

8. 令和4年度認証委員会・認証評価委員会報告

常用参照標準物質：JSCC 常用酵素（JCCLS CRM-001e）の値付けに関する概要

**Report of JCCLS Certification Committee for Reference Materials and
Committee for Certification Assessment in 2022
The Overview of the value assignment for JCCLS Certified Enzyme Reference
Materials (JCCLS CRM-001e)**

高木 康（JCCLS 認証委員会委員長、昭和大学名誉教授）

**Yasushi Takagi (Chairperson of JCCLS Certification Committee for Reference
Materials, Professor emeritus for Showa University)**

植田 成（JCCLS 認証評価委員会委員長、千葉科学大学准教授）

**Shigeru Ueda (Chairperson of JCCLS Committee for Certification Assessment,
Associate Professor, Chiba Institute of Science)**

1. はじめに

常用参照標準物質：JSCC 常用酵素（JCCLS CRM-001）のロット更新を行い、新ロット（JCCLS CRM-001e）の設定を行った。設定手順と認証書は国際文書に従い準備した。

2. 委員

2.1 認証委員会：高木康（昭和大学）、矢富裕（東京大学）、濱崎直孝（常任理事）、植田成（千葉科学大学）

2.2 認証評価委員会：植田成（千葉科学大学）、久保野勝男（順天堂大学）、石橋みどり（新東京病院）、山舘周恒（人間総合科学大学）、加藤愛（産総研）、多田正人（山梨大学病院）、荒木秀夫（日本大学病院）、河西真史（旭化成ファーマ(株)）、梅原実（(株)シノテスト）、坂田裕二（日水製薬(株)）

2.3 事務局：加藤英夫、梅田衛

3. 経過の概要

3.1 候補品製造の公募

常用参照標準物質：JSCC 常用酵素（JCCLS CRM-001）のロット更新にあたり、候補品製造の公募を令和3年6月に行った。公募内容は現ロット（JCCLS CRM-001d）の設定条件および規格を継続することとした。

3.2 公募結果

常用参照標準物質：JSCC 常用酵素の候補品製造の応募が旭化成ファーマ(株)からあった。これにより候補品製造を旭化成ファーマ(株)(AKP)に依頼した。尚、これまで AKP で実施していた候補品性能試験の中の評価項目「酵素の反応性」試験が、社内倫理規定の厳格化により実試料の入手が困難になったため外部の検査室へ依頼したいとの提案があり、AKP が試験先を選定し交渉する、という条件で了承された。

3.3 認証値設定試験

認証値設定試験は、前ロットと同様に共同試験方式による手順を進めた。すなわち、1) 共同試験への参加依頼、2) 試薬調製依頼、3) 試験要綱、測定条件、報告書書式の作成、4) 試料配布、5) データ集計・解析、6) 認証評価委員会の開催などである。認証評価委員会では、データの解析・評価と認証書案等を作成した。作成した認証書案および取扱説明書案は認証委員会に提出した。

4. 認証評価委員会での協議概要

公募に先立ち、令和 3 年 4 月 2 日に開催された認証評価委員会では、ロット更新の進め方、および大まかなスケジュール案が提示された。また、常用基準法が JSCC 法から IFCC 法へ変更された ALP、LD については、すべての施設で置き換えが達成されているわけではないことを考慮し、今回に限り JSCC 法による認証値も併記することとした。

令和 4 年 12 月 7 日に認証評価委員会を開催し、認証値設定試験における測定データの解析・評価および認証書案と取扱説明書案の作成を行った。本委員会での主な協議の概略は以下のごとくである。

