



Ⅲ. 感染症診療に貢献できる臨床検査技師を目指して

おぐり とよこ
小栗豊子
Toyoko OGURI

はじめに

私が検査技師として就職したのは今から55年前、東京オリンピックの1年前の1963年（昭和38年）のことである。当時、同定できる菌名は黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus*、赤痢菌 *Shigella* spp., サルモネラ *Salmonella* spp. など病原性の強い菌に限られ、日和見病原菌の同定菌名は少なかった。現在のコアグラージェ陰性ブドウ球菌は「白色ブドウ球菌」“*Staphylococcus albus*”と呼ばれていた。腸内細菌科の同定にはクリグラー培地、SIM培地などを用いたIMViC反応が用いられ、赤痢菌やサルモネラではこれらの生物学的性状検査と抗原決定のための免疫血清が用いられていた。ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌では緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa* のほか、*Bacterium anitratum*（現在の *Acinetobacter baumannii*）、*Fravobacterium* spp., *Alcaligenes* spp. が類似した菌のグループ分けのように使われていた。特殊培養法としては嫌気培養では黄燐燃焼法とピロガロール法、炭酸ガス培養法ではローソク法が用いられ、分離培地はSS寒天培地、BTB乳糖寒天培地、血液寒天培地などを市販粉末培地から自家調製していた。血液寒天培地の血液は輸血用保存血の有効期限の切れたものが使われ、試験管やシャーレ、ピペットなどはガラス製ですべて使用済みのものを消毒・洗浄、乾燥後、試験管には青梅綿（布団用の綿）で綿栓をして、シャーレやピペットは専用の滅菌缶に入れるか、または紙で包んだものを乾熱滅菌して使用していた。このような時代から50年余、技師として歩んできた長いようで短かくも感じられる過去

を思い起こしつつ、感染症診療に貢献できる技師像について考えてみたい。

I. 微生物検査近代化への発展

1. 微生物検査の自動化は“夢”の“実現”

この半世紀余、微生物検査の技術革新には凄まじいものがある¹⁻³⁾。当初はすべて用手法で始まった臨床検査は、臨床化学や血液検査が自動化され大型の分析器が導入されていく中で、微生物検査は手法から抜け出せないでいた。1970年代に入りAPIシステム（バイオメリュール）⁴⁾などの数値同定による同定キット（図1）の普及を機に、微生物検査の自動化も夢ではなくなり、薬剤感受性検査ではマイクロトレイを用いた微量液体希釈法が自動化され、同定・薬剤感受性検査の自動機器導入へと続いた。1980年代では臨床検査のシステム化が進み、すべて手書きであった検査結果報告書から、きれいに印字された検査伝票を診療科に配達する時期がしばらく続き、やがて、オーダーリングシステムや電子カルテの導入で病院施設全体のシステム化が普及した。微生物検査の自動機器もシステム化の一環として取り入れられていった。大型機器の導入やシステム化によりもたらされた功績は計り知れない。培地作製は不要となり、菌種同定のレベルが著しく向上して初心者とベテラン技師の差が狭められた。また、記録・入力の手間が解消され、正確性や省力化が飛躍的に向上した。

微生物検査が他の化学や血液検査と大きく差がつくのは、今もなお、患者検体の分離培養から釣菌す

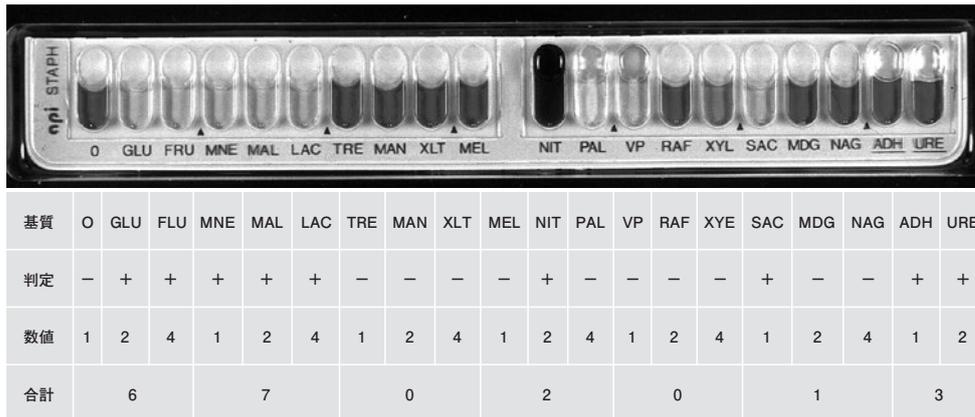


図1 API-STAPHによるブドウ球菌属菌の同定

新鮮培養菌を用いて特定の濃度の菌液を調製し、指定された方法でチューブに接種し培養する。各チューブには基質が含まれ、菌が利用すると色調が変化するので陽性(+), 陰性(-)で判定する。図の下のように3個ずつに区切り、1, 2, 4の数値を与える。3個を1組とし、陽性の性状の数値を合計し、全体で7桁の数値とし、データベースで菌名を検索すると、確率の高い順に菌名が得られる。図では6702013のコードが得られ、*Staphylococcus epidermidis*と同定された。

(図1は巻末のカラーページに掲載しています。)

る技術が必須であり、結果が出るまでに日数を要することである。良質な培地や培養法の開発は検査精度を大きく向上させたが、基本技術のトレーニングは不可欠であり、検査所要日数の短縮には至っていない。一方、抗原・抗体を扱う免疫学的検査や、核酸(DNAやRNA)を検出する遺伝子検査、菌体蛋白を質量分析法により同定する技術が微生物検査に導入され、検査所要日数や所要時間は大幅に短縮され、データの正確性や信頼性も向上した。しかし、これらはごく一部であり、感染症の迅速診断や治療のためにはさらなる開発・改良が要求されるものも数多く残されている。

2. 細菌検査斜陽化論からの逸脱

微生物検査は今や感染症診断や治療に不可欠の検査であり、その検査結果は施設内の感染制御の中核を成す重要な情報として高い評価を得ている。しかし、過去には細菌検査の斜陽化論が飛び交った時代もあった。1960年代後半から1980年代では抗菌薬の開発が目覚ましく⁵⁾、幅広い細菌に抗菌力を発揮する第3世代セファロスポリン、セフォタキシム(CTX)が1981年にわが国で発売され、以後、1986年にセフトジジム(CAZ)、セフトリアキソン(CTRX)、その後、さらに1987年には広域スペクトを有し、レンサ球菌から緑膿菌、嫌気性菌にまでに強い抗菌力を発揮するカルバペネム系抗菌薬イミペネム・シラ

