

# 免 疫 血 清 部 門

## 精度管理事業委員

余郷 とし子

名古屋第一赤十字病院

TEL 052-481-5111

## 実務委員

久田 順	常滑市民病院
内田敦子	厚生連更生病院
小島英治	自宅

# 血清検査の精度管理調査

## 【はじめに】

日臨技精度管理調査の実施項目の推移をみると平成元年より梅毒検査の精度管理調査は行われていない。梅毒検査は、凝集判定に若干の熟練が必要で個人差が生じること・客観性に欠けること・反応時間が長いこと等の問題点があった。現在、自動分析機の技術進歩に伴いTP抗原を用いる方法では、化学発光法やラテックス法を利用して高感度で迅速な検査が可能となり、STS抗原を用いる検査に於いても、RPR法のように非働化作業のいらぬ短時間で結果の得られる検査法が主流となってきた。

本サーベイは、従来からのマイクロタイター法と自動分析装置を用いた方法との比較・STS抗原を用いる検査では、その方法による定量値の比較などを中心に行った。併せて梅毒血清検査における時間内至急検査ならびに時間外緊急検査としての対応についてのアンケートも実施した。

## I 対象および方法

### 1) 対象施設

公募により、愛知県下の72施設を対象とした。

### 2) 試料

試料1（陽性血清）と試料2（陰性血清）の2種類を用いた。試料1は陽性血清をプールしたものを複数回凍結融解し、ミリポアフィルターで減圧濾過後分注した。

試料2は愛知県赤十字血液センターから供与を受けた陰性血漿を塩化カルシウムで脱フィブリンし、その後透析膜で脱カルシウム処理を行ったものを試料1と同様に凍結融解し減圧濾過後分注した。

### 3) 集計方法

脂質抗原を用いる検査とTP抗原を用いる検査について、定性結果ならびに定量結果を方法別に集計した。自動分析装置による定量値は同一試薬について5施設以上参加のあったものについて集計を行った。

## II 結果

### 1) 測定方法別施設数（重複含回答をむ）

測定方法とその施設数を表1と表2に示した。参加72施設中、脂質抗原を用いる検査法を施行している施設は67施設、TP抗原を用いる検査法を施行している施設は71施設あり、両検査法を併せて施行している施設は66施設あった。

脂質抗原を用いる検査では、RPR法が54施設と全体の75%を占め、次いでガラス板法23施設（32%）、凝集法は2施設で行われていた。また、脂質抗原を用いた方法を二法以上施行している施設が12施設あった。

TP抗原を用いる方法は、マイクロタイター法46施設(64%)、自動分析装置を用いる方法は27施設(38%)で行われていて、同一施設で、二方法以上(緊急検査を含む)施行できる施設が4施設あった。

## 2) 非働化の有無と条件(表3)

ガラス板法を実施している23施設において、22施設では血清の非働化を行っているが、非働化を行っていない施設も1施設あった。非働化の条件は、56℃ 30分の施設が16施設(73%)、60~63℃ 3~5分が6施設であった。

## 3) 定性法の結果

表1に脂質抗原を用いる検査法の測定結果を示した。試料1の陽性血清においてRPR法を施行している54施設中、52施設(96.3%)が陽性と報告したが、2施設は陰性と報告した。ガラス板法を用いている23施設と凝集法を用いている2施設は全て陽性と報告した。

試料2の陰性血清においてもRPR法で54施設中、52施設(96.3%)が陰性、2施設だけが陽性と報告した。ガラス板法と凝集法を用いている施設は全て陰性であった。なお、試料1を陰性、試料2を陽性と報告した2施設は同一の施設であった。

表2にはTP抗原を用いる検査法の測定結果を示した。試料1の陽性血清は1施設を除いて、全て陽性と報告された(98.7%)。試料2の陰性血清は2施設が判定保留、1施設が陽性と報告し、他の96%の施設は陰性と報告した。試料1を陰性、試料2を陽性と報告した1施設は同一の施設であった。

脂質抗原検査で、陽性と陰性を逆転させて報告した2施設中1施設は、TP抗原検査を行っていない施設であり、TP抗原検査法で、陽性と陰性を逆転させて報告した施設は脂質抗原検査を行っていない施設であった。また、脂質抗原検査で報告を逆転させたもう1施設は、TP抗原検査の報告は誤っていなかった。

## 4) 定量法の結果

試料1の陽性血清について脂質抗原検査における定量値の分布を表4に示した。RPR法、ガラス板法ともに2倍を中心とした±1管に収束した施設は54施設中53施設(98.1%)であった。試料1の陽性血清についてTP抗原検査におけるマイクロタイター法の定量値の分布を表に示した。640倍を中心に±1管に収束した施設は35施設中34施設(97.1%)であった。

表6には自動分析装置による定量値の分布を示した。ラテックス凝集法の測定値は平均が498.4SU/ml、CVは40.5%であった。

## 5) アンケートの結果

時間内至急検査ならびに時間外緊急検査への対応について集計した結果を表7に示した。時間内至急検査と時間外緊急検査の両方に対応している施設は72施設中49施設(69.0%)、時間内至急検査のみ対応の施設は14施設(19.7%)で、何れも対応していない施設は8施設(11.3%)であった。時間内至急検査ならびに時間外緊急検査で実施する検査方法は、日常検査と同じ方法で行っている施設は45施設の71.4%、RPR法のみ実施は8施設の12.

