

0.8% 赤血球浮遊液における不規則抗体の検出

渡邊 友美¹⁾ 加藤 千秋¹⁾ 遠藤比呂子¹⁾ 川上 萌¹⁾ 西田 謙登¹⁾
松下 正²⁾

輸血検査における不規則抗体スクリーニングでは、反応増強剤として低イオン強度溶液 (LISS) を用いたカラム凝集法が使用されている。

今回、オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社の全自動輸血検査装置オーソ ビジョン[®]を使用し、LISSとして0.8% オーソ[®] RCD (RCD) を用いた有用性を検討した。RCD を用いた0.8% 赤血球浮遊液による試験 (0.8% LISS-IAT) は、4% 赤血球浮遊液による LISS 添加法による試験 (4% LISS-IAT) と比較し、臨床的意義のある抗体の検出感度は向上し、臨床的意義のない抗体や非特異反応の検出は抑制された。新たな産生抗体については、0.8% LISS-IAT は4% LISS-IAT より早期に検出可能であり、PEG-IAT とほぼ同時期に検出できた。検出感度の向上は、赤血球と抗体の抗原抗体反応に対して最適なイオン強度、リアクションチャンバー内の効果的な攪拌により得られた効果と考える。

0.8% LISS-IAT を用いることで、より安全な輸血医療に貢献可能である。

キーワード：カラム凝集法, 0.8% LISS-IAT, 検出感度

はじめに

輸血検査における不規則抗体スクリーニングで、臨床的意義のある抗体を検出することは重要である。赤血球型検査 (赤血球系検査) ガイドライン (改訂2版)¹⁾ では、不規則抗体スクリーニングは、反応増強剤としてポリエチレングリコール液 (polyethylene glycol : PEG) は試験管法に、低イオン強度溶液 (low-ionic-strength solution : LISS) は試験管法、カラム凝集法 (column agglutination technology : CAT), 固相マイクロプレート法に用いることで、反応時間を10~15分に短縮し、検出感度を上げることができるとされている。

当院では、オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社の全自動輸血検査装置オーソビジョン[®]を用いて、LISSと4% 赤血球浮遊液による間接抗グロブリン試験 (indirect antiglobulin test : IAT) (以下4% LISS-IAT) とフィシン処理赤血球を用いた酵素法 (以下4% Ficin) によるCATを行っている。DuffyやKiddにおいて、CATはPEG-IATに比較し感度が劣るとの報告がある^{2)~4)}。

0.8% オーソ[®] RCD (RCD) は、ブリンやスクレオシドを含む低イオン強度リン酸緩衝液であり、最終イオン強度は0.88Mである。リアクションチャンバーへは、

従来のLISS50μlと血漿40μlに4% 赤血球浮遊液10μlを分注するのに比較し、血漿40μlに0.8% 赤血球浮遊液50μlを分注することで十分な攪拌が行われ、検出感度および特異性の向上が期待される。

そこで、LISS-IATとFicinにおいてRCDを用いて0.8% 赤血球浮遊液とすることで、検出感度の向上が可能であるかを検討した。

材料および方法

1 材料

1.1 検体

当院で2017年4月~2018年9月に、不規則抗体スクリーニングの検査に用いた患者の残血漿を使用した。本研究を行うに際し、名古屋大学医学部附属病院倫理委員会の承認を得た (2010-1038-3)。

1.2 試薬

オーソ[®] バイオビュー[™] スクリーン J (以下BVSJ), 0.8% オーソ[®] RCD 50ml (以下RCD), オーソ[®] オートビュー[®] 用 BLISS (以下BLISS), オーソ[®] バイオビュー[™] 抗IgGカセット (以下抗IgGカセット), オーソ[®] バイオビュー[™] ニュートラルカセット (以下ニュートラルカセット), AlbaQ-Chek[®] J, リファレンス抗Dコントロール

