

7. 令和5年度認証委員会・認証評価委員会報告 常用参照標準物質：ChE (JCCLS CRM-002) の ロット更新概要

Report of JCCLS Certification Committee for Reference Materials and Committee for Certification Assessment in 2023

Outline of New Lot of Reference Standard for Enzyme of JCCLS Certified Enzyme Reference Material for ChE

高木 康 (JCCLS 認証委員会委員長、昭和大学医学部名誉教授)

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

末吉 茂雄 (JCCLS 認証評価委員会委員長、女子栄養大学教授)

**Shigeo Sueyoshi (Chairperson of JCCLS Committee for Certification Assessment,
Professor, Kagawa Nutrition University)**

1. はじめに

常用参照標準物質：ChE (JCCLS CRM-002) の
ロット更新を行い、新ロット (JCCLS CRM-002e)
を設定した。設定手順と認証書を国際文書に従い
準備した。

山舘周恒 (人間総合科学大学)、
梅原 実 ((株) シノテスト)、
河西真史 (旭化成ファーマ (株))、
坂田裕二 (島津ダイアグノスティクス (株))、
植田 成 (JCCLS 事務局)

2. 委員

2.1 認証委員会

高木 康 (JCCLS 会長)、
矢富 裕 (国際医療福祉大学大学院)、
前川真人 (浜松医科大学)、
山田俊幸 (自治医科大学)、
植田 成 (JCCLS 事務局)

2.2 認証評価委員会

末吉茂雄 (女子栄養大学)、
石橋みどり (新東京病院)、
加藤 愛 (産総研)、
久保野勝男 (順天堂大学)、
林 崇 (順天堂浦安病院)、

2.3 事務局

梅田 衛、植田 成

3. 経過の概要

3.1 候補品製造の公募

令和4年4月15日に第1回認証評価委員会を
開催し、常用参照標準物質：ChEの現ロット CRM-
002d が令和5年10月頃に庫切れになることが予
測されるため、5月中に次ロット品作成の公募を行
う予定にしている旨の報告があった。その後、令
和4年7月に有効期間9年間、製造本数3,500本
およびスケジュール案が示された候補品製造の公
募が実施された。

3.2 公募の結果

2社から応募があったが、長期保存安定性の実績を考慮して、候補品製造を旭化成ファーマ（株）へ依頼した。

3.3 候補品の製造計画

令和4年12月7日に第2回認証評価委員会を開催し、常用参照標準物質：ChEの現ロットCRM-002dの有効期限が令和5年12月であることから、それまでに次ロットを頒布できるように、ロット更新に伴う候補品の製造に関するスケジュールが旭化成ファーマ（株）から提示され、委員会の了承を得た。

3.4 認証値設定試験

認証値設定試験は、現ロットと同様に共同試験方式による手順で進めた。すなわち、1) 共同試験への参加依頼、2) 試薬調製依頼、3) 実施要綱の作成、4) 試料および試薬一式の配布、5) 参加施設における測定、6) データ集計・解析、7) 認証評価委員会の開催などである。候補品試料の測定は令和5年7月に実施され、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. 認証値設定試験成績の概要

令和5年8月22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要は以下のごとくである。

4.1 認証値の設定手順

・新ロットの認証値と不確かさの設定は、原則として常用基準法で行うことが基本であるが、「JCCLS 認証委員会標準物質小委員会：酵素標準物質（ERM）Lot 004 の設定概要。日本臨床検査標準協議会誌 19(1):3-4, 2004」に記載の「更新および認証値の決め方の実施フローチャート：2004」に従い、測定精度の高い自動化法を併用し、現ロット CRM-002d の認証値を用手法で確認したのち、これを校正物質として自動化法で、新ロット CRM-002e の認証値と不確かさを決定

