

18)

VMAマス・スクリーニングの精度管理

— DIP法, HPLC法について —

新 川 隆 康

(神奈川県衛生研究所)

研究目的

神経芽細胞腫(NB)のマス・スクリーニング検査における技術の向上と、精度の維持を計るために、前年度に引き続きDIP法と、新たに高速液クロ法(HPLC)の精度管理の方法論を検討して、NBスクリーニングシステム確立の一助とした。

研究方法

1. 試料の調製と送付

第3回までは、SPOT法とDIP法の2法であったが、第4回からはHPLC法も加えて実施したので、前回までとは異なり、各々の施設に生尿を配布して、それぞれの検体を独自に調製し、SPOT, DIP, HPLC用の試料とした。

第4回には、市販の標準尿(Ortho)2種類と、正常児の尿、患児の希釈尿2種類、計5検体を、第5回には標準尿、正常児の尿、VMA, HVAを添加したプール尿2種類、計5検体を用いた。表1にそれぞれの試料の由来と、VMA, HVA(Sigma)の添加量等を示した。

各々の尿は、メンブランフィルター(Gelman)でろ過滅菌したのち、ストックチューブ(Nunc)に1.8mlずつ分注し、コンテナーに入れ、さらにクッション入りの郵送用封筒を用いて各施設に郵送した。

DIP法は、0.6mlの尿を1.5×5cmのろ紙(No. 63)に湿らせて、乾燥後反応させることを明示した。HPLC法は、各施設における、前処理法と、測定機器の感度が異なるため、特に定めた方法を指定せず実施した。なお、HPLC法を実施している施設は、クレアチニンも併せて測定した。

2. 回答の方法

DIP法は前回と同じ方法を用いた。

HPLC法のVMAとHVA濃度は $\mu\text{g}/\text{ml}$ の値で回答し、クレアチニンの濃度は mg/dl の値で回答した。

3. アンケート調査

HPLC法における、前処理法、回収率、使用機器、溶出方法、および、クレアチニン測定の方法についてアンケート調査を実施した。

表1 試料の由来

第4回	
№1	Ortho社 Control Urine-I
№2	Ortho社 Control Urine-II
№3	正常者の尿
№4	患者の5倍希釈尿
№5	患者の3倍希釈尿
第5回	
№1	Ortho社 Control Urine-I
№2	Ortho社 Control Urine-II
№3	小児プール尿
№4	同上 VMA 10.7, HVA 21.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加
№5	同上 VMA 16.1, HVA 28.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加

研究結果

今年度参加した施設名, 担当者名, 測定法の一覧を表2に示した。第4回の成績を表3, 4に, 第5回の成績を表5, 6に示した。アンケート調査の結果を表7~9に示した。

参加施設は過去最高の47施設となり, その内訳は, 地方衛生研究所が13, 大学病院等の医療機関が7, 保健所が23, 民間の検査施設が4となった。1次検査においては, SPOT法に20, DIP法に31(両方に参加が4)の施設が参加した。

HPLC法または, 薄層クロマト法(TLC)に参加したのは, 第4回が14, 第5回が19施設となり, 保健所を除く施設におけるHPLC法の機器の整備率は, 約80%であった。

DIP法の成績は, 第4, 5回を通し, 陽性を陰性と判定したのは2検体, 2施設で, その他は良好な成績であった。この2施設の他との相違点はいずれも湿ったままで反応液に浸していた点であった。

HPLC法によるVMAとHVAの成績は, 第4, 5回共に施設間の変動が認められ, バラツキの大きい結果となった。溶出の際に, 隣合った他のピークの影響を受け易いVMA低濃度の試料と, 保持時間の遅く, ピークの低いHVAの成績にその傾向が強かった。

