

微生物検査を基本から学ぶ 基礎力 UP！！

グラム染色の読み方・活かし方

◎大友 志伸¹⁾

パナソニック健康保険組合 松下記念病院¹⁾

日常の微生物検査において、グラム染色は最も簡便でありながら、極めて迅速に結果が得られる強力な検査ツールである。培養・同定検査や薬剤感受性検査が最終結果を出すまでに数日を要するのに対し、グラム染色はおおよそ 10～15 分で菌の染色性と形態を判定できる。この迅速性は、感染症の初期治療（経験的治療）において、適切な抗菌薬を選択するための極めて重要な指標となる。しかし、その高い有用性の一方で、検査室からの報告内容が「ただ単に分類を伝えるだけ」にとどまっている場合、臨床現場での貢献度は半減してしまう。本シンポジウムでは、グラム染色の基本形態の重要性を再確認した上で、臨床医が本当に必要とする「解釈しやすい、明日の治療に活かせる結果報告」のために、グラム染色の基礎力アップについて概説する。

グラム染色において、単に「グラム陽性球菌（GPC）」「グラム陰性桿菌（GNR）」といった分類学的な結果のみを報告することは、必ずしも親切な報告とは言えない。感染症診療に精通していない臨床医にとって、文字通りの結果だけでは「具体的にどの菌をターゲットにすればよいか」の解釈に困ることが少なくないからである。ここで重要なのが、菌の基本形態を的確に捉え、具体的な起炎菌を推定したコメントを添えることである。例えば、GPC であれば「ブドウ状配列を認め、*Staphylococcus* 属を疑う」、あるいは「鎖状配列を認め、*Streptococcus* 属を疑う」といったコメントを付記する。また、GNR であれば「太い桿菌で腸内細菌目細菌を疑う」など、一歩踏み込んだ情報を提示することで、臨床医は具体的な抗菌薬の絞り込みへとスムーズに進むことができる。検査技師がカルテから患者背景や現在の治療状況を読み解くことで、グラム染色の結果はさらに臨床的価値を増す。例えば、誤嚥性肺炎の患者において、既にアンピシリン・スルバクタム（SBT/ABPC）が投与されているにもかかわらず症状が改善せず、提出された痰のグラム染色で GPC（ブドウ状）をモノクローナルに認めたケースがある。SBT/ABPC は一般的な誤嚥性肺炎の起炎菌を広くカバーするが、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）には無効である。この背景を知っていれば、「現在投与中の SBT/ABPC により他の感受性菌が抑えられ、MRSA が選択的に増殖している可能性」を想起し、速やかに臨床医へ抗 MRSA 薬の検討を促すコメン

トが可能となる。また、ステロイド投与中の肺炎患者で「細い GNR」が認められたケースでは、背景にある免疫不全と形態的特徴から、重症化しやすい緑膿菌の関与を考慮すべきである。この情報を迅速に伝えることで、抗緑膿菌活性のある抗菌薬の速やかな選択に貢献できる。このように、単なる形態観察にとどまらず、患者背景と照らし合わせて「グラム染色から何が言えるか」という付加情報を導き出すことが、DS の検査後プロセスにおける「わかりやすい結果報告」へと繋がる。

日常検査では、起炎菌が明確に特定できない検体にもしばしば遭遇する。その際にも、ただ「多菌種を認める」とだけ報告するのではなく、病態を考慮した適切なコメントを返すことが重要である。例えば、尿道カテーテルが長期留置されている患者の尿検体では、バイオフィーム形成により多菌種が認められ、どれが真の起炎菌か鑑別が困難である。この場合は、「尿道カテーテル長期留置のため起炎菌の鑑別が困難」である旨とともに、「カテーテルを交換した上で、再度検体を採取・提出することを推奨する」コメントを記載することで、適切な検体採取と真の起炎菌検出へと導くことができる。また、痰培養においても単に染色性を報告するだけでなく、Miller & Jones の分類や Geckler の分類で検体の品質を適切に評価することが欠かせない。その上で「口腔内常在菌」など、グラム染色で見えている菌の詳細や起炎菌の推定が困難である旨をコメントに添えることで、不必要な抗菌薬の使用を防ぎ、適切な検体採取の再検討を促す契機とすることができる。

グラム染色は非常に簡便かつ迅速な検査手法であるが、治療への貢献度は極めて大きい。しかし、単純な結果報告だけではその効果は薄れてしまう。まずは菌の基本形態を正しく押さえ、患者背景から「どんな菌が起炎菌として疑われるか」を推測して報告に反映させること。さらに、起炎菌の特定が困難な場合であっても、その旨をコメントで的確に補足することが、臨床側における貴重な判断材料となる。これら一連のプロセスを「明日の検査」から実践し、確実な基礎力のアップへと繋げたい。

