

# 2020年度IGRA(QFT)外部精度管理

QFT検査の品質向上に向けた提案

2021年6月26日  
結核感染診断研究会(Web)

ファルコバイオシステムズ  
熊本研究所 山下和也

# はじめに

- 結核感染診断研究会は2020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

# 2020年度 IGRA〔QFT〕 外部精度管理調査

## 調査項目

- 試料 レベル1、2 三重測定（IFN- $\gamma$ 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）
- 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）

# 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- $\gamma$ 量を算出(戻り値)

- 求めたIFN- $\gamma$ 量と理論値の比較検討

- S4とレベル1のIFN- $\gamma$ 量を比較検討

- S2IFN- $\gamma$ 量とレベル2の相関検討

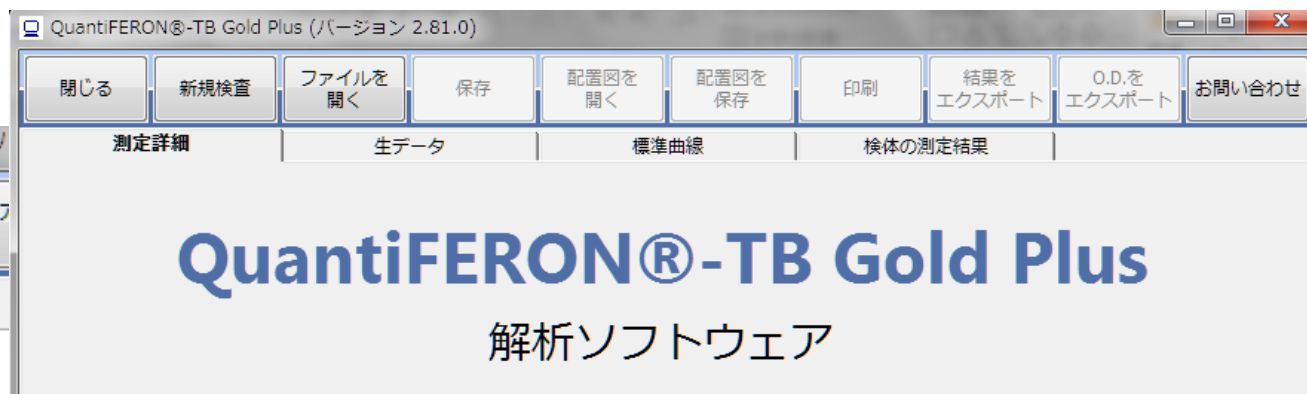
# ELISA試験の品質管理

- 標準液(S1)のODは0.600以上
- 標準液S1、S2のODの変動係数は15%以下
- 標準液S3、S4のODはそれぞれのOD平均 $\pm 0.040$ 以内
- IFN- $\gamma$ の標準曲線の相関係数は0.98以上
- 標準液S4の平均ODは0.150以下
- 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OIU/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。

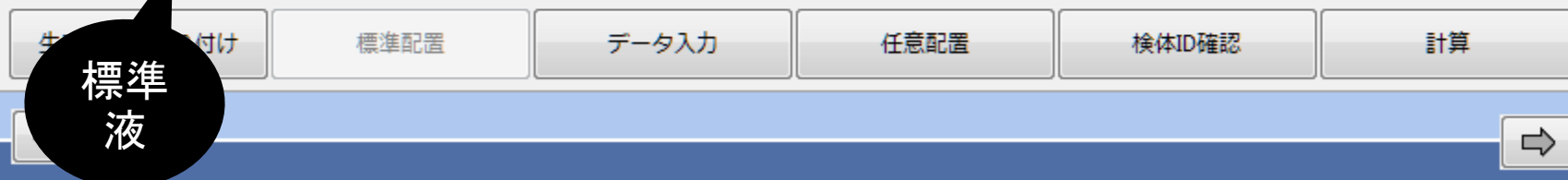
標準液のODを  
試料として代入

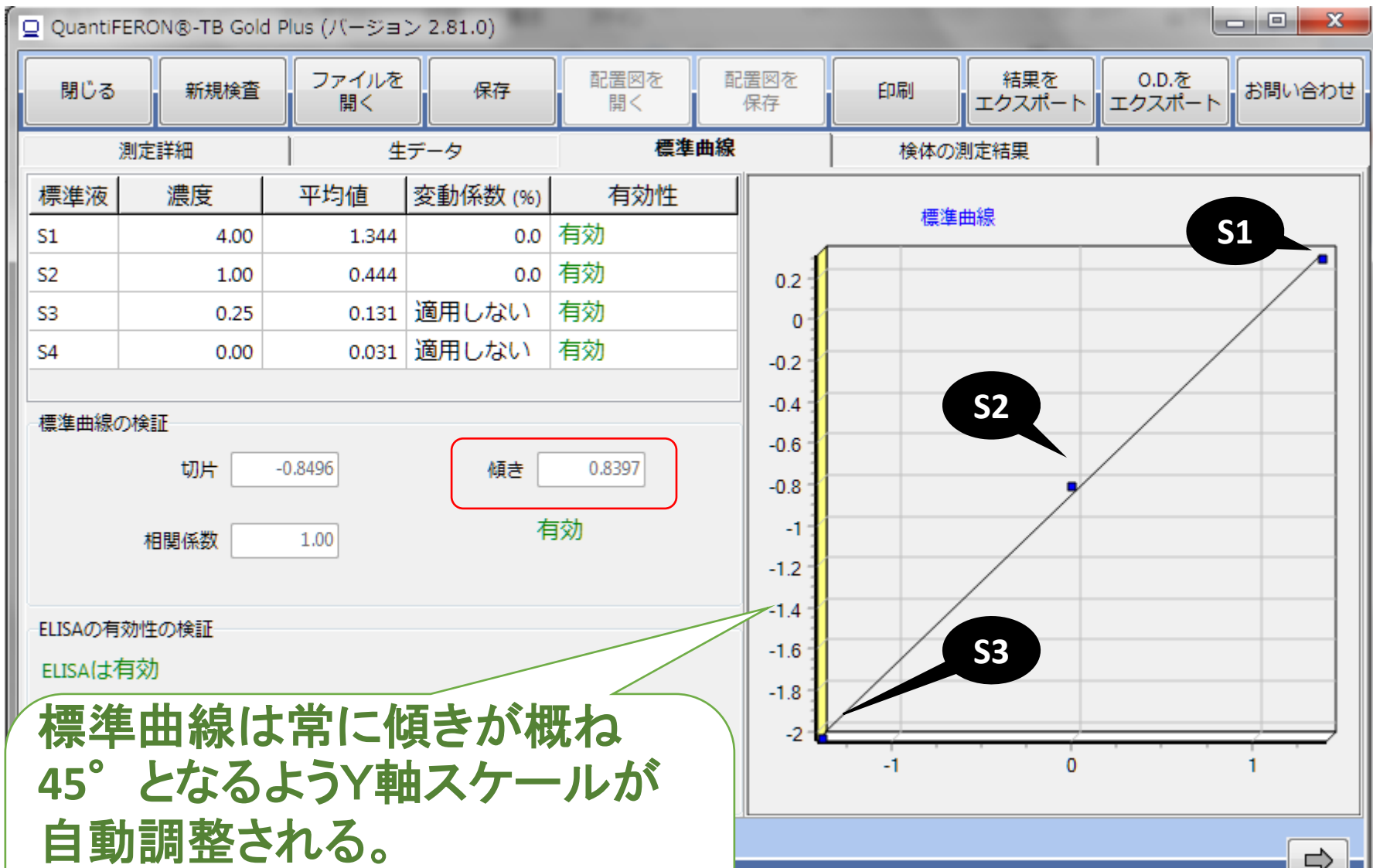
| 測定詳細 |             |               |
|------|-------------|---------------|
|      | 1           | 2             |
| A    | S1<br>1.344 | 1N<br>1.334   |
| B    | S2<br>0.444 | 1TB1<br>0.444 |
| C    | S3<br>0.131 | 1TB2<br>0.131 |
| D    | S4<br>0.031 | 1M<br>0.031   |
| E    | S1<br>1.344 | データな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

標準  
液



QFT専用解析ソフトを利用し、標準液の結果を試料結果として代入することで、検量線の妥当性を確認する。





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。

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

|      |                |                |                |                    |                        |                        |                            |                 |        |
|------|----------------|----------------|----------------|--------------------|------------------------|------------------------|----------------------------|-----------------|--------|
| 閉じる  | 新規検査           | ファイルを<br>開く    | 保存             | 配置図を<br>開く         | 配置図を<br>保存             | 印刷                     | 結果を<br>エクスポート              | O.D.を<br>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<br>(IU/ml) | TB1<br>(IU/ml) | TB2<br>(IU/ml) | Mitogen<br>(IU/ml) | TB1-<br>Nil<br>(IU/ml) | TB2-<br>Nil<br>(IU/ml) | Mitogen-<br>Nil<br>(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=S1  
4.0IU/mL