スタチン(IPM/CS)が登場した。細菌検査の斜陽化がささやかれたのはこの頃で、“抗菌薬を上手に使用えば感染症は制御できる、細菌検査の結果は遅いし、手数がかかり、検査をすればするほど赤字になる”というのが理由であった。確かに一部の感染症では細菌検査は必要ないとされているものもあるが、先の考えは正しいとは言えない。感染症の診断・治療は迅速に起炎菌を推定し、必要に応じ経験的治療(empiric therapy)を行い、その後、患者検体から病原微生物を分離・同定して、薬剤感受性検査結果に基づいて適切な抗菌薬に修正される標的治療(definitive therapy)を行うことが原則である。標的治療の際には抗菌薬の抗菌スペクトルにも配慮し、デエスカレーション(de-escalation; 広域スペクトルから狭域の抗菌薬への変更)を行う。

細菌検査の斜陽化論を吹き消し、細菌検査の重要性が強調されて不可欠な検査となったのは、院内感染(現在では医療関連感染)の問題がクローズアップされ、その対策が急務になったことが大きく関わっていたと思う⁶⁾。院内感染の問題はわが国では川名林治先生(岩手医科大学細菌学教授)が1983年に東八幡平シンポジウムを開催されたのが最初である⁷⁾。この会は毎年夏、院内感染の現状や対策が岩手の山の中でセミクローズの研究会として検討され11回まで続いた。この会では当時、外部には出せなかった院内感染の現状とその対策のノウハウがマ

スコミなどに流れることなく安心して討議できる唯一の会ではなかったかと思う。“院内感染の本音”が話せ、夜には個人的に意見交換もできたこの会には全国から医師、看護師、臨床検査技師が出席した。この会が前身となり1986年に日本環境感染学会が設立された。この頃はわが国ではMRSAが急増し院内感染が多発していたが、感染対策はほとんど手付かずの状態であった。夫の手術は成功したにも関わらず、MRSA感染症で命を奪われたという病院内での感染の詳細を手記にまとめた富家恵美子氏の書「院内感染」は、医療従事者のみならず一般社会にも院内感染の恐怖とその対策の重要性を改めて痛感させる内容で、大きな反響を巻き起こした⁸⁾。

感染症の初期治療に役立つ迅速検査として患者検体のグラム染色の有用性が高まり⁹⁾、さらに感染症検査のPOCT(病原微生物の迅速抗原・抗体検査)が開発された。わが国初のインフルエンザ迅速診断キット、ディレクティジェンFlu A(日本ベクトン・ディッキンソン)は1999年に発売され、これを機に多くの感染症のPOCTが開発された。患者検体のグラム染色やPOCTは臨床検査技師にとどまらず研修医、さらに看護師、薬剤師にまでも習得者が拡大している。また、日常よくみられる病原菌の間で薬剤耐性菌が増え続け、わが国でも2016年4月に薬剤耐性(AMR; Antimicrobial Resistance)対策アクションプラン2016-2020が宣言された^{10~11)}。これにより医療の分野のみならず一般市民、動物、食品、環境などすべてを含め、国を挙げて薬剤耐性菌の制御に取り組むことになった。

各種耐性菌の増加した昨今、感染症の診断と治療には微生物検査が不可欠となったが、臨床検査技師は常に臨床に役立つ、有用性の高い検査を目指し努力しなければならない。

II. 微生物検査発展の足跡から垣間見る「陰」

微生物検査は著しい発展を遂げてきており、その恩恵は計り知れない。しかし、その反面、“マイナス”となった面も存在しており、これらを表1にまとめた。

1. 病原体別検査法から検査材料別検査法へ

細菌検査は病原体別検査法から検査材料別検査法に移行した。この背景には、衛生状態が悪く治療薬

も乏しかった昔、伝染病が流行し、これらの検査のため病原体別に検査法の確立がなされたことによる。当時の微生物検査は厚生省編纂の衛生検査指針(1952年)として出版され版を重ね、赤痢菌、チフス菌、ペスト菌、日本脳炎など15項目の病原体別検査法が解説されている¹²⁾。一方、検査材料別検査法は検査技師の教科書として最初に編纂された臨床検査技術講座(細菌学、1959年)で解説されている¹³⁾。

著者の小酒井望先生はアメリカの病院を視察されており、検査材料別検査法はこの時に遭遇されていたと思われる。現在では特殊な病原体については病原体別検査法があり、これらは必要に応じ検査材料別検査法に追加する形で用いられている。このように特殊微生物を外した検査法が現在では主流であるが、これらも含め一気に検査できる方法が日常検査として定着する可能性がある。現に次世代DNAシーケンサーを用いたメタゲノム解析では、患者検体から直接、含まれる微生物を網羅的に検出でき、ウイルス、細菌、真菌、寄生虫も含め単一の原理で検出可能とされている¹⁴⁾。これらの技術は腸内、口腔内、皮膚などの細菌叢をDNAシーケンシング技術で解明するものでマイクロバイオームと呼ばれ、医学領域でも疾病の解明や治療法の開発などの新たな研究分野として注目されている。

2. 安全キャビネットの普及

無菌操作は細菌検査の特色とされ、現在でも重要な基本操作であることには変わりはない。しかし、無菌操作や正しい器具の持ち方が守られず、自己流の操作がまかり通っており、また、滅菌器具の汚染を考えず粗雑に取扱う操作が日常見受けられる。病原微生物の持つ危険性の認識も昔に比べると薄らいできており、安易に扱われているように思われる。この背景には①健常者に感染を起こす病原性の強い微生物は著減し、現在では病原性の弱い日和見病原菌がほとんどを占めていること、②安全キャビネットの普及、③優れた抗微生物薬治療の普及などがあると考えられる。また、昔は細菌検査担当技師には結核に罹った経験のある人が非常に多かったが、近年では激減している。これには昔、結核で療養中に臨床検査の教育を受け、回復後検査技師の職に就いたというケースが見受けられたが¹⁵⁾、業室感染¹⁶⁾として結核に罹った人も多かったのではないかと思います。

