

血液培養

— 採血から培養結果の解釈まで —

岡崎 充宏, 福川 陽子

杏林大学医学部付属病院臨床検査部：東京都三鷹市新川 6-20-2 (〒 181-8611)

Key Words 血液培養, 採血, 2セット採血, 検出菌, 培養時間, 有意性, 汚染

はじめに

微生物検査において喀痰や尿などの臨床検体の適正な採取は、臨床現場の医療スタッフや患者に依存している。血液培養検査では血流感染 / 敗血症が疑われる患者から採血を行うが、採血部位である皮膚の常在菌による汚染に十分な注意を払わなければ、患者の診断および治療に影響を与えることになりかねない。したがって、採血者は血液培養検査のための正しい検体採取の方法を熟知し、十分な訓練を受けていることが望ましい。また、血液培養検査から得られた結果の解釈も重要であり、その解釈に至るまでの多くの判断には微生物学的背景の知識も必要とされる。

本稿では、血液培養検査における検体の採血から検出菌の臨床的な解釈までの一連のプロセスについて解説する。なお、血液培養検査における感染性心内膜炎などの臨床的疾患との関連性は他書¹⁾にわかりやすく解説されているので本稿では割愛する。

血液培養の一般的な知識

血流感染 / 敗血症が疑われる患者では、血液培養検査が必須である。血液培養検査を実施すべき患者の臨床症状として、以下のことが考えられる¹⁾。

- ・原因不明熱 > 38℃または< 36℃ (低体温：院内で敗血症の症状として最も多い)

- ・原因不明の意識障害
- ・循環障害 (低血圧または血圧上昇)
- ・代謝性アシドーシス
- ・白血球の異常高値と低値
- ・麻痺などの脳血管障害の出現
- ・ショック, 悪寒戦慄, 硬直
- ・異常な心拍数の上昇
- ・重症局所感染 (髄膜炎, 心内膜炎, 肺炎, 腎盂腎炎, 腹腔内膿瘍など)
- ・呼吸促進

1. 採血のタイミング

採血のタイミングは、効果的に起因菌を検出するうえで重要である。

<ポイント>

- ・原則として、抗菌薬を投与する前に採血を行う。投薬中の場合には血中濃度の低い、次回の抗菌薬投与直前に採血を行う (抗菌薬を投与された後での採血においては、抗菌薬吸着剤入りボトルが市販されている)。
- ・心内膜炎およびカテーテル関連感染が疑われる症例における血流感染は持続性があり、1～2時間毎に採血を行う。
- ・通常の血流感染 / 敗血症が疑われる患者では血流感染は間欠的であり、短時間あるいは同時に2セット以上の複数回採血を行う (1セット採血を終えたら別の部位から採血を行う)。

2. 複数回採血

複数回採血には、採血を同時時間帯で異なる採血部位から2セット以上行う場合と時間差で数回にわたり行う場合とがある。欧米において特定の疾患では、時間差で4セット採血が行われている。

Leeら²⁾は、自動血液培養装置を用いて、菌血症/真菌血症の主要な菌を対象に24時間順次採血した血液培養の累積感度の調査を報告した。その検出感度は最初の1セットでは73.2%、2セット累積では93.9%、3セット累積では96.9%であり、99%以上の感度を得るためには4セット採血が必要であろうと述べている(図1)。本邦では血液培養を複数回採血で行った場合の費用は診療報酬に加算されない可能性が高く、現状では病院の負担となっていると思われる。このことが、複数回採血の日常診療への普及を遅延させている原因の一つである。今後、複数回採血の有用性がさらに認識され、少なくとも2セット採血までは加算されることを期待したい。

3. 動脈血および静脈血での検出感度の差

採血は、一昔前には動脈血から行われていたが、今日では菌の検出感度において動脈血および静脈血で有意差はないと言われている³⁾。

<ポイント>

- ・動脈血採血は時間がかかり、採血しづらく、患者および臨床医双方の負担となることがある。それよりも、短時間に複数回採血を行う方が有益である。また、汚染菌の混入を避けるための無菌処置の観点からも静脈血採血が有用である。

4. 採血量による菌の検出感度の違い

血流感染/敗血症の起因菌の検出感度を上げる最も効果的な方法の一つは、十分量を採血することである。成人の場合は1セットあたり好気および嫌気ボトル各10mLの血液を採取する。また、2セット以上の複数回採血も、検出感度の上昇に寄与する²⁾(図1)。

Weinstein et al. Detection of Bloodstream Infections in Adults : How Many Blood Cultures Are Needed J Clin Microbiol. 2007 : 45 : 3546-3548

