

コーディネーター：河村佳江<sup>1)</sup>，蔵前仁<sup>2)</sup>，飛田征男<sup>3)</sup>，河内誠<sup>4)</sup>，西尾美津留<sup>5)</sup>，米玉利準<sup>6)</sup>  
新川晶子<sup>7)</sup>，中河竜也<sup>8)</sup>，中村雅彦<sup>9)</sup>，川端直樹<sup>10)</sup>，久田恭子<sup>3)</sup>

金沢医科大学病院 中央臨床検査部<sup>1)</sup>，刈谷豊田総合病院 臨床検査・病理技術科<sup>2)</sup>  
福井大学医学部附属病院 検査部<sup>3)</sup>，JA愛知厚生連江南厚生病院 臨床検査技術科<sup>4)</sup>  
小牧市民病院 臨床検査科<sup>5)</sup>，岐阜大学病院 検査部<sup>6)</sup>  
石川県立高松病院 検査科<sup>7)</sup>，富山厚生農業共同組合連合会高岡病院 臨床検査部<sup>8)</sup>  
富山県立中央病院 臨床検査部<sup>9)</sup>，市立敦賀病院 医療技術部 検査室<sup>10)</sup>

### 微生物検査の基礎って何でしょうか？

「基礎とは？」「基本とは？」インターネット辞書で調べると・・・。

- ✓基礎：ある物事を成り立たせる、大もとの部分。土台など。
  - ✓基本：判断、行動、方法のよりどころとなる大もと。基礎の上に基本が成り立つ。
- 例えば、読み書きが出来るが「基礎」、これができた上で公式などを覚え理解することが「基本」。

「微生物検査の基礎とは？」インターネット辞書の「基礎」を「微生物検査の基礎」に置き換えて考えると・・・。

- ✓微生物検査の基礎：微生物検査の土台となる基礎知識や技術。
- ✓微生物検査の基本：微生物検査の基礎知識・技術の上に基本（標準法）が成り立つ。  
基本（標準法）は応用して発展させることができる。

「一から見直す微生物検査～基礎編～」

日常的な微生物検査法について、「基礎」と「基本」を一から見つめなおしました。基礎的な知識や技術、国内で広く使用されている標準的な検査法、ピットホールなどを紙面が許す限り記載しています。

米国微生物学会American Society for Microbiology (ASM)の「Clinical Microbiology Procedures Handbook」は、材料ごとの基本的な検査法（採取から報告まで）が記載されています。日本国内においては、日本臨床微生物学会発行の各種ガイドラインがあります。これらガイドラインは基本（標準法）です。

標準法を理解して、日常検査にとりいれていますか？

先輩から受け継いだ検査法をそのまま使用していませんか？

この機会に、自施設の日常検査法を見つめなおして見ませんか？

“悩み解決の糸口になれば・・・”、“日常検査の向上に繋がるように・・・”と願い、ポスターを作製しました。  
本ワークショップコーディネーターが解説いたしますので、お気軽に声をかけてください。

### 本ワークショップで展開している分野

- |           |              |           |
|-----------|--------------|-----------|
| ①概要       | ⑤同定検査について    | ⑨精度管理について |
| ②検体採取について | ⑥薬剤感受性検査について |           |
| ③塗抹検査について | ⑦嫌気性菌検査について  |           |
| ④培養検査について | ⑧抗酸菌検査について   |           |

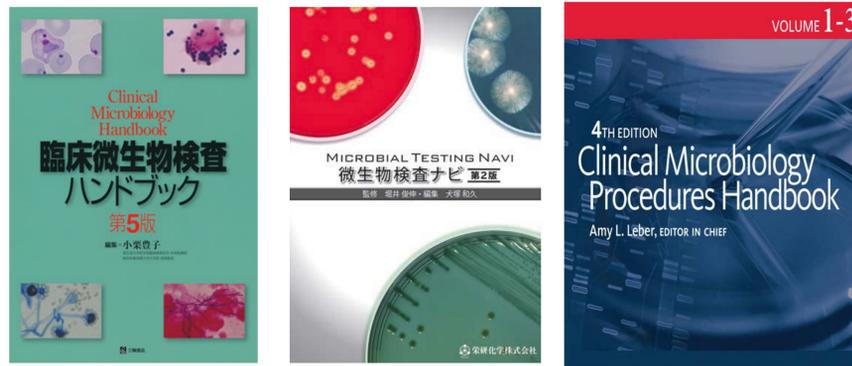
# <2> 一から見直す「検体採取・保存の注意点」

- 微生物検査は「検体検査」です。
- 微生物検査の結果は技師の知識や技術だけではなく、検体の質によっても大きく変わります。
- 検体の質は検査室に到着する前の検体採取・保存の方法（検査前プロセス）に影響を受けます。
- 日頃の検査前プロセスについてチェックしてみましょう。

## ● 検体採取

常在菌の混入を極力避け、病原微生物を確実に含んだ検体採取が重要です。  
起炎菌を含まない検体、常在菌をたくさん含む検体は、誤った検査結果につながり、治療をミスリードしてしまいます。

検体採取、保存に関してはこの3冊がおすすめ→



## <Rejection criteriaの設定しましょう>

Rejection criteriaとは検体が検査実施に値しない品質だった場合に検査を拒否するための基準。

- 事前に医師、看護師などと合意形成が重要！！
- AST活動を進めていくには検体の品質向上は不可欠です。

不適切な検体の一例
唾液様の喀痰、ティッシュにくるまれた喀痰、蓄痰固形便
室温下に2時間以上放置された尿
乾燥した中心静脈カテーテル
未滅菌の容器に採取された検体
中身が容器から漏れている検体

## <臨床側（医師・看護師・患者）の協力が必要>

検体の質とは？ どうしたら良質な検体採取ができるか、なぜそうせねばならないのか、院内ツールを使って定期的に周知していきましょう。

**正しい喀痰検査をするために**  
検体採取の方法が適切かどうか診断を左右する!!

細菌検査における喀痰は、呼吸器感染症の起炎菌検査に大変重要な検査材料であり、病態を正確に反映した検査結果を得るためには、喀痰そのものの品質が良くなければなりません。膿性部分が少なく膿液成分が多い喀痰の場合、口腔内常在菌により病原菌が検出されない危険性があります。そのため提出された喀痰が細菌検査に適しているかをMiller & Jones分類を用いて評価しています(表1)。電子カルテの検査結果にも反映されていますのでご確認ください。

Miller & Jones分類は表にあるように喀痰を外観から評価します。M1~P3の5段階に分類され、M1は膿液成分がほとんどであり、細菌検査には適さず、P1~P3は良質な痰で呼吸器感染症の起炎菌が検出されることが多いといわれています。

検査部・橋田

**良い喀痰の取り方**

- 唾液、食物残渣などの混入をできる限り避けます。
- 1. 早起起床時に採取するのが最もよい。
- 2. 歯磨き、またはうがいをする。(水道水で可)
- 3. 痰を咳かき出すために手を洗った後、咳をする。
- 4. 少し体を動かして、深呼吸した後に直接容器に入れる。(ティッシュで吸わない)
- 5. できるだけ早く提出する。(すぐに提出できない場合は冷蔵)

咳をするときは、咳をするときに手を洗った後、咳をする。

咳をするときは、咳をするときに手を洗った後、咳をする。

咳をするときは、咳をするときに手を洗った後、咳をする。



検体採取等に関わる病棟ミーティング

## <一方的な検査拒否は避けましょう！>

- 検査室と臨床側とで一定のルールを設定しておきましょう！
- 検体の取り直しを依頼する（どうやったら採取できるか、質がよくなるか、相談に乗ってあげましょう）
- やむなく検査せねばならない場合、結果の取り扱いに注意が必要であることをコメント付記する。

## ● 検体保存

原則として微生物検査の検体は保存することなく直ちに検査を行うことがベスト

やむを得ず、保存せねばならない場合は検体中の菌を増やさず、減らさず、現状維持に努める  
そのためには検体は原則冷蔵保存で。

	採取容器	保存方法	注意点
血液	血培ボトル	室温	採血量は成人なら原則10mL。機種によっては採血量が異なるものも。機種、ボトルごとで添付文書の確認を。
髄液	滅菌スピッツ	35℃	髄膜炎菌の存在を考慮し、ふ卵器にて保存
穿刺液（胸水、腹水、関節液、閉鎖性膿）	滅菌スピッツor嫌気ポーター	冷蔵	淋菌を疑う場合は速やかに検査実施。できなければふ卵器にて保存
尿	滅菌スピッツ	冷蔵	患者に対し、採尿時の注意喚起を。初尿は破棄し、中間尿を採取する。
喀痰	採痰容器	冷蔵	採痰前につがいし、大きな咳とともに喀出。
便	採便容器	冷蔵	なるべく綿棒での採取を避ける。赤痢アメーバの栄養型を観察する場合は温めながら検査室へ。速やかに検査実施。
便（ウイルスの迅速検査）	採便容器or専用スワブ	凍結（-20℃以下）	各迅速キットの添付文書に従って保存を。
開放性膿、分泌液	スワブ	冷蔵	淋菌を疑う場合は速やかに検査実施。
咽頭粘液	スワブ	冷蔵	淋菌を疑う場合は速やかに検査実施。



↑ Flockedスワブによる採取は従来の綿棒スワブに比較し病原体のcatch & releaseの効率が高く、検出感度が高まります。

# <3> 一から見直す「塗抹検査」①準備編

- 塗抹検査は、安価・簡便であり、迅速性に優れていることから、日常検査に広く用いられ、感染症診断や初期治療に非常に有用
- いずれの染色法も、微生物検査技師としての技術や経験や知識が必要
- 塗抹検査の有用性を最大限に活用するため、様々な染色法を基礎から理解しましょう！

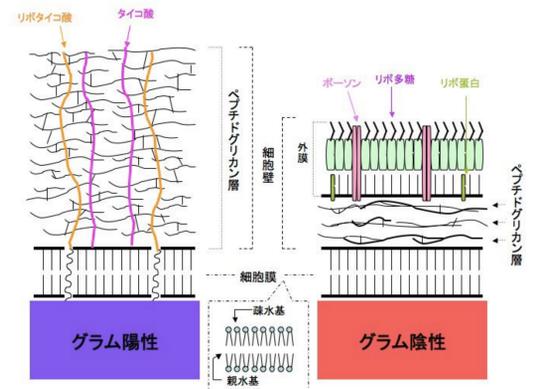
## ☆グラム染色 (Gram stain)

### ●原理と基礎

グラム染色は、1884年にHans Christian Gram によって開発された染色法。クリスタル液とルゴール液によって細菌類はまず紫色に染まる。アルコール作用後、脱色されずに濃紫色に染まっているグラム陽性菌と、脱色されサフラニン液で淡紅色に染まるグラム陰性菌とを判別。

