

医療関連サービス振興会講演会
2021/10/28、日比谷コンベンションホール

臨床検査精度管理の重要性

-COVID-19検査も含めて-

昭和大学名誉教授/日本臨床検査標準協議会 会長/
日本医師会臨床検査精度管理検討委員会 委員長
高木 康

本日のお話

- 医療と臨床検査
- 臨床検査と精度管理
- 内部精度管理
- 外部精度管理調査
- 精度管理と法律
- 臨床検査室の認証・認定
- SARS-CoV-2の臨床検査
- SARS-CoV-2の外部精度管理調査



医療と臨床検査

患者診療

-医療面接から治療まで-

① 患者からの主訴・病歴の聴取（医療面接）

② 身体診察（身体所見）

③ 総合的に判断して病態と病名の推定

④ 治療の開始

④ 臨床検査・画像検査に追加

⑤ 診断を確定して治療を開始

患者診療

-医療面接と身体診察の重要性-

- 医療面接と身体診察は診断にとって極めて重要
- プライマリ・ケアでは
 - Crombie：医療面接と身体診察で88%
 - Sandler：医療面接で56%、身体診察を合わせると73%
 - 福井：胸痛を主訴に来院した患者で、医療面接と身体診察で71%の診断が可能で、これに尿検査、血算・10項目の生化学パネルを加えると81%が診断可能
- 自覚症状は個人差があり、身体診察は観察者の技量によって観察度合いに差異が生ずる；熟練医師なら聴取できる心雑音を、経験の浅い医師では聴取できない
- 自覚症状と他覚所見は、客観性に乏しいことも少なくない

日常診療では

- 医療面接と身体診察で65～80%の診断が可能
- 臨床検査・画像診断で残りの10～20%の診断が可能
- 残りの5～15%はこれらから診断は不可能
- **臨床検査（検体検査）は数字で表示される（デジタル）**
ため、専門家でなくても診断あるいは病態を把握できる
→診断のガイドライン、健康診断、予防医学
- **画像診断はアナログのため、専門家でなくては診断ある**
いは病態の診断は不可能

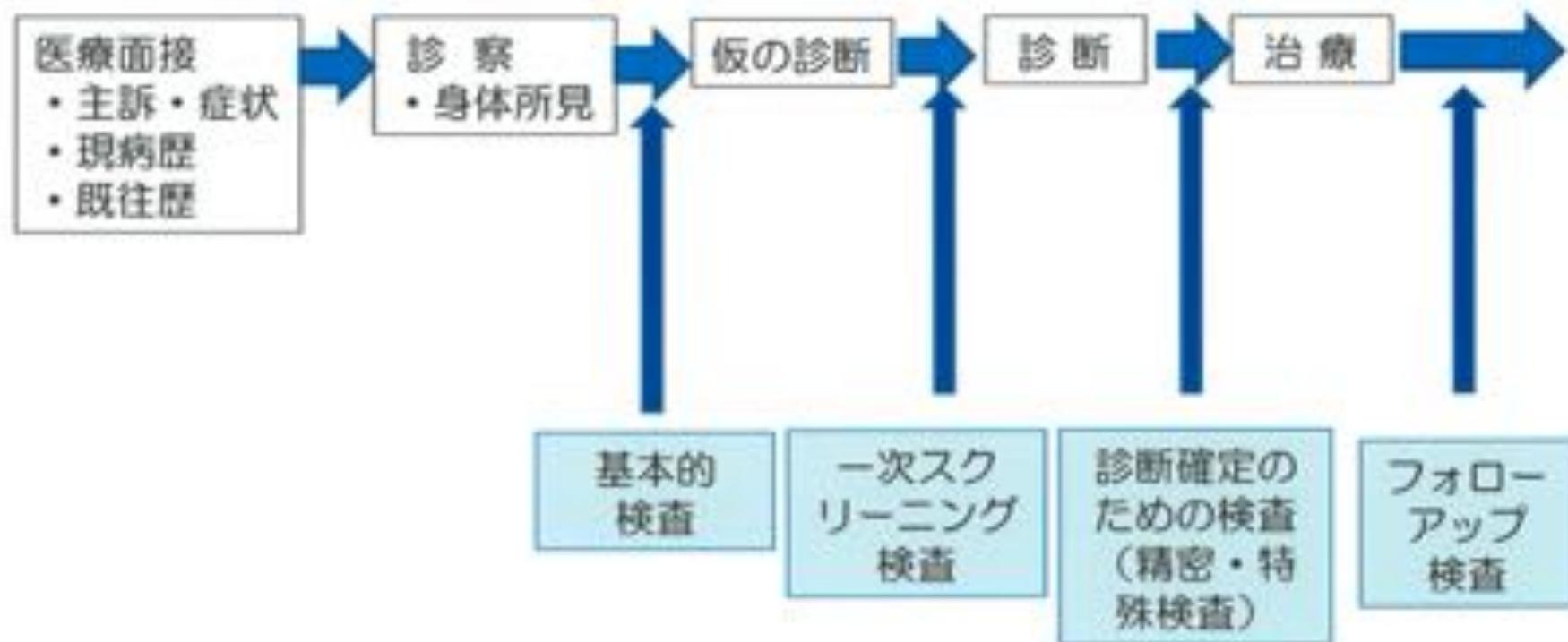
患者診療

-臨床検査（検体検査）-

- 生体内で起こっている代謝の異常や臓器・組織の変化を科学的に分析して**客観的な情報**として診療・診断を支援
- 医師は臨床検査の情報により疾患を科学的に診断することができ、かつ重症度や合併症の存在を知ることができる
- 自覚症状や身体的所見として現れていないごく初期の病変を、時として捉えることができる
- 慢性的疾患では特に有用で、糖尿病では自覚症状が現れないうちに尿や血液の検査成績から糖尿病と診断できる
- **臨床検査は、科学的根拠に基づいた医療（EBM）を実践するうえで不可欠の診断手段であり、患者の病態を把握し、診断を行う上で重要である**

患者診療と臨床医検査

-診療と臨床検査-

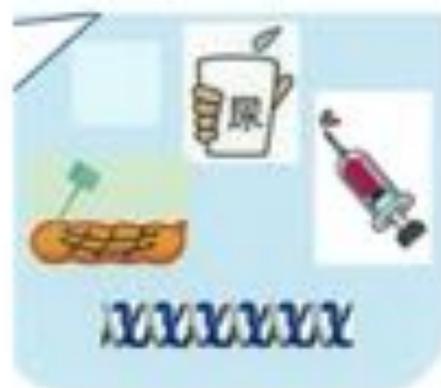


臨床検査の種類

1. 検体検査

患者から取り出した検体を用いた検査

- ① 微生物学的検査
- ② 血液学的検査
- ③ 生化学的検査
- ④ 免疫血清学的
- ⑤ 尿・糞便等一般検査
- ⑥ 遺伝子学的検査
- ⑦ 病理学検査



2. 生体検査（生理機能検査）

患者の身体を直接調べる検査

- ① 心電図検査
- ② 脳波検査
- ③ 呼吸機能検査
- ④ 超音波検査
- ⑤ 内視鏡検査
- ⑥ 画像検査（エックス線検査、CT、MRI）





臨床検査の精度管理

臨床検査における精度管理とは

測定結果に対する信頼性：測定における**正確さ**と**精密さ**

測定値が、
真値にどれだけ近いか
⇒**正確さ** (Accuracy)

測定値が、
どれだけ**ばらついて**いるか
⇒**精密さ** (Precision)

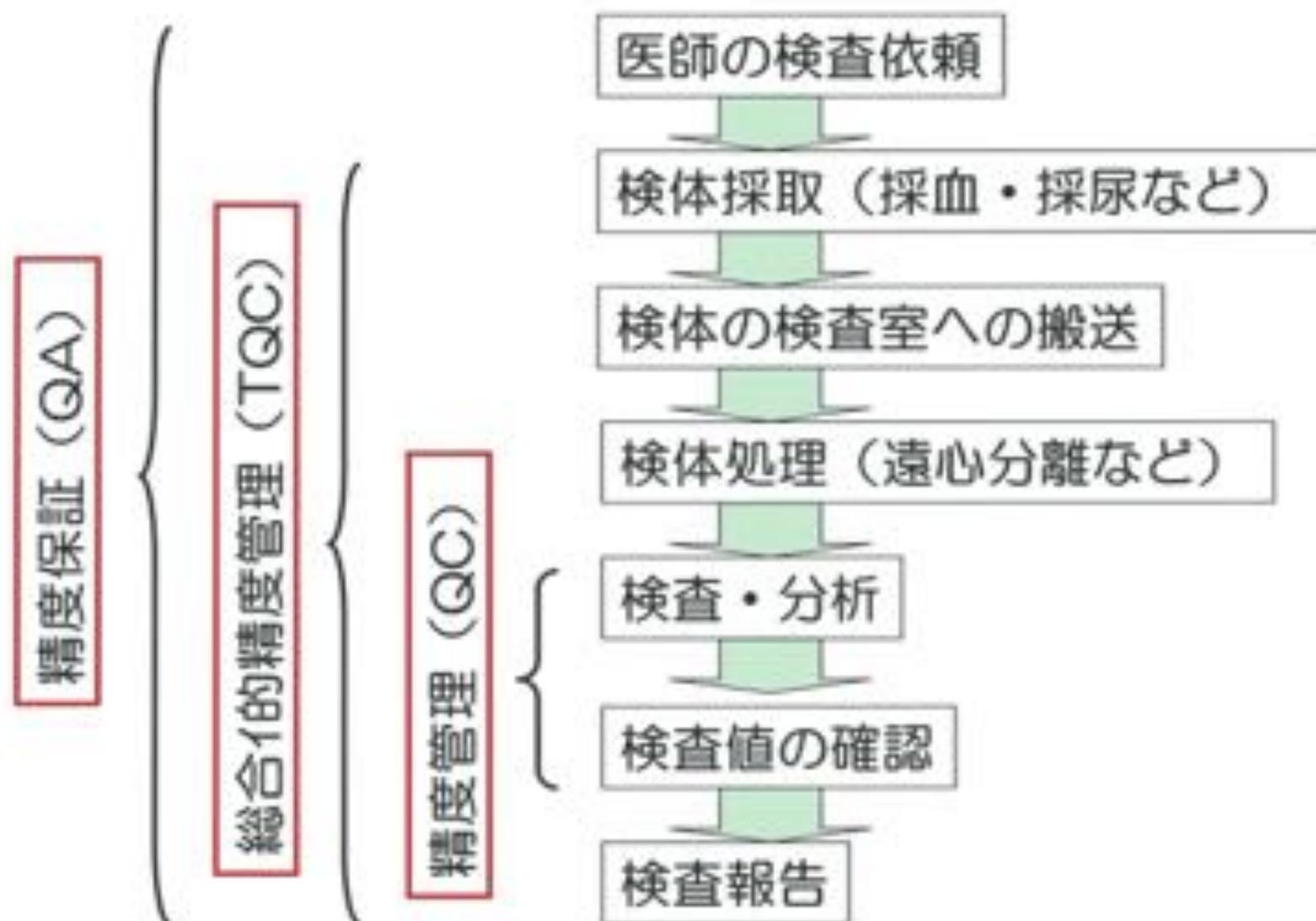


「いつ」「どこで」測定しても**同じ医学的判断**ができるような検査成績のために

検体検査精度管理

- 検査誤差：測定時におけるバラツキを示す指標
 - ✓ 科学技術誤差：試薬、分析機器などに依存する誤差
 - ✓ 技術誤差：検査技師の技術水準に依存する誤差
- 正確度 (accuracy)
 - ✓ 測定値が真値にどれだけ近いかを示す指標
 - ✓ 偏り：真値と測定値との差
- 精密度 (precision)
 - ✓ 繰り返し測定した定値がどれほど近似しているかの指標
 - ✓ 再現性を示す指標

臨床検査手順と精度管理



精度管理(調査)の歴史

1. Belk & Sunderman (1947)
米国ペンシルバニア州での調査
「59ヶ所の臨床検査センターを対象にプール血清を配布した調査で、平均値の±10%以内に入った検査室はわずかに40%にすぎず、全ての項目(7項目)に合格した施設は1施設もなかった」
2. Levy & Jennings (1950)
「工場で行われていた品質管理法を臨床化学に利用して、プール血清を用いての \bar{x} -R管理図法を工夫した」
3. 「臨床検査」編集委員 (1962)
「日本の141施設を対象として臨床化学9項目で同様なサーベイを行ったところ、米国と同様にひどい結果であった」
ブドウ糖：276.9±52.6mg/dL、BUN：12.5±6.9mg/dL、
総コレステロール：139.7±47.3mg/dL

⇒精度管理の重要性の認識され、全国的な精度管理調査が開始

(検体検査の)精度管理

工場における製品の品質管理 (Quality Control ; QC) が起源であり、これを臨床検査領域に当てはめたもの。
現在では品質保証 (Quality Assurance) が一般的。

- いつでも (時間軸⇒時系列互換性)
⇒内部精度管理
- どこでも (空間軸⇒施設間互換性)
⇒外部精度管理/調査

精度管理の重要性

- 過去の検査データとの比較
 - ✓ 病態の変化の推測（治療効果、副作用、悪化など）
 - ✓ 健診（病気・疾病の予知）

- 施設間誤差の解消
 - ✓ 測定法の相違による検査値の誤差の認識
 - ✓ 疾患ガイドラインに検査値の採用（客観的指標）
 - ✓ 重複検査の削減
 - ✓ 患者の肉体的・精神的・（経済的）負担の軽減



内部精度管理

内部精度管理

- A. 管理試料を用いる方法
 - 1. \bar{x} -R (\bar{x} -Rs-R) 管理図法
 - 2. 累積和法
 - 3. 双値法 (Youden plot)

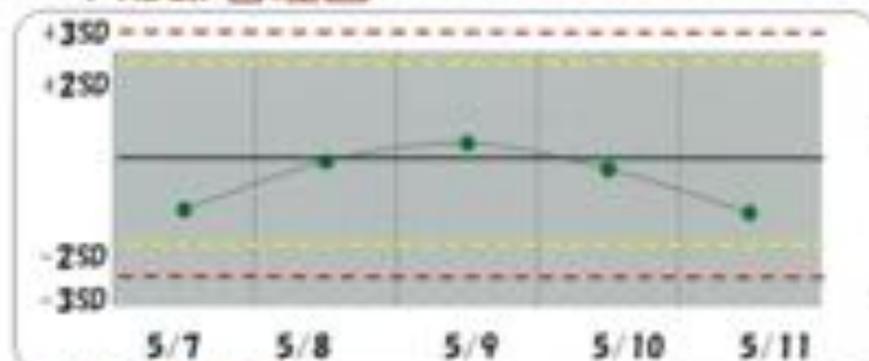
- B. 患者データを用いる方法
 - a. 多くの患者データ
 - 1. 反復測定法
 - 2. 正常者平均法
 - b. 個別のデータを用いる方法
 - 1. 項目間チェック
 - 2. 前回値 (デルタ) チェック

内部精度管理(\bar{x} - R_s - R 管理図法)

- ① 管理試料を複数日(20日)あるいは多重に連続して測定し、平均値(\bar{x})と標準偏差(SD)を求める
- ② これから \bar{x} - R 管理図を作成する
- ③ 同じ管理試料を連日複数回測定して、その平均値(\bar{x})と差(R)、前日との差(R_s)を \bar{x} - R_s - R 管理図上にプロットする
- ④ 平均値(\bar{x})は測定値の正確性(いわゆる)、 R は精密性(再現性)を評価できる

内部精度管理(\bar{x} -Rs-R管理図法)

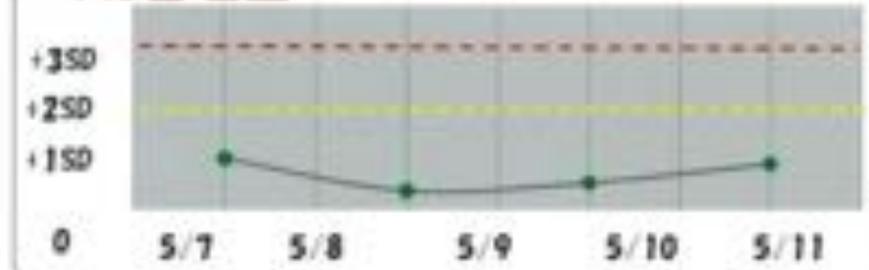
Xbar管理図



1日のデータの平均値

⇒正確性の管理

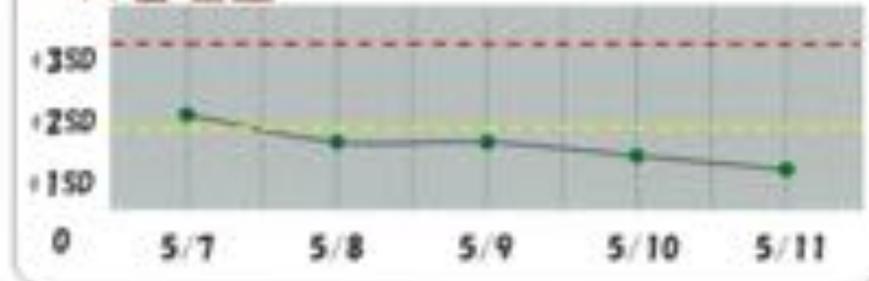
Rs管理図



前日とのデータの差の観察

⇒精密性の管理

R管理図

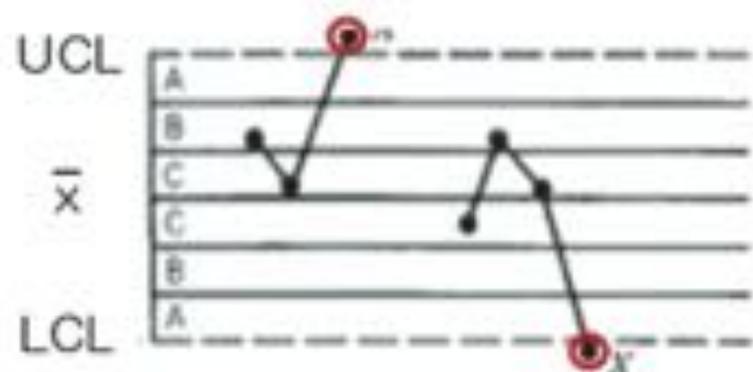


日々のばらつき度合いを経時的に観察

内部精度管理(\bar{x} -Rs-R管理図法)で 重要なこと

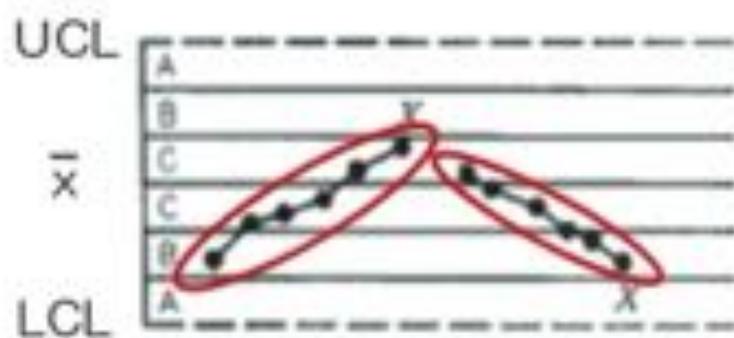
1. 毎日、リアルタイムに記載すること
週末、月末にまとめて記載する施設が少なくない
2. 不都合（アウト、シフト、トレンドなど）があった
場合にはリアルタイムに対応すること
管理図作成の意図を十分に認識する必要がある
3. 対応したことを管理図上に記載すること
医師の診療録と同様、対応したことは必ず記載する

\bar{x} -Rs-R管理図法での代表的な異常



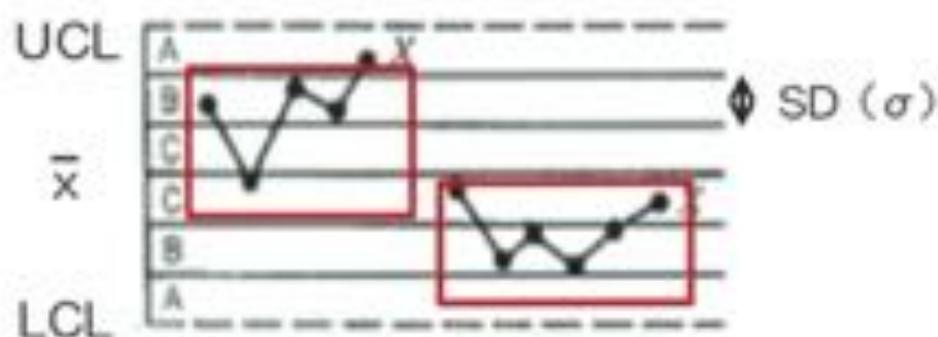
➤ アウト

- UCL (上方管理限界: $+3\sigma$)、LCL (下方管理限界: -3σ) から逸脱
- 分析装置の異常、管理試料・標準品の変更や異常



➤ トренд (trend)

- 連続して次第に上昇・下降する点が6点以上出る
- 管理試料の濃縮・希釈

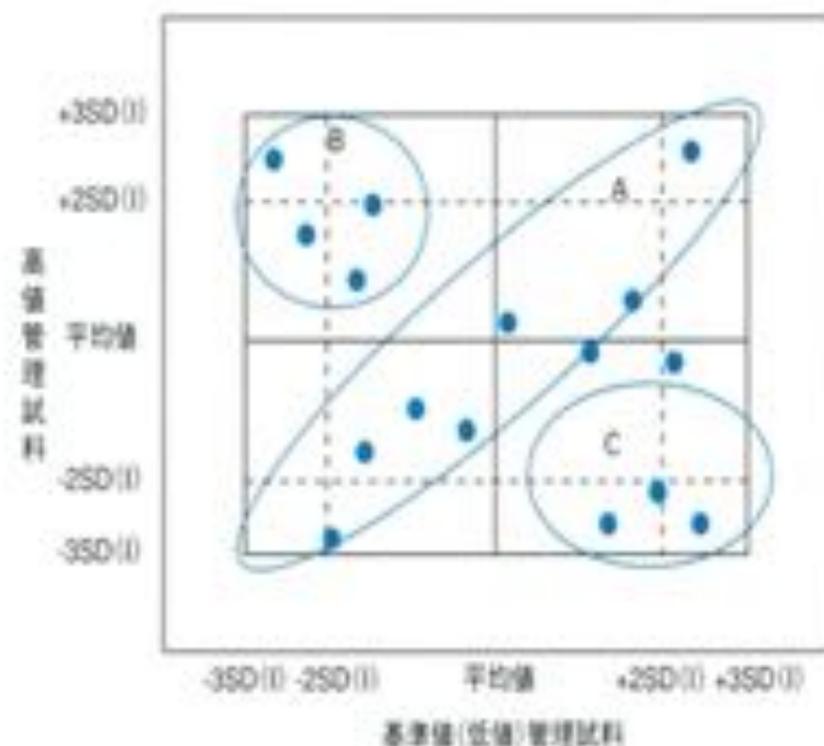


➤ シフト (shift)

