

## 第17回科学技術委員会技術セミナー

汎用自動分析装置の基礎とその移り替わり  
—もう一度、勉強しよう、毎日使うあの装置を—

(科学技術マニュアル第15集 (2016) より)

日時：平成28年9月22日 (木)

16:00 - 18:00

場所：パシフィコ横浜 会議センター

日本臨床検査自動化学会 科学技術委員会

## 第17回科学技術委員会技術セミナー

日 時：平成28年9月22日（木）16時～18時

場 所：パシフィコ横浜 会議センター

参加定員：150名（学会HPより事前予約してください）

テキスト：学会HPのセミナーテキストを各自プリントしてご持参ください

参加費：大会登録料に含まれます（当日第48回大会の登録手続きをお願いします）

修了証：会員の希望者のみに発行します

テ ー マ：汎用自動分析装置の基礎とその移り替わり

—もう一度、勉強しよう、毎日使うあの装置を—

司会・進行：池田 勝義（熊本大学医学部附属病院 中央検査部）

大久保 滋夫（文京学院大学 保健医療技術学部）

16:00～16:10

導入（司会者から）

16:10～16:35（質疑応答 5分を含む）

1. 自動分析装置の精度管理と保守点検、および検査システムとの関係 …… 1  
山舘 周恒（人間総合科学大学 人間科学部）

16:35～17:00（質疑応答 5分を含む）

2. イオン選択電極を用いた電解質測定の実験と特徴、および異常事例 …… 7  
榎 徹（株式会社エイアンドティー）

17:00～17:10 休憩

17:10～17:45（質疑応答 5分を含む）

3. 汎用型自動分析装置の各機構の原理と特徴 …… 12  
藤本 一満（倉敷芸術科学大学 生命科学部）

17:45～18:00

総合質疑・まとめ

自動分析装置の精度管理と保守点検、および検査システムとの関係

山舘 周恒 (人間総合科学大学 人間科学部)

1. 精度管理について

$\bar{x}$ -R 管理図による精度管理では日内変動のリアルタイムな把握ができないことから、自動分析機の連続した分析には日内誤差と日間誤差の管理ができる  $\bar{x}$ -Rs-R 管理図が適しているとされている。現在、精度管理状況の判断ロジックをシステム化した Westgard のマルチルール<sup>1)</sup>が多く、多くの生化学自動分析装置に組み込まれている。Westgard のマルチルールは日内誤差と日間誤差を区別した管理はできないが、先を予測した判断を行うという利点を備えている。その判断の多機能さから多項目の自動分析機ではアラームの頻発により測定の中断を引き起こすという問題も抱えている。特に、初心者は、この頻発するアラームの解釈や対応に悩むことも少なくないように思われる。ここではその例を取り上げて各施設の実情に応じた工夫について考えてみたい。

さらに、近年は検査の迅速化と 24 時間対応の浸透により、同一検査項目を複数台の分析装置で測定している施設も少なくない。この場合、施設内における装置間差の管理も重要なことから、その対策にも触れる。

1) Westgard のマルチルールの運用上の課題

初心者から投げかけられる疑問として次のような例がある。図 1 のフローチャートの判断において、最初の分岐判断で管理試料 1 個の測定値が  $\pm 2SD$  を外れた場合は、フローチャートの下流で判断することになっているが、そのための次の管理試料の測定値を得るまで検体の測定値は継続可能なのか。あるいは  $\pm 2SD$  以内であっても、その後  $\pm 1SD$  の同一方向に 4 個連続して外れたとき、あるいは 10 個連続して  $\bar{x}$  の+か-の一方にシフトしたときの測定値棄却は、その時点以降で良いのか、再測定が必要か。

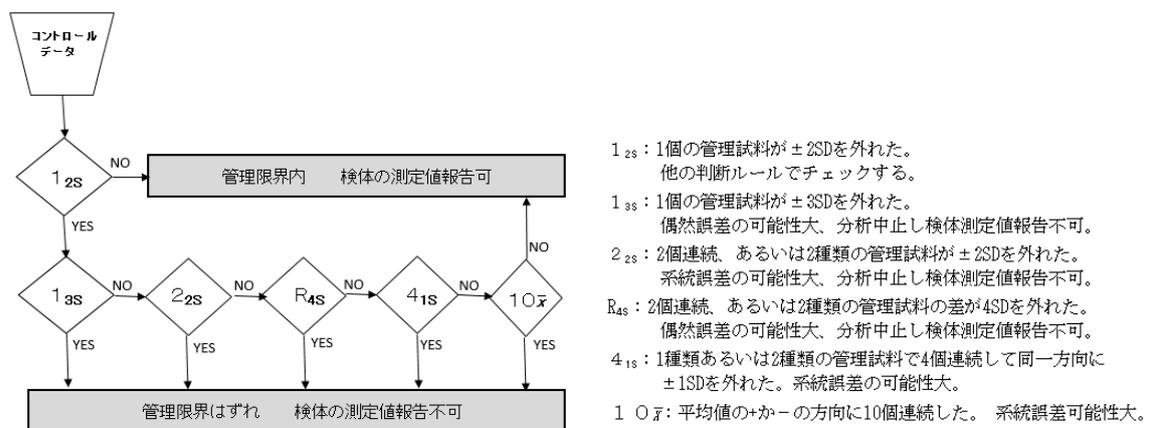


図 1 Westgard マルチルールのロジック

## 2) Westgard マルチルールを実務に即してアレンジしたフローチャートの例

初心者が上記のような戸惑いを生じないように、判断を単純化する目的でフローチャートの整理を行った例が図 2 である。ここでは、アラーム対処を「測定値棄却」つまり測定停止と測定は継続して終了後に保守点検を行う「測定値報告可、予防的 point 検実施」の 2 種類の分岐を明確にしている。