染色機序は、細胞壁の厚さの相違による。グラム陽性菌のペプチドグリカン層は厚く、グラム陰性菌は薄いため、アルコールなどで処理すると、グラム陰性菌の外膜は容易に壊れ、また内部のペプチドグリカン層が薄いため、細胞質内部の不溶化した色素が容易に漏出して脱色される。グラム陽性菌ではこの漏出が少なく、脱色されないまま色素が残る。

	グラム陽性菌	グラム陰性菌
球菌	ブドウ球菌 連鎖球菌	双球菌
桿菌	大桿菌 松葉状 フィラメント状	大桿菌 紡錘型 らせん状



### ●染色法

検体をスライドガラスに載せ、乾燥させた後に火炎またはメタノール固定する。染色法は大きく分けて3種類あり、それぞれの特徴を加味して鏡検を行う。

	Hucker変法	Bartholomew & Mittwerの変法	西岡の方法
前染色	1%シュウ酸アンモニウム・クリスタルバイオレット液	①1%クリスタルバイオレット溶液 ②5%炭酸水素ナトリウム	シュウ酸アンモニウム加ピクトリアブルー液
媒染	ヨウ素・ヨウ化カリウム液	水酸化ナトリウム加ヨウ素・ヨウ化カリウム液	20%ピクリン酸エタノール溶液 (媒染・分別を同時に行う)
脱色	95%エタノール (またはアセトン・エタノール混合液)	アセトン・エタノール混合液	20%ピクリン酸エタノール溶液 (媒染・分別を同時に行う)
後染色	サフラニン溶液 (またはフクシン溶液 またはパイフェル液)	パイフェル液	サフラニン溶液 またはパイフェル液
特徴	・古くから用いられてきた方法 ・脱色に時間がかかる ・後染色にフクシンを使用した方が、らせん菌などの見落としも少ない	・細菌や細胞の染色性が良い ・染色液の顆粒が残りやすく、GPCと誤認しやすい	・他の方法よりも1ステップ少ないため、検査室以外でも使用しやすい ・血液や膿瘍など、塗抹が厚いと顆粒が析出して判別が困難
試薬	グラム染色試薬 (BD) カラーグラム2 キット (ピオメリュー) グラムハッカー染色液 (武藤化学)	B & Mワコー (WAKO) ②を省略したもの neo-B&Mワコー (WAKO) 、 パーミーM染色キット (武藤化学)	ファイバーGセットS、ファイバーGセットF (日水) グラムカラー (武藤化学)

### ●鏡検前に確認すべきこと

#### 材料種別

採取部位によって常在菌叢の有無、ターゲットとすべき病原菌は異なるためしっかり確認。

#### 患者情報

年齢、性別、入外区分・診療科、基礎疾患の有無、使用抗菌薬の有無など患者背景は入念に確認。

#### 臨床所見

主訴、診察所見、血液検査データ、画像診断所見など臨床所見も確認。

**これらに基づき原因微生物を推定。臨床像と一致するか念頭に置きながら鏡検、判定することが大切！**

### ●鏡検時の手順

#### まずは100倍で鏡検

- 生体細胞を確認して**検体の品質評価**を行う。
- 菌がかたまっている箇所がないか、糸状菌や放線菌状の菌などいないか全体を見渡す。
- 白血球の形態がわかりやすい部分を探す。

#### 次に1,000倍で生体細胞や細菌を鏡検

- 白血球の形態がわかりやすい部分で、丹念に細菌を観察する。菌の見落としを防ぐため、塗抹の濃淡の中で適切な厚さの部分を選択することが大切。
- 菌数把握のために塗抹全体を見渡す。

### ●検体塗抹作成時の注意・ポイント

・検体処理前に、検査に適した材料が見極めることが重要！  
適切に採取されていないと判断された場合は、検査を中止するか検体を再採取をすることが必要である。

・検体をスライドに塗抹する際には、厚くなり過ぎないように均等に塗る。  
・材料ごとの適切な処理法を遵守し、観察に適した塗抹を仕上げるのが重要である。

喀痰	膿性痰の場合、広範囲に薄く塗り広げる。
尿	均一となるよう混和し、10uLを無遠心で観察する。
髄液	細菌数が10 <sup>3</sup> CFU/mLと少なく、検出感度を上げるために遠心後の沈渣を用いる。
血液	血液培養ボトルから1滴を少なめに滴下し、薄く塗り広げる。
カテーテル先端	細かく切断し、少量の液体培地の中で混和した液を用いる。
浸出液	遠心後の沈渣を用いる。細胞成分が多い場合は、遠心せずにスポイトで1～2滴垂らす。

### ☆その他の染色

グラム染色以外の染色法についても正しい知識を持ち、必要に応じて適宜実施しましょう！

芽胞染色	有芽胞菌の芽胞の証明	芽胞は難染性で、染色には加温を必要とする。ウィルツ法 (グラム染色で有芽胞菌が疑われた場合に追加)。
莢膜染色	有莢膜菌の莢膜の証明	莢膜は多糖体からなり、菌体に比べて脱色されやすい性質を利用。ヒス法 (グラム染色で有莢膜菌が疑われた場合に追加)
異染小体染色	ジフテリア菌の異染小体の証明	ナイセル染色、アルバート法 (グラム染色で異染小体が疑われた場合に追加)
鞭毛染色	有鞭毛菌の鞭毛の証明	鞭毛は細く、光学顕微鏡で観察不能であるが、タンニン酸処理で膨化させ、色素を沈着させることで観察可能。
墨汁染色	酵母用真菌の莢膜の観察、スピロヘータ、原虫検査	動きが観察でき、検出が容易。暗黒色の背景に莢膜を菌体周囲の染色されない白色透明体として観察する。
無染色 (生鮮標本)	原虫、寄生虫の検出	赤痢アメーバ、ランブル鞭毛虫、臍トリコモナスなどに有用。細菌の運動性の確認にも有用である。
KOH法	真菌症の補助診断	皮膚科材料の直接鏡検に頻用される。強アルカリ性液で組織を軟化し、寄生真菌の観察を用意にする。
ヨード染色	原虫の検査	赤痢アメーバの嚢子などに用いられる。
ギムザ染色	原虫の検査	マラリア原虫、トリコモナス、ランブル鞭毛虫などの検出に有用。
ヒメネス染色	レジオネラ菌の染色	細胞内寄生性であり、かつグラム染色では難染性であるレジオネラの検出に有用。
ラクトフェノール・コットン青染色	真菌の形態観察	ラクトフェノール・コットン青液は真菌の構造物が染色されるので糸状菌の形態の観察に用いられる。

# <3> 一から見直す「塗抹検査」②グラム染色鏡検編

- “医師が症例に対して、鑑別診断の中で感染症をどの程度疑っているのか？”を念頭に置きながら鏡検、判定することが重要
- 感染症を疑った場合、グラム染色で微生物が確認できればとても大きな情報となり、菌種推定ができれば病態や抗菌薬の選択にも繋がる
- 一方、微生物の存在が確認できない場合には、感染症を否定する大きな情報となる

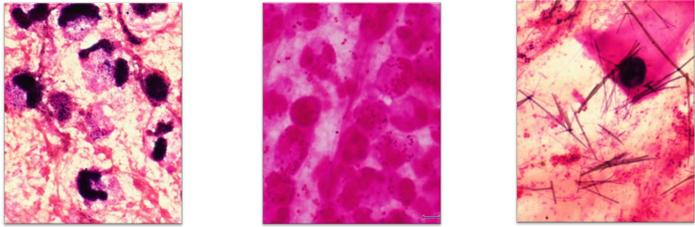
## ● 鏡検時に評価すべきこと

### 標本の品質評価

標本は**観察に適した“仕上がり”**であるか？確認

- 背景がグラム陰性に染色されている。
- 細胞の重なりが1層程度。
- アーチファクトがない。

悪い例)



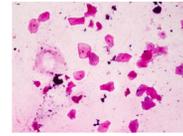
脱色不良      細胞が重なりすぎている      アーチファクト

### 検体の品質評価

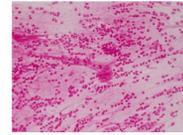
白血球数と扁平上皮細胞数を確認

例) 喀痰

群	好中球 (100倍)	扁平上皮 (100倍)
1	<10	>25
2	10~25	>25
3	>25	>25
4	>25	10~25
5	>25	<10
6	<25	<25



Geckler1  
質の悪い喀痰



Geckler5  
質の良い喀痰

培養では**真の起炎微生物**が**常在菌のコンタミネーション**かの判断はつかない。  
良質な検体における検出菌であった場合に初めて検出菌の臨床的意義が生まれるため  
検体の品質評価は必要不可欠である。

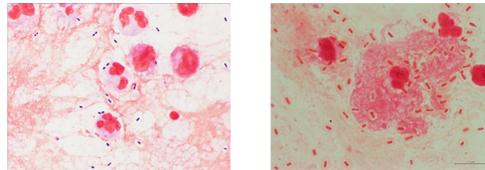
### 炎症性評価 白血球数は多い？

白血球を認めた場合、単核球か多核球かを観察。  
好中球を多く認めた場合、細菌感染症が強く疑われる。  
【グラム染色の一般的な量的報告】

	生体細胞数 (100倍)	細菌数 (1000倍)
1+	まれ、<1/1視野	まれ、<1/1視野
2+	少数、1~9/1視野	少数、1~5/1視野
3+	中等度多数、10~25/1視野	中等度多数、6~30/1視野
4+	多数、>25/1視野	多数、>30/1視野

### 白血球貪食像を認めるか？

貪食像を認めれば起炎菌の可能性が高くなる。  
(注) 莢膜を持つ菌種は貪食されにくい。



**スコアリングを利用する感染症** 膣分泌物の細菌性膣症 (Nugent's criteria) 1000倍で観察し、菌数よりスコアを求める。 【判定基準】

type	Lactobacillus type					Gardnerella type					Mobiluncus type				
菌数/視野	0	<1	1~4	5~30	>30	0	<1	1~4	5~30	>30	0	<1	1~4	5~30	>30
スコア	4	3	2	1	0	0	1	2	3	4	0	1	1	2	2

