

免疫血清部門

尿一般部門

病理部門

細胞診部門

血液一般部門

生化学部門

先天性代謝異常部門

細菌部門



血液培養検査 【後編】

～培養から結果報告まで～

検査科細菌係

はじめに

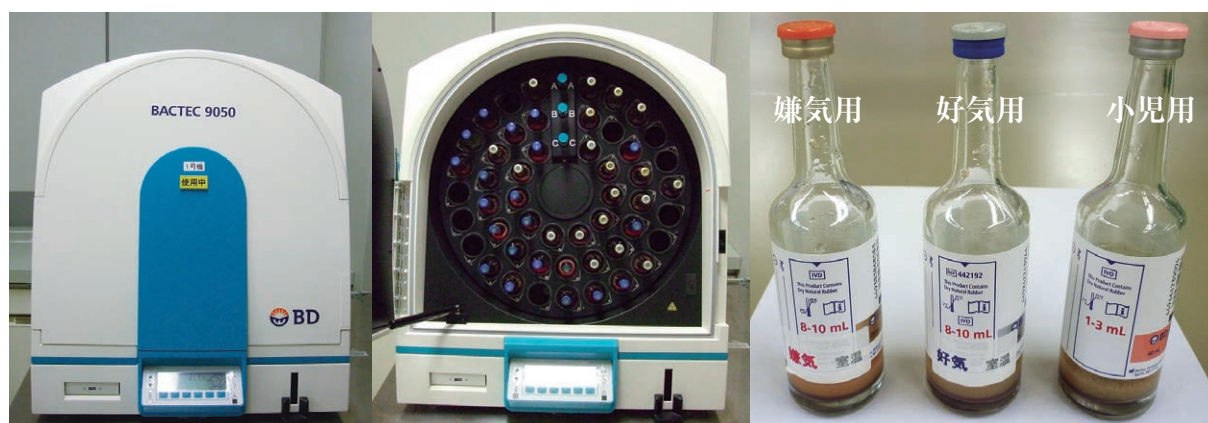
今月号では、先月号に引き続き血液培養検査の測定原理、血液培養ボトルの特徴、汚染菌、当検査センターの検出菌の状況、検査報告体制についてご紹介させていただきます。

1. 血液培養自動分析装置の測定原理

血液培養検査は一般的に血液を接種したボトルを血液培養自動分析装置にセットします。装置内は35℃に保たれており、セットされたボトルは5日間振盪培養され陽性、陰性を装置が判定します。陽性になったボトルから検体の一部を培地に塗布し分離培養を行い、同定検査、薬剤感受性検査を行います。

ここでは、当検査センターで使用している血液培養自動分析装置バクテック9050(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社)の測定原理について、ご紹介いたします(図1参照)。