- 総平均の上方・下方に偏して、連続する (5~6点)
- 標準物質・管理試料の変化・変性

双値法(Youden plot)

- ① 基準値域と異常値域の管理試料を測定して、 \bar{x} とSDを算出する
- ② 横軸に基準値域、縦軸に異常値域をとってプロット
- ③ A部は**比例系統誤差**を表し、B部は低濃度域の低値あるいは高濃度域で高値となる傾向を、C部では高濃度域での**頭打ち現象**を推測することが可能
- ④ **外部精度管理調査**の解釈に利用することも可能→施設の測定値の傾向が分かる



デルタチェック法

- 患者の検査結果・成績を用いる内部精度管理法
- 患者の前回値と比較して、生理的・病的変動幅より大きな変動の場合は、検体の取り違い、不都合な検体採取などが考えられる
- IT技術の向上により多くの施設で実施することが可能となった

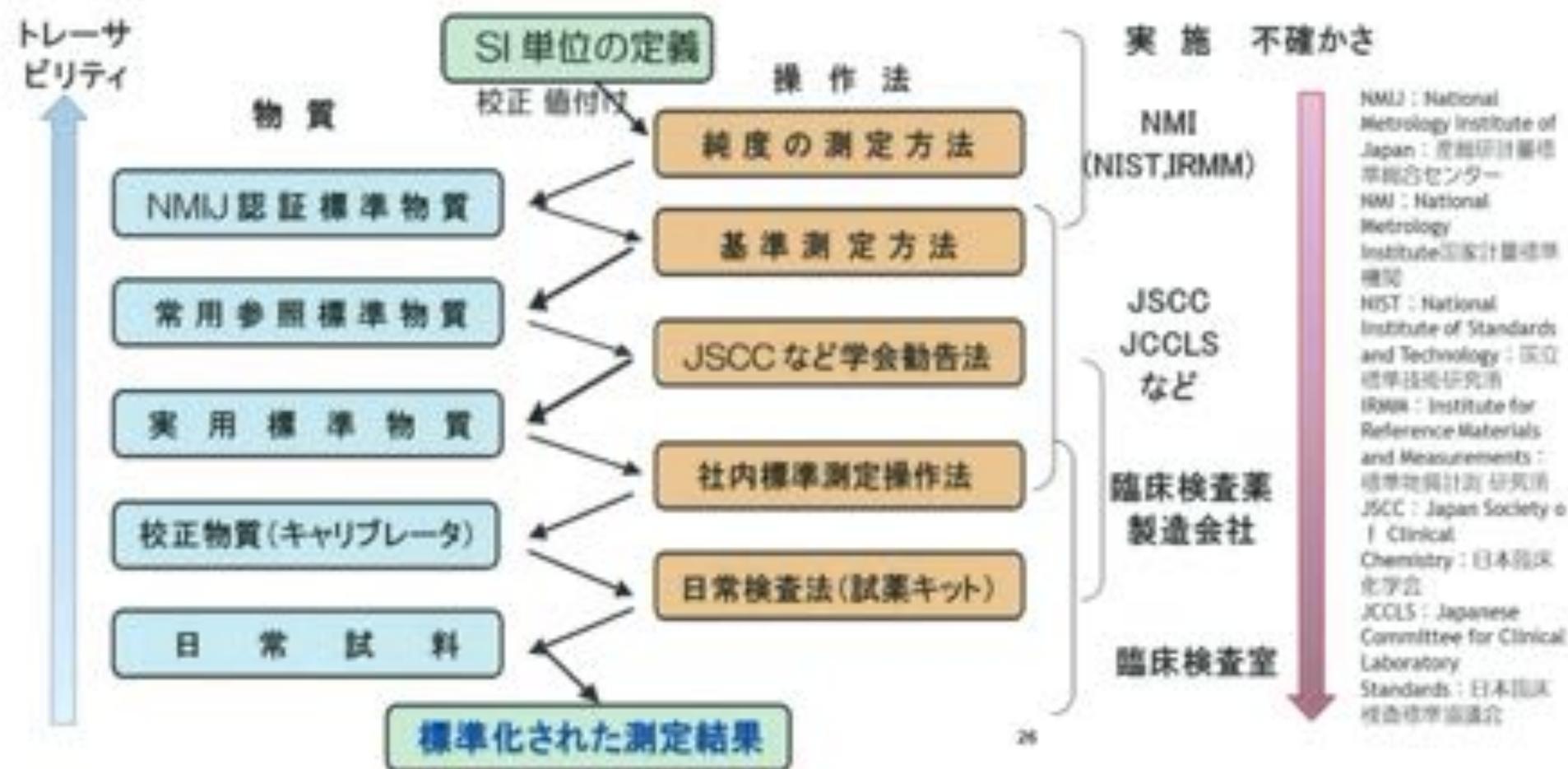
不確かさとトレーサビリティ

- 「不確かさ (uncertainty)」
 - 測定の結果に付随した、合理的に測定量に結び付けられ得る 値のばらつき を特徴づけるパラメータ
 - 従来「誤差 (error)」は測定値の真の値からの差の概念があるために変更

- 「トレーサビリティ (traceability)」
 - 不確かさがすべて表記された切れ目のない比較の連鎖によって、決められた基準に結びつけられ得る測定結果または標準の値の性質。基準は通常、国家標準または国際標準
 - 患者検体の測定結果の根拠への 遡及性を確認 でき、国際単位あるいはSI単位まで遡ることが望ましい

臨床検査のトレーサビリティ体系

-測定値の正確性(真値)チェック-



(JCCLSホームページより、改変)

内部精度管理の充実

- 内部精度管理 (\bar{x} -Rs-R) の確実な実施
 - ✓ リアルタイムに適切な対応
 - ✓ トレーサビリティの確認の実施
- \bar{x} -Rs-R以外の内部性管理の併用
 - ✓ デルタチェック法、双値法

トレーサビリティの確認（日医調査：2020年度）

| 検査項目 | 実施数 | 実施率(%) | 参加施設数 | 検査項目 | 実施数 | 実施率(%) | 参加施設数 |
|--------|-------|--------|-------|-----------------|-------|--------|-------|
| 総蛋白 | 2,806 | 90.9 | 3,088 | γ -GT | 2,842 | 92.6 | 3,070 |
| アルブミン | 2,783 | 91.6 | 3,038 | CK | 2,766 | 92.6 | 2,986 |
| ブドウ糖 | 2,805 | 90.4 | 3,102 | アミラーゼ | 2,812 | 92.1 | 3,054 |
| 総カルシウム | 2,658 | 91.9 | 2,893 | ChE | 2,525 | 95.2 | 2,653 |
| 無機リン | 2,236 | 93.9 | 2,380 | T-Chol | 2,774 | 92.9 | 2,985 |
| マグネシウム | 1,332 | 94.1 | 1,416 | 中性脂肪 | 2,798 | 93.0 | 3,009 |
| 尿素窒素 | 2,826 | 91.0 | 3,106 | HDL-C | 2,767 | 93.2 | 2,970 |
| 尿酸 | 2,809 | 91.7 | 3,063 | インスリン | 761 | 91.4 | 833 |
| クレアチニン | 2,836 | 90.9 | 3,120 | TSH | 1,740 | 90.3 | 1,927 |
| 血清鉄 | 2,177 | 93.7 | 2,324 | AFP | 1,414 | 90.1 | 1,570 |
| AST | 2,888 | 92.6 | 3,119 | フェリチン | 1,345 | 92.1 | 1,461 |
| ALT | 2,888 | 92.6 | 3,119 | CRP | 2,817 | 92.0 | 3,062 |
| LD | 2,853 | 93.1 | 3,064 | F _{1c} | 1,290 | 94.6 | 1,364 |
| ALP | 2,842 | 93.3 | 3,045 | | | | |



外部精度管理(調査)

検体検査精度管理の意義

- 医療サービスの観点から、また国民のニーズに対応した良質で効率的な医療を提供する意味においても各医療施設間の検査結果は相互に活用できるものでなければなりません。今後は益々、医療情報提供のニーズが高まって参りますので、**検査の精度の向上並びに標準化**を推進していかねばなりません。
- 臨床検査結果は直接、間接に健康状態、病態を如実に反映し、誤った検査結果は診断の遅れ、誤診に繋がることなくありません。従いまして、臨床検査は、**可及的迅速に正しい結果**を得て、臨床的に有用な医学的解釈が添えられるよう関係者により最大限の努力がなされています。その結果は医師ならびに保健・医療担当者の高い信頼を得て、患者等のケアに有効に反映されています。しかし、医学の日進月歩に併せて、**常に継続した精度改善に努めるための一つの方策として定期的に外部精度管理調査への参加**が必要であります。

外部精度管理(調査)

- **外部精度評価**：同一試料を多くの施設に配布し、各施設の測定値を集計・解析することによって、検査施設間の変動を調査するもの
- **クロスチェック**：少数の施設間で実施するもので、患者試料、患者プール試料で実施することも可能
 - ・施設内での複数の測定装置間での測定値の同一性を検証する時
 - ・外部精度管理が実施できない場合に、検査施設、衛生検査所間で実施
- **外部精度管理調査**：多数の施設で実施するもので、多くは患者試料を使用することはせず、患者プール試料あるいは人工的に調整した試料を用いて実施
 - ・大規模調査：日本医師会、日本臨床検査技師会、CAP
 - ・中規模調査：全国労働衛生団体連合会、日本衛生検査所協会、日本総合健診学会、日本人間ドック学会、自治体・メーカー等

外部精度管理調査の歴史

- 「Quality Control Program」を「精度管理」としたのは1960年初頭（河合忠）
- 世界：
 - 米国のCollege of American Pathologist（CAP）が1949年に世界で初めて実施
- 日本：
 - 日本医師会：1967年に医師会立病院・検査センター70施設で実施し、大学病院、衛生検査所が加わり1970年には305施設
 - 日本臨床検査技師会：1965年に専門領域の研究班（774施設）が実施し、1989年に統一
- 日本医師会精度管理調査事業：
 - 参加施設からの報告値を評価・評点しており、欧米での外部精度評価（External Quality Assessment：EQA）または熟達度試験（Proficiency Test：PT）の形を踏襲

外部精度管理調査の目的

1. 測定値の調査
 - 施設間互換性の確保⇒自施設の測定値の**全国レベル**での位置
2. 測定系（試薬・装置など）の調査
 - 測定系別**利用頻度**の傾向⇒測定法別の測定値変動（幅）
適切な測定系への移行
⇒**互換性のある検査法への移行・統一**
例：アルブミン：BCG法→改良BCP法

外部精度管理の重要性の例示

- アルブミン
測定法の変更の診断基準への影響
- 共用基準範囲
- 臨床検査の重複

肝硬変のStage分類-Child-Pugh分類-

| Score | 1 | 2 | 3 |
|---------------|------|---------|------|
| 肝性脳症 | なし | 軽度 | 時々昏睡 |
| 腹水 | なし | 少量 | 中等度 |
| ビリルビン (mg/dL) | <2.0 | 2.0~3.0 | >3.0 |
| アルブミン (g/dL) | >3.5 | 2.8~3.5 | <2.8 |
| プロトロンビン時間 (%) | >80 | 50~80 | <50 |

Grade A : 5~6点、B : 7~9点、C : 10~15点

- 臨床検査値が分類の基準となっている
- 血清アルブミン値は測定系により異なる
- ビリルビン (方法間CV : 1.97~2.88%、
方法内CV : 2.07~4.22% : 日医調査)

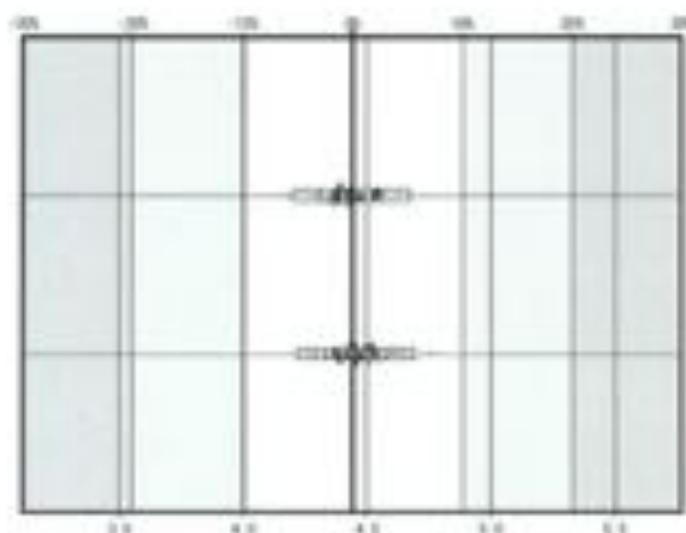
測定法によるアルブミン定量値の相違

| 調査名 測定法\試料 | 日衛協 | | | 日医 | |
|---------------|------|------|------|-------|------|
| | 1 | 2 | 5 | 1 | 2 |
| BCG法 | 3.75 | 4.42 | 3.17 | 4.29 | 2.33 |
| BCP法 | | | | 4.30 | 2.24 |
| BCP改良法 | 3.74 | 4.44 | 3.00 | 4.22 | 2.24 |
| G-P改良法 | 0.01 | 0.02 | 0.17 | 0.07 | 0.09 |
| G-P | | | | -0.01 | 0.09 |
| P-P改良法 | | | | 0.08 | 0.00 |

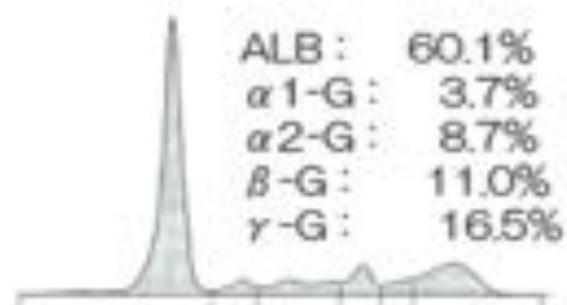
- BCG法はアルブミンばかりでなく、グロブリン分画、特に急性相反応蛋白とも反応する ($\alpha 1$ -Glb、 $\alpha 2$ -Glbが大きく、 γ -Glbは小さい)
- BCP法はアルブミンの特異性は高いが、酸化型と還元型で反応性が異なる
- BCP改良法はすべてを酸化型として測定
- BCG法=BCP改良法+0.3(g/dL) (3.5g/dL以下：日本臨床検査医学会)
- BCG法は2022年3月31日までの間は診療報酬として算定可能→これ以降はすべてBCP改良法となる。

調査試料の蛋白泳動像

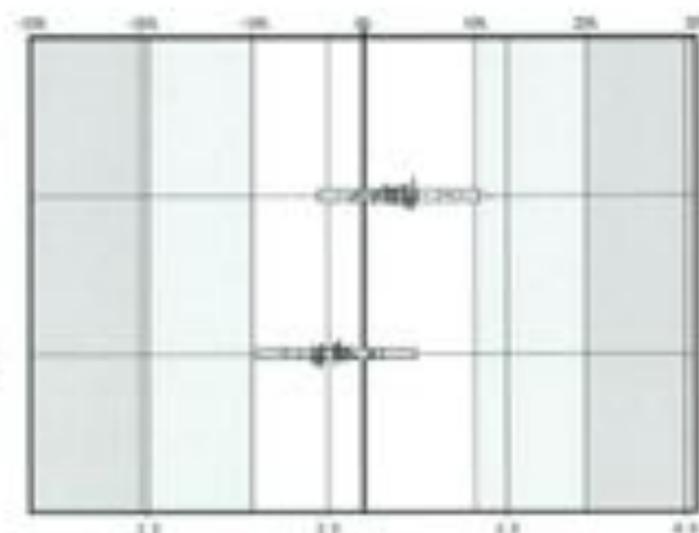
-日衛協調査2019-



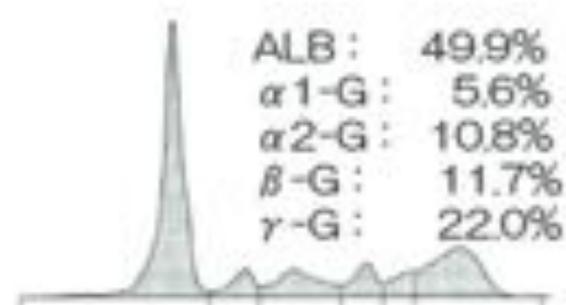
健常人血清プール



BCG法: 4.37 g/dL
BCP改良法: 4.38 g/dL

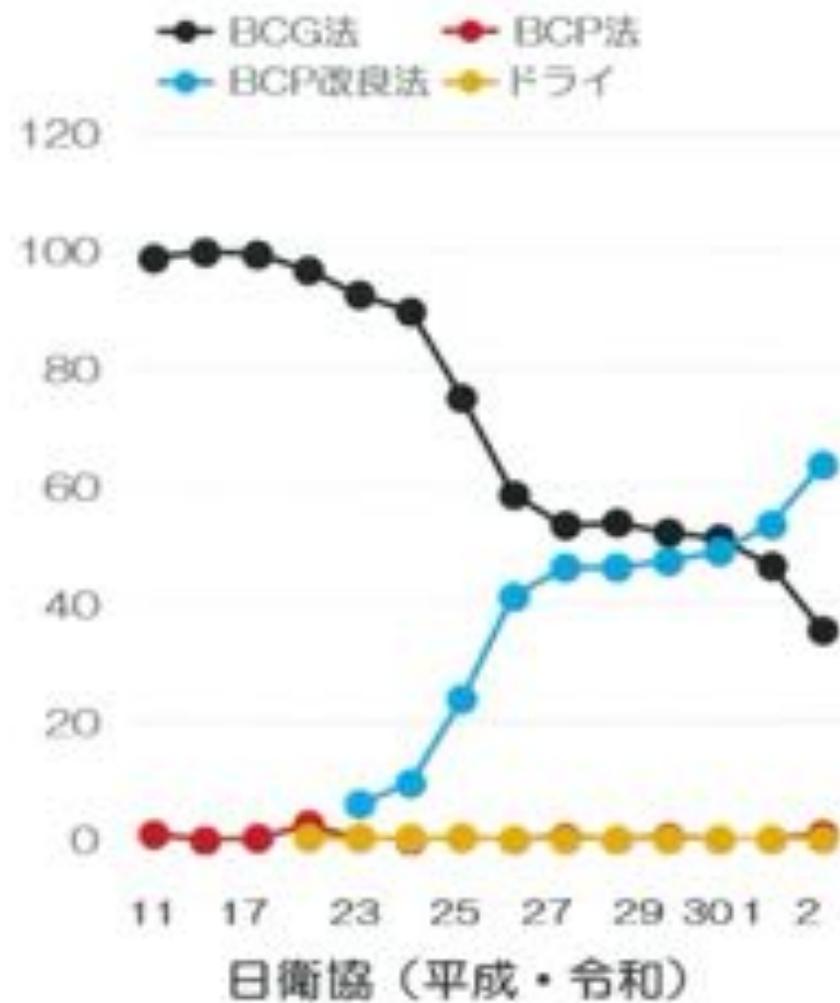
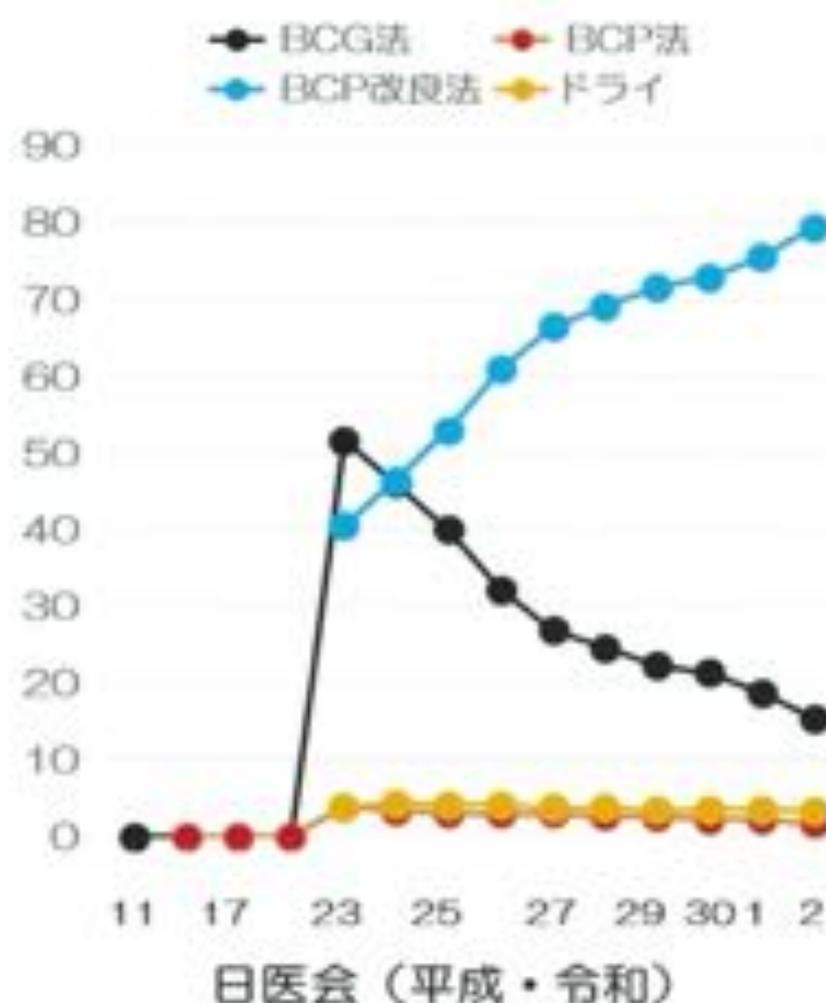


低アルブミン血清プール



BCG法: 3.17 g/dL
BCP改良法: 3.00 g/dL

アルブミン測定法の変遷



・ BCG法が減少して、BCP改良法が増加している

共用基準範囲

- 全国規模の共用基準範囲が提唱された（日本臨床検査標準協議会、人間ドック学会）
- 共用基準範囲が適応されるのは
 - ✓ 内部精度管理を適切に実施し
 - ✓ 外部精度調査を定期的に受検して経時的に、**施設間互換性**のある検査成績を患者・医師に返却している施設だけである

