

コレステロール・中性脂肪常用参照標準物質 JCCRM 223-45 認証書

■ 総コレステロール認証値の決定方法の変更

本認証標準物質の総コレステロールの認証値の決定方法は、前ロット(JCCRM 223-44)までのCDCレファレンス法(Abell-Kendall法)は、本ロット(JCCRM 223-45)からCDC基準測定操作法の同位体希釈質量分析法(ID/MS法)に変更した。これにより、認証値は前ロットと比べて約1~2%低値を示す。なお、本ロットのAbell-Kendall法での参考値は参考欄に示している。

■ ロット更新内容

本認証標準物質の濃度、項目の異なる8種のうち、本ロット(JCCRM 223-45)は、①②③を新たに調製して値付けした。④⑤⑥⑦⑧は前ロット(JCCRM 223-44)と同じである。

■ 使用方法

本認証標準物質の入ったプラスチックバイアルを立てた状態で静置する。本認証標準物質の温度を常温(25℃付近)とするため、約30分間かけて常温で自然解凍する(加温融解不可)。次に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40回以上ゆっくり転倒混和して完全に均一にする。特に血清中の中性脂肪は均一になりにくいので、本認証標準物質を常温に戻した後は、十分に混和すること。

解凍した本認証標準物質は3時間以内に使用する。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。一度解凍したものは、再冷凍して使用することはできない。

■ 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抗体および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-A¹⁾に従い、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、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調製した。

■ 保存方法および有効期限

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凍庫の底の方に保存する。

有効期限 (出荷日から)

HDL、LDL コレステロール	-70℃以下:1ヵ月	-40℃: 1週間
総コレステロール、中性脂肪	-70℃以下:6ヵ月	-40℃: 3ヵ月

■ 仕様

- 【品名】 コレステロール・中性脂肪常用参照標準物質
 【測定項目】 血清中の総コレステロール、HDLコレステロール、中性脂肪およびLDLコレステロール
 【内容】 8種類、各1本(0.5mL入)、計8本

■ 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。

■ 認証日

2020年9月8日

■ 認証機関および認証責任者

本認証標準物質に関する技術管理者および製造管理者は志水衣理である。

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)、中性脂肪(TG)およびLDLコレステロール(LDL-C)測定のための基準として用いる。主な使用対象と目的は以下の通りである。

- ・測定法(製造業者自社推奨測定操作法、製造業者社内標準測定操作法、最終使用者の日常測定操作法(日常検査法)および比較参照法)の校正および精確さの評価
- ・日常検査法の内部精度管理および外部精度評価

■ 認証値

本認証標準物質の25℃での認証値および拡張不確かさは表1の通りである。総コレステロールの認証値の決定方法は、前ロットまでのCDCレファレンス法(Abell-Kendallレファレンス法)から同位体希釈質量分析法(ID/MS法)へ変更した。

JCCRM 223-45は①②③を新たに調製して値付けし、⑥の拡張不確かさを修正した。

④⑤⑦⑧は前ロットJCCRM 223-44と同じである。

表1a 認証値(濃度単位 mg/dL)

種類	総コレステロール (ID/MS法)		HDLコレステロール (CDCレファレンス法)		中性脂肪 ^{注1)} (ID/MS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 223-45 ① (TC/L)	138.3	1.6						
JCCRM 223-45 ② (TC/M, TG/M)	169.5	2.0			116.7	2.3		
JCCRM 223-45 ③ (TC/H)	196.6	2.4						
JCCRM 223-45 ④ (HDL-C/L)			47.9	0.7				
JCCRM 223-45 ⑤ (HDL-C/H)			68.8	0.9				
JCCRM 223-45 ⑥ (TG/H)					172.7	3.4		
JCCRM 223-45 ⑦ (LDL-C/M)							100.4	1.9
JCCRM 223-45 ⑧ (LDL-C/H)							129.0	2.0

表1b 認証値(濃度単位 mmol/L)

種類	総コレステロール (ID/MS法)		HDLコレステロール (CDCレファレンス法)		中性脂肪 ^{注1)} (ID/MS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 223-45 ① (TC/L)	3.577	0.042						
JCCRM 223-45 ② (TC/M, TG/M)	4.384	0.052			1.318	0.026		
JCCRM 223-45 ③ (TC/H)	5.085	0.063						
JCCRM 223-45 ④ (HDL-C/L)			1.239	0.018				
JCCRM 223-45 ⑤ (HDL-C/H)			1.779	0.023				
JCCRM 223-45 ⑥ (TG/H)					1.950	0.039		
JCCRM 223-45 ⑦ (LDL-C/M)							2.598	0.049
JCCRM 223-45 ⑧ (LDL-C/H)							3.336	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)、均質性およ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%、包含係数 $k=2.0$)である。