した。即ち、現実的な問題としてロット間の継続性を重視することも重要であるため、新ロットだけではなく現ロットの測定も実施した。

- ・試薬は用手法 / 自動化法ともに JSCC/JCCLS 常用基準法に基づく同じ処方を使用し、日本臨床検査薬協会を通じ、前ロットと同様にシノテスト株式会社に試薬製造を依頼した。
- ・用手法の試験参加施設は 8 施設がエントリー、うち 7 施設から結果の報告があり、現ロット 1 バイアルと新ロット候補品 3 バイアルのそれぞれを 2 重測定した。測定値が現ロットの認証値範囲外の低値であり、新ロット候補品についても低値を示した 2 施設を除外した。5 施設の現ロットの常用参照標準物質の総平均値は 535 U/L (n=5) であり、認証値に対し 99.2%、認証値 ± 不確かさ (539 ± 9 U/L) の範囲内であることを確認した。
- ・自動化法の試験参加施設は 15 施設であり、現ロット 1 バイアルと新ロット候補品 3 バイアルのそれぞれを 5 重測定した。全参加施設の現ロット (002d) を校正物質として用いた新ロットの測定値は、総平均 510.4 U/L、拡張不確かさ 8.8 U/L となった。
- ・認証値の設定は、ISO Guide 35 に基づく認証値設定手順書 (Ver.1.9) に準じ、候補品の均質性の確認を含めて実施した。また、不確かさの算出には、ホームページ掲載の不確かさの計算ソフト (Ver.5.52) を用いた。

4.2 保存安定性の不確かさ

前ロット (CRM-002c) の 10 年間の保存安定性実データから算出した 9 年間の保存安定性の不確かさ (0.14%)、現ロット (CRM-002d) の 6 年間の実保存データより算出した不確かさを 9 年間に外挿した保存安定性の不確かさ (0.18%) を比較し、ほぼ同等であることから (図)、現ロットの解析データを採用し、新ロットの有効期間 9 年間、保存安定性の不確かさ 0.18 % を提案する旨、旭化成ファーマ（株）から報告された。

4.3 認証値と不確かさ

- ・現ロットと新ロット候補品を JSCC/JCCLS 常用基準法 (用手法) で測定しそれぞれの総平均値

を求めた。

- ・ 認証値は ISO Guide 35 に従い決定し、不確かさの成分は、均質性と実験誤差成分、校正に用いた標準物質の不確かさ、および安定性を含む総合的な拡張不確かさ（包含係数 $k = 2$ ）とし、新ロットの認証値候補と不確かさの値は 510 ± 9 ($k = 2$) となり、認証評価委員会です承された。不確かさの成分ごとの大きさをバジェット表（CRM-002e の不確かさ成分の相対標準不確かさに関するバジェット表）にまとめた。
- ・ 今回、常用基準法（用手法）を実施した7施設中、2施設の現ロットの測定値が認証値範囲を大き

く外れた。長期安定性データから活性の低下は認められていないため、これらの測定値を除外せざるを得なかった。用手法を実施できる人材育成を認証評価委員会としても積極的に取り組んでいくことの必要性を確認した。

- ・ 常用参照標準物質：JSCC 常用酵素（JCCLS CRM-002）を用いた測定法の総合的な不確かさの評価と許容限界について、ユーザーが常用参照標準物質を測定法の評価に使用する場合の参考として会誌およびホームページに掲載する。