共用基準範囲-JCCLS-

| 項目名称 | 項目 | 単位 | 下限 | 上限 | |
|--------------|------|----------------------|------|------|------|
| 白血球数 | WBC | 10 ⁹ /μL | 3.5 | 8.5 | |
| 赤血球数 | RBC | 10 ¹² /μL | M | 4.35 | 5.55 |
| | | | F | 3.80 | 4.92 |
| ヘモグロビン | Hb | g/dL | M | 13.7 | 18.8 |
| | | | F | 11.8 | 14.8 |
| ヘマトクリット | Ht | % | M | 40.7 | 50.1 |
| | | | F | 35.1 | 44.4 |
| 平均赤血球容積 | MCV | fL | 83.6 | 98.2 | |
| 平均赤血球赤血色素量 | MCH | pg | 27.5 | 33.2 | |
| 平均赤血球赤血色素濃度 | MCHC | g/dL | 31.7 | 35.3 | |
| 血小板数 | PLT | 10 ⁹ /μL | 150 | 340 | |
| 総蛋白 | TP | g/dL | 6.6 | 8.1 | |
| アルブミン | Alb | g/dL | 4.1 | 5.1 | |
| グロブリン | Glb | g/dL | 2.2 | 3.4 | |
| アルブミン/グロブリン比 | A/G | | 1.32 | 2.23 | |
| 総ビリルビン | TBil | mg/dL | 0 | 2.0 | |
| クレアチニン | Cr | mg/dL | M | 0.65 | 1.07 |
| | | | F | 0.46 | 0.79 |
| 尿酸 | UA | mg/dL | M | 3.7 | 7.8 |
| | | | F | 2.6 | 5.5 |
| ナトリウム | Na | mmol/L | 130 | 145 | |
| カリウム | K | mmol/L | 3.0 | 4.8 | |
| カルシウム | Ca | mmol/L | 101 | 108 | |
| カルシウム | Ca | mg/dL | 8.8 | 10.1 | |
| 鉄蛋白 | IF | mg/dL | 2.7 | 4.5 | |

| | | | | | |
|-------------------|---------|-----------|------|------|------|
| グルコース | Glucose | mg/dL | 73 | 109 | |
| 中性脂肪 | TG | mg/dL | M | 40 | 234 |
| | | | F | 30 | 117 |
| 総コレステロール | TC | mg/dL | 142 | 248 | |
| HDLコレステロール | HDL-C | mg/dL | M | 38 | 90 |
| | | | F | 48 | 101 |
| LDLコレステロール | LDL-C | mg/dL | 65 | 183 | |
| 総ビリルビン | TBil | mg/dL | 0.4 | 1.5 | |
| アミラーゼ(懸浮アミラーゼ)活性 | AMY | U/L | 13 | 30 | |
| アミラーゼ(血清)活性 | AMF | U/L | M | 28 | 42 |
| | | | F | 7 | 21 |
| 乳酸脱水素酵素 | LD | U/L | 124 | 227 | |
| アルカリホスファターゼ | ALP | U/L | 106 | 322 | |
| γ-グルトミールトランスアミナーゼ | γ-GT | U/L | M | 13 | 64 |
| | | | F | 9 | 32 |
| アソニステラーゼ | ONH | U/L | M | 240 | 466 |
| | | | F | 201 | 421 |
| アソニステラーゼ | AMY | U/L | | 44 | 132 |
| | | | M | 29 | 248 |
| クレアチニン-ホスホキナーゼ | CK | U/L | F | 41 | 153 |
| | | | | | |
| 尿酸性蛋白 | CRP | mg/dL | 0.30 | 0.14 | |
| 鉄 | Fe | μg/dL | 40 | 160 | |
| 免疫グロブリン | IgG | mg/dL | 801 | 1747 | |
| 免疫グロブリン | IgA | mg/dL | 93 | 293 | |
| 免疫グロブリン | IgM | mg/dL | M | 23 | 103 |
| | | | F | 20 | 26.8 |
| 糖化蛋白 | C1 | mg/dL | 73 | 138 | |
| 糖化蛋白 | C4 | mg/dL | 11 | 31 | |
| ヘモグロビンA1c | HbA1c | % (HbA1c) | 4.9 | 6.0 | |

- 基準範囲は正常値・健常値ではなく、病態識別値は異なることを理解してほしい
- 脂質・糖質では病態識別値を認識してほしい

検査の標準化と検査の重複



平成17年1月18日の
日本経済新聞に紹介記事

概要

- 臨床検査にかかる費用は年間3兆円（国民医療費の約10%：この内1兆円程度は**重複検査**）。
- 経産省、厚労省、関連学会、関連メーカーで協力して全国規模での**臨床検査の標準化を促進**する。
- 一方で、厚労省は様々な健診制度の基準を統一化する活動も進める。

病院受診でがん検診不要に

健診や検査 基準統一 健康管理負担軽く

厚生労働省は、がん検診や健康診断の検査項目を統一し、重複検査を減らすことで、国民の健康管理負担を軽くする方針を示した。経産省とも連携し、全国規模で臨床検査の標準化を促進する。一方で、厚労省は様々な健診制度の基準を統一化する活動も進める。

がん検診は、がんの早期発見に有効だが、検査項目が多岐にわたるため、重複検査による負担が大きい。厚生労働省は、がん検診の検査項目を統一し、重複検査を減らすことで、国民の健康管理負担を軽くする方針を示した。経産省とも連携し、全国規模で臨床検査の標準化を促進する。一方で、厚労省は様々な健診制度の基準を統一化する活動も進める。

フジが子会社化

フジテレビジョンは、子会社化を進める方針を示した。フジテレビジョンは、子会社化を進める方針を示した。フジテレビジョンは、子会社化を進める方針を示した。

日本経済新聞

1月18日 大塚日

読者サービス部

〒100-0001 東京都千代田区千代田1-1-1

TEL: 03-3283-1111

FAX: 03-3283-1112

http://www.nikkei.com

印刷：日本経済新聞社印刷部

発行：日本経済新聞社

定価：100円（税別）

創刊：1876年

発行部数：1,000,000部

発行所：日本経済新聞社

〒100-0001 東京都千代田区千代田1-1-1

TEL: 03-3283-1111

FAX: 03-3283-1112

http://www.nikkei.com



大規模外部精度管理調査

我が国で実施されている 主要外部精度管理調査

| 調査機関 | 参加数 | 項目数 | 回数 | 評点方式 | 備考 |
|--|-------|-------------------|-----|------|-----------------|
| 日本医師会 | 3,215 | 50 | 1 | 評点 | 補正共通CV、コンセンサスCV |
| 日本臨床検査技師会 | 4,168 | 定量54項目、 定性10項目 | 1 | なし | 許容測定CV# |
| 日本衛生検査所協会 | 225 | 41 | 1 | 評点 | 補正共通CV、コンセンサスCV |
| 自治体 | 自治体毎 | 自治体毎 | 1? | 自治体毎 | |
| 日本総合健診医学会 | 約350 | 23 | 4 | A~E | |
| 全国労働衛生団体連合会 | 351 | 19 | 1 | 評点 | 許容誤差 |
| CAP (College of American Pathologists) | 約100 | カテゴリー別 | 1~3 | 評点 | SDI |

(大規模)精度管理調査で明らかになったこと

1. 方法内変動、方法間変動共に良好な項目
 - 1) 臨床化学検査の多く（特に標準法が提唱された）
 - 2) 血液検査（血球数算定）
2. 方法内変動は良好であるが、方法間変動は不良
⇒同一施設での成績は比較できるが、施設間の成績は比較できない
 - 1) 免疫学的検査（特に専用試薬・専用装置）
 - 2) 血液検査（凝固線溶検査）
3. 調査試料により調査結果が異なる項目
 - 1) HDLコレステロール、LDLコレステロール
 - 2) 腫瘍マーカー、ホルモン
4. 多くの施設でトレーサビリティ確認を行っている

臨床検査の方法間、方法内精度

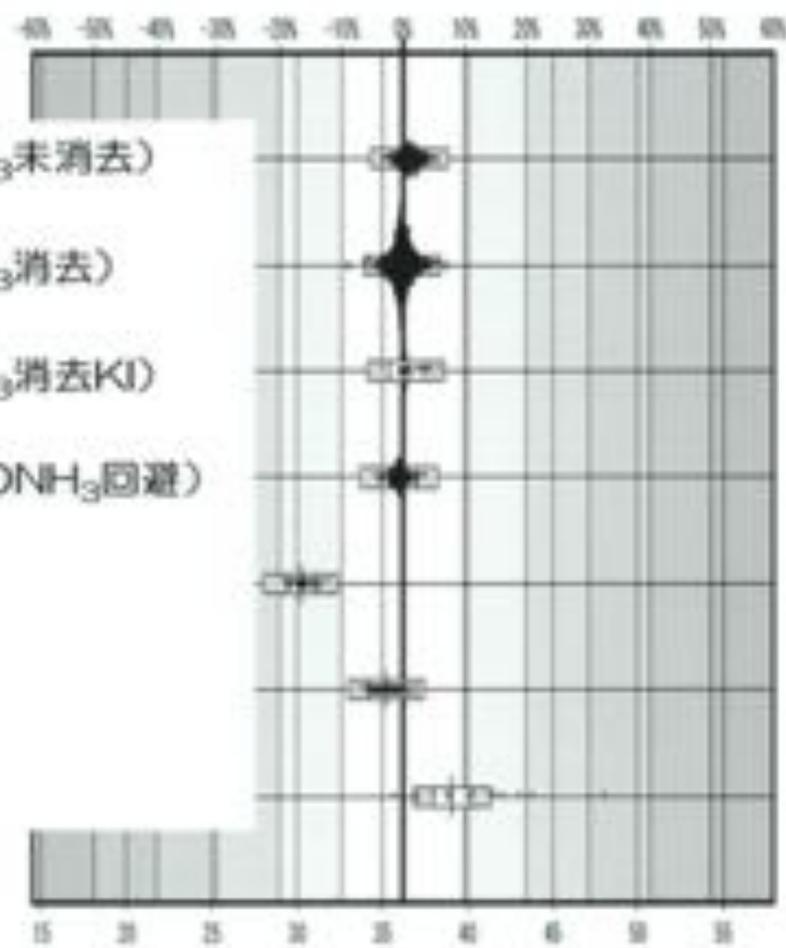
| 項目 | 平均値 | 方法間 | 方法内 | 平均値 | 方法間 | 方法内 |
|------------|-------|-------|------|-------|-------|------|
| 総ビリルビン | 0.89 | 1.97 | 4.22 | 4.98 | 2.60 | 2.07 |
| ブドウ糖 | 90.2 | 1.24 | 1.26 | 249.0 | 1.07 | 1.07 |
| 総カルシウム | 8.04 | 0.82 | 1.50 | 13.39 | 1.65 | 1.44 |
| 無機リン | 3.13 | 4.00 | 1.61 | 8.16 | 2.48 | 1.19 |
| 尿素窒素 | 9.87 | 2.97 | 1.77 | 52.96 | 3.20 | 1.53 |
| 尿酸 | 3.58 | 5.21 | 1.71 | 10.86 | 4.09 | 1.42 |
| クレアチニン | 0.788 | 9.91 | 3.35 | 3.948 | 6.09 | 1.88 |
| 血清鉄 | 66.5 | 3.35 | 1.53 | 248.2 | 2.54 | 1.17 |
| AST | 24.5 | 4.81 | 2.71 | 117.3 | 6.39 | 1.41 |
| ALT | 23.8 | 17.88 | 3.04 | 112.3 | 5.13 | 1.52 |
| LDH | 142.2 | 9.53 | 1.55 | 495.5 | 8.14 | 1.30 |
| ALP | 138.5 | 7.74 | 2.20 | 730.2 | 1.71 | 1.99 |
| γ-GT | 30.1 | 4.88 | 2.79 | 200.8 | 2.04 | 1.47 |
| アミラーゼ | 61.0 | 12.70 | 2.07 | 294.6 | 8.40 | 1.51 |
| CK | 81.5 | 11.88 | 2.65 | 323.0 | 7.00 | 1.91 |
| コリンエステラーゼ | 132.5 | 12.16 | 1.54 | 433.8 | 13.85 | 1.38 |
| 総コレステロール | 213.0 | 4.68 | 1.27 | 174.4 | 1.72 | 1.29 |
| 中性脂肪 | 169.0 | 7.21 | 1.48 | 134.2 | 5.62 | 1.42 |
| HDLコレステロール | 53.1 | 6.80 | 1.87 | 48.3 | 5.97 | 1.81 |
| LDLコレステロール | 130.2 | 3.60 | 1.74 | 107.2 | 3.12 | 1.46 |
| HbA1c | 5.71 | 2.15 | 1.42 | 10.01 | 2.19 | 1.21 |

臨床検査の方法間、方法内精度

| 項目 | 平均値 | 方法間 | 方法内 | 平均値 | 方法間 | 方法内 |
|----------|-------|-------|-------|--------|-------|------|
| CEA | 2.39 | 51.89 | 5.45 | 23.52 | 12.06 | 2.82 |
| AFP | 5.21 | 10.11 | 5.10 | 87.94 | 7.16 | 2.39 |
| CA19-9 | 15.6 | 19.80 | 3.08 | 145.6 | 40.74 | 3.96 |
| CA125 | 18.8 | 9.37 | 3.87 | 76.3 | 14.74 | 2.95 |
| PSA | 2.05 | 15.25 | 3.31 | 21.78 | 14.02 | 2.78 |
| TSH | 2.56 | 12.41 | 3.09 | 14.50 | 11.83 | 2.86 |
| FT4 | 1.62 | 29.05 | 3.31 | 2.70 | 27.07 | 3.27 |
| CRP | 0.29 | 12.51 | 6.07 | 1.96 | 5.74 | 3.55 |
| フェリチン | 63.18 | 18.03 | 5.39 | 396.61 | 16.27 | 4.13 |
| リウマトイド因子 | 20.71 | 29.01 | 8.33 | 63.84 | 17.70 | 4.05 |
| ヘモグロビン | 7.41 | 1.02 | 1.07 | 14.68 | 1.12 | 0.85 |
| 赤血球数 | 294.0 | 1.52 | 0.98 | 488.9 | 1.06 | 0.90 |
| 白血球数 | 28.90 | 13.89 | 22.00 | 30.05 | 5.59 | 3.12 |
| 血小板数 | 9.73 | 16.47 | 4.31 | 33.22 | 6.91 | 3.36 |
| ハマトクリット | 21.97 | 4.25 | 1.50 | 41.00 | 3.72 | 1.43 |
| PT-INR | 2.22 | 8.36 | 4.16 | | | |
| APTT | 29.8 | 5.58 | 2.10 | 40.5 | 5.99 | 2.70 |
| フィブリノゲン | 230.5 | 5.35 | 3.54 | 269.4 | 4.40 | 3.56 |

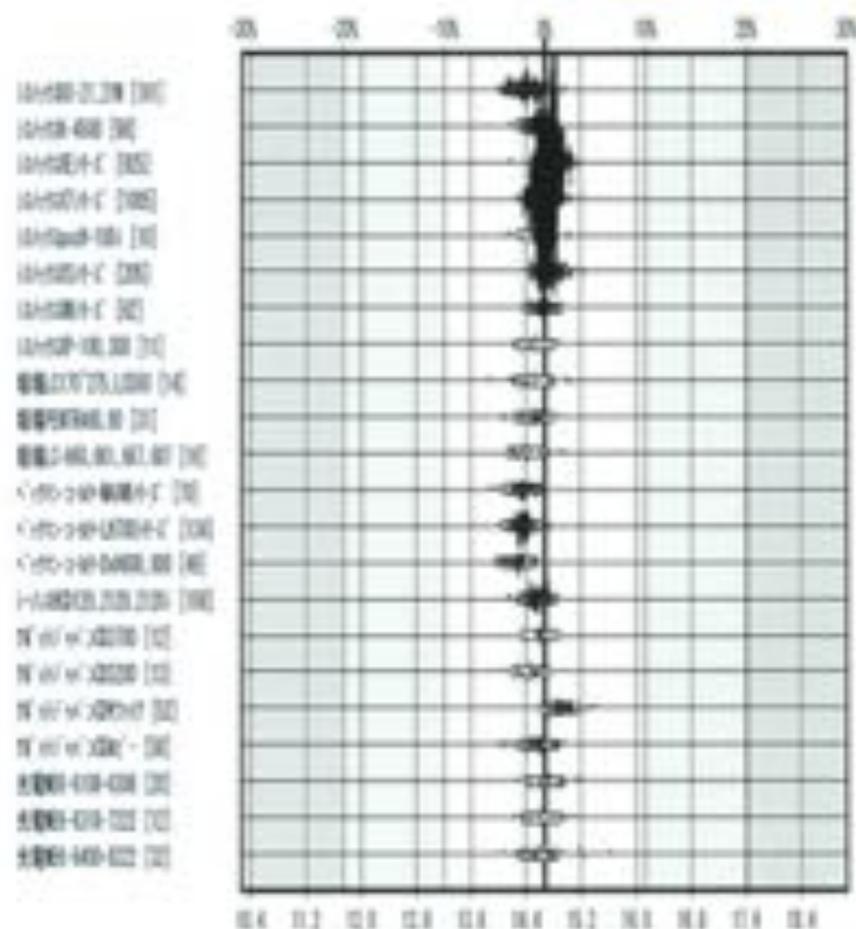
方法間変動と方法内変動がほぼ満足できる項目

-総ビリルビン、ブドウ糖、総カルシウム、尿素窒素-

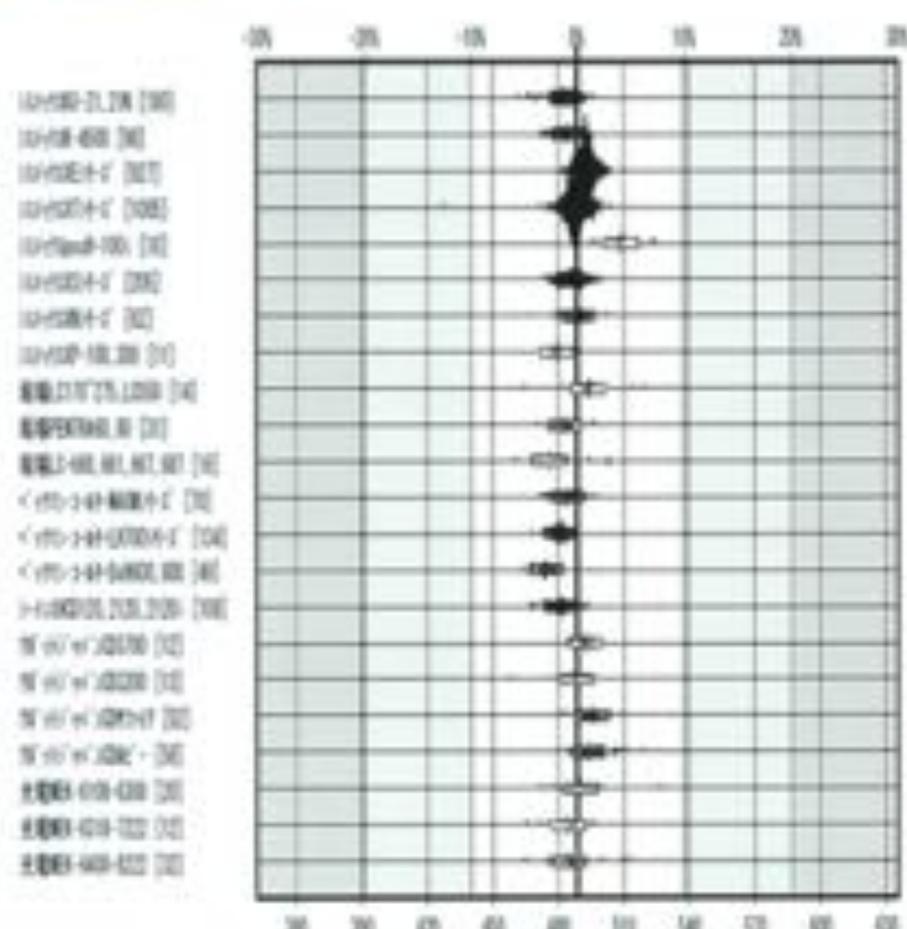


血液学検査(Hb、RBC)