注1) 中性脂肪の認証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。

■ 測定方法

本認証標準物質は下記の測定方法に基づき検査医学標準物質機構で測定し、それぞれの濃度を求めた。

- 総コレステロール : 同位体希釈ーガスクロマトグラフィー質量分析法 (ID/GC/MS)^{3,4,5)}
 HDLコレステロール : CDCレファレンス法(HDL-C:超遠心分離へパーリン-MnCl₂沈澱法^{6,7)}
 LDLコレステロール : Beta Quantification (BQ法)⁸⁾
 中性脂肪 : 同位体希釈ーガスクロマトグラフィー質量分析法 (ID/GC/MS)^{9,10)}

■ 認証値の決定方法

本認証標準物質の認証値の解析および決定は、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、HDL コレステロールおよび LDL コレステロールの校正には、コレステロール標準物質 NIST SRM 911c(純度 99.2% ± 0.4%)、中性脂肪の校正には、トリパルミチン標準物質 NIST SRM 1595(純度 99.5% ± 0.2%) をそれぞれ用いた。また、標準液および測定試料の調製には 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。

■ 総コレステロールの測定法変更

本認証標準物質の総コレステロールの測定法は、前ロットの JCCRM 223-44 までは CDC レファレンス法 (Abell-Kendall 法)¹¹⁾ であつたが、本ロットの JCCRM 223-45 から CDC 基準測定操作法の同位体希釈質量分析法 (ID/MS 法)^{3,4,5)} に変更した。

ID/MS 法による総コレステロールの測定は、CDC レファレンス法 (Abell-Kendall 法) に比べて精確性が高く、かつ SI トレサブルな国際標準化に整合することができることから信頼性の高い認証値の提供が可能となる。

なお Abell-Kendall 法による測定値の ID/MS 法に対する相対バイアスは、0.4~2.9% (平均で 1.6%) である⁵⁾ ことから、ID/MS 法による認証値は、Abell-Kendall 法による認証値より 1%~2% 低くなる。

参考

■ 総コレステロールの従来法 (Abell-Kendall 法) による参考値

本認証標準物質の JCCRM 223-45 ①、②、③の総コレステロールの Abell-Kendall 法での参考値を下表に示す。本参考値は、前ロット JCCRM 223-43 ①、②、③ならびに NIST SRM 1951c の総コレステロールにおける、ID/MS 法測定値の Abell-Kendall 法測定値からの平均バイアスから計算した値である。

種類	総コレステロール (Abell-Kendall 法)
JCCRM 223-45 ① (TC/L)	140.4
JCCRM 223-45 ② (TC/M)	172.1
JCCRM 223-45 ③ (TC/H)	199.6

濃度単位: mg/dL

■ 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、その性状を下表に示す。本表の値は日常検査法で測定した参考値であるため、精確さの評価に用いることはできない。

測定項目	種類 (JCCRM 223)								単位	測定方法
	45① TC/L	45② TC/M, TG/M	45③ TC/H	45④ HDL-CL	45⑤ HDL-CH	45⑥ TG/H	45⑦ LDL-C/M	45⑧ LDL-CH		
総蛋白	6.9	6.9	6.9	7.0	7.0	7.0	6.8	7.2	g/dL	Biuret 法
アルブミン	4.2	4.1	4.2	4.4	4.4	4.2	4.2	4.3	g/dL	BCG 法
リポ蛋白(a)	9.9	16.1	17.0	5.8	5.0	3.9	5.0	14.5	mg/dL	LA
アポリポ蛋白 E	3.0	3.6	21.2	2.8	2.7	4.5	2.9	3.8	mg/dL	TIA
HDL	39	34	36	35	47	30	32	30	%	ポリアクリルアミドゲル 電気泳動法
LDL	40	44	40	41	34	35	38	42	%	
IDL	5	4	12	7	6	15	8	10	%	
VLDL	17	18	13	17	14	21	21	18	%	
尿酸	4.9	5.4	5.2	5.2	5.2	5.0	6.2	4.8	mg/dL	酵素法
総ビリルビン	0.4	0.5	0.4	0.5	0.4	0.4	0.4	0.3	mg/dL	バナジン 酸化法
ヘモグロビン	4 以下	4 以下	4 以下	4 以下	4 以下	4 以下	4 以下	4 以下	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

4 種の日常検査法で本ロットと前ロットを測定し、それぞれの認証値と測定値を比較した結果、前ロットに比較して本ロットの認証値の 1~2% の低値の分が加わった状態で一定のバイアスになっていたことが確認できた。このバイアスの変化分は、総コレステロールの測定方法を Abell-Kendall 法から ID/MS 法に変更したことによるものである。

(2) HDL コレステロール、LDL コレステロールおよび中性脂肪

各項目について4種の日常検査法で本ロットと前ロットを測定した結果、ロットの継続性が確認できた。

■ コlestest 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での経過時間とともに LCAT が作用し、HDL-C が高値となる。JCCRM 223-45④⑤の2濃度とも、原料血清について採血後の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、223-45④⑤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。