合計スコア	判定
0~3	正常
4~6	判定保留
≥7	細菌性膣症

### 細菌の評価

<b>グラム陽性球菌</b> <b>連鎖状</b> 長い連鎖 <i>Streptococcus</i> 短い連鎖 <i>S. pneumoniae</i> <i>Enterococcus</i>  <b>集塊状</b> <i>Staphylococcus</i> <i>Micrococcus</i> <i>Aerococcus</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Rothia</i>	<b>グラム陽性桿菌</b> <b>大型</b> <b>直線状</b> 連鎖形成あり <i>Lactobacillus</i> 連鎖形成なし <i>Bacillus</i> <i>Clostridium</i>  <b>分岐状</b> <i>Actinomyces</i> <i>Nocardia</i> <i>Tsukamurella</i>	<b>小型</b> <b>直線状</b> <i>Listeria</i>  <b>棍棒状</b> <b>V字</b> <i>Corynebacterium</i> <i>Arcanobacterium</i> <b>Y字</b> <i>Lactobacillus</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Eubacterium</i>	<b>グラム陰性桿菌</b> <b>直線性</b> <b>紡錘形</b> <i>Capnocytophaga</i> <i>Fusobacterium</i> <b>濃、短く辺縁が丸い</b> <i>Enterobacteriaceae</i> <b>淡~濃、中~長い、細い</b> <i>Pseudomonas</i> <b>短桿菌</b> HACEK <i>Pasteurella</i> <i>Bordetella</i> <i>Acinetobacter</i>	<b>グラム陰性球菌</b> <b>難染性・長短不同</b> <i>Bacteroides</i> <i>Legionella</i> <b>湾曲</b> <b>らせん状</b> <i>Campylobacter</i> <i>Helicobacter</i> <b>湾曲</b> <i>Vibrio</i> <i>Aeromonas</i> <b>フィラメント状</b> <i>Proteus</i> <i>Morganella</i> <i>Providencia</i> 抗菌薬作用後のグラム陰性桿菌	<b>グラム陰性球菌</b> <b>揃う</b> <i>Neisseria</i> <i>M. catarrhalis</i> <i>Acinetobacter</i>  <i>Veillonella</i>
---	--	--	--	--	--

**展示資料にて写真を準備しています。**

## ● 塗抹標本を正しく判読するために知っておくべきこと

- グラム染色の検出限界** : 最小検出感度の報告は材料により差はあるが $10^4 \sim 10^5$  cfu/mL。少量の菌数で感染が成立し発病を起こす微生物、抗菌剤投与後、材料採取が不適切で十分量の菌量が確保できていない場合は、グラム染色での検出は不可能である。
- グラム染色性による感度の違い** : 後染色が赤色なのでグラム陽性菌の方がグラム陰性菌に比べて微生物が確認しやすい。
- 感染臓器別の感度特性** : 感染臓器別の感度特性を持ち、さらに起炎菌によっても検出感度に差がある。  
**※グラム染色で菌が見えない場合は、無染色鏡検や他の染色法を試みることも1つの手段！**

## ● 塗抹の結果報告について

- 塗抹検査は、優れたTATを持つ検査である。診療により有効に活用されるためには**迅速に結果報告することが重要**である。
  - 無菌材料など、**通常菌がない検体で菌が発見された場合には一発で臨床診断・治療に繋がり得るため、より迅速な対応が望まれる。**
- ※以下のような場合はより重要度が高い。
- ・重症感染症患者で即座に治療方針の決定が必要な症例
  - ・抗菌薬の投与が開始されていない菌血症、敗血症症例
  - ・初期抗菌薬が明らかに効果の無いものと判断される場合
  - ・通常検出頻度が低く、起炎菌として想定されにくい菌が検出された場合
- グラム染色結果は主観的な検査結果であるが、**塗抹の解釈がきちんと伝わるよう、しっかりとコメントを付記することも重要**である。  
 また重要な局面では、**主治医とコンタクトをとり、直接結果報告することが大切**である。

# <4> 一から見直す「培養検査」①総論



- 培養検査の目的は、患者検体から原因となる微生物を発育・分離させることです！！
- 発育条件には①水分、②温度、③ガス環境、④培養時間などが挙げられる。
- 発育条件が合致していないと培養できない可能性がある。
- 発育条件に対する精度管理も必要！！

## <水分>

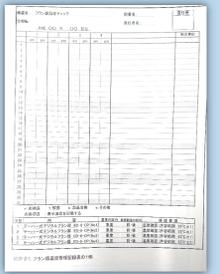
各種微生物の水分活性

分類	菌種	水分活性
細菌	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.97
	<i>Escherichia coli</i>	0.95
	<i>Bacillus subtilis</i>	0.95
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0.86
酵母	<i>Candida albicans</i>	0.94
カビ	<i>Mucor rouxii</i>	0.93
	<i>Rhizopus nigricans</i>	0.94
	<i>Aspergillus niger</i>	0.88

- 微生物は水分活性が低下すると生育しにくくなり、ある水分活性値以下になると生育できなくなる。



孵卵器内を湿潤に保っています！！



メンテナンスや清掃の記録も大切です



- 孵卵器内に水を入れて加湿していますか？
- 定期的な水の交換・孵卵器内清掃も大切です！！
- 長期間培養を観察する場合は、乾燥に気を付けていますか？

## <温度>

微生物の生育可能温度領域と最適生育温度

微生物	生育可能温度領域	生育最適温度
カビ	0~40℃	25~28℃
酵母	0~40℃	27~30℃
細菌	0~90℃	36~38℃

- 多くの細菌は35~37℃で良好な菌発育を示す。
- しかし菌の種類によってはより高温の42℃、逆により低温の30℃あるいは22℃といった温度で培養される。
- 培養温度の設定は、目的とする細菌に至適な環境を提供するとともに、目的としない細菌の発育を抑制する意味を持つ。



孵卵器内温度を実測！！



検体保管用冷蔵庫温度確認



- 目的菌によって培養温度を変更していますか？  
例) 糸状菌：25℃、*C. jejuni/coli*：42℃
- 培養温度や検体保存温度の管理は、どのようにしていますか？
- 孵卵器や冷蔵庫の温度表示と実温度に差はありませんか？

## <ガス環境>

生存のための酸素供給環境を基にした細菌分類と定義および例

分類	定義	例
偏性好気性菌	酸素濃度15~21%で最も良好に発育し、酸素のない環境ではほとんど or 全く発育しない	<i>P. aeruginosa</i> 、 <i>Mycobacterium spp.</i>
通性嫌気性菌	酸素の有無にかかわらず発育	<i>S. aureus</i> 、 <i>E. coli</i>
微好気性菌	空気中か嫌気環境で発育しないか、わずかに発育する程度で酸素を5%程度含む環境で良好に発育する	<i>Campylobacter spp.</i>
偏性嫌気性菌	酸素濃度0.05%以下でのみ発育 = 厳密な偏性嫌気性菌	<i>Prevotella oralis</i>
	酸素濃度0.05~5%の環境でも発育 = 酸素に比較的耐性な菌	<i>Bacteroides fragilis</i>

細菌培養法の種類とガス類似環境条件

培養法の種類	酸素分圧	類似環境条件
好気性環境	21%	大気中の酸素分圧に相当
炭酸ガス培養環境	15%	肺胞内の酸素分圧に相当
	5%	静脈内の酸素分圧に相当
	<1%	歯肉溝・手術創などの酸素分圧に相当

- 血液寒天培地やチョコレート寒天培地は、好気培養よりも炭酸ガス培養を行った方が、より広範囲の菌種を検出でき、集落もより大きくなる。
- *N. gonorrhoeae*、*N. meningitidis*、*Haemophilus spp.*、*Brucella spp.*、*Streptococcus spp.*などの培養には炭酸ガス培養が用いられる。



炭酸ガス孵卵器



ジャー、パウチ、ガスパック



- 目的菌に対するガス環境は適合していますか？
- ガスパック培養を行う際、炭酸ガス濃度やジャーやパウチの機密は保たれていますか？
- 器具や孵卵器が故障したときのバックアップは？

## <培養時間>

長期培養における特殊培地・温度・ガス環境・培養期間

目的菌	培地	温度・ガス環境	期間
真菌（糸状菌類）	サブロー、PDA寒天培地	25℃好気培養	最大1ヶ月
<i>B. pertussis</i>	ボルデージャング培地	35℃好気培養	5日間
<i>Legionella spp.</i>	BCYE、WYOα 寒天培地	35℃好気培養	7日間
<i>C. diphtheriae</i>	荒川、レフレル培地	35℃好気培養	48時間
<i>C. difficile</i>	CCMA、CCFA 寒天培地	35℃嫌気培養	48時間
嫌気性菌	ブルセラHK寒天培地など	35℃嫌気培養	48~96時間
<i>C. jejuni/coli</i>	CCDA、スキロー寒天培地	42℃微好気培養	48時間

- 培養期間は栄養要求が厳しい菌種、微好気培養が必要な菌、嫌気性菌感染症や真菌感染症が疑われる場合は、長期間を要する。
- 検査材料別に必要とされる特殊培地や培養条件については、文献等を参考としてください。



- 菌が塗抹検査で見えているのに発育してこないことがあります。すぐにあきらめていませんか？  
“培養条件の見直し”や原因菌の推定能力も必要です。
- 遠心集菌や増菌培養、血液培養ボトルによる培養も有用！！  
(日常検査では、血液以外の材料に血液培養ボトルを使用しない；PD排液は除く)

# <4> 一から見直す「培養検査」②材料別の培養とピットフォール

- 材料別に最適な培養法は異なります
- ここでは、血液、喀痰および尿検体を取り上げ、材料別の培養を見直しましょう
- 臨床所見・グラム染色所見と培地所見が合わない代表的な例をピットフォールとして取り上げました
- 培養困難菌については、培養以外の代替方法をまとめました

## <血液>

採取したボトルは、速やかに検査室に輸送し、培養を開始する

血液培養ボトルは優れた発育支持能を持つため、採取後のボトル放置で菌の発育が進行してしまう

発育がすでに進行してしまったボトルを装填することで、陽性シグナルの遅延または陰性化が認められる（特に腸内細菌科細菌で顕著）

小林寅口ほか 血液培養ボトルの自動培養装置への装填遅延が判定結果へ及ぼす影響；感染症誌 78 959-966, 2004

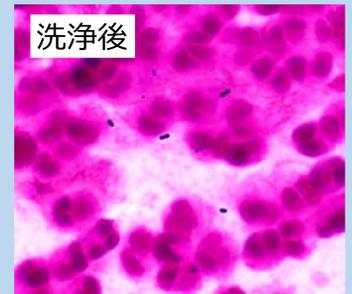
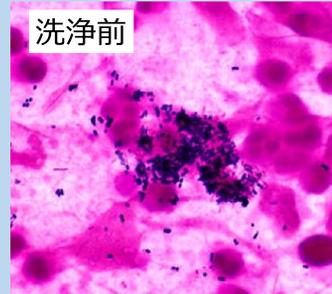
陽性となったボトルは、可能な限り速やかに培地へサブカルチャーする

肺炎球菌は死滅しやすく、サブカルチャーが遅れるとボトル内で死滅する可能性がある

## <喀痰>

洗浄培養法：喀痰に付着した常在菌を洗浄によって除去する方法

- ① シャーレに生理食塩水を入れ、喀痰をこの中で振り払うように洗浄する
- ② 浮遊している喀痰の小塊をすくい上げ、別の生理食塩水中で再び洗浄する
- ③ ①～②を2～3回繰り返す
- ④ 小塊を集め、余分の水気を取り、培地に接種する



