

## [総 説]

### 血液培養検査における Diagnostic Stewardship

大城健哉

那覇市立病院医療技術部検査室

(令和3年10月29日受付)

血液培養検査は血流感染症診療に必要な不可欠な検査であり、各種感染症が疑われる場合に同時複数セットの実施が推奨されている。血液培養検査が適切に実施されているか、検査件数や2セット採取率、血液量、陽性率、コンタミネーション率などの定期的なモニタリングと効果的なフィードバックが重要である。また、血液培養陽性検出後に各種検査法を駆使して迅速に報告することで適切な診断・治療につながると考えられ、われわれ臨床微生物検査室の腕の見せどころである。日々進歩する検査技術や検査法を取り入れ、活用することで、Antimicrobial Stewardship (AS: 抗菌薬適正使用支援) をさらに推進させる効果的な Diagnostic Stewardship (DS: 診断支援) につながると考えられる。本稿では自験例も交えながら、ASを推進させるため臨床微生物検査室のDSの視点から、適切な血液培養検査の実施と迅速な血液培養陽性報告について述べる。

**Key words:** 血液培養, Antimicrobial Stewardship, Diagnostic Stewardship, 迅速同定検査, 迅速薬剤感受性検査

#### 1. はじめに

血液培養検査は血流感染症診療に必要な不可欠な検査であり、敗血症や菌血症、感染性心内膜炎など各種感染症が疑われる場合や、38℃以上の発熱時、悪寒戦慄時、36℃以下の低体温時などに同時複数セットの実施が推奨されている<sup>1)~3)</sup>。敗血症の初期治療が適切な場合の死亡リスクを1とすると、初期治療が適切ではない場合でも、血液培養陽性検出後に適切な治療に変更することで死亡リスク1.27倍と若干の上昇に留められるとされている<sup>4)</sup>。しかし、血液培養陽性検出後も適切ではない治療が継続された場合、死亡リスクが2.46倍~3.18倍に上昇するとされており<sup>4)</sup>、血液培養検査が実施されておらず適切ではない治療が継続された場合も同様と考えられる。ここで重要なのは、血液培養検査が適切に実施され、血液培養陽性後にいかに早く担当医へ報告し、適切な治療につながられるか、ということであり、われわれ臨床検査技師の腕の見せどころでもある。

また近年、薬剤耐性菌対策として Antimicrobial Stewardship (AS: 抗菌薬適正使用支援) が重要視されており<sup>5)</sup>、日本では2018年に Antimicrobial Stewardship Team (AST: 抗菌薬適正使用支援チーム) の組織化と各施設でのAS推進のために抗菌薬適正使用支援加算が新設され、われわれ臨床検査技師もASTの一員として役割を担っている。また、ASを推進させるためには Diagnostic Stewardship (DS: 診断

支援) が重要とされており、適切な検査の実施や迅速検査の実施および迅速報告が求められている<sup>6)</sup>。日本臨床微生物学会の提言「ICT・AST活動で求められる臨床微生物検査室の役割」でも、AST活動における臨床微生物検査室の役割が提示されており、具体例として血液培養2セット採取率や採取数、陽性率、汚染率の監視などが挙げられている<sup>7)</sup>。

今回、血流感染症診療に必要な不可欠である血液培養検査について、ASを推進させるため臨床微生物検査室のDSの視点から、適切な血液培養検査の実施と迅速な血液培養陽性報告について自験例を交え述べる。

#### 2. 適切な血液培養検査の実施

##### (1) 適切なタイミングと採取方法

血液培養陽性件数の向上には、適切な採取のタイミングや採取セット数、採取量などが重要である。採取のタイミングは、悪寒・戦慄時や発熱時以外に、菌血症が疑われる症状である頻呼吸時や意識レベル低下時、血圧低下時などがあり、Sepsis-3<sup>8)</sup>で推奨されているqSOFA (quickSOFA: 呼吸数 $\geq$ 22/分、意識の変容、収縮期血圧 $\leq$ 100 mmHgのうち2つ以上陽性) が簡便で有用である。適切な採取のタイミングを逃さないような血液培養実施体制、例えば夜間・休日などでも症状が認められれば血液培養2セット採取するように事前オーダーや指示を出しておくような、血液培養実施体制の確立も重要である。

血液の採取部位について、コンタミネーションを避けるため、血管内留置カテーテルからではなく、静脈穿刺が望ましいとされている<sup>12)</sup>。採血困難な場合や頻繁に採血を行なうような症例、後述の陽性検出時間を用いたカテーテル血流感染の診断<sup>9)</sup>などでは血管内カテーテルからの採血が行なわれる場合もあるが、カテーテル由来血液培養検出菌の臨床的判

著者連絡先: (〒902-8511) 那覇市古島2丁目31番地1  
那覇市立病院医療技術部検査室  
大城健哉  
TEL: 098-884-5111(内線174)  
FAX: 098-887-7950(検査室直通)  
E-mail: toshiro@nch.naha.okinawa.jp

表1. 那覇市立病院における血液培養検査状況 (2019年)

項目	集計値	備考
件数 (セット数)	総セット数	12,489 件
	1,000 患者・日あたり	76.5 件 推奨値：103-188
	1,000 新入院患者あたり	951.8 件 推奨値：587.1-1,071.6
複数セット採取率	全体	84.9% 総セット数：12,489 件, 1 セットのみ数：1,959 件
	小児科以外	96.7% 総セット数：10,851 件, 1 セットのみ数：360 件
	小児科のみ	2.4% 総セット数：1,638 件, 1 セットのみ数：1,599 件
採血量	平均 (小児科除く)	8.4 mL 推奨値：8-10 mL
	中央値 (小児科除く)	9.1 mL 推奨値：8-10 mL
陽性率	9.7%	推奨値：5-15%
コンタミネーション率	1.9%	推奨値：3% 未満

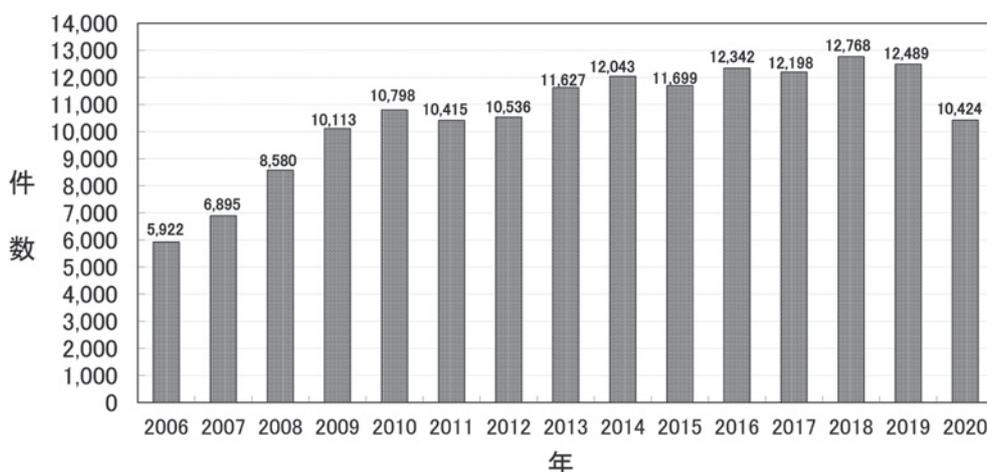


図1. 那覇市立病院における血液培養検査件数の年次推移

断には注意が必要である。また、鼠径部からの採血は腸内細菌目細菌のコンタミネーションの割合が高く、原因菌の判断が困難になるため可能な限り避けた方がよい<sup>3)</sup>。

採血部位の消毒はポビドンヨードよりも1% クロルヘキシジングルコン酸塩アルコール製剤を用いた方が汚染率は低いとされている<sup>1)</sup>。しかし、1% クロルヘキシジングルコン酸塩アルコール製剤は比較的高価であるため、コンタミネーション率の高い部署や、やむなく鼠径部から採血する場合に用いるなど運用方法を工夫することで費用対効果の向上が期待される。

## (2) 適切な血液培養検査実施の把握

適切な血液培養検査の実施には、検査件数や2セット採取率、血液量、陽性率、コンタミネーション率の定期的なモニタリングが重要であり、部署別に集計して毎月報告するなどフィードバック方法も重要である。各モニタリングの把握について以下に述べる。

### 1) 検査件数

那覇市立病院における2019年の血液培養検査の各種データを表1に示す。一回の血管穿刺採血で得られた血液培養を1セット=1件として算定した。当院は病床数470床、標榜診療科33科、病床稼働率95.2%、一日平均外来患者数813.7名、平均在院日数11.4日、年間延べ入院患者数163,319名、

年間新入院患者数13,121名の基幹型臨床研修指定病院、地域がん診療連携拠点病院、地域医療支援病院である(各データは新型コロナウイルス感染症拡大前の2019年分)。検査室には31名の臨床検査技師が所属しており、時間外検査は夜勤1名体制で、日勤午前中2名体制、午後1名体制で対応している。微生物検査は3名の技師が担当としているが、平日は夜勤入り明けや振替休日などで、実質2名体制である。血液培養は2010年まではBACTEC 9240(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社)を用い、2010年以降はBACTEC FX(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社、最大400本装填可能で5日間培養)を用い、2015年以降はBACTEC FX(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社、最大600本装填可能で7日間培養)を用いて実施している。

