

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

血清検査の精度管理調査

【はじめに】

昨年の精度管理調査は梅毒血清検査を取り上げ愛知県の現状について調査した。

その結果、脂質抗原を用いる方法（STS 法）^{1,2)}の定量値は試薬間差、施設間差は認められず収束した結果となった。一方、TP（T.pallidum）由来の抗原を用いる方法（TP 抗原法）^{1,2)}の定量値は、血球凝集反応などを用いる方法と自動分析装置を用いる方法による定量値が報告され、特に自動分析装置による定量値は標準品が制定されていないにも関わらず実施されているため、メーカー間差のため分析装置や測定試薬によって値が異なることは基より、単位や基準値にも施設間差が生ずる結果となった³⁾。また方法によっては変動係数の大きい測定方法もあったことから今年度の精度管理調査は自動分析装置を用いたTP 抗原法の直線性の確認と STS 法の低濃度域における評価を目的として実施したので報告する。

1. 対象および方法

1) 対象項目

梅毒血清検査の内、STS 法と TP 抗原法の定性ならびに定量

2) 対象施設

公募により愛知県下の 73 施設を対象とした。

3) 試料

陰性検体と陽性検体はプール血清をもとに作製し、試料 1、試料 2、試料 3 の 3 種類とした。

試料 1 は STS 法ならびに TP 抗原法も陰性の試料で、試料 2 は試料 1 と試料 3 を 1 : 1 の割合で混合した。試料 3 は STS 法の定量値が 2 倍、TP 抗原法はマイクロタイター法で 640 倍を目安に調整した。

4) 方法

STS 法と TP 抗原法を 2 方法以上実施している施設についてはそれぞれ 2 方法での回答を求めた。STS 法と TP 抗原法の定性結果ならびに定量結果は方法別に集計し、自動分析装置による定量値は 5 施設以上が採用している同一試薬について集計を行った。試料 2 と試料 3 の平均値をプロットして試薬ごとで直線性を確認した。

2. 結果

1) 方法別施設数

方法別施設数を表 1 と表 2 に示した。

STS 法は RPR 法が 57 施設 (78.1%)、ガラス板法は 21 施設 (28.8%)、凝集法は 3 施設 (4.1%) から回答があり、同一施設で 2 法の回答は 11 施設あった。TP 抗原法はマイクロタイター法が 30 施設 (41.1%)、自動分析装置による測定が 34 施設 (46.6%)、免疫クロマトグラフィー法が 17 施設 (23.3%)、その他が 2 施設 (2.7%) あり、同一施設で 2 法の回

答は 12 施設あった。

2) 定性値の結果

表 3 に STS 法の定性値の結果を測定方法別に示した。試料 1 の陰性検体は、RPR 法 57 施設、ガラス板法 21 施設、凝集法 3 施設のすべてが陰性と報告した。試料 2 の弱陽性検体はガラス板法 21 施設と凝集法の 3 施設は陽性と報告し、RPR 法は 48 施設が陽性、3 施設が判定保留、6 施設が陰性と報告し RPR 法でばらつきが認められた。試料 3 の陽性検体は RPR 法 57 施設、ガラス板法 21 施設、凝集法 3 施設のすべてが陽性と報告した。

