

〈特集: 血液検査の精確さ検証の実際〉

POCT用血球計数装置における精度保証 —精度管理の必要性—

宮崎 誠、谷口 弘志、松山 幸世、杉山 庸子

Quality assurance of hematology analyzer for Point of Care Testing (POCT) — Importance of quality control —

Makoto Miyazaki, Hiroshi Taniguchi, Sachiyo Matsuyama and Yoko Sugiyama

Summary The quality assurance of equipment for POCT (Point of Care Testing) is generally difficult. This is mainly due to its cost efficiency compared to the number of patient samples for the POCT system, Nevertheless, strict QC should be recommended, given that comparable patient results are few.

The basic function of QC is to validate whether the result of a value-known sample accurately reflects the value as known and, should it exceed a specific range, to re-calculate it instantly.

Some hematological parameters such as MCV, MCH, and MCHC have a very narrow clinical dynamic range, and a moving average (MA) of these parameters can be used for QC of an unknown patient sample result. In this paper, a very simplified moving, average QC method is explained.

Because this method requires no additional QC material and expense other than a calibrator, it is highly cost-effective and can be reliably recommended to most POCT clients.

Key words: Quality assurance, POCT (Point of Care Testing), Role of quality control, Moving average quality control

I. POCTにおける精度管理の困難性と必要性

精度保証とは、検査装置が常に正しい検査結果を出していることを保証することである。限りなくそうであろうという傍証を得るために、精度管理 (QC: Quality Control) を行うことは重要である。

一般論としてPOCT (Point of Care Testing: 臨床

現場即時検査) における精度管理の最も困難は点は経済性にある。つまり、検体数と比較して、精度管理用物質や時間、高度の判断を必要とする精度管理は、相対的に高い費用となり、結果的に検査単価を押し上げてしまうことになる。現実問題としてPOCT用血球計数装置も例外ではなく、システマティックに精度管理体制が取られている施設は多くない。

株式会社 堀場製作所 医用システム統括部
〒601-8510 京都市南区吉祥院宮の東町2番地

Medical Electronic Systems, HORIBA, Ltd.
2 Miyanohigashi, Kisshoin, Minami-ku, Kyoto 601-8510, Japan

しかし、精度管理 (QC) は、POCTだからこそ必要な面もある。それは患者容態と比較して不自然な検査結果が出現した時、比較できる他の結果が少なく、また患者容態が悪い時にばかり使うPOCT装置では、「どのような値が出てもし思議ではない」という思い込みが誤った結果を容認するからである。多くのPOCT装置の異常は、患者容態と一致しないときや、偶に訪問したメーカー社員が精度管理物質を測定した時に発見されることが多い。

II. 精度管理の基本的な考え方

精度保証には、同一検体を多数の検査法や検査装置で測定する方法があるが、これは一般には可能なことではなく、多くの場合は、単一の検査装置での精度管理の手法が使われる。

最も基本的な精度管理の考え方は、

- 1) 装置で値が既知の検体を測定して、期待通りの結果を得られたか、を確認し、
- 2) もし期待通りの結果が得られなければ、それを是正することである。

もし既知検体の結果が期待通りであれば、それまで測定された、およびこれから測定する値

が未知の検体にも正しい値を出した（出すであろう）と強く期待できる。

III. 精度管理の理論

精度管理は定期的に持続して行う事が重要である。校正を要する装置において、精度管理は、校正に加え、精度管理物質（コントロール）による定期的な確認作業によって行われる。

1. 校正

血球計数装置には、その時の偶然で生じる誤差（連続再現性誤差）と、部品の劣化や試薬の変化によって長期間にゆっくり起こるドリフトがある。図1は、血球計数装置を長期間校正せずに、非常に安定な理想的な物質を長期間測定した場合の検査値の変化のイメージである。小刻みな上下をする細い線が、偶発的に起こる測定毎の誤差であり、太い線の緩やかな変化が部品の消耗などによる長期のドリフトである。現実の測定では、これらは重なってあらわれ、放置しておくとも臨床で、許容できない誤差を生じることになる。

