

ユーザーにおけるタイムコースの活用事例 —検体由来—

和田 哲(和歌山県立医科大学附属病院 中央検査部)

1. はじめに

日々の生化学検査では、検査結果に加えて反応タイムコース（タイムコース）も確認することが重要である。しかしながら、全てのタイムコースを監視することは非現実的である。生化学自動分析装置（装置）がタイムコースを監視し、異常があればアラームを発してユーザーに知らせるのが理想的である。

日本電子社の JCA-BM シリーズが有する異常反応検出機能には、一般的な吸光度限界設定、プロゾーションチェックなどに加えて、特有な機能として分散値および分散許容値設定がある。これらに適正な値を入力することで、各反応の吸光度変動が設定値を超過した時に、装置は異常ありとしてアラームを発し、検査結果にエラーフラグを付加できるため、ユーザーが常時タイムコースを監視しなくても異常反応に気付くことができる。

2. 装置のタイムコースの見方

1) 分散

分散は演算する測光ポイント区間における反応性を評価する指標で、S として表記される。

エンドポイント法では、反応終結ポイントで反応が終了しているかを判定する（図 1）。

レート法では、近似式でレート反応中の測光ポイントに近似しているかを判定する（図 2）。

各測光ポイント区間の吸光度変動が分散設定値を超過すると、アラームと共に検査結果にエラーフラグ「*」が付加される。各演算法における分散値の計算式を以下に示す。

エンドポイント法での分散値式：

$$\text{分散値 (S)} = \frac{\text{ABS1 演算区間の最大吸光度} - \text{ABS1 演算区間の最小吸光度}}{\text{ABS1 演算区間の吸光度の中央値}} \times 100$$

レート法での分散値式：

$$\text{分散値 (S)} = \sqrt{\frac{\text{残差の 2 乗和}/(\text{N}-2)}{|\text{ABS1}| \times \text{時間幅(分)}}} \times 100$$

ABS1 = 演算区間における 1 分間あたりの吸光度変化

N = 演算に使用した測光ポイント数

尚、数式の分母が ABS1（結果演算に用いる反応終盤の吸光度）であるため、ABS1 が小さいと計算上 S が大きくなるため、ABS1 が一定以上の場合のみチェック機構が働く仕組みとなっている。

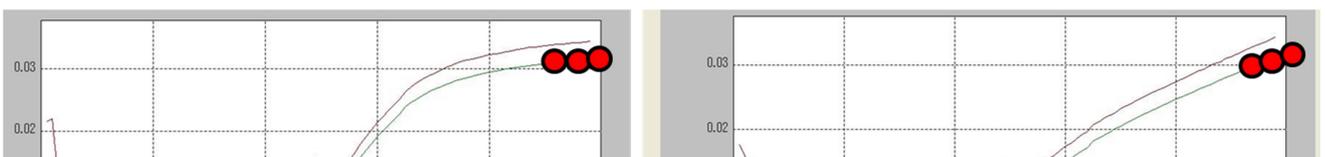


図1 エンドポイント法におけるタイムコース(左:分散値⇒小、右:分散値⇒大)

反応終結ポイント(図1の場合、●3ポイント)において、安定な左図に比べ、反応が終結していない右図では分散値Sが大きくなる。

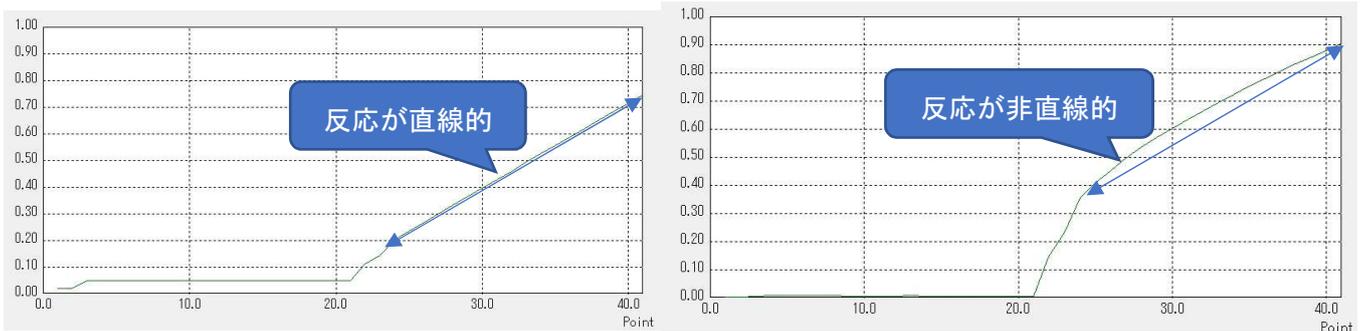


図2 レート法におけるタイムコースの図(左:分散値⇒小、右:分散値⇒大)