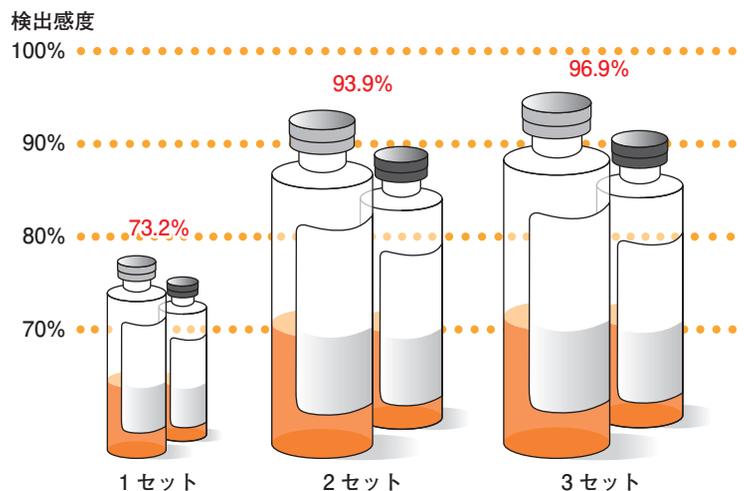


図1. 血液培養セットの累積感度(シスメックス・バイオメリュース社「血液培養 血液感染症診断のための重要な検査」より引用)

<ポイント>

- ・採血量：理想的には、成人の場合1セット当たり20mLの血液を採取し、小児では1本のボトル（小児用ボトル）を使用し、採血量は患児の体重に応じて決定する（表1）。一般的に、小児においては嫌気性菌による血流感染/敗血症は極めて低いため、嫌気性菌用ボトルは使用されない。
- ・ボトルあたりの採血量が規定量より多いと培地成分が希釈され、菌の発育が抑制される。また、血液中の補体成分などの殺菌成分により、菌の発育が抑制される。
- ・複数回採血：小児においても可能であれば複数回がよい。
- ・グラム染色：髄液や喀痰の検査と同様に、採血直後のグラム染色結果について、よく臨床医から問い合わせを受けるが、ボトル内にグラム染色で確認できるほどの菌量は存在しないことを臨床に伝え、

通常はグラム染色は行われ（一般的に菌血症/真菌血症の多くの症例では、血液1mL中に存在する菌量は1CFU未満である）。

5. 血液培養ボトルの培養時間

自動機器を用いての標準的な培養時間は5日間であるが、当院では7日間行っている。臨床上有意な微生物の95～97%は、3日以内に検出が可能であると考えられているが（表2）、近年、学会などで報告されている *Helicobacter cinaedi* の培養時間は、7日間が好ましい。また、これまで、心内膜炎の起因菌となり得る栄養要求性の厳しい微生物である HACEK グループ (*Haemophilus* spp., *Actinobacillus* spp., *Cardiobacterium* spp., *Eikenella* spp., *Kingella* spp.), ブルセラ属, カプトサイトファーガ属, カンピロバクター属の検出には、培養期間の延長が推奨されてきたが、いくつかの論文は延長を行う必要性はないと報告している³⁻⁵⁾。

表1. 乳幼児・小児からの血液培養のための推奨採取血液量（「CUMITECH 血液培養検査ガイドライン」より引用）

患児の体重 (kg)	全血量 (mL)	推奨血液培養量 (mL)		全血液培養量 (mL)	全血液量に対する割合 (%)
		培養1回目	培養2回目		
1以下	50~99	2		2	4
1.1~2	100~200	2	2	4	4
2.1~12.7	200以上	4	2	6	3
12.8~36.3	800以上	10	10	20	2.5
36.3以上	2,200以上	20~30	20~30	40~60	1.8~2.7

表2. 血液培養ボトルからの検出菌と検出日数（「西山宏幸, 鈴木智一. Medical Technology. 2006 ; 34 (5) : 471 表1」を引用）

菌種	陽性件数	検出までの日数							
		1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,026	860	110	30	9	7	7	3	
<i>Escherichia coli</i>	394	343	25	11	4	3	6	2	
<i>Klebsiella</i> spp.	266	236	9	10	6	4		1	
<i>Enterococcus</i> spp.	255	199	46	6	2		2		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	119	118	1						
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	109	88	15	3	2	1			
Streptococci, beta hemolytic	108	106	2						
<i>Enterobacter</i> spp.	95	80	8	3	2	1			
<i>Candida</i> spp.	88	18	36	21	4	4	2	3	1
<i>Serratia</i> spp.	45	39	2	2	2				
<i>Proteus mirabilis</i>	39	36	3	1					
<i>Clostridium</i> spp.	30	24	1			1	3		
その他	229	123	49	11	23	13	4	6	
合計	2,803	2,270	307	98	54	34	24	15	1

