

微生物検査の認定について

高橋 美紀

群馬大学医学部附属病院 検査部

微生物検査における技術審査の内容

1. 公益財団法人日本適合性認定協会 (Japan Accreditation Board : JAB) からの持込検体測定

微生物検査の技術審査は、自施設のグラム染色液を用いたグラム染色実施と観察、フォトサーベイによる菌種同定が行われると聞いていたが、今回実際に当院審査時に行われた技術審査は、フォトサーベイのみであった。実施方法としては事前に技術審査を受ける者を3名選出した。3名の選出基準は1名が若手もしくは経験年数1年前後と浅いもの、1名が中堅もしくは経験年数が3年前後、1名がベテランとした。様々な経験年数者の知識や技術を審査された。

審査当日、審査員がパソコンを持参し、スライド形式で10問について審査が実施された。1名ずつ個別に呼ばれ、審査員の前で回答(記述)した。会話も教科書および参考書の使用も禁止とされた。実際に臨床検体の同定感受性を判定する際に教科書や参考書(SOPに外部文書として登録されたもの)を用いていれば、審査員にその旨を伝え、使用が許可されれば当日の技術審査時に使用可能であるとコンサルタントの方に聞いていたが、今回の技術審査では3名とも自分の知識と技術のみで審査を受けた。

フォトサーベイ10問の内容としては、一般財団法人 日本臨床衛生検査技師会 精度管理調査(以下、日臨技サーベイ)のように患者背景とグラム染色像、培地の写真、同定結果などから菌名を回答するものであった。日常検査でよく遭遇する菌だけでなく、最近話題の感染症の原因となるもの(今回はダニ)についても出題された。確認されたポイントとして

は、菌名を記載する際に細菌検査に従事する者として「フルスペル」での回答が求められた。日常検査では菌名は略語で表記することが多く、また菌名すら記載する機会が少ないのが現状だがスペルミスは減点となるため、技術審査前に再度スペルチェックなどを行って審査に臨んだ。

2. その他

書類審査時に微生物検査室で作成しているすべての記録類(審査当日使用するものは、技術審査時に確認:以下の*印のもの)について提出を求められ確認された。

微生物検査室は陰圧状態でなければならないが、今回の審査では、検査室の陰圧状況のチェックについて質問を受けた。「毎朝、陰圧であることは確認していますが、記録は特につけていません。」と回答したところ「陰圧であることを確認した記録がない」との指摘を受けた。技術審査時に確認された記録については以下のとおりである。

- * 温度管理記録
- * 安全キャビネット点検記録
- * 新人教育記録
- * 機材配置図

他には標準菌株取扱いについて、目が汚染された場合の対処法、医薬外劇物管理法について質問を受けた。回答としてはISOの要求事項は満たしているが、コメントなしの指摘としていくつか示唆(菌を扱う際のゴーグル着用、点検記録の空欄は斜線を引くこと、新人教育に習得期間を設けることなど)をいただいた。

また、予備訪問時に抗酸菌の処理を行うオートクレーブが微生物検査室外に設置されていることが指

摘されたが、現状行っている「抗酸菌室にて処理物が入った袋の口をしっかりと閉め、転倒しても中の物で汚染されないようにする」という対策にて問題ないと判断された。微生物検査室は基本的に汚染エリアだが、一部ニュートラルエリアとし、そこに置かれている棚などを手袋で触るか素手で触るかを赤色と青色のテープで表示してある点が工夫されているとの評価を受けた。

内部精度管理

1. 実施項目及び実施頻度

1) 購入培地の精度管理

実施頻度はロット変更時に随時行う。頻度が高い培地（血液寒天培地、チョコレート寒天培地、ドリガルスキー寒天培地）については、培地に適した標準菌株を用い（表1）、「発育・無菌試験」を実施している。その他の培地はメーカーより「品質保証書」を入手している。

2) グラム染色・抗酸菌染色・ファンギフローラ染色精度管理

実施頻度：グラム染色は週1回及びロット変更時、抗酸菌染色は染色毎、ファンギフローラ染色はロット変更時に行う。使用菌株は表1参照。

3) イムノクロマト法の精度管理

実施頻度はロット変更時に随時行う。キットに付属の精度管理用キットがある場合は、キットを用いて実施している。付属の精度管理用キットがない場合は、メーカーより品質保証書を入手し管理している。