-装置内、装置間とも良好-



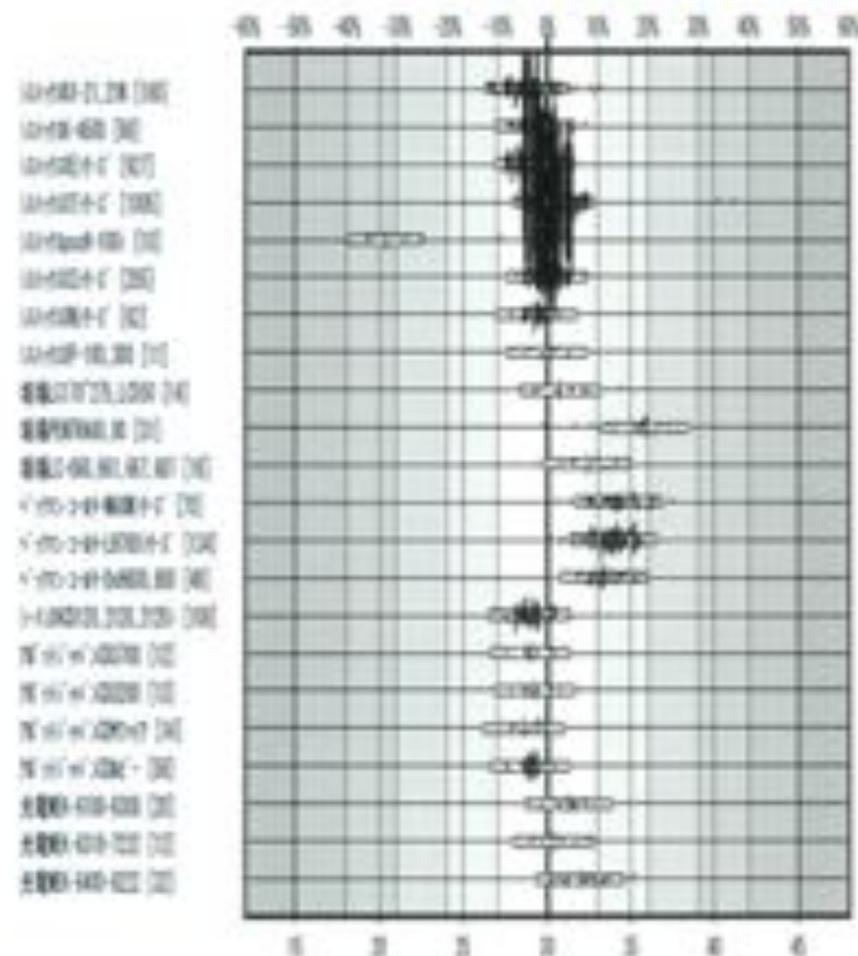
ヘモグロビン濃度 (試料21)
方法内: 0.85%、方法間: 1.12%



赤血球数 (試料21)
方法内: 0.90%、方法間: 1.06%

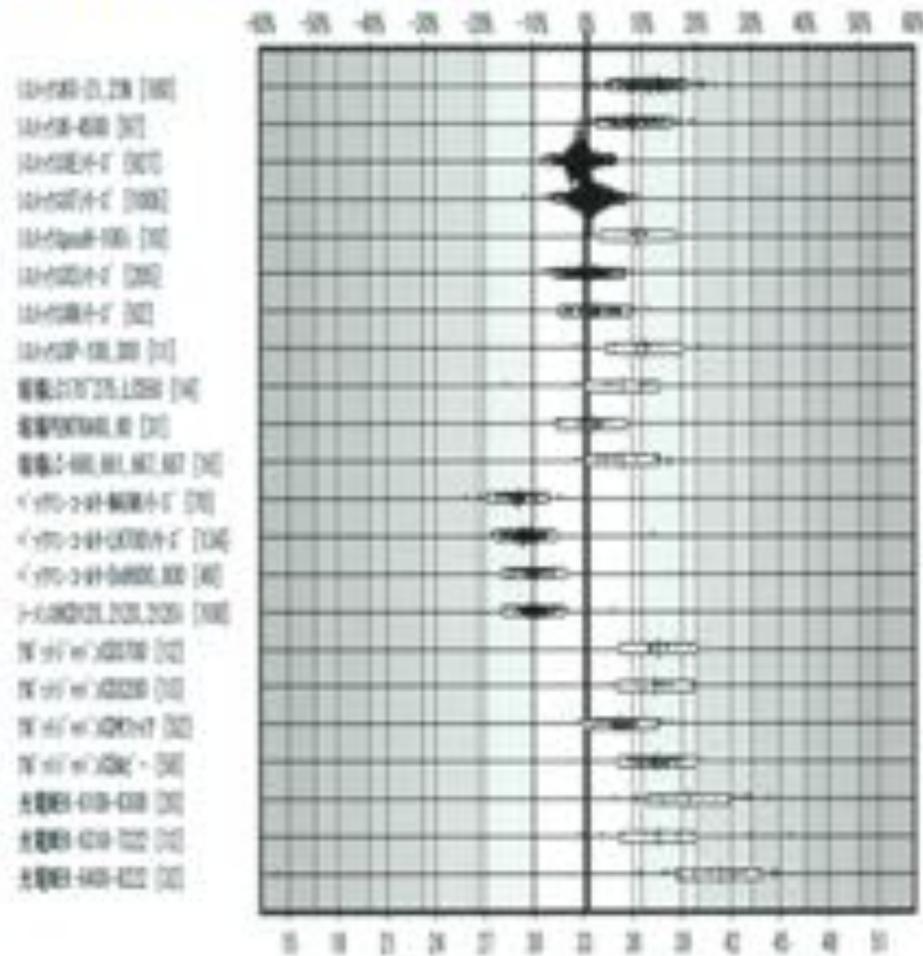
血液学的検査(WBC、PLT)

-装置内は良いが、装置間は不良-



白血球数 (試料21)

方法内：3.12%、方法間：5.59%

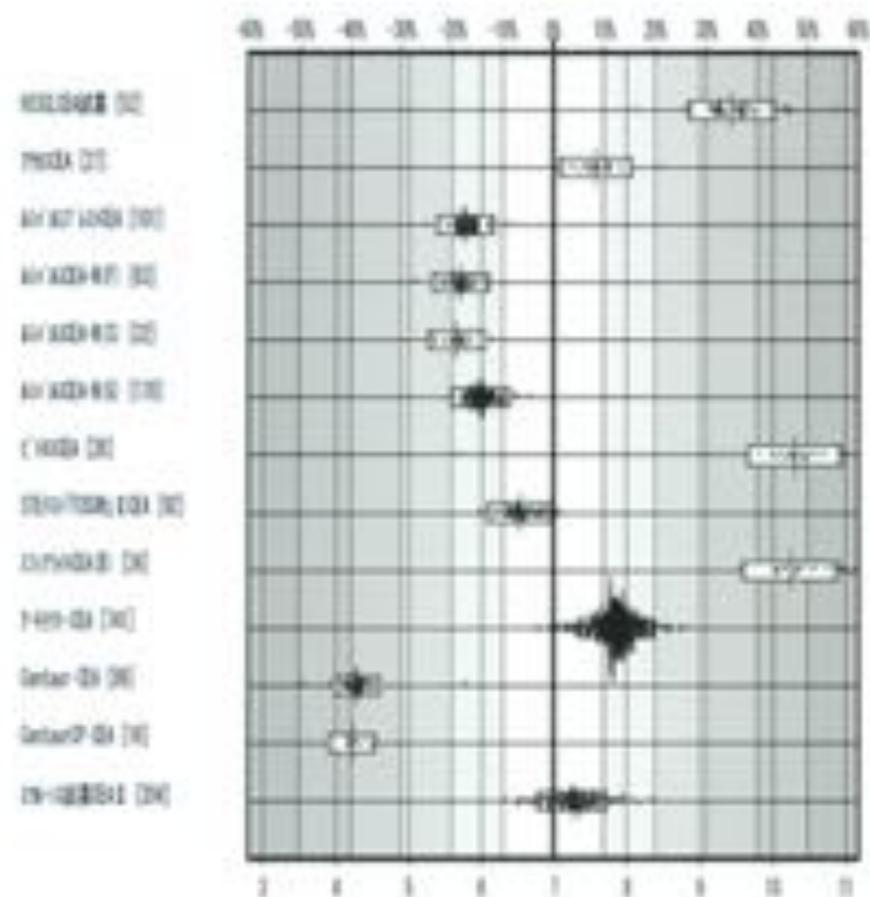


血小板数 (試料21)

方法内：3.38%、方法間：6.91%

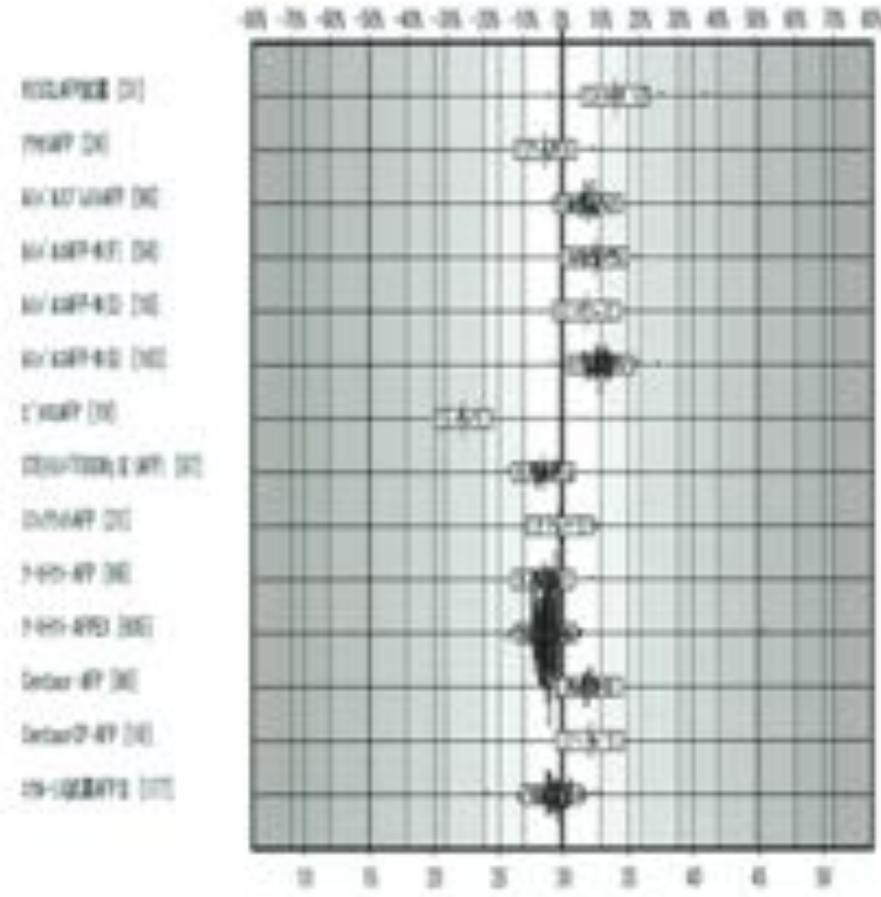
腫瘍マーカー

-方法内変動は良いが、方法間変動は不良-



CEA (試料12)

方法内：3.22%、方法間：20.95%



AFP (試料12)

方法内：2.74%、方法間：7.56%



外部精度管理調査の問題点

調査試料の問題点

- 多数の施設に配布するため多量の調査試料が必要
 - 患者試料がプールできずに標準品や遺伝子組換え体の添加
 - ☞ CA19-9
 - 凍結乾燥品の配布
 - ☞ HDL、LDLコレステロール、HbA1c
- 高得点取得のための不正行為
 - ☞ オープン調査とブラインド調査の併用

調査試料の作製

-日本医師会精度管理調査-

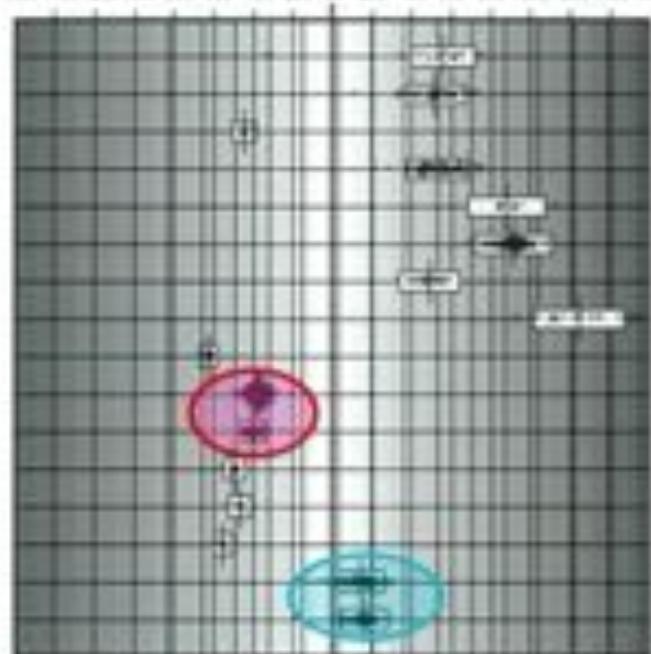
| | |
|--------------|------------------|
| グルコース | ブドウ糖 |
| ビリルビン | ビリルビン純品粉末 |
| カルシウム | 塩化カルシウム |
| 尿酸 | 尿酸純品粉末 |
| 尿素窒素 | 尿素粉末 |
| クレアチニン | クレアチニン純品粉末 |
| AST | ヒト遺伝子組換え体（肝型） |
| ALT | ヒト遺伝子組換え体（肝型） |
| ALP | ヒト遺伝子組換え体（肝型） |
| LD | ヒト赤血球 |
| アミラーゼ | ヒト膵由来：ヒト唾液由来＝1：1 |
| CK | ヒト遺伝子組換え体（骨格筋型） |
| γ -GT | ヒト遺伝子組換え体（肝型） |

調査試料による報告値の違い

CA19-9 [人工産物vs.患者プール]

平均 117.42 ng/mL 方法間CV 56.91% 方法内CV 5.70%

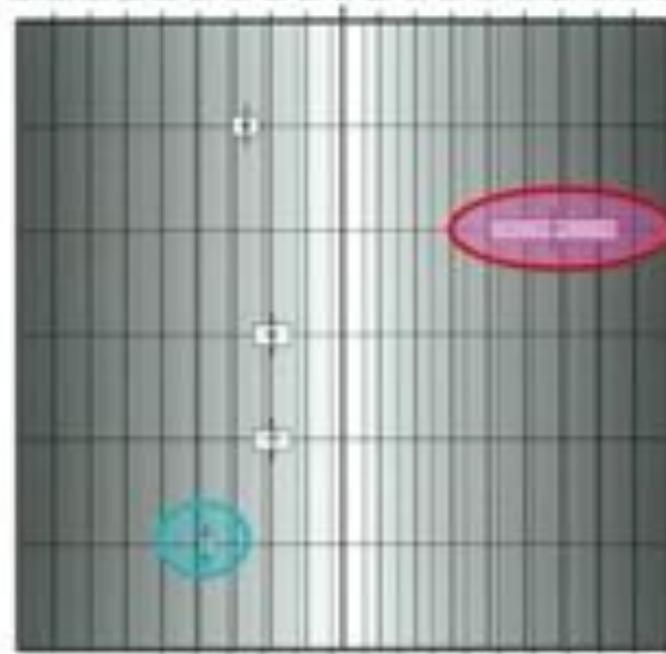
A社1
A社2
B社
C社1
C社2
C社3
D社1
D社2
E社
F社1
F社2
G社1
G社2
G社3
H社1
H社2



日本医師会調査

平均 537.67 ng/mL 方法間CV 92.62% 方法内CV 8.11%

C社
F社
G社1
G社2
H社

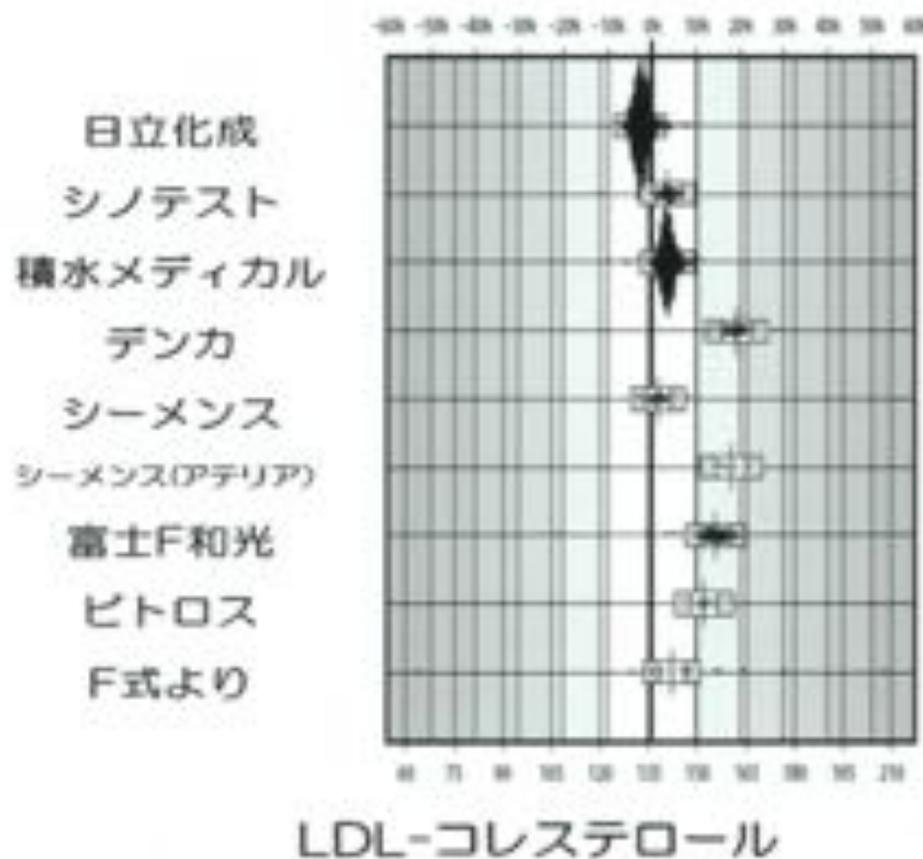
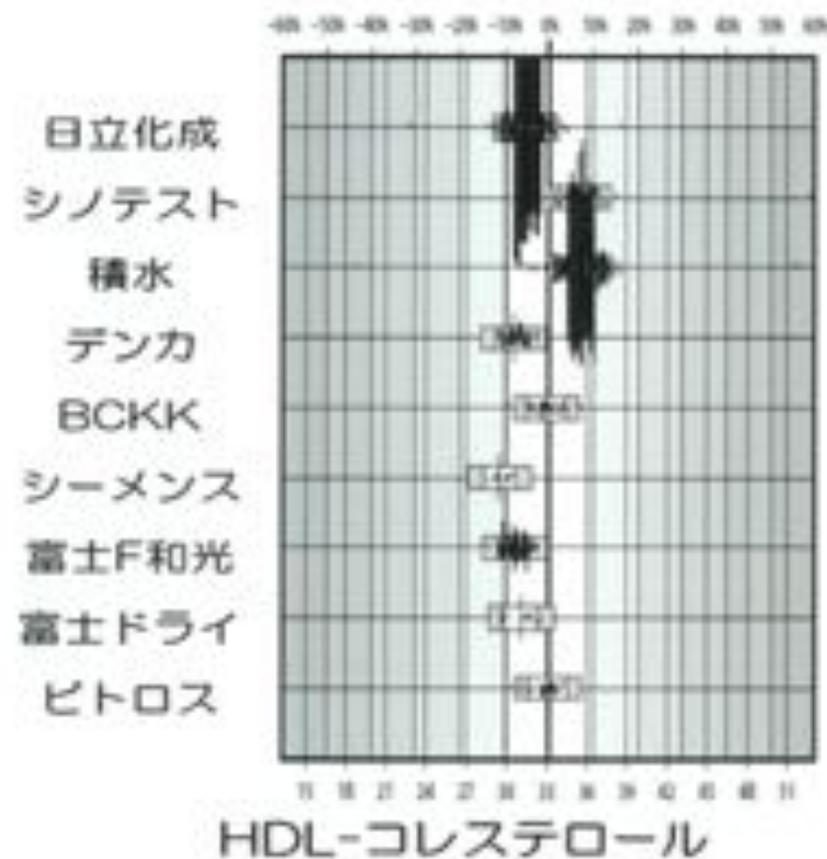


日本衛生検査所協会調査

- 日医：培養細胞上清、日衛協：患者プール血清
- 両調査とのばらつきが大きいですが、F社は日衛協では異常高値で、H社は日医では中間であるが、日衛協では低値である

HDL-とLDL-コレステロールの試薬別分布図

-日本医師会精度管理調査(令和2年度)-



- 日立化成と積水の差
- HDL：試料6：6.9mg/dL (12.3%)、7：4.1mg/dL (12.4%)、8：7.7mg/dL (15.8%)
- LDL：試料6：4.0mg/dL (6.1%)、7：4.8mg/dL (5.0%)、8：8.5mg/dL (8.3%)

新鮮ヒトプール血清の室温放置による LDL-C測定値変化

LDL-C測定値

| | LDL-C | | |
|--------|-------|-----|------|
| | 0日目 | 5日目 | 50日目 |
| 第一化学 | 106 | 99 | 101 |
| 協和 | 103 | 110 | 130 |
| デンカ | 105 | 96 | 91 |
| 和光 | 107 | 110 | 111 |
| シスメックス | 104 | 112 | 124 |

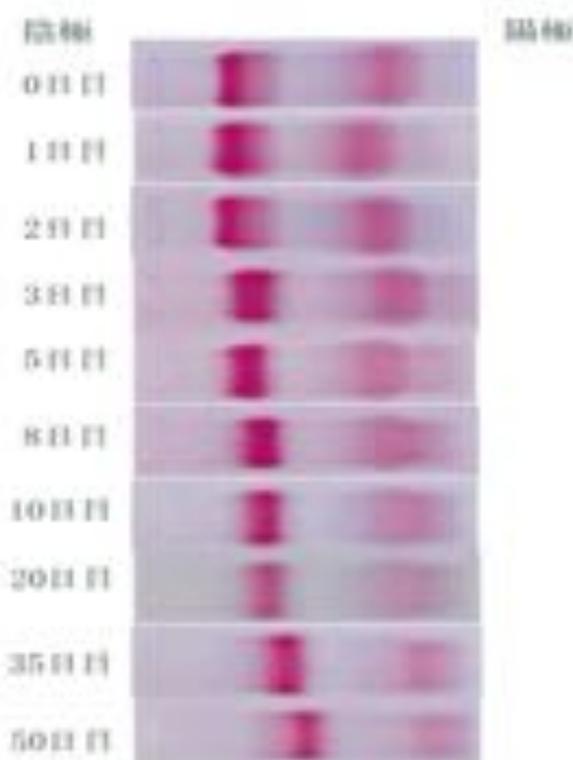
〈LDL-C測定結果について〉

- ・アガロース電気泳動像で経時的に β 位とpre β 位の境界がなくなり、陽極寄りに泳動される。
- ・各社LDLの測定値も挙動は異なるが、経時的に変動する。



