

## 末梢血白血球中の細菌検出キット (in situ hybridization 法) の 菌検出に対する有用性

<sup>1)</sup> 信州大学医学部内科学第一講座, <sup>2)</sup> 同 臨床検査部, <sup>3)</sup> 長野赤十字病院呼吸器内科,

<sup>4)</sup> 伊那中央病院呼吸器内科, <sup>5)</sup> ミロクメディカルラボラトリー

角田美佳子<sup>1)</sup> 小泉 知展<sup>1)</sup> 安尾 将法<sup>1)</sup> 津島 健司<sup>1)</sup>  
花岡 正幸<sup>1)</sup> 久保 恵嗣<sup>1)</sup> 本田 孝行<sup>2)</sup> 山崎 善隆<sup>2)</sup>  
小山 茂<sup>3)</sup> 塚平 晃弘<sup>4)</sup> 柘植 和恵<sup>5)</sup> 玉井 清子<sup>5)</sup>  
柳沢 英二<sup>5)</sup>

(平成 17 年 11 月 4 日受付)

(平成 18 年 8 月 22 日受理)

Key words: Respiratory tract infection, in situ hybridization, sepsis

### 要 旨

呼吸器感染症を中心とした患者を対象に, in situ hybridization 法による末梢血白血球中の細菌核酸同定検査法の菌検出に対する有用性を検討した. 当院入院患者, 関連施設入院中の患者で, 38 度以上の発熱をきたしセプシスまたは呼吸器感染が疑われた症例に対し, 血液培養と同時に本検査法のため末梢血を採取し結果を比較検討した. 総検体数は 46 検体, 臨床診断は SIRS の診断基準を満たし, 感染が疑われた症例 (以下セプシスと略) 20 例, 肺炎, 膿胸, 胸膜炎などの呼吸器感染症 26 例であった.

46 検体中, in situ hybridization 陽性例は 19 検体 (41.3%) であった. 血液培養陽性例は 46 検体中 8 検体 (17.4%) であり in situ hybridization 法で有意に高い陽性率を示していた. 特に呼吸器感染症では, in situ hybridization 法にて有意に高い陽性率を示していた. さらに, in situ hybridization 法陽性例において喀痰培養の結果とそれぞれ異なった菌種の検出を認める結果を得た. この結果は, 院内発症の呼吸器感染症患者では, 高率に菌血症に陥っている可能性および複数菌感染症を呈している可能性が示唆された. 本検査法は, 感染症の起因菌同定の補助診断としては重要な検査法になりえると考えられた.

[感染症誌 81: 20~25, 2007]

### 序 文

感染症の診断と治療には起因菌の同定が必須である. しかしながら, 各種培養検体の検出率は決して良好とは言えない. 特に敗血症患者を対象とした血液培養の検出率は約 10% 前後との報告がある<sup>1)~3)</sup>. また重症肺炎の起因菌同定に血液培養併用の有用性も指摘されているが, その検出率はさらに低い<sup>4)5)</sup>. このような低い検出率には, 検体提出時すでに抗菌薬の使用が開始されていることも一因である. このようなことから, 従来の培養以外に, さらなる補助的検査法の開発が必要と考えられる. 近年, 迅速検査としてラテックス凝集反応, 酵素免疫測定法<sup>6)</sup>, 遺伝子検査法<sup>7)</sup>など培養法によらない検査法が各種考案されている<sup>1)</sup>. その中で

in situ hybridization 法による末梢血白血球中の細菌核酸同定検査法 (Hybrisep) が臨床応用されてきている. しかし本法の臨床的有用性の検証はまだ十分とは言えない.

今回, 呼吸器感染症を中心とした対象患者に対する本検査法の特長に菌検出率に対する意義を, 血液培養ないしは喀痰培養法等と比較検討したので報告する.