1) 名古屋大学医学部附属病院医療技術部臨床検査部門

2) 名古屋大学医学部附属病院検査部・輸血部

〔受付日：2019年11月3日，受理日：2020年3月16日〕

表1 測定パラメータ

	0.8%LISS-IAT	4%LISS-IAT	0.8%Ficin	4%Ficin
使用カラム	抗 IgG カセット	抗 IgG カセット	ニュートラルカセット	ニュートラルカセット
BLISS	-	50μl	-	-
血漿	40μl	40μl	40μl	40μl
血球	0.8% 赤血球 浮遊液 50μl	4% 赤血球 浮遊液 10μl	0.8% 赤血球 浮遊液 50μl	4% 赤血球 浮遊液 10μl
インキュベーション	37℃ 15 分	37℃ 10 分	37℃ 15 分	37℃ 10 分
遠心	フェーズ 1 55g75 秒, フェーズ 2 199g225 秒 判定			

キット (以下リファレンス抗 D), オーツ®PEG (以下 PEG), オーツ®抗ヒト IgG 血清 (ウサギ) (以下抗 IgG 血清) (以上オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社), クームスコントロール (弱) (以下 IgG 感作赤血球) (株式会社カイノス), (+/-)-Dithiothreitol (以下 DTT) (和光純薬工業株式会社), 塩化ナトリウム (シグマアルドリッチジャパン合同会社), インスタント燐酸緩衝液 4 (株式会社 LSI メディエンス)

1.3 測定機器

オーソ ビジョン® (以下 VISION) (オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社), THERMOLYNE DRIBATH (Thermolyne Corporation), 日立自動血球洗浄遠心機 MC450 形 (日立工機株式会社), 免疫血液学用遠心機 SEROMATICHKA-2200 (株式会社久保田製作所)

2 方法

2.1 0.8% 赤血球浮遊液の調製

4% と 0.8% における赤血球の抗原性の違いを排除するため, いずれの赤血球試薬も 4% の BVSJ を使用した. 0.8% の調製は, 試験管に BVSJ 1 容を分注し 3,400rpm 1 分遠心後上清を除去, そこに RCD 1ml を加え 3,400 rpm 2 分遠心後上清を除去した後, 赤血球に RCD 5 容を加えて 0.8% 赤血球浮遊液とし, 調製後 1 週間以内で使用した.

2.2 0.8% 赤血球浮遊液と 4% 赤血球浮遊液による不規則抗体スクリーニング

0.8%LISS-IAT, 4%LISS-IAT, 0.8%Ficin, 4%Ficin の測定パラメータを表 1 に示す. VISION を使用し, 各カラムへの分注は, BLISS, 血漿, 血球の順に行い, インキュベーションは 0.8% 赤血球浮遊液の場合は 15 分, 4% 赤血球浮遊液の場合は 10 分行い, 遠心後判定した.

2.3 同時再現性

0.8%LISS-IAT と 0.8%Ficin においてリファレンス抗 D を使用し, 5 重測定を行った.

2.4 試薬安定性

0.8%LISS-IAT と 0.8%Ficin において AlbaQ-Chek® J の抗 D と, 抗 Fy^b 陽性患者プール血漿を用いて 8 日間

の試薬安定性を試みた. 0.8% 赤血球浮遊液は, 調製後 VISION に架設した状態とした. 患者プール血漿は -30℃ で凍結保存し, 測定の都度 37℃ で解凍, 遠心後使用した.

2.5 グロブリンクラスの推定

血漿 9 容に対し 0.2M DTT 1 容を加え 25℃ 30 分反応させ DTT 処理血漿とし, DTT 未処理血漿と DTT 処理血漿の抗体価を測定した. 「新輸血検査の実際」に従い⁵⁾, DTT 未処理 = DTT 処理の場合は IgG 型, DTT 処理が陰性の場合は IgM 型を反映し, いずれでもない時は IgG 型 + IgM 型とした. ただし, この場合の IgM 型は DTT 未処理と DTT 処理の差分に相当するため, DTT 未処理 ÷ DTT 処理に近似すると推測し, 複合の場合は便宜的に DTT 未処理 ÷ DTT 処理を IgM 型とした.

2.6 PEG-IAT

PEG-IAT は「新輸血検査の実際」に従い⁵⁾, 試験管に血漿 2 滴, BVSJ 1 滴, PEG 2 滴を加えよく混和して 37℃ 15 分加温後, 洗浄し, 抗 IgG 血清 2 滴を添加し混和後 3,400rpm 15 秒遠心し, 凝集強度を判定した. 陰性の場合, IgG 感作赤血球を 1 滴添加し, 3,400rpm 15 秒遠心して凝集を確認した.

