

## LumioneのATP発光測定<精度>

Lumione BL-2000 のATP発光測定分析能の信頼性を証明すべく、「精度」について評価した。

精度(Precision)は、均質な検体から多数回採取して得られた複数の試料について、記載された条件に従って測定して得られた一連の測定値間の一致(またはバラツキ)の程度であり、測定値の分散、標準偏差(SD)または変動係数(CV)で表わされ、併行精度、室内再現精度、および室間再現精度がある。

- 併行精度(Repeatability): 短時間内に試験室、試験者、装置、器具および試薬のロット等、同一条件下での繰返し分析の精度(Intra-assay precision)
- 室内再現精度(Intermediate precision): 同一試験室内で、試験者、試験日、装置、器具および試薬のロット等、一部または全ての条件を変えての繰返し分析の精度
- 室間再現精度(Reproducibility): 異なった試験室間での繰返し分析の精度

いずれの試験でもATP抽出液(0 amol)では差分で<1 amol, ポジティブコントロールではCV <10 %の結果が得られた。

### 試験方法

#### ■ 試薬

微生物迅速検査試薬キット

- ATP発光液
- ATP抽出液(0 amol)
- ポジティブコントロール(100 amol)

#### ■ 手順

- ネガティブコントロールとしてATP抽出液(NC)と、ポジティブコントロール(PC)を各50 μLずつ発光計測チューブに分注(各n=3以上6以下)し、発光測定を行い、検量線を設定(Lumione BL-2000 ソフトで自動算出)
- 同様に分注したNC, PCを発光計測ラックに交互に並べて発光測定(各n=12, 自動測定)
- 先に設定した検量線から測定した各溶液のATP量が自動算出

### 1. 併行精度

#### ■ 短時間内に同一条件下でNCとPCを交互に繰返し測定

表1 併行精度 測定例

試料	平均値 (amol)	SD (amol)	CV (%)	最大値 (amol)	最小値 (amol)	差分 (amol)
NC	0.1			0.2	0.0	0.2
PC	100.2	2.3	2.3	103.6	95.1	8.5

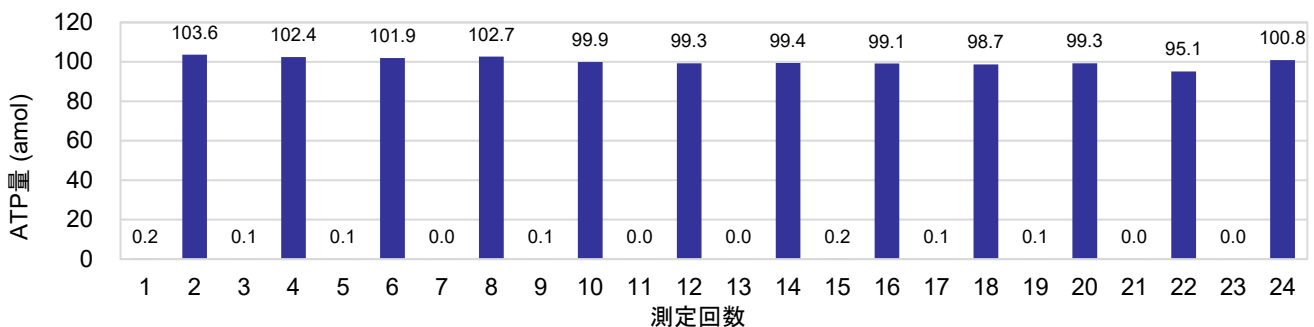


図1 測定例

#### ■ 短時間内に同一条件下で高濃度ATP溶液を繰返し測定

表2 ATP 5000 amol溶液の発光測定 精度例

試料	平均値 (amol)	SD (amol)	CV (%)	最大値 (amol)	最小値 (amol)	差分 (amol)
ATP溶液 5000 amol	5151.5	142.0	2.8	5345.8	4983.3	362.5

## 2. 室内再現精度

■ 同一試験室内で、試験日を変更して併行精度試験(NCとPCを交互測定)を5回実施

表3 室内再現精度(試験日)例

試験回数	試料	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	平均値 (amol)	SD (amol)	CV (%)	最大値 (amol)	最小値 (amol)	差分 (amol)
1	NC	0.2	0.1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.1	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0	0.1	/	/	0.2	0.0	0.1
	PC	100.7	100.0	99.7	98.8	91.8	92.1	90.9	91.6	88.3	91.3	88.2	89.8	93.6	4.8	5.1	100.7	88.2	12.5
2	NC	0.2	0.1	0.1	0.0	0.1	0.0	0.0	0.2	0.1	0.1	0.0	0.0	0.1	/	/	0.2	0.0	0.2
	PC	103.6	102.4	101.9	102.7	99.9	99.3	99.4	99.1	98.7	99.3	95.1	100.8	100.2	2.3	2.3	103.6	95.1	8.5
3	NC	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	/	/	0.3	0.1	0.2
	PC	107.1	104.6	102.1	103.6	103.8	104.1	103.5	103.2	102.9	100.7	101.2	102.2	103.2	1.7	1.6	107.1	100.7	6.3
4	NC	0.3	0.2	0.2	0.3	0.4	0.3	0.3	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	0.3	/	/	0.4	0.2	0.2
	PC	97.1	95.6	96.0	94.8	94.5	91.0	92.5	94.2	90.6	90.3	91.5	91.8	93.3	2.3	2.5	97.1	90.3	6.8
5	NC	0.3	0.5	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2	/	/	0.5	0.1	0.4
	PC	107.6	97.4	98.4	96.6	94.0	92.6	93.8	93.3	94.8	92.4	93.6	92.5	95.6	4.3	4.5	107.6	92.4	15.2

表4 室内再現精度(試験日)

試料	測定回数	平均値 (amol)	SD (amol)	CV (%)	最大値 (amol)	最小値 (amol)	差分 (amol)
NC	60	0.2	/	/	0.5	0.0	0.4
PC	60	97.2	5.1	5.2	107.6	88.2	19.4

■ 同一試験室内で、試験者を変更して併行精度試験を4回実施

表5 室内再現精度(試験者および試験日)

試料	測定回数	平均値 (amol)	SD (amol)	CV (%)	最大値 (amol)	最小値 (amol)	差分 (amol)
NC	48	0.0	/	/	0.2	-0.1	0.3
PC	48	99.7	4.3	4.3	110.7	92.0	18.7

■ 上述の併行精度試験(試験日、試験者変更)計9回のまとめ

表5 室内再現精度(試験者および試験日)

試料	測定回数	平均値 (amol)	SD (amol)	CV (%)	最大値 (amol)	最小値 (amol)	差分 (amol)
NC	108	0.1	/	/	0.5	-0.1	0.6
PC	108	98.3	4.9	5.0	110.7	88.2	22.5

## 3. 空間再現精度

■ 方法：試験場所および装置が異なる条件で、3か所、3装置で実施<sup>\*1</sup>

表6 空間再現精度

\*1: 試験者は同一

試料	測定回数	平均値 (amol)	SD (amol)	CV (%)	最大値 (amol)	最小値 (amol)	差分 (amol)
NC	18	0.1	/	/	0.2	-0.1	0.3
PC	18	96.6	4.7	4.9	105.6	80.9	24.7

文献

- 1) 独立行政法人医薬品医療機器総合機構 [分析法バリデーションに関するテキスト\(実施項目\)](#)
- 2) 日本規格協会 大河原正光著 [第5章 分析バリデーション](#)(標準化教育プログラム資料)

注意：本資料に掲載のデータは測定例を示すもので、性能を保証するものではありません。