

〈総説〉

動物臨床検査における総合的精度保証

¹株式会社江東微生物研究所、²株式会社ランス、³岡山理科大学獣医学部、
⁴岡山理科大学生物医科学検査研究センター、⁵東邦大学医療センター大橋病院臨床検査部、
⁶帝京大学医療技術学部臨床検査学科、⁷元徳島大学大学院医歯薬学研究部医用検査学系細胞・免疫解析学分野、
⁸岡山大学大学院医歯薬学総合研究科、⁹岡山大学学術研究院医歯薬学域、
¹⁰ヤマザキ動物看護大学動物看護学部動物看護学科、¹¹動物ケンサ株式会社、
¹²株式会社サンリツセルコバ検査センター、¹³一般社団法人予防衛生協会試験検査部、
¹⁴城西国際大学薬学部医療薬学科、¹⁵千葉科学大学危機管理学部、¹⁶東都大学沼津ヒューマンケア学部、
¹⁷聖隷クリストファー大学看護学部、¹⁸東京農工大学大学院農学府、¹⁹株式会社リガク、
²⁰宮崎県農業共済組合中部センター家畜診療所

関根康司¹⁾、五野上誠²⁾、久枝啓一³⁾、畑 明寿^{3),4)}、藤谷 登^{3),4)}、谷あすか⁵⁾、
 桐谷光夫⁶⁾、鈴木幸一⁶⁾、細井英司⁷⁾、内山(竹村)伊代⁸⁾、内山淳平⁹⁾、渡辺俊平³⁾、
 宮井紗弥香¹⁰⁾、岡崎登志夫¹⁰⁾、後藤一雄⁶⁾、荒木千章¹¹⁾、有坂麻子¹¹⁾、金木信敏¹¹⁾、
 吉田 隆¹²⁾、濱野正敬¹³⁾、大藤圭子¹³⁾、西口慶一¹⁴⁾、渭原 博¹⁵⁾、畠 岳也²⁾、
 清水園枝²⁾、原 瑞姫²⁾、古本佳代^{3),4)}、中内暁博¹⁶⁾、熊澤武志¹⁷⁾、佐藤瑛美¹⁸⁾、
 松本崇¹⁹⁾、西河 淳¹⁸⁾、亀島政範²⁰⁾、小野文子³⁾

I. 序文

獣医療においても検査成績の総合的精度保証 (Total Quality Assurance: TQA) が求められ、分析前段階の精度保証 (QA in the Preanalytical Phase)、分析段階の精度保証 (QA in the Analytical Phase)、分析後段階の精度保証 (QA in the Postanalytical Phase) について管理される。精度保証のための業務が精度管理 (Quality Control: QC) である。

動物臨床検査はヒト臨床検査に準じて実施されるが、一属一種のヒトと多種多様からなる動物の検査は動物種による相違点を踏まえたうえでの精度保証が必要となる。本稿は動物を哺乳類、爬虫類、鳥類、両生類、魚類などの脊椎動物として、段階ごとの精度保証 (管理) を体系的に解説する。また、動物検査値を考えるうえで参考となる知識をIV. 3の「動物臨床検査とワンヘルスサイエンス」に列挙した。継続して集積して行きたい。

II. 分析前段階精度管理

ヒトの検体検査は、2017年6月14日「医療法

等の一部を改正する法律 (平成29年法律第57号)の公布により、「検体検査」が定義され、「検体検査の精度の確保」の基準が設けられた。医療機関等が自ら検体検査を実施する場合における精度確保、衛生検査所等に業務委託する検体検査について、品質・精度管理に係る基準が厳しく定められるようになった¹⁾。

獣医療に関しても、高度化されるにつれ臨床検査の品質・精度の確保の必要性はさらに高まるものと思われる。

獣医療の検体検査における精度管理は、単に測定精度を維持するだけでなく、検体採取から測定結果報告まで一貫した検体管理さらに一連の作業工程の標準化が求められてくる。それらの工程は、分析前段階、または検査前工程と、分析依頼から始まり、検体の適正採取、検体の適正採取容器の選択、検体の受領・搬送、検体の保存温度、検体の仕分などの検査前工程 (QA in the Preanalytical Phase) に分類される。分析前段階精度管理とは分析結果に影響ある要因を最小限にする品質マネジメントシステムである。これらは、獣医師などによる依頼から始まる経時的なプロセスで、検査依頼、対象動物の準備及び識別、検体 (試料) の採取、

及び検査室への搬送や検査室内までの搬送などが含まれる。

【分析前段階工程】

1. 検体採取 → 2. 検体受領 → 3. 検体搬送 → 4. 検体の受付及び仕分け → 5. 血清分離

これらのプロセスに対し、業務案内書、標準作業書、日誌及び台帳などが必要となる。

【常温、冷蔵、冷凍の用語について】

分析室または検査室における常温、冷蔵、冷凍の温度の定義は現在、標準化されていない。一般的に冷蔵は微生物の繁殖が抑えられ凍らない4～10℃、冷凍は酵素反応を完全に停止させるにはメディカルフリーズの-30～-40℃、検体の長期保存のディープフリーズは-70℃前後である²⁾。また、日本薬局方では、常温を15～25℃、冷所を1～15℃、冷凍を-15℃以下と規定している。

(関根康司：株式会社江東微生物研究所)

1. 動物の臨床検査（分野全般）

ひと昔の動物の臨床検査（検体検査）といえば、筆者が覚えている限りでは、獣医療施設内で行う犬の原虫検査や、犬、猫、実験動物等の血球計数、簡単な生化学検査、細菌検査、

実験用動物のウイルス検査などくらいしかなかった。しかし、現在はごく微量で多項目の分析ができる機器、試薬が作られ、また、新しい項目も多く開発されて来た。これらの臨床検査は、獣医療の診療や、様々な研究に欠かせないものになっている。

一部の項目を除き、その殆どがヒトの検査系が用いられている。利用できるか否かは項目次第であるが、アミノ酸の相同性³⁾を考えれば、比較的多くの項目は利用できるものと考ええる。実際に利用するには、検出する物質が何か、利用している抗体がどこを認識しているかなど、動物に利用できるか否かは、検査を利用する側でも評価していく必要がある。

検査目的は多様で、1. 疾病診断、2. 感染症診断、3. 予防、経過観察、4. 健康状態把握、健康管理、5. 産業動物等の肉質等の品質などの評価、6. 希少動物の排卵や妊娠確認、7. 反芻家畜の生殖能評価、8. 実験動物の免疫能評価や薬理効果判定、9. 死亡原因追跡（剖検診断）などがある。

現在、様々な獣医療関連施設から検査を受託している項目について、表1に示す。

(関根康司：株式会社江東微生物研究所・

五野上誠：株式会社ランス)

表1 動物の臨床検査

検査項目			利用施設の区分					
大区分	小区分	検査項目名	犬、猫などの愛玩動物、小動物取扱獣医療施設	動物園・水族館などの施設（哺乳類・爬虫類・鳥類・魚類など）	反芻家畜関連施設	馬、豚などの産業動物関連施設	サル類・犬などの実験動物関連施設	マウス類の実験動物施設
生化学検査 I	蛋白関連	TP, ALB (BCG法), A/G比	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4, 5	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4, 8	8
	含窒素成分関連	BUN, Cre, T-Bil, UA	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4, 5	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4, 8	8
	酵素関連	AST, ALT, ALP, AMY, LIPA, CK, γ-GTP, LD, ChE, LAP	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4, 5	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4, 8	8
	糖質関連	グルコース, フルクトサミン, グリコアルブミン	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4, 5	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4, 8	8
	電解質	Na, K, Cl	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4, 5	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4, 8	8
	微量金属	Ca, 無機リン, 鉄, Mg, 銅, フェリチン, 亜鉛, UIBC	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4, 5	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4, 8	8
	脂質関連	T-Che, F-Che, HDL, LDL, 中性脂肪, 遊離脂肪酸, リン脂質, 胆汁酸	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4, 5	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4, 8	8
	炎症マーカー	犬C反応性蛋白, 猫血清アミロイドA, 血清アミロイドA蛋白	1, 2, 3	1, 2, 3				8
生化学検査 II	アンモニア	アンモニア	1	1				
	蛋白分画	Alb, α 1, α 2, β, γ	1	1	3, 4	1		
	アイソザイム	LDアイソザイム, CKアイソザイム, ALPアイソザイム, AMYアイソザイム	1	1		1, 3	1	
	ビタミン	ビタミンB12 葉酸	1, 3	1, 3	5			
	薬物	ゾニサミド, フェノバルビタール, タクロリムス	1, 3					
	結石分析	結石成分分析	1, 3					

内分泌検査	性腺・胎盤	テストステロン, エストラジオール, プロゲステロン, HCG		6	6		6	
	膵・下垂体・副腎	インスリン, コルチゾール, ACTH	1	1	4		1	
	心房・心室	心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP), NT-proBNP 犬NT-proANP		1			1	
	骨代謝関係	NTx-血清, ビタミンD関連, インタクトPTH		1.3.4		3		
甲状腺検査	犬甲状腺機能低下症 猫甲状腺機能亢進症	犬-TSH, 犬T4, FT4	1.3					
	甲状腺ホルモン	TSH, FT4, T4, T3, FT3	1.3	1.3	7			
免疫系検査	犬・猫アレルギー	吸入系・食餌系・花粉系	1.3.4	1			1	
	リンパ球サブセット検査 サイトカイン検査	T細胞, B細胞, NK細胞, CD4, IL-6, TNF-α等					8	8
ウイルス検査	猫・免疫不全/白血病他	免疫不全, 白血病, コロナ, バルボ, カリシ, トキソプラズマ等	1.2					
	犬感染症 (ウイルス) 検査	ジステンパー, バルボ, アデノ, コロナ, ヘルペス, パパイヤ, プルセラ, トキソプラズマ, レルトスピラ等	2					
	狂犬病抗体A, B	抗体検査	1					
ウイルス検査	サル類感染症 (ウイルス検査) ※実験動物飼育施設	サル免疫不全ウイルス, フィロウイルス (エボラ, マールブルグ), サルベータレトロウイルス, サル水痘ウイルス, サルT細胞白血球ウイルス, サルEBウイルス, サルフォーマーウイルス, サルCMV				2.4		
尿一般検査	定量検査	尿蛋白, グルコース, クレアチニン, BUN, アルブミン	1.3.4	1.3.4		1.3.4	1.3.4	
	試験紙一般項目	潜血, 蛋白, ケトン体, グルコース, ビリルビン, 比重, PH	1.3.4	1.3.4		1.3.4		
	尿沈査	白血球, 赤血球, 上皮細胞, 結晶, 細菌等	1.3.4	1.3.4		1.3.4		
	寄生虫卵検査	虫卵検査	2				2	
	髄液, 穿刺液検査	細胞数, 蛋白, 糖, 結晶	1	1				
血液検査	血球計数	白血球, 赤血球, HGB, Ht, 血小板, 網赤血球, 好酸球	1.2.3.4	1.2.3.4	1.2.3.4	1.2.3.4	1.2.3.4	1.2.3.4
	末梢血液像検査	目視法, 一部フローサイトメトリー	1.2.3.4	1.2.3.4	1.2.3.4	1.2.3.4	1.2.3.4	1.2.3.4
	血液凝固検査	PT, APTT, Fib, AT-ACT, FDP, D-ダイマー	1.3					
	原虫検査	マラリア原虫, 抗原検査, パペシア原虫	1		1			
微生物検査	細菌塗抹鏡検	グラム染色	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	
	細菌培養検査 (一部真菌含む)	【検査材料】 創部, 糞便, 乳汁, 皮膚, 膿-開放, 耳漏, 膿-非開放, 鼻汁, カテーテル尿, 眼脂, 泌尿器, 髄液, 消化管, 胸水, 下痢便, 呼吸器, 毛, 胆汁, 鼻腔	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	
	大腸菌血清型別 ペロトキシン	O抗原, H抗原, VT-1, VT-2		2	2	2		
	細菌薬剤感受性検査	セフェム系, ペニシリン系, アミノグリコシド系, キノロン系, フルオロキノロン系, マクロライド系, リンコマイシン系, ペプチド系, テトラサイクリン系, サルファ剤, その他	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	
	抗酸菌塗抹検査	チールネルゼン, 蛍光法	2	2			2	
	抗酸菌培養検査	培養検査, 結核菌群核酸検出 (PCR)	2	2			2	
病理検査	病理組織検査	疾病診断, 剖検診断	1.9	1.9	1	1	8.9	8.9
	病理細胞診検査	疾病診断	1	1				
その他	ビタミン	ビタミンA, E			5			
	脂肪酸, アミノ酸	ケトン体分画			5			
	成長ホルモン	ソマトメジンC [IGF-I]			5			
	卵巣	抗ミューラー管ホルモン		6	7			
	黄体, 胎盤, 副腎皮質, 寧丸	プレグナジオール [P2]		6				
	抗酸化力測定 酸化度測定	D-ROMS, BAPテスト			5			

1. 疾病診断, 2. 感染症診断, 3. 予防, 経過観察, 4. 健康状態把握, 健康管理, 5. 産業動物等の肉質等の品質などの評価, 6. 希少動物の排卵や妊娠確認, 7. 反芻家畜の生殖能評価, 8. 実験動物の免疫能評価や薬理効果判定, 9. 死亡原因追跡 (剖検診断)

