

2030年に向けた臨床検査のあるべき姿

II. 臨床微生物学的検査の近未来展望

Perspective of Clinical Microbiology Laboratory in the Near Future

み さわ しげ き
三 澤 成 毅
Shigeki MISAWA

はじめに

微生物学的検査は感染症診療を的確に進める上で必須である。患者検体からの起炎微生物の検出や治療抗菌薬選択のための情報提供は、日常検査の中心である。しかし、今日では感染制御のための検査と関連するデータ提供の、日常検査に占めるウェイトが増している。2020年は、新型コロナウイルス感染症の診断的検査として核酸増幅法による検査も導入された。2022年に入り、サル痘の世界規模の拡散も懸念されており、今後も新たな感染症が必ず発生する。

このような微生物検査に対して増加するニーズに応えるには、どうしたらよいか。2030年を目標に筆者の私見を述べる。

I. 微生物学的検査の課題

微生物学的検査の第一の使命は、感染症の起炎微生物検出と治療抗菌薬選択の情報提供であり、日常検査の中で最も多くの時間と労力が費やされている。

感染症診断のプロセス^{1,2)}によって感染の存在が疑われ、感染の局在部位から検体が採取される。細菌や真菌が起炎微生物として推定される場合には、その微生物に有効な抗菌薬による初期治療 (Empiric therapy) が開始される。初期治療は微生物検査による起炎微生物の決定によって評価され、起炎微生物にのみ有効な最適治療 (Definitive therapy) として継続または変更が検討される。

したがって、微生物学的検査には起炎微生物に対

して特異度が高い検査結果を、可能な限り早く提供できるよう努力しなければならない。特異度が高い検査は、培養・同定検査と遺伝子検査であるが、ときには塗抹検査や迅速抗原検査も特異度が高い情報として提供することができる。

培養・同定検査の結果報告は、表現型による同定検査は培養に依存し、検体提出の翌々日、質量分析法による同定によっても翌日である³⁾。発育が遅い微生物の場合は、さらに日数を要し、培養が困難な微生物はカバーできない。質量分析装置は高額であり、中～小規模な医療機関では現在でも導入が難しい状況と思われる。遺伝子検査は当日または翌日に結果を報告できるが、有限な医療資源を合理的に利用する観点から検査対象には限界がある。

微生物学的検査の根幹は材料別検査法であるが、検査室ごとに使用培地の種類、釣菌基準、同定レベル、結果表記、報告内容などが統一されていない。ISO 15189の認定取得が国内で急速に進んでおり、検体管理、標準作業書 (Standard Operating Procedure: SOP) などの文書化、要員としての臨床検査技師のスキル評価による検査担当の承認プロセスが行われ、検査精度の確保に寄与している⁴⁾。どの医療機関を受診しても最良の臨床検査サービスの提供が理想である。しかし、上述の統一できていない点から、医師にとって分かりやすい検査とはなっていない。

微生物学的検査の第二の使命は、感染制御活動に必要なデータ提供と参加である。データは、病院感染対策上重要な微生物の検出数、重症感染症患者のリスト、アンチバイオグラム、サーベイランスデータなどがある。感染制御チーム (Infection Control

Team: ICT) の活動では、環境ラウンドへ微生物の専門家としての参加がある。抗菌薬適正使用支援チーム (Antimicrobial Stewardship Team: AST) の活動では、薬剤部門と協力して広域抗菌薬の使用量と薬剤耐性菌検出のモニタリングなどがある。これらの活動は日常の検査業務と並行して行われているが、日本の臨床検査室は、臨床検査技師数が米国に比べて少なく、人的資源が十分に投入されている医療機関は少ない。

以上から、現在の微生物検査室の課題は、検査オーダーから結果報告まで分かりやすい検査への改善、質量分析法の導入による検査の質的向上と自動化による人的資源の有効活用、今すぐできる検査の迅速化と血液培養検査の24時間検査体制、ウイルス感染症を中心とした遺伝子検査のルーチン化、感染制御活動と日常業務の両立、微生物学的検査の教育と評価の実施、研究心の育成、である。

II. 検査オーダーから結果報告まで 分かりやすい検査への改善

現在の微生物学的検査は、検体別に検査が組み立てられた検体別検査法^{5,6)}が根幹である。検体別の検査の原型は米国の検査法であり、日本の感染症の疫学に合わせて改良を重ねられて今日に至っている。検体別検査法によって使用する培地の種類や培養法は、ほとんど統一されている。しかし、検査オーダー、検査の内容、結果の判定、表記、解釈には統一できていない部分が多く残っている。このような不統一は、医師にとって優しく、分かりやすい検査とはいえず、検査結果の解釈を難解なものにし、

誤解を生みだしてしまう可能性がある。

表1から表4に検査オーダーおよび検査内容について統一すべき目標をまとめた。

1. 分かりやすい検査オーダー

検査オーダーは感染症診療のプロセスに沿って、医師が推定している感染臓器を選択することにより採取すべき検体が決まる仕組みがスムーズである。血流感染症のオーダーは、常在細菌がその常在部位から血流へ侵入、または原発の感染巣から周囲へ波及する際に血流に侵入して血流感染症へ進展する場合⁷⁾に備え、どの感染臓器を選択しても血液培養をオーダーできるようにする。

微生物学的検査における検査項目は、診療報酬上の区分である塗抹検査、培養・同定検査、嫌気培養、薬剤感受性検査などが相当する。嫌気培養は、疫学データや専門学会によるガイド⁸⁾に基づいて、検査が推奨される検体の場合にオーダーを促す、または検査がセット化されているのが良いと考える。

