について述べてみたい。なお、⑤については紙面の都合上、呼吸器系材料のうちの喀痰を取り上げる。

1. 患者検体採取法と品質管理、リジェクションルールの作成

どんなに優れた技術で検査をしても用いる検体が検査に耐えうる検体でなければ診療に役立つ結果は得られない。喀痰として提出された唾液検体、綿棒に微量に付着した糞便、膣の常在菌である *Lactobacillus* spp. が多数混在している女性の中間尿などは日常しばしば経験される。検査をする前に検体の品質の評価を綿密に行う必要がある。評価の結果、問題のある検体は依頼医師(または看護師)に説明し、対応を決めなければならない。忙しさにまぎれ、問題のある検体と知りながら惰性で検査をしていないだろうか。このような状況では検査の結果の信頼性は失われ、誤った診断、誤った治療がなされる可能性がある。検体を受領し、品質評価で問題ありと判断された場合は、面倒がらずに必ず依頼者に連絡する習慣をつけることが大切である。問い合わせた結果、こちらの意に沿わず、やむなく検査をすることになるかもしれない。このような場合には「不適切な検体であったことをコメント欄などにメモし、医師に確実に伝える必要がある。検体の品質評価で見つかる問題点には重大なものから些細なものまでいろいろある。些細なものは電話連絡をしなくとも、コメント欄に記載することで済ませることができる。電話連絡する事項とコメント欄で対応する事項については施設内で決めておき、スタッフの統一を図る必要がある。なお、結果のコメント欄が使用できない施設は医師や看護師とどのように連絡をとるかを考えなければならない。検体の品質評価で発生するこれらの問題は、いわゆる「検査のリジェクション

表 1. 検体検査リジェクションルール

要因	具体例
検体ラベルの記載不備または欠如	<ul style="list-style-type: none"> 日付, 所属, 氏名, 材料名 (具体的) の記載が不備 血液, 膿・分泌物では採取部位が記載されていない
長時間の室温放置, 長時間輸送 (鮮度低下検体)	<ul style="list-style-type: none"> 2 時間以上室温に放置された中間尿 乾燥した検体 (微量検体または綿棒) 採取日が 1 日以上前の検体
採取容器が不適当	<ul style="list-style-type: none"> 未滅菌容器に採取された検体 嫌気性菌検査が依頼されているが通常容器に採取
容器からの検体漏れ	<ul style="list-style-type: none"> 容器にリークがあり, 検体が漏れている 容器に血液などが付着している
異物の混入が明白	<ul style="list-style-type: none"> 痰や糞便で紙やラップでくるんである 水道水の混入した糞便
検体提出の重複	<ul style="list-style-type: none"> 同一患者で同じ種類の検体が複数提出 (血液を除く)
量不足の検体	<ul style="list-style-type: none"> 微量検体
異常のある検体	<ul style="list-style-type: none"> 喀痰と記載されているが綿棒で提出 胆汁と提出されているが無色の液体
血液培養	<ul style="list-style-type: none"> 24 時間で 1 セットの培養 通常ボトルで明らかに摂取量が多すぎるもの
髄液	<ul style="list-style-type: none"> 白血球数, ブドウ糖, タンパク質が正常域の抗酸菌検査
喀痰	<ul style="list-style-type: none"> 唾液様検体, 咯血の血液
糞便	<ul style="list-style-type: none"> 入院後 3 日以上経過した一般下痢症培養, 寄生虫検査 (下痢などの消化器症状で入院した場合を除く) 綿棒で採取された検体 有形便の <i>C. difficile</i> Toxin の検査

注: 上記の表は一部の例である。不適当な検体は提出者に連絡し, 再提出ができればお願いするなどの処置が必要である。

(拒絶) ルール」ともいえるもので, これらを検査側と臨床側との合意で作成し, これらに沿って運用することにより目標に近づけることができる。表 1 にしばしば経験されるものを含めその一部を示す^{2, 3)}。

