

HbA_{1c} 測定 of 総合的な不確かさの評価の手順と基準

Estimate Procedure and Criteria for Acceptable Performance of Uncertainty of HbA_{1c} Measurement

桑 克彦 (JCCLS 認証委員会 標準物質小委員会委員長)

. Katsuhiko Kuwa (Chairperson, Subcommittee for the Reference Materials of Certification Committee on JCCLS)

注記：真度 (trueness) はかたより (bias) の程度を示す指標であり、いわゆる系統誤差 (系統不確かさ) の尺度となるが、偶然誤差 (偶然不確かさ) の情報をもたない。したがって測定結果の性能についての総合的な指標ではない。このことからここでは総合的な不確かさである拡張不確かさによって表現する。

1. 適用範囲

HbA_{1c} 測定 of 総合的な不確かさの評価の手順と基準は、HbA_{1c} 測定用標準物質 (JCCLS CRM-004a) にトレーサブルな日常検査法に適用する。

2. 評価手順

総合的な不確かさの評価は ISO ガイド 33 の規格¹⁾ に従って以下の手順で行う。

(1) 測定

HbA_{1c} 測定用標準物質の 5 レベルを測定試料として、以下のいずれかのやり方で測定する。可能であれば 2) 項の連日反復測定が望ましい。

なお、測定試料は HbA_{1c} 測定用標準物質の 5 レベルの代用として、HbA_{1c} 測定 of 性能評価用試料 (患者全血試料、ただし、1500G、10 分の遠心後の上清部分を生理食塩水で置換したもの²⁾) の 5 レベル (参考値付) を用いることができる。

1) 単日反復測定：各レベルについて 10 重測定を 1 日間行う

2) 連日反復測定：各レベルについて 1 回 2 重測定を 10 日間行う

(2) 評価データの算出

得られた測定値を用い、外れ値の存在を検討した後、測定値の平均値を求める。

3. 総合的な不確かさの評価基準

各レベルについて、測定値の平均値と HbA_{1c} 測定用標準物質の認証値³⁾ (表 1) との差が評価基準 I (表 2) あるいは評価基準 II (表 3) の範囲内であること。

なお、測定試料として、HbA_{1c} 測定の性能評価用試料の5レベル（参考値付き）を用いた場合は、測定値の平均値と HbA_{1c} 測定の性能評価用試料の参考値との差を用いる。

表1 HbA_{1c} 測定用標準物質 JCCLS CRM-004a(JDS Lot 3)の認証値³⁾

種類	HbA _{1c} (%値)	拡張不確かさ (%値)
レベル 1	4.54	±0.05
レベル 2	5.27	±0.06
レベル 3	6.96	±0.08
レベル 4	9.24	±0.10
レベル 5	11.58	±0.13

表2 HbA_{1c} 測定における総合的な不確かさの評価基準 I

単日反復測定：各レベル、1日1回10重測定

種類	HbA _{1c} (%値)
レベル 1	±0.3
レベル 2	±0.3
レベル 3	±0.4
レベル 4	±0.6
レベル 5	±0.8

表3 HbA_{1c} 測定における総合的な不確かさの評価基準 II

連日反復測定：各レベル、1日2重測定、10日間

種類	HbA _{1c} (%値)
レベル 1	±0.3
レベル 2	±0.2
レベル 3	±0.4
レベル 4	±0.5
レベル 5	±0.7

4. バリデーション

HbA_{1c} 測定用標準物質(JCCLS CRM-004a)にトレーサブルな日常検査法については、その当該メーカーによるバリデーションには、上記の総合的な不確かさの評価試験の結果を含めることとする。

5. 解説

HbA_{1c} 測定 of 総合的な不確かさの評価の手順と基準は、2006 年秋に実施した HbA_{1c} 測定 of 総合的な不確かさの評価試験結果を用いて設定した。

(1) 総合的な不確かさの評価基準設定試験概要

1) 実施手順

HbA_{1c} 測定 of 総合的な不確かさの評価基準設定試験の実施にあたっては、HbA_{1c} 測定用標準物質 (JCCLS CRM-004a) にトレーサブルな日常検査法により、計 31 施設 (ユーザー 22、メーカー 9) において HPLC 法 (3 施設で 14 種)、免疫法 (17 施設で 21 種) および酵素法 (1 施設で 4 種) により以下の条件で測定を行った。

- (i) 測定試料：患者全血試料、ただし、遠心後の上清部分を生理食塩水で置換したもので²⁾、HbA_{1c} 濃度値は HbA_{1c} 測定用標準物質 (JCCLS CRM-004a) の認証値³⁾ に近似した濃度の 5 レベルとしたもの (HCTEF SRC で調製)。
- (ii) 測定は各レベルについて一日 2 重測定を 15 日間行い、各測定グループ (メーカーおよび測定法) 別の平均値、標準偏差をそれぞれ求めた。
- (iii) 参考値は K0500 法 (HECTEF SRC で実施) により一日 2 回測定を 2 日間行って求めた。

