

〔 資 料 〕

群馬県における精度管理調査の現状 — HBs抗原検査 —

前橋赤十字病院 検査部
(群馬県臨床衛生検査技師会精度管理委員会
免疫血清検査 小委員長)
関口美香

Key words : HBs抗原検査 最低検出感度

【はじめに】

群馬県では、平成9年度より群馬県、群馬県医師会、群馬県臨床衛生検査技師会、および群馬大学の4団体による群馬県臨床検査精度管理協議会で精度管理調査を実施しており、平成14年で6回目の調査となった。免疫血清分野では、これまでC反応性蛋白(CRP)、免疫グロブリン、梅毒血清反応、HBs抗原、HBs抗体、HCV抗体の精度管理を実施してきた。

近年、HCV抗体、HBs抗原検査が地域住民検診に導入されまた、国立感染症研究所体外診断薬委員会においてHBs抗原試薬の再点検が行なわれ、結果の判定に関する注意が報告されたこと¹⁾を踏まえ、今回HBs抗原について詳細に検討を行い、群馬県下のHBs抗原検査の現状を把握した。

【調査試料および参加施設】

試料は、ヒト由来プール血清を、2試料(試料405、406)作成し配布した。参加施設は、技師会および医師会に所属の施設で75施設であった。

【実施方法】

各施設における測定は、通常行われている日常検査と同様に測定し、測定値、判定を結果とした。また、カットオフ値や再検方法などのアンケートも同時に行なった。

【結果】

1. 測定方法および試薬メーカーの使用状況

測定法はイムノクロマト法(ICA)が36施設(48.0%)と最も多く、次いで蛍光免疫測定法(M-EIA)のアキシム(ダイナボット)14施設(18.7%)、化学発光免疫測定法(CL EIA)のルミパルスf(富士レリオ)13施設(17.3%)と自動分析装置が多く使用され、用手法である凝集法(PA/HA)は3施設(4.0%)と少なかった。(図1)

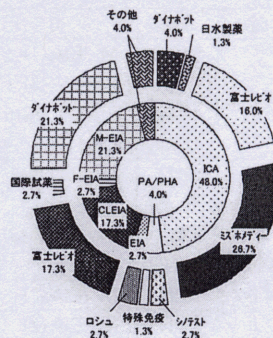


図1. 測定方法・試薬メーカー

試薬メーカーでは、富士レビオが25施設 (33.3%)、ミズホメディイ 20施設 (26.7%)、ダイナボット19施設 (25.3%) であった。(図2)

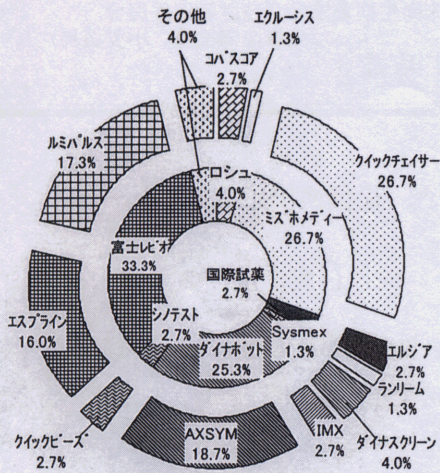


図2. 試薬メーカー・使用試薬

2) 判定保留域および再検方法

判定保留域を設定している施設は、30施設 (40.0%)、設定していない施設が38施設 (50.7%)、未記入が7施設 (9.3%) であった。(図3)

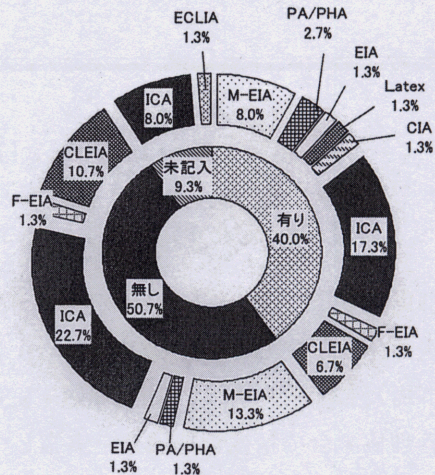


図3. 判定保留域の設定

2. アンケート集計結果

1) カットオフ値の設定

自動分析装置による測定を実施している施設でのカットオフ値の設定は、メーカー由来の値を使用している施設が、38施設 (92.7%)、アキシム (ダイナボット) を使用している1施設で、独自の設定となっており、2施設で値の由来が未記入であった。(表1)