HPLC法の成績を, アンケート調査と共に照らし合わせて見ると, 測定値の変動する原因にはつぎのような理由があげられた。

第1には, 前処理法の問題である。尿中のVMAとHVAをHPLC法で求める場合, 一般的には, 塩酸酸性で酢エチ抽出するが, 尿量, PH, 酢エチの量により抽出率が左右され, それが測定値に影響する。今回の成績で, 平均値に近い成績となった施設の前処理法をまとめてみると, 尿量は0.5~1.0mlを用い, 塩酸酸性で, 酢エチ3mlで2回の抽出をして, 乾固後, HPLC液または0.1NHClの0.5~1.0mlに溶解してから, メンブレンフィルターでろ過後, HPLCの測定器に注入する方法となった。しかし, この点では, 前処理をしない2施設の成績も, 十分に評価できる結果となった。

第2には, 測定者のHPLC法の測定技術に対する熟練度である。各施設で使用した機器は,

ほとんどがマイコン制御のポンプ本体と、電気化学検出器、または蛍光検出器との組み合わせで、カラムの充填剤には逆層系の ODS が、溶出液には酸性の緩衝液にメタノールかアセトニトリルを添加した液が使用された。

これら、機器の性能やカラムの分離能には、今回の成績からは大きな差は認められないので、測定者側の問題点として、専門の知識と、高度の技術に対する熟練度が成績に反映された結果となった。

また、TLC 法を実施した施設はひとつだけではあるが、HPLC 法の成績と比べると、前者がやや高い傾向にあった。

クレアチニンの成績は、第 4、5 回を通し、高濃度の試料より低い試料のほうが変動幅の大きな結果となった。検体番号 1、2 の変動係数はいずれも 10 % 以下で良い成績であったが、小児の尿中クレアチニンの濃度にあたる 15 ~ 60 mg/dl の試料では、いずれも 10 % 以上で、最大 25 % の変動係数となった。