表 4 に TP 抗原法の測定結果を示した。試料 1 の陰性検体は全ての施設が陰性と報告し、試料 2 と試料 3 の陽性検体も全ての施設が陽性と報告した。

3) 定量値の結果

STS 法の定量値の結果を測定方法別に度数分布で示した。図 1 に示したように、試料 2 を、1 倍未満と報告した施設は 3 施設 (RPR 法)、1 倍と報告した施設が 34 施設 (RPR 法 21 施設・ガラス板法 13 施設)、2 倍と報告した施設が 11 施設 (RPR 法 5 施設、ガラス板法 6 施設) あった。図 2 に示した試料 3 を 1 倍と報告した施設は 7 施設 (RPR 法 5 ・ガラス板法 2)、2 倍と報告した施設は 37 施設 (RPR 法 25 ・ガラス板法 12)、4 倍と報告した施設は 6 施設 (RPR 法 1 ・ガラス板法 5) あった。図 3 には TP 抗原法の内マイクロタイター法で測定した 27 施設の定量値の結果を度数分布で示した。試料 2 は 160 倍から 2560 倍までの報告があった中で 320 倍と報告した施設は 17 施設 (63.0%) あり、320 倍を中央値とした ± 1 管に入った施設は 23 施設 (85.2%) あった。試料 3 は 320 倍から 5120 倍まで報告があり、640 倍と報告した施設は 13 施設 (48.1%) と最も多く、640 倍を中心とした ± 1 管に入った施設は 21 施設 (77.8%) であった。

4) 自動分析装置による TP 抗原法の報告値

自動分析装置による TP 抗原法の報告値を測定方法別に集計した結果を表 5、6 に示した。試料 2 についての報告値は表 5 に示したように、化学発光酵素免疫法では平均値 3.5 C.O.I, 変動係数 8.9%、FEIA 法では 5.9 C.O.I, 9.0%、CIA 法では 249.8 su/ml、5.6%、ラテックス比濁法では 261.2 T.U, 14.9% であった。試料 3 の報告値は表 6 に示したように、化学発光酵素免疫法では平均値 6.1 C.O.I, 変動係数 7.4%、FEIA 法では 9.4 C.O.I, 8.0%、CIA 法では 494.2 su/ml、7.4%、ラテックス比濁法では 509.2 T.U, 8.7% であった。

5) TP 抗原法のツインプロットによる解析

自動分析装置による定量値の分布をツインプロットで示した。図 4 に示したように各測定方法間の報告値は広範囲に分布していた。マイクロタイター法による定量値は希釈倍数の分布を対数変換しツインプロットで示した。図 5 に示すようにマイクロタイター法においては系統誤差を認めた。

6) 各自動分析装置による TP 抗原法の直線性

図 6 にラテックス比濁法での報告値の平均で示したように、500T.U まで直線関係を認めた。図 7 には CIA 法での報告値を示し、この方法も 500T.U まで直線関係を認めた。図 8 には化学

発光酵素免疫法での報告値を示したがやや湾曲な関係であった。図 9 には FEIA 法での報告値を示したが、直線関係は認めなかった。

3. 考察

梅毒血清検査は診断を目的とした検査の他に手術や処置前の感染症のスクリーニングとして依頼されることが多く、迅速、簡便性が求められ、TP 抗原法は自動分析装置による測定や短時間に結果の得られるイムノクロマトグラフィー法が導入されている。

イムノクロマトグラフィー法での参加は昨年 1 施設だったのが、今年は 17 施設と大幅に増加し、自動分析装置による測定は昨年の 27 施設から 34 施設となり 7 施設の増加となった。逆にマイクロタイター法は昨年の 46 施設から 30 施設と大幅に減少した。

STS 法の RPR 法は抗原液を作製しなくてもよいことや顕微鏡を必要とせず、また、非動化も必要なく、迅速に検査が出来ることから 57 施設 (78%) で採用されており、ガラス板法と併用している施設は 8 施設あった。

定性法での結果は STS 法において何れの試料においてもガラス板法、凝集法はすべて同じ結果であったが、試料 2 の低濃度検体で RPR 法の結果にばらつきが認められた。

ガラス板法と RPR 法が不一致となる原因^{1,2)}としては、①ガラス板法の偽陽性反応によるもの、②梅毒の初期感染、③RPR 法のプロゾーンなどが考えられ、対策は TP 抗体が陰性であることの確認、日時を経て再検査の実施、TP 抗体が高抗体価の時は検体を希釈して再検査を実施するなどである^{4,5)}。また、抗カルジオリピン抗体などの検査⁶⁾も参考になると考える。TP 抗原法の定性結果は試料 2、試料 3 とともに、今回の調査では測定方法や測定試薬による差は認めなかった。しかし、イムノクロマトグラフィー法は判定時間による陰性検体の陽性化も報告⁷⁾されているため、決められた時間で判定することが望ましい。

