

2018.10.11 第50回 日本臨床検査自動化学会

第8回血液検査機器技術セミナー テーマ『血球検査の品質保証』

講演3 標準作業手順書(SOP) 記載上の注意点

地方独立行政法人
佐賀県医療センター好生館
検査部 築地 秀典

Contents

総論

- 標準作業手順書(SOP)作成の目的と種類
- SOPに記載する内容

各論

- 性能特性
- 希釈再検、その他(乳びなど)の対応
- 環境温度と化学物質、検体と試薬の保管
- トレーサビリティ体系図
- 特性要因図(フィッシュボーン)
- SOPに関する指摘事項(2事例)

ISO15189:2012の構成

1章 適用範囲 2章 引用規格 3章 用語と定義

附属書A(ISO9001:2008とISO/IEC17025との相互関係)

附属書B(ISO15189:2007とISO15189:2012との比較)

4章

- 4.1 組織及び管理主体責務
- 4.2 品質マネジメントシステム
- 4.3 文書管理
- 4.4 サービスの合意事項
- 4.5 委託検査室による検査
- 4.6 外部からのサービス及び供給品
- 4.7 アドバイスサービス
- 4.8 苦情処理
- 4.9 不適合の識別及び管理
- 4.10 是正処置
- 4.11 予防処置
- 4.12 継続的改善
- 4.13 記録の管理
- 4.14 評価及び監査
- 4.15 マネジメントレビュー

5章

- 5.1 要員
- 5.2 施設及び環境条件
- 5.3 検査室の機材、試薬、及び消耗品
- 5.4 検査前プロセス
- 5.5 検査プロセス**
 - 5.5.3 検査手順の文書化**
- 5.6 検査結果の品質の確保
- 5.7 検査後プロセス
- 5.8 結果の報告
- 5.9 結果の報告(リリース)
- 5.10 検査室情報マネジメント

当院の品質文書

- ・品質マニュアル
- ・品質文書管理手順書
- ・検査案内管理手順書
- ・委託検査管理手順書
- ・苦情処理手順書
- ・不適合処置手順書
- ・品質記録管理手順書
- ・内部監査手順書
- ・職務規定
- ・教育訓練手順書
- ・検査室環境管理手順書
- ・機材管理手順書
- ・試薬消耗品管理手順書
- ・購買管理手順書
- ・検体管理手順書
- ・採血手順書
- ・標準操作手順書管理手順書
- ・妥当性確認手順書
- ・測定不確かさ推定手順書
- ・内部精度管理手順書
- ・外部精度管理手順書
- ・報告手順書
- ・感染性廃棄物管理手順書
- ・毒物劇物管理手順書
- ・LIS管理手順書
- ・検査案内書
- ・危機管理手順書

標準作業(操作)手順書

(Standard Operation Procedure:SOP)