表2 参加施設名

No	番号	施設名	担当者名	測定法(第4回)	測定法(第5回)
1	1	札幌市衛生研究所	佐藤 孝昌	SPOT, HPLC	SPOT, HPLC
2	2	青森県衛生研究所	工藤久美子	SPOT	SPOT, HPLC
3	3	埼玉県立大宮小児保健センター	佐藤 秀博	SPOT	SPOT
4	4	都立衛生研究所	武士保太郎		SPOT, HPLC
5	5	大田区衛生検査所	清水 芳子	SPOT, HPLC	SPOT, HPLC
6	6	京都府立医科大学小児科第2研究室	殿山 京子	SPOT	SPOT
7	7	国立小児病院	宮下 勉	SPOT, HPLC	SPOT
8	8	大阪市環境保健局検査科	高橋 京子	SPOT, HPLC	SPOT, HPLC
9	9	岩手県小児医学協会	古川はるみ	SPOT	SPOT
10	10	群馬県立小児医療センター	松山 四郎	SPOT, HPLC	SPOT, HPLC
11	11	杉並区立衛生試験所	佐川 和彦	SPOT	SPOT, HPLC
12	12	目黒区立保健所	横田 美和	SPOT	BIP
13	13	帝京大医学部中検	池田 雅子	SPOT	SPOT
14	14	静岡県小児医学協会	増田 倫代	SPOT	SPOT
15	15	大阪府寝屋川保健所	服部 敏之	SPOT	SPOT
16	16	神戸市環境保健研究所	長谷川明彦	SPOT	SPOT, HPLC
17	17	広島市衛生研究所	伊藤 文明	SPOT, HPLC	SPOT, HPLC
18	18	広島県衛生研究所	水田 清恵	SPOT, HPLC	SPOT
19	19	那覇市立那覇保健所	薩見里安正	SPOT	SPOT
20	20	高知市立市民病院	北添 寛	SPOT	
21	21	神奈川県衛生研究所	新川 隆廣	DIP, HPLC	DIP, HPLC
22	22	聖マリアンナ医科大学小児保健研究室	中田幸之介	DIP	DIP
23	23	神奈川県小児医学協会	木下 洋子	DIP, HPLC	DIP, TLC
24	24	横須賀市衛生試験所	中村 匡	DIP	DIP
25	25	名古屋市衛生研究所	児玉 京子	HPLC	DIP, HPLC
26	26	群馬県小児医療センター	松山 四郎	DIP	DIP
27	27	富山県保健所	吉田 豊	DIP	DIP
28	28	滋賀県保健衛生協会	中川 桂子	DIP, HPLC	DIP, HPLC
29	29	大阪府寝屋川保健所	服部 敏之	DIP	DIP
30	30	愛知県刈谷保健所	武山 啓二		DIP
31	31	愛知県碧南保健所	加藤 幸則		DIP
32	32	愛知県津島保健所	岡松 光男		DIP
33	33	広島県福山保健所	小林 博美	DIP	DIP
34	34	広島市衛生研究所	伊藤 文明	DIP	DIP, HPLC
35	35	広島県衛生研究所	水田 清恵	DIP	DIP, HPLC
36	36	愛媛県立衛生研究所	斎藤 健	DIP, HPLC	DIP, HPLC
37	37	茨城県下館保健所	鈴木 弘光		DIP
38	38	茨城県土浦保健所	宮内 和喜	DIP	DIP
39	39	茨城県谷田部保健所	塚野 孝	DIP	DIP
40	40	茨城県石岡保健所	小川 洋三	DIP	DIP
41	41	茨城県鉾田保健所	堀野三枝子		DIP
42	42	宮城県保健医療センター	白石 広行		DIP, HPLC
43	43	石川県七尾保健所	角瀬あけみ		SPO
44	44	愛知県衛生研究所	早川 清子	HPLC	HPLC
45	45	茨城県常陸太田保健所	田辺 俊雄	DIP	DIP
46	46	福井県衛生研究所	堀田 正一	DIP, HPLC	DIP, HPLC
47	47	愛知県豊橋保健所	簡井 英範	DIP	
48	48	愛知県瀬戸保健所	淺井 實二	DIP	
49	49	愛知県豊川保健所	須山 達夫	DIP	
50	50	名古屋市東保健所	磯村 修三	DIP	
51	51	名古屋市市中村保健所	黒田美津子	DIP	

表3 第4回の成績(DIP)

底番号	方法	1	2	3	4	5
1	21 DIP	+/-	+	-	-	+
2	22 DIP	+/-	+	-	-	+
3	23 DIP	-	+	-	-	+
4	24 DIP	-	+	-	-	+
5	26 DIP	-	+	-	-	+
6	27 DIP	-	+	-	-	+
7	28 DIP	-	+	-	-	+
8	29 DIP	+/-	+	-	-	+
9	33 DIP	-	+	-	-	+
10	34 DIP	-	+	-	-	+
11	35 DIP	-	+	-	-	+
12	36 DIP	-	+	-	-	+
13	38 DIP	-	+	-	-	+
14	39 DIP	+/-	+	-	-	+
15	40 DIP	+/-	+	-	-	+
16	45 DIP	-	+/-	-	-	+
17	46 DIP	+/-	+	-	-	+
18	47 DIP	-	+	-	-	+
19	48 DIP	-	+	-	-	+
20	49 DIP	+	+	-	-	+
21	50 DIP	-	+	-	-	+
22	51 DIP	-	+	-	-	+

表4-1 第4回の成績(VMA+HVA)

