

内部精度管理の現状と問題点

(分担研究：スクリーニングの精度管理のありかたに関する研究)

稲岡 一考¹⁾、芦田 信之²⁾、和田 芳直¹⁾、中山 雅弘¹⁾、宮井 潔³⁾

要約：近年のめざましい検査技術の進歩に伴い、マススクリーニング分野においても全国レベルでの統一内部精度管理システムの確立が望まれている。しかし、新生児スクリーニングの特殊性のために一般臨床検査の内部精度管理システムをそのまま導入するには問題も多い。今回、内分泌マススクリーニングの内部精度管理のありかたに関して検討する機会を与えられたので、全国のマスクリーニング施設にアンケート協力を依頼し、内分泌系マススクリーニングで行われている内部精度管理の現状を調査した。また、同時に検査の精度管理上著しく影響を与える要因として環境管理・装置管理・回帰式選択・アッセイサンプル数に着目し基礎実験を行い精度管理の問題点を明確にした。今後、担当者のこれら問題点に関する理解とマススクリーニングに即した評価法の確立により内部精度管理はより一層効果を表すものと思われる。

見出し語：内分泌マススクリーニング、内部精度管理、問題点、環境管理、装置管理、サンプル数

研究目的：一般に精度管理を管理検体を用いた精密度・正確度のテストとする傾向が強いがこれは狭義の精度管理である。しかし、検査データの信頼性を考慮すると検体の採取から結果報告までの全過程を含めた広い観点から捉える必要がある。今回、我々は精度管理に影響を及ぼすと思われるこれらの要因のうち従来からあまり触れられることのなかった点について調査・検討したので報告する。

1. 反応中の環境条件 (時間・温度)

17-OHPの測定において免疫反応温度が測定値に与える影響については既に報告を行った。酵素免疫法では抗原に比してはるかに分子量の大きい酵素蛋白をラベルする。このように大きく分子量の異なる標識抗原と検体由来の抗原とが本来の競合反応を生じておらず、検体からの測定物質の溶出速度の差が抗体との結合率に影響を残すためこの現象を生じるので

はないかと考えた。とすれば標準血液と同様の製造過程を経た管理検体ではこの変動を検出できない可能性が十分に疑える。しかし、実際には全国スクリーニング施設の93.5%(以後回答施設数比)で管理検体を精度管理の指標としており、今回は精度管理の観点から免疫反応条件について再実験を行った。

<実験条件>

(1) 対象検体

府立母子医療センターで受理した新生児乾燥血液濾紙標準・低温・短時間の各条件で同一サンプル集団(n=210)

(2) 測定キット

A社(3位抗体)、A社(7位抗体)、B社(7位抗体)

(3) 反応条件

- (A) 標準 : 温度25°C, 18時間 (対照)
- (B) 低温 : 温度18°C, 18時間
- (C) 短時間 : 温度25°C, 4時間

1) 大阪府立母子保健総合医療センター 2) 大阪大学 医学部 保健学科 3) 甲子園大学 栄養学部

※低温条件は冬季夜間の室温として18℃と設定

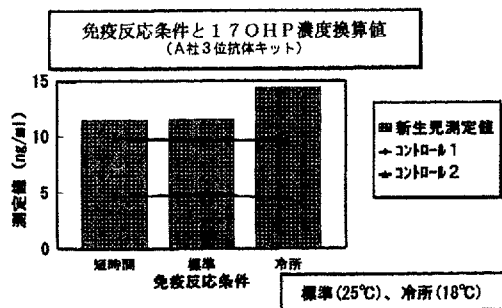


図1.

＜測定結果＞17-OHP測定結果の一例(A社3位抗体)を図1に示したが、他の17-OHP測定用キットも同様の傾向が見られた。新生児検体を測定した結果、測定値の平均は25℃標準温度で一晩法11.48ng/ml、短時間法11.57ng/mlと差は認められなかったが、18℃免疫反応において14.36ng/mlと高値を示した。しかし、管理検体の測定結果はどの条件下においてもほぼ表示値通りの値4.47ng/ml、4.62ng/ml、4.76ng/mlであり新生児検体測定値の変動を反映していない。このように反応条件の違いによる明らかな検体測定値の変動も人工的に作成された管理検体では検出できず、特に乾燥血液濾紙を検体とするスクリーニングでは、管理検体の作製法、評価法を考慮する必要がある。

