抗体(用いた)検査の精度管理
定量検査について

日臨技精度管理標準化事業免疫血清担当
天理よろづ相談所病院　臨床病理部
○　河野　久

1. 基準範囲の標準化
   - 判定保留域の標準化
2. 非特異反応の多い試薬について
3. 抗体を定量することについて
4. 感染症項目（TP抗体、HCV抗体、HBs抗原）の精度管理について

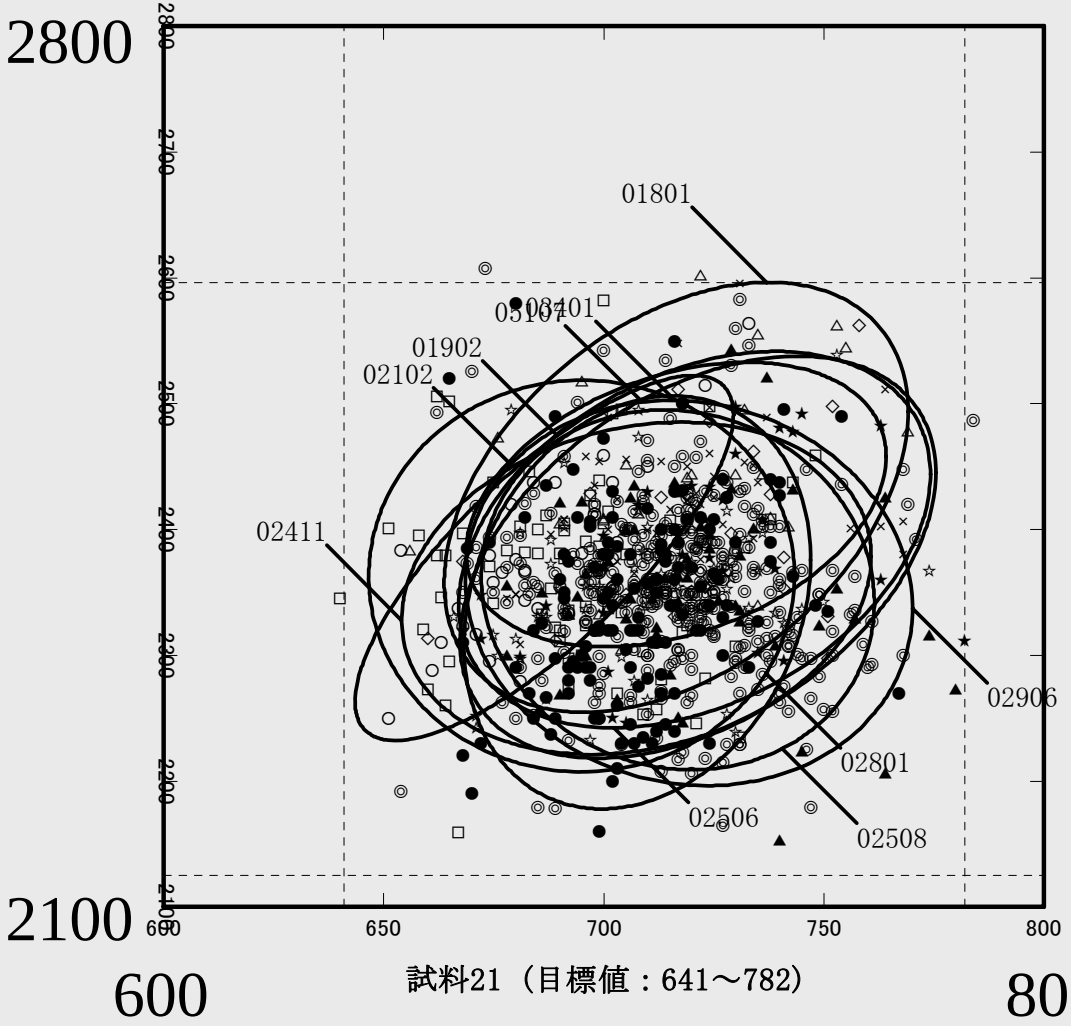
1. 基準範囲について

- 基準範囲は正常、異常を判断する値であり施設間是正は重要である
- 基準範囲は各施設で設定する
- 感染症項目では基準範囲を判定保留域に読み替えるとややこしい。

IgG試薬別ツインプロット(2005年日臨技サーベイ)

項目：IgG　試薬別

点線は評価〇範囲(平均±10%)



総件数：827 (外 18)　±3SD 2回除外

△ 試薬 (01801) イアトロエース:専用機用(ヤトロン/ダイアヤトロン)
件数：29 (外 3)

○ 試薬 (01902) コバスインテグラ試薬(ロシュ)
件数：32 (外 2)

× 試薬 (02102) TAC-4テスト(MBL)
件数：50 (外 0)

☆ 試薬 (02411) TIAX1「生研」(デンカ生研)
件数：58 (外 1)

◇ 試薬 (02506) N-アッセイTIAニットーボー(日東紡績)
件数：24 (外 0)

◎ 試薬 (02508) N-アッセイTIA-SHニットーボー(日東紡績)
件数：329 (外 4)

□ 試薬 (02801) イアトロエース:汎用機用(ヤトロン/ダイアヤトロン)
件数：78 (外 4)

▲ 試薬 (02906) オートワコー(和光純薬)
件数：55 (外 0)

● 試薬 (03401) N-抗血清(デイドベーリング)
件数：141 (外 3)

★ 試薬 (05107) LX試薬‘栄研’Ⅱ(栄研化学)
件数：31 (外 1)

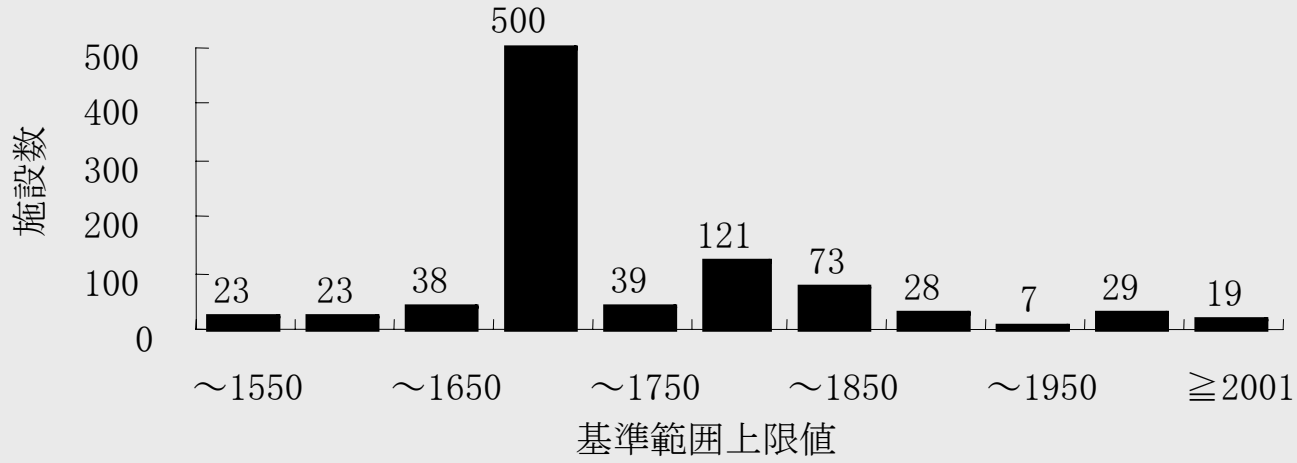
試薬別統計（IgG）

試料21(施設数20以上)	±3SD2回除去後			
試薬名	件数	平均	SD	CV(%)
LX試薬‘栄研’Ⅱ（栄研化学）	34	981.6	45.2	4.6
TAC-2テスト（MBL）	39	939.7	23.9	2.5
N-抗血清　（デイドベーリング）	157	958.8	33.4	3.5
TIAX1 「生研」（デンカ生研）	29	935.3	37.7	4.0
N－アッセイTIA-SHニットーボー（日東紡績）	168	958.4	32.9	3.4
イアトロエース：汎用機用（ヤトロン）	63	928.2	43.9	4.7
イアトロエース：専用機用（ヤトロン）	31	989.5	35.5	3.6
	平均	956.0	36.1	3.8
試薬間の標準偏差	SD	23.30		
試薬間の変動係数	CV(%)	2.4		

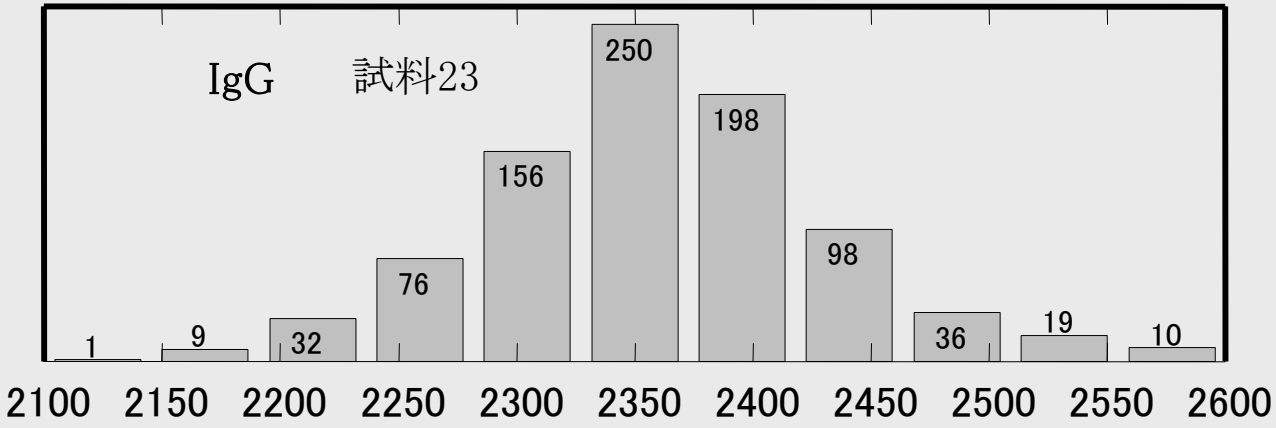
2005年度日臨技サーベイ

IgG基準範囲上限値と測定値

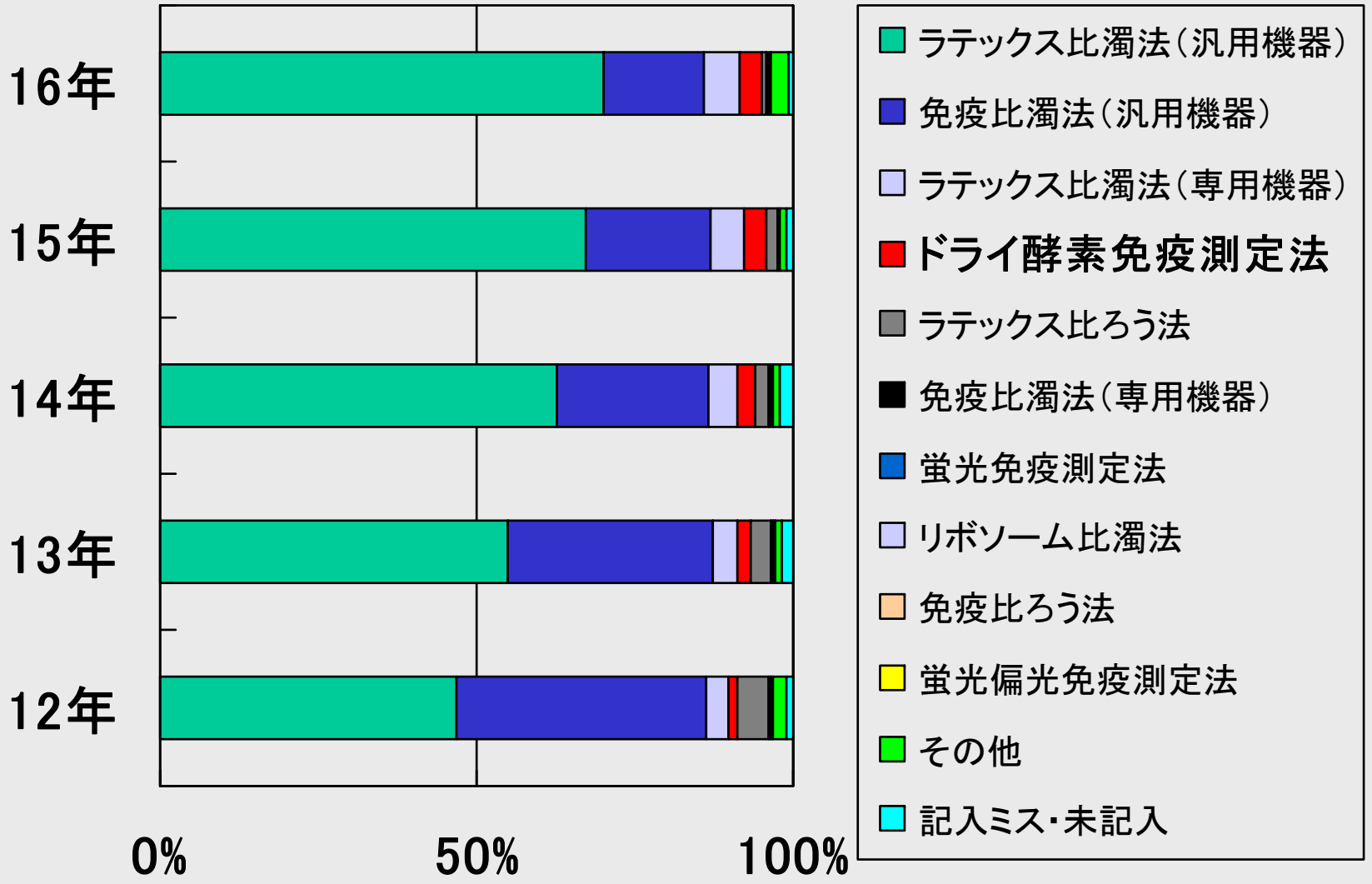
基準範囲上限値



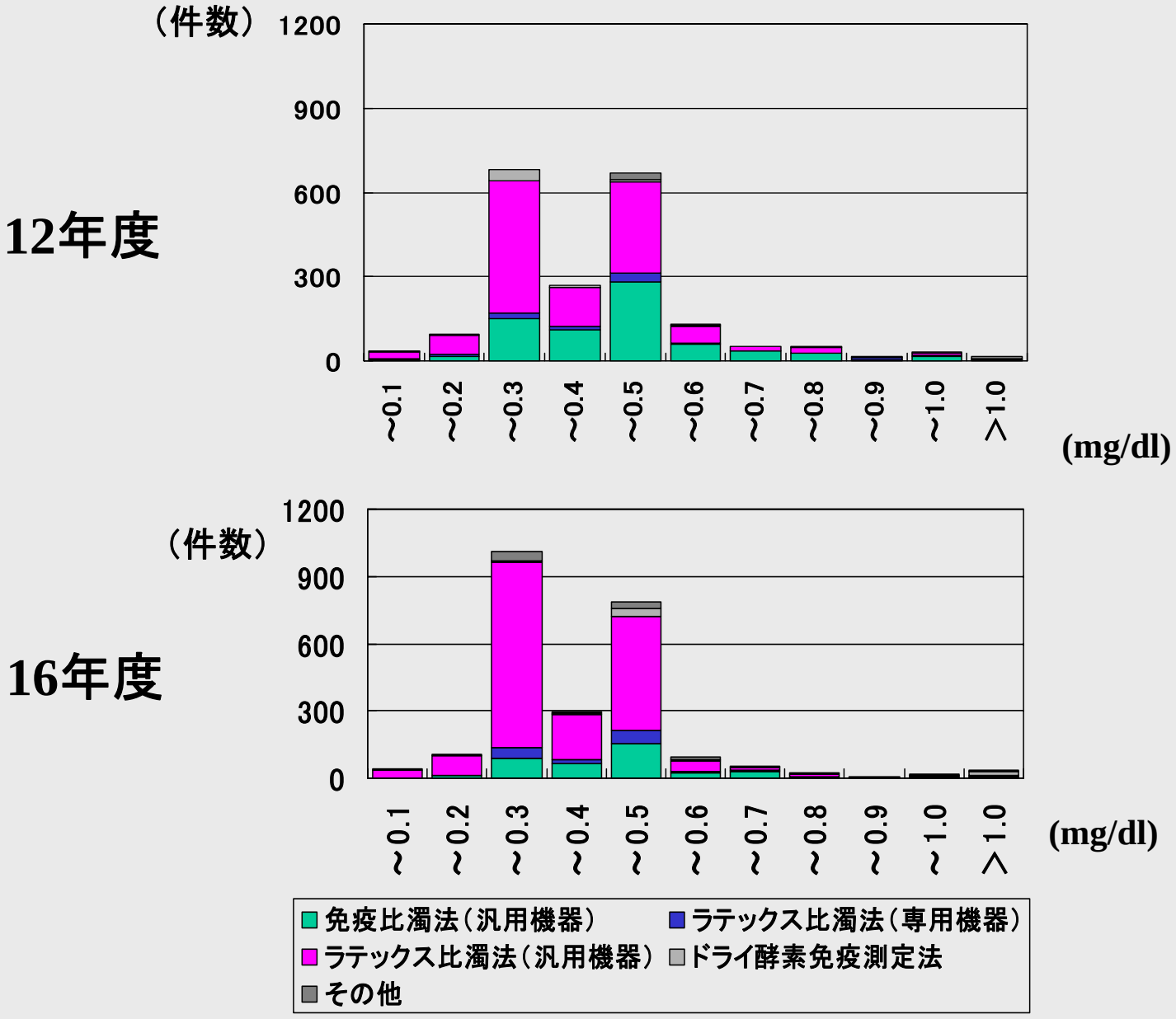
日臨技試料23測定値(2005年）



方法別年次推移(CRP定量)



