

# 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？**

# 指標がない項目はどうする？

- コントロールパネルの評価基準はどう設定する？
- 内部コントロールの基準は？
- S1 ODの評価基準は？
- 検量線の傾きの評価基準は？
- Lot変更時の変動は？

## 3. 同時再現性試験

- (1) 4 IU/mLのIFN- $\gamma$ 標準液 (S1) を試料として6回同時に測定するとき、吸光度の変動係数 (CV (%)) は15%以下である。
- (2) 1 IU/mLのIFN- $\gamma$ 標準液 (S2) を試料として6回同時に測定するとき、吸光度の変動係数 (CV (%)) は15%以下である。
- (3) 0.25 IU/mLのIFN- $\gamma$ 標準液 (S3) を試料として6回同時に測定するとき、吸光度はその平均値の $\pm 0.040$ 以内である。
- (4) 0 IU/mLの希釈緩衝液 (S4) を試料として6回同時に測定するとき、吸光度はその平均値の $\pm 0.040$ 以内である。



吸光度で示されても  
IFN- $\gamma$ 量では？

# クオンティフェロン検査 の性能に関する考察

結核感染診断研究会Web

2021年6月26日

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

- クオンティフェロン検査の同時再現性は吸光度の15%以内とされているが、濃度 (IU/mL) としての性能は明らかにされていない。
- 精度管理を行う上でELISAの性能を明らかにすることは重要である。

# 対象と方法

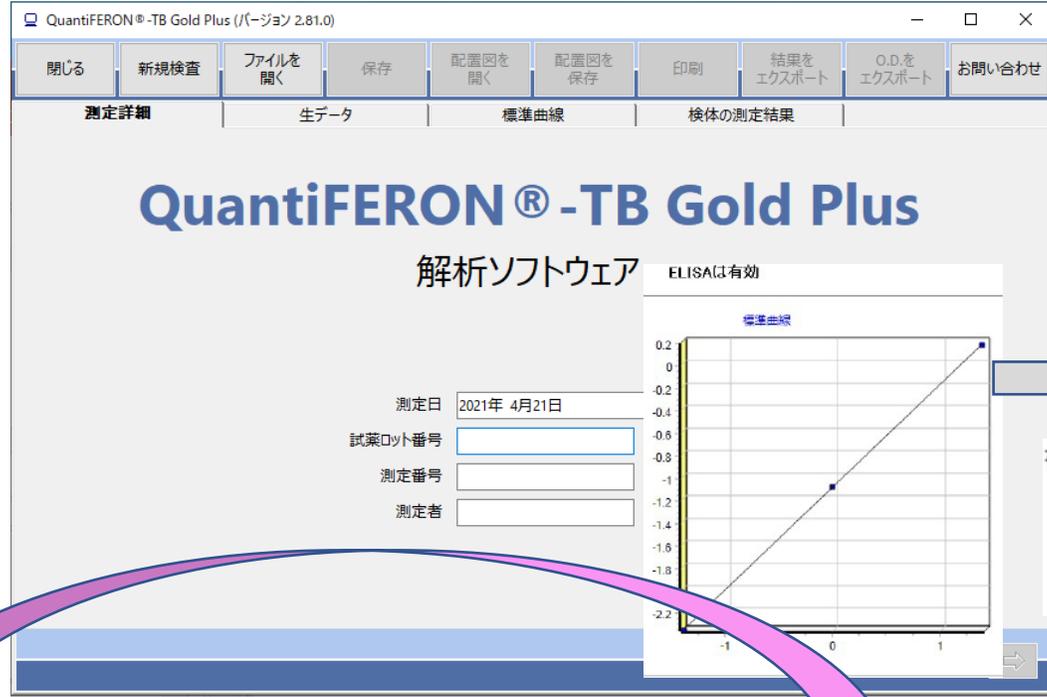
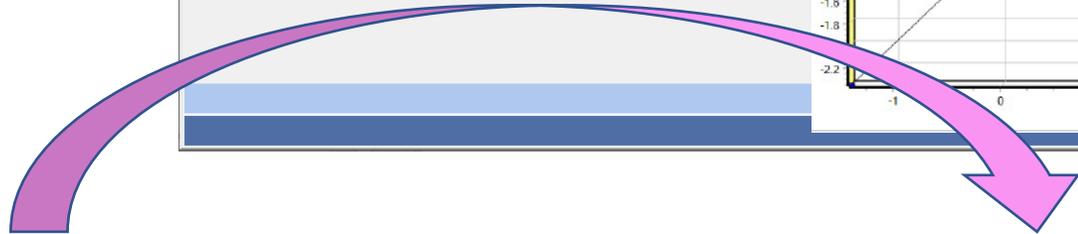
- 対象：2020年度精度調査（43施設）の標準液吸光度報告値
- 方法
  - ①各施設毎の標準液吸光度より検量線を作成
  - ②S2,S3の吸光度(OD)の±15%値を算出し、解析ソフトによりIFN- $\gamma$ 量を算出する
  - ③S2,S3のIFN- $\gamma$ 濃度に対する比率を算出
  - ④S2 or S3 ±15%の濃度レンジ（115%値－85%値）を算出
  - ⑤④で求めた濃度レンジと検量線の傾きの関係について検討

OD			
S1	S2	S3	S4
1.125	0.332	0.099	0.024



S2 OD	
下限-15%	上限+15%
0.2822	0.3818

S3 OD	
下限-15%	上限+15%
0.0884	0.1196



標準曲線の傾き

標準液	濃度	平均値	変動係数 (%)	有効性
S1	4.00	1.125	0.0	有効
S2	1.00	0.332	0.0	有効
S3	0.25	0.099	適用しない	有効
S4	0.00	0.024	適用しない	有効
切片: -1.0992		傾き: 0.8766	相関係数: 1.00 (有効)	