2. 検体の適正な条件を示し不適切な検体を生み出さない

検体採取では、適正な検体の条件として、採取容器、採取方法⁹⁾、提出方法を診療側へ提示しておく。抗菌薬投与前の採取の重要性やスワブの使用は限定的であることも提示する。検査を受け入れできない不適切な検体が提出されてから再採取を求めることは、患者や検体採取者に不要な負担を強い、検体採取の最適なタイミングを逃し、結果報告の遅れにもつながる。不適切検体削減のため、発生をモニタリングする取り組みが行われる。モニタリングの実施

表1 検査オーダーおよび検査内容に関する統一すべき目標

目標	目標達成のための具体的取り組み
検査のオーダー方法を感染症診療のプロセスに合わせて医師をガイド	<ul style="list-style-type: none"> 推定する感染臓器から始まるオーダー方法へ変更 感染臓器の選択によって採取すべき検体が決まる仕組み 嫌気培養は、検査が推奨される感染臓器/検体を選択した際にオーダーを促すようにガイド 通常の検査で網羅していない微生物は、オーダー方法をガイド 外部委託検査は院内検査と区別して表示
適正な検体を提示し、不適切な検体を減らす	<ul style="list-style-type: none"> 正しい検体採取方法および適正な検体の条件を提示し、不適切な検体を発生させない
検査内容および対象微生物を提示し、問い合わせを減らす	<ul style="list-style-type: none"> 嫌気培養が推奨される感染臓器/検体 通常の検査では網羅していない微生物と検査のオーダー方法 結果報告のタイミング/日数(外部委託検査も含む) 検体別の検査対象微生物と報告方法 検出微生物の臨床的意義を反映した報告(常在菌および汚染菌の区別)

による改善活動は有用であるが、それ以前に適正な検体を示すべきである⁴⁾。

3. 検査内容や対象微生物を示し不要な問い合わせを減らす

通常の検査で網羅していない微生物（真菌、*Legionella* spp.、*Bordetella pertussis*、ウイルス、リケッチア、クラミジア、寄生虫、および日本では稀な微生物など）のオーダ方法を提示しておく。すなわち、培養検査以外に迅速抗原検査や遺伝子検査が可能か、または外部委託検査が可能かを提示する。その際、院内検査か外部委託検査かが分かるように表示する。外部委託検査であることが分かれば、院内検査とは違って結果報告までに日数を要することを認識することができる。

結果報告のタイミングは、塗抹検査、培養・同定検査、薬剤感受性検査、迅速抗原検査、遺伝子検査の項目ごとに、原則としての報告日数を提示する。先述の通常の検査では網羅していない微生物は、微生物ごとに報告日数を提示する。

検査対象微生物は、糞便検査のように細菌、ウイルス、寄生虫、毒素など対象が幅広い検査では提示しておく。下痢原性大腸菌は病原因子の確認が必要であり院内検査では検査できないこと、腸管出血性大腸菌は毒素検査まで可能かを提示する。結果報告では対象微生物等が検出されなかったことを直接表記する。例えば、*Campylobacter*、*Shigella*、*Salmo-*

nella、*Vibrio*、腸管出血性大腸菌陰性、と報告する。単に培養陰性、腸管感染症原因微生物陰性という報告は、医師が結果の解釈に迷う、または誤解を生む可能性がある。

検出微生物の報告には臨床的意義を反映させる。常在菌が検出される呼吸器検体、糞便、尿などでは、常在菌の報告方法を示す。

以上の医師や診療側に事前に提示しておく事項は、電子カルテや病院内ホームページへ掲載するか、手引きを配付する。事前に示しておくことによって不要な問い合わせを減らすことができ、医師は診療、検査室は検査に集中することができる。

4. Gram 染色による塗抹検査における統一すべき目標

Gram 染色による塗抹検査における目標を表2に示した。

細菌、真菌、生体細胞の数量の判定基準と報告における表記を統一すべきである。判定基準の候補は、米国 American Society for Microbiology (ASM) によるものがあり、菌量の判定基準を表3¹⁰⁾に示した。判定は検査室間差や技師間差をできるだけ少なくするため数的な表記が良い。医師による数的表記の解釈を容易にするための意味付けが必要である。ASM による数的表記では2+がGram染色による最低検出感度である 10^5 CFU/mL以上に相当することを示しておく。

表2 Gram 染色による塗抹検査における統一すべき目標

項目	統一目標
菌量、生体細胞数の判定と表現	<ul style="list-style-type: none"> 判定の量的段階：米国ASMの判定方法に合わせ、4段階（-～3+）から5段階（-～4+）へ統一 数的表現以外の表現は廃止 量的表現と菌数を関連付ける：2+は10^5 CFU/mLに相当
推定菌種の報告	<ul style="list-style-type: none"> 推定報告する菌種を定めて報告
報告のタイミング	<ul style="list-style-type: none"> 検査実施の当日（即日）に報告 翌日の培養結果と照合後に報告することは廃止

表3 Gram 染色による菌量の判定基準と解釈

表記	1,000倍1視野あたりの菌数	
-	菌が認められない	
1+	1個未満	
2+	1～5個	→2+以上はGram染色による最低検出感度である 10^5 CFU/mL以上に相当することを医師へ周知
3+	6～30個	
4+	31個以上	