### 対象と方法

2003 年 12 月から 2005 年 3 月の期間において, 当科および当院入院患者, 関連施設入院中の患者において 38 度以上の発熱をきたし, セプシスまたは呼吸器感染が疑われた症例に対し, 血液培養と同時に末梢血を採取した. さらに, 感染局所と推定される部位からも同時に検体採取し, 結果を比較検討した.

男性は 30 名, 女性 12 名で延べ総検体数は 46 検体

である。平均年齢は 59.6 (range : 19~88) 歳。臨床診断は、セプシス 20 例、肺炎、膿胸、および胸膜炎といった呼吸器感染症 26 例である。セプシスは、米国胸部疾患学会と、米国集中治療医学会により共同定義された、全身性炎症反応症候群 (SIRS : Systemic Inflammatory Response Syndrome) の診断基準<sup>9)</sup>を満たし、感染症が疑われた症例とした。肺炎は、日本呼吸器学会「呼吸器感染症に関するガイドライン」成人院内肺炎診療の基本的考え方による診断基準を用いた<sup>9)</sup>。胸膜炎、膿胸に関しては、臨床診断、画像的診断により診断した。さらに acute respiratory distress syndrome (ARDS) に陥った症例は、American-European Consensus Conference (1994) による診断基準を用いた<sup>10)</sup>。

血液以外の検体採取部位は、喀痰が 23 例、尿が 1 例、創部が 4 例、非開放性膿が 1 例、気管支洗浄液が 3 例、胸水が 2 例、中心静脈留置カテーテルが 4 例、胸腔トロッカーカテーテルが 1 例、膀胱カテーテルが 1 例であった。

各症例の検体採取時の検査データは、平均末梢白血球数、11,090/ $\mu$ L (range : 1,800~35,790/ $\mu$ L) (セプシス疾患 : 9,964/ $\mu$ L (range : 1,800~26,500/ $\mu$ L) 呼吸器疾患 : 11,956/ $\mu$ L (range : 3,000~35,790/ $\mu$ L) であり、CRP は 11.7mg/dL (range : 1.01~30.35mg/dL) (セプシス疾患 : 11.2mg/dL (range : 1.01~25.9mg/dL), 呼吸器疾患 : 12.0mg/dL (range : 2.15~30.35mg/dL) であった。

今回用いた in situ hybridization 法のキットは Hybrisep (扶桑薬品工業、大阪) を用いた。この in situ hybridization 検査法にて診断可能な菌種は Table 1 に示すように、*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, 大腸菌群 (*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*) の 5 種類である。なお、この 5 種類の菌種の略語を同表に示し、他の採取部位からも同菌が検出された場合は本略語を用いて表記した。in situ hybridization 検査法の検査手技は大きく 2 つに分けられ、患者の末梢白血球を採取し、白血球中に貪食された細菌の DNA を抽出し、スライドグラス上に固定するまでの処理過程と、前処理 (菌体の DNA を hybridization するまでの薬品処理) と細菌 DNA の変性、その後 hybridization を行い、発色させ顕微鏡的判定をする処理過程に分けられる<sup>11)12)</sup>。今回われわれは血液採取から固定に相当する標本作成までと、引き続き、菌同定までの検査手技を分割して検体処理を行った。

なお、本症例における有意差検討は  $\chi^2$  検定を用いて行った。

Table 1 Bacterial species can be detected by in situ hybridization with Hybrisep

Bacterial species	Abbreviation
<i>Staphylococcus aureus</i>	SA
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	SE
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PA
<i>Enterococcus faecalis</i>	EF
Colibacillus group	EK
<i>Escherichia coli</i>	
<i>Enterobacter cloacae</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	

