

2021年度IGRA(QFT) 外部精度管理

QFT検査の品質向上に向けた提案5

2022年7月31日
結核感染診断研究会(Web)

ファルコバイオシステムズ
総合研究所 山下和也

はじめに

- 結核感染診断研究会は2021年度QFT外部精度管理調査を実施した
- 各施設の精度状況を評価し、QFT検査の精度向上に寄与することを目的とした

2021年度 I GRA〔QFT〕 外部精度管理調査

調査項目

- 試料 レベル1、2、3 多重測定（IFN- γ 濃度）
（キアゲン社コントロールパネル）
- 計算項目 レベル2－レベル1（ブランク補正值）
レベル3－レベル1
- 採血～検査工程に関するアンケート調査

参考調査項目

- 標準液 S1～S4吸光度（OD）
- ピペットの使用状況

精度上の問題を明らかにするために

- 参考調査項目を利用した問題・原因の追及

①検量線の確認

・・・全ての施設が品質管理をパスしていた。

②標準液（S2～S4）のODよりIFN- γ 量を算出（戻り値）

求めたIFN- γ 量と理論値の比較検討

S4とレベル1のIFN- γ 量を比較検討（ブランク確認）

S1 ODのヒストグラム評価

③アンケート調査によるピペットのメンテナンス状況確認

一部の施設で管理不備が見られた。

ELISA試験の品質管理 (キット添付文書より)

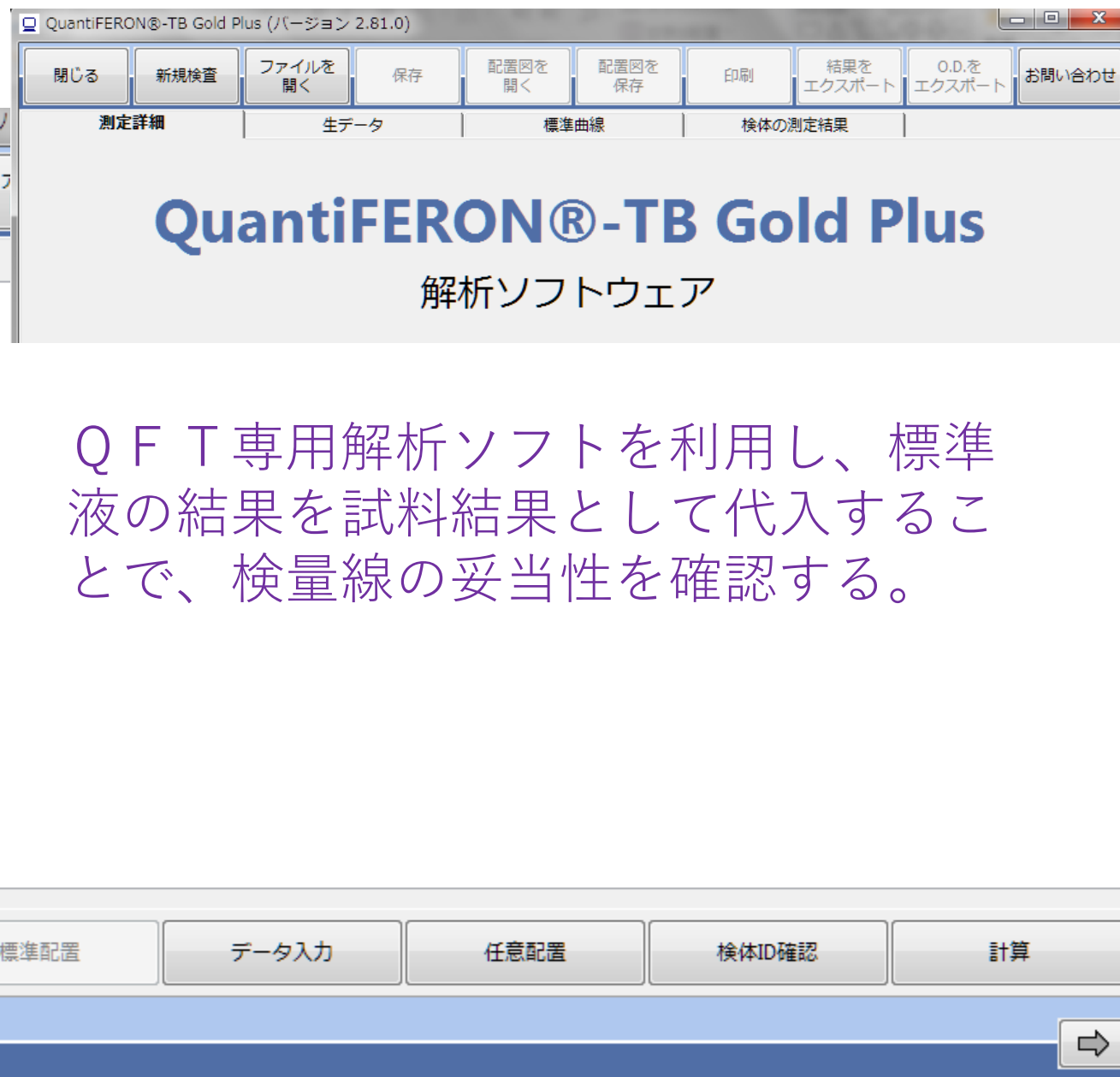
- 標準液S1～3の平均ODを用いlog-log標準曲線を作成する（S4は0 IU/mLのため除外）
 - 回帰分析により最適な標準曲線を算出する。回帰式は $Y=aX+b$ で表す。
- ① 標準液（S1）のODは0.600以上
 - ② 標準液S1, S2のODの変動係数は15%以下
 - ③ 標準液S3, S4のODはそれぞれのOD平均±0.040以内
 - ④ IFN- γ の標準曲線の相関係数は0.98以上
 - ⑤ 標準液S4の平均ODは0.150以下

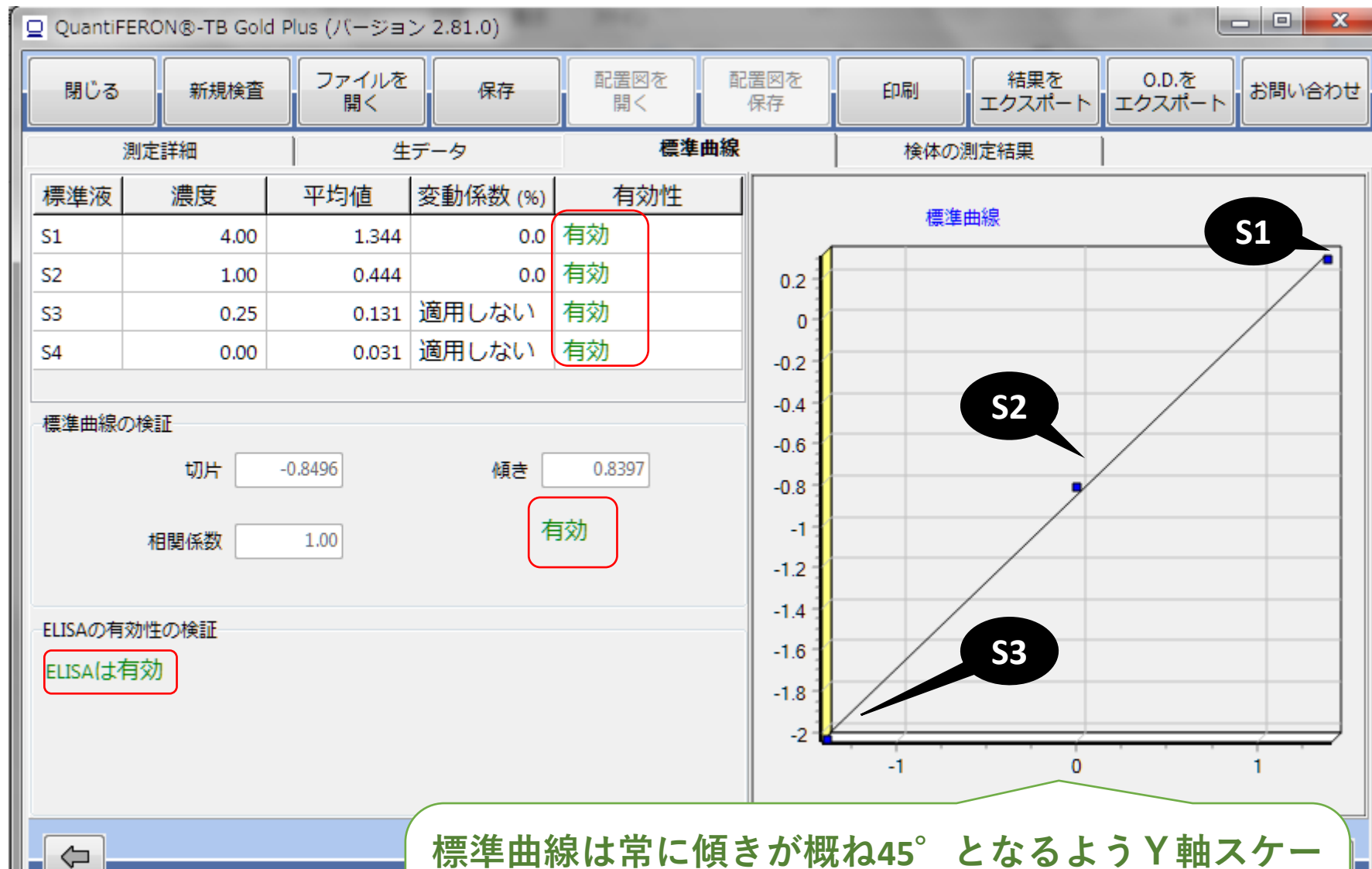
QFT解析ソフトにより自動的に評価されます。

標準液のODを
試料として代入

測定詳細		
	1	2
A	S1 1.344	1N 1.334
B	S2 0.444	1TB1 0.444
C	S3 0.131	1TB2 0.131
D	S4 0.031	1M 0.031
E	S1 1.344	データなし
F	S2 0.444	データなし
G	S3 0.131	データなし
H	S4 0.031	データなし

標準液





標準曲線は常に傾きが概ね45° となるよう Y 軸スケールが自動調整される。
対数グラフのためS4ブランクは標準曲線には反映されず、S1～S3 の3点で算出される。

標準液のODよりIFN- γ 量（戻り値）を算出

QuantIFERON®-TB Gold Plus (バージョン 2.81.0)

閉じる

新規検査

ファイルを
開く

保存

配置図を
開く

配置図を
保存

印刷

結果を
エクスポート

O.D.を
エクスポート

お問い合わせ

測定詳細	生データ				標準曲線		検体の測定結果		
検体ID	Nil (IU/ml)	TB1 (IU/ml)	TB2 (IU/ml)	Mitogen (IU/ml)	TB1- Nil (IU/ml)	TB2- Nil (IU/ml)	Mitogen- Nil (IU/ml)	結果	
検体 1	3.88	1.05	0.24	0.04	-2.83	-3.64	-3.84	判定不可	