表1 細菌検査の進歩・省力化がもたらした功罪

項目	【功】	【罪】
病原体別検査法から検査材料別検査法へ	・中枢神経系感染症、呼吸器感染症、尿路感染症など感染症別の起炎菌が幅広く検査できる(病原体別検査法は感染症の診断検査としては効率が悪い)	・特殊な微生物は検査漏れになる(特殊な病原体は追加検査を怠ると検査漏れになる、初回検査に追加して用いた場合には成績の遅れが生じやすい)
安全キャビネットの導入	・業室感染防止 ・環境からの雑菌汚染防止(細菌検査担当者の結核感染者が著減)	・無菌操作の認識不足 ・病原体や患者検体の危険性に対し無関心の傾向あり
試薬・培地の自家調製から、既製品の購入へ	・労力、時間が著しく短縮した ・品質管理がし易くなった ・培地・試薬の性能の向上(当初は自家製の性能が優れていたが現在では逆転)	・処方、培地作製の工程、反応の原理についての知識不足 ・試薬などの自家製が困難(培地・試薬に問題が生じた場合の解決策に支障)
確認培地、鑑別培地から同定キット・自動機器へ	・同定技術が向上した(例外性状の菌も正しく同定) ・判定が数値化され容易になった ・初心者と熟練者の差が縮小 ・菌コード(性状を数値化したもの)は菌の類似性の判定に有用	・菌の特徴が覚えられない(菌の特徴をつかんでいない) ・菌名が正しいか否かの判断が困難 ・用手法の性状検査と一致しない場合がある ・一部の性状が誤って判定されていても正しい菌名が得られる
ディスク拡散法から微量液体希釈法へ	・測定・判定とも著明に簡易化 ・より精密な結果が得られる(MICが得られる) ・検査可能な対象菌範囲が拡大	・菌液接種器などの自動機器が必要 ・抗菌薬がセット化されているため追加の抗菌薬は別法で測定 ・目視判定が不能な方法もある ・抗菌薬名、それぞれの特徴が覚えられない ・菌の感受性パターンの特徴が覚えられない
血液培養	・用手法から自動検出器へ ・操作が著しく簡易化された ・夜間、休日でも容易に実施 ・サブカルチャーが省略できる	・自動検出機器が必要 ・菌数の測定ができない ・雑菌混入か否かの識別が困難な場合がある ・培地に発育しない微生物が存在する
試験管やフラスコの綿栓からモルトン栓へ	・時間の短縮 ・ほこりの発生が解消 ・菌への有害作用が解消(綿栓には脱脂綿は不適、青梅綿は脱脂綿に比べ水をはじく作用が強い)	・モルトン栓は綿栓に比べ培地が乾燥しやすい ・誤って内容をこぼしやすいことが欠点(綿栓は乾熱滅菌による加熱で不飽和脂肪酸が発生し、試験管の内壁を汚染、結核菌など一部の細菌に有害とされている)
器具の再生使用(消毒・洗浄・滅菌)からディスプレイ製品へ	・作業時間の短縮 ・器具の滅菌不十分が解消した(再生したガラスシャーレでは枯草菌汚染がよくみられた) ・洗浄時のガラス切傷事故防止 ・使用済み培地容器再生に伴い発生する悪臭の軽減	・汚染物の取り扱いが粗雑化(消毒薬を用いず、ポリ袋に一時廃棄、その後滅菌など) ・無駄使いする(節約に対し鈍感)(使用済みガラスピペットは消毒薬で消毒後、洗浄、乾燥、滅菌していた)
検査報告書の手書きから印字へ	・迅速化・正確性の向上 ・解読しやすい	・学名が正しく書けない ・学名を正確に覚ええない
微生物検査の指導・教育	・経験者が付き添って個別指導 ・個別指導に教育プログラムを併用	(個別指導だけでは異なる時期に複数の技師を指導すると指導内容に差が生じやすい、評価も指導者と受ける側で不一致になる場合がある)

れる。安全キャビネットの普及は結核の業室感染防止に大きく貢献していることは否めないが、過信は禁物である。最近では危険度の高い輸入感染症に遭遇する可能性もある。微生物検査に携わる臨床検査技師は作業の危険性に理解を深め、作業中は緊張感を持って行動すること、基礎技術では無菌操作の習熟、器具や危険物の正しい取扱いを遵守、後輩に対し綿密な指導を強化・徹底する必要がある¹⁶⁾。

3. 培地・試薬の自家調製から市販品へ

半世紀前の微生物検査では、信頼できる成績を得るためには性能の良い培地を用いる必要があり、培地や試薬の調製には長年の積重ねにより培われた“コツ”を発揮し、調製にも多くの時間が費やされた。その後、生培地が市販されるが、最初のころは自家製の性能が優れ、市販品が自家製の性能を超えるま

注) 業室感染: 筆者は検査室内で受けた感染を「実験室内感染」と呼ぶものと認識していた。臨床検査の専門学校では細菌学実習提要(伝染病学会編、丸善、1961)が実習の教科書として用いられ、林江沢先生(東京大学医学部細菌学教室)からこのように教えられていた。ある時、小酒井望先生に原稿のご校閲をお願いした時、この用語を“これは「業室感染」だろ?”といわれ、次のように説明して下さった。検査室は実験するところではなく検査の仕事をするところだから「実験室内感染」はふさわしくない。「業務感染」という用語も使われているが、検査室内の感染は必ずしも業務をしている人だけではなく、検査室に入室する人は感染を受ける可能性があるのだから「業室感染」がふさわしい。と教えられた。筆者にとって「業室感染」の用語は恩師の教えのひとつとして気に入っており、敢えて使用させていただいた。

ではかなりの期間が費やされた。準備に費やされていた時間は自動化や生培地の購入により大幅に短縮された。この反面、培地や試薬の処方、調製法、反応の原理などの理解や知識が薄らいだことも事実である。粉末培地を調製するのに必要量の粉末のg数は、通常、頭の中で計算したが、最近では時間がかかる技師も見受けられる。新技術のなかには原理が難解なものもあるが、これらの理解を深めることは結果の解釈や機器トラブルの解決に役立つので知っておく必要がある。また、培地、試薬などの自家調製についても臨機応変に対応できるよう身に着けておかなければならない。