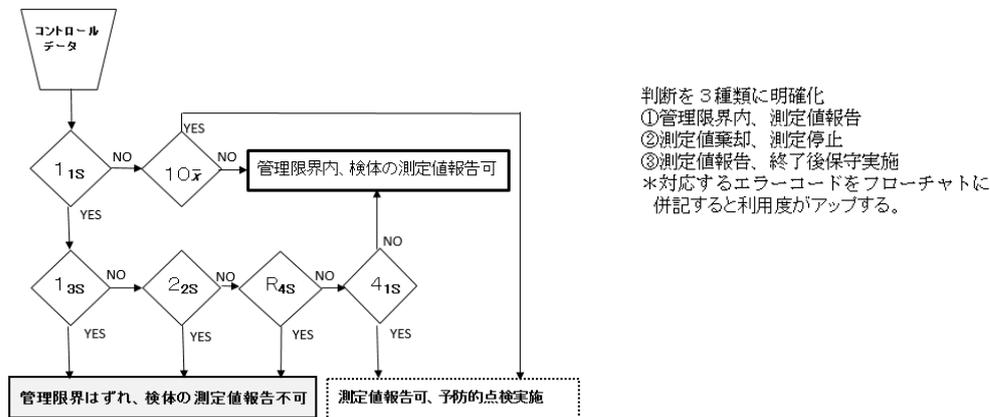


図 2 Westgard マルチルールを実務用にアレンジしたフローチャート例

## 3) 施設内における装置間差について

生化学の自動分析装置に限らず、血算装置なども含めて、同一項目を複数の装置で想定している場合は装置間差も管理しなければならない。例えば、2 台の装置を平行運用しているとき、両機種 of 精度管理において  $\bar{x}$  が同一と仮定した場合でも、管理試料の一方は  $+2SD$  付近で、他方が  $-2SD$  付近であれば、この時点での両者の差  $R$  は明らかに管理限界を超えていることになる。このような状態で同一患者の検体が両装置でアトランダムに測定されると臨床的に無視できない変動と判断される可能性がある。これを避けるためには、同一項目を測定している複数装置の管理値を統合した同一の管理システムに取り込んで処理する必要がある。後述する臨床検査自動化システムの中には複数装置の管理試料の測定値を同一テーブルに取り込んで一つの管理図上に表示することができるシステムもあるが、同一管理図上のプロットを装置別に色分けして新たなチェックロジックを組み込む場合はカスタマイズが必要となる。

## 2. 保守点検について

自動分析装置の安定稼働には保守点検が重要な要因になる。保守は装置の使用者側で行う日々の事項とメーカーに依頼して行う定期点検に大別されるが、ここでは、日々のユーザー側で行う保守点検について考えてみる。

### 1) 保守点検について

#### ① 装置メーカー提供の保守点検表のアレンジ

各装置メーカーからは基本となる保守点検表が提供されるが、これを自施設の状況に応じて補足することによって (表 1)、使いやすさ、作業のしやすさが

高まる。保守点検に関係する装置の操作説明書のページや部品交換の要点を写真にするなどして載せることによってローテーションなどで担当者が交代したときに業務がスムーズに引き継がれ、新人の作業手順書の役割も果たす。

表1 保守点検・部品定期交換の管理表（Labospect 006）を自施設用アレンジした例

※参考情報の記載欄を設けた例

保守点検		作業手順参考資料	日常稼働情報	次回予定日	1	2	3	4
No	項目							
1	反応系の洗浄	操作説明書P00						
2	セルカバーの清掃							
3	給水タンクの清掃	脱イオン装置説明書P00						
4	洗浄層(S1、S2)の清掃							
5	洗浄層(IE)の清掃							
6	洗浄層(R1、R2)の清掃							
7	セルブランクの測定		セルブランク異常(月/日)					

定期交換		操作参考情報	日常稼働情報	次回予定日	1	2	3	4
No	項目							
1	反応セル							
2	ノズル交換							
3	Na電極	写真○○参照、部品保管庫C番より発注(月/日)						
4	K電極							

② 日常の稼働状況を踏まえた保守の重要性

自動分析装置のエラーコードの出現頻度などを参考に、装置状況に応じた保守を行う。例えば、セルブランク異常の出現頻度から反応槽の洗浄や反応セルの点検・交換に重点を置くなど、保守の目的を明確にすることで効果的な保守に繋げられる。上述の精度管理図からも保守の情報を読み取る。

③ 保守後の動作確認

保守後は、翌日の実稼働に支障がないよう必ず動作確認を行う必要がある。

2) メーカーによる定期点検

メーカーによる定期点検においても、日常の稼働情報を的確に伝えることによって点検に反映される。終了後の動作点検の必要性は言うまでもない。

2. リモートサポートシステムの利用

近年はほとんどの自動分析装置メーカーがリモートサポートシステムを運用しており、これに加入することにより日々の装置情報が送信されてデータベース化され、この情報は定期保守の作業に反映される。また、故障時は装置のリモート操作により修理メーカー側で状態の確認も可能であり、迅速な修理対応に有用である。

3. 検査システムについて

現在、ほとんどの病院では電子カルテや医事システムを中心とした病院情報システム（Hospital Information System、HIS）が使われている（図3）。そのHISに部門システムの一つとして臨床検査情報システム（Laboratory Information System、LIS）が接続し、さらにLISに取り込まれた情報を基に業務を分担する検体搬送システム（Sample Transportation System、STS）や各種自動分析装置をオンライン制御する臨床検査自動化システム（Laboratory Automation System、LAS）がある（図4）。