単位 $\mu\text{g}/\text{ml}$

底番号	1-VMA	1-HVA	2-VMA	2-HVA	3-VMA	3-HVA	4-VMA	4-HVA	5-VMA	5-HVA	
1	1	1.6	2.1	11.5	3.4	3.5	2.9	8.0	8.1	8.7	8.4
2	5	2.3	2.5	12.5	2.5	2.4	2.5	5.6	6.5	5.6	6.7
3	7	2.0	0.0	13.5	0.0	3.2	0.0	5.1	0.0	5.6	0.0
4	8	2.6	3.6	13.3	5.3	2.4	3.6	9.0	9.9	11.6	14.0
5	10	2.6	3.3	14.6	4.8	3.8	2.9	7.7	7.2	9.5	12.9
6	17	1.7	2.2	16.0	2.6	2.6	2.3	7.1	6.9	8.4	10.0
7	18	2.6	2.0	12.8	2.8	2.5	2.5	6.1	6.7	8.8	9.0
8	21	2.2	4.3	15.4	6.1	2.9	5.4	6.3	10.7	8.1	12.7
9	23	3.0	4.0	28.4	4.6	2.8	3.6	6.5	8.7	20.0	13.2
10	25	2.4	2.6	14.8	4.4	3.0	2.4	5.6	6.0	7.8	8.3
11	28	1.6	0.0	17.0	0.0	3.6	0.0	7.4	0.0	5.0	0.0
12	36	0.4	0.0	24.0	8.1	6.6	4.2	15.4	21.6	28.2	25.5
13	44	4.3	3.9	15.7	3.4	4.7	5.1	6.4	8.0	10.8	11.2
14	46	1.9	9.6	15.2	14.1	2.7	6.2	6.8	8.4	9.2	12.2
\bar{x}		2.2	3.3	16.1	5.2	3.3	3.6	7.4	9.1	10.5	12.0
SD		0.9	2.3	4.6	3.2	1.1	1.3	2.5	4.2	6.3	4.8
CV%		39.2	68.7	28.9	62.7	34.1	36.3	34.5	46.2	59.5	40.3

表4-2 第4回の成績(クレアチニン)

単位 mg/dl

底番号	1	2	3	4	5	
1	1	90.0	90.0	88.0	58.0	36.0
2	5	90.0	98.0	93.0	63.0	26.0
3	7	84.0	81.0	81.0	57.0	36.0
4	8	96.0	99.0	97.0	11.7	42.0
5	10	102.0	105.0	101.0	70.0	42.0
6	17	110.0	110.0	100.0	71.0	45.0
7	18	102.8	104.4	102.8	68.0	42.0
8	21	94.0	97.0	94.0	66.0	42.0
9	23	93.0	103.0	99.0	77.0	51.0
10	25	93.0	93.0	95.5	61.2	39.1
11	28	86.4	88.8	86.7	62.1	38.9
12	36	100.1	99.1	99.7	67.8	43.6
13	44	96.4	100.0	97.3	67.7	42.2
14	46	96.2	93.6	92.0	65.3	41.8
\bar{x}		95.3	97.3	94.8	61.8	40.5
SD		6.4	7.5	6.2	15.4	5.6
CV%		7.2	7.8	6.5	24.9	13.8

表5 第5回の成績 (DIP)

厩	番号	方法	1	2	3	4	5
1	12	DIP	-	+	-	+	+
2	21	DIP	-	+	-	+	+
3	22	DIP	-	+	-	+	+
4	23	DIP	-	+	-	+	+
5	24	DIP	-	+	-	+/-	+
6	25	DIP	-	+	-	+	+
7	26	DIP	-	++	-	+/-	+
8	27	DIP	-	+	-	+	+
9	28	DIP	-	+	+	+	+
10	29	DIP	-	+	-	+	+
11	30	DIP	-	+	-	+	+
12	31	DIP	-	+	-	+	+
13	32	DIP	-	+	-	+	+
14	33	DIP	-	+	-	+	+
15	34	DIP	-	+	-	+	+
16	35	DIP	-	+	-	+	+
17	36	DIP	-	+++	+	++	++
18	37	DIP	-	++	-	+	++
19	38	DIP	-	-	-	-	+/-
20	39	DIP	-	+	-	+/-	+
21	40	DIP	-	-	+/-	+	+
22	41	DIP	-	+	-	+	+/-
23	42	DIP	+/-	+	-	+/-	+
24	45	DIP	-	+/-	-	+/-	+
25	46	DIP	-	++	-	+	+