TB1=S2  
1.0IU/mL

TB2=S3  
0.25IU/mL

Mitogen=S4  
0IU/mL

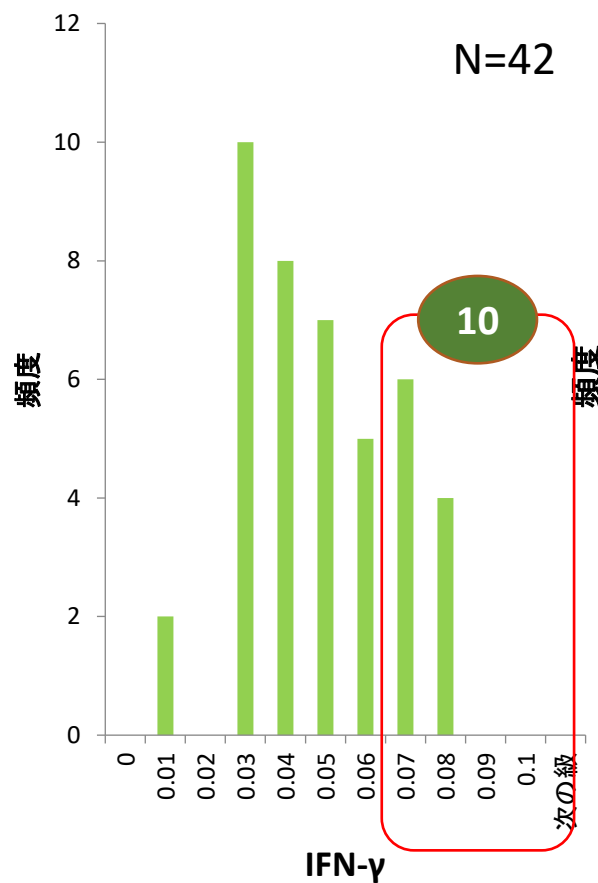
# ブランク値の評価

## S4 ,レベル1 報告値からの検討

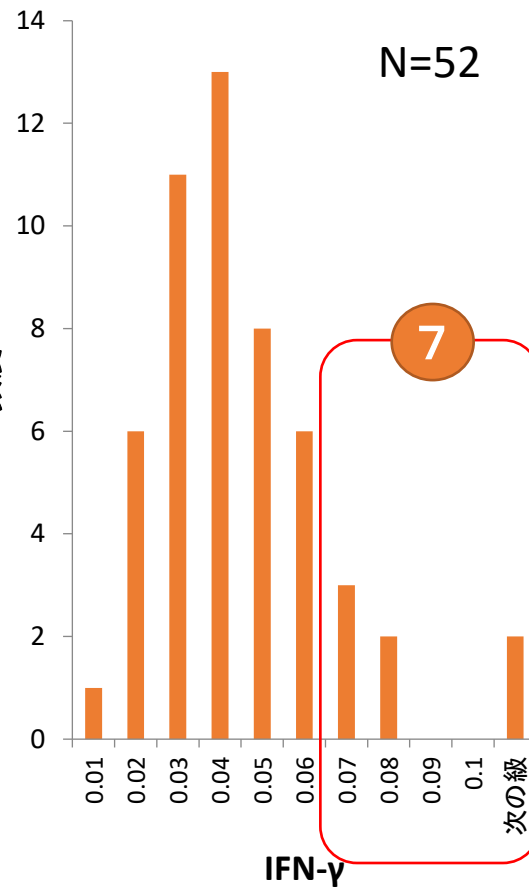
評価対象外の1施設を除く42施設報告値を対象とした。

# S4(IFN- $\gamma$ :ブランク値)の年度推移

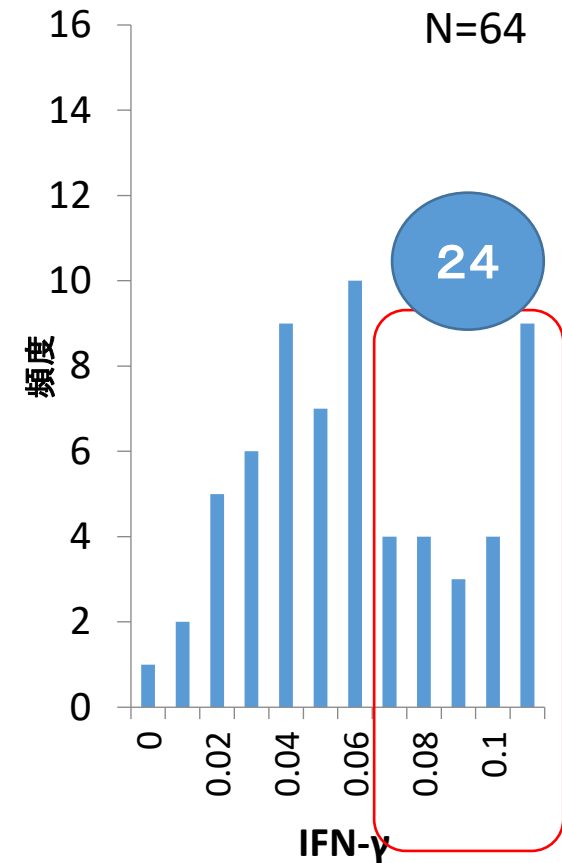
S4 IFN- $\gamma$ (2020年度)



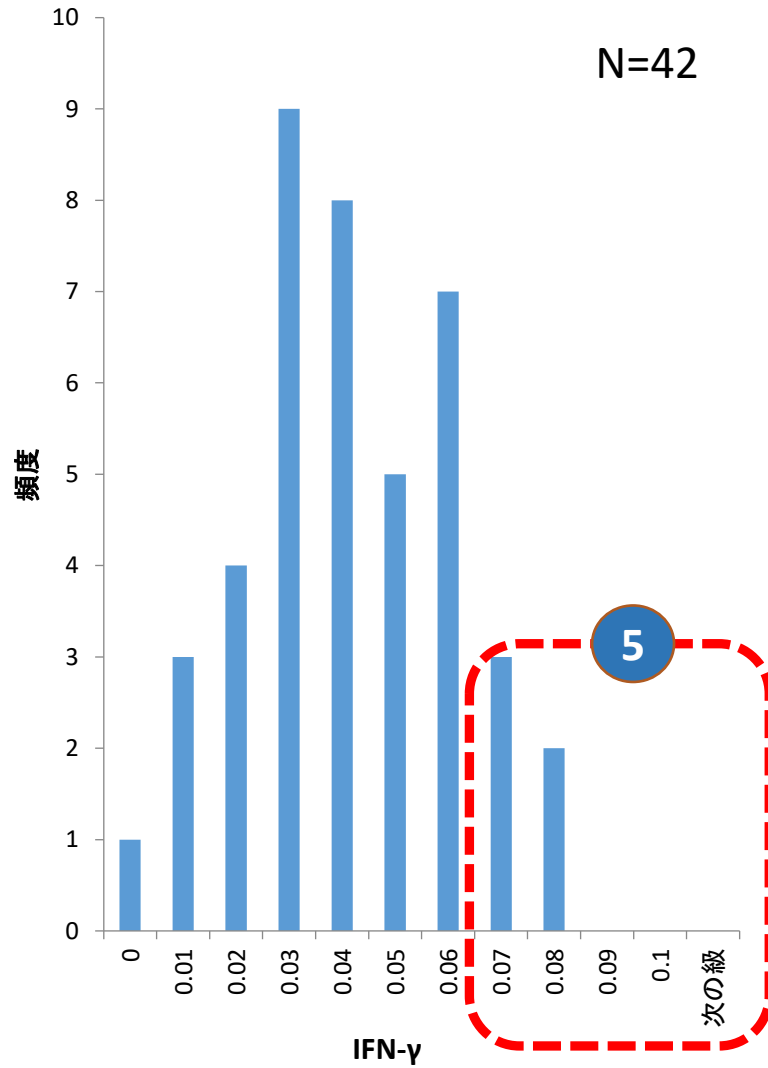
S4 IFN- $\gamma$ (2019年度)



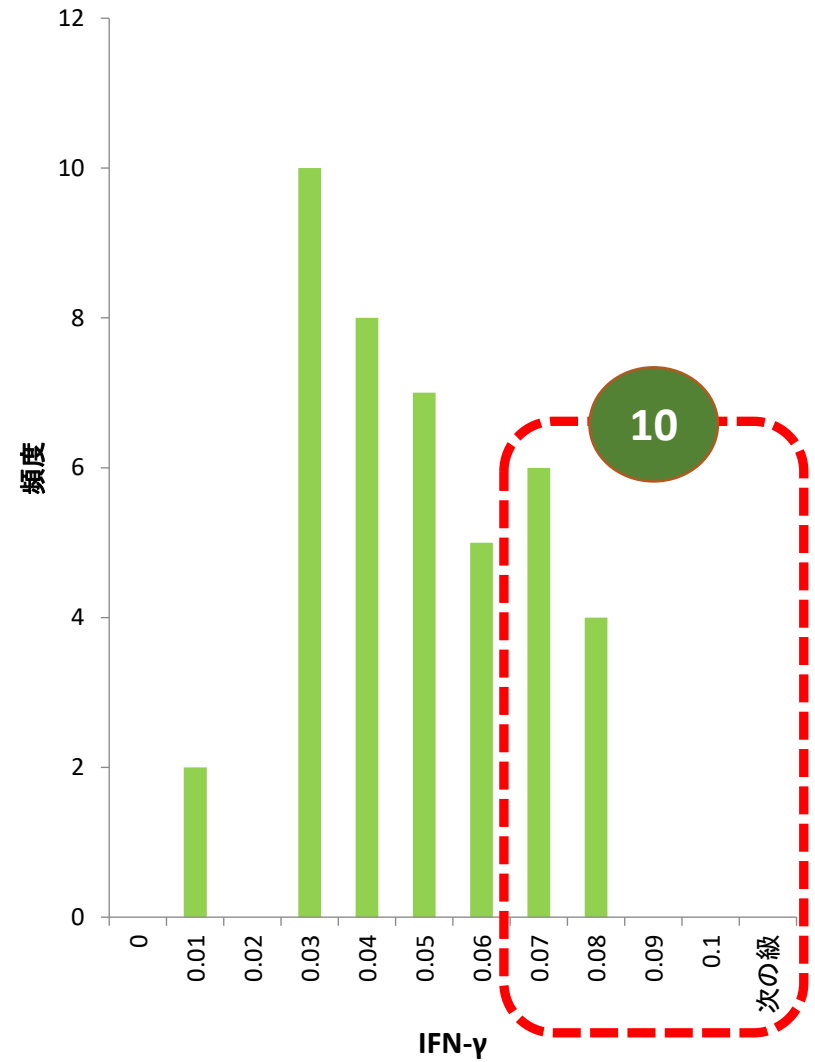
S4 IFN- $\gamma$ (2018年度)