## 成 績

全対象患者の菌陽性率を Table 2 にまとめ、Table 3 にセプシス症例および Table 4 に呼吸器感染症各症例における結果を示した。

セプシス症例 (20 検体) において、in situ hybridization 法および血液培養での陽性症例をそれぞれ 6 検体 (30.0%) に認め、その比率は同等であった。症例ごとに検討すると (Table 3)、症例 1・2・3 において血液培養と in situ hybridization 法による検出された菌種が一致していた。しかし、症例 3 では in situ hybridization 法にて *S. aureus* も陽性であり、大腸菌群と合わせて陽性を示した。症例 4 では in situ hybridization 法にて大腸菌群が陽性に対して、血液培養で *E. faecalis* が陽性であることから、両者の結果に解離が認められた。また同症例では、喀痰培養で *E. faecalis* が検出されている。症例 7・8 においては、血液培養および感染局所からの検出菌が同一であったが、in situ hybridization 法にて検出されていない。また症例 15 においては、喀痰および創部からの培養では *S. aureus* が陽性であったが、in situ hybridization 法および血液培養では未検出であった。症例 4 では抗菌薬使用中でも血液培養陽性の結果が得られた。

呼吸器感染症症例 (26 検体) において、in situ hybridization 陽性症例は 26 検体中 13 検体 (50.0%) に認められ、血液培養陽性 2 検体 (7.7%) に比し、有意に高値であった。血液培養陽性例は in situ hybridization 法でも同一菌は検出されず、両検査法の結果が一致した症例は認められなかった (Table 4)。症例 21 においては血液培養では *S. epidermidis* 陽性、in situ hybridization 法では大腸菌群陽性と結果に解離が認められた。さらに、喀痰、カテーテル等の感染局所からの検出菌も、in situ hybridization 法にて同一菌は認められなかった。症例 22・24・25・35・36・37・38・39・40 の喀痰培養の陽性菌は、in situ hybridization 法でも検出される菌種であるが、in situ hybridization 法では未検出または別の菌種が検出されてい

Table 2 Frequency of positive pathogen in blood culture and in situ hybridization

Cases (Samples)	ISH (+)	Blood culture (+)	ISH (+) and Blood culture (+)	ISH (+) and Blood culture (-)	ISH (-) and Blood culture (+)
All (46) (%)	19/46 (41.3%) *	8/46 (17.4%)	5/46 (10.9%)	14/46 (30.4%)	3/46 (6.5%)
Sepsis (20) (%)	6/20 (30.0%)	6/20 (30.0%)	4/20 (20.0%)	2/20 (10.0%)	2/20 (10.0%)
Respiratory infectious disease (26) (%)	13/26 (50.0%) *	2/26 (7.7%)	1/26 (3.8%)	12/26 (46.2%)	1/26 (3.8%)

ISH : in situ hybridization

\* vs blood culture

Table 3 Positive pathogen results for each patient with sepsis

disease or attendant disease	In situ Hybridization					blood culture	other culture	antibiotic
	SA	SE	PA	EF	EK			
1 chronic renal failure (in hemodialysis)	+	-	-	-	-	MRSA		(-)
2 acute obstructive suppurative colangitis, endotoxin shock	-	-	-	-	+	EK (E.coli)		(-)
3 lung cancer, cancerous meningitis	+	-	-	-	+	EK ( <i>K. pneumoniae</i> )	central venous catheter: EK ( <i>K. pneumoniae</i> , <i>E.coli</i> ), sputum: (-)	(-)
4 SLE, renal failure, heart failure, gastric cancer, hepatoma	-	-	-	-	+	EF	sputum : <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , EF	(+)
5 endotoxin shock	+	-	-	-	-	(-)	sputum : EK ( <i>E.coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> )	(-)
6 malignant lymphoma	-	-	-	-	+	(-)		(-)
7 pyelonephritis	-	-	-	-	-	EK ( <i>E.coli</i> )	urine : EK ( <i>E.coli</i> ), sputum : <i>H. parainfluenzae</i>	(-)
8 burn	-	-	-	-	-	MRSA	wound : MRSA	(-)
9	-	-	-	-	-	(-)		(-)
10 heart failure	-	-	-	-	-	(-)		(-)
11 liver cirrhosis	-	-	-	-	-	(-)	sputum : (-)	(-)
12 interstitial pneumonia, diabetes mellitus	-	-	-	-	-	(-)		(-)
13 lung cancer, cerebral hemorrhage	-	-	-	-	-	(-)		(-)
14 tongue cancer	-	-	-	-	-	(-)	central venous catheter : EF, PA	(+)
15 burn	-	-	-	-	-	(-)	wound : MRSA, sputum : MRSA, PA	(+)
16 acute colangitis	-	-	-	-	-	(-)		(-)
17 central venous catheter infectious disease	-	-	-	-	-	(-)		(+)
18	-	-	-	-	-	(-)		(-)
19 uterus cancer	-	-	-	-	-	(-)	wound : (-)	(-)
20 burn	-	-	-	-	-	(-)	wound : SA	(+)

