

### グラム染色情報の活用

#### ～病原体を可視化して感染症に挑む～

◎永田 邦昭<sup>1)</sup>

地方独立行政法人くまもと県北病院 教育研修部<sup>1)</sup>

グラム染色は、問診や身体所見および画像所見等によって絞り込まれた感染病巣内に潜む病原体に色を付け、可視化して検知する迅速検査法である。細菌や真菌あるいは一部の原虫類まで幅広くカバーでき、さらに背景細胞も併せて観察することにより今現在の患者の病態を反映する様々な情報を引き出すことが可能である。グラム染色の利点としては(1) 検出菌の起炎性評価が可能(抗菌薬治療の対象となるか)(2) 炎症の種類や度合いの評価(3) 誤嚥による炎症の評価(4) 抗菌薬投与後の菌形態変化などを利用した治療効果判定などが挙げられる。限界としては(1) 感度が $10^4 \sim 10^5$  cfu/ml 程度で培養検査や遺伝子検査に劣る(2) グラム染色に染まり難い菌が存在する(3) マイコプラズマやウイルスの確認はできないなどがある。このグラム染色の利点と限界というものを理解したうえで、グラム染色観察後に培養・遺伝子検査へつなぐ対策を講じることが大切である。グラム染色が培養精度を向上させる事例として、複数菌が存在する検体中の発育が遅い菌(放線菌、ムコイド型緑膿菌の一部)や特殊な培地・培養条件を必要とする菌(嫌気性菌、微好気性菌、レジオネラ菌)などは、グラム染色で推定後に適する培地や培養環境の追加、培養期間の延長を行うことで検出率が向上する。また抗酸菌を疑うガラス傷のように抜けて見える菌体が観察された際には、抗酸染色につなぎ、抗酸性確認後さらに遺伝子検査につなぐことにより、結核の診断や否定を迅速に行うことができる。グラム染色が起点となって枝葉が広がってゆくというイメージである。本シンポジウムでは、常在菌が関与し培養だけでは評価の難しい誤嚥に伴う炎症について4つのフェーズに分けて解説する。誤嚥後の炎症の流れを時間軸で診ることにより理解が進むものと思われる。またグラム染色で染まりが弱いラセン菌を濃く染める方法や見逃さないための「染めない選択」、染めずに生鮮標本で動く菌体を観察することで速やかに菌の存在を確認することができ、特に血液培養観察に有用で、適切なサブカルチャーのための培養条件の選択につながる。グラム染色と組み合わせることで診断精度を高めることが大切である。

# 世代をつなぐ同定検査 最新技術と変わらない技術

◎結城 万紀子<sup>1)</sup>

福岡大学病院<sup>1)</sup>

感染症診断において、培養・同定検査は一番の要であり、正しい同定結果を導き出さなければ、その先の薬剤感受性検査、また治療方法までもが誤った方向に進んでしまう。

正しい同定結果を導き出すためには、検査前プロセスである検体採取から検査実施までの工程で、我々検査技師の判断が必要になってくる。

検査室に届いた検体の量や品質が適切かどうか、目的菌を検出するために適切な培地や培養方法を選択しているか培養で病原菌を検出するための重要なポイントである。

また、昨今の微生物検査は迅速化が進んでおり、同定検査においても従来の自動分析装置に加えて MALDITOF-MS 法による質量分析装置、PCR 法や LAMP 法による遺伝子検査装置といった最新技術が普及してきている。しかしながら、自動機器による検査は必ずしも正しい結果を出すわけではない。それぞれの機器が持つ性質をよく理解した上で、結果を鵜呑みにせずに昔ながらの用手法や試験管培地による確認試験を行う事はこれからの時代も必要不可欠である。