4. 鑑別・確認培地から同定キット・自動機器導入へ

1960年代の菌種の同定は病原性の強い菌種は簡単な同定法が確立されていたが、日和見病原菌、特に環境に生息するブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌については緑膿菌以外の菌種は困難であった。一方、

これらの細菌による日和見感染は1960から1970年代には著明に増加し、同定法の確立が強く望まれていた。ただ *Bacterium anitratum* (現在の *A. baumannii*) は緑膿菌に次いで多く検出され同定法が知られていた(図2)。その他のブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌の同定は藪内英子先生により確立され、これらの細菌による感染症が明らかにされていった¹⁷⁾。

TSI寒天培地、SIM培地などの確認培地は腸内細菌科の同定に不可欠であったが、同定キットや自動機器の普及により使用されない傾向にある。*Acinetobacter*属菌や*Burkholderia*属菌などでは、腸内細菌などのブドウ糖発酵菌系統か、ブドウ糖非発酵菌系統かは同定キットや自動機器では正確に判定できない場合がある。このような時にTSI寒天培地やSIM培地を用いれば確実に識別できる。質量分析計検査法は迅速で正確な同定結果が得られることで最近、日常検査に導入する施設が増加しているが、大腸菌(*Escherichia coli*)と赤痢菌(*Shigella*属菌)、

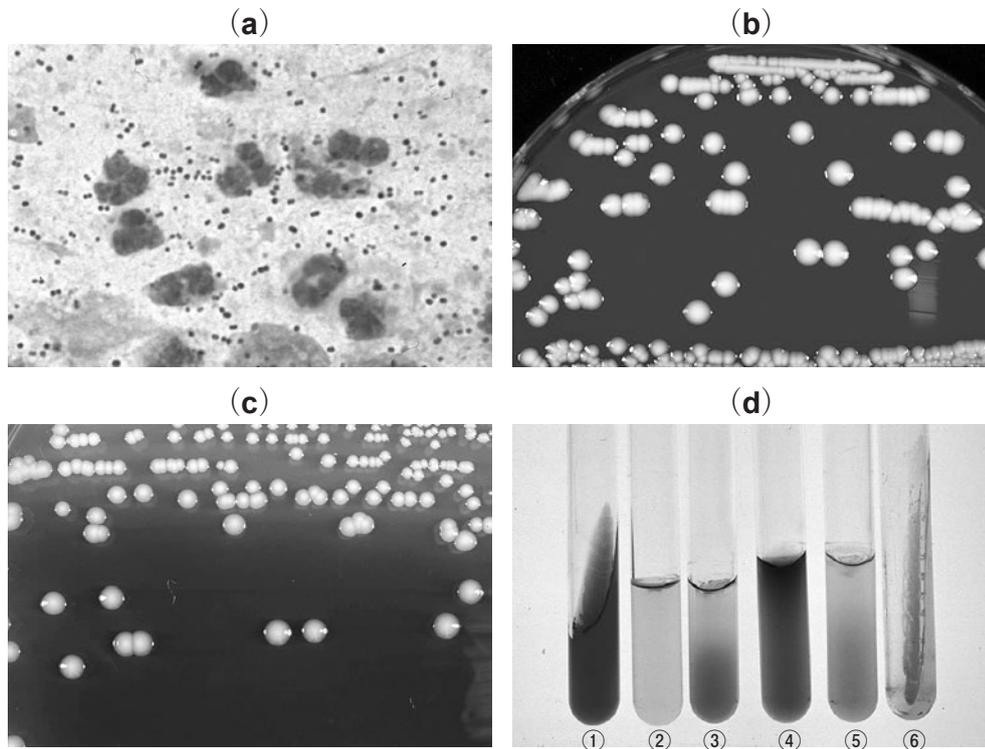


図2 *Bacterium anitratum* の同定

(a) 喀痰のグラム染色で認められた *B. anitratum*。多数のグラム陰性球菌の中に短桿菌がわずかに存在する。多数の白血球の存在から感染症が推定される。(b) 血液寒天培地上の集落。白色でやや隆起し、光沢あり、辺縁は滑らかな集落、大きい集落(3~8mm)で腸内細菌科と紛らわしい。(c) BTB乳糖寒天培地では24時間以上経過すると乳糖分解のためやや黄色身を帯びてくる。培養すると短桿菌となる。(d) ①TSI寒天培地(菌発育だが無変化、ブドウ糖非発酵菌と判定される)、②SIM培地(培地表面には菌発育、高層には発育がほとんど見られない)、③OF培地:ブドウ糖(表面が黄色、下部は緑色から酸化的分解)、④麦芽糖(非分解)、⑤キシロース(酸化的分解)、⑥5%乳糖斜面培地(1日目で分解(黄変)、但し、1%以下の乳糖(OF培地)では1日では分解しない)。

(図2は巻末のカラーページに掲載しています。)

炭疽菌 (*Bacillus anthracis*) とセレウス菌 (*Bacillus cereus*)、百日咳菌 (*Bordetella pertussis*) とパラ百日咳菌 (*Bordetella parapertussis*)、*Citrobacter amolonicus* と *Citrobacter freundii*、*Staphylococcus intermedius* と *Staphylococcus pseudintermedius*、*Streptococcus mitis* と肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) などの組合せでは鑑別困難とされている¹⁸⁾。このように生物学的検査を主とする従来法では鑑別できても遺伝学的には識別困難な場合があり、これらの機器を用いる場合注意しなければならない。最先端の簡便で正確とされる優れた同定法でも、意外な落とし穴がある。大きなミスを防ぐ意味で従来法による同定検査は確認培地も含め、十分使いこなせるよう訓練しておくことが勧められる。

5. ディスク拡散法で学んだこと (1 濃度法と 3 濃度法)

用手法が主流のころ、薬剤感受性検査はディスク拡散法が用いられていた。1960 年代はわが国では

一濃度法 (昭和ディスク、金沢法、日水) と三濃度法 (三濃度ディスク、後にトリディスク、栄研) のいずれかにより行われていた。昭和ディスクは内科医であられた金沢 裕先生により考案・改良された方法¹⁹⁾で、ディスクの阻止円直径により、感性から耐性までを 4 段階 (3+ : 感性)、(2+ : やや感性)、(1+ : やや耐性)、(- : 耐性) に分けて判定する方法である。現在の CLSI ディスク拡散法は Kirby-Bauer 法²⁰⁾を基にした方法であるが、金沢法はディスクの大きさ及び薬剤含有濃度はこれらとは異なる方法である。金沢法の特徴は、ディスクの阻止円直径より MIC 値を推定できるように設定されている。ディスク法は定性的な方法であるが、MIC を推定することについて金沢先生は「MIC 値は ±2 倍の誤差があるので、ディスク法でも十分推定可能である」ことを強調されていた。