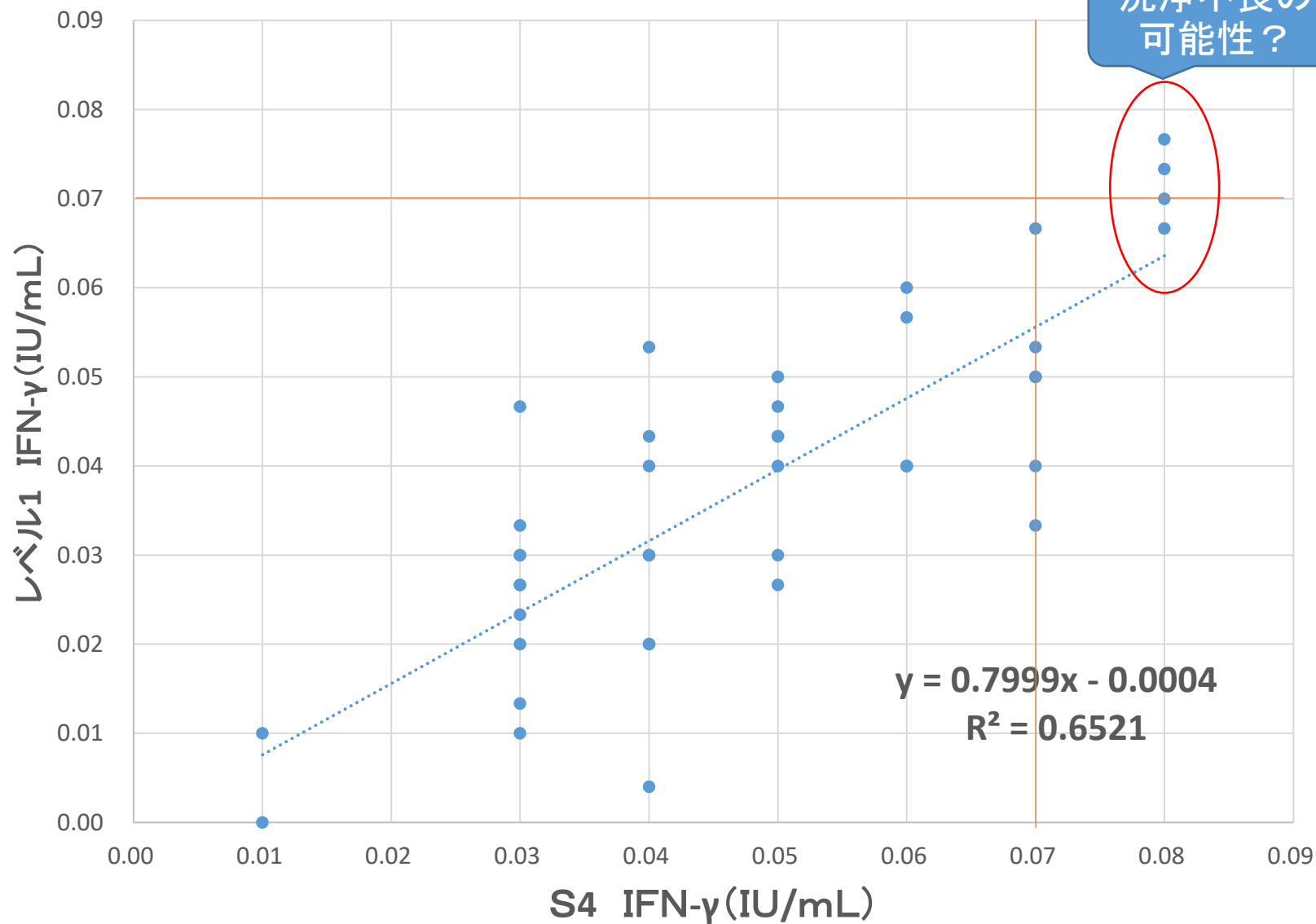
## Level1



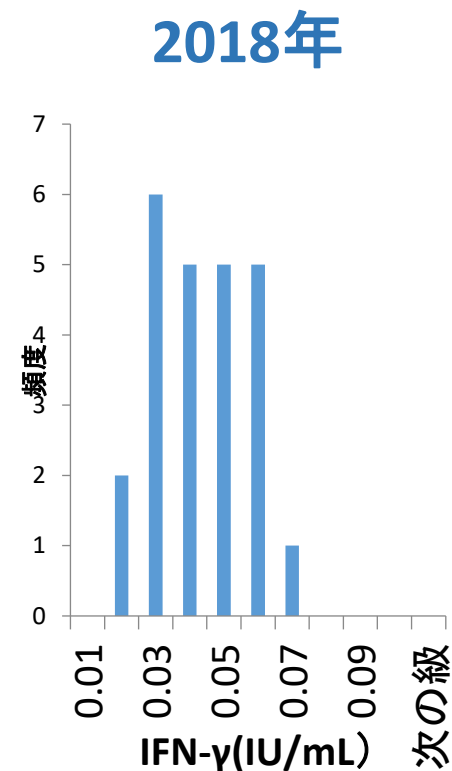
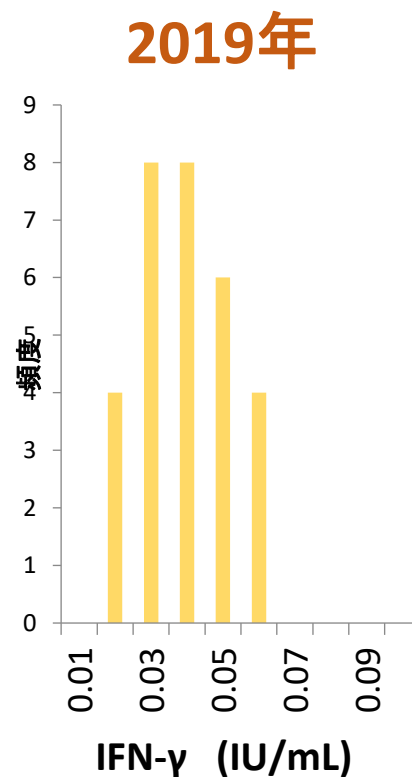
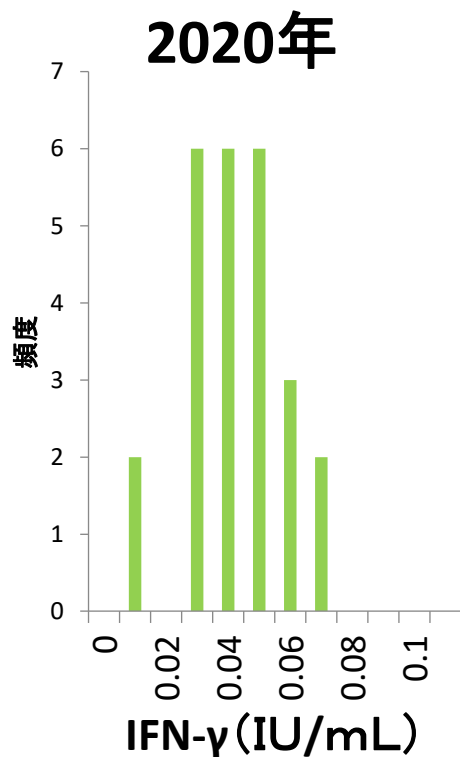
## S4 IFN- $\gamma$ (2020年度)