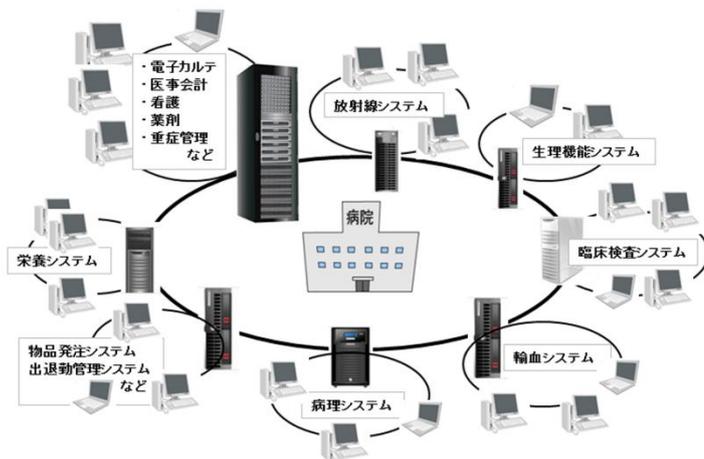


図3 医療情報システムの構成概念

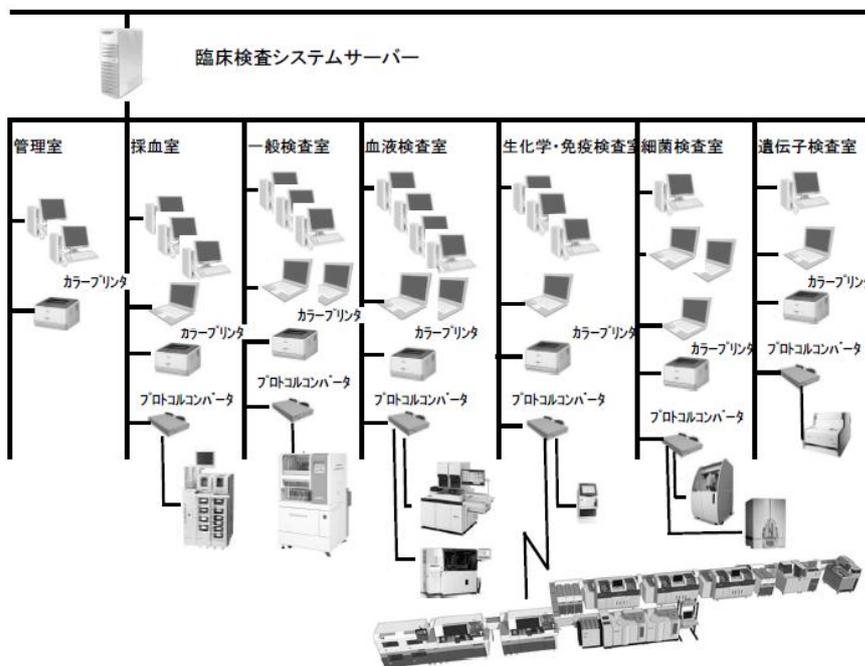


図4 臨床検査システム (LIS&LAS) の構成概念

### 1) LAS と自動分析装置のオンライン

#### ① 伝送インターフェースについて

自動分析装置とコンピュータと接続する手法・仕様がインターフェースであり<sup>2)</sup>、このインターフェースを歴史的に振り返ると、シリアル伝送インターフェースが使われてきた。1970年代後半から1980年代前半はシリアル伝送の一つであるカレントループ方式(電流の大小で伝達する方法)が利用され、その後RS-232C(電圧-25~+25Vで伝達する方法)が使われるようになった。現在もRS-232Cが主に使われているが、近年はUSBやTCP/IPによる接続方式も選べる装置も登場してきている。また、RS-232Cはプロトコルコンバータ(変換器)を利用

することによって USB や TCP/IP と接続することもできる。現実に自動分析装置の RS-232C 信号はシリアルケーブル (図 5) でプロトコルコンバータを介して TCP/IP のネットワークに接続して LAS と交信している。

## ② 通信プロトコル

ネットワーク上でデータ通信を行うための手順や規約をプロトコルと呼ぶ。自動分析装置と LAS との通信は、ASTM 規格のプロトコルが主に使われている。

## ③ 通信パラメータ

RS-232C によるシリアル伝送を行うときは、交信する両装置間で通信速度やプロトコルを合わせる必要がある。自動分析装置とコンピュータとの交信を RS-232C で行う場合も伝送速度 (bps) や通信書式 (図 6) を両者で合わせることになる。その通信パラメータは装置のインターフェース仕様書に記載されている。装置を導入した際にはその装置のインターフェース仕様書を必ず入手して常備すべきである。



図 5 シリアルポートとシリアルケーブル 図 6 シリアルポート(RS-232C)の通信パラメータ設定画面の例

## 2) 臨床検査項目コード

日本臨床検査医学会では、臨床検査項目標準マスター運用協議会と共同で検査項目コードの標準化を目指した作業が行われており、平成 27 年 11 月に「臨床検査項目分類コード (Ver.11)」(以下、JLAC11) が公開された (図 6)、この JLAC11 は、医療機関連携システムにおける共通インターフェースとしての利用を目的にしているが、外部インターフェースで JLAC11 と連結がなされれば、施設内での独自コードの使用をあえて否定するものではないとの考え方が示されている<sup>3)</sup>。各医療施設で利用されている臨床検査システムは、項目コードや材料コードの桁数や組み合わせが異なっているのが現状であり、これらは検体ラベルの編集や出力などシステムの根幹をなすロジックとなっている。このシステムロジックを大きく変更することなく、検査データを外部に出力する場合に変換テーブルを介して JLAC11 コードが付記されたデータにすることで当面の運用も可能と考えられる。

#### 4. まとめ

自動分析装置やそれと接続している LAS には基本的な精度管理機能が備えられているが、施設の状況に応じた運用方法を検討して新人にも理解しやすい判断の流れを図表にまとめて装置に備えるなどの工夫が必要である。これは保守点検表についても同様である。

LAS との接続については、インターフェース仕様書を必ず常備し、通信パラメータの設定画面とそこでの設定条件を操作マニュアルに明記しておくべきである。シングルマルチの自動分析機は LA とのオンラインやバーコード機能を OFF にして検討や実験にも汎用されることを想定して、それらの設定変更を解り易くマニュアルに記載しておくことを推奨する。

(参考文献)

- 1) James O. Westgard, Patricia L. Barry, and Marian R. Hunt. A Multi-Rule Shewhart Chart for Quality Control in Clinical Chemistry. Clin. Chem. 1981 ; 493-501
- 2) 日本臨床検査自動化学会インターフェース委員会、分析器とコンピュータとのインターフェース標準化指針について (第 3 報)、日本臨床検査自動化学会会誌、1983.;8(1):53-55.
- 3) [https://center3.umin.ac.jp/umin-wiki/pw\\_kmuk\\_pub/index.php](https://center3.umin.ac.jp/umin-wiki/pw_kmuk_pub/index.php)

