

コレステロール・中性脂肪常用参照標準物質(CHO)

総コレステロール、HDL コレステロール、LDL コレステロール、中性脂肪測定用

JCCRM 223-42

認証書

■ 使用方法

本認証標準物質の入ったガラスバイアルをケースから取り出し、立てた状態で静置する。本認証標準物質の温度を常温 (25 °C付近) とするため、そのまま約 20 分間 (加温融解不可) かけて常温で自然解凍する。立てた状態のガラスバイアルのキャップを指でつまみ、キャップのネジ締めを確認し、ゆるい場合は増し締めをしてから 20 回位ゆるく円を描くように回して本認証標準物質を混和する。次に 20 回以上ゆっくり転倒混和し完全に均一にする^{注1)}。解凍・混和が終了した本認証標準物質は 3 時間以内に使用する^{注2)}。一度解凍したものは、再冷凍して使用できない。

注 1) 特に血清中の中性脂肪は均一になりにくいので、認証標準物質を常温に戻した後、十分に混和すること。

注 2) 常温での放置時間が 3 時間を超える場合は、冷蔵庫内に保管しその日のうちに使用する。



■ 使用上の注意

本認証標準物質はヒト血清を原料としており、HBs抗原、HCV抗体及びHIV抗体については検出されていないが、このことは感染性を完全に否定するものではないため、使用に際しては感染の危険があるものとして、患者検体と同様に手袋を着用するなど十分注意をして取り扱う。 ***In vitro use only***

■ 製造方法

本認証標準物質は、CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) C37-A [1] に従うことと、採血から凍結までの室温時間を5時間以内とした新鮮ヒト血清を原料とした。調製は、リポ蛋白変性の生じにくい急速凍結法により検査医学標準物質機構で行った。

■ 保存方法、有効期限および保存安定性

本認証標準物質はドライアイスと共に発送される。到着時にドライアイスが残存していないものは使用できない。到着後、直ちに温度変動の少ない冷蔵庫の底の方に保存する。

出荷日 (製品ラベルに記載) からの有効期限

HDL コレステロール	: -70 °C以下で保存する場合は1ヶ月、-40 °Cでは1週間
LDL コレステロール	: -70 °C以下で保存する場合は1ヶ月、-40 °Cでは1週間
総コレステロールおよび中性脂肪	: -70 °C以下で保存する場合は6ヶ月、-40 °Cでは3ヶ月

■ 仕様など (液状凍結品)

● JCCRM 223-42 ① (TC/L)	青ラベル	} 0.5 mL 入 各 1 本 (計 8 本)
● JCCRM 223-42 ② (TC/M)	緑ラベル	
● JCCRM 223-42 ③ (TC/H,TG/M)	橙色ラベル	
● JCCRM 223-42 ④ (HDL-C/L)	白ラベル	
● JCCRM 223-42 ⑤ (HDL-C/H)	ピンクラベル	
● JCCRM 223-42 ⑥ (TG/H)	黄色ラベル	
● JCCRM 223-42 ⑦ (LDL-C/M)	赤ラベル	
● JCCRM 223-42 ⑧ (LDL-C/H)	紫ラベル	

■ 認証書の複製について

書面による承諾がない限り、認証書の一部のみを複製して用いてはならない。

■ 生産担当者

本認証標準物質に関する技術管理者、製造管理者、生産担当者及び測定担当者は櫻井啓子である。

■ 認証日

2018年6月4日

■ 認証機関及び認証責任者

一般社団法人 検査医学標準物質機構
代表理事 梅本博仁

■ 使用目的

本認証標準物質は、臨床検査における血清中の総コレステロール(TC)、HDL コレステロール(HDL-C)、LDL コレステロール(LDL-C)および中性脂肪(TG)測定のための基準として用いる。主な使用目的は以下の通りである。

- ・ 日常検査法の校正及び精確さの評価
- ・ 日常検査法の内部精度管理及び外部精度評価の基準

■ 認証値および拡張不確かさ

本認証標準物質の濃度(25℃)の認証値および拡張不確かさは以下通りである。

JCCRM 223-42 の JCCRM 223-42④⑤⑦は新たに調製して値付けしたものであり、JCCRM 223-42①②③⑥⑧は JCCRM 223-41 と同じである。

表 1a 濃度単位：mg/dL

種類	総コレステロール (CDC レファレンス法)		HDL コレステロール (CDC レファレンス法)		中性脂肪 ^{注3)} (JSCC 勧告法)		LDL コレステロール (CDC レファレンス法)	
	認証値	拡張 不確かさ	認証値	拡張 不確かさ	認証値	拡張 不確かさ	認証値	拡張 不確かさ
JCCRM 223-42 ① (TC/L)	140.5	1.4						
JCCRM 223-42 ② (TC/M)	181.6	2.0						
JCCRM 223-42 ③ (TC/H,TG/M)	201.9	2.1			107.4	1.4		
JCCRM 223-42 ④ (HDL-C/L)			47.9	0.7				
JCCRM 223-42 ⑤ (HDL-C/H)			68.8	0.9				
JCCRM 223-42 ⑥ (TG/H) ^{注4)}					184.0	2.7		
JCCRM 223-42 ⑦ (LDL-C/M)							109.2	1.9
JCCRM 223-42 ⑧ (LDL-C/H)							136.8	2.0