2. 産業動物と臨床検査

2.1. 乳牛における臨床型乳房炎の原因菌検出を困難にする要因

乳牛において臨床型乳房炎は、年間を通じて最も多く発生している疾患である。乳牛が臨床型乳房炎を発症することで、それが潜在性乳房炎に移行し、乳生産量の低下や乳質の悪化（乳中体細胞数の増加、体液成分の乳腺内漏出による風味や味の変化）を招き、安定した酪農経営を脅かす大きな要因となっている。乳房炎は、主に微生物（細菌、真菌、マイコプラズマ、藻類など）の乳腺内への感染によって発症し、その原因菌を分離・同定し、薬剤感受性試験を行って原因菌に対して最も感受性のある抗生物質を選択し、有用な治療法を行うことが臨床の現場で行われている。図1に臨床型乳房炎の原因菌の分離状況を示した。ここで問題なのは、約20%ある原因菌が検出されないノーグロース（no-growth: ns）の乳房炎の存在である。著者は、採取した罹患乳房の乳汁を4℃あるいは室温で保存し、乳中の原因菌がどのように時間経過とともに変化

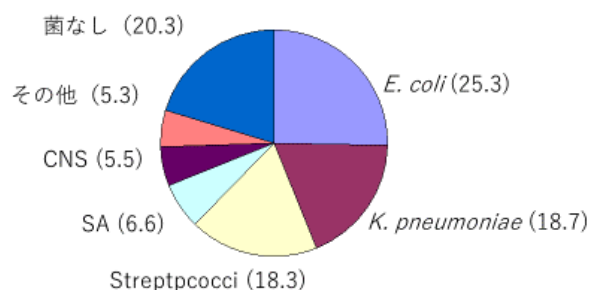


図1 家畜診療簿からの乳房炎の原因菌種

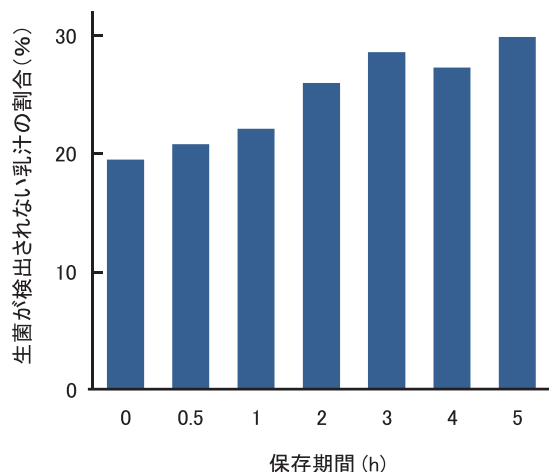


図2 乳房炎乳を0～5時間保存した時の生菌が検出されないサンプルの割合

するかを調査した。図2に示したように乳汁中の生菌が検出されないサンプルが時間経過とともに増加した。また、採材した時間経過とともに生菌数が有意に減少した菌種は、大腸菌群、Coagulase negative Staphylococci (CNS)、Streptococcus uberis以外のレンサ球菌(Other Streptococci)、Yeast like fungusそして Corynebacterium bovisであった（図3）。また、時間経過とともに減少しない菌種は好中球に対して防御能を持つ、Staphylococcus aureusと Streptococcus uberisであった（図4）。採材した乳中で原因菌が減少した原因として、乳中に存在する好中球に貪食された可能性が推察された⁴⁾。

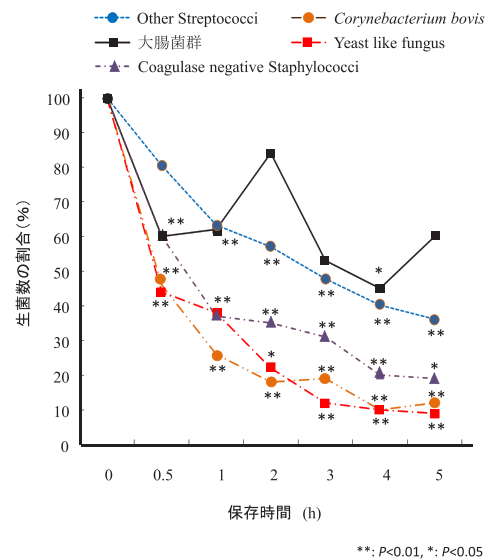


図3 乳房炎乳を0～5時間保存した時の各菌種における生菌数の変化縦軸は保存前の菌数を100とした時の割合。

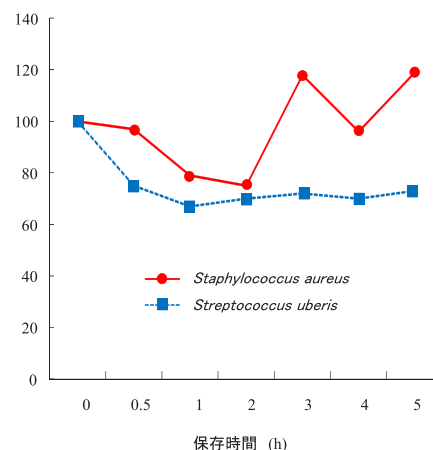


図4 乳房炎乳を0～5時間保存した時の各菌種における生菌数の変化 縦軸は保存前の菌数を100とした時の割合。

2.2. 臨床型乳房炎の原因菌を検出するための分析前段階精度管理

臨床型乳房炎の原因菌の検出精度を高めるためには、乳中に存在する好中球の機能を低下させることで解決される可能性がある。著者らは、乳房炎乳を採材する試験管に好中球の走化能や貪食能などを減弱化させる薬剤をあらかじめ入れておくことで、原因菌を検出しやすくなることを現在考案している。今後、この好中球機能を低下させる試験管が開発されることで、乳房炎の原因菌の検出のみならず、子宮炎、尿路感染症、肺炎の鼻汁などの原因菌の検出に役立てることができると考えられる。

(久枝啓一：岡山理科大学獣医学部・畑明寿・藤谷登：岡山理科大学獣医学部、岡山理科大学生物医科学検査研究センター)

3. ヒト臨床検査における分析前段階精度管理

臨床検査における分析前段階精度管理は、同じ試料を測定したら毎回同じ値が得られるように検査環境を管理することによって、検査結果を時系列で確認できるようにすることが目的である⁵⁾。

精度管理に使う試料（精度管理試料）は市販の試料を準備するか、プール血清を作成して使用する。市販の試料は作成する手間が省ける、値付け（メーカー公表している測定値）があるなどメリットがある一方、高価であることや容量が施設に合わないなどのデメリットもある。プール血清は凍結と融解を繰り返して得た血清の上澄み液を一週間で消費できる量ずつ小分け分注して凍結して保存する。廉価でできるが作成の手間がかかる。また残検体を利用する場合は施設の倫理規定を確認する必要がある⁶⁾。どちらの試料でも毎回同じ条件で使用する。試料は予め何日間か測定して施設に沿った測定範囲を決める。具体的な方法としては、測定結果の項目ごとの平均値と標準偏差（SD）を求める。大方の項目は平均値を中心に前後2SDの値を測定範囲とすることが多い。また、極端に測定値の小さい項目は2SDを使用せず平均値の前後の値を測定範囲として使用する。さらに、小分け容器の開封時から時間の経過とともに測定結果が変

化していく項目もあるため、開封時と容器の使い終わりでの測定結果の変化にも注意する。当施設の生化学用精度管理試料では開封後の経時変化をきたす項目として鉄、アルカリホスファターゼ（ALP）、LDLコレステロールは上昇し、ビリルビン、総コレステロール、HDLコレステロールは下降傾向にあることを確認している。

分析を行う前には精度管理試料を測定し、測定範囲内に収まっていることを確認してから患者検体測定を開始する。測定範囲から外れた場合は原因を追究して是正する。当施設では、測定結果が測定範囲を外れた場合は表2の手順で原因を追究している。

筆者は病院（ヒト専門）の病院で20年近く臨床検査技師として勤務している。そこで実際に経験したことについて紹介する。

3.1. 多項目自動血球分析装置でマウスの血液を測定したら

依頼を受けて赤血球や白血球の数や種類を測る装置でマウスの血液を測定した。その後、値が決まっている精度管理検体を測定したところ若干の低値傾向を示した。装置の測定部分がヒト検体を測定した時よりも汚れやすいことが分かった。ヒト検体の測定よりも頻繁に除タンパク洗浄を実施することにした。

3.2. 凝固した血液では測定できない検査

血液は採血後時間が経つと血小板や凝固因子が活性化して凝固する。血球（赤血球、白血球、血小板）を数える検査や凝固因子を測定する検査は凝固した血液では凝血で目的物が消費されてしまい正しく測定できない。したがってこれらの検査をする際には目視で凝血がないかを確認してから測定する。また、測定結果を観て著しく血小板が少ない時は採血管の壁（特に蓋の周り）に凝血がついていることもあるので採血管をやさしく揺らして確認する。

血球算定の演算項目でMCHCが37%を超えるとときは寒冷凝集素が高いことも考えられる。寒冷凝集素は健常人でも持っているが、著しく高い状態になると室温でも影響が出てくる。この場合は37℃の環境下にしばらくおいて再度測定する。

3.3. 溶血した検体を測定するときの注意点

溶血とは血球が壊れて血球の中身が血清（または血漿）中に漏れだした状態である。血球中に多く含まれる乳酸脱水素酵素（LD）やカリウム（K）が正誤差、赤血球中に存在するインスリン分解酵素（IDE）によりインスリンが分解され負誤差を示すことが知られている。しかし溶血はその赤い色によって比色で測定する項目にも影響を与える。特に総タンパクやアルブミンは正確な値が出ないことがある。また血球が壊れすぎるとヘマトクリット値が変わってしまいバランスが悪くなる。赤血球の殻が沈んでいる時（血餅と血清の境目が赤黒い時）は、この血液はあきらめた方がよい。

3.4. 光源ランプの劣化を見抜くには

生化学用精度管理試料は1種類で約20項目を測定している。ある時の測定で次の項目の測定結果が若干低値を示した。その項目は尿素窒素（UN）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、マグネシウム、グルコースであった。原因は光源ランプの劣化であるが、なぜ解るのだろうか。生化学検査で測定に重要な光源ランプの劣化を見抜くためには3つの方法がある。(1) メーカーの提示する照射時間の把握、(2) 日々の吸光度チェック、(3) 分析前の精度管理である。

これらの低値傾向を示した項目の測定波長は340 nmであり、測定項目の中で最も短い波長である。光源ランプの劣化は波長の短い項目から影響が現れる。このことから精度管理では測定範囲だけではなく長期的な観察や測定原理を理解しておくことも重要である。

（谷あすか：東邦大学医療センター大橋病院臨床検査部）

4. ヒト微生物検査における分析前段階精度管理

微生物検査は、感染症患者の診断および治療において、起因となる病原体の同定を行い、必要に応じて適切な薬物治療を選択する目的で実施する。検査そのものだけでなく、検体採取、保存、およびコンタミネーション防止などが適切に行われない場合、検査結果やその解釈に大きな影響が生じ、誤った診断や治療法選択によって治療期間の延長や重症化を引き起こす可能性がある。本稿ではヒト微生物検査における臨床検体の方法等について概説する。

臨床検体の保存温度や保存時間は菌の生存に関わる大きな要因であり、臨床症状から予測される菌種の性質を深く理解しておくことが必要である。肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) や *Haemophilus* 属菌は保存中に死滅しやすいため、これらの菌による感染症が疑われた場合には検体採取後2時間以内に検査を実施する。淋菌 (*Neisseria gonorrhoeae*) や髄膜炎菌 (*Neisseria meningitidis*) は低温で死滅しやすいため、35℃の孵卵器内などで保存する必要がある。また、アメーバ赤痢の起因菌である *Entamoeba histolytica* はヒト以外の霊長類やブタ、イヌなどにも感染するが、病原性を有する栄養型は低温および好気性条件下ではすぐに死滅してしまうため、検体採取後は温度管理を行いながら直ちに検鏡する必要がある。

血液培養検査における検体の取り扱いにはさらに注意が必要である。通常、血液は無菌状態であるため、血液培養検査で陽性となる場合、同定された菌が菌血症の起因菌と考えられる。しかし、正しい結果を得るためには、検体採取時に皮膚常在菌が検体中にコンタミネーションする可能性を避けなければならない。このために、採血部位（鼠径部は避ける）

表2 管理範囲外の結果を示した項目の対応順序

-
- ①測定値が開封後経時変化をきたす項目があるため、コントロールボトルの開封日と試料の残量を確認する。
 - ②測定時の試薬や機器の状態に合わせるために検量線を取り直す。
 - ③試薬の劣化を考慮して試薬を新品に交換する。
 - ④光源ランプの光量や反応セルの汚れや傷の有無を確認する。
 - ⑤供給される水や洗浄液の状態を確認する。
-

を70%エタノールなどで広範囲に消毒し、採血者は手洗いと手指消毒後に手袋を着用し、アルコール綿も含めて注射針には何も触れないようにして採血する。採血は可能なら部位を変えて2箇所から行い、ゴムの部位をアルコール消毒した嫌気性および好気性ボトルを2セット以上用いて培養を行うことで、検出感度を90%以上とすることができる。

獣医療における微生物検査では血液培養に必要な採血量に問題があったが、近年0.1~1 mLの血液で検査が可能な血液培養ボトルが開発された。しかしながら、獣医療における血液培養検査においてはヒトと違い、体毛があることや採血時に激しく動くことがあるため、上記のコンタミネーション防止に関してヒトの検査以上に注意が必要であると考えられる。今後は、獣医療においてもヒトと同様な精度で検査が行えるよう、ヒト微生物検査における臨床検体の取り扱い方法を参考にして検査を行うことが必要であろう。それによって適切な抗菌薬が選択され治療効果が期待出来るとともに、この分野における薬剤耐性菌の発生防止にも寄与すると考えられる。

(桐谷光夫・鈴木幸一：帝京大学医療技術学部
臨床検査学科)

5. ヒト免疫学的検査における分析前段階精度管理

ヒトを対象とした臨床検査では、病気の診断や健康状態を確認するため、被験者から血液等の検体を採取し、その検体について検査が行われる。免疫学的検査は、この検体検査に含まれるが、その測定は医療機関や検体検査業務を受託された衛生検査所等で行われている。平成29年6月14日に公布された医療法等の一部を改正する法律⁷⁾により、医療法と臨床検査技師等に関する法律の一部が改正され、医療機関や衛生検査所等における精度管理の基準が明確化された。また、検査技術の進展に対応した検体検査の分類が見直され、平成30年12月1日より、改正医療法(検体検査関連)として施行されている。本稿では、医療機関での検体検査の精度確保と免疫学的検査における分析前段階精度管理について概説する。