## イオン選択性電極を用いた電解質測定の実理と特徴、および異常事例

株式会社エイアンドティー 榊 徹

### 1. イオン選択性電極を用いた電解質測定の実理

#### 1) 電極 1 本では測定ができない

イオン選択性電極測定システムは一項目測定に 2 本の電極を使用し、その間の電位差を測定する。1 本はイオン選択性電極という目的イオンに特異的に反応する機能性の電極であり、もう 1 本は参照電極（リファレンス電極）という、一定の組成の溶液に対して意図した電位を出し続けることができる電極である。イオン選択性電極は 1 本では測定をすることができない、そのため参照電極が必要になるのだが、何か測定に異常があった際にはどちらが原因であるかを見極める必要がある。幸い、イオン選択性電極は NaKCl の 3 項目が最低限セットで測定され、それらに参照電極が共通であるため、参照電極が異常な際には 3 項目同時に異常が認められるので、これらを切り分けるのは難しくない。

#### 2) 電極の感応膜の組成と特性

このイオン選択性電極は現在カチオンではクラウンエーテル誘導体やバリノマイシン、メチルモネンシンといったニュートラルキャリアの性格を持つ化合物（リガンドという）が感応物質として使用されている。これらを液膜という高分子物質で支持された油状の可塑剤を膜に混ぜて膜にするのが一般的である（液膜と呼ばれる）。感応物質の本質が油であるため、界面活性剤のように水と油を混ぜてしまうような物質には一般的に弱い。高分子支持体からリガンドや可塑剤が溶出してしまうため、濃度や種類にもよるが、トライトン X-100 などでは一瞬で機能性を失う。

一方アニオン、つまり Cl 電極は各社まちまちであるが、一般的にいうなら高分子に 4 級アンモニウム塩を付与した固体膜である。多孔性のポリプロピレンなどにスチレン・ジビニルベンゼンを含浸させ、重合したような一般のアニオン交換膜をベースにした系や、エポキシ系など各社工夫が凝らされている。こちらは性質上、長鎖のアルキルカルボン酸のような逆チャージを有するべったりとした化合物が電極表面に付着することにより失活していく傾向がある。

#### 3) 電極は温度変化にも敏感

また、本質的にはネルンストの式に著されるように、イオン濃度だけではなく、温度にも鋭敏であるため、システム設計の際には 0.1℃単位の温度差に気を遣う。

#### 4) 電極はイオン活量に応じた電位差を出力する

イオン選択性電極システムが検出できるのはイオンの活量であり、その対数値が電位差として出力される。イオン活量は一般に溶液の濃度が高くなると落ちるため、それらを考慮したシステム設計がなされる。つまり、我々が知りたいのは一般には濃度であるのに対し、結果はイオン活量として得られるので、このギャップを埋めるため、同様な組成で濃度既知の基準液で検量線を作成して濃度に変換している。

## 5) 電極法は検体に直接接触するのが他法との差

イオン選択性電極が他の測定方法と根本的に異なるのは、センシング部分が直接検体に接触することである。その結果、日々刻々と電極の表面状態は汚れ、変化していく。定期的に洗浄することによりある程度きれいにすることは可能だが、それでも最初の状態には戻らないと考えてよい。仕事柄、返却された電極を観察することが多いのだが、よくここまで測定できたものだと感心するくらい、元の状態と異なる電極がある。

## 6) メンテナンスと最低毎日1回のキャリブレーションは必須

表面状態が変化していくので、少なくとも毎日キャリブレーションを行って、その日最良の状態からスタートし、時々コントロールでチェックし、最後に使用を終えるその日まで、メンテナンスを継続することが必須となる。当然イオン選択性電極は消耗品である。

一方で参照電極はシステムによっても異なるが、安定した電位を出すことが要求されるため、リファレンス液と呼ばれる液を測定し続けるシステムと同一流路内に留置されるシステムの2種類が存在する。前者は溶液が1つ増えるため、システムは複雑になるが比較的安定した電位が得られ、参照電極も長寿命なものが多い。逆に後者の方は、システムは単純化されるが、イオン選択性電極と同様、検体に直接接触するため、参照電極が汚れやすく、交換頻度は高くなる。

## 2. NaKCl の測定で遭遇した異常事例

以下に NaKCl を日常測定していて出会うであろう異常事例について対処法を含めて概説したい。

### 1) 高齢者の検体で K のみが異常に高いケース

他の検査値から推定して K の異常高値だけが納得いかない、と医師からクレームが来るケースに何回か遭遇したことがある。共通しているのは外来の高齢者で、K 高値以外の検査値はほぼ正常であることに加えて、本人の自覚症状・他覚症状が無い点である。再検では同一の値が出るが、採血が異なるその前後での検査では異常が認められないことも特徴の一つである。このようなケースで追跡調査してみると、採血時に針を何回か刺し直していることがわかった。つまり、老化して硬くなった血管と採血者が格闘している間に組織内液を囚らずもサンプリングしたか、あるいはクレンチングによって K が上昇してしまったケースである。いずれにせよ、このようなケースは患者の負担も考えると、コメントを付け、医師の指示が無ければ再採血は避けたいところである。

### 2) 高脂質検体患者の測定時に間接法で Na のみが異常に低いケース

原因としては血清および血漿中の高濃度脂質成分による排除体積効果が考えられ、偽 Na 低血症と呼ばれる。つまり、患者の電解質そのものの異常ではなく、血清/血漿中に含まれる非水溶性の脂質成分がサンプリング中の液量の一部を構成するため、採取した液量より少ない水分量で測定するという間接法特有の現象である<sup>1)</sup>。

### 3) 処方薬剤で Cl のみが異常高値を示すケース

このようなケースでもっとも疑っておかなくてはいけないのが薬物による Cl 電極への妨害である。通常、電極への薬物妨害については Na, K に影響を及ぼす物はあまり例が無く、もっぱら Cl で認められる。メーカーサイドはこのようなケースの問い合わせについ

て、薬品のリストと処方量を手がかりに構造式・半減期などを調べ、そこから推定される血中濃度を推算するのだが、ハローセン麻酔<sup>2)</sup>を含めてほとんどのケースでは投薬量が微量のため、影響を与えそうな血中濃度に至らないことが多い。