微生物検査を基本から学ぶ 基礎力 UP！！

臨床微生物検査における同定検査の変遷と基礎的理解

◎大瀧 博文¹⁾
関西医療大学¹⁾

微生物の同定検査は、狭義としては「目の前に発育した菌が何であるか」を明らかにする検査であり、臨床微生物検査の基本となる分野である。同定結果は、感染症の原因微生物の推定や決定、抗菌薬感受性試験の解釈、治療方針の決定、感染対策上の対応に関わるため、正確性と迅速性の両立が求められる。現在では機器の発展により短時間で菌名が得られるようになったが、その結果を適切に理解し活用するためには、同定検査の基礎を十分に理解しておく必要がある。

同定検査の原点は、培地上に発育した集落を観察し、その形態、色調、溶血性、におい、発育速度、発育環境などを確認することにある。さらに、グラム染色による菌の形態や染色性、カタラーゼ試験、オキシダーゼ試験、コアグラゼ試験、糖分解能などの生化学的性状を組み合わせ、菌種を段階的に推定してきた。これらの用手法は古典的な検査ではあるが、微生物の特徴を観察し、得られた情報を整理しながら菌名を推定する過程は、同定検査の考え方を学ぶうえで重要である。グラム陽性球菌かグラム陰性桿菌か、好気性菌か嫌気性菌か、腸内細菌目細菌かブドウ糖非発酵菌かといった基本的な分類は、現在でも結果解釈の出発点となる。

臨床検査の現場では、機器の発展とともに同定検査が大きく進化してきた。自動分析機器では、多数の生化学的反応を効率よく測定し、得られた反応パターンをデータベースと照合することで菌名を推定する。これにより、検査の標準化、作業効率の向上、結果報告までの時間短縮が可能となった。さらに近年では、MALDI-TOF MS に代表される質量分析機器が普及し、菌体由来タンパク質のマススペクトルパターンを用いた迅速な同定が日常検査に取り入れられている。質量分析機器は、短時間で菌種レベルの結果が得られる点で大きな利点を有し、従来法では同定に時間を要した菌種や、まれな菌種の同定にも有用である。

しかし、機器から得られた結果をそのまま受け入れるだけでは、適切な同定検査とはいえない。検体の種類、培養状況、グラム染色所見、臨床情報と照らし合わせ、同定結果が妥当かを判断する力が求められる。また、常在菌と病原菌の区別、近縁菌種の鑑別、データベースに登録されていない菌種への対応など、機器

だけでは解決できない場面もあり、用いた方法のリミテーションの把握も必須である。以上を踏まえると、用手法で培われてきた観察力と微生物学的な基礎知識は、今後も同定検査を支える重要な基盤である。

本講演では、同定検査の基礎を確認しながら、従来の用手法、自動分析機器、質量分析機器へと発展してきた流れを整理する。それぞれの特徴、利点、注意点を概説し、同定結果をどのように理解し、臨床的に意味のある情報として活用するかを考える機会とした。

微生物検査を基本から学ぶ 基礎力 UP!!

薬剤感受性試験を基本から学ぶ ―CLSI ガイドラインに基づく判定の実践―

◎阿部 教行¹⁾

公益財団法人 天理よろづ相談所病院¹⁾

薬剤感受性試験（以下感受性試験）は、感染症治療における抗菌薬選択の根拠となる重要な検査であり、臨床検査技師にとって正確な実施と判定が求められる基盤的技術の一つである。しかしながら、自動分析機の判定に頼りがちな日常業務において、基本となる CLSI（Clinical and Laboratory Standards Institute）の標準手順書を含む感受性試験の基礎知識が不足していると、手順書通りの実施は形骸化し、判定基準の誤解釈の原因となる。本演題では、CLSI の基本的な考え方や解釈の整理を中心に、日常業務で見落とされがちなポイントやその回避について解説する。

第一のポイントは、自施設で使用している感受性試験のブレイクポイントが CLSI どのドキュメントを参照しているのかを把握することである。腸内細菌目細菌や黄色ブドウ球菌といった感受性試験を実施する頻度の高い菌種に対する抗菌薬のブレイクポイントは、CLSI ドキュメント（M100 シリーズ）に記載されている。2026 年現在、M100 シリーズは第 36 版（M100-ED36）となっている。M100 シリーズの特徴として、毎年改訂版が発行されていること、web 上で最新版のドキュメントが閲覧可能になっていること、ドキュメントが発行される毎に抗菌薬のブレイクポイントの一部が修正されていることなどが挙げられる。そして、M100 シリーズにおけるブレイクポイントの改定では、感性のブレイクポイント濃度が低値になっている傾向にある。例えば、腸内細菌目細菌に対する Piperacillin-tazobactam の感性ブレイクポイントは、2010 年代のドキュメントに比べ 3 管濃度が下がっている。一方で、CLSI の毎年の改定に対し、国内の微生物検査室の自動分析機が対応しきれていない。その理由は、ほとんどの微生物検査室で使用されている感受性試験の自動分析装置が、使用するパネルがキット化されているためである。CLSI ブレイクポイントが改定され感性のブレイクポイント濃度がパネルより低値になった場合、測定した MIC が改定後のブレイクポイントに合っていないことがある。この場合測定レンジが低濃度の測定が可能なパネルへの更新を検討する必要がある。しかし、毎年の改訂にパネルの更新が追いついていない場合も多い。このような条件については、検査室の現状を理解し、院内の感染対策委員会等のステークホルダーと認識を一致させておく必要がある。