検体採取法については検査室側がマニュアルを作成して臨床側に提示し, 協議のうえ, 各施設で運用しやすいものにするのがよい⁴⁾。また, 検体の保存法や輸送法も検査成績に大きな影響を及ぼすことから, これらも加えなければならない。これらは院内の勉強会などを通じて周知徹底していくのがよい, 検体採取法の詳細は省略するが, 常在菌の混入が避けたい検体の採取法については細かな注意が必要である。主な検体の輸送・保存の注意点を表 2 に示した。

2. 検査目的の明確化と患者情報の入手

日常検査の目的は①感染症診断, ②治療後の経過観

察, ③易感染患者の監視培養の三つが主なものである。特に③は①・②とは検査法や目的菌が異なるいわば異質の検査である。監視培養は糞便や咽頭粘液で実施されることが多いが, 検査は常在菌をも含めた菌叢を知ることが目的となる。②ではすでに決定された起炎菌に対し治療を行い, その菌の消長を知ることが目的である。したがって, 検査は単にグラム染色所見のみで済むこともあり得るし, 培養検査を行った場合は起炎菌と決定された菌の同定は集落からの推定同定, 感受性検査は省略できる場合もありうる。

検査室側で患者情報がどの範囲まで入手可能かは施設により異なるが, 通常, 入手できるものとしては検体採取日, 入院・外来, 診療科, 患者名, 性別, 年齢, 検体名が挙げられる。検査を進めるうえで不可欠な情報として, ①感染徴候の有無, ②疾患名・主症状⇒(起炎菌の推定に必要である), ③抗菌薬使用の有無・

表 2. 細菌, 真菌を対象とした患者検体の採取と保存

材料	採取容器	採取量	保存法	備考
血液	血液培養ボトル	15~20 ml/1回 新生児 (2 ml/1回)	速やかに検査室へ 輸送し, 機械にセット (35°C)	2本のボトル (好気用, 嫌気用) に接種. 採血後は速やかに機械に セットする. 冷蔵保存は不可. 24時間以内に2~3セットを培養. 抗酸菌検査は通常の培養ボトルは不可, 専用のボトルを用いる.
髄液	滅菌試験管 必要に応じて嫌気性菌 検査専用容器	細菌 (≥1 ml) 真菌 (≥2 ml) 抗酸菌 (≥2 ml)	細菌: 孵卵器 (35°C) ウイルス: ≤3日 4°C	検体量は微量でも検査できるが, 微生物の検出感度は低下する. 髄膜炎菌は低温では死滅しやすい. 脳膿瘍の膿汁は嫌気培養, 原虫, 寄生虫の検査を併用. ウイルス検体の長期保存は-70°C以下.
穿刺液 (胸水, 腹水, 腹水, 膿瘍・嚢胞内 菌節液, 膿瘍・嚢胞内 容など)	滅菌試験管 必要に応じて嫌気性菌 検査専用容器	細菌 (≥1 ml) 真菌 (≥10 ml) 抗酸菌 (≥10 ml)	≤15分: 室温 ≤24時間: 冷蔵庫 (4°C)	膿性で悪臭のあるものは嫌気培養を追加する. 真菌の検査が必要な場合は孵卵器保存. 遠心して沈渣を検査する.
CAPD 排液	滅菌試験管または血 液培養ボトル	5~10 ml	≤15分: 室温 ≤24時間: 冷蔵庫 (4°C)	遠心して沈渣をグラム染色, 培養検査. 5~10 ml を血液培養ボトルに接種.
膿・分泌物 (眼, 耳・鼻漏, 皮膚, 創部, 潰瘍部, 生殖器)	綿棒採取 必要に応じて嫌気性菌 検査専用容器	≤1 ml	≤2時間: 室温 ≤24時間: 冷蔵庫 (4°C)	眼脂は15分以内に検査することが望ましい. 乾燥を防ぐ. 創部は深部より採取. スワブは輸送培地を用いる. 淋菌を検査する場合には直ちに提出.
尿 (中間尿, カテーテル 尿, 膀胱穿刺尿など)	滅菌試験管	≥1 ml	≤24時間: 冷蔵庫 (4°C)	患者に採尿方法を十分説明する (特に女性). 蓄尿の一部は不可. ユリココレクシヨソキニット: 24時間室温保存. ただし, 淋菌, 抗 酸菌は使用不可.
胆汁 (PTCD 胆汁など)	嫌気性菌検査専用容器	5~10 ml	≤24時間: 冷蔵庫 (4°C)	チフス菌, パラチフス A 菌が検出される場合があるので注意.
糞便	採便カップ	拇指頭大 (3~5 g)	≤数時間: 室温 ≤24時間: 冷蔵庫 (4°C)	海外渡航者の糞便はその旨, 検査室に必ず知らせる. 綿棒による採取はできるだけ避ける (検出感度が低下). <i>Clostridium difficile</i> の培養が必要な場合は嫌気性菌専用の容器に 入れ, 直ちに提出. 毒素検査用検体の長期保存は-70°C以下. 輸送培地に入れた検体は≤24時間までは室温でもよい. 直腸粘液の淋菌検査は Stuart 培地に入れ室温保存 (≤24時間)
喀痰	採痰容器	細菌 (≥1 ml) 真菌 (≥3~5 ml) 抗酸菌 (≥5~10 ml)	≤24時間: 冷蔵庫 (4°C)	採取方法を十分に説明 (採取前にかいををし, 口腔内を清潔にす る). 膿性痰が検査に適する. グラム染色標本の 100 倍鏡検で上 皮細胞 ≤10/L 視野以下, 白血球 ≥25/L 視野.
咽頭粘液 (扁桃周囲膿 瘍など)	滅菌スワブ (Amies の培地または Stuart 培地に入れる)		≤24時間: 冷蔵庫 (4°C)	乾燥を防いで, 直ちに提出. 扁桃周囲膿瘍が疑われる場合は嫌気性菌専用の容器を用いる. 淋菌検査が必要な場合は室温保存.
カテーテル先端 (血管 内カテーテル, シャン トチューブなど)	滅菌試験管	先端部分を 5~6 cm	≤24時間: 冷蔵庫 (4°C)	血管内カテーテル (IVH, CVP, Swan-Ganz など). 滅菌生理食塩液を 1~2 ml 添加し, 乾燥を防いで, 直ちに提出. 半定量培養.