2.7 相関関係

0.8%LISS-IAT と 4%LISS-IAT, 0.8%Ficin と 4%Ficin の相関関係を検討した. 不規則抗体陽性の検体は, ホモ接合体の赤血球に対する凝集強度で評価した. 複数抗体はホモ接合体の赤血球で重複しないものは個別に評価し, 重複した場合は複数抗体として評価した. 検体は 51 検体を使用し, 評価した抗体の内訳は, 抗 D : 2, 抗 C : 1, 抗 c : 2, 抗 E : 5, 抗 e : 2, 抗 C, -e : 2, 抗 E, -c : 2, 抗 E, -Jk^a : 1, 抗 E, -非特異 : 1, 抗 Fy^a : 1, 抗 Fy^b : 3, 抗 Jk^a : 2, 抗 Jk^b : 1, 抗 Le^a : 5, 抗 Le^b : 1, 抗 M : 2, 抗 S, -非特異 : 2, 抗 Di^a : 2, 抗 Jr^a : 1, 抗 JMH : 1, 寒冷凝集 : 5, 非特異 : 6, 不規則抗体陰性 : 6 の合計 56 件である.

2.8 不規則抗体産生初期の経時変化

4 名の患者について抗体産生の原因製剤の輸血日を 0 日とし, 0.8% 赤血球浮遊液と 4% 赤血球浮遊液で検出

表2 LISS-IAT の相関

4% LISS-IAT	4+							
	3+					抗 S, -非特異	3	抗 E, -c
	2+				抗 Jr ^a	10		
	1+				2			
	w+		抗 Le ^b *1	5	抗 E, 抗 Fy ^b	抗 E		
	?	抗 Le ^a *1	3	抗 E, 抗 Fy ^b , 抗 Jk ^a , 抗 Jk ^a	抗 e			
	0	17	抗 C, -e, 抗 Di ^a			非特異*2		
n = 56		0	?	w+	1+	2+	3+	4+
0.8% LISS-IAT								

*1: 無添加 60 分 IAT (0)

*2: 遠心直後の観察においてもカラム上面に赤血球がわずかに残る凝集像

?: 自動判定において陽性が陰性かの判断不可

表3 Ficin の相関

4% Ficin	4+						抗 E, -抗 c, 非特異	2
	3+					抗 Di ^a , 抗 Le ^a *1	14	
	2+				抗 Le ^a *1, 非特異	1, 1*2		
	1+			非特異, 寒冷凝集	2	抗 C		
	w+	寒冷凝集	非特異, 非特異	2	抗 Le ^b *1			
	?	抗 Le ^a *1	1					
	0	18			抗 C, -e			
n = 56		0	?	w+	1+	2+	3+	4+
0.8% Ficin								

*1: 無添加 60 分 IAT (0)

*2: 遠心直後の観察においてもカラム上面に赤血球がわずかに残る凝集像

?: 自動判定において陽性が陰性かの判断不可

時期に違いがあるかを確認し、同時に PEG-IAT との比較も行った。

新たに抗 Jk^a を産生した症例を患者 1, 抗 E 保有状態で抗 Di^a を更に産生した症例を患者 2 とし、患者 2 は Di (a+) かつ CCee の赤血球で評価した。新たに抗 E を産生後、抗 c を産生した症例を患者 3, 4 とし、抗 E は ccEE の赤血球で評価したが、抗 c を産生後は抗 E と抗 c の複合的な評価とした。また、抗 c は ccee の赤血球で評価した。患者 3 は、0.8%LISS-IAT, 0.8%Ficin および PEG-IAT でグロブリンクラスの推定も行った。