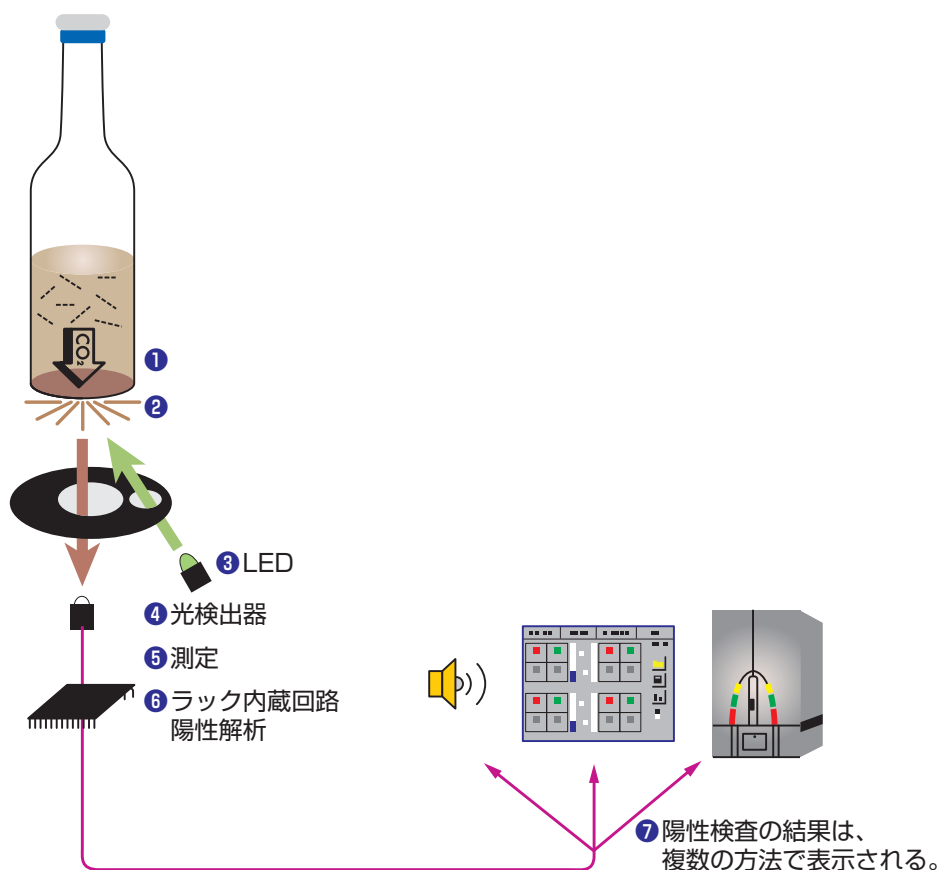
図1 血液培養自動分析装置 バクテック9050と当検査センター使用血液培養ボトル



◆測定原理（図2参照）◆

- ①ボトルの中で細菌や真菌が増殖するとCO₂が発生し、培養液中のpHが中性から弱酸性に変化します。
- ②ボトル底部に貼りつけてある二酸化炭素蛍光センサーがpHの変化を感知し、装置本体のLEDからボトル底部のセンサーに緑色の励起光を照射すると、センサーから赤色の蛍光が励起されます。
- ③光検出器で蛍光量を測定します。
CO₂量によってセンサーから発せられる蛍光量が変化します。
- ④赤色蛍光の強度を10分ごとに測定し、判定を行います。
菌は様々な発育パターンを示すため、単なる測定値の上昇や閾値のみでは判定できないことがあります。そこでボトル内に発育した菌の検出には、装置に37種類の発育アルゴリズムが内蔵されており、判定を行っています。
- ⑤陽性判定された場合、ランプが点灯して知らせます。

図2 血液培養自動分析装置（バクテック9050）の測定原理



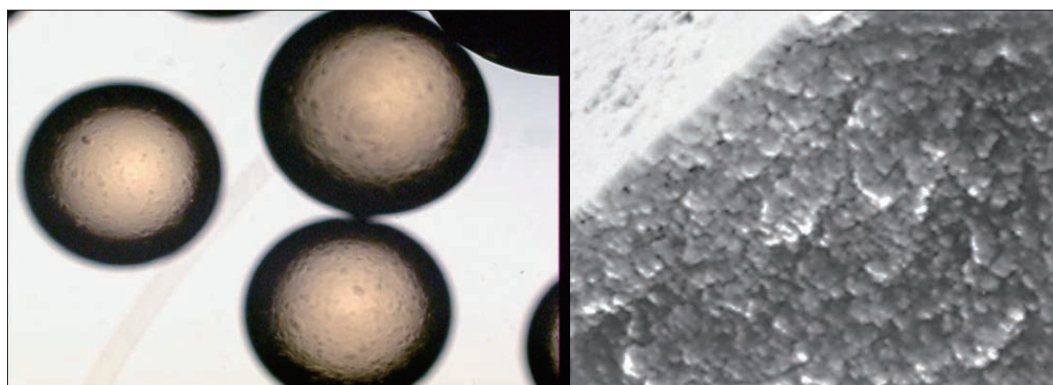
日本ベクトン・ディッキンソン株式会社 提供

2. 抗菌薬成分吸着剤レズンの効果

血液培養検査を行う場合、採血は抗菌薬を投与する前に行うのが原則ですが、当検査センターが使用している血液培養ボトルには、血中の抗菌薬を吸着し、菌を速やかに増殖させる目的で、合成樹脂のレズンが添加されています。