一方、三濃度ディスク法は、1 薬剤につき高・中・低の 3 濃度の薬剤含有ディスクを用いる方法である (図 3、4)。判定はディスクより阻止円までの距離

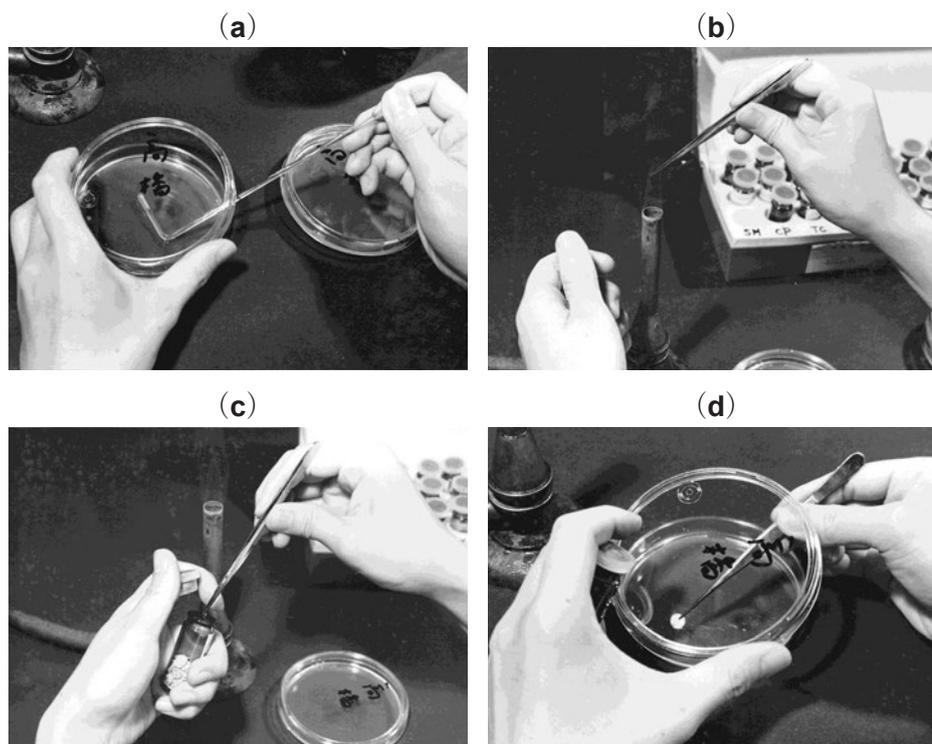


図 3 トリディスク法

(a) : 被検菌液 (集落からブイヨン培地に接種し、明らかな混濁が認められたもの) をミュラー・ヒントンス寒天培地に毛細管ピペットで 1 滴滴下し、アルコール液で滅菌したコンラージ棒で寒天培地の表面に均一に塗り広げる。(b) : 小型の眼科用ピンセットの先端をガスバーナーで火焰滅菌後、冷ます。写真右上の箱に各薬剤の低・中・高のディスクが縦に配置され納められている。(c) : ピンセットで小ビンの中のディスクを取り出し、寒天培地の表面に配置する。(d) : 培地の中心に 1 剤、その上下に 1 剤ずつ 3 剤の薬剤のディスクを配置。この際、低濃度ディスクの隣には高濃度ディスクが来るように配置する。37°C、1 夜培養後、判定する。(現在では検査時には手袋の着用が原則であるが、当時は素手で言うことが多かった。)

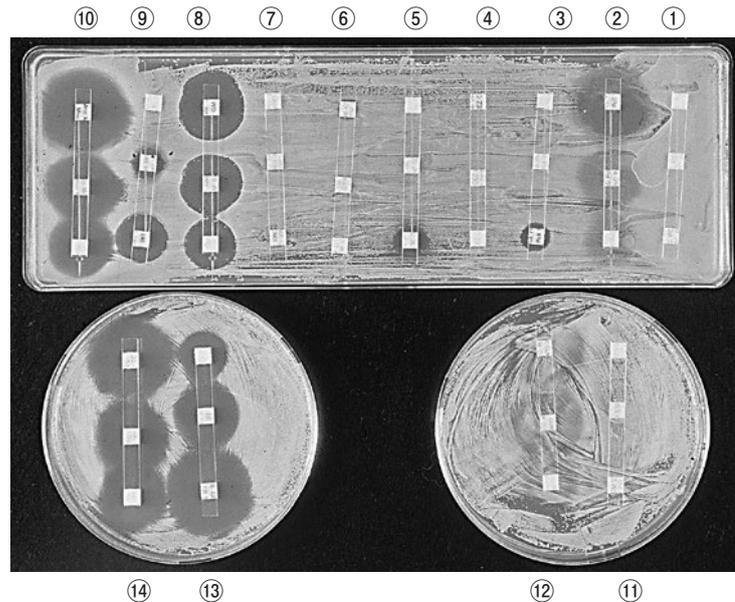


図4 トリディスク法の判定 (MRSA)

各ディスクの高濃度は青色, 中濃度は赤色, 低濃度は緑色の文字で印字されている. 菌液はコンラジ棒で接種したため塗布に斑(ムラ)がある. ディスクストリップもピンセットで置いたためやや不規則である. 以下のように判定される. (3+)は感性, (-)は耐性.

