トピックス

Ⅲ. 肺炎診断の進歩と実際

1. 喀痰検査はどこまで有用か？

徳江 豊

要 旨

喀痰塗抹検査は、手技が簡便で迅速性に富み、原因菌の推定が可能であるので、肺炎などの感染症の初期治療における抗菌薬選択の重要な指標となりうる。そのためには診断価値の高い質の良い検体を採取することが肝要であり、培養検査の結果と総合的に判断することで、互いの長所・短所を相補的に補完し臨床に有益な情報を提供する。しかし、実施者の経験によって手技や結果の解釈が異なる場合があり、今後の教育的・研究的評価が必要である。

〔日内会誌 100：3510～3515, 2011〕

Key words グラム染色, Miller & Jones分類, Geckler分類, 16S rRNA遺伝子

はじめに

肺炎の診断は特有の臨床像（咳嗽，発熱，喀痰，胸膜由来の胸痛など）に基づいて行われ，通常胸部X線検査による新しい浸潤影の出現などの画像所見で確認される。高齢者では肺炎の症状が潜在性であったり欠如したりするので，疑わしい場合には早めに胸部画像検査をする方がよいとされる。但し，肺炎様の臨床症状ならびに胸部異常陰影を呈する疾患は数多く存在するので，肺炎との鑑別や陰影の性状，拡がりなどを詳細に知るためにCT検査は有用である。同時に，適切な化学療法を行うには原因微生物の同定と薬剤感受性検査が重要となる。しかし原因微生物の結果が得られるのには数日

表 1. 原因微生物の頻度

市中肺炎	院内肺炎
肺炎球菌	腸内細菌属
インフルエンザ菌	黄色ブドウ球菌
モラクセラ・カタラーリス	緑膿菌
クラミジア・ニューモニエ	レジオネラ
マイコプラズマ	ブドウ糖非発酵菌
レジオネラ	誤嚥（嫌気性菌）

を要するため，実際の初期治療には経験的治療が行われている。抗菌薬の選択に際しては，肺炎における原因微生物の統計学的頻度（表 1）に基づいて行われるべきであるが，塗抹検査，抗原検査などの迅速検査の結果を参考にすることでより精度の高いものが期待できる。そのため，この喀痰検査を施行するに際しては，検体の品質

群馬大学附属病院感染制御部

Diagnosis and treatment of pneumonia—Progress of the guidelines for treatment of pneumonia in Japan. Topics: III. Progress and current status of the diagnosis of pneumonia: 1. Usefulness of sputum examination.

Yutaka Tokue: Infection Control and Prevention Center, Gunma University Hospital, Japan.

表 2. 喀痰の肉眼的・顕微鏡的品質評価

肉眼的評価報 (Miller & Jonesの分類)

分類	喀痰の性状
M1	唾液, 完全な粘性痰
M2	粘性痰の中に膿性痰が少量含まれる
P1	膿性痰で, 膿性部分が 1/3 以下
P2	膿性痰で, 膿性部分が 1/3 ~ 2/3
P3	膿性痰で, 膿性部分が 2/3 以上

顕微鏡的評価法 (Geckler分類)

分類 (群)	細胞数/1 視野 (100 倍鏡検)	
	白血球	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	<25

管理が肝要である。

1. 検体採取の注意点

患者検体からの病原体の検出は感染症診断において重要である。微生物検査に供する検体の採取法と保存法は検査結果に大きな影響を及ぼすので正しい方法で採取し、検査に適した良質なものを検査しなければならない。抗菌薬投与前に採取すること、乾燥を避け、適切な環境で保存すること、患者の協力を得て良質な検体を採取することなどが大切である。呼吸器感染症患者において、喀痰検体を用いる場合は上気道や口腔内常在菌による検体汚染の危険性が問題となる。喀痰の品質管理法として、肉眼的評価 (Miller & Jones分類) と顕微鏡的評価 (Geckler分類) を応用して微生物検査に適した検体かどうか判断する (表 2)。前者では M1, M2 の検体は唾液成分が多く、通常細菌検査には適さないとされ、膿性部分を選んで検査に使用する。後者では 1~3 群は唾液の混入が多く検査に適さない。通常は好中球が多く、上皮細胞が少ない 4