7%、T P 抗原を用いる方法のみ実施は3施設の4.8%であった。

### III 考察

梅毒検査において、脂質抗原を用いる検査は迅速かつ低コストで初期感染の早期発見・治療の経過観察にも有用であった為、広く用いられてきた。その反面、検査手技に熟練を要したり生物学的疑陽性反応の問題もあり、特異性の高いT P 抗原を用いる検査が併せて行われてきた。ところが、T P 抗原検査はほとんどがIgG抗体を検出する試薬であり、陽性化までに若干の時間を要する欠点もある。

T P 抗原検査は従来からのマイクロタイター法に加え自動分析機の普及もあり簡素化・迅速化がなされ、今回のサーベイ参加72施設中71施設で行われる結果となり、脂質抗原と併せて施行している施設が66施設にも及んだ。脂質抗原検査においても非働化作業を要しないR P R法が54施設(75%)と主流となり簡素化・迅速化がなされている。また、ガラス板法を行っている1施設で非働化を行っていない施設があったが、ガラス板法・凝集法は、非働化を行わないと偽陰性反応を起こすことが唱えられているので非働化を正確に行うことを勧めたい。

定性法での結果は脂質抗原検査もT P 抗原検査も、施設間・試薬間の差を認めなかった。しかし、試料の取り違いあるいは記入ミスと考えられる誤判定として報告した施設が3施設もあった。実際のルーチン検査であると、仮定すると恐ろしい確率であるが、そのうち1施設は脂質抗原検査とT P 抗原検査のデータが相反していた。

定量法においても、脂質抗原検査ならびにT P 抗原検査のマイクロタイター法は測定値がほぼ収束した結果となったが、自動分析装置による測定値は方法によっては変動係数が大きく、施設間差の問題が示唆される。また、報告値の単位、基準値が統一されていない点も大きな問題である。

### IV まとめ

従来より、T P 抗原検査は脂質抗原検査に比べて感染初期の陽転化が遅いと指摘されてきた。今日、自動分析機の進歩に伴いT P 抗原検査の感度も飛躍的に高くなったことは理解できるが感染初期の陽転化の早さにおいては、脂質抗原検査のそれを上回るには至っていない様に思われる。IgM-T P 抗体をも検出できる市販キットの開発が待たれるところであるが、脂質抗原検査を無視することは臨床からも考えられそうにもない。

また、緊急対応の面から見るとイムノクロマトグラフィー法によるT P 抗体測定試薬は、1検体を個別に検査でき検査機器もいらない為コストの問題を考えなければ、少検体・省スペースでのT P 抗原検査には有用と考えられる。

今回の調査で使用した陽性試料は高濃度であった為、良い収束結果を得ることができたが、担当技師レベルの誤りが目に付いた。次回サーベイでは、低濃度検体の調査も行き施設間差等にも着目して行く必要があると思われる。

最後に、本調査の試料作製にあたり、愛知県赤十字血液センターならびに和光純薬工業株式会社のご協力をいただき、ここに感謝致します。

【文献】

巴山顕次：検査の変遷と将来展望（1）

定性法と半定量法の今後の動向：医学検査47:1-13, 1998

## 測定試薬

### 1) 脂質抗原を用いる方法

・RPR法	三光純薬	23	(42.6%)
	ヤトロン	21	(38.9%)
	国際試薬	3	(5.5%)
	住友製薬	3	(5.5%)
	その他	4	(7.4%)
		54施設	(100%)

・ガラス板法	住友製薬	23施設
・凝集法	住友製薬	2施設

### 2) TP抗原を用いる検査

#### ・マイクロタイター法

富士レビオ	37	(80.4%)
三光純薬	4	(8.7%)
カイノス	2	(4.3%)
シノテスト	2	(4.3%)
化血研	1	(2.2%)
		46施設 (100%)

#### ・ラテックス凝集法 (比濁法含む)

極東製薬	7	(41.2%)
東亜医用電子	6	(35.3%)
ダイアヤトロン	3	(7.6%)
協和メデックス	1	(5.9%)
		17施設 (100%)

#### ・EIA法

富士レビオ	7	(70.0%)
国際試薬	2	(20.0%)
テイバーリング社	1	(10.0%)
		10施設 (100%)