(Reisner BS, Woods GL. J Clin Microbiol. 1999 ; 37 (6) : 2025 TABLE 1を一部改変)

採血方法

採血の手技は、血液培養検査の結果の解釈において、大きな影響を与える。すなわち、以下に述べる消毒および採血を正しく実施することは、汚染菌の混入を防止し、汚染率の低下に最も効果的である。

1. 準備

1) 血液培養ボトルを用意する。

2. 消毒

1) ボトルの検体刺入部位（ゴム栓部分）を消毒用アルコールで消毒する。

<ポイント>

・多くの臨床医や看護師は、この部分が未滅菌であることを認識していない。

2) 採血部位を消毒用アルコールで30秒消毒後、10%ポピドンヨードで採血部位を中心に同心円ないし渦巻状を描きながら、広範囲に塗布し2分間の自然乾燥を行う（この時間は目安である）。

<ポイント>

- ・採血部位の汚れがひどい場合には、流水による洗浄や酒精綿などでしっかりと汚れを落とす（ボトル内への汚染菌の混入が極めて低くなる）。
- ・必ず消毒薬が乾燥したことを確認する（約2分以上放置：消毒薬の接触時間により消毒効果が得られる）。ポピドンヨードに過敏な皮膚の場合には、0.5%のグルコン酸クロルヘキシジンを使用（ハイポアルコールは使用しない）、または消毒用アルコールで2回消毒する。
- ・点滴が入っている四肢からの採血では、点滴の入っている部位の末梢から採血を行う¹⁾。

3) 採血手技者は必ず手洗いまたはアルコール系の擦式手指消毒で消毒し、手袋を着用する。

3. 採血

1) 最初に嫌気性菌用ボトルに入れる（採血した

シリンジ内の空気の混入を防止するためである）。

<ポイント>

- ・採血部位の消毒後に血管を触診しない。
- ・血管の穿刺に失敗した場合には、針およびシリンジ共に新しいものと交換する。
- ・採血後、リキャップはしない（針刺し事故の防止のため）。

2) 採血したボトルは静かに混和する。

3) 採血したボトルは直ちに検査室に提出する。検査室に届けられない場合には室温で一時保存する（各メーカーの推奨方法に準拠すること）。

検出菌の臨床的意義の判断

血液培養から検出された菌が同定され、それが肺炎球菌やチフス菌のように明らかに血流感染の起原菌として判断できる菌種であれば、担当医も悩むことなく治療を開始することができる。しかしながら、検出菌の90%以上が日和見病原体であり、中でも皮膚常在菌のひとつであるコアグラゼ陰性ブドウ球菌（CNS）の検出率はもっとも高く、汚染菌としての可能性が高い。本菌が検出された場合、臨床医には、患者の臨床的背景を考慮しながら検出菌が有意であるか否かの判断をすることが要求される。しかし現状では、臨床医が十分な経験を持っていても、血液培養由来菌の有意性を的確に判断するための手段は確立されていない。それを可能にするための良い手段の開発が期待される。

このような現状において、患者の臨床背景、検出菌の細菌学的な特徴および血液培養検査の結果などから検出菌の臨床的意義を判断するには、以下のように多くのポイントがある。ただし、これだけでは完全に確定することはできないことを書き留めておきたい。

<ポイント>

（有意性を示唆する所見）

- ・培養陽性となるまでの時間が、1～2日であった。
- ・複数回採血で陽性となったボトルの種類（好気、嫌気）と本数の確認において、異なる部位から採血し

たボトルのうち、好気性菌用ボトルまたは嫌気性菌用ボトルのいずれかすべてが陽性であった。

- ・再検査した血液培養から同一菌種が検出された。

(汚染を示唆する所見)

- ・プロピオニバクテリウム、バシラス、コリネバクテリウム、CNS および緑色レンサ球菌などの皮膚常在菌が、重度の血流感染の起因菌となることはほとんどない。ただし、患者がコンプロマイズドホストおよび血管留置カテーテルを使用している状況下では起因菌となり得るが、血液培養4本中1本のみで検出された場合は有意性に乏しい。
- ・培養陽性となるまでに時間がかかった(汚染菌の混入は極めて少数のため検出されるレベルまで増殖するのに時間を要する)。
- ・複数の菌種が検出された。
- ・本来、感染巣と考えられた臓器および部位からの検出菌種と異なる。