医療機関での検体検査の精度確保には、管理

組織(責任者の設置)、標準作業手順書・日誌の作成、内部精度管理の実施、外部精度管理への参加、適切な研修の実施が必要である。また、免疫学的検査における精度管理においては、免疫学的検査が主として抗原抗体反応の測定系であるので、特に検査で用いる抗体特異性、非特異反応の存在、自動分析装置の測定機器(試薬)間差による検査値のバラツキや試薬ロット間差が問題となる。代表的な検査項目には、輸血検査における血液型検査、交差適合試験や不規則抗体検査、免疫検査における炎症マーカー(CRP)、免疫グロブリン、感染症、腫瘍マーカー等や内分泌検査における各種ホルモン等の定性・定量検査が挙げられる。検査項目によっては、腫瘍マーカーやホルモン等のように、その血中濃度が微量なもの、測定値の標準化が難しい項目があり、測定結果の信頼性や正確性を保証するため、分析前に実施される日々の内部精度管理(管理試薬を用いた検査試薬の反応性、さらに測定機器の状態・判定手順の確認による検査結果の信頼性保証)や外部精度管理の実施(検査値の施設間相互性の確保や検査手順の標準化)が重要となる。また、検体採取、検査方法、判定基準および検査結果報告、さらに試薬管理や機器管理を含む業務精度を管理する総合的精度管理も必要である。以下に免疫学的検査を含む検体検査で重要な共通事項をまとめた^{8,9)}。

〈標準作業手順書の作成〉

検査項目ごとに検査手順をまとめた標準作業手順書を作成し、検査手技の標準化により、検査者間誤差を抑える。

〈検査結果の保証〉

検査結果の信頼性を確認するため、検査項目によっては「陽性対照」あるいは「陰性対照」を同時に測定する。また、検査判定における個人差をなくす。

〈試薬の精度管理〉

検査試薬は、納入時に外観状態を確認し指定条件で保管する。試薬ロット番号と有効期限の確認・記録、使用時に再度チェックと記録を行う。

〈機器類の精度管理〉

測定機器の他、遠心機、恒温槽、保冷庫の異常は検査結果に影響を及ぼすため、保守点

検（定期点検と日常点検）を行う。

（細井英司：元徳島大学大学院医歯薬学研究部
医用検査学系細胞・免疫解析学分野）

6. 小動物における腸内フローラ検査の標準化と精度管理

6.1. 腸内フローラ検査とは

腸内には約 1,000 種類以上、約 100 兆個の細菌が存在すると推定され、これらの集団を腸内フローラと呼ぶ。近年、腸内フローラは健康や疾患との密接な関係が明らかにされており、注目されている。今日、イヌ・ネコなどの小動物の健康管理を目的に、「腸内フローラ検査」が実施されている。本検査は、個別での検査の提供に加えて、一部のペット保険の付帯サービスで実施されており、広く認知され始めている。

6.2. 腸内フローラ検査の標準化と精度管理

腸内フローラ検査の手順の流れは、専用キットにサンプル（便）の採取（サンプリング）と保存後、専門機関でのサンプルの前処理（核酸抽出）、高速シークエンサーによる解読、データ解析となる¹⁰。サンプリングやサンプルの保存は、飼い主、獣医関係者など誰もが実施することができるが、その後のサンプルの前処理、高速シークエンサーによる解読、データ解析に関しては、各工程が複雑で、高度な機器が必要となるため、特定の機関で実施する必要がある。近年では、腸内フローラの研究の進展に伴い、測定機器や解析技術が進歩し、サンプルの前処理方法やデータの解読・解析技術が多様化した。その反面、データの質や精度が各工程によって異なり、測定結果にバイアス（偏り）が生じやすい。そのため、そのバイアスを減らすために、検査の標準化と精度管理が重要となる。

標準化とはいつでも同じ検査結果が得られるように基準となる物質や測定方法が定められていることを言う。今日、我が国では、ヒトの腸内フローラ検査に関して、日本マイクロバイオームコンソーシアム (<https://jmbc.life/>) が立ち上がり、標準化プロトコルが提供されている。一方、獣医領域では、今後、小動物の腸内フローラ検査における状況を理解

し、各工程における最適化した標準プロトコルの検討が必要になってくる。例えば、採取方法や保存などの違いで得られるデータに影響が出ることが知られている^{11,12}。そのため、サンプリングや保存方法の統一プロトコルが必要である。また、多様なプロトコルで収集したデータでは、検査値の解釈も多様となる。そのため、標準化プロトコルに基づいたデータの収集も、検査データの精度向上のために必要である。

腸内フローラ検査の精度管理には、既知の細菌を一定の比率で混合したものを標準物質として使用する。このような標準物質は、アメリカンタイプカルチャーコレクション (ATCC) や製品評価技術基盤機構 (NITE) から販売されている。これらを用いて、検査手順の工程での正確性や結果の妥当性などを評価できる。

6.3. おわりに

小動物の腸内フローラ検査は新規な検査であり、獣医検査に適応させた標準化プロトコルや精度管理が必至である。

（内山（竹村）伊代：岡山大学大学院医歯薬学
総合研究科・内山淳平：岡山大学学術研究院
医歯薬学域）

7. 実験室における人獣共通感染症

人獣共通感染症 (Zoonoses) はヒトと動物に共通して感染する感染症である。その病原体は細菌、ウイルス、真菌などの微生物やプリオンなど多様である。現在、注意すべき人獣共通感染症のリストについては、厚生労働省が毎年発行している動物由来感染症ハンドブックを参照するのがわかりやすい¹³。実験室で動物由来検体を利用して検査・研究等を行う場合には、リストを参照して、各種病原微生物等とその宿主動物について確認して、実験者の感染リスクを予め考慮する必要がある。一方で 2019 年に発生した新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) のように、元々は自然宿主動物 (コウモリが有力) のみで感染環が回っていたものが、偶発的にヒトを含む多種動物に侵入・感染・定着することで新規の感染症が発生する場合もある。現在では SARS-CoV-2

は、イヌ、ネコ、フェレット、ミンク、シカ、各種動物園動物など多くの動物に感染したことが報告されており、感染動物からヒトへの感染もレアケースであるが報告されている¹⁴⁾。また既に存在するものの認知されていない動物由来病原体による感染症にも注意が必要である。例えば2011年に中国で発見された、重症熱性血小板減少症候群ウイルス(SFTSV)は、その後日本でも西日本を中心に分布することが報告された¹⁵⁾。現在では、マダニ媒介の病原性の高い人獣共通感染症として認知されているが、SFTSV発見の前から東アジア地域に広く分布していたものと考えられる。抗体調査の結果から、SFTSVは多くの家畜動物、野生動物、伴侶動物に感染すると考えられ、特にネコは感受性が高い。感染ネコからヒトへの感染も発生しており注意が必要である¹⁵⁾。SFTSVのような高病原性の病原体が、動物由来検体の中に存在し得ることは考慮すべきであろう。病原体が検体に含まれていても安全に作業できているか？この仮定を念頭に作業手順や実験室の管理運用を見直す必要がある。高病原性ウイルスの研究から、例えば組織検体からキアゲン等の核酸抽出キットを用いて核酸を精製する場合に、溶出バッファの添加のみではウイルス不活化は不十分である(加えて、エタノール添加が必要)¹⁶⁾。また血清検体は、56°C 30分の非働化処理のみではウイルス不活化が十分でない場合もある(UV照射処理を組み合わせることを推奨する¹⁷⁾)。さらにハード面について言えば、「安全キャビネットは適切に性能検査されているだろうか？」(特定病原体等や監視伝染病病原体を所持していない施設では、性能検査が実施されていない可能性がある)。管理運営も含めて、バイオセーフティーの実践に不安がある施設の担当者は、日本バイオセーフティ学会主催の実験室バイオセーフティー専門家講習会を活用することを推奨したい。

(渡辺俊平：岡山理科大学獣医学部)

Ⅲ. 分析段階精度管理

分析段階精度管理とは、分析時における測定精度の管理で狭義に精度管理(QC)と言い、

毎日の測定精度の管理(Daily QC)である。獣医療で取り扱う検体は、血液、尿、糞便、穿刺液など多岐にわたり、検査項目も多種多様であり、検査はすべて検査マニュアルに基づいて実施される。日常検査においては、それぞれの検体が適切に前処理、保存され、マニュアルが順守されているか、検査実施者のスキルが充分であるか、測定機器が正常に作動しているかなどの分析前後段階精度管理がきちんと整えられていることが前提となる。これらを前提として、例えば、ヒト医療の日常精度管理では、<基準物質の測定による検量線の作成 - 管理用試料の測定 - 検体の測定 - 管理用試料の測定>のような手順で実施される。検体の測定データは、管理用試料の測定データで挟まれていることによって、一定の正確度と精密度を保持しているかどうか、統計学的手法を含めたさまざまな解析手法を利用して分析管理が可能となる。管理用試料としてはプール血清やプール尿あるいはコントロール血清やコントロール尿が使われる。正確度とは、分析値が真の値にどれだけ近いのか、また、精密度とは、繰り返し測定が行われた時のばらつきをいう。しかし、獣医療の現場では、管理用試料を用いた内部精度管理はほとんど行われておらず、QCカードによる検査試薬管理やオンラインでメーカーと直接連結したメーカー主体の精度管理となっている。分析段階精度管理の内容は、分析時における誤差の種類とその大きさを確認し、許容できるものであるかを判断すること、許容できないものであるなら、その原因を解明し、その要因を分析操作の中から除去して精度を改善するか、さらに精度の高い技術を導入するなどの改善策を検討することができる内容でなければならない。このような一連の分析段階精度管理の毎日の繰り返しによって、検査データの正確度と精密度が保証されるため、管理用試料を使う、使わないにかかわらず、毎日の測定精度の管理は極めて重要である。

(宮井紗弥香・岡崎登志夫：ヤマザキ動物看護大学動物看護学部動物看護学科)

1. 基準物質の国際的な規格保証システム

ヒトの臨床検査機関と実験動物の検査機関

における外部精度管理について、基準物質の国際的な規格保証システムに着目して現状を紹介する。

多くのヒトの検査機関で採用されている国際的な規格保証システムとしてまず挙げられるのはISO15189である。これは、臨床検査室の品質マネジメントシステムの向上と検査に関する能力評価を目的として設立され、日本においてはこの国際規格に基づき、日本適合性認定協会（JAB）が審査・認定を実施している。実験動物を検査するヒトの検査機関もこれに準ずる。ただ、日本臨床衛生検査技師会など各検査関連の国内団体によって実施されている基準物質測定による国内での外部精度管理システムとは異なり、基準物質を測定することによって検査の国際的な標準化を目指すものではない。

実験動物の検査機関では、国内においては、基準物質測定による外部精度管理のシステムは存在せず、実験動物の検査に特化した「ISO」も存在しないが、各国の実験動物検査機関に基準物質を頒布して検査の国際的な標準化を図る試みはすでに存在している。実験動物の分野においては、実験動物科学における国際協力のための非政府組織として「実験動物科学国際評議会（ICLAS; International Council for Laboratory Animal Science）」¹⁸⁾がある。ICLASは国連教育科学文化機関（UNESCO）、国際医学団体協議会（CIOMS）および国際生物科学連合（IUBS）の主導によって、1956年に設立された。ICLASが主催するプログラムのひとつに実験動物の検査に特化した精度管理プログラム、Performance Evaluation Program (PEP)、があり、これは2008年からスタートした¹⁹⁾。各国で希望する検査機関が定期的にICLASから基準物質を送ってもらい、検査の自己評価を行うものである。実際にはICLASから用意された、または各国のICLASブランチで用意された実験動物の病原体（菌株・ウイルス株）、これら病原体に対する抗体検査用のマウス/ラットの血清、病原体の核酸などが発送され、各検査機関は得られた検査結果を、後日明らかにされる“正解”と一致したか自己評価するものである。

検査の規格保証システムとして、ヒトの検

査機関においてはISO15189および国内主体の基準物質測定による外部精度管理が導入されている一方で、実験動物の検査機関においては基準物質測定による国際的な外部精度管理システムが運用されている。ヒトの検査結果が国境を超えることは稀である一方、実験動物においては、国境をこえての動物の授受は頻繁に行われており、検査結果の国際的な信頼性確保の必要性は増している。こうした状況が実験動物の分野において基準物質測定による外部精度管理の国際化が進んだ一因であると考えられる。

（後藤一雄：帝京大学医療技術学部臨床検査学科）

2. 国内施設の精度管理状況

2.1. 岡山理科大学 生物医科学検査研究センターにおける精度管理について

岡山理科大学 生物医科学検査研究センターでは原則としてヒトの臨床検査で培われた手法に基づき精度管理を実施している。まず本題に入る前に本施設の概要についてご説明したい。本センターは2018年に岡山理科大学今治キャンパスに獣医学部とともに開設され、検査室は獣医学教育病院に併設されており病院の臨床検査機能の一翼を担っている。獣医学教育病院からは犬と猫を中心とした愛玩動物と、牛や馬、山羊などの産業動物の検査依頼を受けている。また学内外の研究者や企業から、マウス、ラット、ウサギ等の実験動物、動物園飼育動物、魚類、食品由来微生物などの検体を受け入れている。検査分野としては、血液生化学、血液学、免疫学、一般、微生物が稼働している。本稿ではルーチン検査の要となる血液生化学検査の精度管理について主に述べる。