Nil = S 1
4.0IU/mL

T B 1 = S 2
1.0IU/mL

T B 2 = S 3
0.25IU/mL

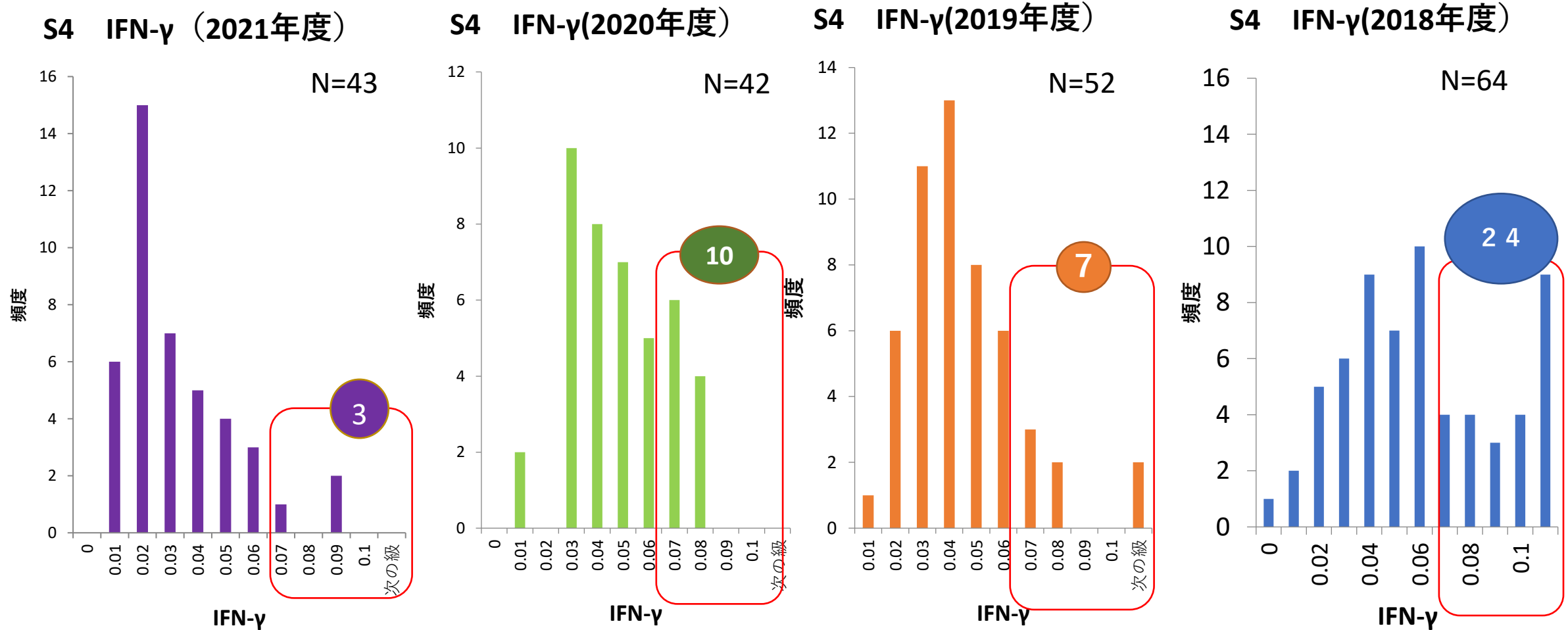
M i t o g e n = S
4
0IU/mL

ブランク値の評価

S4, レベル 1 報告値からの検討

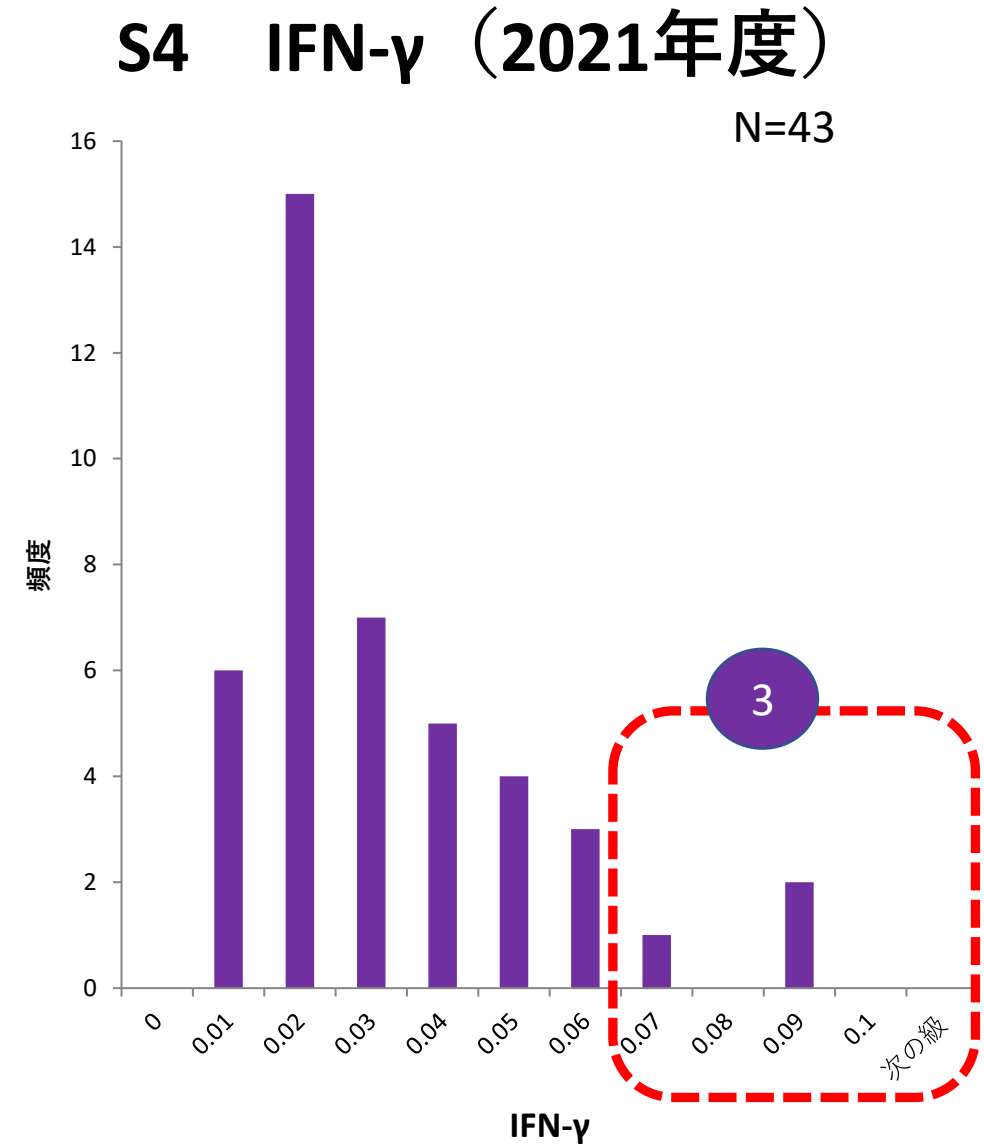
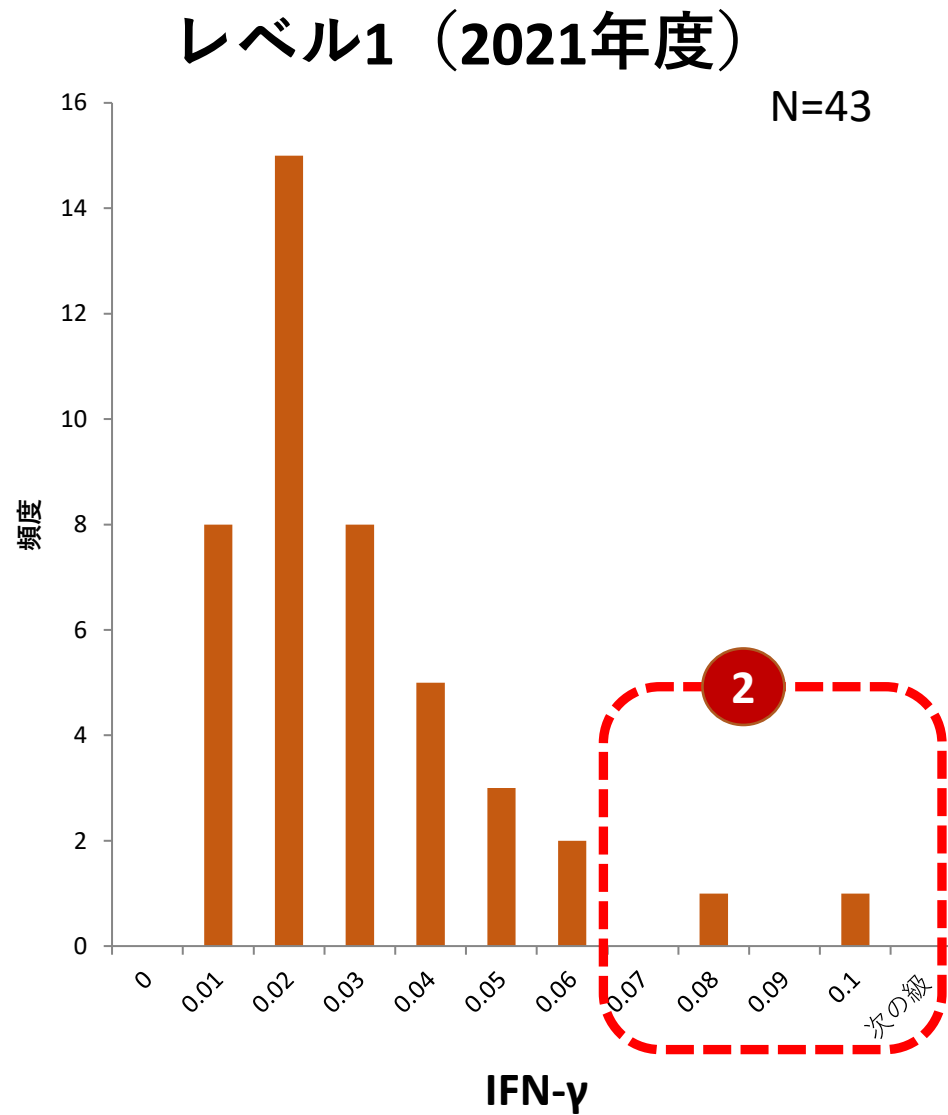
4 3 施設報告値を対象とした。

