

生化学・免疫検査の認定について

佐藤 香奈子

鹿児島大学 医学部・歯学部附属病院 検査部

はじめに

当検査部が ISO 15189 の認定を取得したのは、2012 年 3 月である。それから 4 年経ったが、サーベイランスや更新審査の度に指摘され、是正を余儀なくされているのが現状である。時には「今頃、そんな初歩的なことを指摘されるのか…」という経験をすることもある。なかなかの「頼りなさ」ではあるが、逆に捉えれば指摘の数、また是正の回数だけ、ISO 15189 をより深く知ろうとする努力をしているといえる。（胸を張って「知っている」といえないところがなんとも惜しいが…。）

ここでは、これまで受けてきた審査で気付いたことや感じたこと、また、他の認定施設の状況などを参考にした取り組みについて記す。

SOP について

生化学・免疫検査においては、認定範囲内の項目数も、保有している分析装置も他分野よりも多いのが一般的ではないだろうか。

その数は、そのまま標準作業手順書（SOP：Standard Operating Procedures）の数に反映される。

以前、JAB 審査員から、「ISO 15189 では何はなくても SOP! とにかく SOP!!」といわれたことがある。それほどまでに ISO 15189 では SOP が重要だということだと思う。

SOP を含む作成文書全般についていえることだが、要求事項を「抜け」なく記載するために、特にこだわりや必要性がないのであれば、要求事項の順番どお

りに記載しておく。（JAB 審査員が SOP の記載内容をスムーズに確認することにも一役買うようである。）

また、ある一つの事柄を知るために、2 つ 3 つの手順書がないと分からないような作りにはなるべくしないようにすることも大事であると考え。

SOP への記載

—性能特性試験の実施について—

当検査部では「試薬検討マニュアル」という手順書を作成し、それに則って性能特性試験を実施している。

「試薬検討マニュアル」では、①トレーサビリティの確認に始まり②直線性、③検出限界、④干渉物質の影響、⑤同時再現性、⑥日差再現性、⑦相関性の検証を実施するように記載されている。②～⑦については、測定により得たデータを「日本臨床化学会バリデーション算出用プログラム（Validation-Support/Excel）^{*1}」を利用し算出することが多い。

また、④「干渉物質の影響」については「試薬そのものの性能であり、分析装置の性能には因らないだろう」という認識のもとに、添付文書のデータを引用していたが、更新審査の際に、自施設で検証の必要があることを指摘された。認定を受けるすべての項目について、性能特性試験を実施する必要があるのだから、作業量を少し考えてみただけでもうんざりしてしまうだろう。

SOP に反映させる測定範囲に関しては、試薬添付文書と②および③の結果を照らし合わせて設定する。

添付文書の測定範囲より高性能な結果が得られた

表 1. 添付文書での測定範囲が 0.5 mg/dL ~ 10.5 mg/dL の場合

| | 直線性結果 (測定上限) | 検出限界 (測定下限) | SOPへ記載する測定範囲 |
|-----|-----------------|----------------|------------------------|
| 例 1 | 11.5 mg/dL | 0.7 mg/dL | 0.7 mg/dL ~ 10.5 mg/dL |
| 例 2 | 9.0 mg/dL | 0.3 mg/dL | 0.5 mg/dL ~ 9.0 mg/dL |

としても、添付文書以上の性能は記載しない。また、添付文書より劣る結果が得られたときには、その結果に従うようにしている(表 1)。

当検査部では、測定範囲や基準範囲については、検証結果を踏まえた出典を明記している。

例 1 の場合) 測定範囲: 0.7 mg/dL ~ 10.5 mg/dL

検証結果より設定。

添付文書では、0.5 mg/dL ~ 10.5 mg/dL

例 2 の場合) 測定範囲: 0.5 mg/dL ~ 9.0 mg/dL

検証結果より設定。

添付文書では、0.5 mg/dL ~ 10.5 mg/dL

※ 1 一般財団法人日本臨床化学会 HP より「専門委員会」を選択。「統計計算支援ソフトダウンロード」から、ダウンロード可能。

SOP への記載 — 試薬性能試験記録の残し方 —

試薬性能試験の結果および評価は、SOP 記載内容確認のために、審査の際、提出を求められることがある。

評価記録には、検証結果(測定および算出データ)と評価のみならず、評価基準を明確に記録として残すことも必要である。

例えば、「同時再現性: 良好」と記録するのではなく、「同時再現性: □%であり、△%未満であるため良好」といった具合である。(「あれ見て、これ見て」の記録は JAB 審査員からも嫌われる可能性が高い。)