例外的に医師が処方した薬剤の範囲で、明らかに妨害を起こす血中濃度に至るのが（小児）てんかんの対症療法で投与される  $\text{KBr}$  剤である。 $\text{KBr}$  剤は体重あたり  $30\text{-}100\text{ mg/Kg}$  を処方する一方で、薬剤としては半減期が長いため、血中濃度が高く維持される結果となり、それなりの妨害が出てしまう。妨害の出方はイオン選択性電極の選択係数に依存するので、各メーカーによって異なるが、いずれも異常高値となりうる。このような場合、さらに調査が必要なら電量滴定測定、あるいはアニオンクロマト測定などを行う。前者では  $\text{Cl}$  イオンを含むハロゲンイオンの合計の濃度が正確に得られ、後者では  $\text{Br}$  イオンや  $\text{I}$  イオン単独の濃度がピーク面積から得られる。この場合は結果が出るまで時間がかかるため、たとえば、処方で  $\text{KBr}$  の投与が判明した時点で、そのコメントを付けるなり、参考値にして結果を返せばそれでよいと言う考え方もできる。ただし、この場合、注意すべきは先にも述べたとおり、 $\text{Br}$  の半減期が6週間と長いことである。つまりしばらくの間は影響が残ることを考慮しておく必要がある。

#### 4) 薬物中毒のケース

次に考慮すべきは医師が処方していなくても、患者本人が特定の薬剤を大量に摂取しているケースである。特徴としては、通常考えられないような異常な  $\text{Cl}$  高値、特にアニオンギャップがマイナスになるようなケースを調べると、 $\text{Br}$  を含む薬剤が原因であることが多い。分子内に  $\text{Br}$  を含む化合物はその分解も含めて総じて麻酔・鎮痛作用があると考えられる。この代表格がブロムワレニル尿素を含む薬品で、歯科を含めると国内で十数種類の製品が市販されている。分子量も比較的小さいため、投与量に対して分解産生される  $\text{Br}$  としての血中濃度が高くなりやすい<sup>3)</sup>。その後の処置などについては、前述の  $\text{KBr}$  の場合と同じである。

$\text{Br}$  は含まないが、中毒量の摂取があった場合に影響が出る同様のケースとしてサリチル酸がある。通常の治療域での血中濃度は  $0.5\text{ mmol/L}$  程度で、 $\text{Cl}$  電極に対してさしたる影響は及ぼさない範囲と思われるが、中毒領域になるとその10倍以上の濃度になる可能性があり、この場合は  $\text{Cl}$  値が異常高値となりうる。

この他の薬剤に対する  $\text{Cl}$  電極に対する妨害については、メーカーに問い合わせさせていただくことを推奨したい。

#### 5) $\text{K}$ のみの異常高値で、アンモニウムイオンの妨害が認められるケース

先に、 $\text{Na}$ 、 $\text{K}$  では薬物妨害はあまり無いと記したが、薬物妨害ではないがまれに肝不全の患者でアンモニアが異常に高い検体が存在する。

アンモニウム濃度の正常値は  $30\sim 86\text{ }\mu\text{g/dL}$ 、異常高値で  $145\text{ }\mu\text{g/dL}$  との記録がある<sup>4)</sup> これを分子量でモル濃度に変換すると正常値で  $0.02\sim 0.05\text{ mmol/L}$ 、異常高値で  $0.1\text{ mmol/L}$  となる。この場合  $\text{K}$  電極に対しては、 $0.01\sim 0.02\text{ mmol/L}$  位の正誤差に納まり妨害は比較的小さいのだが、これまで体験した例では測定レンジの  $500\text{ }\mu\text{g/dL}$  を超える事例があり<sup>5)</sup>、 $\text{K}$  異常高値になったことがあったので注意していただきたい。

#### 6) 透析検体測定中に異常をおこすケース

透析検体（患者検体）については、ヘパリンの投与が引き金となって、測定系を汚しや

すいという作用機序が解明されてきている。つまり、ヘパリンの投与に対して生体のリポタンパク質リパーゼ (LPL) が活性化し、脂肪を分解して遊離脂肪酸 (FFA) を産生する。FFA は非水溶性で、細胞壁等に速やかに付着・吸収されるというのが成書にある。これが生体内ではこれで終わるのだが、透析患者検体においては、このプロセスが採血管の中で起きてしまうという問題が起きる。LPL は水溶性の酵素であるために一部の透析検体中に採血と共に吸引されると、検体保存中に採血管内で血中 TG を原料として FFA を産生する。産生された FFA は非水溶性のため、水溶液中では不安定で、吸着先を探し求めている。そんな状態の時にこのような検体を測定するとプローブや流路、電極などに FFA が容易に吸着し、測定液が接触する表面を残らず汚していく。

検査室の対応としては、時々コントロールを入れるなどして、透析患者検体測定中は電極の汚れの監視をしていく必要がある。

このように透析検体では、保管の時間の経過と共に汚れやすくなる検体が存在するので、これを防止するためには採血後なるべく速やかに測定する、あるいは冷凍で保管することで LPL の活性を落とし、FFA の産生を防ぐ、といった対応策が必要になる。特に患者検体の測定までに時間のかかる透析センターや検査センターでの測定時には注意が必要である。

#### 7) 蓄尿検体において、Na または Cl が高値を示すケース

蓄尿には防腐剤として塩酸やトルエンなどが用いられるほか、アジ化ナトリウムを始めとする様々なナトリウム塩も用いられる。当然、塩酸を加えれば Cl 値は高値になるし、ナトリウム塩を加えれば Na 値に正誤差を与える。一方で尿中にて陰性電荷をもつ物質の中には共存イオンとして Cl 分析に正誤差を与えるものもある。

蓄尿は病院の方針によって防腐添加物が決まっているのが普通であるため、患者ごとに投与種類が違ったり、毎日変化したりしていく薬剤とは異なる。また、添加目的が腐敗防止なので、あらかじめ加えてあるケースが多く、患者がその防腐剤の上に尿を追加していくことになる。これを考えると当然尿量の少ない検体の方への影響量が大きくなるので、蓄尿の全体量の把握がキーになる。よく問い合わせがあるのがトルエンの影響である。トルエンは水に浮くので通常のサンプリングでこの混入を防ぐのは結構難しい。

