

〈特集: 血液検査の精確さ検証の実際〉

血球計数の測定不確かさ

新改 悦郎、白上 篤、藤本 敬二

Measurement uncertainty of blood cell counting

Etsuro Shinkai, Atsushi Shirakami and Keiji Fujimoto

Summary The standard deviations of the major factors that influence a measured quantity value are combined to result in measurement uncertainty. The measurement uncertainty of a test result in a clinical laboratory is calculated based on both the measurement uncertainty of the calibration of a clinical analyzer and on the standard deviation of the data in the internal quality control for the analyzer. Measurement uncertainty is inseparably related to metrological traceability, and is necessary for the effective international use of measurement results.

There should be a reference measurement procedure accompanied by a clearly documented measurement uncertainty at the end of metrological traceability in blood cell counting. A review team for an international measurement standard in blood cell counting will soon be established at the Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine (JCTLM).

Key words: Measurement uncertainty, Metrological traceability, International measurement standard, Reference measurement procedure, Blood cell counting

I. はじめに

血液学的検査とくに血球計数では、測定対象が物質ではなく、細胞または細胞に準じるもの、即ち物体であることが、標準化を困難なものとしてきた。

2005年の11月に、パリの国際度量衡局 (International Bureau of Weights and Measures, BIPM) で開かれた、臨床検査医学におけるトレーサビリティ合同委員会 (Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine, JCTLM) で、国際血液学標準化委員会 (International Council

for Standardization in Haematology, ICSH) のサイトメトリーパネル (expert panel on cytometry) のメンバーであるシスメックス社のFujimotoが、「Blood Cell Counting Standardization」¹⁾についてプレゼンテーションを行った。このプレゼンテーションで、赤血球数の基準測定操作法 (reference measurement procedure) の詳細と、その測定不確かさ (measurement uncertainty) を示したことが契機となり、血球計数 (blood cell counting) についてもその国際測定標準 (international measurement standard) を検討する機運が高まった。

シスメックス株式会社 学術本部
〒651-2241 兵庫県神戸市西区室谷1丁目3番地の2

Scientific Affairs, Sysmex Corporation,
1-3-2 Murotani, Nishi-ku, Kobe 651-2241, Japan

JCTLMでは、Fujimotoをチームリーダーとして、血球計数の国際測定標準を作成するためのレビューチームが立ち上がりつつある。

II. 測定不確かさの定義

1. 測定不確かさ

国際標準化機構/国際電気標準会議 (International Organization for Standardization / International Electrotechnical Commission, ISO/IEC) Guide 99の第1版「国際計量用語集—基本及び一般概念と関連用語 (International vocabulary of metrology - Basic and general concepts and associated terms, VIM)」によれば、測定不確かさは、「値 (quantity values) のバラツキの特性を示すパラメータ」である。実際に計算をする立場から解り易く表現すると、「計量トレーサビリティの連鎖に沿って、測定値に影響する要素の標準偏差を合成したもの」である。

2. 測定正確さ

この章では、「不確かさ」について解説しているのに対して、他の章では、「精確さ」を扱っている。そこで、対比のために、ISO/IEC Guide 99から、測定正確さ (measurement accuracy) の最新の概念を紹介する。

ISO/IEC Guide 99では、測定正確さを、「測定量 (measurand) の真値 (true quantity value) と測定値との一致の程度」と定義している。測定正確さは数字で表されるものではなく、測定真度 (measurement trueness) や、測定精密さ (measurement precision) と混同してはならないとされている。真値は、「量 (quantity) の定義と一致する値」であり、原理的にも、また実際にも知ることはできない。

III. 測定不確かさとは何か

1. 計量トレーサビリティ

測定不確かさの概念は、計量トレーサビリティを抜きには語れない²⁾。ISO/IEC Guide 99の定義では、計量トレーサビリティは、「測定結果が、ある測定標準や操作測定法まで、校正の連鎖で切れ目なくつながっている、という測定結果の性質」であり、このとき、「一つひとつの