結 果

1 同時再現性

同時再現性は、抗 D は抗原陽性赤血球において反応強度は 1 グレード差以内であり、抗原陰性赤血球お

び陰性血漿においては全て陰性となった。

2 試薬安定性

試薬の安定性は、抗 D と抗 Fy^b は抗原陽性赤血球において反応強度は 1 グレード差以内であり、抗原陰性赤血球においては全て陰性となった。

3 相関関係

0.8%LISS-IAT と 4%LISS-IAT の結果を表 2 に示す。表中の数字は、2 方法において同等の凝集強度となった件数を示した。抗 E, 抗 e, 抗 C, -e, 抗 E, -c, 抗 Fy^b, 抗 Jk^a, 抗 Di^a, 非特異の合計 12 件の 0.8%LISS-IAT で凝集強度の増加があった。また、抗 Le^a, 抗 Le^b, 抗 Jr^a, 抗 S, -非特異の合計 4 件の 0.8%LISS-IAT で凝集強度の低下があった。

0.8%Ficin と 4%Ficin の結果を表 3 に示す。抗 Le^b, 抗 C, 抗 C, -e の合計 3 件の 0.8%Ficin で凝集強度の

表4 不規則抗体産生初期の経時変化

輸血後 経過日数	0.8%LISS-IAT		4%LISS-IAT		0.8%Ficin		4%Ficin		PEG-IAT	
患者1 (抗 Jk ^a)	Jk (a+b+)	Jk (a+b-)	Jk (a+b+)	Jk (a+b-)	Jk (a+b+)	Jk (a+b-)	Jk (a+b+)	Jk (a+b-)	Jk (a+b+)	Jk (a+b-)
13	w+	1+	0	0	0	w+	0	w+	w+	1+
18	2+	3+	1+	2+	0	w+	0	1+	1+	3+
23	2+	3+	w+	2+	0	1+	0	1+	2+	3+
患者2 (抗 Di ^a)	Di (a+b+)		Di (a+b+)		Di (a+b+)		Di (a+b+)		Di (a+b+)	
4	0		0		0		0		0	
7	2+		1+		0		2+		1+	
9	1+		2+		0		1+		1+	
11	3+		3+		3+		3+		3+	
40	3+		2+		3+		3+		3+	
患者3 (抗 E, 抗 c)	ccEE	ccee	ccEE	ccee	ccEE	ccee	ccEE	ccee	ccEE	ccee
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	w+	0	0	0	0	0
19	w+	0	0	0	3+	0	2+	0	0	0
33	0	0	0	0	2+	1+	2+	1+	0	0
36	0	0	0	0	3+	2+	3+	2+	0	0
39	w+	w+	0	0	4+	3+	4+	3+	0	0
42	2+	w+	1+	0	4+	3+	4+	3+	1+	0
52	3+	0	3+	w+	4+	3+	4+	3+	3+	w+
56	4+	0	3+	0	4+	3+	4+	3+	3+	1+
患者4 (抗 E, 抗 c)	ccEE	ccee	ccEE	ccee	ccEE	ccee	ccEE	ccee	ccEE	ccee
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	w+	0	w+	0	w+	0
10	w+	0	0	0	3+	0	3+	0	w+	0
12	w+	0	0	0	3+	0	3+	0	w+	0
14	2+	0	w+	0	4+	w+	3+	w+	1+	w+
18	2+	0	w+	0	3+	w+	3+	w+	w+	w+

増加があり、抗 E、-c、抗 Le^a、抗 Di^a、寒冷凝集、非特異反応の合計 12 件の 0.8%Ficin で凝集強度の低下があった。

4 不規則抗体産生初期の経時変化

4 名の患者について、不規則抗体産生初期の経時変化を表 4 に示した。

患者 1 は、ホモ接合体の赤血球では 0.8%LISS-IAT、0.8%Ficin、4%Ficin、PEG-IAT での検出が早かった。また、ヘテロ接合体では 0.8%LISS-IAT、PEG-IAT のみが早期に抗体検出可能であった。

患者 2 は、0.8%LISS-IAT、4%LISS-IAT、4%Ficin、PEG-IAT で同時期に抗体検出可能であった。

患者 3 では、抗 E と抗 c のいずれにおいても、Ficin は最も早く検出が可能であり、0.8%Ficin は 4%Ficin より早く抗 E を検出した。また 0.8%LISS-IAT は、4%LISS-IAT と PEG-IAT に対し、抗 E を 23 日早く、抗 c を 13 日早く検出可能であった。