➤ 統一化した記載様式

文字のフォント、サイズ、ヘッダー、フッター、
ページ数、作成、確認、承認、版数、改訂履歴など

➤ 保管管理体制

常に最新のSOPを整備、確認しやすい場所に配置
原本の管理、保管期限など

➤ 定期的(年1回以上)の見直しと改訂

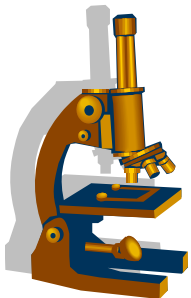
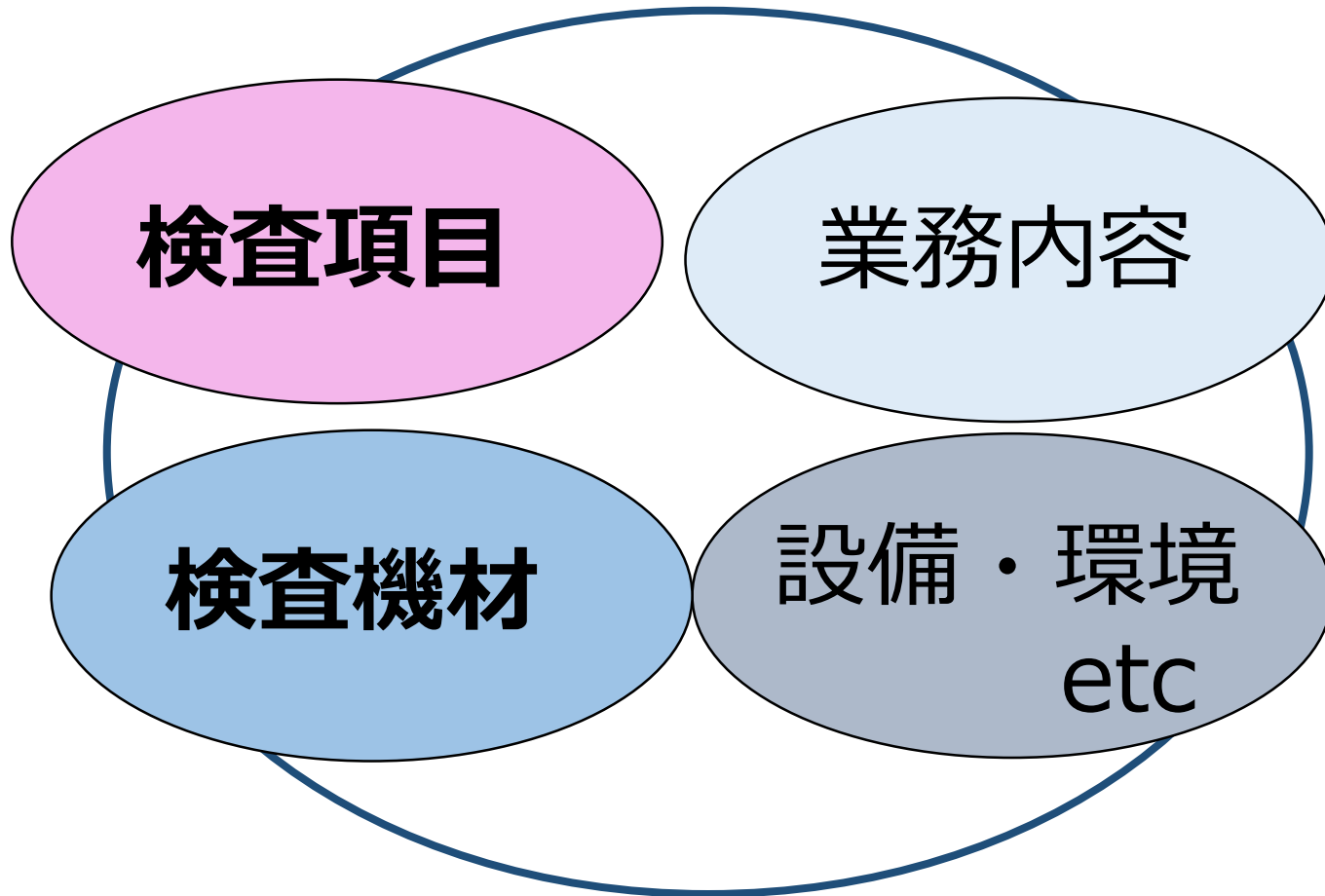
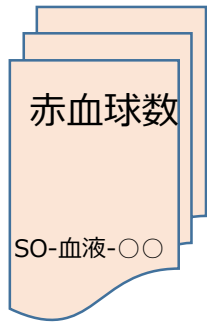
試薬、添付文書、基準範囲、各種品質文書との整合性
運用面での整合性、是正等に伴う変更など

→標準操作手順書管理手順書で規定

SOP作成の目的

- 統一化した作業手順
- 検査の効率化や検査過誤の防止
- 教育・訓練のツール
- 臨床からの問い合わせへの活用
- 品質マネジメントシステム(QMS)の構築

SOPの種類



SOPに記載する内容

ISO15189:2012 要求事項 5.5.3

- a)検査の目的
- b)検査に用いられる手順の原理および測定法
- c)性能特性
- d)サンプル(試料)の種類
- e)患者の準備
- f)容器および添加剤の種類
- g)必要な機材および試薬
- h)環境および安全管理
- i)校正手順(計量計測トレーサビリティ)
- j)操作ステップ
- k)精度管理手順
- l)干渉(例 乳び、溶血、ビリルビン、薬物)および交差反応
- m)計算結果法の原理、適切な場合には、測定された量の不確かさを含む
- n)生物学的基準範囲又は臨床判断値
- o)検査結果の報告範囲
- p)結果が測定範囲外であった場合の定量結果決定に関する指示
- q)警戒値/緊急異常値
- r)検査室の臨床的解釈
- s)可能性のある変動要因
- t)参考資料

(ISO15189:2012英和対訳版より)



当院におけるSOP記載内容

○ISO15189:2012 要求事項 5.5.3

○特別報告値と手順

○患者の急変時の対応の手順 計22項目

特別報告値

緊急異常値にあてはまらないが臨床に連絡すべき検査結果と定義

- 入院患者でのCDトキシン/抗原陽性やインフルエンザ陽性など感染対策に必要な事例
- EDTA依存性偽性血小板減少症

→報告内容は、業務作業日誌に記載

性能特性

2012年度版導入以降の新規項目・変更などには
「定量測定法に関するバリデーション指針」
臨床化学 40：149-157,2011 を参照し、検証を行う。

妥当性確認の内容例

- 1) 精度
 - (1) 併行精度(同時再現性)
 - (2) 室内精度(日差再現性)
- 2) 直線性
- 3) 相関
- 4) 干渉(溶血、乳び、ビリルビン)

