

ユーザーにおけるタイムコースの活用事例 —試薬・メンテナンス由来—

山口純也（埼玉県済生会川口総合病院 診療技術部 臨床検査科）

1. はじめに

今回の科学技術セミナーのテーマは「自動分析装置における反応タイムコースの基礎と活用事例」（科学技術マニュアル第 18 集より）であり、反応タイムコース（タイムコース）の簡単な見方から日常業務中に遭遇した事例を基に現象、原因、対処法を紹介する。

異常タイムコースを見つけるには・・・

良い水を使用し、良い状態の装置・試薬を使用し、正しいパラメータで分析して得られたタイムコースが正常時のタイムコースである。この正常反応タイムコースを知ることによって異常タイムコースを見つけることが出来る。

水の管理・・・

分析装置に用いる水の劣化は、カルシウム（Ca）、マグネシウム（Mg）などの分析に影響を与える。また、細菌繁殖はバイオフィルムが発生し、ブランク上昇や種々の測定不良を引き起こす。特に酵素分析では影響が大きい。

装置の管理・・・

決められた毎日、毎週、毎月などのメンテナンスを確実に行う。特に、サンプルプローブ、攪拌棒に関しては、タンパク質の汚れが付きやすいため毎日簡単な掃除を行う決まり事にとすると良い。また、装置によっては、付属品の反応セルも決められた時期での交換は、誤報告を未然に防ぐために重要である。

試薬・キャリブレーションの管理・・・

試薬には装置専用試薬、汎用試薬があり、試薬充填法には使い切り法、継ぎ足し法などがあり、施設によって様々な運用法であるが、自動分析装置のキャリブレーション実施時の試薬ブランク、標準液の吸光度、ファクターのチェック機能を使う事で、試薬置き間違い、試薬劣化などを早期発見できる。

2. タイムコースの簡単な見方

ベックマン・コールターの DxC700AU 分析装置の分析の流れを図 1 に示す。

ベックマン・コールターの AU シリーズは、試薬先分注方式（検体後分注方式）であり、反応時間は 8 分 33 秒～39 秒、その間に P0～P27 の 28 回の測光ポイントをする。

最初の測光ポイント P0 の OD 値は・・・

第 1 試薬が入っただけの状態であり、通常より高いもしくは低い場合は、試薬、イオン交換水、キュベットの洗浄不良が推測される。

P0～P1 の OD 値は・・・

通常はサンプルが分注されたことにより OD 値が変化する。変化しない場合はサンプル分注系の問題が推測される。

P10 ~11 の OD 値は・・・

通常は第 2 試薬の分注により OD が変化する。変化しない場合は、第 2 試薬の分注不良、変化が少ない（なだらか）場合は攪拌不良が推測される。

P0~P27 の OD 値は・・・

ランダムに OD が変化する場合は光源ランプの不良、キュベットの汚れ等が推測される。

✓ AUシリーズの分析の流れ

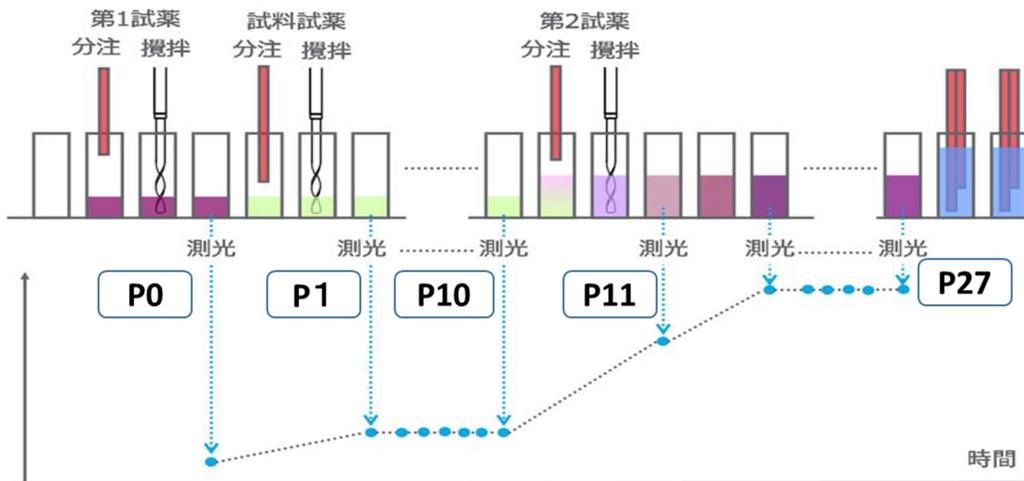


図1 AUシリーズの分析の流れとタイムコース

3. タイムコース活用事例

事例1. 反応過程中の異物混入が原因と思われる反応抑制による偽性の低タンパク質
1) 現象

ビウレット試薬を用いた1試薬系の総タンパク質 (TP) 測定において、3.9g/dL と低い方のパニック値に遭遇した。2 日前の前回値 7.5g/dL に比べ TP は大幅な低値を示したが、アルブミン値 4.6g/dL は変動なかった。本事例の再検値は 7.4g/dL となり、前回値に近い結果となった。初検時と再検時のタイムコースを図 2 に示した。