表 1b 濃度単位：mmol/L

種類	総コレステロール (CDC レファレンス法)		HDL コレステロール (CDC レファレンス法)		中性脂肪 ^{注3)} (JSCC 勧告法)		LDL コレステロール (CDC レファレンス法)	
	認証値	拡張 不確かさ	認証値	拡張 不確かさ	認証値	拡張 不確かさ	認証値	拡張 不確かさ
JCCRM 223-42 ① (TC/L)	3.633	0.036						
JCCRM 223-42 ② (TC/M)	4.696	0.052						
JCCRM 223-42 ③ (TC/H,TG/M)	5.221	0.054			1.213	0.016		
JCCRM 223-42 ④ (HDL-C/L)			1.239	0.018				
JCCRM 223-42 ⑤ (HDL-C/H)			1.779	0.023				
JCCRM 223-42 ⑥ (TG/H) ^{注4)}					2.077	0.030		
JCCRM 223-42 ⑦ (LDL-C/M)							2.824	0.049
JCCRM 223-42 ⑧ (LDL-C/H)							3.538	0.052

不確かさは ISO の指針 (GUM : 計測における不確かさの表現のガイド[2]) に従って、測定の不確かさ (純度標準物質の純度の不確かさ、秤量の不確かさを含む)、均質性及び保存安定性の不確かさを合成した合成標準不確かさと包含係数から決定された拡張不確かさ (信頼水準 約 95%) である。包含係数(k)は 2.0 である。

注 3) 中性脂肪の値はトリオレインに換算した濃度であり、モノ、ジ、トリグリセリドを含み、遊離グリセロールは含まない。遊離グリセロールの測定値は 223-42 ③⑥ともに 2.0 mg/dL である。

注 4) 溶解時にやや白濁が認められるが、CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) C37-A [1] の基準を満たしている。

■ 測定方法

- 総コレステロール濃度は、CDC レファレンス法 (AK 法) [3],[4]により求めた。
- HDL コレステロール及び LDL コレステロール濃度は、CDC レファレンス法(HDL-C : 超遠心分離-ヘパリン-MnCl₂ 沈澱法[5],[6]、LDL-C : Beta Quantification (BQ 法)[7]) により求めた。
- 中性脂肪濃度は、日本臨床化学会 (JSCC) の「血清中の中性脂肪濃度測定の方法」[8]により求めた。

■ 認証値の決定方法

本認証標準物質の認証値の解析及び決定は、認証委員会 (委員長: 桑 克彦 前国立研究開発法人 産業技術総合研究所) を組織して行った。

■ トレーサビリティ

- 総コレステロール測定、HDL コレステロール測定および LDL コレステロール測定の基準値は、コレステロール純度標準物質として NIST SRM 911c (純度 99.2%±0.4%) を、精密さの確認には NIST SRM 1951c (CDC 参照値) をそれぞれ用いた。
- 中性脂肪測定の基準値は、トリオレイン高純度物質 (純度 99.6%) を用いた。トリオレインの純度は検査医学標準物質機構で ID/MS によりトリパルミチン純度標準物質 NIST SRM 1595 (99.5%±0.5%) を用いて確定した。精密さの確認には NIST SRM 1951c 及び JCCRM 224-11(III)をそれぞれ用いた。
- 標準液及び測定試料の調製は JCSS (計量法校正事業者認定制度) 認定事業者が校正した天秤を用いた。

参考

■ 血清の性状

本認証標準物質は、異常リポ蛋白 (LpX、LpY等)、脂質異常症 (VLDLレムナント等) を含まないヒト血清を原料としており、その性状を表 2 に示す。なお、JCCRM 223-42①②③⑥⑧は前ロット (JCCRM 223-41) と同一、JCCRM 223-42④⑤⑦は新規原料から製造した。本表の値は日常検査法で測定した参考値であるため、精密さの評価に用いることはできない。

表2 性状

測定項目	種類 (JCCRM 223)								単位	測定方法
	42①	42②	42③	42④	42⑤	42⑥	42⑦	42⑧		
	TC/L	TC/M	TC/H, TG/M	HDL-C/L	HDL-C/H	TG/H	LDL-C/M	LDL-C/H		
総蛋白	7.0	7.3	7.3	7.0	7.0	7.2	7.3	7.4	g/dL	Biuret 法
アルブミン	4.4	4.2	4.6	4.4	4.4	4.5	4.5	4.9	g/dL	BCG 法
中性脂肪	59	72	-	80	73	-	76	60	mg/dL	酵素法
リポ蛋白(a)	13.0	17.0	15.3	5.8	5.0	2.1	5.6	13.5	mg/dL	LA
アポリポ蛋白 E	2.7	2.8	3.0	2.8	2.7	3.5	3.1	3.0	mg/dL	TIA
HDL	36	37	28	35	47	30	34	34	%	ポリアクリルアミドゲル 電気泳動法
LDL	42	43	49	41	34	46	43	45	%	
IDL	7	7	8	7	6	7	9	10	%	
VLDL	15	14	16	17	14	17	15	10	%	
尿酸	6.0	6.2	4.7	5.2	5.2	5.9	5.3	4.4	mg/dL	酵素法
総ビリルビン	0.4	0.3	0.6	0.5	0.4	0.5	0.5	0.6	mg/dL	バナジン酸酸化法
ヘモグロビン	4.1	4以下	8.9	4以下	4以下	4以下	4以下	6	mg/dL	スペクトル計算法