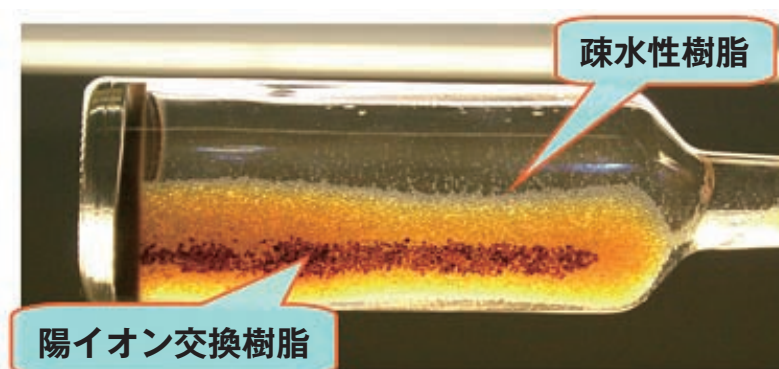
レズンは直径約0.5mmの密な網目状の立体構造で、表面には多数の小孔があり、大きな表面積を有することで効率よく抗菌薬を吸着します（図3参照）。また、レズンには2種類あり、褐色の陽イオン交換樹脂は陽性に荷電した抗菌薬を吸着し、淡黄色の疎水性樹脂は陰性に荷電した抗菌薬を吸着する働きがあります（図4参照）。さらに装置内で、振盪培養することによって、抗菌薬の吸着効率をより高めています。

図3 レズン粒子と表面の拡大画像



日本ベクトン・ディッキンソン株式会社 提供

図4 血液培養ボトル内の2種類のレズン粒子



日本ベクトン・ディッキンソン株式会社 提供


3. 汚染菌について

血液培養検査において、分離される菌がすべて感染症の起因菌とは限りません。もし、汚染菌が起因菌として取り扱われた場合、不必要な治療や検査が実施される可能性があるため、起因菌か汚染菌かの判断は慎重に行う必要があります。汚染の原因としては、採血時の不十分な消毒、消毒薬や器具の汚染、血液培養ボトルが置かれていた環境からの汚染などが考えられます。

一般的な汚染菌として、皮膚常在菌であるコアグラールゼ陰性ブドウ球菌 (CNS)、*Micrococcus* spp.、*Corynebacterium* spp.、*Propionibacterium* spp.、*Bacillus anthracis* 以外の *Bacillus* spp. などがあります。これらの菌が特に基礎疾患を有さない患者から検出された場合は汚染菌の可能性が高いと考えられます (図5 参照)。

しかし一方で、血管カテーテル留置患者や心臓弁置換術、骨髄移植などの基礎疾患を有する患者、好中球減少症等の免疫不全を伴う易感染患者などにおいては、これらの菌によるカテーテル関連血流感染症、感染性心内膜炎、劇症型敗血症などの報告が増えており、重要な起因菌となっています。

図5 血液培養検出菌の臨床的意義

臨床的意義	分離菌			
	汚染菌	<i>Propionibacterium</i> 属	<i>Bacillus</i> 属	
		<i>Corynebacterium</i> 属	<i>Clostridium</i> 属	
		コアグラールゼ陰性ブドウ球菌	<i>Micrococcus</i> 属	
		緑色レンサ球菌 <i>S. viridans</i>	<i>Enterococcus</i> 属	<i>Staphylococcus aureus</i>
		<i>Lactobacillus</i> 属	<i>Candida</i> 属	
		<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter</i> 属	<i>Haemophilus influenzae</i>
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Enterobacter</i> 属
		<i>Proteus</i> 属	<i>Klebsiella</i> 属	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
	起因菌	<i>Bacteroides</i> 属	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>