次に、抗 E と 39 日以降に検出された抗 c が反応する ccEE の赤血球とのグロブリンクラスの反応を図 1 に示した。LISS-IAT では凝集強度 1+ 以上を示した 42 日目以降、IgG 型のみ検出され、経過日数に従い抗体価は上昇した。Ficin では 19 日目に IgG 型と IgM 型が検出され、その後 IgM 型の抗体価は上昇したが 42 日目以降低

下した。一方、IgG 型の抗体価は 19 日目以降上昇し続けた。62 日目以降は、LISS-IAT と Ficin の IgG 型抗体価は等しくなった。

また、抗 c のみと反応する ccee の赤血球とのグロブリンクラス反応を図 2 に示す。LISS-IAT が 1+ 以上を示したのが 77 日目で IgG 型であった。Ficin では IgM 型は 39 日目をピークとし以後低下したが、IgG 型は徐々に上昇した。抗 E の複数抗体であるが、抗体検出時期は抗 E 産生から 3 週間後であった。IgM 型と IgG 型の動向は抗 E の場合と類似した。

患者 4 では、0.8%LISS-IAT は、4%LISS-IAT に比較し 4 日早く抗 E を検出可能であった。

考 察

同時再現性は良好であり、0.8% 赤血球浮遊液は VISION 架設状態で 8 日間は安定であることが確認できた。

相関関係では、0.8%LISS-IAT と 0.8%Ficin で凝集強度の低下があった抗 Le^aは無添加 60 分 IAT で陰性であり、抗 Le^bは冷式抗体であるため臨床的意義がない⁶⁾⁷⁾。

0.8%LISS-IAT と 4%LISS-IAT の相関関係では、抗 Jr^aは HTLA (high-titer low-avidity) 抗体であり、HTLA 抗体の凝集は比較的脆く、高力価でも凝集力は弱くなるので、凝集強度の 1 グレード差は許容できる⁵⁾。抗 S

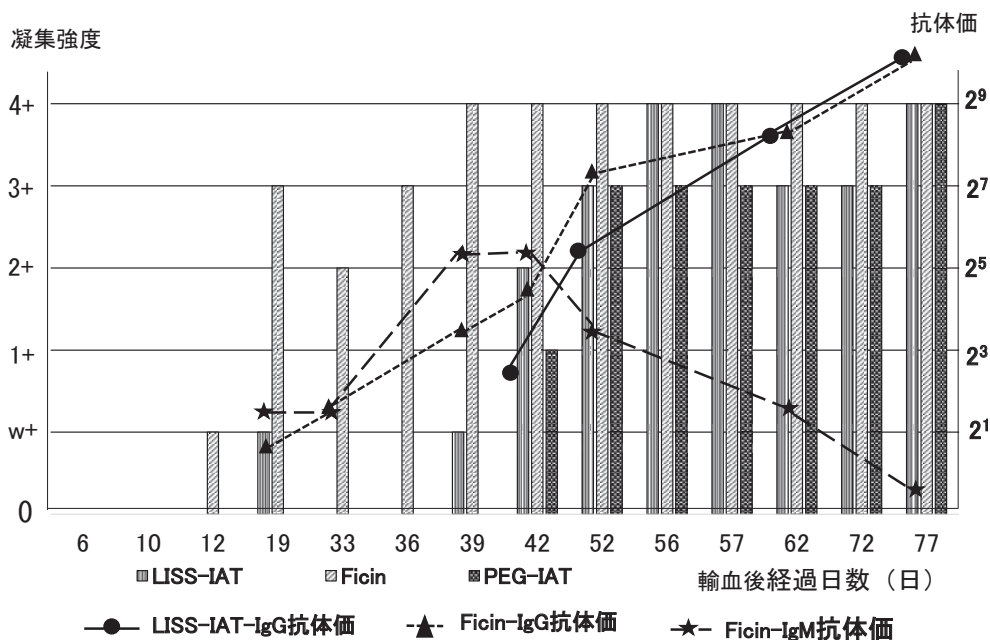


図1 抗E, -c 凝集強度と抗体価の変化 (患者3 赤血球: ccEE)