校正とは、このドリフトを是正することであ

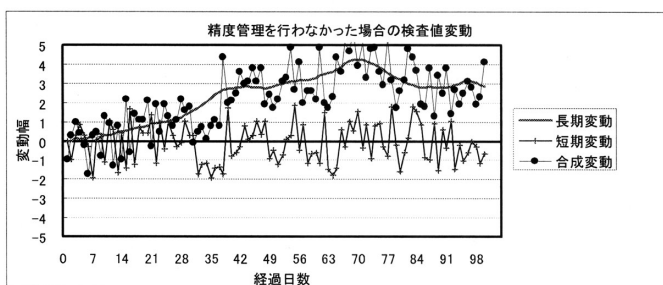


図1 血球計数装置を長期間校正しなかった場合の誤差のイメージ

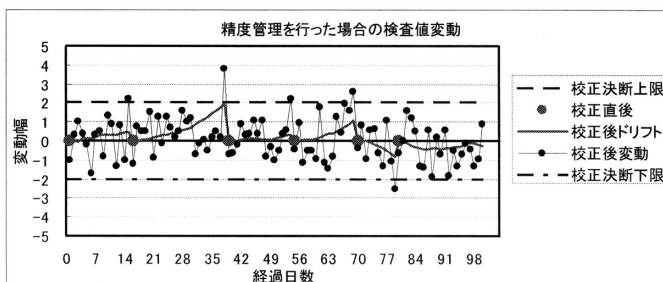


図2 血球計数装置を適宜校正した場合の誤差のイメージ

る。図2は、図1と全く同じドリフト要因の存在下で、既知物質の測定値が ± 2 を超えた時に校正を加えた場合のイメージである。測定値は一定の範囲内に収まっている事が分かる。このように、ドリフトをキャンセルするのが校正である。

多くの血球計数装置においてドリフト周期は数か月であり、校正頻度は1か月に一度程度とされている。加えて、試薬の交換や、希釈の定量性に影響を与える部品や検出感度を定める部品の交換も、測定結果に変動（シフト）を与える要因となる。このような部品交換を含む修理後にも校正を行うことが望ましい。

2. 精度管理物質の測定と評価

精度管理物質の測定は、前回と今回の測定値が精度管理幅（表示範囲）に入っていれば、その間に測定された検体も正しく測定されていただろう、という傍証を得るために行う。

そのタイミングとしては、まずは校正直後が推奨される。校正が正しく行われたかを多重に確認するためである。前回測定からの間を保証

するものであるから、一定数の検体測定毎に精度管理物質を測定することが理想であるが、現実の運用としては困難であり、一定の時刻や、作業の中の都合良いタイミング、例えば始業時や終業時とする場合が多い。その他疑義のある検体結果の後にも測定される。図3に一般的な精度管理のフローチャートを示す。

IV. 精度管理に用いる材料・機能

精度管理に用いる材料はいくつかの種類に分かれる。すなわち、校正（較正）物質（リファレンスマテリアル、あるいはキャリブレーター）、精度管理物質（コントロール）、および、それらの結果を検証するソフトウェアなどである。

1. 校正物質（リファレンスマテリアル、またはキャリブレーター）

装置に原レベル検出センサーがあり、それに校正係数（K）を乗じて最終検査値を得るような装置に用いられる。ユーザーが使用可能な最も高レベルの標準物質が校正物質である。一般

