

〈proceedings〉

## 細菌検査の流れと結果の読み方

龍野 桂太

*Bacteriological Test Flow and How to Read the Results*

Keita TATSUNO

Department of Infection Control and Prevention, Mitsui Memorial Hospital

(2023年2月16日受付・2023年3月25日受理)

## 要 旨

細菌検査は時間と共に報告内容が変わり、初期は塗抹検鏡結果だけ、翌日以降の中期に同定菌名かその途中結果、翌々日以降に薬剤感受性検査結果も含めた最終結果、という経過を辿る。だが、患者の重症度や疾患の緊急度によっては、最終結果が出ていない段階でも、抗菌薬治療や感染経路別予防策が必要となることもある。

まず初期段階では塗抹検鏡の微生物形態について触れ、どこまで治療や予防策に反映させられるのかについて説明する。次の中期段階では、分離培養されたコロニーの性状、血液培養ボトルでの発育条件などから、ある程度の菌種や感受性結果の見当がつくことに触れ、場合によっては対応を変更する必要があることを説明する。最終結果の感受性試験について説明した後に、この検査の流れを集中治療などでみられる医療関連感染症を例に見ていく。

多数の医療器具が使用されている場合、人工呼吸器関連肺炎・カテーテル関連血流感染症・カテーテル関連尿路感染、どれが主因なのか判断が困難なことがよくある。だからといって全てに抗菌薬治療をするわけではなく、治療すべき起因菌もあれば、定着菌として治療対象とすべきでないものも入り乱れている。そこで考えるべきなのが、感染症の可能性がどの程度あるのかと、治療閾値と検査閾値をどの程度に設定するのか、である。それぞれについて細菌検査結果を活かしてどう考えるのか、細菌検査の流れと共に読み解いていく。

Key words : 塗抹検鏡, 同定検査, 薬剤感受性検査, 重症度, de-escalation

細菌検査は時間経過と共に報告される内容が変わっていく。初日は塗抹検鏡結果のみだったものが、2日目には $\alpha$ 溶血性連鎖球菌まで同定され、3日目にはペニシリン感性の肺炎球菌に確定する、という具合である。これは報告内容が覆されるのではなく、日を追うごとに情報量が増えていくためであり、情報量が増えれば不確実なものは確実になり、何種類も想定されていた鑑別診断は一つの確定診断に収斂されていくものである(図1)。この性質のため、例えば喀痰でグラム陽性球菌が確認された時も、初日は肺炎球菌・メチシリン感性黄色ブドウ球菌(MSSA)・メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)、いずれの可能性もあり得るとして抗菌薬選択や感染経路

別予防策が取られることもあるし、3日目にペニシリン感性の肺炎球菌に確定したところでバンコマイシンからペニシリンGに抗菌スペクトラムを狭め、MRSAを想定した接触感染対策を解除することもあるだろう。このように細菌検査は時間に沿った流れで理解し、それに合わせた結果の読み方が必要になってくる。本稿では時間の流れを初期・中期・後期の3期に分けて解説する。

## ・初期の読み方

初日に得られる細菌検査の基本は、塗抹検鏡結果である。最も一般的な手法は細菌を細胞壁の厚みによって陽性菌・陰性菌に染色し分けるグラム染色で、観察される形態からも球菌・桿菌に分類し、グラム陽性球菌/グラム陽性桿菌/グラム陰性球菌/グラム陰性桿菌の4種類に