現状・・・各施設に評価法は委ねられている



性能特性

➤ 機材の取扱説明書や試薬の添付文書を参照

→性能特性に記載する内容は、参考資料(出典先)を明記

→臨床からの問い合わせに役立てる

既存の項目は長年の使用経験により妥当性確認が済んでいるものと解する。

出典先 JAB RM300 : 2014 第3版
「認定の基準」についての指針より

検出感度、測定範囲、報告範囲

- 妥当性確認の内容を記載、または機材取扱説明書、試薬の添付文書を参考にする。
 - 最小、最大検出感度のデータ等、報告範囲の設定については検査室内で勘案
 - 報告範囲は、臨床側との合意が必要な項目もあり
- 検査システムや電子カルテとの整合性をとることが必要

希釈再検、その他の対応

- 1)希釈再検
- 2)高ヘマト検体の対処方法
- 3)乳び、高ビリルビン検体
- 4)溶血検体
- 5)寒冷凝集
- 6)EDTA依存性偽性血小板減少症

希釈再検、その他の対応

1)希釈再検

手順を明記する

《当院運用例》

【対象】

- ・血液像分類が、測定不能の場合
- ・新生児など検体量が少なく再検が必要な場合
- ・サンプリングが困難な場合(過粘稠症候群) など

【測定方法】

- (1)機材をキャピラリーモードの状態にする
- (2)検体40 μ L+希釈液(セルパック)160 μ Lを
ピペットを用いて混和し、測定。
- (3)測定後は、キャピラリーモードを解除する。



希釈再検、その他の対応

2)高ヘマト検体の対処方法

凝固検査において高ヘマト検体(55%)はクエン酸Naの比率で問題となるが、血球検査のSOPでは、記載していない。



《当院運用例》

ヘマトクリット値のSOP「検査室の臨床的解釈」

真性赤血球増加症などの骨髓増殖性腫瘍の可能性やJAK2V617F変異の関与を記載。

希釈再検、その他の対応

3)乳び、高ビリルビン検体

《当院運用例》

「干渉及び交差反応」に記載

干渉物質：乳び(イントラリピッド)、溶血、ビリルビン
数値データについては、妥当性確認資料(干渉試験データ
記録) RE-血液-〇〇を参照。

→参考資料(引用元)を記載する

希釈再検、その他の対応

3)乳び、高ビリルビン検体

「検査室の臨床的解釈」に具体的手順記載

- (1)MCHC高値(>37.0g/dL)で、検体の凝固、赤血球凝集がないことを確認する。
- (2)検体を転倒混和し、血液を適当量(約1.0mL)試験管にとる。
- (3)3,000rpm,5分遠心分離を行う。

注)乳びが疑われる場合は高速遠心をしない。

カイロミクロンが浮くことで乳びの混濁の測定ができないため。

- (4)血漿部分を血球部分を吸い取らないように注意し、新しい試験管に取る。
- (5)血漿のHbを自動血球分析装置(XE-5000)で測定する。
- (6)補正Hbを算出し、以下の通りMCH,MCHCを再計算する。
補正Hb=全血Hb-{血漿Hb×(1-(全血Ht/100))}
補正MCH=補正Hb/RBC(万/ μ L)×1000
補正MCHC=補正Hb/Ht×100
- (7)検査システム上でHb,MCH,MCHCの値を入力し、補正した項目に検査コメント(乳び、ビリルビンのため参考値)を記載し報告する。
- (8)再報告する場合は、報告手順書に従い実施する。

希釈再検、その他の対応

4)溶血検体

- 使用している機材の性能仕様毎に異なる
- 検体の受け入れ可否の条件に明記
- 「干渉及び交差反応」「検査室の臨床的解釈」に記載

《当院の運用》

軽度の溶血：検体の再提出は実施していない。
生化学検査において検査不可の場合は、検体再提出を実施している。

希釈再検、その他の対応

5)寒冷凝集

「検査室の臨床的解釈」に具体的内容を記載

- (1)MCHCが、高値(37.0g/dL以上)を示し、赤血球数低値、ヘマトクリット値低値など寒冷凝集を疑う場合には、恒温槽を用いて37℃、15分～30分加温する。
- (2)加温後、転倒混和し、直ちにマニュアルモードで測定する。
- (3)検査結果を確認し、加温によりMCHCが低下した場合は、再検査結果を選択し、送信する。
さらに、「加温後測定」のコメントを入力する。

佐賀県医療センター好生館 SO-血液-1002 赤血球数(RBC)より改変引用

希釈再検、その他の対応

6)EDTA依存性偽性血小板減少症

「特別報告値と手順」に具体的内容を記載

【精査手順の明記】

- ・平日、休日夜間業務での運用
- ・検査オーダーの仕方
- ・採血管の選択(EDTA、NaF、クエン酸Na)
- ・測定方法(マニュアルモード)
- ・経時的変化
- ・検査システムでの報告方法(凝集のため参考値)