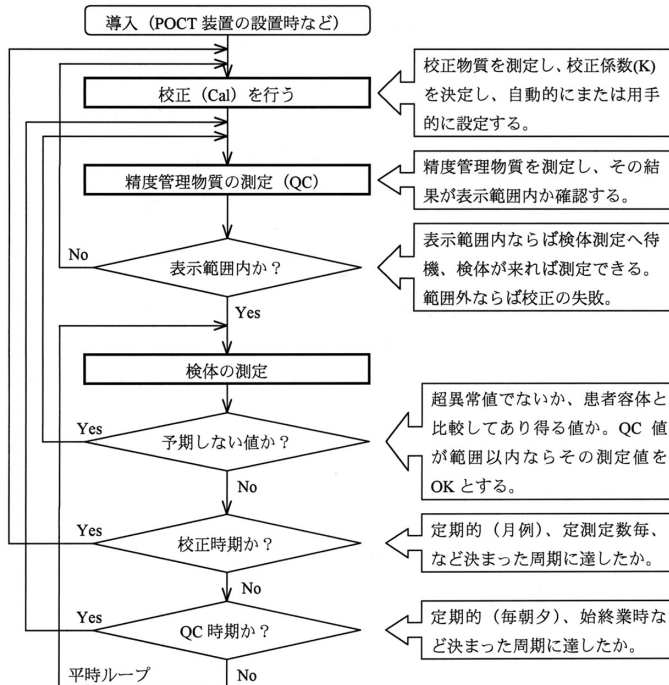


図3 一般的な精度管理のフローチャート

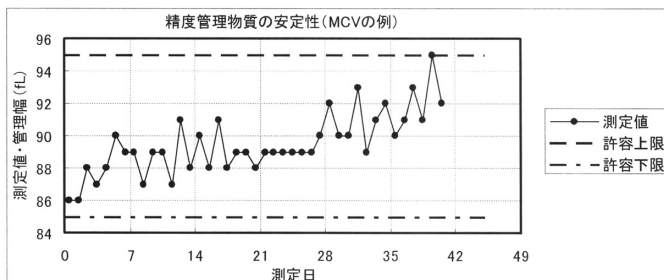


図4 精度管理物質の測定値の変動例 (MCVの例)

に、標的値と極めて狭い管理幅が表示されている。また、使用法や保存法も厳重に指定されており、製造後の保存期間が、精度管理物質よりも短いことが多く、かつ、開封日に使い切ることが推奨される。この測定結果が標的値となるようK値を調整する(校正)のために用いられる。校正物質は標準物質であるので、指定された用法や保存法を厳重に守られなければならない。なお、“打ち返し”と称して校正後に同じ校正物質を再度測定し、値を確認するユーザーも多い。これは校正状態確認のために推奨される。しかし、校正に用いた物質を数日間にわたって精度管理物質の代用とすることは危険である。その理由は、長期の使用によって内容が標的値と異なる濃度になっている可能性があり、「校正の異常が起こったのではないかと誤認するからである。これが開封後の寿命を1日に制限している理由でもある。

2. 精度管理物質 (コントロール)

これは人血と同等の効果を持つ物質で作られた擬似検体であり、同封の添付文書には検査装置から得られるであろう検査値(表示値)が表示されている。この表示値は、許容範囲の上限と下限の幅で示されている。また濃度の異なる複数レベルの製品が用意されていることが多い。この表示範囲は、装置の再現性を示すものではなく、製造時の検定誤差、保存が与える変動、単一装置の持つ再現性、開封後複数回使用することからくる変動など、非常に多要素の不確かさから計算される総合的な期待範囲で示されている。

この物質の使い方は、普通の検体と同様な手順で測定される。その結果が表示範囲内であれ

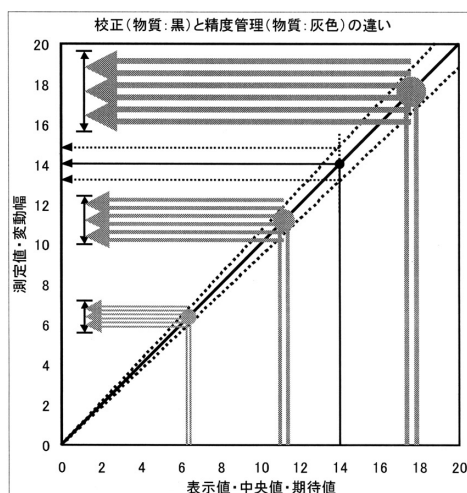


図5 精度管理に用いる材料の表示値と測定値の関係

ば、検体が同精度で正しく測られた傍証となる。使用するタイミングとしては、始業時や終業時、定時間毎、一定検体測定毎、また、患者容態と比較して結果が不一致と考えられる時、等さまでである。