S 4 (IFN- γ ：ブランク値) の年度推移

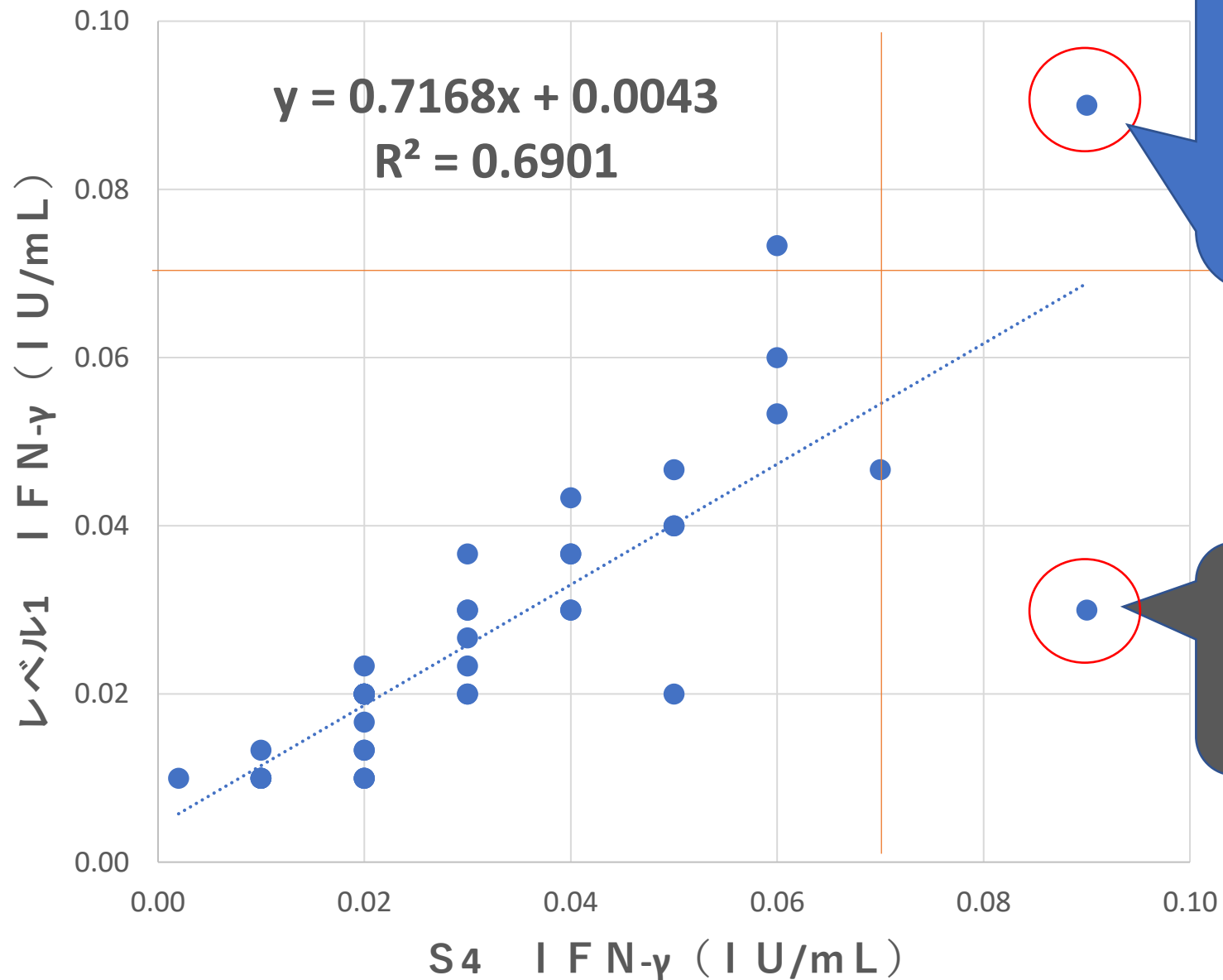


S4によるブランクが0.07以上の施設は概ね経年的に減少し、改善が進んだことを示している。

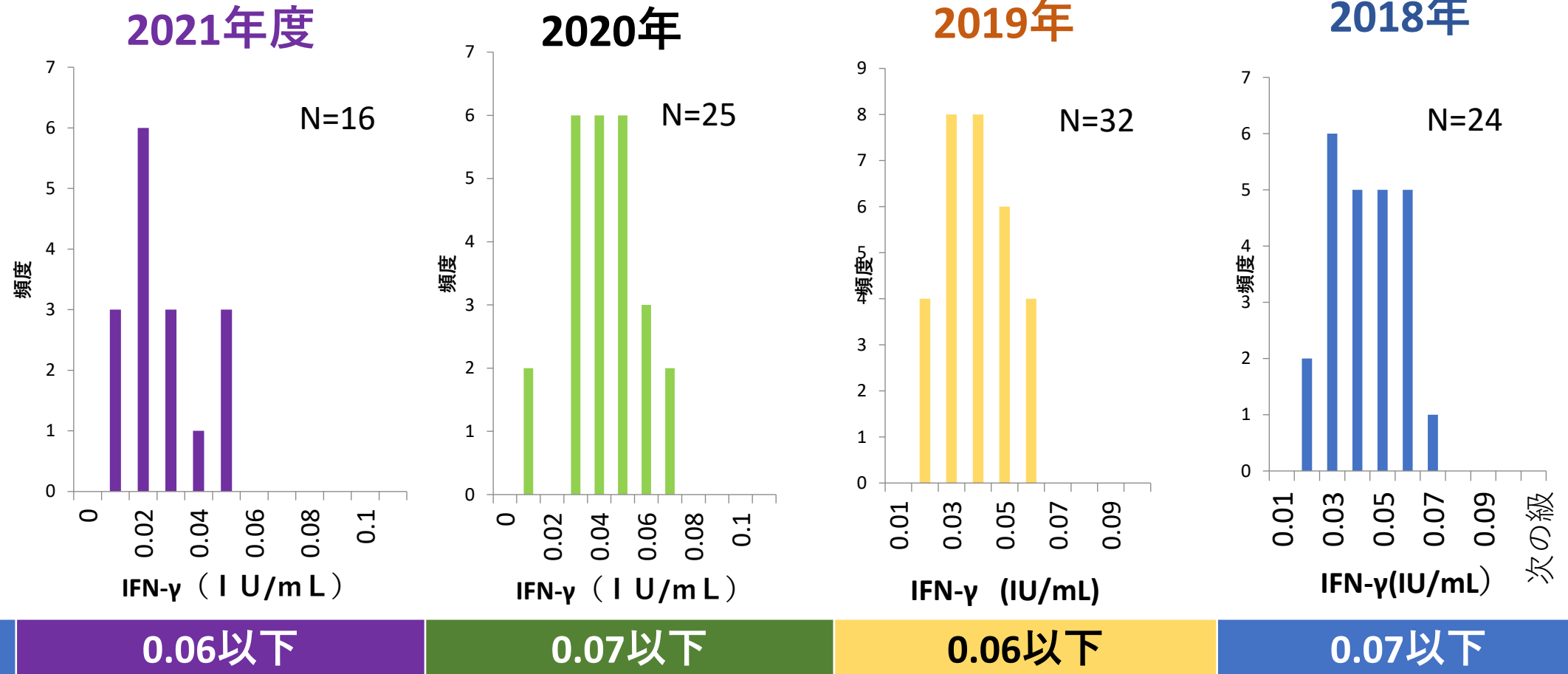
2021年度のブランク比較 (レベル1・S4)



レベル1と S 4 の相関



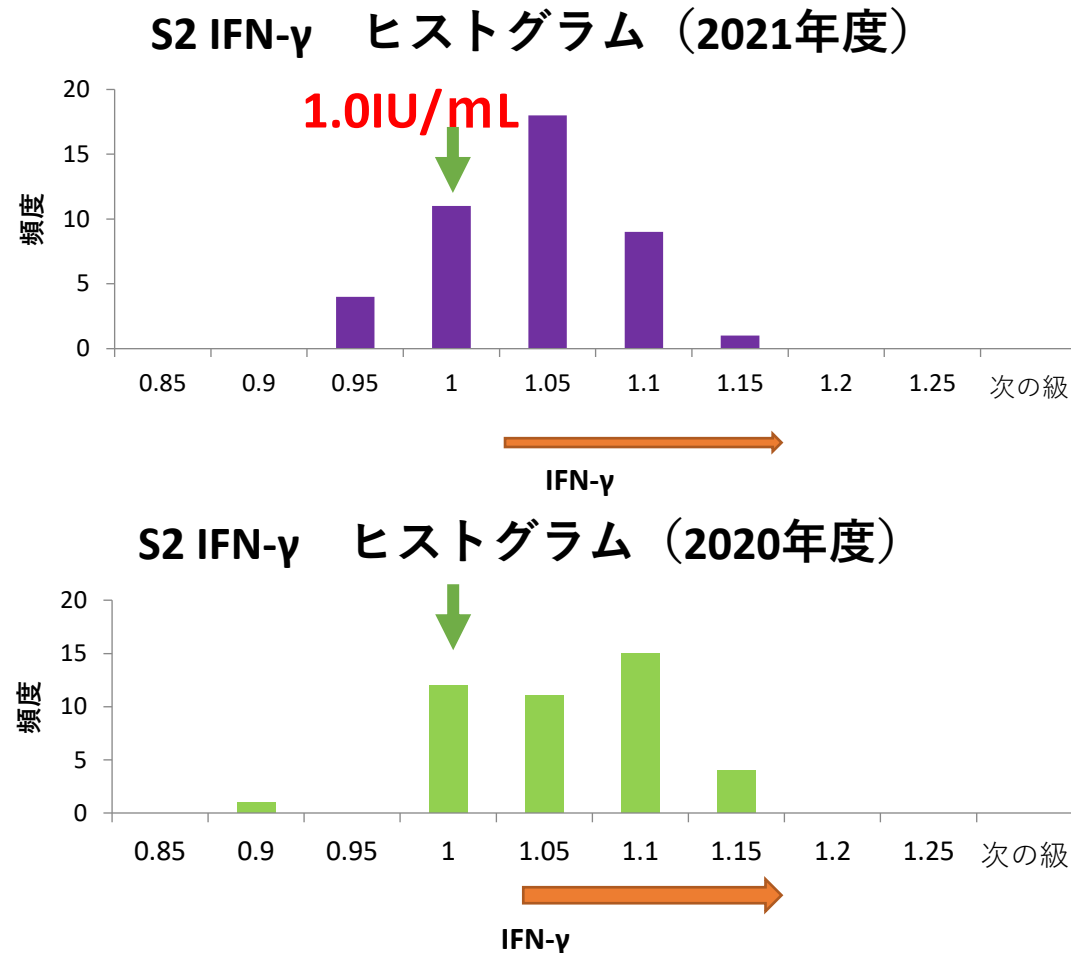
A評価のS4（IFN- γ ）を元に2SD反復切断後（臼井法）のヒストグラムにより評価基準を確認した。