大別するものである。ただ、菌種によっては特有の形態を取るため、検鏡だけでもある程度の菌種推定が可能で

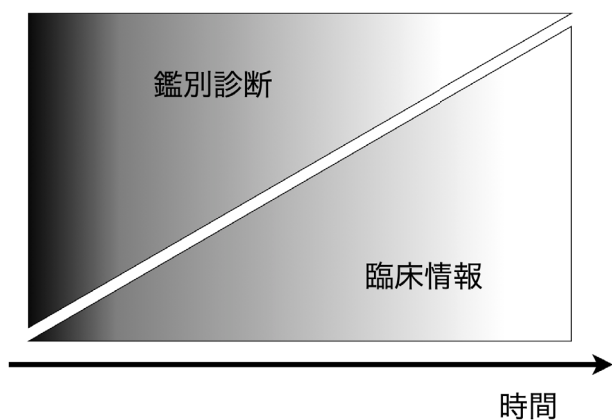


図1 臨床情報と鑑別診断の関係性

時間の経過とともに信頼できる臨床情報が増え、情報量が増えれば不確実なものは確実になり、それによって想定される鑑別診断も徐々に絞られてくる。

ある。例えば同じグラム陰性桿菌(図2)でも、*Escherichia coli*などの腸内細菌科は太く短めの桿菌になり、*Pseudomonas aeruginosa*などの乳糖非発酵菌はそれよりも細長く末端が丸みを帯びる傾向があり、*Bacteroides fragilis*などの偏性嫌気性菌では長短まちまちになりやすく、熟練した検査技師であれば比較的容易に見分けられる。同じことはグラム陽性球菌にも言え、*Staphylococcus*属であればブドウ状に集簇し、腸球菌あるいは肺炎球菌であれば双球菌の形態、溶連菌であれば比較的長い連鎖状の球菌、という具合に見分けることができる。特に連鎖状かブドウ状かの区別は、MRSAとしてバンコマイシンが必要なのか否かの分岐点になり、抗菌薬選択の上でも重要である。

ただし、あくまでも初期に得られる情報であり、それだけで深読みしすぎないように注意も必要である。例えば、グラム染色検鏡所見では *Staphylococcus* 属に見えても、いざ培養同定試験をしてみると3日後にはペニシリンGに感受性のある *Streptococcus anginosus* と同定

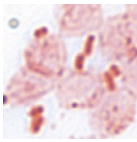
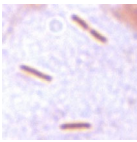

分類	腸内細菌科	乳糖非発酵菌	偏性嫌気性菌
代表菌	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>
塗抹検鏡			
	太い桿菌	細長め	長短まちまち
血液培養発育ポトル	嫌気・好気	好気	嫌気
血液培養発育時間(中央値[最短-最長])	12:19 [5:04-57:35]	14:17 [8:45-72:59]	39:19 [28:47-120:59]

図2 グラム陰性桿菌の形態と発育条件

グラム陰性桿菌は *Vibrio* sp. などのわずかな菌種を除けば、腸内細菌科、乳糖非発酵菌、偏性嫌気性菌の3通りに大別できる。それぞれ形態、発育条件、発育時間(自施設データ)が異なり、組み合わせればおよそその検討を違えることはない。

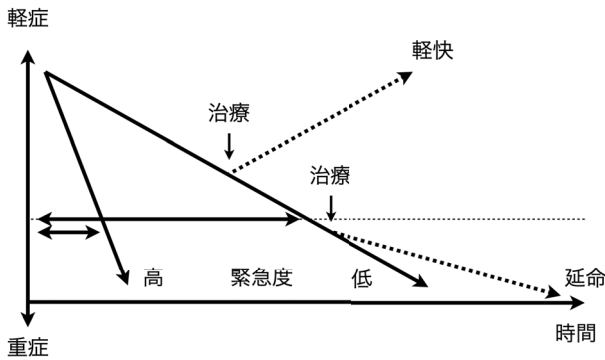


図3 患者の重症度、疾患の緊急度、治療開始時期との関係  
病状は時間と共に軽症から重症に進行し、ある時までには治療することで軽快するが、ある時からは治療をしても延命にしかならなくなる。この「限られた時間」(←→)は疾患の緊急度によって変わり、急勾配で悪化する疾患の場合は、軽症のうちから治療が必要である。

され、この3日間で経験的抗菌薬として使用したバンコマイシンが不要であったばかりか、その間に薬剤性腎障害を合併した場合、結果として過剰医療だったということにさえなりかねない。どんな時でもスピーディが良い、という単純な問題ではない。むしろ限られた時間が短い時間なのか、長い時間なのか、それを見極めてどこまで深読みが許容できるのか、その用心深い厳密な判断を下すことの方が重要である。

ここでいう「限られた時間」の最たるものは、治療開始が遅れるほど死亡率が上がることである(図3)。Staphylococcus aureus 菌血症の死亡率の比較試験<sup>1)</sup>を例に挙げると、APACHE IIスコア15点以下と重症度が低い場合は抗菌薬治療開始が2日以内でも3日以上でも死亡率に有意差はないが、16点以上と重症度が高い場合は治療開始が3日以上遅れると有意に死亡率が上昇する。S. aureus 菌血症という重大な疾患にも関わらず、患者の重症度によっては治療開始が遅れても、生命予後だけであれば意外にも許容できる場合もある。勿論、これは菌血症の死亡率だけであり、身体機能が温存できるか、入院期間や医療費がどの程度になるか、などのアウトカムも重大な判断材料であり、これらは概して早期診断早期治療の方が良好である。また、原因菌も重症度も同じであっても、感染した臓器によっては急速に悪化する場合がある。例えば同じ肺炎球菌感染症の場合であっても、副鼻腔炎の場合は抗菌薬治療開始は数日経過を見て自然軽快しない場合のみに限定される<sup>2)</sup>が、髄膜炎の場合は急速に進行し緊急度が高く、軽症の早期のうちから治療開始することが第一とされている<sup>3)</sup>。重症度だけでなく、疾患の緊急度も深読みが許容されるか否かの、重要な判断材料といえる。