表6-1 第5回の成績 (VMA・HVA)

単位 $\mu\text{g}/\text{ml}$

厩	番号	1-VMA	1-HVA	2-VMA	2-HVA	3-VMA	3-HVA	4-VMA	4-HVA	5-VMA	5-HVA
1	1	2.5	3.8	16.4	5.8	1.6	19.0	14.2	43.4	20.2	50.0
2	2	3.6	1.5	18.1	2.1	1.7	9.1	5.5	21.8	5.8	14.8
3	4	2.5	2.1	12.0	2.7	4.6	17.6	10.5	37.9	14.9	44.2
4	5	2.5	2.7	17.4	4.3	1.8	16.0	16.3	43.7	22.9	51.3
5	8	3.6	1.7	14.0	2.4	1.8	22.4	12.0	30.4	8.8	34.8
6	10	2.9	3.3	17.0	4.0	1.7	13.2	14.3	36.7	19.8	40.0
7	11	1.8	2.1	11.7	3.3	1.0	9.4	10.4	37.6	11.0	33.8
8	16	2.6	5.0	13.7	4.1	1.1	14.2	12.2	36.8	15.2	39.6
9	17	2.7	3.3	13.0	6.3	14.0	34.0	15.0	37.0	18.0	45.0
10	21	2.5	3.9	13.4	3.8	1.9	15.7	12.0	35.6	17.3	40.4
11	23	3.0	7.2	20.0	8.0	2.0	22.8	15.6	48.2	20.8	49.2
12	25	2.5	1.7	13.0	2.2	1.5	12.4	12.3	40.0	18.0	50.9
13	28	2.3	9.2	15.4	0.0	2.1	25.3	11.6	60.8	15.1	58.1
14	34	3.3	3.1	14.0	4.8	1.7	21.0	15.0	44.0	18.0	41.0
15	35	2.3	2.5	13.4	2.9	1.3	12.7	11.0	32.3	14.2	34.0
16	36	1.4	3.0	8.4	3.3	1.1	10.8	6.8	23.4	9.5	27.6
17	42	0.6	0.0	9.5	0.0	0.5	12.6	8.1	28.5	11.1	32.4
18	44	1.9	2.0	14.4	1.4	2.7	18.7	12.8	39.7	16.5	43.5
19	46	2.3	2.3	12.3	3.8	1.6	14.9	11.7	39.0	17.1	44.9
\bar{x}		2.5	3.2	14.1	3.4	2.4	16.9	12.0	37.7	15.5	40.8
SD		0.7	2.1	2.9	2.0	2.9	6.2	2.9	8.8	4.5	9.9
CV%		29.2	65.9	20.4	57.9	121.8	36.6	24.2	23.3	29.1	24.3

表6-2 第5回の成績 (クレアチニン)

単位 mg/dl

厩	番号	1	2	3	4	5
1	1	107.0	102.0	21.2	20.8	18.8
2	2	96.4	103.1	16.9	18.4	10.7
3	4	101.8	103.2	20.2	16.3	14.0
4	5	98.7	98.3	19.8	15.4	15.3
5	8	93.3	95.1	24.9	22.6	18.3
6	10	93.0	93.0	17.0	11.0	11.0
7	11	97.3	98.2	21.8	14.5	16.0
8	16	96.0	95.0	19.0	15.0	14.0
9	17	99.0	98.0	15.0	15.0	15.0
10	21	98.3	99.4	22.3	15.8	15.3
11	23	109.0	107.0	21.0	17.0	16.0
12	25	102.0	99.0	19.0	14.6	14.6
13	28	102.1	97.9	19.6	14.9	14.9
14	34	100.0	96.0	21.0	16.0	16.0
15	35	96.0	96.0	21.0	15.8	15.8
16	36	96.4	99.4	19.4	15.6	15.3
17	42	86.5	97.0	15.5	10.6	11.8
18	44	99.5	96.0	21.3	15.5	14.4
19	46	93.9	98.6	21.6	17.7	19.8
\bar{x}		98.2	98.5	19.8	16.0	15.1
SD		5.1	3.4	2.4	2.8	2.4
CV%		5.2	3.4	12.3	17.2	15.6