S2 IFN- $\gamma$ 1.00IU/ml	
下限-15%	上限+15%
0.83	1.17

S3 IFN- $\gamma$ 0.25IU/ml	
下限-15%	上限+15%
0.20	0.29



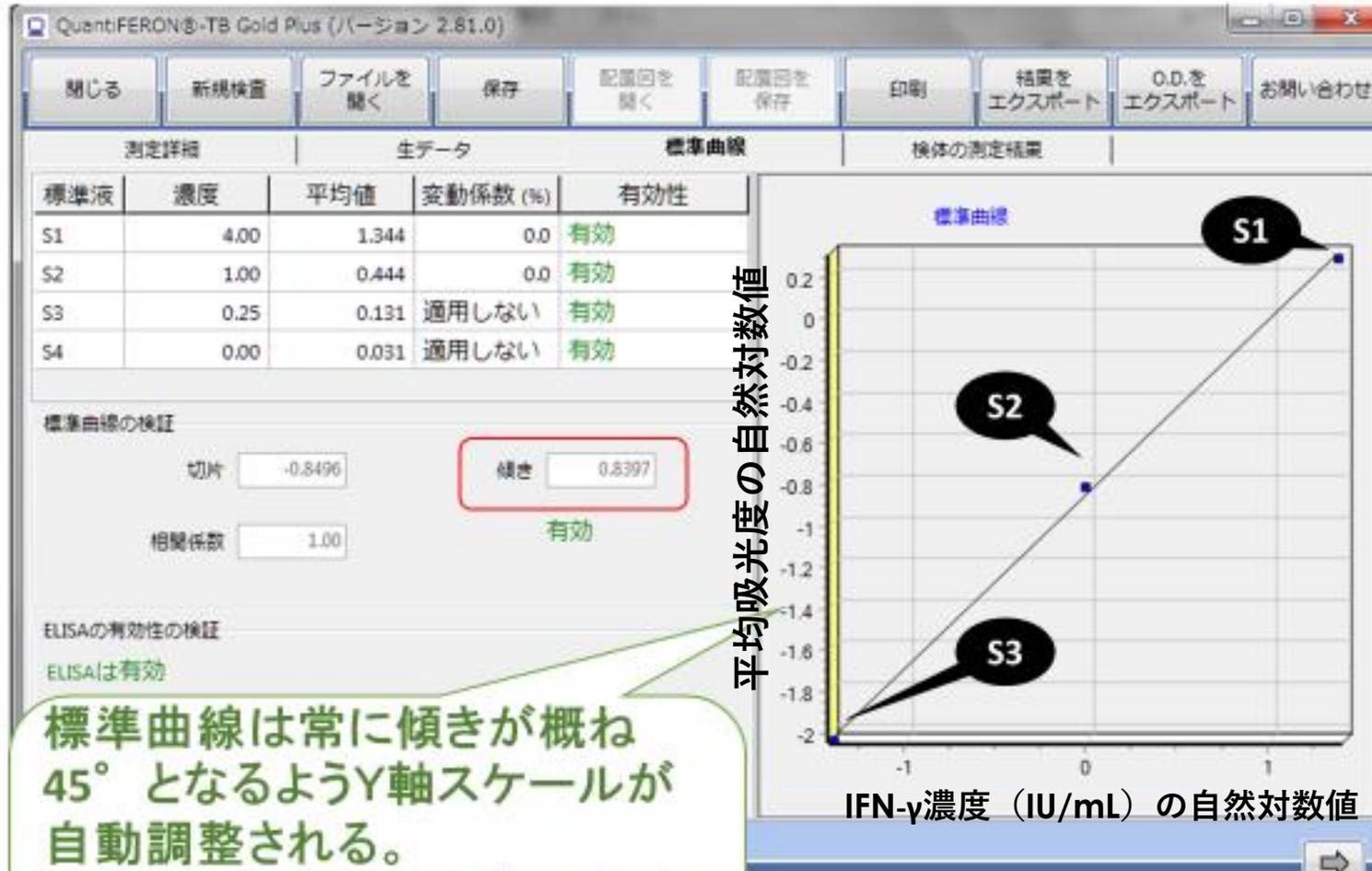
レンジ

0.34

0.09

(IU/mL)

# QFT-TB Gold plus 標準曲線



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。

標準液の濃度

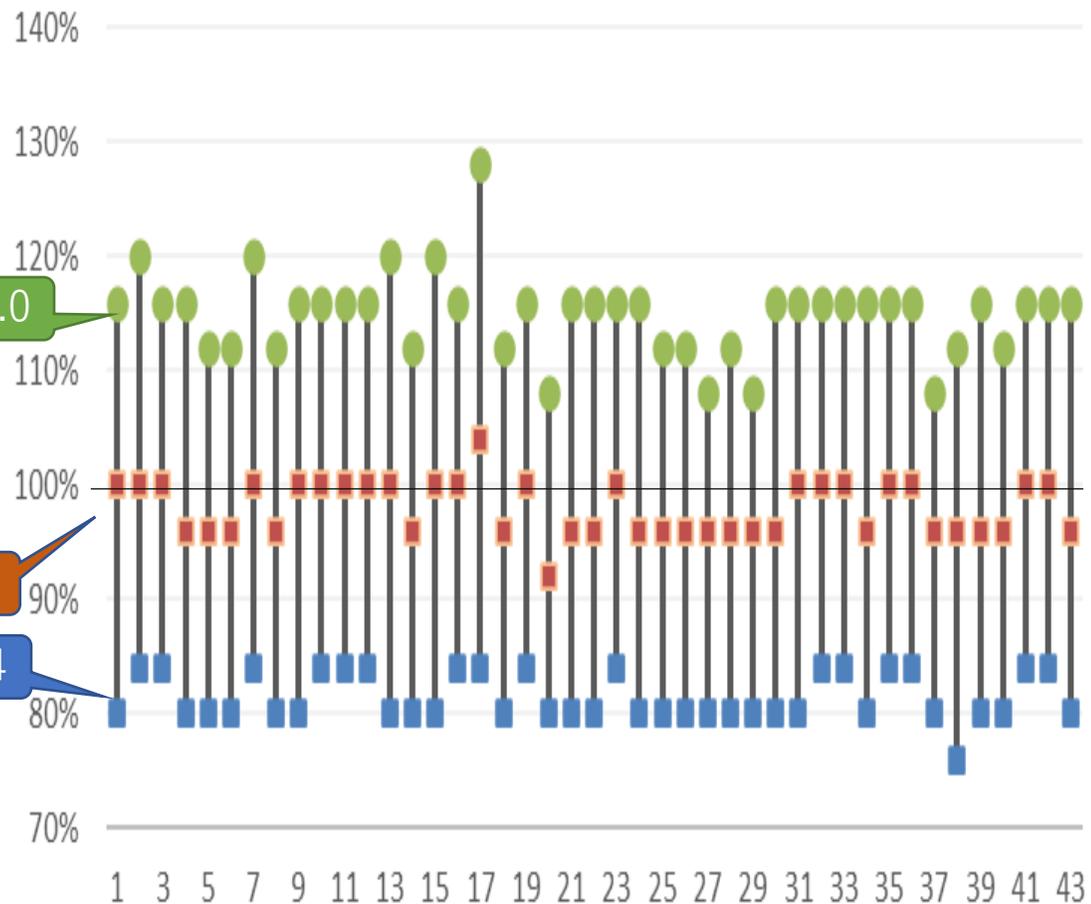
	濃度(IU/mL)
S1	4.00
S2	1.00
S3	0.25
S4	0.00