当院における血液培養件数の年次推移を図1に示す。後述の複数セット採取率の上昇に伴い、血液培養検査件数も増加していた。2020年は減少しているが、新型コロナウイルス感染症の影響で、一般病棟や外来を縮小したためと考えられた。

適切な血液培養検査実施の精度管理指標(推奨範囲)として、血液培養件数の各種換算値が用いられる。1,000患者・日あたりの換算値は、年間件数を年間延べ入院患者数で割って1,000かけた値であり、病床稼働率が異なる施設において

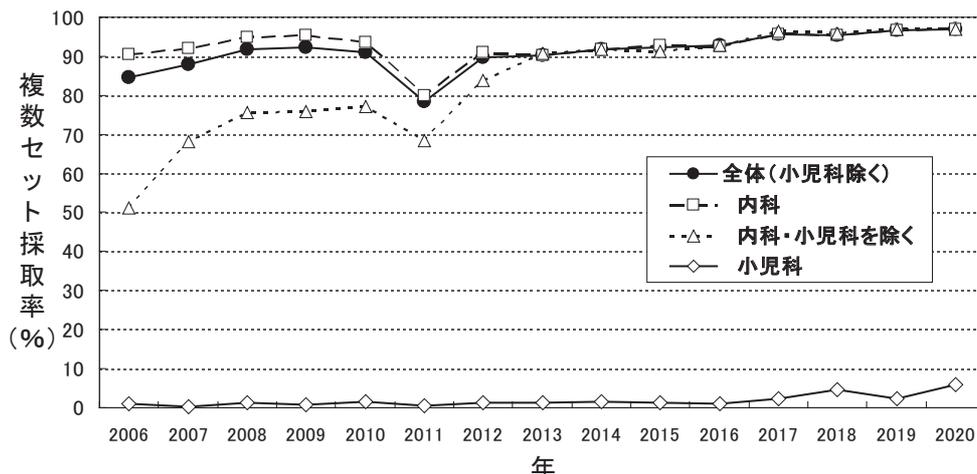


図2. 那覇市立病院における複数セット採取率の年次推移

も有用と思われる。その推奨値は103~188件<sup>1)</sup>とされており、当院はその範囲から外れている。しかし、1,000患者・日あたりの換算値は米国の医療状況で算定されたものであり、当時の日本の平均在院日数が米国の約3倍であったことから、この推奨値は日本に適用できないと考えられた。

それらを考慮し、大曲らによって1,000新入院患者あたりの換算値(推奨範囲587.1~1,071.6件)が提唱された<sup>10)</sup>。1,000新入院患者あたりの換算値では、当院は推奨範囲内にある。

各施設においてもこれらの換算値を利用し、他施設の状況と自施設の状況を定期的にフィードバックすることで適切な検査の実施につながると考えられる。

## 2) 2セット採取率

採取セット数は2~4セットの複数セット採取が推奨されている<sup>1)</sup>。同日内に2セット以上採取された割合(複数セット採取率)は下記のとおり算出される。

複数セット採取率(%) = (総件数 - 1セットのみ採取件数) / 総件数 × 100

当院の複数セット採取率の年次推移は図2のとおりであり、内科では2006年から90%以上であった。内科・小児科を除く診療科で2007年以降年々上昇し、2013年には90%以上に達しその後定着した。その理由として、血液培養複数採取が促進されたほか、内科研修時の研修医に同時2セット採取が徹底され、その後研修で回った他科で実践したことも要因の一つと考えられた。小児科では複数セット採取はほとんど実施されていなかったものの、採取件数は1,638件あり、血液培養検査を重視していると考えられた。2011年に全体的に低下しているが、東日本大震災の際に血液培養ボトルの供給が停止したため、複数セット採取を制限したことによるものである。その制限期間中の複数セット採取率は5.0%で、陽性検出率は11.0%と制限前より4.1ポイントも低下したことから、複数セット採取によって陽性検出率が向上することが再認識された。

わが国では2014年に血液培養検査同時2セットの診療報酬が算定可能となり、全国的にも2セット採取は定着していると考えられる。2018年に九州・沖縄地区76施設を対象に実施した血液培養検査実施状況調査<sup>11)</sup>で複数セット採取率は、

小児科を除くと外来患者で95.2%、入院患者で92.3%と高値を示した。

## 3) 血液量

陽性件数向上には血液培養ボトルに接種する血液量が重要であり、1セットあたり20~30mLの血液量が推奨されている<sup>12)</sup>。当院では2012年以前は1セットあたり10mLの血液量を好気ボトルと嫌気ボトルに5mLずつ接種していた。しかし、適切な血液量が陽性検出数向上に重要であることから、2012年に院内感染対策委員会主導で1セットあたり20mLの血液量とする採血量アップキャンペーンを実施した<sup>13)</sup>。キャンペーンの結果、血液量の増加とともに陽性率の向上が認められた(図3)。キャンペーン前後の同一期間で陽性検出患者数を比較すると、キャンペーン後で34名増加しており、腸内細菌目細菌や *Staphylococcus aureus* など臨床的に重要な菌種の増加が認められた(図4)。

血液量の計測は、血液培養ボトルへの血液接種前にボトル重量を計測してラベルに記載して払い出し(図5)、血液接種後に提出されたボトル重量を計測し、下記のとおり算出した。すなわち、ボトルの重量の増加分から貼られた患者ラベルの重量を引き、取り去られたキャップの重量を足し、標準的な血液比重1.050で割った値である。

血液量(mL) = {接種後の重量(g) - 接種前の重量(g) - 患者ラベル0.2g + キャップ0.4g} ÷ 1.050

BACTEC 92F好気用レズンボトルはガラス製であり、ボトル重量は最大147.0g、最小139.4g、平均143.5gとばらつきが大きかったため、血液接種前の重量計測も必要であった。その後、プラスチック製のBACTEC 23F好気用レズンボトルに替わり、ボトル重量は最大60.7g、最小59.0g、平均59.8gとばらつきが小さくなったため、血液接種前の重量計測は省略できる可能性がある。

キャンペーン期間中はすべての好気培養ボトルを計測していたが、20mL採血の定着後は期間を区切って定期的に計測している。2017年は6月から8月の3か月間に計測した。期間中に提出された好気ボトル1,534本の計測結果は、平均値8.4mL、S.D 2.6mL、最小値0.3mL、最大値18.7mL、中央値9.1mL、1mL区切りの最頻値10.1~11.0mLとなり、20

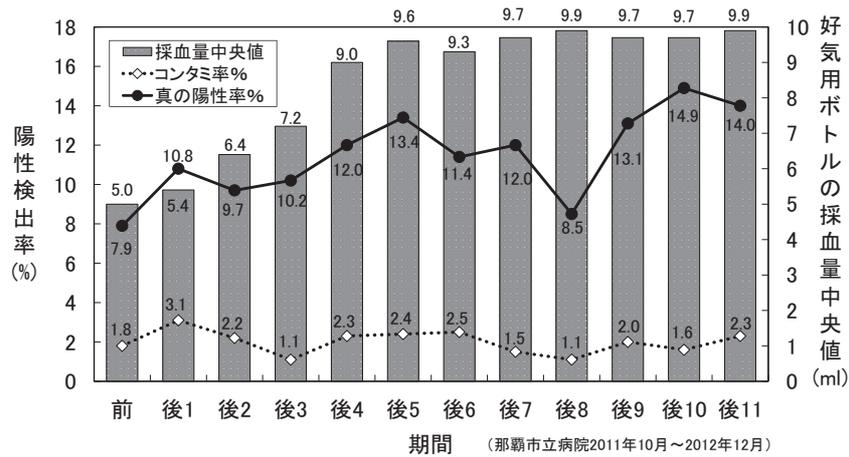


図3. 血液培養採血量アップキャンペーンの血液量と陽性検出率の推移

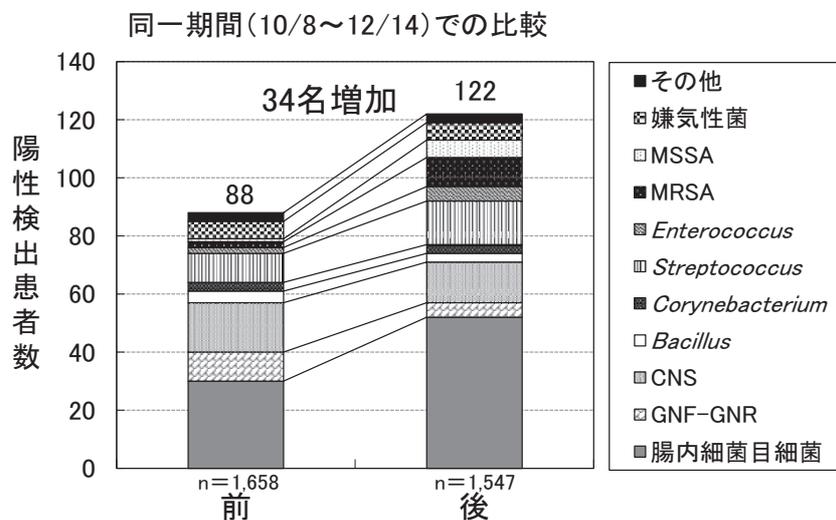


図4. 血液培養採血量アップキャンペーン前後の陽性検出患者数と検出菌内訳の比較

mL採血が定着していることが確認された。

各施設において複数セット採取が定着しつつあるが、血液量の計測はあまり実施されていないようである。2018年に九州・沖縄地区76施設を対象に実施した血液培養検査実施状況調査<sup>11)</sup>で、血液量を測定していたのは3施設のみであった。適切な血液培養検査実施のためにも、血液量のモニタリングは重要であり、全自動血液培養装置の血液量推測機能を活用するなど、今後の課題と考えられた。

