

[総 説]

感染症診断に向けた微生物検査
—米国のガイドラインを通して、本邦での今後を模索する—

吉田 敦¹⁾・千原晋吾²⁾・奥住捷子¹⁾

¹⁾ 獨協医科大学感染制御センター，感染制御・臨床検査医学講座

²⁾ 南イリノイ大学感染症科

(平成 25 年 11 月 18 日受付)

米国 IDSA は，微生物検査での適切な検体採取，保存・搬送，望ましい検査法について，「感染症診断のための微生物検査利用ガイドライン」を刊行した。適切に微生物検査を行うことで感染症診断の質を高め，治療と予後の改善につなげることが目的である。一方，不適切な検査と治療を避け，医療費を抑制するねらいもある。臨床側，検査室側の密なコミュニケーションと，両者の前向きで，建設的な関係が基本かつ重要である。本稿ではその内容を踏まえ，本邦での今後の方向性について考察した。

Key words: laboratory diagnosis, physician-laboratory communication, specimen processing

本年（2013 年）7 月，米国感染症学会（IDSA）は米国微生物学会（ASM）と合同で，「感染症診断のための微生物検査利用ガイドライン（A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases : 2013 Recommendations by the IDSA and the ASM）」を刊行した。適切な検体の種類と採取，保存・搬送，望ましい検査といった内容が含まれているが，細菌・真菌にとどまらずウイルス，リケッチア，寄生虫まで広範な微生物を包含している¹⁾。感染症診断のために必要不可欠であるのはもちろん，その根幹をなすと言ってもよい微生物検査について，なぜ改めてガイドラインが刊行されたのであろうか。本稿ではそれが目指す微生物検査について述べ，その意図と目的を掘り下げながら，感染症診断のために望ましい微生物検査とは何か，本邦における将来像を望みつつ，考察したい。

1. 微生物検査利用ガイドラインの目指すもの

微生物そのもの，ないしその抗原・核酸，それに対して産生された抗体を検出し，原因微生物を明らかにし，確定診断と治療に寄与することが，微生物検査の基本的な目的である。本来の目的からすれば，日常しばしば見受けられるアクティブサーベイランス・保菌調査や，耐性菌検出のための検査は，その目的には該当しない。

本ガイドラインはその冒頭において，臨床微生物学は他の臨床検査と異なり，「複雑化する事象を解釈し，判断する科学」と述べている。自動同定器械の導入や，微生物学でのゲノミクス，プロテオミクスの進歩があっても，微生物検査の解釈は，患者から採取・提出される検体の質に依存するものである。微生物が発育，増殖し，死滅する過程は非常に早く，これが検体採取，輸送，処理までの経過の途中におこれば結果はおのずからその影響を受けてしまう（表 1）。

一方で臨床側，特に担当医は検査室側からの結果について，正確かつ臨床的に有用な情報を求めている。そして「何が検出されたのか」ばかりでなく，「検出菌にはどんな意味があるのか」についても知りたいものである。しかし中には，「治療適応か」，「適応ならばどのような抗微生物薬が最も有効か」，「感染予防策や伝播性はどうか」についても検査室側に回答を求めてしまうことがある。