過去4か年実績よりブランクの評価基準は0.07IU/mL以下と考えられる。

S2に関する考察

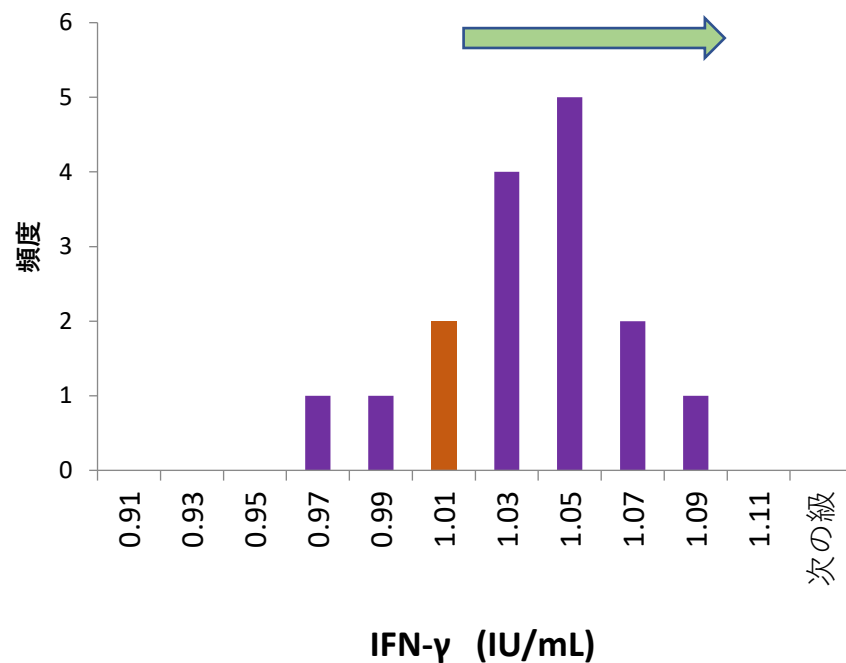
S2 (1.0IU/mL)はカットオフ0.35IU/mLに対する検量線の影響を反映するため、43施設のS2戻り値について分布状況を確認した。



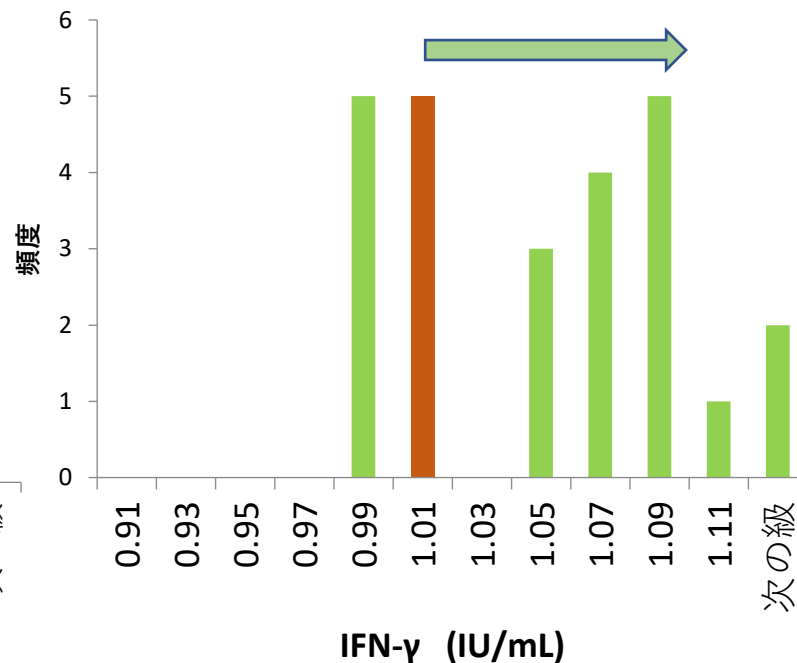
S2戻り値は0.94～1.11IU/mLの範囲で分布しており、前年の0.90～1.14IU /mLと比較しほぼ同等で、5～10%高い傾向は継続していた。

A 評価16施設の S 2 (I F N- γ) を元に2 S D 反復切断後 (臼井法) のヒストグラムにより基準範囲を確認した。

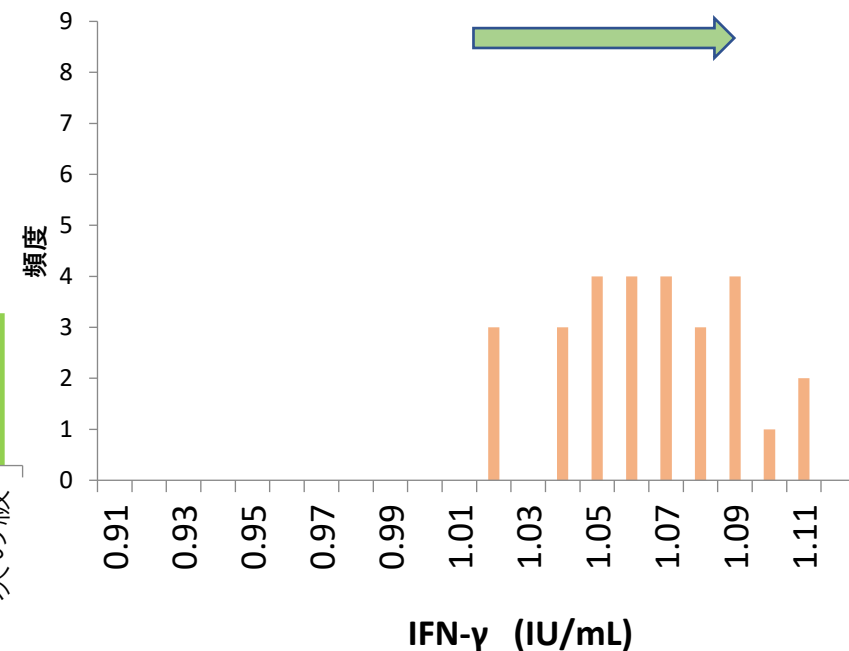
S2 IFN- γ (2021年度)



S2 IFN- γ (2020年度)



S2 IFN- γ (2019年度)



s2 基準
範囲

0.97~1.09

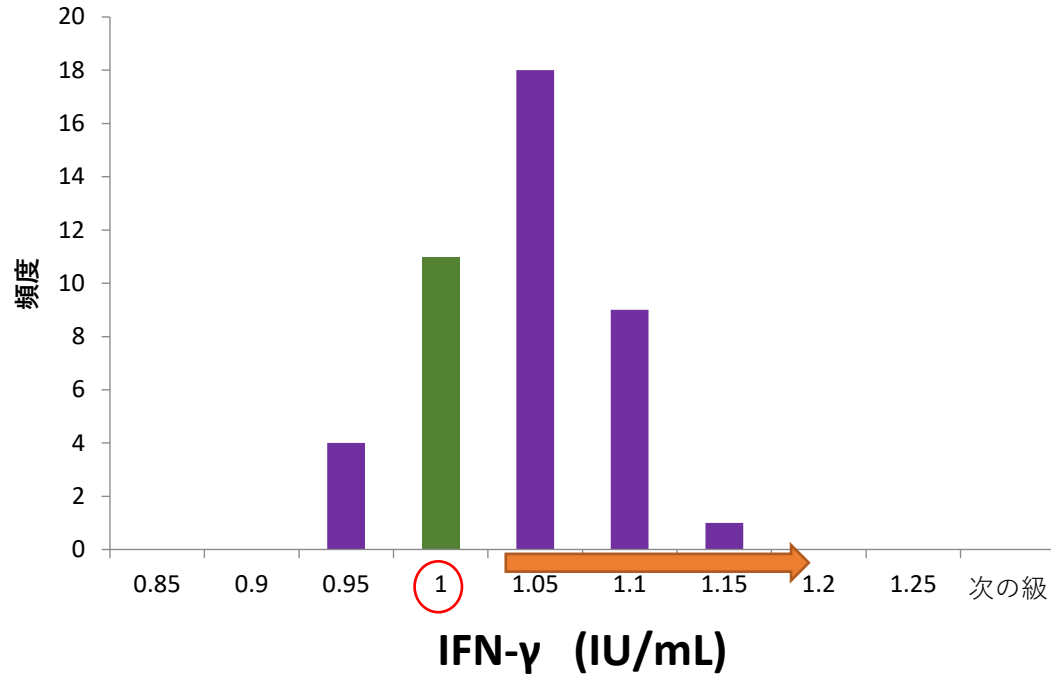
0.98~1.12

1.02~1.11

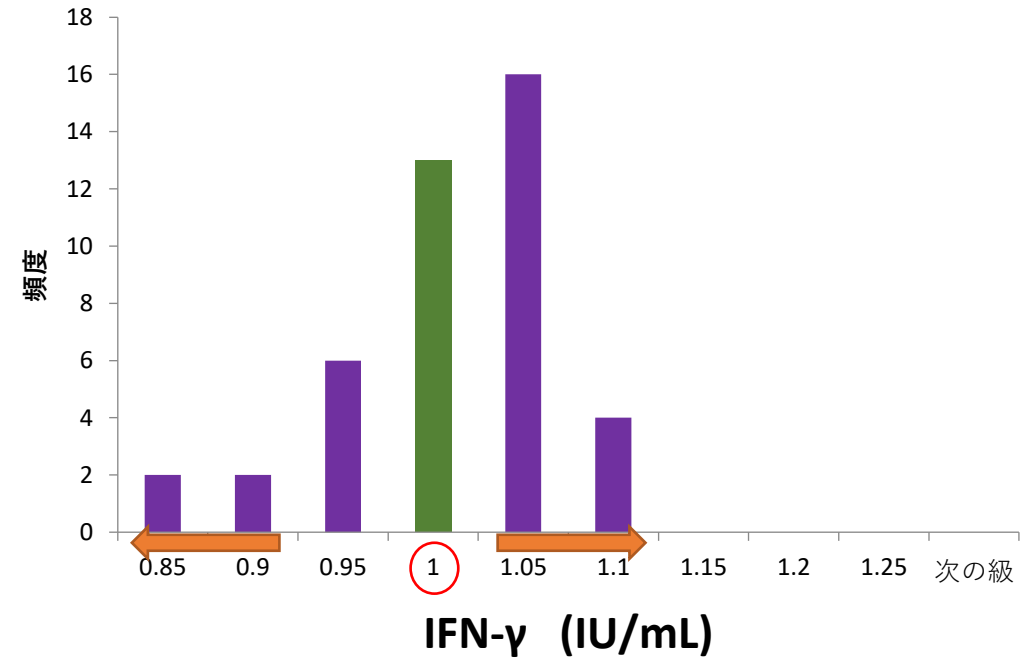
前年と同様s2ヒストグラムは理論値1.0 IU/mLよりも右寄りにシフト

ブランク補正S2 (S2-S4)の確認

S2 IFN- γ (2021年度)



S2-S4 IFN- γ (2021年度)