LDL-C測定値の乖離要因として、変性したリポ蛋白に対する各社試薬の反応性の違いが考えられる。

アガロース電気泳動像

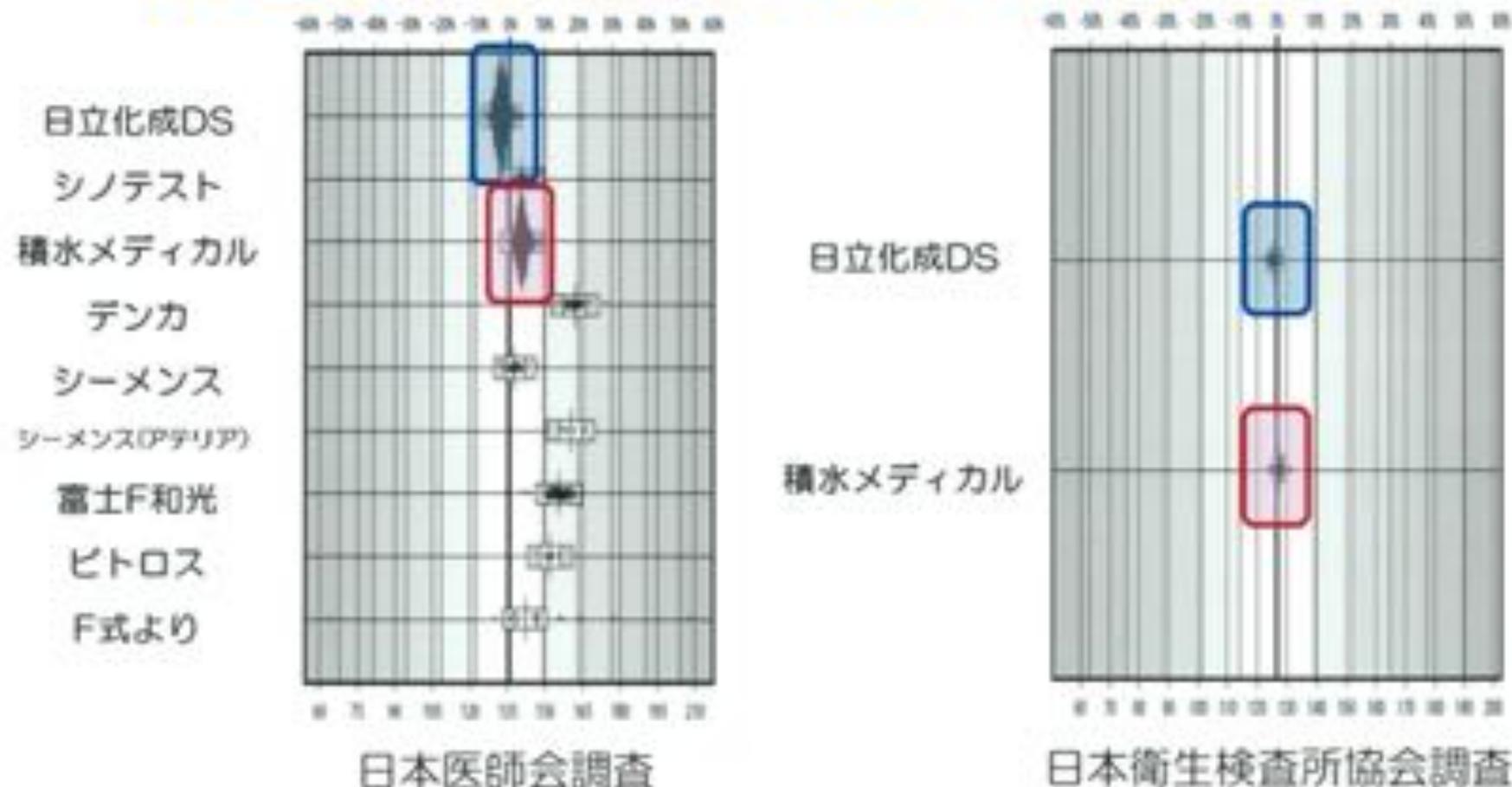


試料脂質濃度

| T-CHO | TG | HDL-C |
|-------|----|-------|
| 178 | 68 | 57 |

調査試料による報告値の違い

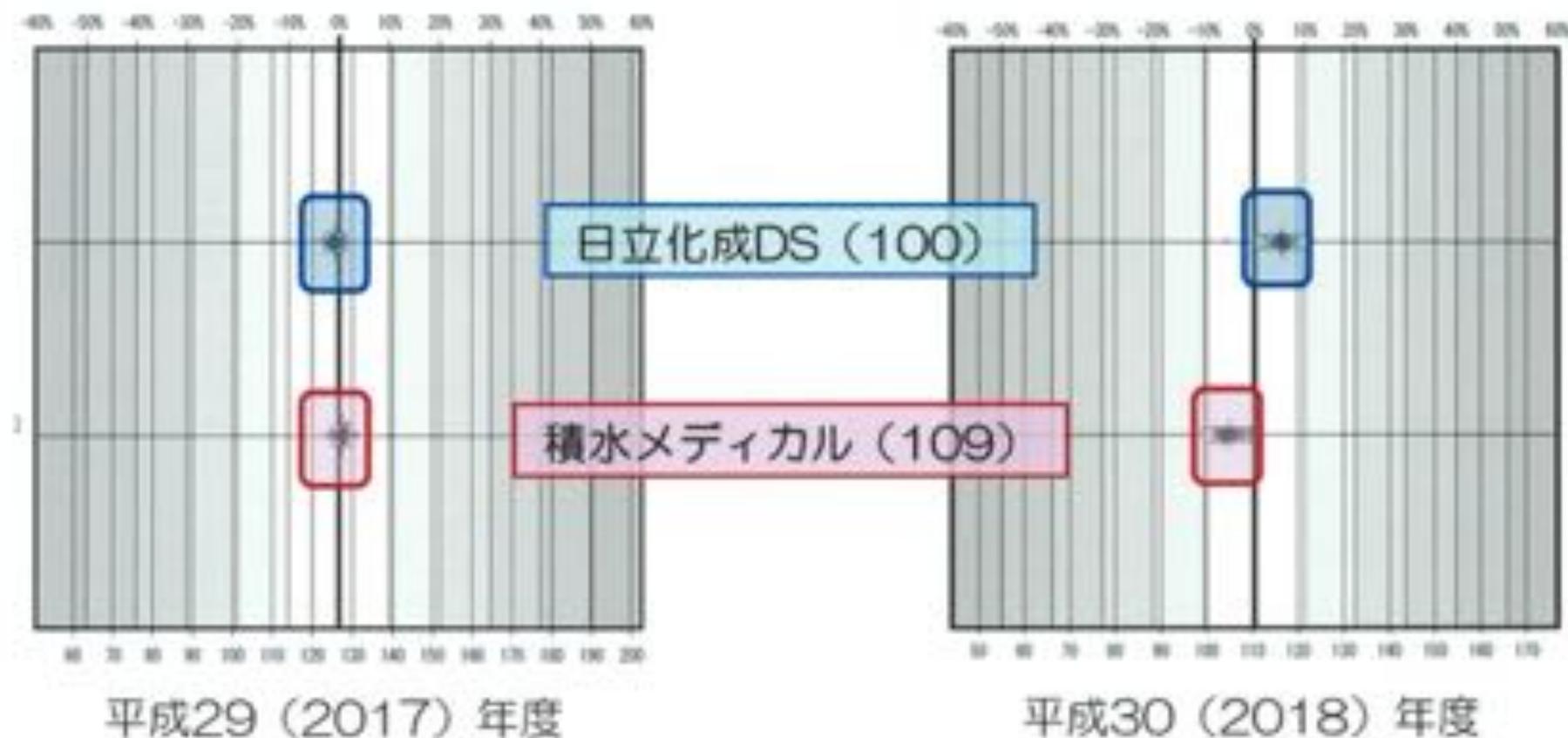
LDLコレステロール〔凍結乾燥品vs.凍結品〕



- 日医：患者プールの凍結乾燥品、日衛協：患者プールの凍結品
- 日医では試薬間でバラつきがあるが、日衛協では2大試薬でのバラつきは小さい

調査試料による報告値の違い

LDLコレステロール〔作製試料の相違：作製年の違い〕



平成29 (2017) 年度 (左) : 日立化成DS (125.6) > 积水メディカル (127.4)
 平成30 (2018) 年度 (右) : 日立化成DS (116.4) > 积水メディカル (104.7)

HbA1cの変動諸指標

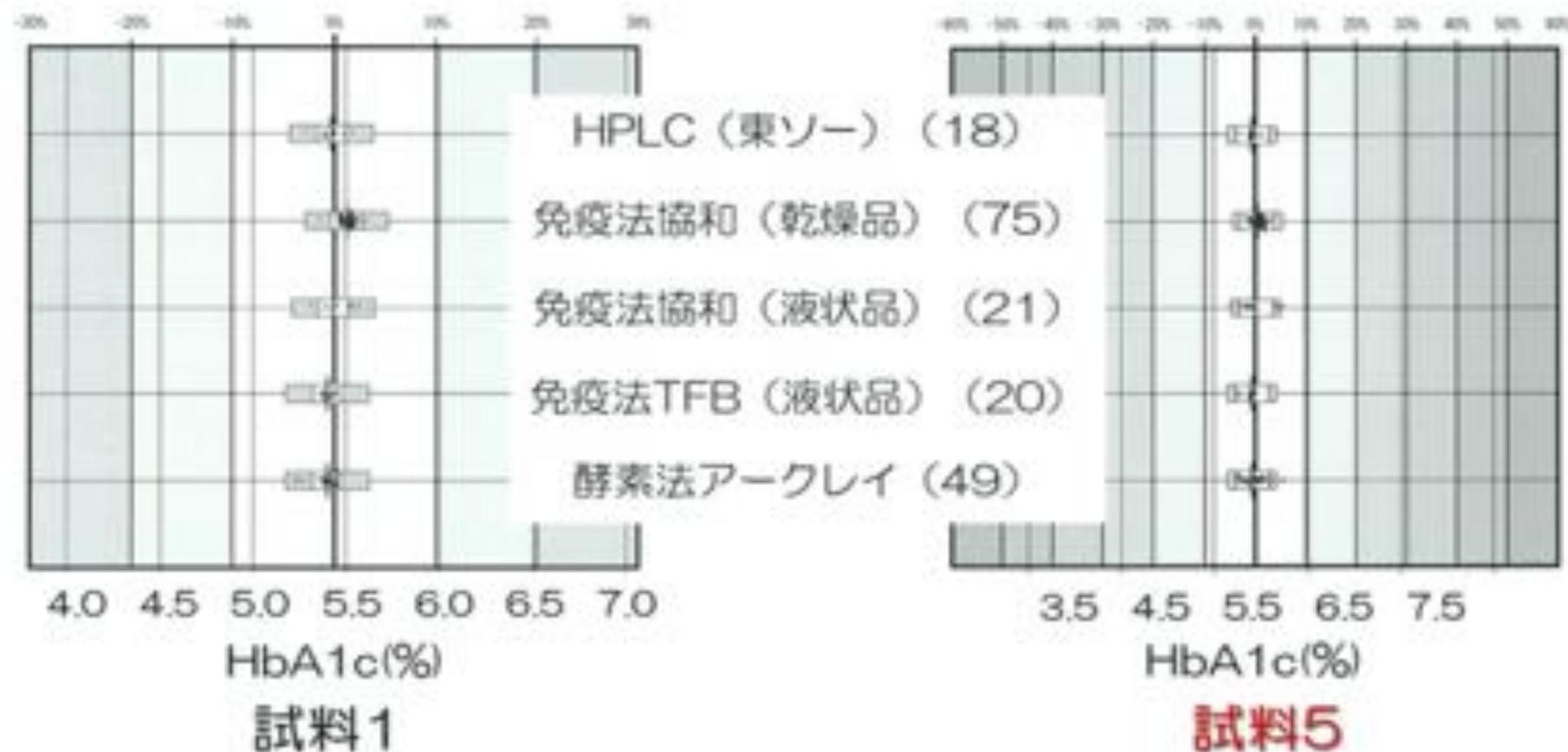
-日衛協調査-

| 試料 | 変動 | | 標準 偏差 | 補正共 通CV | 平均値 |
|----|------|------|----------|------------|------|
| | 方法間 | 方法内 | | | |
| 1 | 1.13 | 0.85 | 0.09 | 1.97 | 5.45 |
| 2 | 1.59 | 0.89 | 0.10 | 1.72 | 6.42 |
| 3 | 1.93 | 0.70 | 0.13 | 1.48 | 7.37 |
| 4 | 1.74 | 1.74 | 0.11 | 2.39 | 4.86 |
| 5 | 0.65 | 1.84 | 0.10 | 2.93 | 5.44 |

- 試料1～3：凍結乾燥品、試料4、5：生血（CBC算定残余血）
- 方法間変動は生血が良好

凍結乾燥血と生血試料でのHbA1c

-日衛協調査-



HbA1cの測定法別平均値の比較

-日衛協調査-

| 方法 | メーカー\ 試料 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|------|-------------|------|------|------|------|------|
| HPLC | アークレイ | 5.40 | 6.30 | 7.25 | 4.83 | 5.43 |
| | 東ソー | 5.41 | 6.34 | 7.33 | 4.79 | 5.39 |
| 免疫法 | 協和（凍乾・汎用自動） | 5.50 | 6.46 | 7.42 | 4.89 | 5.47 |
| | 協和（液状・半自動） | 5.45 | 6.55 | 7.57 | 4.82 | 5.44 |
| | TFB | 5.40 | 6.43 | 7.40 | 4.67 | 5.37 |
| 酵素法 | アークレイ | 5.38 | 6.29 | 7.20 | 4.90 | 5.42 |

オープン調査とブラインド調査

- 精度管理調査の多くはオープン調査
 - オープン調査は必ずしも検査現場の精度管理状況を反映していない → 調査用手順での測定？
 - 複数回測定、直前にキャリブレーション、標準品測定
- ブラインド調査が必要
 - ブラインド調査には試料の送付法と試料の工夫調整が必要
 - 東京都
 - 東京都医師会の協力で患者検体として調査試料を登録衛生検査所に提出
 - 患者検体の擬似試料を作製

擬似全血試料の外観・形態

1. 13施設に搬送（約3時間の時差）
東京都下の大学病院、検査センター
2. 到着時、遠心分離時のコメント
 - 外観に異常はなし : 10/13
 - 溶血を確認
試料1 : 7/13、2 : 8/13、3 : 1/13
 - 遠心分離後の上清にフィブリンの析出
 - 血球、フィブリンが除去しきれない



試料1 : ヘパリン+肝機能異常
試料2 : CPD+腎機能異常
試料3 : CPD+高脂血症

擬似血液による精度管理調査

-東京都医師会-

1. 健常ボランティアからCPD採血
2. 遠心操作により血球と血漿を分離
3. 血漿70mLに異常プール血清30mLの割合で混和
4. ヘマトクリット値が約40%前後になるように血球を添加
5. 各検査施設の専用試験管に分注
6. 血液5mLにトロンビン5 μ Lの割合で添加し、静置
7. 患者血液として精度管理に利用

ブラインド調査の有効性

-東京都衛生検査所精度管理調査-

| 項目 | オープン調査 | | | | | | ブラインド調査 | | | | | |
|--------|--------|-------|-----|-------|-------|-----|---------|-------|-----|-------|-------|-----|
| | 試料1 | | | 試料2 | | | 試料3 | | | 試料4 | | |
| | 平均値 | SD | CV | 平均値 | SD | CV | 平均値 | SD | CV | 平均値 | SD | CV |
| 尿素窒素 | 16.03 | 0.35 | 2.2 | 49.52 | 1.08 | 2.2 | 12.05 | 0.32 | 2.7 | 26.61 | 0.78 | 2.9 |
| 尿酸 | 358 | 0.06 | 1.8 | 9.74 | 0.09 | 0.9 | 4.25 | 0.1 | 2.4 | 6.11 | 0.21 | 2.4 |
| クレアチニン | 0.972 | 0.036 | 3.7 | 5.882 | 0.081 | 1.4 | 0.637 | 0.019 | 2.9 | 2.503 | 0.092 | 3.7 |
| ブドウ糖 | 96.7 | 1.4 | 1.4 | 302.1 | 4.1 | 1.4 | 79.0 | 1.4 | 1.7 | 206.8 | 5.2 | 2.5 |
| HbA1c | 5.14 | 0.1 | 2.0 | 7.93 | 0.14 | 1.8 | 5.35 | 0.14 | 2.7 | 7.87 | 0.23 | 2.9 |
| AST | 35.0 | 0.7 | 2.1 | 160.2 | 3.1 | 1.9 | 18.4 | 0.8 | 4.2 | 78.6 | 2.4 | 3.0 |
| ALT | 33.8 | 1.0 | 2.8 | 166.1 | 2.9 | 1.7 | 18.5 | 0.9 | 5.0 | 67.3 | 2.2 | 3.3 |
| γ-GT | 45.1 | 0.9 | 2.0 | 137.8 | 2.3 | 1.7 | 28.8 | 0.6 | 2.2 | 65.5 | 1.7 | 2.5 |

- ・ オープン調査と比較してブラインド調査ではCVが大きい

ブラインド調査の有効性

-東京都衛生検査所精度管理調査-

- Rho(D)血液型調査：抗e抗体で感作した血球
 - オープン調査：「陰性」で「確認試験」のコメントが 32/35施設で付記
 - ブラインド調査：18/18施設で「陰性」であったが、**確認試験のコメントはなし**（2012）
- ABO血液型：A型あるいはB型血液にO血球を混合
 - オープン調査：12/33施設は「A型」、21/33施設は「その他」で18施設はコメントあり（2013）
 - ブラインド調査：**6/17施設は「A型」でコメントなし**。「mf」の記載だけが7施設、「亜型・異型輸血など」の記載が3施設、「輸血の際の対応」の記載が1施設22



精度管理と法律

健診・簡易測定と精度管理

➤ 特定健診・特定保健指導（メタボリック健診）

健康診査における検体検査の精度管理を行う上では、検査前の準備、検査手順等を適切に実施する必要がある。健康診査における現状を踏まえ、以下のとおり、精度管理を行う上で、特に留意すべき事項を取りまとめた。今後、標準的な健康診査の手順を確立していくことが望まれる。

- ✓ **内部精度管理**は、検体の取扱、測定、測定結果の管理までの過程について行うこと。このうち測定管理について用いる管理図法は、標準的な管理図法によって行うこと。
- ✓ **外部精度管理**は、外部精度管理事業（日本医師会、日本臨床衛生検査技師会、全国労働衛生団体連合会など）の少なくとも一つに参加すること。

➤ 検体測定室

- ✓ 精度管理精度管理については、測定機器の製造業者等が示す保守・点検を実施するものとし、検体の測定に当たっては、複数人の検体を一度に測定しないものとする。
- ✓ 検体測定室ごとに、精度管理責任者（医師、薬剤師又は臨床検査技師）を定め、精度管理責任者による**定期的な内部精度管理**を実施し、年1回以上、**外部精度管理調査に参加**するものとする。

医療法等の一部を改正する法律

-平成29年6月14日公布、平成30年12月1日施行-

➤ 改正の趣旨

安全で適切な医療提供の確保を推進するため、検体検査の精度の確保、特定機能病院の管理及び運営に関する体制の強化、医療に関する広告規制の見直し、持分の定めのない医療法人への移行計画認定制度の延長等の措置を講ずること。

➤ 改正法の主な内容

✓ 医療法（昭和23年法律第205号）の一部改正

- ① 検体検査の精度の確保に関する事項
- ② 特定機能病院の管理及び運営に関する体制の強化に関する事項
- ③ 医療に関する広告規制の見直しに関する事項
- ④ 妊婦又は産婦の異常に対応する医療機関の確保等に関する事項
- ⑤ 医療機関の開設者に対する監督に関する事項

✓ 臨床検査技師等に関する法律の一部改正

- ① 採取された検体の検査を「検体検査」とし、6分類を7分類に

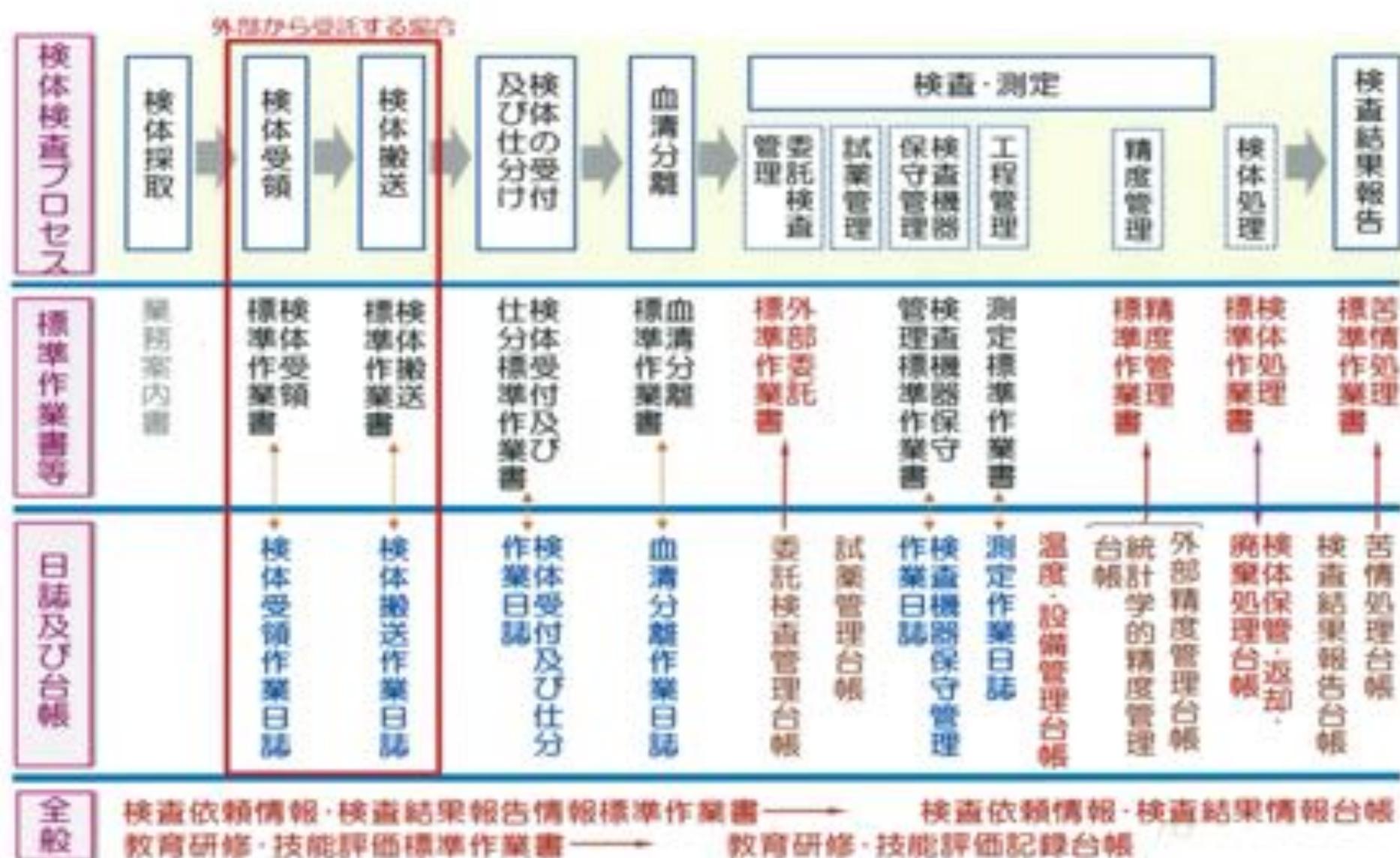
検体検査の精度の確保

-医療法、臨床検査技師等に関する法律-

ゲノム医療の実用化に向けた遺伝子関連検査の精度の確保等に取り組む必要があるため

1. 医療機関、衛生検査所等の医療機関が検体検査業務を委託する者の精度管理の基準の明確化
2. 医療技術の進歩に合わせて検体検査の分類を柔軟に見直すため、検査の分類を厚生労働省令で定めることを規定
3. 「〇〇検査（微生物学的検査、血清学的検査・）」
⇒「検体検査」