洗浄前後で常在菌が減少するが、洗浄不足や誤嚥性肺炎の場合は減少しない

長所 洗浄によって常在菌の混入を減少させる

短所 洗浄に耐えられない喀痰が多い、操作によるバイオハザードの危険性

## <尿>

定量培養：真の起炎菌と常在菌の鑑別のために尿中菌量を定量する

- 1μL定量白金耳 最小10<sup>3</sup>CFU/mLまでの定量
- 10μL定量白金耳 最小10<sup>2</sup>CFU/mLまでの定量
- 10μLマイクロピペット 最小10<sup>2</sup>CFU/mLまでの定量

採尿法と患者状態	尿路感染症が示唆される所見		尿路感染が否定される所見
	代表的な起炎菌の尿中菌数 (CFU/mL)	尿中白血球またはエステラーゼ検査	
中間尿（女性）膀胱症状あり	> 10 <sup>2</sup>	(+)	代表的起炎菌 ≤ 汚染菌
中間尿（女性）盂炎症状あり	> 10 <sup>5</sup>	(+)	代表的起炎菌 ≤ 汚染菌
中間尿 無症候性細菌尿	> 10 <sup>5</sup>	(-)	代表的起炎菌 ≤ 汚染菌
中間尿（男性）尿路感染症状あり	> 10 <sup>3</sup>	(+)	代表的起炎菌 ≤ 汚染菌
カテーテル採尿	> 10 <sup>2</sup>	有症状で (+)	代表的起炎菌 < 10 <sup>2</sup> CFU/mLで、白血球エステラーゼ(-)
膀胱留置カテーテル採尿	> 10 <sup>3</sup> (複数菌検出)		無症候性細菌尿、白血球エステラーゼは(+) or (-)

## こんなことに「困った！」ー培養検査のピットフォールー

検体	こんなことに「困った！」	もしかしたら…
喀痰	グラム染色でHaemophilus influenzaeを疑ったがチョコレート寒天培地に発育なし	Bordetella pertussisかも？ 遺伝子検査・百日咳菌専用培地の追加
高齢者の尿	グラム染色でGPC集塊状だがブドウ球菌属発育しない	Aerococcus urinaeかも？ 培地所見はαレンサ球菌状を示す
皮膚の化膿性病変	coagulase negative staphylococci (CNS) のみ発育	Staphylococcus lugdunensisかも？ CNSだが病原性が強い
繰り返す乳腺炎の膿汁	培養1日目に発育なし	Corynebacterium kroppenstedtiiかも？ βラクタム無効
帝王切開後の手術創	グラム染色陰性だが、培養3日後に微小集落	Mycoplasma hominisかも？ βラクタム・マクロライド無効
犬咬傷後に四肢の紫斑・チアノーゼ	培養1日目に発育なし	Capnocytophaga canimorsusかも？ 延長培養が必要、劇症型に注意

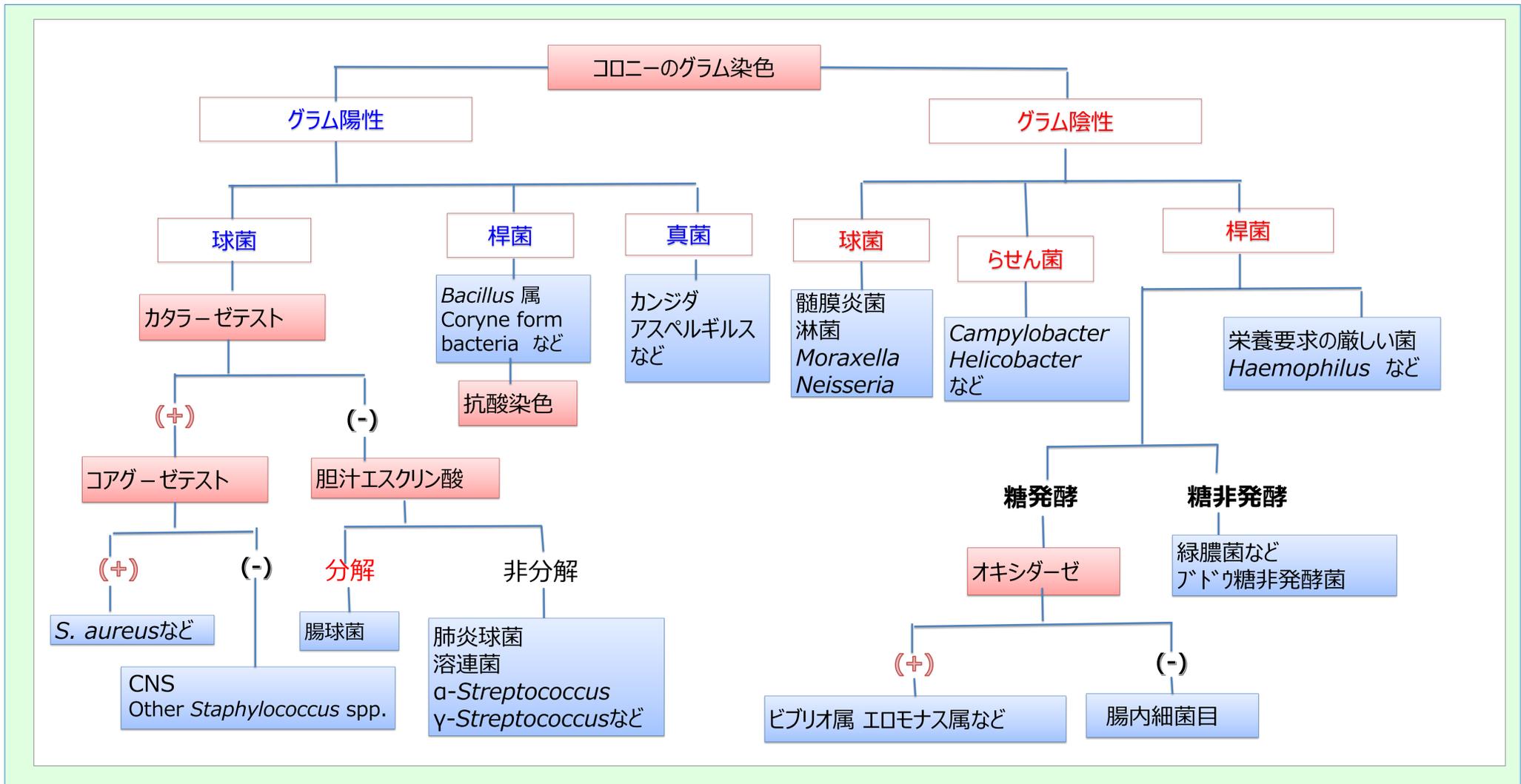
## 培養困難菌における培養以外の代替法

菌	検体	主な迅速検査キット	迅速検査キットの注意点	主な遺伝子検査
Mycoplasma pneumoniae	咽頭ぬぐい液	プロラストMyco、リボテスト	感度・特異度が高くない	LAMP法、Qプローブ法
Legionella pneumophila	尿	イムノキャッチ、BinaxNOW、リボテスト	血清型1のみ検出（リボテストは1-15型）	LAMP法
Chlamydia trachomatis	生殖器ぬぐい液、初尿	ラピッドエスピー、クリアビュー		PCR法、TMA法

# <5> 一から見直す「同定検査」①

## ● 基本的な同定フローを把握する

● 基本はグラム染色形態 ● 機器だけに頼らない！



## ● 同定検査のピットフォールについて

### ● カタラーゼ試験

**血液寒天上のコロニーから検査していませんか？**  
血球成分によって偽陽性になるので釣菌に注意！

### ● グラム陽性桿菌で迷ったら、抗酸染色とカタラーゼ試験

**抗酸菌・弱抗酸菌ではありませんか？**  
抗酸菌の迅速発育群が血液寒天培地などに発育する！  
**好気に発育する大型のグラム陽性桿菌 ≠ Bacillus 属**  
耐気性のClostridium属の可能性もあり,カタラーゼ陽性を確認する

### ● グラム陽性球菌（ブドウ球菌様）のコアグラールゼ試験

**遊離コアグラールゼとクランピング因子を検査していますか？**

集落着色	遊離コアグラールゼ	クランピング因子	PYR	カニチン	ウレアゼ	耐熱性DNase	菌種
+	+	+	-	-	d	+	<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i>
-	d	-	-	-	d	+	<i>S. hyicus</i>
-	+	d	+	-	+	+	<i>S. intermedius</i>
-	+	-	+	ND	+	+	<i>S. pseudintermedius</i>
d	-	+	+	+	d	-	<i>S. lugdunensis</i>
-	+	-	+	-	+	+	<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i>
-	-	+	+	-	-	+	<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i>

### ● *S. pseudintermedius* 同定法 試してみませんか？

集落溶血	クランピング因子	マニト 24/48hrs	DNase 24/48hrs	菌種
+	+	++/++	+/+	<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i>
+	d	++/++	-/+	<i>S. intermedius</i>
+	-	-/+	++/++	<i>S. pseudintermedius</i>

日本臨床微生物学雑誌 Vol.29(3)140-145,2019

### ● 遊離コアグラールゼとクランピング因子の感度の違い

ラテックス試薬の種類によって感度に違いがあります

試薬	<i>S. lugdunensis</i> (n=15)			
	陰性	弱陽性	陽性	陽性(%)
A社	10	1	4	33.3
B社	9	2	4	40.0
C社	5	2	8	66.7
D社	7	4	4	53.3

日本臨床微生物学雑誌 Vol.25(1)19-25,2015

### ● グラム陰性球菌は検体種別と分離培地の発育で予測して生化学性状で確認する

**生殖器材料から検出 ≠ 淋菌**  
髄膜炎菌の場合があります  
**淋菌は血液寒天培地に発育しない？**  
一部の血液寒天培地に淋菌が発育するので注意！

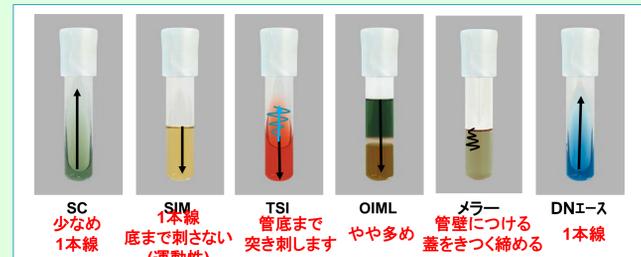
### ● グラム陰性桿菌は分離培地の発育とオキシダーゼテスト、運動性で予測

**オキシダーゼテストの偽陽性に注意！**  
二クロム線の白金耳は使用しない

### ● 生化学性状培地 使っていますか？

**接種の順番は？ ⇒ 卓上展示をご覧ください**

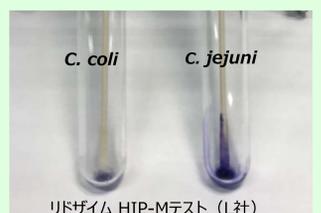
**接種の仕方と蓋の締め方に注意！**



### ● 馬尿酸加水分解試験

**薄い紫色に注意！**  
陽性は濃い青紫色, 陰性でも無色から薄い紫色に着色する

✓ *Campylobacter* の鑑別の場合の菌濃度は McFarland No.2が適当 医学検査 Vol.63(2)168-172,2014



# <5> 一から見直す「同定検査」②

## ●MALDI-TOF MS は迅速・正確・安価に同定できる、でも・・

迅速・正確に同定できる質量分析装置は一菌種あたりも安価に検査できる。しかし、リボゾームを含むタンパク質を測定するため16SrRNA領域が近縁している菌種の識別は困難である。今回、細菌培養でよく検出される代表的な菌種の中で注意が必要なものを表に記載する。得られた結果に対し、施設での対応法(どこまで検査するか、どのように報告するか)を明確にしておく必要がある。



