### ユーザーにおけるタイムコースの活用事例 ―検体由来―

藤田 孝 (藤田医科大学病院 臨床検査部)

#### 1. はじめに

生化学自動分析装置の異常検出機能の進歩によって、検体中の微細なフィブリン析出や装置の動作不良などによるポカ値に気づかず報告することは稀になった。しかしながら検体の性状によっては異常反応を認め、生体内における本来の値とは異なる値を示すこともある。そのような場合には、測定値にエラーフラグが付加されたり、アラームが鳴る場合があるが、とくに何事もなく測定が終了することもある。今回、正常に測定を終了したが、ポカ値が疑われた強度の乳糜および M 蛋白を有する検体において、反応タイムコース(タイムコース)で異常反応を示した事例を紹介する。

## 2. 装置の仕様

分析装置はLABOSPECT 008 (株式会社日立ハイテク)である。

LABOSPECT 008 (LST008) は、全反応過程測光方式を採用しており、反応時間中、間欠的に絶えず反応液の吸光度を測定する方式である。各反応容器については、水ブランク (吸光度 0) を測定したのち、試料分注、第1試薬(R1)添加後5分間、第3試薬(R3、通常では第2試薬)添加後5分間の計10分間に38回測光する(図1)。

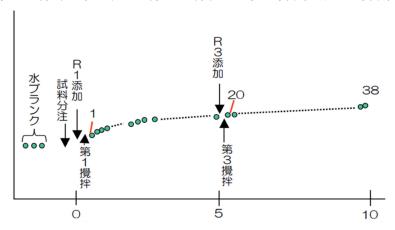


図 1 LABOSPECT008 反応タイムコース

また、LST 008 は、12 波長のうち主波長と副波長の 2 波長が選択でき、2 波長測光では主波長-副波長の吸光度を演算波長としている。2 波長測光の利点は、光源変動の相殺と、試料の濁り、反応容器の傷などの影響の軽減である。

# 3. タイムコースに異常を認めた事例

事例1. 乳糜の濁りによる LDL-C 測定への影響

1) 異常反応の概要

# ①検体の概要

血清性状は極度に強い乳糜を認めた。

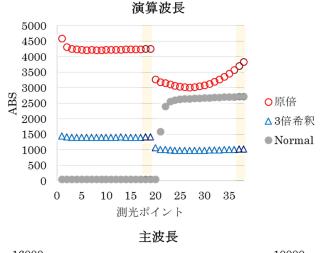
原倍測定において、HDL-C が 5.9 mg/dL、LDL-C が 27.3 mg/dL と異常低値、TG は 10.821 mg/dL と異常高値を示した(表 1)。

## ②タイムコースの確認

乳糜による濁りの影響を考え血清を生食で 3 倍希釈して測定したところ、LDL-C において-2.7mg/dL となり、原倍測定値と 3 倍希釈値で乖離を認めた(表 2)。LDL-C のタイムコースを確認したところ、演算波長(主一副)と主波長では、第 2 試薬添加後に吸光度が減少し、その後、吸光度の上昇が見られた。副波長では、第 2 試薬添加後に吸光度の減少が続いた(図 2)。

X : MIMALE WANALE			
項目	単位	原倍測定	3 倍希釈
HDL-C	mg/dL	5.9	4.6
LDL-C	mg/dL	27.3	-2.7
TG	mg/dL	10,821	

表 1 原倍測定値と希釈測定値



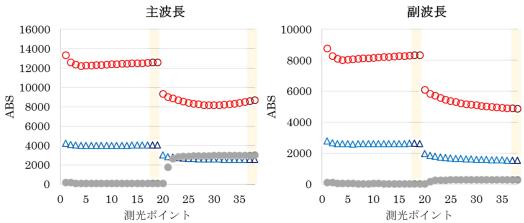


図 2 LDL-C のタイムコース

## 2) タイムコースによる異常検出

主波長で、第2試薬添加直後に吸光度が減少した要因は、乳糜が第2試薬で希釈および界面活性化剤による分解を受けたためと考える。また、その後の吸光度の上昇は、呈色反応による吸光度の上昇と考える。副波長で第2試薬添加後に吸光度の減少が続いたのは、乳糜が第2試薬で希釈および界面活性化剤による分解で吸光度が減少したと考える。演算波長では、この2つの現象が相まって、下方に弧を描くタイムコースとなっている。