種類⇒ (i. 検体の希釈: 本来無菌の検体は液体培地で希釈, ii. 塗抹陽性・培養陰性, 培養日数の延長などを考慮して検査する), ④易感染患者か否か⇒ (常在菌叢の報告, 日和見病原菌は少数でも報告する), ⑤海外渡航歴⇒ (輸入感染症の原因菌を考慮した検査法を選ぶ), などを挙げることができる。このほか, 人畜共通感染症の原因菌が検出された場合は検査室側から医師のほうに尋ねることになるかもしれない。患者カルテを検査室の端末から参照できる施設ではこれらの情報を得ることは比較的容易である。

3. 迅速検査の活用

感染症の早期診断・治療を実現するためには迅速性が要求される。培養検査は最も信頼性の高い検査であるが日数を要することが欠点である。患者検体の塗抹検査は迅速に成績が得られ, しかも安価であることから最も使用しやすい検査と言える。患者検体の塗抹検査はグラム染色, 抗酸菌染色, 墨汁法, ラクトフェノール・コットン青染色, 生鮮標本などがよく用いられる。なかでもグラム染色は迅速診断のツールとして非常に利用価値が高い方法である⁵⁻⁷⁾。しかし, 報告の仕方により, 検査成績の診断的価値に大きな格差が生ずる。その結果から感染症が疑われるのか, 起炎菌はどこまで絞りこむことができるかで格差を生じやすい。個人の塗抹検査の技術力を向上させることにより, 検査の効率化達成に大きく近づけることができる。

このほか, イムノクロマト法を用いた微生物の抗原検出検査が POCT (point of care testing) として開発され, 普及している⁸⁾。これらを活用することにより, 効率の良い検査法の体系化が可能になる。