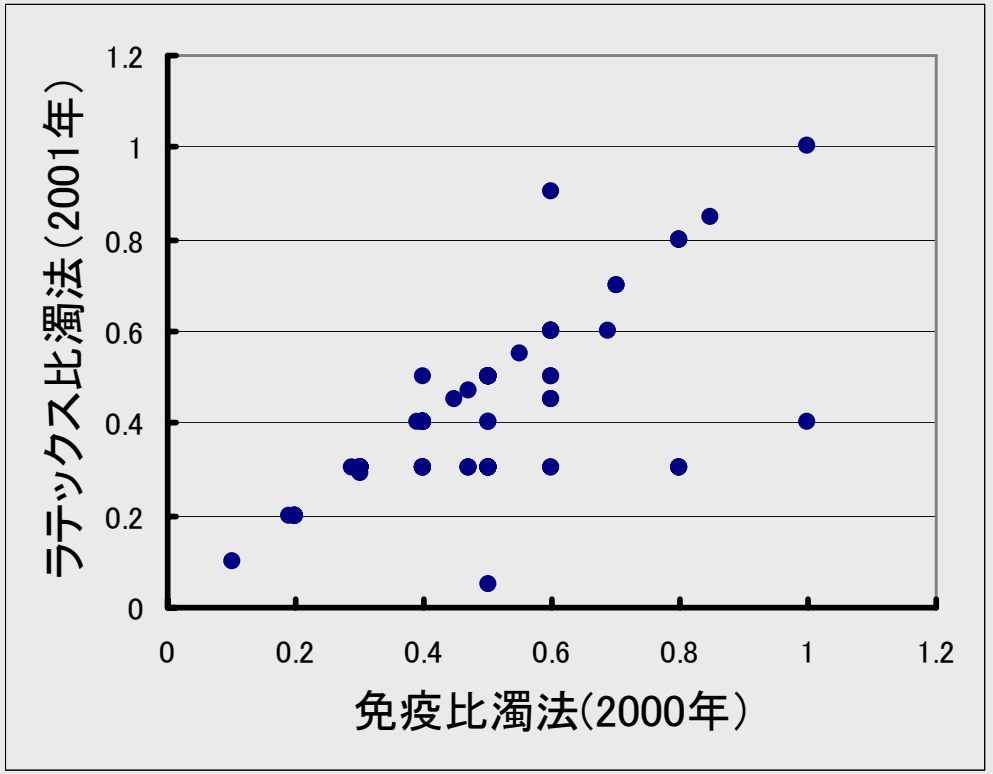
CRP定量基準値


12年度
（件数）
1200
900
600
300
0
～0.1
～0.2
～0.3
～0.4
～0.5
～0.6
～0.7
～0.8
～0.9
～1.0
＞1.0
(mg/dl)
16年度
（件数）
1200
900
600
300
0
～0.1
～0.2
～0.3
～0.4
～0.5
～0.6
～0.7
～0.8
～0.9
～1.0
＞1.0
(mg/dl)
免疫比濁法（汎用機器）
ラテックス比濁法（専用機器）
ラテックス比濁法（汎用機器）
ドライ酵素免疫測定法
その他

方法変更に伴うの基準値の変更(CRP)

(2001年免疫比濁法からラテックス比濁法に変更した159施設)

基準値	施設数
上げた	5
変更なし	112
下げた	42

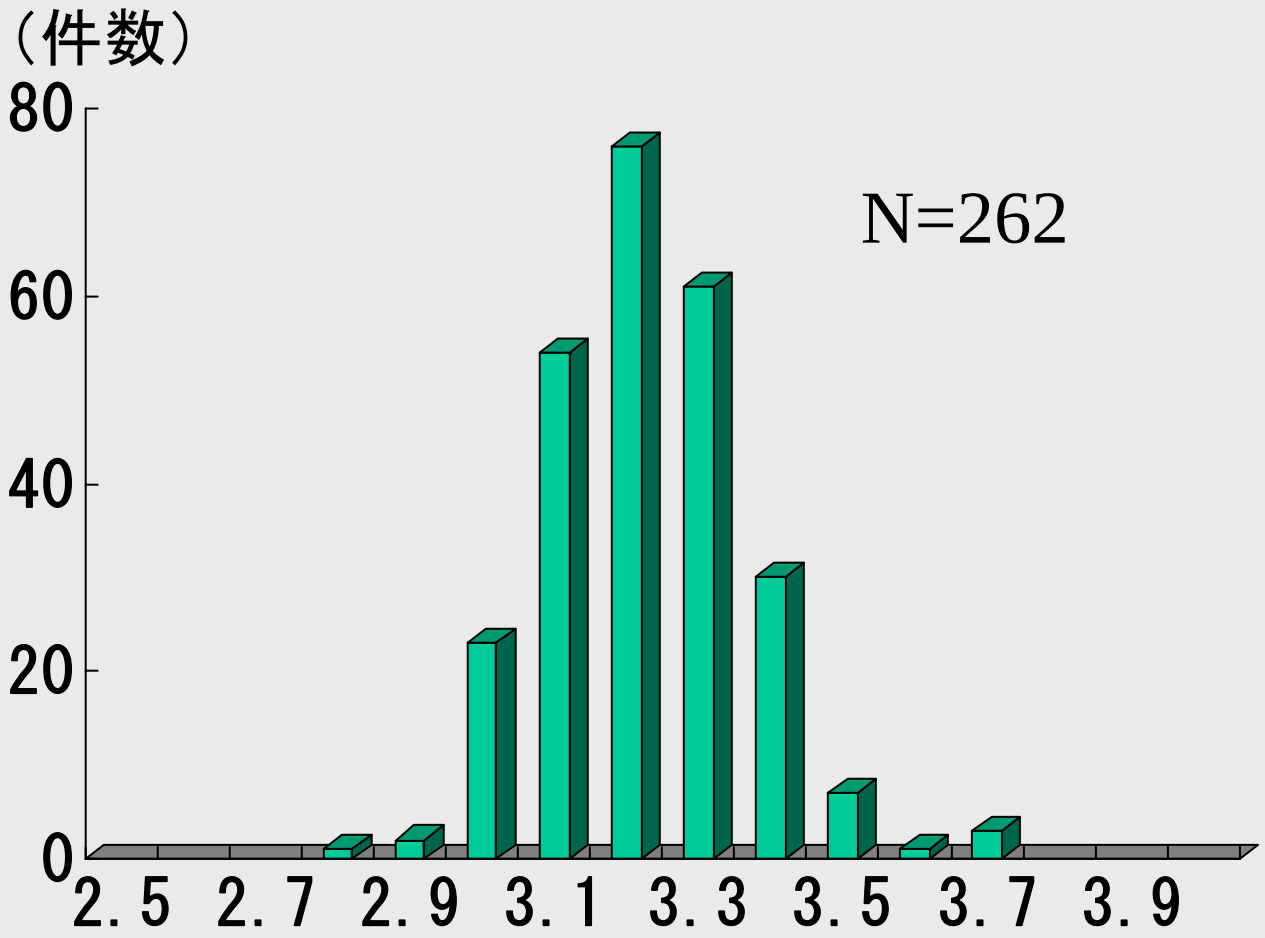


約70%の施設は基準値変更せず

日臨技サーベイ結果（平成14年度）

梅毒TP抗体	陰性	保留	陽性	総計
用手法	4	5	971	980
自動化法	7	14	753	774

ルミパルスTPⅡ-Nの定量値のヒストグラム（陽性試料）



保留とした測定値
3.1
3.1
3.1
3.2
3.2
3.2
3.2
3.3
3.3
3.4
3.4
3.4
3.4

保留上限値を5~10に設定していたため保留の結果となった

H14年日臨技サーベイ

改良試薬と現行試薬の一致性（ルミパルスf）

TP抗体		改良試薬		
		＋	－	合計
現行試薬	＋	33	40	73
	－	8	2987	2995
	合計	41	3027	3068

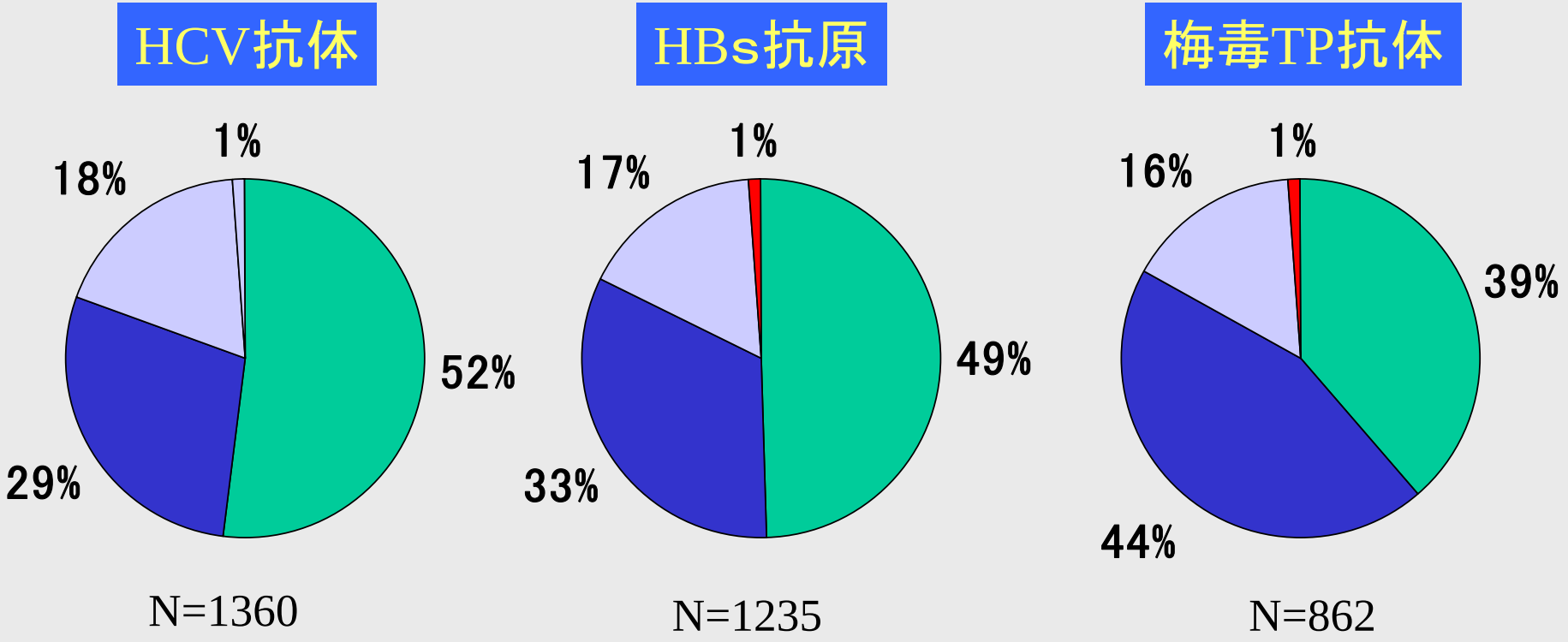
東京逓信病院（2000年自動化学会発表から）

当院感染症検査の陽性反応件数
（調査期間2ヶ月）

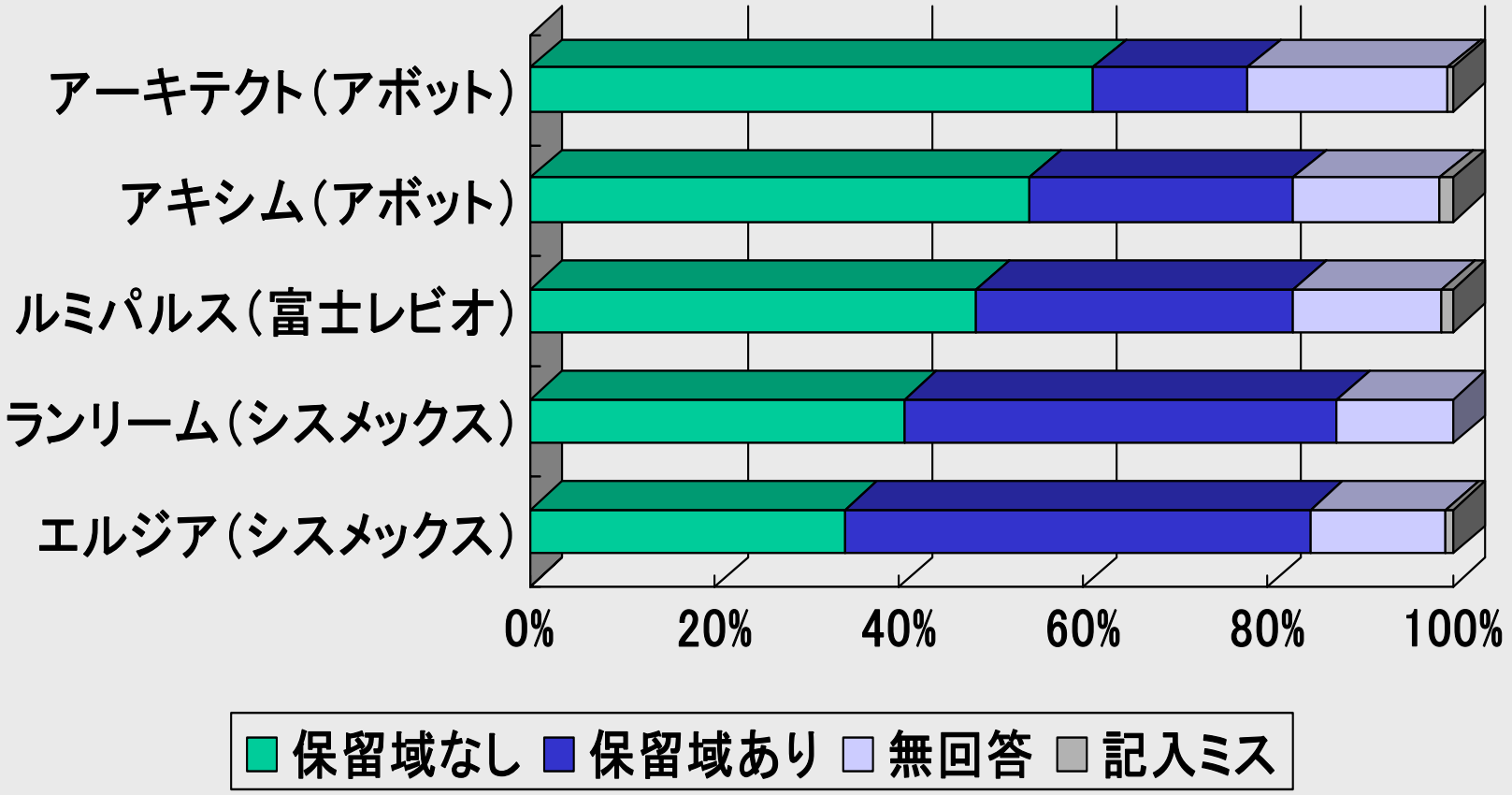
	件数	陽性反応	非特異陽性反応
梅毒TP抗体	2188	39	10
HBs抗原	2314	11	3
HCV抗体	2310	23	7
HIV抗体	998	2	2

