

病性鑑定材料検査時の留意点

検査には誤差、変動が必然的に伴う。人が調整あるいは作製した試薬や器具を使って、人が行う行為である検査には誤差、変動は避けられない。検査プロセスの大半を機械が自動的に行う化学的な分析においても操作者の相違や、検査の繰り返し、使用試薬のロットや機械の相違、保守点検の不備、突然の故障、また温度や光などの検査に影響する外部環境因子などによる誤差や変動など、様々な要因によって検査結果に誤差や変動が生じる。病気の診断のための検査ということを考えれば何を検査材料とするか、また検査材料採取時期、採取法や検査前保存法、検査用材料調整法なども検査結果に大きく影響する。

そこで検査過誤を少なくし、検査精度を上げるため、あるいは下げないため、また一定の検査精度を保持するためのいくつかの留意点を列記する。

① 決められた試薬を用い、決められた手順で検査する。

検査の多くは実施方法が細かく規定されている。決められた試薬や手順は検査精度を確保するための必要条件であるから、独自のやり方を持ち込まないのが原則である。もし試薬や手順を独自に変更したときは、そのことが結果に影響しない客観的データを自ら揃えておくべきである。いくら決められた試薬等を用い、決められた手順で検査しても、ピペット操作や無菌操作など基本となる操作ができなければ間違った結果や大きな誤差を生じさせることになる。操作の原理を十分に理解し、操作技術に習熟しておくことが重要である。

なお、特に重大な判断を行うための検査は、可能であれば同じ人が繰り返し検査を行うより、複数の人がそれぞれ決められた試薬、手順で行うことも考えるべきであろう。

② 適切な対照の設定は検査結果の信憑性を確保するために必要不可欠である。

実施する検査の再現性と信憑性を保証するため、既知の陽性および陰性対照を置くことは勿論であるが、時に手技の確認のため、考え得る対照を置くことも考えるべきであろう。

③検査法の原理並びに限界を熟知しておく。

人用に開発されたキットなどの使用が広まってきているが、キットによっては検査できる範囲が限られ、家畜衛生分野で使用するには十分ではないデータベースをもとに出来上がっているものもある。例えば病原細菌の同定を目的とした簡易同定キットは数多く市販され、検査室で便利に使われているが、市販されているキットの多くは人由来病原細菌の生化学的性状をデータベースに作成されていることから、家畜衛生領域で扱う細菌が同定不能と判定され、あるいは誤同定されることがある。

誤同定であるか否かの判断は難しいが、どのような細菌がどのような部位から分離されてくるかという獣医細菌学の常識を承知しておくことである程度間違った判断を回避できる。なお、同定した細菌が通常分離されてくる可能性のある菌種と異なるときには、誤同定、検査材料の汚染、検査過程の汚染などをも考慮するとともに、専門家や文献などから情報を収集し、最終判断をすることが望まれる。

抗原抗体反応を利用した検査、特に診断薬の目的外使用および自家作製抗原または抗血清などを用いた検査に際しては、使用する抗原の特性、抗血清の特異性に注意して結果を解釈する必要がある。なお、目的外使用を行おうとする場合には目的外使用できる理由や原理、限界等について十分情報を入手し、理解し、結果の解釈をすべきである。

また検査法の原理を熟知しておくことは得られた結果の妥当性を判断する際に参考となるとともに、異常値を得たときの手順や試薬等のチェックを効率的に行うことに役立つ。さらに使用試薬の予備検定や前処理が要求されている検査では、確実かつ正確に要求事項を実施しておくことが必要である。

④ 外部からの不測の汚染に注意する。

PCR 検査では、検査対象遺伝子にわずかでも検査材料内あるいは検査過程で汚染されれば、それが増幅され、偽陽性結果をもたらす。したがって、検査対象遺伝子による検査室汚染を避けるとともに、遺伝子抽出から増幅までの過程における混入を避けるよう細心の注意を払い、厳格な汚染防止対策を立てておくことが必要である。微生物の分離や微量成分の測定なども検査材料あるいは操作中の汚染に注意する必要がある。安全キャビネット、クリーンベンチの使用も汚染防止に役立つが、実験室を常に整理整頓し、清潔にしておくことが何よりも肝心である。また使用試薬やチップなどの器材

からの汚染もあり、さらに繰り返し使用する試薬の管理が不十分であれば期待する活性が得られないこともあるため、使用する器材や試薬の管理、滅菌、洗浄などにも十分な注意が必要である。

⑤ 検査記録を残す。

過誤を最小限に抑え、また過誤を早期に発見するためには、検査の度に詳細な検査記録を残すべきである。検査担当者が注意を払っても、現実には検査の過程で間違いは起こりうる。したがって結果の検証がいつでも行えるよう、検査に関する全ての記録をとる。検査材料に関する情報のほか、使用した各種試薬のロット、調製法、調製試薬のロット、保存法、保存期間、検査方法、検査日、検査担当者など、結果に影響しそうな項目を記録する。このような検査に関する記録の保存により検査結果の再確認、検査内容と結果の検証が可能となる。

⑥ 適切な検査材料を使用する。

目的とする検査に適切な材料を用いなければ、間違った検査結果しか得られない場合がある。例えば寄生虫や原虫、細菌などを分離しようとするればそれらの微生物の生死に影響する薬剤の投与前材料を検査する必要がある。糞便中の病原体を分離しようとするとき、それが環境中にも存在する可能性があれば直腸便を採取し、検査する配慮が必要である。さらに疾病によっては個体診断ではなく群診断という立場から、発病している個体だけでなく同群の一見健康に見える個体からの検査材料採取が必要となる場合もある。

⑦ 検査材料や分離微生物を保存する。

過誤が発見されたときの再検査や操作途中での失敗に備え、検査材料の一部を保存する。保存方法は検査材料の種類、検査方法により異なる。また、分離した微生物も再検査、検証、疫学調査などに備え、保存しておくべきである。

⑧ 内部精度管理と外部精度管理

検査実施者あるいはそのグループが自ら作製した標準物質などを用いて適切な頻度で検査を行い、検査法のチェックを行うことを内部精度管理という。一方、第三者が

作製した標準物質などを得て検査することを外部精度管理という。外部精度管理の実施は検査所ごとの検査能が比較され、検査の標準化に非常に有益である。内部精度管理についてみると薬剤感受性試験のように内部精度管理の手順が定められている検査もあるが、一般に必ずしも十分に行われているとはいえない。微量化学物質や毒素、微生物の同定、血清反応などの検査精度を管理するための工夫や体制整備が必要である。