表1. 各施設におけるカットオフ値の由来

由来	値	単位	方法
メーカー (38)	1.0	S/CO	M-EIA (1)
		C.O.I	CLEIA (13) F-EIA (2)
		U/ml	EIA (1) ECLIA (1)
	2.0	S/N	CIA (1)
	8.0	IU/ml	M-EIA (13)
独自 (1)	8	倍	Latex (1)
	100.0	C.O.I	PA/PHA (2)
未記入 (2)	4.0	S/N	EIA (1)
	2.0	S/N	M-EIA (1)
	5.1	S/N	M-EIA (1)

再検査は64施設 (85.3%) で実施しており、その対象は陽性のみ実施が23施設 (30.7%)、判定保留のみ17施設 (22.7%) 陽性、保留ともに実施している施設が24施設 (32.0%) であった。(図4)

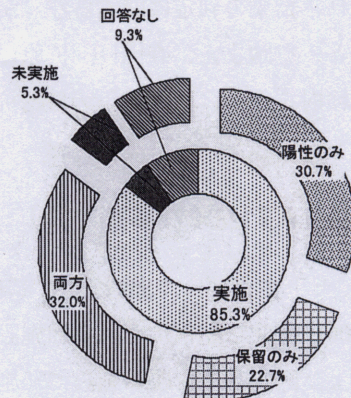


図4. 再検査・実施対象

また、再検方法は同一方法が21施設 (29.2%)、他法と同一方法を実施が22施設 (30.6%)、他法で確認が23施設 (36.1%) あった。(図5) 検体はほとんどの施設で、同一検体を使用していた。(図6)

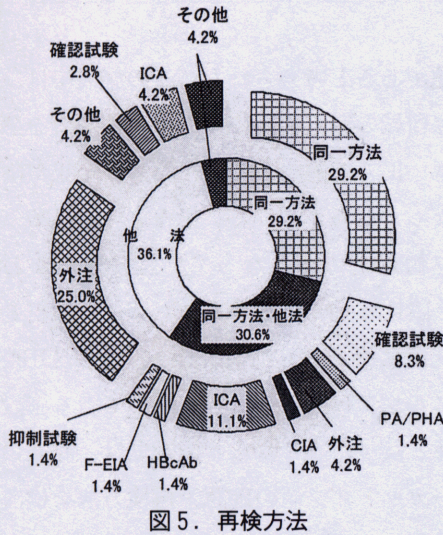


図5. 再検方法

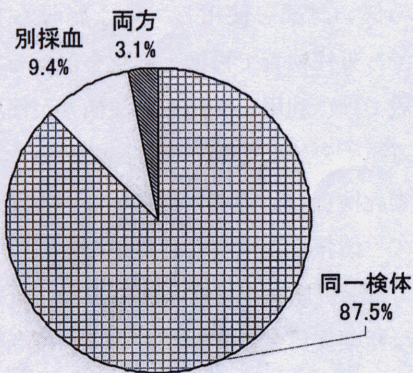


図6. 再検検体

3. 配布試料の結果

試料404、405ともに陽性の検体であったが、試料405で陰性と報告した施設が46施設 (61.3%) あった。(表2・図7)

表2. 試料405判定結果

結果	方法	試薬名
陰性 (46)	ICA (35)	エスプラインHBsAg (11)
		クイックチェイサーHBsAg (20)
		ダイナスクリーンHBsAg II (3)
		オリゴファストHBsAg「ニッスイ」(1)
	PA/PHA (3)	クイックピースHBsAg (2)
		マイセルII HBsAg-PA (1)
	EIA (2)	コバスコア HBsAg (2)
F-EIA (2)	エルジア F-HBsAg (2)	
Latex (1)	ランピアテックス HBsAg (2)	
CLEIA (3)	ルミパルスII HBsAg (3)	
	ICA (1)	エスプラインHBsAg (1)
陽性 (28)	ECLIA (1)	エクルーシスHBsAg (1)
	CLEIA (10)	ルミパルスII HBsAg (3)
		M-EIA (16)
	IMx HBsAg アッセイシステム (2)	
保留 (1)	CIA (1)	ランルーム HBsAg (1)

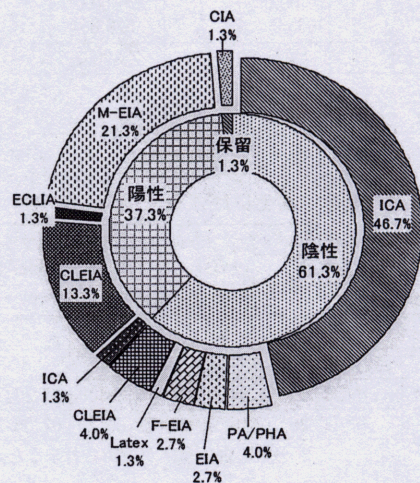


図7. 試料405判定結果

ICAではエスプラインを除き、35施設 (46.7%) が陰性、PA/PHA、EIAでも陰性の結果となった。また自動分析装置のルミパルスfやエルジアで陰性となった施設があった。また、参加施設別では、委託検査会社で陰性の施設があった。今回の精度管理調査では、試薬の感度差によって異なる結果となったが、各メーカーの測定結果を参考に、感度の高い試薬の結果を正解とし、サーベイの評価を行なった。(表3.4.5)