#### 8) マトリックスの異なる溶液を測定すると期待値と異なる値が出るケース

例えば、生理食塩水を測定すると、計算値よりも低い Na, Cl の分析結果が得られる。また、計算上 K はマイナスになる場合がありうる。なぜびったり 150 mmol/L が出ないかというと、これはイオン選択性電極用標準液と生理食塩水のイオン組成に違いがあるからである。イオン選択性電極用標準液は血清、尿分析にそれぞれ最適化された NaKCl 組成となっている。簡単に言えば、血清のキャリブレーションでは K が一定量血清中に含まれていることをベースに行うため、K の入っていない生理食塩水では、その不足分が負誤差となり、正確な濃度より低めの値が打ち出される。また、Cl についても種々の共存イオンが標準液に添加されているので、同様のことが起こりうる。

このように、生理食塩水のほか、胃液、透析還流液など、血清とマトリックスが異なるものについては、真値とずれた結果を返すことがあることを知っておいていただきたい。また、これらの現象は直接法において大きく出やすいので、基本的には血ガス装置などで専用のモードを有していない装置でのこれらサンプルの測定はお薦めできない。それでも

測定が必要な場合は、お使いのイオン電極の測定原理を十分に理解した上で間接法での値を参照していただきたい。

なお、透析還流液については現在、クエン酸系と酢酸系の2系統での測定差が血液浄化学会などで取りざたされており、現在日本臨床化学会、日本血液浄化技術学会、日本透析医学会合同での検討が進められている。

1) 極端値パニック対応マニュアル

日本臨床検査自動化学会科学技術委員会 2005; 30 (Suppl.1): 26-45.

2) ハローセンの代謝-2-ハローセン麻酔後における血漿中臭素イオン濃度の変化について

定常雄, 村上誠一

金沢大学十全医学会雑誌 1980; 89: 767-774.

3) 市販鎮痛薬の長期服用により 偽性高クロール血症を認めた1例

多田 遥香 前田 芳香 上西知加子ほか

Tokushima Red Cross Hospital Medical Journal, 2015; 20: 46-49.

4) がん終末期患者における血中アンモニアに関する考察

児玉 佳之, 小西 徹夫, 長岡 康裕ほか

Palliative Care Research, 2015; 10: 168-173.

5) FOLFIRI 導入後に腎機能障害が契機となり高アンモニア血症をきたした再発大腸癌に対して IRIS 療法に変更し得た1例

寺西 宣央, 吉谷 新一郎, 白 京訓

日本大腸肛門病学会雑誌 2015; 68: 534-537.

〈榊 徹〉

## 汎用型自動分析装置の各機構の原理と特徴

藤本一満 (倉敷芸術科学大学 生命科学部 生命医科学科)

### 1. 汎用型自動分析装置による臨床化学分析に要求される知識・技術

①吸光光度分析法におけるランベルト・ベールの法則およびモル吸光係数の理解。②代表的な基質濃度測定原理である過酸化水素/ペルオキシダーゼ法、NAD あるいは NADH / 脱水素酵素法および酵素活性測定原理のレート法の理解。③測光方式として 1 波長・2 波長測光の理解。④分析法として 1 ポイント・2 ポイント分析およびレート分析の理解。⑤血清情報(混濁・溶血・黄色度)の算出法の理解。⑥検査試薬の性能試験(精密性、直線性、検出限界、干渉物質の影響およびクロスコンタミネーション試験等)の理解。⑦異常反応検出法および検出後の対処法の理解。がある。今回、上記の知識・技術から必須と考える吸光光度分析法におけるランベルト・ベールの法則およびモル吸光係数、汎用型自動分析装置の 1 波長・2 波長測光、1 ポイント・2 ポイント分析およびレート分析について説明し、課題を出題する。

### 2. 吸光光度分析法

化学反応によって呈色した試料溶液に、ある特定の光(紫外・可視・赤外線)を入射し、その光が試料溶液を通過する際に吸収される光の量、すなわち吸光度を測定することにより、物質の濃度を定量的に分析する方法を吸光光度分析法と呼び、汎用型自動分析装置ではイオン選択電極法による Na・K・CL 分析以外は全てこの分析法である。

メモ：紫外線(UV)=波長 10~400nm の不可視光線。可視光線=波長 400~800nm。  
赤外線=波長 800nm~1000 μ m の不可視光線。

メモ：汎用型自動分析装置では波長 340~900nm の光を使用している。

### 3. ランベルト・ベール(Lambert-Beer)の法則

①ランベルトの法則：溶液の濃度が一定のとき、吸光度は光路長に比例する。

例えば、光路長 1cm で吸光度 1 の溶液は、光路長 2cm では吸光度が 2 となる。

②ベールの法則：光路長が一定のとき、吸光度は溶液の濃度に比例する。

例えば、光路長 1cm で溶液濃度が 1mol/L の吸光度が 1 のとき、溶液濃度を 2mol/L にすると吸光度は 2 となる。

③ランベルト・ベールの法則：吸光度は溶液の濃度(Cmol/L)と光路長(L cm)の積に比例する。式で表すと、吸光度=モル吸光係数( $\epsilon$ ) $\times$ (Cmol/L) $\times$ (L cm)となる。

メモ：モル吸光係数 ( $\epsilon$ )は分子吸光係数と同意で、光路長 1 cm、濃度 1 mol/L 溶液の吸光度を意味する。単位は、 $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ である。

メモ：吸光度と透過率の関係は、吸光度= $2 - \log$  透過率と表すことができる。吸光度 1 の透過率は 10%、吸光度 2 では 1%となり、吸光度が大きくなると透過率は指数関数的に小さくなる。吸光光度分析法は透過率から計算で吸光度を算出し

ている為、透過率が 10%以上となる吸光度 1 以下での分析条件(試料と試薬の比などを考慮)で測定されることが多い。

課題：ランベルト・ベール(Lambert-Beer)の法則関連問題

問題 1) モル吸光係数  $6,300 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ 、溶液の濃度  $0.05 \text{ mmol/L}$ 、セル長  $1 \text{ cm}$  の場合、この溶液の吸光度はいくらか。

