

2023年9月29日

日本臨床検査専門学院 第48期(令和5年度)生化学コース



自動分析装置の測定原理・扱い方



日本電子株式会社
小島 和茂

生化学自動分析装置の自動化

clinalyzer™ (日本電子)

1972 JCA-1K / 10K

1973 JCA-6KR / 10KR

1974 JCA-N6 / N12

1975 JCA-H6 / H12

1977 JCA-Si6シリーズ

1977 JCA-HS6 / HS12

1978 JCA-MS18 / MS24

1978 JCA-US8

1980 JCA-VSシリーズ

1982 JCA-VX1000

1985 JCA-RXシリーズ

1989 JCA-RSシリーズ

1992 JCA-HRシリーズ

1996 JCA-BMシリーズ

2016 JCA-ZSシリーズ

■ 検査の自動化
60年代
日本国内に導入



■ 検査の自動化
70年代～80年代
検査のプロセスの自動化がほぼ確立



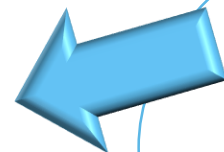
■ 検査の自動化
90年代～
検査数の増加により検査の効率化
(時間・費用)



データの標準化・ISO etc

BMシリーズのキーワード
高速・微量(低ランニングコスト)・小スペース

元々用手法で行っていた検査が……



サンプル



試薬分注



攪拌



反応



洗浄



測定



セット



移送

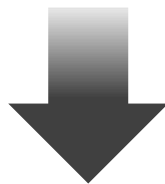


自動(オートメーション)化に伴う問題点



自動分析装置・試薬での測定における利点

- ・ 生化学的反応や抗原抗体反応による正確な測定
- ・ 安定した精確性
- ・ 迅速かつ大量検体の処理



データを疑う技師や
医師の減少

オートメーション化に伴う異常反応症例の報告数増加

自動分析における利点欠点の表裏一体性

自動分析装置のブラックボックス化

脱ブラックボックス〔装置の中身を意識する！〕

生化学自動分析装置の基礎

■ 色の変化で物質の種類と量を知る

— 比色分析法（用手法） —

試薬の吸着



試薬分注



攪拌



反応



洗浄



測定



セット



移送



JCA-ZS050



1.検体・試薬のサンプリングプローブ (分注に関する内容)

1. 検体・試薬のサンプリングプローブ



用手法との違いについて

1. 新品のチップ、新品の試験管

◆ 洗浄機構、コンタミ回避制御

2. 液量の確認

◆ 静電容量による液面検知

⇒泡であるか？液であるか？

識別(検知)は困難

3. 目視確認

◆ 血清情報(溶血、乳ビ、黄疸)

◆ フィブリン検知機構

生化学検査で取り扱う対象項目では、検体間の変動幅は小さいため、洗浄による回避

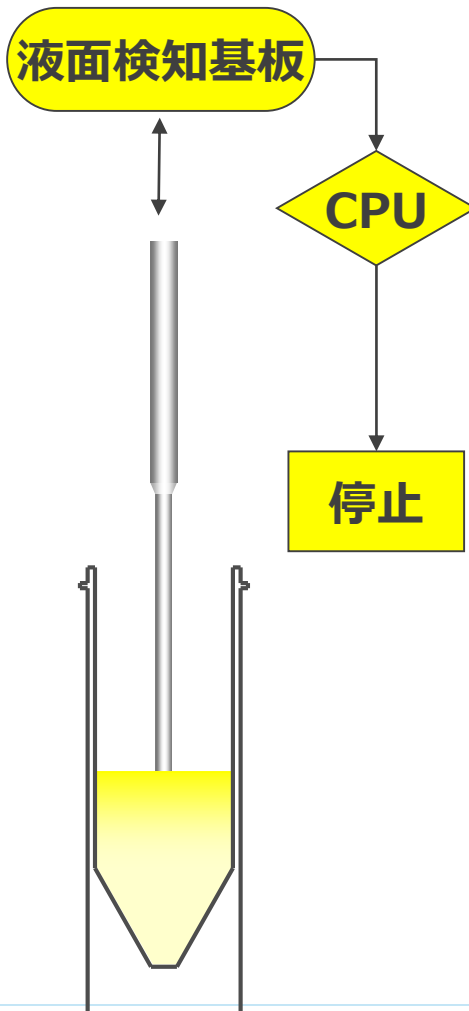
(感染症、異材料では注意！！)
コスト > キャリオーバー頻度

1. 検体・試薬のサンプリングプローブ

静電気にも注意！！

<液面検知機構>

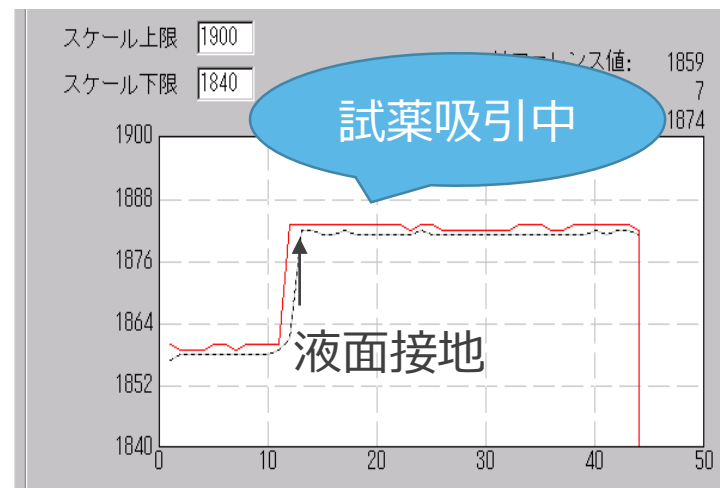
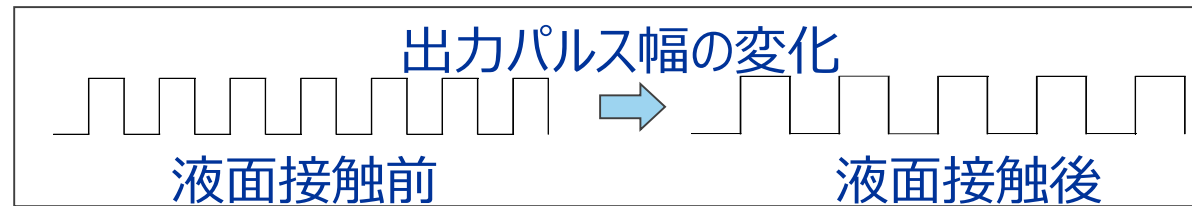
プローブの外壁の汚れや劣化→液面を誤検知し、ポカ値の出現することも



静電容量による検知

プローブをコンデンサとした発信回路を構成。

プローブが液に触れると静電容量が変化に伴う、出力パルス幅の変化をCPUで監視して液面を検知する。

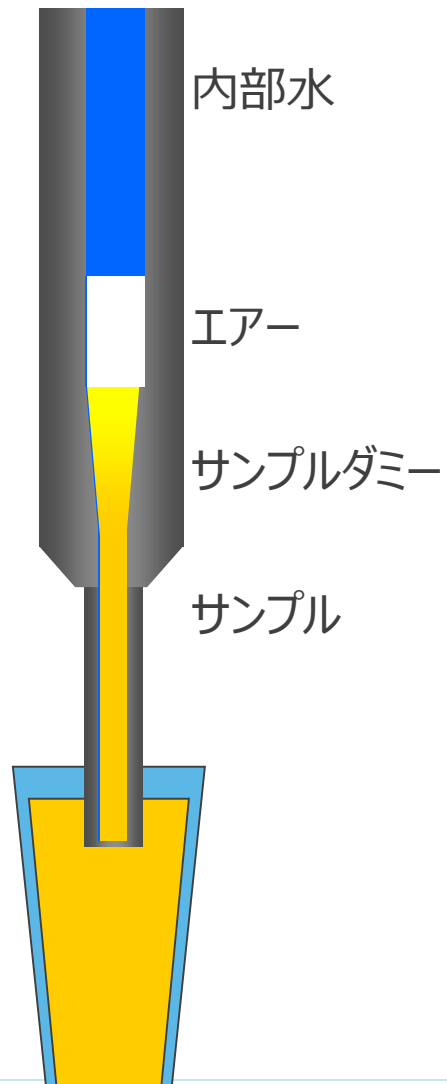


日本電子の装置では
検体ごとに検体/試薬プローブの
液面モニターの確認可能

装置で泡と液面の判断は難しい

1. 検体・試薬のサンプリングプローブ

<サンプルとサンプルダミー>



- エア
-内部水とサンプルを遮断
- サンプルダミー
-ピペット内部の希釈誤差を抑制
- 液面検知
-液面検知後規定量降下し、サンプル吸引、吸引量により更に押し込む。

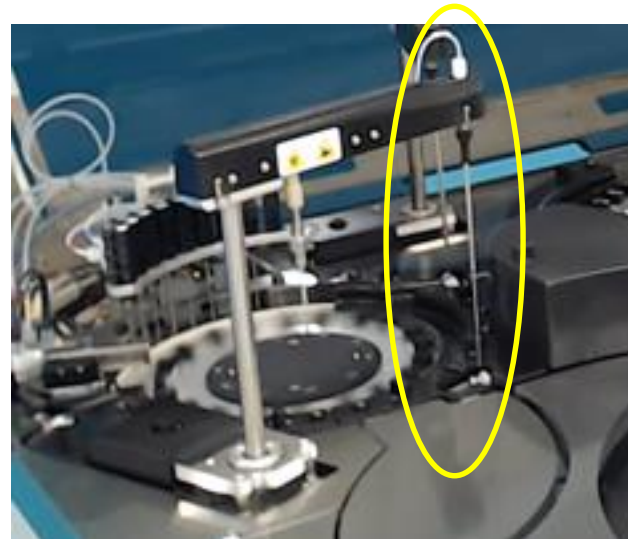
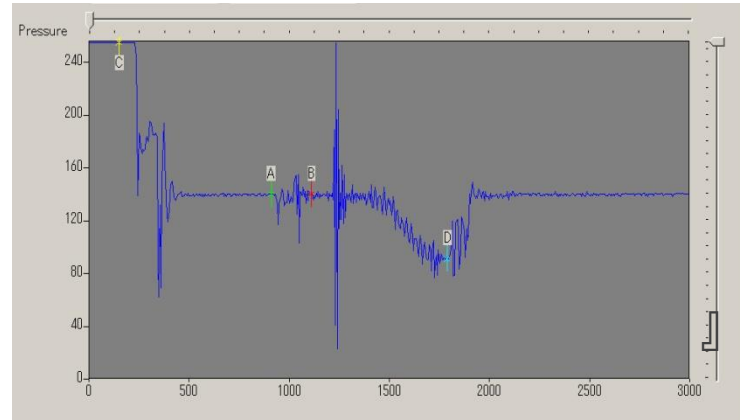
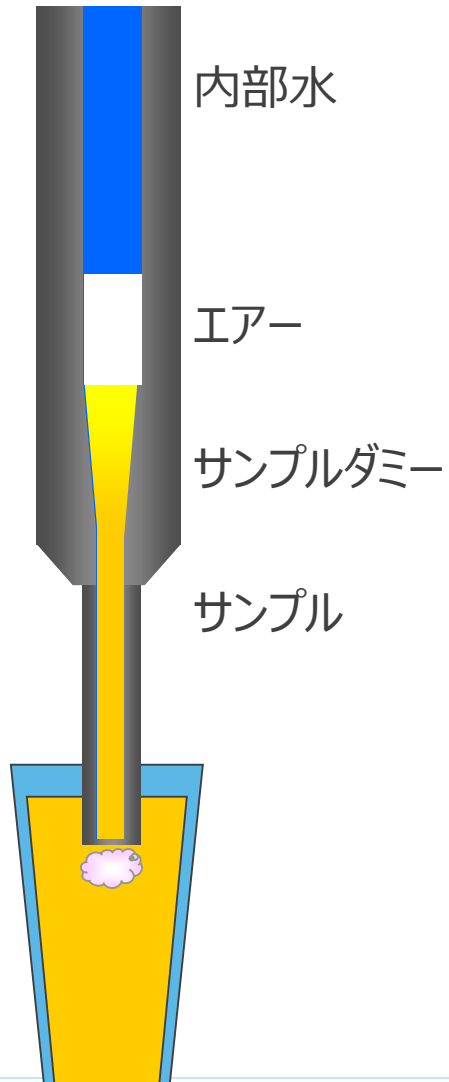


BMシリーズの検体希釈機構では、検体希釈の際にサンプルダミーが発生しません。

希釈済み後は発生
3 μ L(検体量0.6 μ L)に相当

1. 検体・試薬のサンプリングプローブ

<フィブリンの検知機構>



- フィブリン検知
サンプリングプローブ内の圧力変動により、フィブリンを検知

過去：採血管からカップに手作業により分注。

→ 自動化・高速化のために、直接サンプリングや高速凝固採血管の採用により、フィブリンのチェックの仕組みは必要。

1. 検体・試薬のサンプリングプローブ

<サンプリング異常によるデータ変動>

〇〇〇 の影響
TP、ALB、**GLU**
脂質系 (CHO、TG、HDL、LDL)

- 水の汚れ
Ca、Mg、Fe、Cuのバラつき

施設内の配管や井戸水、地下水を
使用している場合など。
※定期的に塩素

各項目の分析条件を
確認して、〇〇〇
〇〇〇 が少ない項目
を把握しておく！！

分析条件No.	21	▲ ▼	分析条件サブNo.	21 -
	21.AST	▼	サブ項目分析条件	
項目分析条件			項目名	AST
第1 試薬量	60.00		桁数	2
第2 試薬量	0.000		測定主波長	3 4 0nm ▼
第3 試薬量	30.00		測定副波長	4 1 0nm ▼
第1 試薬ロス量			分析方式	RRA ▼
第2 試薬ロス量			計算方式	STD ▼
第3 試薬ロス量			定性判定	しない ▼
第1 試薬希釈液量	0.000		定性設定	定性設定
第2 試薬希釈液量	0.000		リアルタイム補正式設定	リアルタイム補正式設定
第3 試薬希釈液量	0.000		再検分析項目条件設定	再検分析項目条件設定
血清:反応検体量	25.00		再検条件設定	再検条件設定
尿 :反応検体量	3.000			

1. 検体・試薬のサンプリングプローブ

<サンプリング異常があった場合の分注量のずれについて>

	R1	R2	反応検体量	±0.1の割合
AST	60.0	20.0	13.4	±0.7%
ALT	60.0	20.0	13.4	±0.7%
T-Bil	60.0	15.0	10.7	±0.9%
D-Bil	60.0	15.0	10.7	±0.9%
CHE	60.0	30.0	9.1	±1.1%
LAP	60.0	15.0	8.1	±1.2%
CRE	60.0	20.0	7.8	±1.3%
LDH	60.0	15.0	7.5	±1.3%
CK	60.0	15.0	7.5	±1.3%
γGT	60.0	20.0	6.7	±1.5%
AMY	60.0	20.0	6.7	±1.5%
P-AMY	60.0	20.0	6.7	±1.5%
UN	60.0	15.0	6.0	±1.7%
UA	60.0	30.0	6.0	±1.7%
TG	60.0	30.0	4.8	±2.1%
T-CHO	60.0	30.0	4.8	±2.1%
TP	60.0	0.0	4.3	±2.3%
ALP	60.0	15.0	3.6	±2.8%
HDL	60.0	20.0	3.6	±2.8%
LDL	60.0	20.0	3.6	±2.8%
Ca	60.0	0.0	2.6	±3.8%
ALB	60.0	0.0	2.6	±3.8%
GLU	60.0	24.0	2.1	±4.8%
IP	60.0	20.0	1.6	±6.3%

仮に検体の反応検体量の吸引誤差が
0.1μLあったとすると……

反応に必要な検体量の少ない項目ほ
ど、影響が出やすい。

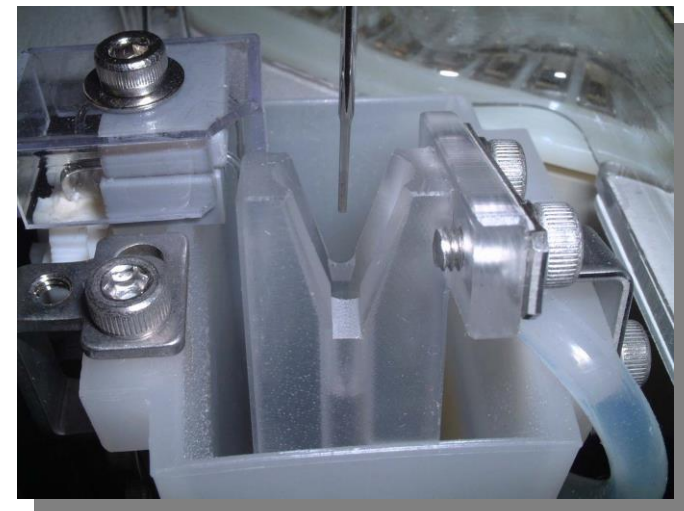
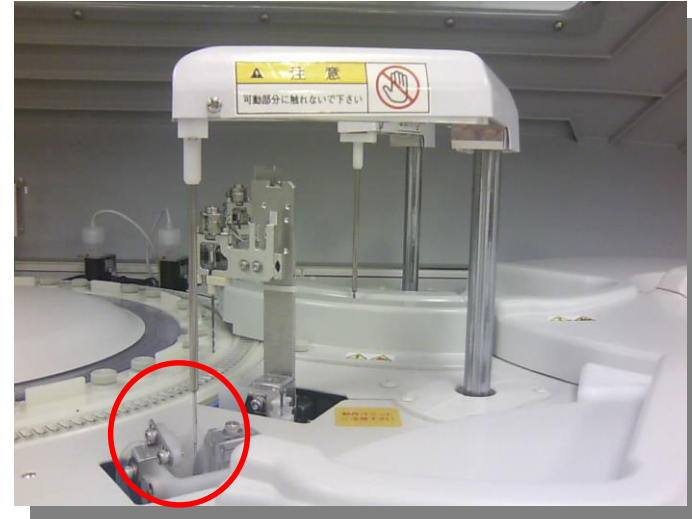