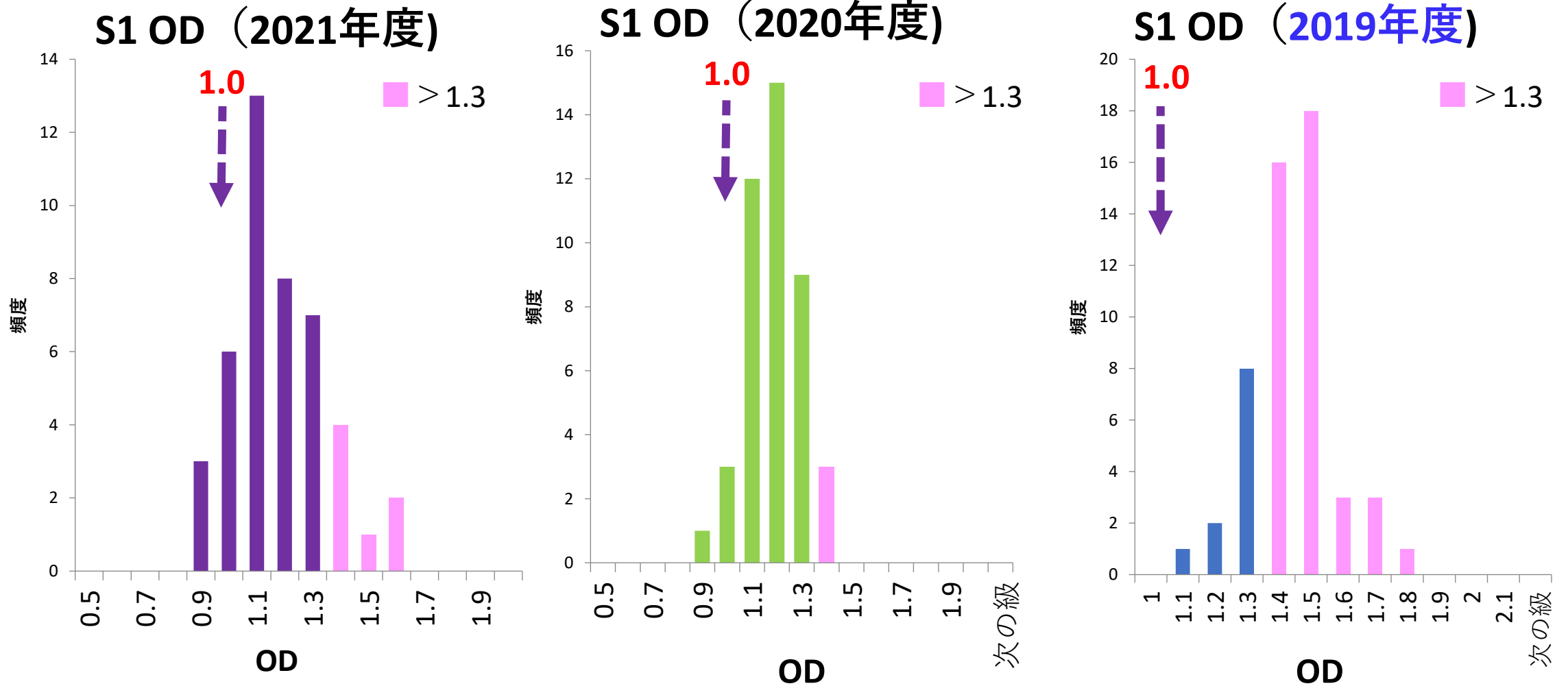
S2よりS4のIFN- γ 値を差し引くことでブランク補正を試みた結果、S2平均1.02はS2-S4平均0.990となり、理論値1.0IU/mLより高値にシフトしていた現象は改善した。

S1に関する考察

2019年度はS1 ODが高く、比色計の性能上限に近づいたため検量線上から標準液のプロットが外れたと考えられるケースが多く見られた。2020年度ではメーカー努力で改善したが進んだが・・・

2021年度は？

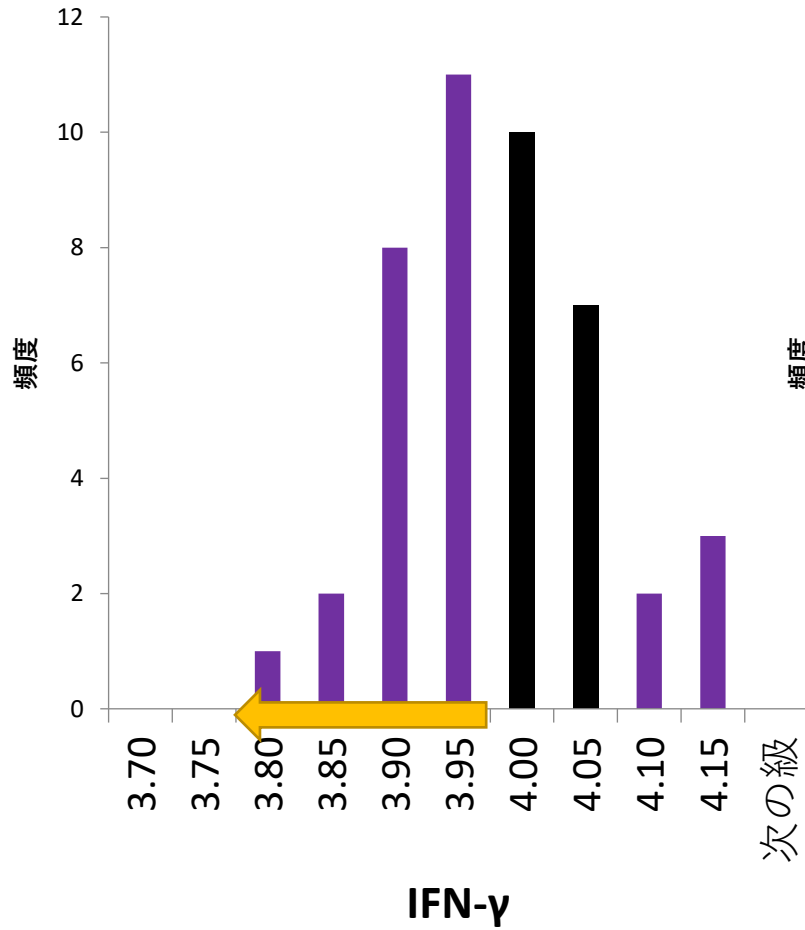
S1 OD値の年度比較



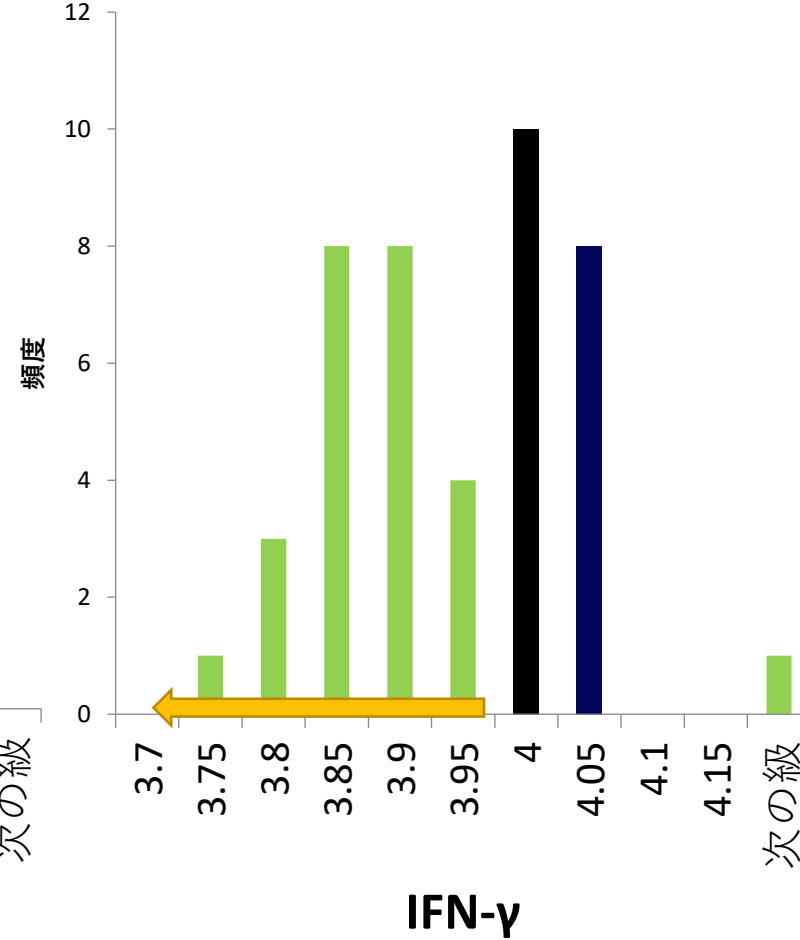
S1 ODは前年度と比較し、やや高値傾向を呈した。

S1 IFN- γ 戻り値の年度比較

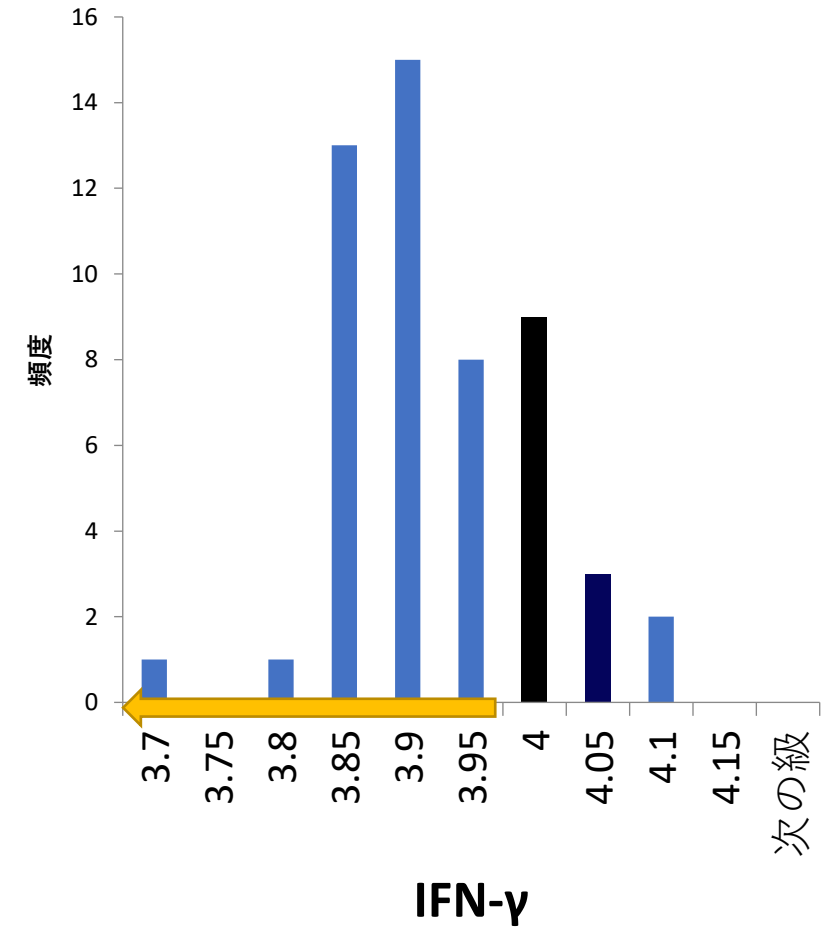
S1 IFN- γ (2021年度)



S1 IFN- γ (2020年度)