4) 薬剤感受性試験用パネルの精度管理

実施頻度は原則週1回及びロット変更時に随時行う。使用菌株はパネルに適したものを選択する（表1）。

5) 同定キット、確認試験、調整試薬の精度管理

実施頻度はロット変更時または試薬調整時に行う（表1）。

6) 抗酸菌培養機器の精度管理

実施頻度はロット変更時に行う（表1）。

7) PCRコントロールの精度管理

実施頻度は測定毎に行っている。

2. 使用標準菌株

表1. 使用標準菌株と使用用途

	精度管理の種類		
	培地	パネル	その他
<i>Escherichia coli</i> (ATCC25922)	ニッスイプレート ドリガルスキー寒天培地	MicroScan NENC1J MicroScan 3.31E	グラム染色
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i> (ATCC33495)			BD BBLCRYSTAL E/NF
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)		MicroScan NNFC1J	チトクロームオキシダーゼ試験紙
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> (ATCC2921)	ポアメディア®羊血液寒天培地	MicroScan PC3.1J	グラム染色 スタフィロLA「生研」 ウサギプラズマ「栄研」
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (ATCC49619)		MicroScan MF7J	「ニッスイ」オプトヒンOP
<i>Streptococcus pyogenes</i> (ATCC19615)			BD BBLCRYSTAL GP ストレプトLA「生研」
<i>Haemophilus influenzae</i> (ATCC49247)	BY チョコレート寒天培地	MicroScan MF4J	IDテスト X+V 因子, X 因子, V 因子
<i>Bacteroides fragilis</i> (ATCC25285)			BD BBLCRYSTAL ANR
<i>Candida albicans</i> (ATCC66027)			Api AUX ファンギフローラ染色
<i>Mycobacterium intracellulare</i> (ATCC13950)			抗酸菌染色
<i>Mycobacterium fortuitum</i> subsp. <i>fortuitum</i> (ATCC6841)			抗酸菌培養装置 (MGIT)

3. 目合わせについて

目視判定の必要な項目の目合わせは少なくとも年1回以上実施するとし、実施する場合には基準は有資格者または主任が指定したものと規定した。実際には日臨技サーベいの塗抹検体を用いて実施している。

SOP 記載上の注意点

SOPには記載事項が決まっており、微生物検査室としてどのような分類で作成するか考えた。材料ごとや菌ごと操作ごとなど施設によって作成は様々であるが、我々は以下のような流れでSOPを作成した(図1)。抗酸菌については操作ごと、特殊迅速検査

については項目ごと、そのほかに各検査に使う機器ごとにSOPを作成した。記載項目として注意したのは「患者の準備」で、システムや標準菌株の手順書以外は「該当なし」とせず、検体採取時の注意点を記載した。また、「再検基準」では普段実際に行っている再検(1回行って結果が得られない場合、どう判断するなど)について詳細に記載した。

また、微生物検査は嫌気性菌の依頼や真菌の依頼などで検査が終了するまでに1週間から10日かかることもある。このような「操作ステップ」は分かりやすいようにフローチャートを用いてすべての手順書に記載した(図2)。