著者連絡先：(〒321-0293) 栃木県下都賀郡壬生町北小林 880

獨協医科大学感染制御センター，感染制御・臨床検査医学講座

吉田 敦

TEL: 0282-87-2418

FAX: 0282-87-2416

E-mail: yoshidaa-ky@umin.ac.jp

表1. 輸送上の注意点

検体の種類	用いられる(必要な)検体	容器, 温度, 理想的な搬送時間
好気培養	①組織, 体液・貯留液, 生検など ②(次の手段として) スワブ* (ぬぐい)	滅菌容器, 室温, すぐに スワブ培地, 室温, 2時間
嫌気培養	①組織, 体液・貯留液, 生検など ②(次の手段として) スワブ* (ぬぐい)	滅菌した嫌気性菌用容器, 室温, すぐに 嫌気用スワブ培地, 室温, 2時間
真菌・抗酸菌培養	①組織, 体液・貯留液, 生検など ②(次の手段として) スワブ(ぬぐい) (真菌, 表在性の抗酸菌感染のみ)	滅菌容器, 室温, 2時間 スワブ培地, 室温, 2時間
ウイルス培養	・組織, 体液・貯留液, 生検など ・スワブ(ぬぐい)*	ウイルス輸送用培地, 氷上, すぐに ウイルス用スワブ培地, 室温, 2時間
血清検査	血清 5 mL	血清用のチューブ, 室温, 2時間
抗原検査	各々のマニュアルに従う	密閉した容器, 室温, 2時間
核酸検査	・血漿 5 mL ・その他の検体	EDTA 入りのチューブ, 室温, 2時間 密閉した容器, 室温, 2時間

*flocked swab を推奨している。flocked swab は表面がげば立っているもので、一旦ぬぐって吸着した検体を液中で懸濁させやすい点が優れている。

(バイオテロリズムに関連する病原体が疑われる場合には、CDC のウェブサイトを参照のこと。)

「臨床側」と「検査室側」の建設的な相互関係がきわめて重要であり、それが適切な感染症診断のために不可欠であるというのは、このガイドラインでも改めて強調されている。しかしながら上記の「解釈し、判断する科学」である臨床微生物学の立脚には、臨床側からは「適切な臨床情報の提供」が必要であり、検査室側からは「検査結果(進行状況)の積極的な発信」が求められ、両方の情報を統合して、解釈、判断がなされるべきといえる。なお患者の状況は刻々変わりうるものであるため、臨床側と検査室側のコミュニケーションは新しい変化、より詳しい情報を反映して頻繁に行われ、それによってより適切な方向に方針が調整されていくのが望ましい。

2. 検体採取とその注意点

このガイドラインでは、原因微生物を決定し、しっかりした診断を確定するためには、適切な検体採取に大きな重点を置くべきとして、10個の信条(tenets)を挙げている(表2)。この中で特筆すべきなのは、検査室側の専門性から見て不適切な検体、依頼については明確に方針を決定していること、さらに検査室の独立性も認めたいので、検査室・臨床側がお互いを尊敬し、よいコミュニケーションを取りつつ、協調・連携する姿勢を打ち出していることである。

検体採取・処理・解釈・報告上の注意点が詳細に述べられている中で、以下では本邦での検査状況に関連

する事項を中心に抜粋する。

(1) 血流感染症

血液培養は採取後なるべく早く検査室に運ぶ。自動で連続的にモニターする血液培養装置を用いている場合、多くは48時間内に陽性になるため、6日以上培養を継続する必要のあるものは少ない。しかし抗酸菌や二相性真菌の中には長期に培養を継続する必要があるものもある。糸状菌では特殊な培地や lysis-centrifugation 法(血液をサポニン入り遠心管に入れ、溶血・遠心した後、沈渣を回収し、寒天平板に接種する方法)が必要である。なお Candida 血症が臨床的に疑われる例において、培養が陽性になるのは半数にとどまる。また肺炎球菌などのグラム陽性菌は嫌気性ボトルの方が発育しやすい。

感染性心内膜炎では、ほとんどは現行の血液培養で十分捉えられるが、Bartonella では lysis-centrifugation 法や血漿を用いた核酸増幅検査(NAAT)を、Coxiella では抗体検査(IFA)か血漿を用いた NAAT、Tropheryma whipplei では NAAT を行う。

コンタミネーションについては、コストがかなり高くなるので、非常に注意して採取し、汚染率が3%を上回らないようにする。血液培養陽性時にはその都度担当医に連絡することが望まれるが、不在などの場合には代理者がそれを引き継げる体制を作る。

表2. 検体採取・管理に関する10の信条 (tenets)