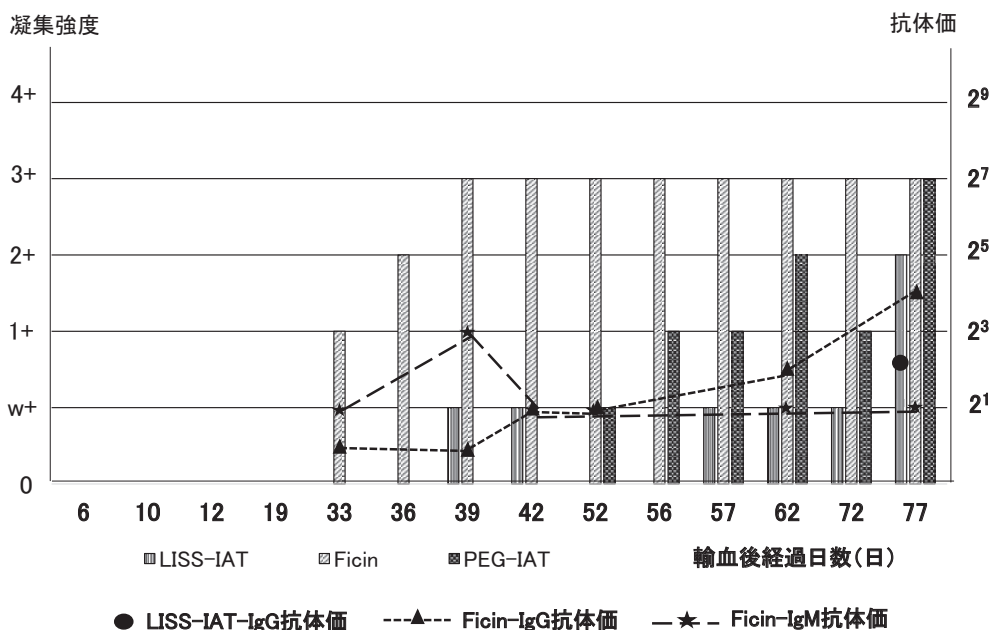


図2 抗c 凝集強度と抗体価の変化 (患者3 赤血球: ccee)

は4%LISS-IATで3+, 0.8%LISS-IATで2+であり, いずれも検出可能であった. 逆に, 4%LISS-IATで検出できず0.8%LISS-IATで検出された抗Cと抗eの複数抗体と抗Diや, 0.8%LISS-IATで2グレード以上強い凝集強度で判定された抗Eは検出感度が向上したと考えられた. ただし, 4%LISS-IATで陰性であり0.8%LISS-IATで遠心直後の観察においてもカラム上面に赤血球がわずかに残る凝集像は, 0.8%Ficinでも同様の凝集像

であったことから, RCDの成分に対する反応またはイオン強度の低下に伴う非特異反応と考えた. 総合的に4%LISS-IATに比較し0.8%LISS-IATは抗体検出に優れていた.

0.8%Ficinと4%Ficinの相関関係では, 寒冷凝集と非特異反応は臨床的意義がなく, これらが0.8%Ficinで未検出や凝集強度が下がることは不要な精査を減少させる効果があった. 抗C, -eの1件で, 4%Ficinで未検

出であったものが0.8%Ficinで1+の凝集強度で検出可能であることは重要であった。

抗Jk^aはPEG-IATに比較しCATでの検出が劣るとの報告がされているが^{2)~4)}、不規則抗体産生初期の経時変化の結果から、患者1と患者2の症例では0.8%LISS-IATの抗体検出時期がPEG-IATと同等であり、0.8%LISS-IATは早期に抗体検出が可能であった。

患者3の症例では、0.8%LISS-IATは溶血性輸血反応に重要なIgG型のみを検出し、IgM型は検出していなかった。また、FicinはIgM型も検出しており、抗体産生早期はIgM型が若干優位であるが、IgG型も徐々に増加し、その経過中にLISS-IATによる抗体検出が可能であった。Ficinによる抗体を確認した後のRBC輸血は、IgM型抗体の産生に引き続きIgG型抗体の力価が上昇したことから、Ficinのみで検出可能な抗体であっても0.8%LISS-IATで早期に検出可能であり、対応抗原陰性のRBC輸血を選択することで、溶血性輸血反応を防止できたと考える。

また患者4の症例でも、0.8%LISS-IATは4%LISS-IATより早期に抗体検出が可能であり、0.8%LISS-IATは4%LISS-IATより抗体検出に優れていた。