(1) 分析装置

本センターでは日中の生化学検査は日立3100型生化学自動分析装置（日立ハイテク）を使用し、夜間休日には富士ドライケム（富士フィルム）を運用している。前者では約30項目の検査をヒトの体外診断用医薬品を用いて行っている。後者では動物用医薬品の承認試薬を使用して約20項目の検査を行っている。以降、本稿では前者をウエット分析、後者を

ドライ分析と称する。

(2) 分析装置の校正

ウェット分析の吸光度分析項目については週1回の頻度で全点校正し、標準液と精度管理試料の測定により校正が適正に行われたことを確認している。この標準液と精度管理試料は分析試薬メーカー指定の製品を用いており、ヒト生体成分の分析に適した状態に校正される。つまり厳密には各種動物の生体物質濃度あるいは活性が正しく測定できるかは保証されない。これは動物臨床検査の根幹に関わる課題であるが、動物種毎に多岐にわたる生体成分の標準物質が必要となるため解決は容易ではない。ドライ分析についてはユーザーが校正を行う必要はない。

(3) 内部精度管理

ウェット分析の多くの項目はシスメックス社のQAPトロールを用いて内部精度管理を行っている。毎朝、装置を起動させブランク試料測定を行った後QAPトロールを測定し、マイクロソフトExcelで作成した精度管理記録表に値を記録している。この表は前月の平均値 $\pm 2SD$ の範囲から逸脱するとアラームが出るように設定してある。また試薬ロット変更やメンテナンス実施の情報も備考欄に記録している。イオン選択電極測定項目 (Na, K, Cl) については毎朝校正と精度管理試料測定を行い、同様に精度管理表に記録している。ドライ分析については定期的にQAPトロールの測定を行い装置が正しく稼働するかを確認している。なお、血球計数装置や血液ガス分析装置等についてもメーカーの提供する精度管理試料を週1回の頻度で測定し記録している。

(4) 外部精度管理

毎年1回行われる日本臨床衛生検査技師会の外部精度管理調査と愛媛県臨床検査技師会の精度管理事業の生化学分野に参加している。なお2022年度はどちらの外部精度管理事業においても参加項目は全てA評価を獲得している。ドライケムについては動物用医薬品を使用しているため参加していない。

(5) 検査受付

本施設は検体管理が自動化されておらず、受付業務も品質管理において重要となる。本センターでは検査依頼伝票に患畜名、病院管理用IDのほかオーナー名、動物種、性別、年齢、体重の記入欄を設け、獣医師や愛玩動物看護師に記載をお願いしている。その理由として、ペットの犬や猫は類似した名前の個体が多く、患畜名やIDのみでの照合では検体取り違えを生じるためである。これに加え、採血管に患畜情報記載のない検体は受け取れない事を周知している。なお、血球計数や凝固系検査では動物種毎に装置パラメータが異なるため、動物種の確認は正しい検査のためにも必須の情報である。

(6) 結果報告

本センターでは、複数の書籍や動物臨床検査専門機関の公開された値を基に参考基準範囲を設定している。この範囲から逸脱した場合は、前回受診時の検査値と比較を行い、今回の分析結果の妥当性について検証を行ったうえで結果を報告している。また血糖やクレアチニンなど一部の項目についてはパニック値を設定し、担当医・看護師に速やかに連絡すると同時に、再検査を実施し値の妥当性を検証する。なお、動物臨床検査は分析法の標準化が進んでいないため、他施設で取得されたデータに基づく基準範囲を利用するのは注意を要する。特に海外と日本では測定原理が異なる事も珍しくないため、書籍や文献の情報も精査が必要である。

動物臨床検査は分析法の標準化や精度管理の構築など解決すべき課題を抱えている。本センターは愛玩動物、産業動物、実験動物など各分野から多様な動物種の検体が集積することを活かしこれらの課題に取り組みたい。(畑 明寿・藤谷 登：岡山理科大学獣医学部、岡山理科大学生物医科学検査研究センター)

2.2. 臨床検査における精度管理の必要性和その実践 (動物ケンサ株式会社における精度管理状況)

EBMを基本に診断、治療が進められていく

中で、臨床検査データの提供に置いて、正確性と精度が恒常的に担保出来ている事が、必要不可欠であることは周知の通りである。患者のデータ変動が、測定機器の不具合や測定試薬の劣化に起因しているのであれば、もはやデータ提供に値しない。臨床検査の恒常性を担保する手段として、既値同一検体を毎日測定し、統計学的手法を用いた、日内、日差の精度管理を実施する事は重要である。

ヒト臨床検査域においては、精度管理が当たり前のようにどの施設でも実施しているが、確立するまでには、多くの先輩諸氏の努力があったことを忘れてはならない。数十年の紆余曲折の中で現在に至っている。ここでは、

精度管理の実践を通して、その必要性と、管理図から読み取れる検査データの担保保証について述べたい。

(1) 精度管理手法

1. 日内精度管理

機器立ち上げ時に管理物質を測定して、機器、試薬の精度をチェックし、当日のデータ提供が保証できる状態であるかを確認する。

2. 日差精度管理

日内精度管理データを基に日々の精度が、恒常性あるデータの担保が出来ているかをチェックすると同時に、今後の動向を予測する。

3. ツインプロット管理図

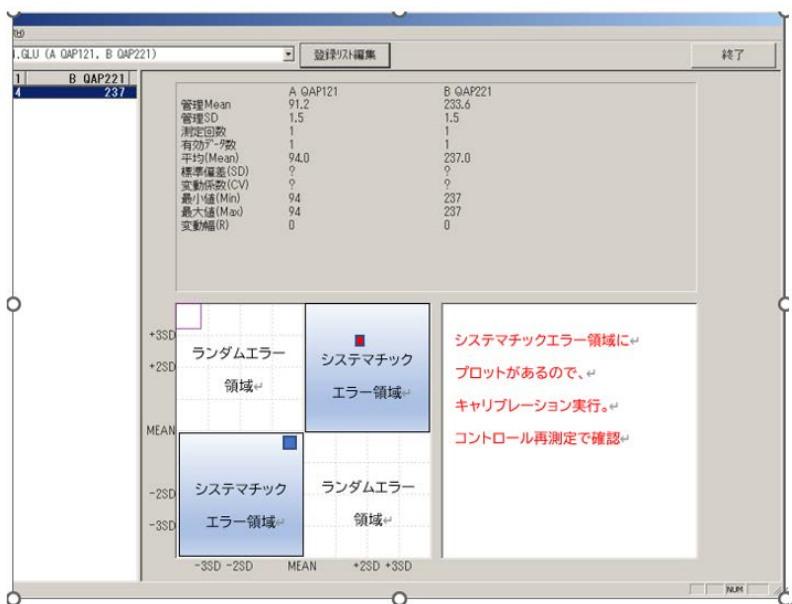


図5 ツインプロット図

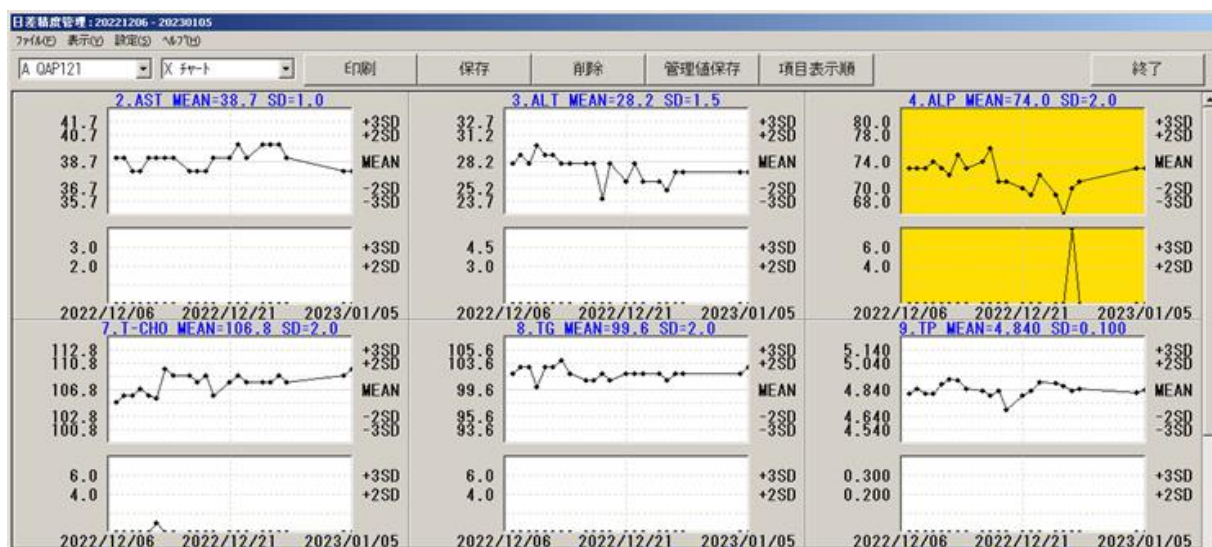


図6 日差精度管理図

二濃度の管理物質を測定して、交点をドット示し、当日のデータが許容範囲にあるか、あるいは許容範囲外であれば、その原因が何に由来するエラーであるかを判断して、対処する管理図である。ツインプロット（図5）で表示することにより、低濃度、高濃度測定値の精度が一目で分り、測定継続の可否を短時間に判断できる。

(2) 精度管理の実践

二濃度液状凍結コントロールを室温で溶解し、よく混和後に、一回測定必要量に分注小分けし、再度-20℃で凍結保存する。一日に一回、分注小分けしたコントロールを暗所で溶解し、良く混和し、サンプルカップに移し測定する。

(3) 管理図が示すこと

\bar{x} -チャート図から、測定値のプロット位置が $\pm 2SD$ 範囲内であるか、どちら側に偏っているのか判断でき、 $\pm 2SD$ を超えるとチャート図が黄色に変わり、検査続行の判断が求められる。二濃度コントロールの平均値、SD値を入力して、ドットの範囲が $\pm 2SD$ 内であれば、測定の継続を許可する。

図5の中央部の青ドットは交点が $\pm 1SD$ 内にあり良好な測定精度を示しているので、測定の続行は許可できる。図5の赤ドットは交点が $\pm 2SD$ を超えたシステムティックエラー領域にあるため、測定の続行は許可できないので、改めてキャリブレーションを行い、コントロールの再測定後に測定を続行するか判断する。

交点がランダムエラー領域にあった場合は、再度コントロールを測定して、精度の確認を行ったうえで、測定続行を判断する。

図6は低濃度域の日差精度管理図を示したもので、低濃度、高濃度別に表示され、 $\pm 2SD$ を超えた項目は黄色の背景で示される。日差精度管理図は30日間のプロットを表示する為、1か月前の管理状態を確認することが出来ることと、ハード出力により月単位での保存管理が可能となる。ファイル化して、長期的な質の担保を保証する記録とする。

図7はALPの日差精度管理図で、赤の矢印に示したように、pHの経時変化と共に測定値が低下してくる。

- ①の所で試薬を継ぎ足すと、測定値がある程度上昇してくるが、残存試薬が多いと新しい試薬を少しだけ継ぎ足しても、至適pHを保つことができず、測定値は徐々に低下する。
- ②の所は、残存試薬が少ないものに継ぎ足した場合、その後のpH変化は大きく変わらず、測定値も変わらない。
- ③の所は、新しいボトルに交換することで、測定値も安定した状況となる。このように、試薬のpH変化により測定データが変動していることを、確実に把握でき、対応が素早くできる。

(4) まとめ

1.臨床検査の測定値は、恒常的な精度の担保が

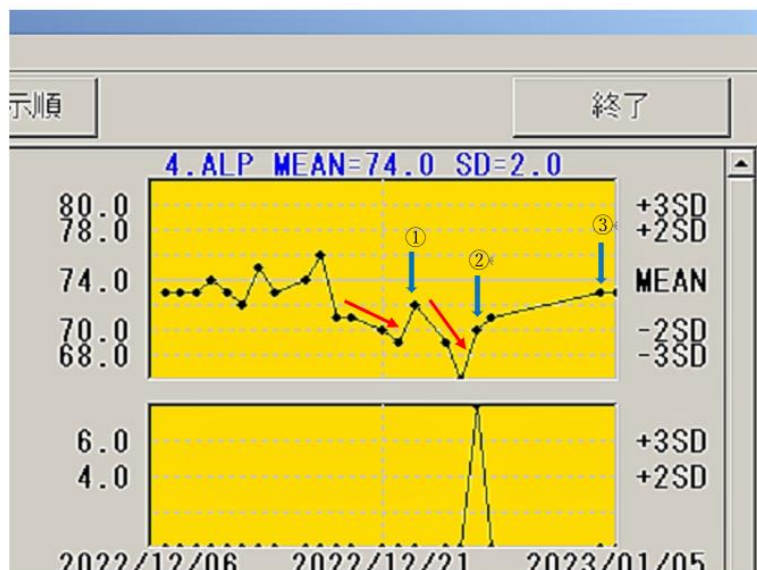


図7 ALPの日差精度管理図

重要であるため、日々の精度管理は不可欠な業務の一つである。

2. 精度管理物質を毎日測定することで、測定機器の精度、測定試薬の劣化や補充ミスが確認でき、測定続行の可否が即座に判断できる。
3. ツインプロット図を活用することにより、高値域、低値域の精度が一目でき、キャリブレーションが必要か、コントロールを再測定するか、素早く決定できる。
4. 日差精度管理図は、長期的に精度の変化を監視するだけでなく、月単位で機器の状況を観察でき、定期点検時期や部品交換時期の予報にも活用できる。
5. 全ての施設で精度管理が実施され、測定精度の保証が担保できれば、外部精度管理を実施して、全国的に臨床検査データを統一することは不可能ではないと考える。

(荒木千章・有坂麻子・金木信敏：動物ケンサ株式会社)