検査室からの迅速な情報

血流感染/敗血症が疑われる患者には、迅速かつ適正な抗菌薬による治療が要求される。そのために、検査室は迅速に以下の行動をとり、検査結果を報告する。

- 1) 培養が陽性となった場合には、直ちにグラム染色を行う

その際に、臨床医は報告を受けた情報からどの抗菌薬を使用するかを考えるであろう。あるいは、すでに使用していて、その選択で良いのか否かを判断するであろう。したがって、グラム染色の結果を報告するときに、その所見から推定できる範囲で菌名をある程度詳しく報告できると良い。例えば、グラム陽性球菌であれば、ブドウ球菌またはレンサ球菌(長いレンサ状であれば *viridans streptococci*)、グラム陰性桿菌であれば、大腸菌群または緑膿菌の可能性などである。また、汚染菌である可能性の高いプロピオニバクテリウム、バシラスおよびコリネバクテリウムなどはその形態から推定同定が可能である。

- 2) 培養が陽性となった血液培養ボトルにおけるガスの発生や溶血を観察し、推定同定を行う

例えば、グラム陰性桿菌;ガス(+)では大腸菌群を、グラム陽性レンサ球菌;溶血(+)では肺炎球菌(尿中の肺炎球菌抗原検査と結果を照合)、A群、B群、G群レンサ球菌を、グラム陽性桿菌;ガス(+) ;溶血(+)ではクロストリジウム(嫌気性菌用ボトルのみ陽性)を疑うことが可能である。以上に示した例は、数多くあるうちの一例である。

- 3) 他の臨床材料の培地上での菌の発育を確認する

感染源の特定のため、他の臨床材料も同日に提出されているケースが多く、血液培養からのグラム染色の所見と合わせれば、かなり詳細な推定同定が可能である。

- 4) 血液培養ボトルから培養液を抜き取り、抗菌薬感受性試験を直接法で行う

患者に投与されている抗菌薬の種類およびこれから選択するであろう抗菌薬を臨床医から聞き出して行う。本検査は最終確定の結果とならないが、参考となる。朝一番に実施すれば、早ければその日の夕刻には判定できる程度まで発育していることがある。また、翌日判定であっても通常の判定よりも1日早い推定結果となるであろう。ただし、必ず、通常の方法でも感受性試験を行う必要がある。

適正な抗菌薬の使用推進および院内感染防止

臨床医に検査結果を有効活用し、適正な抗菌薬投与を行ってもらうために、検査室は、Infection Control Team (ICT) との連携を図ると共に、検出菌種の集計を常日頃より行っておくことが重要である。

- ・血液培養の採血後、多くの症例において直ちに経験的な抗菌薬投与が行われている。その後、血液培養が陽性となった場合、そのボトルからのグラム染色により、推定された菌に対して、投与抗菌薬が適正であるか否かを ICT の臨床医と相談できる流れが構築されていると良い。もし不適正であれば、直ち

に ICT 医師から患者の担当医に相談してもらう。このことは適正な抗菌薬の使用推進において重要である。

- ・ 日常業務として血液培養からの菌種を病棟毎や診療科毎に集計することは、これまでに報告されているセラチア菌、緑膿菌および MRSA などの院内流行の早期発見に寄与できる。これらは院内感染防止の意味で極めて重要な業務の一つである。

おわりに

血液培養検査に関する一般的な解説をした。本検査は微生物検査のなかでも最重要検査の一つであるということは周知のとおりである。そのため、多くの施設が少なくとも培養陽性となった時点で、直ちにグラム染色の結果報告および分離培養を行っているが、可能であれば休日および夜間を問わず、常に報告できる体制が望まれている。

参考文献

- 1) 青木 眞. レジデントのための感染症診療マニュアル. 第2版. 東京: 医学書院; 2008. 586-647, 1293-1316.
- 2) Lee A et al. Detection of Bloodstream Infections in Adults : How Many Blood Cultures are Needed ? J Clin Microbiol. 2007 ; 45 (11) : 3546-3548.
- 3) Baron EJ et al. Cumitech 1C, Blood Cultures IV. Washington D.C. : ASM Press ; 2005. 32p.
- 4) Weinstein MP. Emerging Data Indicating That Extended Incubation of Blood Cultures has Little Clinical Value. Clin Infect Dis. 2005 ; 41 (11) : 1681-1682.
- 5) Petti CA et al. Utility Extended Blood Culture Incubation for Isolation of *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, and *Kingella* Organisms : a Retrospective Multicenter Evaluation. J Clin Microbiol. 2006 ; 44 (1) : 257-259.

Blood Culture - From the Blood Collection to the Interpretation of Result -

Mitsuhiro OKAZAKI and Yoko FUKUGAWA

Laboratory Medicine, Kyorin University Hospital, 6-20-2 Shinkawa, Mitaka-shi, Tokyo 181-8611

Key Words

Blood Culture, Blood Collection, Two Sets of Blood Collection for Culture, Isolated Bacterium, Incubation Time, Significance, Contamination