再検時タイムコース (図 2、右) では、試薬に検体が添加された直後 (P1) から吸光度が上昇し、P27 付近ではほぼフラットであった。初検時タイムコース (図 2、左) では、主波長において検体が添加された直後 (P2) に吸光度が減少し、その後も反応が抑制され、吸光度は正常検体の半分程度であった。また、副波長は、検体添加時に吸光度が上昇していたことから、反応セル中の検液が通常とは違う色 (700nm で吸収があるので青緑色?) であったことが推測された。

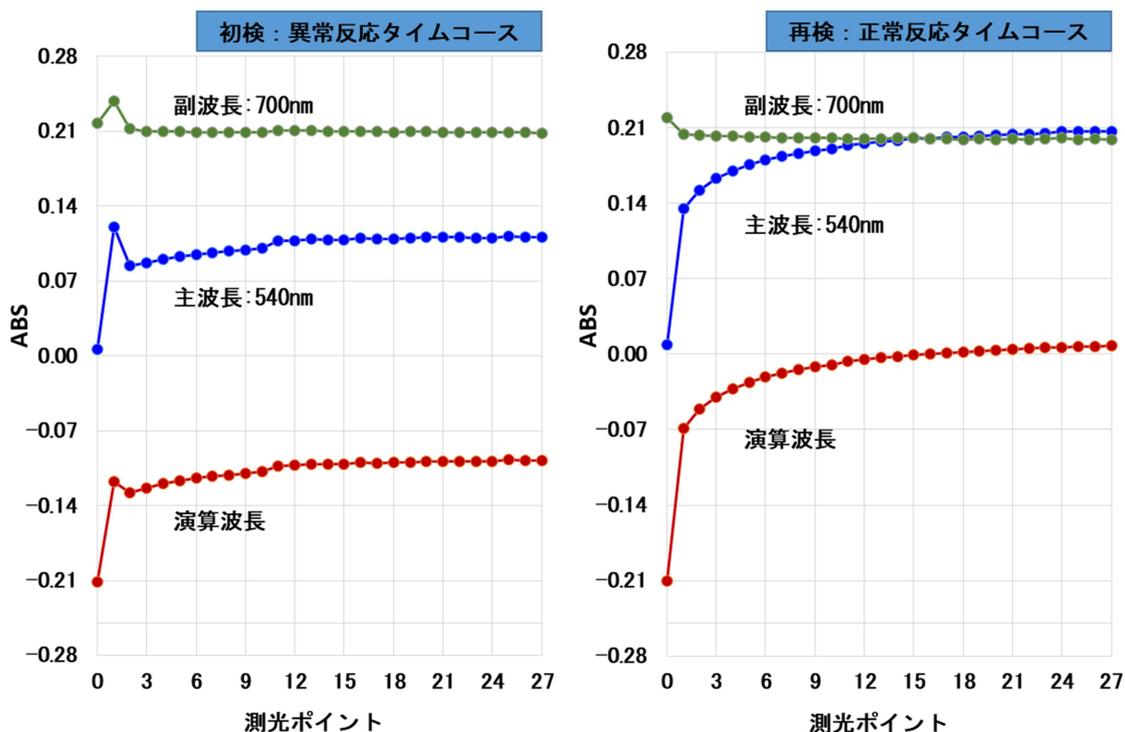


図2 総タンパク質の反応タイムコース(左:初検時、右:再検時)

2) 原因

本事例の初検時で、主波長の吸光度が検体添加直後に減少したのは、何らかの物質がセル内に混入し、その混入物質がビウレット反応を抑制したと考える。また、副波長における検体添加時の吸光度上昇は、その混入物質による呈色と考える。

ビウレット反応の至適条件は強アルカリ下であり、試薬 pH の低下により反応の呈色度も低下する。今回、呈色度が低下したことから反応セルへの酸性洗剤の混入を疑った。混入の経路はプローブ等からの洗剤の落下、反応セル上部にできた洗剤結晶の

落下等が考えられる。

3) 対処法

プローブやセル上部からの洗剤あるいは洗剤結晶の落下を防ぐには、決められた時期にメンテナンスをしっかりと行い、分析装置を常にベストな状態にしておくことが大事である。