当検査部では、「いつ、誰が、どこで、どのような検証をどのような試料を用いて実施したのか。」といった、いわゆる「5W1H」も記録として残すようにしている。

SOP への記載 — 報告範囲の設定 —

検査結果の報告可能範囲について、生化学の試薬メーカーに「どのくらい高値まで測定可能なのか? 希釈倍率の限界みたいなものはないのか?」と質問したところ、「希釈測定し、得られた値が試薬の直線性の範囲内であれば、どこまででも希釈して大丈夫。」との返答をいただいたことがある。このことを受けて以前は、分析装置の自動希釈で設定している、「最高希釈倍率×直線性上限」を報告範囲上限としていた。

これについて、JAB 審査員から「ヒト検体としてあり得ないような値を SOP に記載するべきではない」との指摘を受けた。

これを機に、当検査部では過去 3 年間の各項目の最高値を抽出し、その値を各項目の報告上限とするようにした。

また、臨床からの強い要望などの理由で、報告上限以上の測定値を報告する際には、(反応曲線が確認可能であれば確認した上で)「参考値」のコメントを付与することになっている。

内部精度管理 — 測定頻度とタイミング —

内部精度管理は、生化学項目に関しては QAP (2 濃度)^{*2}、トライロール (3 濃度)^{*3} を使用し、免疫項目に関しては、各メーカー指定のコントロール (専用コントロール) とメーカー指定外のコントロールを測定している。

測定頻度は、生化学項目は 3 回/日 (下記①, ②, ④) で、免疫項目は 2 回/日 (下記①, ③もしくは④) としている。

測定のタイミングとそれぞれの意義は、表 2 のように考える。

いかなる場合においても、患者データの品質の担保は最重要項目である。そのため、定期（上記①～④）の内部精度管理は管理範囲内であったとしても、患者データ登録の際に何らかの違和感（測定下限の値ばかりが続くなど）を感じたときなども、検体測定を中断し内部精度管理を実施し、分析状態の確認を行うようにしている。たまには、「技師の勘」も大事ということである。もちろん、その辺りを明文化できるようにであれば、手順書などに記載しておく、なお良いと考える。

- ※2 QAP トロール（シスメックス社）
- ※3 トライロール（日水製薬社）

内部精度管理 —確認—

内部精度管理には Xbar-R 管理図を用いて、Laboratory Information System：臨床検査情報システム（以下、LIS）にて管理している。

①管理範囲内であるか。②トレンドはないか。③シフトはないか。④大きなバラツキは見られないか。といった点に注目して確認を行う。

LIS に送信された測定結果は、設定された管理範囲や、これまでの測定結果と照合され、その照合結果に見合ったマークが付与されたり、管理図の背景色が変わったりするようになっている。このマークの付与や背景色の変化は、管理範囲外結果の見落とし防止や、シフト、トレンドの確認に役立っている。

ただし、ここで表示されるシフトやトレンドは、表示期間の区切り方で変動するものであり、日々の記録として残すために、毎日プリントアウトするのはなかなかの手間である。このことから、シフト、トレンドを含めた内部精度管理の確認記録を、メンテナンス日誌などに残すようにしていたが、その記録では不十分であるとの指摘を JAB 審査員から受け、この指摘を機に内部精度管理記録の様式を作成し、メンテナンス日誌とは別で管理することにした（図 1）。