#### 4) 陽性率

陽性率は5~15%の範囲内が推奨されている<sup>1)</sup>。

陽性率が推奨範囲を上回る場合、コンタミネーションが多いか血液培養実施件数が少ないなど、陽性件数が絶対的または相対的に増加する要因が考えられる。絶対的増加の要因の一つであるコンタミネーション率が3%を超える場合は、採血部位や消毒方法を見直す必要がある。また、相対的な増加を抑えるため、血流感染症を的確に診断するためにも、血液培養検査を実施する条件などの見直しも考慮することで、血液培養件数の増加につながり、陽性率が推奨範囲内に収まると考えられる。

陽性率が推奨範囲を下回る場合は実施件数の過多が考えられる。同一エピソードにおける血液培養検査は2~4セット(総血液量80 mL)の採取でほとんどの陽性例を検出できるとされている<sup>12)14)</sup>。同一エピソードにて4セット陰性の場合、4セットを超える血液培養検査は省略できる可能性がある。一方、*S. aureus*や*Staphylococcus lugdunensis*, *Candida* spp.などが検出されている場合は培養陰性の確認が必要であり、繰り返し血液培養検査が実施されることもある。

#### 5) コンタミネーション率

米国臨床病理医協会の基準<sup>15)</sup>に基づき、複数セット提出患者のうち1セットのみ陽性のCoagulase-negative staphylococci(CNS), *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Cutibacterium acnes*, *Micrococcus* spp., viridans streptococciをコンタミネーションとし、下記のとおり算出される。

コンタミネーション率(%) = 1セットのみ陽性の件数/複数セット採取の総件数×100

この方法は複数セット採取が90%を超える施設においては、臨床評価による汚染率と大差ないとされており<sup>15)</sup>、コンタミネーション率2~3%が標準的な値とされている<sup>1)</sup>。た



図5. ボトル重量の計測

だし、症例によっては上記の菌種も原因菌となり得るため、真の原因菌判断は臨床的に行なわれるべきである。あくまでも、適切な血液培養検査実施の把握のための一つの指標として用いる。

また米国では、近年の採血方法の向上や採血専門チームを採用することで、さらに達成可能なコンタミネーション率の指標として1%以下が提案されている<sup>16)</sup>。

病棟別または診療科別など部署別にコンタミネーション率を算出し、高値を示す部署では消毒方法を見直すなどの取り組みも重要である。

### (3) 全自動血液培養装置へのボトル装填

血液接種後の血液培養ボトルは2時間<sup>17)</sup>～4時間以内<sup>17)</sup>に全自動血液培養装置へ装填することが推奨されている。全自動血液培養装置へのボトル装填の遅延によって偽陰性になる可能性がある<sup>18)19)</sup>。速やかにボトル装填できない場合は室温で保存する。ふらん器で保管されていた場合や室温放置時間が48時間を超える場合は、全自動血液培養装置で偽陰性となる可能性があるため、ボトル装填前にサブカルチャーを実施する<sup>18)20)</sup>。血液培養ボトルへの血液接種時刻の把握も重要である。

検査室が24時間365日体制の場合は2～4時間以内のボトル装填も可能であるが、夜間・休日に受付不可としている場合は、全自動血液培養装置を検査室外に設置するなどの対策をとり、他職種の協力も得ながら、可能な限り早めに全自動血液培養装置へボトル装填できるような体制作りも重要である。

### (4) 培養日数と中間報告

全自動血液培養装置にて4～7日間の培養が行なわれる。真の原因菌の99%が5日以内に検出されるため、通常は5日間の培養期間でよいとされている<sup>12)</sup>。HACEKグループの検出が疑われる症例でも、用手法ボトルでは検出までに時間を要していたため培養日数を延長する必要があったが<sup>21)</sup>、全自動血液培養装置ではHACEKグループも5日以内にほぼ検出可能であり、培養日数の延長は不要とされている<sup>22)</sup>。一方、*Helicobacter cinaedi* とその類縁菌について、全自動血液培

養装置 BACTEC システムの好気ボトルで4～9日の培養後に陽性シグナルを示すとの報告もあり、5日間では *H. cinaedi* を検出できない可能性がある<sup>23)</sup>。各検査室における全自動血液培養装置の処理能力や検体数を勘案して培養日数を柔軟に設定し、症例によっては培養延長できる柔軟な体制が求められる。

また、培養期間中に「現時点で陰性」の中間報告も重要である。各種ガイドラインでも「24時間後の培養陰性」、「48時間後の培養陰性」を報告するように推奨している<sup>23)</sup>。24時間または48時間時点で培養陰性の場合、症例によっては血液培養を再度実施する判断材料になると考えられる。当院では血液培養ボトル装填時刻から「24時間時点で陰性」、「48時間時点で陰性」と検査システムで自動的に中間報告ができるように設定している。

## 3. 迅速な血液培養陽性報告

### (1) Gram 染色の迅速報告

Gram 染色は簡便かつ安価で施設の規模にかかわらず実施可能であり、臨床検査技術が進歩し各種迅速検査法が導入される現代においても、最も迅速性に優れた検査である。血液培養陽性検出の際には、何はともあれ Gram 染色結果の報告が重要であり、適切な抗菌薬治療に繋げられる<sup>24)</sup>。通常勤務時間内のみならず時間外での迅速な対応が望まれる<sup>3)</sup>。

時間外の陽性検出報告は、微生物検査非担当者の協力が必須となる。血液培養陽性検出は臨床微生物検査におけるパニック値であり、Gram 染色結果の報告遅れは死亡率増加につながる<sup>25)</sup>。検査室内での微生物検査非担当者の協力を得るためには、その重要性を周知することも重要である<sup>26)27)</sup>。

血液培養陽性検体の90%以上は単一菌であり、Gram 染色入門者でも判別が比較的容易である。また、誤判定や見落としやすいポイントなども明確であり、それらの点を重点的にトレーニングすることで半日～1日程度のトレーニングで実践可能である<sup>28)</sup>。

また、不慣れた微生物検査非担当者をバックアップするのも微生物検査担当者の責務と考える。当院では、判別困難な

Gram 染色のモニター画像を担当者へ送信して確認するようにしている。米国では遠隔顕微鏡システムを利用する取り組みもある<sup>29)</sup>。このような体制作りや事後研修を行うなどの取り組みも重要と思われる。

時間外の報告体制の確立も重要である。せっかく陽性検出時の対応を迅速に行っても、その結果がただちに医師に伝わらなかつたり、遅れて伝わったりするようでは無意味となる。抗菌薬適正使用につなげるためにも、担当医や当直医など医師に直接伝わるような積極的な連絡方法の取り決めやフローチャートの作成、報告完了の記録が重要となる。当院では、担当医と電話連絡が取れない場合、当直医に電話連絡するとともに、電子カルテに報告内容を直接入力するよう取り決めている。電子カルテへわれわれ臨床検査技師が直接入力することは躊躇されがちであるが、AST の一員として責任を持って入力すべきと考える。

## (2) 陽性検出時間の活用

### 1) 原因菌判断

血液培養ボトルを全自動血液培養装置に装填してから陽性検出されるまでの時間（陽性検出時間）は CNS の原因菌判断<sup>30)31)</sup>やカテーテル関連血流感染の診断<sup>32)</sup>に有用である。

血液培養から分離される CNS の原因菌判断として「複数セットから同時に検出<sup>3)</sup>」が挙げられるが、複数セット中 1 セットから検出される原因菌や複数セット採取できなかった症例の判断は困難となる。CNS は 81.9% がコンタミネーションとされているが<sup>34)</sup>、カテーテル関連血流感染 (CR-BSI: catheter-related bloodstream infection) との関連性が高いことや、原因菌の多くは早期に検出される<sup>33)</sup>ことなどから、われわれは血液培養から分離される CNS の原因菌判断基準として「中心静脈カテーテル (CVC: central venous catheter) 留置あり、かつ 30 時間以内に陽性検出」と設定した<sup>30)</sup>。この判断基準は臨床的に信頼性が高く、簡便で迅速性に優れた方法と考えられた。一方、大野らも同様の検討を行ない、血液培養から検出された CNS の有意性判断として「18 時間未満に陽性検出かつ CVC あり」とし、加えて「30 時間以上に陽性検出かつ CVC なし」は汚染菌の可能性が高いと設定した<sup>31)</sup>。各施設における患者背景や血液培養実施条件が異なることが考えられ、各施設における基準の設定も必要と考えられるが、陽性検出時間は、原因菌または汚染菌の推定に有用な簡便で迅速性に優れた方法と考えられた。