Clinical diagnosis : sepsis in cases 1-20.

Abbreviations : MRSA, *methicillin resistant staphylococcus aureus* ; *E.coli*, *Escherichia coli* ; *K. pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* ; *H. parainfluenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*

た. なお, 呼吸器感染症症例において, in situ hybridization 法陽性 13 例中, 6 症例は抗菌薬投与中の本検査施行であっても陽性を示した.

### 考 察

in situ hybridization 法による起因菌の検出には, 抗菌薬の影響を受けないこと, また血液培養と比較しコンタミネーションが少ないこと等の利点を認める一方で, 同定菌種が限定されることが欠点とされる<sup>11)</sup>. よっ

て, 対象とする感染症疾患によってその臨床の有用性は当然異なると考えられる. 今回呼吸器内科領域が扱う, 呼吸器感染症およびセプシスが疑われる患者を対象にこの in situ hybridization 法の菌検出率に対する有用性を検証した.

今回のキット (Hybrisep) を用いた戸田らや, Shimada らの検討によると, セプシス患者を対象にすると, 血液培養に比し in situ hybridization 法は菌検出

Table 4 Positive pathogen results for each patient with respiratory infections

disease or attendant disease	In situ Hybridization					blood culture	sputum culture	other culture	antibiotic
	SA	SE	PA	EF	EK				
21 lung cancer	-	-	-	-	+	SE			(+)
22	-	+	-	-	-	(-)	SA		(-)
23 bronchial asthma, heart failure	-	-	-	-	+	(-)	<i>Streptococcus pneumoniae</i>		(-)
24 ARDS, Hodgkin's disease	-	-	-	-	+	(-)	SA, <i>Candida albicans</i>		(+)
25 MDS, myelofibrosis	-	-	-	-	+	(-)	SE		(-)
26 pleurisy	+	-	-	-	-	(-)	(-)		(-)
27 COPD	-	-	-	-	+	(-)	(-)		(-)
28 lung cancer	-	-	-	-	+	(-)			(+)
29 pneumothorax	-	-	-	-	+	(-)		thoracostomy tube : MRSA, pleural effusion : SA	(-)
30	-	-	-	-	+	(-)			(-)
31 ARDS, overlap syndrome, wound infection	-	-	-	-	+	(-)			(+)
32 ARDS, overlap syndrome, wound infection	-	-	-	-	+	(-)	(-)	broncho alveolar lavage : (-) pus : MRSE, bladder catheter : <i>Candida glabrata</i>	(+)
33 ARDS, overlap syndrome, wound infection	-	-	-	-	+	(-)		central venous catheter : <i>Candida albicans</i>	(+)
34 ARDS,	-	-	-	-	-	SE	(-)	broncho alveolar lavage (-)	(-)
35	-	-	-	-	-	(-)	EK ( <i>K. pneumoniae</i> )		(-)
36	-	-	-	-	-	(-)	SA		(-)
37 diffuse panbronchiolitis, pulmonary hypertension	-	-	-	-	-	(-)	SA, PA		(+)
38 interstitial pneumonia, dermatomyositis	-	-	-	-	-	(-)	EK ( <i>K. pneumoniae</i> )	broncho alveolar lavage : (-)	(-)
39 pneumonia	-	-	-	-	-	(-)	MRSA		(-)
40 diffuse panbronchiolitis	-	-	-	-	-	(-)	PA		(+)
41	-	-	-	-	-	(-)	<i>H. influenzae</i>		(-)
42	-	-	-	-	-	(-)			(-)
43 alveolar bleeding	-	-	-	-	-	(-)			(+)
44 lung cancer, cancerous pleurisy	-	-	-	-	-	(-)		pleural effusion : (-)	(-)
45 interstitial pneumonia	-	-	-	-	-	(-)	(-)		(+)
46 ARDS, aspiration pneumonia, DIC, acute renal failure	-	-	-	-	-	(-)	(-)	central venous catheter : (-)	(+)