表3. ダイナポット株式会社 測定結果

HBs抗原	AxSYM HBsAg		ARCHITECT HBsAg		IMx HBsAg		ダイナスクリーン HBsAg
	S/N	判定	IU/MI	判定	S/N	判定	15分 判定
カットオフ値	2.00		0.05		2.00		
405	30.52	+	1.16	+	78.29	+	-
406	498.94	+	613.13	+	327.44	+	+
Replicate	n=1		n=1		n=1		n=1
測定日	7/11/02		7/11/02		7/11/02		7/11/02

表4. Sysmexデータサービス

受付日2002/07/17

方法・装置	HBs抗原		HBs抗原	
	C.O.I	判定	MU/ml	判定
	F300 エルジア・F		PAMIA50 ランリーム	
405	0.0	-	0.33	-
406	>100.0 1035.0	+	>200.0 629.86	+
試薬lot	085/80T		ZA2002	
NC	5.0			
PC	147.2			

表5. 富士レビオ株式会社

カットオフ値	ルミパルスHBsAg		エスブライ HBsAg	エスブライ HBsAg	エスブライ HBsAg
	C.O.I	判定	判定	判定	判定
405	6.70	+	-	+	+
406	2000.0<	+	+	+	+
試薬lot	NC3022		NL11287	NL20108	NL20222
測定日	02/06/25		02/06/25	02/06/25	02/06/25

30分後に弱い反応が確認されました。

【 考 察 】

群馬県内75施設のHBs抗原検査のアンケートの集計結果では、カットオフ値の由来、再検査方法、再検査検体について未記入の施設があり、施設によっては添付文書の内容やカットオフ値など、基本的なことを把握していない施設があった。

判定結果については、ICAに凝集法で陰性となった。また、ルミパルスで、不正解となった施設では、カットオフ値、判定保留域に

問題があると考えられた。この施設では、判定保留域の設定幅が広く、また再検査を感度の低いICAで確認していたため、結果が陰性になったと考えられる。また1施設、カットオフ値以上の値になっているにもかかわらず、陰性とした施設があった。その他自動分析装置による測定では、ランリームHBsAgやエルジアF-HBsAgを使用している施設で陰性となった。これらの施設では、試薬の感度、カットオフ値の確認、再検査方法を検討する必要がある。

また、参加した委託検査会社の中でも感度の低い試薬を使用していた施設もあったので、外注検査で再検・確認を行なっている施設では、利用している外注検査が使用している試薬の感度を確認する必要がある。また、委託検査会社側でも利用している施設に対して、情報を提供する必要がある。

HBs抗原検査は昨年国立感染症研究所体外診断薬委員会の評価において、再点検がなされ、結果が公表され結果の判定に関する注意が報告されている¹⁾。一部試薬を除いてEIA及び化学発光法は感度と特異度に関してICAよりも優れており、感度は凝集法、約4 I.U/ml、ICA約2 I.U/ml、EIA及び化学発光法は約1~0.1 I.U/ml、と結果が示された。平成14年度サーベイ参加施設で使用している

試薬について、表6に最低検出を示した。

検査時の注意としてPA/HAは、凝集像の判定や手技に個人差が生じやすいことや試薬の取り扱いに注意が必要なことや疑陽性が生じることがあるので確認試験や他方法での再検査が必要となる²⁾³⁾が、実施している施設は、それほど多くないのが現状である。

ICAは、専用分析機器を必要とせず、簡便であり、小規模の施設でも検査が可能となり、精度管理調査開始時と比べ、参加施設の増加につながったと考えられる。また、短時間で結果が出ることから、今後緊急検査を含め、さらに導入されていくと考えられる。しかし、ICAは毛細管現象を利用したサンドイッチ法で金コロイド粒子の色素を判定する簡便な方法であるが、測定結果に影響を及ぼす要因が存在し、その特性を把握する必要がある。試料側の要因としては、毛細管現象を妨げる可能性として試料の凝固異常や抗凝固剤