1) 患者検体のグラム染色の鏡検に強くなるために

グラム染色は感染症の起炎菌を迅速に推定するのに有用であるが, 標本の観察や菌属・菌種の推定には熟練を要する。また, 菌数の少ない場合や難染性の菌種は検出漏れになりやすい。一方, 塗抹検査は一見, 培養検査に劣ると見られがちであるが, 培養検査よりも優れた点のあることも忘れてはならない⁹⁾。第1には迅速性で培養検査に勝り, 第2にグラム染色で判定できる生体細胞の種類, 特に白血球の多少は感染徴候を知るうえで大切な情報となり, また, 喀痰では扁平上皮細胞の多少は検体の品質管理に役立つ。これらは培養検査では知りえないものである。第3に, 時折得られる“塗抹陽性, 培養陰性”の結果が得られた場合には, 抗菌薬投与中に検体採取が行われた可能性が示唆され, また, 実施した培養検査で検出できなかった菌,

例えば, 嫌気性菌, 百日咳菌などの存在を検出漏れから防ぐこともできる。このように検体のグラム染色は培養検査の結果の解釈に欠かせないものであることから, 培養検査と並行して検査しなければならない。培養検査のみオーグされた検体 (糞便を除く) は検査室側から注意を促す必要がある。

・方法: グラム染色法は現在, わが国では3種の方法が主流で, ① Hucker の変法, ② Bathrolomew & Mittwer の変法 (パーミー法, 山中法), ③ フェイバー法 (西岡法) である¹⁰⁾。表3にこれらの方法の概要を示した。①, ②の方法は色素と試薬はほぼ同様であり, 染色操作も大差はない。③は従来のグラム染色とは全く異なる方法であり, 用いる色素, 試薬も全く異なっている。③の欠点は膿性の強い材料やタンパク質濃度の高い穿刺液ではピクリン酸の結晶が細胞などの検体に付着し, 判定不能になることである。しかし, 従来のグラム染色と比較すると①操作のステップが少ないことから, 迅速に染色が完了すること, また, ①, ②の染色法で見つけにくいムコイド型緑膿菌, *Nocardia* spp., カビの菌糸が観察しやすいなどの利点がある。

・均一な染色条件の確保: グラム染色場所は以前から色素により汚れる宿命を背負ってきた。流しが色素で汚れているのは細菌検査室の代名詞とも言えそうである。もう1点は, グラム染色は化学反応であるから, 色素や試薬の作用時間が極端に長すぎると染色結果を誤ることである。これらの二つの欠点を解消するのが自動染色機であるが, あまり普及していないのが現状である。図1は自動染色機のI種であるが, 一度に20枚の標本が3分以内に染色から乾燥まで終了

表3. グラム染色法

手順	ハッカーの変法 (パーミー法*)	フェイバー法
ステップ1	塗抹, 乾燥, 固定	塗抹, 乾燥, 固定
ステップ2	クリスタル紫液 (シュウ酸アンモニウム)* にて染色, 水洗	ビクトリア青液にて染色, 水洗
ステップ3	ルゴール液を作用させ, 水洗	ピクリン酸エタノールを作用させ, 水洗
ステップ4	アセトン・アルコールを作用させ, 水洗	
ステップ5	サフラニン液またはバイフェル液にて後染色, 水洗	サフラニン液またはバイフェル液にて後染色, 水洗

できる。染色中は他の作業ができてたいへん便利であるが、価格は高い。図2は手動のグラム染色セットで、気をつけて扱えば流しの汚れを防ぐことができ、また、一度に20枚の標本が同時進行で染色できる。染色液により、多少の時間差はあるが、一つの液の中で標本カゴを12~14回、静かに上下させた後、後ろのドーゼに水道水を弱く流しておき、この中で洗浄する。なお、染色液の汚染を防ぐため、各ドーゼのフタはカゴを入れる寸前に開けること、カゴを出したらすぐに閉めること、水洗後はろ紙などでカゴの水分をよく取ってから染色液や試薬に入れるなどの注意が必要

である。これらのセットは2万円代でそろえることができる。

・迅速診断につながる報告の仕方を念頭に：グラム染色の鏡検ではまず標本が正しく染色されていなければならない、これには生体細胞がグラム陰性に染色されていることが参考になる。生体細胞は扁平上皮細胞、白血球などの数量を観察する。また、気道の線毛細胞、マクロファージ、陰分泌物ではクルーセルに注意する。好中球が多いことは感染症が推定されるが、好中球が少ないまたは見当たらないからといって、感