陽性検出時間を活用するためには、血液培養採取後の速やかなボトル提出と全自動血液培養装置への速やかな装填が必須となる。当院では、陽性ボトルごとに陽性検出時間を検査システムに自動的に取り込んで報告している。

### 2) CR-BSI の診断

CR-BSI の早期診断を目的とし、CVC 留置中の患者から採取された 2 セットの血液培養 (1 セットは CVC から、もう 1 セットは末梢静脈から採血) の陽性検出時間差 (DTP: differential time to positivity) について、CVC から採取された血液培養が 2 時間以上早く陽性となった場合に CR-BSI の確定診断とする方法が米国感染症学会のガイドラインで提示されている<sup>9)</sup>。この方法は血液培養 2 セット採取のうち 1 セットを CVC から採取するため、経皮的採血よりも容易であり、CR-BSI 以外の感染症例に対する不要な CVC 抜去も回避で

きるため有用と考えられる。

DTP を用いた CR-BSI 診断について、Raad らの 191 症例を対象とした検討では、30 日未満の短期カテーテル留置 75 症例で感度 81%、特異度 92%、30 日以上長期カテーテル留置 116 症例で感度 93%、特異度 75% であった<sup>34)</sup>。当院で 45 症例を対象に実施した研究では、45 例中 12 例で血液培養陽性検出され、そのうち 4 例で DTP 2 時間以上となり、臨床的に 3 例で CR-BSI と診断されていた<sup>35)</sup>。

従来、CVC からの血液採取はコンタミネーションの恐れもあり、避けた方が良くとされていた<sup>1)~3)</sup>。それは末梢採取血を伴わない CVC 採取血の 1 セットのみの血液培養であり、検出菌が原因菌かコンタミネーションかの判断に苦慮するためである。DTP 2 時間未満の 8 例中 3 例は末梢採取血で培養陰性であったが、末梢採取血を含んだ 2 セット採取であったため、コンタミネーションの判断も容易であったと考えられた。また、DTP 2 時間未満の 8 例中 4 例は CR-BSI 以外の感染症と診断されていたことから、DTP を用いることで、不要な CVC 抜去と CVC 再挿入のリスクが回避できることが明らかとなった<sup>35)</sup>。

DTP を用いた CR-BSI の診断方法は信頼性が高く、CVC 再挿入に伴う患者への負担やリスクも回避できることから極めて有用であると考えられた。正確な DTP を得るためには、CVC 採取血と末梢採取血は可能な限り同時に採血し、ボトルに接種する血液量を等量とし、速やかに全自動血液培養装置へ装填する必要がある。全自動血液培養装置へのボトル装填の遅れは陽性検出時間に影響し、正しい陽性検出時間が得られなくなる<sup>18)</sup>。採血後速やかな血液培養の開始が必須であり、病棟と検査室の連携やシステム整備も重要である。

## (3) 用手法を用いた菌種推定

### 1) 生鮮標本の顕微鏡観察

血液培養から分離され Gram 陰性桿菌の腸内細菌目細菌とブドウ糖非発酵菌、ビブリオ科細菌の鑑別方法として、生鮮標本による運動性の観察は特別な機器を必要とせず、安価で簡便で有用である。当院では、血液培養陽性検出の全症例で Gram 染色と同時に生鮮標本を観察し、推定菌種名を直接担当医へ電話報告している<sup>13)</sup>。ただし、同一患者で複数ボトル陽性となった場合はいずれかのボトル 1 本のみの生鮮標本観察とし、Gram 染色結果で他のボトルから異なる菌種が観察された場合などは必要に応じて実施している。

生鮮標本上、鞭毛を有する Gram 陰性桿菌の運動性として、腸内細菌目細菌は周毛性鞭毛を有するため、回転性~蛇行性の運動性を示す。また、多くのブドウ糖非発酵菌とビブリオ科細菌は極毛性の鞭毛を有するため、直線性の運動性を示す。好気ボトルのみ発育で直線性の運動性を呈する Gram 陰性桿菌はブドウ糖非発酵菌を疑い、嫌気ボトルにも発育する Gram 陰性桿菌で直線性の運動性を呈する場合はビブリオ科細菌を疑う。ただし、ブドウ糖非発酵菌である *Achromobacter xylosoxidans* は周毛性鞭毛を有するため注意が必要ではあるが、血液培養からの検出頻度は低いとされている。

また、全自動血液培養装置で陽性シグナルが検出されたものの、Gram 染色で菌が観察されないような偽陽性と思われる場合にも生鮮標本の観察は有用である。偽陽性と思われる場合は、①菌量が非常に少ないため見つからない、②菌は増

殖しているが、難溶性または菌として判別できない、③自己融解による菌消失、④装置の偽陽性反応などが考えられる<sup>36)</sup>。①や②は生鮮標本の観察が簡便で有用であり、*H. cinaedi* や *Campylobacter canimorsus*、*Campylobacter* 属菌など極細の菌体を呈する菌種は、Gram 染色で背景に紛れて観察しづらいが、生鮮標本で運動性が容易に確認できるため、微好気培養や嫌気培養など培養方法の追加を行うことで検出可能になる。また、*Candida* spp.などの酵母様真菌も、400倍で観察するため検出し易くなる。ほかに、抗酸菌染色やアクリジンオレンジ染色の実施<sup>37)</sup>も考慮したほうがよい。③は *Streptococcus pneumoniae* が考えられ、採血からの経過時間も参考になる。④は菌ではなく白血球から産生される CO<sub>2</sub> を検知している可能性もあり、培養装置での増殖曲線の確認や患者の白血球数高値、ボトル内の血液量過多などを確認する。

生鮮標本の観察方法を以下に述べる。血液培養陽性ボトルから培養液を抜き取り、スライドガラス上へ1滴よりも少ない量(約20 µl程度)を滴下し、カバーガラスを載せ、尿沈渣を観察する要領で顕微鏡の絞りを絞ったりコンデンサーを下げたりして400倍で観察する。スライドガラス上へ滴下する培養液の量を1滴よりも少なくすることで、菌体の観察が容易になる。培養環境や菌株によっては、本来鞭毛を有する菌種であっても運動性を示さない場合もあり、運動性を示さないことが鞭毛を有さない菌種の推定には用いられない。あくまでも、運動性が観察された場合のみに菌種推定の参考となる。

#### 2) 胆汁溶解試験スライド法

血液培養液から分離される Gram 陽性双球菌(短レンサ球菌)の *S. pneumoniae* と *Enterococcus* 属菌との鑑別には、スライド法による胆汁溶解試験が有用である。スライドガラスに2%デオキシコール酸ナトリウム水溶液を1滴滴下し、培養液1滴と混和させ、室温にて15分から30分間自然乾燥させる<sup>38)</sup>(図6)。グラム染色後鏡検し、菌が溶解して無くなった場合を陽性とし、*S. pneumoniae* と同定される(図7)。本法は *S. pneumoniae* の自己融解酵素が胆汁酸によって促進されることを利用したものであり、死菌では正しい結果が得られない可能性もあるため注意が必要である。また、反応時間が短いと偽陰性となるため、室温で時間をかけて乾燥させた後にグラム染色を行い、塗抹円の中心部を観察し判定することが重要である。

#### (4) 選択培地・鑑別培地を用いた迅速報告

##### 1) 菌種同定

近年、質量分析装置の導入によって迅速に菌種同定が可能となった。しかし、その恩恵はまだ一部施設に限られている。一方、細菌検査の基本は「培養検査」であり永遠に不滅と考えられる。培養検査において、目的とする菌種や耐性菌を効率よく分離するための鑑別培地や選択培地が適宜用いられてきた。

大楠は、CHROMagar オリエンテーション寒天培地(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社)と OIML 培地(栄研化学株式会社)を用いた Gram 陰性桿菌の同定アルゴリズムを提唱した<sup>39)</sup>。本アルゴリズムを用いることで、同定菌名の迅速報告を可能とし、簡易同定検査キットを使用した方法

と比較して約70%の経費を削減できる<sup>39)</sup>。さらに大楠らは、確認試験の4時間判定を実現し、より迅速に同定可能なアルゴリズムに発展させた<sup>40)</sup>。

##### 2) 薬剤耐性菌の効率的な検出

中山らは大楠のアルゴリズム<sup>39)</sup>を発展させ、クロモアガーオリエンテーション/ESBL分画培地(関東化学株式会社)と OIML 培地(栄研化学株式会社)、SIM 培地(栄研化学株式会社)、アセトアミド培地(栄研化学株式会社)を用いることで、同定可能菌種を拡大させたアルゴリズムを確立した<sup>41)</sup>。さらに ESBL 分画培地を併用することで基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(Extended-spectrum β-lactamases: ESBL)産生菌など薬剤耐性菌の効率的な検出を可能とし、経費も約62%削減できたと報告している。選択培地や鑑別培地は非選択培地と比較して高価ではあるが、これらを活用することで迅速報告のみならず、経費削減にも繋げられる。

