

検体測定値の信頼性は測定法の測定性能に依存する（4回シリーズ）

第3回 血清認証標準物質による校正の対象

医学博士 桑 克彦 (JRMI)

血清認証標準物質による校正の対象について解説する。

1. 血清認証標準物質による検量線の校正

臨床化学分析では、計量学的トレーサビリティから日常検査法への精確さの伝達(transferability)には、血清認証標準物質などが用いられる。すなわち日常検査法のキャリブレーターによる検量線の校正を血清認証標準物質で行うことになる。この血清認証標準物質による校正は、測定の精確さにどのように関係するかについて把握しておく必要がある。

血清認証標準物質による校正の内容を図3に示した。血清認証標準物質による校正(calibration)は、当該の測定法でのキャリブレーターを測定した場合の信号値と血清認証標準物質を測定したときの信号値についての対応関係を表したものである。通常は、校正には補正を伴う。

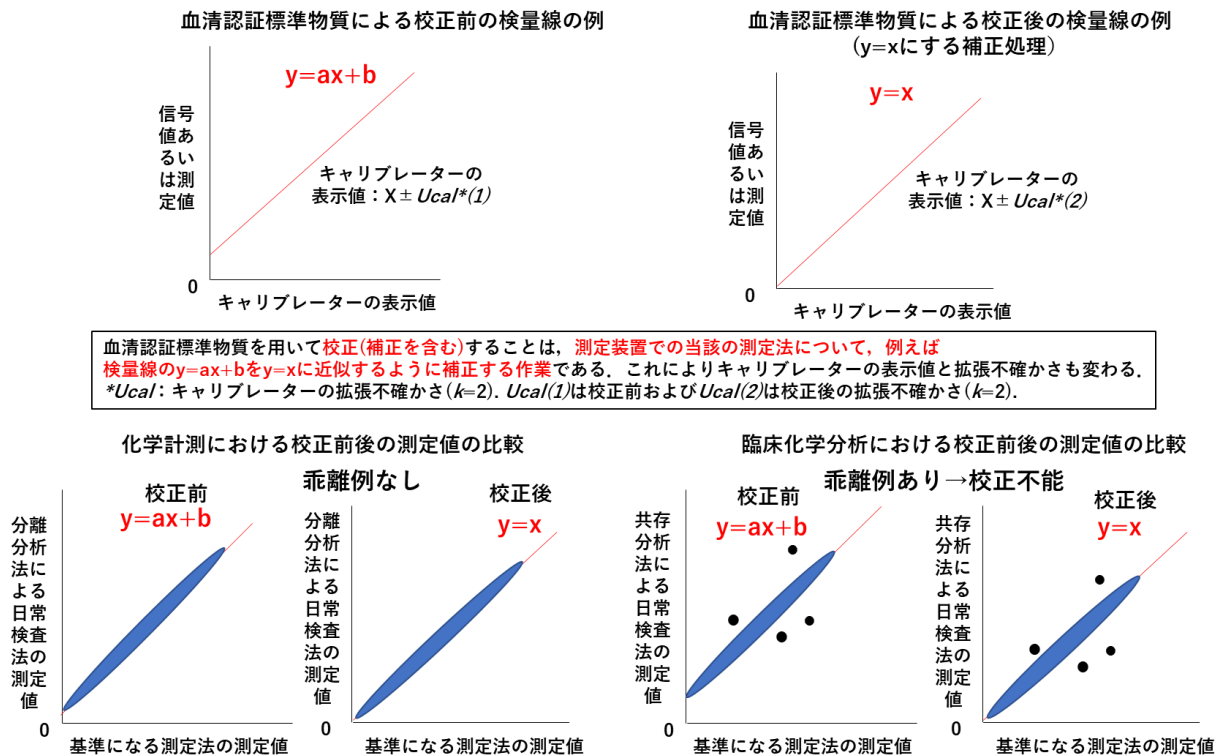


図3 検量線の認証標準物質による校正前後の比較の例

図の上段は、血清認証標準物質による校正前の直線の検量線の例を示したものである。検量線は $y=ax+b$ の関係式とすると、血清認証標準物質による校正後は、検量線を $y=x$ の関係式に近似するように補正したことになる。このとき校正による回帰式の傾き a および y 切片の b の大きさは、キャリブレーターを設定する側で決める。厳密には $a \pm \alpha$ および $b \pm \beta$ の幅を持っていることになる。