検体検査の精度の確保の方法





臨床検査室の認証・認定

臨床検査室の認証

- 日本適合性認定協会（JAB：ISO15189）
 - 大学病院：79施設
 - 登録衛生検査所：41施設
 - 一般病院・健診センター：108施設
 - 健診センター：1施設
 - 合計：229（全246）施設

2021年1月26日現在

- 日本臨床衛生検査技師会/JCCLS
 - 精度保証臨床検査室：851施設

2020年3月現在

- 医療関連サービス振興会
 - 認定衛生検査所：120施設

2021年1月現在

種々の団体での認定証・認証書

日本適合性認定協会



医療関連サービス振興会



日本臨床検査技師会/JCCLS



種々の団体での認定証・表彰状

日本人間ドック学会



全国労働衛生団体連合会



広島県医師会



種々の団体での参加証

日本総合健診医学会



日本医師会



日本臨床検査技師会



最近の臨床検査に関するトピックス

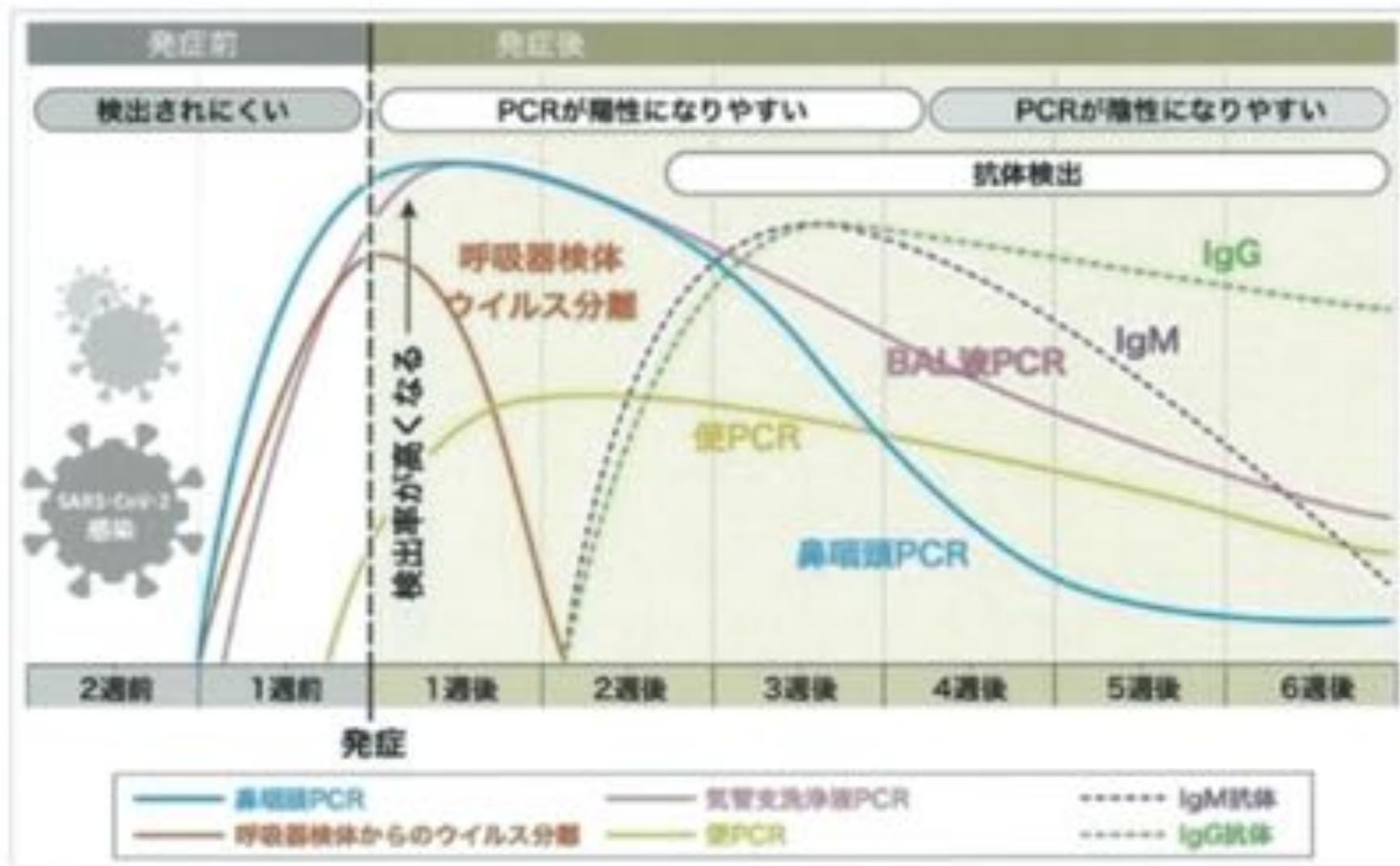


1. 「医療法等一部が改正される法律」の施行
⇒全国の検査室が内部精度管理と外部精度管理調査を実施して、**検査の精度を確保**することが必須となった。
2. 新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の緊急事態宣言を行った安倍晋三元首相が、新型コロナウイルスに関する記者会見（20200417）で医師らと並んで現場で奮闘する臨床検査技師に感謝と敬意を示した。
「全ての医師、看護師、看護助手、そして病院スタッフの皆さん、**臨床検査技師の皆さん**、さらには保健所の皆さん、こうした皆さんこそが、今、最前線にあって、感染リスクと背中合わせの苛酷な環境でウイルスとの闘いに臨んでくださっています。・・・現実に必死で立ち向かっている現場の皆さんに、私たちは心からの敬意と感謝の気持ちを表すことができます。」
⇒**臨床検査、臨床検査室が社会的に認知されるきっかけ**となった？

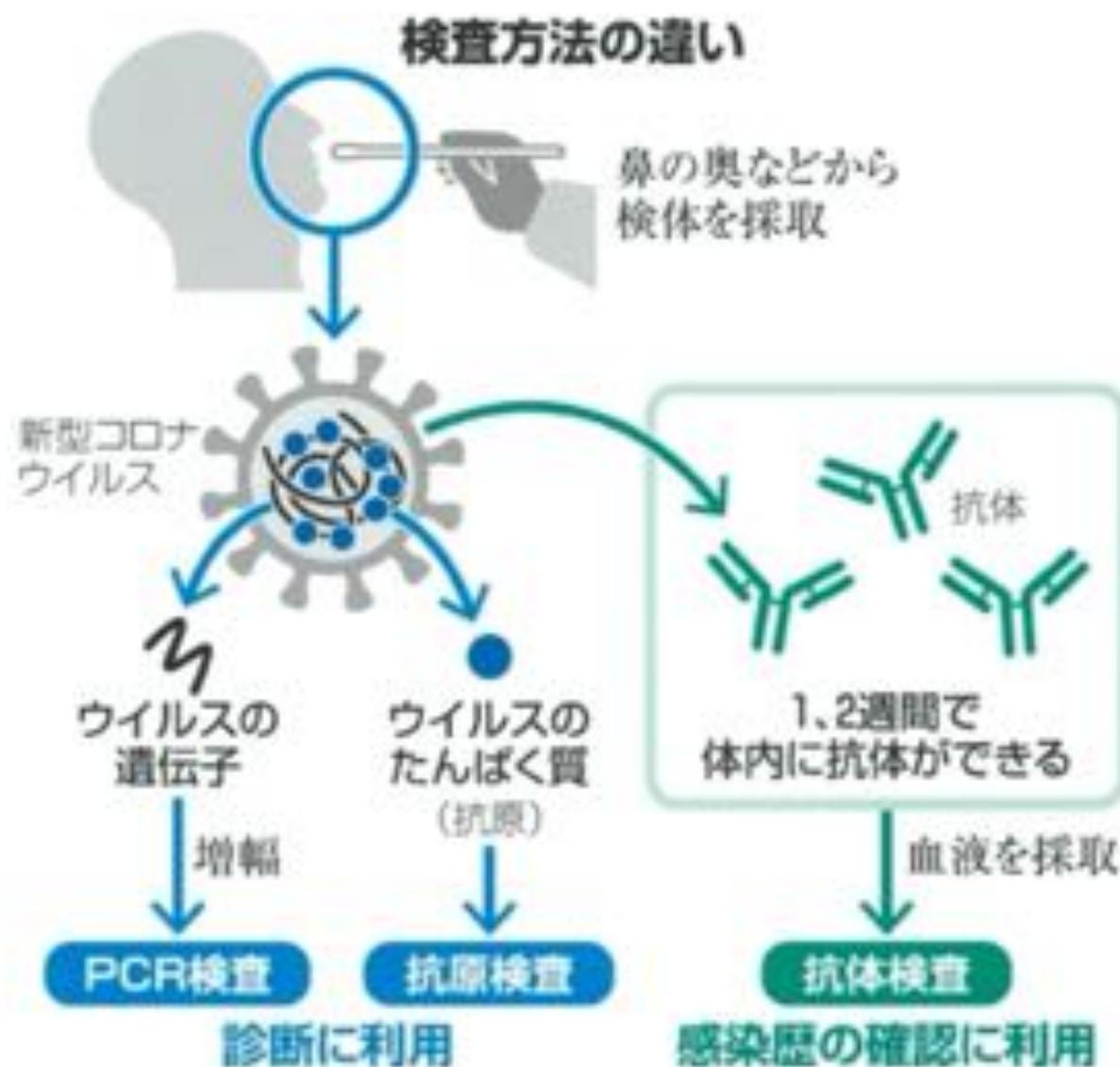


SARS-CoV-2の 臨床検査と精度管理

新型コロナウイルスPCR検査と抗体検査



新型コロナウイルス感染症の検査



新型コロナウイルス検査の特徴

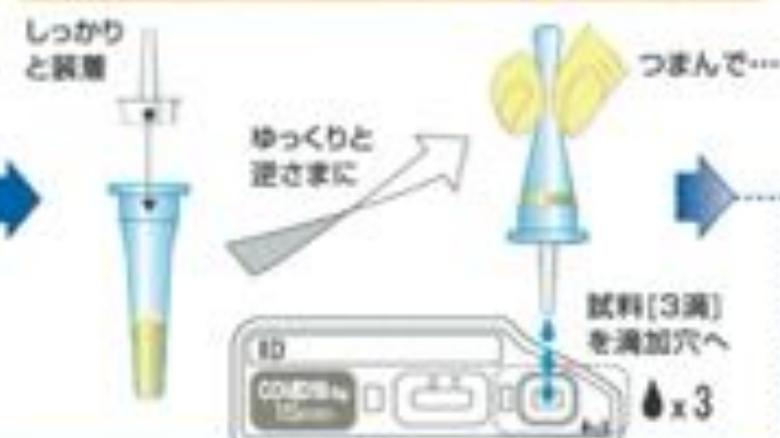
| 項目\種類 | PCR検査 | 抗原検査 | 抗体検査 |
|-------|---------------|----------------------------------|--------------|
| 検査意味 | 現在の感染有無 | | 過去の感染有無 |
| 検査試料 | 鼻咽頭ぬぐい液、唾液 | 鼻咽頭ぬぐい液 | 血液 |
| 検査装置 | 専用装置・機器 | イムノクロマト/専用機器 | イムノクロマト/専用機器 |
| 検査施行者 | 専門技師・医師 | 患者でも可/専門技師 | 患者でも可/専門技師 |
| 検査難易度 | 難 | 易 | 易 |
| 感度 | 高感度 | PCRより劣る | 抗原により異なる |
| 所要時間 | 2~9時間 | 15~30分 | 15~30分 |
| 検査目的 | 陰性パスポート・旅行 | 空港の入国審査・イベント | 中和抗体価・疫学調査 |
| 結果解釈 | | | |
| ・陽性 | 医師の指示/入院・自宅療養 | 医師の指示/入院・自宅療養 | 感染の経験あり |
| ・陰性 | 感染防止に努める | 発症後10日検査でPCR検査、 2~9日は再検必要なし経過 | 感染リスクあり |

新型コロナウイルス抗原検査(デンカ・クイックナビ)

試料の調製



試料ろ過フィルター装着/試料の滴加



反応時間：～15分間

検査結果の判定：判定例

15～30℃
で静置
そのまま…



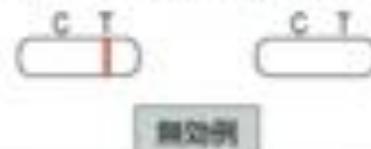
○

コントロールラインに発色が認められる



×

コントロールラインに発色が認められない



F9-218-1/R01

上記は判定例を模式的に表したものであり、実際の見え方とは異なります。

99-99

- ウイルスのnucleocapsidを特異抗体を用いて検出

「クイックナビ-COVID19 Ag」

新型コロナウイルス抗原検査(富士レビオ・エスブライン)

操作手順

検体採取方法



鼻前部をくぐり、

キット付属のニプロスポンジスワブ (TYPE S) を、
検体に対して垂直に鼻孔から下唇中央に沿わせながら鼻粘膜にコットンと行き止まる部位まで挿入したら、
数回擦るようにして粘着反応を採取します。

※検体採取のため、検体採取直後には、サージカルマスク、顔と袖を拭く（ゴブレットまたはフェイスシート等）、
手洗いがついでに、手袋を脱着してください。

測定操作

検体処理液の分注

検体抽出

滴下チップを抜いて設置

滴下

押し

反応時間



9
90秒
検体処理液を鼻前部より
スイズチューブへ約2滴の
200µlを滴下してください。



検体と反応した試薬の検体部
分をすみやかにスイズチュ
ーブ内の検体処理液に押し、
検体部分を挿入部を抜いた後、
その検体部分を破棄しな
がら試薬を回収します。



5
5分
挿入した試料液の入ったスワ
イズチューブに滴下チップをば
ら込み、5分静置します。



2
2分
試料液を黄色の検体滴下部
に滴下します。
※反応カセットと滴下チップ
の距離を10mm以上離して
滴下ください。

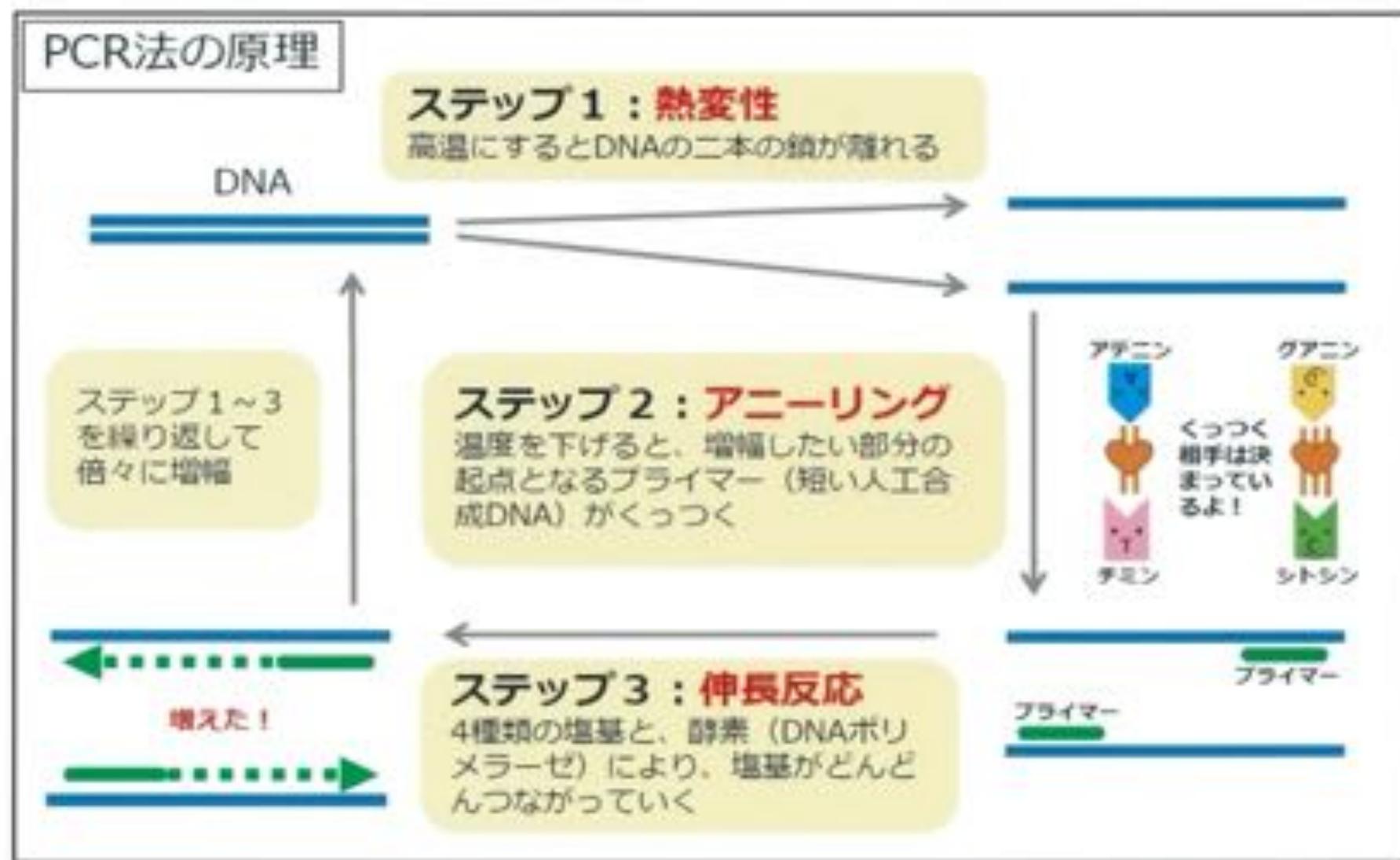


PUSH
試料液滴下後、すみやかに
オレンジ色のボタンを押し、
反応を開始し、30分間水平に
静置します。



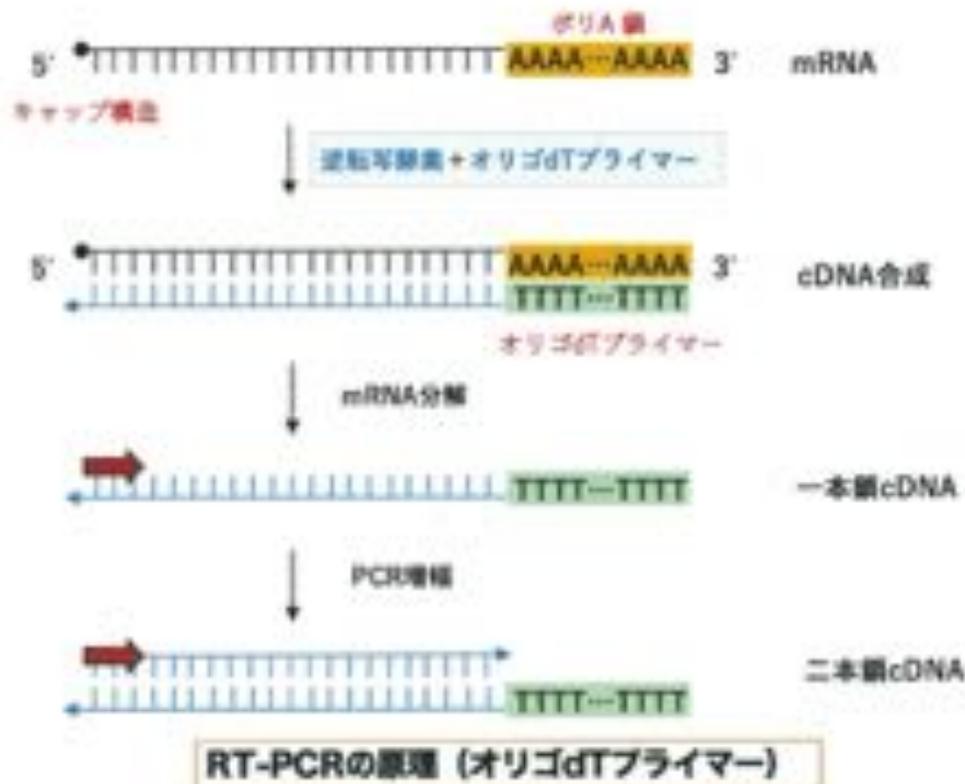
30分後に反応を行います。
ただし、30分より早くでも
レッドラインと検定ラインが
同時に出現した場合、
「陽性」と判定されます。