ないし 5 群の検体が細菌検査に用いられる。但し、白血球減少患者においては 6 群を呈することもあり、病態に応じて判断する必要がある。

感染症の治療において、原因菌を明らかにするための診断検査が必要なことは明らかであるが、そのような検査を実施する本来の目的は、その検査結果によって個々の患者に対する抗菌薬治療を変更する必要があることである。既に投与されている抗菌薬スペクトルをさらに広域または狭域に変更することであり、患者にとって最も有用な治療の変更は、通常の経験的治療でカバーできない真菌、結核などの特殊な病原微生物や耐性菌に対する治療薬の拡大や変更である。不適切な抗菌薬治療を行うと死亡率や臨床的効果に対して負のリスクが増加することが知られている。狭域なスペクトルの抗菌薬変更が可能になれば、薬剤の副作用および耐性菌出現のリスクを抑制する可能性がある。

2. 喀痰検査の意義・問題点

グラム染色による喀痰塗抹検査は、手技が簡便で迅速性に富み、その情報は検体の品質評価だけではなく原因菌の推定が可能であるので、肺炎などの感染症の初期治療における抗菌薬選択の重要な指標となりうるとされるが、実施者の経験によって手技や結果の解釈が異なる場合がある。さらに多くの市中肺炎患者から採取された喀痰検体のほとんどは質が悪く、また、培養検査の陽性率が低いことも問題である。喀痰培養の陽性率はさまざまであり、培養検査の手順の質 (喀痰採取、輸送、迅速な処理、検査所見の解釈力など) により大きく影響される。

市中肺炎に関して、実際の臨床では経験的抗菌薬治療で十分効果が期待できるとされ、市中肺炎を有する救急患者 768 例を対象にした prospective 研究でも、原因菌を同定する検査を施行せずにおこなった経験的抗菌薬治療で十分効果

トピックス

があり、治療失敗は2.2%と低かったと報告されている¹⁾。さらに、入院市中肺炎患者303例を対象にした無作為比較試験においても、経験的抗菌薬治療は病原菌を標的とする治療との間で、入院期間、死亡率、治療効果において統計学的有意差がないことが示された²⁾。この試験では経験的治療群で消化器症状をはじめとする有害事象の頻度が高かったが、これは使用された抗菌薬（エリスロマイシン）特有のものとされている。また、ICUへ入室した患者のみの解析では原因菌を標的とした治療群で死亡率が低かったことから、全体としては有益性が認められないものの個々の患者にとって検査診断の必要がないという意味ではなく、診断意義の高い患者を特定して実施することが推奨されている。

下気道感染症における喀痰検査の有用性を評価した研究によると、249例の症例から提出された381検体のうち、27検体は塗抹検査陽性であるが培養ではnormal floraであったとされ、さらに256検体は塗抹検査に不適切な質であったか、培養で気道由来病原菌を得られなかった。培養陽性であった354検体のうち182検体(52%)は肺炎の証拠のない患者からの検体であった。多くは膿性ではなかったが、このうち71検体は膿性であった。グラム染色と喀痰培養検査の感度60%、特異度60%、陽性予測率40%、陰性予測率75%と判定された³⁾。さらに、血液培養で肺炎球菌性肺炎が証明された患者105例を対象に行った検討では、喀痰のグラム染色でグラム陽性球菌を認めたのは31%で、喀痰培養検査で肺炎球菌陽性となったのは44%であった。31症例は喀痰検査が提出されておらず、16例は検体不良と判定され培養検査されていなかった。こうした症例を除いても、グラム染色と培養検査の感度はそれぞれ57%と79%であったと報告された⁴⁾。抗菌薬治療を24時間以上実施した症例を除くと、グラム染色では63%が、培養検査では86%が陽性と判定された。抗菌薬投与前に適