この作業により校正の対象になるのは、キャリブレーターの検量線と血清認証標準物質が持っているマトリックスである。前者の検量線は、血清認証標準物質の測定対象量が、反応あるいは測定によって得られる信

号値とキャリブレーターが、反応あるいは測定によって得られる信号値との関係を明らかにすることである。

また、後者のマトリックスは、血清認証標準物質のマトリックスが、反応あるいは測定によって何らかの信号値を有する場合は、検量線の信号値に含まれる。しかし、血清認証標準物質は、通常は正常血清が有する成分がベースなっていることから、血清検体の反応としてのマトリックス補正の効果はほとんどない。したがって、異常成分を含む検体のマトリックスの影響や当該の日常検査法が有する非特異的な反応性は、校正(補正)されないことになる。

一方、サンプリングに伴う物理的特性の差を無くすことできる。すなわち、自動分析装置などでのサンプリング性能が血清検体で影響しないことである。つまり血清が測定検体の場合、校正に伴うサンプリング性能と実際に測定する検体のサンプリング性能を同じにしておくことができる。

図の下段の左側には、化学計測における校正前後の測定値の比較について示した。化学計測では、日常検査で用いるのは分離分析法であることから、X軸の基準測定操作法と同じ結果を得ることができる。すなわち、化学計測における日常検査法は、基準測定操作法とほとんど変わらない精確さを有している。しかし、精確さを有する測定法でも系統誤差が生じるので、これを認証標準物質で校正する。

また、測定試料中に測定に影響する物質が仮に存在していたとしても、分離分析法の前処理段階で試料の精製処理などを行うので、測定に影響する物質は除かれるかあるいは測定誤差内に抑えられるので、測定値には影響を与えない。したがって、乖離する例は測定原理上は生じない。

これに対して図の下段の右側は、臨床化学分析における校正前後の測定値の比較について示した。精確な測定値が得られる基準測定操作法(RMP)、実用基準測定操作法(WMP)や指定比較対照法(DCM)による測定値をX軸にとって日常検査法による測定と比較したものである。患者検体では、日常検査法の反応は、病態や薬剤などで影響を受けることがあるので、乖離した結果が得られることがある。これらの乖離した測定値は、用いている日常検査法の反応特性によるものであることから、血清認証標準物質では校正されないのもそのまま残ることになる。このような日常検査法による検体測定値の評価には、病態や共存成分などの影響を受けないかあるいは受け難い測定法を評価の対照にしてその程度を確認する必要がある。

日常検査法(キット)の検体測定値の評価で、他社の日常検査法(キット)との相関試験が用いられることがあるが、これは単なるキット間の比較であって、当該キットによる検体測定値の信頼性の評価にはならない。

現状での臨床化学検査では、基準測定操作法(RMP)、実用基準測定操作法(WMP)や指定比較対照法(DCM)が設定されている検査項目はわずかである。したがって、日常検査法の性能評価が十分に行われ難い状態にある。そこで、基準になる基準測定操作法(RMP)、実用基準測定操作法(WMP)や指定比較対照法(DCM)などが設定されていない検査項目にあつては、日常検査法(キット)の中から以下の条件で選択した他の日常検査法(キット)を事実上の標準(*de facto standard*)とすることがある。この *de facto standard* の要件は以下の3種がある。

- 1) 現在使用している临床上の判断基準を与えているキット
- 2) キットの開発時に実施した基準測定操作法(RMP)、実用基準測定操作法(WMP)や指定比較対照法(DCM)により評価が行われたキット
- 3) 多くの使用知見から問題になる異常反応や病態および薬物の影響などが判明しているキット

1)は临床上のメリットが優先されるもので、測定性能は別に扱うことになる。2)は初発のキットで取られていることが多いが、それらのデータが公表されれば用いることができる。3)は一番よく使われるケースである。留意点は評価試験に用いた検体の病態や治療薬などの情報が得られることである。