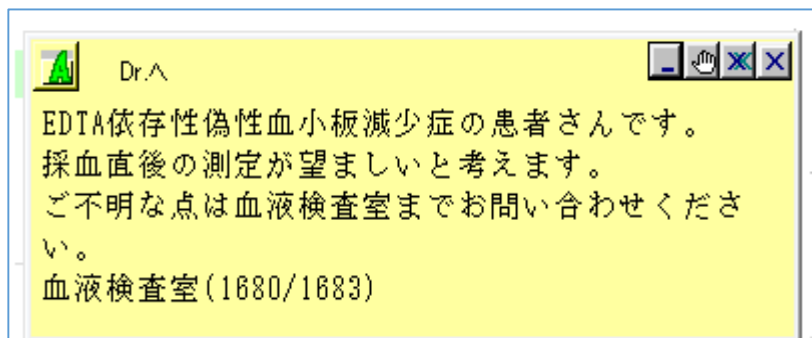
希釈再検、その他の対応

6)EDTA依存性偽性血小板減少症

- 電子カルテでの報告方法の手順
電子カルテ記載内容、連絡体制(主治医、病棟)

● 電子カルテの検査記録→

● 電子カルテの付箋機能の活用 ↓



Dr. A

EDTA依存性偽性血小板減少症の患者さんです。
採血直後の測定が望ましいと考えます。
ご不明な点は血液検査室までお問い合わせください。
血液検査室(1680/1683)



● 検査記録

EDTA依存性偽性血小板減少症との鑑別を行うために
EDTA採血管、NaF採血管、クエン酸Na採血管での血
小板数の比較を行いました。

(即時測定)

○EDTA採血管;17万/ μ L(血小板凝集 僅かにあり)
○NaF採血管;18.1万/ μ L(血小板凝集 僅かにあり)
○クエン酸Na採血管;17.3万/ μ L(血小板凝集 僅かにあり)

(30分後測定)

○EDTA採血管;9.1万/ μ L(血小板凝集あり)
○NaF採血管;9.0万/ μ L(血小板凝集あり)
○クエン酸Na採血管;9.7万/ μ L(血小板凝集あり)

上記結果よりEDTA依存性偽性血小板減少症と考えま
す。

今後の対応としては、採血後直ちに測定すること
が望ましいと考えます。ご不明な点は血液検査室まで
お問い合わせください。

血液検査室(内線1680/1683)



環境温度とその他

要求事項5.2.6 施設保守及び環境管理

機材や試薬消耗品の取扱説明書や添付文書を参照

《当院の運用》

- ・検査室環境管理手順書、SOP内の「環境及び安全管理」
- ・環境温度 20～28℃ (湿度 10～80%)
1日2回温度、湿度を記録、管理
- ・5 S活動の実施、記録
- ・末梢血や骨髓像の鏡検は鏡検室にて実施

環境温度とその他 (化学物質の保管)

➤ メタノール

- ・施錠管理
(当院では劇物・毒物は病理部で一元管理)
 - ・使用時、管理記録簿へ使用量、使用者を記載
 - ・安全データシート(SDS)の準備、整備
 - ・「環境及び安全管理」の項に注記
- * メイグリユンワルド染色液、ギムザ染色液：施錠管理

➤ 染色キット(EST染色、ALP染色、PO染色) は施錠付き冷蔵庫で保管管理

環境温度とその他 (検体と試薬の保管)

- 検体と試薬は分離保管が原則
- 試薬は、添付文書に基づき保管
- 試薬は、未検証品においては、明確に分離
- 調製試薬は、記録管理

《当院運用例》

- ・ 検体管理手順書、試薬消耗品管理手順書に記載
- ・ 開封後は開封日を記載、試薬管理システムで検証記録(lot変更毎)、使用記録を記載

トレーサビリティ

不確かさがすべて表記された、切れ目のない比較の連鎖を通じて、通常は国家標準または国際標準である決められた標準に関連づけられ得る測定結果または標準の値の性質である

血球計数5項目の基準測定操作法

項目	概要	機関(発行年)
赤血球数 白血球数	半自動単チャンネルの血球カウンターを用いた基準測定操作法	ICSH(1994)
血小板数	モノクローナル抗体を用いたフローサイトメトリー法	ICSH/ISLH (2001)
ヘモグロビン	シアンメトヘモグロビン法	ICSH(1996) CLSI(2000)
ヘマトクリット	遠心ミクロヘマトクリット法	ICSH(2001) CLSI(2000)