これらの結果から、RCDは、プリンやヌクレオシドを含む最終イオン強度0.88Mの低イオン強度リン酸緩衝液であり、リアクションチャンバー内の十分な攪拌が行われたことにより、0.8%LISS-IATで検出感度および特異性が向上したと考える。

結 語

今回我々は、0.8%赤血球浮遊液を用いた不規則抗体スクリーニングが、4%赤血球浮遊液より検出感度が向上するかを検討した。

特に臨床的意義のある抗体において、0.8%LISS-IATは4%LISS-IATより感度良く検出可能であり、臨床的

意義のない抗体や寒冷凝集では凝集強度の低下が確認され、不規則抗体スクリーニングにおいて0.8%LISS-IATは有用であった。

新規に産生された抗体の検出においても、0.8%LISS-IATはCATで感度が低いとされるKidd系抗体^{2)~4)}でPEG-IATと同等の時期に検出可能であった。また、Ficinで検出感度が高いとされるRh系抗体やKidd系抗体でも、0.8%LISS-IATは4%Ficinでの検出直後に検出可能であり、溶血性輸血反応の防止に役立つと考えた。

著者のCOI開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

文 献

- 1) 奥田 誠, 石丸 健, 内川 誠, 他：赤血球型検査(赤血球系検査)ガイドライン(改訂2版). 日本輸血細胞治療学会誌, 62: 651—663, 2016.
- 2) 佐々木正照, 山田美加子, 金子礼子, 他：各種検査法における赤血球IgG性同種抗体の検出感度の検討. 日本輸血学会誌, 49: 640—645, 2003.
- 3) 石丸 健, 天満智佳, 藤原義一, 他：一次免疫応答により惹起されたと考えられる遅発性溶血性輸血副作用の1症例. 日本輸血学会雑誌, 50: 768—773, 2004.
- 4) 三島由祐子, 他：不規則抗体の検査法の比較検討. 医学検査, 62: 661—665, 2013.
- 5) 社団法人日本臨床衛生検査技師会「新輸血検査の実際」編集部会：新輸血検査の実際, 初版, 日本臨床衛生検査技師会, 東京, 2008.
- 6) 友田 豊, 東谷孝徳, 遠藤輝夫, 他：冷式抗体保有患者への対応抗原陽性赤血球製剤輸血：他施設共同研究による冷式抗体の臨床的意義の評価. 日本輸血細胞治療学会誌, 59: 733—739, 2013.
- 7) 大久保進, 岡山桂子, 他：低温性抗体保有患者への輸血について. 日本輸血学会雑誌, 36: 593—597, 1990.

IMPROVEMENT OF UNEXPECTED ANTIBODY DETECTION USING 0.8% RBC SUSPENSION

Tomomi Watanabe¹⁾, Chiaki Kato¹⁾, Hiroko Endo¹⁾, Moe Kawakami¹⁾, Kento Nishida¹⁾
and Tadashi Matsushita²⁾

¹⁾Department of Medical Technique, Nagoya University Hospital

²⁾Department of Clinical Laboratory and Department of Transfusion Medicine, Nagoya University Hospital

Abstract:

Low-ionic-strength solution (LISS) is commonly used in column agglutination technology as potentiator in the detection of irregular antibody in pretransfusion testing.

In this study we evaluated the usefulness of 0.8% Ortho[®] Red Cell Diluent (RCD) with the ORTHO VISION[®] analyzer (Ortho Clinical Diagnostics Japan, Tokyo). Use of this test with an 0.8% RBC suspension (0.8% LISS-IAT) resulted in an increase in sensitivity for clinically significant antibodies and a decrease in the detection of clinically insignificant antibodies/nonspecific reactions compared to the test using LISS additive method with 4% RBC suspension (4% LISS-IAT). The 0.8% LISS-IAT detected newly produced antibodies, as early as PEG-IAT and earlier than LISS additive method. We speculate that the improvement in sensitivity with 0.8% LISS-IAT was due to a more appropriate ionic strength for antigen-antibody reaction, and efficient mixing in the reaction chamber.

We conclude that 0.8% LISS-IAT contributes to the safety of transfusion.

Keywords:

Column agglutination technology, 0.8% LISS-IAT, sensitivity