■ ロットの継続性の確認

(1) 総コレステロール

本認証標準物質①②③について 4 種の日常検査法試薬で測定し、それぞれのバイアス (相対%) について前ロットのそれと比較した結果、いずれも±2%以内でロットの継続性は確保されていた。

(2) HDL コレステロール

本認証標準物質④⑤について 4 種の日常検査法試薬で測定し、それぞれのバイアス (相対%) について前ロットのそれと比較した結果、いずれも±2%以内でロットの継続性は確保されていた。

(3) 中性脂肪

本認証標準物質③⑥について 4 種の日常検査法試薬で測定し、それぞれのバイアス (相対%) について前ロットのそれと比較した結果、いずれも±2%以内でロットの継続性は確保されていた。

(4) LDL コレステロール

本認証標準物質⑦⑧について 4 種の日常検査法試薬で測定し、それぞれのバイアス (相対%) について前ロットとのそれを比較した結果、⑦については平均 3.4% で、また、⑧については、いずれも±2%以内でそれぞれロットの継続性は確保されていた。

■ Friedewald 式による LDL コレステロール値の比較

本認証標準物質⑦⑧について、それぞれ TC、HDL-C 及び中性脂肪をトレーサビリティが確保された日常検査法で測定した値から算出した Friedewald 式 LDL-C 計算値[9]と、本 LDL-C 認証値の一致を確認した。

■コレステスト N HDL による HDL-C 測定例

HDL-C 測定キットのコレステスト N HDL の場合、新鮮血清であっても採血後の室温経過時間とともに LCAT が作用し、HDL-C が高値となる。ロット JCCRM 223-42④⑤の2濃度とも、原料血清について採血後の室温時間を限界まで削減した結果、コレステスト N HDL による HDL-C 測定値と認証値の差を約 1 mg/dL 以下に収めることが可能となった。また、性状の表から、223-42④⑤の HDL-C 検体はアポリポ蛋白 E が少なく、アポ E リッチ HDL-C も問題になる量とは考えられない。本認証標準物質を測定して得られたコレステスト N HDL 測定値が以下の値であれば、実検体においてバイアスが小さい測定値が得られていると言える。

コレステスト N HDL HDL-C キットによる参考値	
JCCRM 223-42④	JCCRM 223-42⑤
49 ± 2.0 mg/dL	70 ± 2.5 mg/dL

■ 参考文献

- [1] CLSI Publication C37-A. Preparation and validation of commutable frozen human serum pools as secondary reference materials for cholesterol measurement procedures; approved guideline: CLSI, Wayne, PA, 1999.
- [2] Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement, ISBN 92-67-10188-9, 1st Ed, ISO, Geneva, Switzerland (corrected and reprinted, 1995).
- [3] Abell LL, et al, A simplified method for the estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity. J Biol Chem 1952;195:357-366.
- [4] 藤野章子, 梅本雅夫. 高速液体クロマトグラフィーを用いた Abell-Kendall 法におけるけん化率の検討. 臨床化学 1995;24:175-178.
- [5] N Rifai, GR Warnick, MH Daminiczak. Handbook of lipoprotein testing, 2nd Ed. pp.227-230, AACC Press, 2000, Washington DC.
- [6] Warnick GR, Albers JJ. Heparin-Mn quantitation of high-density-lipoprotein cholesterol: an ultrafiltration procedure for lipemic samples. Clin Chem 1978;24:900-904.
- [7] Bachorik PS, Ross JW. National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of low-density lipoprotein cholesterol. Clin Chem 1995;41:1414-1420.
- [8] 日本臨床化学会試薬専門委員会. 血清中の中性脂肪濃度測定の方法. 臨床化学 1996;25:39-51.
- [9] Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the ultracentrifuge. Clin Chem 1972;18:449-502.

(本認証標準物質の認証機関及び製造、発売元)

一般社団法人 検査医学標準物質機構 (ReCCS)

<http://www.reccs.or.jp/>

〒225-0012

神奈川県横浜市青葉区あざみ野南 1-3-3

(注文・一般) TEL 045-530-9107 FAX 045-530-9036

(技術内容) TEL 045-530-9109 FAX 045-530-9036

弊機構は標準物質認証機関 ISO Guide 34、臨床検査基準測定機関 ISO 15195 及び ISO / IEC 17025 として認定されています。