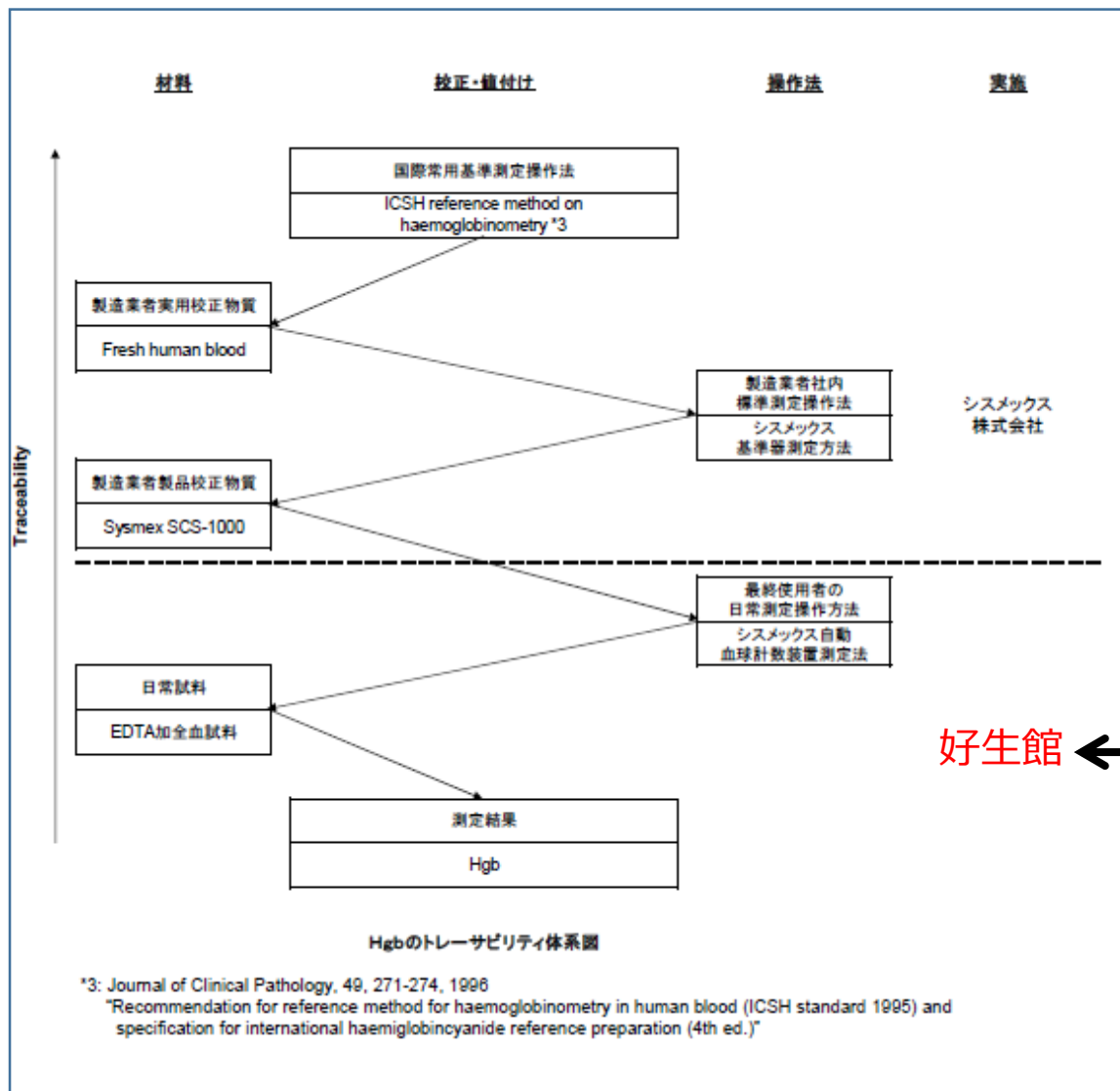
ICSH:International Council for Standardization in Haematology

ISLH:International Society of Laboratory Haematology

CLSI:Clinical and Laboratory Standards Institute

新改 悦郎 他.日本血液学会雑誌8(2):134-145,2007.より引用改変

トレーサビリティ体系図



佐賀県医療センター好生館
SO-血液-1003 血色素測定(Hb)
より改変引用

メーカーより
提供

最終使用者を
自施設に変更

好生館

Sysmex株式会社提供

校正の重要性

 総数 4 頁の 1 頁 (Page 1 / 4)
証明書番号 (Certificate No.) : HEM-C170158
発行 (Effective Date) : August 24, 2017