4.4 継続性確認試験

- ・ 認証値設定試験において、常用参照標準物質の

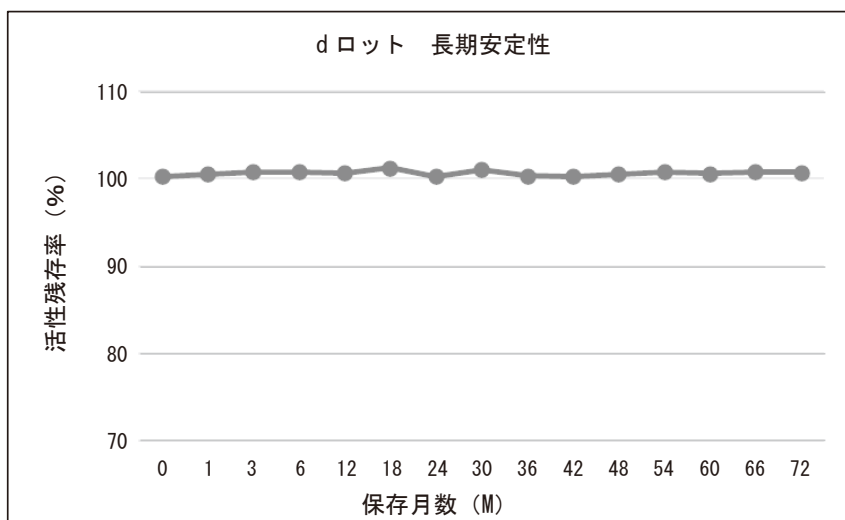
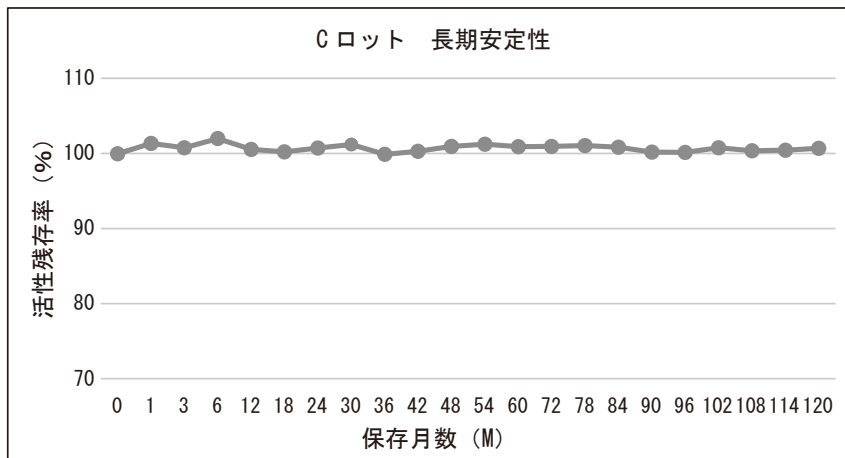


図 CRM-002c（前ロット）と CRM-002d（現ロット）の長期保存安定性（相対%）

表 CRM-002e の不確かさ成分の相対標準不確かさに関するバジェット表

不確かさの成分	標準不確かさ (U/L)	相対値 (%)
実験誤差	0.5	0.09
均質性	0.9	0.17
上位標準	4.2	0.83
保存安定性	0.9	0.18
合成標準不確かさ	4,4	0.87

継続性を確認するための追加試験を、日本臨床検査薬協会を通じて検査試薬の販社に依頼し、8社から試験参加の応募があった。

- ・測定結果をJCCLS事務局で回収し、CRM-002dとCRM-002e候補品の間継続性に特に問題がないことを確認した。

5. 認証委員会

認証委員会（メール会議）において、前述の認証評価委員会の報告、認証値と不確かさが表記された認証書および取扱説明書についての確認と承認の可否を問い、令和5年10月23日に承認された。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。

最後に、今回のロット更新作業は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般社団法人日本臨床検査薬協会・技術委員会を通じて依頼した。共同試験に際し、以下の検査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）、関東化学（株）、九州大学医学部附属病院、慶應義塾大学病院、検査医学標準物質機構、株式会社シノテスト、積水メディカル株式会社、順天堂大学医学部附属浦安病院、新東京病院、千葉大学医学部附属病院、天理よろず相談所病院、ニッポーメディカル株式会社、浜松医科大学医学部附属病院、富士フイルム和光純薬株式会社、ミナリスメディカル株式会社、山梨大学医学部附属病院（以上五十音順）

2023年10月作成

JCCLS 認証標準物質
常用参照標準物質：ChE
Reference Standard-ChE
(JCCLS Certified Reference Standard for ChE)

認証書
JCCLS CRM-002e

日本臨床化学会 (JSCC) は 2003 年にヒト血清中のコリンエステラーゼ (Cholinesterase: ChE, EC 3.1.1.8) 活性測定の勧告法を提示した。本品は JSCC 勧告法による精確さを伝達するための標準物質であり、日本臨床化学会学術連絡委員会の規格に則り作製されたものであり、申請書のとおりコリンエステラーゼ常用参照標準物質として認証する。