（文献10）を参考に作成）

Gram 染色による塗抹検査の目的は、感染症の初期治療 (Empiric therapy) のための情報提供である。したがって、塗抹検査では患者情報と検体の種類を基礎データとし、Gram 染色性、形態、配列の所見からできる限り菌種を推定し、検査実施の当日に報告する。翌日に培養結果と照合して報告することは廃止する。

報告対象とする推定菌種と検体の組み合わせは、医師へ提示しておく。推定困難な場合は、ありのままを報告することも申し合わせておく。

5. 培養および同定検査における統一すべき目標

培養および同定検査における目標を表4に示した。

嫌気培養は先述の検査オーダの項で述べたように、推奨される検体は検査をセット化しておく。

長期間の培養が必要な真菌の検査は、医師が疑っている真菌によって微生物検査室が日数を決定する。

培養による菌量は、分離培地上に発育したコロニーの密集度によって数的に判定、表記する。数的表現は検体中の菌量と関連付け、2+は 10^5 CFU/mLに相当し Gram 染色による菌量の2+と符合する。

検出菌の報告は、分離した全てを報告するのではなく、臨床的意義を反映させる¹¹⁾。常在菌や汚染菌は区別して報告し、積極的な監視培養 (アクティブサーベイランス培養: Active surveillance culture; ASC) 以外は、詳細な同定は行わず常在菌と一括して報告する。

先述した糞便検査のように検査対象の微生物を定めている検査は、対象微生物の有無を直接報告する。呼吸器検体の培養検査報告も、単に呼吸器常在菌の

報告よりも、MRSA や *Pseudomonas aeruginosa* 陰性と具体的に報告したことによって、使用抗菌薬のデエスカレーションや投与中止が増え、急性腎障害が減少したことが報告¹²⁾されている。

Ⅲ. 質量分析法の導入による検査の質的向上と自動化による人的資源の有効活用

微生物学的検査の自動化は、同定および薬剤感受性検査装置の登場以来、血液培養検査装置、核酸増幅検査装置、検体の分離培地への塗布装置、そして質量分析法 (マトリックス支援レーザー脱イオン化法飛行時間型質量分析: matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry; MALDI-TOF MS) による同定検査装置の導入に至っている。

特に、MALDI-TOF MS による同定は細菌および真菌の増殖と代謝に依存する表現型による検査に比べ、分離培地上のコロニーから簡便かつ短時間に菌種を同定できる。日常検査では稀、または表現型による検査では同定困難な微生物も正確に同定できる。MALDI-TOF MS は検査や運用の選択肢が多い大規模な医療機関の微生物検査室より、むしろ臨床検査室全体の規模が小さい医療機関への普及が望まれる。

近年、検体の分離培地への自動塗抹装置を基本ユニットとし、塗抹標本作製装置、ふ卵器、さらに同定・薬剤感受性検査装置と接続した統合型の自動装置 (WASPLab: コパン、BD Kiestra: ベクトン・ディッキンソン) が登場してきた。統合型自動装置

表4 培養および同定検査における統一すべき目標

項目	統一目標
嫌気培養のオーダ	• 推奨される検体は検査をセット化
長期間培養の日数	• 疑う真菌によって決定 酵母は1週間、皮膚糸状菌は1週間、黒色真菌および二形成真菌は4週間
菌量の判定と表現	• 日本で最も多い画線塗抹法に合わせ、4段階(-~3+)に統一 • 数的表現以外の表現は廃止 • 量的表現と菌数を関連付ける: 2+は 10^5 CFU/mLに相当 Gram 染色による塗抹検査の2+とも符合
分離菌の意義づけ	• 常在菌と汚染菌は他と区別して報告
常在菌の報告	• 一括した報告(常在菌またはNormal flora)へ統一 • 監視培養の場合は、具体的な菌名で報告
検査対象菌種の報告	• 検査対象とした微生物の有無を直接報告 糞便検査の例: カンピロバクター、腸管出血性大腸菌 O157、 <i>Shigella</i> 、 <i>Salmonella</i> 陰性

は、ふ卵器内の分離培地が一定時間後にデジタル画像としてワークステーションであるコンピュータ(PC) 端末に出力される。検査者はPC 端末上で菌発育の有無やコロニー画像を確認し、同定や薬剤感受性検査の要否を判断し、必要な培地のみを取り出して検査を行う。最近では、検査者が指定したコロニーから装置が菌液を作製し、同定または薬剤感受性検査まで行うまでに改良が進んでいる。

統合型自動装置に期待されているのは、①分離培養作業の統一化による菌分離効率と再現性向上、②検査効率と生産性向上による結果報告時間(Turn-around time: TAT) 短縮、③患者ケアへのメリット、④検査室の安全性向上、であり¹³⁾、これらに沿って述べる。微生物学的検査の自動化に関する報告は増加しており、本稿では総説(Review)^{13, 28, 29, 33, 40, 45)} や解説(Commentary)^{35, 42)} も引用した。同意見の部分も多いが、欧米との状況の相違や筆者にとって未知の領域でもあり、可能な限り原典の報告も調べて述べる。

1. 分離培養作業の統一化による菌分離効率と再現性向上

分離培養の作業の自動化は、人手による作業の削減を実現し、菌分離効率と再現性の向上が期待される。自動塗抹装置による分離培地への検体の画線塗抹は用手法に比べて画線の距離が長く、検体が分散しやすく、独立したコロニー数が多かったことが報告^{14~17)} されている。さらに技師間差がない画線塗抹によって再現性も向上する。