Abbreviations : MRSA, methicillin resistant staphylococcus aureus ; MRSE, methicillin resistant staphylococcus epidermidis ; E.coli, Escherichia coli ; K. pneumoniae, Klebsiella pneumoniae ; H. influenzae, Haemophilus influenzae

率が有意に高いと報告され<sup>1)13)</sup>、今回われわれの結果もほぼ同様な結果であった。しかし、今回われわれのセプシス対象患者での菌検出率は、血液培養および in situ hybridization 法ともに 30% と同等であった。これらの結果の相違は、今回のわれわれの対象患者にセプシス患者数が少ないことがあげられる。一方で、注目すべき結果を示す症例も認められる。症例 3 では、中心静脈カテーテルの培養で、*K. pneumoniae*、*E. Coli* が検出され、それぞれ単一菌として血液培養および in situ hybridization 法で検出されている。さらに本症例の in situ hybridization 法では、*S. aureus* も陽性である。症例 4 でも、喀痰の *E. faecalis* を血液培養で検出している可能性が推定され、in situ hybridization 法で大腸菌群も陽性となっている。また、症例 7、8

のように、in situ hybridization 法で検出可能な菌でありながら、感染局所および血液培養で同一菌が陽性になっている症例も経験している。これらの結果から複数感染の可能性を考慮し、各種様々な培養検査を行うことが菌の同定の可能性が高くなることを示していると考えられる。セプシス患者における in situ hybridization 法の有用性には、今後さらに症例を積み重ねながら、その意義を検討すべきであろう。

本研究では、呼吸器感染症において大変重要な結果を得た。血液培養結果に比し、in situ hybridization 法では明らかに高い検出率を示した。今回は入院患者を対象にし、多くは基礎疾患を有している患者に生じた院内肺炎・胸膜炎を対象とした。今回の呼吸器院内感染症の血液培養陽性率は 7.7% で、一般に院内発症

の感染症の血液培養の菌陽性率も8~20%と報告されている<sup>14)</sup>。このような報告結果を考慮すると、今回の50%という *in situ hybridization* 法の高い陽性率は、院内発症の呼吸器感染症患者は、高率に菌血症に陥っている可能性を示唆している。さらに血液培養で検出された菌種は、*S. epidermidis* (症例21・34)で皮膚の汚染菌である可能性も否定できない。この結果は、血液培養の結果に疑問が生じやすく欠点のひとつといえる。

さらに *in situ hybridization* 法の菌検出が、喀痰、気管支肺胞洗浄液さらには胸腔カテーテル等といった、感染局所からの検体培養結果と必ずしも同種菌が検出されていない。喀痰培養検出菌の中には *in situ hybridization* 法にて検出可能な菌種も多く認められているが、喀痰培養結果と不一致な症例を多く認めた。重症な感染症では血液培養で15%前後の頻度で複数菌が分離されるとも報告されている<sup>15)</sup>。*in situ hybridization* 法はコンタミネーションが少ないことも大きな特徴であることを考慮すると、今回の *in situ hybridization* 法による高い陽性率は、院内発症の呼吸器感染症には、高率に複数菌感染症を生じている可能性を示唆していると考えられる。