第二のポイントは、感受性試験における判定において、考えにくいデータ（検査工程にエラーがある場合）に気づくことである。M100 シリーズのドキュメントでは、付録として、米国食品医薬品局（FDA）により承認された薬剤について、「抗菌薬感受性試験結果および病原体の同定を確認するための指針」というページがある。この中で、感受性試験の結果について、「これまでに報告されていない、またはごく稀にしか報告されていない」結果が列挙されている。例えば、*Staphylococcus aureus* や肺炎球菌に対するバンコマイシンの判定が「耐性」となること、 β 溶血を示す *Streptococcus* 属菌に対するペニシリンが「耐性」となることなどがあり、この場合、稀な耐性菌を検出した、と解釈する前に、菌種同定と感受性試験にコンタミネーションが起こっていないかなどを確認すべきとなっている。このような検査の妥当性を確認するための条件が自動分析計のシステムや微生物検査システムに組み込まれているかを確認し、もし組み込まれていない場合はシステムに追加するか、確認手順を作成する必要がある。

薬剤感受性試験は患者の治療に直結する。以上のような CLSI の情報更新への対応や押さえるべきピットフォールを理解したうえで、定期的な内部精度管理の実施と記録の整備に基づいた精度保証を担保していくことが重要となる。本講演が、日常業務を見直し、基礎力を高めるきっかけとなれば幸いである。

微生物検査を基本から学ぶ 基礎力 UP！！

微生物遺伝子検査～「なんとなく」から「理解する」へ～

◎谷野 洋子¹⁾

京都府公立大学法人 京都府立医科大学附属病院¹⁾

病院や検査センターの感染症検査室で遺伝子検査が普及したのは SARS-CoV-2 のパンデミックが発端であると言っても過言ではない。しかも、全自動・多項目という誰もが操作しやすい装置として導入が進んでいったため、基礎を学ぶ余裕もなく「なんとなく」遺伝子検査装置を使用している技師も多いのではないだろうか。

コロナ禍以前にも、抗酸菌を中心に保険適応のある遺伝子検査はいくつか存在した。しかし、この数年の間で SARS-CoV-2 以外にも、CD トキシン検査のフローチャートに遺伝子検査が組み込まれ、カルバペネム耐性腸内細菌においてカルバペネマーゼ産生の有無の判定に遺伝子型を確認することが基本となった。さらに、次世代シーケンサー (NGS) の登場により遺伝子検査の学習範囲が大きく広がり、解析まで含めると要求される知識の幅が深くなっているのが現状である。

検査機器を使用する技師が、遺伝子検査という技術の基礎や原理を理解できていないとどういった影響があるのか。「正しい結果の解釈ができない」「トラブル時、どの段階でつまづいているのかわからない」など技師として解決すべき問題に対応できないのはもちろん、「他の検査方法との組み合わせが判断できない」「機器導入時、自施設に必要なスペックの選択ができない」など応用的に考えることが難しくなる。

そこで、基本を学び基礎力をつける必要があるのだが、まず自施設にある遺伝子検査機器を理解することから始めてみることをお勧めする。一般的な教科書を一から読み、学会や研修会で勉強するのも大切だが、今、自分たちが使っている機器の原理、手法、結果画面の用語解説など一つの機器から学べることはたくさんある。使用している機器の特徴を理解するということは、結果解釈を正しく行うことにつながり、結果報告の質が上がる。

さらに実践的に遺伝子検査の基本を学んでいきたいという場合のお勧めは、電気泳動法で遺伝子検出を行う方法である。サーマルサイクラーなど少しの投資は必要だが、全自動遺伝子検査装置の中で行われている一連の流れを一つ一つ実践できるため基礎を固めることができる。キット化された試薬を利用することで PCR 試薬の選定や、プライマーを購入するという高いハードルを下げることができる。

基本を学ぶ方法はこれ以外にもたくさんある。個人に

よって向き不向きがあり自身にあった方法を見つけることが基礎力を UP する近道となる。

本シンポジウムでは、基本を学ぶいくつかの方法と、最低限知っておいた方がいいと思われる遺伝子検査の基本的な用語なども解説する予定である。

連絡先 075-251-5654