校正証明書
Calibration Certificate

お客様名:	佐賀県医療センター 好生館様
Name:	Saga Medical Center KOSEIKAN
ご住所:	佐賀県佐賀市嘉瀬町中原400番地 〒840-8571
Address:	400, Kasemachi Nakabaru, Saga-shi, Saga 840-8571
機種名:	多項目自動血球分析装置 XE-5000
Model:	Automated Hematology Analyzer XE-5000
製造番号 (Serial Number):	11267
校正実施日 (Calibration Date):	2017年08月24日 (August 24, 2017)
貴検査室の環境条件 (Your Laboratory):	温度(T)23℃, 湿度(H)47%

上記製品は、弊社の作業手順に従って、CBC5項目(WBC, RBC, HGB, HCT, PLT)の校正が、次頁以降の校正結果のとおりに行われたことを証明します。
なお、校正に使用した弊社基準器は、弊社管理規定により管理され、又弊社のトレーサビリティ体系にもとづき、国際標準(ICSH, CLSI等)に対して、トレーサビリティがとれています。

As shown in next page, this is to certify that the above-mentioned analyzer has been verified of calibration for CBC 5 parameters (WBC, RBC, HGB, HCT and PLT) according to the standard procedures provided by Sysmex.
The standard analyzers used for value-assignment are traceable to the International Standards, such as ICSH and CLSI, based on the traceability system managed by Sysmex Corporation.

シスメックス株式会社 学術本部 基準測定検査室
Reference Laboratory, Scientific Affairs, Sysmex Corporation



〒651-2241 神戸市西区室谷1丁目3番地の2
学術本部学術推進部長
沼田 修一
Scientific Marketing Department,
Scientific Affairs Division, Sysmex Corporation
Shuichi Numata / Vice President

シスメックス株式会社学術本部基準測定検査室は、公益財団法人日本適合性認定協会(JAB)によってISO/IEC 17025:2005に基づく校正機関として認定されています。
Reference Laboratory, Scientific Affairs, Sysmex Corporation is accredited to ISO/IEC 17025:2005 by JAB (Japan Accreditation Board).

- 校正証明書
(機材の正確さ、
トレーサビリティの検証)
- 年1回実施(当院での運用)
記録管理が必要
- 対象：WBC,RBC,Hb,Ht,PLT
- 校正手順(機材の使用説明書)
を明記。
当院では、実施者はメーカー
対応であると記載。

Sysmex株式会社提供

特性要因図【フィッシュボーン】

- 特性(結果)に要因(原因)がどのように関係し、影響しているかを一覧に書きだしたもの
- 検査過誤に対して原因の把握と対策に用いる
- 検査結果に至るまでの測定の不確かさ