異常反応を発見する方法として、各項目の分析パラメータにパニック値や試薬吸光度範囲を設定する。さらに、測光中に異常反応になった場合に検出できる“データチェック条件”を設定する方法がある。これらの設定値を超えた場合、測定結果にエラーフラグが付き、オペレーターに画面上と測定結果にリアルタイムに警告を促す機能で、誤報告することが防止できる。

本事例の TP 測定における偽低値は、極端に低値であったため比較的簡単に気付くことができたが、すぐに気付くことのできない事例もあるので、アルブミン、免疫グロブリン等を用いた項目間チェックを用いることも有用と思われる。

事例 2. 検体希釈用生理食塩水ボトルと洗浄用酸性溶液ボトルの置き間違いによる尿クレアチニン、尿アミラーゼへの影響

1) 現象

AU680 の洗浄メンテナンス後、尿クレアチニン (尿 CRE) が -0.9mg/dL 、尿アミラーゼ (尿 AMY) が 15U/L と異常低値を示し、装置から「測定ダイナミックレンジ下限値以下」のエラーが出た。両項目のタイムコースを確認したところ明らかに異常反応が見られた (図 3、図 4)。別装置で再検査を実施したところ、尿 CRE が 235mg/dL 、尿 AMY が 639U/L となりタイムコースは正常反応であった。

-0.9mg/dL を示した尿 CRE タイムコース (図 3、左) から、第 1 反応で何らかの原因で濁りを生じて吸光度が上昇し、第 2 反応で第 2 試薬分注によって濁りが希釈され吸光度が低下したと考えた。

15U/L を示した尿 AMY タイムコース (図 4、左) から、尿 CRE 同様に第 1 反応で何らかの原因で濁りを生じて吸光度が上昇し、第 2 反応で第 2 試薬分注によって濁りが希釈された事に加え、反応阻害によって吸光度が低下したと考えた。

2) 原因

尿 CRE と尿 AMY は、装置で尿を生理食塩水にて 5 倍希釈して測定するため、異常蛋白が存在しても低濃度となり、試薬との反応による混濁は考えにくかった。そこで、洗浄メンテナンス後に試料希釈用生理食塩水ボトルが正しく設置されているか確認したところ、洗浄メンテナンスで使用した洗浄用酸性溶液ボトルがそのまま設置されていることに気づいた (検査時は検体希釈用生理食塩水を設置、洗浄メンテナンス時は洗浄用酸性溶液を設置)。実験的に尿に洗浄用酸性溶液を滴下したところ濁りを生じた (図 5)。濁りの成分は、尿中カルシウムおよび試薬中カルシウムが洗浄用酸性溶液中のシュウ酸と反応し、シュウ酸カルシウムの結晶が析出したと考えた。尿 AMY にお

