

## イオン電極用標準血清の有用性

—Na, K, Cl の正確度と施設間差の改善について—

日本大学板橋病院 臨床検査部

関口光夫

## I. はじめに

ナトリウム (Na), カリウム (K), クロール (Cl) は生体中の主要な電解質成分である。これらのイオンは水分の保持、浸透圧の維持、酸-塩基平衡の調節などの重要な役割をしていることから体液・代謝管理を行う上で不可欠な検査である。血中Na, K, Clの生理的変動はそれぞれ1.2, 0.1, 1.1mmol/l と小さく、測定精密度と正確度が特に要求される検査の一つである。本邦に採用されている測定法の変遷は表1, 2 に示す通りである<sup>1)</sup>。Naの測定法は昭和57年度に67.7%を占めていたのが徐々に減少し、イオン選択電極法 (ISE法) が増加しているのが特徴的であり、昭和63年にはISE法が56.3%と過半数を占めるに至っている。Kの測定法はNaとほぼ同様な傾向を示している。Clについては昭和57年度に電量滴定法が74.1%占めていたものが少しずつ減少し、ISE法が徐々に増加し昭和63年には37.0%を占めている。一方、施設間差は昭和57年度から昭和63年度の7年間において著しい改善・進歩が見られていない。同一管理血清を全国約1000施設で測定した測定値の標準偏差 (SD) は、Naで1.7 ~ 3.3mmol/l, Kで0.07 ~ 0.12mmol/l, Clで1.6 ~ 3.4mmol/l ある。特にNa, Clは施設間差が大きいのが現状である。そこで正確さが明確な標準血清を基準としそのバラツキを小さくする方法が日本臨床化学会血液ガス専門委員会より提案された<sup>2)</sup>。ここではその方法、有用性および実施例について紹介したい。

## II. 正確さ伝達の体系

分析化学における正確さの伝達は図-1 に示すように正確さによって三つに階級付された分析法によって行われるように考えられている。すなわち、基準法 (definitive method) を頂点とし順次正確さを伝えてゆく考え

表1. ナトリウム検査法の推移

年度 (昭和)	57年度	58年度	59年度	60年度	61年度	62年度	63年度
測定法	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
蛍光光度法、内蔵	67.7	67.3	63.6	59.5	52.2	45.6	38.4
蛍光光度法、外蔵	5.7	4.3	3.4	3.2	2.0	2.1	2.1
イオン選択電極法	26.1	28.3	32.8	37.1	43.7	48.2	56.3
その他	0.5	0.1	0.2	0.2	2.1	4.1	2.3
総データ数	855	842	903	1038	1030	1069	1065

日本臨床衛生検査技師会サーベイ

表2. クロール検査法の推移

年度 (昭和)	57年度	58年度	59年度	60年度	61年度	62年度	63年度
測定法	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Schales-Schales	4.5	4.6	4.0	3.4	2.4	1.7	2.3
比色法 (Fe(SCN)) <sub>2</sub>	4.3	4.1	3.0	3.1	2.8	2.7	2.2
電量滴定法	74.1	70.8	71.3	68.2	64.1	57.6	55.0
イオン選択電極法	16.0	19.4	20.0	23.3	27.3	32.0	37.0
その他	1.1	1.1	1.7	2.0	3.4	6.0	3.5
総データ数	817	830	898	1028	1017	1023	1030

日本臨床衛生検査技師会サーベイ

方である。基準法の分析値はSI単位で表現され、真の値 (true value) に最も近い分析値を求めることのできる分析法とされている。その主な役割は実用基準法 (reference method) と第一次標準物質 (primary reference material) の開発および評価である。実用基準法は基準法で評価されており正確さが明確になっているものである。実際の分析を行っている施設でも設備と技術が確保できれば実行可能な方法であり、第二次標準物質 (secondary reference material) や日常一般法 (field method) の開発や評価を行う方法である。日常一般法は別名ルーチン法と呼ばれている方法であり、現場レベルで使用されている方法である。この方法は実用基準法によって評価されており正確さが明確になっていることが必要である。しかし現状では必ずしも明確になっていないルーチン法が多いようである。このことが施設間差を生む一つの原因になっているとされている。一方、日常一