陽性反応のうち1/3から1/4は非特異反応である

保留域設定状況

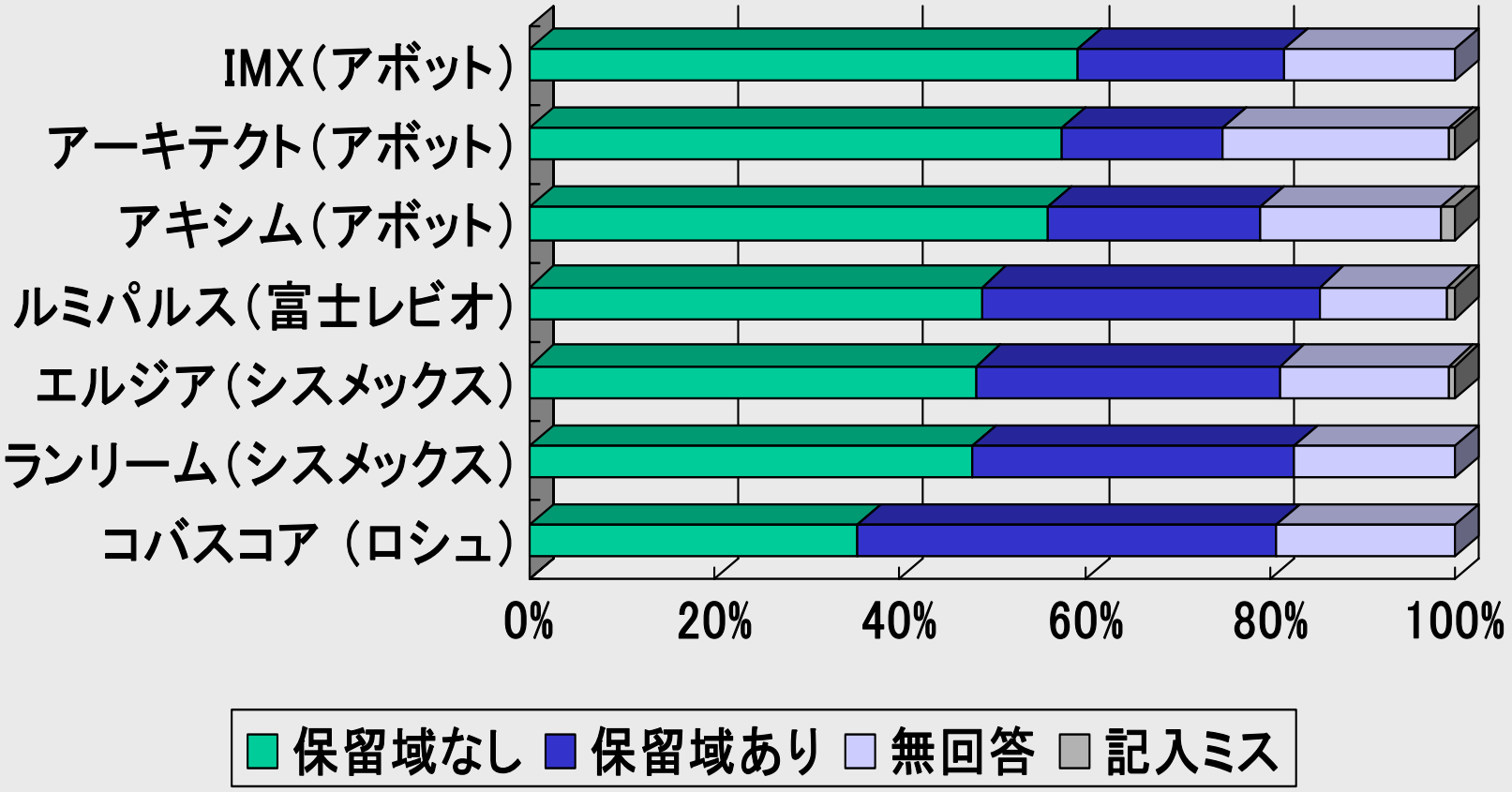

HCV抗体
1%
18%
52%
29%
N=1360
HBs抗原
1%
17%
49%
33%
N=1235
梅毒TP抗体
1%
16%
39%
44%
N=862
保留域なし
保留域あり
無回答
入力ミス

試薬別保留域設定状況（HBs抗原）



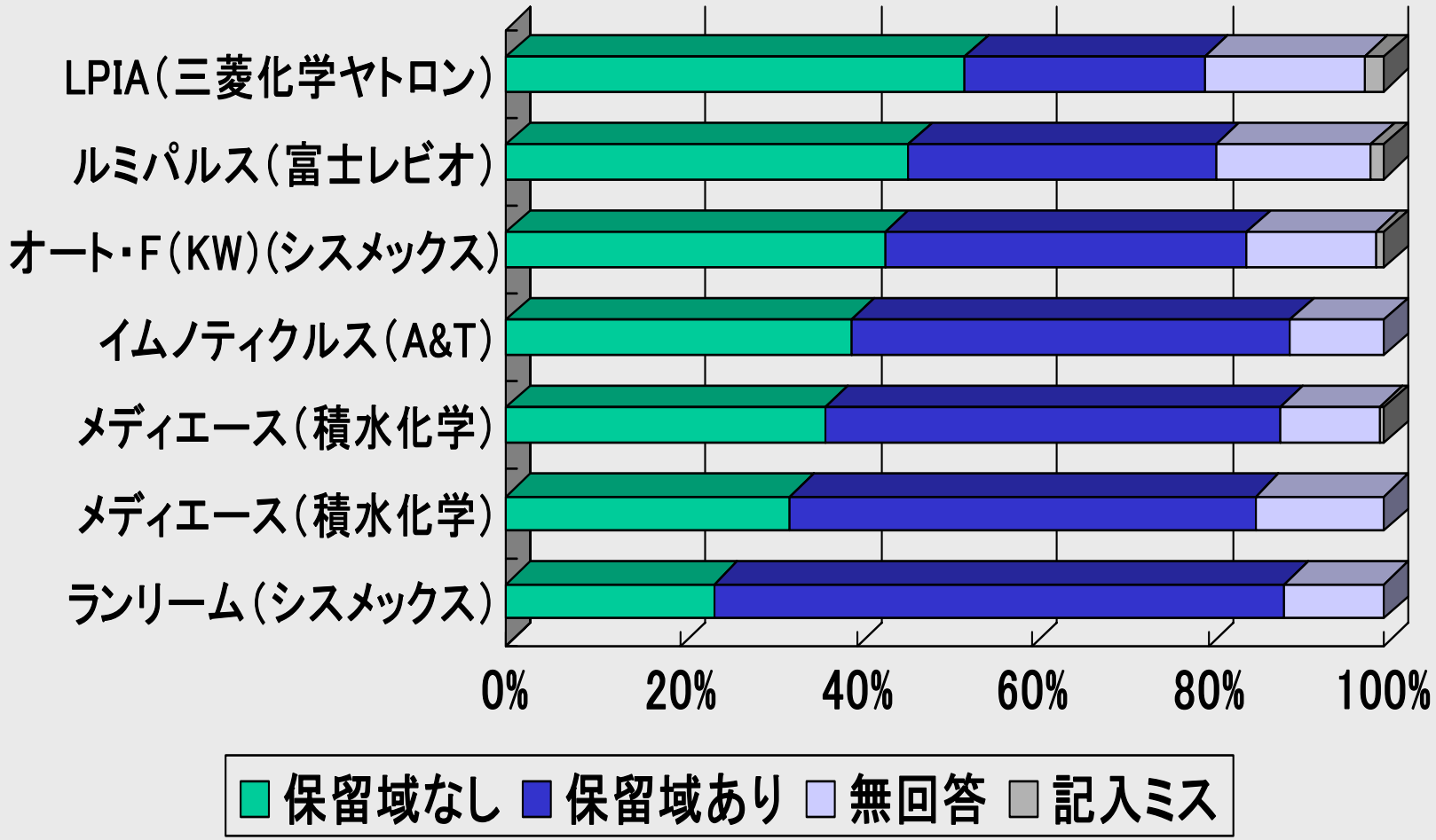
（参加数20以上の試薬グループについて）

試薬別保留域設定状況（HCV抗体）



（参加数20以上の試薬グループについて）

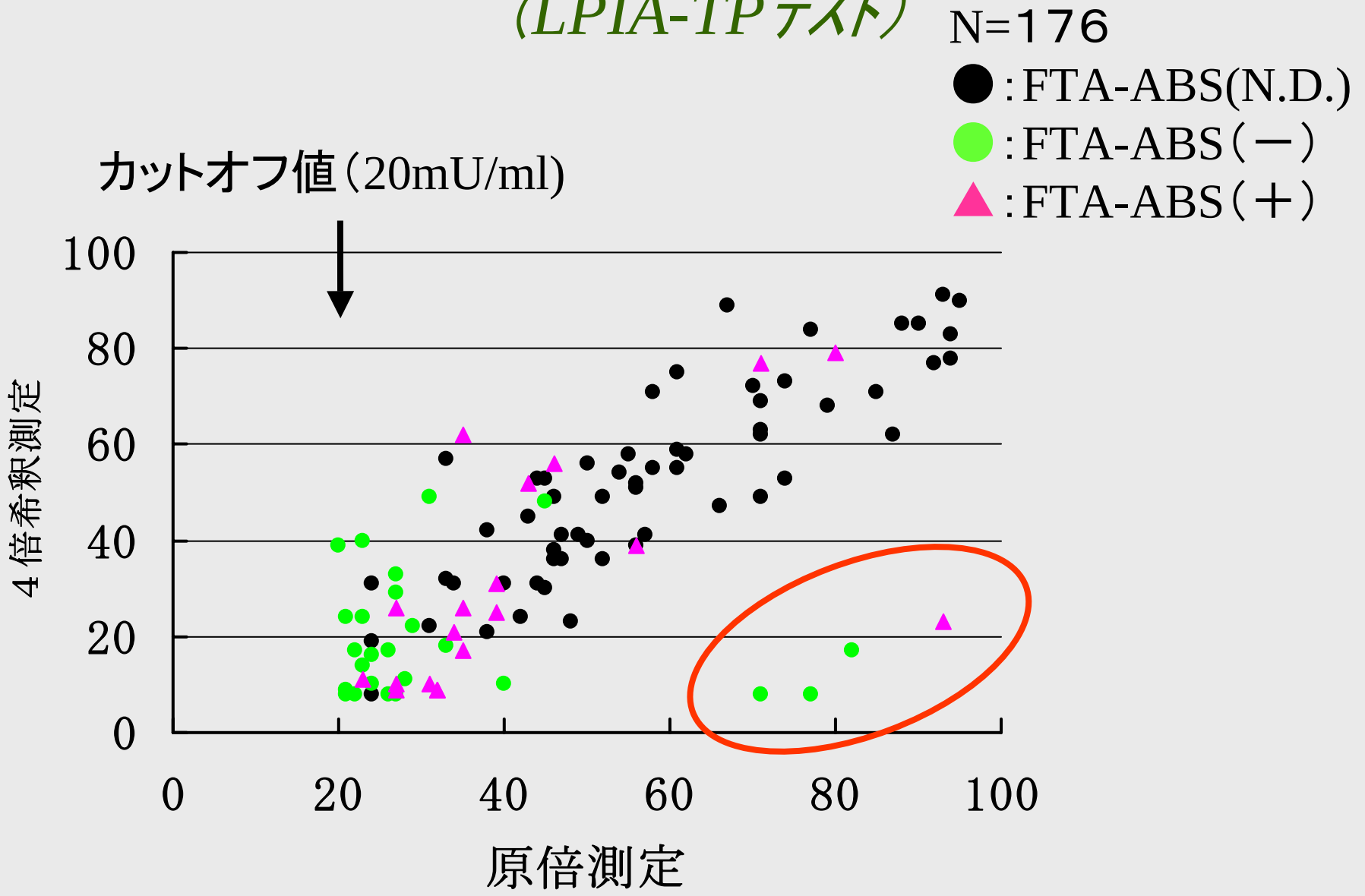
試薬別保留域設定状況（梅毒TP抗体）



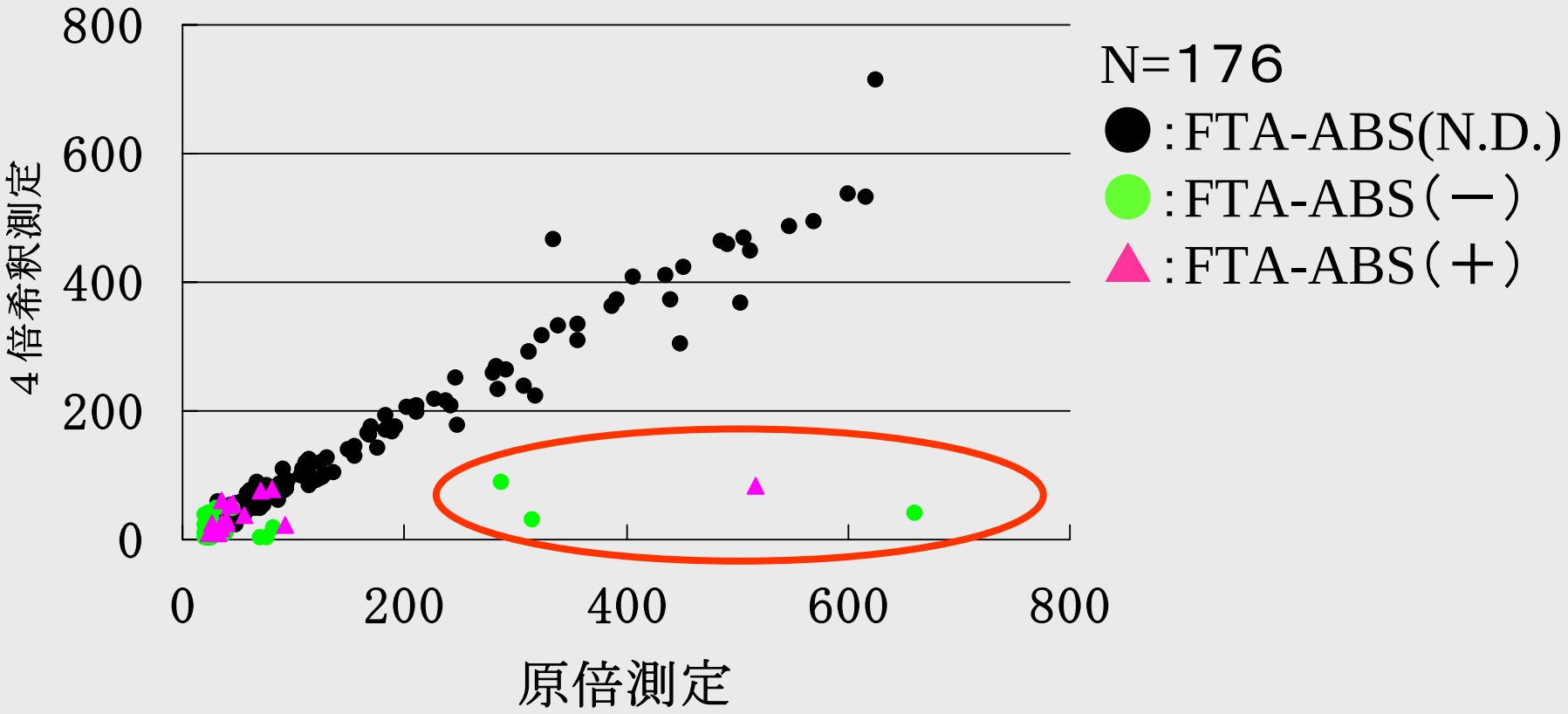
（参加数20以上の試薬グループについて）

1. 基準範囲の標準化
   - 判定保留域の標準化
2. 非特異反応の特徴と試薬について
3. 抗体を定量することについて
4. 感染症項目（TP抗体、HCV抗体、HBs抗原）の精度管理方法について

TP抗体陽性検体の原倍測定と4倍希釈値の比較
(LPIA-TPテスト)



TP抗体陽性検体の原倍測定と4倍希釈値の比較
(LPIA-TPテスト)



第40回近畿医学検査学会
（平成12年10月28日、29日　大阪国際交流センター）

抗原抗体反応測定法における偶発誤差の現状と実際

-血漿蛋白の実例と回避法-

○　河野　久　山本慶和　前川芳明　山中　亨　松尾収二

（天理よろづ相談所病院　臨床病理部）

司会：北橋（大阪市立）
発表者：大西（京都市立）、西田（西宮市医師会）、
上田（大阪医大）、田中（済生会和歌山）

対象および方法

対象：M蛋白を認めた50検体とRFが500 IU/ml以上の5検体および職員検診20検体を用いた.