#### 3) 異常の原因物質と対策

LST008 の異常検出機能として、エンドポイントアッセイにおいて反応過程のパターンから異常を検出する機能はない。そのため、今回の事例では装置からアラームが鳴ったり、検査値に異常フラグが付くことはなかったが、強乳糜血清であったため、タイムコースを確認した。正常なタイムコースと比較したところ異常反応を呈していることがわかり、希釈測定でも納得のいく値が得られなかった為、今回は『検査不能』で報告した。強乳糜検体は、試薬に含まれる界面活性剤の作用により検体の濁りが消去される反応と、呈色反応が同時に起こるため、見かけ上、吸光度の減少を認めることがある。従って、強乳糜検体については、希釈測定によって乳糜の影響を軽減することや、タイムコースを確認し反応が正常に終了していることを確認する必要がある。

### 事例 2. M 蛋白と試薬の混合によって生じた濁りによる ChE 測定への影響

#### 1) 異常反応の概要

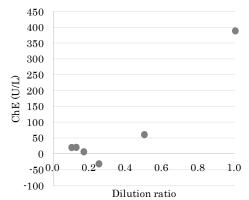
#### ①検体の概要

血清性状に問題は認めなかった。

測定値に異常値はなかったが、ChEの389 U/Lにリニアリティ異常が付加された。

# ②タイムコースの確認

血清中に干渉物質の存在を疑い、血清を 2 倍、4 倍、6 倍、8 倍、10 倍と希釈し、 希釈直線性を確認したところ(図 3)、直線性が得られなかったためタイムコースを確 認した。第 2 試薬添加後の演算波長のタイムコースで、正常反応は減少反応だが、本 事例では最初上昇し、その後、減少反応を示した(図 4)。



希釈倍率	ChE (U/L)	
原倍	389 (Lin)	
1/2	61 (Lin)	
1/4	-31	
1/6	7	
1/8	21	
1/10	21	

図 3 該当検体における ChE 希釈直線性確認

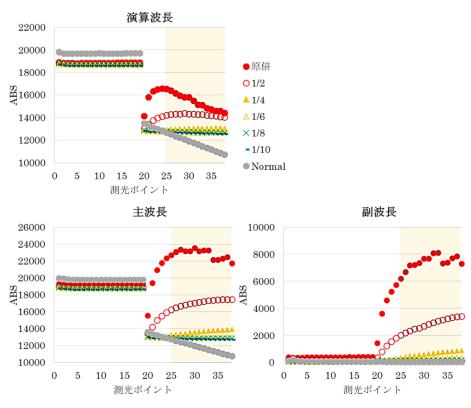


図 4 ChE の反応タイムコース

### 2) タイムコースによる異常検出

本事例では、第2試薬添加直後に濁りが発生し(図5)、主波長の吸光度上昇が副波長の吸光度より大きかったため、演算波長で上昇反応となり、その後、主波長の吸光度減少が副波長の吸光度より大きかったため減少反応となり、レート反応としては不安定と判定されリニアリティ異常として検出された。



図5 第2試薬添加後の反応現象

### 3) 異常の原因物質と対策

ChE の試薬と血清を混合して濁りを生じたことから、M 蛋白の存在を疑い免疫グロブリンの測定を行った。その結果、IgG:571~mg/dL、IgA:88~mg/dL、IgM:2,068~mg/dLであり、ChE 測定の第 2 試薬添加直後に濁りを生じた原因物質は、IgM 型の M 蛋白であったと推測する。M 蛋白が存在する一部の検体で、検体と試薬 pH、イオン強度、界面活性剤などが絡みあって不溶性の凝集や沈殿物を形成し異常反応を呈する場合が

ある。また、反応中に濁りを生じる要因はM蛋白だけでなく、グロブリン成分が多い場合やA/G比が小さい場合も起こり得る。本事例では、ChEでリニアリティ異常が付加されたことからタイムコースを確認した。検査室では、リニアリティ異常が出た場合は、タイムコースの確認と濁りを疑った場合は試験管内で反応させ、目視的に確認するルールとした。

# 【まとめ】

繁忙な日常検査の中で、全検体のタイムコースを確認することは困難である。血清情報で強い黄疸・溶血・乳糜を検出した検体や装置から異常アラームが鳴ったり、検査値に異常フラグが付いた場合は、タイムコースを確認し、必要に応じて試験管で反応させ目視確認する必要がある。