2. 測定装置の性能 (フィルター・光源ランプ)

測定装置としてのプレートリーダーの性能については意外に関心が低く自施設で直線性の検討を実施しているのは僅かに5%、フィルター・光源ランプの光学系メンテナンスについてもおよそ53%の施設で装置の自己診断を指標としていた。一方、各試薬の発色レベルは一部の施設で装置の光学的性能(直線性)の範囲を越えたABS値で測定されている。このような施設では測定値の直線性はかなり低下すると思われる今回の検討に至った。

スクリーニング検査用ELISA法試薬の発色系には主にABTS、ONPG、OPD等が用いられ、ウェル固有の光学誤差を除去するために2波長測定を行うことが多い(80%)。TSH、17-OHP共に測定系に用いられているABTSの吸収特性は416nm付近に吸収ピークと475nm近辺に透過ピークを有し、この主波長 λ_1 (405~420nm)の吸光度と副波

長 λ_2 (490nm)の吸光度の差を測定している。吸光分析ではプレートリーダーの光学性能の劣化により直線性に歪みを生じることはよく知られており、図2に劣化フィルターを用いて直線性が低下している例を示した。

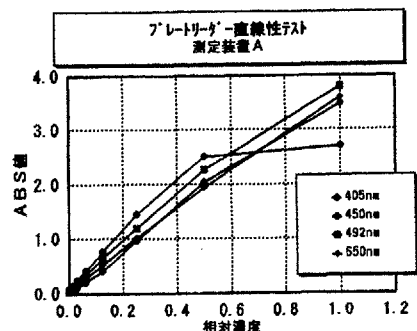


図2.

このようなフィルターの劣化は17-OHPでは直接カット付近の検量線に、TSHの場合は間接的にカット付近に歪みを生じさせ、濃度換算値に影響を与えていることが伺える。このような歪みによる振れを回避するためにも光学系メンテナンスは頻繁に行わなければならない。

3. 回帰式の種類 (関数の特性・フィッティング評価)

濃度換算に用いている解析プログラムは試薬への適合性と使い易さを理由に選択されており、試薬メーカー提供のプログラム使用が85%と施設数が多い。回帰式については75%の施設が満足しており、回帰式選択理由の60%が試薬メーカー指定と回答している。しかし、その内容は「X,Y座標軸変換」から「回帰関数の種類・次数」まで一致が認められず、検査担当者の回帰式への理解の低さが見受けられる。

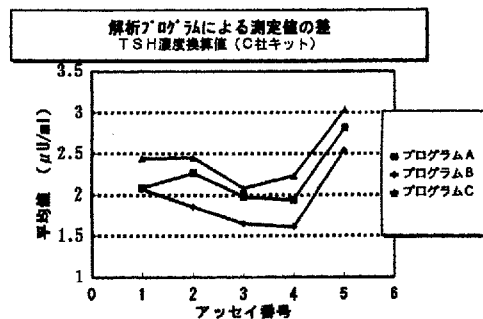


図3.

TSH・17-OHPそれぞれについて同一プレートを試薬製造メーカー各社のデータ処理プログラムで解析しフィッティング検定を行ったところ各プログラムとも両項目で良好なフィッティングを示した。回帰式が濃度換算に与える影響を検討し

たところ、TSH測定値において回帰関数の特性に由来する一定傾向の差が認められた。他施設での同様の検討では17-OHP測定値に差が認められたとの報告があり、施設毎の標準検体の濃度-吸光度データに一定の偏りがあることが疑われた。全国の検査施設の検査データ吸光度を調査し、同一試薬グループ毎に回帰式の検討を試みたところ、測定値(相対値:最大吸光度との比率)は大きく異なることがわかった。従って、日頃使用する解析プログラムの回帰式については、各施設の条件で検討した上で最適のものを選択する必要がある。また、使用に際しては、その特徴・欠点を十分理解し測定値を評価する必要がある。

4. 測定結果の統計的評価法

ELISA法ではかなり改善されたとはいえ依然測定値のプレート間差を経験する。また、取り扱う検体規模や緊急性から少数検体でアッセイすることが避けられない場合も存在する。測定値の評価を平均値で行う場合の構成サンプル数について考察した。