参考資料3より

4. 当検査センターの血液培養検出菌状況

グラフ1に2013年1月から12月の1年間における当検査センターの血液培養検査の検出菌状況をお示しします。

Staphylococcus spp. は血液培養検査から最も多く検出されるといわれていますが、当検査センターにおいても全体の約40%を占めています。その中でも、当検査センターではコアグラゼ陰性ブドウ球菌（CNS）の一つである *S.epidermidis* が約23%と他の菌より多く検出されています。また、*Corynebacterium* spp.、*Bacillus* spp. も多く検出されています。3でご紹介させていただいたようにこれらの菌は汚染菌の可能性が高いですが、CNSは中心静脈カテーテル血流感染の原因菌、*Bacillus cereus* は新生児や血液悪性腫瘍患者の菌血症、また中心静脈カテーテルを介した菌血症の原因菌、*Corynebacterium* spp. は複数セットから検出され、中心静脈カテーテルからも検出された場合には、カテーテル関連血流感染の原因菌でもあるため、結果の解釈には慎重な判断が必要であるといわれています。

そのためにも、前編でご紹介させていただいた正しい採血方法に従い、異なる部位から2セット以上採取することにより、汚染菌の混入を防ぎ起因菌との鑑別をすることが重要であると考えます。

グラフ1 当検査センター血液培養検査検出菌状況（2013年1月～2013年12月）

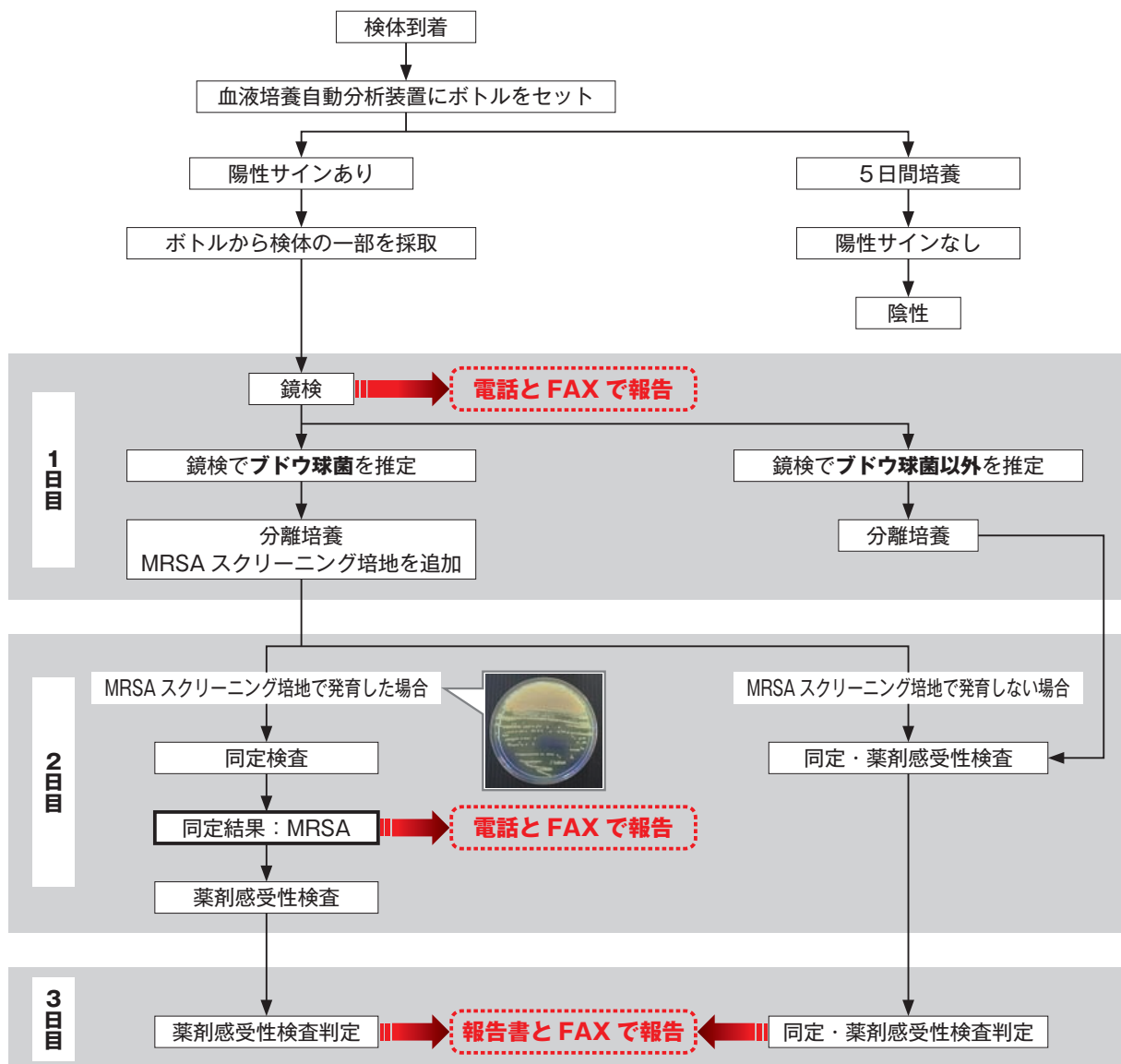


5. 当検査センターの検査報告体制

血液培養検査は緊急性の高い検査であり、本来無菌である血液検体から菌が検出された場合の臨床的意義は非常に大きいです。当検査センターでは、早期診断と的確かつ効果的な治療に役立ていただくために以下のような検査報告体制をとっております（図6参照）。

血液培養自動分析装置にて陽性ランプが点灯した場合、ボトルから検体の一部を抜き取り、グラム染色し鏡検結果を電話とFAXにて至急報告しています。さらに、鏡検でグラム陽性球菌が認められた場合は、染色像からブドウ球菌か連鎖球菌かを鑑別し、ブドウ球菌についてはMRSAスクリーニング培地を追加します。翌日MRSAスクリーニング培地にコロニーの発育が認められたらMRSAの同定検査を行い、MRSAと確定できれば薬剤感受性検査の結果を待たず一日早く同定結果を報告しています。