PCR(Polymerase Chain Reaction)法の原理

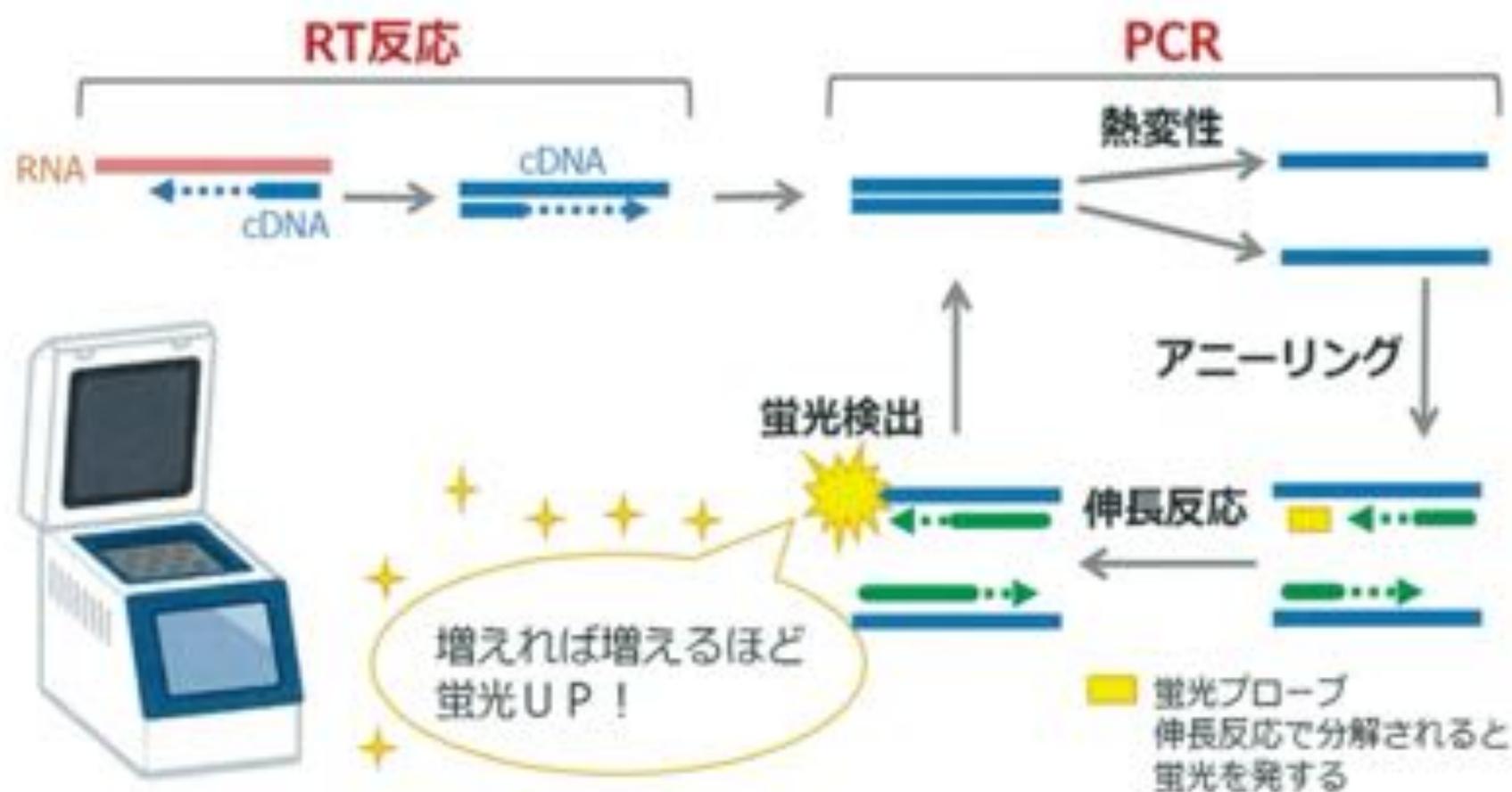


RT-PCR(Reverse Transcription-PCR)

- RT-PCRとは、RNAを鋳型としてDNAを合成（逆転写）した後、特定のプライマーを用いたPCR法によりDNAを増幅させる操作
- RT-PCRはRNAを検出するために広く用いられている
- 逆転写反応により合成されたDNAはRNAと相補的な配列をもつことから、**cDNA**（complementary DNA；相補的DNA）と呼ばれている

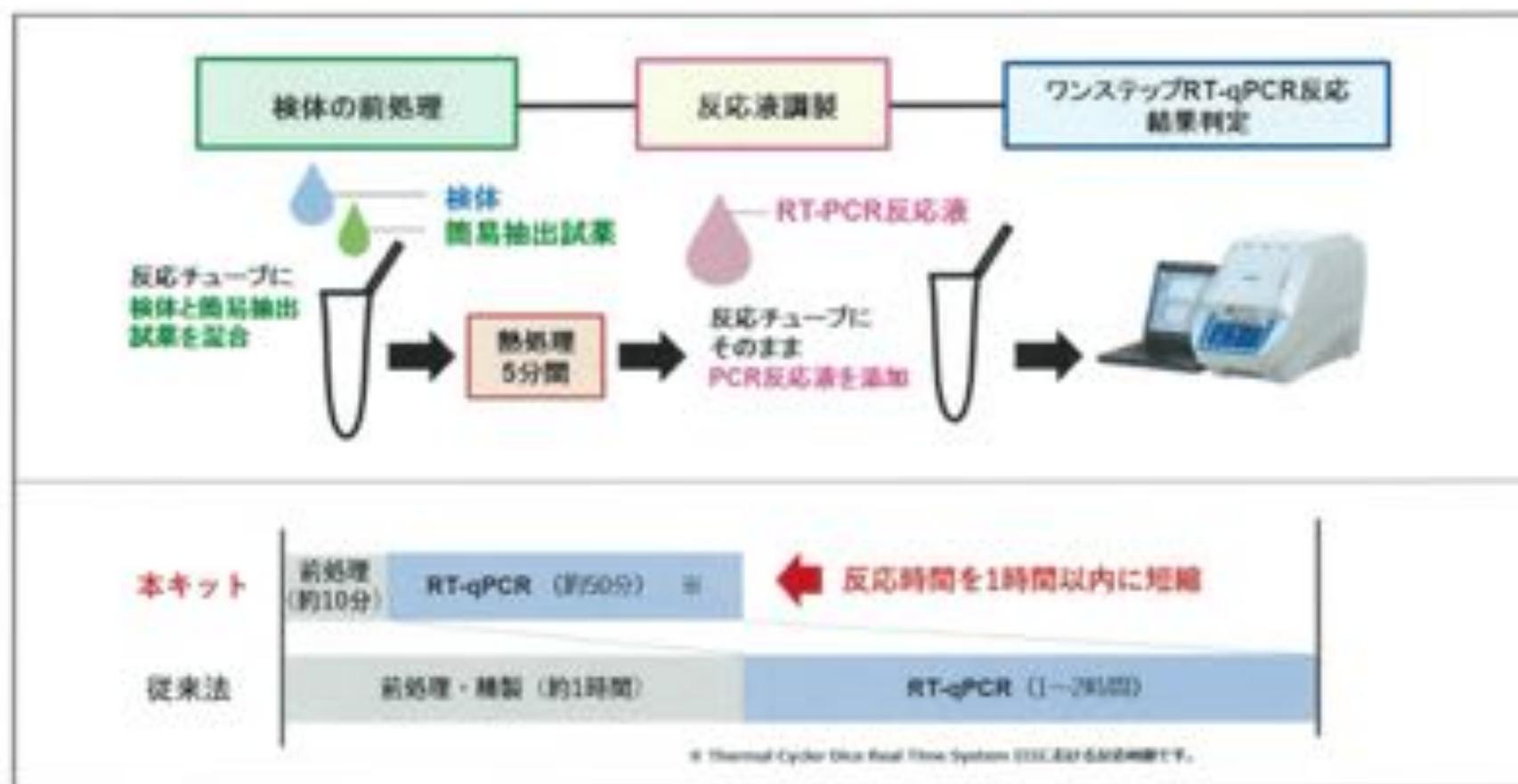


新型コロナウイルス-RT-PCR法-

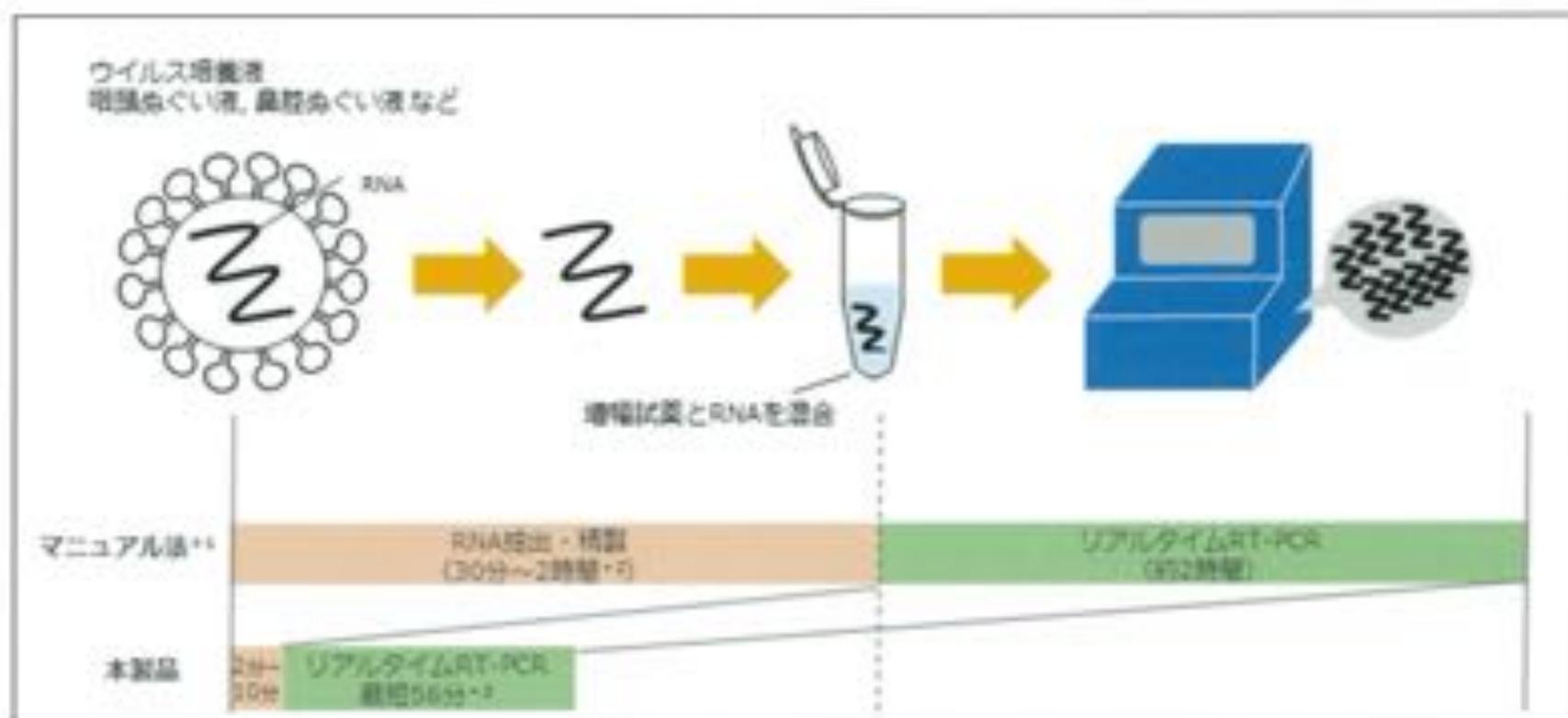


- 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) はRNAウイルスなので、RNAからDNAを合成したのちPCRを行うRT-PCR法で検出

ダイレクト-PCR-タカラバイオ-



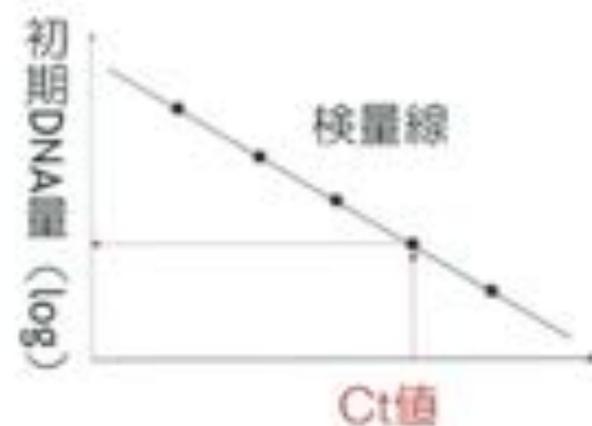
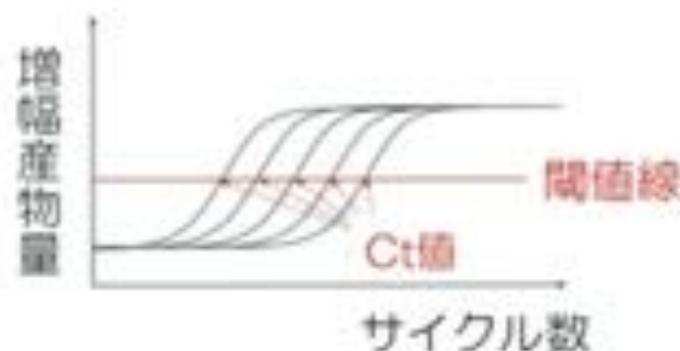
ダイレクト-PCR-東洋紡績-



- *1：国立感染症研究所発行の「病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver.2.9.1」
- *2：検体数により時間が異なる
- *3：検出装置により時間は前後する

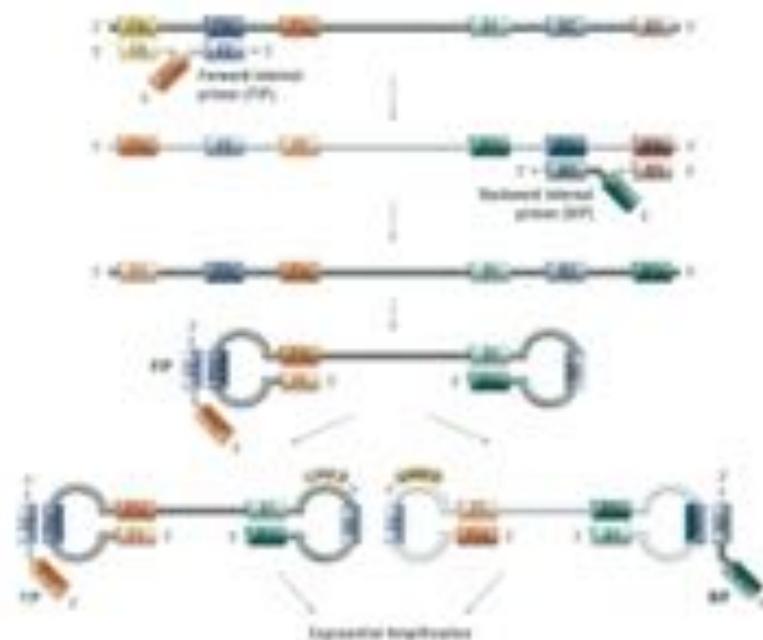
リアルタイムPCR法

- 増幅するPCR産物量をサイクルごとに蛍光物質で標識し、その蛍光強度を測定して**増幅曲線**を作成
- 試料中のDNA量が多ければ、増幅するPCR産物量が検出可能な量に達するまでのサイクル数が少なくても増幅曲線が起き上がる
- 段階希釈したスタンダードサンプルを用いて等間隔で並んだ増幅曲線を作成
- 適当なところに**閾値線** (Threshold Line)を設定し、増幅曲線と交わる点「**Ct値** (Threshold Cycle)」を得る
- 段階希釈したスタンダードサンプルのDNA量とそれぞれのCt値の関係から「**検量線**」を作成可能
- 未知サンプルから求めたCt値をこの検量線に当てはめれば、未知サンプルのDNA量を求めることができる



LAMP (Loop-mediated isothermal amplification)

1. 増幅テンプレートの合成
 - ターゲット領域を挟む形で設計した4種類のプライマーを使用して、両末端にループ構造をもつDNAを合成
 - その形状からダンベル構造と呼ばれる
2. ターゲット領域の指数関数増幅
 - ダンベル構造の2つのループにアニールするプライマーを起点としてDNA増幅が起こる
 - 鎖置換型DNAポリメラーゼを使用しているため、反応が進行することに同一鎖上に互いに相補的な配列を繰り返す構造の増幅産物が合成される
 - タンデム産物中には複数のプライマーアニール部分が存在するため、結果として指数関数的に増幅が起こり、色々なサイズの増幅産物を生じる



SARS-CoV2の外部精度管理(調査)

- 厚生労働省委託事業(JCCLS)
- 東京都衛生検査所精度管理調査

厚生労働省委託事業

「新型コロナウイルス感染症のPCR 検査等にかかる精度管理調査業務」報告書

2021年4月

宮地勇人（東海大学/日本臨床検査標準協議会）

スケジュールと調査内容

➤ スケジュール

- ① 参加登録開：2020年11月2日～11月7日
- ② 試料発送：11月15、16日
- ③ 測定締め切り：11月21日
- ④ 結果入力締切：11月25日

- 現状のSARS-CoV-2検査法は、① 簡易/カラム抽出後の逆転写・増幅検出プロセスと、② 核酸抽出、逆転写・増幅検出の全プロセスの2つに分かれるのでそれぞれを調査
- a. 増幅検出プロセス試料：精製された核酸試料（抽出不要：
100、50、0コピー/アッセイ；20、10、0コピー/ μ L）
 - b. 全プロセス検体（50、100、0コピー/アッセイ；10、20、0コピー/ μ L）で、測定の再現性検討のため2回測定

参加施設カテゴリー

| 施設分野 | 行政検査実施 | | 総数 |
|-----------------|--------|-----|-----|
| | あり | なし | |
| 医療機関（臨床検査室） | 231 | 79 | 310 |
| 地方衛生研究所 | 65 | 0 | 65 |
| 保健所 | 49 | 0 | 49 |
| 検疫所 | 14 | 0 | 14 |
| （登録）衛生検査所 | 58 | 25 | 83 |
| （臨時）衛生検査所 | 10 | 3 | 13 |
| 大学施設（臨時衛生検査所） | 6 | 5 | 11 |
| 大学施設（臨時衛生検査所以外） | 5 | 6 | 11 |
| その他 | 3 | 4 | 7 |
| 総 数 | 441 | 122 | 563 |

参加施設受託件数

| 件数/日 | 施設数 | 施設% |
|-----------|-----|------|
| 10 未満 | 180 | 32.0 |
| 11~50 | 194 | 34.5 |
| 51~100 | 78 | 13.9 |
| 101~200 | 43 | 7.6 |
| 201~500 | 17 | 3.0 |
| 501~1,000 | 12 | 2.1 |
| 1,000以上 | 39 | 6.9 |
| 総 数 | 563 | 100 |

検体種

| 検体種 | 鼻咽頭ぬぐ液 | 咽頭ぬぐい液 | 喀痰 | 唾液 | 気管支肺胞洗浄液 | その他 |
|--------|--------|--------|------|------|----------|-----|
| 実施数 | 468 | 107 | 182 | 332 | 56 | 17 |
| 比率 (%) | 83.1 | 19.0 | 32.3 | 59.0 | 8.0 | 3.0 |

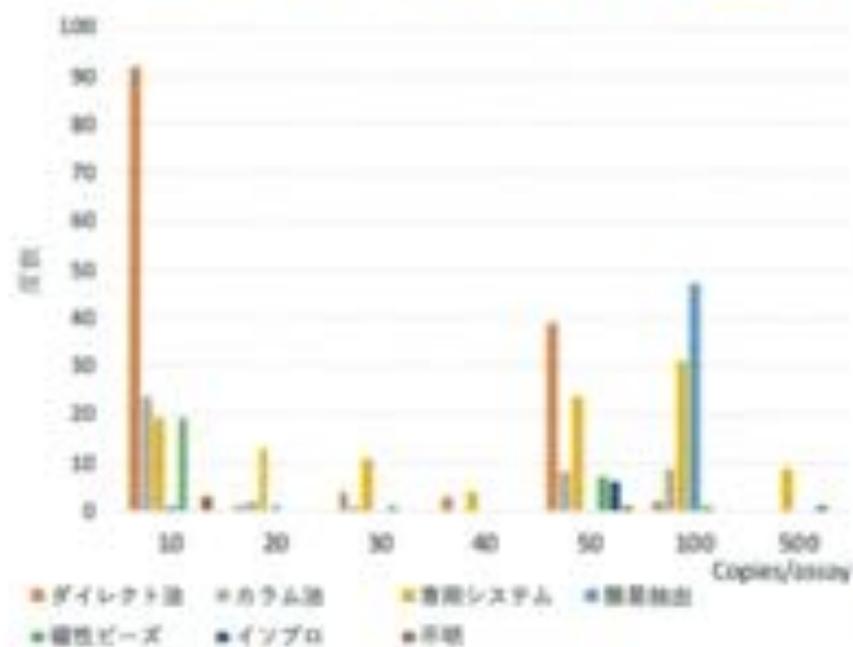
使用検体量と測定回数

| 検体量 | 施設数 | 施設% |
|-------|-----|------|
| 5 | 49 | 14.9 |
| 10 | 41 | 12.5 |
| 20 | 12 | 3.6 |
| 50 | 5 | 1.5 |
| 100 | 10 | 3.0 |
| 200 | 164 | 49.8 |
| 500 | 40 | 12.2 |
| 1,000 | 8 | 2.4 |
| 総数 | 329 | 100 |

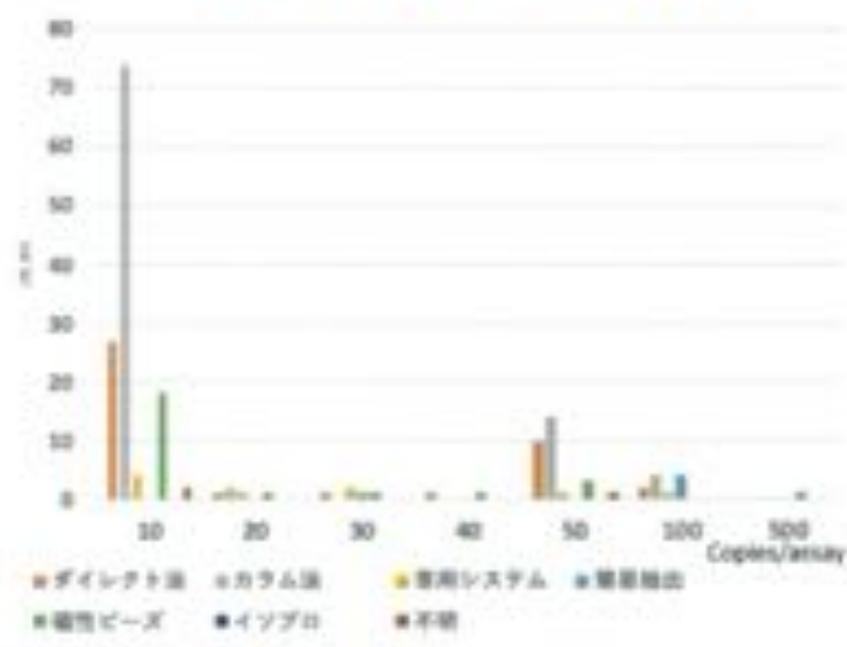
| 測定回数 | 施設数 | 施設% |
|------|-----|------|
| 1 | 404 | 71.8 |
| 2 | 155 | 27.5 |
| 3 | 4 | 0.7 |
| 総数 | 563 | 100 |

検出限界

メーカー公称値(n=385)



自施設評価(n=178)



| コピー/分析 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 100 | 500 | 総数 |
|---------|------|-----|-----|-----|------|------|-----|-----|
| メーカー公称値 | 158 | 17 | 17 | 7 | 85 | 91 | 10 | 385 |
| 自施設評価 | 125 | 5 | 5 | 2 | 29 | 11 | 1 | 178 |
| 総数 | 283 | 22 | 22 | 9 | 114 | 102 | 11 | 563 |
| 総数の比率 | 50.3 | 3.9 | 3.9 | 1.6 | 20.2 | 18.1 | 2.0 | 100 |