また、精度管理物質の項目の中には、図4のように有効期間中に測定値がゆっくりと変動する例もある。たとえばMCVは、原料となった赤血球の中にわずかに残っている高分子養分が徐々に代謝されて低分子産物が蓄積し、浸透圧調整のために水を取り込むので、徐々に高値化することが多い。また長期間の使用により、装置からの水分の持ち込みや、逆に空気接触による乾燥濃縮により、寿命中に微弱な測定値変化が起こる。従って実際の濃度が、表示された上

下限値の中央に常にあるとは限らない。

多くのメーカーの精度管理物質は、検査で頻繁に見られる測定値に近い表示値を持つ、所謂ノーマル (N) レベルに加えて、各成分を低濃度化させたロー (L) や高濃度化させたハイ (H) というシリーズ製品を持つ場合が多い。これらを用いることにより直線性の異常を検出できる。

校正物質と精度管理物質の違いを図示したものが図5である。校正物質の標的値はピンポイントもしくは非常に狭い管理幅を有し、その測定値の平均値は正確に標的値に合うように校正されなければならない。一方精度管理物質の表示値は、濃度の微弱な変化など多要素の誤差も見込んだ上での上下限値表示となっている。

なお、校正物質や精度管理物質は適応できる測定法や機種が指定されており、指定以外の測定法や機種ではメーカーはその値を保証しない。

3. 精度管理用ソフトウェア

装置内に標的値を記憶させ、校正物質の測定時に自動的にK値を計算し、そのK値を採用する装置は多い。また、装置内に精度管理物質の表

示値を記憶し、精度管理物質を測定した時、その測定値が表示値内にあるかを自動判定するソフトウェアを持する装置も多い。これらのソフトウェアにより、客観性の高いデータを保存できるため、必ず使用しその結果を残すことが、精度管理上も、時として医療過誤説明責任上も、重要である。

また、後述するが、このシステムにより、検体を用いた精度管理が可能な項目もある。

4. 校正時の測定回数と校正精度

自動校正を行う装置では、校正物質の標的値を装置に覚え込ませ、校正物質の測定時に自動的に新しい校正係数Kを求める。しかし校正時の測定回数により校正精度は変化する。図6は、標的値が100の校正物質で多複数回校正した例である。校正時の測定回数が1回で、装置の校正精度としては100付近での同時再現性 (CV%) が1%とする。校正時も測定方法が通常の検体と同じ装置が多いので、毎回の校正でも1%の偶発ばらつきを生じる。その測定結果で校正を行うと、偶然ばらつきの分だけ校正状態もばら