OD115%のIFN- $\gamma$  平均%

OD100%のIFN- $\gamma$  平均%

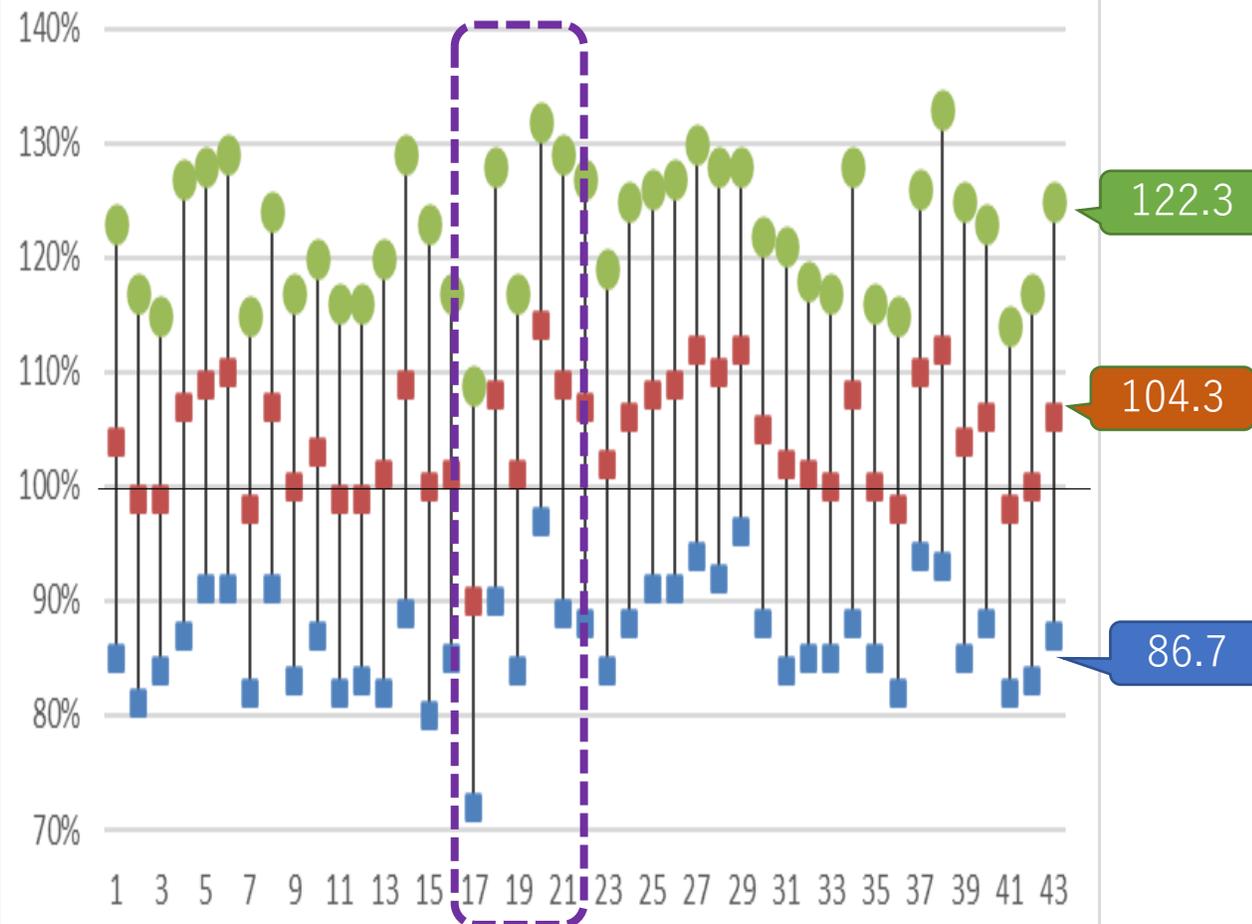
OD85%のIFN- $\gamma$  平均%

S3の変動幅 0.25 IU/mL



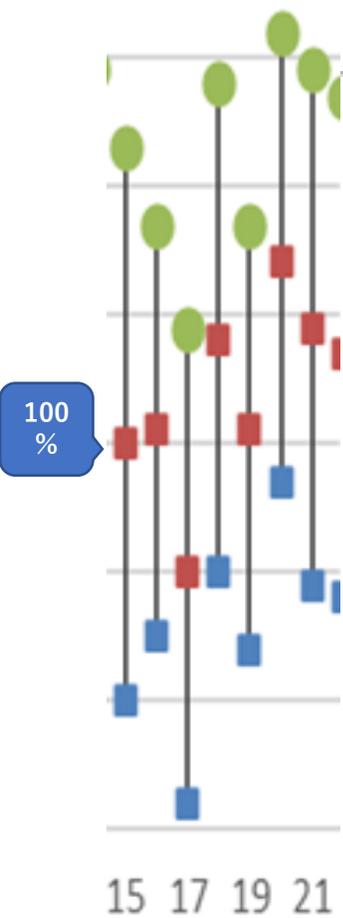
S3の平均変動範囲は理論値の81.4%~115.0%

S2の変動幅 1.00 IU/mL

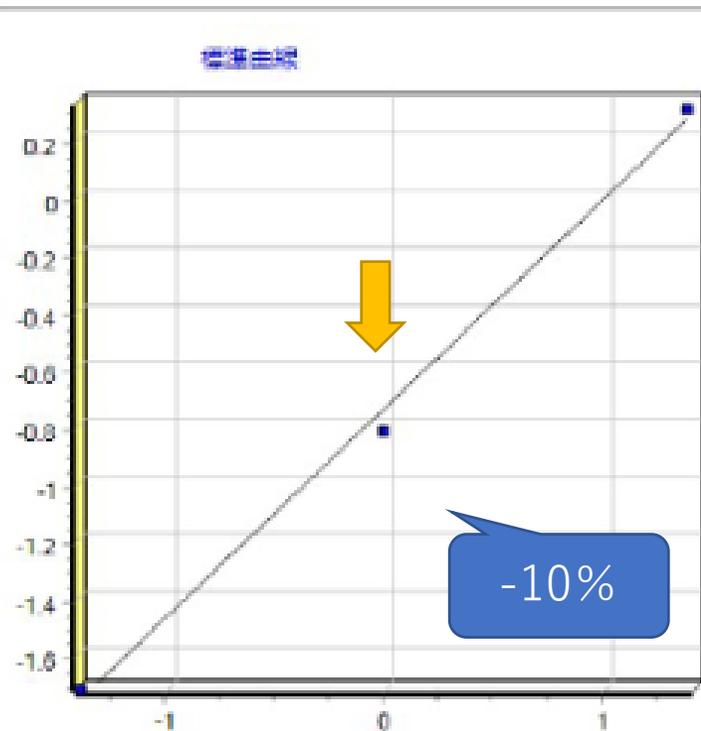


S2の平均変動範囲は理論値の86.7%~122.3%

S2の変動幅