測光ポイント群において、反応が直線的な左図は近似式(青両矢印)で合致しているのに対し、反応が非直線的な右図は近似式で合致しておらず、分散値Sが大きくなる。

2) 分散許容値

分散許容値は吸光度のバラつきを示す指標であり、第1反応、第2反応の各区間における演算に使用する主波長および副波長吸光度のバラつきを、隣り合った測光ポイントの吸光度差で評価する(図3)。分散許容値が超過するとアラームと共に各反応区間、波長に応じたエラーフラグが付加される(表1)。

表1 分散許容値のエラーフラグ

	主波長	副波長
第1試薬区間	V	v
第2試薬区間	W	w

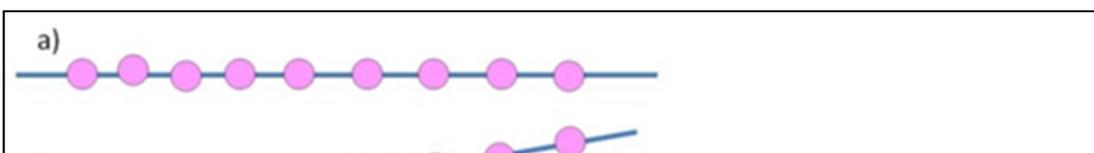
例えば、第1試薬区間で主波長における許容値を超過した場合は、検査結果にアラーム「V」が付加される。

分散許容値の式:

$$\text{分散許容値}(V,v,W,w) = \sqrt{\frac{\sum((A \text{ の差}) - (A \text{ の平均}))^2}{N-1}} \times 100$$

A=隣り合った測光ポイントの吸光度

N=試薬区間許容値の演算に使用したポイント数



- | | | |
|----------------------|---|---------|
| a) 隣り合った測光ポイントの差がない | = | 分散許容値⇒小 |
| b) 隣り合った測光ポイントの差が一定 | = | 分散許容値⇒小 |
| c) 隣り合った測光ポイントの差が大きい | = | 分散許容値⇒大 |

図 3 分散許容値設定におけるイメージ図

当院では約 2 か月間のタイムコースをクラリスリンク Plus に集積し、このクラリスリンク Plus によって分散値および分散許容値閾値を決め、装置に設定することで異常反応検出機構として運用を始めた。今回、異常反応検出機構で検出された 2 事例を紹介する。

3. タイムコース活用事例

【事例 1. T-Bil の第 1 試薬区間の主波長分散許容値の超過事例】

1) 現象

初回検査において（表 2）、ALB 低値、A/G 比の低値、GLO 高値、AST および ALT 高値から肝細胞障害、栄養状態低下、M 蛋白（+）を推測させるデータであるが、全体的にバランスの悪いデータは無く、全て正常反応と思われる測定において、T-BIL にエラーフラグ V（第 1 区間の主波長分散許容限界超過）が付加された。尚、血清情報の黄色度（-）と T-Bil 0.5mg/dL は一致しており（当検査室の基準：T-Bil 2.0mg/dL 以上で 1+と判定）、乖離はなかった。

表 2 初回検査結果

項目	結果	単位	項目	結果	単位
TP	8.3	g/dL	CRE	0.76	mg/dL
ALB	2.6	g/dL	eGFR	81.3	mL/min/1.73m ²
Glob	5.7	g/dL	Na	134	mmol/L
A/G	0.46		K	3.8	mmol/L
AST	76	U/L	Cl	102	mmol/L
ALT	374	U/L	Ca	7.7	mg/dL
LD	195	U/L	補正Ca	9.1	mg/dL
ALP	251	U/L	CRP	0.07	mg/dL
UA	3.2	mg/dL	黄色	(-)	
UN	22	mg/dL	乳び	(-)	
T-Bil	0.5	mg/dL	溶血	(-)	

酵素法を原理とする T-Bil のタイムコースの確認をしたところ、正常検体では第 1 試薬添加後、吸光度は安定しているが、患者血清では第 1 試薬添加直後に吸光度が上昇し、その後、急激に低下する現象が見られた（図 4）。この吸光度の上昇および低下によって分散許容値を超過し、異常反応としてエラーフラグ V が付加された。