図1. グラム染色の自動染色装置 (ミダス III)

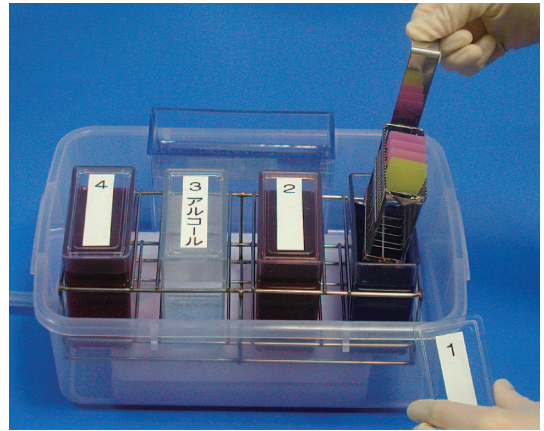


図2. 手動グラム染色セット

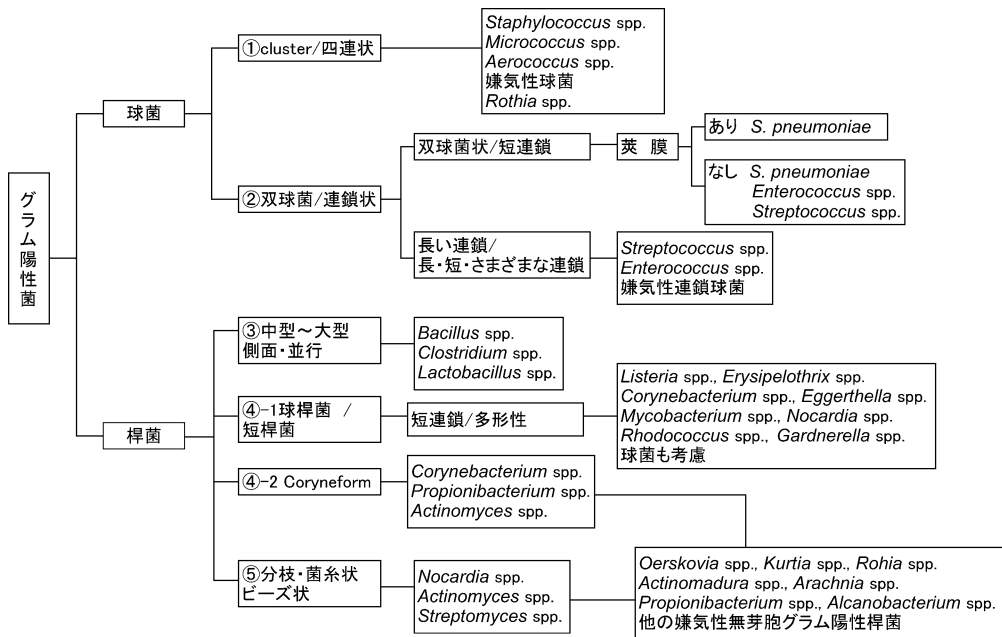


図3. 形態学的性状によるグラム陽性菌の推定

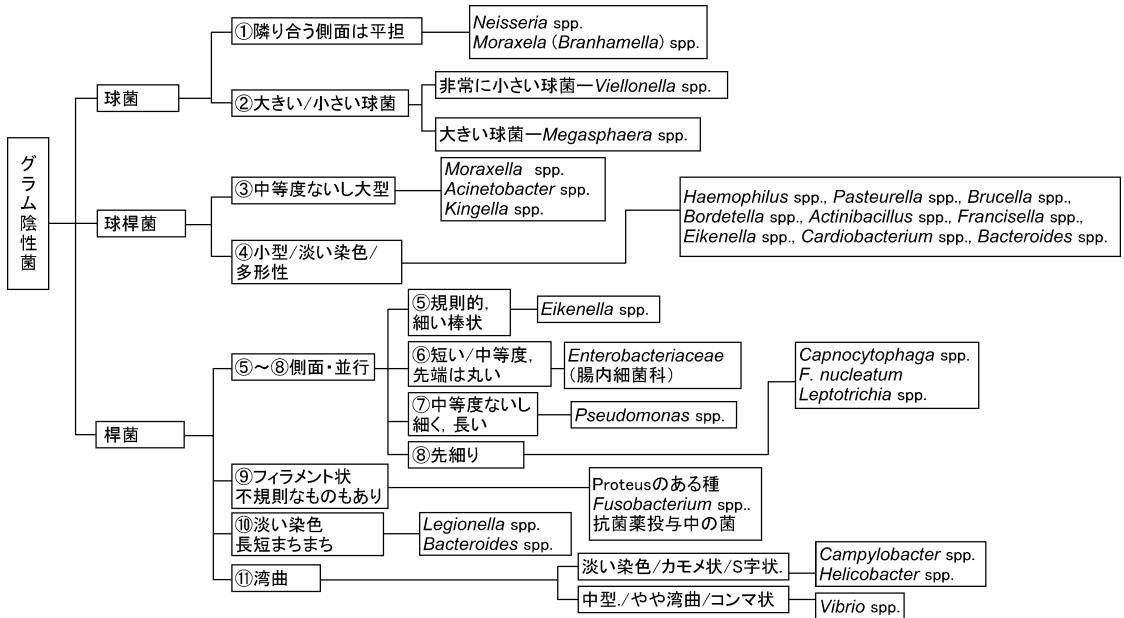


図4. 形態学的性状によるグラム陰性菌の推定

感染症を否定する根拠にはならない(免疫不全患者, 白血球減少患者, 細菌の毒素性疾患では好中球がみられないことがある)。白血球があれば起炎菌はこの近くに認められるはずである。起炎菌は好中球に貪食されて認められることがよくあるが, 貪食像がないからといって起炎菌を否定してはならない。例えば肺炎球菌は貪食像がみられることはほとんどない。一方, ブドウ球菌は貪食されやすい菌種といえる。主要な細菌の形態学的特徴からみた菌種の推定法を図3と図4に示した¹¹⁾。グラム染色標本からの起炎菌の推定は, 標本の鏡検のみで推定できる場合もあるが, 検体の種類, 患者の臨床症状などの情報と併せて判断しないと難しい場合もある。標本の鏡検により得られる情報を臨床診断に役立つようにコメントできるようになるためには熟練を要する。このための知識や技術をレベルアップし, 診断と直結するような結果が出せるよう研鑽しなければならない。

2) POCTの導入