校正が、測定不確かさの要素を構成している」のであるが、簡略に言うと、「測定結果が、校正の連鎖で何らかの測定標準につながる」ということである。

これまで述べてきたように、測定不確かさは、その測定値の根拠となる計量トレーサビリティの最上流の操作測定法からその測定値にまで至る、各段階のバラツキの要素の標準偏差を全て合成したものである。臨床検査の測定値の不確かさも、現場で起こるバラツキの要素だけでなく、キャリブレータの表示値の不確かさを通じて、国際測定標準に至る全ての校正段階の標準偏差が合成されている。

しかしながら、キャリブレータの表示値の不確かさは、単に、様々なバラツキの要素の中のひとつのものとして簡単に扱われてしまっていることが多い。キャリブレータの表示値の不確かさが、国際測定標準からの校正の連鎖に沿って累積されたバラツキであることをしっかりとイメージしなければ、測定不確かさから計量トレーサビリティの概念が抜けてしまい、その意味がよく分からなくなってしまう。

2. 測定不確かさが持つ意味

では、国際測定標準から検査室での検体の測定まで、計量トレーサビリティに沿って累積されたバラツキである測定不確かさとは、何を意味するのであろうか。測定不確かさは、測定結果を国際的に利用する際に必要となる、測定値の確からしさの程度であり、具体的に数値で示されるものである。国際的な利用とは、例えば、A国で臨床検査を受けた人が、B国へ移動して治療を受ける場合に、A国の検査記録がB国においてもそのまま診断に利用できる、ということである。或いは、A国から投稿された医学論文に記されている臨床検査の測定値が、B国で行われた研究結果とそのまま比較できる、ということである。測定不確かさが、測定結果の利用目的に沿って合理的に定められた基準を満たしていれば、その測定結果を国際的に利用することができる。

このことを、例えば、大砲を撃つときのイメージで考えてみると分かりやすい。A国から輸入した大砲に、B国から輸入した弾を入れて、撃つ。大砲の弾を正確に飛ばす、という目的か

ら、大砲の筒の内径と弾の直径との差、即ち弾と筒との隙間の大きさの許容範囲が決まる。この場合、隙間の大きさが許容範囲内にあることを言うには、筒の内径と弾の直径の「測定値」の情報だけでは不十分である。測定値の不確かさが必要となる。これがもし、ある一つの工場で大砲と弾の両方を作り、内径と直径を同じ測定器で測るのであれば、測定不確かさは不要である。測定の再現性が分かっているればそれでよい。臨床検査の測定結果も、院内や地域内で使用するだけであれば、測定不確かさは不要である。再現性が分かっているれば十分である。再現性は、院内では内部精度管理で、地域内では外部精度評価で、それぞれ知ることができる。ここでいう再現性とは、人や場所や時間など、測定条件が変わったときのバラツキの大きさのことであり、計量トレーサビリティとは無関係なものである。

IV. 日常検査値の不確かさの計算

1. 日常検査値の不確かさ

日常検査値の不確かさを計算する^{3),4)}にあたって、計量トレーサビリティの連鎖に沿って、その全ての段階の測定不確かさを合成しなければ

ならない(図1)。

基準測定操作法から検査室の測定装置の校正までの各段階の測定不確かさは、それらが全て合成されて、測定装置の校正の不確かさとして与えられる。サプライヤーによる校正サービスで発行される校正証明書に、校正の不確かさ(拡張不確かさ=標準不確かさを2倍した数値)が記されている。これを2で割って求めた校正の標準不確かさを、計算に使用する。

校正の標準不確かさ

$$= \text{校正の不確かさ (拡張不確かさ)} \div 2$$

測定装置の校正から日常の検体測定までの測定不確かさについては、校正した時点から検体を測定する時点までに介在するあらゆるバラツキの要素が合わさったものとして、測定装置の内部精度管理データの標準偏差を充てることができる。

日常検査値の標準不確かさは、校正の標準不確かさと内部精度管理データの標準偏差の2つを合成して求める。これを2倍して、最終的な日常検査値の不確かさ(拡張不確かさ)として表現する。

$$[\text{日常検査値の標準不確かさ}]^2 = [\text{校正の標準不確かさ}]^2 + [\text{内部精度管理の標準偏差}]^2$$

日常検査値の不確かさ (拡張不確かさ)