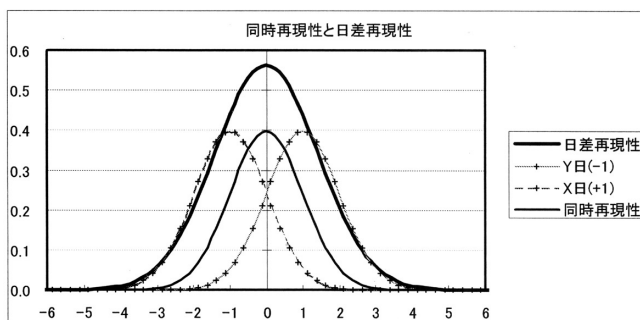


図6 1回測定で校正した場合の長期再現性

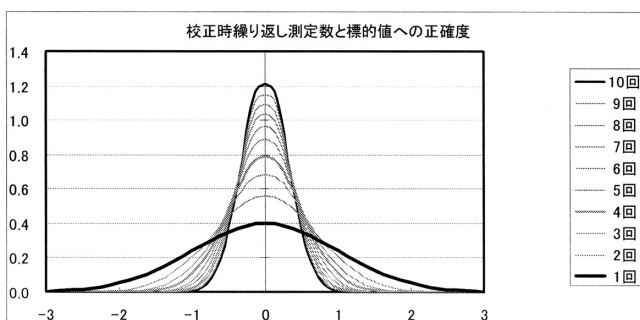


図7 複数回測定時の平均値の精度

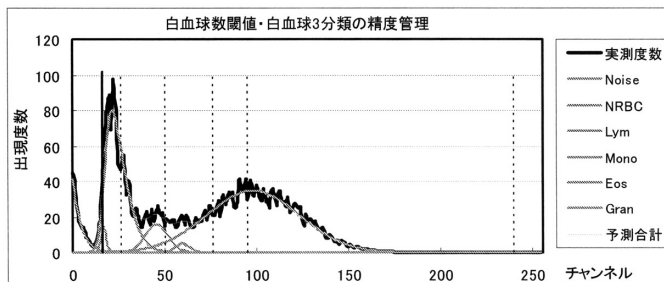


図 8 A センサーゲインが低過ぎる場合の白血球認識

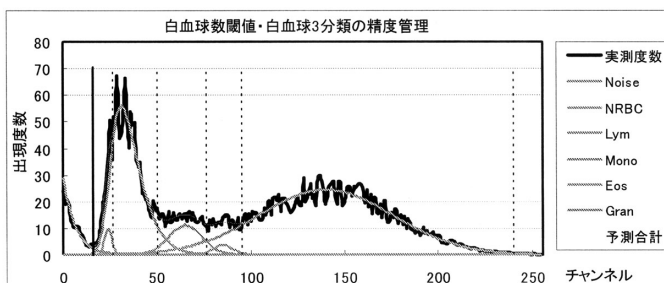


図 8 B センサーゲインが適当な場合の白血球認識

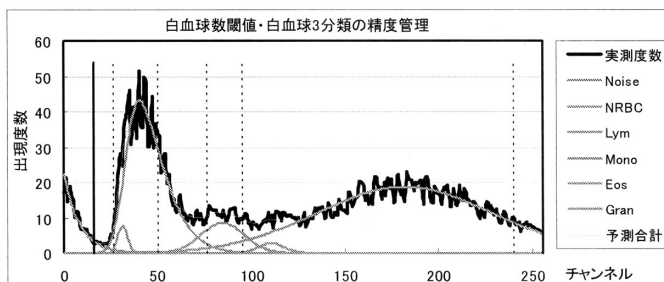


図 8 C センサーゲインが高過ぎる場合の白血球認識

つく。従って、長期間に何回もこの方法で校正を続けた場合の通期の再現性は、理論的には装置の連続再現性の $\sqrt{2}$ 倍(1.414倍)となる。

そこで、もし校正物質を複数回測定して平均値と標的値を一致させる機能を持つならば、図7のように、校正時の測定回数をN回にすることにより校正毎のばらつきを $1/\sqrt{N}$ の減少させることができる。

なお1測定のみで校正係数を計算する装置で校正回数を増やしても、この効果は全くない。

V. 校正前の装置の確認点

血球計数では、精度管理を行う前に必要なこ

とがある。それは各血球種を装置が正しく認識しているか、の確認である。

図8には、一般的なPOCT用血球計数装置の白血球計数、白血球3分類チャンネルのヒストグラムであるが、白血球と認識する閾値(しきいち)線(太い縦線)の位置と白血球の各成分のヒストグラムの分布の違いがある。図8Bでは、この閾値線がノイズとリンパ球の谷にあり白血球が正しく認識できる状態にある。図8Aでは、センサー感度が不足しており、リンパ球の一部が白血球とみなされていない。また、図8Cでは、その逆で、ノイズを白血球に算入している。このような状態で校正や精度管理物質の測定を行っても正しい判断はできない。これ