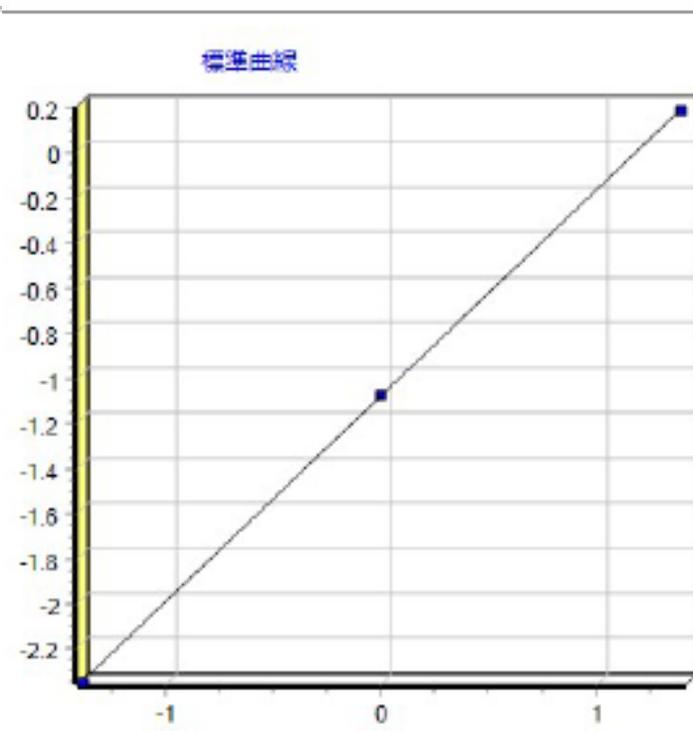


ELISAは有効



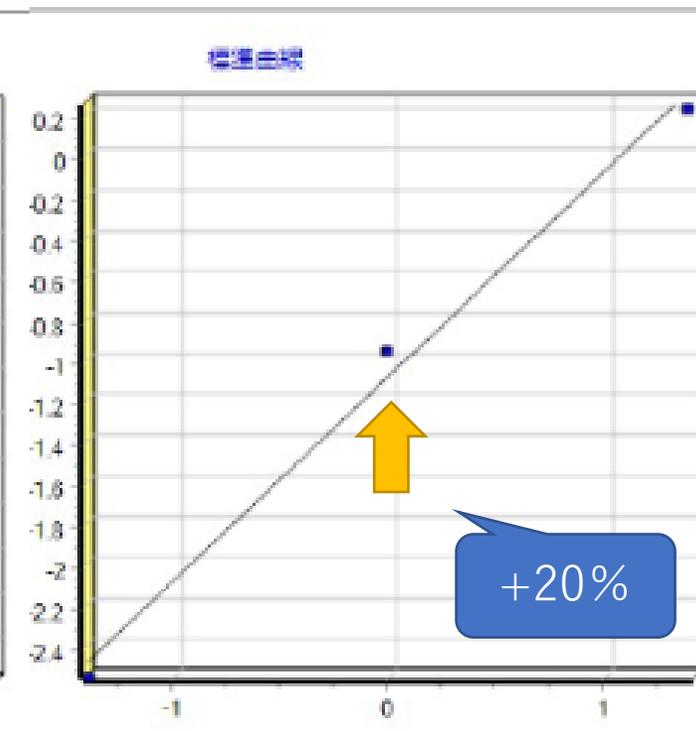
No.17 検量線

ELISAは有効



No.19 検量線

ELISAは有効



No.20 検量線

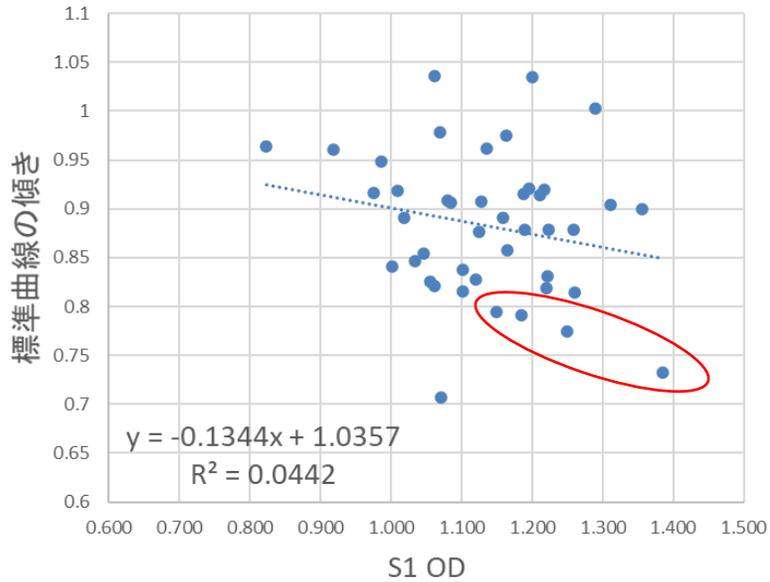
X軸：IFN-γ濃度 (IU/mL) の自然対数値

Y軸：平均吸光度の自然対数値

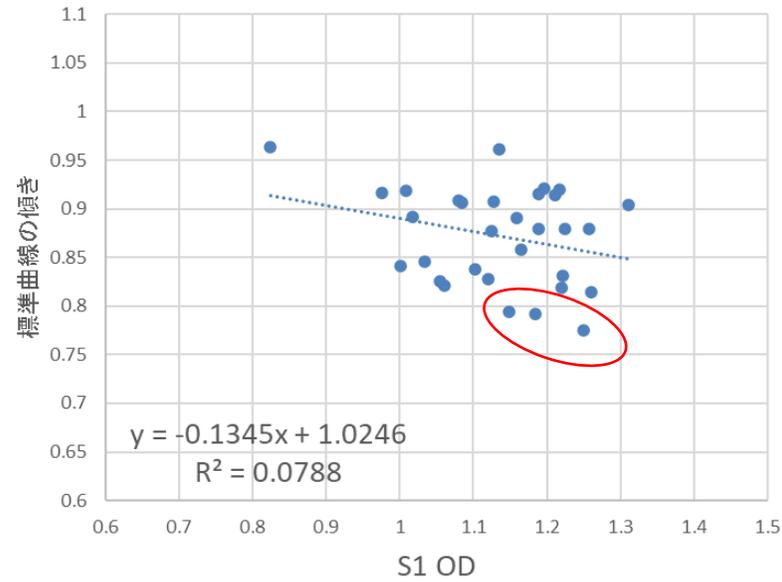
傾き	0.732	0.9143	1.0025
切片	-0.727	-1.073	-1.0686