##### 3) 薬剤耐性菌の迅速検出

口広らは選択培地を活用し、血液培養陽性ボトルから Gram 陽性球菌では MRSA などのメチシリン耐性、Gram 陰性桿菌では ESBL 産生菌などの第三世代セファロsporin 耐性と CRE などのカルバペネム耐性を迅速に検出できる microcolony detection method(MCD 法)を提唱した<sup>42)</sup>。Gram 陽性球菌にはクロモアガー MRSA スクリーン培地(関東化学株式会社)、Gram 陰性桿菌には chromID ESBL 培地(バイオメリュー・ジャパン株式会社)とクロモアガー mSuper CARBA 生培地(関東化学株式会社)を用い、血液培養陽性ボトル培養液を画線培養し、2~4時間に発育したマイクロコロニーの顕微鏡観察によって耐性菌を検出する方法である<sup>42)</sup>。MCD 法は簡便で迅速性に優れており、各種選択培地と光学顕微鏡さえあれば全国どのような施設でも実施可能と考えられる。

##### (5) 多項目遺伝子関連検査による迅速報告

臨床微生物迅速診断の進歩として、多項目遺伝子関連検査による迅速微生物同定および薬剤耐性遺伝子検出があげられる。わが国では血流感染症領域の迅速検査として2017年6月1日に Verigene システム(株式会社日立ハイテク)の Verigene 血液培養グラム陽性菌・薬剤耐性核酸テスト(BC-GP)と Verigene 血液培養グラム陰性菌・薬剤耐性核酸テスト(BC-GN)が保険収載され、FilmArray システム(バイオメリュー・ジャパン株式会社)の FilmArray 血液培養パネルも保険収載された(細菌核酸・薬剤耐性遺伝子同時検出1,700点:2021年10月現在)。保険適応は感染防止対策加算1または2の保険医療機関において、qSOFA スコア陽性の敗血症が疑われる患者<sup>8)</sup>に対して実施した場合に算定される。また、検査結果を適正に判断するために感染症専門医もしくは臨床検査専門医は必須とされている<sup>43)</sup>。

また、ブドウ球菌が検出された場合に MRSA か否かを迅速に判別できる、GeneXpert システム(ベックマン・コールター株式会社)の Xpert MRSA/SA BC「セフィエド」や、GENECUBE(東洋紡株式会社)のジーンキューブ mecA も保険収載されている(ブドウ球菌メチシリン耐性遺伝子検出450点,2021年10月現在)。

新型コロナウイルス感染症の影響もあり多くの施設に病原体遺伝子検査装置導入されたと考えられる。これらを活用す

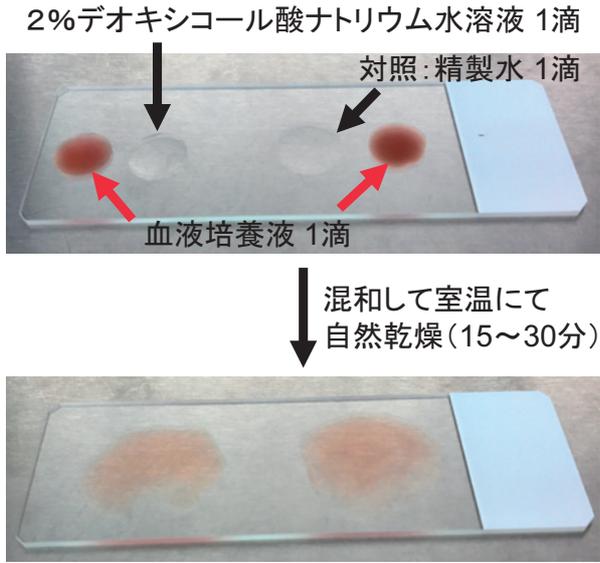
ることで早期診断治療に貢献でき、在院日数短縮化など病院経営にも貢献できると考えられるが<sup>44)</sup>、過剰診断の可能性やコスト面での課題もあり、実施については症例ごとに検討する必要がある。

(6) 質量分析装置による迅速報告

質量分析装置（マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析法：MALDI-TOF MS）が臨床微生物検査に導入されるようになり、同定検査に要する時間が劇的に短縮された。また、血液培養陽性ボトルからの直接菌種同定も可能となり、感染症診療の早期診断・治療に大きく貢献して

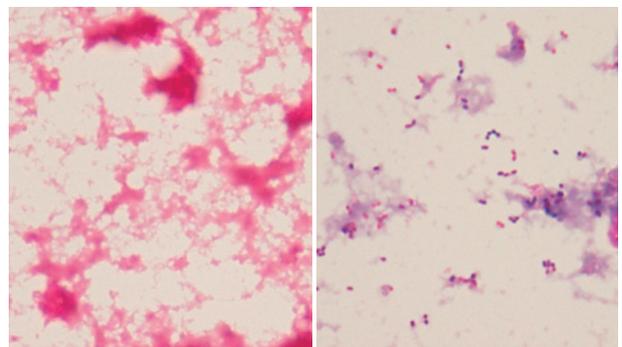
いると考えられる。当院には2014年8月にMALDIバイオタイパー（ブルカージャパン株式会社）が導入され、血液培養陽性検体の約8割は陽性検出当日中に同定菌名報告を行っている。

血液培養陽性ボトルからの直接菌種同定方法として各種前処理方法が用いられており、MALDIセブシタイパー血液培養抽出キット（ブルカージャパン株式会社）やrapid BACpro II（ニッターボーメディカル株式会社）などが販売されている。また各施設にて前処理方法が工夫されており、分離材入り採血管を用いる方法<sup>45)</sup>やセミアルカリプロテアーゼを用いた前処理方法<sup>46)</sup>などの報告もある。当院では滅菌スピッツを用いた遠心洗浄法<sup>47)</sup>にて実施している。しかし、すべての陽性ボトルに実施しているわけではない。初回のGram染色で菌種推定困難な場合や電子カルテの患者情報から臨床的に急を要する場合、勤務時間内にサブカルチャー培地にコロニー



自然乾燥後にグラム染色・鏡検(中心部を観察)

図6. 血液培養陽性ボトルから直接胆汁溶解試験スライド法



(a) *S. pneumoniae* (b) *E. faecalis*

図7. 胆汁溶解試験スライド法のGram染色結果 (a) では菌体が溶解して消失している

腸内細菌目細菌(所要時間:15~20分)

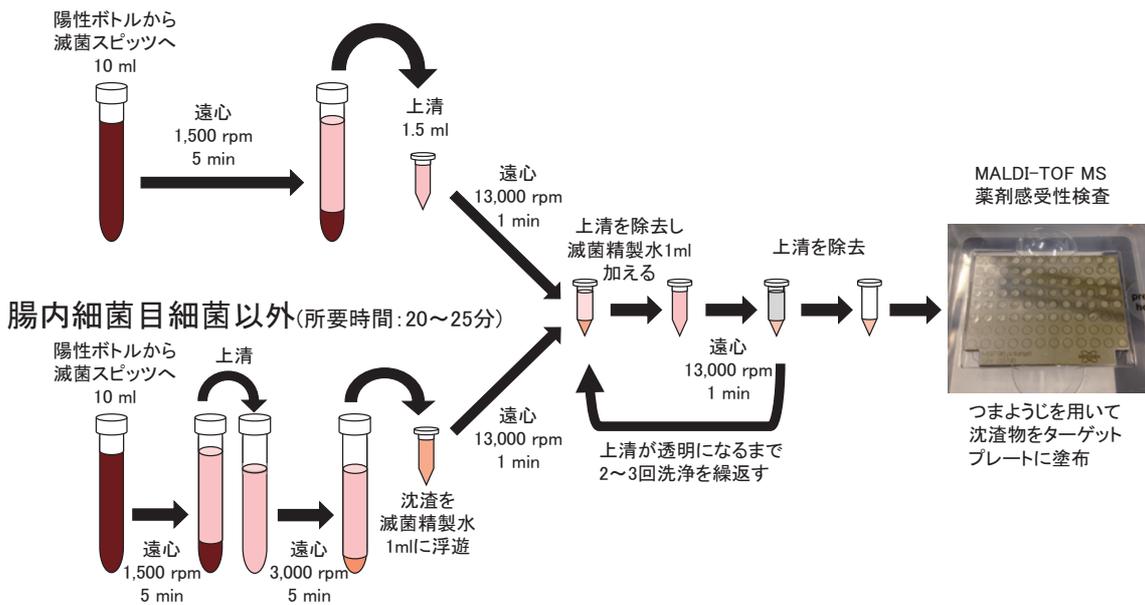


図8. 遠心洗浄法による前処理法

表 2. 質量分析装置による菌種同定と積極的な抗菌薬適正使用支援の効果<sup>50)</sup>

結果	導入前 n=256	導入後 n=245	P 値
30日以内の死亡者数 (%)	52 (20.3)	31 (12.7)	0.021
入院期間 (平均日数±1 SD)	14.2±20.6	11.4±12.9	0.066
ICU 在室期間 (平均日数±1 SD)	14.9±24.2	8.3±9.0	0.014
BSI の再発件数 (%)	15 (5.9)	5 (2.0)	0.038
30日以内の同じ BSI での再入院件数 (%)	9 (3.5)	4 (1.6)	0.262
効果的な治療までの時間 (平均時間±1 SD)	30.1±67.7	20.4±20.7	0.021
最適な治療までの時間 (平均時間±1 SD)	90.3±75.4	47.3±121.5	<0.001