# レベル1とS4の相関



A評価のS4(IFN- $\gamma$ )を元に2SD反復切断後(臼井法)のヒストグラムにより基準範囲を設定した。



基準値

0.07以下

0.06以下

0.07以下

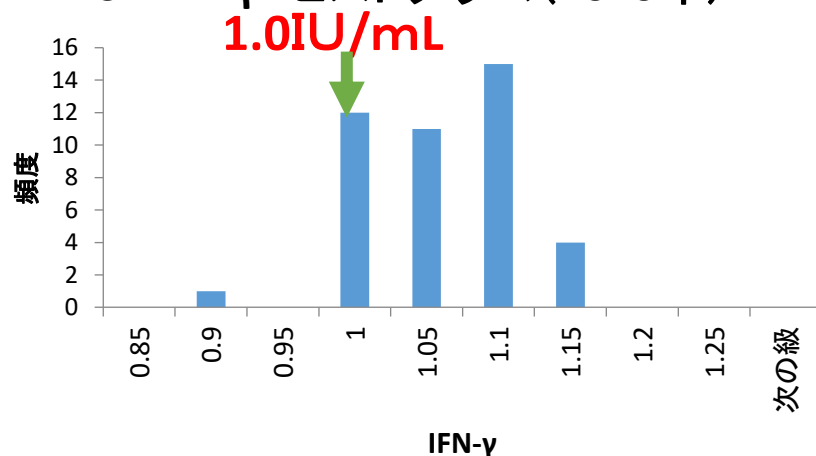
# S4,レベル1に関するまとめ

- S4の評価より、一部でブランク高値が見られるものの前年度とほぼ同等。
- S4とレベル1との乖離は見られなくなった。
- S4 ODより求めたIFN- $\gamma$ 値は0.07IU/mL以下が適切と考えられた。過去4年間の集計よりブランク値の基準値は0.07IU/mL以下と設定可能と考えられる。

# S2に関する考察

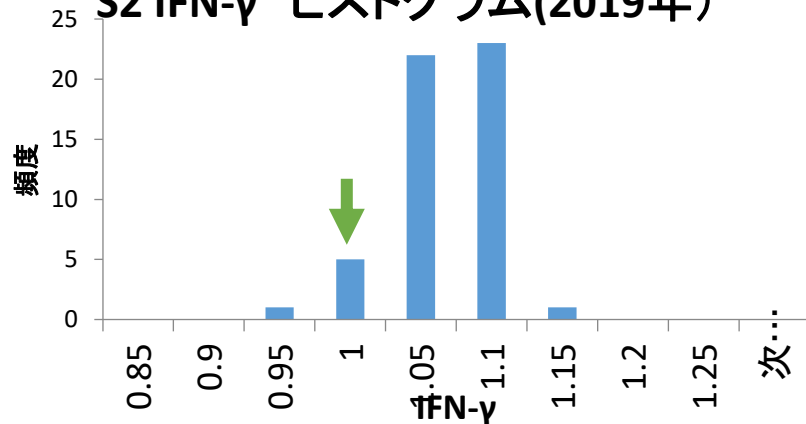
S2 (1.0IU/mL)はカットオフ0.35IU/mLに対する検量線の影響を反映するため、43施設のS2戻り値について分布状況を確認した。

S2 IFN- $\gamma$  ヒストグラム(2020年)



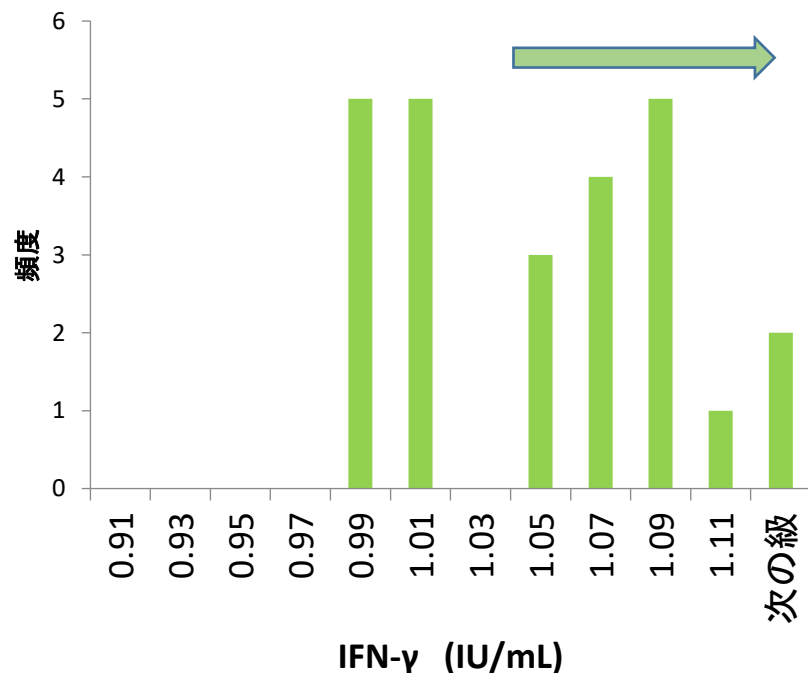
S2戻り値は0.90～1.14IU/mLの範囲で分布しており、前年の0.95～1.11IU /mLと比較しほぼ同等で、5～10%高い傾向は継続していた。

S2 IFN- $\gamma$  ヒストグラム(2019年)

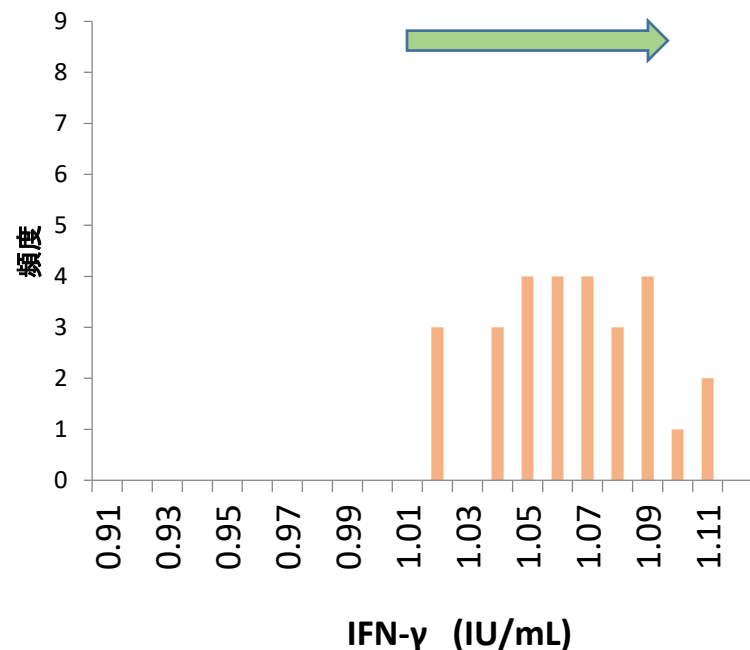


A評価25施設のS2 (IFN- $\gamma$ )を元に2SD反復切断後(臼井法)のヒストグラムにより基準範囲を設定した。

S2 IFN- $\gamma$ (2020年)



S2 IFN- $\gamma$ (2019年)