図6 当検査センター血液培養検査報告体制



Q&Aコーナー

先月号「血液培養検査【前編】」の発行に伴い、いくつかご質問をいただきましたのでご案内いたします。

Q1 検査材料は、動脈血と静脈血のどちらを採取すればよいですか。

A1 一般的には左右の正肘静脈が用いられています。検出率は動脈血、静脈血で相違はないといわれております。

Q2 血液培養検査の依頼方法を教えてください。

A2 検査依頼書Ⅱのうち検査材料の「血液（ボトル）」と培養同定検査の「一般細菌」と「嫌気性菌」にチェックし、検体とともにご提出下さい。（総合検査案内2014 117ページをご参照願います。）

Q3 血液培養ボトル（カルチャーボトル）はどのように注文したらいいですか。

A3 直接、当検査センターまでご連絡いただくか、集配営業員に伝えていただけましたらお届けいたします。（総合検査案内2014 157ページをご参照願います。）

おわりに

2か月にわたり血液培養検査についてお話をさせていただきました。培養を伴う細菌検査は、システム化、自動化が進んでいる生化学検査や血液学検査等に比べ人の手による作業が多く、検査の特性上、検査結果を報告できるまでに時間がかかってしまいます。しかしそうした中、一分一秒でも早く先生方にご報告できるように運用方法や検査体制を工夫しています。これからも細菌係一同は、先生方に信頼される検査結果を迅速にご報告できるよう努力していく所存です。今後ともご指導のほどよろしく願いいたします。

参考資料：

1. 一般社団法人日本臨床微生物学会編集，血液培養検査ガイド，株式会社南江堂，2013
2. 松本哲也 満田年宏訳，CUMITECH血液培養検査ガイドライン，医歯薬出版株式会社，2007
3. 監修 堀井俊伸，編集 犬塚和久，MICROBIAL TESTING NAVI 微生物検査ナビ，栄研化学株式会社，2013

担当：山本高德（細菌係）

文責：亀石猛（検査科技師長）

石田啓（臨床部長）

監修：桑原正雄先生（県立広島病院院長）

《予告》

次回の検査室発記事は、免疫血清部門から「関節リウマチの診断と臨床検査 ～抗 CCP 抗体の有用性を中心に～（仮題）」をお届けいたします。