1. 検体・試薬のサンプリングプローブ

<洗浄機構>

- 内壁
 - 1) **鏡面研磨**、化学処理 等により、汚れが残りにくい工夫
 - 2) 高圧洗浄
- 外壁
 - 1) 効果的な洗浄
 - 2) 残水の残りにくい工夫
- メンテナンス
汚れや劣化による金属磨耗、腐食もあるため定期的な清掃
定期交換が必要
⇒ **キャリーオーバーの要因**

BMシリーズは
フィブリンの詰まりなどで
テグスの使用不可です。



1. 検体・試薬のサンプリングプローブ

<試薬間コンタミネーション例>

影響を与える項目	影響を受ける項目	誤差方向	回避洗剤
ALP、CK、GLU、CRP ・・・etc	Mg	正誤差	クリーン2系(酸性)
Ca	AMY	正誤差	クリーン2系(酸性)
AMY	Ca	正誤差	クリーン2系(酸性)
リン酸緩衝液	IP	正誤差	クリーン2系(酸性)もしくは水
BIL (酵素法)	CRE、UA	正誤差	クリーン1(アルカリ性)
脂質系	LIP(リパーゼ)	正誤差	クリナK(アリカリ+界面活性剤)
GA	ラテックス凝集項目	測定系に依存 (試薬劣化)	クリーン1(アルカリ性)

1. 検体・試薬のサンプリングプローブ

**事例① 複数の項目で低値乖離が発生
その原因を探求せよ！！**

1. 検体・試薬のサンプリングプローブ

事例① 複数の項目で低値乖離が発生その原因を探求せよ！！

項目名	初検	初検/再検	再検
AMY	187		186
P-AMY	117		117
TBIL	3.74		3.72
Ca	11.1		11.0
CRE	4.2		4.1
CHO	181		182
GGT	95		94
GLU	176		176
LD	200		199
Fe	182		181
UA	4.6		4.5
TP	6.9		6.9
ALB	0.9		5.1
ALP	132		648
ChE	56		284
CK	38		199.6
AST	19		91.2
ALT	20		102
BUN	9.0		45.61
IP	1.0		4.95
TG	21		108.5

ポイント①

使用している装置・試薬の特徴の把握

→日本電子BMシリーズでは検体の希釈機構(生理食塩水)を採用している。

検体の分注不良の場合：単項目で低値化は発生しにくく、複数項目で低値化が発生

◎ 検体の確認

残量，泡，フィブリンなどの可能性

■ 前半の項目が低値の場合
泡の影響など

■ 後半の項目が低値だった場合
検体の残量確認が必要

1. 検体・試薬のサンプリングプローブ

事例② CRE単項目での高値乖離が発生。その原因を探求せよ！！

1. 検体・試薬のサンプリングアプローチ

事例② CRE単項目での高値乖離が発生。 その原因を探求せよ！！

ポイント①

影響は、単項目か複数項目か？

複数項目であれば共通性は？

高値傾向？低値傾向？バラつき？

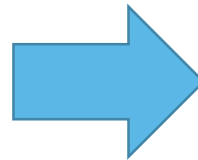
頻度は、単発？継続的？断続的？

いつから発生しているのか？

試薬交換後から・・・

キャリブ実施後から・・・

メンテナンス後から・・・



現象の確認

影響：CRE(酵素法)のみ高値傾向

頻度：断続的？継続的？

精度管理試料は通常通り

その他：試薬を交換しても、結果は変わらない。

いつから発生しているのか？？

・・・どうやら、検体希釈液を
補充後から影響ありの疑い。

1. 検体・試薬のサンプリングプローブ

事例② CRE単項目での高値乖離が発生。 その原因を探求せよ！！

CRE(酵素法)の測定原理

第1反応：検体中のクレアチンをクレアチナーゼ、ザルコシンオキシターゼおよびカタラーゼの系を利用して除去します。

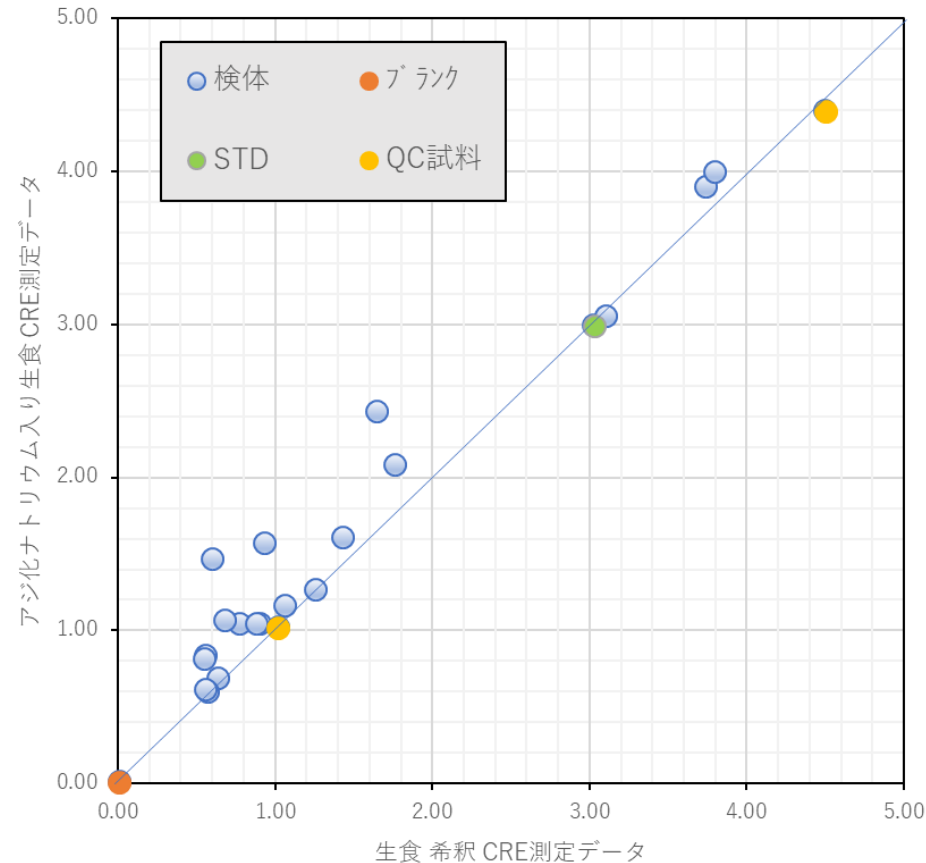
第2反応：検体中のクレアチニンはクレアチニナーゼの作用により、クレアチンとなり、さらにクレアチナーゼの作用によりザルコシンと尿素を生成します。……。

結論：アジ化ナトリウム(0.1%)を含む輸液用生理食塩水を誤って、希釈液として使用して問題となった事例

1. 検体・試薬のサンプリングプローブ

結論：アジ化ナトリウム(0.1%)を含む輸液用生理食塩水を誤って、希釈液として使用して問題となった事例

<社内検証結果>



STDやQCは影響なし、検体によっても影響の度合いが異なる。

第1反応

検体中のクレアチンをクレアチナーゼ、ザルコシンオキシターゼおよびカタラーゼの系を利用して除去します。

→ 前処理反応を阻害(アジ化ナトリウム)

試薬の添付文章

アジ化ナトリウムの添加は正誤差を与えるので使用しないで下さい。

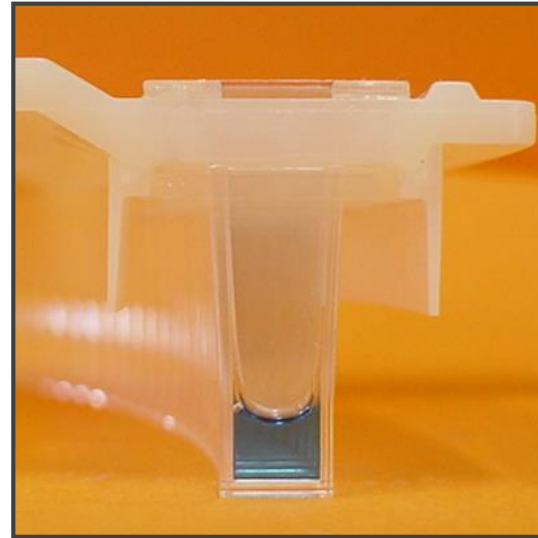
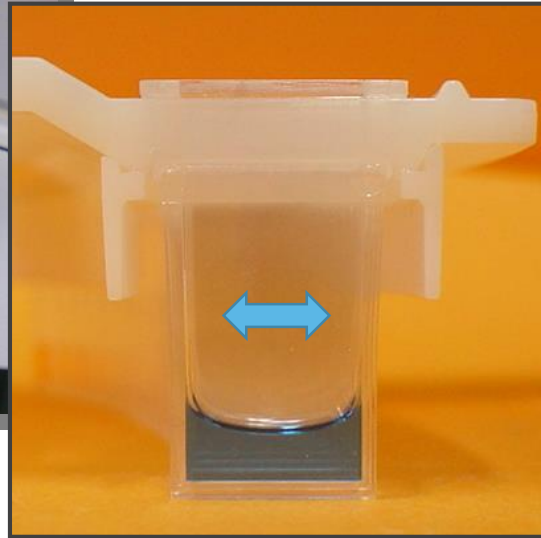
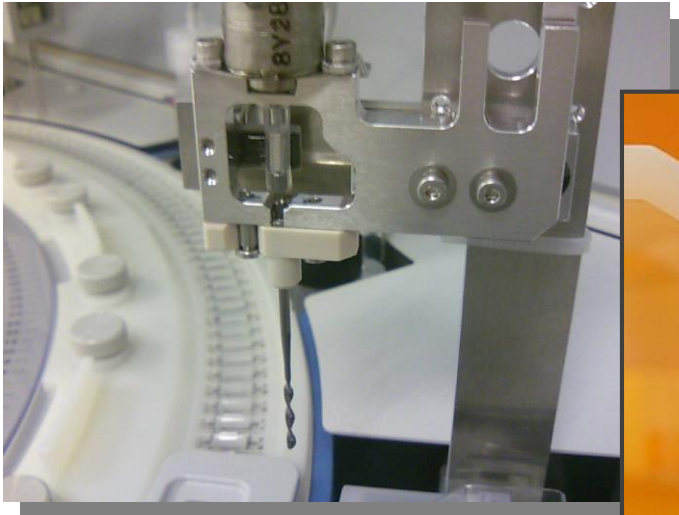
自動分析装置の取説

サンプルの希釈に使用する生理食塩水は、アジ化ナトリウム等の防腐剤が添加されていないものを使用してください。

検体・試薬の攪拌ユニット

2. 検体・試薬の攪拌ユニット

<攪拌機構>



回転数エラーの
検出機構あり

装置名	BM6010
セル長	10 mm
測光液量	80 μ L
攪拌機構	前後往復+回転

装置名	BM6050/9130/BM8000
セル長	5 mm
測光液量	50 μ L
攪拌機構	回転

2. 検体・試薬の攪拌ユニット

<洗浄機構>

正常



メンテナンス不良



スーパークリーンS 洗浄後



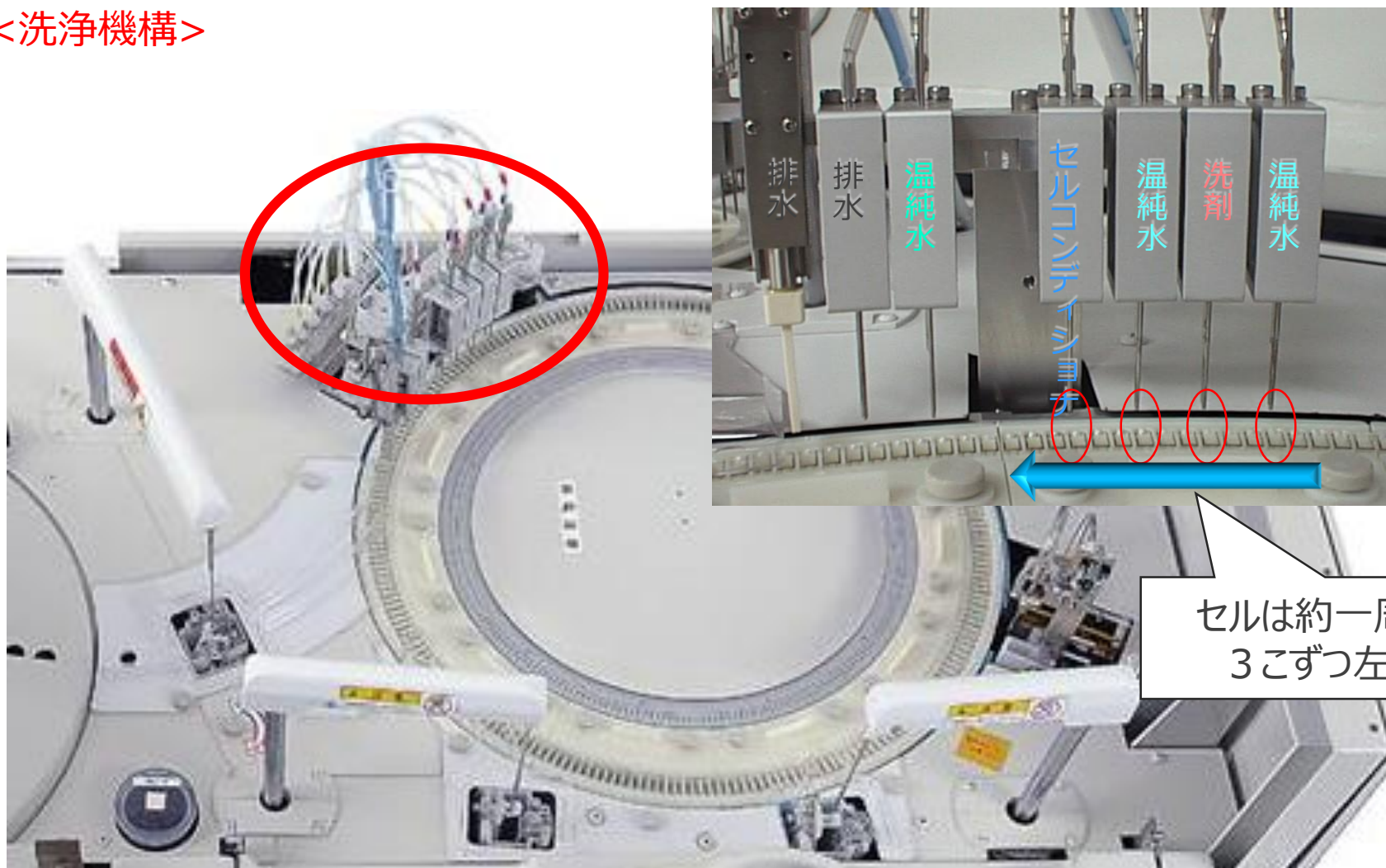
表面が平滑でなくなることによって
キャリーオーバー量増大→未知のコンタミ発生！

→ メンテナンス方法の変更を提案
アルカリ洗剤 → 次亜塩素酸系洗剤へ

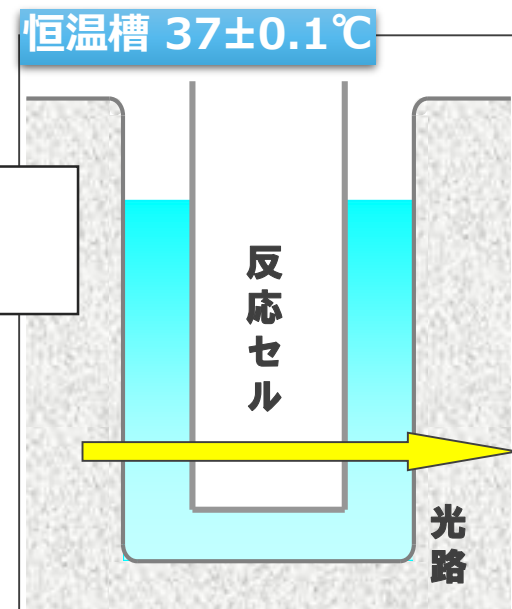
回転反応器の役割

3. 回転反応器の役割

<洗浄機構>



セルは約一周すると、
3こずつ左に移動

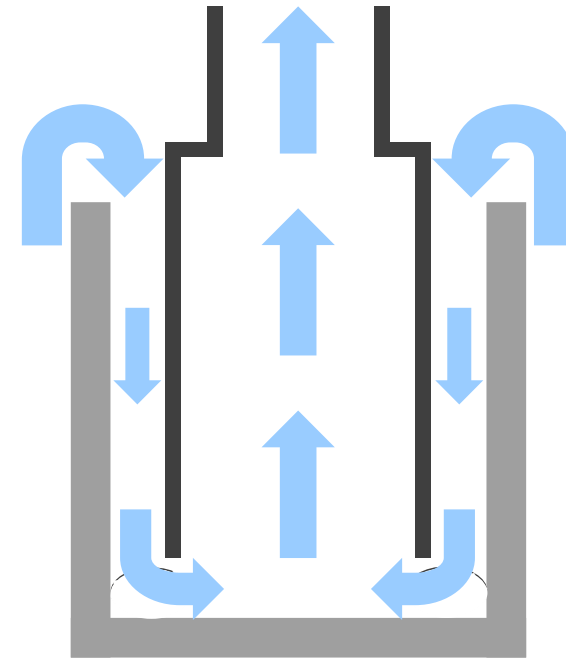
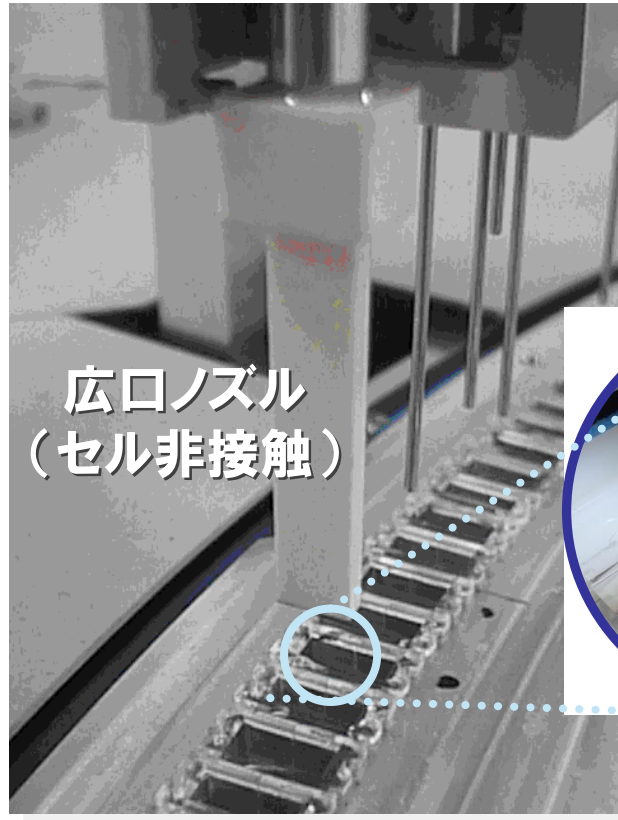