感染症の迅速検査として多数の検査が開発され, 市販されている。抗原検出検査としてはインフルエンザウイルス, 大腸菌 O157, A 群溶血連鎖球菌, 細菌性髄膜炎の主要菌種, *Clostridium difficile* トキシンの検査, *Cryptococcus neoformans* の検査, 肺炎球菌とレジオネラの尿中抗原検査, アデノ, RS, ロタ, ノロの各ウイルス抗原検査はよく用いられる。なお, これら

の中には感度の低いものもあり, 陰性結果はその感染症を否定できることにはならない点も常に念頭に置かなければならない。逆に陽性結果が得られた場合も偽陽性もみられることから, 臨床症状と照合して解釈する必要がある。

4. 臨床微生物検査技師の知識, 技術のレベルアップ

臨床微生物検査の効率化を進めるうえで欠かせない重要な点として熟練技師の育成を挙げることができる。微生物検査結果の信頼性, 迅速性, 経済性を高めるには技師の技量が大きく影響する。検査結果に対する臨床上有用な解釈やコメントは教育と熟練により養われる。教育目標を設定し綿密なカリキュラムを組み, 実行・評価することにより技師の効果的な育成が達成できるものと考えられる。最近, 検査室では業務マニュアルの作成が行われている。マニュアルは不可欠なものであるが, これだけでは綿密な教育成果を上げることはできない。そこで, 教育プログラムを作成し, 一定期間のトレーニング後, 評価する。

・プログラムの内容: 検体受付など各施設での業務分担項目のほか, 微生物の基礎知識や技術, 滅菌・消毒, 感染対策など業務を遂行するうえで欠かせない知識や技術, さらにパニック値, 微生物の学名, 学会発表や資格取得なども含める。それぞれの項目の一般