2.3. 株式会社サンリツセルコバ検査センターにおける分析段階精度管理

当社、サンリツセルコバ検査センターは東京都江東区に本社および中央ラボラトリーを構え、生化学、血液学、免疫学、微生物学、病理学の各臨床検査を受託している動物の総合検査センターである。関連会社にはヒトの臨床検査を行う、登録衛生検査所の株式会社サンリツがあり、当社の精度管理に関してはヒトの臨床検査に準じた精度管理の実施を目標としている。ここにわれわれが日常実施している分析段階精度管理について示す。

(1) 内部精度管理

1) 管理物質等を用いた精度管理の実施

① 生化学検査、免疫学検査、血算、凝固学的検査で測定機器を用いた検査

メーカーより供給されるスタンダードを用いて、キャリブレーションを実施し、市販の管理物質を用いて \bar{x} -R管理図法による内部精度管理の実施を行っている。各測定機器で毎日測定された管理物質の測定データを検査システムに取り込み \bar{x} -R管理図が作成される。この \bar{x} -R管理図を確認することによりデータのトレンドやシフトなどの異常をつかみやすく、大

きなトラブルになる前に改善処置を行うことが可能となっている。

② 微生物学的検査で自動分析装置を用いた検査

微生物学的検査において微生物同定感受性分析装置を用いている。この機器の精度管理としては、黄色ブドウ球菌と大腸菌の標準菌株を用いて細菌の同定および薬剤感受性についての精度管理を実施している。

2) 患者サンプルを利用した精度管理の実施

① リアルタイム精度管理

上記の管理物質を用いた内部精度管理に加え、分析後段階の精度管理の範疇となるが、患者検体の測定結果を用いてリアルタイムで前回歴、異常値チェック、および関連項目のチェックを検査担当者が検査システムを用いて行っている。

② ヒストグラムの確認

測定後の結果値を用いて検査項目ごとにヒストグラムを作成し、総平均値、基準値内平均値、異常値出現率、グラフ概形などでデータ変動の有無を確認している。

② 作成標本の妥当性チェック

病理検査、血液学検査、微生物学検査で作成した標本は染色性を含めた作成標本のチェックを毎日行っている。特に診断に直結する病理検査では毎日作成された標本の染色性や薄切の厚さなどのチェックを病理医が実施している。

3) 形態学の精度管理

あらかじめ作成した画像(写真)や実際の顕微鏡を用いて細胞名称のテストなど細胞の判断技術およびそのレベルの維持を確認している。

(2) 外部精度管理

ヒトの臨床検査では多くの施設が参加する公的な外部サーベイランスがあり、自施設と他の施設との比較が可能である。しかし、獣医療においてはそのような公的な外部サーベイランスは実施されていない。そこで当社では試薬メーカー等が開催しているクロスチェックへの参加や一般社団法人千葉県臨床検査技師会の検査値統一化試料“Chiritrol 2000L”を用いて株式会社サンリツを含む千葉県内の

各機関施設との比較も行っている。

標準化試薬が設定された項目においては、施設間でのデータが収束できることはヒトの外部精度管理調査の結果報告などで示されている²⁰⁾。しかし、動物特有項目であるイヌCRPやネコSAA、BCG法による血清アルブミン測定などヒトの臨床検査で用いられる標準化試薬では測定できない項目もある。獣医療に提供する検査値の統一には、検査値の標準化に対する獣医療界のコンセンサスが必要であり、かつその理解の下に獣医療における外部サーベイランスの実施が必要になると思われた。

(吉田 隆：株式会社サンリツセルコバ検査センター)

2.4. 株式会社ランスにおける精度管理状況の紹介

当該施設内対応の臨床検査の精度管理状況を紹介する。

- ・精度管理関連、検査前管理として適正材料及び添加剤の確認、検体状態、検体量の確認を行う。
- ・精度管理データの確認及び、再検査基準、再検査実施等の確認。
- ・検査後管理として測定項目間相関、前回値相関、異常値確認等を行い、結果報告。

(1) 標準作業書等

測定標準作業書、精度管理標準作業書、機器保守測定作業書

(2) 日誌及び台帳

機器保守管理台帳、試薬管理台帳、温度管理台帳、測定作業日誌

(3) 精度管理

【内部精度管理】

<生化学検査> 蛋白関連、含窒素成分関連、酵素関連、糖質関連、電解質・微量金属、脂質関連、炎症マーカー、フィラリア成虫抗原、その他

汎用自動分析装置BM6050、BM6070（日本電子株式会社）を使用、糖質関連は、SPOTCHEM EZ sp-4430（アークレイ株式会社）を使用。コントロール血清による \bar{x} -R管理図法

（毎日）キャリブレーション（週1回）

<内分泌検査> 甲状腺関連、副腎皮質関連、性腺関連、睪臓関連、心臓関連、腎臓関連

汎用自動分析装置BM6050、BM6070（日本電子株式会社）と、免疫発光測定装置イムライズシリーズ（SIEMENS）を使用。コントロール血清による \bar{x} -R管理図法（毎日）キャリブレーション（週1回）

<アイソザイム検査> LDアイソザイム、CKアイソザイム、ALPアイソザイム

アガロースゲル電気泳動法：コントロール血清による \bar{x} -R管理図法（毎日）

<ビタミン・薬物検査> 汎用自動分析装置BM6050、BM6070（日本電子株式会社）を使用。コントロール血清による \bar{x} -R管理図法（毎日）キャリブレーション（週1回）

<犬NT-proANP> ELISA法、プール血清による \bar{x} -R管理図法（週2回）キャリブレーション（週2回）

<血液学検査> 多項目自動血球計数装置 XN-1000V動物対応（シスメックス株式会社）

血算：コントロール血球による \bar{x} -R管理図法（毎日）

<凝固検査> COAG2NV（富士フィルム和光純薬株式会社）

\bar{x} -R管理図法（毎日）、動物管理医療機器構成成品コントロール血漿（月1回）

測定機器光量チェック（月1回）

<アレルギー検査> ELISA法、コントロール血清による \bar{x} -R管理図法（週1回）キャリブレーション（週1回）

<尿検査> 尿定性検査：試験紙法 既知コントロールによる管理、目視判定（毎日）

<微生物検査> 塗抹（グラム染色）検査：標準菌株を用いた染色性管理 3種類（毎日）

グラム陽性球菌、グラム陽性陰性混合、グラム陰性桿菌

培養（好気・嫌気・真菌）検査：初期分離培地と標準菌株を使用した培地発育管理（毎日）

薬剤感受性検査：標準菌株3種類と、感受性ディスク20種による感受性ディスク精度管理「阻止円mm値を管理」（毎日）

【外部精度管理】

<生化学検> 年1回試薬メーカー 3社主催の外部

前回値チェックはデルタ・チェック (delta check) ともいい、患者の当日の検査成績を、過去の成績と比較する。前回値との大きな乖離は、病態の急変あるいは検査過誤を意味する。項目間チェックはロジック・チェック (logic check) ともいい、関連した検査項目の病的変動は同時に動くので成績の乖離を調べる。臨床的判断値 (病態識別値) との比較もロジック・チェックである。腎機能を表す尿素窒素とクレアチニンの比較、貧血の検査である赤血球とヘモグロビンの比較、総タンパクとアルブミンの比較が行われる。その他、総ビリルビンと直接ならびに間接ビリルビン、ASTとALTなどの関連する臓器逸脱酵素の比較、肝臓で合成されるアルブミンとコリンエステラーゼの比較も有用である。ロジック・チェックは管理ツールであり、臨床的には乖離例が病態識別に用いられる。パニック値 ("alert" or panic results) チェックとは、極端に高い値また低い値の管理で、生命の存続に関わる重篤な状態のため、直ちに医師に連絡される。「動物臨床検査とワンヘルスサイエンス」に動物臨床検査成績を考えるのに参考となる知識 (pathogenesis: 発症機序) を紹介する。

(西口慶一: 城西国際大学薬学部医療薬学科・
渭原 博: 千葉科学大学危機管理学部)

1. 基準範囲とは

基準範囲は検査データの臨床的意義を判断する際の一般的な目安となるものである。基準範囲を定める場合、健常と思われる個体から採取された検体について分析測定されるため、かつては正常範囲 (正常値) と呼ばれていたが、これではあたかも「健康状態の指標」であるかのようなニュアンスを与えてしまうため、最近では使用されなくなっている。基準範囲を設定するに際しての前提条件としては、まず、測定法、測定機器、試薬、単位などを明確にするとともに、動物の種類、性別、年齢、既往歴や検体の採取条件などの影響を検討し、整える必要がある。これらの前提条件を明確にしたうえで、十分な数の標本を集めて計測し、設定しなければならない。得られたこれらの標本群を集計し、ヒストグラムを作成すると、下図のような正規分布 (図10)

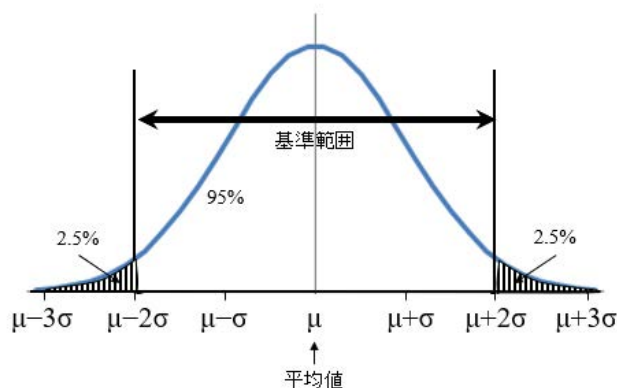


図10 正規分布曲線と基準範囲

になるが、正規分布にならない検査項目も多い。正規分布にならない場合は、正規化して使用する。一般的には、このうち極端に高い数値2.5%と極端に低い2.5%を除き、この標本群の平均値を挟んだ健常個体95%が含まれる範囲を基準範囲として設定する。ただし、以上の設定方法からも明らかのように、健常な個体でも5%は、基準範囲から外れることとなるため、基準範囲はあくまで目安であり、絶対視すべきではない。また、動物の種類、性別、年齢などが変動要因になる場合は、さらに基準範囲の階層化が図られなければならない。

(宮井紗弥香・岡崎登志夫: ヤマザキ動物看護
大学動物看護学部動物看護学科)

2. 判断値 (病態識別値) とは

ヒトの臨床検査では、臨床検査の結果を利用する時に、その検査値を判定する為の基準 (物差し・目安) が必要になる。この基準にあたるものが、「基準範囲」や「臨床判断値」です。かつては基準範囲と臨床判断値に対する理解の不足から大きな混乱が生じたが、日本臨床検査医学会の「臨床検査のガイドライン」²²⁾などで、明確にその違いを解説された。臨床判断値は、ある病態を診断や治療方法の選択などの判定に用いる境界値を指しており、主に臨床疫学的アプローチによって最も判別能が高い境界値が設定される。したがって何を目的にするかにより診断閾値 (カットオフ値)、治療閾値、予防医学的閾値の3つに分類されている²³⁾。

【診断閾値】

診断閾値は、特定の疾患や病態を診断する

為の閾値で、カットオフ値とも呼ばれている。疾患群と非疾患群の検査値の分布から最も高い判別能を有する最適な値に設定される。腫瘍マーカー全般や、NT-ProBNPなどが代表例である。

【治療閾値】

治療閾値は治療介入の必要性を示す限界値である。腎不全に対して透析を施行すべきクレアチニン値、急性冠症候群の経皮的冠動脈インターベーションの治療閾値のトロポニンなどがこれらに当てはまる。

【予防医学閾値】

生活習慣病など予防医学的に扱われる疾患の発症リスクを、予防医学的見地から判断するための閾値である。特定の疾患や病態が将来的に起こるかどうかが、コホート研究や、当該疾患の専門家や学会などのコンセンサスにより設定されている場合が多い。代表例は総コレステロール、LDLコレステロール、HDLコレステロール、中性脂肪などで、基準範囲とは別に臨床診断値として設定があり、日本動脈硬化学会より、診療ガイドライン、予防ガイドラインの定めるものが設定されている。その他には、尿酸値は日本痛風・核酸代謝学会の治療ガイドライン、HbA1cの日本糖尿病学会編、糖尿病治療ガイドなど、これらの臨床判断値が代表例である。

【基準値についての見解】

基準範囲と臨床判断値をまとめて基準値と呼ぶことは許容されているが、両者の定義は異なる為、区別出来るようにヒトの臨床検査センターの検査案内は項目の備考欄に出典を明示するようにと指導されている。

【獣医療における判断値（病態識別値）】

獣医療では、一部の愛玩動物や産業動物などの基準範囲は存在するものの、設定に至る症例数に限界があり、設定のある種も少ない。また、臨床判断値となるとほとんど目になくなる。著者らがインターネットで調べてみたが、犬の血糖値が、基準範囲と、臨床診断値とあるのが見受けられた。また、犬の甲状腺低下症や、猫の甲状腺機能亢進症などに臨床判断値が付いているものがあるが、出典まではたどれなかった。弊社で行っている犬のNT-ProANP²⁴⁾も臨床診断値の42.2 ng/mLが設け

られている。現状はこのように極めて少ないのが現状である。

最後に、本総説が獣医療の臨床検査の精度管理、基準範囲などのデータの共有化となり、寄与していく事を期待します。

(五野上誠・畠 岳也・清水園枝・原 瑞姫：
株式会社ランス)

3. 動物臨床検査とワンヘルスサイエンス

3.1. 動物の凝固・線溶系検査

動物の臨床検査において、凝固・線溶系の検査法や試薬は確立されていない。

測定対象種別の特徴、試薬、測定機器について、また凝固・線溶検査で一番重要である、検体作成について述べる。

(1) 動物種における凝固活性の違い

図11に示すよう動物種により凝固活性が大きく異なり、対象の動物種の特徴を鑑み測定を行わなければならない。動物の祖先は野山を駆け回り、ケガをし、あるいは他の動物に攻撃されて出血したことは事実である。その時、速やかに出血を止める作用のある動物は選抜され、その遺伝子が広く伝えられることにより、今日の動物の血液凝固能に至ったと考えられる。このような背景の中で、狩猟、捕食関係の動物種は凝固能が高く、家畜系は凝固能が低い傾向にある。