検査者はPC 端末から分離培地の画像を観察し、起炎菌が発育したと解釈した培地のみ取り出して検査を行うことによって作業量を削減でき、MALDI-TOF MSによる同定と組み合わせ、結果報告までの時間を短縮できることが報告^{17~21)} されている。さらに、発色色素含有培地(Chromogenic agar) 上の目的とする菌のコロニーの色調を人工知能によるアルゴリズムによって自動判別するソフトウェアを用いてメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA)^{22, 23)} や、バンコマイシン耐性エンテロコッカス(Vancomycin-resistant Enterococci: VRE)²⁴⁾ のような薬剤耐性菌、*Streptococcus pyogenes*²⁵⁾、*Streptococcus agalactiae*²⁶⁾、尿路感染症の主要起炎菌²⁷⁾ を効率良くかつ早く検出、

報告できる。薬剤耐性菌のスクリーニング目的で行われる積極的監視培養(ASC) は、最近、日常検査に占めるウェイトが増大傾向にあり、この作業も軽減できれば他の検査に人的資源を投入することができる。

2. 検査効率向上と生産性向上による結果報告時間短縮

微生物学的検査の工程の中で最も時間を要するのは、同定または薬剤感受性検査のために菌液作製と接種、次いで分離培養である²⁸⁾。統合型自動装置の導入によって、同定検査、薬剤感受性検査および分離培地の観察作業が減少したことが報告²⁹⁾ されている。作業の自動化によって人件費を抑えながら、より多くの検体処理が可能となることで生産性が向上した報告³⁰⁾ がある。しかし、米国などに比べて臨床検査技師の数が少なく、微生物検査室のスペースも狭い日本の現状では、大型の統合型自動装置は設置が難しく、自動塗抹装置のみのユニット単位の方が導入しやすいと考える。また、統合型自動装置の導入には高額な設備投資を要することから短期間では経済的な効果は期待できないが、長期的には人件費削減につながるものと考えている。

統合型自動装置の導入によって結果報告時間の短縮に関する報告がある。分離培養の作業を自動化することによって、検体到着から分離培養までの時間が短縮³¹⁾、培養から分離培地観察までの時間を早めることによる短縮³²⁾ が報告されている。しかし、分離培地観察までの時間は菌の増殖に依存し、増殖が早い腸内細菌目細菌に比べ、Gram 陽性球菌は分離培地観察の時間を早めたことによって菌検出率が低下した報告³³⁾ もあり、この工程の時間短縮は十分に検討する必要がある。他の工程における結果報告時間短縮にはMALDI-TOF MSと組み合わせた同定検査時間短縮、コロニーから釣菌、菌液作製と接種までを自動で行う方が有用³⁴⁾ と考える。

前項1と同様に、画一的な作業を装置に行わせることによって生み出された時間を、分離培地の観察、塗抹検査、結果の評価、感染制御活動に充てることで検査の質的向上が期待できると考える³⁵⁾。

3. 患者ケアへのメリット

患者のケアに対して微生物学的検査の自動化が貢

献できる部分は、検査の迅速化である。MALDI-TOF MSの導入は感染症患者の入院期間短縮や医療費削減に繋がることが報告^{36,37)}されている。血液培養陽性検体の検査に統合型自動装置とMALDI-TOF MSを組み合わせた使用によって結果報告時間が短縮し、血流感染症における初期治療期間の短縮と、30日死亡が減少したことが報告³⁸⁾されている。

4. 検査室の安全性向上

検査の自動化は検査室感染 (Laboratory-acquired infection: LAI) の防止に有用である。例えば、自動塗抹装置の導入は検体に直接触れる機会を減少させ、さらに統合型自動装置の導入は分離培養後も菌と触れる機会の減少し、LAIの防止に役立つと考えられる。

5. MALDI-TOF MSの導入および検査の自動化に伴う課題

MALDI-TOF MSの導入には、装置が高額な点が課題であり、導入と引き換えに検査試薬や同定キットの購入中止が選択されることが聞かれる。MALDI-TOF MSによる同定は菌種によっては従来の表現型による検査が鑑別に必要な場合がある³⁹⁾。統合型自動装置の導入前に考えなければならない事項として、装置の設置スペースの確保とトラブルシューティング、装置ダウン対策としての用手法による検査の維持、微生物検査技師に対する訓練と配置の変更、性能の妥当性検証の方法、保守管理の頻度、装置導入に関わる経済性や人件費節約の効果測定があげられている¹³⁾。日本では、設置スペースと経済性が装置導入に関わる最も重要な因子と考えられる。

MALDI-TOF MS、自動塗抹装置や統合型自動装置は、将来にわたり普及が進むと予想されるが、相反するように微生物検査技師の微生物に関する知識や検査技術の能力低下が危惧されるように思われる。分離培地上のコロニーを観察、Gram染色を行って菌種を推定し、起炎微生物かどうかを判断し、以後の検査の方向性を決定する工程は、自動化に関わらず微生物検査技師の能力に依存する。検査の自動化においては、PC画像による分離培地上のコロニーを観察する能力と、装置とシステムを操作する能力も求められる^{40,41)}。

検査の自動化によって手作業から解放された分、

分離培地の観察と結果の解釈に時間をかけ、感染症の疫学、患者情報、検体情報、検体のGram染色による塗抹検査所見、分離培地の所見 (同時検出菌の有無)、推定または同定した菌種の臨床的意義をもとに起炎性を分析し、結果へ反映することによって検査の質が向上するものと考えられる^{35,41)}。