定量法の結果は STS 法の試料 2 と試料 3 とともに測定方法による差はなく収束した結果となった。しかし、TP 抗原法のマイクロタイター法で中央値±1 管での定量報告値は試料 3 においては全体の 74.0%しか含まれなかった。昨年と同濃度の試料では 97.1%であったのに対し大きく後退した結果であった。今後、各施設において判定基準や希釈方法の確認が必要と考えられる。

自動分析装置による報告値の直線性を確認したところ、ラテックス比濁法、CIA 法、化学発光酵素免疫法ではほぼ直線性が認められる結果であったが、FEIA 法では直線関係を認めなかった。

自動分析装置による TP 抗原法はラテックス粒子を用いる方法と EIA を原理とする方法に大別できるが、定まった標準品が無いためメーカー独自の単位で、今の段階で定量法とは言えずメーカー間での早急な調整が必要である。このことは、リウマチ因子、ASO 定量⁸⁾と同様の問題であり、臨床検査としての致命的な問題にもなりかねない。

表1 SIS法の方法別施設数（複数回答含む）

方法	施設数	比率
RPR法	57	78.1%
ガラス板法	21	28.8%
凝集法	3	4.1%

表2 TP抗原法の方法別施設数（複数回答含む）

方法	施設数	比率
マイクロタイター法	30	41.1%
化学発光酵素免疫法	10	13.7%
FEIA法	9	12.3%
CIA法	7	9.6%
ラテックス比濁法	9	12.3%
イムノクロマトグラフィー法	17	23.3%
ELISA法	1	1.4%
その他	2	2.7%

表3 SIS法の測定法別結果（複数回答含む）

測定方法	施設数	試料1		試料2			試料3	
		陽性	陰性	陽性	判定保留	陰性	陽性	陰性
RPR法	57	0	57	48	3	6	57	0
ガラス板法	21	0	21	21	0	0	21	0
凝集法	3	0	3	3	0	0	3	0
合計	81	0	81	72	3	6	81	0

表4 TP抗原法の測定方法別結果（複数回答含む）

測定方法	施設数	試料1		試料2		試料3	
		陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性
マイクロタイター法	30	0	30	30	0	30	0
化学発光酵素免疫法	10	0	10	10	0	10	0
FEIA法	9	0	9	9	0	9	0
CIA法	7	0	7	7	0	7	0
ラテックス比濁法	9	0	9	9	0	9	0
イムノクロマトグラフィー法	17	0	17	17	0	17	0
ELISA法	1	0	1	1	0	1	0
その他	2	0	2	2	0	2	0
合計	85	0	85	85	0	85	0

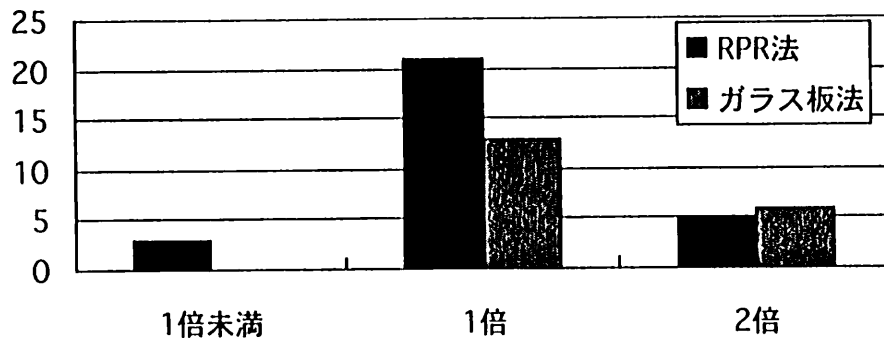


図1 SIS法における定量値の分布 (試料2)