菌種	コメント	対応法(参照先)
<i>Staphylococcus</i> spp.	CNSで精度にかける菌種あり。	同定検査1参照
<i>Streptococcus</i> spp.	<i>S. pneumoniae</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. pseudopneumoniae</i> と識別困難 <i>S. dysgalactiae</i> のsubspも識別困難	下図参照
<i>Neisseria</i> spp.	<i>N. gonorrhoeae</i> と <i>N. meningitidis</i> 以外の <i>Neisseria</i> spp. に関しては未検証で、 <i>N. meningitidis</i> と誤同定される菌種もあり	下図参照
<i>Moraxella</i> spp.	<i>M. catarrhalis</i> 以外の菌種は未検証	別キット
<i>Shigella</i> spp	<i>E. coli</i> との識別困難	下図参照
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	<i>Y. pestis</i> との識別困難	腸管感染症検査ガイドライン2010.日臨微誌
<i>Salmonella</i> spp	属レベルまで同定	血清型で菌名決定 腸管感染症検査ガイドライン2010.日臨微誌
<i>Vibrio</i> spp	<i>V. albensis</i> は <i>V. cholerae</i> と鑑別困難	下図参照
<i>Aeromonas</i> spp.	spp. complex内の菌種を識別困難	必要の場合のみ別キット
<i>C. freundii</i> complex		
<i>E. cloacae</i> complex		
<i>Raoultella</i> spp.	spp. complex内の菌種を識別困難	必要の場合のみ別キット
<i>Acinetobacter</i> spp.		
<i>B. cepacia</i> complex		
<i>Bordetella</i> spp.	<i>B. pertussis</i> / <i>parapertussis</i> は識別困難	下図参照
<i>Helicobacter pylori</i>	一部の菌種で信頼性に欠ける。 <i>H. cinaedi</i> は機器間差あり	下図参照
<i>Campylobacter</i> spp.		
嫌気性菌	<i>B. fragilis</i> group以外の <i>Bacteroides</i> spp. は識別困難な菌種あり <i>Fusobacterium</i> spp., <i>Clostridium</i> spp. も同様	別キット
酵母・糸状菌	一部の菌種で信頼性に欠ける。	下記参照
非結核性抗酸菌	NTMで識別困難な菌種あり (complex内の識別も含む)	抗酸菌検査ガイド2016

データベース登録菌数 (2019年12月現在)	VITEK MS (ビオメリュー) KB v3.2	MALDI biotyper (ブルカー)
一般細菌 (嫌気性菌含む)	1095	2836
抗酸菌 (ノカルジア含む)	66	256
真菌 (酵母・糸状菌)	221	261

- 測定までの培養時間も項目によって両社それぞれ異なるため、プロトコールに注意する
- 両社ともに血液培養 陽性ボトルからの菌種同定可能
- 血液培養液以外の臨床材料から直接検出する試みや耐性菌関連因子を検出する試みも報告されている

## ●major errorを防ぐpoint

### ●肺炎球菌の鑑別 オプトヒン試験と胆汁溶解試験

オプトヒン試験は、ディスクの取扱説明書の培養条件で！

(ASMマニュアルには35-36℃炭酸ガス培養)

無菌材料から検出された場合はオプトヒン試験を炭酸ガス培養と好気培養で実施し、好気培養で耐性になれば *S. pseudopneumoniae* と同定する

胆汁溶解試験は、迅速同定が可能

試験管法, 直接法以外に 血液培養液での直接スライド法も可能

- ✓ スライドグラス上で2%デオキシコール酸Na水溶液1滴と血液培養液1滴を混和し(対照に精製水), 室温放置, 自然乾燥(15-30分)後, グラム染色・鏡検

Clin Microbiol 1979,9-290-291

### ●髄膜炎菌の鑑別 マルトースを確認

(NTM発育のox(+))GNCTで酵素プロファイルによる鑑別可能)

カタラーゼ	オキシダーゼ	ブドウ糖	マルトース	乳糖	白糖	果糖	硝酸塩還元	亜硝酸塩還元	DNA分解	PRO	VGA (GLUT)	B-GAL	菌名
+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	<i>N. gonorrhoeae</i>
+	+	+	+	-	-	-	-	d	-	-	+	-	<i>N. meningitidis</i>
+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	<i>N. lactamica</i>
+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	<i>N. sicca</i>
+	+	+	+	-	d	d	-	+	-	-	-	-	<i>N. subflava</i>
+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>N. mucosa</i>
+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	<i>N. flavescens</i>
+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	<i>M(B). catarrhalis</i>

### ●赤痢菌の鑑別 SIMを追加して運動性を確認する

運動性(+)なら赤痢菌は否定

酢酸Na ⇒ *S. flexneri* 以外は陰性

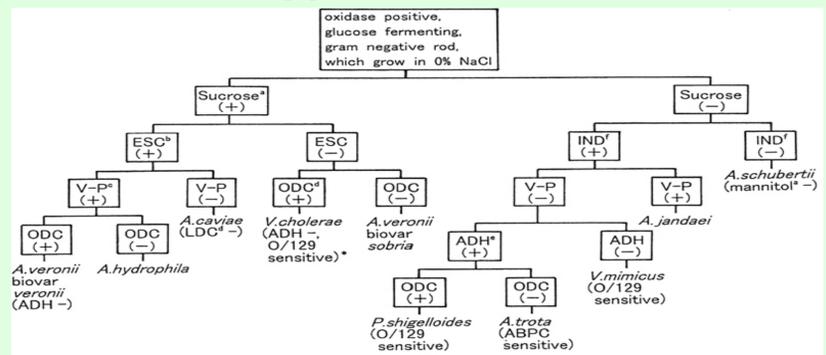
血清型別 ⇒ 抗血清に凝集しない新血清型の可能性を考慮

EIECのO抗原は赤痢菌のO抗原と同一のものがほとんどのため注意 赤痢菌検査・診断マニュアル

### ●百日咳菌 血液寒天培地には発育しない

得られた結果をまず疑う。臨床情報を得た段階でボルデー・ジャング培地を用い、鑑別試験(マッコンキー寒天発育試験、運動性、ウレアーゼ試験)を実施

### ●Aeromonas spp.の鑑別



Furuwatari C, Kawakami Y, Akahane T, et al.: Proposal for an Aeroscheme (modified Aerokey II) for the identification of clinical *Aeromonas* species. Med. Sci. Res. 22: 617~619, 1994.

### ●Acinetobacter spp. の鑑別

・多剤耐性菌で *A. baumannii* であることを確実にしたい場合は、*rpoB*領域のシーケンスを行うかOX-51 like遺伝子の検出を行う

### ●Campylobacter spp. Helicobacter spp.など

カタラーゼ	ウレアーゼ	水馬尿酸	酢酸イソインド	発育			還元硫酸塩	菌名
				好気	25℃	42℃		
+	-	+	+	-	-	+	+	<i>C. jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>
+	-	-	+	-	-	+	+	<i>C. coli</i>
+	-	-	-	-	+	-	+	<i>C. fetus</i> subsp. <i>fetus</i>
+	d	-	-	-	-	+	+	<i>C. lari</i> subsp. <i>lari</i>
-	-	-	+	-	-	+	+	<i>C. upsaliensis</i>
d	-	-	+	+	d	-	-	<i>Arcobacter butzleri</i>
d	-	-	+	+	+	-	-	<i>A. cryaerophilus</i>
+	+	-	-	-	-	-	-	<i>Helicobacter pylori</i>
+	-	-	-	-	-	-	+	<i>H. cinaedi</i>
+	-	-	+	-	-	-	-	<i>H. fennelliae</i>

### ●酵母様真菌, 糸状菌 聞きなれない菌名は要確認

酵母はクローモアガー寒天培地や別キットで確認する (*C. auris*はVITEK2で同定可能) 糸状菌の場合, 検出頻度の少ない菌種が得られた場合は必ずスライド培養法による顕微鏡的観察とジャイアントコロニーの観察を行う (同定フローチャートはCMPH参照)

# <6> 一から見直す「薬剤感受性検査」

## ● CLSI vs EUCAST CLSI-M100だけでは、対応できない！

**CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)**  
 菌種別に有効な抗菌薬のブレイクポイントを設定（一部、疫学的カットオフ値）。日本をはじめ多くの国の検査室で広く利用されている。

- ・M100 ディスク法/MIC法の判定基準（毎年改定）
- ・M60 酵母様真菌（ディスク法/MIC法）
- ・M23 QC (Quality Control)
- ・M07 MIC Method, M11 嫌気性菌MIC Method
- ・M45 稀な検出菌/栄養要求性が高い菌

検索欄: CLSI M100

[Free Resources - CLSI](#)

**EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)**  
 Clinical breakpointと疫学的カットオフ値がある。毎年改定。

- ・Clinical breakpoints bacteria
- ・Clinical breakpoints fungi
- ・Rapid AST directly from blood culture bottles (血液培養ボトルから直接ディスク法検査の実施方法と判定基準)

検索欄: eucast

[EUCAST: EUCAST](#) [Clinical breakpoint...](#)

すべて無料ダウンロード可能

	CLSI	EUCAST
嫌気性菌	M100 : MIC判定基準あり。 微量液体希釈法は <i>Bacteroides fragilis</i> groupのみ。 寒天平板希釈法は全菌種。	Clinical breakpoints bacteria : MIC判定基準あり。 (Gram-positive anaerobes, <i>Clostridioides difficile</i> , Gram-negative anaerobes) 実施方法の記載がない。
稀菌	<a href="#">CLSI</a> M45に判定基準が掲載されている菌種	<a href="#">EUCAST</a> Clinical breakpoints bacteriaに掲載されている菌種は赤字表記
	<i>Moraxella catarrhalis, Listeria monocytogenes, Pasteurella multocida, Campylobacter jejuni and coli, Corynebacterium spp., Aerococcus sanguinicola and urinae, Aeromonas spp., Abiotrophia spp. Granulicatella spp., Bacillus spp., Erysipelothrix rhusiopathiae, Gemella spp., HACEK(Aggregatibacter spp. Cardiobacterium spp. Eikenella corrodens, Kingella spp.), Lactobacillus spp., Lactococcus spp., Leuconostoc spp., Micrococcus spp., Pediococcus spp., Rothia mucilaginosa, Vibrio spp.</i>	