表 2. 測定のタイミングと意義

| タイミング | 意義 |
|-------------------------------|--|
| ① 始業前 | 分析装置が業務使用可能か否かを判断する。 |
| ② 10：00 頃 | 始業からそれまでに実施した測定に何ら問題がないかの確認。 |
| ③ 14：00 頃 | 始業からそれまでに実施した測定に何ら問題がないかの確認。 |
| ④ メンテナンス後 (ルーチンから時間外検査移行前) | メンテナンスによる機器状態の変化を確認。 特別な処置なく翌日も使用可能か否かの確認。 時間外検査に使用可能か否かの判断。 |

| シフト・トレンド・バラツキ確認 | | | |
|-----------------|----------------------------|-----|-----|
| 項目名 | 1号機 | 2号機 | 3号機 |
| LDH | | | |
| AST | | | |
| ALT | | | |
| ALP | | | |
| Na,K,Cl | | | |
| 凡例 | シフト トレンド バラツキ 確認者 | | |
| 高値シフト | ↗ | | |
| 低値シフト | ↘ | | |
| 上昇傾向 | ↗ | | |
| 下降傾向 | ↘ | | |
| バラツキ | バ | | |
| 良好 | ✓ | | |
| 搬送 コントロール | ✕ | | |

図 1. 内部精度管理記録

通常、LIS画面上に表示されるのは、1週間前後であるが、シフトなどが認められた場合などは、必要に応じて、長期の内部精度管理状況を確認するようにしている。

また、トレンドやシフトが見受けられた際には、試薬の交換やキャリブレーションなどを実施し、それらを管理図内にコメントとして残している。

内部精度管理の記録として保存しているのは、月毎でプリントアウトしたものであり、これを、臨床検査医に確認してもらうようにしている。もちろん、前述したコメントはこの記録にも反映されている。

内部精度管理 —許容範囲の設定—

表示値の添付されていない精度管理試料に関しては、予備データを取り、自施設で管理範囲を設定している。

また、表示値が添付されている精度管理試料についても、この添付された管理範囲では許容範囲が広すぎて、細かな変動を捉えることができないと考え、予備データを取り、自施設で管理範囲を設定している。

内部精度管理 —予備データをとる—

予備データとして、当該精度管理試料を、日常検査と同じ測定回数（複数回）、20日以上測定する。このとき、現在有効としている精度管理試料が管理範囲内できちんと管理されていることを確認してから測定する。

生化学項目に関しては、20日以上測定した予備データから平均値、SDを算出し、管理範囲を設定する。

免疫検査項目に関しては、20日以上測定した予備データから平均値を算出し、目標値とする。管理範囲については、過去1年間の内部精度管理測定値からCV%を求め（複数Lotを使用している場合には、Lot毎に求めたCV%の平均を用いる）、そのCV%から当該内部精度管理試料のSDを算出し活用する。

不確かさの推定

「不確かさ」については、公益財団法人日本適合性認定協会（JAB）のホームページで公開されている方法^{*4}を用いており、日常の内部精度管理結果（平均値）とSDを利用して推定している。推定実施の際には、理由の明らかな極端値（サンプル空吸いなど）を除外している。

※4 JABホームページにて「ホーム → 資料集 → 臨床検査室およびメーカーに於ける不確かさ推定に関する計算プログラム」を選択する。

表示されたプログラムより、「5. 内部精度管理データ（日常のコントロール試料測定値）を利用し、日常検査での管理物質の不確かさを推定する場合に使用します。（検査室用）」を活用。

技術審査を受ける —試料測定—

技術審査とシステム審査は、同時に実施されているため、聞き取り調査のためにシステム審査会場に呼び出されることもある。人員に余裕があるようなら、このことを考慮して技術審査とシステム審査に対応する技師を別で決めておくが良い。

技術審査を担当する技師は、測定当日に落ち着いて操作できるように、事前に送付されてくる「JAB現地実技試験試料の取扱いについて」という文書を一読しておくことをお勧める。

また、技術審査を受ける技師は、測定結果の考察についてJAB審査員とのディスカッションを考慮して、中堅の技師が実施するのが良いと考える。（JAB審査員によっては、かなり厳しい質問をされる方もいるので、新人では荷が重いかと思う。）