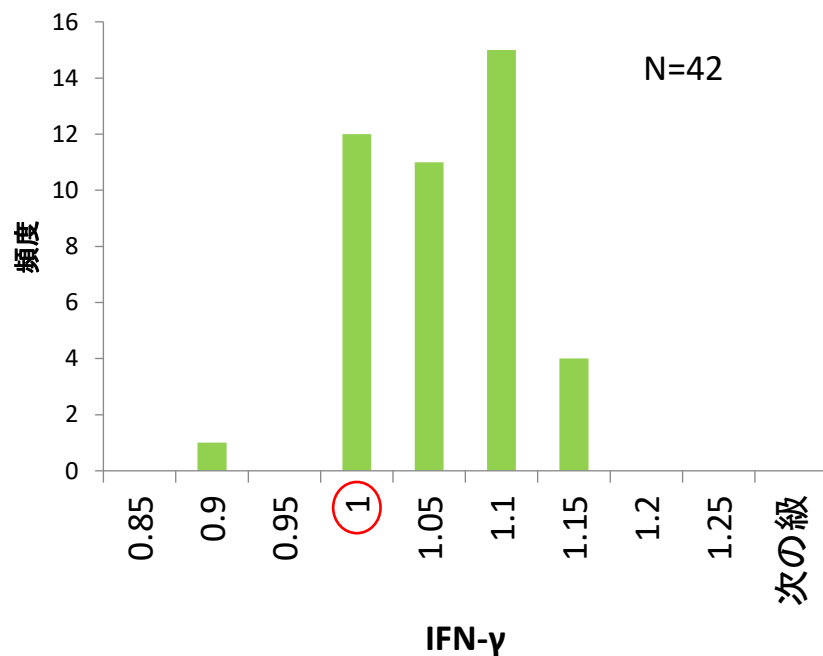
S2基準値

0.98~1.12

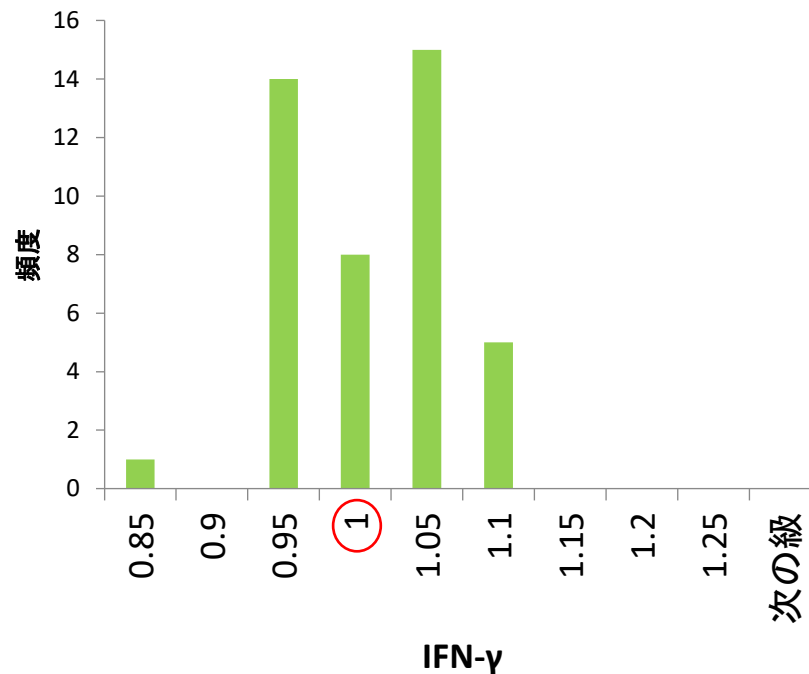
1.02~1.11

前年と同様S2ヒストグラムは理論値1.0IU/mLよりも右寄りにシフト

### S2 IFN- $\gamma$ ヒストグラム(2020年)



### S2-S4 IFN- $\gamma$ ヒストグラム(2020年)



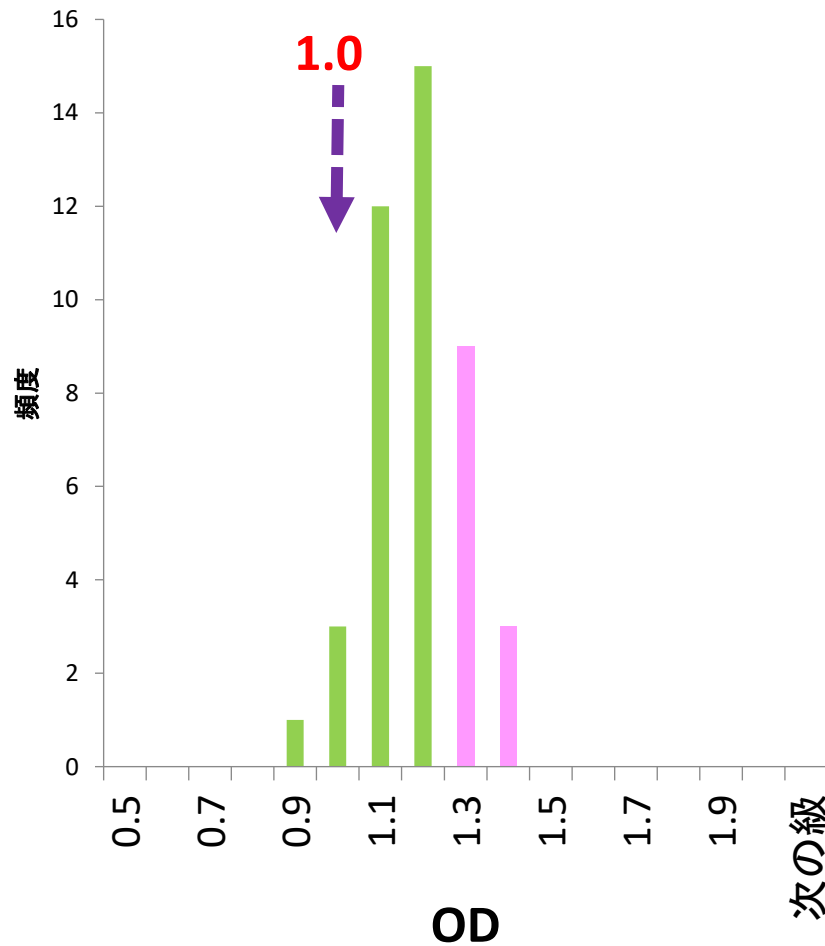
S2よりS4のIFN- $\gamma$ 値を差し引くことでブランク補正を試みた結果、S2-S4平均は0.993と理論値1.0IU/mL近似となった。

2019年度はS1吸光度が高く、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。

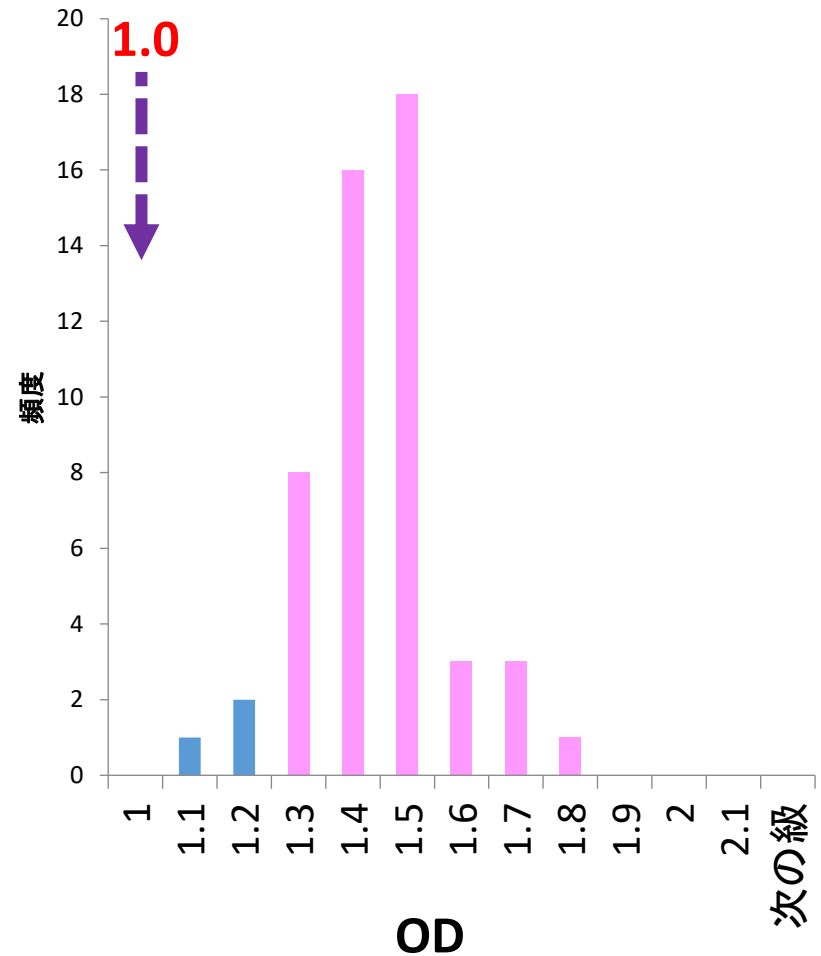
2020年度は？

# S1 OD値の年度比較

## S1 OD (2020年・4G)



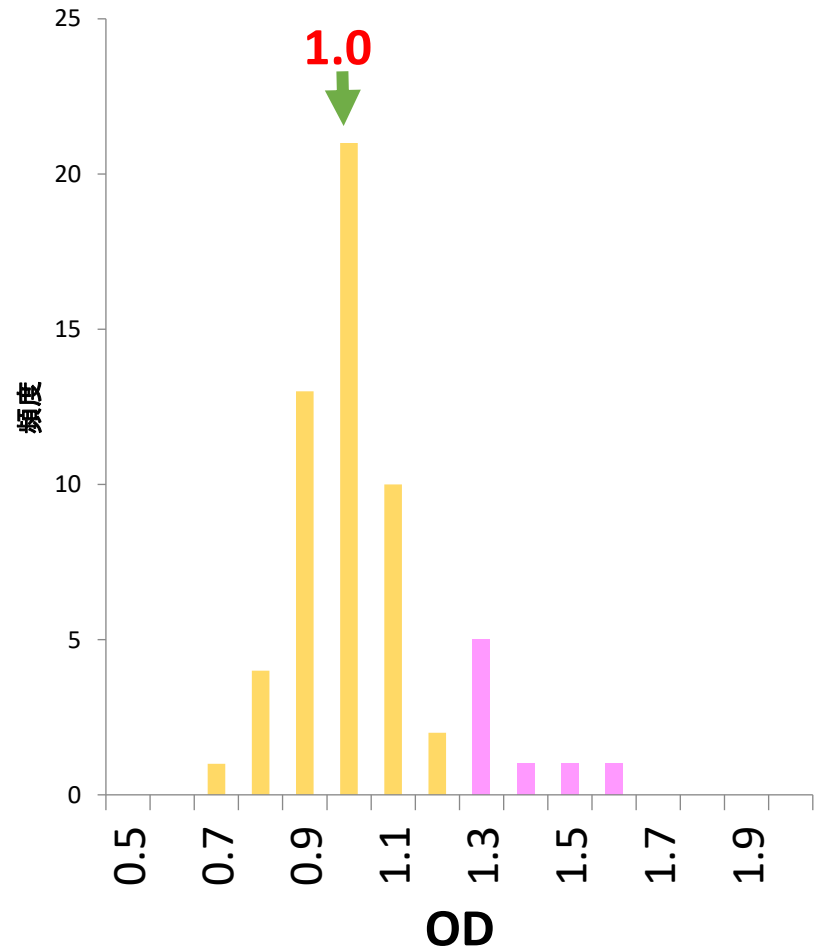
## S1 OD (2019年・4G)