1. 質の悪い検体は、検査に用いてはならない(受け取らない)。微生物検査担当者は、検体提出に関して臨床側と話し合う際には、責任を持って正しく対応する。
2. 医師は検査室に対し、“発育した菌のすべて”を報告するよう求めるべきではない。見当違いな情報を与え、不正確な診断と治療につながる可能性がある。
3. 可能な限り“バックグラウンドノイズ”を避ける。生体各所には正常細菌叢が存在しており、検体は容易に汚染されうる。下気道、副鼻腔、創部、瘻孔などからの検体採取は注意深く行う。
4. 検査室は、ぬぐい液(スワブ)ではない検体を必要としている。特に外科においては、組織や吸引物、液体を提出する。スワブは外部からの微生物を拾ってしまうこと、極端に少ない検体量(0.05 mL)しか得られないこと、繊維中からまった細菌や真菌を培地に接種するのが難しいこと、数枚の培地に連続して接種しにくいことから、多くの検体で採取の方法とならない:スワブが有用なのは鼻咽腔検体とウイルス性呼吸器感染症の場合である。
5. 検査室は手順書に従って作業を進めなければならない(法的要請から)。こうした手順書は一般的に明文化されている。
6. 検体は抗菌薬を投与する前に採取すべきである。一旦抗菌薬を開始すると、細菌叢が変化し、培養の結果に影響が出てしまう。
7. 感受性検査は、培養で検出されたすべてに行うのではなく、臨床的意義が明らかな株に対して行うべきである。
8. 微生物検査の検査結果は、正確かつ重要な内容のもので、臨床的な関連性をもつものであること。
9. 技術的な面での微生物検査の方針は、検査室が決定するもので、臨床側の権限で決まるものではないが、両者の良いコミュニケーションとお互いを尊敬する気持ちが、協調・連携した方針につながる。
10. 検体のラベルは正確に記載すること。詳細な部位や臨床的情報(例えば右人さし指の犬咬傷)がない、単なる「眼」「創部」といった記載では、結果の解釈に活きてこない。

(2) 中枢神経感染症

髄液は通常数本のチューブに分けて採取するが、最初のチューブは皮膚常在菌で汚染される可能性が高いので、微生物検査には用いない。結核を疑う場合には、感度の点で5 ml以上がよい。採取したら冷蔵せず、すぐ検査室へ搬送する。

Nocardia, 真菌, 結核を疑う場合にはその旨を検査室に伝える。さらに項目が多いと髄液量が不足しがちなので、優先項目はどれかについても話すこと。検査室では遠心後に Gram 染色を行い、結果はすぐ臨床側に報告すること。細菌性髄膜炎での Gram 染色の感度は抗菌薬前投与のない場合 60-80% であり、投与後は 40-60% に低下する。

脳膿瘍や硬膜外膿瘍・硬膜下膿瘍では穿刺・吸引した膿を嫌気容器に入れ、すぐ提出する。

(3) 眼感染症

眼感染症での微生物検査に関するこれまでの研究は、比較的症例数が少ないため、エビデンスの高い手法は多くない。検体提出時には、角膜、結膜といった解剖学的箇所別のラベル付けをすること。結膜炎の診断には Gram 染色が役立つが、健側、患側両方からスワブを採取して、比較してもよい。なお常在菌叢は通常、結膜炎の原因になることはない。術後に生じた眼内炎の多くはグラム陽性菌によるもので、特に慢性のものは *Propionibacterium acnes* による。このため本菌は汚染菌とみなさないこと。

(4) 頭頸部の軟部組織感染症

菌性感染症, 扁桃周囲膿瘍, 深頸部膿瘍での原因微

生物の確定は、口腔内の常在菌叢による汚染を避けながら、局所から吸引ないし生検で検体を採取できるかどうかによる。検体は嫌気性菌用の輸送容器に入れ(湿潤した環境がよい)、到着後は Gram 染色を行って検体の質の評価とともに、原因微生物を推測する。なおスピロヘータはしばしば菌性感染症の原因になるが、塗抹標本では観察できるが、嫌気培養では検出できない。スワブは多くの場合勧められない。