核酸抽出方法

| 方法 | 施設数 | 施設% |
|-------------|-----|------|
| ダイレクト法 | 183 | 32.6 |
| カラム法 | 138 | 24.6 |
| 専用システム | 120 | 21.4 |
| 簡易抽出 (LAMP) | 54 | 9.6 |
| 磁性ビーズ | 53 | 9.4 |
| イソプロ | 7 | 1.2 |
| 不明 | 7 | 1.2 |
| 総数 | 562 | 100 |

内部精度管理-コントロール物質、頻度、許容範囲-

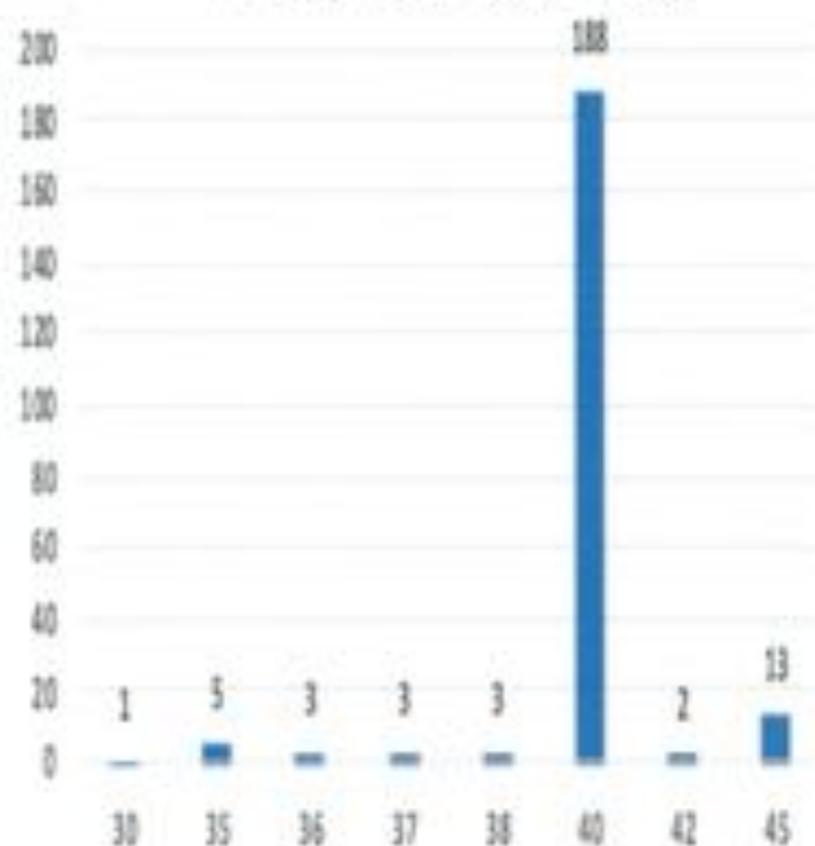
| コントロール物質 | 施設数 | 施設% |
|----------|-----|-----|
| コントロール | 428 | 76 |
| 検体 | 135 | 24 |
| 総数 | 563 | 100 |

| 頻度 | 施設数 | 施設% |
|------|-----|------|
| 毎ラン | 257 | 85.7 |
| 1回/日 | 9 | 3.0 |
| 1回/週 | 6 | 2.0 |
| その他 | 28 | 9.3 |
| 総数 | 300 | 100 |

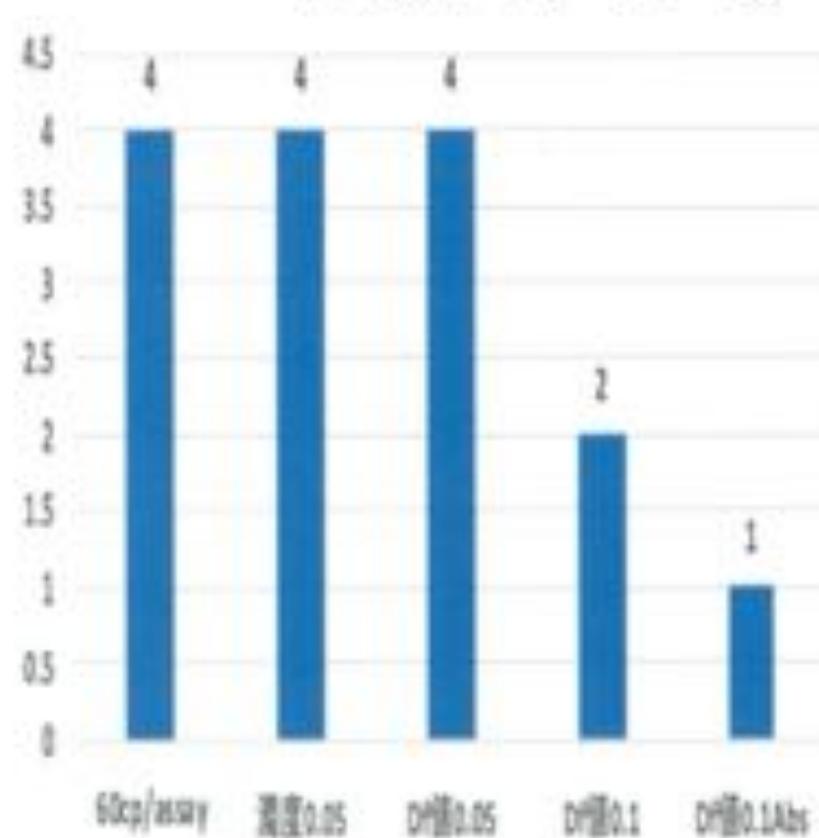
| 許容範囲 | 施設数 | 施設% |
|------|-----|------|
| 記入あり | 131 | 23.3 |
| 記入なし | 432 | 76.7 |
| 総数 | 563 | 100 |

陽性/陰性判定指標

PCR法 (219)

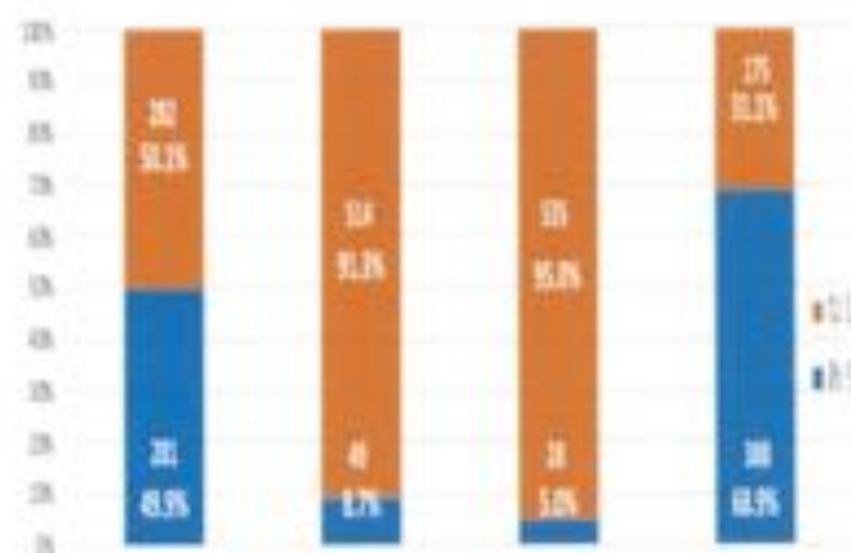


LAMP法 (14)



精度確保状況と第三者認証

精度確保方法



SOP作成の有無

JCCLS検体確認マニュアルの準拠の有無

遺伝子版ISO15189ガイドンス文書準拠の有無

安全キャビネットの有無

第三者認証/認定



ISO15189

CAP-LAP

ISO/IEC 1725

ISO 9001

全体集計結果

| 試料 | ① | ② | ③ | ④ | ⑤ | ⑥ |
|-------------------------------|------|------|------|------|-----------|------|
| SARS-CoV-19 (コピー/ μ L) | 100 | 50 | 0 | 50 | 100 | 0 |
| 正解 | 陽性 | 陽性 | 陰性 | 陽性 | 陽性 | 陰性 |
| 回答数 | 417 | 418 | 417 | 192 | 503 | 498 |
| 陰性数 | 1 | 7 | 416 | 4 | 18 (2) | 495 |
| 陰性 (%) | 0.2 | 1.7 | 99.8 | 2.1 | 3.6 (0.4) | 99.4 |
| 陽性数 | 416 | 411 | 1 | 188 | 485 | 3 |
| 陽性 (%) | 99.8 | 98.3 | 0.2 | 97.9 | 96.4 | 0.6 |
| 正答率 (%) | 99.8 | 98.3 | 99.8 | 97.9 | 96.4 | 99.4 |

①～③：核酸増幅、④～⑥：核酸抽出・増幅用試料

不一致施設 -測定試薬キット-

| 試薬キット名 | 施設数 | 施設% |
|---|-----|------|
| LightMixR Modular SARS-CoV E-gene, N-gene | 6 | 35.3 |
| Loopamp (SARS-CoV-2) 検出試薬キット | 4 | 23.5 |
| SARS-CoV-2 Direct Detection RT qPCR Kit | 1 | 5.9 |
| 新型コロナウイルス検出試薬テストカートリッジ | 3 | 17.6 |
| 感染研法 | 2 | 11.8 |
| Ampdirect 2019-nCoV検出キット | 1 | 5.9 |
| 総 数 | 17 | 100 |

- 試料⑤は検査前工程での説明文書の不具合から2施設のみが対象
- 試料①：1、②：7、③：1、④：4、⑤：2、⑥：3の18施設であるが重複が1施設で17施設が対象

不一致施設

-行政検査実施有無、施設カテゴリ-

行政検査実施有無

施設カテゴリ

| 行政検査 実施 | 不一致施設 | | 全体% | 施設カテゴリ | 不一致 | | 全体 |
|------------|-------|------|------|---------------|-----|------|------|
| | 施設数 | 施設% | | | 施設数 | 施設% | |
| あり | 12 | 70.6 | 78.3 | 医療機関（臨床検査室） | 10 | 58.8 | 55.1 |
| なし | 5 | 29.4 | 21.7 | 衛生研究所 | 1 | 5.9 | 11.5 |
| 総計 | 17 | 100 | 100 | （登録）衛生検査所 | 3 | 17.6 | 14.7 |
| | | | | （臨時）衛生検査所 | 1 | 5.9 | 2.3 |
| | | | | 大学施設（臨時衛生検査所） | 1 | 5.9 | 2.0 |
| | | | | その他 | 1 | 5.9 | 1.2 |
| | | | | 総数 | 17 | 100 | 86.8 |

不一致施設

-薬事承認・導入前検討-

| 成績 | 薬事承認 | 妥当性確認 | | 検証 | |
|-----|------|-------|------|------|------|
| | | あり | なし | あり | なし |
| 不一致 | 取得 | 3 | 8 | 7 | 4 |
| | 施設% | 17.0 | 47.1 | 41.2 | 23.5 |
| | 未取得 | 5 | 1 | 3 | 3 |
| | 施設% | 29.4 | 5.9 | 17.6 | 17.6 |
| 全体 | 取得 | 146 | 158 | 127 | 177 |
| | 施設% | 25.9 | 28.1 | 22.6 | 31.4 |
| | 未取得 | 185 | 74 | 145 | 114 |
| | 施設% | 32.9 | 13.1 | 25.8 | 20.2 |

導入時評価-妥当性確認・検証項目-

- 臨床検査で用いられる試薬、装置は、ほとんどが意図された用途または適用に関する要求事項が満たされていることをPMDA（医薬品医療機器総合機構）が薬事承認
- 今回のSARS-CoV-2検査調査で用いられている試薬の46.0%、装置の46.7%が薬事承認を未取得
- 開発した試薬、装置（薬事未承認）については、その検査の目的にかなっているかを性能特性〔精確（精度と正確さ）、検出限界、定量限界など〕により「検査手順の妥当性」を確認しなければならない
- 薬事承認取得の試薬、装置については性能特性〔精確さ、精度（再現性）など〕が手持ちの設備で達成していることを「検査手順の検証」で確認しなければならない

薬事承認

| 装置・試薬 | | 装置 | | 試薬 | |
|-------|--------|-----|------|-----|------|
| 薬事承認 | | 施設数 | 施設% | 施設数 | 施設% |
| PMDA | | 300 | 53.3 | 304 | 54.0 |
| その他 | CEマーク | 8 | 1.4 | 3 | 0.5 |
| | FDA | 7 | 1.2 | 8 | 1.4 |
| | FDA/CE | 2 | 0.4 | 1 | 0.2 |
| | その他 | 19 | 3.4 | 15 | 2.7 |
| 未取得 | | 227 | 40.3 | 232 | 41.2 |
| 総数 | | 563 | 100 | 563 | 100 |

薬事承認状況と導入時評価

- 妥当性確認・検証項目 -

| 薬事承認 \ 妥当性確認・検証 | 妥当性確認 | | | |
|-----------------|-------|------|------|------|
| | 有り | | 無し | |
| | 検証なし | 検証あり | 検証なし | 検証あり |
| 取得 | 19 | 108 | 139 | 38 |
| 未取得 | 9 | 136 | 65 | 49 |
| 総数 | 28 | 244 | 204 | 87 |

| 検証項目 | 特異性 | 真度 | 精度 | 検出限界 | 定量限界 | 検出感度 | 直線性範囲 | 頑健性 | トレーサビリティ | 不確かさ |
|----------|------|------|------|------|------|------|-------|-----|----------|------|
| 妥当性確認 | 122 | 90 | 151 | 144 | 71 | 164 | 61 | 18 | 30 | 11 |
| % (/272) | 44.9 | 33.1 | 55.5 | 52.9 | 26.1 | 60.3 | 22.4 | 6.6 | 11.0 | 4.0 |
| 検証 | 133 | 95 | 169 | 164 | 84 | 190 | 71 | 16 | 27 | 10 |
| % (/331) | 40.2 | 28.7 | 51.1 | 49.5 | 25.4 | 57.4 | 21.5 | 4.8 | 8.2 | 3.0 |

2021年度：新型コロナウイルス感染症のPCR検査等にかかる精度管理調査の日程

- 参加登録開始：2021年10月11日
- 参加登録締切：2021年10月29日（先着1,200施設）
- 施設での試料測定：2021年11月中旬
- 集計締切：2021年11月下旬
- 参加施設用の報告書報告：2021年12月下旬
- 公表：2022年1月末
- 精度管理実態調査・外部精度管理調査に基づく精度管理マニュアル配布



東京都衛生検査所精度管理調査での SARS-CoV-2調査

東京都精度管理SARS-CoV-2調査

- 令和2年度東京都精度管理調査の1項目として実施
- 参加施設：
 - 都内登録衛生検査所：12 施設
 - 臨時の衛生検査所：4 施設
 - 病院検査室：37 施設
 - 合計：53 施設
- 検体調整方法
 - A社製標準品を約2,500コピー/mLに希釈・調整
 - 搬送用培地：1%ウシ胎児血清添加細胞培養用培地
 - 鼻咽頭スワブ懸濁液として配布

東京都精度管理SARS-CoV-2調査

- 検査内容：
 - リアルタイムPCR法〔RT-PCR法〕
 - Loop-Mediated Isothermal Amplification〔LAMP〕法
 - それ以外
- 操作による分類
 - 全自動核酸抽出増幅法（「全自動機器」）
 - 全自動機器以外
- 報告
 - 「陽性」「陰性」のほかに以下の値も報告
 - RT-PCR法：Threshold Cycle (Ct)
 - LAMP法：Threshold time (Tt) とDifferential calculation (Df)

東京都精度管理SARS-CoV-2調査

- レフェレンス施設：
 - 東京都健康安全研究センター
 - 東邦大学医学部微生物・感染症学講座
- 日間差の検討
 - 複数日程（3日間）同一検体を検査して日間差を検討
- 核酸抽出
 - QIAmp Viral RNA Mini Kit(DIAGEN)
 - 核酸精製が不要な簡易キット：SARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR kit（タカラバイオ）と2019新型コロナウイルス検出試薬キット（島津製作所）→N1/N2、N1、N2を検出
- 全自動機器
 - BD MAX™（日本ベクトン・ディッキンソン）：オープン試薬を用い、感染研のN2領域を検出

東京都精度管理SARS-CoV-2調査

- RT-PCR機器：
 - Quant Studio™ 12K Flex (Thermo Fisher Science)
- LAMP法
 - リアルタイム濁度測定装置Loopamp EXIA® (栄研)
- それ以外の方法
 - LAMP法、タカラバイオ及び島津製作所以外のSARS-CoV-2由来遺伝子検出には感染研のマニュアルに記載されているN2セットとQuantiTect Prode RT-PCR Kit (QIAGEN) の組み合わせを用いた。

東京都精度管理SARS-CoV-2調査

■ 参加施設：

- 全自動機器：17施設
 - cobas 8800（ロシュ・ダイアグノスティックス）：1施設
 - cobas 6800（ロシュ・ダイアグノスティックス）：2施設
 - BD Max™（日本ベクトン・ディッキンソン）：5施設
専用試薬：3施設、オープン試薬：2施設
 - GeneXpert（ベックマン・コールター）：3施設
 - Film Array Torch システム（バイオメリュー）：4施設
 - ミュータスワコー g1（富士フイルム和光純薬）：1施設
 - TRC Ready-80（東ソー）：1施設
- Loopamp EXIA®（栄研化学）：18施設（3施設重複）
 - Loopamp インフルエンザ抽出用試薬（栄研化学）：16施設
 - QIAamp Viral RNA Mini Kit（QIAGEN）：5施設
- その他：35施設
 - 種々の抽出試薬・機器を用い、増幅試薬・機器は通常のリアルタイムPCRシステム：35施設

東京都精度管理SARS-CoV-2調査結果

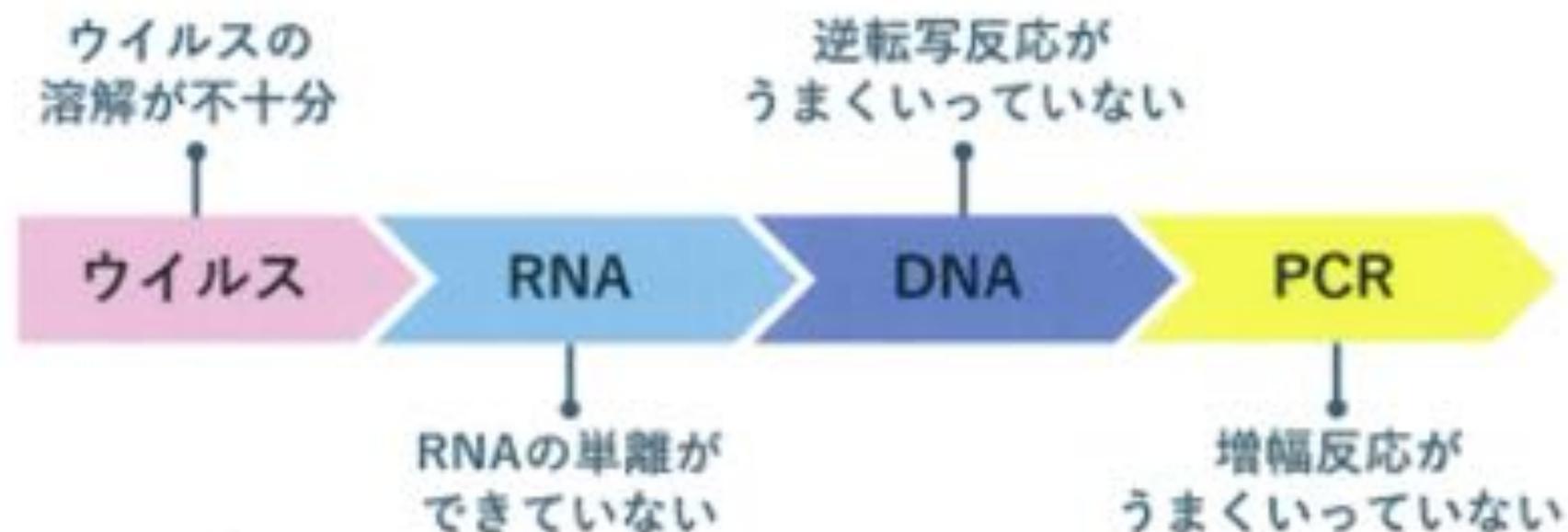
- レフェレンス施設：
 - 陽性コントロール：
 - すべての試薬と機器のセットで陽性
 - Ct 値：
 - ・ タカラバイオ：他のキットと比較して、若干大きい傾向（37.2 vs. 31.6~35.2）
 - ・ 島津製作所：日内変動が他のキットと比較して大きい（CV：0.041 vs. 0.005~0.014）
 - ・ それ以外のRT-PCR の検出には大きな問題はなく、測定誤差は許容範囲
 - レファレンス値：
 - ・ 感染研のN2 領域でCt 値：30 ~ 35
 - 陰性コントロール：
 - すべての試薬と機器のセットで陰性

東京都精度管理SARS-CoV-2調査結果

| 測定機器 | 測定法 | 核酸抽出工程 | 施設数 | 陰性 | 陽性 |
|-------|-----------|-------------|-----|----------|-----------|
| 全自動 | リアルタイムPCR | 有り | *11 | 11(100%) | 11(100%) |
| | その他 | 有り | 6 | 6(100%) | 5(83.3%) |
| 全自動以外 | リアルタイムPCR | カラム抽出/磁気ビーズ | *18 | 18(100%) | 18(100%) |
| | | ダイレクトPCR | 16 | 16(100%) | 16(100%) |
| | LAMP法 | カラム抽出/簡易法 | *20 | 20(100%) | 20(100%) |
| 合計 | | | #56 | 56(100%) | 55(98.2%) |

- *重複施設あり
- #配布した陽性試料中のウイルス量がインフルエンザ簡易抽出キットとLAMP法との組み合わせの検出限界を下回るため除外した
- 複数の測定法を実施した施設があるため、施設数は異なる

ウイルスPCR検査における 偽陰性(false negative)の原因





臨床検査の精度管理について お話ししました



適切な臨床検査の精度管理を実施しないと
適切な臨床検査値は得られず、
適切な医療のサポートができません。

臨床検査を業務とする医師・臨床検査技師は
日夜適切な精度管理を実施して
適切な検査成績を患者・医師に返却しています。

ご清聴、ありがとうございました。