計量学的トレーサビリティでの精確さの伝達は、検量線のみが補正されるので、非特異的な反応性は補正されることは在り得ない。つまりその測定法が検体中の共存物質の影響を受けるとか、非特異的な反応を示

すなどの測定法の固有の反応特性は、血清認証標準物質を用いても校正はできない。その測定法で生じた異常反応が、校正されて正常な反応性になるというようなことはない。

なお、校正に用いた血清認証標準物質を測定する限りは、その測定値は血清認証標準物質の認証値にほぼ一致するので、この点に関してのみ精確さがあると言える。このことから血清認証標準物質による校正は、検量線の補正が主であり、精確さはせいぜい妨害物質がないQC試料の測定値までが限界である。

2. 検査のプロセス

QC試料は、検査プロセスの中で用いられる試料である。この検査プロセスは、図4の臨床化学検査のプロセスとその主な対象で示した検査のプロセスの一つである。すなわち、検査のプロセスは、検査前プロセス、検査プロセスおよび検査後プロセスからなる。このうち検査前プロセスでは、検査装置とキットの選択、キットの性能確認、患者への検査説明、患者からの生理的変動要因と生活習慣や服薬およびサプリメントなどの情報収集(とくに外来患者)、試料採取条件の設定と試料採取、試料の処理などである。また、検査プロセスは、測定の実施、IQC(internal quality control : 内部精度(質)管理)として管理試料による管理と個別検体の測定データと患者情報を用いた個別検体管理である。そしてEQA(external quality assessment : 外部質(精度)評価)としての精度管理調査(survey : サーベイ)やPT(proficiency testing : 技能試験)および近隣施設間比較プログラムなどである。さらに検査後プロセスは、測定結果のレビューや結果の報告等である

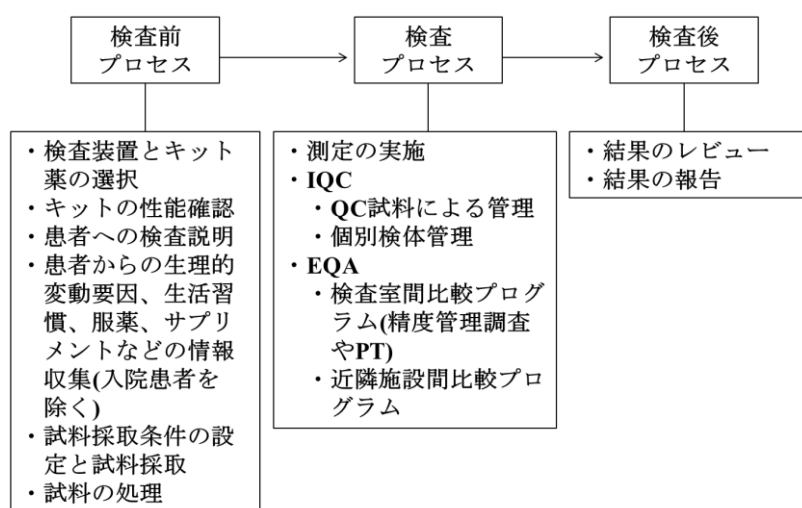


図4 臨床化学検査のプロセスとその主な対象

3. 血清認証標準物質で校正される内容と管理試料

自動分析装置によるキットでの測定を例に、臨床化学分析での血清認証標準物質で校正される内容と管理試料での把握について表4に示した。

認証標準物質は、計量学トレーサビリティでは、精確さの校正のツールとして用いられる。すなわち精確さがある質量分析法(MS)でも系統誤差が生じるので、この系統誤差を校正(補正)するために用いるものである。これに対して臨床化学分析では、主として自動分析装置を用いたキットによる日常検査法で検体測定値を得ている。この日常検査法には、その使用の目的から精密さと迅速さが優先されることから、精確さはある適度犠牲にしている。したがって、血清認証標準物質による校正の主な効果は、日常検査法の検量線の補正のみで、日常検査法それ自体の反応特異性などには何の効果も与えない。

