

免疫血清分野

尿一般分野

病理分野

細胞診分野

血液一般分野

生化学分野

先天性代謝異常分野

微生物分野

ISO 15189取得に伴う 微生物検査室の内部精度管理の取り組み

検査科 微生物係

はじめに

当検査センターは、令和元年11月15日にISO 15189の認定を取得いたしました。ISO 15189は臨床検査室に特化した、品質と能力を向上させるための国際規格であり、様々な要求事項が盛り込まれています。特に、内部精度管理に関する要求事項は検査精度の向上に欠かせない項目の一つです。

今回は、微生物検査室で行っている主な内部精度管理についてご紹介いたします。

1. 塗抹検査

塗抹検査は迅速性に優れていますが、染色性の結果や判定に、技師間差が出やすい検査項目でもあります。塗抹検査は大きく分けて3つの内部精度管理を行っています。

(1) グラム染色

実施頻度：毎日、塗抹検査開始前

方法：*Escherichia coli* がグラム陰性（淡赤色）、*Staphylococcus aureus* がグラム陽性（濃青色～紫色）に染め分けられていることを確認する。



(2) 抗酸菌染色

実施頻度：毎日、塗抹検査開始前

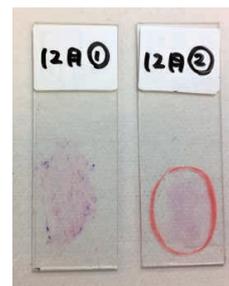
方法：*Escherichia coli* が陰性（青色）、*Mycobacterium bovis* が陽性（紅色）に染め分けられていることを確認する。



(3)技能評価

実施頻度：月1回

方法：微生物検査員が同一の臨床検体スライドを鏡検し、判定や定量が基準範囲内にあることを確認する。



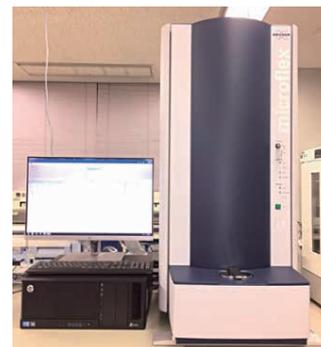
2. 培養同定検査

当検査センターでは、培養後に質量分析装置を用いた同定検査を行っています。質量分析装置を用いることで、分子レベルで微生物の同定を行うことができます。

内部精度管理は以下のように行っています。

実施頻度：毎日、測定開始前

方法：BTS(Burker Bacterial Test Standard)を測定し、同定菌名が *Escherichia coli*、同定スコアが2.2以上になることを確認する。



3. 薬剤感受性検査

薬剤感受性検査は手技や試薬の劣化による検査結果への影響が判別しづらく、内部精度管理が重要です。

実施頻度：週1回（CLSI：Clinical and Laboratory Standards Institute の基準による）

方法：標準菌株（表1）を用いてディスク拡散法と微量液体希釈法の内部精度管理を実施する。測定値が許容限界値内であることを確認する。

菌種	菌株
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923、ATCC 29213
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC 49619
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC 49247
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853

表1. 標準菌株

万が一許容限界値を外れた場合には、根本原因を特定し、検査結果への影響などを確認する必要があります。許容限界値を外れた場合、原因は次のようなことが考えられます。

<許容限界値を外れた場合の根本原因の例>

- ① 標準菌株
 - ・ 発育不良やコンタミネーション
- ② 試薬
 - ・ 不適切な保管や輸送状況
 - ・ 使用期限切れ（抗菌薬の力価低下）
- ③ 検査手順
 - ・ 菌液調整のミス
 - ・ 培養条件（培地、温度、時間、好気的もしくは嫌気的環境など）

4. 自家調整試薬

自家調整試薬は作成日・ロット番号・作成者・使用期限などを記録し、試薬ごとに定めた調整後のチェックを行っています。また、使用期限を決めるにあたり妥当性の確認を行いました。

SS 寒天培地の使用期限の妥当性確認は以下のように行いました。

<使用期限の妥当性確認（SS 寒天培地）>

方法：作成後1日目、3日後、1週間後、10日後、2週間後の培地に 10^5 CFU/mLに調整した *Salmonella sp.* の菌液を塗布する。培養後、 10^5 CFU/mL の菌量が発育するかを確認する。

作成後日数	1日目	3日後	1週間後
発育菌量 (CFU/mL)	10^5 	10^5 	10^5 
作成後日数	10日後	2週間後	
発育菌量 (CFU/mL)	10^5 	10^5 	

結果：作成後2週間まで 10^5 CFU/mL の菌の発育が確認できた。
使用期限は2週間とする。

5. 外部精度管理に含まれていない検査項目

日本臨床検査技師会精度管理調査などの外部精度管理に含まれていない検査項目は、代替のアプローチとして実施頻度、実施予定日を定め、既知の検体を用いて内部精度管理を行っています（表2）。

検査項目	実施頻度	実施予定日
CD トキシン抗原定性	年1回	5月
ノロウイルス抗原定性	年1回	4月
ペロ毒素検査	年1回	7月
抗酸菌分離培養	年1回	10月

表2. 代替のアプローチ

例えば、CD トキシン抗原定性の代替のアプローチは以下のように実施しています。

<CD トキシン抗原定性の代替のアプローチ実施手順>

- ① 陰性の患者既知検体と陽性の患者既知検体を用意する。
- ② それぞれの検体について通常の検査方法で検査を行う。
- ③ 陰性検体を用いた検査結果が陰性になることを確認する。
- ④ 陽性検体を用いた検査結果が陽性になることを確認する。

おわりに

微生物検査は検査技師の主観が入ることが多いため、技師間差を無くし標準化する目的で、これまでにご紹介してきた内部精度管理を実施しています。

この度のISO 15189の取得に伴い、これまで実施してきた内部精度管理を通して、検査のみでなく検体搬送から報告の一連の流れにおいて品質管理を強化することができました。

ISO 15189の取得はスタートであり、さらなる最適を目指してPDCA サイクル（P：計画→D：実行→C：効果確認→A：改善→P：計画～）を繰り返し、今後も信頼できる検査サービスの向上に努めていきたいと思っておりますので、ご指導よろしくお願いいたします。

参考資料：

1. 微生物ハンドブック 第5版, 三輪書店, 2017年6月15日発行.
2. “特集 薬剤感受性検査の内部精度管理” 検査と技術 Vol.46 No.4, 医学書院, 2018年4月発行.

担当：石田 有里（検査科 微生物係）

*ウェブサイトでもご覧いただけます。 <http://www.labo.city.hiroshima.med.or.jp/>