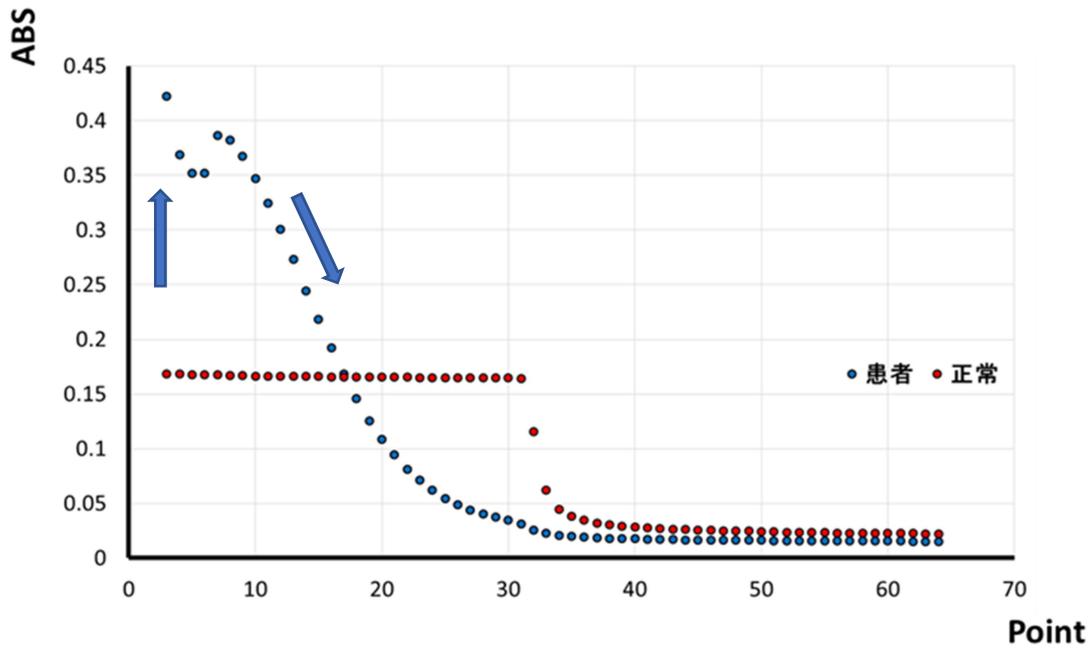


図4 T-Bilのタイムコース(主波長)

2) 確認

試験管内で患者血清と T-Bil の第 1 試薬を混合すると、濁りを発生した (写真 1)。カルテで病歴を検索したところ、現病歴に IgG-λ 型の多発性骨髄腫と記載があり、第 1 試薬と混合した時に析出した濁り成分は M 蛋白と推測した。

濁り成分を追究するため、患者血清 30 μL に T-Bil の第 1 試薬 600 μL を分注し濁りを発生させた後、遠心分離をした下層の沈殿物に精製水を加えた混濁液を免疫固定電気泳動 (IFE) で分析した。