形成が得られない場合などに、同一患者の陽性ボトル複数本中 1 本について実施している。

当院で実施している遠心洗浄法は図 8 のとおりで、腸内細菌目細菌と推定される場合は 15~20 分で完了する。腸内細菌目細菌以外の菌種など弱遠心後の上清中の菌量が少ないと予想される場合は、上清を再度強遠心している。

菌種によって各種抗菌薬に内因性耐性を示すものもあり、同定菌種名の迅速報告によって抗菌薬適正使用につながれた症例も多数経験している。血液培養検出菌で特に有用であった症例として、Gram 陰性球菌が検出され *Neisseria meningitidis* との鑑別が必要であったが、MALDI-TOF MS にて *Moraxella catarrhalis* と同定され、接触者への抗菌薬予防投与が不要となった例や、不明熱患者から検出された Gram 陰性桿菌が *Comamonas kerstersii* と同定され、文献から憩室炎との関連性を情報提供し、憩室炎の診断に至った症例<sup>48)</sup>、セフメタゾール耐性である *Enterobacter* spp. や、カルバペネム系抗菌薬耐性である *Elizabethkingia meningoseptica* や *Stenotrophomonas maltophilia* などの菌名迅速報告によって適正な抗菌薬に変更された症例など多数経験している<sup>49)</sup>。

また、日常検査における嫌気性菌同定検査での貢献度は高い。1 件あたりのランニングコストが安価で、嫌気培養後のコロニーから数分で菌名が得られるため、迅速性や同定検査費用削減に大きく貢献している。

MALDI-TOF MS 導入後は、同定検査よりも、鑑別培地や選択培地を駆使して如何に効率的に検出するか、分離培養に重点が置かれるようになると思われる。また、初めて見る菌名も多く、これまで以上に文献検索力や英文読解力、臨床とのコミュニケーション能力が求められる。

MALDI-TOF MS と積極的な抗菌薬適正使用支援によって 30 日以内の死亡者数を有意に低下させ、入院期間を短縮し、ICU 在室期間も有意に短縮、BSI の再発件数も有意に減少し、効果的な治療までの時間や最適な治療までの時間も有意に短縮するとされている<sup>50)</sup> (表 2)。

当院で実施した DPC データ解析でも、MALDI-TOF MS 導入後の敗血症 (DPC6 : 180010) の平均在院日数は 0.8 日短縮されていた<sup>13)</sup> (図 9)。平均在院日数 0.8 日短縮の経済効果について、当院の過去のデータでは平均在院日数の 1 日短縮で入院収入単価が 9,854 円/日上昇していたことから、0.8 日の短縮で入院収入単価が 7,883.2 円/日上昇することになる。また、平成 27 年度の延べ入院患者数 154,618 名のうち、全疾患に占める敗血症の割合は 2.05% であったことから、対

象患者は約 3,169 名となり、0.8 日分の入院収入単価をかけた約 2498 万円が経営効果として算出される。つまり、平均在院日数 0.8 日短縮で約 2498 万円の増収が得られたこととなる。ただし、この計算は病床稼働率や診療報酬点数が同じと仮定した場合であり、平均在院日数の短縮化にはいろいろな要因が影響すると考えられ、すべてが MALDI-TOF MS 導入によるものとは限らないが、MALDI-TOF MS 導入前の緩やかな経年短縮化傾向と比較して急激な短縮化であったことも考慮すれば、少なからずとも MALDI-TOF MS 導入による効果が得られたと考えられた。

#### (7) 迅速薬剤感受性検査

##### 1) ディスク法による迅速薬剤感受性検査

EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) は血液培養陽性ボトルから直接実施する迅速薬剤感受性検査 (RAST : rapid antimicrobial susceptibility testing) を 2018 年に発表した<sup>51)</sup>。RAST は血液培養陽性ボトル培養液をミューラーヒントン寒天培地に直接接種して塗布し、ディスク法にて 4 時間後または 6 時間後、8 時間後に判定する方法である。表 3 に示す菌種について判定時間別のブレイクポイントが設定されている。判定値は S (Susceptible : 感性) または R (Resistant : 耐性) と判定されない ATU (the Area of Technical Uncertainty : 技術的不確実性領域) という未確定範囲が設定されており、ATU と判定された場合は培養を最大 8 時間まで延長して判定する。

また、*Escherichia coli* と *Klebsiella pneumoniae* については RAST による ESBL 産生菌とカルバペネマーゼ産生菌の迅速スクリーニングも設定されている。

基本的な方法と注意事項を下記に示す。詳細は EUCAST サイト<sup>51)</sup>にて無料で閲覧できる。

##### 方法

①血液培養陽性ボトル培養液の原液 100~150  $\mu$ L を、ミューラーヒントン寒天培地 (MH) またはミューラーヒントン馬血液寒天培地 (MH-F) へ直接接種する。培地サイズはそれぞれ直径 90 mm の円形 (バージョン 1.1 に追加記載された)。

②綿棒で 3 方向に、または自動プレートローテーターを使用して標準法と同様に塗布する。綿棒で塗布する際、培地へ強く押しつけるとひっかき線が入り、阻止円直径の計測が困難になるので注意が必要。

③4 時間、6 時間、8 時間後のそれぞれ  $\pm$  5 分以内に阻止円直径を計測する。測定不可の場合は 10 分以内に再度培養開始する。菌種別にそれぞれの時間別の判定基準に従って判定

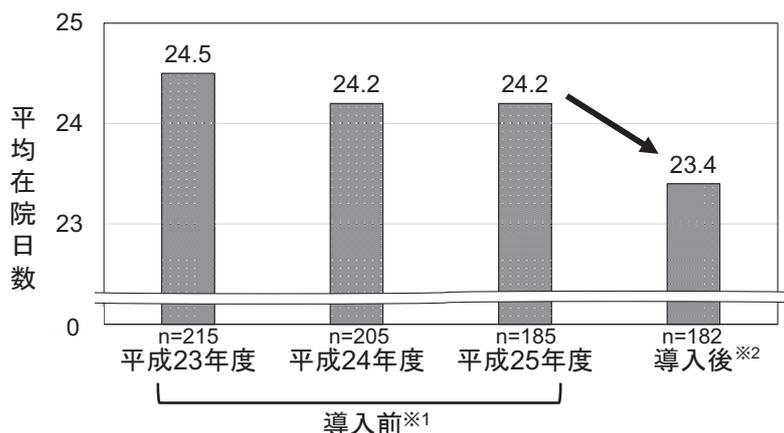


図9. 那覇市立病院における MALDI-TOF MS 導入前後の敗血症 (DPC6: 180010) の平均在院日数の推移

※1: MALDI-TOF MS 導入前

※2: MALDI-TOF MS 導入後 (平成26年10月～平成27年9月の1年間)

平均在院日数0.8日短縮=約2,498万円の増収

表3. EUCAST RAST 対象菌種と培養条件<sup>51)</sup>

菌種	培養時間	培地	培養環境
<i>Escherichia coli</i>	4, 6, 8時間	MH	35±1℃, 好気培養
<i>Klebsiella pneumoniae</i>			
<i>Acinetobacter baumannii</i>			
<i>Staphylococcus aureus</i>			
<i>Enterococcus faecalis</i>			
<i>Enterococcus faecium</i>			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6, 8時間	MH	35±1℃, 好気培養
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4, 6, 8時間	MH-F	35±1℃, 4-6% CO <sub>2</sub> 培養

MH: ミューラーヒントン寒天培地, MH-F: ミューラーヒントン馬血液寒天培地

する。

④ 阻止円直径は培地のふたを外して正面から計測する。

⑤ 各ブレイクポイントは EUCAST サイトを参照<sup>52)</sup>。

注意点

① 菌種別にブレイクポイントが設定されており、判定前に菌種を確定させる必要がある。

② 陽性シグナル検出後0～18時間以内に実施する。陽性シグナル検出後の陽性ボトルについて、室温保管で3時間まで、血液培養装置内で18時間まで保管可能とされている。

③ 4時間目に阻止円直径を読み取れない場合や ATU と判定された場合は6時間後、8時間後に再計測する。

④ 8時間培養で判定できない場合は、通常の方法で実施する。

⑤ RAST 専用の判定基準をコロニーから調整した迅速薬剤感受性試験に用いてはいけない。

⑥ 標準法での日常的な精度管理とは別に、RAST の精度管理は RAST 導入時や新人トレーニング時、血液培養システム変更時に精度管理株を用いて検証する。

⑦ RAST の精度管理は、精度管理株の100～200 CFU/mL に調整した菌液1 mL\*を血液培養ボトルに接種し、さらに5 mL の馬または羊血液を加えて血液培養装置で培養する。陽性シグナル検出後、RAST の方法に従って実施する。精度