3. 回転反応器の役割

<セル乾燥機構>

◆洗浄機構の詰まりが起こると……

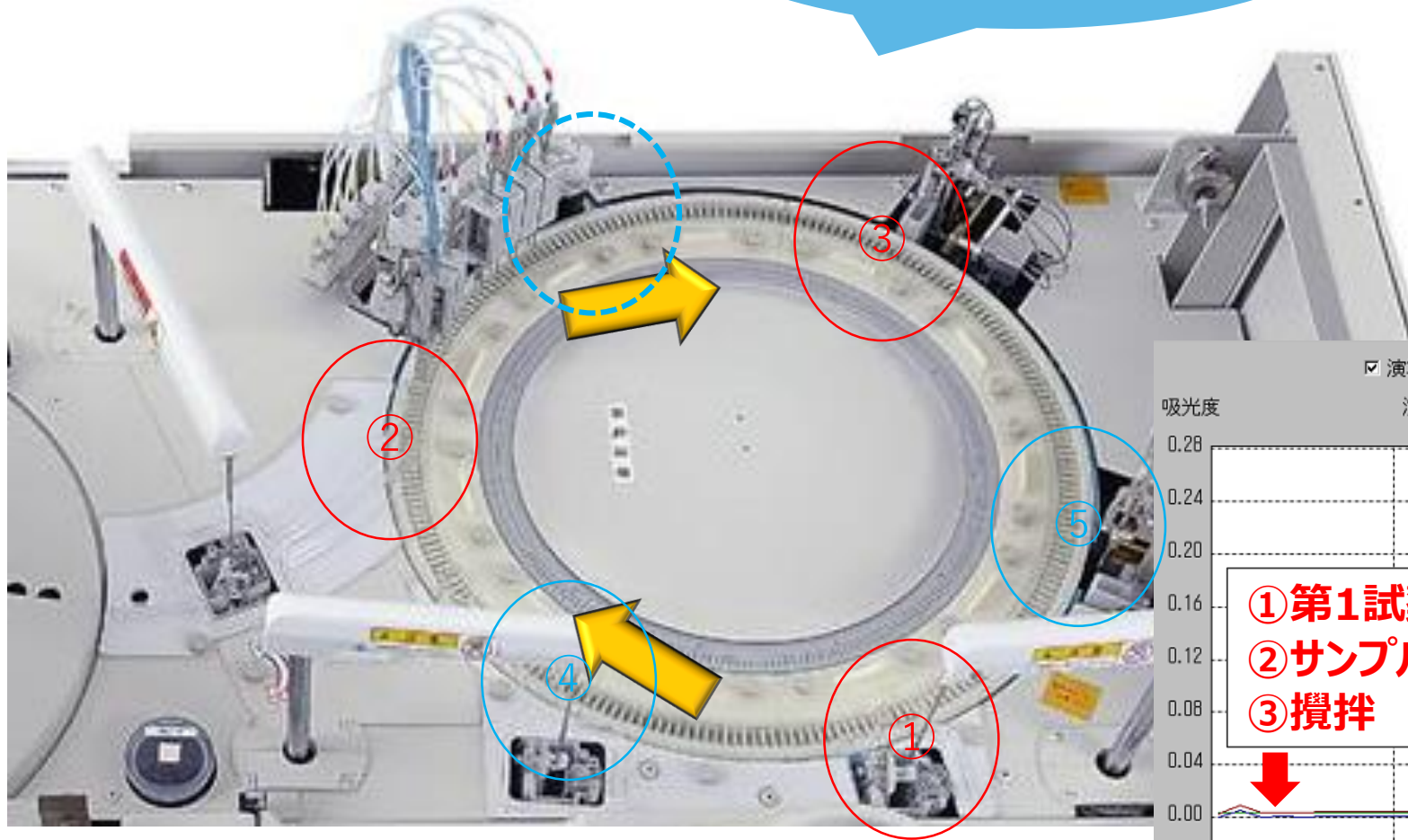
セル残水が増えるため、データのバラつきが発生する。



3. 回転反応器の役割

【JCA-BM6010の場合】

1サイクルで約1/3回転します。



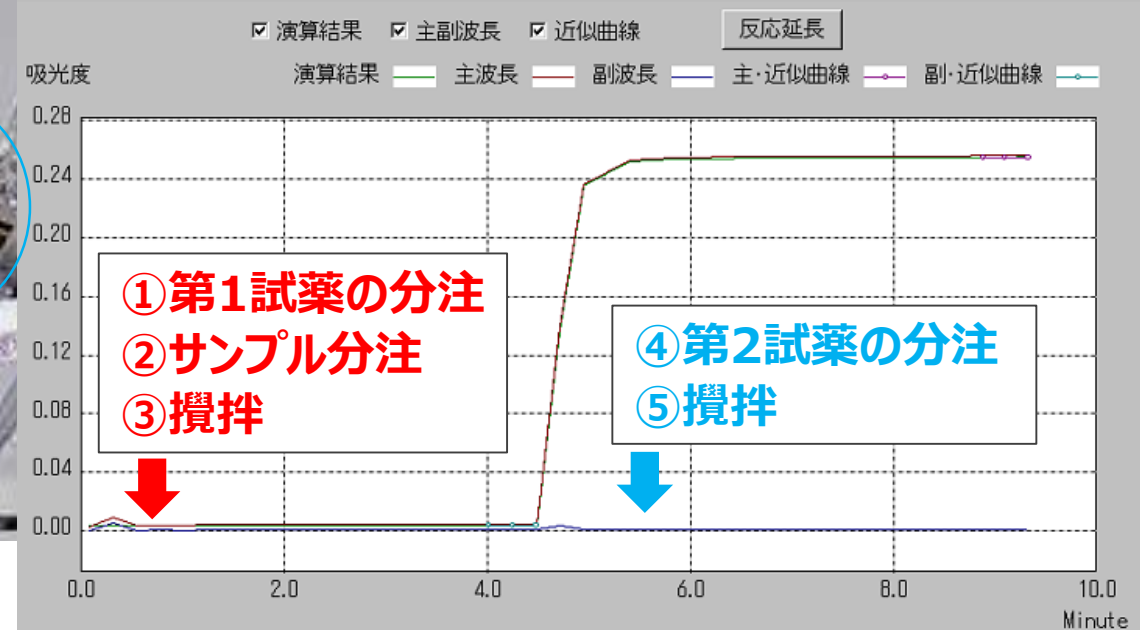
① 第1試薬の分注

↓ ② サンプル分注

↓ ③ 攪拌

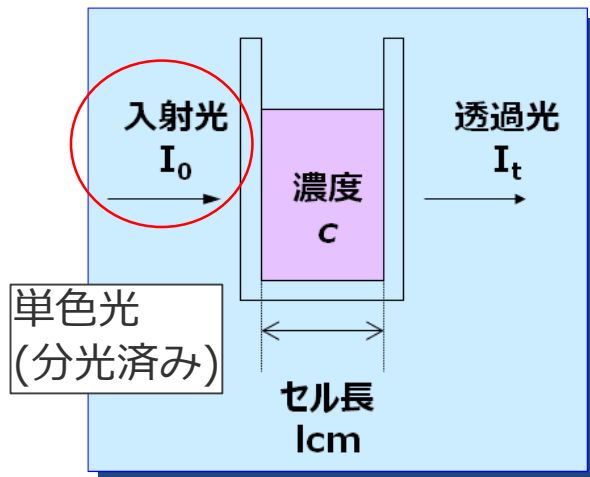
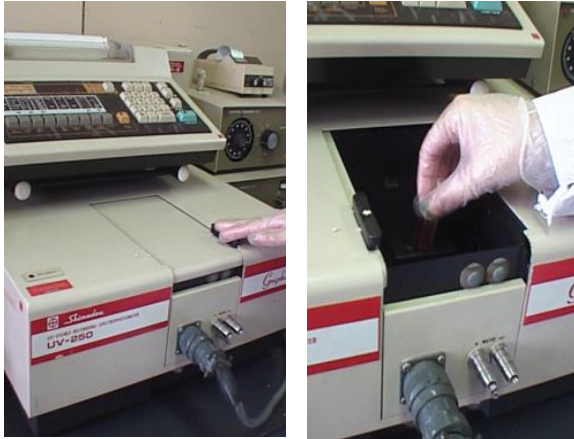
④ 第2試薬の分注(約5分後)

⑤ 攪拌

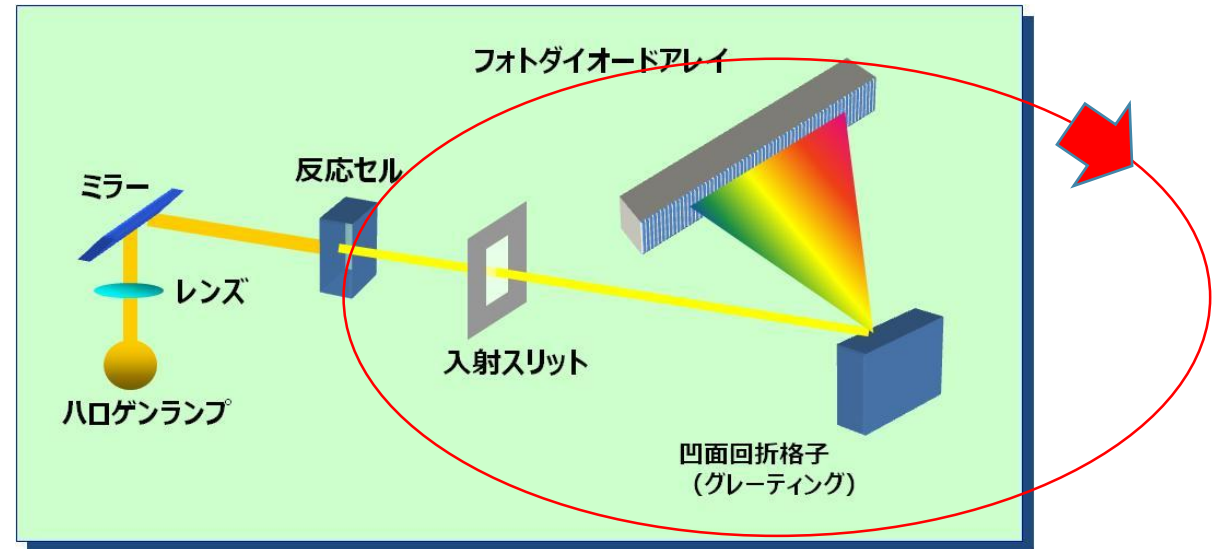


3. 回転反応器の役割

分光光度計：前分光方式



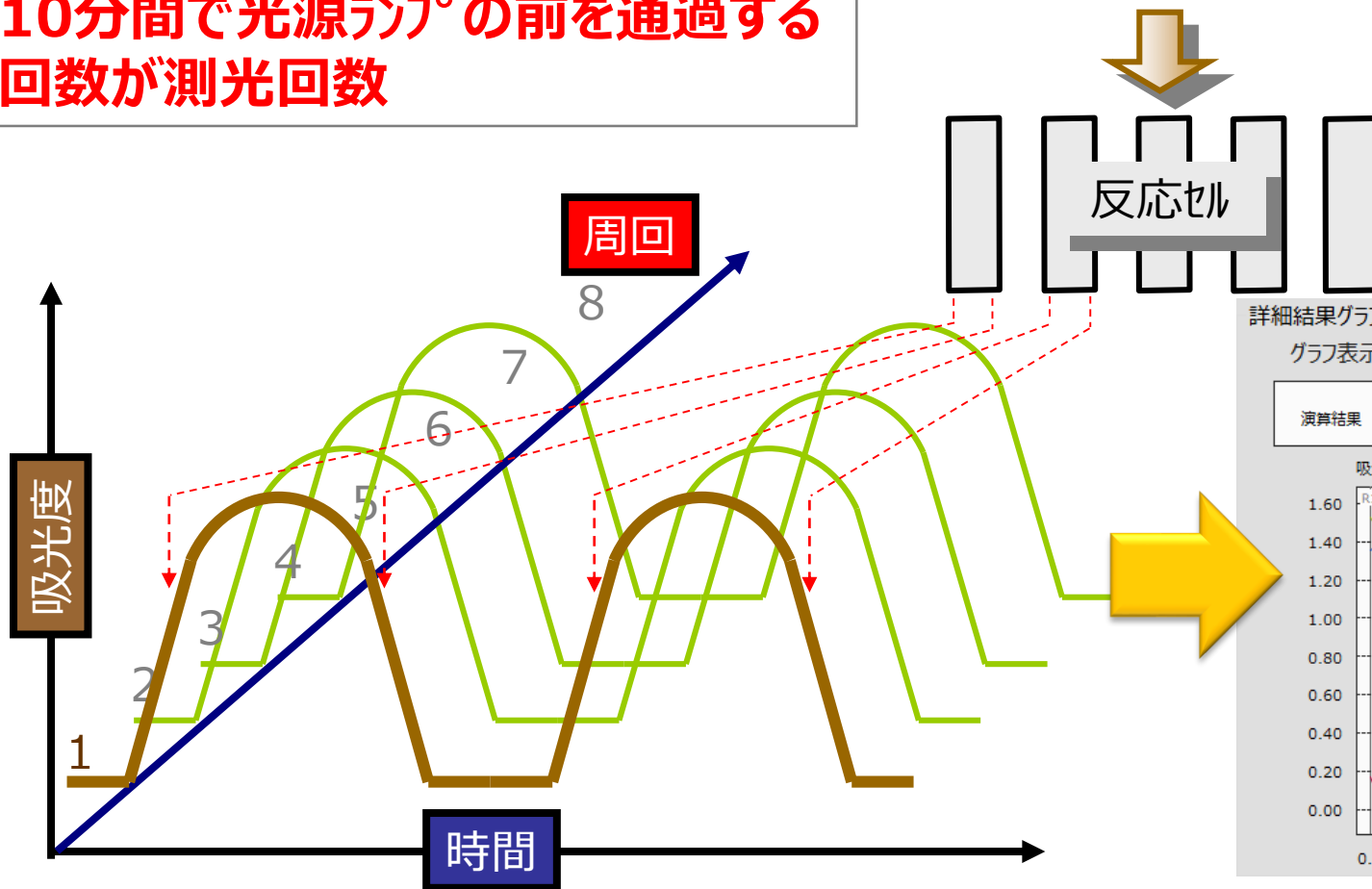
生化学自動分析装置：後分光方式



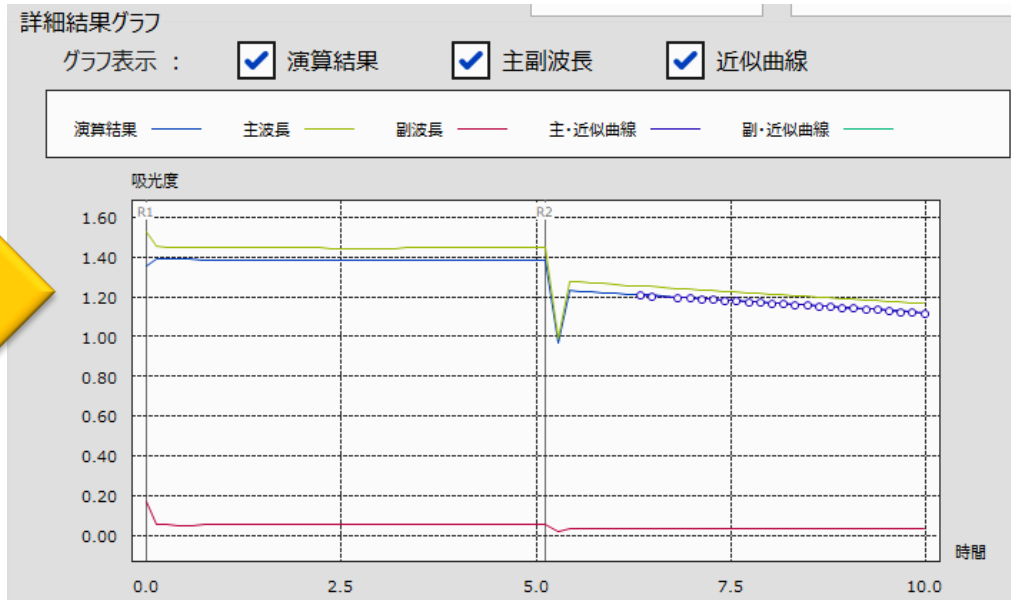
1. 光源ランプの光が反応セルで一部吸収され、回折格子に当たる
 2. 回折格子に当たった光は反射するときに各波長帯に分離
 3. 各波長帯に分離された光はフォトダイオードに当たり、電気信号に変換
- (全波長帯の信号を測定し、必要な信号を用いて演算)