今回、培養・同定検査において習得しておくべき知識や技術、起こりがちなピットホールについて事例も交えながら解説する。

# 「活かす」ための薬剤感受性検査と耐性菌検査法

◎上地 幸平<sup>1)</sup>

琉球大学病院 検査・輸血部<sup>1)</sup>

微生物検査結果を臨床に活かすために、我々、「臨床」微生物検査技師は日々どう考動すべきか。薬剤感受性検査および耐性菌検査は感染症診療および感染制御において重要であるが、これらの結果を得るには時間を要する。そこで我々は正確な検査結果を適切なタイミングで、迅速に臨床に届ける工夫が求められている。特に、検査結果の報告方法については一考する必要がある。例えば感染症医には結果を伝えるだけでよくても、感染症の知識の少ない医療従事者に対しては、結果をわかりやすく解釈して伝える必要がある。伝える相手に応じた工夫が必要である。また、近年着目されているセレクトィブ/カスケードレポートはあえて情報量を絞ることで使用する抗菌薬を誘導することができるため今後は必要な報告方法の一つであると考え。

薬剤感受性検査および耐性菌検査の根幹となるのは CLSI や EUCAST のガイドラインであり、毎年更新される CLSI M100 シリーズなどはその変更点をしっかりと把握しておく必要がある。特に、近年ではブドウ球菌属のオキサシリンやセフォキシチン等、菌種に応じた判定基準が新たに設定されている。また、2018年に EUCAST から提唱された血液培養の迅速薬剤感受性検査法である rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) は臨床的有用性が高い。耐性菌検査法については日本臨床微生物学会から発刊されている耐性菌検査法ガイドなども参考となるが、日常検査では耐性菌の確認試験の対象となる菌株をどのようにスクリーニングするかが重要であり、迅速かつ正確な結果報告には様々な工夫が必要である。日常検査では基本に沿った検査を実施する必要があるのは言うまでもないが、近年新たに報告されている検査技術や各施設における迅速報告のための工夫などの情報を常に入手できる環境を整えることも重要である。本発表では薬剤感受性検査および耐性菌検査を臨床に活かすための知識や検査技術、日常検査時における工夫について紹介し、皆様と共有・ディスカッションできれば幸いである。

### 感染症迅速検査について

#### ～ピットフォールに落ちないための技術と知識について～

◎中村 政敏<sup>1)</sup>

鹿児島大学病院 検査部<sup>1)</sup>

感染症迅速検査（以下、迅速検査）は微生物学分野において、リアルタイムに結果が得られ、感染症の初期治療や感染対策に大きく貢献している。また迅速検査では微生物の抗原や毒素だけではなく、通常塗沫・培養検査では同定できないウイルス感染症診断補助が可能である。さらに近年、類似症状を示すウイルス感染症の迅速診断の鑑別と患者の採取時の負担軽減を目的に多種複数ウイルス抗原の同時検出可能なキットも発売されている。

迅速診断キットに求められる要件として次の7点が挙げられる。①検体の前処理が不要、②特殊な機材が不要、③操作が簡便、④目視判定が可能、⑤TATが短く早期治療開始に役立つ、⑥試薬管理がしやすい、⑦検出感度・特異度に優れている。これらの条件に見合う測定法としてイムノクロマトグラフィー法（以下ICA）がある。ICAを適切に扱うには技術と知識が必要である。

技術面において検体採取と結果判定を例として挙げる。検体採取については採取部位の選択、採取手技が重要である。ICAの場合、高粘調度の検体はメンブレン内の移動が阻止されたり、血液混入の場合は偽陰性となる可能性があることが知られている。結果判定については目視判定の為、訓練が必須であり判定困難な場合には複数人で確認することも重要である。また近年では目視を解消する為、機械による判定も実施できるようになった。

知識面においてはICAの原理を理解して添付文書を熟読すること、患者背景を知ることが重要である。添付文書にはワクチンの影響を考慮するものとして肺炎球菌尿中抗原検査はワクチン接種後5日以降に実施することや判定には原因ウイルス以外の各種交差反応などについて記載されている。また発症直後では偽陰性の可能性があり、経過とともに陽性率が変化することや他の臨床検査データとの総合的な判断が必要であることも知識として重要である。

このように迅速検査は簡便である反面、ピットフォールに落ちないための技術と知識が重要である。本セッションを通じて迅速検査に関する不安を少しでも解消できる一助となれば幸いである。