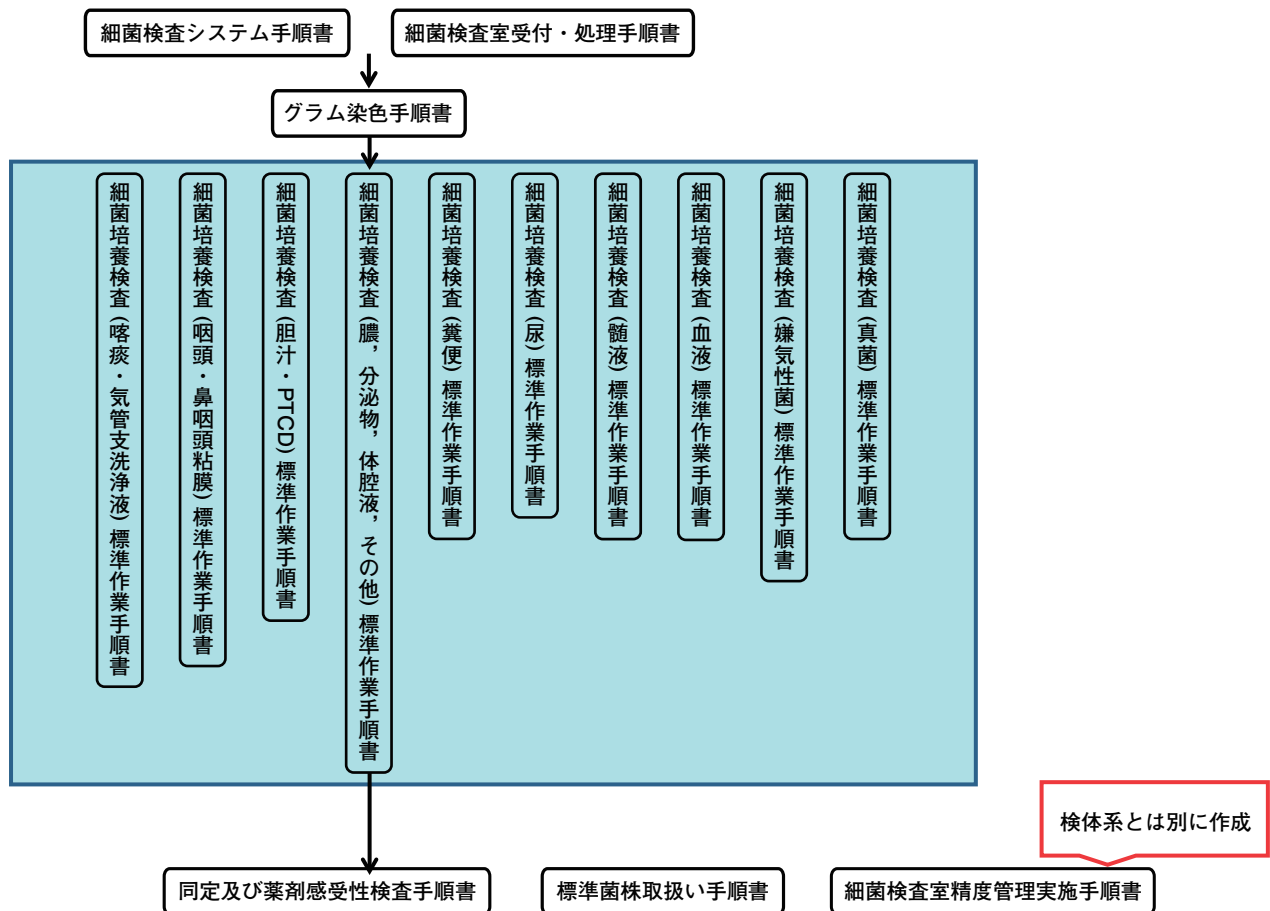
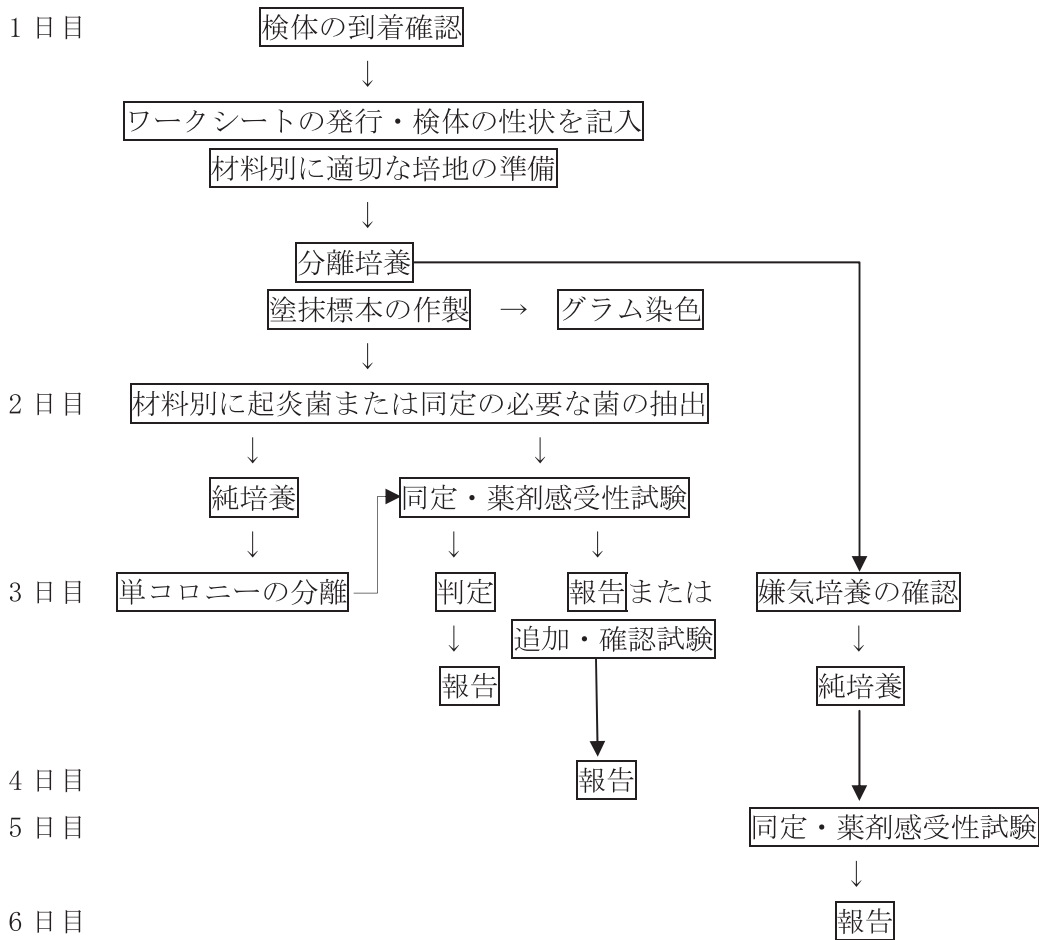