3. 回転反応器の役割

10分間で光源ランプの前を通過する
回数が測光回数



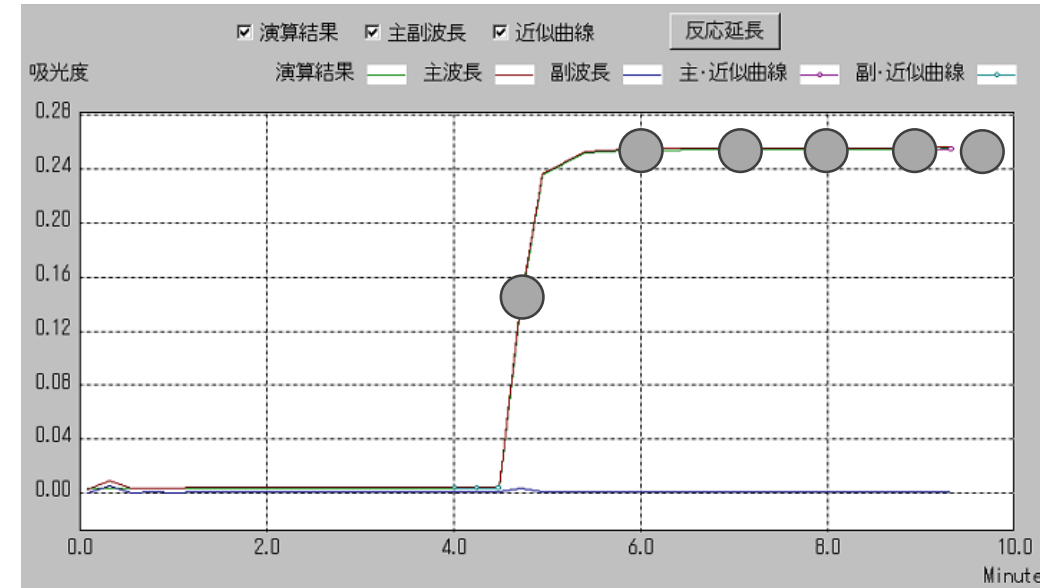
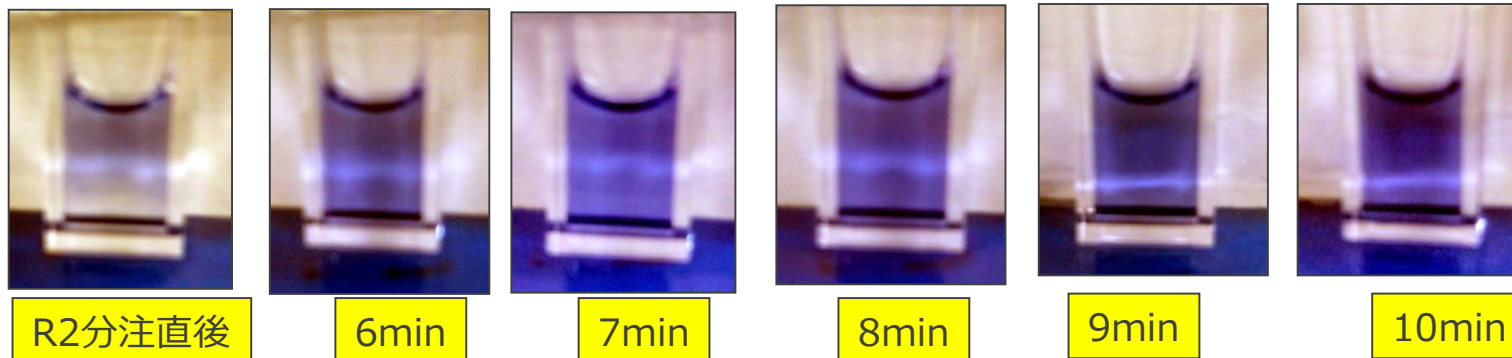
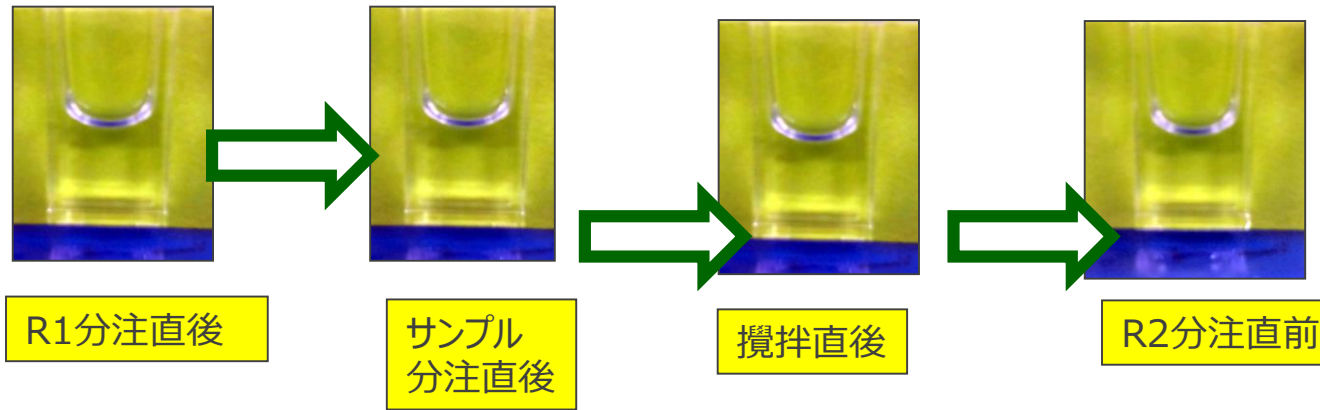
光源ランプは常時点灯
ランプ前を通過するセルは全て測光



10分間で光源ランプの周りを回転し、吸光度を取得
吸光度を繋ぎ合わせたのが反応タイムコースです。

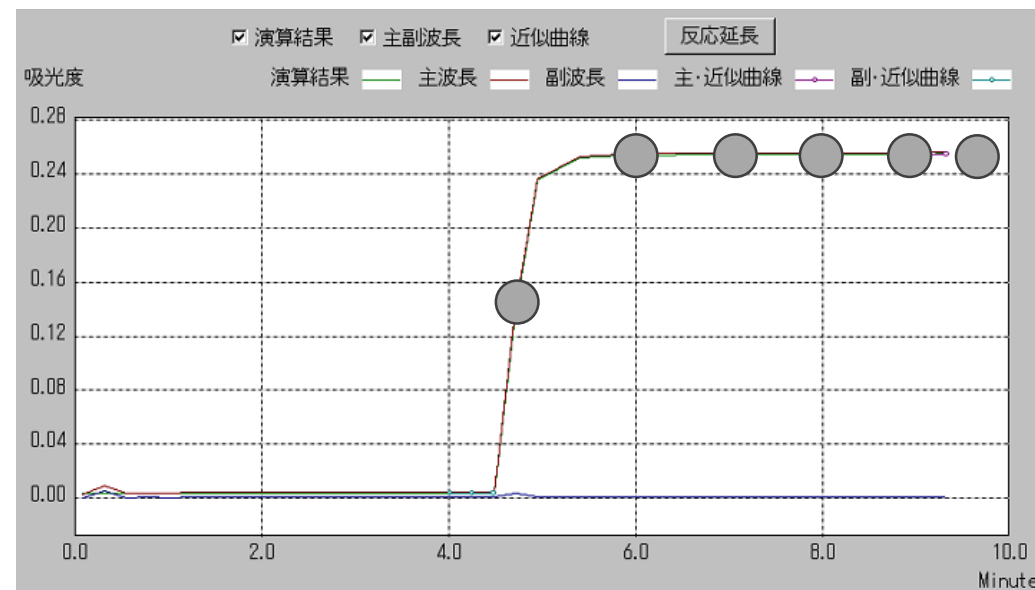
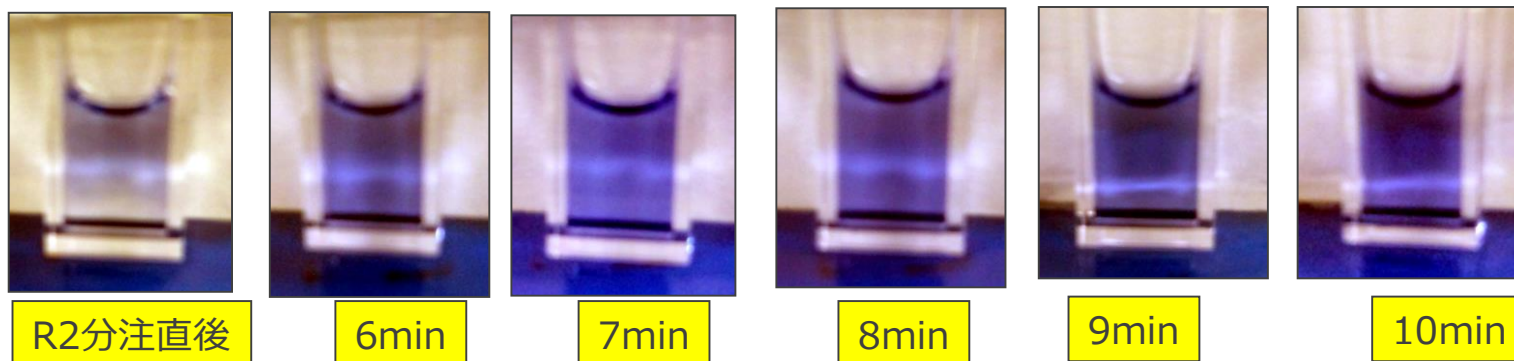
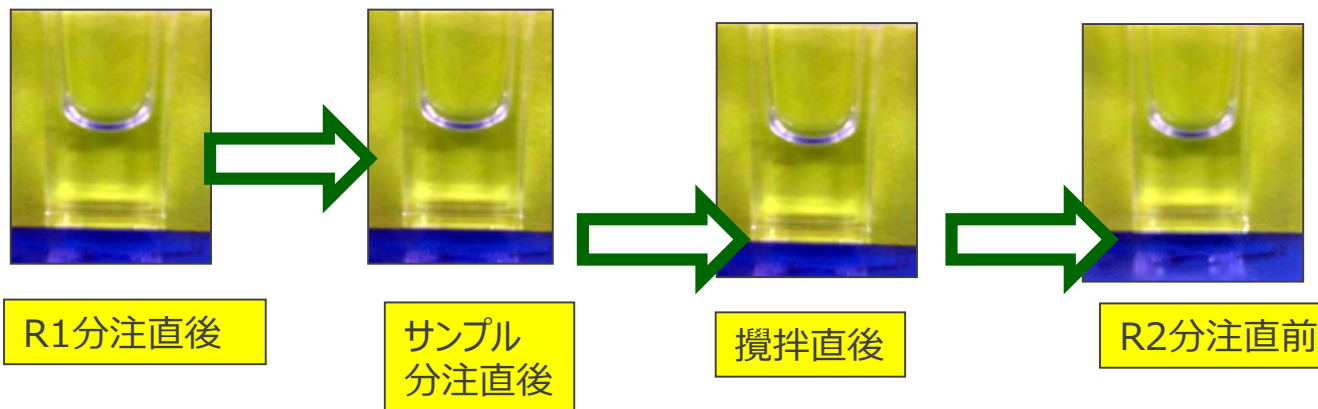
3. 回転反応器の役割

- 連続測光による反応タイムコースの作成(T-CHO)
(全ての試薬は10分で測定が完了：暗黙ルール)



3. 回転反応器の役割

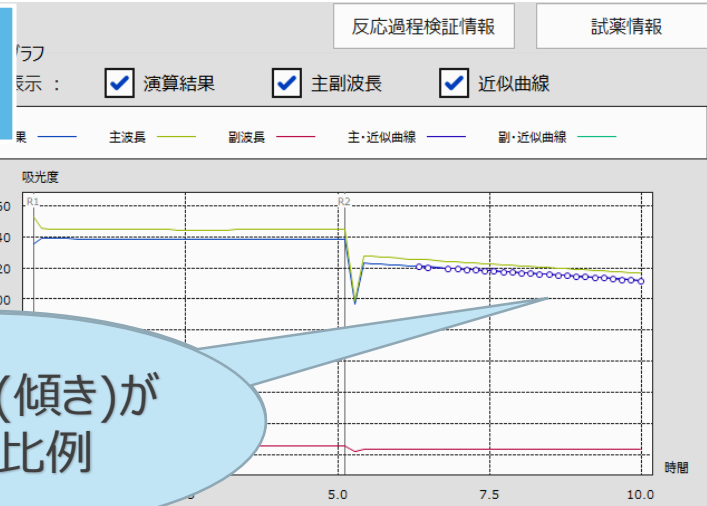
- 連続測光による反応タイムコースの作成(T-CHO)
(全ての試薬は10分で測定が完了：暗黙ルール)



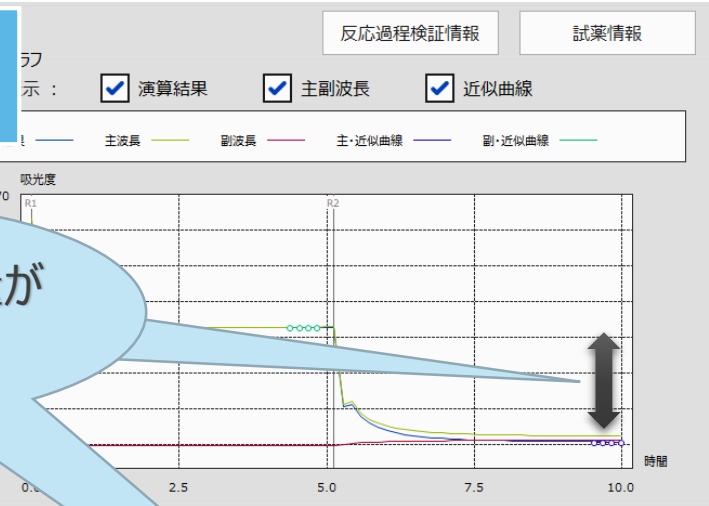
3. 回転反応器の役割

代表的な反応タイムコース（RATE法『増加・減量』・END法、『増加・減量』）

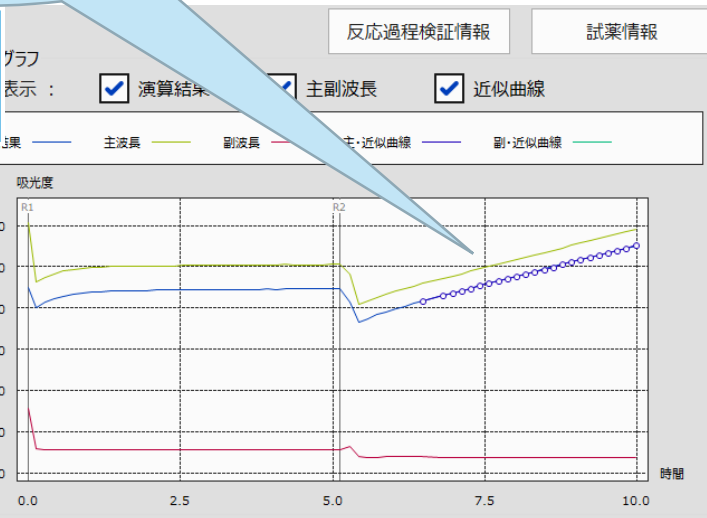
RATE法：減少
項目名：AST



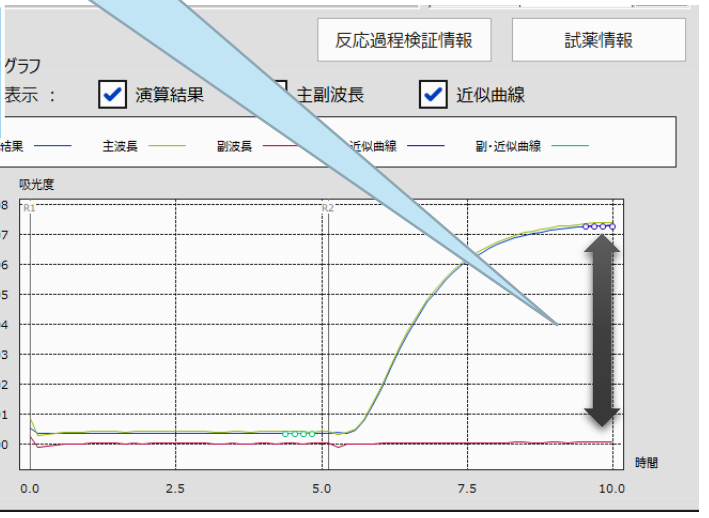
END法：減少
項目名：T-Bil



RATE法：増加
項目名：ALP



END法：増加
項目名：CRE



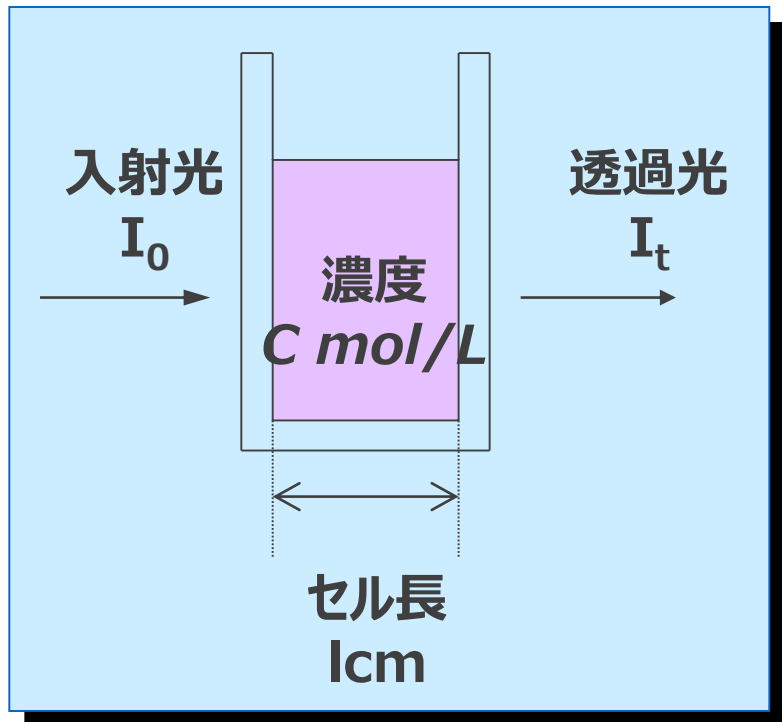
4.分光光度計による比色分析

4. 分光光度計による比色分析

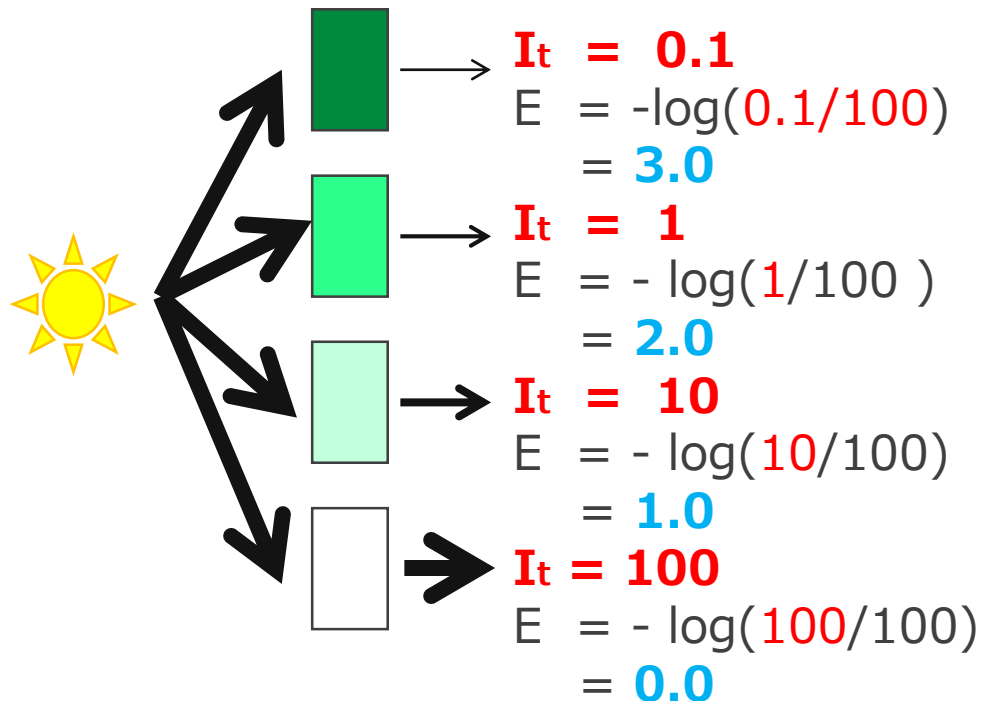
ランベルト・ベールの法則：ある物質の吸光度は、物質の濃度とセル長に比例する。

$$\text{吸光度(ABS)} = -\log(I_t/I_0) = \epsilon \cdot C \cdot l$$

吸光度は、入射光と透過光の比の対数



例) $I_0 = 100$ の時



4. 分光光度計による比色分析

■ 波長と色の関係

吸収光	測定波長(nm)	溶液の色
-	~400	無色
紫	400~435	黄緑
青	435~480	黄
緑青	480~490	橙
青緑	490~500	赤
緑	500~560	赤紫
黄緑	560~580	紫
黄	580~595	青
橙	595~610	緑青
赤	610~750	青緑
赤紫	750~	無色