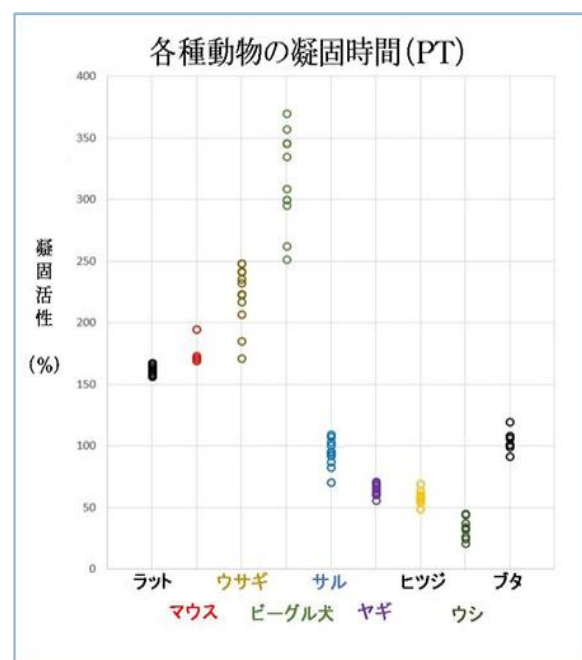


図11 PT活性比較（米村の資料による）。

(2) 試薬

現在、測定試薬はヒト系試薬を各動物種に適用している。凝固試薬はメーカー別、商品別においても組成が違い、測定時間にも相違がある。ヒト系凝固検査では、試薬量が大過剰である事や、非生理的な物質を含むことは以前から指摘されている。凝固試薬はLot差も見られるため、測定試薬は期限内のLot固定が必要である。特に、APTTは動物種によっては測定差が大きく異なり、同一試薬であってもLot差がある。

(3) 測定装置

現有測定装置の検出方式においては、光学的変化、粘稠度変化をとらえるものがある。

光学系の装置は、凝固終末点を光学的にとらえるため、目視での確認は困難である。

粘稠度変化をとらえる装置は、凝固終末点を手手法と同様に、視覚的にも確認できる。

一方、動物用に市販されている測定装置は、ヒト用測定機器を動物用にプログラム変更されている（主に試薬分注から測定開始までの閾値の変更）。

(4) 検体作成

凝固・線溶系検査は採血から保存迄の工程でのエラーがデータに大きな影響を与える。採血時の組織液混入は凝固亢進を起し、下記のような影響が現れる。

小宮山らによる模擬採血不良実験の例で²⁵⁾、PTの短縮は1秒に対し、APTT短縮は10秒であったという。弊社にて、ブタを使った採血不良による測定値の変化を、表3に示したが、PTに比較してAPTTの秒数の短縮と延長のバラツキがみられた。

表3 採血不良による測定値の変化

	PT(秒)	APTT(秒)
フィブリン析出(-)	6.7 ~ 10.6	19.6 ~ 32.2
フィブリン析出(+)	7.3 ~ 10.4	16.5 ~ 34.2

特に凝固能が高い動物種は、検体作成不良による凝固時間の短縮が、光学系機器に測定不能を生じさせる。光学系機器は、試薬分注後に閾値が設定されており、その閾値内に凝固が終了してしまうと、測定不能の結果となる。光学系機器で異常が観られた場合は、粘

稠度変化をとらえる装置、または用手手法で視覚的にも凝固状態の確認が必要である。

(5) まとめ

動物の凝固・線溶検査は、ヒト用試薬を使用しているため動物種別の試薬選択は測定側での選択、確認が必要である。測定に関しては検体の状況確認（採血から血漿分離、保存まで）が最重要である。また測定値が異常の場合、部分凝固によるフィブリン形成の確認を行うことが重要である。

（金木信敏・有坂麻子・荒木千章：動物ケンサ株式会社）

3.2. 分析試薬の国際標準化が各種動物の血中乳酸脱水素酵素およびアルカリホスファターゼ測定値へ与える影響 - アイソザイム組成と反応性の違い

ヒトの臨床検査において、我が国では2020年以降、乳酸脱水素酵素（LD）およびアルカリホスファターゼ（ALP）の測定方法が日本臨床化学会常用基準法（JSCC法）から国際臨床化学連合基準法（IFCC法）へ切り替えられた。これに際し、ヒト検体ではLD測定値はIFCC法とJSCC法ではほぼ同等、一方ALP測定値は約1/3となるのが日本臨床化学会から周知された。

LD測定試薬のIFCC法とJSCC法の主な違いは緩衝液のpHである。LDアイソザイムには、LD1からLD 5の5つのタイプがあるが至適pHが各々若干異なるため、IFCC法とJSCC法で測定値に差が生じる要因となる。例えばヒトLDではIFCC法はJSCC法に比べLD1に対する反応性が高いため、LD1優位の検体はIFCC法がJSCC法に比べ高値となり、反対にLD5との反応性は低くLD5優位の検体で低値となることが知られている。

ALP測定のIFCC法とJSCC法は受容体基質として作用する緩衝液成分が異なり、両試薬はヒト血中に見出される各ALPアイソザイムとの反応性が大幅に異なる。特に、IFCC法はJSCC法に比べ小腸性アイソザイムとの反応性が低いことが特徴である。ヒトの小腸性アイソザイムは、血液型がBまたはO型のLewis分泌型の者において高脂肪食後に疾病と無関係に血中に増加するため、IFCC法はこの食事性

の影響を受けにくい処方となっている。

このような背景のもと、我々は動物の検査分野においてもIFCC法移行による測定値の変化を把握しておく必要があると考え、犬、猫、牛、ラット、マウス等を対象にJSCC法とIFCC法で得られた血中のLDとALPの関係性を調査している。

LD測定値では、JSCC法(x)とIFCC法(y)の回帰式の傾きは、犬で0.82、猫0.93、牛1.11、マウス0.99、ラット1.00であった^{26,27,28)}。両法で得られた測定値に大幅な乖離はないものの、同等に扱って良いかは議論が必要である。特に犬と牛では乖離の幅が他種に比べて大きいため注意が必要である。なおLDアイソザイム構成は動物種間で均一ではなく、例えば牛はLD1が優位であるが、犬はLD5優位となる。我々はこれにより動物検体におけるIFCC法とJSCC法の乖離をある程度説明できると考えている。すなわちヒトLDアイソザイムと同様に、LD1優位の検体ではIFCC法がJSCC法に比べ高値となり、LD5優位検体ではその反対の関係性になると考えている。

ALPは調査した動物種においてはIFCC法による測定値はJSCC法に比べ1/3程度の値となり、ヒトと同様であった。従って、基準範囲および臨床診断値等の見直しが必要である。両測定法間の回帰式の傾きは犬では0.29、猫では0.36、牛では0.38、マウスでは0.34、ラットでは0.24となり^{28,29)}、犬とラットは他の動物種より低い値となった。動物種によるこの関係性の違いにはアイソザイム構成、特に小腸性アイソザイムの存在が関係していると考えられる。犬は小腸性ALP遺伝子の産物であるコルチゾール誘導性アイソザイムが、ラットでは一部のヒトと同様に摂食により増加する小腸性アイソザイムが血中に存在する。その一方、猫、牛、マウスからは殆ど検出されない。上述の通りIFCC法は小腸性との反応性が低いため、これを含む犬やラットでは回帰式の傾きがより小さい値になったと考えられる。

各動物種のLDおよびALP測定におけるIFCC法とJSCC法の関係性は、動物種により変動する。これには種毎のアイソザイム構成の違いと、各アイソザイムの測定試薬との反応性の違いが影響していると推測される。なおヒト

用の検査試薬は動物に対して標準化されておらず反応性にメーカー間差が存在する可能性があるため、本稿に示した値は参考程度とお考え頂きたい。

(古本佳代・藤谷 登・畑 明寿：岡山理科大学獣医学部、岡山理科大学生物医科学検査研究センター)

3.3. 各種動物の尿酸分析法並びに動物の尿酸種差

生活習慣病にも関与する尿酸は、痛風関節炎や痛風腎などの尿酸塩沈着症がよく知られている。最近では、尿酸が主要心血管イベントのリスクになることや高尿酸血症が高血圧のリスクになること等が報告されている。尿酸は、ヒトではプリン体の最終代謝産物であるが、尿酸代謝には種差が存在しており、動物実験を用いた基礎研究を進める上では、実験モデルの選択や実験デザインの工夫が求められる。ヒトおよび各種動物の尿酸分析法並びに動物の尿酸種差について紹介する。

尿酸代謝における種差は、肝臓の尿酸酸化酵素であるウリカーゼ (uricase) の発現が関与している^{30,31)}。ヒトおよび類人猿ではウリカーゼが欠損しているため、プリン体の大部分は最終代謝産物の尿酸 (uric acid, UA) として尿中に排泄される。UA測定法としては、若槻らのウリカーゼ法と岩田らのウリカーゼ・ペルオキシダーゼ法が広く用いられているが、これらは飲酒の影響を受けること、尿斑の獣鑑別ではヒト尿斑とトリ糞斑との区別できないなどの問題点も指摘されている³¹⁾。著者らは、食事内容に影響を受けないクレアチニン (creatinine, Cre) を濃度補正の対照として用い、UAとCreを高速液体クロマトグラフィー (high-performance liquid chromatography, HPLC) による同時分析を行い、従来法よりも簡便・迅速かつ高精度なヒト尿斑分析法の開発を行っている。本法は、臨床並びに法医鑑識領域において有用な方法と考える。

用いた尿は、昭和大学医学部「人を対象とする研究等に関する倫理委員会」の承認 (承認番号: 242) を得た上で、健康成人196名 (男性: 158名、女性: 38名、年齢21~31歳) から提供を受けた。また、動物の尿斑およびト

リ（コック）の糞斑は、株式会社 埼玉実験動物供給所（埼玉）から購入した。UA、Cre、HPCL用試薬は特級を用い、富士フィルム和光純薬（大阪）から購入した。

尿斑は、尿を濾紙（Whatman No.2）に滴下した後、24時間室温・間接露光下に放置して十分乾燥させたものを濾紙尿斑として作製した。また、濾紙尿斑は -30°C に保存し、UAおよびCre分析は6か月以内に行った。濾紙尿斑中のUAおよびCreの抽出法としては、斑痕の中央部を5 mm × 5 mmに細切りにした斑痕片を試験管に入れ、20 mM炭酸ナトリウム溶液を0.5 mL加え、室温の間接露光下に60分間放置後、遠心・濾過を行った。得られた抽出液は、その10 μL をHPLCに供した。HPLC分析はShimadzu LC-10Aシリーズ（島津、京都）を用い、UAが293 nmおよびCreが234 nmのいずれも極大吸収で測定を行った。

(1) ヒトを含めた各種動物尿斑のUAおよびCre濃度

ヒトおよび9種類の動物尿斑のUA濃度、Cre濃度、UA/Cre比は表4に示す。尿中UA値はトリで最も高く、他の動物尿斑とトリの糞斑とは明確に区別することができた。UA/Cre比は、健康成人（196名）が0.61～2.19の範囲（平均値1.06）、他の動物尿斑では0.37以下、トリ

の糞斑では20.9～28.4の範囲（平均値25.9）を示した。

(2) UA/Cre比の意義

ヒトでは、UAがプリン体の最終代謝産物であり、腎臓から0.5～0.6 g/日で排泄されることからヒト尿斑の指標として最適であると考えられる³²⁾。また、痛風などの高尿酸血症（ $>7.0\text{ mg/dL}$ ）ではUA値の上昇がみられたり、腎不全や重症のアシドーシスを呈する場合はUA値の減少が見られたりすることから、UA/Cre比による補正を行うことは尿斑を用いる人獣鑑別では有用と考える。

ダルメシアン³³⁾の尿中UA値は非常に高いことが佐藤らによって報告されているが^{31,33)}、これはUAが尿細管で再吸収できないため尿中に大量に排泄されるのが原因であると考えられている³⁴⁾。本研究でも、尿斑からヒトより高いレベルのUAが検出されたが、Creも同時に大量に排泄されるため、UA/Cre比で見るとヒトよりも約7倍低くなり人獣鑑別が可能であった（表4）。

(3) 尿斑試料の保存

本研究では、UAおよびCreの分析に関して、尿斑試料は -30°C 下であれば6か月の保存が可能であることが明らかとなった。一方、UAは、

表4 ヒトおよび各種動物の尿斑中尿酸（UA）、クレアチニン（Cre）値、UA/Cre比

	サンプル数 (n)	尿酸(UA) Mean \pm SD (mg/dL)	クレアチニン(Cre) Mean \pm SD (mg/dL)	UA/Cre 比 (mean)
ヒト	196	4.07 \pm 0.87	3.77 \pm 0.65	1.06
ハムスター	6	581 \pm 52	1573 \pm 172	0.37
ラット	10	1156 \pm 82	4627 \pm 316	0.25
ウマ	1	0.61	2.53	0.24
ウサギ	6	299 \pm 55.2	1438 \pm 132	0.21
ダルメシアン	2	1229	8193	0.15
ダルメシアン以外の犬	7	541 \pm 45.8	3128 \pm 119	0.17
ブタ	3	174 \pm 17.7	3480 \pm 249	0.05
ネコ	9	0.41 \pm 0.14	10.3 \pm 1.3	0.04
トリ	4	11314 \pm 762	437 \pm 28.5	25.9

直射日光が当たる戸外の環境下では分解されやすいが、暗所で室温以下であれば180日の保存が可能であることが報告されている³³⁾。本研究で用いた尿斑濾紙は乾燥すれば保存性が高いように思われるが、分析対象のUAおよびCreを安定的に分析するためには、その保存状態を留意する必要がある。