教育目標 (GIOs) と具体的行動目標 (SBOs) を設定する。これらは最初は思いつくものを挙げておき、運用後に改定を重ねることでよりよいものとなる。

・**トレーニング:** 1カ月、3カ月など一定の期間を設ける。

・**評価:** 自己と他者 (主任技師または熟練者) の2名で行う。例えば1人の技師に対し、自己と主任技師と個別に行う。評価は1~5点 (1,2は努力を要する, 3は普通, 4,5は優れている), またはA, B, Cの3段階などが考えられる。他者の評価は実技の観察, 口頭試問で行う。

教育プログラムに沿ったトレーニングは個人の目標がはっきりするので意欲が増すこと, 綿密な技術の調整ができる, 受講者間で平等なトレーニングができるなど大きな効果が期待できる。また, 検査室間のローテーションもさることながら, ベテラン技師の養成も並行して行う必要がある。

5. 検査材料別にみた検査の効率化

1) 喀痰

・**検体採取法:** 喀痰は適切な採取法の周知徹底が必要であり, また, Miller & Jones の方法¹²⁾ や Geckler の方法^{13, 14)} による品質管理を行う。検体採取では一般的な注意のほかに, 患者自身で採取可能な場合は義歯は外し, 水道水で2~3回よくうがいをしてもらい, 口腔内を清潔にしてから採取すること, 大きく咳をして下気道からの分泌物を採ること, 唾液や鼻汁を入れないことがポイントとなる。また, 一般細菌検査の場合は誘発痰は推奨できない。誘発痰は結核菌検査やニューモシスティス肺炎などの検査に用いられる。一方, 寝たきり患者などでの吸引痰の採取も先の採取と同様, 口腔内を清潔にしてから行わなければならない。吸引痰は最初の吸引では汚染菌が多く混入する可能性があるため廃棄し, 深部からのものを検査に供する。

・**品質の評価:** 肉眼的観察による Miller & Jones の分類, グラム染色標本を100倍で鏡検して行う Geckler の分類は必ず実施すべきである。肉眼的観察では唾液様の検体や喀血の血液は不適切な検体であり, 依頼医師に連絡し, 検査を中止し, 再提出をお願いすべきである。Geckler の分類による品質評価ではグループ1と2は一般的にみて不適切と考えられるので, 依頼医師に連絡して検体の再提出をお願いし, 少なくとも培養検査は省略する。なお, 検体のグラム染色標本で線毛上皮細胞が認められたことは, 少なくとも気道分泌物を反映していると考えられるので培養検査

を実施するとの考え方もある。また, 免疫不全などの易感染患者ではこれらの基準は適応外となる。

・**塗抹検査:** 喀痰のグラム染色は良質な検体が採取できれば起炎菌の決定にたいへん有用であり, また, 治療効果の判定にも用いることができる。当然のことではあるが, グラム染色には均質化していない検体を用いなければならない。

・**培養検査法:** 喀痰の均質化は, 検体中の病原菌の分布が不均一なこと, 粘稠性の喀痰は培地に均一に接種するのが困難なことから, 実施すべき処置である。なお, 微量の検体や, 均一でさらさらした検体では不要である。洗浄喀痰を用いる方法は面倒なこと, 危険なこと, 費用の面などを考えると, 利点はあるものの, 必要に応じ行うべき処置とするのが適当と思われる。血液寒天培地 / チョコレート寒天培地の炭酸ガス培養は菌の集落を大きく発育させ, 取扱やすくするため行うべきである。観察日数は1日目で行い, その後, 再度培養し, 少なくとも2日間は観察する。特殊な微生物の検査が依頼された場合には, 最低1週間観察すべきである。例えば真菌が依頼された場合は真菌分離培地 (ポテト・デキストロース寒天培地, またはサブロー寒天培地, グラム陰性桿菌などの汚染の激しい材料はクロモアガー・カンジダ) が追加される。これらの培地は1週間観察するが, 同時に用いている血液寒天培地 / チョコレート寒天培地, BTB 乳糖寒天培地も一緒に観察すべきである。真菌はこれらの培地に発育するので, 集落数が少ない場合, コンタミネーションか否かの判定に役立つ。また, 塗抹検査で起炎菌として推定した菌が, 発育してこない場合はその理由を追及し, 特殊培地の追加や培養法の検討, 培養日数の延長などの処置が必要である。