NADH系を用いた酵素活性
尿素窒素

AMY、γGTP、ALPなど

ビリルビン

CRE、Mg、TPなど

Ca(OCPC法)

脂質系、UA、ALB (BCP法)など

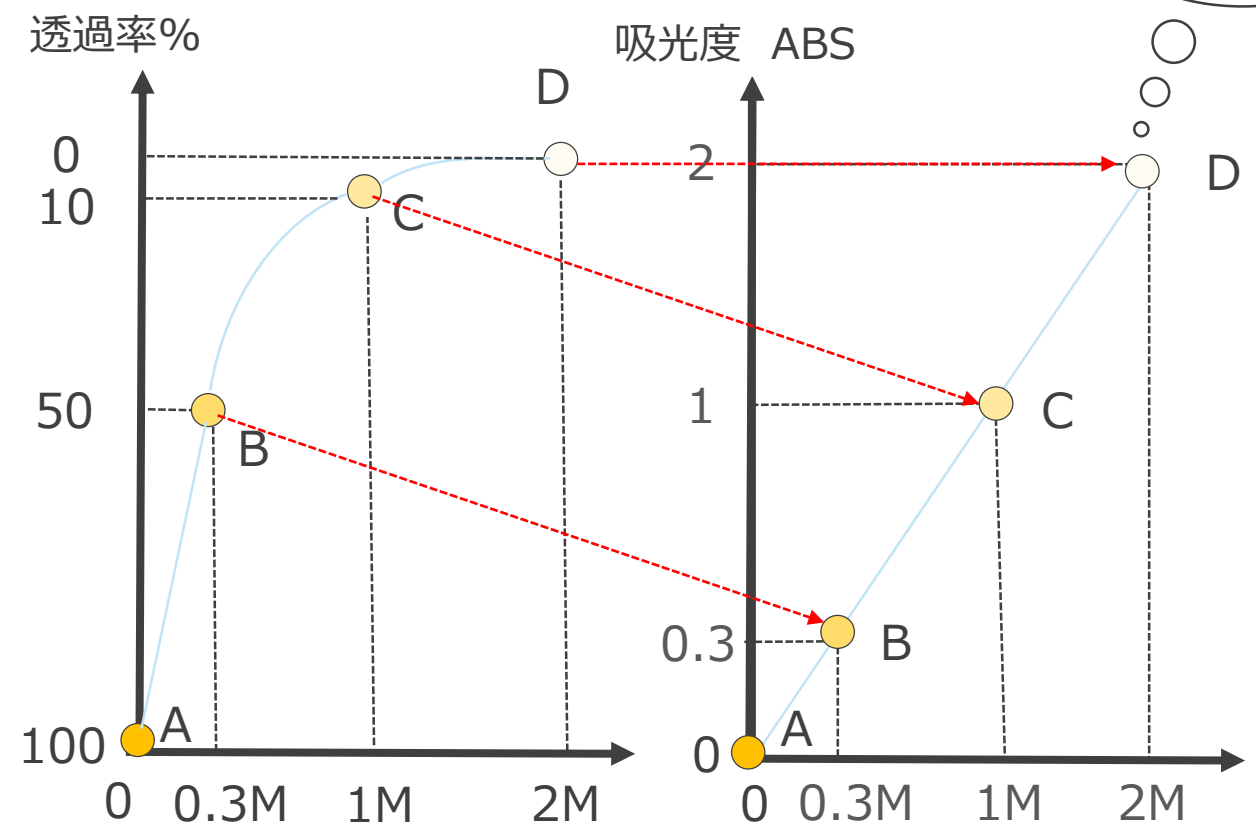
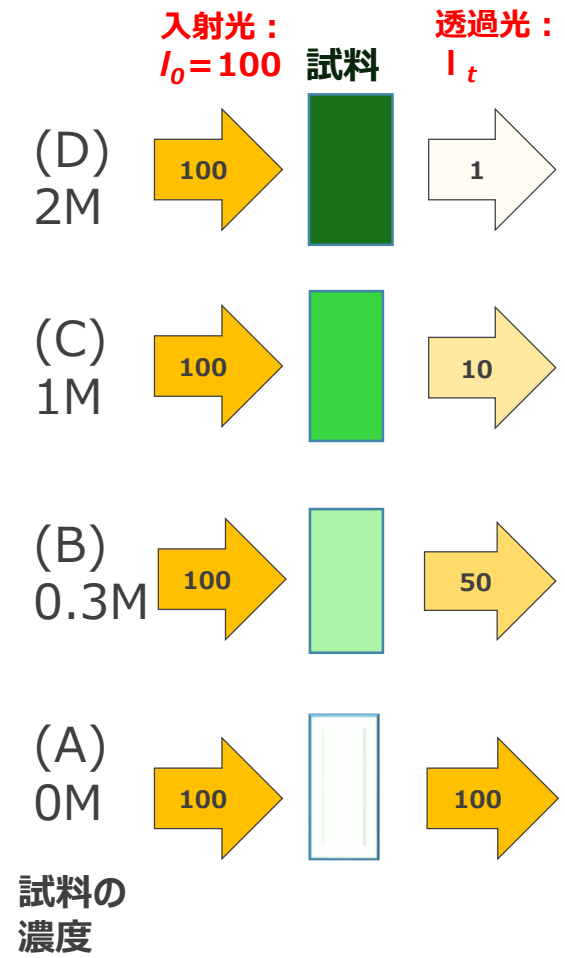
PSAPを用いたFe、UIBC

血清(溶血・Bil)の色に依存しない色素を使用し定量

4. 分光光度計による比色分析

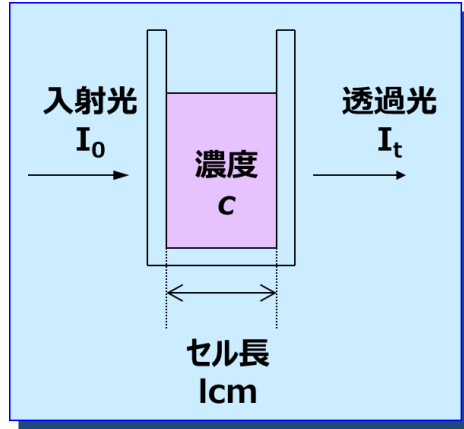
$$\text{吸光度(ABS)} = -\log(I_t/I_0) = \epsilon \cdot C \cdot l$$

吸光度が高くなるにつれて精度が悪くなるので、注意が必要



4. 分光光度計による比色分析

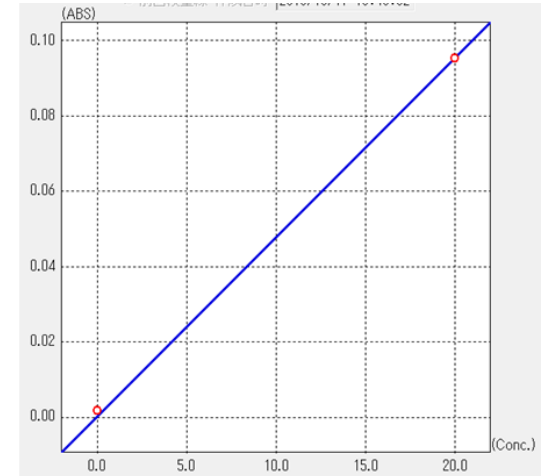
吸光度 (ABS) = $-\log(I_t/I_0) = \epsilon \cdot C \cdot l$



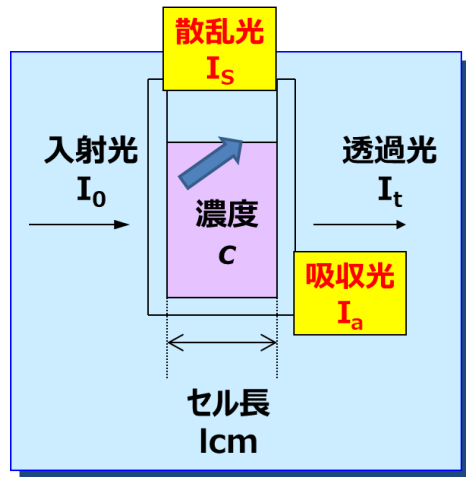
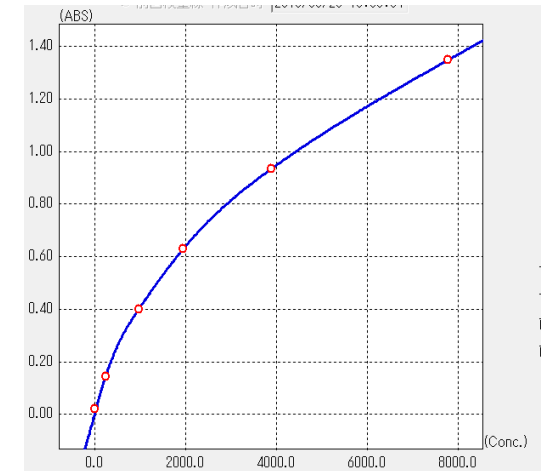
光路長 l が一定ならば、
吸光度は溶液の濃度 C に比例
 溶液の濃度 C が一定ならば、
 吸光度は光路長 l に比例する
 (ランベルト・ベールの法則)

吸光度

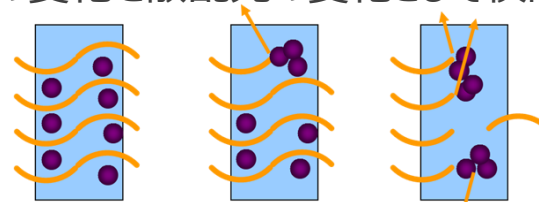
<検量線>



濃度



$I_t = I_0 - (I_s + I_a)$
 一般的な比色法では色の変化が吸収光
 の変化として検出されるが、免疫比濁法では
 濁りの変化を散乱光の変化として検出する。



透過光 小

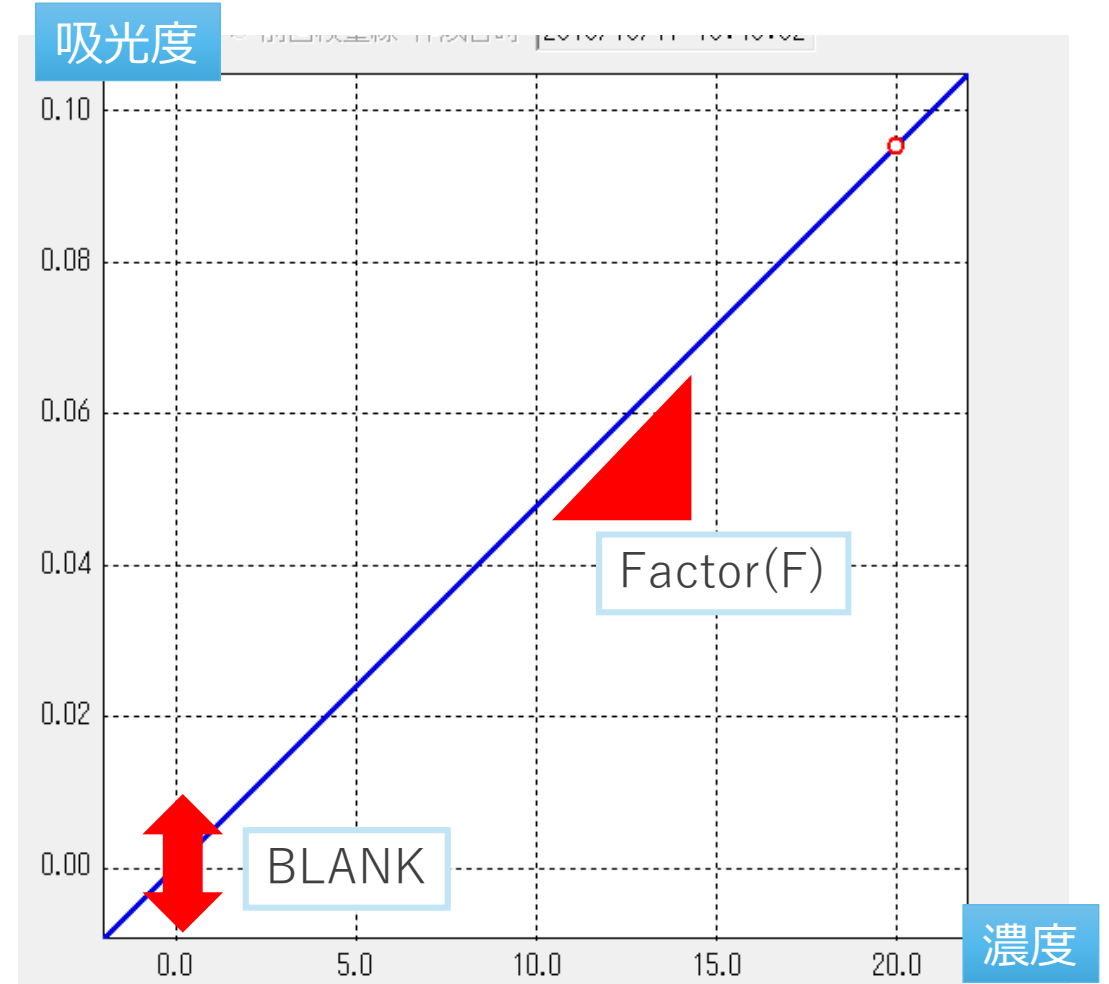
4. 分光光度計による比色分析

検量線について

キャリブレーションファクター
検量係数の算出

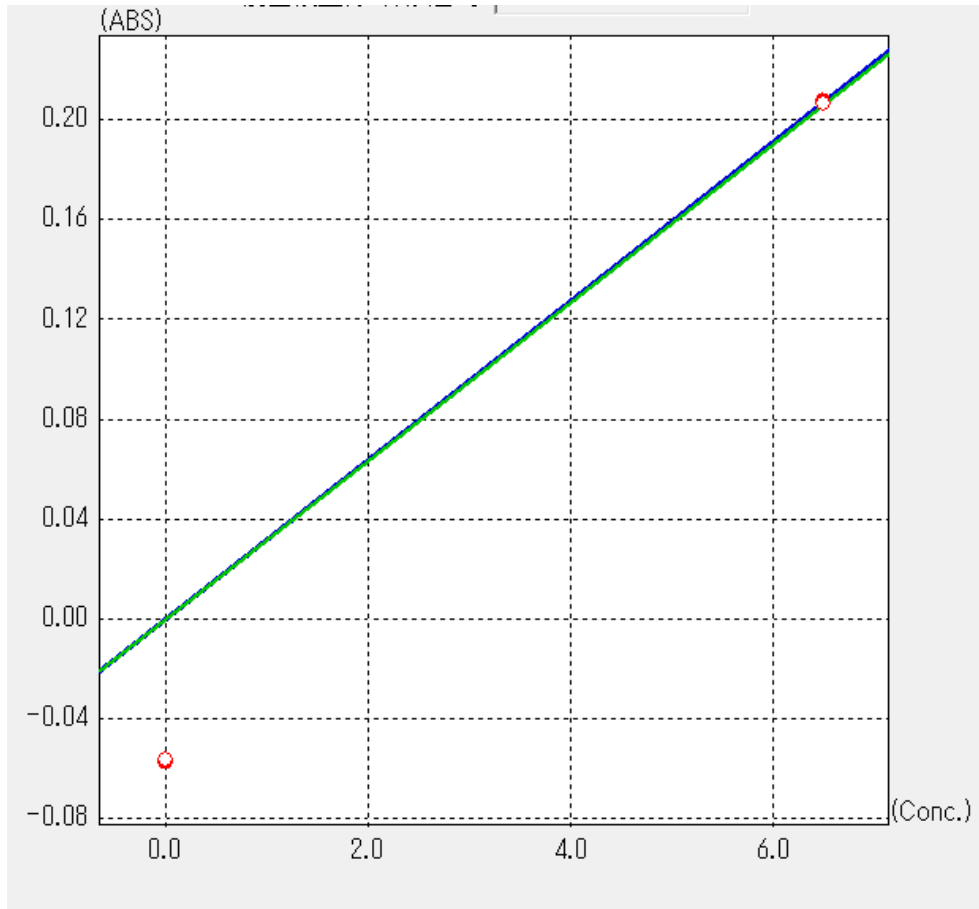
$$F = \frac{C_{\text{STD}} - C_0}{A_{\text{STD}} - A_0}$$