4.1 試薬の調製依頼、値付け共同試験参加依頼

試薬調製については、(株)カイノス (ALP,JSCC-ALP)、関東化学(株) (CK,LD)、(株)シノテスト (γ -GT、AMY、JSCC-LD、p-AMY、Lipase)、富士フイルム和光純薬(株) (ALT,AST) が担当した。用手法の参加施設数は、ALP と LD が 5、その他の項目については各 4、自動化法の参加施設数は、各 18~23 であった。以下に値付けに参加した施設リストを記す。旭化成ファーマ(株)、栄研化学(株)、(株)エスアールエル、大阪大学医学部附属病院、(株)カイノス、関東化学(株)、熊本大学病院、九州大学病院、慶應義塾大学病院、(一社)検査医学標準物質機構、国立循環器病研究センター、シスメックス(株)、(株)シノテスト、順天堂大学医学部附属浦安病院、(株)セロテック、積水メディカル(株)、天理よろづ相談所病院、東京大学医学部附属病院、日水製薬(株)、ニッポーメディカル(株)、日本大学病院、浜松医科大学医学部附属病院、富士フイルム和光純薬(株)、山梨大学医学部附属病院、ロシュ・ダイアグノスティックス(株)、(株)LSI メディエンス (以上五十音順)。

4.2 認証値の設定手順

- ・ CRM-001e の値付け共同実験について、令和 4 年 9 月に従来のロット更新手順と同様に実施した。
- ・ 用手法は JSCC 勧告法に従い、自動化法は勧告法に準じ作成された JCCLS-SOP 法により CRM001d を校正標準として CRM-001e の測定を実施した。

4.3 認証値の不確かさ

- ・ 値付け参加施設の測定結果について、JCCLS の HP 掲載不確かさ計算ソフトにより統計学的検定で外れ値を除外し、候補認証値と不確かさを求めた。不確かさの成分として、実験誤差、均質性、上位標準の不確かさ、および CRM の長期保存安定性不確かさから、CRM-001d の合成標準不確かさ、拡張不確かさを求めた。
- ・ CRM-001e の保存安定性不確かさの評価について、AKP から概要説明がなされた。現ロットである d ロットの実保存データについて直線回帰式による保存安定性の不確かさを評価し、前 c ロットとほぼ同等であることを確認し、e ロットの有効期間を 6 年として相対不確かさを見積もった結果、各項目の不確かさは、0.4~0.8%の範囲であった。
- ・ 現ロット 001d における ALP/LD の IFCC 法による認証値は、ISO Guide 35 に基づき用手法により値付けを実施し、さらに ALP は前ロット 001c の暫定 IFCC 値で校正、LD は IRMM から頒布されている ERM-AD453k (認証値 330 U/L) 及び CRM-001c の暫定 IFCC 値の両者で校正する自動化法により値付けを実施した。今回、ERM-AD453k の入手が困難だったこともあり、001d の認証値で校正し、自動化法による値付けを実施した。
- ・ 認証値及び拡張不確かさの数値は、小数点以下四捨五入し整数として表記した。
- ・ CRM-001e の AST、ALT、CK、ALP、LD、 γ -GT、AMY、JSCC-ALP、JSCC-LD の認証値と拡張不確かさを表のように定めた (P-AMY、LIP は参考値)。

酵素	認証値 (U/L)	不確かさ (k = 2)
AST	159	5
ALT	156	4
LD	411	9
CK	451	13
GGT	153	5
ALP	420	14
AMY	339	10
IFCC-LD	436	12
IFCC-ALP	152	6
P-AMY	158	5
LIP	126	5

4.4 継続性確認試験

(一社) 日本臨床検査薬協会を通して CRM-001e 値付け用試薬調製依頼先メーカー4社 (カインス、シノテスト、関東化学、富士フイルム和光純薬) 及び、自社キャリブレーターを有し継続性確認試験を希望するメーカー7社 (シーメンスヘルスケア、デンカ、ニッポーメディカル、ベックマン・コールター、ロシュ・ダイアグノスティクス、LSI メディエンス、積水メディカル)、計 11 社に依頼した。ALT、CK において 001e 校正で自社キャリブレーターの測定値が表示値より若干低めになったという報告が 1 社からあったが、その他のメーカーにおいてすべての項目で継続性に問題なし、という結果であった。

校正を自社キャリブレーター、CRM-001 (d で校正し e を測定、e で校正し d を測定) で実施後の CRM-001d、CRM-001e の継続性確認試験参加施設全体の測定値平均及び標準偏差を表に示した (AMY は常用基準法と異なる基質を用いた施設があったため除外した)。

(U/L)