2) 統計処理

- (i) 測定値についての統計処理は、施設内の外れ値、次いで測定グループの外れ値について棄却処理を行ったのち、3 段枝分かれ分散分析によった。
- (ii) 総合的な不確かさの評価は ISO の認証標準物質の使い方¹⁾ にしたがって、選択された測定グループについて評価パラメーターを算出した。評価に際しては、一日に繰返し測定した平均値で評価する場合と連日に繰返し測定した平均値で評価する場合に分けて、総合的な不確かさの評価基準幅をそれぞれ求めた。

(2) 結果の概要

測定試料の 5 レベルの測定値について施設内の外れ値、次いで測定グループの外れ値について棄却処理を行ったのち、3 段枝分かれ分散分析により統計処理を行い、実験データから推定された変動成分別 SD と CV をメーカーの測定法間変動、測定グループ間変動、日間変動、日内変動および総合変動 (各変動の分散の 2 乗和の平方根) についてそれぞれ算出した。結果のまとめを表 1 および表 2 にそれぞれ示した。その結果、測定グループ間変動の方がメーカーの測定法間変動より大きかった。また、日間変動の方が日内変動より大きかった。このうち日間変動の寄与率が大きかった。

次いで標準物質の認証値の不確かさ（拡張不確かさ）から標準不確かさを得、単日反復測定および連日反復測定（10日間）での標準不確かさと拡張不確かさをそれぞれ算出した。その結果、単日反復測定での拡張不確かさ（少数点第2位を切り上げ）は、レベル1で±0.3%値、レベル2で±0.3%値、レベル3で±0.4%値、レベル4で±0.6%値、レベル5で±0.8%値となった。また、連日反復測定（10日間）での拡張不確かさ（少数点第2位を切り上げ）は、レベル1で±0.3%値、レベル2で±0.2%値、レベル3で±0.4%値、レベル4で±0.5%値、レベル5で±0.7%値となった。

表1 変動成分別SDとCV値
(HbA1cの単位：%値)

試料	K0500 法	選択 施設 Mean	実験データから推定された変動成分別 SD と CV									
			メーカー間		施設間		日間		日内		総合	
			SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%
S-1	4.72	4.71	0.089	1.9	0.080	1.7	0.085	1.8	0.072	1.5	0.163	3.5
S-2	5.25	5.23	* 0.035	0.7	0.080	1.5	0.078	1.5	0.070	1.3	0.135	2.6
S-3	7.28	7.28	0.098	1.3	0.119	1.6	0.125	1.7	0.082	1.1	0.215	2.9
S-4	9.52	9.57	0.138	1.4	0.157	1.6	0.152	1.6	0.105	1.1	0.279	2.9
S-5	11.12	11.15	0.193	1.7	0.248	2.2	0.189	1.7	0.093	0.8	0.378	3.4

* : > 0.05

表2 拡張不確かさ
(HbA1cの単位：%値)

試料	JCCLS CRM-004a		単日反復測定における真度の評価基準				連日反復測定における真度の評価基準			
	認証値	標準不確かさ	標準不確かさ		拡張不確かさ		標準不確かさ		拡張不確かさ	
			HbA1c%	相対値	HbA1c%	相対値	HbA1c%	相対値	HbA1c%	相対値
S-1	4.54	0.03	0.15	3.2	0.30	6.4	0.12	2.6	0.25	5.2
S-2	5.27	0.03	0.12	2.3	0.24	4.6	0.09	1.8	0.18	3.5
S-3	6.96	0.04	0.20	2.8	0.40	5.6	0.16	2.2	0.32	4.4
S-4	9.24	0.05	0.26	2.8	0.53	5.5	0.21	2.2	0.43	4.5
S-5	11.58	0.07	0.37	3.3	0.75	6.7	0.32	2.9	0.64	5.8

文献

- 1) 認証標準物質の使い方. JIS Q 0033 : 1997 (ISO GUIDE 33 : 1989)
- 2) 宮下徹夫、他. HbA1c 測定における精確さの伝達の仕方と患者試料での互換性確認の方法案. 臨床化学 35(補冊1):7-8, 2006
- 3) HbA1c 測定用実試料標準物質（一次キャリブレーター）JCCLS CRM-004a の認証書、HbA1c 測定用実試料標準物質（一次キャリブレーター）JCCLS CRM-004a の取扱説明書. <http://www.jccls.org/active/standard.html>

(2006年秋に実施したHbA_{1c}測定の実度の評価試験の参加メーカーおよび測定法は、アークレイ株式会社(HPLC法)、協和メデックス株式会社(免疫法)、シスメックス株式会社(HPLC法、免疫法)、株式会社常光(HPLC法)、第一化学薬品株式会社(酵素法)、デイドベーリング株式会社(免疫法)、東ソー株式会社(HPLC法) 富士レビオ株式会社(免疫法)、ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社(免疫法)であった。ご協力いただいた各施設に感謝します。)