方法：測定は，IgG，IgA，IgM，C3，C4，Hpt

試薬は日東紡とMBLの２社

分析は日立7600形自動分析装置

異常測定の定義

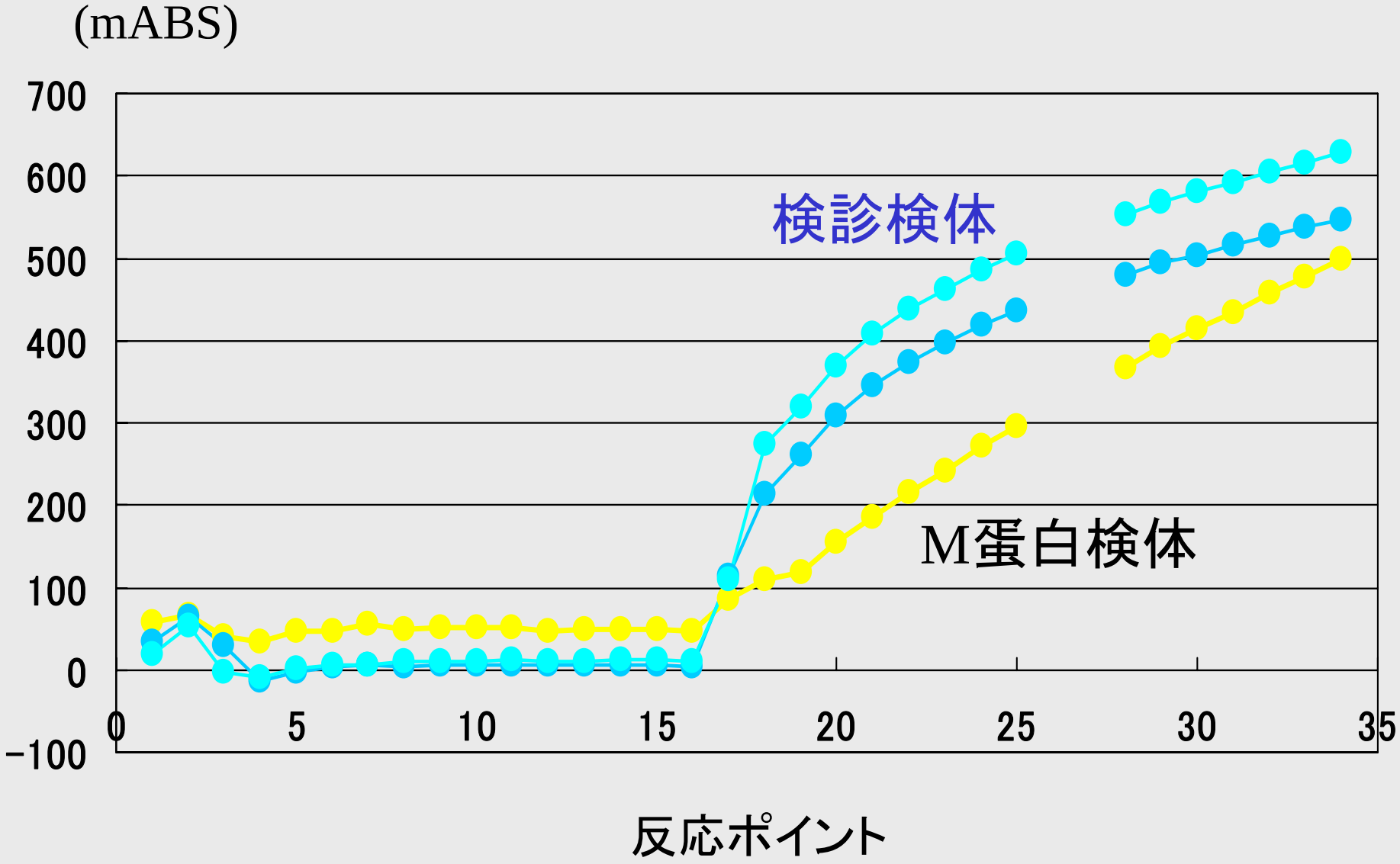
$$\frac{\text{２倍量サンプリング値}}{\text{通常値}} < 1.6$$

測定値 ０

異常反応検体リスト(7検体14テスト)

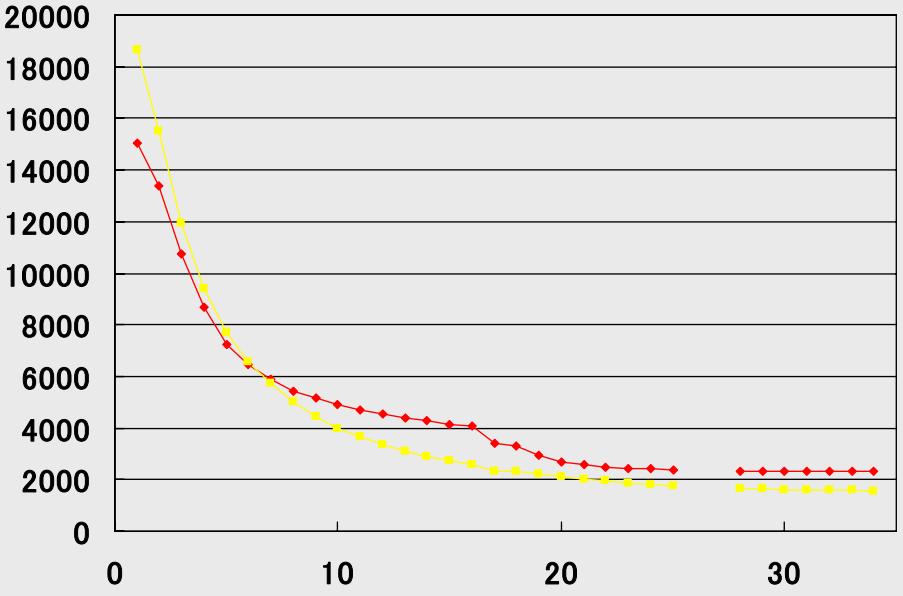
試薬・項目	異常項目	通常測定	2倍測定	2倍/通常
MBL C4	RF=684	13.6	20.3	1.49
MBL C4	RF=509	35.7	55.4	1.55
MBL C4	RF=553	20.1	31.2	1.55
MBL C4	RF=546	20.7	32.5	1.57
日東紡 IgA	IgM=2190	36	38	1.06
MBL C3	IgM=4950	0	0	
MBL C4	IgM=4950	0	10.6	
MBL C4	IgM=2190	7.6	11.8	1.55
日東紡　Hpt	IgM=4950	0	0	
MBL Hpt	IgM=4950	0	0	
MBL IgM	IgG=4470	101	140	1.39
MBL C3	IgG=4470	0	0	
MBL C4	IgG=4470	0	3.1	
MBL Hpt	IgG=4470	0	0	

IgA（日東紡）異常反応曲線（IgM=2190）（Type1）



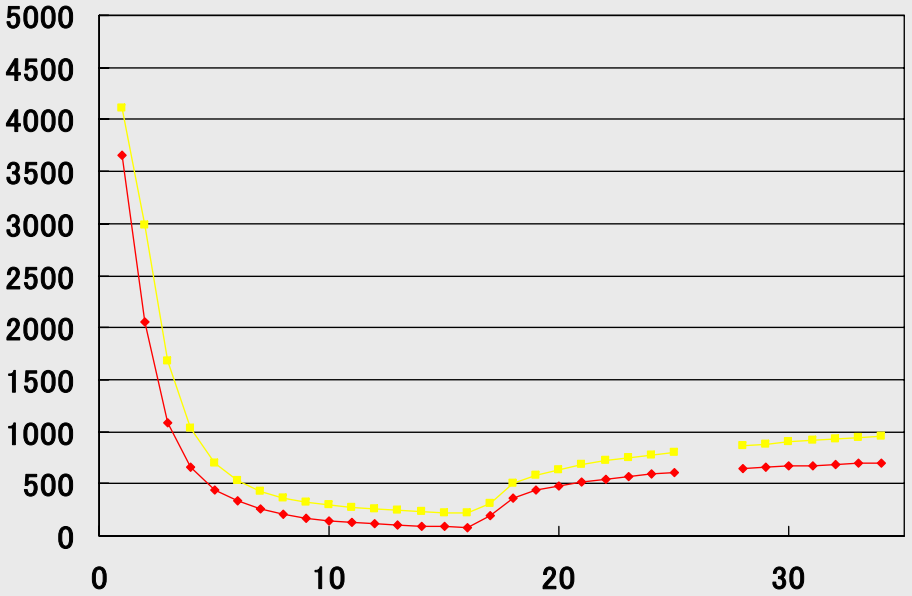
C3（MBL）異常反応曲線（IgM=4950、IgG=4470）希釈反応曲線との比較（Type2）

(mABS)　通常測定



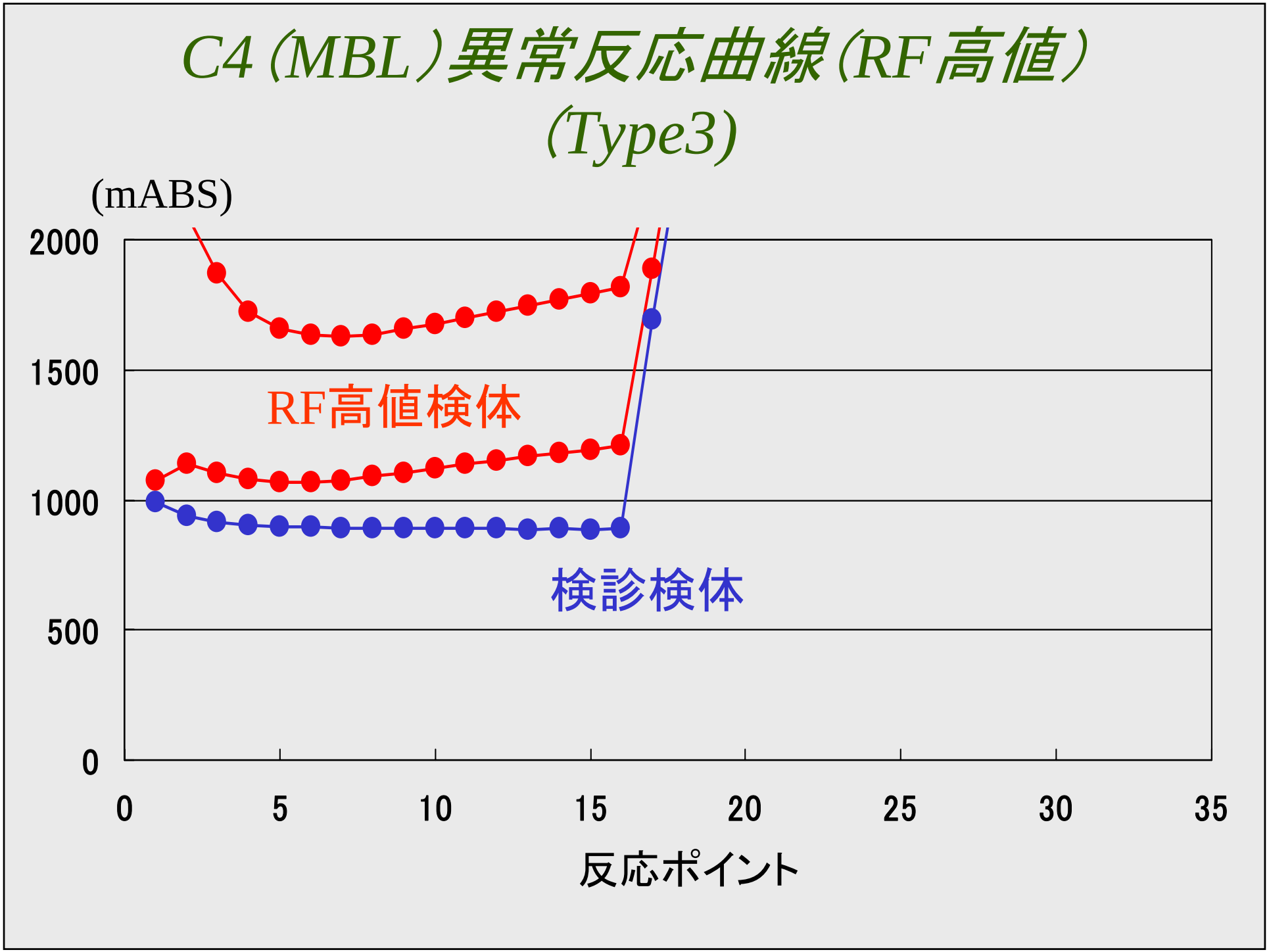
反応ポイント

(mABS)　2倍希釈測定



反応ポイント

C4（MBL）異常反応曲線（RF高値）(Type3)



まとめ

１．M蛋白５０検体のうち７検体、RF高値５検体のうち４検体で異常な反応曲線が認められた。

２．異常反応曲線の特徴は測定項目、使用試薬により異なったが３つに分類できた。

サンプリング量が多いC4、Hptで
非特異反応が多い
共存物質の影響も受けやすい

良い試薬の選び方

1）非特異反応、共存物質の影響が少ない。

2）安定性、再現性がよい

1）サンプリング量が少ない

2）日臨技サーベイのバラツキ集計を過去3年分掲載

CD-ROMの内容

（例）
フェリチン
１）試薬一覧
２）試薬統計
３）機器統計
４）試薬機器統計
５）方法別解析
６）標準品別解析
７）臓器別解析
８）抗体由来別解析
９）試薬別解析
10）試薬別年次推移

統計

件数と比率

解析

ツインプロット

ヒストグラム

平均、SD、CVなど

1. 基準範囲の標準化
   - 判定保留域の標準化
2. 非特異反応の多い試薬とは
3. 抗体を定量することとは
4. 感染症項目（TP抗体、HCV抗体、HBs抗原）の精度管理方法について