表1 脂質抗原を用いる検査の測定方法別施設数及び結果（重複回答含む）

測定法別結果	施設数	試料-I		試料-II	
		陽性	陰性	陽性	陰性
RPR法	54	52	2	2	52
ガラス板法	23	23	0	0	23
梅毒凝集法	2	2	0	0	2
脂質抗原を用いる検査を施行していない施設	5				
計	84	77	2	2	77

表2 TP抗原を用いる検査の測定方法別施設数及び結果（重複回答含む）

測定法別結果	施設数	試料-I		試料-II		
		陽性	陰性	陽性	陰性	保留
マイクロタイター法	46	46	0	0	44	2
化学発光酵素免疫法	7	7	0	0	7	0
ELISA法	3	3	0	0	3	0
ラテックス比濁法	7	7	0	0	7	0
ラテックス凝集法	10	9	1	1	9	0
その他	2	2	0	0	2	0
TP抗原を用いる検査を施行していない施設	1					
計	76	74	1	1	72	2

表3 非働化の条件（ガラス板法）

非働化の条件	施設数
56度C 30分	16
60度C 3分	1
60度C 5分	1
61度C 3分	1
62度C 5分	1
63度C 5分	2

表4 脂質抗原を用いる検査の定量値の分布

	1倍	2倍	4倍	8倍	施設数
RPR法	3	22	8		33
ガラス板法	3	10	7	1	21
凝集法		1	1		2

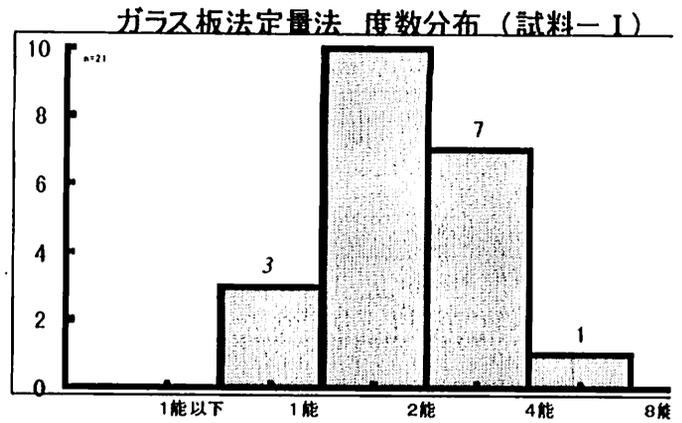
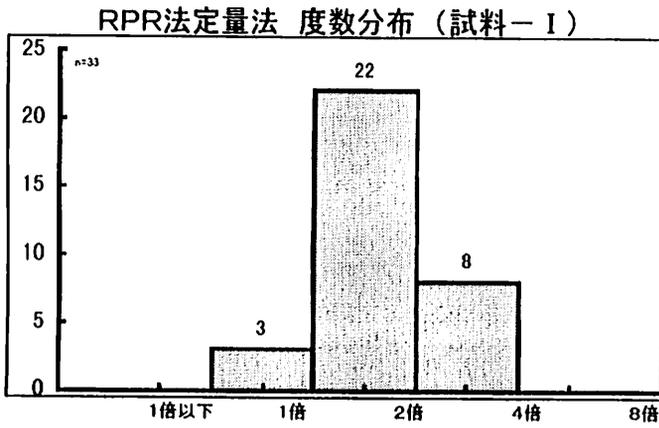


表5 マイクロタイター法の定量値分布

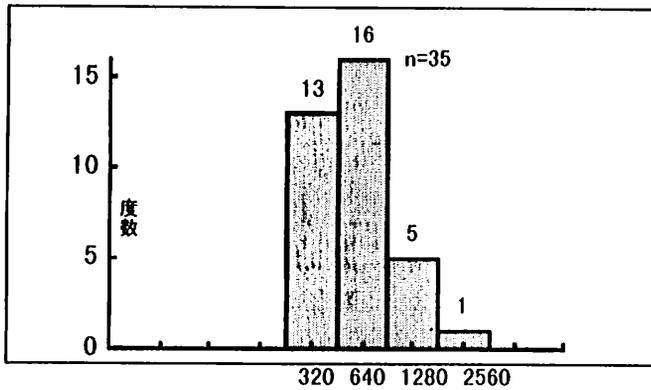


表6 自動分析装置による定量値分布 (TP抗原検査)

測定法	施設数	平均値	標準偏差	変動係数	最小値	最大値
ラテックス凝集法 (su/ml)	5	498.4	201.7	40.5	328	840
ラテックス比濁法 (tu)	6	333.3	67.4	20.2	206	386
化学発光酵素法 (COI)	6	4.8	0.45	9.3	4.2	5.3

表7 時間内至急検査と時間外緊急検査のアンケート結果

至急検査と緊急検査の対応について	
至急、緊急の両方に対応している	49施設
至急のみ対応している	14施設
対応していない	8施設
至急検査と緊急検査の検査方法について	
日常業務と同じ方法で施行	45施設
RPR法のみ施行	8施設
TP抗原検査のみ施行	3施設
その他	1施設
記載なし	6施設