(5) 中耳炎, 副鼻腔炎, 咽頭炎

中耳炎のほとんどは培養によらず、臨床的に診断するが、その中で急性滲出性中耳炎 (AOME) が最も細菌の関与が大きい。もちろん様々なウイルスが AOME の原因となるが、ウイルスごとに特別な治療が必要になるわけではないので、ウイルスの特定は行わない。一方、先行して投与した抗菌薬で改善が乏しく、細菌性の疑いがある者や、免疫不全のある者、急速な進行がみられる者では原因微生物(細菌)の同定に努める。鼓室穿刺で得られた中耳液ないしは、鼓膜切開術後の患者・耳漏がある患者では、耳道をきれいにした後の耳漏のスワブ採取が適している。

副鼻腔炎では、慢性であったり、複雑性である場合に原因微生物の同定が行われるが、副鼻腔からの検体採取はスワブではなく、吸引による方がよい(真の原因微生物が判明する)。上顎洞炎で鼻汁を調べることは全く価値がない。また真菌性が疑われる場合には、内視鏡下で吸引することを勧める。

咽頭炎では、治療の必要性和合併症の点で *Streptococcus pyogenes* が最も重要であるが、もし抗原検査

が陰性の時は、培養を追加して確認すべきである。一方で咽頭炎におけるC群、G群連鎖球菌の意義についてはまだ結論がついていない。また *Fusobacterium necrophorum* と咽頭炎、それに続くLemierre症候群の関係が指摘されており、本菌の可能性を考える場合には、嫌気培養等について検査室と相談する。

(6) 気管支炎、細気管支炎、肺炎

喀痰は朝一番に採取したものが最も培養に向いている。採取後、処理まで2時間以上かかるようなら冷蔵する。例えば *Bordetella pertussis* のように培養条件が難しい菌が想定されるなら、採取前に検査室と連絡を取る。一方、口腔内の常在菌叢の混入がひどく、深部から出たものとみなされない検体を除くため、検査室はあらかじめ喀痰を受け取る基準を定めておくとよい。質のよくない検体は、結果が誤解を招くことがあるため、受理しないこととする。

院内肺炎、人工呼吸器関連肺炎では、下気道から気管支鏡を用いて採取した痰や、気管内吸引で採取した痰を定量培養し、前者では 10^4 CFU/mL、後者では 10^6 CFU/mL 以上で菌が検出されれば、コロニゼーションよりも真の原因微生物とみなすことができる。ただしこの検査の実施には可能な施設と難しい施設とがある。

免疫不全者の肺炎は、より幅の広い微生物が原因となるが、進行が早いので、すみやかに感染性・非感染性の鑑別と、踏み込んだ検体採取を勧める。あらかじめ感染症医、呼吸器内科医と相談して、主要な病原体をカバーした検体処理のアルゴリズムを作成しておく。病理検査、細胞診、血清検査をうまく使い分けること。

(7) 腸管感染症

便検査は、強い下痢や血性下痢であったり、発熱を伴ったり、院内発症であったり、持続する下痢の場合に行う。どの微生物を目的にするのか、どの方法を用いるのかについて検査室側とコミュニケーションを取ること。米国ではほとんどの検査室で *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, 腸管出血性大腸菌についてはルーチンに行える体制にある。一方で *Vibrio*, *Yersinia* についてはリクエストがあった場合に行っている。逆に検査室からの報告では、どの微生物が検出可能なかを示す。

Clostridium difficile については、培養にトキシン検出を加えた toxigenic culture が最も感度・特異度に優れているが、時間と手間がかかるため、トキシンの迅速検査が普及している(感度70-85%)。しかしNAATが使えるようになり、トキシン単独の検出は(それの