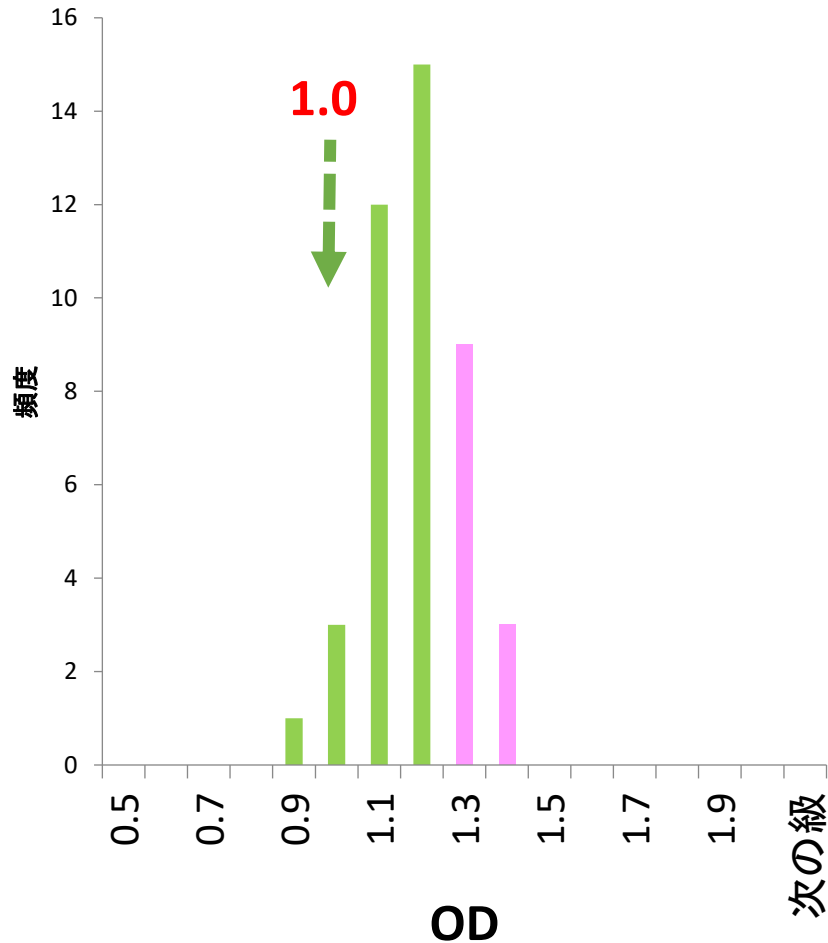
S1 ODは前年度と比較し、高値傾向は改善した。

# S1 OD値の年度比較

S1 OD(2018年・3G)



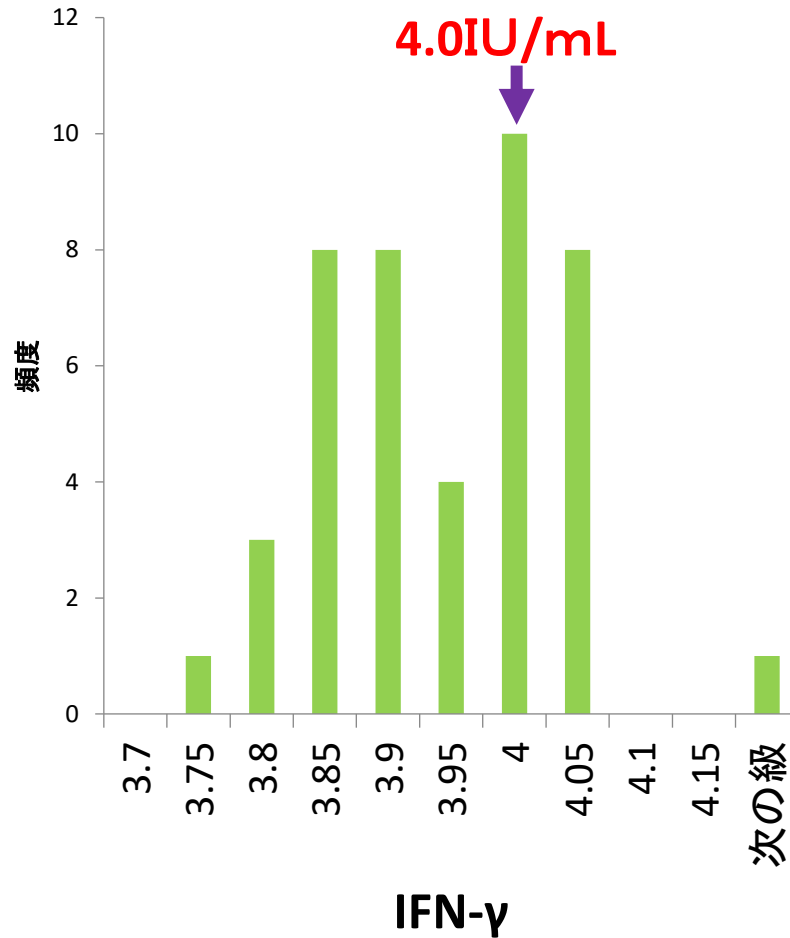
S1 OD (2020年・4G)