般法が正確かどうかを上位の方法に向かって確認する手順をトレーサビリティと呼んでいる<sup>3, 4)</sup>。以上述べたような「正確さの伝達」、「トレーサビリティ」などの分析化学における基本概念は臨床化学分析の領域においても受入れられている<sup>5)</sup>。

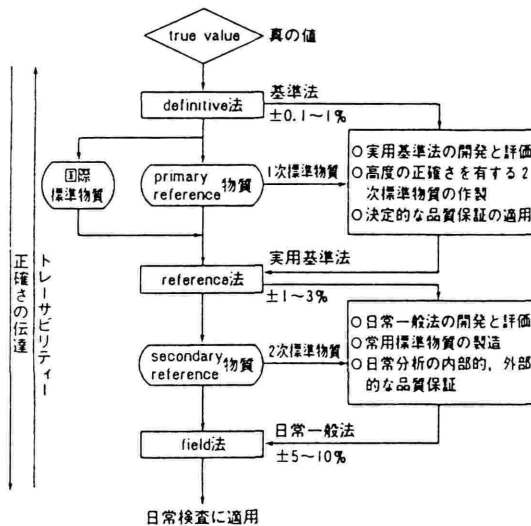


図1 正確さを基盤とした測定体系

### III. 標準血清の必要性和その役割

一般の分析化学で用いられる標準液は第一次標準物質や第二次標準物質を正確に秤量して調製されたもので、その濃度の信頼度は高い。しかしその標準液の溶媒は水などの単純溶媒の場合が多く、臨床化学分析のように試料が複雑なマトリックスをしている場合は適切でないことがある。すなわち、血清などのように多量の蛋白を含みしかも多成分の試料を前処理なしで分析する場合は標準液と試料とのマトリックスマッチングを行わないと正確性の高い分析ができない。

そこでヒト血清などをベースにした試料を調製し、それに基準法か実用基準法で正確な分析値が付けられたものが標準血清である。もちろん、その標準血清は学会により技術的内容が十分検討されたもので、その指針に基づいて公的機関によって検定されたものでなければならない。このような標準血清を認証標準血清 (certified reference material; CRS) ともいう。現在、イオン電極用標準血清には、ヒトプール血清をベースに作製し基準法で分析値が付けられた一次標準血清 (primary reference serum) とウマプール血清をベースに作製し実

用基準法で分析値が付けられた常用標準血清 (working reference serum) の二つがある。

### IV. Na, K, Cl 濃度測定における正確さの伝達

分析化学における正確さ伝達の体系を臨床化学分析に応用するためには標準液と分析試料とのマトリックスが近似していることが望ましい。特にイオン電極用標準血清には粘性などの物理学的性状や妨害イオンなどの化学的性状が患者血清にできるだけ近似した挙動を示すことが要求される。そこで分析化学における正確さの伝達体系の中の第一標準物質と第二標準物質をそれぞれ一次標準血清と常用血清に置き換えて改善した体系が考えられた。図-2 に示すものがNa, K, Cl 濃度測定における正確さの伝達の体系である<sup>6)</sup>。

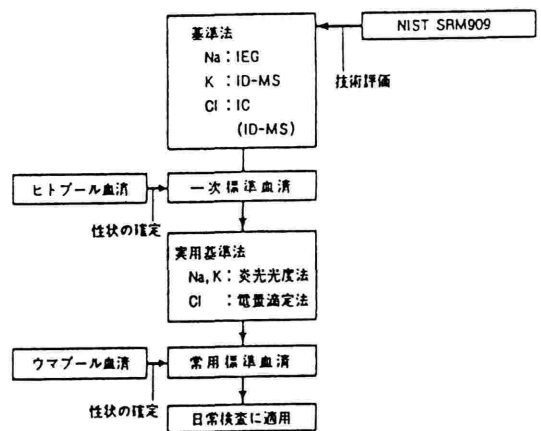


図2 Na, K, Cl 濃度測定における性格さの伝達

### V. 標準血清を用いたサーベイの実施例

#### 1. 実験方法

濃度既知である高・中・低濃度のイオン電極用標準血清を関東近県の30施設に配布し、それぞれの血清を5重測定しその平均値を標準血清の標準値と比較し、その差 (バイアス, B) を求め正確度を評価した。一方、精密度の評価はそれぞれの5重測定の測定値から標準偏差 (s) を求め、さらに学生t検定により測定平均値からの95%信頼限界 ( $ts/\sqrt{n}$ ) を求めた。さらに、不確かさの大きさをCm (uncertainty interval) 値で表した。Cm値は $\pm (ts/\sqrt{n} + B)$ で表される。