みでは)もはや勧められない。一方、NAATの感度は93-100%であり、迅速さとコストを考え、GDH抗原とトキシンによるスクリーニングを行った後、場合により(特にGDH抗原とトキシンが不一致の場合)NAATに進むというアルゴリズムを作っている検査室もある。*C.difficile* 腸炎の診断には、有形便でない便の提出を求めるが、イレウスや中毒性巨大結腸症の場合にはこの限りではない。一旦陽性であった例について、検査で治癒を確認することは、不適切である。

(8) 腹腔内感染症

特発性細菌性腹膜炎では、十分な量(10-50 ml、最低でも10 mL)の腹水を採取する。2次性腹膜炎では好気性菌、嫌気性菌両方による複数菌が関与することが多く、腹水は嫌気性菌用の搬送容器で提出し、嫌気培養も行う。

胆道感染症での胆汁、肝膿瘍・脾膿瘍での膿汁も嫌気性菌用の容器に入れ、好気・嫌気両方の培養を行う。同時に血液培養も採取する。脾膿瘍では、まれに *Bartonella* spp, *Streptobacillus moniliformis*, *Nocardia* spp, *Burkholderia pseudomallei* が原因になるので、バイオセーフティも含めて注意する。

脾炎後にみられる2次性の壊死組織の感染においては、血液培養とともに壊死脾組織の採取・培養を考慮したい。壊死組織の培養が陰性になることはまま経験するが、この場合、培養困難な微生物、遅発育菌、寄生虫まで考慮することにつながる。

(9) 骨・関節の感染症

骨髄炎の原因微生物を確定させるには、骨生検まで必要になることがほとんどである。削り取ったり、剥離させた骨、壊死組織を出来る限り多く採取する。本当に骨髄炎であれば、骨は壊死しているのだから、容易に搔爬できるはずである。瘻孔をぬぐったスワブ検体は診断の決め手にならず、推奨しない。

人工関節の感染症において、手術中に検体を採取する際には、皮膚常在菌による汚染に注意する：皮切を行ったメスは新しいものに変え、人工関節周囲組織は3-6個採取する。3個以上で同じ菌が培養されれば、その意義は高い。これらの組織がGram染色陽性になることは少ないが(33-50%)、陽性になれば診断の助けになる。なお検出感度を上げるために、検体を超音波処理する、ビーズを混ぜて破碎するといった方法がある。

(10) 尿路感染症

このガイドラインでも、汚染を少なくするために採尿時に皮膚を清潔にすることを推奨する。採取した尿は30分以上室温に置かない。培養までそれ以上かか

る時には冷蔵する（すぐ冷蔵するのが最もよい）。尿から3種類以上の菌が培養された場合は、通常汚染が示唆される。

尿道カテーテルは留置後数時間で、表面に既にバイオフィーム産生菌の付着が認められる。このためカテーテルからの培養は行わないことを強く勧める。しかしやむを得ない時には、新しく挿入したもののサンプルポートから採取する。カテーテル先端培養は行う価値がない。

実際に感染症症状がないのに、尿中から *Candida* が多量に検出されることがある。真菌の培養結果の解釈は細菌とは異なるが、一方、全身感染を反映して検出されることもある。

(11) 皮膚・軟部組織感染症

熱傷での感染を局所症状・所見のみで行うのは、信頼できず、困難でもある。感染の有無とその程度の観察には、表面のぬぐいや組織生検による培養を追っていくのがよい。同一部位について、表面を洗ってから採取する。

動物咬傷では、原因となり、培養される微生物は動物の種類によって大きく異なり、複数菌感染がふつうである。しかしながら中には同定キットや自動同定器械のデータベースにないものがある。

外傷に伴う皮膚・軟部感染症では、外因性（環境由来）、内因性（患者由来）両方の微生物が原因になる。しかし受傷から48時間以内の局所検体は培養せず、デブリードメントを行った直後に得られた検体を培養するのが最もよい。そして受傷した状況に応じて、通常の培養に特殊な培養を追加する（海水中での受傷：*Vibrio* 属の培養など）。