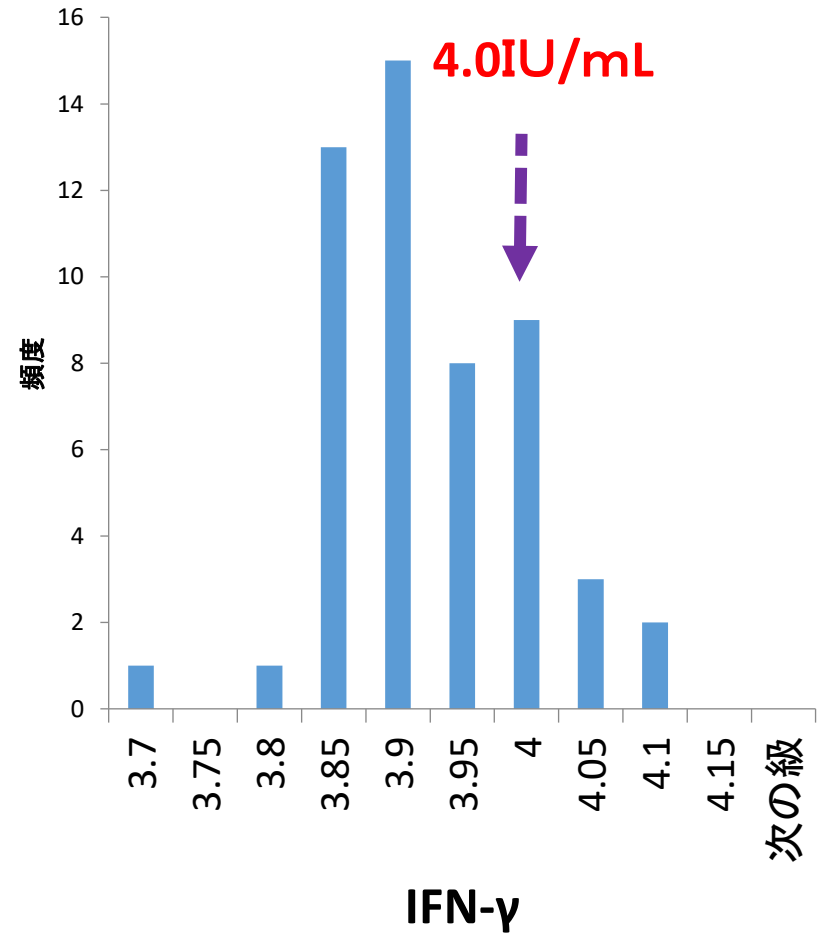
S1 ODは前々年度と比較しほぼ同等？。

# S1 IFN- $\gamma$ 戻り値の年度比較

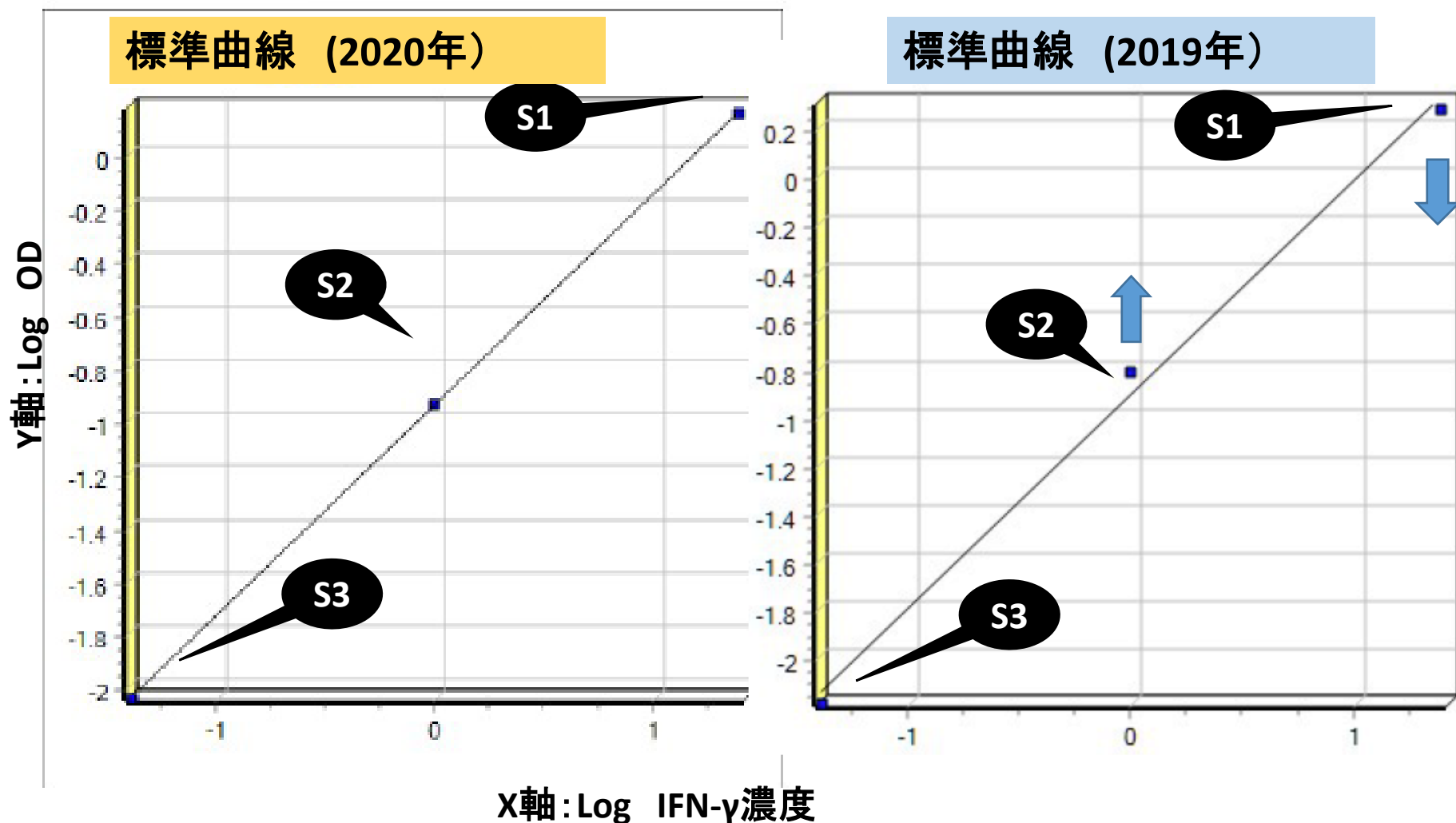
## S1 IFN- $\gamma$ (2020年・4G)



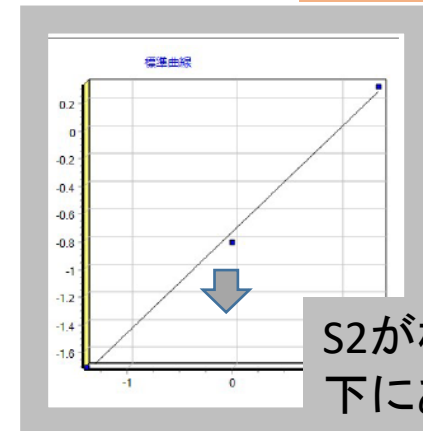
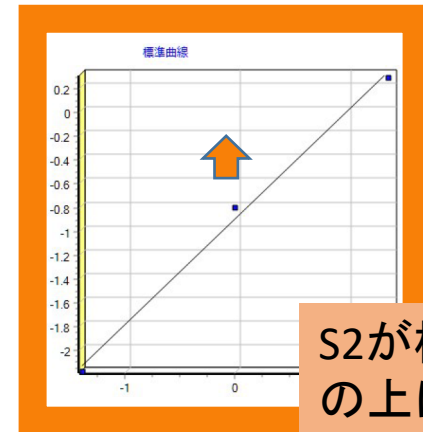
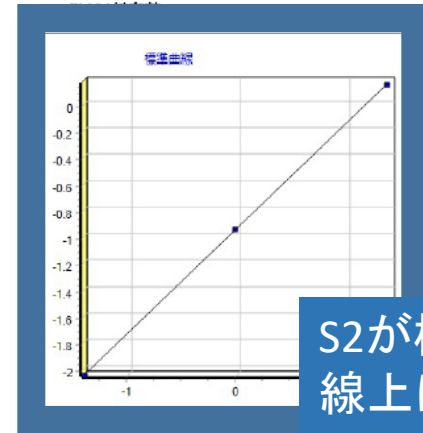
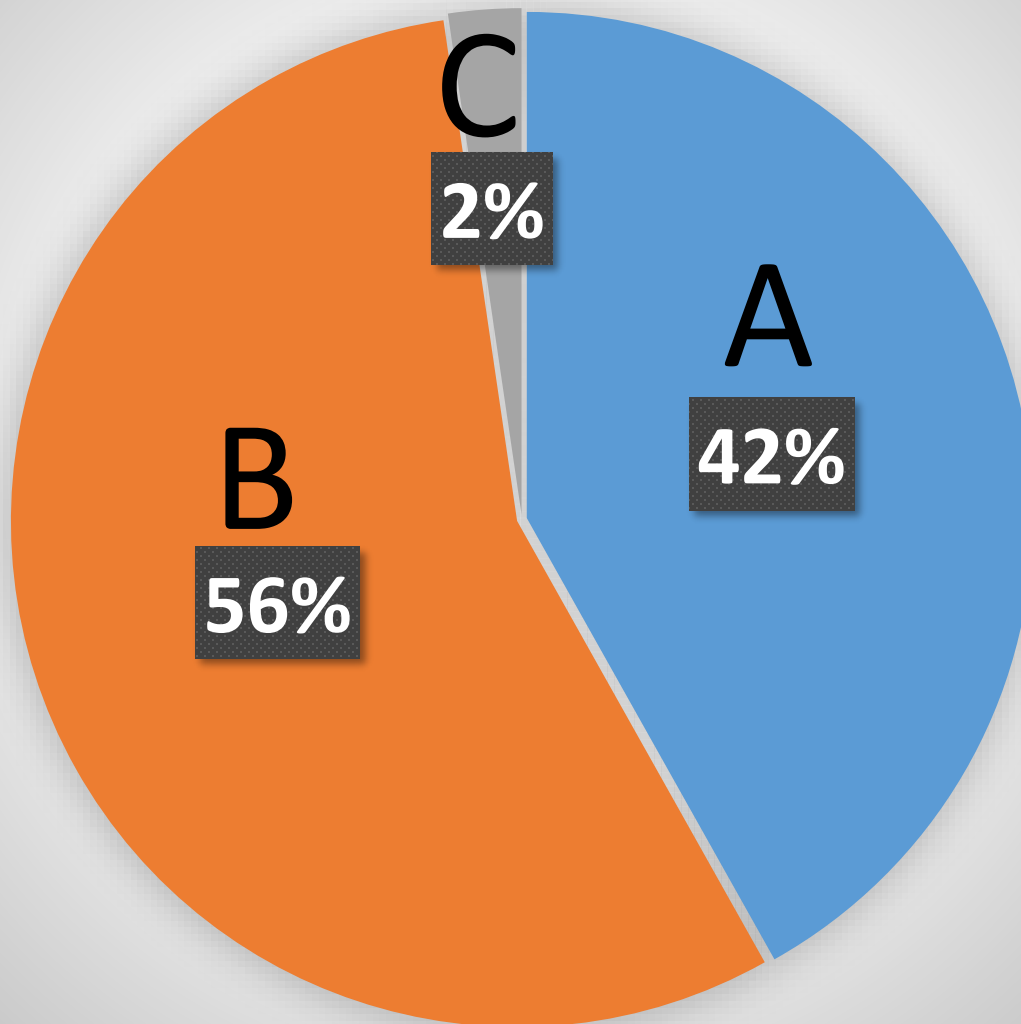
## S1 IFN- $\gamma$ (2019年・4G)