- ①PCG (-), ②MCIPC (1+), ③ABPC (-), ④CEZ (-), ⑤CMZ (-), ⑥CTM (-),
 ⑦CMX (-), ⑧GM (3+), ⑨AMK (1+), ⑩MINO (3+), ⑪EM (-), ⑫CLDM (-),
 ⑬OFLX (3+), ⑭TC (3+)

が1mm以上あれば阻止円ありとみなし、高・中・低の3つのディスクに阻止円があれば(3+:感性)、高濃度と中濃度に阻止円があれば(2+:やや感性)、高濃度のみ阻止円があれば(1+:やや耐性)、いずれのディスクにも阻止円がなければ(-:耐性)、と判定する方法である²¹⁾。昭和ディスクは阻止円直径の測定(mm単位)が必要なものに対し、3濃度ディスクは接種菌量による影響が少なく、3つのディスクの阻止円の有無で判定できることから、簡便な方法として広く用いられていた。著者がこの方法に疑問を持ったのはテトラサイクリン(TC)の感受性結果である。当時、薬剤感受性の疫学調査としてMICの測定も行っていた。MICでTC耐性株と判定されたにもかかわらず、日常検査法のディスク法では感性和判定されていた株のあることに気付いた。TCのディスク法を再検査したところ、3種のディスクには感性株に比べると明らかに小さいが、高・中・低の各濃度のディスクは明らかに阻止円ありと判定された。1濃度ディスクでは阻止円の直径の大きさにより感性(または耐性)度を連続データとしてとらえることができるが、3濃度ディスクではこれができないことが欠点であることは知っていた。しかし、

耐性菌が見逃されていることには気付かなかった。薬剤感受性検査は希釈法による測定が基準となる方法であり、ディスク法とMIC値の相関をみることで発見できる問題点であった。新しい方法を採用する場合には、従来法との比較データをよくみるのが大切である。また、3濃度法は“接種菌量の影響は受けにくい”といわれていたが、実際には菌量が多くなると判定しにくいことも経験された。

そこで国際的にも通用する、センシディスク(ベクトン・ディッキンソン)を用いるNCCLS法(現在のCLSI法)に変更し、精度管理も行いつつ長期にわたり使用した。その後、菌株同定・薬剤感受性が同時に検査できる自動機械の導入に移行することになる。国際的なデータの比較が難しいことから、昭和ディスクも姿を消すことになったが、金沢先生の積み重ねられたディスク法の阻止円直径からMICを推定できるという方法には今でも興味を捨てきれずにいる。

6. 血液培養(用手法からカルチャーボトルを経て自動検出システムへ)

1960年当初、私の経験した血液培養はベッドサ

イドで行われていた。血液培養を行う場合、患者の主治医は検査室に連絡し、検査室では培養に用いる一式を小型の岡持ち（出前箱）タイプの本箱に入れて患者の病室に出向き、その場で行った。病室の窓やドアを閉め、術者とその補助者以外の立ち入りを禁じ、無菌操作のもとに行われた。当時は心内膜炎の場合は動脈血の検出感度が優れているとされ、動脈血と静脈血の両方から採血されていた（現在では動脈血、静脈血での差はほとんどないとされている）。採血後の注射針や試験管培地の管口の火焰滅菌にはアルコールランプを使用した。医師が患者から10mL採血し、滅菌シャーレや培地に入れてくれるので、検査技師は無菌操作を守りつつ、シャーレのふたの開け閉めや、試験管培地のキャップの開け閉めなどを補助した。最後に検査技師が温浴中で溶解しているハートインフュージョン寒天培地（中試験管入り）を用いて、シャーレに入った血液と混ぜて混積寒天を作製した。シャーレに入れた血液は血

液中の菌数を定量培養するためのものである。その後、病室でのこれらの操作は遅れると寒天培地が凝固する場合があります、また、無菌操作が十分できないなどの無理があったため、採血した血液を検査室に提出してもらうようになった（図5、図6a, b）。検査室では3.8%クエン酸ナトリウム液を2mL入れて滅菌した中試験管を用意しておき、これに10mL採血することになっていた。クエン酸ナトリウムは細菌に有害とされているがやむなく使用していた。

1965年に栄研化学からカルチャーボトルが市販されると、従来法に比べ、操作は非常に簡便化されることから、多くの検査室がこの方法に切り替えた（図6c）。著者らもカルチャーボトルへの変更を望んだが、臨床の先生方はそうではなかった。血液中の菌数が出せなくなることに対する反対意見が強く、特に内科の池本秀雄先生は血液中の菌数は重症度や予後を知る上で重要であること、雑菌混入か否かの識別の参考にもなるとのことを強調された。検