3. ガイドラインのインパクトと本邦での今後

今回のガイドラインは、医師が感染症の診断にあたり、病原微生物を想定し、かつそれに対して最も適切な微生物検査を選ぶことが出来ることを目的としている。診断や治療の多くが検査結果に基づいて決定されている現在、不適切・不十分な検査が少なくなれば、診断の誤りと不適切な治療が少なくなり、予後も改善するであろう。これは検査費・治療費・入院費・院内感染対策費といった医療費の抑制につながる。

いわば「原因微生物の決定を伴う医師の感染症診断力の向上」が求められているわけであり、臨床—検査室関係がそれにどう寄与していくかが問題となる。筆者が臨床医として勤務していたドイツでは、感染症専門医が検査医を兼ね、1年間のうち数か月は微生物検査室で勤務し、同定・感受性試験の最終判定と結果報

告、および検査に関する臨床側からの相談に応じていた。臨床側と検査側のスタッフが同一であること、微生物検査に関する感染症医の造詣が非常に深いことが特長であった。

一方、米国では Medical Microbiology Fellow の制度を設け、病理もしくは内科・感染症科の専門医を終了後、1年間臨床微生物学を学ぶコースを設けている (American Board of Pathology)。微生物検査に関する臨床医からの相談の他、症例提示を含む技師教育、プレートラウンドを行い、感染症カンファレンスに参加する。臨床医学のバックグラウンドのある者を臨床微生物学の専門家として育成する体制を整えているのが特長である。また、主に医師以外で Ph.D を持つ者についても、2年間の臨床微生物学、感染症学のトレーニングの後、American Board of Medical Microbiology (ABMM) の資格試験が設けられている。この難関を通過して、微生物検査室長 (lab director) になる例が多いという。

ドイツ、米国ともに、専門的知識を持って臨床—検査室の間を埋め、かつ臨床微生物学と感染症学の増進を図る体制がみとれる。オランダは、院内の微生物検査室が感染症診断ばかりでなく、治療、予防、研究まで責務を負うシステムを採用し、これが患者の安全につながるという姿勢を打ち出している²⁾。

本邦はその国民性もあいまって、微生物検査の緻密さ、質の高さはこれらの国々と比べてもまったく遜色がない。しかし感染症医はまだまだ少なく、中には微生物検査室が院内にない医療機関で勤務している場合もある。また臨床検査医も微生物検査をカバーし、現場で臨床側と検査室側を橋渡しする存在として機能している例は少ない。つまり、臨床微生物学の増進を専らにできる医師は少数であり、すべての臨床医へ臨床微生物学の側面から教育、サービスを提供するにはほど遠い。

現状では、微生物検査室側から臨床側への働きかけ、教育がこれを補っている部分が大きい。しかしながら、長期的、組織的に専門家を育成できるシステムを整備するとともに、指導医層がロールモデルを作り、若手医師をけん引していけば、増進・発展につながるであろうし、それに期待したいところである。

文 献

- 1) Baron, E.J., J.M. Miller, M.P. Weinstein, et al. 2013. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America

- (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clin. Infect. Dis.* 57: e22-e121.
- 2) Bonten, M.J.. 2008. Medical microbiology laboratories

in Dutch hospitals: essential for safe patient care. *Ned. Tijdschr. Geneesk.* 152: 2650-2652.

Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: Implications from the Recommendations by the IDSA and the ASM

Atsushi Yoshida¹⁾, Shingo Chihara²⁾, Katsuko Okuzumi¹⁾

¹⁾Division of Infection Control, Clinical Laboratory Medicine, Dokkyo Medical University Hospital

²⁾Division of Infectious Diseases, Southern Illinois University School of Medicine

Optimizing the physician-laboratory communication is critical to accurately diagnose an infectious process. Improvement is needed in physician utilization of the microbiology laboratory. We reviewed “A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM)” and discuss how this could be applied to improve patient care in Japan.