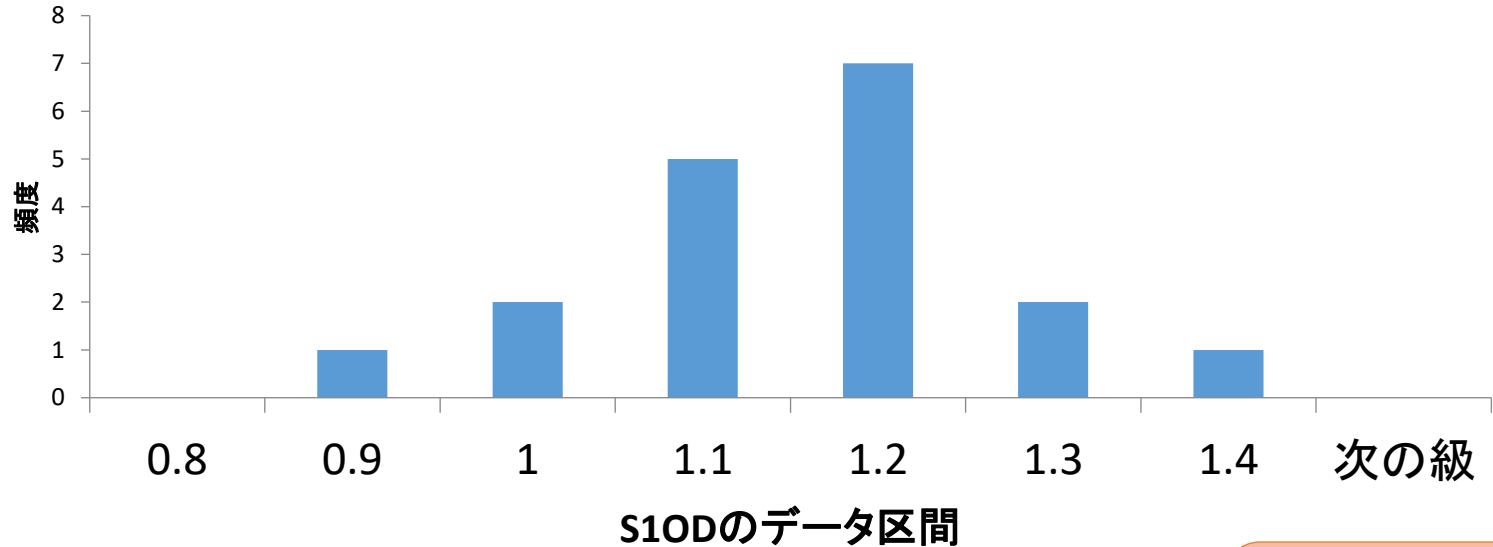
2019年はS2が標準曲線の上側に、S1は下側にプロットされた施設が多かったが、2020年では改善が見られた。  
しかし、2019年のパターンは2020年で**56%**に見られた。



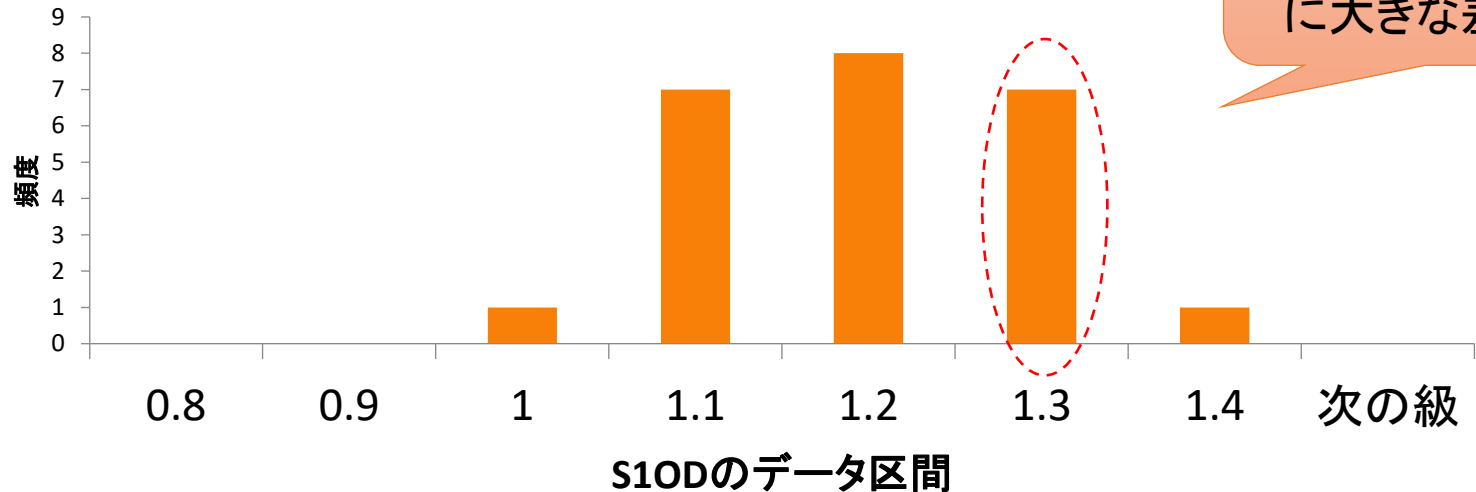
# 検量線パターン



## 検量線Aパターンのヒストグラム



## 検量線Bパターンのヒストグラム



2つのヒストグラムには赤丸の個所以外に大きな差は無い

検量線Bパターンの原因はS10Dの高さだけではない？

# 検量線Bパターンの原因

## S1～S30Dのバランス不良？

### 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

# ピペットの性能を理解し、メンテナンスしていますか？

- 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<br>$\mu\text{l}$ | Inaccuracy    |           |
|--------|----------------------|-------------------------|---------------|-----------|
|        |                      |                         | $\mu\text{l}$ | %         |
| 可変ピペット | 10-100 $\mu\text{l}$ | 100                     | $\pm 0.80$    | $\pm 0.8$ |
|        |                      | 10                      | $\pm 0.80$    | $\pm 8.0$ |
|        | Fixed Volume         |                         | Inaccuracy    |           |
|        |                      | $\mu\text{l}$           | $\mu\text{l}$ | %         |
| 固定ピペット |                      | 50                      | $\pm 0.3$     | $\pm 0.6$ |



- 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に関する考察

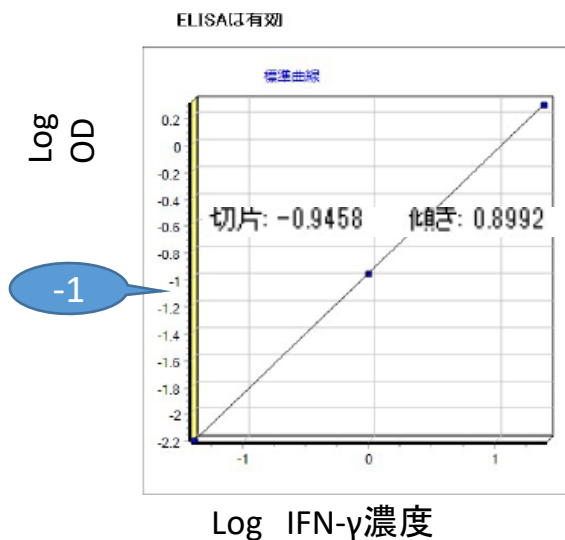
- 2020年度調査においてS2IFN- $\gamma$ 戻り値はやや高値傾向となったがブランクのS4を差し引くと概ね理論値と同等であった。
- 2020年度のS1ODの分布は、2019年度に比べ1.20以上の施設は減少したが約3割存在した。
- S1IFN- $\gamma$ 戻り値の分布は理論値より低値側に広く分布し、この傾向は前年と同様であった。
- S2プロットが検量線から外れる原因はS1ODの高値化だけが要因ではなさそうである。

# 事例紹介

# Case1 半自動分析装置

1

|                       | S1<br>(4IU/mL) | S2<br>(1IU/mL) | S3<br>(0.25IU/mL) | S4<br>(0IU/mL) |
|-----------------------|----------------|----------------|-------------------|----------------|
| OD                    | 1.355          | 0.386          | 0.112             | 0.020          |
| IFN- $\gamma$ (IU/mL) | 4.010          | 0.990          | 0.250             | 0.040          |



## 報告値

|           | IFN- $\gamma$ (IU/mL) |
|-----------|-----------------------|
| レベル1      | 0.040                 |
| レベル2 (平均) | 0.223 ↓               |

## 考えられる要因

- ・自動分析装置の問題
- ・事務的エラー
- ・試料調整不良 など



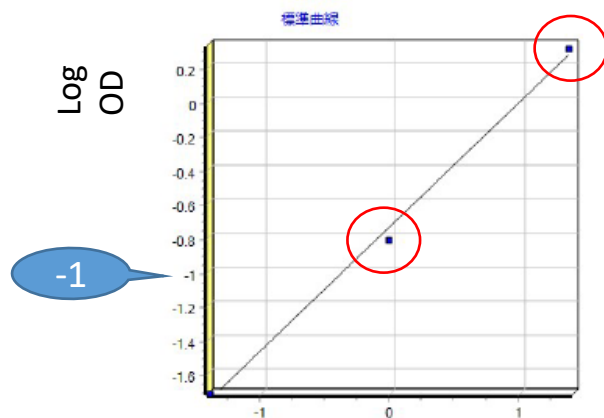
上記要因は全て否定され追跡調査中

# Case2 全自動分析装置

1

|                       | S1<br>(4IU/mL)   | S2<br>(1IU/mL)     | S3<br>(0.25IU/mL) | S4<br>(0IU/mL) |
|-----------------------|------------------|--------------------|-------------------|----------------|
| OD                    | <u>1.385</u>     | 0.448              | 0.182             | 0.071          |
| IFN- $\gamma$ (IU/mL) | $\uparrow$ 4.210 | $\downarrow$ 0.900 | 0.260             | 0.070          |

ELISAは有効



Log IFN- $\gamma$ 濃度

切片: -0.7270

傾き: 0.7320

報告値

|           | IFN- $\gamma$ (IU/mL) |
|-----------|-----------------------|
| レベル1      | 0.247 $\uparrow$      |
| レベル2 (平均) | 0.637 $\uparrow$      |

考えられる要因

- ・自動分析装置の問題
- ・事務的エラー
- ・試料調整不良
- ・試料間違い など



複数の要因が疑われるが原因は不明

# 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？



つづく