したがって、微生物検査技師の教育、訓練は、検査体制の変更に合わせて変えていかなければならない。

6. 機械学習、人工知能の検査への期待

人工知能の技術は統合型自動装置に導入され、尿検査においてその威力が報告されている。分離培地の画像解析から培養陰性と自動判定された検体は、検査者による確認を経ずに処理でき、さらなる省力化が期待できる。微生物検査技師は培養陽性検体に、より多くの時間をかけることができる。このことは、検体や検査に優先度をつけることへと発展させることができる。すなわち、微生物検査技師は塗抹標本や分離培地の所見の解釈、同定検査や薬剤感受性検査の結果の解釈などのより高度なスキルを要する作業に時間を充てることが期待される^{35,42)}。

塗抹検査への人工知能の導入も既に始まっている。塗抹染色標本を自動スキャンし画像解析するシステムが実用化されている。喀痰のオーラミン染色標本による抗酸菌の検出は、人手による鏡検より感度が高かったことが報告⁴³⁾されている。血液培養陽性ボトル内容液のGram染色標本の分析は感度98%、特異度75%であったことが報告⁴⁴⁾されている。

顕微鏡画像や分離培地のコロニー画像のデジタルデータは、微生物検査室内の利用にとどまらない。国の内外を問わず、他の医療機関の微生物検査室や専門機関と連携し、データの分析や結果の妥当性をディスカッションするような遠隔支援システムとして発展させることも期待される⁴⁵⁾。

IV. 今すぐできる検査の迅速化と血液培養検査の24時間対応

検査の迅速化は微生物学的検査に求められている継続的な課題である。免疫血清学的な原理による迅速抗原検査、酵素反応を原理とする同定検査キット、同定・薬剤感受性検査装置による感受性の迅速判定、

PCR法を中心とした核酸増幅検査などの検査技術の進歩は、検査の迅速化にそれぞれ貢献している。

しかし、以前から迅速検査として位置づけられている塗抹検査は、その長所が十分に活かされていないことは先述のとおりである。検体のGram染色から得られる情報を感染症の診断や初期治療の方針決定に役立てられるよう、もう一度見直すべきである。Gram染色性と形態から推定した菌種を報告するには、培養検査結果とどの程度一致しているか、データを収集し自施設のエビデンス^{46,47)}として医師へ提供すべきである。

血流感染症の診断的検査としての血液培養検査の意義を見直すべきである。血液培養の自動検査装置が多くの微生物検査室で使用されており、装置はボトル内の菌の増殖をモニタリングしている。血液検査の24時間対応と同様、菌発育陽性検体の検査は24時間体制で行うべきである。夜間、休日に菌発育陽性検体の検査をどこまで行うかは、それぞれの医療機関の診療体制に応じて決める必要がある。陽性検体のGram染色結果を当直医へ連絡するには、医師がその患者の所属する診療科でなくても、その患者に使用されている抗菌薬をストレスなく評価できるような準備が必要である。例えば、菌種別に推奨される抗菌薬と投与スケジュールのガイドや、アンチバイオグラムを携帯できるように準備しておく^{48,49)}。

検査室側は微生物検査担当技師でなくてもGram染色、分離培養、薬剤感受性検査が、血液検査と並行して実施できるように準備する。特に、Gram染色と結果報告は微生物検査担当技師以外にとって、不安や負担とを感じる技師が多い。検査の教育・訓練を行って検査担当の可否を評価し、技師のスキルを管理する必要がある⁴⁾。さらに、検査室には代表的なGram染色写真のアトラスも常備し、万一に備えた微生物検査担当技師への電話連絡用ホットラインを準備する。Gram染色結果と培養検査がどの程度一致しているか定期的にフィードバックする。Gram染色に対する負荷を減らし安定した染色を行うには、染色装置⁵⁰⁾の導入も有用である。分離培地や薬剤感受性検査の抗菌薬はGram所見によって選択するのではなく単一セットする。以上のような準備を行うことで医師の血液培養検査に対する信頼度が高まり、その結果、血流感染症治療の質的向上が図られると考える^{48,49)}。

V. ウイルス感染症を中心とした遺伝子検査のルーチン化

一般の臨床検査室で可能なウイルス感染症の病原体検査は、イムノクロマト法を中心とした迅速抗原検査である。ウイルスを対象とした核酸増幅検査は、B型およびC型肝炎ウイルス、HIV、ノロウイルス、呼吸器ウイルスなど一部が検査可能であるが、多くの検査室には核酸増幅装置がなく、外部委託検査に頼っていた。

2019年末からパンデミックとなった新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の診断的検査は、RT-PCR法を中心とした核酸増幅検査である。2020年からCOVID-19の病原ウイルスであるSARS-CoV-2の核酸増幅検査が急速に普及した。

現在、感染症関連の遺伝学的検査は、保険収載されている項目が少ないが、COVID-19収束または終息後に向け、この機会に導入した装置を利用した遺伝子検査のルーチン化を準備すべきである。遺伝子検査は病原体の検出以外に感染制御の場面、例えば毒素遺伝子や薬剤耐性遺伝子の同定、院内伝播経路の分析にも活用する。遺伝子検査装置はマルチタスクの状況にある臨床検査技師がストレスなく能率良く検査を行うためにフル全自動の装置が受け入れられやすいと考える。

