

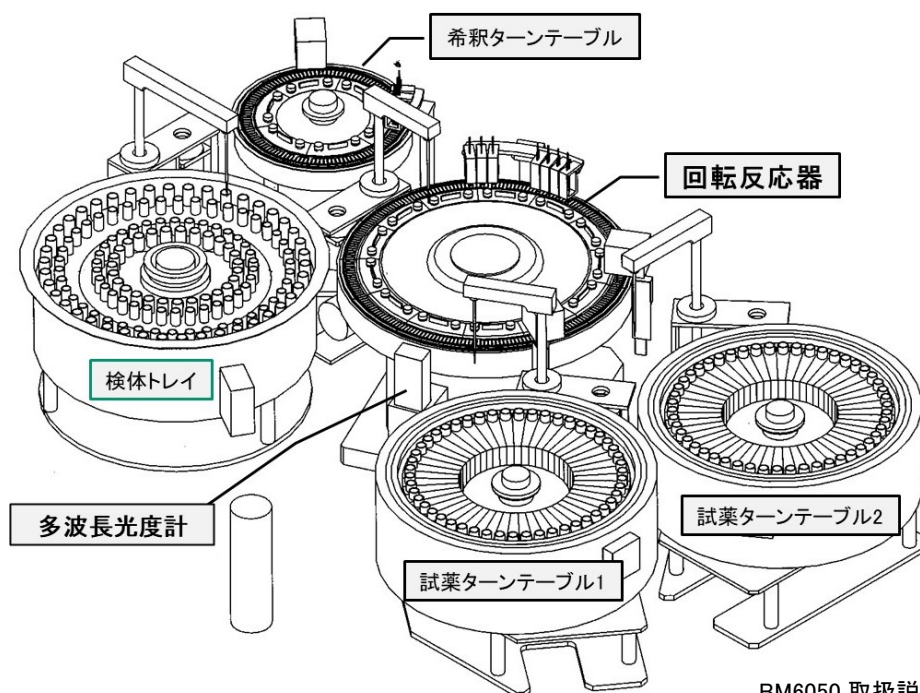
自動分析装置における反応タイムコースの基礎

藤本 一満 (倉敷芸術科学大学 生命科学部 生命医科学科)

1. はじめに

生化学自動分析装置の反応槽が回転方式 (図 1) となり、試料・試薬の分注から分析終了までの吸光度変化を、複数の波長で測定できる「反応タイムコース」機能を有したことで、単波長で反応終了後の吸光度を測定する 1 ポイント法に加え、2 波長法や 2 ポイント法、レート法など測定法が多様化した。さらに、「反応タイムコース」はリアクションレコーダーとして各反応の監視ができるため、分析中のサンプリング異常、攪拌異常、反応中の濁り、光源ランプ異常、反応セルへの液だれなどの異常現象の検出が可能となり、従来からの管理試料による精度管理に加えて、この「反応タイムコース」を上手に使うことで各測定値の信頼性向上・品質向上に繋がる。

本章では、生化学自動分析装置による吸光度測定の仕組み、反応タイムコースの見方および血清情報について説明する。



BM6050 取扱説明書から引用

図 1 生化学自動分析装置の概要 (BioMajesty™)

2. 生化学自動分析装置の吸光度測定

一般的に卓上分光光度計は、光源から発せられた光をグレーティングで 1 種の波長に分光した後に反応セルを通過し、透過した光を吸光度に変換する仕組みであり「前分光方式」である。一方、生化学自動分析装置の光度計は、光源から発せられた光が近接する反応セルを通過し、透過した光をグレーティングで複数の波長に分光し、各

波長の光を吸光度に変換する仕組みであり「後分光方式」である（図2上）。この後分光方式と回転方式の反応槽の組合せにより、反応セルに試料と第1試薬を分注、攪拌、加温の第1反応と、第2試薬を分注、攪拌、加温の第2反応の反応過程を、反応セルが光源を横切る度に、主波長および副波長吸光度を測定し（図2下）、これらの吸光度と互いの吸光度を引き算した演算吸光度をそれぞれ線で繋いだものが「反応タイムコース」であり、装置画面で目視確認でき（図3）、異常反応検出機能として利用できる。