# S10Dと標準曲線の傾きの関係

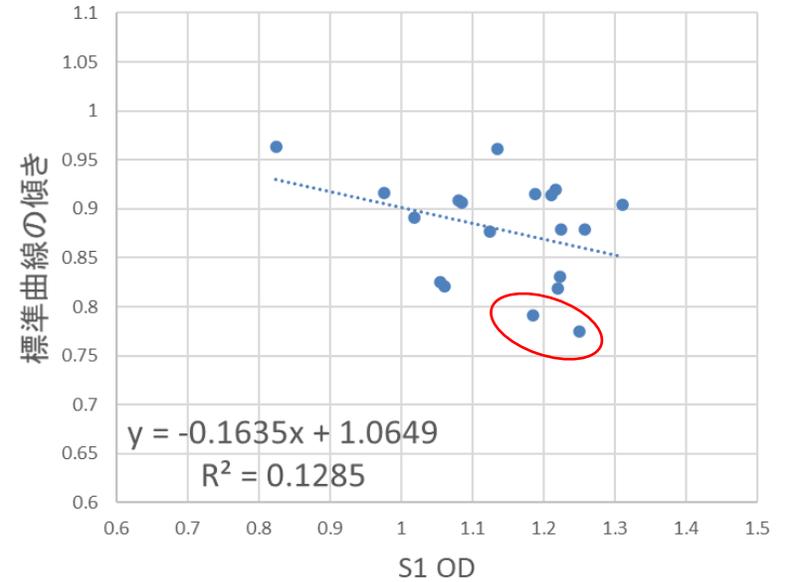
全体



レベル2がA評価限定

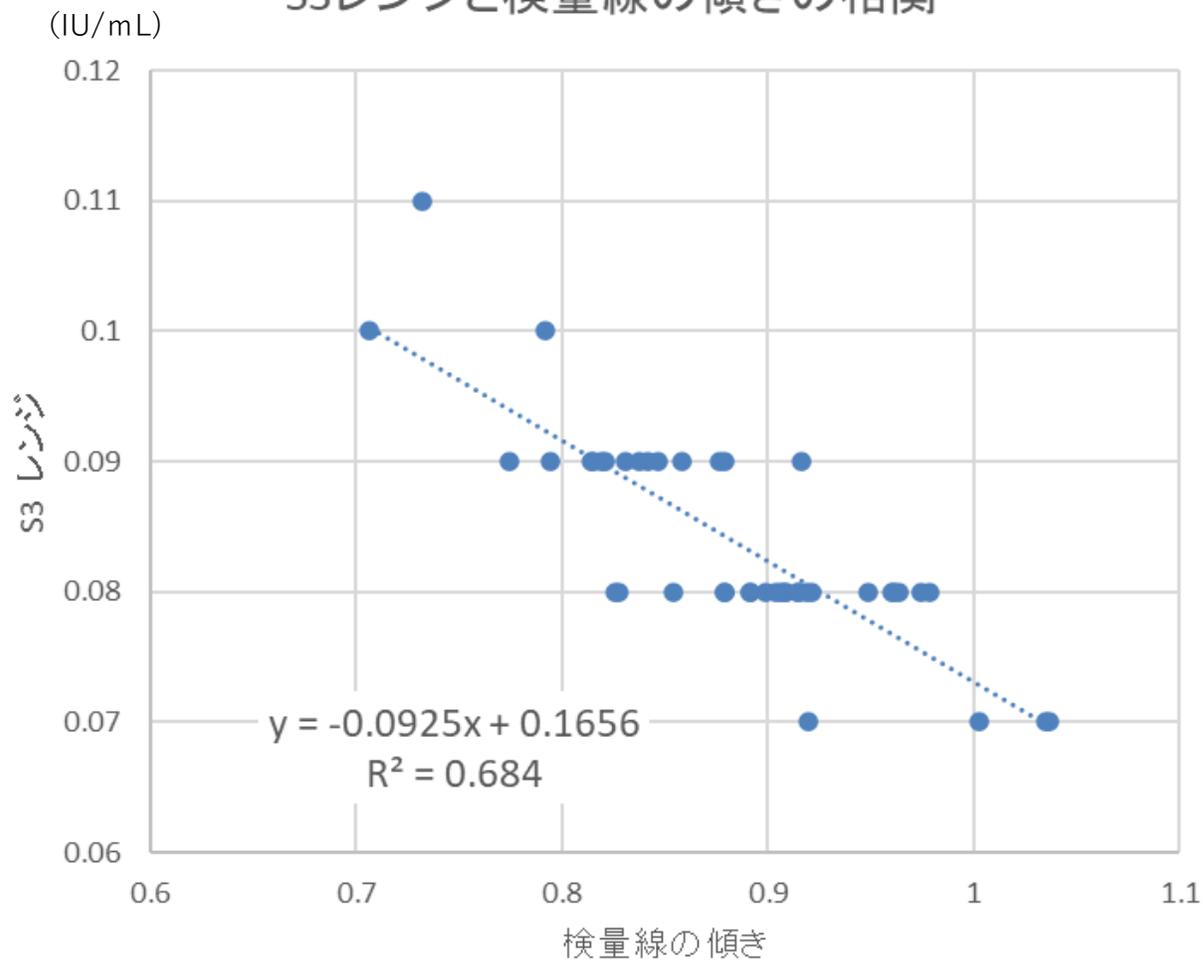


レベル2がA評価かつCV3%未満

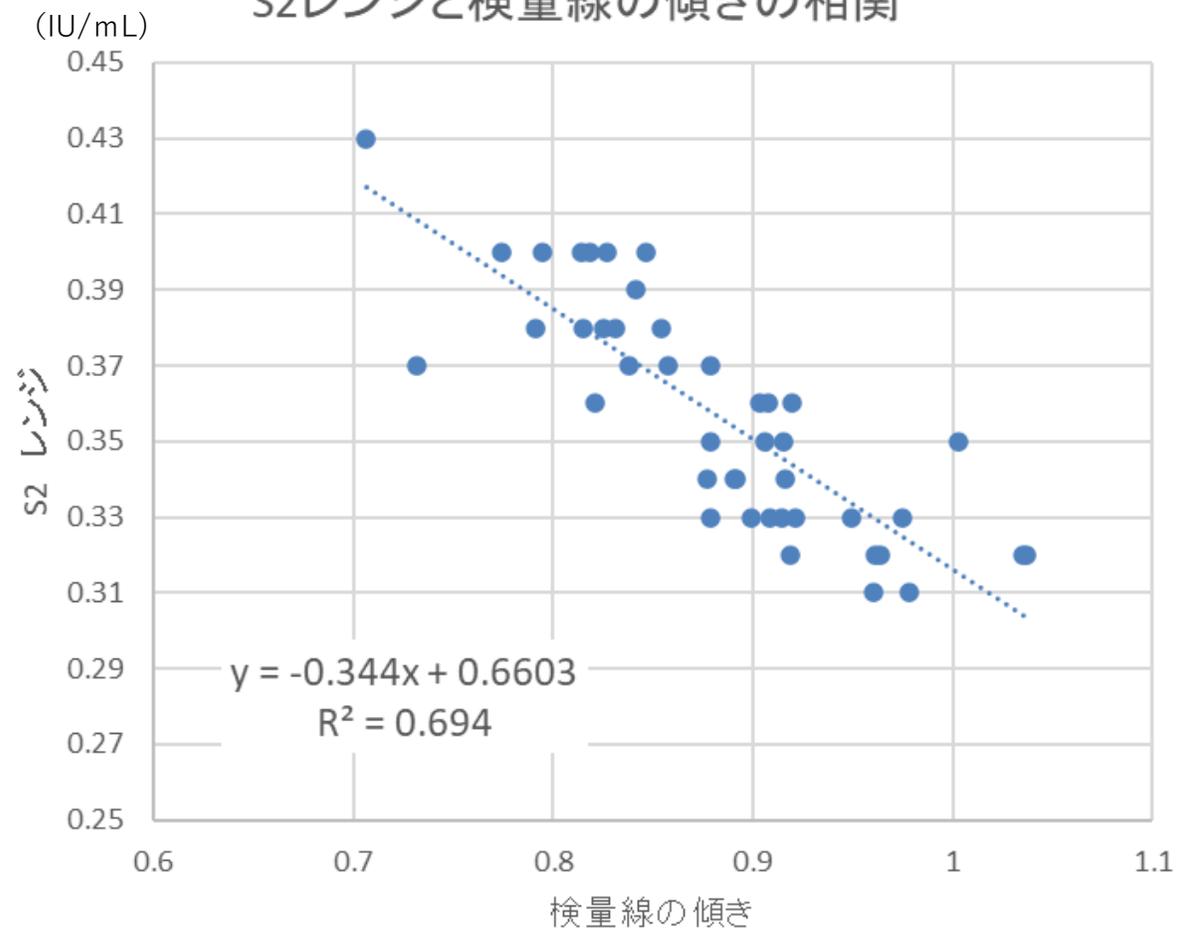


本来、S10Dが高いほど傾きは上がると考えていたが、実際は非常に弱い負の相関関係となった。特に赤丸の個所はODの変化が量に対するIFN- $\gamma$ 量の大きくなるので再現性不良の要因となる。