測定不確かさを推定する21項目

Na, K, Cl, Ca, Mg, GLU, UN, CRE, UA, CHO, TG,
ALB, TP, AST, ALT, CK, ALP, LD, γ-GT, AMY, HbA1c

出典先 JAB RM300 : 2014 第3版「認定の基準」についての指針より

特性要因に関連する要素

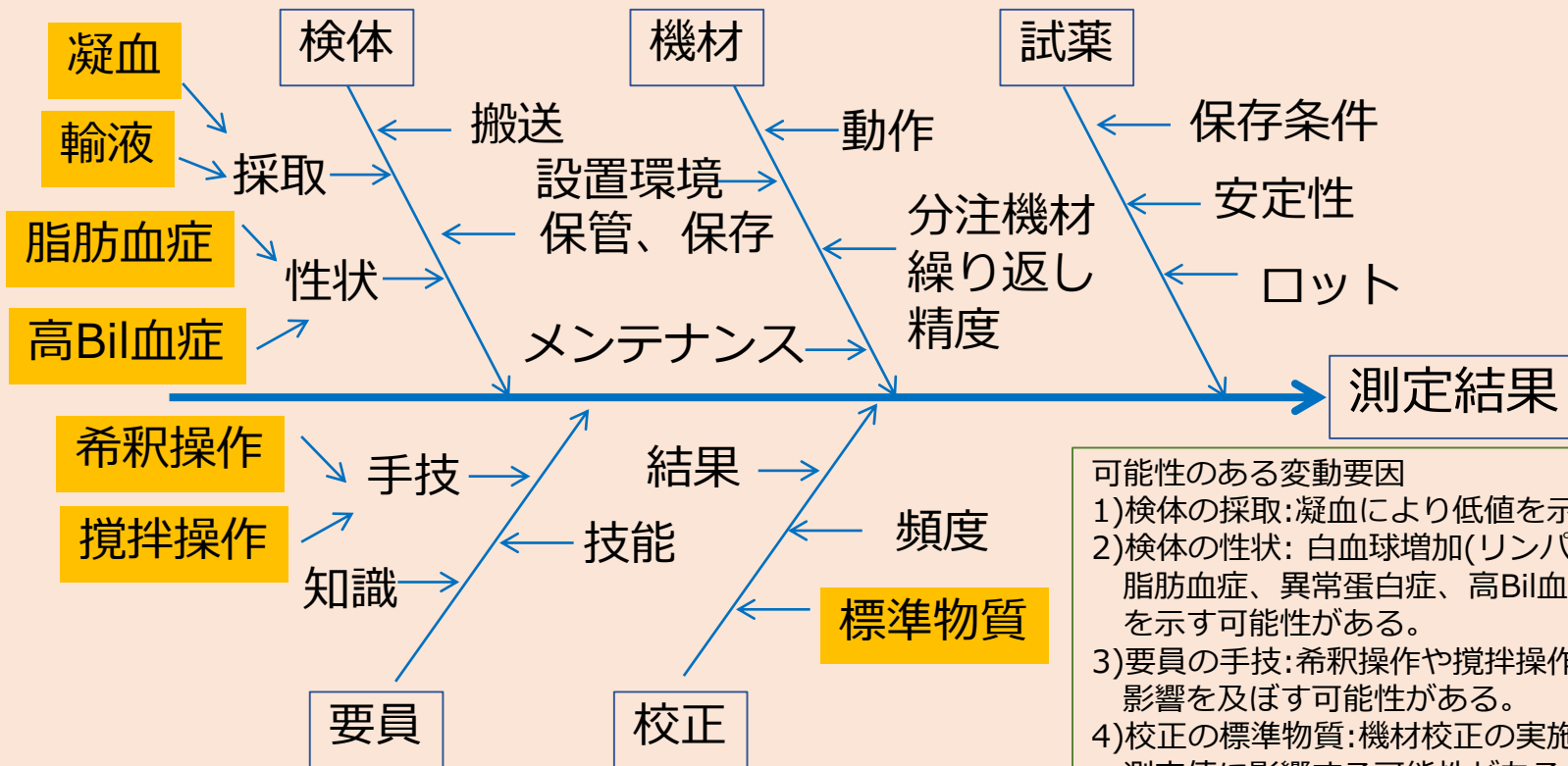
- 1.検体の採取（採血量、採血管、採血時間、搬送など）
- 2.検体の調製（遠心時間、温度など）
- 3.検体の性状（乳び、溶血など）
- 4.検体の保管(保管温度、保管時間など)
- 5.機材(分注精度、設置環境、メンテナンスなど)
- 6.校正物質、標準物質
（不確かさ、凍結品、ロット間差、融解(溶解)温度など）
- 7.試薬(保管温度、ロット間差、安定性など)
- 8.要員(手技、知識など)

特性要因図【フィッシュボーン】

項目名：血色素測定(Hb)

：特に大きな要因

佐賀県医療センター好生館
SO-血液-1003 血色素測定(Hb)
より改変引用



可能性のある変動要因

- 1) 検体の採取: 凝血により低値を示すことがある。
- 2) 検体の性状: 白血球増加(リンパ球 >10 万/ μ L)、脂肪血症、異常蛋白症、高Bil血症などには高値を示す可能性がある。
- 3) 要員の手技: 希釈操作や攪拌操作により結果に影響を及ぼす可能性がある。
- 4) 校正の標準物質: 機材校正の実施に伴い測定値に影響する可能性がある。

当院で受けた指摘事項（2事例）

事例 1 第1回定期サーベイランス

【不適合内容】

検査手順に含まれる要素の一部不確実である

【詳細】

- ✓ 性能特性において出典先の記載なし
- ✓ 生物学的基準範囲又は臨床判断値の出典先が不明瞭である

当院で受けた指摘事項（2事例）

【原因】

標準操作手順書管理手順書中で、出典先の記載方法を明確に記載していなかった。

【是正処置内容】

標準操作手順書管理手順書を改訂し、全体会議において周知を行った。

各標準操作手順書においては、各指摘事項に関連する手順書を再度確認し、改訂を行い、部門ミーティングにて周知した。

当院で受けた指摘事項（2事例）

事例2 第1回定期サーベイランス

【不適合内容】

検査手順に含まれる要素の一部不確実である

【詳細】

- ✓ 旧版の添付文書が参考資料として使用されている

当院で受けた指摘事項（2事例）

【原因】

外部文書としては、最新版に更新していたが、標準操作手順書の修正をすることを忘れていた。標準操作手順書管理手順書内の「見直し、改訂の方法」においての実施内容事項欄に外部文書の確認に関する記載がなく、適切に運用できていなかった。