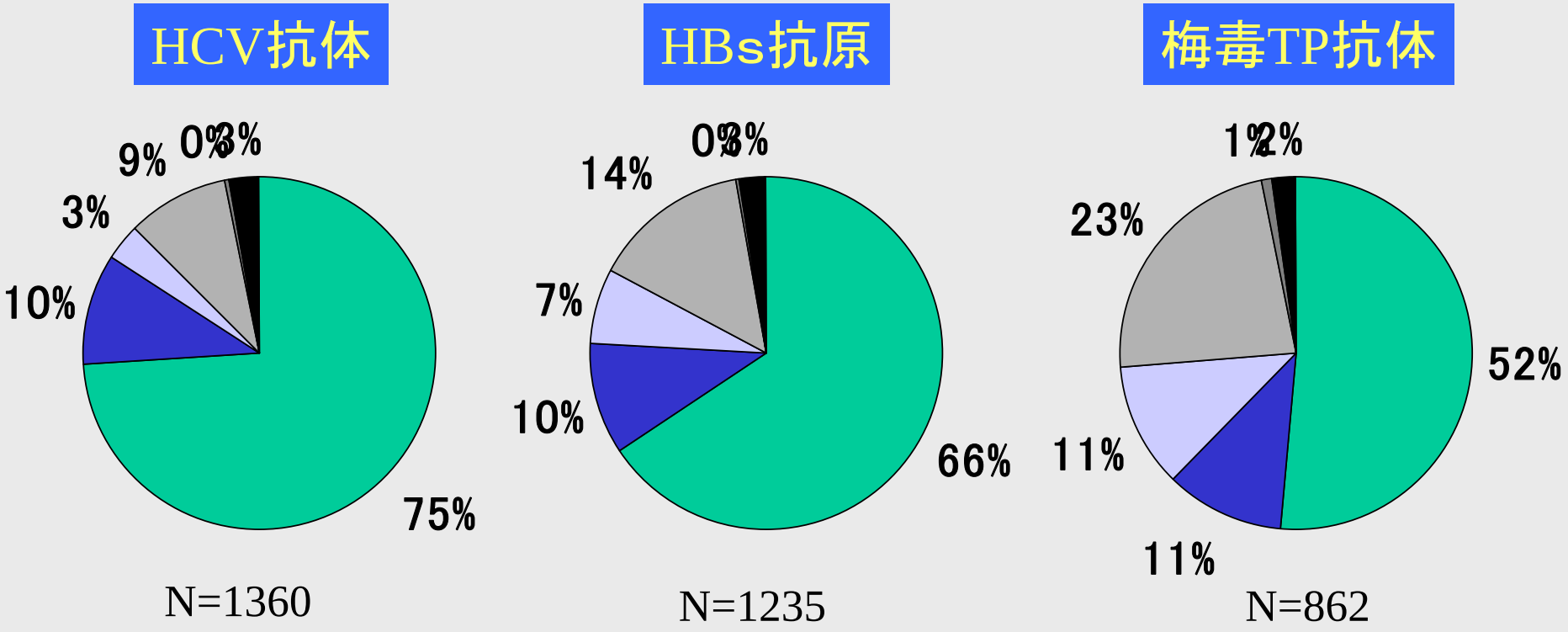
感染症項目の調査、評価の変遷

	定性				定量		
年度	HCV抗体	HBs抗原	梅毒TP抗体	梅毒脂質抗体	HCV抗体	HBs抗原	梅毒TP抗体
12	○	○	○	○			
13	○	○	○	○		○	○
14	○	○	○	○	○	○	○
15	●	●	●	●	○	○	○
16	●	●	●	●	●	●	●
17	●	●	●	●	○	○	○
18	●	●	●	●	○	○	○

○：調査、●：評価

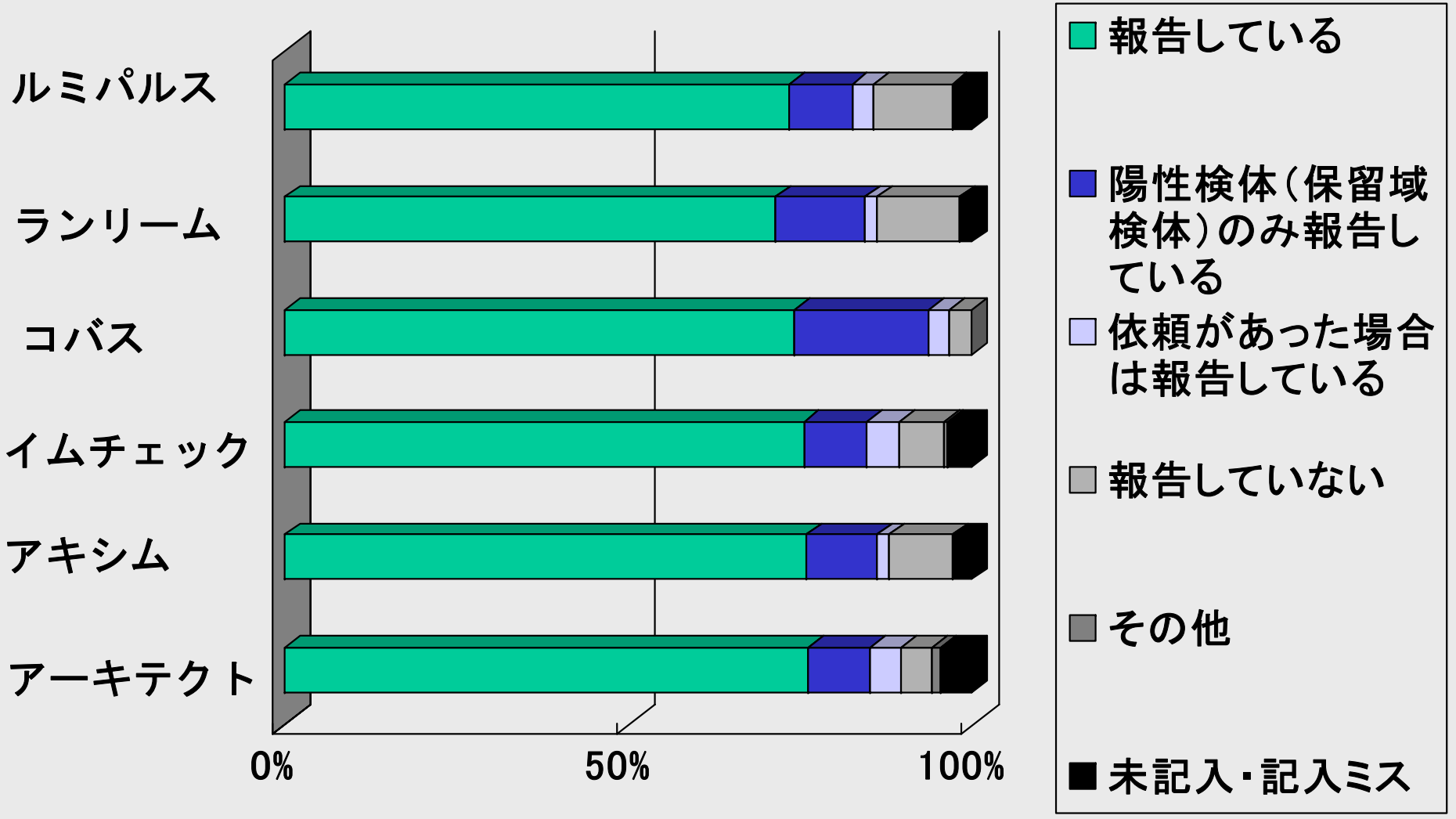
測定値を報告していますか？

（平成15年度日臨技精度管理調査より）



HCV抗体測定値試薬別報告状況

（平成15年度日臨技精度管理調査より）



定性および定量試薬登録数（平成17年度）

自動化試薬のみの集計

	定性	定量
HCV抗体	18	0
HBs抗原	19	9
梅毒TP抗体	4	19

定性試薬と定量試薬

- 定性試薬
  対象物質の有無を判定する試薬
- 定量試薬
  対象物質の量を測定する試薬

対象物質の特性、標準品の有無、既存製品の実情、ニーズなどから決められると考えられる

対象物質の特性

HCV-PCR陽性患者のHCV抗体（RIBA-3）の反応性（N=220）

NS5	C22p	C33c	C100p	
＋	＋	＋	＋	61.6%
－	＋	＋	＋	22.8%
－	＋	＋	－	5.5%
＋	＋	＋	－	5.5%
－	－	＋	＋	2.7%
＋	－	＋	＋	1.4%
＋	＋	－	＋	0.5%
－	＋	－	＋	0%
＋	－	－	＋	0%
＋	－	＋	－	0%
＋	＋	－	－	0%

TRANSFUSION Vol.35(9),1995

奈臨技サーベイ梅毒TP抗体結果（S8）

コード	試薬名	（＋）	判定保留	（－）	総計
06306	アキュラスオートTP抗体（梅毒）（シノテスト）	2			2
06801	エルピアエースTP抗体（三菱化学ヤトロン）	1			1
08301	ランリームTP（シスメックス）			4	4
24507	エルジア・FS-1200用　TPオート・F（KW）（ｼｽﾒｯｸｽ）	1			1
26601	ルミパルスⅡTP-N（富士レビオ）	9			9
43601	セロディア-TP（富士レビオ）	1	1		2
44306	クイックビーズTP抗体（シノテスト）	1			1
45401	ダイナスクリーンTPAb（アボット）	2			2
45506	オリゴファストTPAb（日水製薬）	1			1
45601	エスプラインTP（富士レビオ）	5			5
総計		23	1	4	28

TPの主要抗原とWB法の結果

膜関連抗原	S7	S8
TpN　47	（＋）	（＋）
44.5(a)		
39(a)		
39(b)		
36		
35		
17	（＋）	（＋）
15	（＋）	（－）

ランリームがS8で陰性となったのはS8検体に15kDaにバンドが認められなかった事と考えられる。

＊赤字は主要抗原

他に鞭毛関連抗原：TpN37,34.5,33,30などがある

梅毒患者（病期別）における TP抗体出現率

TABLE 1. *T. pallidum* antigens recognized by IgG antibodies in sera obtained from patients suffering from syphilis

T. pallidum antigen[a]	No. (%) of positive sera at indicated stage of syphilis				Total positive (n = 200)
	Primary (n = 74)	Secondary (n = 48)	Latent (n = 74)	Late (n = 4)	
rTpN47	63 (85.1)	48 (100)	70 (94.6)	4 (100)	185 (92.5)
wcTpN47	73 (98.6)	48 (100)	74 (100)	4 (100)	199 (99.5)
rTmpA	65 (87.8)	48 (100)	73 (98.6)	4 (100)	190 (95)
wcTmpA	67 (90.5)	47 (97.9)	72 (97.3)	4 (100)	190 (95)
rTpN37	26 (35.4)	26 (54.1)	26 (35.1)	4 (100)	82 (41)
wcTpN37	56 (75.6)	41 (85.4)	61 (82.4)	4 (100)	162 (81)
rTpN17	57 (77.0)	48 (100)	70 (94.6)	4 (100)	179 (89.5)
wcTpN17	54 (72.9)	46 (95.8)	74 (100)	4 (100)	178 (89)
rTpN15	50 (67.5)	34 (70.8)	49 (66.2)	2 (50)	135 (67.5)
wcTpN15	54 (72.9)	38 (79.1)	59 (79.7)	4 (100)	155 (77.5)

[a] Abbreviations: r, recombinant; wc, whole-cell lysate.

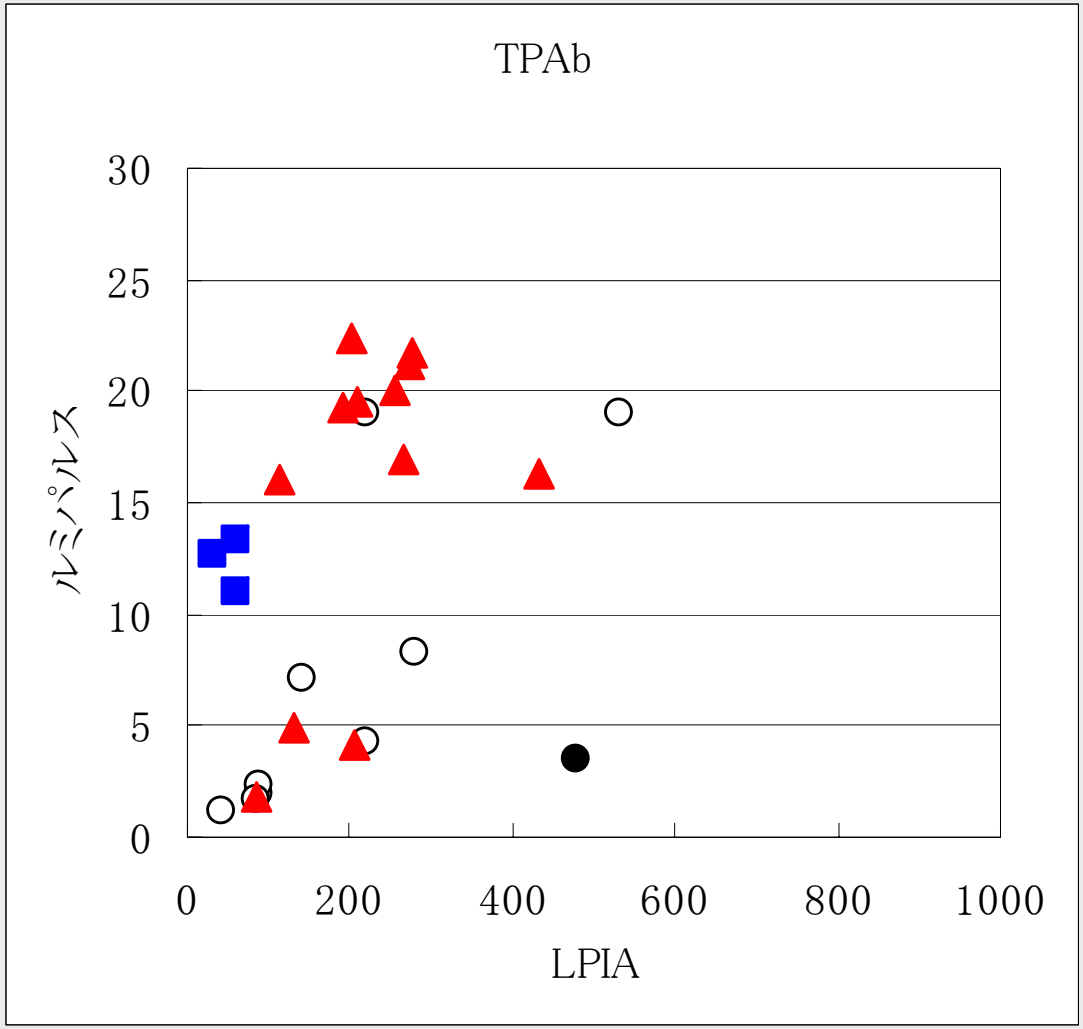
CLINICAL AND DIAGNOSTIC LABORATORY IMMUNOLOGY, May 2001, p. 534–539
1071-412X/01/$04.00+0 DOI: 10.1128/CDLI.8.3.534–539.2001
Copyright © 2001, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

梅毒患者（病期別）における TP抗体出現率

膜関連抗原	Primary (n=74)	Secondary (n=48)	Latent (n=74)
TpN47	73(98.6)	48(100.0)	74(100.0)
TpN17	54(72.9)	48(100.0)	74(100.0)
TpN15	54(72.9)	38(79.1)	59(79.7)

(抜粋)

(参考)TP抗体値　LPIAとルミパルスの比較



エスプラインの陽性バンド

- **Tp15-17 (-)、TPN-47(+)**
- **Tp15-17 ＜ TPN-47**
- **Tp15-17 ＞ TPN-47**
- **Tp15-17 (+), TPN-47(-)**

標準品の有無

梅毒TP抗体の単位と標準品
（メーカーアンケート調査から）

試薬名	単位	標準品の由来
セラテスタム梅毒	mIU	WHO
LPIA TPテスト	mU/ml	WHO
エルピアエースTP抗体	mU/ml	WHO
TPオート・F（KW）	C.O.I	自社
ルミパルスⅡTP-N	C.O.I	自社
エンザイグノスト梅毒	R.C.O.I	自社
ランリームTP	SU/ml	自社(TPHA)
メディエース TPLA	T.U.	自社(TPHA)
エクステルTP	T.U.	自社(TPHA)
メディエース TPLA「N」	T.U.	自社(TPHA)
イムノティクルスオートTPⅡ	U	自社