〈注意〉

初回（更新）審査もしくは奇数回の定期サーベイランスでは、JAB審査員の監視のもと測定操作を実施することになる。

受審するのが初回（更新）審査もしくは奇数回の定期サーベイランスか偶数回の定期サーベイランスかで、到着した試料の取扱いが異なる。

技術審査 —考察およびディスカッション—

測定を実施する試料には予め「管理値（範囲）」が付けられており、この「管理値（範囲）」から測定結果について考察を行い、それを以て技術審査員とのディスカッションが実施される。

管理範囲外となった項目があっても、その理由やその事象への対策を論ずることができ、かつその内容が、技術審査員の納得のいくものであれば大きな問題はないと考える。

測定を実施するのは、1名の技師であるが、考察に関しては複数の技師で知恵を出し合い、様々な角度から行うようにしている。（当検査部では、教育的側面から、この話し合いには新人も参加する。）

考察の一助となることもあるため、測定実施の際には、融解開始時間や測定開始時間などの状況を記録しておくが良い。また、内部精度管理の結果、キャリブレーションの実施時期、外部精度管理の結果や、分析装置のメンテナンス状況（ランプやセルの交換など）などから、管理範囲外となった原因が明らかになることも少なくない。日頃からきちんとした記録を残しておくことが重要であると考えます。

技術審査に用いられる管理値の範囲は3SDで設定されている。このようなケースは稀かもしれないが、過去の受審において、ある項目で「2SDで計算すると管理範囲外になっているから、再考察するように。」と、いわれたことがある。管理範囲内であったとしても、測定結果が、管理範囲のどのレベルにあるのかを確認することも重要であると考えます。2種類の試料のいずれも平均値付近である場合と、いずれも管理範囲上限ギリギリで管理範囲内である場合とでは、同じ「管理範囲内」ではあってもその意味合いは異なる。後者では、何らかの考察を要すると考える。

おわりに

生化学・免疫検査はすべてデータ（数字）で話が決まってしまう。そこが単純明快で長所ではあるの

だが、それこそが悩みの種となっているのが、外部精度管理である。

一般社団法人日本臨床衛生検査技師会などでは目標値評価を実施しており、SDIでの「評価」は実施していない。

それにも関わらず、ISO 15189においては、目標値評価がA判定であってもSDIが2.0であれば「外れの原因追究」を要求される。「原因追究」といわれども何も思い浮かばず困ることが多い。

自分たちが考えに考えた最善と思われる策を、「指摘」されるのは気分のいいものではない。加えていうならば、「自分たちの最善」を指摘された直後で「是正策」といわれ、どうにか考えついた是正策に対して「何が駄目なのか」を詳細に教えられないまま、さらなる是正をいわれると、どうすればいいのかわからずに考え込んでしまうし、正直投げ出したくなる。

審査の際、JAB審査員から「何か意見があれば、自由にいていただいて結構です。」といわれることがある。心遣いはありがたいのだが、「審査する側」と「される側」なので「自由に」といわれても、そんなに「自由に」意見を述べることは、なかなか難しい。JAB審査員は、「指摘するけどアドバイスはしない」のでこちらが聞きたいことを答えてくれる可能性は低い。

JAB審査員の中でも認識にズレがあるのか、他の認定施設ではOKだったことを、同様に実施しているにも関わらず、指摘を受けるなどという経験もした。（JAB審査員が他の方だったら、もしかしたら指摘されなかったのではないかと？というモヤモヤした気分が沸き上がってくる。）

どれだけ一生懸命考えていても、最初の認識がズレていてはどうにもならない。個人的な考えだが、こうした「最初の認識のズレ」が起こらないようにするためにも、もっと忌憚なく「困っている」をJAB審査員ではなくJABに直接相談することができれば、スムーズで充実したISO活動が可能になるのではないと思う。そのような仕組がない現状では、指摘→是正の度に折れそうになる心を奮い立たせて検査部員全員で頑張っていくしかない。そう考えている。