考 察

1. DIP法について

今回の成績よりDIP法の判定は、クレアチニンが高い高張尿で、約 $15 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、低い尿では $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 前後までを陽性に判定できることが明かとなった。成績の不一致は測定操作のうち、反応前にとろ紙を乾燥するか否かにより、試液のろ紙への浸透に差が生ずるため、発色に微妙な違いが表れ、判定に差が出たものと考えられた。特に高張尿にその傾向が強く、VMA以外の代謝産物の影響により色調が変化し、VMA本来の紫色が認められないためと考えられた。

2. HPLC法について

第4、5回の成績より、精度管理を実施すると併せて、前処理の方法や測定に関連する技術についてのレベルアップが必要である。

その理由は、第1に、前処理法の違いによりVMA、HVAの回収率が異なるので、出来るだけ統一された方法を取り偏差を少なくしなければならない。第2は、HPLCの分離法について、ODS系の充填剤を用いたときの溶出法や定量法の指針を示し、簡易に測定出来る方法を解説し、定量値の信頼性を高めなければならない。

以上の点を解決すればHPLC法における精度管理の内、検査施設側の技術的な問題は、かなり、改善の方向へ向かうものと考えられる。この点については、佐藤等の提案による前処理法が現在検討中であり、今後の期待される。

3. クレアチニンについて

分光光度計によるクレアチニンの測定法は、最も一般的な臨床検査法のひとつであるが、施設間で差が生じたのも、やはり、測定法が統一されていないためであろうと考えられた。しかも、本来の目的である低濃度域ほど、変動幅が大きかったのは、尿量、希釈率、試薬の量が、小児の検体用に調整されてなかった為と考えられた。

表7 前処理の方法

No.	番号	尿量	塩酸の添加量	NaClの量	抽出液	最終溶液	ろ過	回収率%		
								VMA	HVA	
1	1	0.05 ml	3% HCl	0.9 ml	0.8 ml 酢エチ 2.5 ml	HPLC液	0.2 ml	-	70 95	
2	5	0.2 ml	3N HCl	1.0 ml	-	酢エチ 3 ml × 2	HPCL液	0.2 ml	-	66 91
3	7	1.0 ml	6N HCl	0.1 ml	1.0 ml 酢エチ 3 ml	HPCL液	0.2 ml	-	-	-
4	8	1.0 ml	-	-	1.0 ml 酢エチ 3 ml	HPCL液	0.2 ml	-	55 60	
5	10	0.5 ml	1N HCl	-	-	50% AN	1.0 ml	+	95 95	
6	17	1.0 ml	2N HCl	1.0 ml	1.0 ml 酢エチ 3 ml × 3	HPLC液	0.5 ml	-	100 100	
7	18	0.1 ml	0.1N HCl	0.2 ml	0.3 ml 酢エチ 3 ml × 3	0.1N HCl	1.0 ml	+	92 95	
8	21	1.0 ml	1N HCl	1.0 ml	1.0 ml 酢エチ 4 ml × 2	0.1N HCl	1.0 ml	+	95 95	
9	25	0.1 ml	6N HCl	-	-	HPLC液	1.1 ml	+	98 119	
10	28	0.1 ml	1N HCl	2.0 ml	1.0 ml 酢エチ 3 ml	HPCL液	0.1 ml	-	60 70	
11	36	0.1 ml	0.5N HCl	2.0 ml	1.5 ml 酢エチ 3 ml × 2	HPLC液	0.2 ml	-	60 60	
12	42	0.5 ml	12N HCl	適量	0.5 ml 酢エチ 2.5 ml	HPLC液	0.2 ml	-	93 -	
13	44	2.0 ml	12N HCl	2滴	1.0 ml 酢エチ 5 ml	0.05N HCl	1.6 ml	+	86 95	
14	46	0.5 ml	0.5N HCl	0.5 ml	0.6 ml 酢エチ 3 ml × 2	PB PH3	0.5 ml	+	95 95	