その結果、IgG-λ の M 蛋白を検出し、濁り成分は IgG-λ 型の M 蛋白であった (写真 2)。

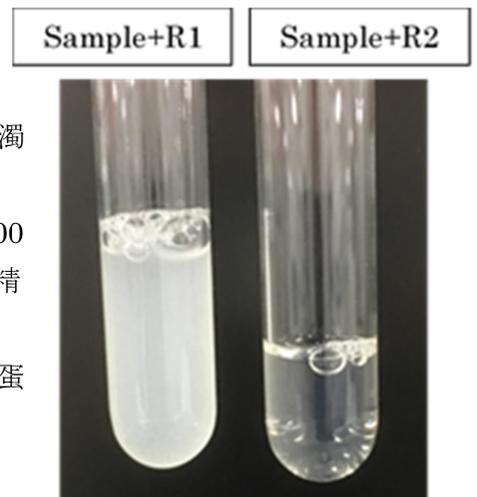


写真 1 試験管での混濁試験

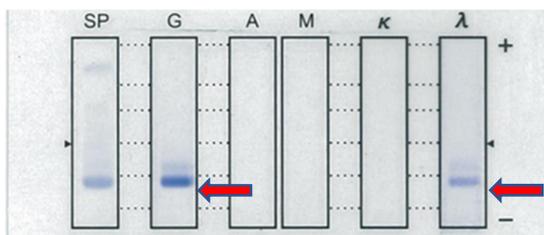


写真 2 患者血清+T-Bil 第 1 試薬で沈殿した物質の IFE 結果

3) 対策

T-Bil 測定においてエラーフラグ V が付加された場合は、タイムコースで第 1 試薬区間の吸光度変動を確認して、濁りが原因と思われる吸光度変動では、第 1 試薬区間内で吸光度変動が終了しているか否かをみて、第 2 試薬区間まで影響を及ぼしていると判断した場合は希釈測定等を行う。希釈測定は、数段階の希釈測定を行い、各希釈補正值が一致する事を確認する。また、目視による血清の黄色度と、T-Bil 値との一致性をみる事も良案である。本事例では、タイムコースで測定値に影響があると判断して、血清を生理食塩水で 2 倍希釈したところ測定値は 0.5mg/dL となり、初回検査値 0.5mg/dL と一致し、目視でも T-Bil が低値であることを確認したので、最終的に T-BIL は 0.5mg/dL で報告した。

以上の確認手順は標準操作マニュアルに書き入れ、分析担当者間で共有した。

【事例 2. Lp-X 出現検体における分散値超過事例】

1) 現象

高度肝代謝機能異常によって Lp-X の出現が確認されている患者において、表 3 に示すように胆管閉塞がある初回測定値を得た。TP が 21.0g/dL と過去に経験の無い異常高値を示し、明らかに何らかの影響を受けた値であり、装置からは異常反応有りのエラーフラグが付加された。

表 3 初回測定結果値

項目名	結果	単位	項目名	結果	単位
TP	21.0	g/dL	UA	2.2	mg/dL
ALB	2.7	g/dL	UN	19	mg/dL
AST	114	U/L	T-Bil	10.1	mg/dL
ALT	60	U/L	D-Bil	6.6	mg/dL
LD	155	U/L	IgG	1630	mg/dL
ALP	1386	U/L	IgA	295	mg/dL
GGT	679	U/L	IgM	913	mg/dL
ChE	278	U/L	溶血	(-)	
LAP	370	U/L	乳び	(-)	
CRE	0.60	mg/dL	黄色	(3+)	

初回測定時の TP のタイムコースでは、最終の演算測光 3 ポイントが安定していないために、装置からアラームを発した（アラーム*：分散異常）。通常、TP のタイムコースは、第 1 反応では変動は少なく、第 2 反応では早期に反応が起こり、その後、吸光度は安定するが、患者検体では第 1 反応、第 2 反応とも吸光度が上昇し、特に第 2 反応では吸光度の上昇が大きかった（図 5）。副波長でも同様の現象を認めたことから、濁りが発生していると考えた。

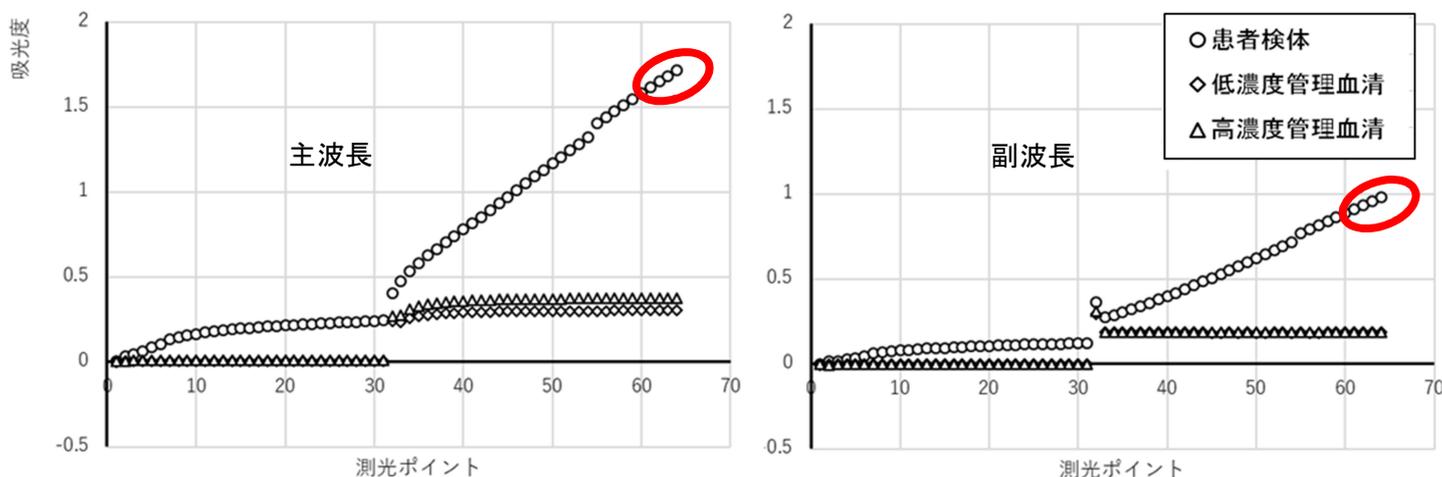


図 5 本事例と管理血清の TP タイムコース(左:主波長、右:副波長)