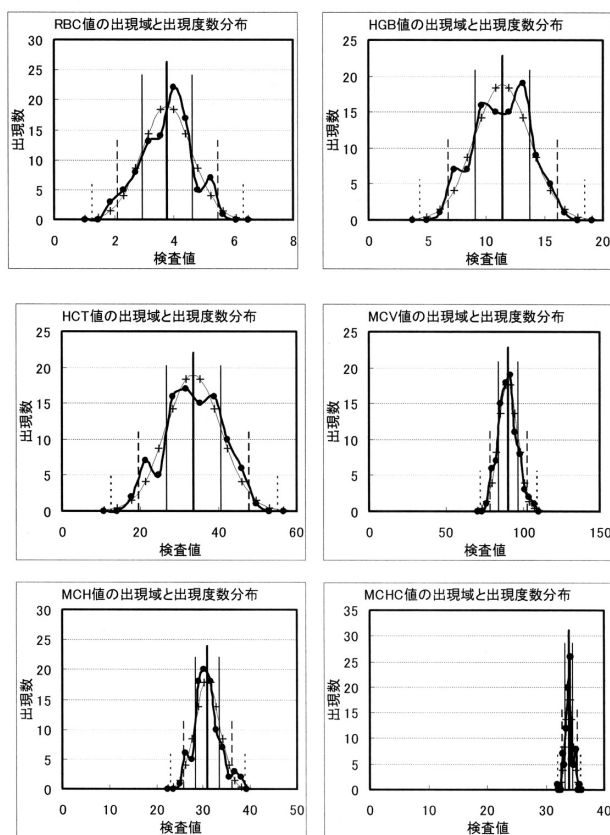


図9 赤血球系8項目の臨床的最頻出現範囲

は患者検体測定にも言えることであり、弁別(閾値)線の位置には常に注意を払っておく必要がある。

なお、この問題は、新鮮人血といずれかのメーカーの精度管理物質の2種類が試料として配布される小地域外部精度管理(コントロールサーベイ)でよく起こる。人血試料では何も問題がないのに、メーカー製試料だけが低値あるいは高値となって不良評価を受ける(あるいは逆)という、問題である。

精度管理物質では、人血を加工する 경우가多く、加工に際してリンパ球が収縮して、普通の閾値では収縮リンパ球を認識できずに低値報告をすることがある。あるいはメーカーが保証しない他法または他機種で測定したために図8のAやCの現象が生じるからである。普通の検体では遜色ない結果を出している施設が、このヒストグラム観察の注意を忘れたために、サーベイ

評価を悪くする例である。

その他、赤血球、血小板でもヒストグラムと閾値との適合性を確かめる必要がある。

VI. 患者検体の検査値を利用した 精度管理の可能性 (血球計数のPOCTにおける経済対策)

POCTでの血球計数は精度管理に経済的負担が重荷になることが多い。そこで、患者検体の検査値の特性を利用した精度管理方法を紹介したい。それは、移動平均精度管理法と称される方法の簡易版である。これにより、校正には校正物質が必要であるが、日頃の精度管理物質の出費が軽減され、しかも全検体を広い意味で精度保証できる。赤血球系検査項目の正常値が非常に狭い項目を用い、それら項目の検査値が実際狭い範囲に分布しているかをモニターする方

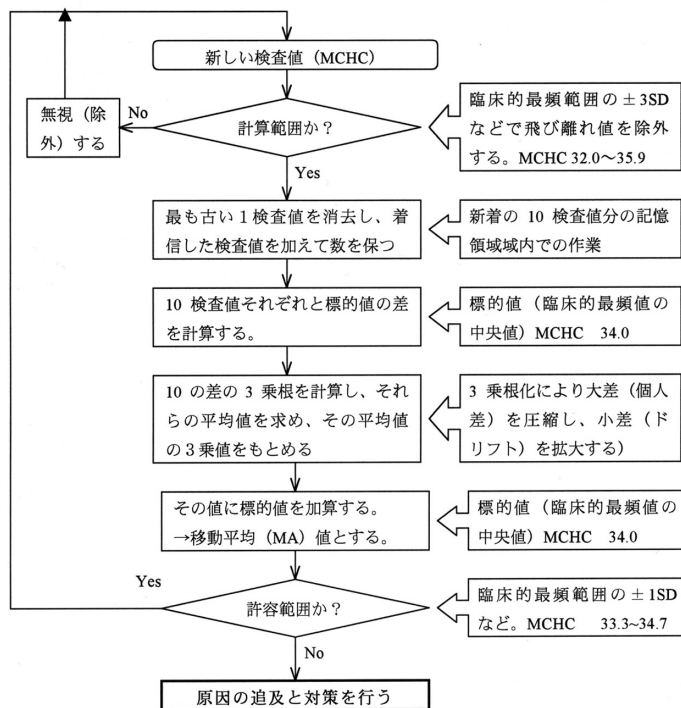


図10 移動平均(MA)値精度管理法のフローチャート

法である。ただし、本法は計算が煩雑であり、専用のコンピューターソフトが必要である。

1. 移動平均 (MA) 精度管理法の適応範囲

まず赤血球系項目について、各施設での平均的な検査値範囲（臨床的最頻出現範囲：Clinical Dynamic Range）を計算する。以下に、ある医療機関の数日間の95検体を測定した実例を示す。図9の各図は赤血球系6項目の検査値分布と統計値を示す。RBC、Hgb、Hctは上下限が3倍程度の比があるのに対して、3 恒数と呼ばれるMCV、MCH、MCHCでは上下限の比が非常に狭い。そこで患者検体における3 恒数の移動平均値の推移をモニターすることで赤血球系測定項目の精度管理を行える。