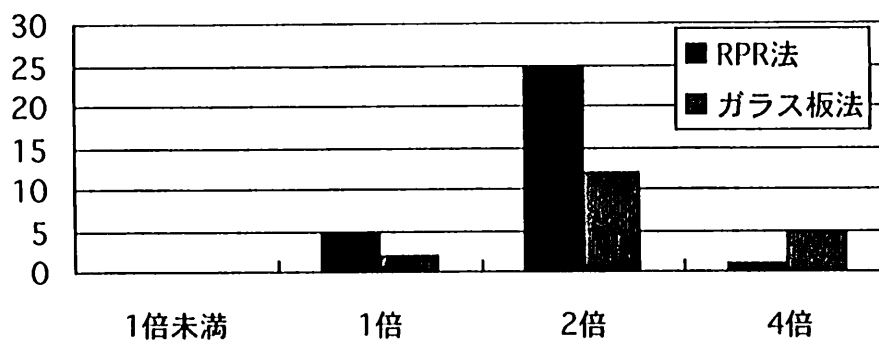


図2 SIS法における定量値の分布 (試料3)

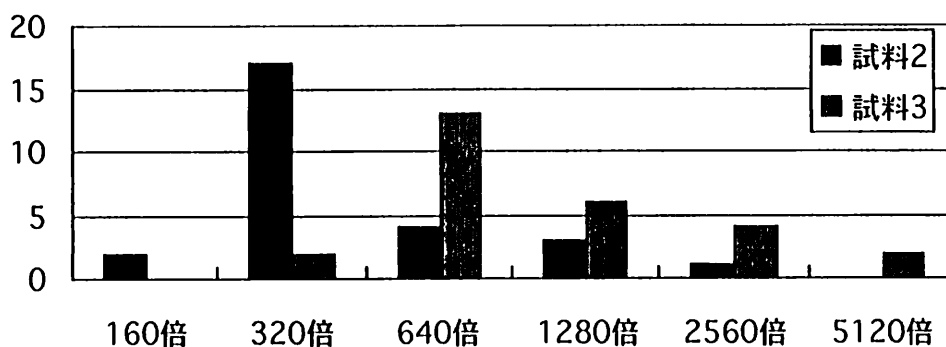


図3 TP抗原法定量値 (マイクロタイター法) の分布

表5 自動分析装置による報告値 (試料2)

測定法	施設数	平均値	SD	CV(%)	最小値	最大値
化学発光酵素免疫法(C.O.I.)	10	3.5	0.31	8.9	3.1	4.2
FEIA法(C.O.I.)	9	5.9	0.53	9.0	5.4	6.8
CIA法 (su/ml)	7	249.8	14.1	5.6	237.0	278.5
ラテックス比濁法(T.U.)	5	261.2	38.9	14.9	231.0	305.0

表6 自動分析装置による報告値 (試料3)

測定法	施設数	平均値	SD	CV(%)	最小値	最大値
化学発光酵素免疫法(C.O.I.)	10	6.1	0.45	7.4	5.4	6.8
FEIA法(C.O.I.)	9	9.4	0.75	8.0	8.4	10.4
CIA法 (su/ml)	7	494.2	36.4	7.4	460.3	567.1
ラテックス比濁法(T.U.)	5	509.2	44.4	8.7	455.6	574.5