問題 2) 100 倍希釈した溶液の吸光度を測定したところ  $0.500$  であった。モル吸光係数  $6,300 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ 、セル長  $1 \text{ cm}$  の場合、溶液の元の濃度はいくらか (mmol/L)。

問題 3) グルコース  $180 \text{ mg/dL}$  溶液を試料として  $50 \mu \text{ L}$ 、試薬を  $3 \text{ mL}$  で反応させたところ吸光度は  $1.033$  であった。モル吸光係数はいくらか。セル長は  $1 \text{ cm}$  とする。

#### 4. 汎用型自動分析装置の波長選択

汎用型自動分析装置は多波長光度計方式が採用しており、通常、任意の 1 波長あるいは 2 波長が選択できる。反応セルを通過した光のうち、一般的に極大吸収波長を主波長とし、それよりも長波長側で吸光度が小さくなる波長を副波長とする(図 1)。

①1 波長測光：主波長吸光度のみによる測定。

②2 波長測光：主波長吸光度から副波長吸光度を引いた吸光度による測定(図 1)。

メモ：2 波長測光の利点は、光量補正効果と試料の濁りやセルの汚れによる影響の軽減効果である。主波長は副波長より濁りの影響が大きい(図 2)、2 波長測光で副波長の吸光度を引いても濁りの影響は残り、測定値に正誤差を与える。

メモ：光量補正効果とは、最初の水による透過率 100%(吸光度 0)が一定時間経過後に光量が増減しズレを生じた場合に、1 波長測光では光量の増減の影響を受け吸光度に誤差を生じるが、2 波長測光では主波長と副波長の透過率が同時にズレを生じるため、2 波長間の吸光度差に誤差を生じない。

メモ：血清の主な有色物質の吸収帯は  $600 \text{ nm}$  より短波長側に存在するため(図 2)、副波長は主波長より長波長側の濁りの吸収帯のみが存在するところで設定する。

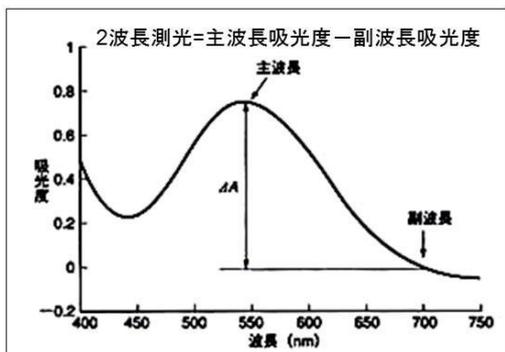


図1 主波長と副波長の設定<sup>1)</sup>

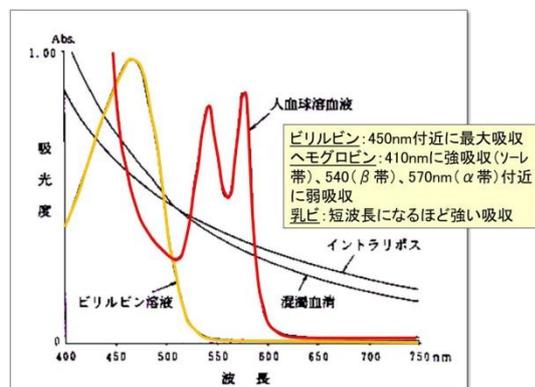


図2 血清有色物質の吸収曲線<sup>1)</sup>

## 5. 汎用型自動分析装置の分析方法

多項目・多検体を同時に精度良く効率的に分析するために、汎用型自動分析装置の多くがディスクリット方式(用手法の流れをそのまま自動化して分析することを基本とし、反応セルの水ブランク測定→セルの水吸引→セルに試料、第1試薬分注→攪拌→セルに第2試薬分注→攪拌→吸光度測定→セルの洗浄と進行し、反応セルは再び測定に利用される)を採用している(図3)。反応セルがセットされた回転板が回転する毎に光軸を横切り、反応時間の最初から終わり(通常、10分)までの吸光度(多波長)を記憶している。これを全反応過程測光方式と呼び、用手法で困難であった2波長測光、2ポイント法やレート法が容易にできる。

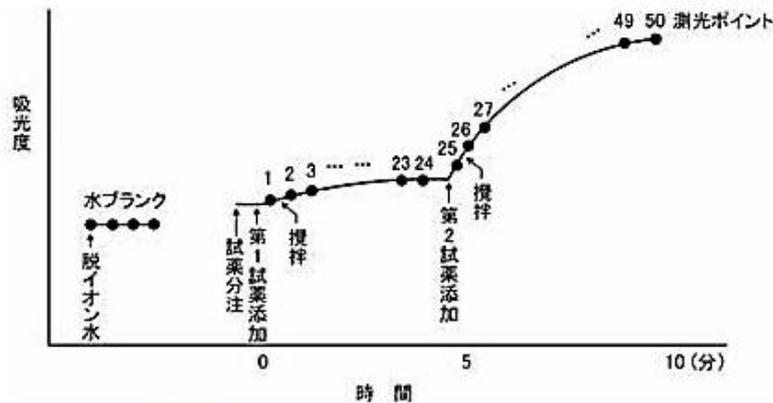


図3 全反応過程測光方式によるタイムコース<sup>2)</sup>

### 1) 終点分析法 (基質の濃度を求める分析法)

目的成分(基質)と試薬を反応させ、基質が生成物に変化した際の吸光度変化量を測定し、標準液の吸光度変化量と比較して基質濃度を定量する方法。

#### ①1ポイント法

試料と試薬を混合し反応が終了した時点の吸光度を、1波長あるいは2波長測光で測定し基質濃度を定量する方法。試薬盲検(試薬ブランク)の吸光度を各吸光度から引き算するので、試薬の色および試薬だけの反応の補正は可能、検体の色(検体ブランク)の補正は不可である。

#### ～1ポイント法の計算法～

吸光度=ABS、低濃度標準液=STL、高濃度標準液=STH、濃度=Conc とする。

\* 検量線ファクター\*

$$\text{ファクター(F)} = \frac{\text{STHのConc} - \text{STLのConc}}{\text{STHのABS} - \text{STLのABS}}$$