管理株の目標値は EUCAST サイトを参照<sup>52)</sup>。

※100～200 CFU/mL に調整する方法: McFarland 0.5 (1×10<sup>8</sup> CFU/mL) に調整した菌液1 μL を1 mL の生理食塩水に混和し (1×10<sup>5</sup> CFU/mL)、さらにその菌液1 μL を1 mL の生理食塩水に混和する (1×10<sup>2</sup> CFU/mL)。

RAST の実施には判定時に菌名が判明している必要があり、判定時刻が勤務時間外になる場合や精度管理が煩雑であるなどの課題もある。しかし、特別な機器を必要とせず、施設の規模にかかわらず実施可能と考えられ、運用を工夫することで AS の推進に有用と考えられる。Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) でも6時間判定の同様な試みがあり<sup>53)</sup>、迅速薬剤感受性検査ディスク法による AS の推進が期待される。

## 2) 全自動同定薬剤感受性検査装置の活用

血液培養陽性ボトルから血清分離採血管などを用いて菌液を調整し、BD フェニックス (日本ベクトン・ディッキンソン株式会社) やバイテック2 (バイオメリュー・ジャパン株式会社) など全自動同定感受性検査システムを用いることで、迅速に同定結果と薬剤感受性検査結果の報告が可能となる<sup>54)</sup>。

標準法と比較して直接法の同定結果については Gram 陽性球菌で一致率は低いものの Gram 陰性桿菌では高く<sup>54)</sup>、薬剤感受性検査については Gram 陽性球菌、Gram 陰性桿菌とも

にカテゴリー一致率は高く、BD フェニックス、バイテック 2 ともに 92.4% から 99.5% と高値を示した<sup>53)56)</sup>。

また、全自動同定薬剤感受性検査装置を用いて迅速に結果が得られたとしても、報告が遅れては無意味である。全自動同定薬剤感受性検査装置の結果をリアルタイムに報告できるようなワークフローや検査システムの構築も重要である<sup>57)</sup>。

### 3) ESBL 産生菌の直接検出

ESBL 産生菌の迅速な確認方法について、Nordmann らによって考案された ESBL NDP test<sup>58)</sup>を用いて血液培養陽性ボトルから ESBL 産生菌を直接検出する方法が報告されている。その感度・特異度はともに 100% で、検査所要時間は 1 時間以内であり、迅速性に優れた方法である<sup>59)</sup>。さらに上地らは、ESBL NDP test で ESBL の阻害に用いられている Tazobactam (TAZ) について、入手や調整がより簡便な Cefotaxime/Clavulanate (CTX/CVA) ディスクを用いた modified ESBL NDP test を報告し、より簡便な方法に改良した<sup>60)</sup>。

シカバータテスト (関東化学株式会社) による血液培養陽性ボトルからの直接 ESBL 産生菌検出も報告されている<sup>61)</sup>。

## 4. まとめ

血流感染症診療に必要な不可欠である血液培養検査について、AS を推進させるため DS の視点から、適切な血液培養検査の実施と迅速な血液培養陽性報告について述べた。

血液培養検査を診断治療に活かすためにも適切な血液培養検査の実施が必要であり、血液培養検査件数や 2 セット採取率、血液量、陽性率、コンタミネーション率などの定期的なモニタリングと効果的なフィードバックが重要である。

また、中間報告を含めた迅速な報告体制の確立も重要であり、血液培養陽性検出時の Gram 染色結果や迅速同定検査結果、迅速薬剤感受性検査結果など各施設内で実施可能な方法をフルに活用して迅速報告することで早期診断・治療につながると考えられる。

新しい検査技術や検査法も日々更新されており、それらをどのように取り入れ、活かして行くかも臨床微生物検査室の腕の見せどころであり、さらに効果的な DS につながれると考えられる。

利益相反：申告すべき利益相反なし

## 文 献

- 1) Baron, E.J., M.P. Weinstein, W.M. Dunne Jr, et al. 2005. CUMITECH 1C: Blood Cultures IV, American Society for Microbiology, Washington D.C. (松本哲也, 満田年宏 訳. 2007. CUMITECH 血液培養検査ガイドライン, 医歯薬出版, 東京).
- 2) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2007. Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline. CLSI document M47-A, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- 3) 日本臨床微生物学会検査法マニュアル作成委員会・血液培養検査ガイド作業部会 編. 2013. 血液培養検査ガイド, 日本臨床微生物学会, 東京.
- 4) 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.

- 5) 二木芳人, 賀来満夫, 青木洋介, 他. 2017. 抗菌薬適正使用支援プログラム実践のためのガイダンス. 感染症誌 91: 709-746.  
[https://www.kansensho.or.jp/uploads/files/guidelines/1708\\_ASP\\_guidance.pdf](https://www.kansensho.or.jp/uploads/files/guidelines/1708_ASP_guidance.pdf) 2021 年 10 月 20 日現在.
- 6) World Health Organization. 2016. Diagnostic stewardship: a guide to implementation in antimicrobial resistance surveillance sites. World Health Organization.  
<https://apps.who.int/iris/handle/10665/251553> 2021 年 10 月 20 日現在.
- 7) 日本臨床微生物学会提言. 2019. ICT・AST 活動で求められる臨床微生物検査室の役割—認定臨床微生物検査技師 (Certified Medical Technologist in Clinical Microbiology: CMTCM 及び Infection Control Microbiological Technologist: ICMT) の重要性—. 日臨微誌 29: 53-57.
- 8) Singer, M., C. S. Deutschman, C. W. Christopher, et al. 2016. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA 315: 801-810.
- 9) Mermel, L. A., M. Allon, E. Bouza, et al. 2009. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin. Infect. Dis 49: 1-45.
- 10) 大曲貴夫, 高倉俊二, 松村康史, 他. 2012. 日本の病院における血液培養採取状況および陽性率の実態調査—パイロットスタディー—. 日臨微誌 22: 13-19.
- 11) 大城健哉, 清祐麻紀子, 木戸直徳, 他. 2018. 九州・沖縄地区における血液培養検査実施状況調査結果報告. 日臨微誌 29 (Suppl.1): 371.
- 12) Cockerill, F. R. 3rd, J. W. Wilson, E. A. Vetter, et al. 2004. Optimal testing parameters for blood cultures. Clin. Infect. Dis 38: 1724-1730.
- 13) 大城健哉, 宮城ちひろ, 平良ひかり. 2018. 微生物検査における迅速検査に関するトピックスとその有用性 (2) 血液培養検査 ~抗菌薬適正使用に有用な情報提供~. 臨床病理 66: 1196-1205.
- 14) Lee, A., S. Mirrett, L. B. Reller, et al. 2007. Detection of bloodstream infections in adults: how many blood cultures are needed? J. Clin. Microbiol 45: 3546-3548.
- 15) Schifman, R. B., P. Bachner, P. J. Howanitz. 1996. Blood culture quality improvement: A College of American Pathologists Q-Probes study involving 909 institutions and 289,572 blood culture sets. Arch. Pathol. Lab. Med 120: 999-1002.
- 16) Doern, G. V., K. C. Carroll, D. J. Diekema, et al. 2019. Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: A Comprehensive Update on the Problem of Blood Culture Contamination and a Discussion of Methods for Addressing the Problem. Clin. Microbiol. Rev 33: e00009-19.
- 17) Church, D. L. 2016. Aerobic Bacteriology, 3.4 Blood Cultures. 3.4.1.1-3.4.1.25. In: Clinical microbiology procedures handbook, 4th ed. (AL Leber, ed.), ASM Press, Washington,

