

コレステロール・中性脂肪常用参照標準物質

JCCRM 223-46

認証書

■ 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)および比較対照法)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。①②③の総コレステロールは前ロットJCCRM223-45についてID/GC-MS法からAbell-Kendall法へ認証値を変更した。④⑤は新たに調製して値付けした。②の中性脂肪および⑥⑦⑧は前ロットJCCRM 223-45と同じである。

表1 認証値

濃度単位: mg/dL (括弧内は mmol/L)

種類	総コレステロール (Abell-kendall 法)		HDL コレステロール (CDC レファレンス法 -Abell-Kendall 法)		中性脂肪 ^{注1)} (ID/GC-MS 法)		LDL コレステロール (CDC レファレンス法 -Abell-Kendall 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
①	140.4 (3.631)	1.8 (0.047)						
②	172.0 (4.450)	2.3 (0.060)			116.7 (1.318)	2.3 (0.026)		
③	199.5 (5.161)	2.7 (0.071)						
④			48.1 (1.244)	1.4 (0.036)				
⑤			61.7 (1.595)	1.7 (0.043)				
⑥					172.7 (1.950)	3.4 (0.039)		
⑦							100.4 (2.598)	1.9 (0.049)
⑧							129.0 (3.336)	2.0 (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 : (測定) 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 法)^{3,4,5)}
(計算) ID/GC-MS 法での測定値に対し、Abell-Kendall 法と ID/GC-MS 法の平均的なバイアスより Abell-Kendall 法での測定値を計算して認証値とした。

HDL コレステロール : (分画方法) CDC reference method for HDL cholesterol in serum^{6,7)}
(測定) 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 法)^{3,4,5)}
(計算) ID/GC-MS 法での測定値に対し、Abell-Kendall 法と ID/GC-MS 法の平均的なバイアスより Abell-Kendall 法での測定値を計算して認証値とした。

LDL コレステロール : (分画方法) CDC beta-quantification reference method for LDL cholesterol in serum⁸⁾
(測定) Abell-Kendall 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 法)^{9,10)}

■ 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 °C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*

■ 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 °C以下:1ヵ月	-40 °C: 1週間
総コレステロール、中性脂肪	-70 °C以下:6ヵ月	-40 °C: 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、LDLコレステロールおよび中性脂肪
- 【内容】 8種類, 各1本(0.5 mL入), 計8本

■ 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。

■ 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、トリノルミチン標準物質 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。

■ 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、認証委員会を組織して行った。

■ 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

2021年7月7日

■ 認証機関および認証責任者

一般社団法人 検査医学標準物質機構
代表理事 梅本博仁

参考

■ ID/GC-MS 法による参考値

本認証標準物質①、②、③の総コレステロールならびに④、⑤のHDLコレステロールのID/GC-MS法での参考値を下表に示す。

濃度単位:mg/dL

種類	総コレステロール (ID/GC-MS 法)	HDL コレステロール (ID/GC-MS 法)
①	138.3	—
②	169.5	—
③	196.6	—
④	—	47.4
⑤	—	60.9

■ 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、精密さの評価に用いることはできない。

項目	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	単位	測定方法
総蛋白	6.9	6.9	6.9	7.2	6.8	7.0	6.8	7.2	g/dL	Biuret 法
アルブミン	4.2	4.1	4.2	4.1	3.8	4.2	4.2	4.3	g/dL	BCG 法
リポ蛋白(a)	9.9	16.1	17.0	9.5	13.0	3.9	5.0	14.5	mg/dL	LA
アポリポ蛋白 E	3.0	3.6	21.2	3.0	3.5	4.5	2.9	3.8	mg/dL	TIA
HDL	39	34	36	35	37	30	32	30	%	ポリアクリルアミドゲル 電気泳動法
LDL	40	44	40	44	43	35	38	42	%	
IDL	5	4	12	—	—	15	8	10	%	
VLDL	17	18	13	21	20	21	21	18	%	
尿酸	4.9	5.4	5.2	4.6	3.9	5.0	6.2	4.8	mg/dL	酵素法
総ビリルビン	0.4	0.5	0.4	0.4	0.3	0.4	0.4	0.3	mg/dL	バナジウム酸化法
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は1~2%程度の高値であった。これは、総コレステロールの測定方法をID/GC-MS法からAbell-Kendall法へ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 223-46④⑤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1mg/dL以下に収めることが可能となった。また、性状の表から、JCCRM 223-46④⑤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(3回測定の平均値)

JCCRM 223-46④	JCCRM 223-46⑤
48.7 mg/dL	61.8 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) 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, Sniegoski 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 Daminiczak. 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.

改訂履歴

R0	2021.7.7	初版発行
R1	2021.9.9	参考情報のロット継続性の確認の箇所を修正

一般社団法人 検査医学標準物質機構 (ReCCS)

ISO 認証定取得機関

標準物質生産者 (ISO 17034)・校正機関 (ISO/IEC 17025)

TEL: 045-507-6145 FAX: 045-530-9036