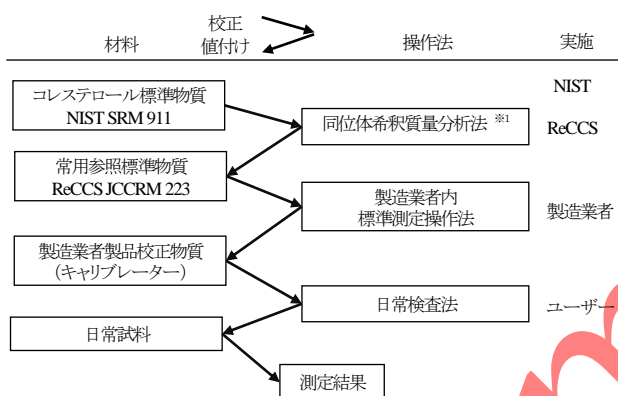
コレステスト N HDL HDL-C キットによる参考値

JCCRM 223-45④	JCCRM 223-45⑤
49 ± 2.0 mg/dL	70 ± 2.5 mg/dL

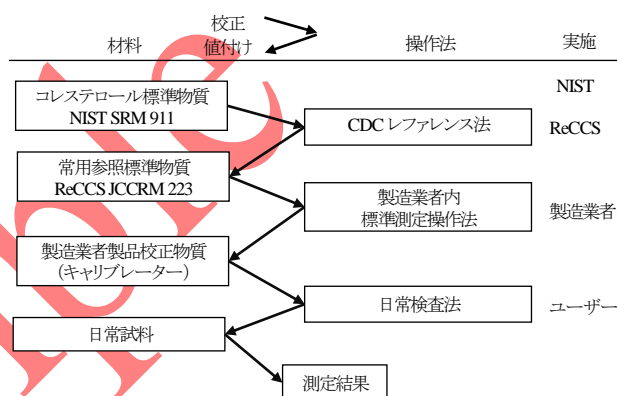
■ トレーサビリティ体系図

本認証標準物質を用いたトレーサビリティ体系図は、以下の通りである(JCCRM 223-45 から適用)。
なお、本体系図は、ISO 17511¹⁵⁾に準じて、実際の実施状況に即したものとして示した。

総コレステロール

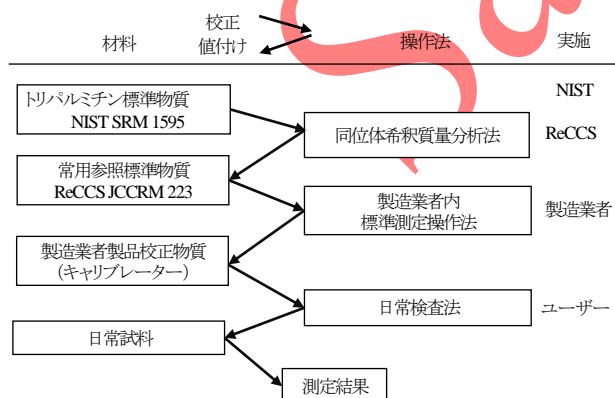


HDL コレステロール、LDL コレステロール



※1 前ロット JCCRM 223-44 までは CDC レファレンス法 (Abell-Kendall レファレンス法)

中性脂肪



■ 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) Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement. ISO/IEC Guide 98-3 (JCGM 100:2008).
- 3) Cohen A, et al. Total serum cholesterol by isotope dilution/mass spectrometry; A candidate definitive method, Clin Chem 1980;26:854-860.
- 4) Ellerbe P, Meiselman S, Sniegowski LT, Welch MJ, White VE. Determination of serum cholesterol by a modification of the isotope dilution mass spectrometric definitive method. Anal Chem 1989;61:1718-1723.
- 5) Edwards SH, Kimberly MM, Pyatt SD, et al. Proposed serum cholesterol reference measurement procedure by gas chromatography-isotope dilution mass spectrometry. Clin Chem 2011;57:614-622.
- 6) N Rifai, GR Warnick, MH Daminczak. Handbook of lipoprotein testing, 2nd Ed. pp.227-230, AACC Press, 2000, Washington DC.
- 7) Warnick GR, Albers JJ. Heparin-Mn²⁺ quantitation of high-density-lipoprotein cholesterol: An ultrafiltration procedure for lipemic samples.

- Clin Chem 1978;24:900-904.
- 8) Bachorik PS, Ross JW. National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of low-density lipoprotein cholesterol. Clin Chem 1995;41:1414-1420.
 - 9) Ellerbe P, Sniegoski LT, Welch MJ. Isotope dilution mass spectrometry as a candidate definitive method for determining total glycerides and triglycerides in serum. Clin Chem, 1995;41:397-404.
 - 10) Bernert JT Jr, Bell CJ, McGuffey JE, Waymack PP . Determination of “free” glycerol in human serum reference materials by isotope-dilution gas chromatography-mass spectrometry. J Chromatogr 1992;578:1-7.
 - 11) 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.
 - 12) 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..
 - 13) ISO 17511:2020. *In vitro* diagnostic medical devices-Requirements for establishing metrological traceability of values assigned to calibrators, trueness control materials and human samples.

認証書改訂履歴	
R1	2021年3月9日
	参考欄に総コレステロールの Abell-Kendall 法での参考値を追加

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

<p>本機構は標準物質認証機関 ISO 17034、臨床検査基準測定機関 ISO 15195 および試験所および校正機関 ISO/IEC 17025 として認定されています。</p>