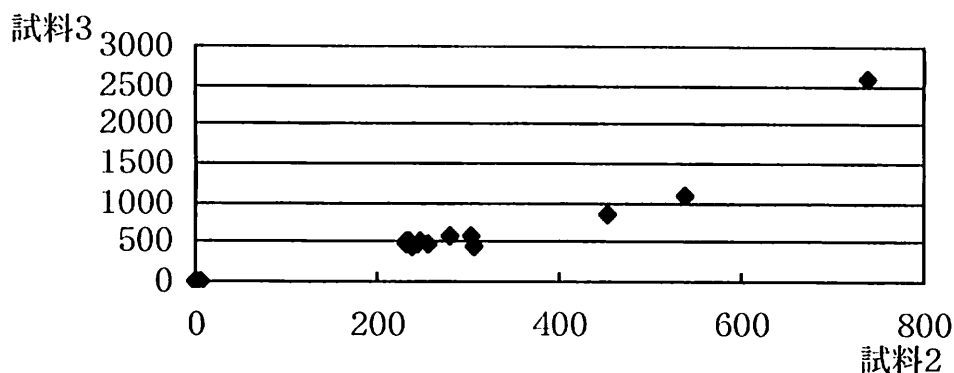


図4 試料2 と試料3 の自動分析装置による定量値の分布

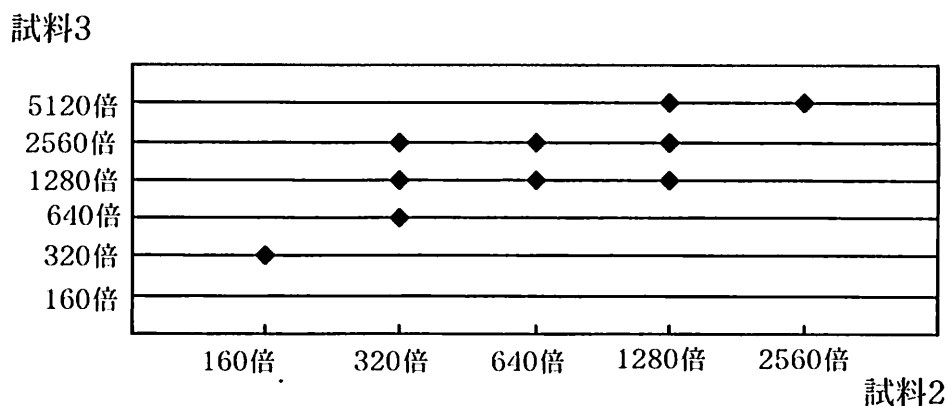


図5 試料2 と試料3 のマイクロタイター法定量値の分布

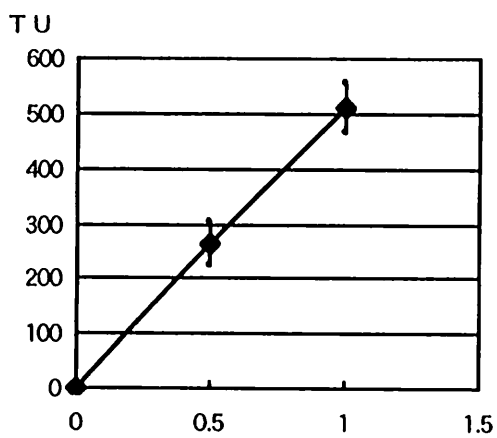


図6 ラテックス比濁法

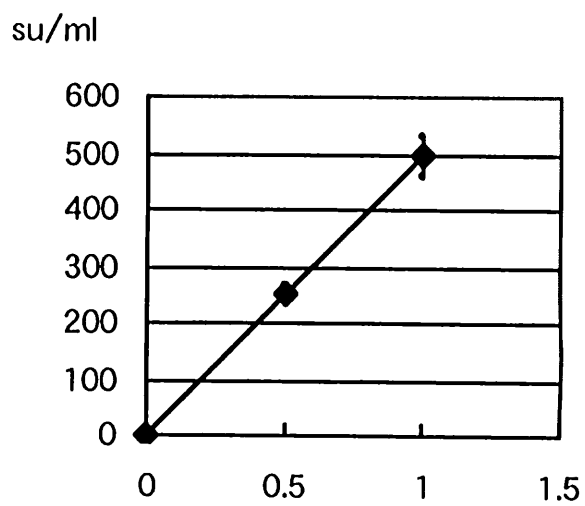


図7 CIA法

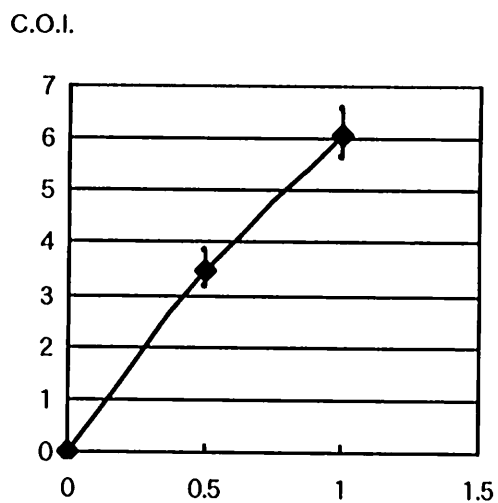


図8 化学発光酵素免疫法

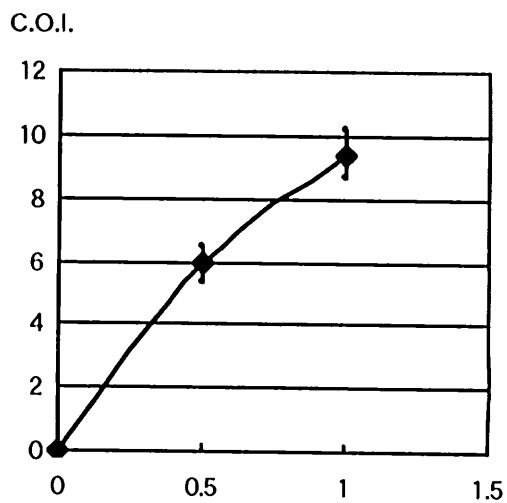


図9 FEIA法

測定試薬

脂質抗体検査

RPR法

- ◆ RPRテスト化血研 28施設
- ◆ SST抗原(ヤترون) 19施設
- ◆ S-R-カードテストミズホメディー 4施設
- ◆ カーボン法抗原<住友> 3施設
- ◆ RPRテスト(国際) 2施設
- ◆ ニューカルジオスライド‘栄研’ 1施設

ガラス板法

- ◆ ガラス板抗原<住友> 21施設

凝集法

- ◆ 梅毒凝集抗原<住友> 3施設

TP抗体検査

マイクロタイター法

- ◆ セロディアTP 22施設
- ◆ ニューセロクリットーTP 3施設
- ◆ セロディアTP-PA 2施設
- ◆ ラナタイターTP 2施設
- ◆ クイックビーズTP抗体 1施設

ラテックス比濁法

- ◆ LP IA-TPテスト 1施設
- ◆ エクステルTP 2施設