ルミパルスは定性試薬、他は定量試薬

定性試薬と定量試薬

- 定性試薬

  対象物質の有無を判定する試薬

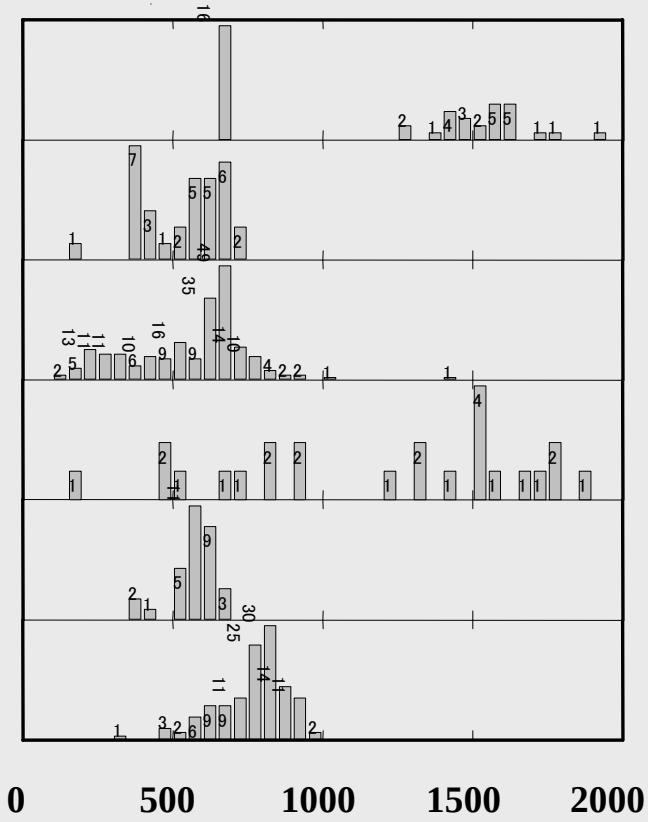
- 定量試薬

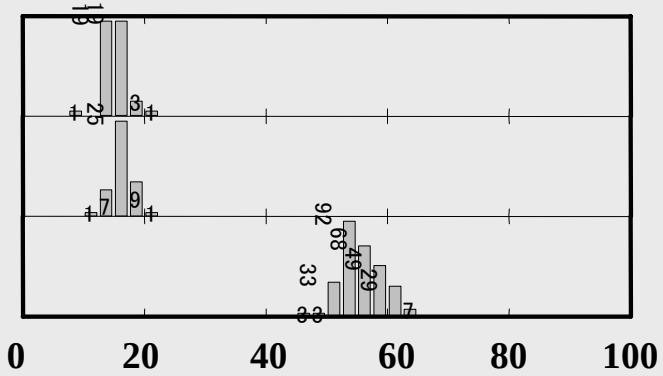
  対象物質の量を測定する試薬

対象物質の特性、校正物質の有無、既存製品の実情、ニーズなどから決められると考えられる

曖昧な定義！！

梅毒TP抗体ヒストグラム

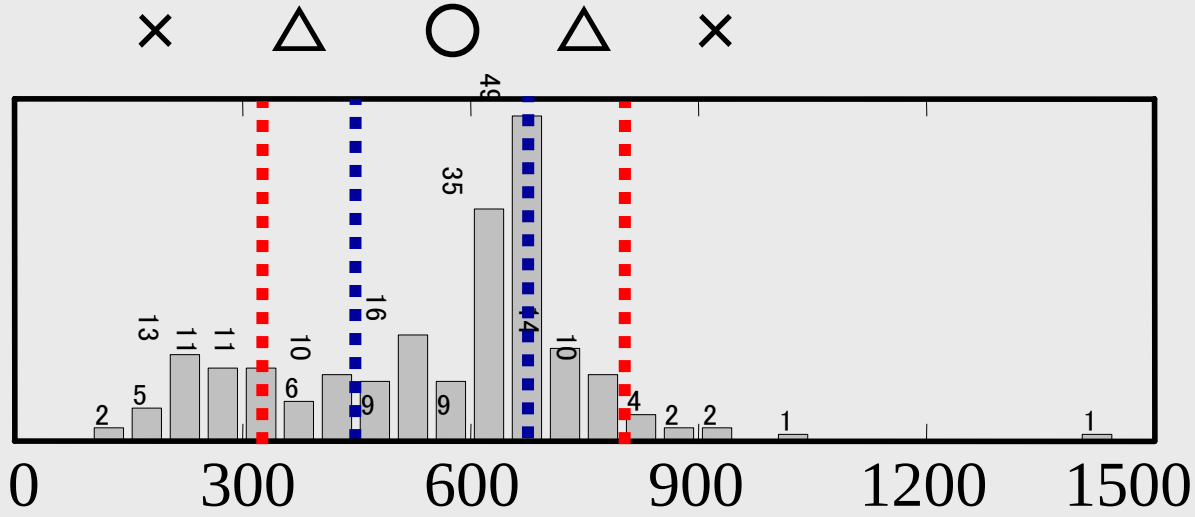




試薬名	標準品	定性・定量
LPIA・TPテスト	WHO	定量
イムノティクルスオートTP2	自社	定量
メディエースTPLA	自社（TPHA）	定量
セラテスタム　梅毒	WHO	定量
メディエースTPLA「N」	自社（TPHA）	定量
ランリームTP	自社（TPHA）	定量
TPオート・F（KW）	自社（C.O.I.）	定量
エルジア・FS-1200用 TPオート・F（KW）	自社（C.O.I.）	定量
ルミパルスⅡTP-N	自社（C.O.I.）	定性

梅毒TP抗体試薬別ヒストグラム

メディエースTPLA（積水化学/極東製薬・関東化学）



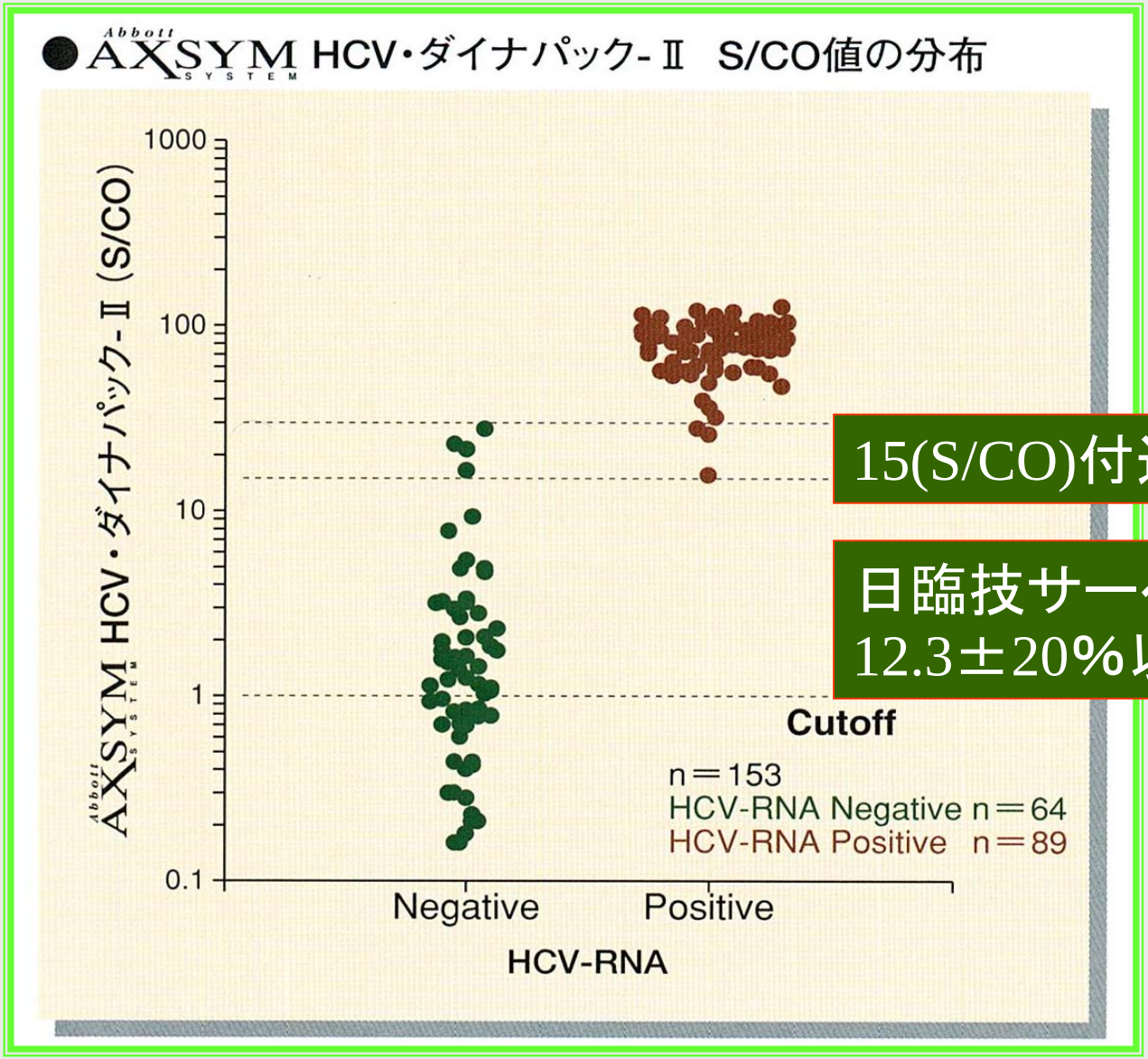
件数：210

試料22（目標値：449～673）

何故2峰性

プロゾーン現象を確認し、希釈測定した施設と
そのまま報告した施設の2群に分かれた

HCV抗体測定値の有用性と評価基準



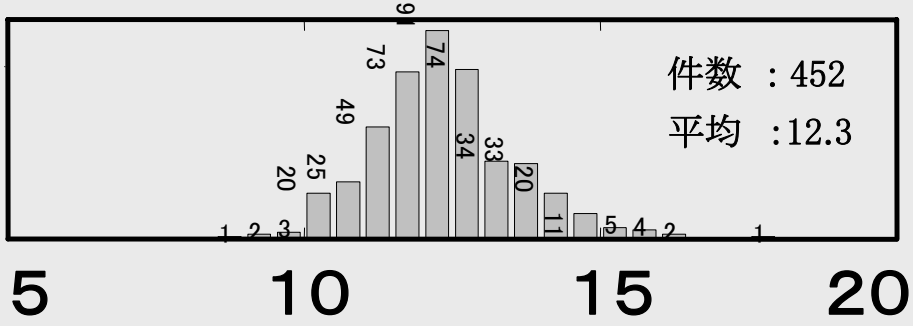
15(S/CO)付近のバラツキは？

日臨技サーベイでは
12.3±20%以上を×評価

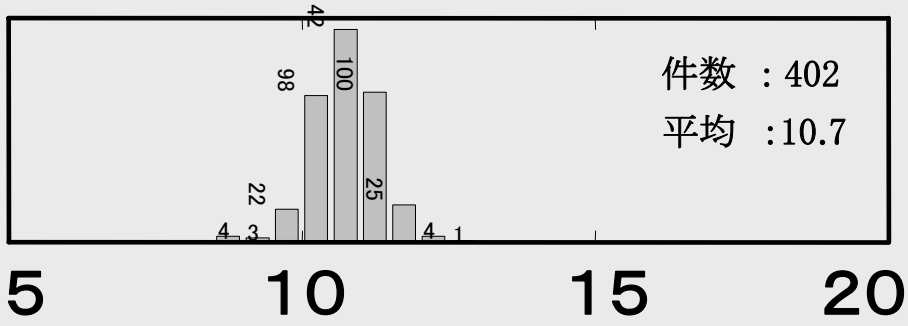
HCV抗体バラツキの比較

(平成16年度日臨技サーベイ)