当センターで得られたTSH、17-OHP(7位抗体)それぞれ2400検体の測定データに対し、全国アンケートで一般に実施されている棄却法(平均値+2標準偏差)で異常高値を除去し、対数変換後に基本統計量を求めた。この結果に基づいてコンピュータシミュレーション技法を用いて対数正規乱数を発生させ手技・プレート間差等の誤差を含まない理想的な模擬データ(TSH:平均2.34 μ U/ml, 標準偏差1.66、17-OHP:平均2.084, 標準偏差0.905)を得た。図4に示す様に両データの度数分布図を比較したところ視覚的にも極めて類似していることがわかる。

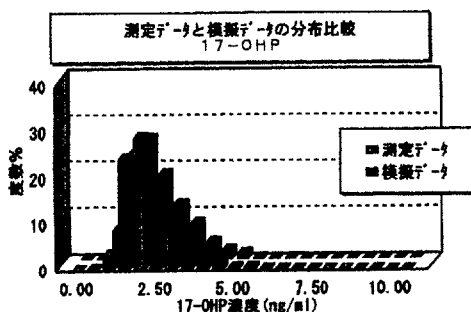


図4.

この模擬データを対象としてサンプルサイズ

(n=20, 30, 40, 80, 160, 240)の仮想アッセイを想定し、確率的にどの程度平均値が変動するのか検討した。

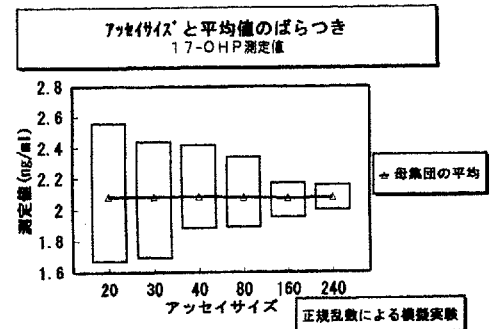


図5.

その結果、アッセイ平均値の最大値(最小値)が母集団平均値と統計的に差が認められなくするためにはN=160以上のサンプル数が必要となり、1プレート程度の測定データの平均値だけでアッセイ状態を判定するには危険があり、平均値の評価に注意を要することが解った。一方、17アッセイを大きなサンプル集団に設定する施設においてもELISA法を用いる限り1プレート(n=96以下)の評価を行っているために同様の注意が必要である。考察:我が国における内分泌マスキングも安定期に入った。また、化学的定量法を用いた新項目の導入のためのパイロットステディや、従来半定量法だった糖代謝・アミノ酸代謝等の化学的定量化の検討が報告されてきている昨今、今一度その運用方法を見直し全国の検査システムの統一化と乾燥血液濾紙を検体としたスクリーニングの内部精度管理システムを早急に確立すべき時期にきている。

精度管理は扱う検体の多くが正常検体であるマスキングに有用である。しかし、その効果は担当技術者の評価知識レベルによるところが大きい。今回、マスキング検査において一般臨床検査に用いられている内部精度管理システムや評価法の導入に関する問題点を示したが、担当者はこれら内部精度管理の限界も熟知した上で日々の管理結果の評価を行わなければならない。今後、担当者の精度管理研修を含めマスキングに即した内部精度管理システムと評価法の確立によって精度管理はより一層効果を表わすと思われる。



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



要約:近年のめざましい検査技術の進歩に伴い、マススクリーニング分野においても全国レベルでの統一内部精度管理システムの確立が望まれている。しかし、新生児スクリーニングの特殊性のために一般臨床検査の内部精度管理システムをそのまま導入するには問題も多い。今回、内分泌マススクリーニングの内部精度管理のありかたに関して検討する機会を与えられたので、全国のマススクリーニング施設にアンケート協力を依頼し、内分泌系マススクリーニングで行われている内部精度管理の現状を調査した。また、同時に検査の精度管理上著しく影響を与える要因として環境管理・装置管理・回帰式選択・アッセイサンプル数に着目し基礎実験を行い精度管理の問題点を明確にした。今後、担当者のこれら問題点に関する理解とマススクリーニングに即した評価法の確立により内部精度管理はより一層効果を表すものと思われる。