\* 未知試料濃度計算\*

$$\text{未知試料濃度} = (\text{未知試料のABS} - \text{STLのABS}) \times \text{F} + \text{STLの濃度}$$

～1ポイント法課題～

問題4) 検体A、Bの1ポイント法で濃度を1波長、2波長測光で求めよ。

	低濃度標準液 (0mg/dL)	高濃度標準液 (300mg/dL)	検体A	検体B
吸光度(主/副)	(0.155/0.055)	(0.455/0.055)	(0.255/0.055)	(0.355/0.155)

②2ポイント法

試料と第1試薬を混合し第2試薬が混合される前に測光し1回目の吸光度とし、次いで第2試薬を混合し反応が終了した時点を測光し2回目の吸光度とする。2回目の吸光度から1回目の吸光度の差を演算吸光度として基質濃度を定量する方法。1回目の吸光度は検体の色(検体ブランク)の吸光度、2回目の吸光度は基質が反応した吸光度に検体ブランクが加わった吸光度であり、2回目の吸光度から1回目の吸光度を引くことで検体ブランクの補正ができる。

\* 液量補正係数 \*

試料量をSV、第1試薬量をR1、第2試薬量をR2とした場合、1回目の試料の希釈率はSV/(SV+R1)、2回目の希釈率はSV/(SV+R1+R2)となり1回目の検体の色の方が濃くなる。1回目の吸光度に液量補正係数の(SV+R1)/(SV+R1+R2)を乗じることで2回目の検体の色と同じになる。

～2ポイント法の計算法～

吸光度=ABS、低濃度標準液=STL、高濃度標準液=STH、濃度=Conc、  
液量補正係数=vc、1回目、2回目の吸光度=①、②、未知試料=未知とする。

\* 検量線ファクター \*

$$\text{ファクター(F)} = \frac{\text{STHのConc} - \text{STLのConc}}{(\text{STH}② - \text{STH}① \times \text{vc}) - (\text{STL}② - \text{STL}① \times \text{vc})}$$

\* 未知試料濃度計算 \*

$$\text{未知試料濃度} = \frac{[(\text{未知}② - \text{未知}① \times \text{vc}) - (\text{STL}② - \text{STL}① \times \text{vc})] \times \text{F} + \text{STLの濃度}}{1}$$

～2ポイント法課題～

問題5) 以下のパラメーターの2ポイント法における液量補正係数を求め、さらに検体A、Bの2ポイント法による濃度を求めよ。

◎パラメーター 試料量：4μL、試薬1：320μL、試薬2：80μL

◎2ポイント分析法 1回目の測光は①、2回目の測光は②の吸光度を用いる。

	低濃度標準液 (0mg/dL)	高濃度標準液 (300mg/dL)	検体A	検体B
吸光度①	0.050	0.050	0.050	0.150
吸光度②	0.155	0.455	0.255	0.355

## 2) レート法 (酵素活性を求める分析法)

目的成分(酵素)と試薬を反応させ、その反応の進行中の速度いわゆる単位時間あたりの吸光度変化量から酵素活性を測定する方法。初速度分析法とも言われる。

### ①単位

酵素活性の単位は 37°C の国際単位(U/L)で表示される。1U/L とは、試料 1L 中に 1 分間に  $1\mu\text{mol}$  の基質量を変化させることができる酵素量と定義される。

### ②計算法

酵素活性値を求めるには、指示物質(NADH など)のモル吸光係数を用いる方法と酵素標準物質を標準液として用いる方法がある。現在は後者による方法が主流をなす。

#### ～モル吸光係数を用いる計算法～

モル吸光係数を  $\epsilon$ 、試料の 1 分間の吸光度変化量を ABS/分、試料量=SV、反応総量=TV、光路長=L とする。

モル吸光係数  $\epsilon$  を指示物質が 1 分間に  $1\text{mol/L}=10^6\mu\text{mol/L}$  変化したと考え、試料の 1 分間の吸光度変化量を  $\mu\text{mol/L}$  に変換すと、 $x=(\text{ABS/分} \times 10^6) / (\epsilon \times L)$   
試料の希釈補正を考慮すると  $x\mu\text{mol/L}$  は、 $x=(\text{ABS/分} \times \text{TV} \times 10^6) / (\epsilon \times \text{SV} \times L)$   
 $x$  は  $\mu\text{mol/L}$  であり U/L に置き換えることができる。

$x\mu\text{mol/L} = \text{U/L} = (\text{ABS/分} \times \text{TV} \times 10^6) / (\epsilon \times \text{SV} \times L)$  が計算式となる。

#### ～モル吸光係数を用いる計算法の課題～

問題 6) AST 活性測定において、第 2 試薬添加後の 1 分から 5 分の各吸光度は、試薬ブランクが 1.000、1.005、1.010、1.015、1.020、試料 A が 1.100、1.000、0.900、0.800、0.700、試料 B が 1.200、0.800、0.400、0.200、0.150 であった。検体 A、B の AST 活性を求めよ。試料量  $8\mu\text{L}$ 、第 1 試薬  $200\mu\text{L}$ 、第 2 試薬  $80\mu\text{L}$ 、モル吸光係数は 6300、セル長は 1cm とする。

#### ～酵素標準物質を標準液とする計算法～

試薬ブランクおよび試料の 1 分間の吸光度変化量を演算吸光度とし、標準液の吸光度変化量を基準にして試料の酵素活性を求める。1 ポイント法の計算に準じる。

#### ～酵素標準物質を標準液とする計算法の課題～

問題 7) AST 活性測定において、各試料の第 2 試薬添加後の 1 分から 3 分の吸光度変化量は試薬ブランクが 0.010、100 U/L 標準液が 0.030、検体 A が 0.100 であった。試料 A の AST 活性を求めよ。

## 参考文献

- 1) 藤本一満：基質濃度および酵素活性値計算の演習。医療と検査機器・試薬 32(6)：785～792，2009
- 2) 藤本一満：化学検査学。医療と検査機器・試薬 31(1)：73-86，2008