感染症関連の遺伝子検査のルーチン化を機会に、迅速抗原検査や寄生虫の検査も全て微生物検査室へ統合することを提案する。

VI. 感染制御活動と日常業務の両立

医療技術の進歩に相反して、易感染患者の増加に伴う日和見感染症の増加と薬剤耐性菌の出現に対し、感染制御の充実が非常に大きな役割を担っている。感染症診療や医療関連感染(病院感染)の防止に微生物検査室が果たす役割は大きい。微生物検査技師はICTへ参加し、アウトブレイクや薬剤耐性菌の検知を目的に行われているサーベイランスのためのデータを提供する⁵¹⁾。ICTによる診療現場のラウンドでは微生物と検査の専門家としての視点を養わなければならない。

ASTへ参加し、感染症診療のガイドと抗菌薬適

正使用の評価に使用されるアンチバイオグラムデータを定期的に提供する。

以上の活動の効果をさらにアップさせるには、他職種と有機的なつながりを持ち、データを関連付けて評価する必要がある。例えば、標準予防策と接触感染予防策の実施状況と効果を評価するには、手指消毒薬やグローブなどの個人防護具 (Personal Protective Equipment: PPE) の使用量をプロセス指標とし、MRSA の院内新規陽性患者数をアウトカム指標としてモニターする。手指消毒薬やグローブの使用量と MRSA 院内新規陽性患者数は、負の相関関係にあることが報告されている^{52, 53)}。

抗菌薬の適正使用に関する指標として、抗菌薬使用量 (AUD、DOT) をプロセス指標、薬剤耐性菌の分離割合をアウトカム指標としてモニターする。例えば、緑膿菌は入院患者から多く検出され、医療機関ごとの抗緑膿菌薬使用の状況によって薬剤感受性が変化しやすいことが知られている。そこで、カルバペネム系薬の使用量とカルバペネム系薬耐性率をモニターする。カルバペネム系薬の使用量が増加し、緑膿菌に対するカルバペネム系薬の耐性率も上昇傾向が観察される場合は、使用すべき患者に十分な量が投与されているか、不必要な患者への投与がないか、長期間投与されている患者がいるかをみる。全国レベルのサーベイランスである厚生労働省院内感染対策サーベイランス (JANIS)⁵⁴⁾ や感染対策連携共通プラットフォーム (J-SIPHE)⁵⁵⁾ へ参加し、自施設のレベルを確認、または連携医療機関や地域におけるデータ分析に積極的に関与すべきである。

VII. 微生物学的検査の教育と評価の実施、研究心の育成

臨床検査の質を維持するには、臨床検査技師に対する教育と評価が必須である。このことは臨床検査室の国際規格である ISO 15189 でも要求されている⁴⁾。したがって、全ての技師に教育目標とスケジュールからなる教育をプログラムとして提供し、指導者と共に訓練する。訓練後は目標に対する到達度を評価し、一定以上の評価の場合に該当する検査業務の担当を許可する。

微生物学的検査では、病原体や患者検体の安全な取り扱いのための基本技術を身に付けることが必須

である。基本技術の習得後に各検査の教育と訓練を行う。先述の MALDI-TOF MS による同定検査や、網羅的な核酸増幅検査システムの普及が進むことは、微生物の感染症の疫学、臨床的意義、Gram 染色による形態、分離培地上のコロニーの特徴、同定のためのキーとなる性状、薬剤感受性などに習熟していなければ、検査結果の妥当性を評価できない。特に、現在の日本では分離が稀、または土着していない高病原性の微生物、例えば *Bacillus anthracis*、*Neisseria meningitidis*、*Shigella* spp.、*Vibrio cholerae* 等の医学的に重要な菌種を患者検体中から確実に検出するために依然必要である。この点でも、現在の教育方法を検査方法に合わせて見直すべきである。

臨床検査技師はもっと研究に取り組むべきである。研究のテーマは常に日常の検査業務の中にある。疑問に感じたことや分からないことの中に新たな発見が潜んでいる。検査法の改善が見込めるアイデアがあっても確かめる技術がない、または実現困難な場合は書き留めておく。近い将来、技術が進歩してきた際に、そのアイデアを生かすことができる可能性がある。

おわりに

2030 年を目標に臨床微生物学的検査の近未来展望を述べた。

質量分析法による検査、自動化、遺伝子検査、人工知能への期待は大きい。しかし、検査の土台である微生物に関する知識と基本的な検査技術の価値は将来も失われることはない。塗抹検査や培養検査は将来においても日常検査に必須である。検査の統一化、標準化、迅速化に関する課題の中で、新しい技術に頼らなくてもよい部分は医師と協力して改善に向けて努力する。このためには専門学会の活動に組み入れることを提案したい。