表8 HPLC測定方法

No	番号	本体	検出器	カラム	温度	流速 ml/分	溶出液
1	1	日立 638-50	E 308	日立 3013-O	40	1.0	0.05M 酒石酸 Buffer:AN=50:7
2	5	QA-1	RF 530	NOVAPACK C-18 3.9×150	50	1.0	PH4 酢酸 Buffer:AN=97:3
3	7	TOYO 8030	分光	分光 ODS 4.6×250	室温	1.0	0.05M PB:AN=91:9
4	8	島津 6A	RF 530	Dupont ODS 4.6×150	40	1.5	0.01M PB:AN=92:8
5	10	日立 655	E 308	ヌクレオシル 5 C18 4.6×150	25	0.6	0.1M CH ₃ COONa, クエン酸, TBA
6	17	島津 3A	ECD	Dupont ODS 4.6×250	40	1.0	0.01M Na ₂ HPO ₄ :AN=95:5
7	18	TOYO CCPD	ヤナコ VMD	ヤナコ ODS 4.6×250	室温	1.0	0.1M KH ₂ PO ₄ :メタノール=8:2, EDTA
8	21	島津 4A	RF 500 LCA	Dupont ODS 4.6×150	65	0.9	0.005M PB:AN=100:3 (PH=3.7)
9	25	分光 TRI	ヤナコ VMD	Fine SIL C18 4.6×150	45	1.0	0.1M PB, PB:AN=100:15 PH=2.6
10	28	島津 6A	RF 530	シマズ ODS 4.6×150	室温	1.0	0.01M PB:AN=88:12
11	36	日立 655	F 1000	日立 3013-O 4×150	40	1.0	0.05M シュウ酸:AN=50:4
12	42	日立 655A	日立 F 1100	日立 3013-O 4×150	40	1.0	
13	44	島津 4A	RF 530	Dupont ODS 4.6×150	40	0.5	0.005M PB:AN=95:7
14	46	島津 6A	RF 530	シンパック ODS 0.6×150	40	1.0	0.01M PB:AN=95:5

表9 クレアチニン測定方法

No	番号	尿量 ml	測定機器	測定試薬	時間 分	温度 ℃	波長 nm
1	1	0.100	日立 105	クレアチニン テスト ワコー	20	25	520
2	5	0.050		自家調製	20	25	510
3	7	0.050		自家調製	25	25	515
4	8	0.050		クレアチニン テスト ワコー	20	25	520
5	9	0.025	テクニコン スマック	テクニコン製オート用試薬			
6	10	0.010	ベックマン ASTRA-4	ベックマン製オート用試薬	26	37	520
7	17	0.400		クレアチニン テスト ワコー	20	25	520
8	18	0.020	日立 124	クレアチニン テスト ワコー	20	28	520
9	21	0.100	日本分光 610-C	自家調製	20	25	520
10	23	0.019	CL-720	自家調製	20	25	520
11	25	0.050		自家調製	15	25	515
12	28	0.032		自家調製	20	25	520
13	36	0.500		クレアチニン テスト ワコー	20	25	520
14	42	0.100	日立 124	クレアチニン テスト ワコー	20	25	520
15	44	0.500		クレアチニン テスト ワコー	20	25	520
16	46	0.025		自家調製	20	30	520