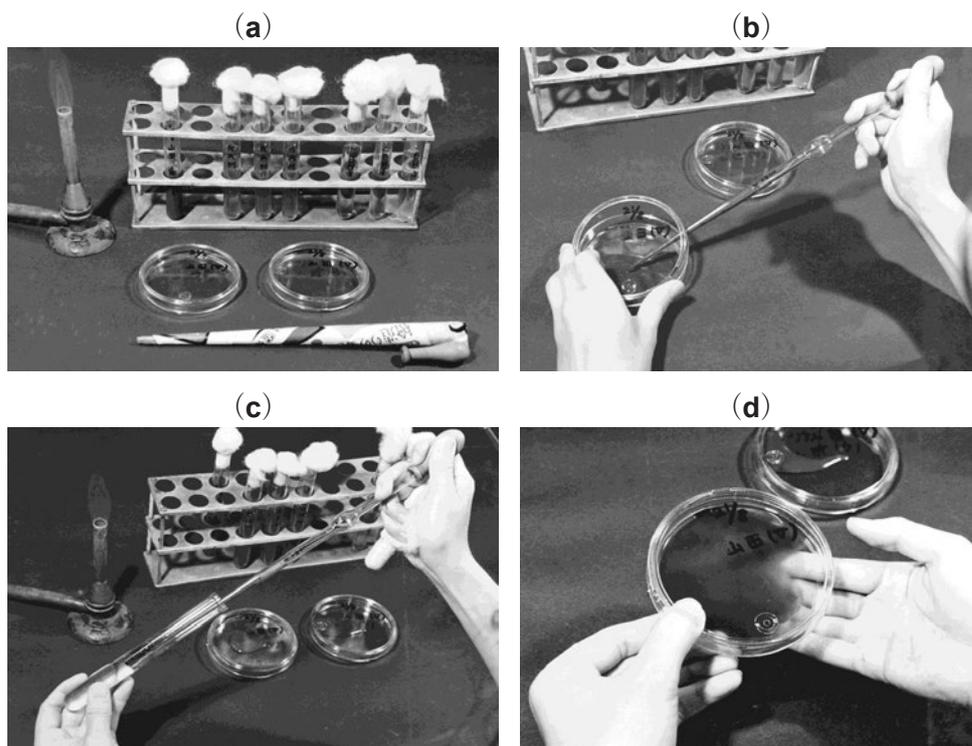


図5 カルチャーボトル発売以前の血液培養法

(a)：試験管台の左は患者血液10mLの入った試験管、次の3本はチオグリコレート培地（嫌気性菌用）、右の3本はブレイン・ハート・インフュージョン培地（好気性菌用）。手前には滅菌シャーレが2枚（血液中の菌数算定用、1枚に2mLの血液を入れて混積する）、滅菌駒込ピペットとゴムキャップ。(b)：滅菌駒込ピペットで血液を2mL吸い上げ、滅菌シャーレに入れる（定量培養用）。(c)：患者血液を1mLずつとり、6本の液体培地に接種する。(d)：20mLのあらかじめ溶解（40-45℃）したハート・インフュージョン寒天培地（中試験管に調製したもの）で混積寒天を作製する。平板培地、液体培地は37℃、毎日観察、1週間観察後、菌の発育が見られない場合は、液体培地はグラム染色を行い菌発育の有無を観察する。（検査時は手袋の着用が原則である。当時は素手で実施していた。）

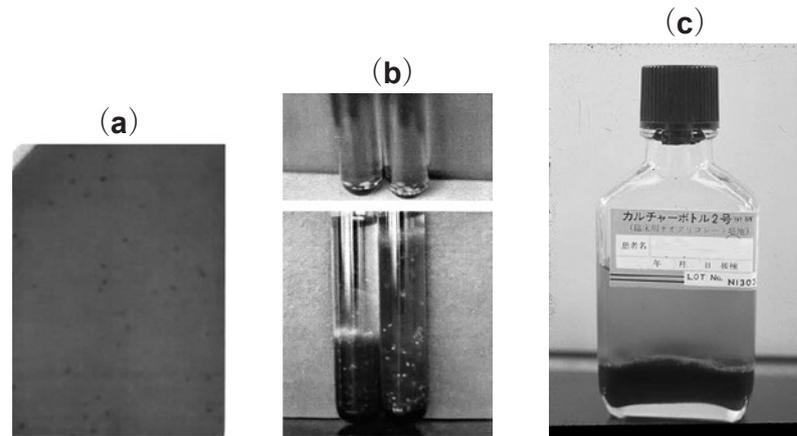


図6 血液培養（用手法）の陽性例と最初の市販カルチャーボトル

(a) 患者血液の混積寒天培地の発育したレンサ球菌の集落。菌発育は黒い小さな点として観察される。(b) 上はブレイン・ハートインフュージョン培地に発育した菌の集落、下はチオグリコレート培地に発育した菌の集落。(c) 国内で最初に市販されたカルチャーボトル2号(栄研化学)。レンサ球菌が発育。ビンが薄型なので菌発育時の培地の混濁状態が観察しやすかった。

図(a), (b)：小酒井 望：集落の観察から同定へ(栄研化学, 1964)より引用

(図6は巻末のカラーページに掲載しています。)

査部長で臨床病理学教授であられた小酒井 望先生が対応されたが、臨床側の許可をいただくにはかなりの日数を要したことが懐かしく思い出される。栄研のカルチャーボトルが使用され、この後はBCボトル(ロシュ、ベクトン・ディッキンソン)、次いで自動検出器(バクテック、ベクトン・ディッキンソン)に移行した。

微生物検査では国際的にみても最も重要な検体は髄液であり次が血液とされている。これらの検体では迅速で正確な結果が患者の予後を左右することから、検査法の開発が盛んである。現在では陽性のカルチャーボトルの培養液を用いて20の菌種または菌属と、主な耐性遺伝子9種を2～2.5時間で検出できる方法が開発され市販された。これらは画期的な方法であるが検査コストが高く医療費の高騰に繋がることから、日本臨床微生物学会、日本感染症学会から「新しい敗血症診断用検査薬を用いた遺伝子関連検査 Verigene®の実施指針」が提案されている²²⁾。現在のカルチャーボトルを用いる方法では血液中の菌数は不明であり、また、使用培地に発育できない細菌は検出できない。また、採血時のコンタミネーションも診断の誤りや不必要な治療に繋がる可能性があり、検査の労力や資材の無駄使いにもなるので、よりよい方法を求めるためには大いに検討の余地がある。

7. 微生物検査の効果的教育法

微生物検査の指導は適当なテキストを用い、技術指導はマンツーマンで行われてきた。この習慣は現在でも続いており利点が多いが、表に挙げたような問題点もある。教えた後の評価は受講者自身および指導者の双方で行い、両者が一致を確認することにより、行き届いた指導となる。教育プログラムを導入すると、指導の内容やチェック点もそろえて行うことができ、指導内容の漏れを防ぐことができる²³⁾。教育は初心者のみならず、経験者も年、月単位での目標を定め、それに向けて行動し、その達成度を評価することにより自身の技能を向上させ、成長しようとする姿勢が現役の技師には課せられている。

Ⅲ. 感染症診療に貢献できる臨床検査技師を目指して

半世紀余の間、検査技術は大きな発展を遂げてきたが、臨床検査技師像にも変化が見られる。当時は検査法も複雑なものが多く、優れた技術が信頼性の高い成績に繋がった。現在では高度な技術とされた遺伝子検査でも GeneXpert のように簡単な操作で出来る方法が開発され、菌種の同定に用いる質量分析計も操作は非常に簡易化されている。技術が非常に簡易化されている中で臨床微生物検査技師に求め

られていることは、第1に「臨床に役立つ微生物検査」を追求し、それに沿って努力することではないかと思う²⁴⁾。検査結果を最大限に利用してもらうためには検査依頼医師とのコミュニケーションをよくすることが非常に重要である²⁵⁾。必要に応じ検査結果にコメントを付記することや、検査結果に対し臨床的な患者情報が必要になった場合には問合わせをすること、重症患者では検査を希望される抗菌薬をたずね、追加して検査しておくのもよい。

第2に感染症の診断や治療に対し研鑽を積むことである。臨床検査技師が医師や看護師、薬剤師に対し、専門分野での適切なコメントが出来るためには、主な病原微生物に対する生物学的性状の特徴や臨床的な意義、さらにその微生物の感染症に用いられる主な抗菌薬、その薬剤に対し耐性菌はどの程度出現しているかなどをよく知っていなければならない。