- C_0 : ブランク濃度
- C_{STD} : 標準液濃度
- A_0 : ブランクの吸光度変化量
- A_{STD} : 標準液の吸光度変化量



4. 分光光度計による比色分析

検量線について (項目: TP)



問題① F値を算出してください。

統計情報

	FV	MEAN	R	N	User
BLANK	0.00	-0.0568	0.0003	3	usr
STD	6.50	0.2072	0.0012	3	

F =

回答① 選択肢

a) 31.37 b) 24.62 c) 43.21 d) その他

4. 分光光度計による比色分析

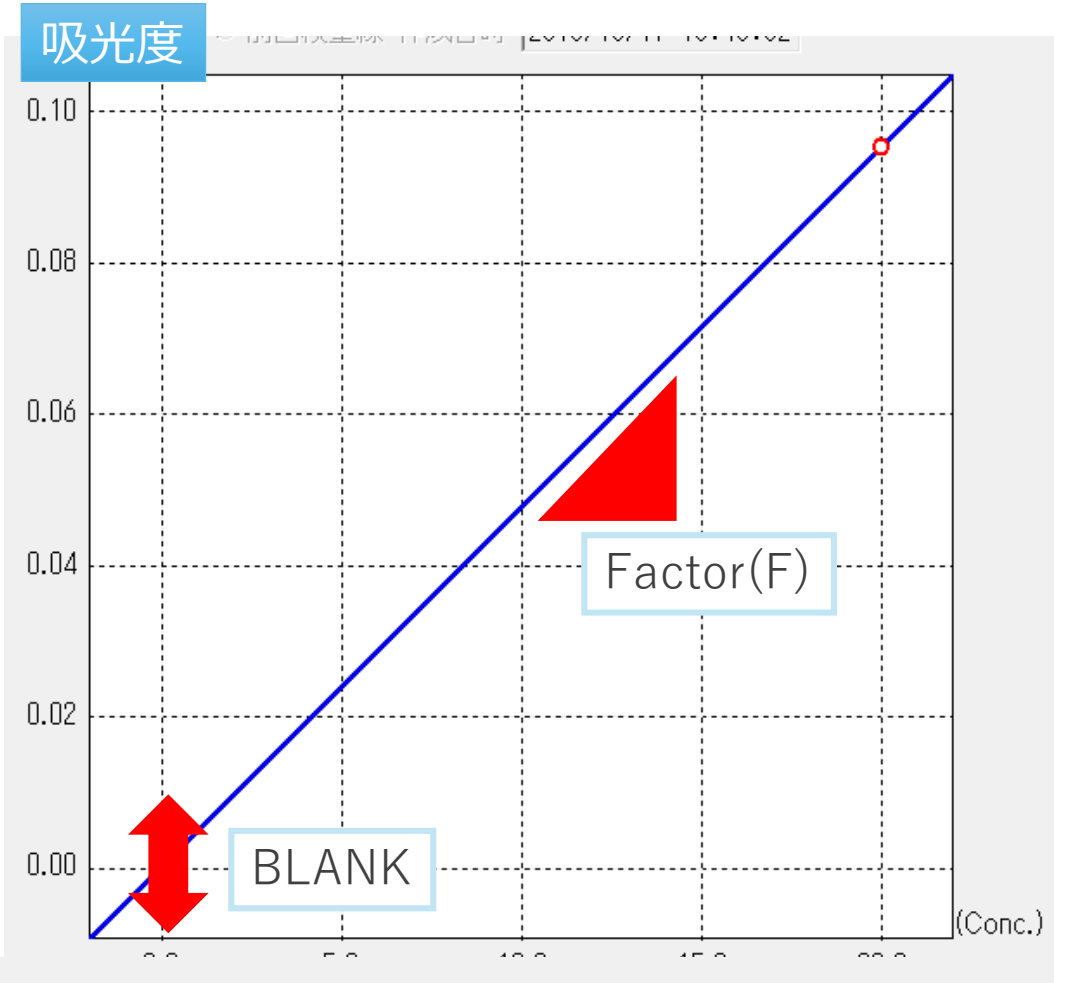
検量線について (項目: TP)

$$F = \frac{6.50 - 0}{0.2072}$$

- C_0 : ブランク濃度
- C_{STD} : 標準液濃度
- A_0 : ブランクの吸光度変化量
- A_{STD} : 標準液の吸光度変化量

$$F = 31.3706$$

試薬ブランク
引き算済み

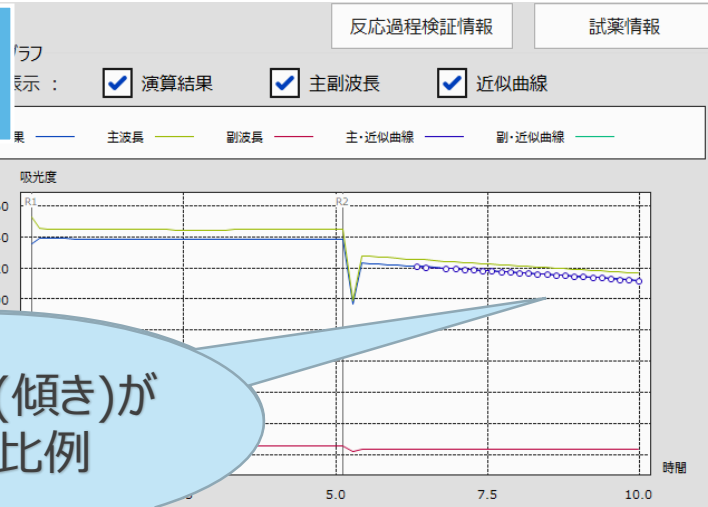


	FV	MEAN	R	N	User
BLANK	0.00	-0.0568	0.0003	3	usr
STD	6.50	0.2072	0.0012	3	

4. 分光光度計による比色分析

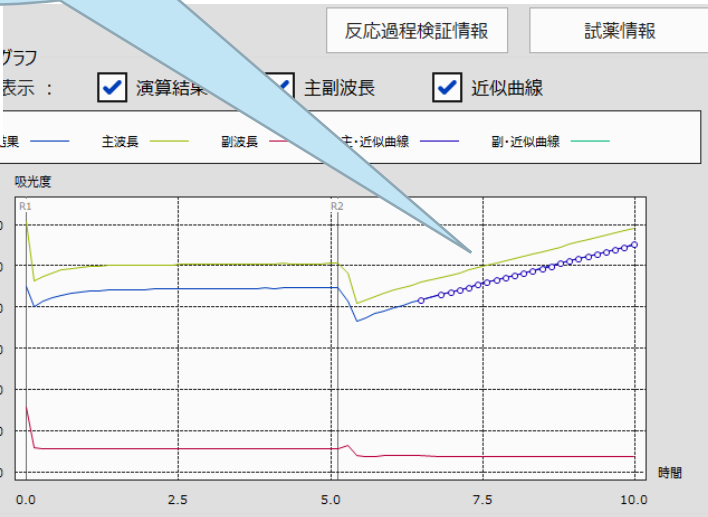
代表的な反応タイムコース（RATE法『増加・減量』・END法、『増加・減量』）

RATE法：減少
項目名：AST

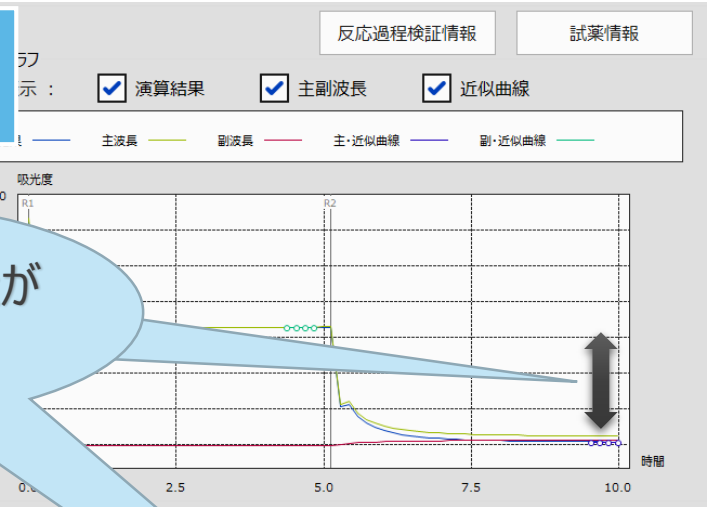


反応速度(傾き)が
濃度に比例

RATE法：増加
項目名：ALP

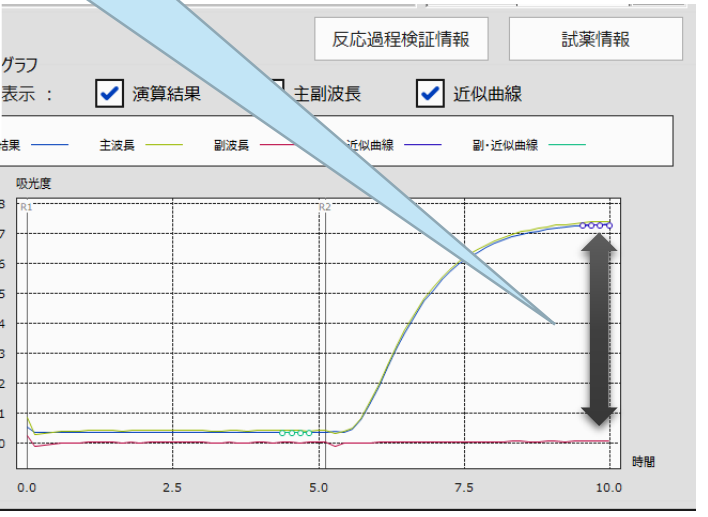


END法：減少
項目名：T-Bil



吸光度の変化量が
濃度に比例

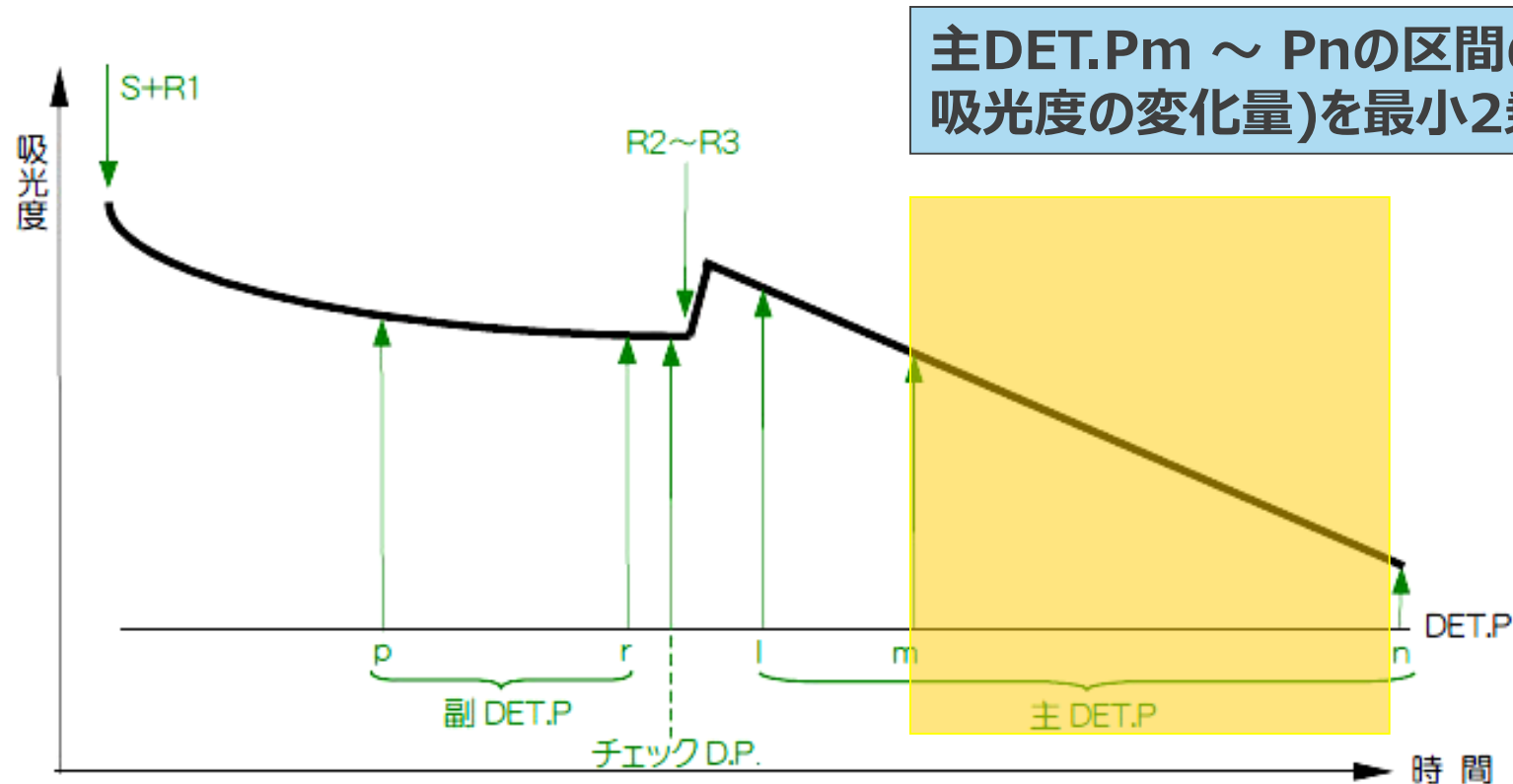
END法：増加
項目名：CRE



4. 分光光度計による比色分析

RATE法の場合

最小 2 乗法で求めた2ポイント間の1分間当たりの吸光度変化から、濃度または活性値を求める「反応速度法」です。

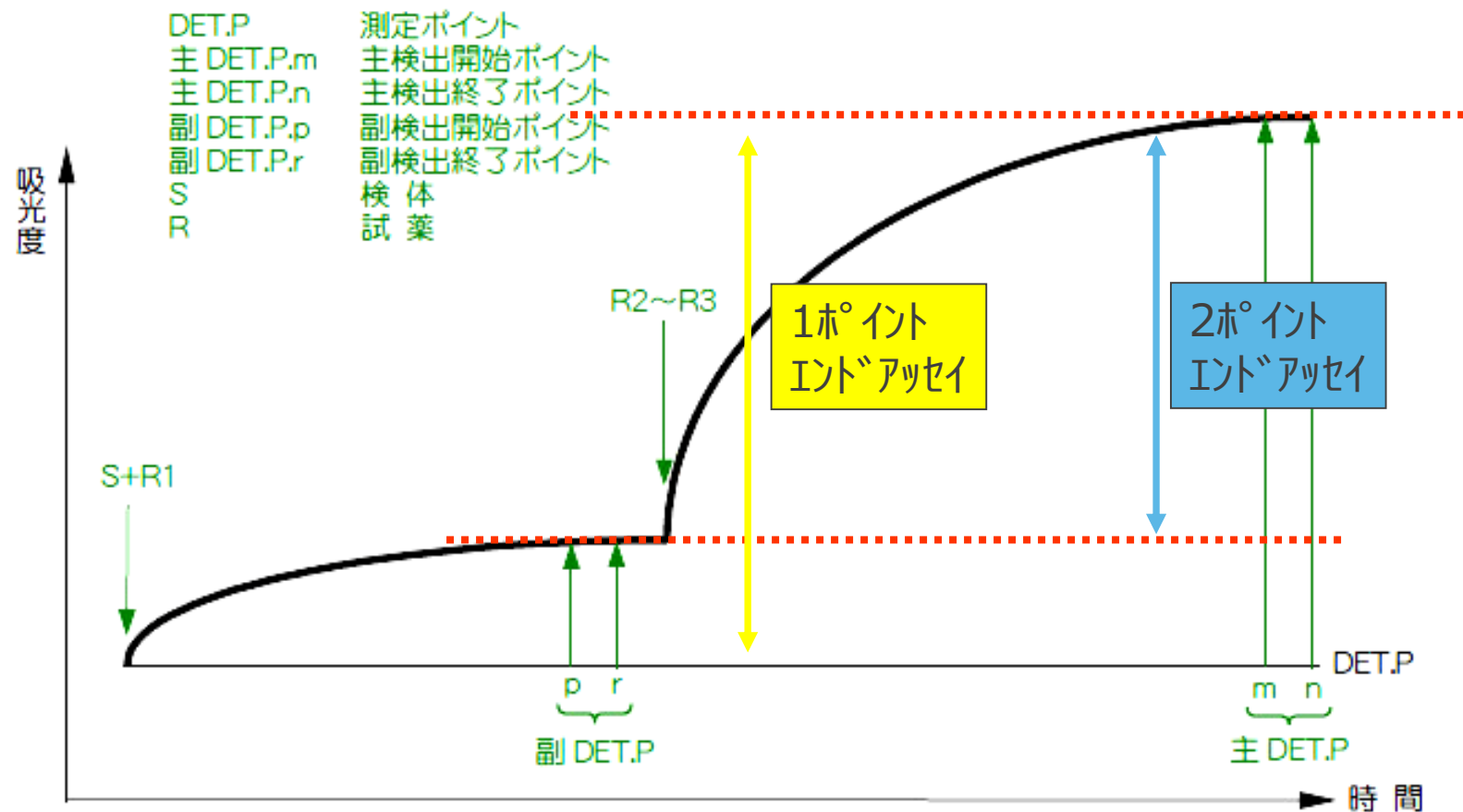


RRA 方式の一般的な反応過程(減少反応)と測定ポイントの設定例

4. 分光光度計による比色分析

END法の場合

試薬添加後、指定時間後の吸光度から濃度を求める「エンドポイント法」です。



EPA 方式の一般的な反応過程と測定ポイントの設定例

4. 分光光度計による比色分析

2波長測光について (END・RATE法 共通)

分析条件サブNo. 3 - [1]