図1. 一般細菌のSOPの流れ

群馬大学医学部附属病院	細菌培養検査(膿、分泌物、体腔液、その他) 標準作業手順書	文書番号	版数
		S0 細菌 007	2

10.1 フローチャート (概要)



但し、真菌などの発育が遅い菌に関しては報告までに7日以上要する。

※胃液、他の呼吸器、抗酸菌が疑われる検体については結核菌検査室で分離培養、塗抹標本の作製を行う。

図2. 操作ステップ

検査室の環境

1. 抗酸菌検査室の環境

抗酸菌検査室については陰圧であることが必要である。また、手順書に記載したN95マスク、ガウン、手袋の着用が必要となる。

2. 温度の監視

各部屋の室温、湿度をその部屋に設置している機器の許容管理幅に基づき設定した。冷蔵庫、冷凍庫、フランシスは、標準温度計を用いて校正した最高最低温度計にて、1日の最低・最高温度を管理、記録している。

まとめ

今回、ISO 15189の取得時期とシステム更新時期が重なったため、ISOの要求事項を満たすようにシステムや操作手順などの変更を行った。見直した大きな点は、以前は日中に提出された微生物検査検体は、髄液および血液培養を除き、検査室入口の冷蔵庫に提出してもらい、時間を決めて回収し午後一括で処理していたが、ISOの要求事項により入口の冷蔵庫を撤去、微生物検査室まで検体を持ってきてもらい、すぐに受付を実施することとした。また、当直時間帯および日直時に預かった検体は「細菌検査室検体受領記録」を作成し、必要事項を記載してもらうこととした。血液培養についても日当直者に教育を行い、受付、ボトルの登録、ボトルのセットを行っている。このようにISO 15189認定取得に向けて様々な改革ができ、すべての検査法について改めて見直すことができた。さらに、検査の質向上ならびに知識の向上につなげることができたと思われる。