【適用範囲】

本ヒト血漿由来 常用参照標準物質：ChE (JCCLS CRM-002e) は、ISO 17511: 2020 による計量学的トレーサビリティの二次校正物質に相当し、製造業者社内標準測定操作法 (製造業者自社推奨測定操作法) のための校正物質として適用する。使用に際しては必ず取扱説明書の記載に従い使用すること。

【認証値及び不確かさ】

JCCLS CRM-002e の認証値および不確かさは以下の通りである。

測定温度：37°C

項目名	認証値 (U/L)	拡張不確かさ (U/L)*
コリンエステラーゼ	510	± 9

* 認証値は、ISO GUIDE 35 に基づいた方法により決定した。不確かさは、均質性と実験誤差成分、校正に用いた標準物質の不確かさ、および安定性を含む総合的な拡張不確かさ (包含係数 $k = 2$) として示した。

【認証値の測定方法及び測定施設】

JCCLS CRM-002e の認証値の測定は、JCCLS-SOP 法により実施した。JCCLS-SOP 法は、JSCC 勧告法に準じ作成した。JCCLS-SOP 法の実施には、旭化成ファーマ (株)、栄研化学 (株)、関東化学 (株)、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、(株) シノテスト、新東京病院、順天堂大学医学部附属浦安病院、積水メディカル (株)、千葉大学病院、天理よろづ相談所病院、ニッポーメディカル (株)、浜松医科大学医学部附属病院、富士フィルム和光純薬 (株)、ミナリスメディカル (株)、山梨大学医学部附属病院 (以上五十音順) が参加した。

JCCLS : Japanese Committee for Clinical Laboratory Standards ; 日本臨床検査標準協議会

SOP : Standard Operating Procedure ; 標準操作法

JSCC : Japan Society of Clinical Chemistry ; 日本臨床化学会

【トレーサビリティ】

日本臨床化学会のヒト血清コリンエステラーゼ活性測定の勧告法 (JSCC 法) に準じ作成した JCCLS-SOP 法にて測定した。従って、本標準物質の認証値を伝達した試薬キットは JSCC 法にトレーサブルな測定結果が得られる。

【基材及び製造方法】

本 JCCLS CRM-002e は、日本臨床化学会学術連絡委員会による常用酵素標準物質の規格(1996-02-15) および常用酵素標準物質の性状(Ver.1.0)に従って調製した。なお、原料に用いた酵素の起源は、以下の通りである。

ChE (cholinesterase) : ヒト血漿由来
また、基材にはヒトプール血清を用いた。

【認証日付及び認証機関】

2023年10月23日

公益社団法人 日本臨床検査標準協議会
令和5年度認証委員会委員長 高木 康
令和5年度認証評価委員会委員長 末吉 茂雄

【使用方法及び使用上の注意等】

使用方法、使用上の注意、保存方法、有効期限及び形状と包装単位は取扱説明書に記載。

【認証書の複製について】

事前の承認なしにこの認証書の一部のみ複製して用いてはならない。

【参考文献】

- 1) 日本臨床化学会学術連絡委員会、常用酵素標準物質の規格(1996-02-15). 臨床化学 1996;25:135-148
- 2) 日本臨床化学会酵素専門委員会: ヒト血清中酵素活性測定の勧告法—コリンエステラーゼ—. 臨床化学 2003; 32: 162-179
- 3) JCCLS 認証委員会標準物質小委員会 WG: 酵素標準物質(ERM)Lot 004 の設定概要. 日本臨床検査標準協議会誌 2004;19:1-52

【発行】 JCCLS 公益社団法人 日本臨床検査標準協議会

〒101-0047 東京都千代田区内神田 2-7-13 山手ビル 3 号館 6 階
TEL: 03-6206-9746、FAX: 03-6206-9747

2023年10月作成

JCCLS 認証標準物質 常用参照標準物質: ChE

Reference Standard - ChE

(JCCLS Certified Reference Standard for pseudo-ChE)

取扱説明書

JCCLS CRM-002e

日本臨床化学会 (JSCC) は 2003 年にヒト血清中のコリンエステラーゼ活性測定 の 勧告法 を 提示した。本品は JSCC 勧告法による精度さを伝達するための標準物質であり、日本臨床化学会学術連絡委員会の規格に則り作製されたものである。使用に際しては必ずこの取扱説明書の記載に従い使用すること。