【是正処置内容】

SOPに記載されてある添付文書が、最新のもののかの確認を行い、SOPの改訂を行った。

今後は、SOPの見直し、改訂時に確認漏れがないよう、標準操作手順書管理手順書に文言を追記・改訂した。

当院で受けた指摘事項（2事例）

佐賀県医療センター好生館標準操作手順書管理手順書一部抜粋、改変

8.見直し・改訂の方法

SOPの見直し・改訂は、下記に従い実施する。

8.1 SOPの見直し

見直しは、品質管理者から部門責任者に指示し、部門責任者の責任に於いて行う。
実施時期は、原則として、年一回とする。

なお、必要があれば技術管理者からの指示に基づきSOPの見直しを行なう。

1) 実施内容は、次の事項とする。

(1)品質文書とSOPの記載内容の確認

(2)検査案内書とSOPの記載内容の確認

(3)SOPに使用されている外部文書とSOPの記載内容の確認

2)運用との相違が発見された場合は、直ちに見直し、改訂することとする。

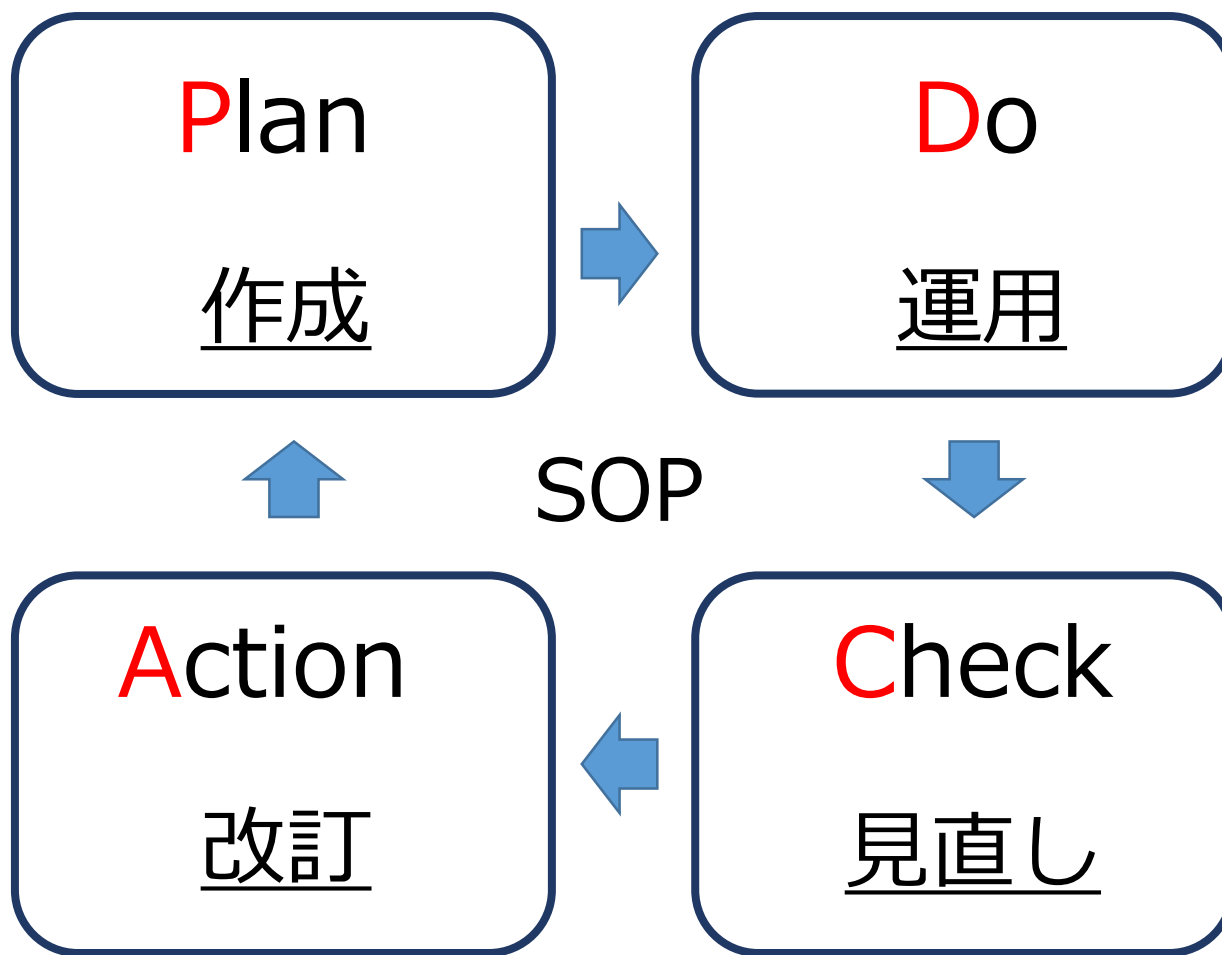
8.2 SOPの改訂・修正

品質文書管理手順書の「9.品質文書の改訂・修正」に従い行うとともに使用開始日前に関係者に改訂内容を周知し、記録を残す。

課題

- 品質文書、外部文書(試薬添付文書など)との整合性
- 妥当性確認方法
- 測定不確かさの推定
- 精度管理方法(内部精度管理、機材間差)

まとめ



QMSの構築、維持向上に繋がる