### カテゴリーの考え方

	CLSI	EUCAST
S	Susceptible 感性。 推奨される投与量・方法で、臨床的効果が期待できる。	Susceptible, Standard dosing Regimen 標準投与法で治療成功の可能性が高い。
S-DD	Susceptible dose-dependent 用法容量依存的感性。 指定の用法容量で投与した場合、臨床的に効果が期待できる。	
I	Intermediate 中間または中等度耐性。 抗菌薬が高濃度移行する部位の感染症や大量投与可能な抗菌薬では臨床的に利用可能な場合がある。または、毒性が強い抗菌薬では、判定の大きな誤りを避けるための緩衝ゾーン。	Susceptible, Increased exposure 投与方法の調整によって治療成功の可能性が高い。
R	Resistant 耐性。 通常の投与方法、臨床効果が期待できない。	Resistant 投与量が増えても治療失敗の可能性が高い。
NS	Non susceptible 非感性。 耐性株が存在しない、又は稀に存在する分離株に対して、感受性のブレイクポイントのみが指定された場合に使用するカテゴリー	
ATU		Area of Technical Uncertainty 薬剤感受性解釈の不確実性。 検査室に向けた警告。検査室は「①結果が正しいか確認」、「②結果に不確定要素が含まれている事を報告する」のどちらかを選択する。

CLSI : S-DD  
≒  
EUCAST : I

## ● 菌液調整が与える影響について

**濃度**  
薄いと感性傾向、濃いと耐性傾向となる。

正確に菌液調整できてますか？

**調整から測定開始までの時間**  
蒸留水・生理食塩水で菌液調整後の放置  
⇒被検菌によっては死滅、菌数減少。

液体培地（プロス）で菌液調整後の放置  
⇒時間ともに増殖。

菌液調整後は、速やかに測定開始！

*Escherichia coli* ATCC29213  
Mueller Hinton Brothで調整後  
室温放置

菌数 (×10<sup>5</sup>CFU/mL)

菌液調整後時間 (h)

**菌液調整の精度管理 (CLSI-M07)**  
 定期的に菌数を確認する (CLSI法最終接種菌量 : 5×10<sup>5</sup>CFU/mL)。  
 特に、濁度計を用いずに菌液を調整する場合は確認が必要。  
 <実施方法の1例>コロニーカウント3mL滅菌蒸留水を用いる方法  
 (MicroScanトレーニングテキストより)

*Escherichia coli* ATCC29213  
菌液濃度 約5×10<sup>5</sup>CFU/mL

滅菌蒸留水3 mL

30µL, 300µL, 300µL

100µL, 100µL, 100µL

×10<sup>3</sup>, ×10<sup>4</sup>, ×10<sup>5</sup>

コロニーが30～300個発育した培地をカウントする。  
 (発育コロニー数×希釈倍率) = 菌数 (cfu/mL)

## ● Rapid AST

EUCASTでは、血液培養ボトル液100～150µLをMueller Hinton agarなどの培地に直接接種したディスク法での短時間インキュベーション（4、6、8時間）ブレイクポイントを設定している。詳細は、<http://www.eucast.org> 参照。

# <7> 一から見直す「嫌気性菌検査」

## ● 検査対象

### 嫌気性菌の検査を行う検体

- 常在菌の汚染を最小限にできる検体・無菌材料 (血液・髄液・関節液・術中採取検体・生検材料など) → **詳細な同定検査**
- 常在菌の汚染はあるが嫌気培養の価値が高い (TTA吸引物・気管支鏡検体・膀胱穿刺液・骨盤腔・子宮内・軟部組織など) → **重症例以外は簡略化した同定**
- 常在菌が多数存在する口腔や下部消化管粘膜の破綻が原因の検体 (口腔や耳鼻咽喉頭部からの膿瘍の穿刺液・腹水・胆汁や骨盤内膿瘍の穿刺液など) → **推定同定 ※必要な菌のみ詳細な同定**
- 通常は嫌気培養の対象とならないが、場合によって嫌気培養を行う (口腔や鼻咽頭のスワブ・創部・排泄尿・喀痰など) → **通常行わない ※要望があった場合は嫌気性菌の有無程度にする**

## ● 輸送・保存

採取法・採取量・検査開始までの許容時間

吸引物	滅菌試験管	1mL未満	10分以内
		1mL	30分以内
	嫌気性輸送容器	2mL以上	2~3時間
		1mL未満	30分以内
スワブ	嫌気性輸送容器	1mL以上	2~3時間
		嫌気性輸送培地	1時間以内
			2~3時間

## ● 外観・培養・同定・薬剤感受性

### 検体の観察ポイント

- 悪臭がする
- チョコレート色~褐色の血液が混入し、粘性がない
- グラム染色も参考に

### グラム染色標本の観察ポイント

- 非常に小さな球菌、桿菌がある。またグラム陰性桿菌は淡く染まる
- 嫌気性菌が推定される所見 (*F. nucleatum*, *Actinomyces* spp. など)
- 複数菌認めることが多い
- 好中球のみ認める場合 (菌は認めない)

嫌気性菌感染症を疑う

### 使用培地

- 非選択培地：嫌気性菌用血液寒天培地...ブルセラHK(RS)寒天培地, アネロコロンビアウサギ血液寒天培地など  
※一般好気性菌で使用する処方羊血液寒天培地では発育しない嫌気性菌が存在するので嫌気性菌用培地を使用する
- 選択培地：嫌気性グラム陰性桿菌用...PV加ブルセラHK寒天培地, NV加ABHK寒天培地など  
嫌気性グラム陽性球菌用...PEA加ブルセラHK寒天培地, アネロコロンビアPEAウサギ血液寒天培地など  
その他...BBE寒天培地(*B. fragilis* groupや*Biophila wadsworthia*など), CCMA(CCFA)培地(*C. difficile*)

ポイント 選択培地は必須

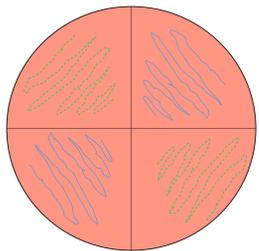
検体採取部位	選択培地	使用目的
横隔膜より上	嫌気性グラム陰性桿菌用培地	重要な嫌気性GNRの発育を阻害する バクテリオシン様物質産生口腔 <i>Streptococcus</i> を抑制するため
消化管や生殖器	嫌気性グラム陽性球菌用培地 BBE培地	<i>B. fragilis</i> groupの早期分離のため

培地観察 培地観察は2日目から行う

ポイント 嫌気性菌の発育を認めた時点で中間報告することが大切

3. 増菌培地：無菌材料やバックアップ用...HK半流動培地, GAM半流動培地など

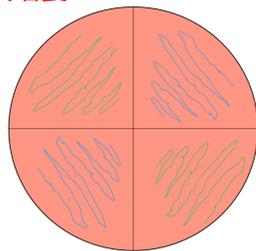
### 炭酸ガス培養



嫌気性菌用血液寒天培地 (NHM-II 血液寒天培地でも可)

- その他
- 嫌気性菌 (非発育)

### 嫌気培養

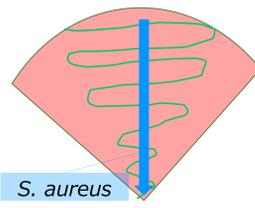


嫌気性菌用血液寒天培地

- その他
- 嫌気性菌 (発育)

### ポイント

継代したら発育しない!?  
↓  
S. aureusを引いて衛星現象を利用する



### グラム染色

嫌気性菌を同定する上で最重要  
嫌気性菌のグラム染色は形態が多形成、グラム不定のことがある

- 既知の嫌気性菌でトレーニングする
- 塗抹標本に陽性コントロール(*S. aureus*)陰性コントロール(*E. coli*)を置き、染色不具合がないことを確認する

染色性の確認 RYUの試験

- 方法
- ①スライドグラスに3%KOHを水溶液を滴下する
  - ②竹串や白金線などで菌を多めにとり、水溶液と混ぜる
  - ③そのまま、静かに引き上げ菌塊から糸を引くか観察する

判定 糸を引く：グラム陰性菌, 糸を引かない：グラム陽性菌  
※一部例外もある

同定検査	高	臨床的意義	低
GPC	病原的意義が高い (無菌材料・生検材料) 嫌気性グラム陽性球菌まで ( <i>P. anaerobius</i> , <i>P. stomatis</i> , <i>F. magna</i> , <i>P. micra</i> は同定する)	重症例以外は簡略同定 (軟部組織・気管支鏡検体など)	多数の菌が分離される (口腔や耳鼻咽喉頭の膿瘍など)
GPB	<i>Clostridium</i> spp./嫌気性グラム陽性桿菌( <i>Clostridium</i> 疑) / 嫌気性無芽胞グラム陽性桿菌( <i>Clostridium</i> 以外) のいずれかで報告	同左	①優勢な嫌気性菌 ②βラクタマーゼ陽性菌 上記を同定する or 常在菌として報告する (集落タイプや染色所見等記録しておく)
GNC	<i>Veillonella</i> spp.であるかどうか	嫌気性グラム陰性球菌 (それ以上不要)	
着色集落	菌種までが望ましい+βラクタマーゼの有無	<i>PigmentPrevotella</i> / <i>Porphyromonas</i> +βラクタマーゼの有無	検査不要
GNB 着色ない集落	菌種まで同定	同左	
紡錘形桿菌	<i>F. nucleatum</i> に似る場合は <i>Fusobacterium</i> と報告	同左	
薬剤感受性	全ての分離株で実施	要求があった場合に行う	同左

### CLSI推奨法

薬剤感受性検査	フローズンプレート法
培地	5%ウマ溶血血液, ヘミン加ブルセラブロス
予備還元	不要
接種菌量	McFarland No. 0.5
培養	湿度を保ち嫌気下で培養 ※4段以上重ねない
適応菌種	<i>B. fragilis</i> group に対してのみ推奨

### ポイント

ディスク拡散法はCLSIでの嫌気性菌の薬剤感受性測定では推奨されていない理由...寒天平板希釈法と相関がとれない

Etestは、CLSIでは評価していないが、FDAにより嫌気性菌にも適用可能とされている。

謝辞 本ポスターの作成にあたり適切な助言を賜り、また丁寧に指導して下さいました  
岐阜大学科学研究基盤センター 嫌気性菌研究分野 田中香お里先生、林 将大先生に深く感謝申し上げます。

# < 8 > 一から見直す「抗酸菌検査」

## ● 検査所要時間 (turn around time : TAT)

米国CDC (Center for Disease Control and Prevention) による勧奨

- ①採取した検体は**迅速に検査室へ送られること**
- ②迅速検査に関して**最新の検査法を用いること** (蛍光塗抹、液体培養、迅速同定法など)
- ③塗抹検査の結果は**1日以内**に報告すること
- ④結核菌群の培養同定結果を**21日以内**に報告すること
- ⑤薬剤感受性試験の結果を**30日以内**に報告すること
- ⑥検査結果が得られてから**1日以内**に依頼者に報告すること
- ⑦核酸増幅法検査について検体受領から**48時間以内**に報告すること