表の上段には血清認証標準物質の特性を示した。すなわち、その性状と濃度は、主に正常人血清に測定対象

量の物質を添加してその濃度を確定したものなどである。このような血清認証標準物質での校正で得られる効果は、表の上段の赤で示した2点に限定される。一つは検量線の校正(補正)であり、一つは測定装置のサンプリング機能である。これら以外については、例えばマトリックスは、正常血清であることから、Hb、BILおよび乳び成分や溶血による影響、アスコルビン酸の影響などは補正されない。これらの妨害物質の影響を回避するためには、キットの方で妨害回避物質などを用いて対応しない限りはその影響は残る。

なお、ISE法でのCl⁻電極で重炭酸イオンの影響を受ける電極にあつては、当該のキャリブレーターおよび電極のドリフト補正用の試料に一定濃度の重炭酸イオンを加えて検体測定での影響を回避している。この場合は、血清認証標準物質自体にも約25 mmol/Lの重炭酸イオンを含有しているため、血清認証標準物質の校正では重炭酸イオンの影響は表れない。

表の下段に検体での治療薬物、病態およびその他の検査前プロセスについての例を示した。これらに対しても当然のことながら血清認証標準物質での校正の対象にはならない。また、表では管理試料での把握についても併せて示した。管理試料では、基本的には校正後の管理試料の表示値について、測定対象量と検量線の関係の把握と維持および測定装置と試薬(キット)の定常状態の維持についてのみが把握できる。それ以外の検体測定に関わる検査前プロセス、検査プロセス、検査後プロセスについては対象にならない。

表4 血清認証標準物質で校正される内容と管理試料：自動分析装置によるキットでの測定

| 血清認証標準物質 | 性状と濃度は、主に正常人血清に測定対象量の物質を添加してその濃度を確定したものあるいは測定対象量の異なるヒト血清で濃度を調製して測定対象量の濃度を確定したもの | | |
|---------------|---|--|-------------------|
| 検体中の成分 | 校正の対象 | 校正の有無 | 管理試料での把握 |
| 測定対象量 | 検量線 | 検量線が直線の場合は、傾きと切片が校正される | 校正後の表示値の再設定で把握できる |
| 物理的性質(粘度や密度等) | 分析装置のサンプリング機能 | 水溶液と血清でサンプリングの容量と再現性が優位な差が生じる場合は、検体のサンプリング機能は校正される | 把握できない |
| 血清成分 | ヘモグロビン(Hb) | 校正されない ただしキット中にHbの影響回避試薬が添加されている場合は、あるHb濃度まで回避可能 | 把握できない |
| | 溶血 | 校正されない 赤血球内成分(K ⁺ やAST等)は補正式を用いることで概算の補正値は算出可能 ただしキット中にHbの影響回避試薬が添加されている場合は、あるHb濃度までは回避可能 | 把握できない |
| | ビリルビン(BIL) | 校正されない ただしキット中にBILの影響回避試薬が添加されている場合は、ある濃度までは回避可能 | 把握できない |
| | 乳び | 校正されない ただしキット中に乳びの影響回避試薬が添加されている場合は、ある乳び濃度までは回避可能 | 把握できない |
| | アスコルビン酸(Vit C) | 校正されない ただしキット中にVit Cの影響回避試薬が添加されている場合は、あるVit C濃度までは回避可能 | 把握できない |
| | 重炭酸イオン | 重炭酸イオンに感応するCl ⁻ 電極では、正常人の含有量(25 mmol/L)は校正されるが、通常は装置測で影響回避策をとっている。 | 把握できない |
| | 治療薬物 | 治療薬およびその代謝物の影響 | 校正されない |
| 病態 | 病態による異常成分の影響 | 校正されない | 把握できない |
| その他検査前プロセス | 生理的変動 | 校正されない | 把握できない |
| | 生活習慣の影響 | 校正されない | 把握できない |
| | サプリメントの影響 | 校正されない | 把握できない |
| | 採血時の体位の影響 | 校正されない | 把握できない |
| | 採血管の選択間違いによる影響 | 校正されない | 把握できない |
| | 採血手技に伴う影響 | 校正されない | 把握できない |
| | 検体放置による影響 | 校正されない | 把握できない |
| | 遠心条件による影響 | 校正されない | 把握できない |
| 検体保存条件による影響 | 校正されない | 把握できない | |
| 測定装置と試薬 | 定常状態(規定の管理状態) | — | 把握できる |

<監修：医学博士 星野 忠夫(JRMI)>