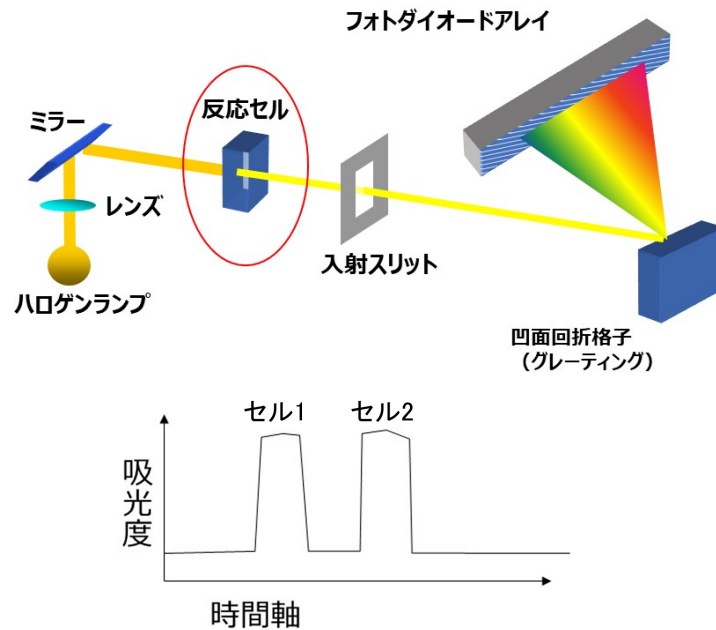


図2 後分光方式(上)と回転方式による吸光度波形(下)

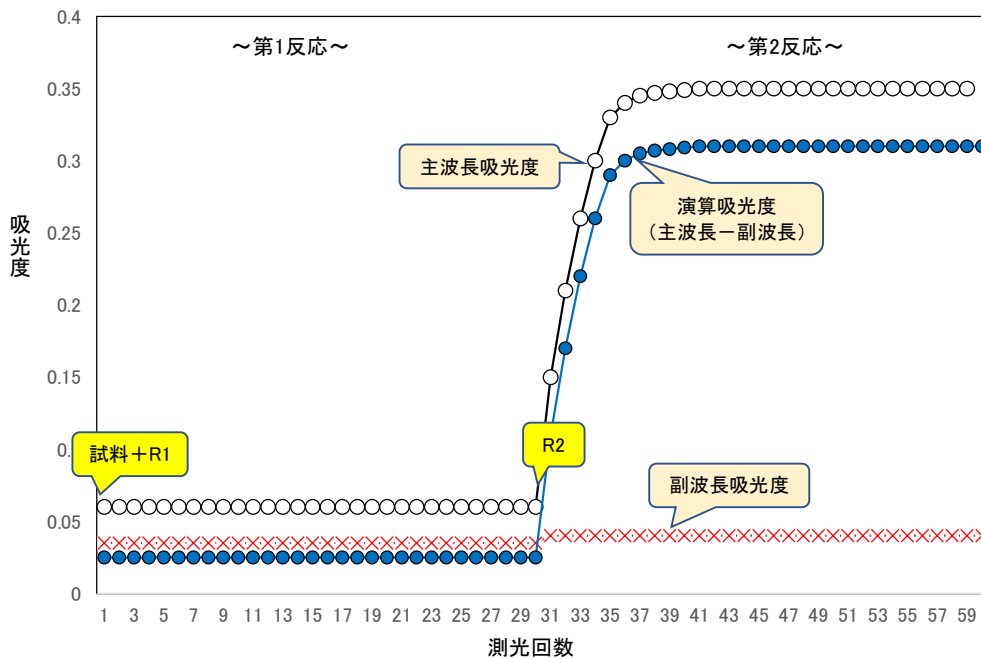


図3 生化学自動分析装置の反応タイムコース例

3. 反応タイムコースの見方

通常、終点分析法や初速度分析法による反応タイムコースは、第1反応では吸光度の変動は少なく（干渉物質の消去、検体盲検の測定などが目的）、第2反応で吸光度が急激に変動し、その後、平坦になる形状（エンドポイント法）、直線的に進行する形状（レート法）があり、各項目の基本形状は覚える必要がある。