2. 臨床的最頻出現範囲の計算

臨床的最頻出現範囲の計算には、正常な精度管理状態であることを確かめた状態で測定した自施設の、基本的には全患者の測定値を用いる。それを対象に平均値MVと標準偏差SDを計算す

る。超異常検査値は3SD程度の範囲で極端値を削除して再度MVとSDを計算する。この値は施設個々の患者層の特徴を示すものであり、個々の施設で計算されなければならない。以後MCHCを例とする。当紹介例のMCHCのMV±SDを示すと、 34.0 ± 0.7 となっている。

3. 移動平均 (MA) 法の対象項目と方法

移動平均精度管理法では、対象項目を3 恒数と呼ばれるMCV、MCH、MCHCに絞ることが多い。以下、図10のフローチャートを参照しつつ、計算法を紹介する。

新しい測定がおこなわれた場合、そのデータを計算に採用するかどうかの判断には、自施設の臨床的最頻出現範囲のMV±3SD程度を用いる。

対象とするデータは、最も近着の連続する10（または20）の患者測定値群（バッチ）とし、次測定が行われ次第、最過去の1 測定値を除去して、常にバッチサイズを維持する。バッチサイズが大きいと移動平均値の安定性は増すが、

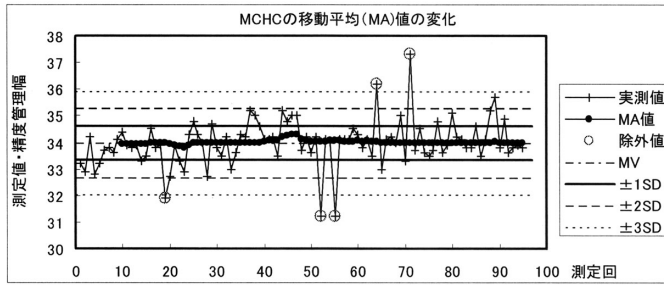


図11 実際の医療機関の1日分のMCHCの移動平均 (MA) 値

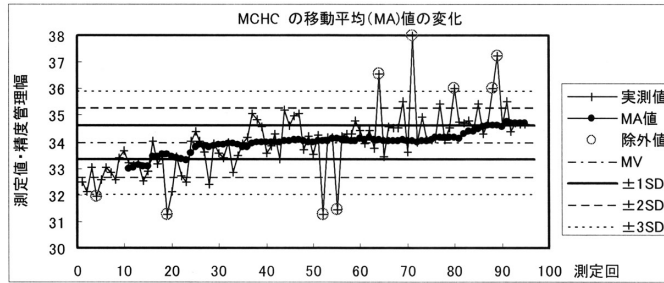


図12 Hgbにはじめ (-0.3g/dL) から終り (+0.3g/dL) に向かってドリフトを与えた時のMCHCの移動平均 (MA) 値

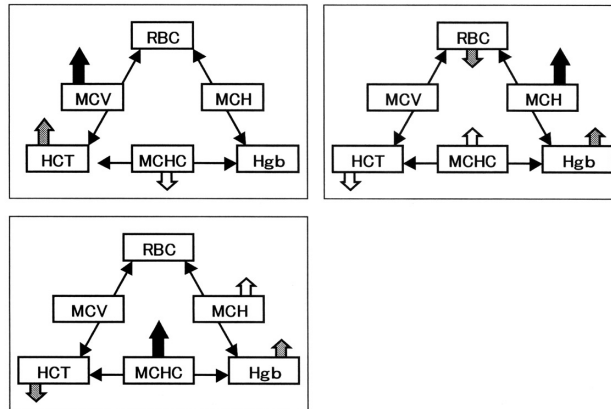


図13 3恒数の移動平均で異常が発見された場合の考えられる原因

異常が起こり始めてから発見までの時間が長くなり、バッチサイズが小さいと異常の検出は早いですが、移動平均値の安定性が悪く、許容変動幅を大きく取らなければならない。以下の例ではバッチサイズを10連続測定値とする。