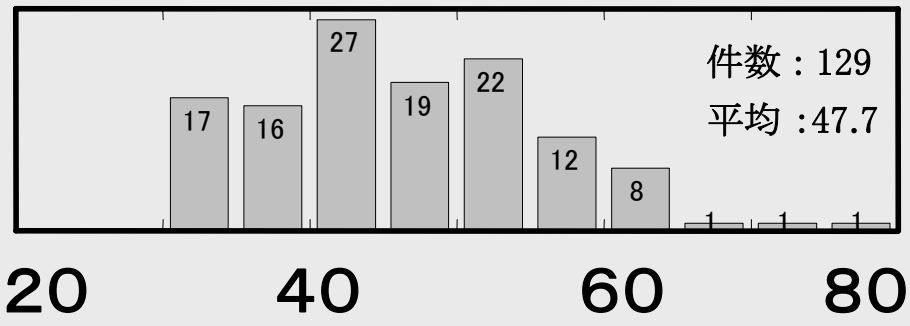
アキシムHCV



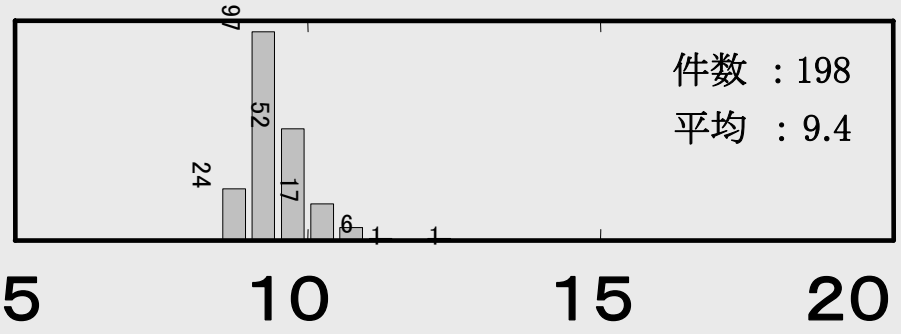
ルミパルスⅡオーソHCV



ランリームHCVⅡEX



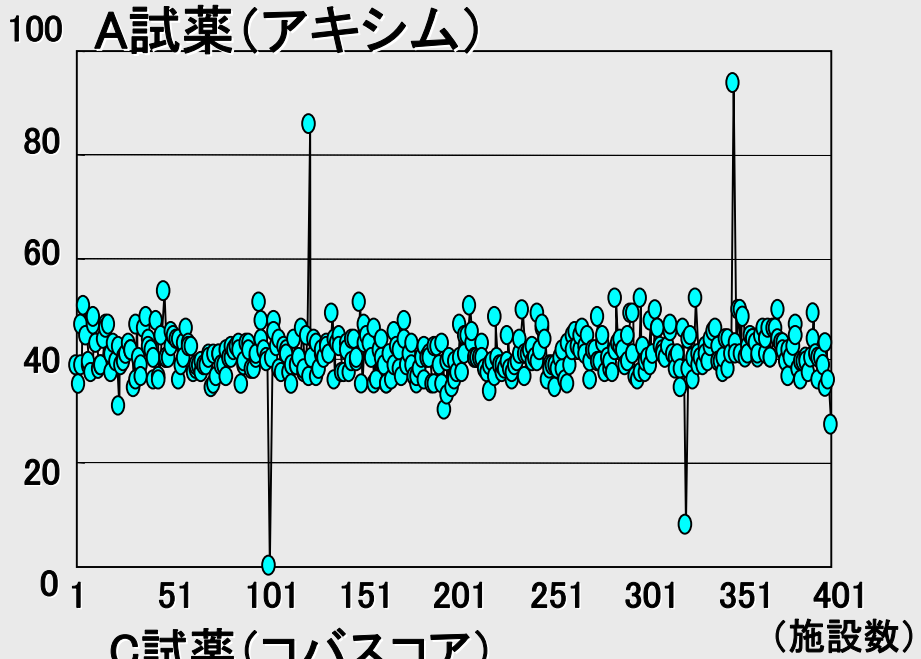
アーキテクト・HCV

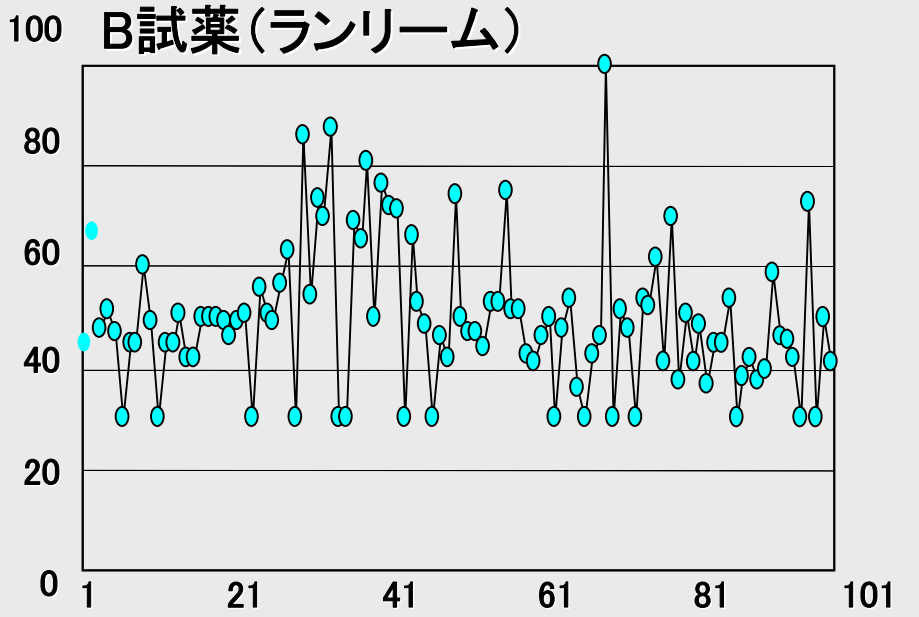


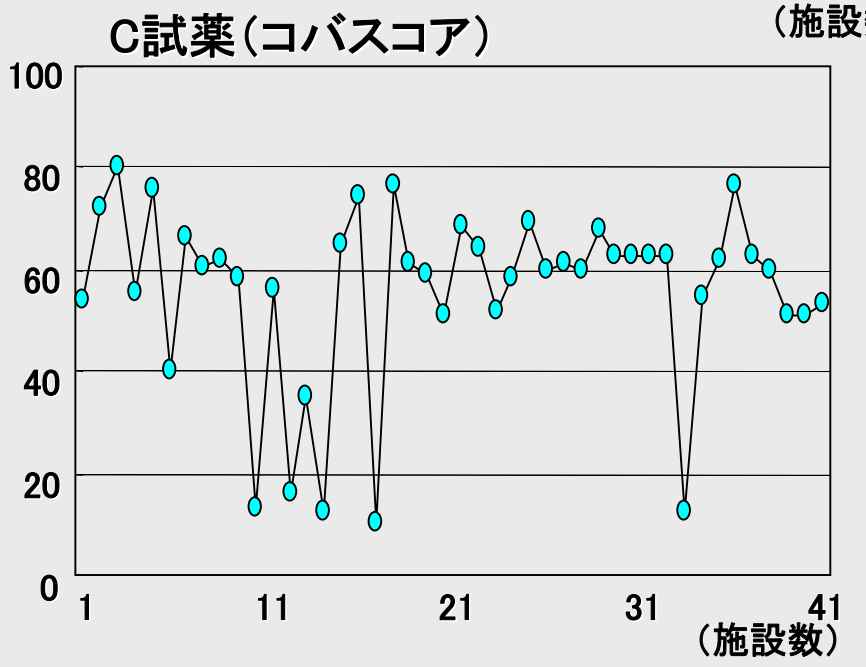
アキシム、ランリームで評価×多数

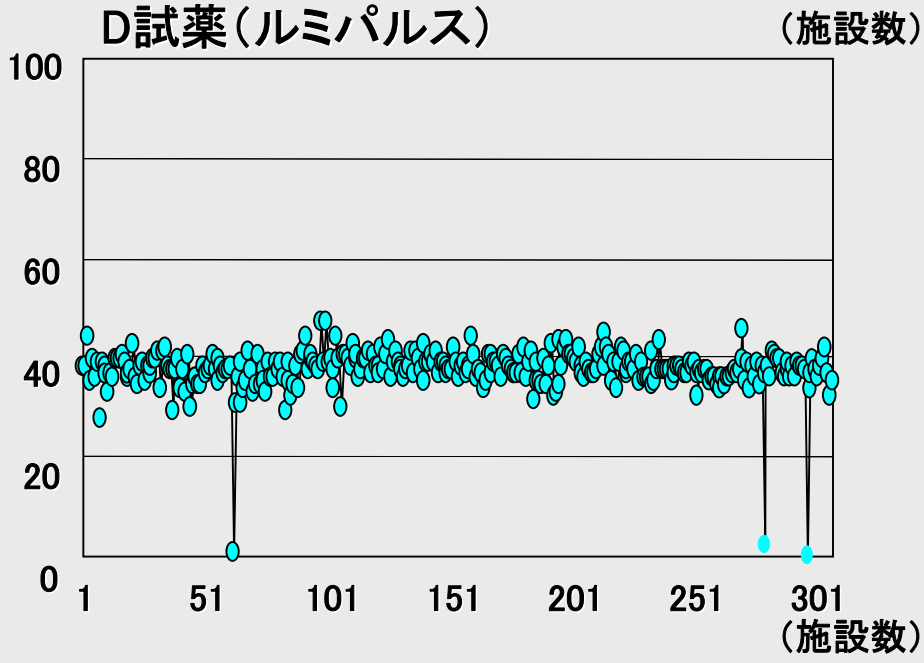
試薬キット別報告値分布図

（平成14年度日臨技精度管理報告）



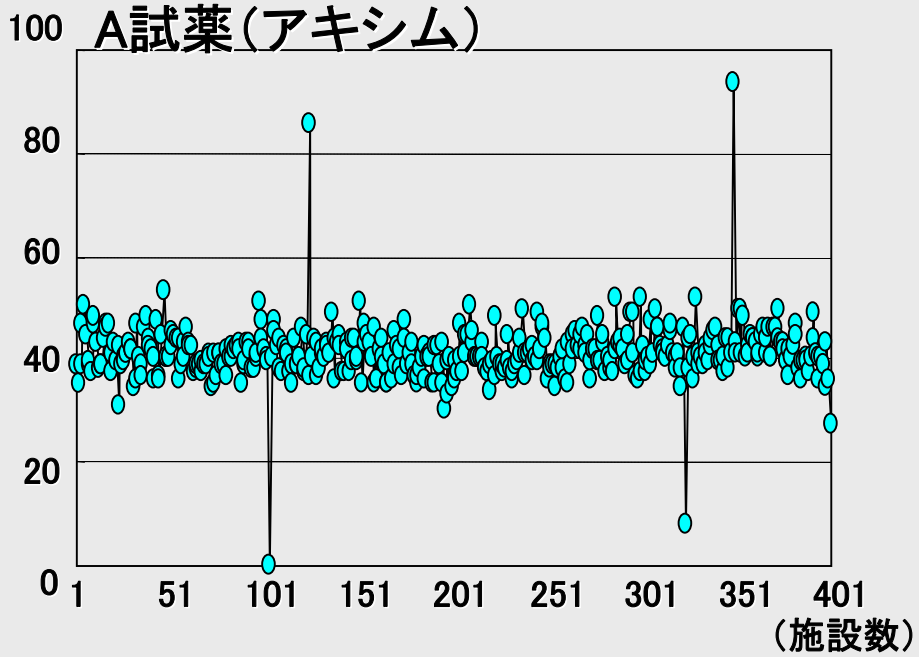


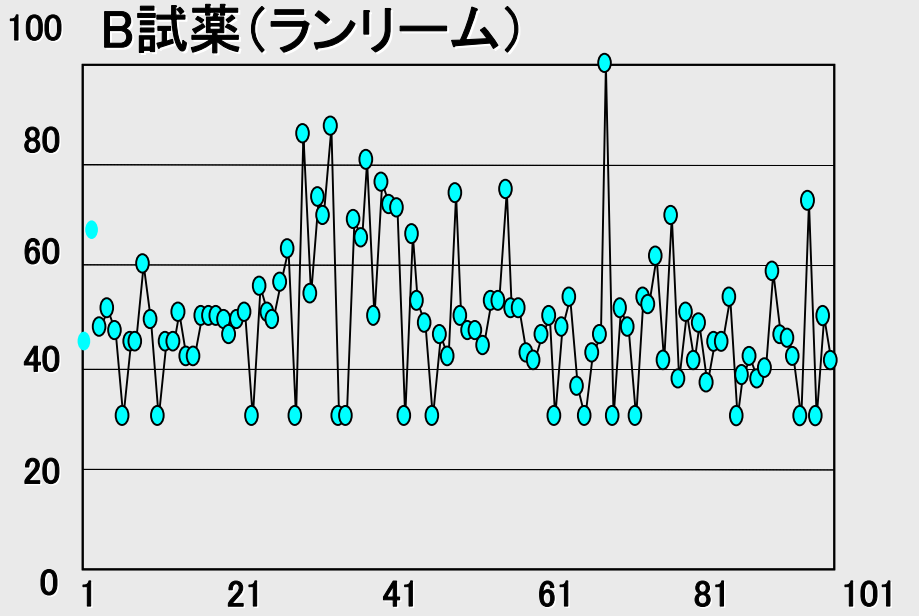


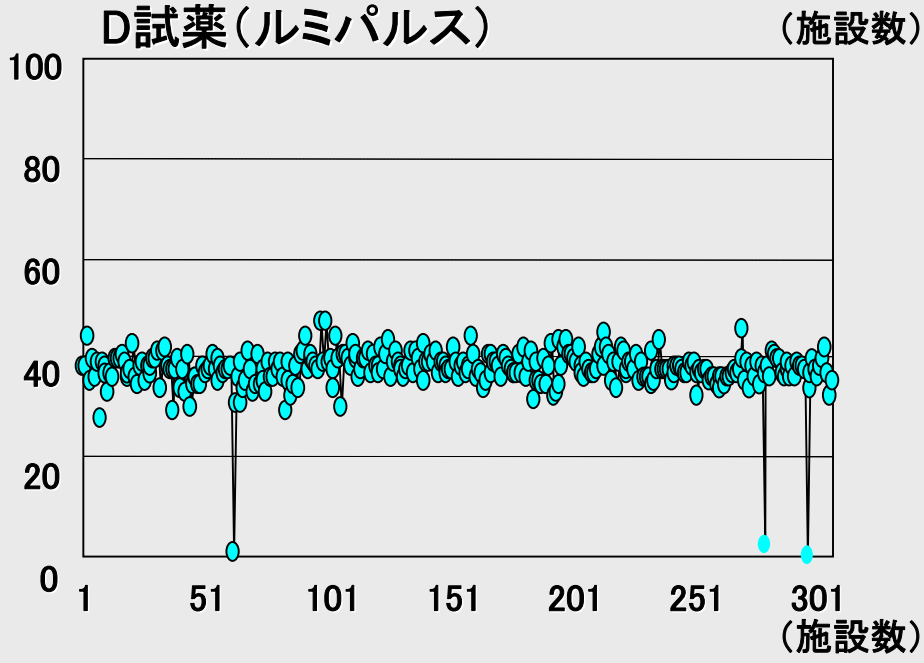


試薬キット別報告値分布図

（平成14年度日臨技精度管理報告）

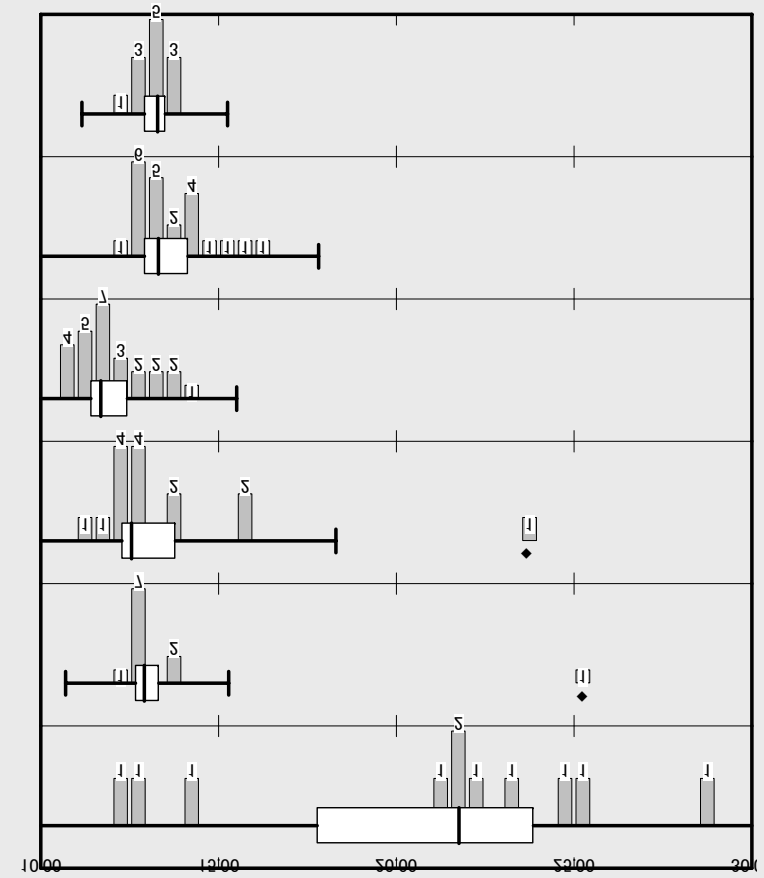






ロット間差（ランリームHCV抗体）

平成17年度

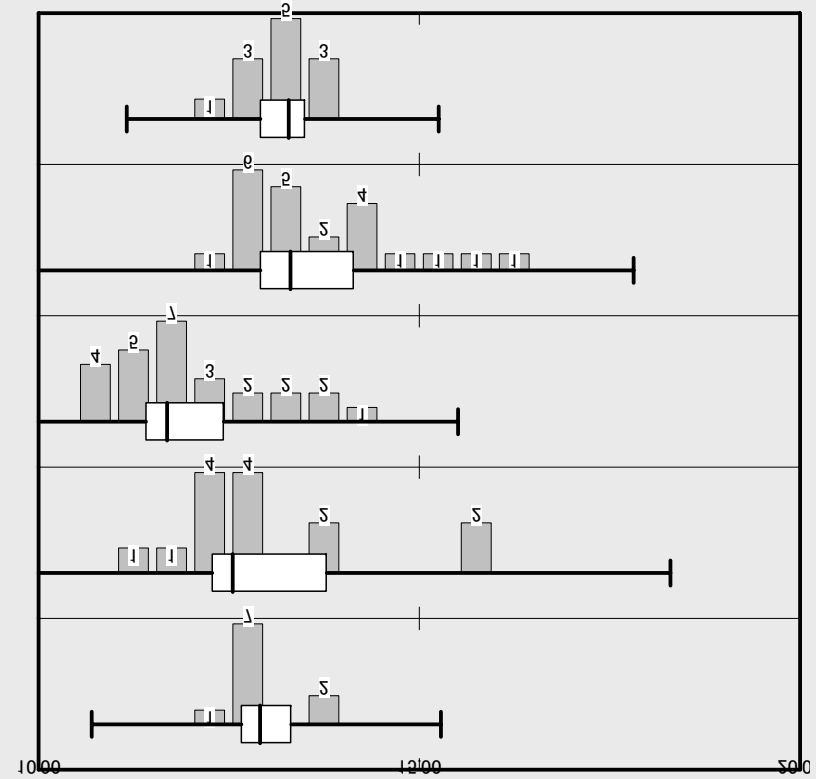


10 15 20 25 30

除外して作図

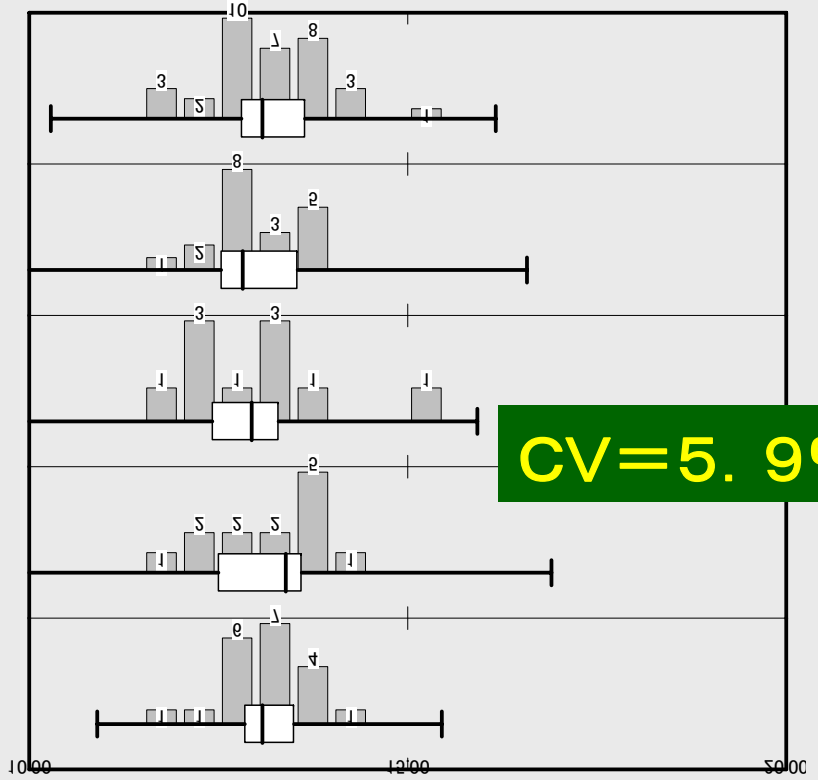
ロット間差（ランリームHCV抗体）

平成17年度



10 15 20

平成18年度



10 15 20

HCV抗体定量の現状と問題点

HCV抗体の定量値は医学的、社会的に重大な意味を持つようになった。

しかし、現状は試薬のロット間差が存在する

定性試薬ではあるが定量値の精度管理を行ない長期間安定した値が得る必要がある

1. 基準範囲の標準化
   - 判定保留域の標準化
2. 非特異反応の多い試薬とは
3. 抗体を定量することとは
4. 感染症項目（TP抗体、HCV抗体、HBs抗原）の精度管理方法について