・**培養・同定, 薬剤感受性検査を省略する場合:** ① 検体の肉眼的観察で唾液様の痰, 喀血の血液は検体の再提出をお願いする, ② 治療効果の経過観察に提出された喀痰で, グラム染色したが菌が認められない場合の培養検査は省略する, ③ Geckler の分類の1, 2群はグラム染色までにとどめ培養検査を省略する, ④ 喀痰で菌量の少ない菌は集落性状による推定同定にとどめ, 薬剤感受性検査を省略する, ⑤ 同一患者で頻回に同一菌種が分離された場合は, 集落からの推定同定にとどめ, 感受性検査を省略する, などが検討事項として挙げられている。これらは画一的に実施するには無理なものもあり, 臨床側との合意で決断すべきである。

おわりに

以上、臨床微生物検査室の効率的な運用と検査法の体系化に向けて重要と考えられる部分を解説した。これらのなかには「必要なことは理解しているが、実行に移すのは難しい」と感じるものがほとんどであるかもしれない。限られた人数で膨大な検査作業をこなすという環境の中で、「良質な医療を提供するための微生物検査の質を維持し、迅速性、経済性を考慮した、診断と治療に役立つ検査体制を構築する」ためには何が最も大切かということを再認識すると、以上、述べたことが見えてくるのではないだろうか。

文 献

- 1) 小酒井 望. 1959. 臨床検査技術講座 第4巻 細菌学, 金原出版.
- 2) Barenfanger, J. B. 2000. Quality in, quality out: Rejection criteria and guideline for commonly (mis) used tests. *Clin. Microbiol. Newsl.*, 22: 65-72.
- 3) 山根誠久. 2000. これからの迅速検査. *臨床と微生物* 27 (増刊号): 593-596.
- 4) 山口恵三, 小栗豊子. 2000. 微生物検査のための検体採取法. 採取・輸送・保存・検査オーダ. p. 1-67, 国際医学出版, 東京.
- 5) York, M. K. 2004. Gram stain. In Isenberg, H. D. (ed.), *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 2nd ed. (Vol. 1). American Society for Microbiology, Washington D.C.
- 6) 菅野治重. 2009. 微生物検査. 感染所見の読み方. 1. 感染のメカニズム. *検査と技術* 37 (増刊号): 916-918.
- 7) 山口恵三, 小栗豊子. 2009. グラム染色のできる起炎菌の迅速推定同定. 標本作成から鏡検所見の解釈まで. p. 1-119, 国際医学出版, 東京.
- 8) 西山宏幸. 2004. これからの微生物検査. 免疫学的手法を用いた抗原検出. *臨床と微生物* 31 (増刊号): 599-609.
- 9) 小栗豊子. 2007. 感染症迅速診断のためのグラム染色の検査法と意義. *小児外科* 39: 1035-1040.
- 10) 小栗豊子. 2008. 感染症の迅速診断としての塗抹検査. 1. グラム染色. *臨床微生物検査ハンドブック* (第3版) p. 8-12, 三輪書店, 東京.
- 11) 小栗豊子. 2009. 誰でもわかる微生物検査の実際. 細菌(1)血液培養. *感染症* 39: 229-239.
- 12) Miller, D. L., R. Jones. 1963. A study of techniques for the examination of sputum in a field survey of chronic bronchitis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 88: 473-483.
- 13) Geckler R. W., D. H., Gremillino, C. K. McAllister et al. 1977. Microscopic and bacteriological comparison of paired sputa and transtracheal aspirations. *J. Clin. Microbiol.* 6: 396-399.
- 14) 三澤成毅. 2004. 患者検体の品質管理. 染色標本でみた品質管理. Geckler の分類, ASM の Q スコア. *臨床と微生物* 31 (増刊号): 477-482.