このように、初期に得られる細菌検査の情報は、一部の迅速抗原検査を除けば原則として塗抹検鏡結果のみで、

同定・薬剤感受性検査結果が確定したわけではなく、抗菌薬選択や感染経路別予防策も全てを網羅せざるを得ない。とはいえ、検鏡で見られる染色性や形態からある程度の予測が可能であり、抗菌薬選択も広域スペクトラムが常に最善とは限らない。患者の重症度・疾患の緊急度によっては、予測に基づいて狭域スペクトラムのものを選択する場合もある。

#### ・中期の読み方

検査2日目以降は検鏡のみではなく、培養から得られる情報が加わる。確認培養検査や薬剤感受性検査の情報はなく、あくまで途中結果ではあるものの、この段階で既に予想が立つことも少なくない。血液培養検査の場合、培養ボトル内に何時間で微生物が急速増殖し始めたのか、嫌気ボトルか好気ボトルなのか、それも有益な情報である。先ほどグラム陰性桿菌は熟練した検査技師であれば検鏡のみでも見分けられると述べたが、腸内細菌科は通性嫌気性菌、乳糖非発酵菌は偏性好気性菌、B. fragilisなどは偏性嫌気性菌、という性質を利用して発育した嫌気/好気ボトルの条件から、初学者でも検鏡に確信が持てるようになる。また、発育も腸内細菌・乳糖非発酵菌・偏性嫌気性菌の順で早く、発育時間も参考にするとこの3種類を分類し間違えることはほぼなくなる(図2)。血液培養は発育したボトルから平板培地に分離培養し直すが、喀痰など菌量が多い材料は増菌することなく初日から平板培地に分離培養するため、2日目の時点でコロニーが形成されており、その見た目や溶血性などから、菌名が予想できることが多い。先ほどグラム陽性球菌の塗抹所見で、腸球菌あるいは肺炎球菌であれば双球菌の形態であると触れたが、肺炎球菌はα溶血性でコロニーの中央が凹んだ特徴的な形状、あるいはムコイドを産生しツヤツヤした形状をしており、塗抹だけでは区別が困難な場合も、分離培養された時点で確実に区別できるようになる。また、同定検査に質量分析装置を用いる施設では、このコロニーから直ぐに同定検査を行い、2日目の時点で既にEnterococcus faecalisやStreptococcus pneumoniaeといった正確な菌名まで辿り着くことが可能である。

このように2日目に菌名が確定することがある一方、薬剤感受性検査は分離培養された一つのコロニーから再度検査されるため、原則として2日目には確定しない。ただ、例えばMSSAかMRSAかを確定させる作業は、オキサシリンの最小発育阻止濃度(minimum inhibitory concentration: MIC値)が2.0以下か否かで決まる<sup>4)</sup>ため、初日に分離培養する平板培地にあらかじめ抗菌薬(主にセフォキシチンが使われる)入りの培地も併用しておくことで、分離培養が完了した2日目の時点でかなりの精度で予測を立てることができる。全ての薬剤に対する

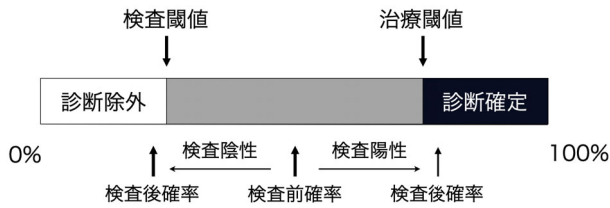


図4 閾値モデル

検査陽性であれば確率は陽性尤度比だけ上がり、陰性であれば陰性尤度比だけ下がる。治療閾値を超えたものを診断確定、検査閾値を超えたものを診断除外、とする。

感受性試験ができるわけではないが、初日に例えばセファゾリンが投与されていた場合、2日目の時点でMRSAという予測に合わせてバンコマイシンに切り替えることで、前述のように重症例では生命予後改善が期待できる。

このように、中期に得られる途中情報でも、同定検査結果や薬剤感受性検査も目処が立ってくるが、問題はこの情報が活かせるか否かである。基本的には、初日立てた予想が途中結果と矛盾ないのであれば、決断した抗菌薬選択や感染経路別予防策は据え置き、発熱や採血データが不安という理由で徒らに方針を変更すべきではない。逆に、初日立てた予想が途中結果により覆る場合は必ず病状を見返し、たとえ解熱が得られていたとしても、先ほど例に出したバンコマイシンに切り替えるなど、理屈に合った対応を追加する必要がある。