- D.C.
- 18) 川上小夜子, 斧 康雄, 宮澤幸久. 2002. 全自動血液培養装置へのボトルセットの遅れが微生物の検出に及ぼす影響について. 日臨微誌 12: 86-92.
  - 19) Venturelli, C., E. Righi, L. Borsari. 2017. Impact of pre-analytical time on the recovery of pathogens from blood cultures: results from a large retrospective survey. PLoS One 12: e0169466.
  - 20) Lee, D. H., E. H. Koh, S. R. Choi, et al. 2013. Growth dynamics of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* as a function of time to detection in BacT/Alert 3D blood culture bottles with various preincubation conditions. Ann. Lab. Med 33: 406-409.
  - 21) Brouqui, P., D. Raoult. 2001. Endocarditis due to rare and fastidious bacteria. Clin. Microbiol. Rev 14: 177-207.
  - 22) Petti, C. A., H. S. Bhalley, M. P. Weinstein. 2006. Utility of extended blood culture incubation for isolation of *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, and *Kingella* organisms: a retrospective multicenter evaluation. J. Clin. Microbiol 44: 257-259.
  - 23) 田中孝志, 後藤美江子, 奥住捷子, 他. 2007. 血液培養からの *Helicobacter cinaedi* 及びその類縁菌の分離培養と簡便同定法に関する検討. 感染症誌 81: 700-706.
  - 24) Munson, E. L., D. J. Diekema, S. E. Beekmann. 2003. Detection and treatment of bloodstream infection: laboratory reporting and antimicrobial management. J. Clin. Microbiol 41: 495-497.
  - 25) Barenfanger, J., D. R. Graham, L. Kolluri. 2008. Decreased mortality associated with prompt Gram staining of blood cultures. Am. J. Clin. Pathol 130: 870-876.
  - 26) 宮城ちひろ, 大城健哉, 玉城善和, 他. 2012. 那覇市立病院における休日の血液培養陽性報告について. 那覇市立病院医学雑誌 4: 35-39.
  - 27) 上地幸平, 仲松正司, 山内 恵, 他. 2020. 血液培養検査の運用変更が Turnaround time (TAT) 短縮と抗菌薬適正使用に及ぼす効果. 臨床病理 68: 966-972.
  - 28) 川上剛明, 荒井ひろみ, 大木まゆみ, 他. 2012. 血液培養検査の24時間対応による診療支援. 医学検査 61: 523-528.
  - 29) Martinez, R.M. 2019. Remote technical review of blood culture gram stains at a large integrated healthcare network. J. Appl. Lab. Med 3: 733-734.
  - 30) 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. 日臨微誌 14: 177-182.
  - 31) 大野達也, 田中洋輔, 安西桃子, 他. 2020. 血液培養由来 coagulase negative staphylococci に関する臨床的有意性の検討. 医学検査 69: 300-306.
  - 32) Mermel, L. A., M. Allon, E. Bouza, et al. 2009. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin. Infect. Dis 49: 1-45.
  - 33) Kassis, C., G. Rangaraj, Y. Jiang, et al. 2009. Differentiating culture samples representing coagulase-negative staphylococcal bacteremia from those representing contamination by use of time-to-positivity and quantitative blood culture methods. J. Clin. Microbiol 47: 3255-3260.
  - 34) Raad, I., H. A. Hanna, B. Alakech, et al. 2004. Differential time to positivity: a useful method for diagnosing catheter-related bloodstream infections. Ann. Intern. Med 140: 18-25.
  - 35) 大城健哉, 宮城ちひろ, 平良ひかり, 他. 2018. 血液培養陽性検出時間差を用いたカテーテル関連血流感染診断方法の検証. 那覇市立病院医学雑誌 10: 5-10.
  - 36) 川上剛明. 2019. 臨床検査のピットフォール 血液培養陽性となった検体の塗抹検査で菌が認められない場合, 直ちに陰性と判断してはダメ. 検査と技術 47: 1400-1402.
  - 37) 西山宏幸, 鈴木智一. 2006. 血液培養の問題点と解決策 5. 陽性シグナル後の問題点と対策. Medical Technology 34: 467-472.
  - 38) Murray, P. R. 1979. Modification of the bile solubility test for rapid identification of *Streptococcus pneumoniae*. J. Clin. Microbiol 9: 290-291.
  - 39) Ohkusu, K. 2000. Cost-effective and rapid presumptive identification of gram-negative bacilli in routine urine, pus, and stool cultures: evaluation of the use of CHROMagar orientation medium in conjunction with simple biochemical tests. J. Clin. Microbiol 38: 4586-4592.
  - 40) Ohtaki, H., A. Takahashi, A. Niwa, et al. 2020. Evaluation of presumptive identification of *Enterobacterales* using CHROMagar Orientation medium and rapid biochemical tests. J. Clin. Lab. Anal 34: e23453.
  - 41) 中山麻美, 大瀧博文, 大楠清文, 他. 2015. クロモアガーオリエンテーション/ESBL 分画培地を用いたグラム陰性桿菌の簡易同定法と ESBL 産生菌の効率的な検出法の評価: 質量分析法との同定精度の比較と費用対効果を含めた検討. 日臨微誌 25: 304-313.
  - 42) Kuchibiro, T., A. Hirano, S. Ogasawara, et al. 2020. The microcolony detection method (MCD), a simple and rapid screening test for antimicrobial resistance bacteria on positive blood cultures. Heliyon 6: e05494.
  - 43) 日本臨床微生物学会 感染症領域新規検査検討委員会, 日本感染症学会 感染症遺伝子検査委員会. 多項目遺伝子関連検査の実施指針. <http://www.jsbcm.org/m-info/299.pdf> 2021年10月20日現在.
  - 44) 宮城ちひろ, 大城健哉, 平良ひかり, 他. 2017. Verigene システム敗血症パネル BC-GN キットを用いた血液培養陽性検出時の菌名および耐性遺伝子の迅速報告による臨床的効果. 日臨微誌 28 (Suppl. 1): 422.
  - 45) 山田直輝, 原 祐樹, 川島 誠, 他. 2018. 質量分析器における血液培養からの直接同定法に関する基礎的検討. 医学検査 67: 307-313.
  - 46) 馬場康次, 辻 智美, 福田 峻, 他. 2018. 我々が考案した血液培養陽性ボトルからの直接同定を目的とした簡便な前処理方法の評価. 医学検査 67: 623-630.
  - 47) 大城健哉, 宮城ちひろ, 平良ひかり. 2020. MALDI バイオタイパーの導入と費用対効果. 臨床と微生物 47: 291-295.
  - 48) 宮城ちひろ, 大城健哉, 平良ひかり, 他. 2019. 血液培養陽性ボトルからの迅速な菌種同定が憩室炎の早期診断に有用であった *Comamonas kerstersii* による敗血症の1症例.

- 日臨微誌 29: 146-151.
- 49) 大城健哉. 2016. 臨床微生物検査における MALDI-TOF MS の導入効果. J. Mass Spectrom. Soc. Jpn 64: 133-137.
- 50) Huang, A. M., D. Newton, A. Kunapuli, et al. 2013. Impact of rapid organism identification via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight combined with antimicrobial stewardship team intervention in adult patients with bacteremia and candidemia. Clin. Infect. Dis 57: 1237-1245.
- 51) The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Rapid AST directly from blood culture bottles. [https://www.eucast.org/rapid\\_ast\\_in\\_blood\\_cultures/](https://www.eucast.org/rapid_ast_in_blood_cultures/) 2021年10月20日現在.
- 52) European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Zone diameter breakpoints for rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from blood culture bottles. Version 3.0, valid from 2021-01-01. [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/RAST/EUCAST\\_RAST\\_Breakpoint\\_Table\\_v\\_3.0.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/RAST/EUCAST_RAST_Breakpoint_Table_v_3.0.pdf) 2021年10月20日現在.
- 53) Chandrasekaran, S., A. Abbott, S. Campeau, et al. 2018. Direct-from-blood-culture disk diffusion to determine antimicrobial susceptibility of gram-negative bacteria: preliminary report from the clinical and laboratory standards institute methods development and standardization working group. J. Clin. Microbiol 56: e01678-17.
- 54) Gonzalez, M. D., T. Chao, M. A. Pettengill. 2020. Modern Blood Culture: Management Decisions and Method Options. Clin. Lab. Med 40: 379-392.
- 55) Gherardi, G., S. Angeletti, M. Panitti. 2012. Comparative evaluation of the Vitek-2 Compact and Phoenix systems for rapid identification and antibiotic susceptibility testing directly from blood cultures of gram-negative and gram-positive isolates. Diagn. Microbiol. Infect. Dis 72: 20-31.
- 56) Horing, S., A. S. Massarani, B. Löffler. 2019. Rapid antibiotic susceptibility testing in blood culture diagnostics performed by direct inoculation using the VITEK(R)-2 and BD Phoenix platforms. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis 38: 471-478.
- 57) 高橋弘志. 2006. 同定, 薬剤感受性検査 同定, 感受性検査システム BD フェニックス TM の基礎的性能評価. 臨床と微生物 33: 44-50.
- 58) Nordmann, P., L. Dortet, L. Poirel. 2012. Rapid detection of extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. J. Clin. Microbiol 50: 3016-3022.
- 59) Dortet, L., L. Poirel, P. Nordmann. 2015. Rapid detection of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* in blood cultures. Emerg. Infect. Dis 21: 504-507.
- 60) 上地幸平, 仲宗根勇, 野中実可子, 他. 2018. ESBLs 迅速検出法 modified ESBL NDP test の有用性に関する検討. 日臨微誌 28: 173-182.
- 61) 前田和樹, 大友志伸, 林 智弘, 他. 2018. ガラスビーズを用いた ESBLs 産生菌の迅速スクリーニング法. 医学検査 67: 727-733.

## Diagnostic Stewardship in Blood Cultures

Takeya Ohshiro

Division of Clinical Laboratory, Department of Medical Technology, Naha City Hospital

Blood cultures are important in the diagnosis and treatment of bloodstream infections, and two sets of blood cultures are recommended when various infections are suspected. It is important to monitor and provide effective feedback on the number of tests, two-set collection rate, blood volume, positivity rate, and contamination rate to ensure that blood culture tests are being performed appropriately. Moreover, prompt reporting of positive blood culture results using various tests will lead to appropriate diagnosis and treatment, which depends on the efforts and skills of the clinical microbiology laboratory. The adoption and utilization of new microbiologic technologies and new testing methods will lead to effective diagnostic stewardship (DS) that will further promote antimicrobial stewardship (AS). This review describes appropriate blood cultures and rapid positive blood culture reporting as DS in clinical microbiology laboratories for effective AS.