分析や装置の異常に気付いた場合、疑った場合には、反応タイムコースを確認する習慣をつけると原因究明の早道になる。この場合、演算吸光度だけでなく、主波長および副波長吸光度も同時に確認する必要がある。例えば、血清と試薬の混合によって混濁を生じた場合、演算吸光度や主波長吸光度では混濁の検出は困難であるが、通常、吸光度の変動が小さい副波長吸光度で上昇があれば混濁を疑うことができる（図4）。

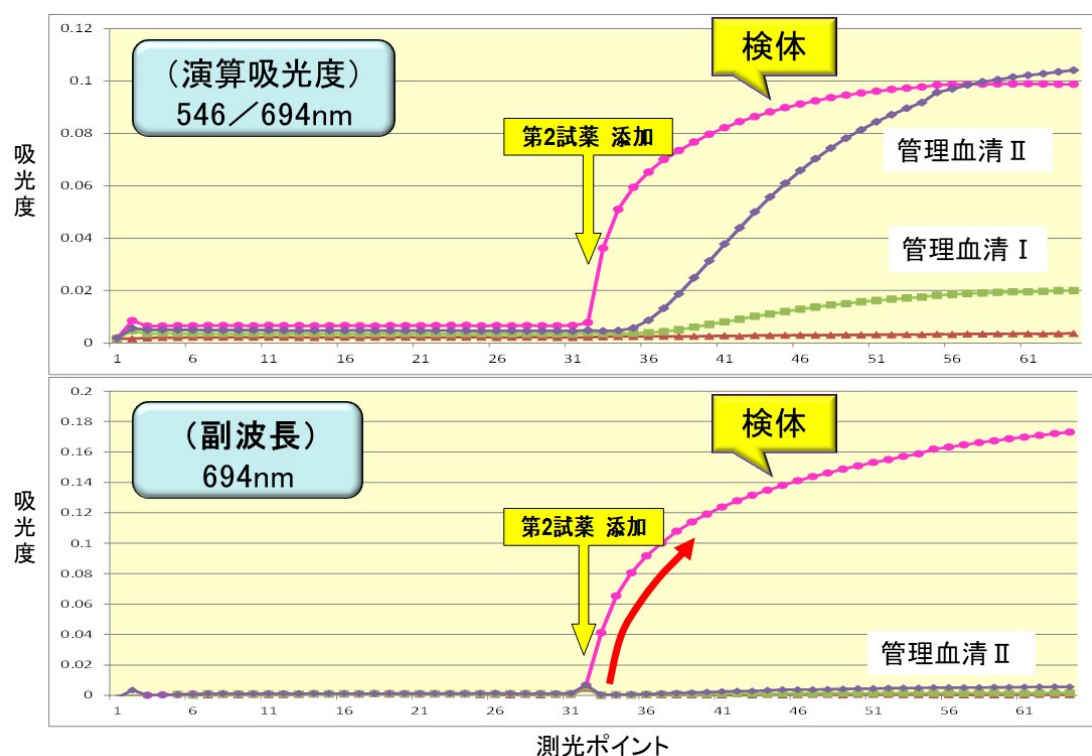


図4 酵素法によるCRE測定で第2試薬分注後混濁を発生した事例

また、光源ランプを長時間使用するとフィラメントがスパークして光量の変動がある場合がある。この場合、演算吸光度のタイムコースでは光量補正によって光量の変動に気づきにくいですが、主波長や副波長吸光度のタイムコースを見ることで、スパイク上の波形の存在から光源ランプの異常に気付くことができる（図5）。

メモ：光量補正とは、分析中の光量のふらつきやセルの汚れによる吸光度の変動を、主波長と副波長の二波長で吸光度を測定し引き算することで、両吸光度への影響をある程度相殺することができる。