喀痰培養と血液培養を比較したとき、喀痰培養陽性率は血液培養陽性率より高いが、臨床的に肺炎の起炎菌同定の特異度は血液培養の方が高いという報告がある<sup>16)~18)</sup>。今回の *in situ hybridization* 法による高い菌検出率が、実際の臨床上どのような意義を持つかは今後の課題である。*in situ hybridization* 法により得られる高い検出率が、信憑性を有するのか、抗菌薬の変更または他剤との併用療法といった臨床的な判断根拠となるのか、またその結果、感染症治療成績の向上に寄与するのか今後検討すべきである。

一般的な菌培養法では、抗菌薬の前投与によって影響を受けるのに対して、*in situ hybridization* 法は、抗菌薬の影響を受けないことも大きな利点である。今回抗菌薬投与中に検体提出された16症例の内、*in situ hybridization* 法陽性例は7症例(43.8%)に認められた。同様に16症例のうち血液培養陽性例は2症例(12.5%)であったことから、*in situ hybridization* 法が抗菌薬前投与の影響をうけない利点も確認された。

本検査法は、血液検体採取から約8時間で検査結果が得られる。つまり血液培養に比し迅速診断可能な点も利点である。しかし、実際の日常臨床現場では検査に連続8時間拘束されるため、実施診療上検査担当者への負担も無視できない。今回検査担当業者との共同で本検査を行い、一連の検査手順の処理に問題は認めなかった。但し、この分割検査方法により菌の検出率に影響を生じるか否かは不明である。また本検査法の

簡便性ないしは利便性は今後の課題としたい。

以上、さらに症例の蓄積により臨床的有用性を評価していく必要はあるが、*in situ hybridization* 法は感染症の補助診断としては重要な検査法になりえると考えられた。

#### 文 献

- 1) 戸田宏文, 椿本祐子, 中野雅世, 喜多いずみ, 田甫康弘, 佐藤かおり, 他:末梢血における白血球中の細菌検出キットハイブリゼップ®の使用経験. 医学検査 2004; 53: 1381—5.
- 2) Elizabeth G, Szymczak, Judith T, Barr, William A, Durbin, Donald A: Goldmann; Evaluation of Blood Culture Procedures in a Pediatric Hospital. J. Clin. Microbiol 1979; Jan. 88—92.
- 3) James LI, James J, Plorde, Larry G, Carlson: Effects of Volume and Periodicity on Blood Cultures. J. Clin. Microbiol 1994; Nov. 2829—31.
- 4) Division of Infectious Diseases, Department of Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine, Johns Hopkins Hospital, 600 North Wolfe Street, Baltimore, MD 21205-2191, USA: Diagnostic test for etiologic agents of community-acquired pneumonia. Infect Dis Clin North Am. 2004; 18: 809—27.
- 5) 渡 雅文, 大江元樹, 国本英治, 塚本玲三, 駒形浩史:肺炎球菌による市中肺炎の検討—血液培養陽性例と陰性例の比較—. 日本呼吸会誌 2000; 38: 253—8.
- 6) 設楽政次:小栗豊子編, 迅速検査, 臨床微生物検査ハンドブック. 三輪書店, 東京, 1997; p. 154—8.
- 7) 三澤成毅:小栗豊子編, 迅速検査, 臨床微生物検査ハンドブック. 三輪書店, 東京, 1997; p. 159—75.
- 8) Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, *et al.*: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine.: Chest 1992; 101: 1644—55.
- 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:日本呼吸器学会「呼吸器感染症に関するガイドライン」成人院内肺炎診療の基本的考え方. 日本呼吸器学会 2002.
- 10) Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, *et al.*: The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. Am J Respir Crit Care Med 1994; 149: 818—24.
- 11) 松久明生, 荒木宏昌: In Situ Hybridization 法による敗血症診断の臨床的有用性 BIO Clinica 1999; 14: 97—101.
- 12) 古無田太郎, 本田順一, 濱田美奈子, 廣川雅士, 野田和入, 一木裕子, 他: In vitro 全血培養系からの病原体検出の試み—鏡検法・Hybrisep・PCR法の比較. 感染症誌 2003; 77: 687—9.
- 13) Shimada J, Hayashi I, Inamatsu T, Ishida M, Iwai S, Kamidono S, *et al.*: Clinical trial of in-situ hybridization method for the rapid diagnosis of sepsis. J In-