筆者は日本の微生物学的検査の技術は、世界のトップレベルにあると自負している。検査法の改良や研究の成果を日本から世界へ発信する時代に入っていると考える。

文 献

- 1) 一般社団法人日本感染症学会(編集). III. 診断, A. 臨床微生物. 感染症専門医テキスト 第I部解説編(改訂第2版). 東

- 京：一般社団法人日本感染症学会；2017. 35-51.
- 2) 三澤成毅. 1. 感染症診断における微生物検査, (1) 起炎微生物の診断的検査法. 臨床微生物基本検査テキスト. 通信(臨時増刊第11号), 東京：公益社団法人日本臨床検査同学院；2022. 1-4.
 - 3) 三澤成毅. 1. 感染症診断における微生物検査, (2) 標準的微生物学的検査法. 臨床微生物基本検査テキスト. 通信(臨時増刊第11号), 東京：公益社団法人日本臨床検査同学院；2022. 5-18.
 - 4) 三澤成毅. ISO 15189取得簡易マニュアル. 技術的要求事項と検査室の整備：微生物検査部門 微生物検査部門が準備すべきこと. 臨床検査. 2017; **61** (5): 623-633.
 - 5) 小栗豊子. III. 感染症診療に貢献できる臨床検査技師を目指して. モダンメディア. 2018; **64** (5) : 109-119.
 - 6) 小栗豊子, 三澤成毅, 西山宏幸. IV. 検査材料別検査法と検出菌. 臨床微生物検査ハンドブック, 第5版(編集 小栗豊子), 東京：三輪書店；2018. 49-108.
 - 7) 検査法マニュアル作成委員会・血液培養検査ガイド作業部会：第1章 血液培養検査の意義と目的. 血液培養検査ガイド. 日臨微誌. 2013; **23**(Suppl 1): 15-21.
 - 8) 検査法マニュアル作成委員会・嫌気性菌検査ガイドライン委員会：第III章 嫌気性菌感染症診断のための検査. 嫌気性菌検査ガイドライン2012. 日臨微誌. 2012; **22**(Suppl 1): 9-13.
 - 9) 検査法ガイド等作成委員会 検体採取・輸送・保存方法およびPOCT検査法ガイド作業部会：第II章 各論(各種検体の採取・輸送・保存). 検体採取・輸送・保存方法およびPOCT検査法ガイド. 日臨微誌. 2022; **32**(Suppl 2): 9-13.
 - 10) Chan WW. 3.2.1 Gram stain. In Leber AL, editor in chief. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 4th ed. Washington DC: ASM Press; 2016. p. 3.2.1.1-3.2.1.21.
 - 11) Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). Clin Infect Dis. 2018; **67**: e1-e94.
 - 12) Musgrove MA, Kenney RM, Kendall RE, et al. Microbiology comment nudge improve pneumonia prescribing. Open Forum Infect Dis. 2018; DOI: 10.1093/ofid/ofy162
 - 13) Antonios K, Croxatto A, Cullbreath K. Current state of laboratory automation in clinical microbiology laboratory. Clin Chem. 2022; **68** (1): 99-114.
 - 14) Quiblier C, Jetter M, Rominski M, et al. Performance of Copan WASP for routine urine microbiology. J Clin Microbiol. 2016; **54**(3): 585-592.
 - 15) Choi Q, Kim HJ, Kim JW et al. Manual versus automated streaking system in clinical microbiology laboratory: Performance evaluation of Previ Isora for blood culture and body fluid samples. J Clin Lab Anal. 2018 **32**: e22373.
 - 16) Cheng CWR, Ong CH, Chan DSG. Impact of BD Kiestra Inoqula streaking patterns on colony isolation and turnaround time of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* surveillance samples. Clin Microbiol Infect. 2020; **26**: 1201-1206.
 - 17) Croxatto A, Dijkstra K, Prod' hom G, et al. Comparison of inoculation with the Inoqula and WASP automated systems with manual inoculation. J Clin Microbiol. 2015; **53** (7): 2298-2307.
 - 18) Mutters NT, Hodiament CJ, de Jong MD, et al. Performance of Kiestra total laboratory automation combined with MS in clinical microbiology practice. Ann Lab Med. 2014 **34**: 111-117.
 - 19) Glasson J, Hill R, Summerford M, et al. Multicenter evaluation of an image analysis device (APAS): Comparison between digital image and traditional plate reading using urine analysis. Ann Lab Med. 2017; **37**: 499-504.
 - 20) Theparee T, Das S, Thompson RB. Total laboratory automation and matrix-assisted laser desorption-time of flight mass spectrometry improve turnaround times in the clinical microbiology laboratory: a Retrospective analysis. J Clin Microbiol. 2018; **56**(1): e01242-17.
 - 21) Bruckhardt I, Last K, Zimmermann S. Shorter incubation time for detecting multi-drug resistant bacteria in patient samples: Defining early imaging time points using growth kinetics and total laboratory automation. Ann Lab Med. 2019 **39**: 43-49.
 - 22) Faron ML, Buchan BW, Vismara C, et al. Automated scoring chromogenic media for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by use of WASPLab image analysis software. J Clin Microbiol. 2016; **54**(3): 620-624.
 - 23) Bruckhardt I, Horner S, Bruckhardt F, et al. Detection of MRSA in nasal swabs-marked reduction of time to report for negative reports by substituting classical manual workflow with total lab automation. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2018; **37**: 1745-1751.
 - 24) Faron ML, Buchan BW, Coon C, et al. Automatic digital analysis of chromogenic media for vancomycin-resistant *Enterococcus* screens using Copan WASPLab. J Clin Microbiol. 2016; **54**(10): 2464-2469.
 - 25) Van TM, Mata K, Bard JD. Automated detection of *Streptococcus pyogenes* pharyngitis by use of Colorex Strep A CHROMagar and WASPLab artificial intelligence chromogenic detection module software. J Clin Microbiol. 2019; **57**(11): e00811-19.
 - 26) Baker J, Timm K, Faron M et al. Digital image analysis for the detection of group B *Streptococcus* from ChromID Strep B medium using PhenoMatrix algorithms. J Clin Microbiol. 2021; **59**(1): e01902-19.
 - 27) Faron ML, Buchan BW, Samra H. Evaluation of WASPLab software to automatically read chromID CPS Elite agar for reporting of urine cultures. J Clin Microbiol. 2020; **58** (1): e00540-19.
 - 28) Dauwalder O, Landrieu L, Laurent F et al. Does bacteriology laboratory automation reduce time to results and increase quality management? Clin Microbiol Infect. 2016; **22**: 236-243.
 - 29) Croxatto A, Prod' hom G, Faverjon F et al. Laboratory automation in clinical bacteriology: what system to choose?