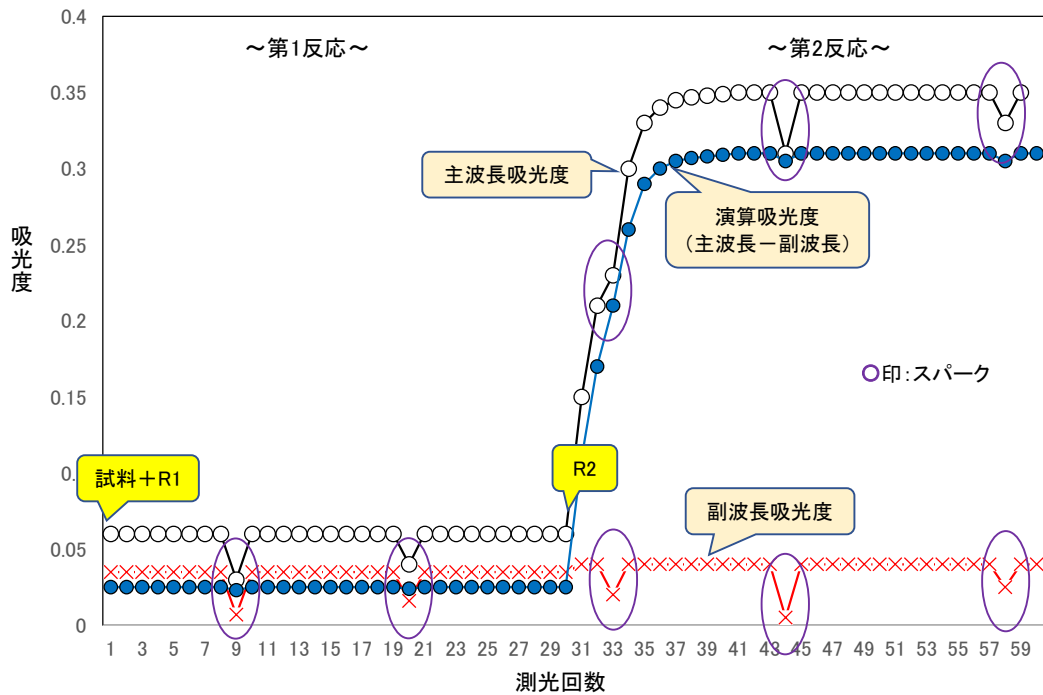


図5 光源ランプのフィラメントがスパークした際のスパイク波形例

4. 血清情報

生化学自動分析装置の多くの機種は、試料と第1試薬（透明な試薬）が反応セルに分注、攪拌、加温された第1反応の色から、試料の混濁度、溶血度、黄色度を血清情報として数値化あるいは記号として算出する血清情報算出機能を有する。分析波長とは別に血清情報算出用として、特有の波長で試料の色を測定し、表1に示すような血清情報算出式に各波長の吸光度を入れ算出する。機種によっては、第1反応で血清情報を算出するために特有の波長に切り替わるため、反応タイムコースが途切れて画面表記される場合がある。血清情報を上手に利用することによって、例えば、溶血（+）でカリウムやLDへの正誤差検出¹⁾や混濁（-）でTG高値の場合の高濃度遊離グリセロールの存在検出に役立つ²⁾。

表1 血清情報算出式例(日本電子 JCA-BM8040)

$$\text{混濁} = a \times (\Delta 694 * 658)$$

$$\text{溶血} = b \times (\Delta 596 * 571 - d \times \Delta 694 * 658)$$

$$\text{黄疸} = c \times (\Delta 505 * 478 - (e \times \Delta 596 * 571 - d \times \Delta 694 * 658) - \times \Delta 694 * 658)$$

備考: a、b、c、d、e、f は係数を表す。

参考文献

1) 藤本一満、QM研究会: 血清情報統一の取組み～溶血度判定基準の確立～. JJCLA 2012 ; 37(1) : 53-58.

2) 藤本一満: 生化学検査で予期せぬデータが得られたら～脂質検査～. Medical Technology 2019 ; 47(5) : 415-416.