まず臨床的最頻出現範囲のMVを標的値として、バッチ内測定値との差を求める（正負の極

性が生じる）。この差分10個の各々の三乗根をとる。この操作は大きな差（患者間の個人差である）は圧縮され、小さな（全検体の背景にあるバイアスやドリフト）を拡大することとなり、患者検体が様々な値を示すにもかかわらず、微小な測定値変動を検出できることとなる。

次に10個の三乗根の平均値を計算し、これを

条件修復のために三乗する。これに標的値を加算して、その時点での移動平均（MA）値とする。

この移動平均値がある範囲を超えた場合に異常が生じていると判断する。その範囲の例は臨床的最頻出現範囲のMV±1SD程度とする。

4. 移動平均（MA）精度管理の感度例

図11は正常な状態での移動平均値の変化を示す。その変動幅は臨床的最頻出現範囲のSDの1/2以下と非常に小さい。図12は図11の状態に、Hgbだけ最初に-0.3g/dL、最後に+0.3g/dLというスロープ型ドリフトを故意に加えて、MCHCもそれに沿って再計算した異常事態のシミュレーションである。最初の頃の移動平均値は臨床的最頻出現範囲のMV-1SDを下回っており、最後の時点ではその逆である。つまりMCHCの移動平均精度管理法を臨床的最頻出現範囲のMV±1SDの上下限で運用したとき、Hgbの±0.3g/dLの変動を検出できるということになる。

5. 3 恒数の移動平均精度管理での異常への考え方

図13は3恒数の移動平均値が異常を示した時の原因の考え方の例である。黒い矢印は異常が最初に発見された項目を示し、灰色と白の矢印が原因の元凶、あるいは影響の波及先を示す。

まずMCVが変動した場合は、MCVそのものが一次測定項目であるので、原因は直接MCV測定の問題を考えなければならない。与える影響としては、Hctの変動であり、さらにMCHCにも影響を与える。

MCHが高めに変動した場合は、RBCが低いか、Hgbが高いか、あるいはその両方である。またRBCを通じてMCVも影響を受け、あるいはHgbを通じてMCHCも影響している可能性がある。

MCHCは結果的にHgb/RBC/MCVで計算されるが、3実測項目のすべての異常を鋭敏に反映し、かつ臨床的最頻出現範囲も最も狭いので、移動平均精度管理には最適である。

Ⅶ. まとめ

ここでは、血球計数装置の精度管理について一般論を中心に述べた。つまり精度管理システムの考え方、校正は精度保証の重要な根幹であること、また日常的な精度管理物質の測定が検体測定値からは気がつかない異常を発見すること、などである。また精度管理材料に関する基本的な考え方、つまり校正用試料は標準物質であること、精度管理物質は疑似検体であることなどである。

しかし、POCT用の血球計数装置が使われる環境では、相対的にコストが高いのが現状である。そこで移動平均精度管理法を導入して、費用の節減に繋がる可能性を示した。

赤血球の3恒数つまりMCV、MCH、MCHCは赤血球の質を示す項目であり、その高低は貧血の診断としても血液学的に重要であるが、また精度管理上も重要であることを示した。

単位や桁数を省略すればMCHC=MCH/MCVであることを知っておくことは重要であり、検査項目を理解する上でも数・濃度項目と同様に扱われることが重要である。

最後に、移動平均精度管理法変法は、POCTの環境を補う一精度管理法として、メーカーもユーザーも積極的に取り入れていただきたい。

参考文献

- 1) 巽典之: 自動血球計数装置の基礎知識. 厚生社 (1991)
- 2) 日本臨床検査自動化学会誌: POCTガイドライン, Ver. 1.0, 日本臨床検査自動化学会, 2004