サブ項目分析条件

項目名 AMY

桁数 0

測定主波長 410nm

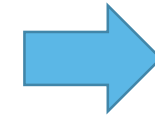
測定副波長 658nm

分析方式 RRA

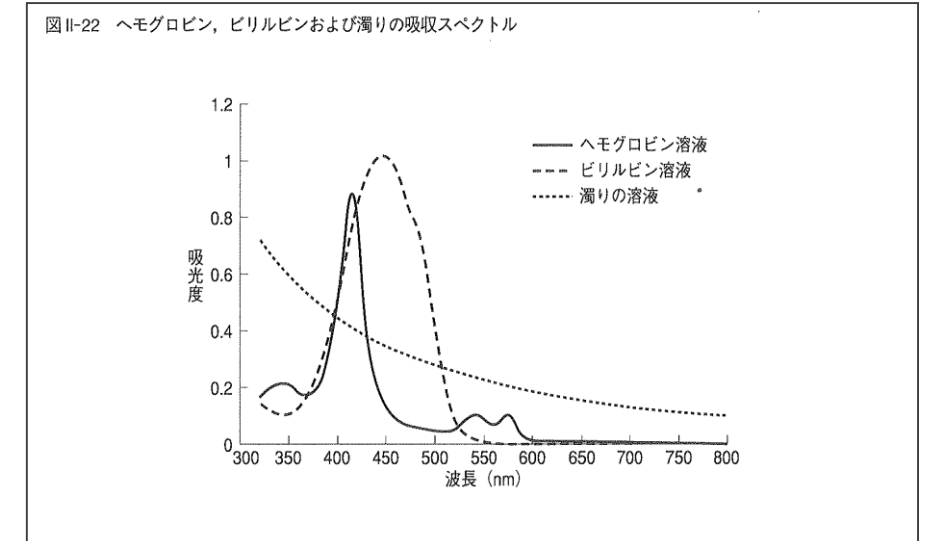
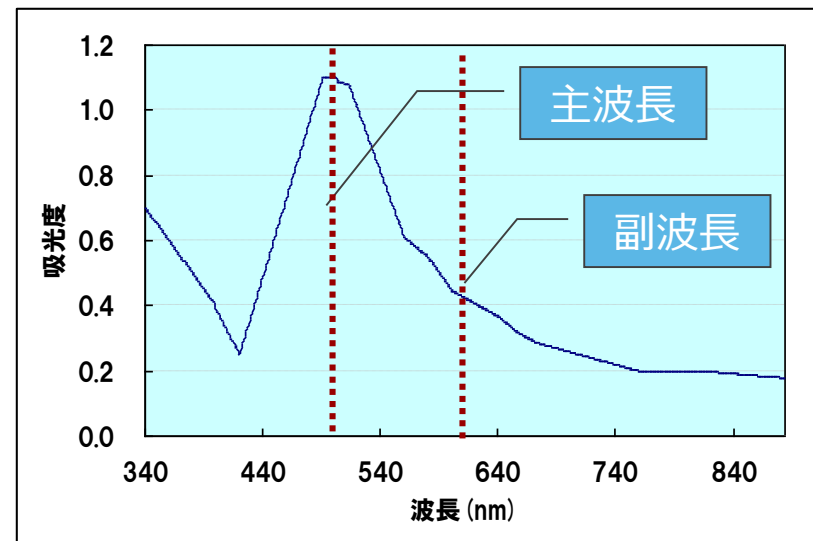
計算方式 STD

定性判定 しない

血清情報(溶血・黄疸)の影響の軽減
光量補正のため
反応容器の傷や気泡の付着、試薬の劣化
などの影響の軽減



2波長測光により
定量値を算出
することで、安定



4. 分光光度計による比色分析

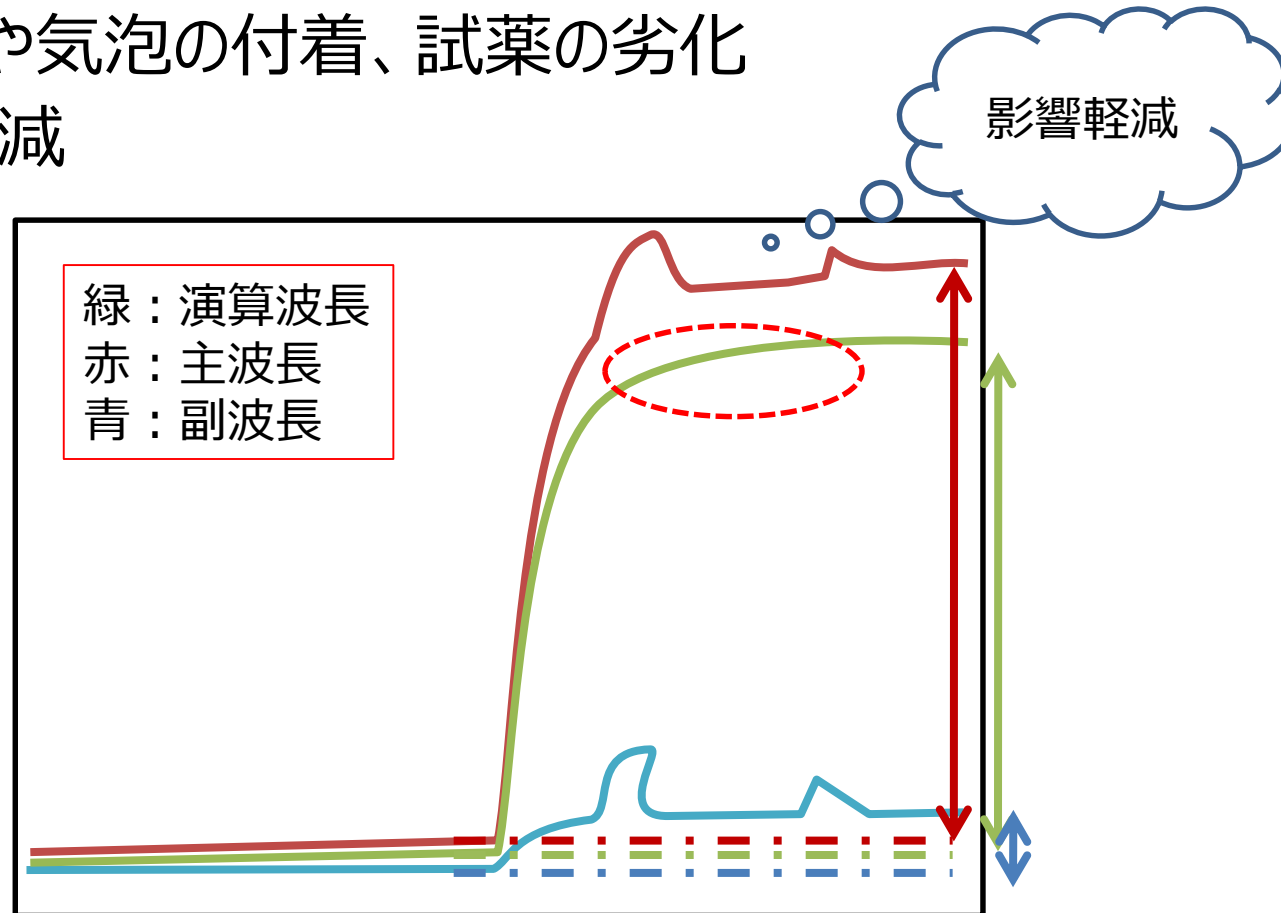
2波長測光について (END-RATE法 共通)

血清情報(溶血・黄疸)の影響の軽減

光量補正のため

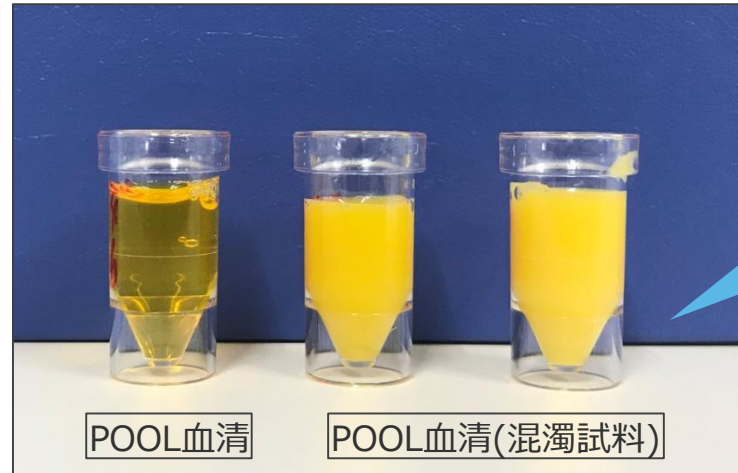
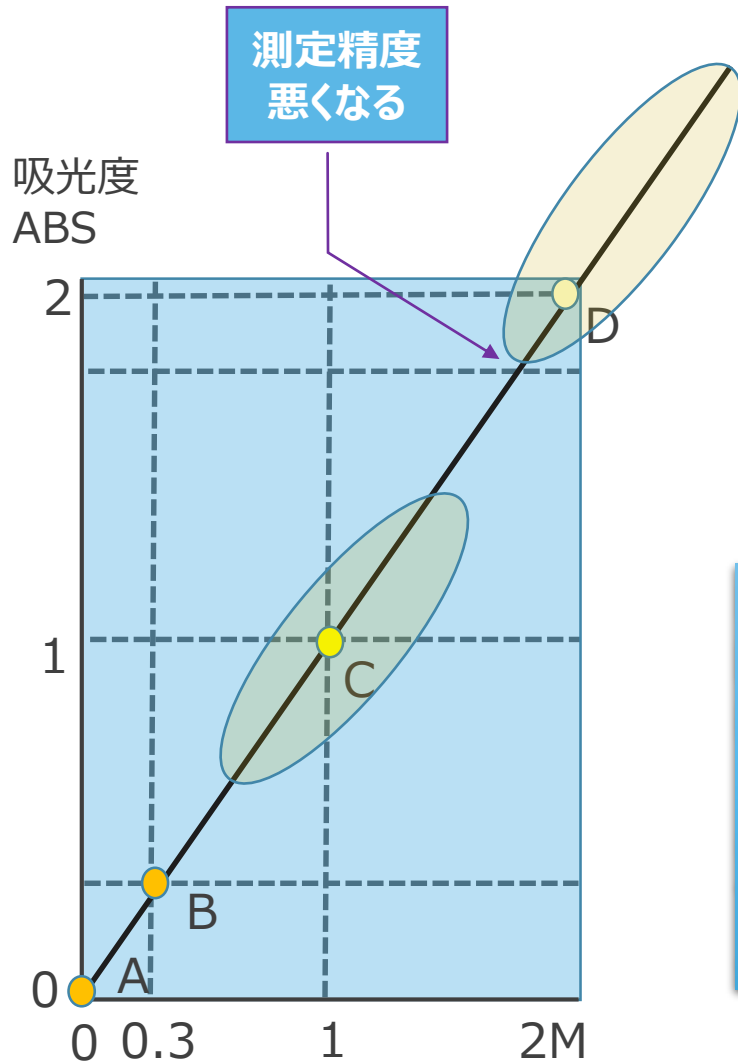
反応容器の傷や気泡の付着、試薬の劣化

などの影響の軽減



4. 分光光度計による比色分析

■ 分光光度計による比色分析の基本



単波長・2波長で
データの比較をして
みよう！！

POOL血清と混濁したPOOL血清を準備し
同時再現性の比較を行った際に、測定精度
に違いがあるかどうかの検証を実施した。

(実験方法としては、管理血清に10%の割合
で純水もしくはイントラリポスを添加する。)
イントラリポス：大豆油を主成分とした白濁の溶液

4. 分光光度計による比色分析

AST分析条件

分析条件No.	21	▲▼	分析条件サブNo.	21 -	サブ項目分析条件
項目分析条件	21.AST				
項目名	AST				
第1試薬量	60.00		桁数	2	
第2試薬量	0.000		測定主波長	340nm	
第3試薬量	30.00		測定副波長	410nm	
第1試薬ロス量			分析方式	RRA	
第2試薬ロス量			計算方式	STD	
第3試薬ロス量			定性判定	しない	
第1試薬希釈液量	0.000		定性設定		
第2試薬希釈液量	0.000		リアルタイム補正式設定		
第3試薬希釈液量	0.000		再検分析項目条件設定		
血清:反応検体量	25.00		再検条件設定		
尿 :反応検体量	3.000				

γGTP 分析条件

分析条件No.	23	▲▼	分析条件サブNo.	23 -	サブ項目分析条件
項目分析条件	23.γGT				
項目名	γGT				
第1試薬量	60.00		桁数	2	
第2試薬量	0.000		測定主波長	410nm	
第3試薬量	15.00		測定副波長	571nm	
第1試薬ロス量			分析方式	RRA	
第2試薬ロス量			計算方式	STD	
第3試薬ロス量			定性判定	しない	
第1試薬希釈液量	0.000		定性設定		
第2試薬希釈液量	0.000		リアルタイム補正式設定		
第3試薬希釈液量	0.000		再検分析項目条件設定		
血清:反応検体量	10.50		再検条件設定		
尿 :反応検体量	3.000				

注目ポイント①

混濁(濁り)の影響は短波長の項目ほど影響が大きい

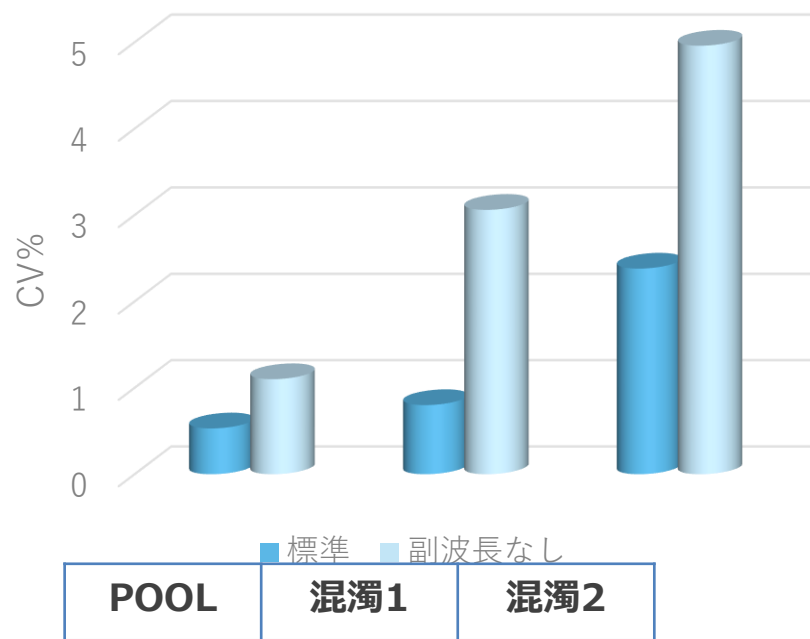
注目ポイント②

副波長の重要性

4. 分光光度計による比色分析

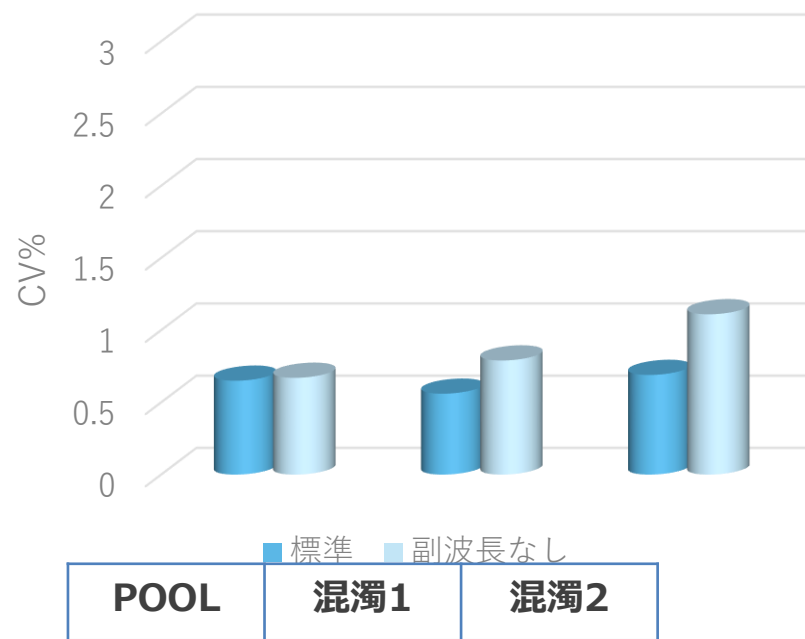
AST分析条件

	標準パラ	副波長なし
主波長	340 nm	340 nm
副波長	410 nm	***



γ GTP分析条件

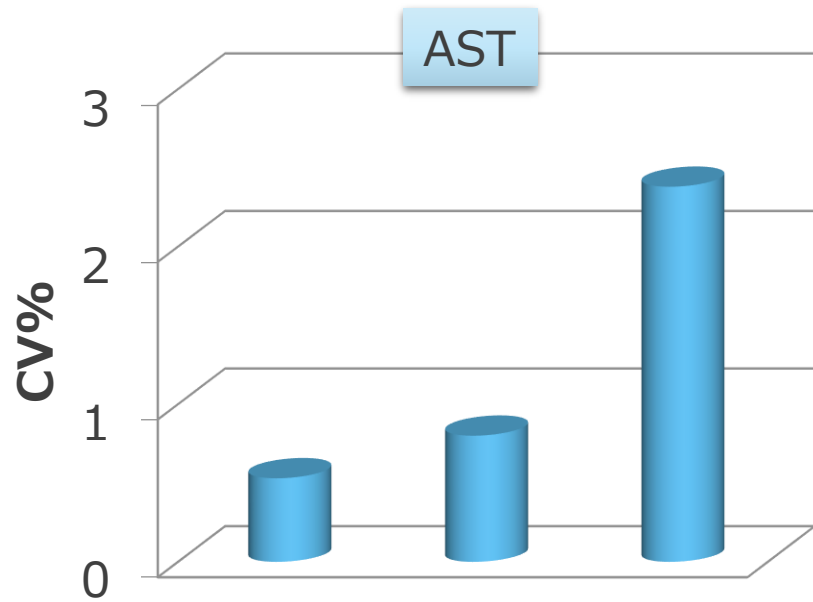
	標準パラ	副波長なし
主波長	410 nm	410 nm
副波長	571 nm	***