#### 2. サーベイ試料と測定機器

サーベイ試料は (財) 化学品検査協会によって製造および検定がなされたイオン電極用一次標準血清を使用し

表3 正確さの評価に用いた標準血清の標準値

		Na	K	Cl
Lot	Na 87 H1	157.7	5.79	120.2
Lot	Na 87 M1	143.3	4.23	104.3
Lot	Na 87 L2	128.7	3.50	87.4

標準血清の測定方法 (mmol/l)

Na: イオン交換分離-重量分析法

K: 同位体希釈質量分析法

Cl: イオンクロマトグラフィー法(電量適定法)

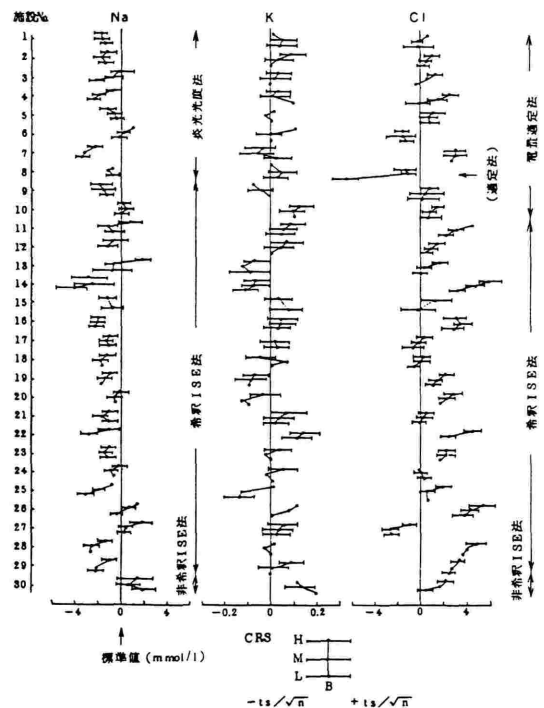
た。この標準血清は高・中・低の3濃度をもつ血清で、もちろん標準値は基準法によって値付けされたものである。その標準血清の標準値を表-3に示した。

測定機器はサーベイ参加施設でルーチンに使用しているものとした。測定法の内訳は、Na, K では炎光光度法が8施設、希釈イオン選択電極法(希釈ISE法)が21施設、非希釈ISE法が1施設であり、Clでは電量滴定法が9施設、用手滴定法が1施設、希釈ISE法が19施設、非希釈ISE法が1施設であった。

### 3. サーベイの実施結果

各施設で測定した高、中、低の3濃度の標準血清の平均値、標準偏差(s)からバイアス(平均値-標準値)と平均値の95%信頼限界( $ts/\sqrt{n}$ )を計算し、各施設の測定値ごとに縦軸に施設No. を横軸にバイアス $\pm ts/\sqrt{n}$ をとり図-3にプロットした。全施設のバイアスの範囲はNaが1.9 ~ -4.5, K が0.20 ~ -0.14, Cl が6.0 ~ -2.7mmol/lであった。但しClについては用手滴定法の極端値を除いて集計した。また、精密さであるバラツキの大きさは $ts/\sqrt{n}$ で表した。Na, K, Clの $ts/\sqrt{n}$ はそれぞれ0.0 ~ 1.8, 0.00 ~ 0.09, 0.0 ~ 1.6mmol/lであった<sup>7)</sup>。