・後期の読み方

最終的には同定・薬剤感受性検査結果が確定し、抗菌薬選択や感染経路別予防策は、確定した情報を元に必要最小限のものに‘de-escalation’する。

薬剤感受性検査結果の読み方として注意すべきことは、MIC値が低ければ抗菌薬が有効とは限らない、ということである。一つには薬剤毎に使用可能な血中濃度が異なり、たとえMIC値が低くても低濃度しか維持できない薬剤の場合は耐性と判定される、という理由がある。もう一つは、たとえばクリンダマイシンのMIC値が低くても、D-testというエリスロマイシンとともに感受性試験をすると耐性が誘導される場合があるなど、試験管内での検査は生体内での有効性と必ずしも一致するわけではない、という理由もある。感性(S:sensitive)か耐性(R:resistant)かはその性質を踏まえて判定されており、原則として抗菌薬選択はMIC値ではなくSかRかによって決まる。また、SかRかカテゴリーが決まっていな抗菌薬は、MIC値が低くても他に選択肢がない場合を除いて使用すべきではない。

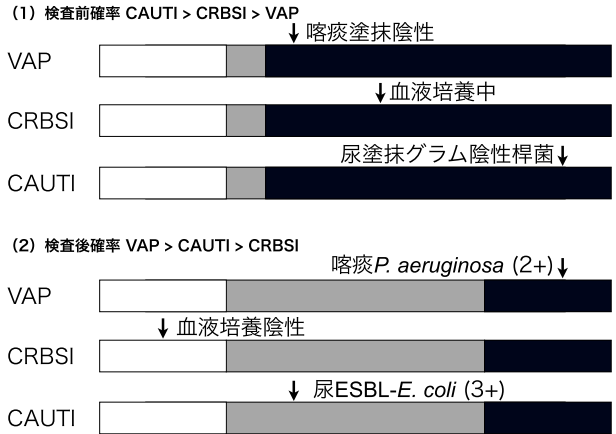


図5 VAP, CRBSI, CAUTIに対する検査前(1)と検査後(2)の判断

検査前確率、検査後確率それぞれ黒矢印で示す。塗抹検査のみで重症度の高い時と、培養検査結果を踏まえて軽症になってきた時とで、どこまでを治療対象とするか判断が変わる。

・医療関連感染症マネジメントの例

これまで見てきた読み方を、例としてICU入院中の医療関連感染症合併例に時間別に適応させ、理解を深めさせたい。

その前に前提となるのが、感染症とは確率でしか捉えることができない、ということである。細菌検査がサンプリング検査である以上、感染症が成立したか否かはゼロイチの二択ではなく、確率を推定したものに過ぎない。この確率は、検査を行い陽性であれば陽性尤度比だけ上がり、陰性であれば陰性尤度比だけ下がるが、どんなに優秀な検査でも0%か100%にはできない。診断確定とは検査後確率が100%になったという意味ではなく、それだけ可能性が高ければ治療する価値があるという治療閾値を超えただけであり、診断除外も0%になったのではなく、それだけ可能性が低ければ検査を打ち切りにするという検査閾値を超えたに過ぎない(図4)。

この考え方はICU入院中に発生しがちな、人工呼吸器関連肺炎(VAP:ventilator-associated pneumonia)なのか、カテーテル関連血流感染症(CRBSI:catheter related bloodstream infection)なのか、カテーテル関連尿路感染症(CAUTI:catheter-associated urinary tract infection)なのか、悩ましい場合に遺憾無く効力を発揮する。いま仮に、診察所見・画像所見・各検体の塗抹検鏡所見からVAPの可能性が低く、CRBSIの可能性が中等度、CAUTIの可能性が高い、としよう(図5)。尿塗抹でグラム陰性桿菌が確認できたCAUTIの場合、E.coliだけでなくP.aeruginosaもそれなりの頻度で見られるため、抗菌薬の選択はセファゾリンやセフォタキシムではなく、セフトジジムやセフェピムなどの抗緑膿菌活性のあるものが必要になる。あくまで感染初期は培養情報がなく、後になってどれかはっきりしてくるので、

確定するまでの最低48時間は、可能性があるものを十分にカバーしておかなければ危険である。その論理に則ると、中等度としたCRBSIも明日になったら血液培養からグラム陽性球菌が発育し、2日後にはMRSAに確定する可能性もあり、ICU入院中という重症例で治療開始が48時間遅れることは好ましくない。初日の抗菌薬はセフェピム+バンコマイシンとして、想定される感染症・起因菌をフルカバーすることも、理論上は妥当である。