- Clin Microbiol Infect. 2016; **22**: 217-235.
- 30) Cullbreath K, Piwonka H, Korver J et al. Benefits derived from full laboratory automation in microbiology: a Tale of four laboratories. J Clin Microbiol. 2021; **59**(3): e01969-20.
 - 31) Yarbrough ML, Lainhart W, McMullen AR, et al. Impact of total laboratory automation on workflow and specimen processing time for culture of urine specimens. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2018; **37**: 2405-2411.
 - 32) Graham M, Tilson L, Streitberg R et al. Improved standardization and potential for shortened time to results with BD Kiestra™ total laboratory automation of early urine cultures: A prospective comparison with manual processing. Diagn Microbiol Infect Dis. 2016 **86**: 1-4.
 - 33) Bailey A, Burnham C-AD. Reducing the time between inoculation and first-read of urine cultures using total lab automation significantly reduces turn-around time of positive culture results with minimal loss of first-read sensitivity. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019; **38**: 1135-1141.
 - 34) Jacot D, Sarton-Lohéac G, Coste AT et al. Performance evaluation of Becton Dickinson Kiestra™ IdentifA/SusceptA. Clin Microbiol Infect. 2021; **27**: 1167.e9-1167.e17.
 - 35) Zimmermann S. Laboratory automation in the microbiology laboratory: an Ongoing journey, not a tale? J Clin Microbiol. 2021; **59**(3): e02592-20.
 - 36) Perez KK, Olsen RJ, Musick WL et al. Integrating rapid pathogen identification and antimicrobial stewardship significantly decrease hospital costs. Arch Pathol Lab Med. 2013; **137**: 1247-1254.
 - 37) Perez KK, Olsen RJ, Musick WL et al. Integrating rapid diagnostics and antimicrobial stewardship improves outcomes in patients with antibiotic-resistant Gram-negative bacteremia. J Infect. 2014; **69**: 216-225.
 - 38) De Socio GV, Di Donato F, Paggi R, et al: Laboratory automation reduces time to report of blood cultures and improves management of patients with bloodstream infection. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2018; **37**: 2313-2322.
 - 39) MALDI-TOF MS検査ガイド作業部会 検査法ガイド等作成委員会. 第3章 菌種の同定における注意点. 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.
 - 40) Tompson RB, McElvania E. Total laboratory automation What is gained, what is lost, and who can afford it? Clin Lab Med. 2019; **39**: 371-389.
 - 41) Bailey AL, Ledebner N, Burnham C-AD. Clinical microbiology is growing up: The total laboratory automation revolution. Clin Chem. 2019; **65**(5): 634-643.
 - 42) Ford BA, McElvania E. Machine learning tasks laboratory automation to the next level. J Clin Microbiol. 2020; **58**(4): e00012-20.
 - 43) Horvath L, Hänselmann S, Mannsperger H et al. Machine-assisted interpretation of auramine attains substantially increases through-put and sensitivity of microscopic tuberculosis diagnosis. Tuberculosis. 2020; **125**: 101993.
 - 44) Smith KP, Kang AD, Kirby JE. Automated interpretation of blood culture Gram stains by use of a deep convolutional neural network. J Clin Microbiol. 2018; **56**(3): e01521-17.
 - 45) Egli A, Schrenzel J, Greub G. Digital microbiology. Clin Microbiol Infect. 2020; **26**: 1324-1331.
 - 46) 三澤成毅, 小栗豊子, 猪狩 淳. 細菌培養に用いる喀痰材料の品質チェック法—当院の現状と日常検査への応用について—. 日臨微誌. 1996; **6**(1): 32-39.
 - 47) Ranzani OT, Motos A, Chiurazzi C. Diagnostic accuracy of Gram staining when predicting staphylococcal hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: a systematic review and meta-analysis. Clin Microbiol Infect. 2020; **26**: 1456-1463.
 - 48) 川上剛明, 荒井ひろみ, 大木まゆみ, 他. 血液培養検査の24時間対応による診療支援. 医学検査. 2012; **61**(3): 523-528.
 - 49) Nishiyama M, Osawa K, Nakamura A et al. The 24-h reporting of Gram stains from positive blood cultures contributes to physician's use of appropriate antimicrobials: Experience at a university hospital. J Infect Chemother. 2022; **28**: 836-839.
 - 50) Froböse NJ, Bjedov S, Schuler F, et al. Gram staining: a comparison of two automated systems and manual staining. J Clin Microbiol. 2020; **58**(12): e01914-20.
 - 51) 三澤成毅. IV. 感染症サーベイランス. 2. 多剤耐性菌サーベイランスの実態とその情報活用. 厚生労働省委託事業平成30年院内感染対策講習会テキスト. 東京: 一般社団法人日本感染症学会; 70-73.
 - 52) Matsumoto K, Shigemi A, Yaji K, et al. Reduction in the incidence of MRSA with use of alcohol-based hand rub solutions and gloves. J Infect Chemother. 2012; **18**: 269-271.
 - 53) Ohkushi D, Uehara Y, Iwamoto A, et al. An effective active surveillance method for controlling nosocomial MRSA transmission in a Japanese hospital. J Infect Chemother. 2013; **19**: 871-875.
 - 54) 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業ホームページ
<https://janis.mhlw.go.jp/>(引用2022/6/22)
 - 55) 感染対策連携共通プラットフォームホームページ
<https://j-siphe.ncgm.go.jp/>(引用2022/6/22)