2) 確認

患者血清を生理食塩水（生食）で 2、3、4 倍希釈し、TP を測定してタイムコースをみた（図 6）。

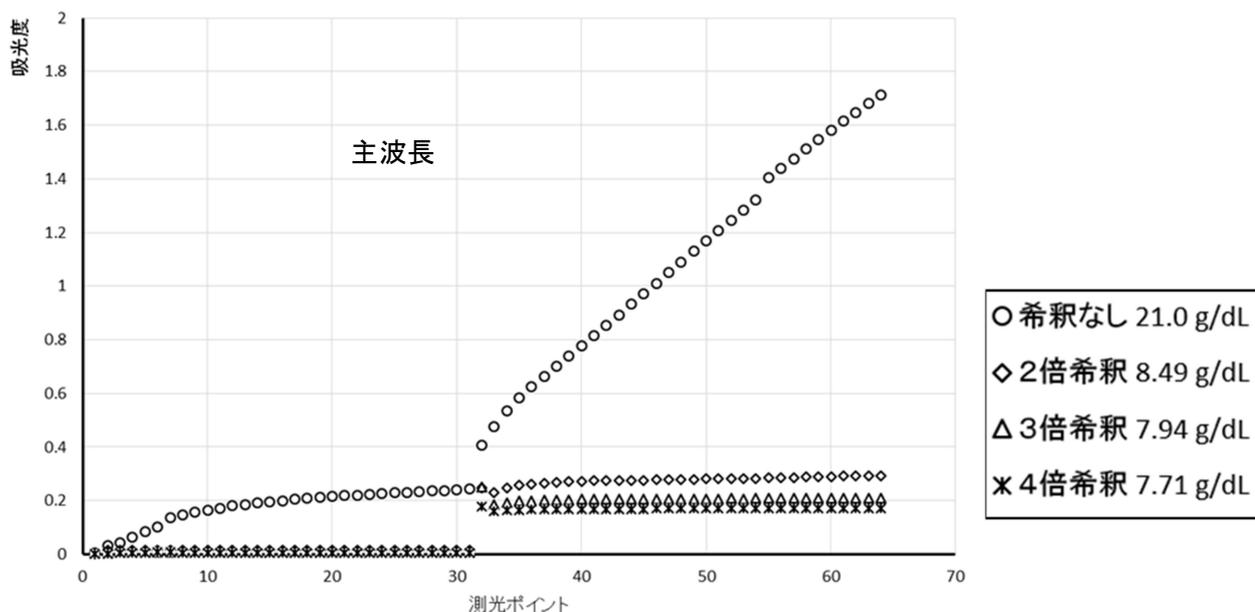


図 6 該当患者における段階希釈試験タイムコース(主波長)

生食による希釈測定の結果、希釈なしで 21.0g/dL、2 倍希釈で 8.49g/dL、3 倍希釈で 7.94g/dL、4 倍希釈で 7.71g/dL となり、希釈することで TP 値が大きく低下した。タイムコースを確認したところ、希釈なし、2 倍希釈では経時的な吸光度の上昇を認め、装置で異常タイムコースと判定された。3 倍希釈、4 倍希釈では経時的な吸光度の上昇は認めず、装置で異常タイムコースと判定されなかった。今回は 3 倍希釈の 7.94 g/dL で報告した。

今回の TP 異常高値は、TP 測定可能上限の 16.0g/dL 以上であったこと、初回検査値と希釈測定値で乖離があったことから異常反応の存在を推測できるが、タイムコースを確認することで目視的に異常反応を捉えることができ、さらに、異常反応を起こす原因を推測することも可能である。最終的には、装置で異常反応を検出できるように、タイムコースを活用することが重要である。

4. まとめ

生化学検査において、多くの検体は正常な反応で正確な値を得ているが、稀に異常反応や異常現象の影響を受けた値（偽値）を得る場合がある。このような偽値を検出するために、タイムコースを活用することは現代の自動分析装置による生化学検査では必須と考える。できれば、偽値となる原因を考え、正確な値を導きだして報告できれば、最大の検査貢献である。

タイムコースの判読力をつけるためには、正常なタイムコースを覚えること、測定に影響する要因に何があるのか把握しておくことが大事と思われる。