次に、数日後に培養検査結果が出てきた場面を考えるが、この間に全身状態としてはカテコラミンも人工呼吸器も離脱したほど改善しているものとする。同定・薬剤感受性検査結果として、喀痰は塗抹検鏡所見に反して *P. aeruginosa* (2+)、血液培養は発育せず、尿培養はESBL産生の *E. coli* (3+) だったとする。喀痰の塗抹検鏡は感度としては不十分な検査であり、微生物が見えなくてもより感度の高い培養検査をすることで検出されるのは、決して珍しいことではない。この検査結果に合わせ、VAPである可能性が高くなり、CRBSIは診断除外というほど可能性が下がり、念の為使用していたバンコマイシンは不要になったと言える。一方のCAUTIは血液培養で *E. coli* が生えず、診断確定とはいえない。それどころか、ESBL産生菌に対してセフェピムは無効であり、全身状態が改善していることと矛盾する。尿培養で検出されたESBL産生菌は起因菌ではなく膀胱内の定着菌であったと解釈する方が合理的であり、初日より重症度が下がっているため治療閾値も上がり、カバーを広げべくカルバペネム系抗菌薬に‘escalation’する必要はない。むしろ今回はVAPが主因で *P. aeruginosa* が

起因菌であり、セフェピム+バンコマイシンからセフェピム単剤に‘de-escalation’するのが良い。

この様に、時間経過・治療経過とともに原因臓器と起因菌は次第に明らかになるため、初日に無謀な賭けに出るべきではないが、日々更新される情報に基づき、抗菌薬治療も起因菌のみに de-escalation していくのが基本戦略となる。たとえ発熱があっても重症度が下がったのであれば、血液培養陰性という結果を信じ、定着菌に惑わされることなく、抗菌薬も予防策も最適化していくことが、望ましい感染症マネジメントである。

利益相反自己申告：申告すべきものなし。

## 文 献

- 1) Thomas PL, Peggy SM, Linda S, Michael JR: Outcomes analysis of delayed antibiotic treatment for hospital-acquired *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 1418-23.
- 2) Anthony WC, Michael SB, Itzhak B, Jan LB, Ellie JCG, Lauri AH, *et al.*: IDSA clinical practice guideline for acute bacterial rhinosinusitis in children and adults. *Clin Infect Dis* 2012; 54: e72-e112.
- 3) Allan RT, Barry JH, Sheldon LK, Bruce AK, Karen LR, Michael S, *et al.*: Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 1267-84.
- 4) James SL, Melvin PW, April MB, Shelley C, Sharon KC, Marcelo FG, *et al.*: M100 | Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 32nd Edition, CLSI, 2022. p. 66-76.

〔連絡先〕〒101-8643 東京都千代田区神田泉町1番地  
三井記念病院感染制御部 龍野桂太  
E-mail: tatsuno-ky@umin.ac.jp

## ***Bacteriological Test Flow and How to Read the Results***

Keita TATSUNO

*Department of Infection Control and Prevention, Mitsui Memorial Hospital*

### **Abstract**

Bacteriological tests are reported in different ways over time: In the initial stage, only the smear test results are reported; the next day or later, the identification or intermediate test results are reported; and the next day or later, the final results, including drug susceptibility test results, are reported. Nevertheless, empirical antimicrobial therapy or transmission-based precautions may be necessary even before the final results are available, depending on the severity of the patient and the urgency of the disease.

In the initial stage, it will be discussed about the morphology of the microorganisms seen on the smear test, and how they can be reflected in the treatments and precautions. Next, in the mid-term stage, we will mention that the identification and susceptibility results can be determined to some extent based on the characteristics of the isolated colonies or the growth conditions in blood culture and explain that in some cases, the treatments and precautions should be changed. After explaining the final result of susceptibility testing, we will examine this testing process by adapting the example of healthcare-associated infections seen in intensive care units.

When many medical devices are utilized, determining ventilator-associated pneumonia, catheter-related bloodstream infection, catheter-associated urinary tract infection, and so forth is often difficult. This does not mean that all of them should be treated with antimicrobial agents. Some of them should be treated as offending bacteria, whereas others should not be treated as colonization. The question to consider is the likelihood of infection and the thresholds for treatment and testing. We will learn how to approach these issues by utilizing the flow of bacteriological tests.

---

**Key words:** smear test, identification test, drug susceptibility test, severity, de-escalation