図1 日常検査値の不確かさ



写真1 基準測定操作法で使用する血球計数装置

= 日常検査値の標準不確かさ × 2

2. 測定装置の校正の不確かさ

測定装置の校正の不確かさは、基準測定操作法から測定装置の校正までの全ての要素のバラツキを積み上げて計算され、校正サービスを実施するサプライヤーの責任において供給される。校正サービスを利用せず自らキャリブレーションを測定して装置を校正した場合は、キャリブレーションの表示値の不確かさ⁹⁾と、校正した際のキャリブレーションの測定平均値の標準偏差から、測定装置の校正の標準不確かさを求めることができる。

表示値の標準不確かさ

= 表示値の不確かさ (拡張不確かさ) ÷ 2

[校正の標準不確かさ]⁹⁾ = [表示値の標準不確かさ]⁹⁾ + [測定平均値の標準偏差]⁹⁾

この、測定平均値の標準偏差は、平均する前の測定値の標準偏差と、測定値の個数から求める。

測定平均値の標準偏差

= 測定値の標準偏差 ÷ 測定値の個数の平方根

V. 基準測定操作法の測定不確かさ

赤血球数を例にとり、基準測定操作法の測定不確かさについてその概略を述べる。本項で解



写真2 マノメータ定量装置

説する赤血球数の基準測定操作法⁹⁾は、ICSHサイトメトリーパネルがまとめた1994年の論文⁷⁾に基づくものである。本法で測定される赤血球数の測定不確かさは、測定結果に影響する各要因

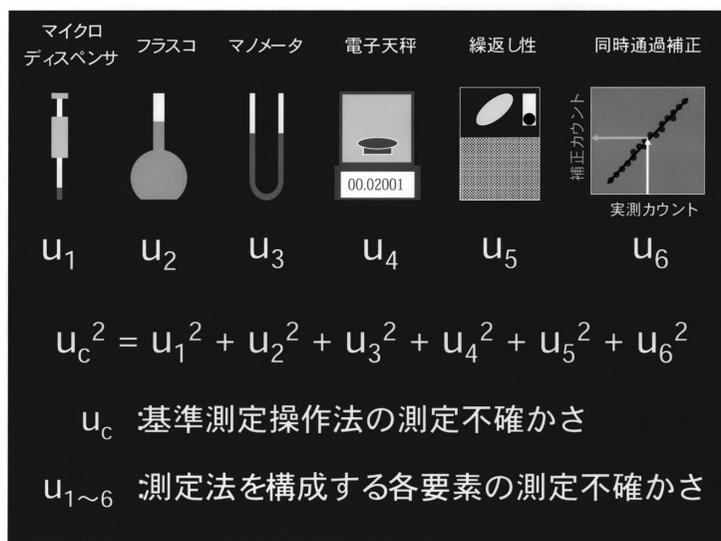


図2 赤血球数の基準測定操作法の測定不確かさ

の測定不確かさを合成して求められる (図2)。

1. 赤血球数の基準測定操作法

マイクロディスペンサとメスフラスコを用いて血液を希釈し、単チャンネル半自動血球計数装置 (写真1) で希釈試料中の赤血球を計数する。血球計数装置の流路は、試料を吸引するための部品であるマノメータを含め全て石英ガラスで作られている (図3)。流路内は水銀と希釈液で満たされていて、流路の一方の端にあるマノメータ内の水銀が移動すると、流路のもう一方の端にある検出器の細孔から、その移動分と同じ量の希釈試料を吸引する。水銀がスタート電極を通過したときに計数が始まり、ストップ電極を通過したときに計数が終わる。この電極間のマノメータ容量が1 mLとなっている。計数値を試料の吸引量で割り、試料の希釈倍率を掛けて、もとの血液の赤血球数を求める。

基準測定操作法の要件の一つとして、測定不確かさが明確になっていることが求められる。赤血球数という量は一定体積あたりの赤血球の個数であるから、その要素は体積と計数値である。体積に関係するのは、マイクロディスペンサとメスフラスコとマノメータである。マイクロディスペンサとメスフラスコの容積の計量トレーサビリティは、それらが量り取る水の重さを通じて、国際単位系 (International System of