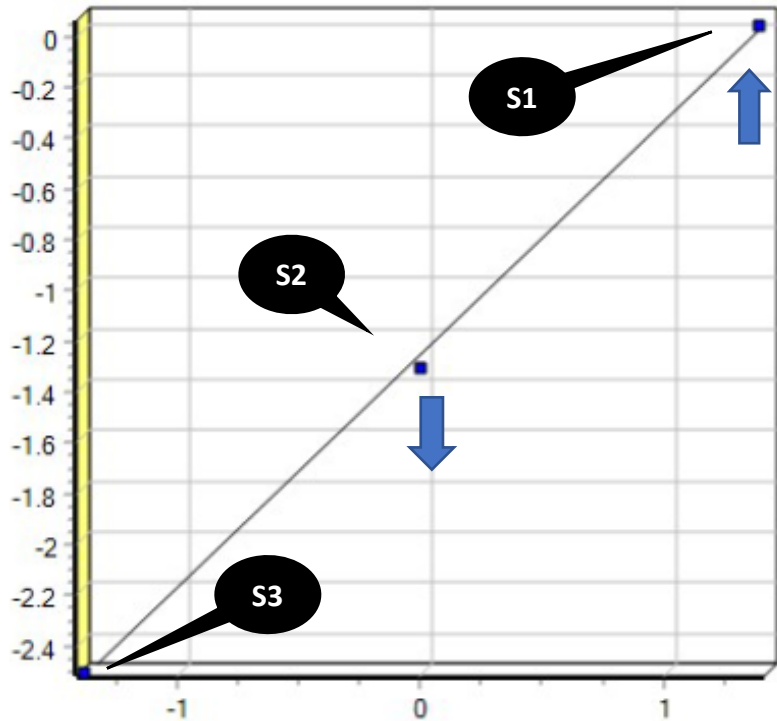
S1 IFN- γ (2019年度)



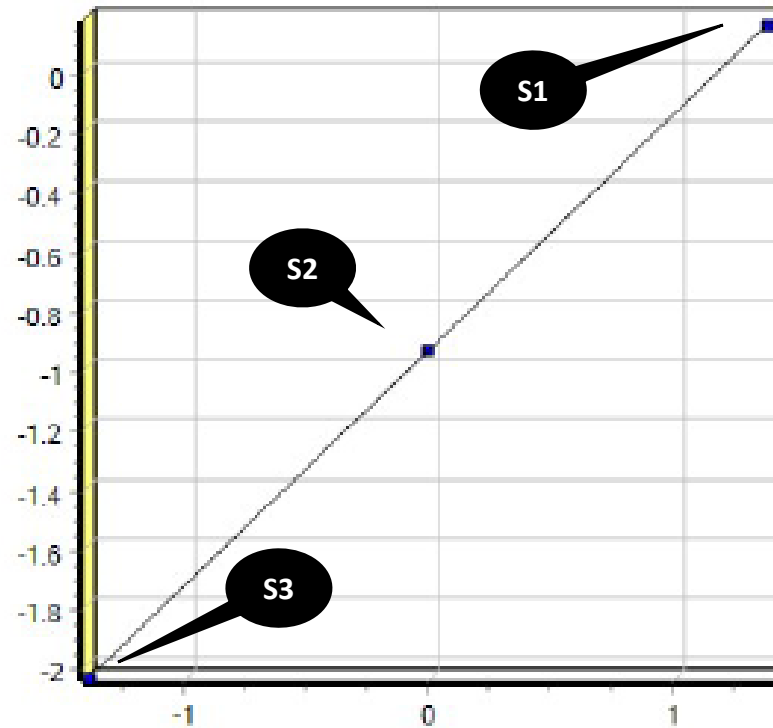
S2とは逆にS1の戻り値は低値傾向が継続していた。

2019年はS2が標準曲線の上側に、S1は下側にプロットされた施設が多かったが、2020年では改善が見られた。
2021年は2020年と同傾向だが、S2が検量線の下にプロットされる施設が増加した。

標準曲線 (2021年度)

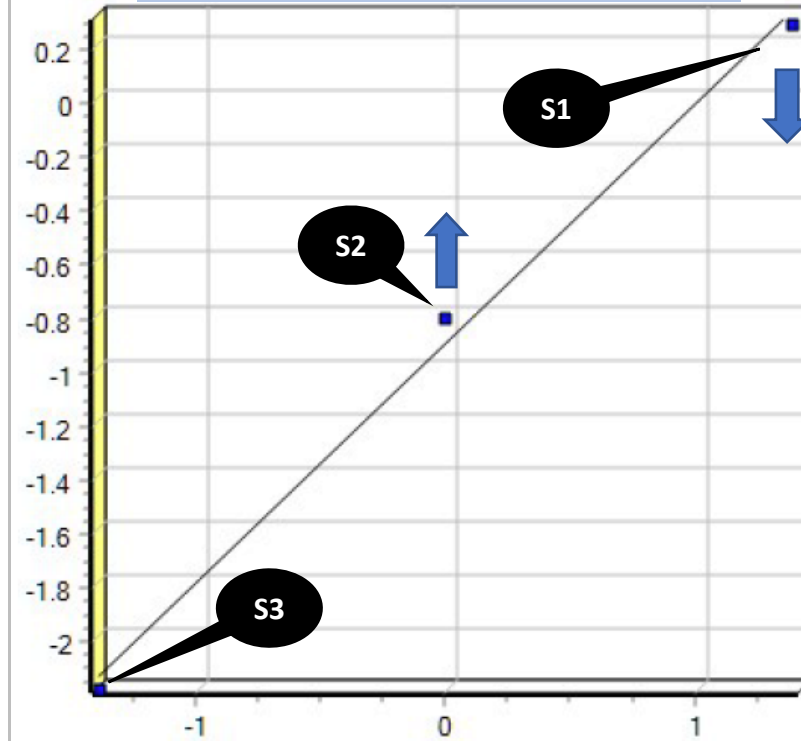


標準曲線 (2020年度)



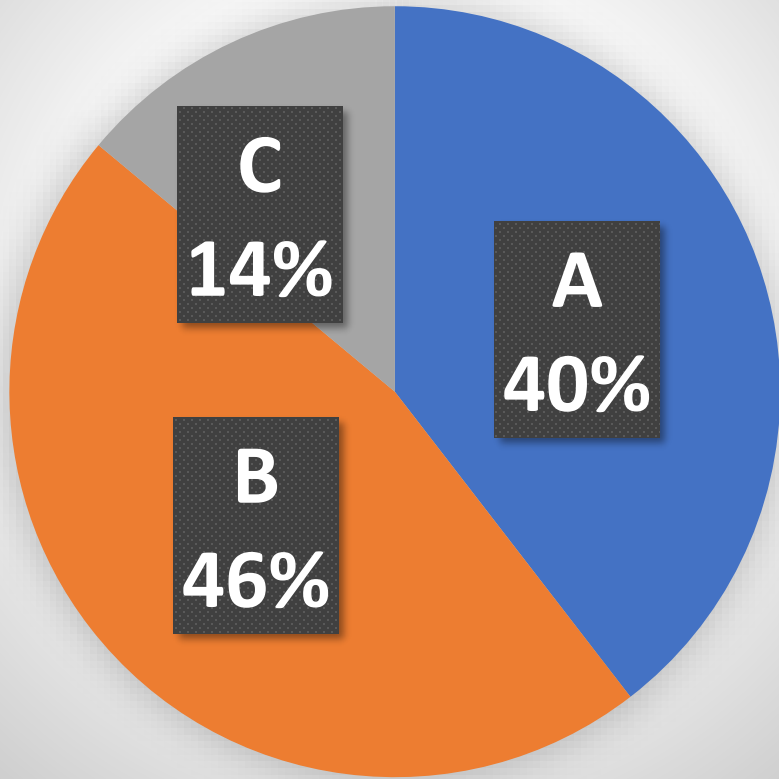
X軸：Log IFN- γ 濃度

標準曲線 (2019年度)

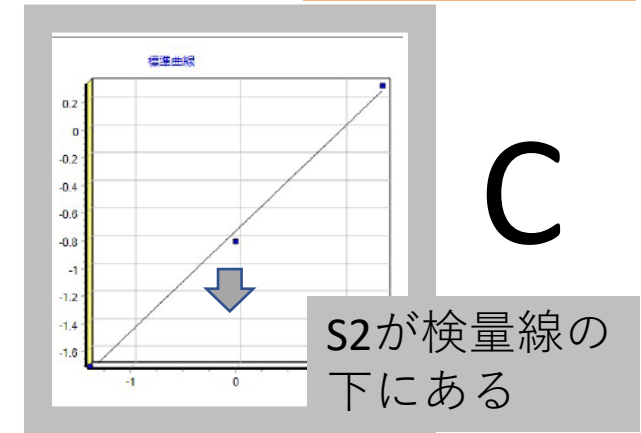
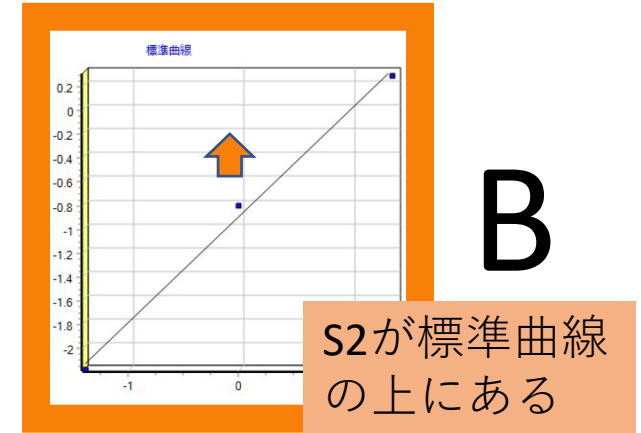
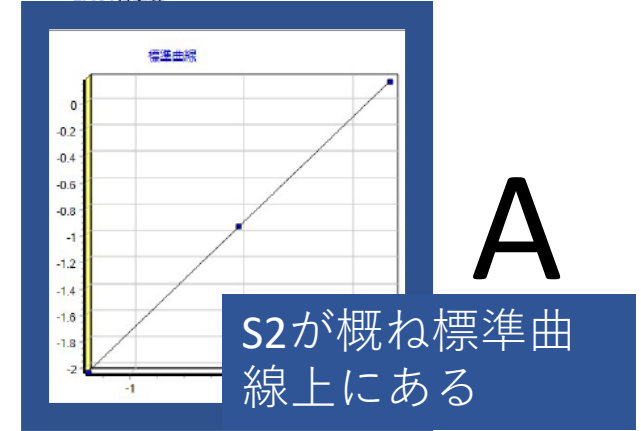
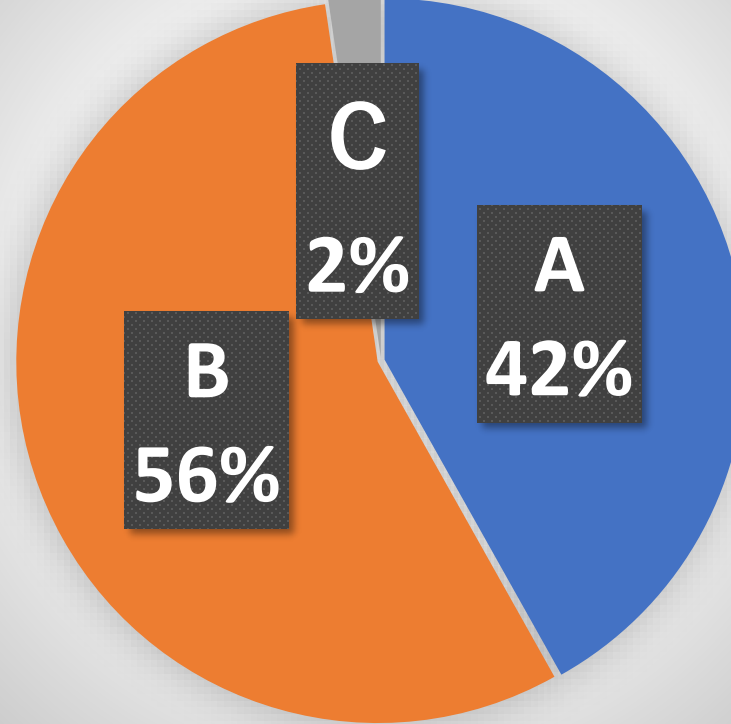