### S3レンジと検量線の傾きの相関



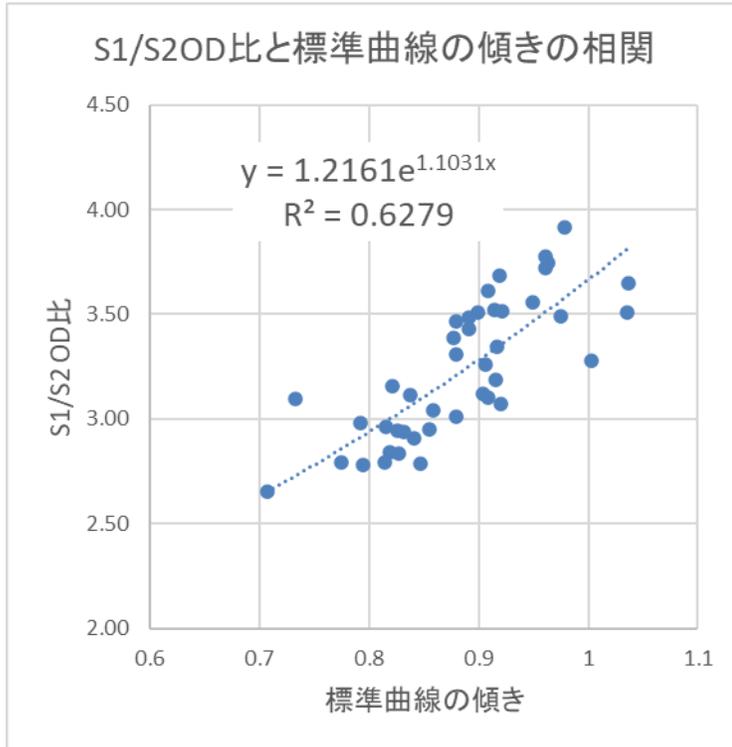
### S2レンジと検量線の傾きの相関



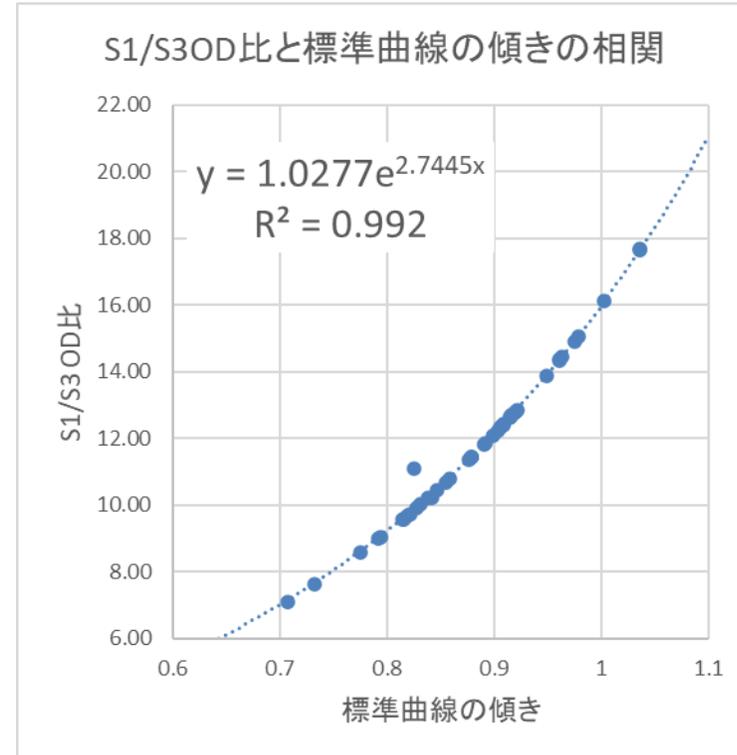
検量線の傾きとレンジ（変動幅）は負の相関関係を示す。  
検量線の傾きが低いとき、OD変化量に対するIFN- $\gamma$ 量の変化量はより大きくなる。

# 標準液OD値と標準曲線の傾き

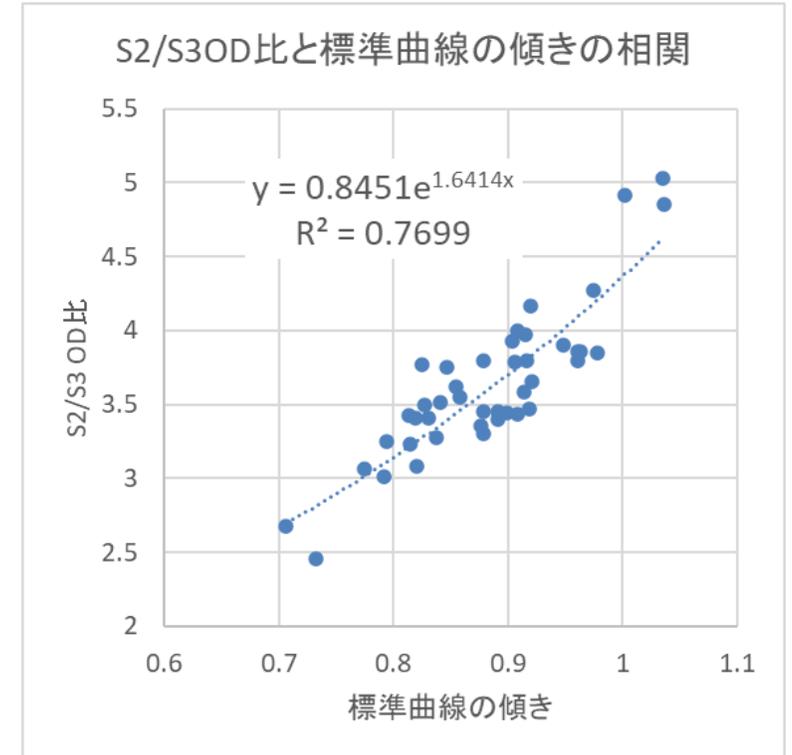
## S1:S2



## S1:S3



## S2:S3



標準曲線の傾きはS1/S3OD比との相関関係が非常に強かった。  
一方でS2の吸光度と標準曲線との関係はS1/S3に比べて相関は弱かった。

# まとめ

- S3 (0.25IU/mL)の平均値は理論値の98.0% (0.245IU/mL)
- S2 (1.00IU/mL)の平均値は理論値の104.3% (1.043IU/mL)
- S3の平均変動範囲は理論値の81.4%~115.0%
- S2の平均変動範囲は理論値の86.7%~122.3%
- 検量線の傾きと変動レンジは負の相関関係を呈す
- 検量線の傾きはS1/S3のOD比と高い相関関係にある