今後の問題

1. 技術講習会の開催について

今後、HPLCの測定機器の普及にともない、測定技術の講習会が必要である。機器購入時の、メーカーの説明や文献だけでは、数多くの代謝産物の中から、間違いなくVMAやHVAを定量することは、かなり難しい問題である。試料や機器の取り扱い方、保守点検の方法、分離パターンの見方や定量法についての、詳しい解説が必要である。

2. 全国レベルの精度管理システムについて

今回までの成績より、NBマス・スクリーニングの全国的な精度管理のシステム化についての検討結果は次に示すとおりである。

1) 目的

NBマス・スクリーニング検査における技術の向上と精度の維持を計るため。

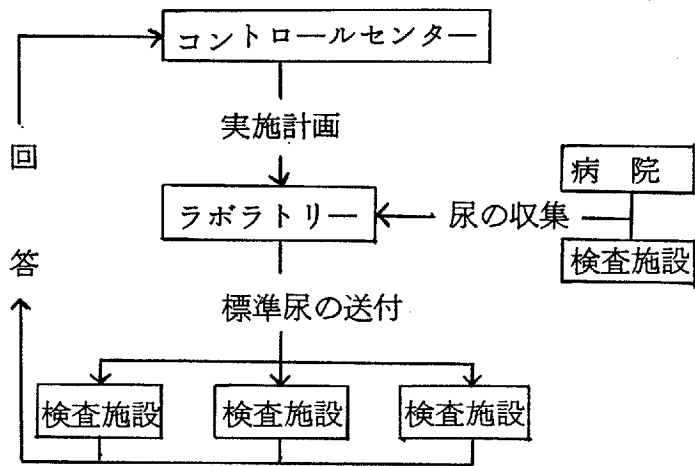
2) 方法

ア. 対象 各都道府県および指定都市の検査施設 約60施設

- イ. 年間実施回数 25回
- ウ. 配布試料数 正常3, 異常2, 標準品1, 合計6試料
- エ. 測定項目 SPOT, DIP法はVMAの定性 HPLC法はVMA, HVA,
(クレアチニンの比色定量も含む)
- オ. 試料の調製法 次の1)~3)の方法で尿を集める。
1) 小児の尿を病院および検査施設より収集する。
2) 人工尿を調製する。
3) 小児の尿に似た中型の実験動物の尿を用いる。
測定項目の成分を添加し, 標準尿を作り, ろ過滅菌後無菌的に分注する。
調製された標準尿の検定をする。
- カ. 試料の送付法 チューブコンテナに入れクッション入りの封筒で各検査施設に郵送する。また凍結状態での輸送もありうる。
- キ. 回答の方法 成績を記入後郵送する。
- 3) 組織と役割分担
- ア. コントロールセンター 実施計画の策定, 成績書の判定と解析, 成績表の返送, 情報の収集等
- イ. ラボラトリー 尿の収集と標準尿の調製, 検査施設へ標準尿を送付, 品質管理, 測定法の調査研究等
- ウ. 検査施設 標準尿の測定と成績の回答
- 4) システムの流れ システム全体の流れを図1に示した。

このシステムにおいては, 十分な機能とスタッフの揃ったラボラトリーの既設が, 基本であり, 元になる尿の収集から, 標準尿の調製および, 発送に至るまでの, マンパワーの必要な作業を, 主たる業務としている。しかし, もうひとつの方法として, 市販の標準品(尿)を精度管理に活用し, 業務の軽減を計り, 実施を容易にするのも必要である。多試料の調製, 分注, 梱包, 発送等の取り扱いと, 測定用の試薬類の標準化を考慮した場合, 一般の臨床検査における精度管理と同様に, NBスクリーニング検査においても, 精度の維持と経済的な効果が, 期待できると考えられる。

図 1 システムの流れ





検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



研究目的

神経芽細胞腫(NB)のマス・スクリーニング検査における技術の向上と、精度の維持を計るために、前年度に引き続き DIP 法と、新たに高速液クロ法(HPLC)の精度管理の方法論を検討して、NB スクリーニングシステム確立の一助とした。