臨床検査技師に求められる新しい分野として、感染制御や抗菌薬の適正使用のチームに加わり活動することが求められている。患者の診断や治療のために用いられた微生物検査結果を集計し、感染制御のための資料として利用すべく加工することも臨床微生物検査技師に課せられている(アンチバイオグラム、各種臨床材料からの主要な分離菌種の年次的推移、主な耐性菌の病棟別分布など)。また、抗菌薬適正使用チームの資料として血液培養の陽性患者リストが用いられるが、これらも他の職種の見解を取り入れ検査担当側が作成することで、正確で最新データを含めた使いやすいものに仕上げることができ。

臨床検査技師は感染症の臨床面に弱いといわれる。医師や看護師、薬剤師の専門分野にも一步を踏み入れ、知識を蓄える必要がある。このことは感染制御チームで活躍する際、他の職種とのコミュニケーションをよくするために不可欠である。

おわりに

以上、微生物検査の過去50余年を振り返り、感染症診療に貢献できる技師として心にとどめてほしいことを述べた。微生物検査の技術革新により検査は容易になったが、臨床微生物検査技師の守備範囲は著明に拡大した。病原体もウイルス・細菌・真菌に、さらに原虫・寄生虫をも加える必要が生じてい

る。感染症検査も従来の微生物検査に免疫学的検査や遺伝子検査が多く取り入れられるようになった。さらに感染制御、抗菌薬適正使用の分野でも役割が課せられている。もはや個人の余暇を利用した勉強ではこれらに十分に応じることはできない。日常の業務やチーム活動でのコミュニケーションを通じて、また、種々の勉強会や学会参加を通じての積み重ねが最も効率的な成長の糧になるのではないかと思う。

文 献

- 1) 林 康之, 寺畑喜朔, 酒井シズ. 第37回日本臨床病理学会総会記念展示目録. 臨床検査の歴史を辿る. 第37回日本臨床病理学会総会(会長: 林 康之). 共和企画, 1990, 18-25.
- 2) 河合 忠. 内科-100年のあゆみ(内科横断領域)Ⅲ. 関連する医学・医療分野の歴史 1. 臨床検査. 日誌. 2002; 91(11): 74-80.
- 3) 武沢敏行. 臨床微生物検査の現状分析と将来展望20. 患者さん中心の医療を実現するために. 微生物検査薬/機器メーカーの視点から感染症診断のパラダイムシフトを考える. モダンメディア. 2012; 58(10): 303-306.
- 4) Smith P.B., et al. API system: a multitube micromethod for identification of Enterobacteriaceae. Applied Microbiol. 1972; 24(3): 449-452.
- 5) 八木澤正. 抗菌薬を概観する: 過去, 現在, そしてこれから. 日本化学療法学会雑誌. 2017; 65(2): 149-167.
- 6) 小林寛伊. 院内感染(病院感染)から医療関連感染へ. 臨床と微生物. 2014; 41(Supple): 531-534.
- 7) 川名林治. 東八幡平シンポジウム. 臨床と微生物. 2004; 31(5): 391-395.
- 8) 富家恵海子著. 院内感染(第1版)東. 河出書房. 1990.
- 9) 小栗豊子. 細菌検査のパラダイムシフト. 1. 染色法の現状と今後. 一患者検体のグラム染色検査を中心に. 医療と検査機器・試薬. 2012; 35(5): 657-665.
- 10) 国際的に脅威となる感染症対策関係閣僚会議. 薬剤耐性(AMR)対策 アクションプラン 2016-2020. 2016年4月5日.
<http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-10601000-Daijinkanboukouseikagakuka-Kouseikagakuka/0000156510.pdf>.
- 11) 大曲貴夫. 薬剤耐性(AMR)対策 アクションプラン 2016-2020, の背景. 臨床と微生物. 2017; 44(4): 291-295.
- 12) 厚生省編纂. 衛生検査指針 I. 細菌・血清学的検査指針(I). 東京. 共同医書出版社. 1952.
- 13) 小酒井 望. 臨床検査技術講座 第4輯 細菌学(第1版). 東京. 金原出版, 1959.
- 14) 飯田哲也. 微生物検査における技術革新. 2. シークエンス解析. 次世代シークエンサーを用いたメタゲノム解析. 臨床と微生物. 2016; 43(増刊号): 595-600.
- 15) 田畑勝好. 検査技師の歴史. 京都大学医療技術短期大学

- 部紀要. (別冊). 健康人間学第7号. 1995 : 26-30.
https://repository.kulib.kyoto-u.ac.jp/dspace/bitstream/2433/49523/1/7_26.pdf
- 16) 小栗豊子. 技術講座. 確認しておきたい微生物学的検査における無菌操作と基礎技術(前篇). *Medical Technology*. 2017 ; **45**(11): 1180-1187.
 - 17) 藪内英子. ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌. 東京 : 医学書院. 1977.
 - 18) 日本臨床微生物学会 検査法ガイド等作成委員会 MALDI-TOF MS検査ガイド作業部会編. 臨床微生物質量分析計検査法ハンドブック. *日臨微誌*. 2017 ; **27**(Suppl. 2): 24-27.
 - 19) 金沢 裕 : 感受性ディスク法の基礎と臨床(一濃度法を中心として). 東 : 昭和薬品工業株式会 : 1994.
 - 20) Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC & Turk M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am J Clin Path*. 1996 ; **45**(4): 493-496.
 - 21) 小栗豊子. 2. ディスク法による感受性検査. b. 3濃度法. 新臨床検査技師講座11 微生物学・臨床微生物学(山中 學, 福岡良男監修)(第3版). 東京 : 医学書院 : 1992. 416-418.
 - 22) 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 : 新しい敗血症診断用検査薬を用いた遺伝子関連検査 Verigene®の実施指針. <http://www.jscm.org/m-info/177.pdf>(2017年3月1日)
 - 23) 三澤成毅. 微生物検査の教育プログラム. 微生物検査の効果的なトレーニング. 教育プログラムの運用, 評価, フォロー. *臨床と微生物*. 2011 ; **38**(5): 447-449.
 - 24) 小栗豊子. 臨床微生物検査室の効率的な運用と検査法の体系化に向けて. *日臨微誌*. 2010 ; (1): 1-8.
 - 25) Baron EJ1 et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases : 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM), *Clin Infect Dis*. 2013 ; **57**(4): e22-e121. www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23845951