切な検体を採取する必要性が再認識された。

200床の専門の細菌検査技師のいない病院において、市中肺炎と診断された116例の患者を対象に、グラム染色は院内で、培養検査は外部検査機関に依頼しておこなった喀痰検査の診断的意義を検討した。喀痰検体が得られた患者は42例(36%)であり、このうち検査に適すると評価された検体は23例(20%)、陽性検体は10例(9%)で、結果が治療に直結したのはわずか1例であった⁵⁾。

さらに、適切な検体が得られた患者で検討したメタ解析では、グラム染色による原因菌の検出率が低かった⁶⁾。また、市中肺炎による入院患者1,669例のうち、グラム染色で明らかな形態を確認できる良質な検体が得られたのはわずか14%であったと報告された⁷⁾。

喀痰検体は患者の40%以上で採取できなかったり、タイミングよく採取できなかったりするため^{2,7)}、気管吸引物、気管支内視鏡採取検体を使用すると培養陽性率は高くなるものの、抗菌薬治療開始後に採取した検体は信頼性が低く、検査結果の解釈は慎重にする必要がある。気道検体からの積極的な培養検査の最もよい適応は、重症市中肺炎患者である。重症市中肺炎の原因菌は微生物学的分布が広域で、抗菌薬の効果発現に時間を要する。気管吸引物は患者の協力がなくても可能であり、より確実に下気道から検体を採取でき、口腔・咽頭常在菌の混入するおそれが少ない。気管内挿管してすぐに検体を採取すれば、院内での気管内定着も問題とならない。重症市中肺炎により気管内挿管された患者では、気管吸引検体のグラム染色と培養検査が勧められる。

3. ガイドラインにおける位置付け

2005年日本呼吸器学会成人市中肺炎診療ガイドラインでは⁸⁾、原因菌として最も頻度の高い肺

炎球菌性肺炎を早期に診断する観点から、外来での迅速診断検査として肺炎球菌尿中抗原検査を喀痰検査よりも重要視している。入院の場合は、肺炎球菌はもちろんレジオネラの迅速診断検査を、グラム染色、喀痰培養とともに推奨している。

2008年日本呼吸器学会成人院内肺炎診療ガイドラインでは⁹⁾、下気道検体の採取を原則としているが、必ずしもすべての症例で実施できないことから、口腔内常在菌による汚染の影響を考慮すべきであるとしている。さらに、多くの施設が半定量培養検査で行われており菌数を推測しながら原因菌かどうか評価しており、分離培養された菌がすべて原因菌であるかの判断も困難な症例も多いことが指摘されている。人工呼吸器関連肺炎を疑う症例で、72時間以内に抗菌薬の変更・追加が行われていない症例で、下気道から有意な細菌が分離されない場合には肺炎の存在をほぼ否定することができる。また、喀痰検査で黄色ブドウ球菌やグラム陰性菌が分離されない場合には、これらの病原体の関与が低いと考えて狭域な抗菌薬の選択、あるいは抗菌薬のde-escalationを考慮すべきであるとされている。

2007IDSA/ATS市中肺炎ガイドラインでは¹⁰⁾、外来のすべての患者に対して原因菌判定のための検査は必要でないとしている。我が国と医療保険制度をはじめとする医療事情の差を反映していることに加え、市中肺炎の外来治療に関するretrospective試験において、原因菌を同定するための検査が行われることが少なく、それでもほとんどの患者では経験的抗菌薬治療で十分効果があることが示されているためである。さらに、入院であっても患者背景によって、血液検査、喀痰培養、尿中抗原などの迅速診断検査等、必要な検査が推奨されている。このガイドラインでは、市中肺炎外来患者において、原因菌を同定するための一般診断検査の実施は任意であ

図1. 16S rRNA解析法の概要

り、特有な臨床状況の認められる入院患者からは、治療開始前に血液培養検体や染色・培養のための喀痰検体を採取すべきであるが、このような状況が認められない患者では検体の採取は任意とする、と記載されている。さらに、治療開始前の喀痰のグラム染色・培養検査は良質の検体を採取でき、検体の採取・輸送および処理の質が一定の基準を満たす場合のみ実施すべきであり、挿管中の患者では、気管吸引物を採取すべきであるとまとめられている。