の投与、高蛋白血症などの粘性の強い試料などがあり、さらに血球、フィブリンなどが混入すると検査結果に影響する可能性がある。試薬側としては、メンブレンの性質、それに合わせた素材、固相化の量、試薬の組成、ラインの位置などが考えられる。またICAは、比較的サンプル量が多く、直接サンプリングし、検体がメンブレン上で反応するためマトリックスの影響を受けやすい。また、試料によっては非特異物質の吸収が十分できず、非特異反応が起こる可能性もある。リファレンスラインはあくまでも、毛細管現象を確認するものであり、すべての影響因子の情報を与えるものではないので、検査を行なう際は既知のコントロールでの精度管理、ロット間のチェック、判定の客観性などの確認⁴⁾や高濃度検体では、プロゾーン現象が認められることがあるので、注意が必要となる⁵⁾。

自動分析装置を使用している施設では、機

表6. 各試薬における測定感度¹⁾

販売名	製造/輸入業者名	検査対象	最低検出感度※	
			単位	
イムノクロマト法				
クイックチェイサーHBsAg	ミズホメディール	血清及び血漿	20	ng/ml
エスブラインHBsAg	富士レビオ	血清	5-10	ng/ml
ダイナスクリンHBsAg II	ダイナポット	血漿、血清又は全血	約2	ng/ml
オリゴファストHBsAg「ニッスイ」	日水製薬	血清及び血漿	5	ng/ml
凝集法				
マイセルII HBs・PA	特殊免疫	血清、血漿	5	I.U./ml
クイックピースHBsAg	シノテスト	血清又は血漿	4-8	I.U./ml
ランリームHBsAg	シスメックス	血清	0.5	
ランビアラテックスHBsAg	極東製薬	血清	5-8	I.U./ml
EIA/化学発光法 (TR-FIA、EV-FEAを含む)				
Axsym HBsAgダイナパック	ダイナポット	血清又は血漿	1	ng/ml
IMx HBsAg アッセイシステム	ダイナポット	血清又は血漿	1	ng/ml
コバスコア HBsAg	ロシュ	血清	0.062	U./ml
エクルーシスHBsAg	ロシュ	血清又は血漿	0.024	U./ml
ルミパルスII HBsAg	富士レビオ	血清	0.2-0.4	I.U./ml
エルジア F・HBsAg	国際試薬	血清又は血漿	0.2	I.U./ml

※再点検申請時に提出された添付文書又は資料に記載されたもの。

国立感染症研究所 体外診断薬委員会：国内で市販されているB型肝炎ウイルス外被抗原 (HBs抗原) 検出用体外診断用医薬品の再点検。臨床病理49：9-2001：917-924より抜粋

器のメンテナンスや、コントロールの確認、カットオフ値測定の見直しなど必要性が示唆された。

また、各施設で使用している試薬の特異性や感度、再現性など添付文書を再確認する必要がある。

【ま と め】

HBV感染の診断は、HBs抗原検査の結果のみならず、HBc抗体測定、HBV-DNAなど他のHBV関連マーカー検査及び臨床経過を考慮して総合的に判断する必要がある。感度が低いと指摘されている試薬については、特に注意が必要となる。また、HBs抗原検査は、急性B型肝炎や輸血後肝炎や妊婦等の垂直感染スクリーニング、針刺し事故等に際して、指標となる重要な検査である⁶⁾。以上のことを考慮し、試薬、測定方法を選択し、臨床側へ試薬の特異性や検出感度などの情報を提供することも重要な事である。

今回のサーベイが、各施設での使用方法や感度の再確認、カットオフ値の検討などの啓蒙となればと考える。

最後に、今回のサーベイ実施にあたり解析、測定に協力して頂きましたメーカー、および関係者の方々に深く感謝いたします。

【参 考 文 献】

- 1) 国立感染症研究所体外診断薬委員会：国内で市販されているB型肝炎ウイルス外被抗原（HBs抗原）検出用体外診断用医薬品の再点検．臨床病理49：917-924，2001
- 2) 米田孝司，片山善章：HBV検査-半定量

法と定量法の扱い方．臨床検査46：251-257，2002

- 3) 尾形正裕，本田信二，阿部和夫：RPHA方によるHBs抗原測定の問題-確認試験の信頼性をめぐって．臨床病理32：1184-1193，1984
- 4) 北橋 繁，巽 典之：イムノクロマトグラフィ法の特徴と問題点．臨床検査46：265-272，2002
- 5) 出口松夫，山下順香，鍵田正智他：イムノクロマトグラフィを原理とする4種HBs抗原測定法の評価．JJCLA25：707-712，2000
- 6) 飯野四郎：これだけは知っておきたいB型肝炎の知識．Medical practice5：530-543，1988