- メーカーの提示した検査性能であるCVはOD15%以内と比較しIFN- $\gamma$ 値のCVは若干高く、検量線の傾きに依存しCVは変化する

# 問題

- 標準液の各ポイントが標準曲線上からズレており、そのズレが検証結果に反映されている。
- S3 (0.25IU/mL)では **下限値誤差 > 上限値誤差**
- S2 (1.00IU/mL)では **下限値誤差 < 上限値誤差**

S2,S3が検量線上にプロットされる理想的な条件でのIFN- $\gamma$ 値に対する変動は？

# 対象と方法

- 対象：S2,S3の戻り値が1.00, 0.25IU/mLの4施設の報告値
- 方法
  - ①4施設のS2,S3の吸光度の $\pm 15\%$ 値を算出
  - ②解析ソフトによるIFN- $\gamma$ 量を算出する
  - ③S2の理論値に対する比率を算出する

# 対象 4 施設の IFN- $\gamma$ 戻り値

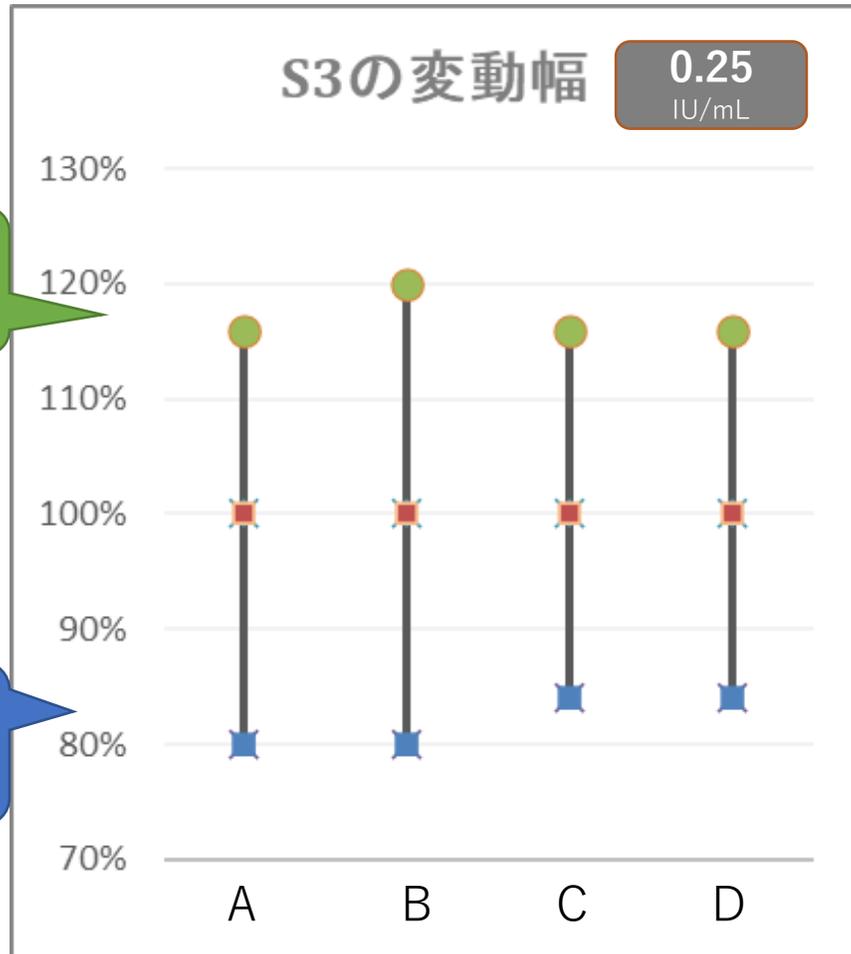
施設	A	B	C	D
S1	4.010	3.990	3.980	<b>4.000</b>
S2	<b>1.000</b>	<b>1.000</b>	<b>1.000</b>	<b>1.000</b>
S3	<b>0.250</b>	<b>0.250</b>	<b>0.250</b>	<b>0.250</b>
S4	0.050	0.070	0.010	0.080