CRM-001	ロット	認証値	不確かさ	平均値	標準偏差	校正
AST	d	160	4	160.5	3.0	自社キャリブ
				158.4	2.1	d又はe
	e	159	5	158.7	1.4	自社キャリブ
				158.4	2.1	d又はe
ALT	d	158	4	158.6	2.5	自社キャリブ
				156.1	2.5	d又はe
	e	156	4	158.4	1.7	自社キャリブ
				158.7	1.4	d又はe
CK	d	425	10	421.4	5.8	自社キャリブ
				424.7	3.2	d又はe
	e	451	13	446.8	6.3	自社キャリブ
				450.4	10.6	d又はe
GGT	d	153	5	152.9	2.4	自社キャリブ
				152.7	1.4	d又はe
	e	153	5	153.0	2.0	自社キャリブ
				153.0	1.3	d又はe
LD-IFCC	d	430	11	433.0	11.2	自社キャリブ
				429.0	3.0	d又はe
	e	436	12	437.5	5.2	自社キャリブ
				436.4	2.4	d又はe
ALP-IFCC	d	153	6	152.0	2.3	自社キャリブ
				152.1	1.6	d又はe
	e	152	6	151.4	1.9	自社キャリブ
				152.4	1.7	d又はe
LD-JSCC	d	406	8	402.1	2.7	自社キャリブ
				405.7	1.4	d又はe
	e	411	9	407.2	3.7	自社キャリブ
				411.2	1.5	d又はe
ALP-JSCC	d	424	13	419.7	4.6	自社キャリブ
				420.6	3.4	d又はe
	e	420	14	418.3	2.5	自社キャリブ
				422.4	3.5	d又はe

5. 認証委員会

令和5年4月3日開催の認証委員会において、前述の認証評価委員会の報告、認証書および取扱説明書について確認と承認を行った。また、ラベル、認証書、取扱説明書の印刷、発売、頒布、ホームページ公表などのスケジュールについて協議した。

6. 課題

用手法参加施設数は、全ての項目において前回よりも減少し、項目当たり 4 ないし 5 施設であった。昨今、病院等検査室では用手法実施の機会が殆どないことがその要因のひとつとして挙げられる。更に、前回よりも用手法による測定値の施設間差が拡大しており、技術継承の点からも今後何らかの対策を講じる必要がある。

JCCLS CRM-001 の認証値設定手順 (Ver.1.9) によれば、現ロットの常用基準法による測定値の平均値が認証値±不確かさの範囲内であることを確認したのち、現ロットの認証値で校正し、JSCC/JCCLS 自動化法により、新ロットとなる候補品を測定し、特性値を求めることになっている。今回、用手法で上記範囲を外れた CK において、用手法参加施設数は 4、そして認証値±不確かさ及び用手法実測値はそれぞれ、 425 ± 10 、450 U/L であり、実測値は認証値より若干高めの結果となった。これについては、製造元である AKP の長期安定性の実データ、および現ロットと新ロットを用いた継続性確認試験結果から、現ロット認証値の変動とは考えられず、今回認められた認証値と実測値との差異は用手法の測定手技に起因すると判断した。

最後に、今回のロット更新作業は令和 4-5 年度 JCCLS 認証評価委員会が担当した。また、測定の実施についての試薬などの準備は (一社) 日本臨床検査薬協会 技術委員会を通じて依頼した。共同実験に際し、以下のユーザー施設ならびにメーカー施設の協力を得た。ここに関係者に深く謝意を表します。

旭化成ファーマ(株)、栄研化学(株)、(株) エスアールエル、大阪大学医学部附属病院、(株)カイノス、関東化学(株)、熊本大学病院、九州大学病院、慶應義塾大学病院、(一社)検査医学標準物質機構、国立循環器病研究センター、シスメックス(株)、(株)シノテスト、順天堂大学医学部附属浦安病院、(株)セロテック、積水メディカル(株)、天理よろづ相談所病院、東京大学医学部附属病院、日水製薬(株)、ニッポーメディカル(株)、日本大学病院、浜松医科大学医学部附属病院、富士フイルム和光純薬(株)、山梨大学医学部附属病院、ロシユ・ダイアグノスティックス(株)、(株)LSI メディエンス (以上五十音順)。