内部精度管理方法

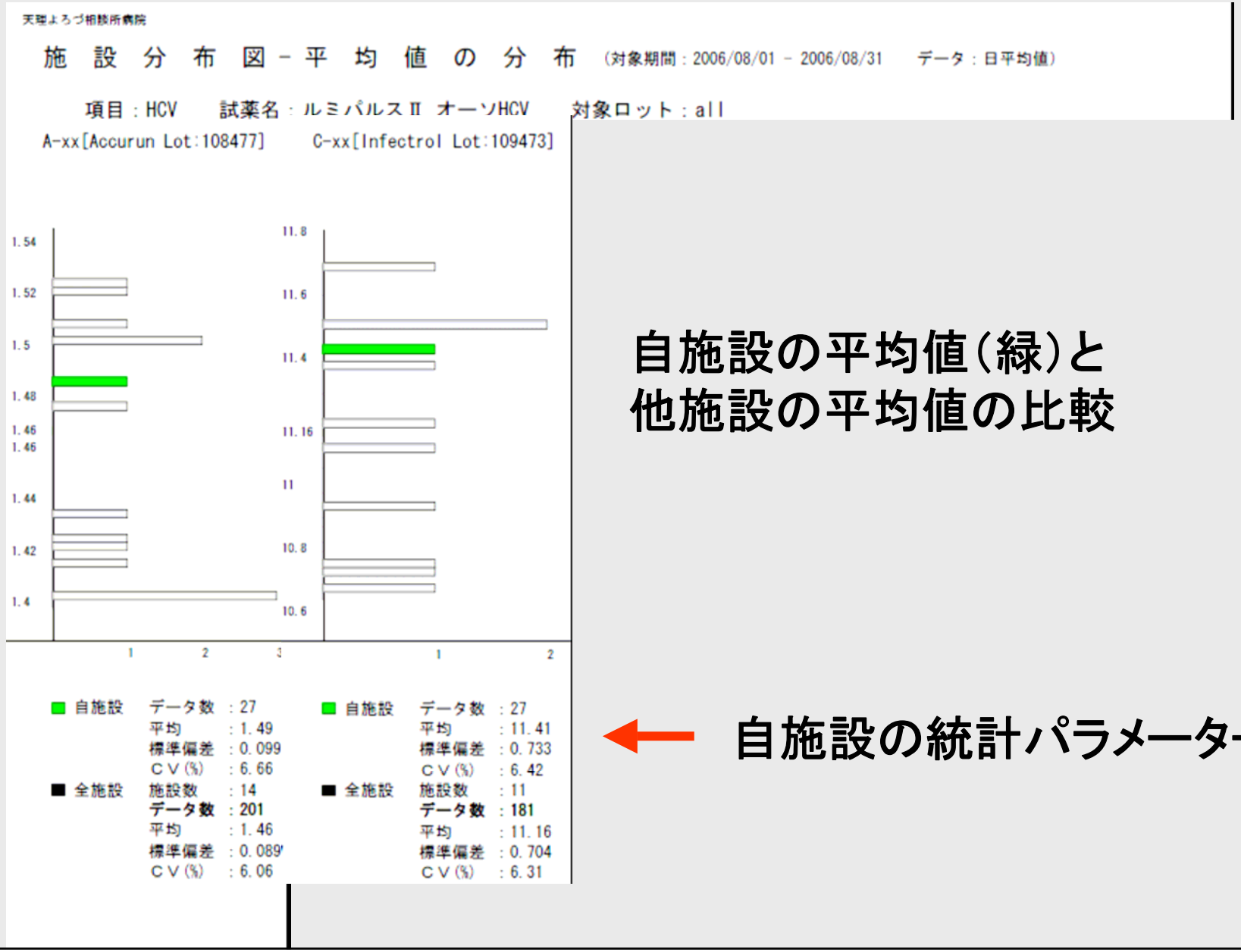
	生化学検査	感染症項目検査(ex.HCV抗体)
管理試料を用いる方法		
	$\bar{X}$-R管理	定量値を管理する統計的概念は未だない（管理試料の種類と濃度の選択が重要）
	X-Rs管理	
	マルチルール	
	累積和法　　等	
患者検体を用いる方法		
	ホフマン法	弱陽性率、偽陽性率の管理
	正常者平均値法	
個別検体の管理法		
	高値/低値チェック	陽性検体に対する対応（再検）
	項目間チェック	
	前回値チェック	前回値チェック

管理試料を用いる方法

- 目的
  - 測定試薬と分析機器の管理
  - 日内、日間の精密さの維持・管理
- 試料の条件
  - ヒト血清と同じ反応性を示す
  - 長期間安定でロット変更が少ない
  - １濃度はカットオフ付近を用いる

日臨技データ共有化管理試料（Infectrol）について

WEB入力で同一試薬の他施設と比較可能

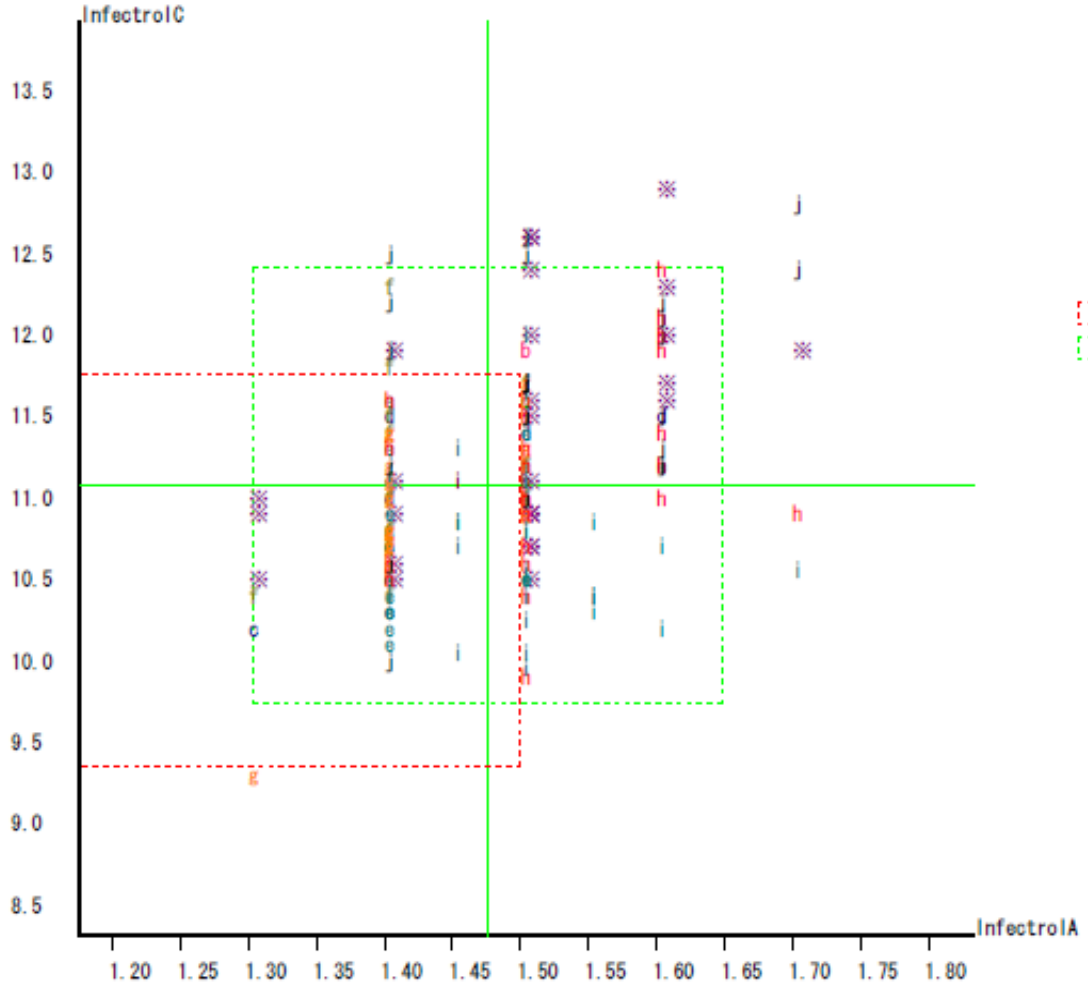


自施設の平均値（緑）と
他施設の平均値の比較

← 自施設の統計パラメーター

WEB入力でツインプロット作成

項目：HCV　　試薬名：ルミパルスⅡ オーソHCV　　対象ロット：all　　Accurunロット：108477



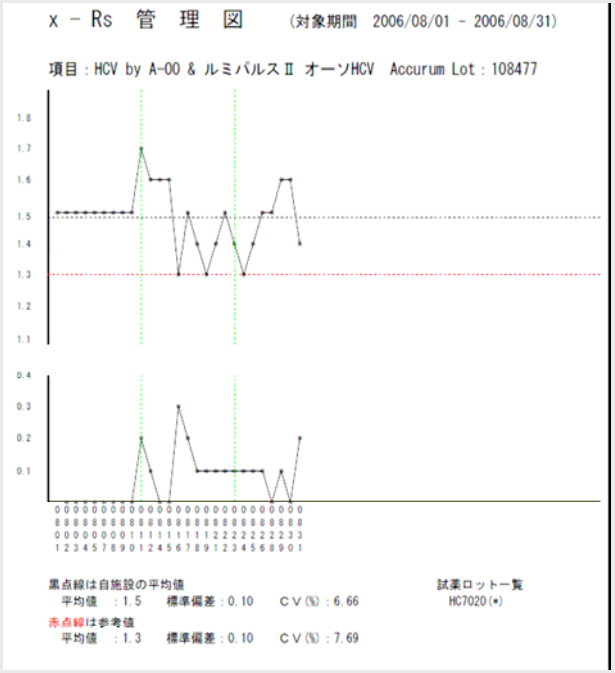
施設毎に異なる文字でドットされています。
ロット毎に以下の色でドットされています。

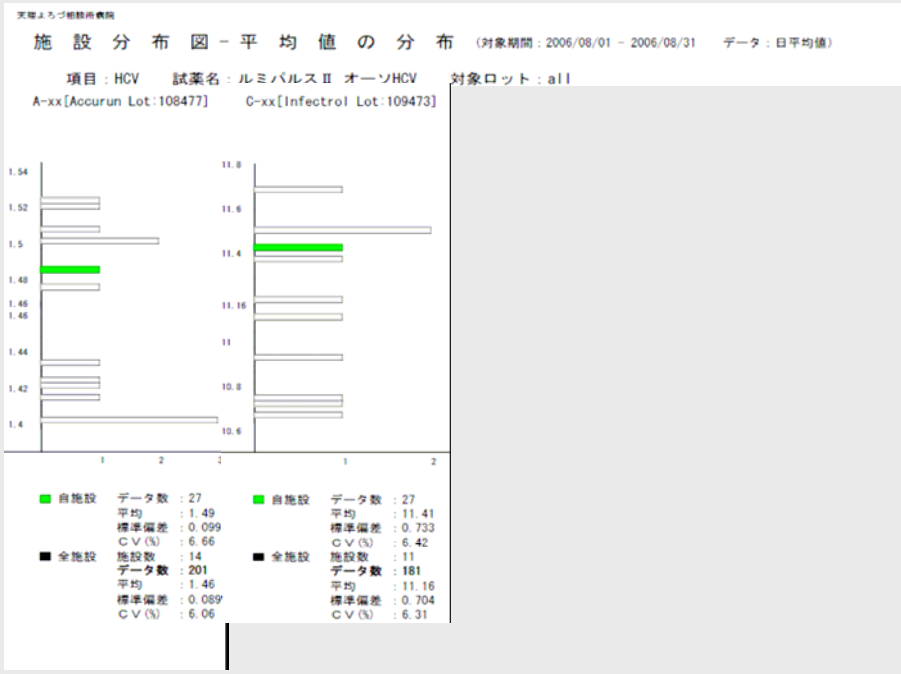
HC6050	HC6095	HC6114
HC6122	HC6123	HC6127
HC7015	HC7016	HC7017
HC7020	HC7023	HC7034

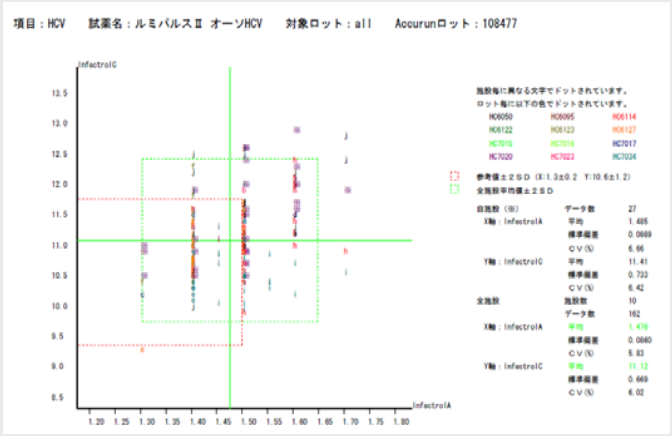
参考値±２ＳＤ（X:1.3±0.2　Y:10.6±1.2）
全施設平均値±２ＳＤ

自施設（※）	データ数	27
X軸：InfectrolA	平均	1.485
	標準偏差	0.0989
	ＣＶ(%)	6.66
Y軸：InfectrolC	平均	11.41
	標準偏差	0.733
	ＣＶ(%)	6.42
全施設	施設数	10
	データ数	162
X軸：InfectrolA	平均	1.476
	標準偏差	0.0860
	ＣＶ(%)	5.83
Y軸：InfectrolC	平均	11.12
	標準偏差	0.669
	ＣＶ(%)	6.02

標準報告書（月報）として使用可能







1項目3枚の図で毎月の
管理状況を把握できないか

まとめ

- メーカーに言わなければ試薬の改良はない。
- 精度管理は現場が主体となって行うものだ。
- 感染症項目で標準的な精度管理方法を作りたい。