いて反応障害が起きた原因として、アミラーゼ活性に必要なイオン化カルシウムがシ
 ュウ酸カルシウムとなって結晶化したためと考えた。

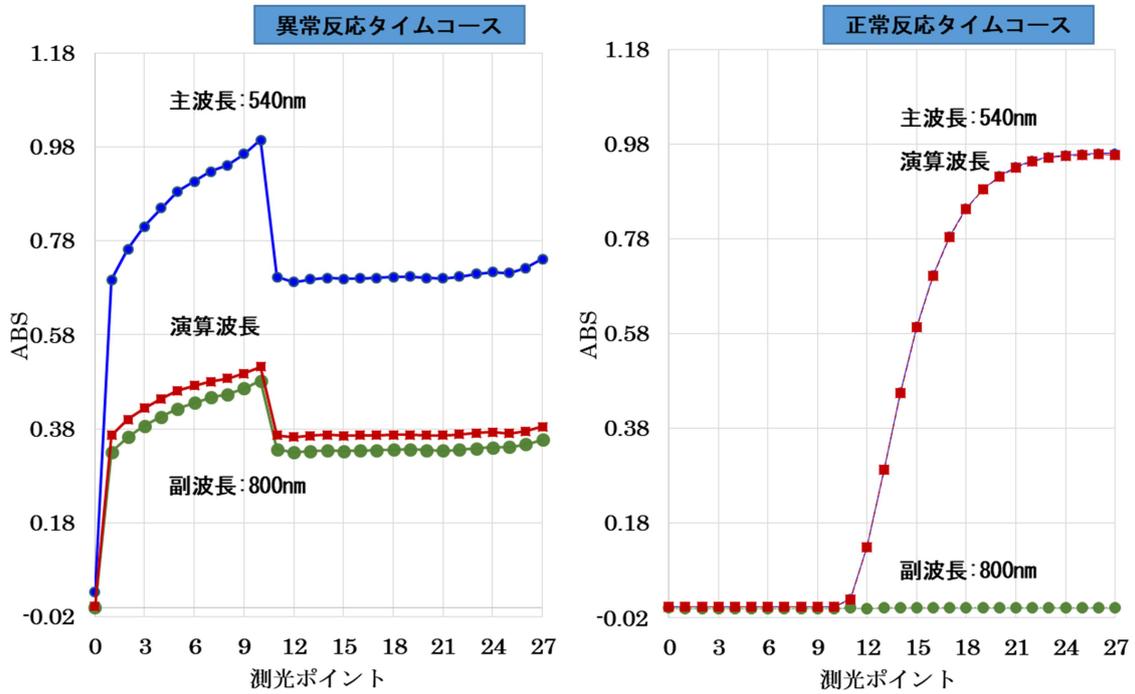


図3 尿クレアチニンの反応タイムコース

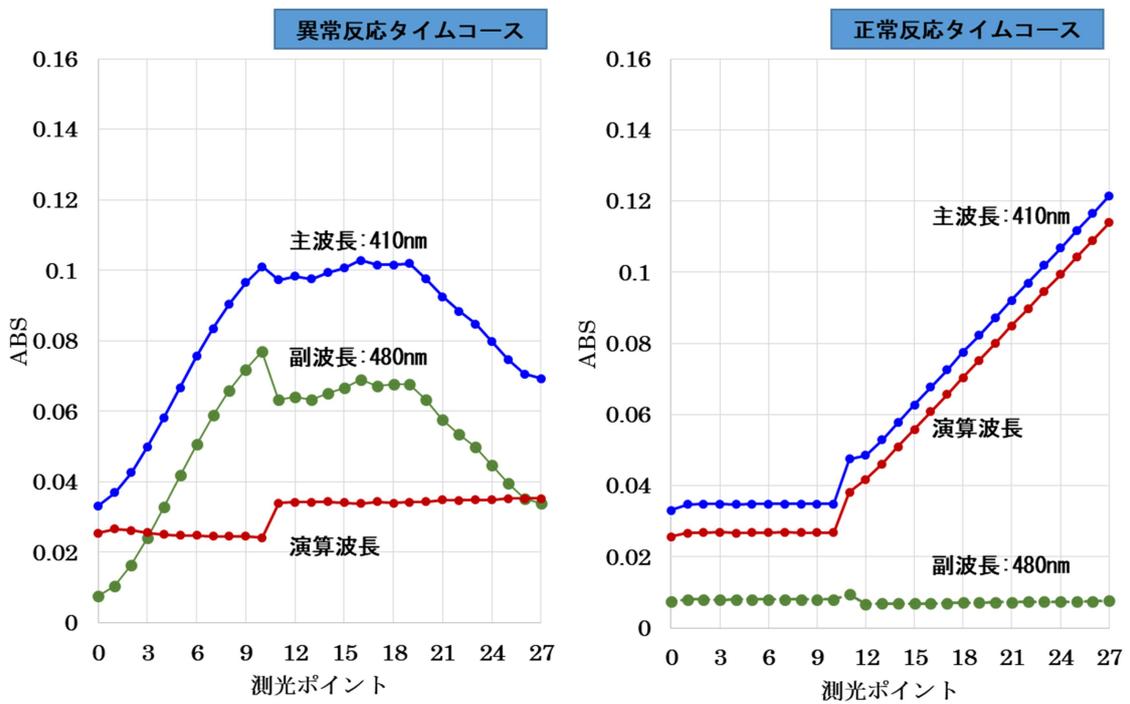


図4 尿アミラーゼの反応タイムコース

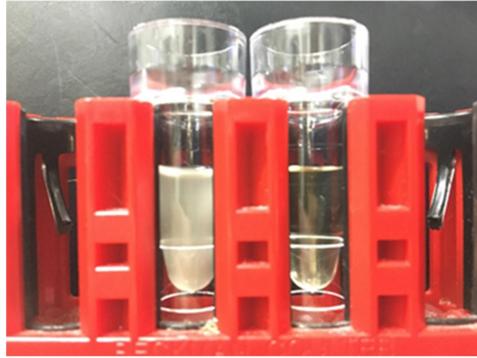


図5 尿試料の濁り 尿+洗浄用酸性溶液（左）、尿のみ（右）

3) 対処法

本事例を経験したところから、試料希釈用生理食塩水ボトルと洗浄用酸性溶液ボトルにシールを貼り、一目で区別できるようにした。また、洗浄メンテナンス終了後は確実に設置し、管理試料を測定して全測定値を確認する手順に改め、即、洗浄メンテナンス手順マニュアルに書き加えた。

4. まとめ

異常反応に気付くには、装置のメンテナンス、試薬、水の管理を適切に行い、その他の要因を少なくし、分装装置にある様々なチェック機能を上手に使うことで発見し易くなる。

日常業務に追われるなか、異常反応に気づき、解析することは大変であるが、検査結果の質の保証をするうえで大切な業務である。