## ● 検査材料 (品質) と検査回数 (感度・特異度)

### 検査材料と品質

結核の確定診断は感染病巣から結核菌を検出することが最重要。

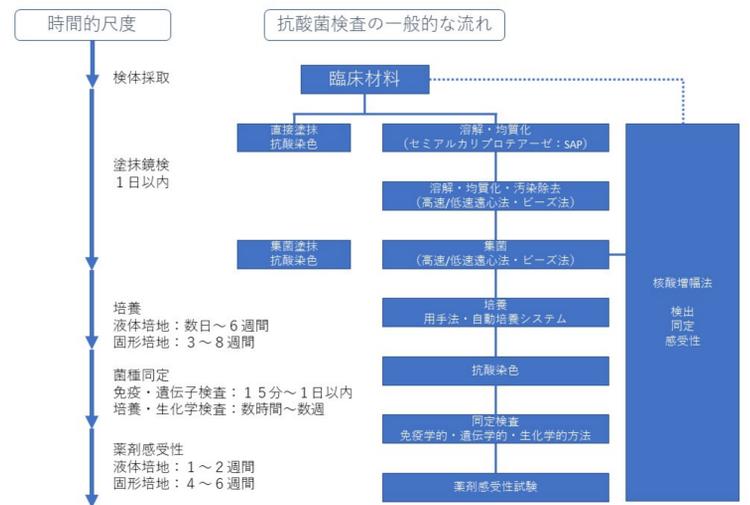
特に結核菌は環境中には存在せずコンタミネーションとは判断されない。病巣部から結核菌をしっかりと検出するための検体採取は正しく行わなければならない。

非結核性抗酸菌は自然界に広く分布するため、非結核性抗酸菌症の診断を行う場合には2～3回以上同一菌を検出することが必要な条件となる。

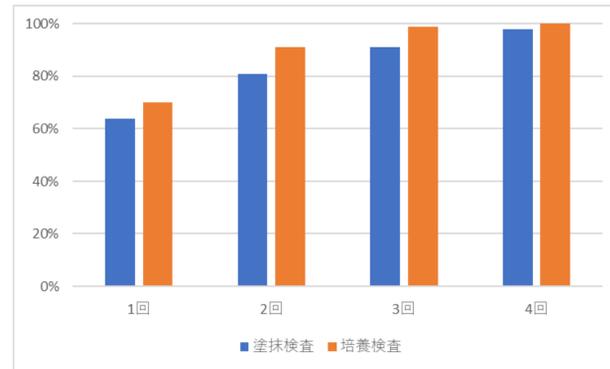
結核症は肺結核と肺外結核とに分類され、肺結核では主に喀痰からの結核菌の検出を行うが、気管支肺胞洗浄液や胃液、糞便も検査材料として採取される。肺外結核や非結核性抗酸菌症では目的菌により採取条件が変わるため医師と微生物検査室との連携が重要である。

### 感度と特異度

結核診断時の喀痰の抗酸菌検査では1日1回、連続して3日間塗抹および培養検査を行うことが推奨されている。



陽性結果の累積百分率



## ● 塗抹検査

検体中の抗酸菌の有無、菌量を調べることを目的とするが、菌種の判別は行えない。結核においては入院・通院治療の判断材料、接触者への感染リスクの評価、治療経過の評価、退院時期の判断となり、非結核性抗酸菌においては診断基準に供する。

記載法	蛍光法 (×200)	チール・ネルゼン法 (×1000)	ガフキー号数
-	0/30視野	0/300視野	G0
±	1～2/30視野	1～2/300視野	G1
1+	2～20/30視野	1～9/100視野	G2
2+	≥20/30視野	≥10/100視野	G5
3+	≥10/1視野	10/1視野	G9

	直接塗抹法	集菌塗抹法
最小検出菌数	5000～10000個/mL	10～数百個/mL
検出感度	35.2～51.4%	74.8～77.7%
前処理時間	約10分	約1時間
	至急時や均等化できない検体	原則としてすべての検体

	チール・ネルゼン法 (Ziehl-Neelsen-Z-N)	蛍光法 (オースミンの染色、アクリジノオレンジ染色)	備考
顕微鏡倍率	1000倍	200倍	
観察視野数	300視野	30視野	
鏡検時間	長い	短い	
検出感度	低い	高い	強拡大で形態確認 Z-N染色で抗酸性確認
必要時間	直接塗抹可	前処理必要	
注意点	弱酸性、部分的抗酸性を示す菌種に注意	繊維が陽性様に見える場合もある菌種が少ないときはZ-N法で確認	

## ● 遺伝子検査 (機種選定のポイント)

結核症と非結核性抗酸菌 (nontuberculosis mycobacteria : NTM) 症の鑑別を迅速に行うことはその後の治療方針の決定や院内感染対策上で非常に重要であり、様々な核酸技術を応用した迅速・簡便かつ高感度な遺伝子検査法が開発されている。遺伝子検査を自施設に導入する際には、以下の項目を考慮し機種の特徴も参考に選択を行うことが重要である。

- ・検体数
- ・結核症病床の有無など自施設での抗酸菌検査の立ち位置
- ・検体前処理工数・時間
- ・感度・特異度
- ・偽陽性を呈する菌種の有無
- ex) GENECUBE における *M. lentiflavum* や *M. genavense*

## ● 培養検査 (固形培地・液体培地の併用)

塗抹検査 (抗酸菌染色) 結果との乖離の際は、安易に死菌と考えず以下の菌種の存在にも注意が必要である。陽性までの培養時間、コロニー形態は同定に重要なヒントとなる。

精度管理	基準	備考
塗抹陽性検体における培養陽性率	≥95%	塗抹・培養陽性検体数 - 雑菌汚染数 塗抹陽性検体数 - 雑菌汚染数
雑菌汚染率	固形培地：2～5% 液体培地：5～10%	

培養における注意点	
至適温度 (30℃)	<i>M. marinum</i> <i>M. malmoense</i> <i>M. conspicuum</i>
至適温度 (42℃)	<i>M. xenopi</i>
長期培養必要 (8週以上)	<i>M. malmoense</i> <i>M. genavense</i>
栄養要求性	<i>M. genavense</i> <i>M. haemophilum</i> 卵や寒天ベース不可

	液体培地	固形培地
感度および迅速性	優れる	液体培地より劣る
コロニー形成	しない	する
菌量把握	できない	可能
雑菌の影響	大きい	回避可能な場合も
価格	卵培地に比して高価	安価

3連痰検査時の併用方法選択肢	
①3回とも液体培地と固形培地を併用	
②2回は液体培地と固形培地を併用、1回は固形培地のみ	
③1回は液体培地と固形培地を併用、2回は固形培地のみ	

## ● 薬剤感受性試験

INHとRFPの両方に耐性をもつ多剤耐性結核 (MDR-TB) や、MDR-TBに加えKMやLVFXなどに耐性を有する超多剤耐性結核 (XDR-TB) が存在するため、高精度の薬剤感受性検査情報は、結核治療上必須といえる。

しかし、CLSIに準拠した市販キットは本邦には存在せず、多くの施設で外部委託されている現状からは、その方法を述べるにとどめる。

また、非結核性抗酸菌に対する薬剤感受性検査については、次の菌種と抗菌薬にのみ関連性が報告されているにとどまる。

- ・MACとCAM
- ・*M. kansasii*とRFP

	ウェルバック培地S	結核菌感受性 ビットスベクトル-SR	ミジットシリーズ	結核菌感受性 PZA液体培地	プロスミック MTB-I	ジェノスカラー	プロスミック NTM	プロスミック RGM
販売会社	日本BCG	極東製薬	日本BD	極東製薬	極東製薬	ニプロ	極東製薬	極東製薬
培地	STC 添加工藤PD培地	STC 添加1%小川培地	Middlebrook 7H9	Middlebrook 7H9	Middlebrook 7H9		Middlebrook 7H9	
所要時間	3～4週間	2～3週間	4～21日	7～14日	7～10日	5～6時間	7日	3～5日・14日
対象薬剤								
INH	○	○	○	○	○	○	SM	IPM
RFP	○	○	○	○	○	○	EB	MEPM
RBT	○	○	○	○	○	○	KM	FRPM
SM	○	○	○	○	○	○	RFP	CAM
EB	○	○	○	○	○	○	RBT	AZM
KM	○	○	○	○	○	○	LVFX	DOXY
EVN	○	○	○	○	○	○	CAM	TOB
TH	○	○	○	○	○	○	TH	AMK
PAS	○	○	○	○	○	○	AMK	LVFX
CS	○	○	○	○	○	○		MFLX
LVFX	○	○	○	○	○	○		STFX
CPFX	○	○	○	○	○	○		LZD
PZA	○	○	○	○	○	○		CLF
								ST
概要	マイクロタイターによる比率法	マイクロタイターによる比率法	MGIT自動読出システムを用いた比率法 (自動判定)	液体培地希釈法	マイクロプレートでの微量液体希釈法によるMIC判定	臨床検体あるいは分離菌を用いたライフロブ・アッセイ	マイクロプレートでの微量液体希釈法によるMIC判定	マイクロプレートでの微量液体希釈法によるMIC判定

## Reference

日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会 (編) . 抗酸菌検査ガイド2016, 南江堂, 東京, 2016

# <9> 一から見直す「精度管理」①総論

平成30年に医療法等の一部改正により各医療機関における精度の確保のために設けるべき基準が明確化されました。なかでも“内部精度管理の実施”について“何を、何処まで、するのか苦慮されていませんか？”

## 「厚生労働省 関係省令の整備に関する省令の施行について」（施行通知）の概要

### 検体検査の品質・精度管理について

○ 現在の検体検査の精度管理には、実施主体ごとに、それぞれ以下に示すような課題がある。

検体検査の実施主体	検体検査の場所	現行の規制
医療機関	医療機関内	品質・精度管理の基準について法律上の規定なし。
委託業者	医療機関内(プランチャラボ)	品質・精度管理の基準について、明確な法律上の規定がなく、受託業者の基準として、一部省令に記載されている。
委託業者	衛生検査所	登録基準に「構造設備、管理組織その他の事項」とあり、精度管理については「その他の事項」として省令委任。

○ 特に遺伝子関連検査の精度管理については、健康・医療戦略推進会議の下に設置されたゲノム医療実現推進協議会「ゲノム情報を用いた医療等の実用化推進タスクフォース」においても指摘を受けている。

**ゲノム情報を用いた医療等の実用化推進タスクフォース意見とりまとめ（平成28年10月19日）**  
 遺伝子関連検査の品質・精度を確保するためには、遺伝子関連検査に特化した日本版ベストプラクティス・ガイドライン等、諸外国と同様の水準を満たすことが必要であり、(中略)法令上の措置を含め具体的な方策等を検討・策定していく必要がある。

○ これらを踏まえ、制度的な対応として、第193回通常国会において、医療法等の一部を改正する法律（平成29年法律第57号）が成立した（公布の日（平成29年6月14日）から起算して1年6月を超えない範囲内において政令で定める日施行）。