4. 喀痰検査への遺伝子検査の応用

メタゲノミクスと呼ばれる、分子生物学的手法により微生物を検出する方法を用いた環境や生態の細菌叢の解析で、通常の培養可能な微生物の何倍もの培養不能な微生物が存在していることが判明している。われわれは、病院感染の領域で分子生物学的微生物同定法を応用し、培養法と比較しつつ培養不能な微生物を含めて、16SrRNA遺伝子を標的とした解析を行っている。喀痰などの検体から、通常の一般細菌培養と同時にDNA抽出をおこない、16SrRNA遺伝子を標的としたuniversal primerを用いてPCRを施行しライブラリーを作成する。rRNA遺伝子断片をクローニングした後、シーケンスを決定しGenBank等のデータベースにて相同性を比較して微生物の同定を行っている（図1）。

トピックス

年齢：66歳
性別：男性
病名：肺腺癌
現病歴：
3年前に肺癌の診断となり、6コース化学療法を施行。1カ月前に肺炎合併。その後、肺膿瘍となり抗菌薬投与を続けるも軽快増悪を繰り返していた。

図2. 症例

このなかで、通常の細菌検査では同定不能であった臨床検体に応用した例について紹介する。症例は66歳、男性。肺腺癌の診断に関連病院に入院中で、化学療法を継続して施行されている経過中に肺炎を合併し、その後肺膿瘍を形成した症例である（図2）。抗菌化学療法も繰り返されており、軽快増悪を繰り返していた。Geckler分類の5群の良質な検体による喀痰塗抹検査では、グラム陽性球菌3+、グラム陰性桿菌3+を認めたが、喀痰培養検査ではグラム陽性の連鎖球菌属のみ陽性であった。同じ検体を使用し16SrRNA遺伝子の解析を施行したところ、抽出した5個のクローンすべてから、*Fusobacterium nucleatum*と相同性の一致する遺伝子配列が認められた。*Fusobacterium*属はグラム陰性の嫌気性桿菌で、塗抹検査と矛盾のないものであり、培養法で検出できなかった菌種の同定が可能であった症例である。遺伝子検査法は実際に臨床応用するまでにはまだまだ多くの問題点を克服しなければならぬが、適応を見極め利用することで、今後新たな情報が得られる可能性を有しており、従来の検査法では判明していない感染症の病態解明につながることを期待している。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

文 献

- 1) Malcolm C, Marrie TJ: Antibiotic therapy for ambulatory patients with community-acquired pneumonia in an emergency department setting. *Arch Intern Med* 163: 797-802, 2003.
- 2) van der Eerden MM, et al: Comparison between pathogen directed antibiotic treatment and empirical broad spectrum antibiotic treatment in patients with community-acquired pneumonia: a prospective randomized study. *Thorax* 60: 672-678, 2005.
- 3) Lentino JR, Lucks DA: Nonvalue of sputum culture in management of lower respiratory tract infections. *J Clin Microbiol* 25: 758-762, 1987.
- 4) Musher DM, et al: Diagnostic value of microscopic examination of gram-stained sputum and sputum cultures in patients with bacteremic pneumococcal pneumonia. *Clin Infect Dis* 39: 165-169, 2004.
- 5) Ewig S, et al: Applying sputum as a diagnostic tool in pneumonia Limited yield, minimal impact on treatment decisions. *Chest* 121: 1486-1492, 2002.
- 6) Reed WW, et al: Sputum gram's stain in community-acquired pneumococcal pneumonia: a meta-analysis. *West J Med* 165: 197-204, 1996.
- 7) Garcia-Vazquez E, et al: Assessment of the usefulness of sputum culture for diagnosis of community-acquired pneumonia using the PORT predictive scoring system. *Arch Intern Med* 164: 1807-1811, 2004.
- 8) 日本呼吸器学会呼吸器感染症に関するガイドライン作成委員会：成人市中肺炎診療ガイドライン。日本呼吸器学

- 会，東京，2007.
- 9) 日本呼吸器学会呼吸器感染症に関するガイドライン作成委員会：成人院内肺炎診療ガイドライン．日本呼吸器学会，東京，2008.
- 10) Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society : Consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adult. Clin Infect Dis 41 : S27-72, 2007.
-