少量の尿斑からUAとCreを簡便・迅速に抽出しHPLC分析を行う本法は、他の尿斑成分分析への応用も期待でき、臨床、法医学並びに動物学領域などへの応用も期待できる。

本研究は、昭和大学医学部法医学講座の共同利用研究として行われた。研究デザインおよび分析に協力いただいた佐藤啓造昭和大学名誉教授および藤城雅也専任講師に深謝いたします。

(中内暁博：東都大学沼津ヒューマンケア学部・熊澤武志：聖隷クリストファー大学看護学部・

藤谷 登：岡山理科大学獣医学部、岡山理科大学生物医科学検査研究センター)

3.4. イヌ、ネコの尿ビリルビン検査

ヒトのビリルビンの1日産生量は250～300 mgで、その80%は老化赤血球のヘモグロビンに由来し、残りの20%は、その他のヘムに由来にする。循環血漿量を2.5 Lとすると血清中のビリルビン濃度は10～12 mg/dLと計算されるが、健常者の血清濃度は1.0～1.2 mg/dLと低濃度である。産生されたビリルビンが肝臓でグルクロン酸抱合を受け、ほぼ全てが胆汁中に排泄されるからである。

細網内皮系で産生されたビリルビンを非抱合型ビリルビン（別名、間接ビリルビン）、胆汁中に排泄されるビリルビンを抱合型ビリルビン（別名、直接ビリルビン）という。健常者の血清ビリルビンは非抱合型ビリルビンからなり、抱合型ビリルビンは、ほとんど含まれないが、0～0.4 mg/dLの基準範囲が用いられている。抱合型ビリルビンの測定試薬が、非抱合型ビリルビンにも反応するからである³⁵⁾。臨床的には、肝胆道系に障害があると胆汁中に排泄される抱合型ビリルビンが血液中に流れ、糸球体濾過をうけて尿ビリルビン陽性となる。非抱合型ビリルビンはアルブミンに

結合して血中にあるので糸球体濾過をうけない。すなわち、健常者の尿にビリルビンは検出されない。

動物臨床検査でも、肝胆道系疾患で尿ビリルビンが陽性となる。尿試験紙の検出感度は0.5 mg/dL（+に、相当）だが、尿にビリルビンが検出されるには、抱合型ビリルビンの血中増加が必要である。腎糸球体のビリルビン閾値が低い動物では血中ビリルビンの増加が軽度でも尿ビリルビンが陽性となるが、閾値の高い動物では尿へのビリルビン排泄は起こりにくい。ネコは腎糸球体のビリルビン閾値が高いので、尿にビリルビンは検出されないが、イヌはビリルビン閾値が低い（ネコの1/6～1/9）ので、健康なイヌでも0.5 mg/dL（1+）の尿ビリルビンが検出されることがある³⁶⁾。尿中濃度が1.0 mg/dL（2+）になると肝胆道系疾患を考えなければならない。

しかし、コーネル大学（獣医学部）が公開している血清抱合型ビリルビンの基準範囲は、イヌ（0～0.1 mg/dL）、ネコ（0～0 mg/dL）と低く、この血中濃度から健常犬の尿ビリルビン陽性を説明するのは難しい。尿細管におけるビリルビン産生（尿細管上皮細胞に「ヘムオキシゲナーゼ」が発現している）と、尿細管でのビリルビンの抱合（抱合体の型は不明）が、イヌの尿ビリルビンに関係しているのかもしれない。ヒトにおいても抱合型ビリルビンの尿細管分泌は考えられるが、その量は微量である。因みに、皮下出血（打撲や採血による皮下出血）によって生じた青痣が黄変するのも、皮膚にあるヘムオキシゲナーゼによるヘモグロビンの開裂（緑色のビリベルジン産生）とビリルビン（黄色）の産生である。（渭原 博：千葉科学大学危機管理学部・谷あすか：東邦大学医療センター大橋病院臨床検査部）

3.5. MAXS 測定による免疫グロブリン IgG の経時変化観察

抗体は標的分子への特異性の高さや副反応の少なさなどの優れた性質を持つことから研究や臨床の分野で幅広く用いられている。中でも抗体医薬としてがんや自己免疫疾患、最近では新型コロナウイルス感染症ほか様々な

疾患に対して有用な治療ツールとして利用されており、今後も益々研究開発が盛んになると予想される。しかし、その有用性が注目される一方で、抗体医薬品は培養コストの高い動物細胞を用いて生産するため薬価が高く、また抗体は高分子量かつ複雑な構造を持っているため、製造時の品質管理が煩雑であるといった課題がある。これらの課題を克服し、抗体医薬品の品質管理および設計の最適化を行う上では、立体構造情報の解析が非常に重要である。

この立体構造情報を得る手段として、単結晶X線構造解析が多く用いられている。しかし、抗体自体の柔軟性が高いため、全長の抗体の結晶化は困難であり、単結晶X線構造解析はほとんど実施されていないのが現状である。そのため、Protein Data Bankに登録されている抗体の構造は、大半が各領域 (Fc, Fab) のみの構造であり、全長の抗体は数えるほどしかない。また、結晶構造が得られたとしても、その構造は結晶のパッキングにより影響を受けた構造であり、溶液中の抗体のコンフォメーションを理解することは困難である。

従って、生体で実際に機能している抗体分子の挙動を明らかにするためには、溶液中における全長の抗体の立体構造を観察する手法が求められてきた。この、溶液中での抗体の柔軟な構造やコンフォメーション変化を観察する新たな技術が、X線中角散乱 (middle angle X-ray scattering : MAXS) を用いた手法である。

MAXSは、試料にX線を照射し、得られた散乱強度を用いることで溶液中の分子の立体構造を可視化するX線溶液散乱法の一つである。これまで、生体高分子の溶液中の構造解析にはX線小角散乱 (small angle X-ray scattering : SAXS) が用いられてきた。SAXSでは散乱ベクトル $q=0.25 \text{ \AA}^{-1}$ 付近までの散乱を測定し、SAXS領域の散乱からは分子のおおよそのサイズや概形といった情報が得られる。しかし、より詳細な分子の構造やコンフォメーション変化を解析するための情報は、 $q=0.30 \sim 0.75 \text{ \AA}^{-1}$ 程度のMAXS領域の散乱に含まれている。そのため、MAXS領域までの測定データを用いて解析を行うことで、動的な構造変化を捉え

ることが可能となる。

実例として、腹水法によって取得したマウスIgG1について、腹水の採取後精製までの日数が異なるサンプルを用いてMAXS解析に供した結果、Fab領域間の角度が外側に開いたY字型やT字型といった異なるコンフォメーションの抗体の構造を観察することに成功した。これは、溶液中の抗体は保存環境の影響を受け、経時的に構造が移行している可能性を示唆するものである。

MAXSを用いた解析は、溶液中の抗体分子の実際の姿を捉えることができる手法であり、抗体の構造と機能の相関を明らかにすることで、抗体の品質管理や評価の重要なパラメーターとして貢献できることが期待される。

(佐藤瑛美：東京農工大学大学院農学府、松本 崇：株式会社リガク、西河 淳：東京農工大学大学院農学府)

3.6. 家畜診療における臨床検査

私はこれまで肉用牛の黒毛和種を中心に家畜の診療をしてきました。家畜診療では次のような臨床検査がおこなわれています。

- (1) 直腸検査、(2) 糞便検査、(3) 超音波検査、(4) 血液検査、(5) 鼻汁検査、(6) レントゲン検査、(7) 乳汁検査

以下に各検査の概要を説明します。

(1) 直腸検査

直腸検査は直腸壁を介して、腹腔内の卵巣・子宮、腸間膜死亡壊死症、盲腸などを触診により検査します。利点は経済的で、生体に対する侵襲がなく、繰り返して検査できます。欠点は経験が必要で、検査の結果はどちらかと言えば、主観的な要素が大きいと考えます。今は超音波を各自携帯できるようになり、客観性は増していると考えます。

(2) 糞便検査

糞便検査は直接鏡検と抗原検査を行っています。直接鏡検ではコクシジウムのおシストや乳頭糞線虫の第3期子虫卵を見ます。肝蛭は集卵をしてから観ます。目が慣れてくれば、速さと正確性の精度が増します。抗原検査は抗原検査キットを使い、クリプトスポリジウムとロタウイルスを検出します。

(3) 超音波検査

直腸検査と併用して、卵巣の卵胞・黄体の確認、子宮を切って妊娠の有無を確かめます。妊娠鑑定時に雌雄判別や多胎判別を行う場合もあります。新しい使い方として尿膜管遺残や臍静脈・臍動脈といった臍帯の検査もするようになりました。

(4) 血液検査

診療所での据え置き型の検査や検査センターへの外注、診療車で持ち運べる携帯型で血液検査をします。前者はスクリーニング検査のために使用しています。後者は下痢の治療時に重曹の投与量を決めるときに使います。この機器を使うようになってから下痢の治療回数が減少しました。

(5) 鼻汁検査

鼻汁検査はPCR検査をしています。気道系の疾病の多発農家に対して検査を行い、原因病原体の検索をしています。

(6) レントゲン検査

レントゲン検査はデジタル化により、撮影の失敗はほぼなくなりました。現像も必要なくなりましたので、時間が短縮し、簡便で、使用頻度が格段に多くなりました。読影の技術の向上が待たれます。

(7) 乳汁検査

乳汁検査は乳房炎の乳汁の細菌検査と感受性試験を行い、抗生剤の選択に使用しています。

(亀島政範：宮崎県農業共済組合中部センター
家畜診療所)

3.7. サルの臨床検査

サル類の臨床検査では精度管理とともに、P2レベルとしての取り扱いが可能なバイオセーフティ管理が重要である。サル類の臨床検査は、縦断的、横断的データについて統計学的に評価されている³⁷⁾。これらの研究の焦点は種差³⁸⁾、雌雄差、年齢要因、妊娠、循環器系疾患³⁹⁾、代謝性疾患⁴⁰⁾等である。臨床検査による生理学的基礎データは、*Primate medicine* (霊長類医学)において、野生動物、展示動物を含めたサル類の獣医療、診断、治療に有用な所見となる。飼育下の動物の日常の健康観察では、食欲、排尿、排便、活動性を基本とし

て熟練した観察力が求められるが、本来野生動物であるサル類は、周囲に状態が悪化していることを悟られないよう威嚇行動や挑発行動を行うことにより潜在的な脅威を排除し、自身の安全を確保しようとする本能があるため、観察のみでは重篤な疾患の発見が遅れる場合がある。そのため、定期健康診断やわずかな異常を発見した際の保定検診と臨床検査は病態の早期発見に直結する。また、*Medical primatology* (霊長類医学科学研究)として、医学科学研究、薬効薬理研究、疾患モデル研究、感染症解明のためのモデル研究等において臨床検査値は生理機能解析、疾患モデル研究、治療薬開発や感染症研究に必須となる。

以下にサル類の臨床検査所見に影響を及ぼす要因を述べる。

動物の保定：ハズバンダリートレーニング(獣医学的処置や健康管理等を安全に行えるようにするためのトレーニング、これにより行動保定が可能となる)等馴化が行われていない場合は保定を行う前の捕獲のための追まわし、トラップへの追い込みや繋留時間は全身の代謝に影響を及ぼす要因となる。保定方法には無麻酔保定または、麻酔・鎮静下による保定がある。保定が不適切であると、動物へのストレスや負傷のリスクが高まるだけでなく、採血の正確性や安全性も損なわれる可能性がある。サル類の鎮静に一般的に用いられる塩酸ケタミンは循環器系へ影響を及ぼすとともに、グルカゴンの分泌促進、インスリン分泌抑制により、一時的に血糖値が上昇すると考えられている。

社会性・食事・生息環境：飼育下のサル類の場合、飼育環境(オープンフィールド、ケージ飼育、個別飼育、群飼育、おもちゃなど動物の福祉と健康を改善するために工夫されるエンリッチメント導入の有無)は動物のストレス、運動量等の変動要因となり検査所見に影響する。サル類は社会性の高い動物であるため適切な社会的環境を提供することで、ストレスや不安を軽減することができる。一方で、相性が悪い場合、同一ケージ内のみでなく、アイコンタクトができる範囲ですら、ストレスの原因となり、抜毛等自傷行為が発現することがある。群飼育における臨床検査

所見へ及ぼす影響として、優位な個体で過食による肥満、高脂血症、高血糖から糖尿病へと移行するリスクが生じる。一方、弱者ではしばしば、低血糖昏睡が発生することがあり、群飼育における摂餌状況の十分な観察と定期健康診断による早期発見は重要となる。野生動物では生息地域、季節により、栄養摂取状況において臨床検査結果への影響が考えられる。飼育下のカニクイザルでは給餌量の変更により高脂血症個体が減少し、糖尿病発症率の低下が認められている。

感染症：臨床検査所見は臨床症状とともに、感染症の早期発見に有用である。一方でカニクイザルやアカゲザルのSIV（サルエイズウイルス）やSRV/D（サルレトロウイルス）感染では潜伏感染中に、日和見感染、削瘦、貧血、難治性下痢、血小板減少症等の慢性症状があらわれる場合があり群の評価において検査データに影響をおよぼす⁴¹⁾。

図12は、厚生科学研究 長寿科学総合研究事業「霊長類を用いた老人病モデルの開発と長寿科学研究基盤高度化に関する研究」において、老人病モデル動物の解析を行うと共に、正常な加齢動物のデータベースを構築する目的でカニクイザルによるAging Farm (老化動物育成ファーム)を構築する際に行った臨床検査

に基づいた、繁殖コロニーの疾患の分類である。サル類の臨床検査値は、その群における相対的評価および個体ごとの変化により評価することが望ましく、既知のデータを基準値とする場合は、影響を及ぼす要因を鑑みて評価する必要がある。

(小野文子：岡山理科大学獣医学部)