- fect Chemother 1999 ; 5 : 21—31.
- 14) Bryan CS, Reynolds KL : Bacteremic nosocomial pneumonia. Analysis of 172 episodes from a single metropolitan area. *Am Rev Respir Dis* 1984 ; 129 : 668—71.
- 15) 小栗豊子 : 舟田 久編, 敗血症の病原体, 敗血症の新しい展開. 医学ジャーナル社, 東京, 1998 ; p. 12—9.
- 16) Gleckman R, DeVita J, Hibert D, Pelletier C, Martin R : Sputum gram stain assessment in community—acquired bacteremic pneumonia. *J Clin Microbiol* 1988 ; 26 : 846—9.
- 17) Busk MF, Rosenow EC 3rd, Wilson WR : Invasive procedures in the diagnosis of pneumonia. *Semin Respir Infect* 1988 ; 3 : 113—22.
- 18) Cordero E, Pachon J, Rivero A, Giron-Gonzalez JA, Gomez-Mateos J, Merino MD, *et al.* : Usefulness of sputum culture for diagnosis of bacterial pneumonia in HIV—infected patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002 ; 21 : 362—7.

### Clinical Utility of in Situ Hybridization for Diagnosing Respiratory Tract Infection and Sepsis

Mikako TSUNODA<sup>1)</sup>, Tomonobu KOIZUMI<sup>1)</sup>, Masanori YASUO<sup>1)</sup>, Kenji TSUSHIMA<sup>1)</sup>,  
 Masayuki HANAOKA<sup>1)</sup>, Keishi KUBO<sup>1)</sup>, Takayuki HONDA<sup>2)</sup>, Yoshitaka YAMAZAKI<sup>2)</sup>,  
 Shigeru KOYAMA<sup>3)</sup>, Masahiro TSUKADAIRA<sup>4)</sup>, Kazue TUGE<sup>5)</sup>, Kiyoko TAMAI<sup>5)</sup> & Eiji YANAGISAWA<sup>5)</sup>  
<sup>1)</sup>First Department of Medicine, Shinshu University, <sup>2)</sup>Central Laboratory at Shinshu University, <sup>3)</sup>Internal Medicine,  
 Nagano red Cross Hospital, <sup>4)</sup>Internal Medicine, Ina Central Hospital, <sup>5)</sup>Mirocumedical Laboratory

We studied the clinical utility of in situ hybridization (Hybrisep) in diagnosing respiratory infection and/or sepsis. Peripheral blood was taken from patients with respiratory infections and suspected sepsis for both routine blood culture and in situ hybridization, and focal samples including sputum, bronchoalveolar lavage, and central and thoracic catheter, were simultaneously examined for bacterial culture. Specimens numbered 46. The clinical diagnosis was 20 cases of septicemia, with 26 specimens diagnosed as respiratory infectious diseases including hospital-acquired pneumonia and pleurisy. Positive cases of in situ hybridization were seen in 19 specimens (41.3%) in all specimens, significantly higher than that in blood culture (17.4%). Respiratory infection showed a high positive rate in in situ hybridization. Interestingly, the bacterial pathogen detected by in situ hybridization was not always consistent with that taken from focal samples. Whether the pathogen isolated by in situ hybridization is accurate etiologically or diagnostically remains unknown, but our findings suggest a polymicrobial infection in patients with hospital-acquired respiratory infections. In situ hybridization thus provides important information on the etiological pathogen in different infectious diseases.