標準曲線パターン

2021年度

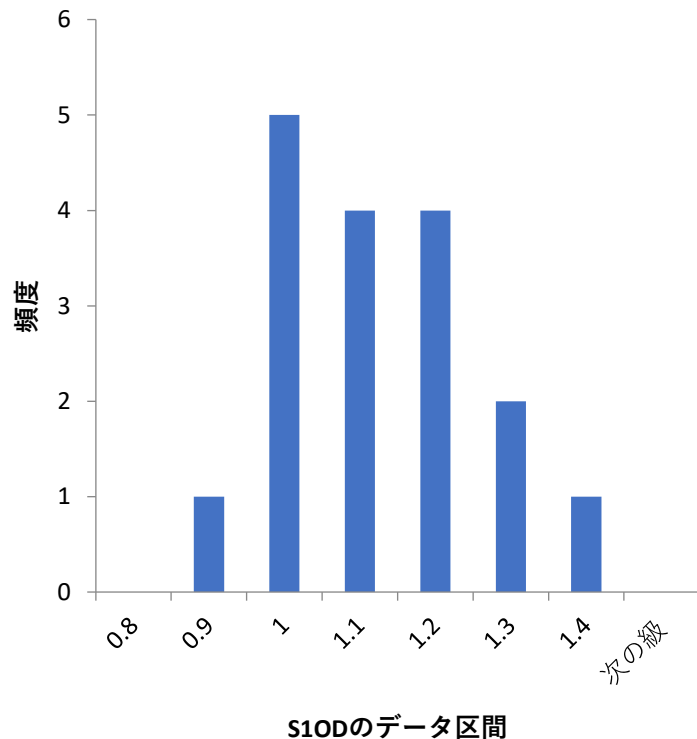


2020年度

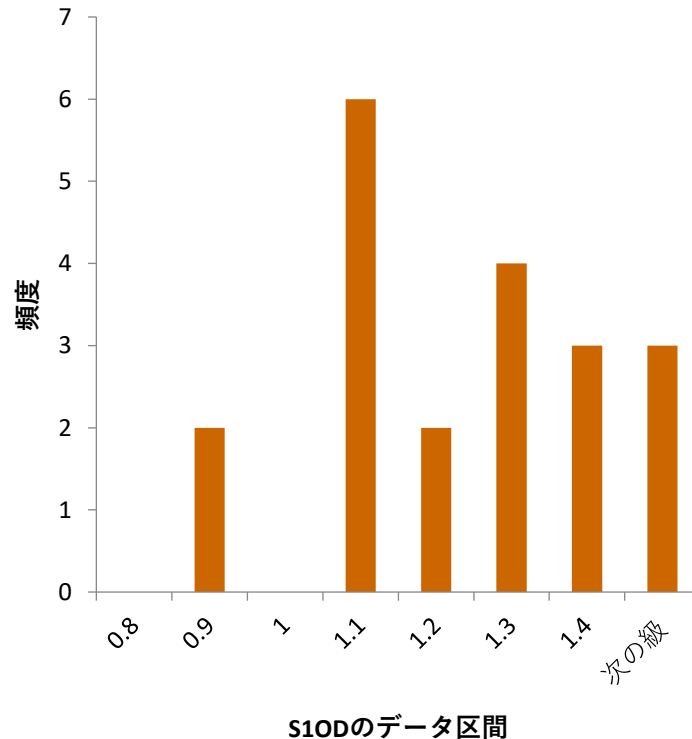


各検量線パターン毎のS1 OD分布

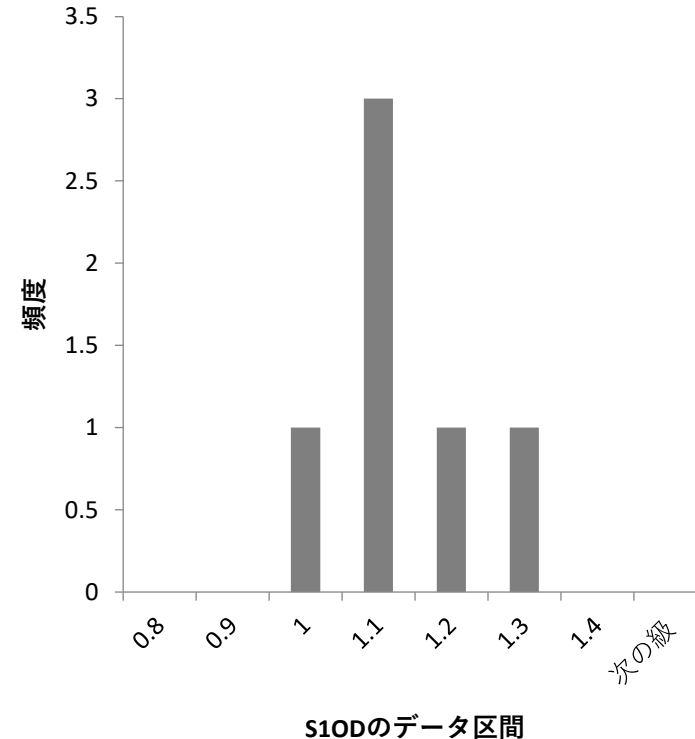
検量線 A パターン



検量線 B パターン

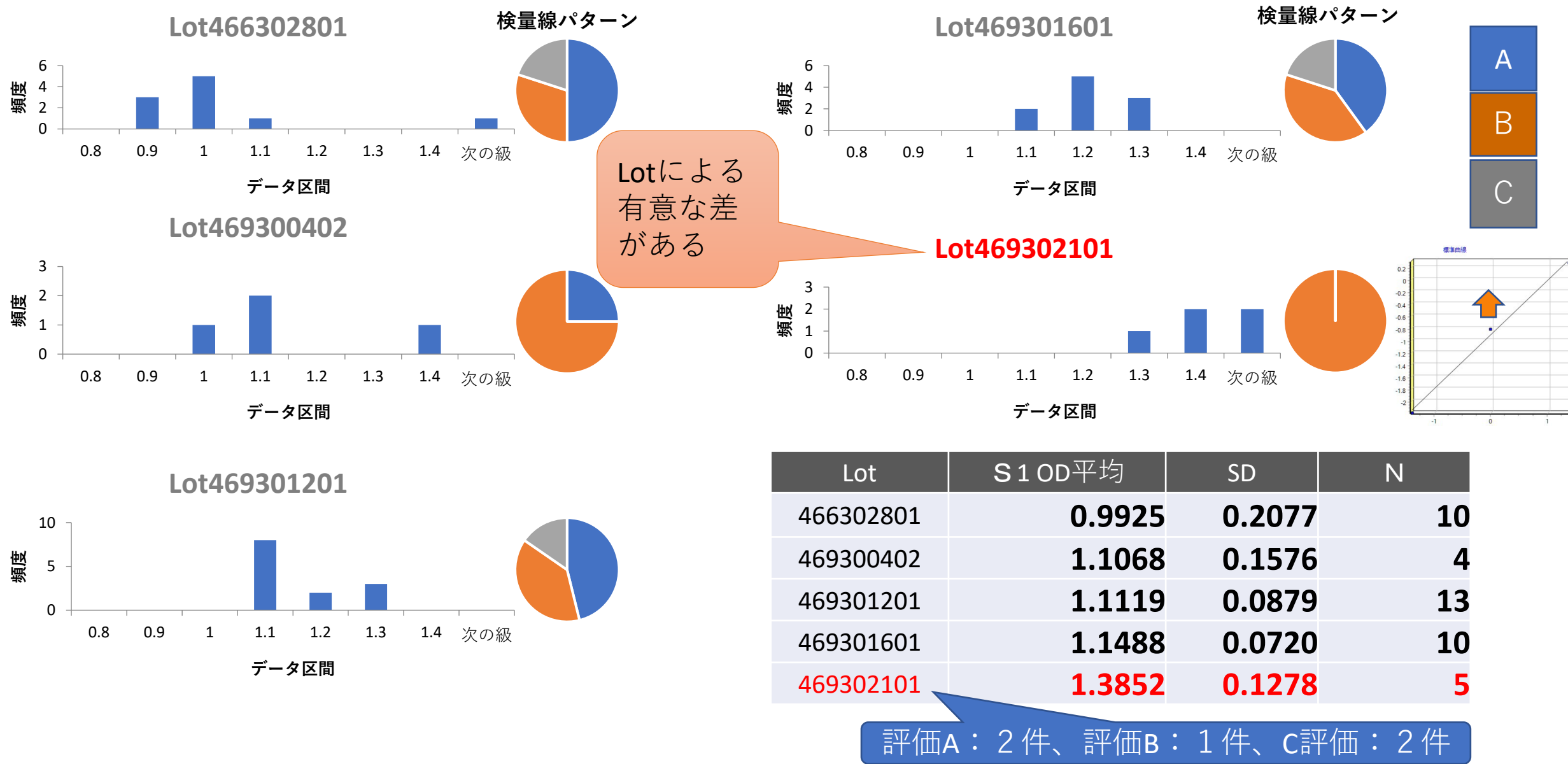


検量線 C パターン



検量線パターン毎のS1OD分布に有意な差は無い？

Lot毎の S 1 O D ヒストグラムと検量線パターン分布



検量線 S1～S30Dのバランス不良の原因

原因1

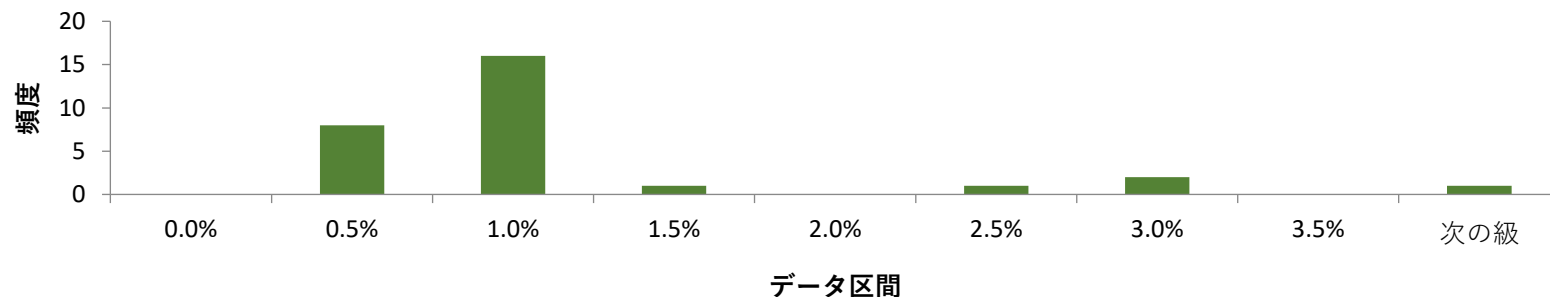
- • S10D高値による比色計の限界
- • 標準液の調整不良
- • 試料分注のバラつき
- × • ブランク高値化