図3 標準血清による正確さの評価結果



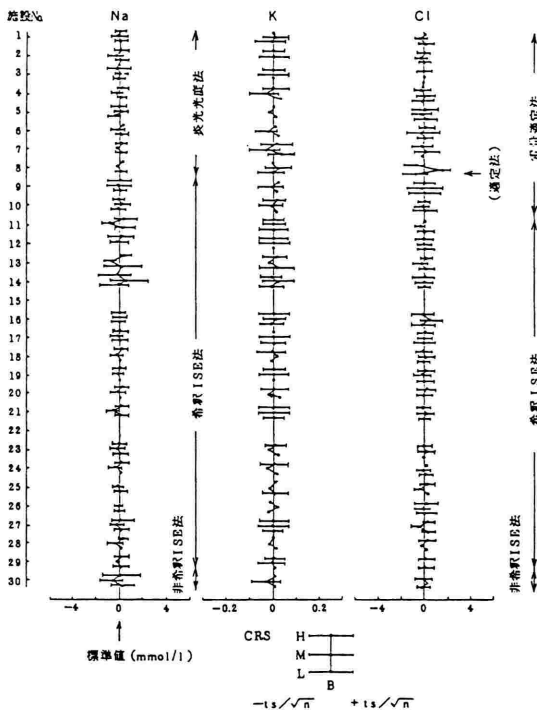
### 4. 補正結果

測定結果では、Kのバイアスおよびバラツキは比較的少なく良好であった。しかしNa, Clのそれらは大きく改善が望まれた。そこで標準血清の標準値を基準に補正を行い施設間差の縮小を試みた。補正式は3濃度の標準値をX軸にとり、各施設の測定値をY軸にとり回帰分析を行い直線回帰式を求める。その直線回帰式のXとYを反転させて導いた式を補正式とした。

各施設の測定値をそれぞれの施設の補正式で計算し、

補正値を求めた。先の補正前のデータと同様にY軸に施設No. をX軸にバイアス $\pm ts/\sqrt{n}$ と、各施設ごとに補正値から求めたバイアスと $ts/\sqrt{n}$ をX軸にプロットし、図-4に示した。各施設のバイアスの範囲は、Naが0.3~-0.9, Kが0.03~-0.05, Clが1.7~-0.9mmol/lであった。さらに補正値による平均値の95%信頼限界すなわち $ts/\sqrt{n}$ はNaが0.0~1.8, Kが0.00~0.09, Clが0.0~1.6mmol/lであった<sup>7)</sup>。バイアスについての補正効果は良好で全体に小さくなり明らかに収束が認められた。 $ts/\sqrt{n}$ は理論的に当然であるが補正されず小さくならない。

図4 標準血清との回帰直線より補正した値の正確さの評価結果



## VI. 考察及びまとめ

施設間差が生ずる原因は様々であろうが、生じた間差の内訳は正確さのズレであるバイアスと精密さを表す $ts/\sqrt{n}$ の二つに大別される。施設間差として生ずるバイアスは主として標準液の系統誤差が考えられる。しかし近年、普及率の高くなったISE法では標準液の系統誤差が認められないのにも係わらずバイアスが生ずることがある。このことはイオン選択電極に特徴的な性質で、単純溶媒の標準液と血清とでは感応態度が異なるからであるとされている。このような性質をもつ測定系では正

確な標準値を有する標準血清でキャリブレーションするか、あるいは単純な標準液でキャリブレーションした後、に標準血清を測定し、その標準値に補正する方法が有用である。しかしながら精密さについては、補正は不可能であるから各施設の測定機器ごとに工夫を凝らした整備を行い精密さを向上させる努力が必要であろう。

## 参考文献

- 1) 日本臨床衛生検査技師学会 昭和57年度~昭和63年度、臨床化学検査研究班事業報告
- 2) ISE標準血清使用のための指針 日本臨床化学学会血液ガス専門委員会 昭和62年11月13日制定
- 3) G. A. Uriano, et al: CRC Critical Reviews in Anal. Chem., Oct., 361, 1977.
- 4) 桑 克彦: 島津科学器械ニュース24 (No. 5): 1, Oct., 1983.
- 5) N. W. Tietz: Clin. Chem., 25 (No. 6), 833, 1979.
- 6) 桑 克彦: 検査と技術, 17, 146, 1989.
- 7) 桑 克彦: イオン電極用常用標準血清、資料 1. 第一化学薬品 (株), 1989.