(IU/mL)

OD115%のIFN- $\gamma$  平均

117.0%  
0.293IU/mL

82.0%  
0.205IU/mL



S3の平均変動範囲は理論値の82.0%~117.0%

OD85%のIFN- $\gamma$  平均

S2の変動幅  
1.00 IU/mL

118.3

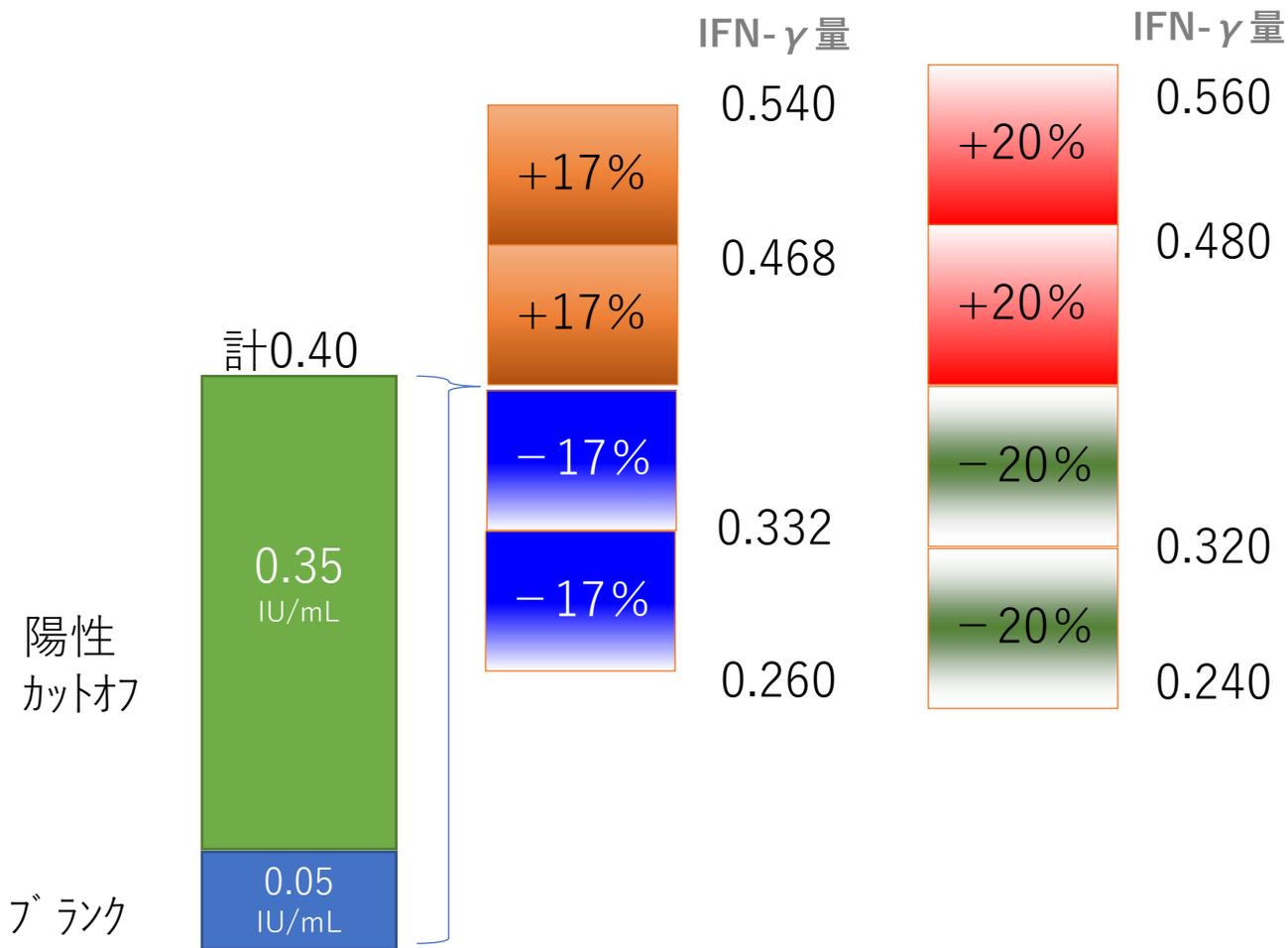
82.8



S2の平均変動範囲は理論値の82.8%~118.3%



# カットオフ値に対するIFN- $\gamma$ 量の変動



- IFN- $\gamma$ 量のCVを17%または20%と仮定する
- ブランクを0.05IU/mLと仮定し、陽性カットオフを加算した0.40IU/mLの変動は2SD (=2CV) では

**CV17% : 0.26~0.54IU/mL**

**CV20% : 0.24~0.56IU/mL**

# まとめ

- 理想的な検量線でのIFN- $\gamma$  値のCVは概ね17%
  - 検量線の傾きが低い場合のCVは20%以上となる
  - 検量線の傾きはS1とS3とのバランスの影響を受ける
  - 陽性カットオフ付近0.40IU/mLの変動幅は最大で0.24～0.56IU/mLとなった。
- 
- IFN- $\gamma$  値のCV17%は精度調査の指標として利用できる可能性があるが、検量線の傾きが低い場合には注意が必要。