原因2

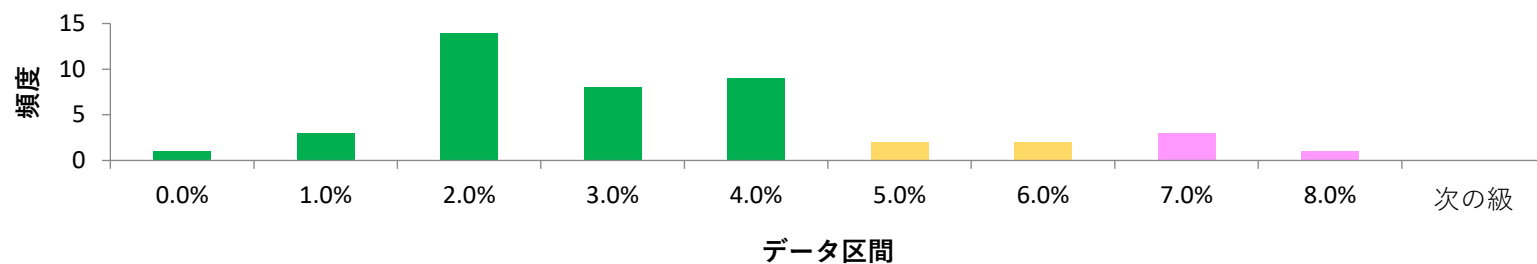
- 試薬・Lot ?
- ピペットの性能
- 手技
- ピペットの性能
- 手技
- 洗浄不良
- 試薬汚染
- Lot ?

分注性能評価

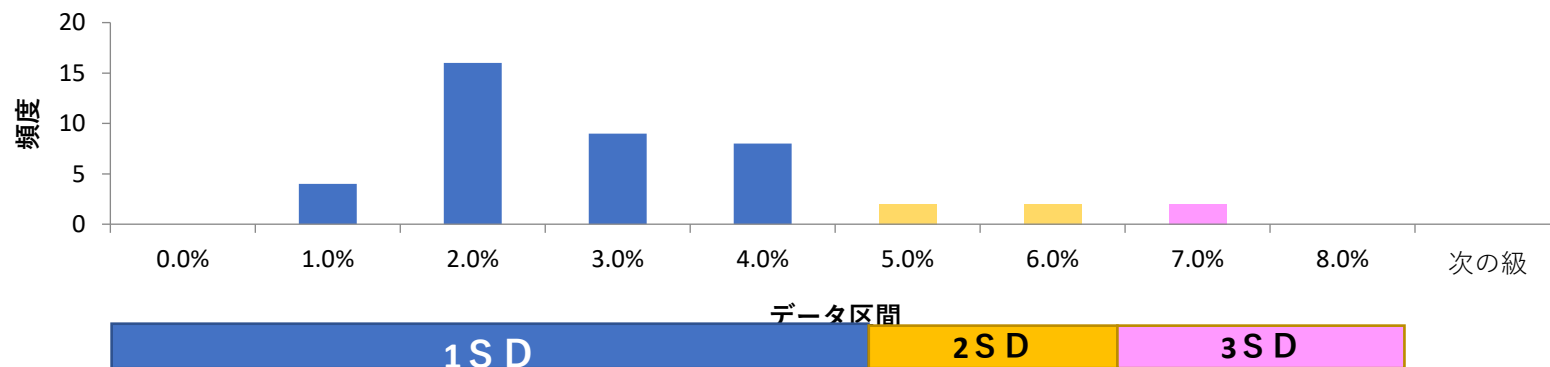
ピペットの精度（Inaccuracy）ヒストグラム



レベル3(IFN- γ) 施設内CVヒストグラム



レベル3 (OD) 施設内CVヒストグラム



正確度

参考調査の有効回答(29施設) を元に使用ピペットの正確度を示した。

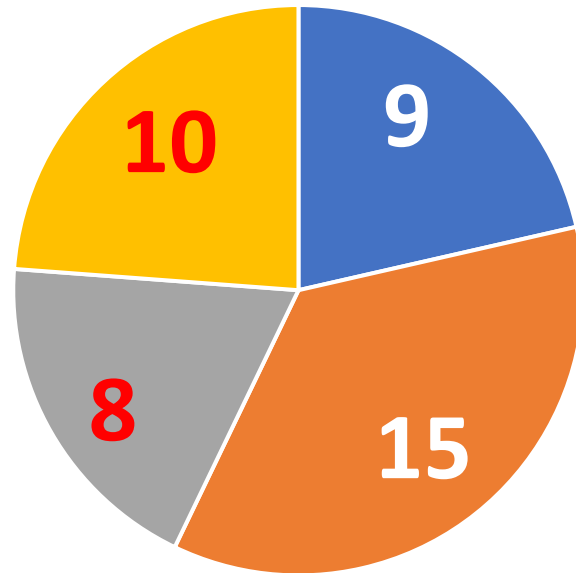
概ね、正確度は1%以下のピペットが使用されていた。

精密度

レベル3OD（4回測定）を元に施設内の精密度を算出した結果、最大値は6.89%、平均2.5%、SD1.5%となった。一般的には正確度>精密度の関係にあり、ピペットの性能を活かしきれていないと考えられた。

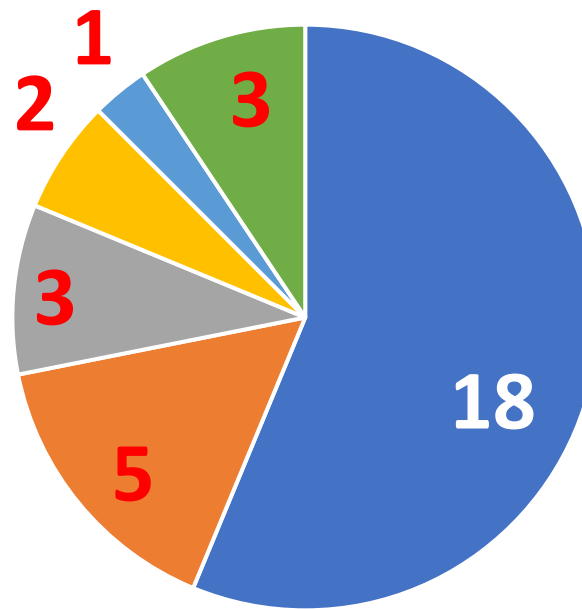
ピペットの使用状況（参考調査）

校正頻度



- 校正は6ヶ月毎
- 校正は1年毎
- その他
- 校正は実施していない

整備後年数



- 1年未満
- 1～2年未満
- 2～3年未満
- 3～4年未満
- 4～5年未満
- 5年以上

ピペットの性能を活かしきれていない施設は先の分注性能評価と合わせると27件（63％）存在した。

全ての該当施設がIFN- γ 測定において必ずしも不良結果ではないが、本検査における精度向上の伸びしろはありと考える。

ピペットの性能を理解し、メンテナンス・操作を行っていますか？

- 最近のピペットは以前に比べ格段に精度が向上している。

	Range	Volume μl	Inaccuracy	
			μl	%
可変ピペット	10-100 μl	100	± 0.80	± 0.8
		10	± 0.80	± 8.0
	Fixed Volume		Inaccuracy	
		μl	μl	%
固定ピペット		50	± 0.3	± 0.6



- 適切なメンテナンス（Oリング交換、グリスアップなど）
- 使用チップとの相性確認
- 定期的な検定
- 適切な操作

いずれも精度を担保するための基本事項です。

S1、S2、レベル3に関するまとめ

- 2021年度調査においてS2IFN- γ 戻り値はやや高値傾向となったがブランクのS4を差し引くと概ね理論値と同等であった。
- 2021年度のS1 ODの分布は、2021年度に比べ1.30以上の施設はやや増加した。
- S1IFN- γ 戻り値の分布は理論値より低値側に広く分布し、この傾向は前年と同様であった。
- S2プロットが検量線から外れる原因はS1ODの高値化だけが要因ではなさそうである。
- レベル3（OD）の評価よりピペットの保守または操作に問題のある施設が存在している可能性が示唆された。アンケート調査からも同様の結果が伺われた。

« 2022年6月

日	月	火	水	木	金	土
			1	2	3	4
5	6	7	8	9	10	11
12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30		

PAGE MENU

- 法人案内
- 検査の流れ
- 入会案内
- お問い合わせ

BLOG MENU

- インフォメーション
- 結核感染診断研究会総会
- 精度評価委員会
- スタッフの日記

結核感染診断研究会総会

▶ 第10回特定非営利活動法人結核感染診断研究会総会 開催報告

2020年10月31日（土）に開催致しました、第10回特定非営利活動法人結核感染診断研究会総会についてご報告致します。

本年度は6月の開催を予定していましたが、コロナ禍の終息が見通せない中、日本結核・非結核性抗酸菌症学会総会・学術講演会と同様、10月に延期し「Zoom」によるWebミーティング形式にて開催致しました。

当日は42施設と多数のご施設よりご参加をいただき、ご質問やご助言を賜りました。Web形式による大規模集会の経験が無く、至らない点も多かったと思いますが、コロナ禍でお忙しい中、ご参加いただきました方々に感謝申し上げます。

報告いたしました資料につきましては、複数の参加施設各位より資料として提供して欲しいとのご意見をいただきましたので、討議内容を踏まえ修正を加えた資料を以下に掲載させていただきます。

精度評価委員会では今後ともIGRA検査の精度向上に向け取り組んで参りますので、皆様方のご支援とご協力を賜りますよう宜しくお願い申し上げます。

《結核感染診断研究会資料》 〈掲載資料について転載及び転用を禁止致します〉

1. [2019年度QFT検査精度管理報告（概要）](#)
2. [2019年度QFT検査チェックシート評価結果](#)
3. [2019年度QFT検査の品質向上に向けた提案](#)

日常検査のセルフチェック　　どうしていますか？

- ① メーカーの検量線評価
- ② S4戻り値によるブランクチェック（0.7IU/mL以下）
- ③ コントロールパネルによる内部精度管理
- ④ 内部コントロールによる内部精度管理
- ⑤ S1 ODの推移確認
- ⑥ 検量線の傾きの推移確認
- ⑦ Lot別の吸光度、精度管理比較
- ⑧ CAPサーベイ（定性判定のみ）

今日の検査は何点？
考えながら検査していますか？