文献

- 1) 矢富裕. 医療法等の一部改正に伴う検体検査の品質・精度の確保の規定. 臨床検査学教育2019; 11; 1: 1-7.
- 2) Clinical Chemistry: Theory, Analysis Correlation, Edited by Kaplan and Pesce, 5th edit., Mosby 2010.
- 3) 桃井康行. 獣医療での検査の現状や今後のあり方 モダンメディア 2022; 68 ; 61-65.
- 4) Hisaeda K, Koshiishi T, Watanabe M, et al. Change in viable bacterial count during preservation of milk derived from dairy cows with subclinical mastitis and its relationship with antimicrobial components in milk. J Vet MedSci 2016; 78: 1245-1250.
- 5) 高木康, 臨床検査精度保証教本, 日本臨床検

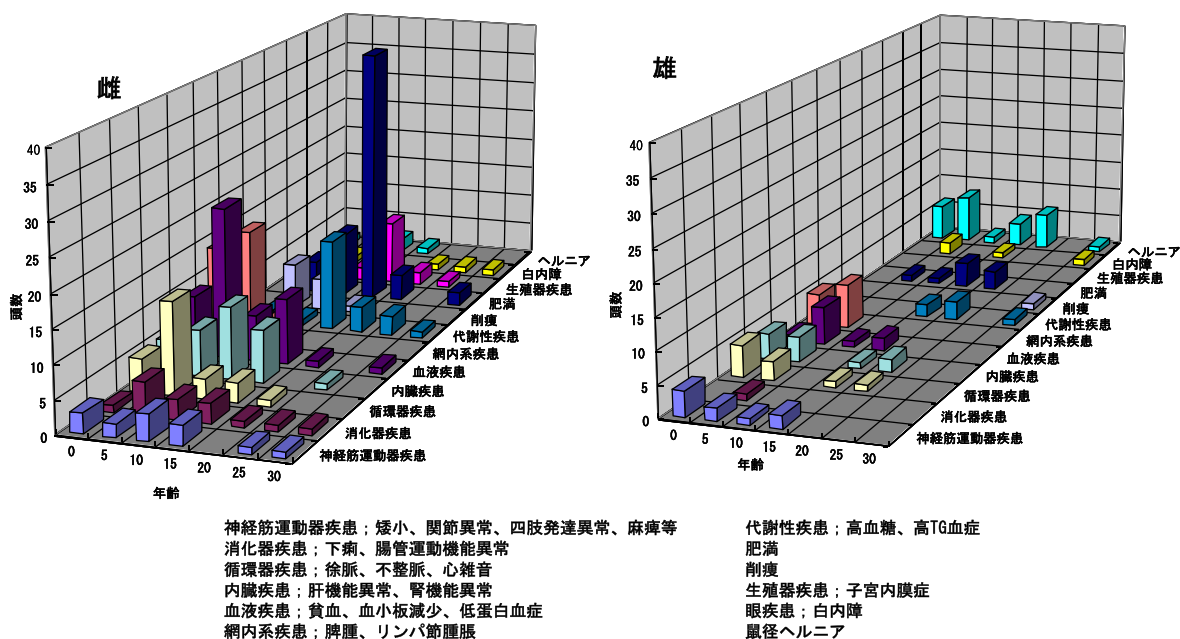


図12 カニクイザルにおける加齢に伴う疾患別発生状況

- 査技師会, 2010; 7-10.
- 6) 澤部祐司, 精度管理用プール血清の作製法とその倫理的話題, 検査と技術, 2007; 35: 917-921.
 - 7) 厚生労働省医政局長通知. 「医療法等の一部を改正する法律」の公布について (通知): 医政発0614第6号 平成29年6月14日.
 - 8) 岡田元. 免疫検査の精度管理, 検査と技術 2020; 48: 134 - 140.
 - 9) 李悦子. J 精度管理, スタンダード輸血検査テキスト第3版2017; 156-160.
 - 10) 服部正平. 今すぐ始める! メタゲノム解析 実験プロトコール. 羊土社, 東京. 2016.
 - 11) Song SJ, Amir A, Metcalf JL, et al. Preservation methods differ in fecal microbiome stability, affecting suitability for field studies. *mSystems* 2016; 1: e00021-16.
 - 12) Kim D, Jung JY, Oh HS, et al. Comparison of sampling methods in assessing the microbiome from patients with ulcerative colitis. *BMC Gastroenterol* 2021; 21: 396.
 - 13) 厚生労働省. ブーノーシス動物由来感染症ハンドブック2022. <https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/000906241.pdf>.
 - 14) Food and Agriculture Organization of the United Nations, SARS-CoV-2 in animals situation update (Mar 7, 2023), *Animal Health*.
 - 15) Takahashi T. Severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) and SFTS virus. *Uirusu* 2015; 65: 7-16.
 - 16) Haddock E, Feldmann F, Feldmann H. Effective Chemical Inactivation of Ebola Virus. *Emerg Infect Dis* 2016; 22: 1292-1294.
 - 17) Watanabe S, Fukushi S, Harada T, et al. Effective inactivation of Nipah virus in serum samples for safe processing in low-containment laboratories. *Virology* 2020 17: 151.
 - 18) ICLAS (International Council for Laboratory Animal Science) is a scientific organization dedicated to advancing human and animal health and well-being by promoting the ethical care and use of animals in research worldwide. 2023. <https://iclas.org>.
 - 19) Goto K, Hayashimoto N, Ishida T, et al. First trial in the development phase of the “Performance evaluation program” based on the ICLAS animal quality network program: self-assessment of microbiological monitoring methods using test samples supplied by ICLAS. *Exp Anim* 2009; 58: 47-52.
 - 20) 日本医師会. 平成30年度 第52回臨床検査精度管理調査結果報告書. 2019; 87-107.
 - 21) Krleza JL, Honovic L, Tanaskovic JV, et al. Post-analytical laboratory work: national recommendations from the Working Group for Post-analytics on behalf of the Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine. *Biochem Med (Zagreb)* 2019; 29: 020502.
 - 22) 市原清志. 基準範囲・臨床判断値. 臨床検査のガイドライン JSLM2018(日本臨床検査医学会ガイドライン作成委員会編). 宇宙堂八木書店. 2019; 12-22.
 - 23) 前川真人. 基準範囲と臨床判断値, そして基準値. *臨床検査* 2020; 64: 62-1267.
 - 24) 堀泰智, 諫山紀子, 原口純子, 他. 僧帽弁閉鎖不全症犬におけるELISA法を用いたNT-ProANP測定法の臨床的意義. *動物の循環器* 2021; 54: 15-25.
 - 25) 小宮山豊, 董顕輝, 高橋伯夫. 実験動物の血液検査. *血栓止血誌* 2023; 14: 260-264.
 - 26) Hata A, Ochi M, Furumoto K, Fujitani N. Changes in the blood lactate dehydrogenase measurements in canines and felines following the international standardization of the assay method. *J Vet Med Sci* 2022; 84: 1422-1429.
 - 27) 安木碧, 藤谷登, 畑明寿ら. 測定法の国際化に伴う健康なホルスタイン種搾乳牛における血中乳酸素脱水素酵素測定値の変化. *家畜衛生学雑誌* 2022; 47: 191-196.
 - 28) Furumoto K, Fujitani N, Nohara M, et al. Comparison of analytical values after changing to the international standardized method for lactate dehydrogenase and alkaline phosphatase measurements in mouse and rat. *Vet Sci* 2022; 9: 595.
 - 29) Hata A, Fujitani N, Takeshita M, et al. Comparison of regression for blood ALP levels using methods of the Japan Society of Clinical

- Chemistry and the International Federation of Clinical Chemistry and laboratory medicine in bovine, canine, feline, and human testing. *PLoS One* 2021; 16: e0253396.
- 30) Friedman TB, Polanco GE, Appold JC, et al. On the loss of uricolytic activity during primate evolution—I. Silencing of urate oxidase in a hominoid ancestor. *Comp Biochem Physiol B* 1985; 81: 653-659.
- 31) 佐藤啓造 他. 尿酸酸化酵素 (ウリカーゼ) と種差 -高尿酸値は長寿と知性の証-. *日本臨牀* 2016; 74 (増刊号9) : 56-63.
- 32) 原茂子. 尿酸・(酸性尿)と諸疾患との関連性—最近の話題—. *人間ドック (Ningen Dock)* 2020; 35 : 132-144.
- 33) 黒澤太平、佐藤啓造 他. 尿酸/尿素窒素比を指標とするヒト尿斑証明法の検討I試料の経時変化と保存方法について. *犯罪誌* 2003; 69: 1-7.
- 34) Giesecke D, Tiemeyer W. Defect of uric acid uptake in Dalmatian dog liver. *Experientia* 1984; 40: 1415-1416.
- 35) Kiuchi S, Ihara H, Osawa S, et al. A survey of the reactivity of in vitro diagnostic bilirubin reagents developed in Japan using artificially prepared bilirubin materials: A comparison of synthetic delta, unconjugated, and taurine-conjugated bilirubin. *Ann Clin Biochem* 2021; 58: 563-571.
- 36) Cowell RL. Is the clinical significance of bilirubinuria different in dogs and cats? "Veterinary Clinical Pathology Secrets" 2004, p. 152, Elsevier Inc.
- 37) *Nonhuman Primates in Biomedical Research, Volume 2: Diseases. Second Edition* 2012 Elsevier.
- 38) Miyabe-Nishiwaki T, MacIntosh A, Kaneko A, et al. Hematological and blood chemistry values in captive Japanese macaques (*Macaca fuscata fuscata*). *J Med Primatol* 2019; 8: 338-350.
- 39) Koie H, Ageyama N, Ono F, et al. Echocardiographic diagnosis of muscular ventricular septal defect in a cynomolgus monkey. *Am Assoc Lab Anim Sci* 2005; 44: 23-25.
- 40) Chen Y, Ono F, Yoshida T, et al. Relationship between body weight and hematological and serum biochemical parameters in female cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Exp Anim* 2002; 51: 125-131.
- 41) Hara M, Kikuchi T, Ono F, et al. Survey of captive cynomolgus macaque colonies for SRV/D infection using polymerase chain reaction assays. *Comp Med* 2005; 55: 145-149.

Total Quality Assurance for Animal Diagnostic Laboratory Testing

- ¹⁾ Kohtohbiken Medical Laboratories Inc., ²⁾ Lans Co., Ltd.,
³⁾ Faculty of Veterinary medicine, Okayama University of Science,
⁴⁾ Biomedical Science Examination and Research Center, Okayama University of Science,
⁵⁾ Department of Laboratory Medicine, Toho University Ohashi Medical Center,
⁶⁾ Department of Clinical Laboratory Science, Faculty of Medical Technology, Teikyo University,
⁷⁾ Former Department of Cells and Immunity Analytics, Institute of Biomedical Sciences, Tokushima University Graduate School,
^{8,9)} Department of Bacteriology, Graduate School of Medicine Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University,
¹⁰⁾ Faculty of Animal Health Technology, Yamazaki University of Animal Health Technology,
¹¹⁾ Doubutsu Kensa Co., Ltd., ¹²⁾ Sanritsu Zelkova Veterinary Laboratory,
¹³⁾ Department of Diagnosis and Research, The Corporation for Production and Research of Laboratory Primates,
¹⁴⁾ Department of Pharmacy, Josai International University,
¹⁵⁾ Faculty of Risk and Crisis Management, Chiba Institute of Science,
¹⁶⁾ Faculty of Numazu Human Care, Tohto University, ¹⁷⁾ School of Nursing, Seirei Christopher University,
¹⁸⁾ Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, ¹⁹⁾ Rigaku Corporation,
²⁰⁾ Veterinary Clinic, Nosai Miyazaki, Miyazaki Prefecture

Yasuji Sekine¹⁾, Makoto Gonogami²⁾, Keiichi Hisaeda³⁾, Akihisa Hata^{3),4)},
Noboru Fujitani^{3),4)}, Asuka Tani⁵⁾, Mitsuo Kiriya⁶⁾, Koichi Suzuki⁶⁾, Eiji Hosoi⁷⁾,
Iyo Takemura-Uchiyama⁸⁾, Jumpei Uchiyama⁹⁾, Shumpei Watanabe³⁾, Sayaka Miyai¹⁰⁾,
Toshio Okazaki¹⁰⁾, Kazuo Goto⁶⁾, Chiaki Araki¹¹⁾, Asako Arisaka¹¹⁾, Nobutoshi Kaneki¹¹⁾,
Takashi Yoshida¹²⁾, Masataka Hamano¹³⁾, Keiko Ohto¹³⁾, Yoshikazu Nishiguchi¹⁴⁾,
Hiroshi Ihara¹⁵⁾, Takeya Hata²⁾, Sonoe Shimizu²⁾, Mizuki Hara²⁾, Kayo Furumoto^{3),4)},
Akihiro Nakauchi¹⁶⁾, Takeshi Kumazawa¹⁷⁾, Akimi Sato¹⁸⁾, Takashi Matsumoto¹⁹⁾,
Atsushi Nishikawa¹⁸⁾, Masanori Kameshima²⁰⁾, Fumiko Ono³⁾

Summary Total quality assurance (TQA) of laboratory test results is required in veterinary medicine, including the quality assurance (QA) in the preanalytical and analytical phases and OA in the postanalytical phase. The current process for assuring analytical accuracy under these three phases is narrowly defined as quality control (QC). Although veterinary clinical testing is performed in the same manner as human clinical testing, it is necessary to assure the quality of testing based on the differences between humans, who belong to a single genus, and animals, which comprise a wide variety of species. This paper systematically describes the TQA and QC processes at each phase for vertebrate animals such as mammals, reptiles, birds, amphibians, and fish. In addition, reference information for considering animal laboratory values has been provided. In future, we aim to further expand on this information.

Key words: total quality assurance (TQA); quality control (QC); laboratory testing; three phases of quality control; one health science.