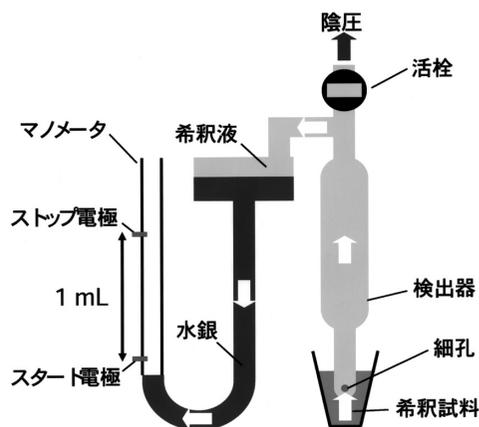


図3 基準測定操作法で使用する血球計数装置の流路

Units, SI) の基本量 (base quantity) である質量の測定標準につながっている。これらの容積の測定不確かさは、日本工業規格 (Japanese Industrial Standard, JIS) や、量り取る水の重さを測定する電子天秤の校正の不確かさなどから求めることができる。

正確に数えられた数は、「量」ではなくSIの域外にあるが、本法の計数値は測定値であり、測定不確かさを伴う。この測定不確かさは計数値

の繰返し性として観測される。また本稿では詳細を略すが、計数値の同時通過補正⁸⁾の不確かさも考慮しなければならない。

2. マノメータ定量装置

マノメータの容積を測定するため、シスメックスでは専用の定量装置(写真2)を作製した。この定量装置の流路も石英ガラスで構成されている。水銀を移動させるための特別なシリンジを流路に組み込み、シリンジを駆動した時に定量装置から排出される水銀の重さを、校正事業者登録制度(Japan Calibration Service System, JCSS)に登録されている事業者の試験所で測定することにより、このシリンジの目盛に当たる数値を校正している。この校正の不確かさは、試験所で測定に使われた天秤の校正の不確かさを通じて国家測定標準につながっている。

VI. まとめ

測定不確かさは、測定値に影響する要素の標準偏差を合成したものである。日常検査値の不確かさは、測定装置の校正の不確かさと、内部精度管理データの標準偏差の、2つから計算できる。

測定不確かさは、計量トレーサビリティと不可分であり、測定結果を国際的に利用する際に必要となる。血球計数の計量トレーサビリティの頂点には、測定不確かさが明確に示された基準測定操作法が在る。

ISO/IEC Guide 99 (VIM第3版)の和訳がまだ発行されていないため、本稿で用いた訳語は、「計測における不確かさの表現のガイド」付録II 国際計量基本用語集(日本語版、VIM第2版)⁹⁾およびJIS 8103を参考に、著者がつけた仮訳であることを付け加える。

文献

- 1) Fujimoto K: Blood Cell Counting Standardization. http://www.bipm.org/cc/JCTLM/Allowed/Nov.05_Meeting/JCTLM05-16.pdf, 2005
- 2) 新改悦郎: トレーサビリティと測定の不確かさ. 医療と検査機器・試薬, 30: 277-285, 2007
- 3) 新改悦郎, 白上 篤, 藤本敬二: 血球計数のトレーサビリティと不確かさ. 日本検査血液学会雑誌, 8: 134-145, 2007
- 4) 白上 篤: 血球数算定の不確かさ推定事例. 日本臨床検査自動化学会誌, 33 Suppl. 1: 63-67, 2008
- 5) Roos C, Shinkai E and Fujimoto K: Measurement Uncertainty of Values Assigned to Sysmex Haematology Calibrator SCS-1000. Sysmex Journal International, 16: 31-37, 2008
- 6) International Council for Standardization in Haematology; Prepared by the Expert Panel on Cytometry: Reference method for the enumeration of erythrocytes and leukocytes. Clin. Lab. Haematol., 16: 131-138, 1994
- 7) 新改悦郎, 白上 篤, 藤本敬二: 赤血球数の基準操作測定法. 検査と技術, 36: 518-522, 2008
- 8) 藤本敬二: 当社の血球計数装置の測定原理の概要. Sysmex Journal, 22: 43-60, 1999
- 9) 今井秀孝訳; 飯塚幸三監修: 国際計量基本用語集. 計測における不確かさの表現のガイド 第1版, 235-265, 日本規格協会, 東京, (1996)