### 改正内容

○ 医療機関が自ら実施する検体検査について、品質・精度管理に係る基準を定めるための根拠規定を新設する。（医療法の改正）

○ これに合わせてプランチャラボや衛生検査所に業務委託される検体検査について、精度管理に係る行政指導等の実効性を担保するため、品質・精度管理に係る基準を省令で定める旨を明確化する。（医療法・臨床検査技師等に関する法律の改正）

### 医療機関等が自ら実施する検体検査の精度の確保の方法について

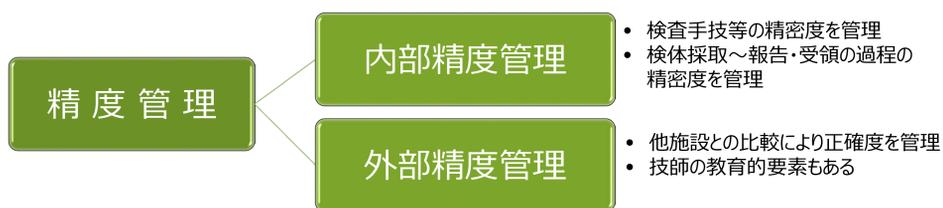
医療機関等が自ら検体検査を実施する場合における精度の確保のために設けるべき基準

歯科医療機関、助産所に対しても適用

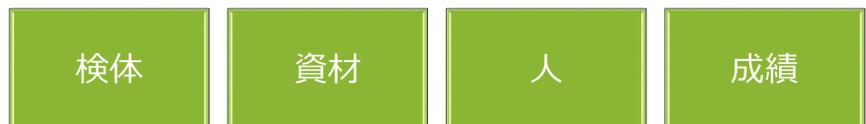
- 精度の確保に係る責任者の配置（医師または臨床検査技師）  
 ※歯科医療機関の場合、歯科医師または臨床検査技師。助産所の場合、助産師。
- 精度の確保に係る各種標準作業書・日誌等の作成  
 <各種標準作業書>  
 検査機器保守管理標準作業書※1  
 測定標準作業書※2  
 <各種作業日誌・台帳>  
 試薬管理台帳  
 検査機器保守管理作業日誌  
 測定作業日誌  
 統計学的精度管理台帳  
 外部精度管理台帳
- 検体検査の精度の確保のために努めるべき事項  
 内部精度管理の実施  
 外部精度管理調査の受検  
 適切な研修の実施

※1 検査に用いる検査機器等の保守管理を徹底するために作成される標準作業書  
 ※2 検査・測定担当者の検査手技の画一化を図り、測定者間の較差をなくすために作成される標準作業書

## 精度管理の分類



## 精度管理の要素



### 1.「検体」の管理

#### 検体の品質

POINT  
 ・まずは適切な検体かを確認  
 ・適切な検法・検管で品質保証  
 ・品質不適合検体はどうするか？

#### 喀痰材料の品質評価法

##### 肉眼的評価(Miller & Jones分類)

分類	性状
M1	唾液・粘液部分のみで膿性部分を含まない
M2	粘液部分の中に少量の膿性部分を含む
P1	膿性部分が全体の1/3以下の量
P2	膿性部分が全体の1/3～2/3の量
P3	膿性部分が全体の2/3以上の量

##### 顕微鏡的評価(Geckler分類)

分類(群)	好中球	扁平上皮細胞
1	<10	>25
2	10～25	>25
3	>25	>25
4	>25	10～25
5	>25	<10
6	<25	<10

※Geckler 5群は口腔内上皮細胞の存在が少な(良質)な痰

#### Bristol Stool Scaleによる便の性状分類

※CDTキシン検査にはBS5以上を対象とすることが推奨されている

### 2.「資材」の管理

#### 資材管理

POINT  
 1. 相地の管理  
 2. 染色液・試薬の管理  
 3. 各種機器の管理  
 有効期限・使用方法・管理項目の遵守が重要！

#### 温度監視システム

#### 標準温度計

#### 遠心器用回転計測器

### 3.「人」の管理

#### 人的管理

POINT  
 1. 適正な人数のスタッフを配置する  
 2. 業務をマニュアル化し、全スタッフ遵守させる  
 3. 要員(スタッフ)の教育

#### 力量評価表の活用

#### 新入職者・新規配属者研修プログラム

#### 施設内プライドサーベイでの技師間差是正

当院における実施例

- 部門の管理者が日常的に検査より有意な事象を準備する
- 全スタッフに対し出題  
 ①全スタッフが自身の日常検査項目に基づいて回答をもらう  
 ②管理職は結果を回収する
- 評価・修正  
 ①統計台を要領し、技師間の有無を確認する  
 ②全スタッフに通知・解説し、その記録を残す  
 ③全スタッフに通知・解説し、その記録を残す

※約菌の技師間差是正を目的とし、以降の検査工程を進める

### 4.「成績」の管理

#### 成績管理

POINT  
 ・可能な限り成績報告時に他技による確認を！  
 ・検査技師の認識を深めよう！

#### 結果判定マニュアルの配備

#### 自施設のアンチバイogramを利用して、匿名同定・抗菌薬感受性検査成績の精度を確保

#### 細菌検査システムによる結果のチェック機能およびバニックバリユールに対するアラート機能

# <9> 一から見直す「精度管理」② 実例

## 内部精度管理の実例 ～ISO15189取得 市中急性期病院の例～

### 精度管理菌株を用いた内部精度管理の1例

#### 1) 菌株準備

- ① *S. aureus* (ATCC 25923)
- ② *E. faecalis* (ATCC 51299)
- ③ *S. pneumoniae* (ATCC 49619)
- ④ *H. influenzae* (ATCC 49247)
- ⑤ *E. coli* (ATCC 25922)
- ⑥ *P. aeruginosa* (ATCC 27853)

#### 2) 測定

- ① 2回/月(感受性プレートのロット変更時が望ましい) 日常検査で使用する培地を用いて培養する
- ② 培養判定、コロニーよりグラム染色、同定検査・抗菌薬感受性試験

#### 3) 評価・是正

- ① 管理許容幅と比較する
- ② 乖離が認められれば、原因究明・是正をする
- ③ 全スタッフに周知・徹底し、その記録※1を残す

### 塗抹検査における内部精度管理の例①(月例技師間目合わせ)

#### 1) 標本準備

- ① 1回/月の頻度にて実施する
- ② 担当者は臨床検体より標本を準備し、意図する画像を保存する

#### 2) 顕鏡

全スタッフが個別に顕鏡し、結果を検査システム内の専用ツール※2に入力する

#### 3) 評価・是正

- ① 担当者は全員分の結果をまとめ検討会までに資料を作成する
- ② 全スタッフによる検討会を実施し、技師間差が確認されれば保存画像または標本を再度顕鏡し是正を図る



精度管理検討会議の様子



細菌検査システムにおける精度管理ツール※2



精度管理用塗抹標本供覧の様子

### 内部精度管理記録※1の1例

- 細菌検査システムにおける精度管理ツールにて運用
- 本記録表もワンクリックにて出力が可能

項目	項目名	項目値	項目名	項目値	項目名	項目値
検体情報	検体ID	ATCC_25923	検体名	<i>S. aureus</i>	検体種	グラム陽性球菌
	検体ID	ATCC_51299	検体名	<i>E. faecalis</i>	検体種	グラム陽性球菌
	検体ID	ATCC_49619	検体名	<i>S. pneumoniae</i>	検体種	グラム陽性球菌
培養結果	培養結果	陽性	培養結果	陽性	培養結果	陽性
	培養結果	陽性	培養結果	陽性	培養結果	陽性
	培養結果	陽性	培養結果	陽性	培養結果	陽性
同定検査	同定検査	一致	同定検査	一致	同定検査	一致
	同定検査	一致	同定検査	一致	同定検査	一致
	同定検査	一致	同定検査	一致	同定検査	一致
抗菌薬感受性試験	抗菌薬感受性試験	一致	抗菌薬感受性試験	一致	抗菌薬感受性試験	一致
	抗菌薬感受性試験	一致	抗菌薬感受性試験	一致	抗菌薬感受性試験	一致
	抗菌薬感受性試験	一致	抗菌薬感受性試験	一致	抗菌薬感受性試験	一致

精度管理菌株を用いた同定検査  
抗菌薬感受性試験

精度管理菌株を用いた各種培地での培養

塗抹検査の技師間差是正のための目合わせ

管理者評価

### 塗抹検査における内部精度管理の例②(日常の管理)

#### 1) 評価基準の策定

グラム染色において以下の逸脱不可の5つのポイントを設定※3

- ① 標本の肉眼的所見より1ポイント
- ② 顕微鏡下における所見より4ポイント

#### 2) 運用方法を決定する

- ① 日常検体の初発染上り標本にて評価する
- ② Point①～⑤すべてに逸脱がなければ良好とする
- ③ 記録表※4に結果を残す

※以下の評価基準・精度管理記録表は顕微鏡下引き出しに常設



視覚的に分かりやすい見本を用意

項目	項目名	項目値	項目名	項目値
検体情報	検体ID	ATCC_25923	検体名	<i>S. aureus</i>
	検体ID	ATCC_51299	検体名	<i>E. faecalis</i>
	検体ID	ATCC_49619	検体名	<i>S. pneumoniae</i>
培養結果	培養結果	陽性	培養結果	陽性
	培養結果	陽性	培養結果	陽性
	培養結果	陽性	培養結果	陽性
同定検査	同定検査	一致	同定検査	一致
	同定検査	一致	同定検査	一致
	同定検査	一致	同定検査	一致
抗菌薬感受性試験	抗菌薬感受性試験	一致	抗菌薬感受性試験	一致
	抗菌薬感受性試験	一致	抗菌薬感受性試験	一致
	抗菌薬感受性試験	一致	抗菌薬感受性試験	一致

問題なければ“日付”と“O”を書くのシンプルな運用

グラム染色における日常評価基準※3

内部精度管理記録表※4

Q. 精度管理に使うATCC標準菌株は一度購入すれば恒久的に使用できますか？また、どの様に管理すればよいですか？

A. 運用方法の1例をお示します。

1. 凍結乾燥品を一次培養し、マイクロバンクなどに小分けします。
2. 二次培養した菌株を内部精度管理に使用する。

※ATCC株(凍結乾燥品)の使用期限はありますが、それを小分け凍結したもの使用期限は明確にはありません。  
-50℃で1年間、-70℃以下で長期可能と言われています。

Q. 培地等の精度管理についてメーカー試験成績書での代用は可能ですか？

A. 厳密には試験成績書は製造段階での試験成績であり、出荷後の精度は担保されておりません。

Q. 抗酸菌塗抹検査の精度管理はどの様にすれば良いですか？

A. 要員への暴露・感染防止に配慮したうえで、1例として非結核性の臨床検体やATCC標準菌株を用いて固定標本を準備する管理手法があります。また、市販品の精度管理用スライドも販売されております。