- ◆ メディエースTPLA 6施設

CIA法

- ◆ ランリームTP 7施設

イムノクロマトグラフィー法

- ◆ エスプラインTP 10施設
- ◆ ダイナスクリーンTPAb 7施設

化学発光酵素免疫法

- ◆ ルミパレスITP 10施設

FEIA法

- ◆ TPオートF 9施設

ELISA法

- ◆ エンザイグノストTP 1施設

4. 参考文献

- 1) 松橋 直ほか：梅毒の血清学的検査. 厚生省監修 微生物検査必携 免疫血清反応検査 第2版, 147~217, 財団法人日本公衆衛生協会, 東京, 1979
- 2) 熊本悦明ほか：b. 臨床的事項（一般）. Treponema 感染症（梅毒）第1版, 医薬ジャーナル社, 大阪, 1990
- 3) 余郷とし子：血清検査の精度管理調査. 平成10年度第1回愛知県臨床検査精度管理調査総括集：9~17, 1999
- 4) 菅原孝雄：質疑&応答 梅毒検査におけるガラス板法とRPR法の不一致. 臨床検査 43：1042~1044, 1999
- 5) 北橋 繁, 巽 典之：抗体検査の定量化とその問題点 第2回 TP抗体. Medical Technology 27：431~436, 1999
- 6) 市川幸延ほか：抗カルジオリピン抗体検出法. Mod Physician 15:1551~1554, 1995
- 7) 黒田雅顕ほか：免疫クロマトグラフィー法による Treponema pallidum 抗体の測定. 臨床検査 機器・試薬, 21：539~544, 1998
- 8) 内藤勝人ほか：免疫血清検査精度管理報告. 平成9年度日臨技臨床検査精度管理調査報告書, 159~227, 1997