【使用方法】

凍結乾燥品は、以下の手順に従って溶解する。

1. バイアルを冷凍庫より取り出し、室温に戻す。約 10 分間、室温で放置後、バイアルの周りの水分を拭く。
2. バイアルを垂直に立て、軽くたたき凍結乾燥物を底に落とす。
3. バイアルのキャップをはずした後、凍結乾燥物が舞わないようにゴム栓を静かに開ける。
4. 容量の正確さの試験^(註)を実施したホールピペットを用いて、正確に 3.0 ± 0.015 mL の蒸留水または精製水 (電気伝導度 $0.5 \mu\text{S}/\text{cm}$ 以下、水温 $15 \sim 25^\circ\text{C}$) を、容器の内壁につたわせ、ゆっくりと加える。＜水温には、十分注意すること＞
5. そのまま、20 分間放置後、静かに 20 ~ 30 回、転倒混和して完全に溶解させる。
溶解後は、直ちに密栓して冷暗所 ($2 \sim 8^\circ\text{C}$) に保存し、汚染、希釈、蒸発濃縮、変性等には、注意すること。
6. 溶解後は、24 時間以内に使用すること。

注：3 mL の全量ピペット (出用) の容量試験

- 1) 感量 0.1 mg 以下の天びん、水温が $15 \sim 25^\circ\text{C}$ の蒸留水または精製水 (電気伝導度 $0.5 \mu\text{S}/\text{cm}$ 以下) を用いて重量法で容量の正確さを試験する。
- 2) 試験は少なくとも 5 回行い、ひょう量値は小数点以下第 3 位まで求め、その平均値を算出する。
- 3) 求めた平均値 (g) と 3.000 g との差が ± 0.015 g 以内の場合はその全量ピペットを採用する。

【使用上の注意】

1. この添付文書をよく読んでから使用すること。
2. 本品は、溶解後、再凍結して使用しないこと。
3. 本品は、HBs 抗原、HIV 抗体 (HIV-1 及び HIV-2)、HTLV-1 抗体及び HCV 抗体の陰性が確認されている。他のヒト感染ウイルス等については、感染性がない事を保証する試験方法が確立されていないため、一般的注意事項として感染の危険性がある事を前提とし、日常の分析試料と同様に慎重に取り扱うこと。
4. 本品が、目や口に入った場合には、水で十分に洗い流し、医師等に相談し指示を受けること。
5. 使用後の容器は、廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物または産業廃棄物に区別して処理すること。

【形状と包装単位】

3.0 mL用 × 1 パイアル (凍結乾燥品)

【保存方法】

冷凍保存 (-20℃以下)

【有効期限】

ラベルおよび外箱に表示 (有効期限は実証データにより延長される場合がある。)

【参考文献】

- 1) 日本臨床化学会学術連絡委員会：常用酵素標準物質の規格 (1996-02-15).
臨床化学 1996 ; 25 : 135-148
- 2) 日本臨床化学会酵素専門委員会：ヒト血清中酵素活性測定 の 勧告法 - コリンエステラーゼ - .
臨床化学 2003 ; 32 : 162-179
- 3) JCCLS 認証委員会標準物質小委員会WG：酵素標準物質 (ERM) Lot 004 の設定概要 .
日本臨床検査標準協議会誌 2004 ; 19 : 1-52

【発行・販売】

JCCLS 公益社団法人 日本臨床検査標準協議会
〒101-0047 東京都千代田区内神田2-7-13 山手ビル3号館 6階
TEL : 03-6206-9746、 FAX : 03-6206-9747

【製造】

旭化成ファーマ株式会社 診断薬事業部
〒100-0006 東京都千代田区有楽町一丁目1番2号
TEL : 03-6699-3617、 FAX : 03-6699-3688

【販売】

一般社団法人 検査医学標準物質機構 (ReCCS)
〒225-0024 神奈川県横浜市青葉区市ヶ尾町1050-35
TEL : 045-507-6145