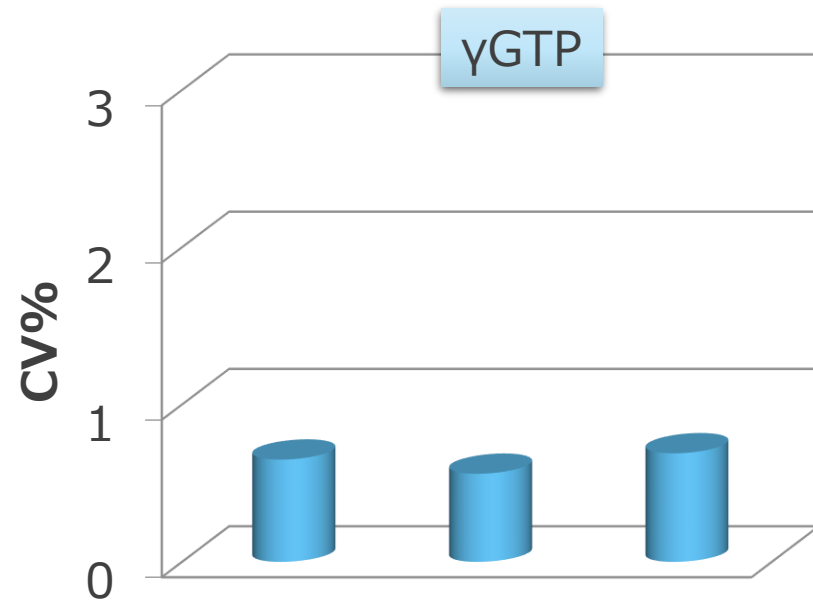
4. 分光光度計による比色分析

混濁の有無による同時再現性の比較を実施した。測定精度への影響は？
同時再現性(N=10)の比較、どちらが精度が良いか？

プレ実験



	POOL	混濁1	混濁2
MEAN	38.8	39.1	38.9
S.D	0.21	0.32	0.93
CV%	0.53	0.80	2.38

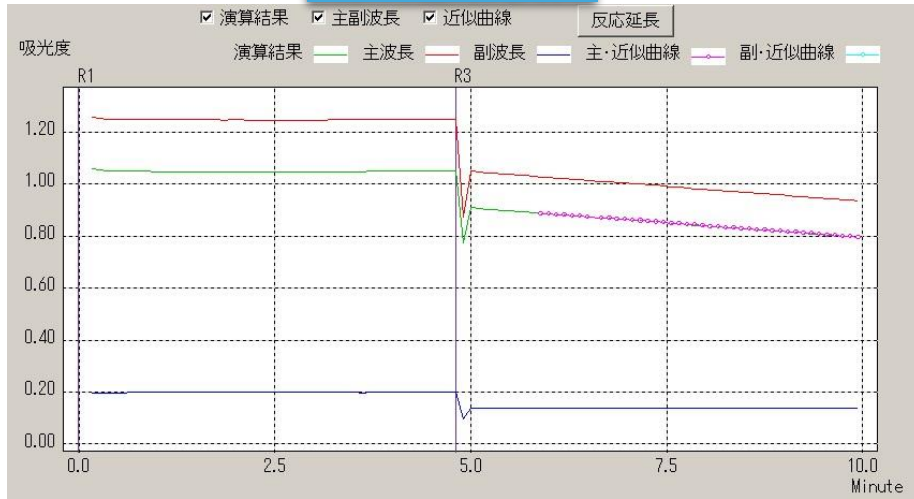


	POOL	混濁1	混濁2
MEAN	25.6	26.0	25.1
S.D	0.17	0.17	0.15
CV%	0.65	0.56	0.69

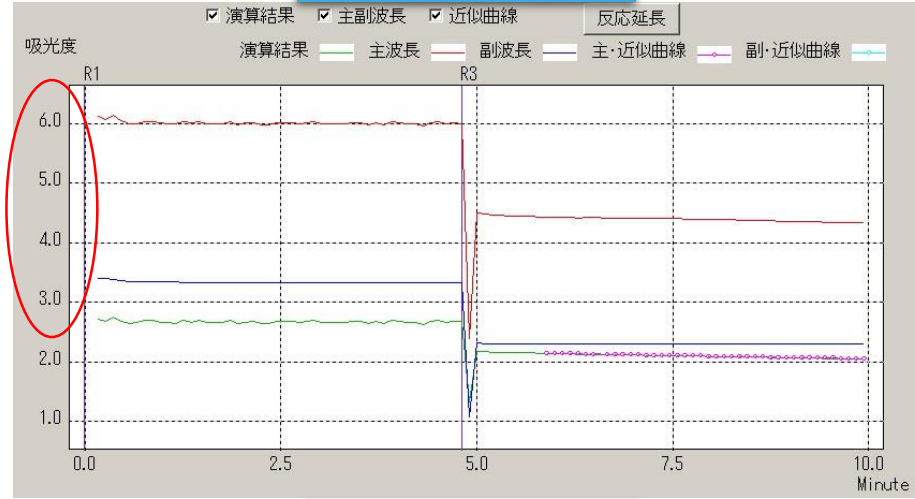
4. 分光光度計による比色分析

タイムコースの比較

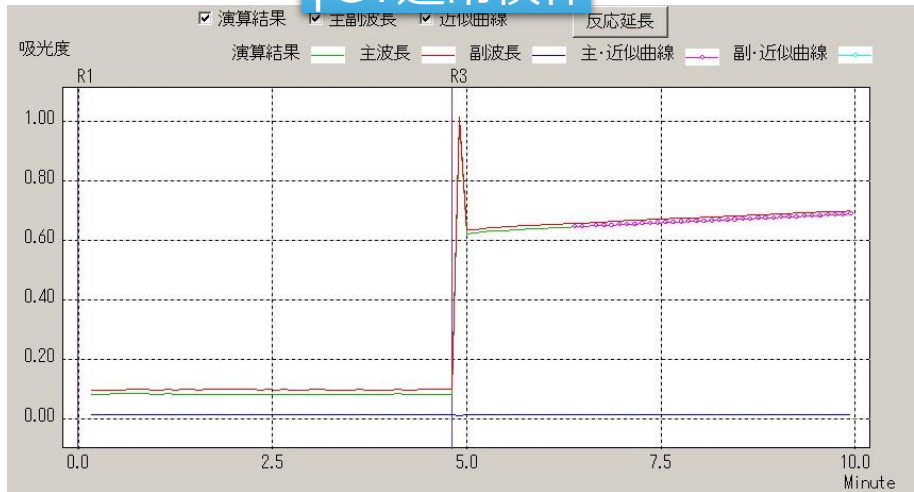
AST通常検体



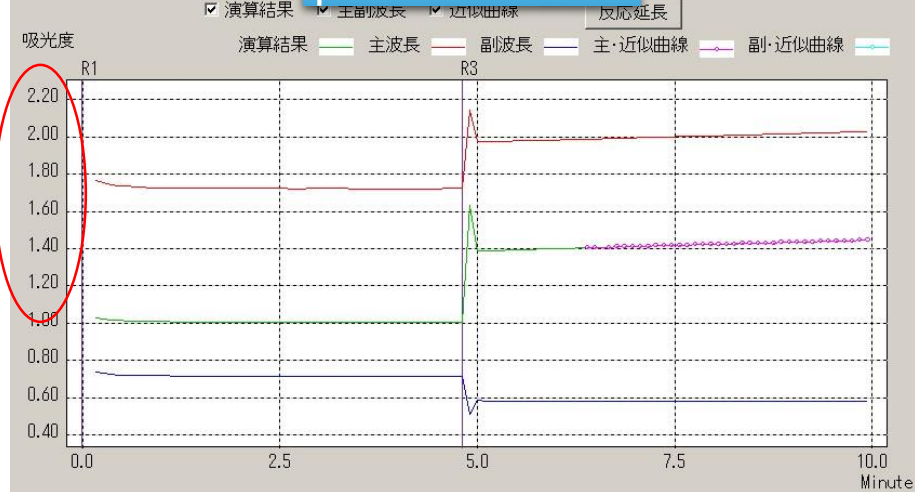
AST強乳び検体



γGT通常検体



γGT強乳び検体



4. 分光光度計による比色分析

AST分析条件

分析条件No.	21	▲▼	分析条件サブNo.	21 -	サブ項目分析条件
項目分析条件	21.AST				
項目名	AST				
第1試薬量	60.00		桁数	2	
第2試薬量	0.000		測定主波長	340nm	
第3試薬量	30.00		測定副波長	410nm	
第1試薬ロス量			分析方式	RRA	
第2試薬ロス量			計算方式	STD	
第3試薬ロス量			定性判定	しない	
第1試薬希釈液量	0.000		定性設定		
第2試薬希釈液量	0.000		リアルタイム補正式設定		
第3試薬希釈液量	0.000		再検分析項目条件設定		
血清:反応検体量	25.00		再検条件設定		
尿 :反応検体量	3.000				

γGTP 分析条件

分析条件No.	23	▲▼	分析条件サブNo.	23 -	サブ項目分析条件
項目分析条件	23.γGT				
項目名	γGT				
第1試薬量	60.00		桁数	2	
第2試薬量	0.000		測定主波長	410nm	
第3試薬量	15.00		測定副波長	571nm	
第1試薬ロス量			分析方式	RRA	
第2試薬ロス量			計算方式	STD	
第3試薬ロス量			定性判定	しない	
第1試薬希釈液量	0.000		定性設定		
第2試薬希釈液量	0.000		リアルタイム補正式設定		
第3試薬希釈液量	0.000		再検分析項目条件設定		
血清:反応検体量	10.50		再検条件設定		
尿 :反応検体量	3.000				

- 注目ポイント①
- 注目ポイント②
- 注目ポイント③

混濁(濁り)の影響は短波長の項目ほど影響が大きい
副波長の重要性
検体量の割合の多い項目は、影響大

4. 分光光度計による比色分析

混濁の影響の大きな項目は??

サンプリング量の多い項目ほど、色の影響は受けやすい。

	R1	R2	反応検体量	±0.1の割合
AST	60.0	20.0	13.4	±0.7%
ALT	60.0	20.0	13.4	±0.7%
T-Bil	60.0	15.0	10.7	±0.9%
D-Bil	60.0	15.0	10.7	±0.9%
CHE	60.0	30.0	9.1	±1.1%
LAP	60.0	15.0	8.1	±1.2%
CRE	60.0	20.0	7.8	±1.3%
LDH	60.0	15.0	7.5	±1.3%
CK	60.0	15.0	7.5	±1.3%
γGT	60.0	20.0	6.7	±1.5%
AMY	60.0	20.0	6.7	±1.5%
P-AMY	60.0	20.0	6.7	±1.5%
UN	60.0	15.0	6.0	±1.7%
UA	60.0	30.0	6.0	±1.7%
TG	60.0	30.0	4.8	±2.1%
T-CHO	60.0	30.0	4.8	±2.1%
TP	60.0	0.0	4.3	±2.3%
ALP	60.0	15.0	3.6	±2.8%
HDL	60.0	20.0	3.6	±2.8%
LDL	60.0	20.0	3.6	±2.8%
Ca	60.0	0.0	2.6	±3.8%
ALB	60.0	0.0	2.6	±3.8%
GLU	60.0	24.0	2.1	±4.8%
IP	60.0	20.0	1.6	±6.3%

短い波長の項目ほど、影響を受けやすい。

■ 波長と色の関係

吸収光	測定波長(nm)	溶液の色
-	~400	無色
紫	400~435	黄緑
青	435~480	黄
緑青	480~490	橙
青緑	490~500	赤
緑	500~560	赤紫
黄緑	560~580	紫
黄	580~595	青
橙	595~610	緑青
赤	610~750	青緑
赤紫	750~	無色

NADH系を用いた酵素活性
尿素窒素

AMY、γGTP、ALPなど

ビリルビン

CRE、Mg、TPなど

Ca(OCPC法)

脂質系、UA、ALB (BCP法)など

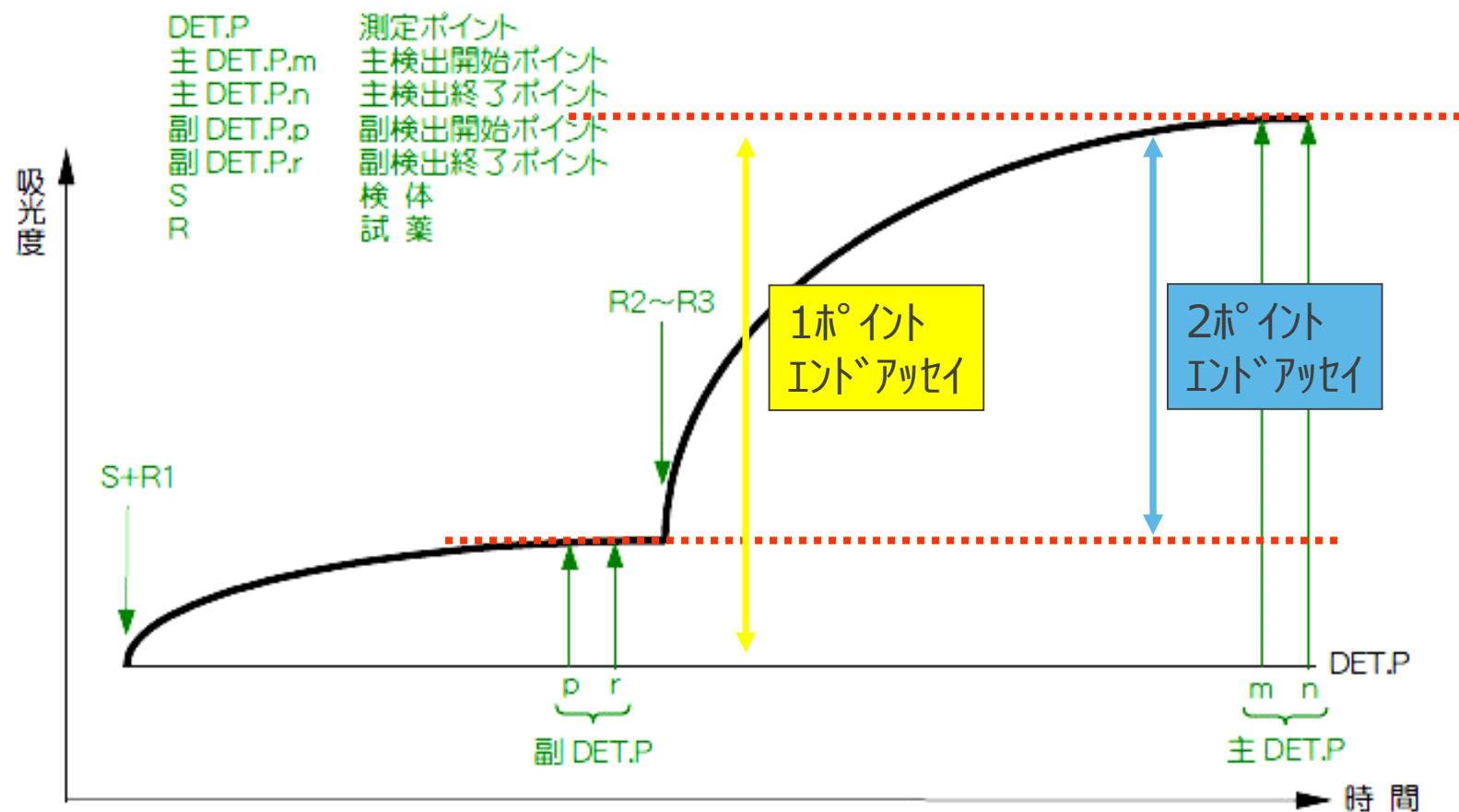
PSAPを用いたFe、UIBC

血清(溶血・Bil)の色に依存しない色素を使用し定量

4. 分光光度計による比色分析

END法の場合

試薬添加後、指定時間後の吸光度から濃度を求める「エンドポイント法」です。



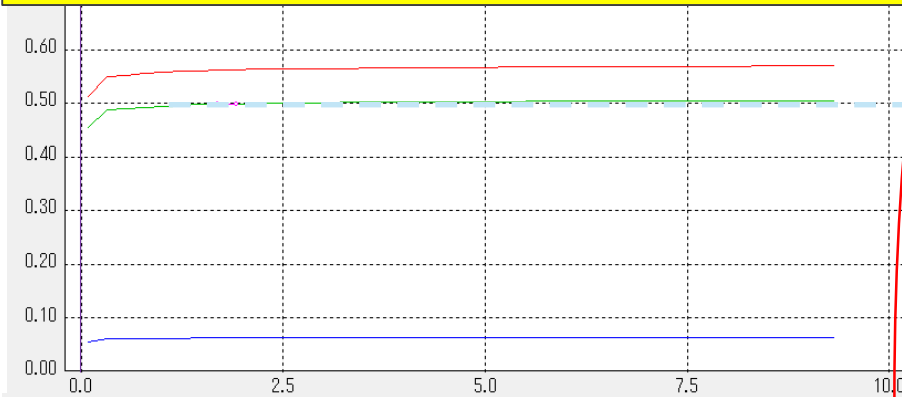
EPA 方式の一般的な反応過程と測定ポイントの設定例

4. 分光光度計による比色分析

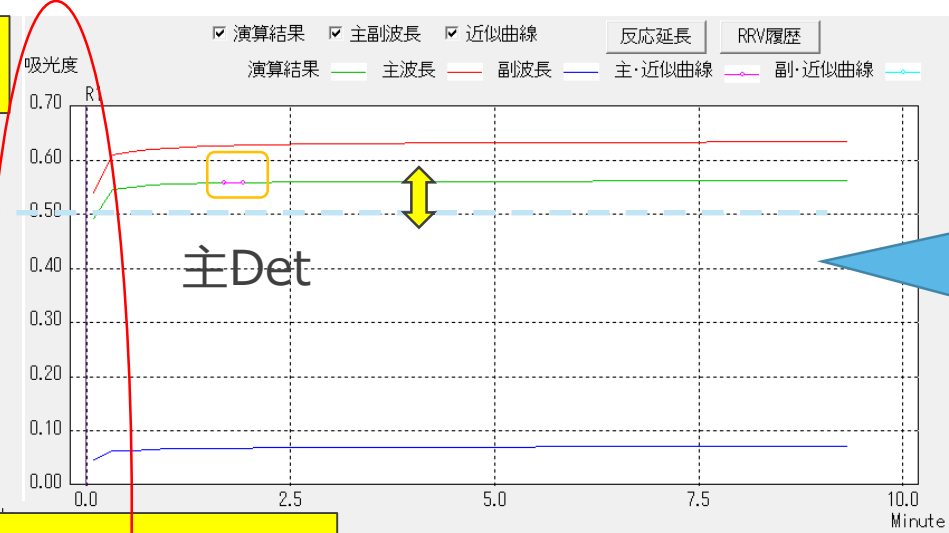
END法の場合

■ 通常検体

ALB (1試薬系) : 「主DET」のみ



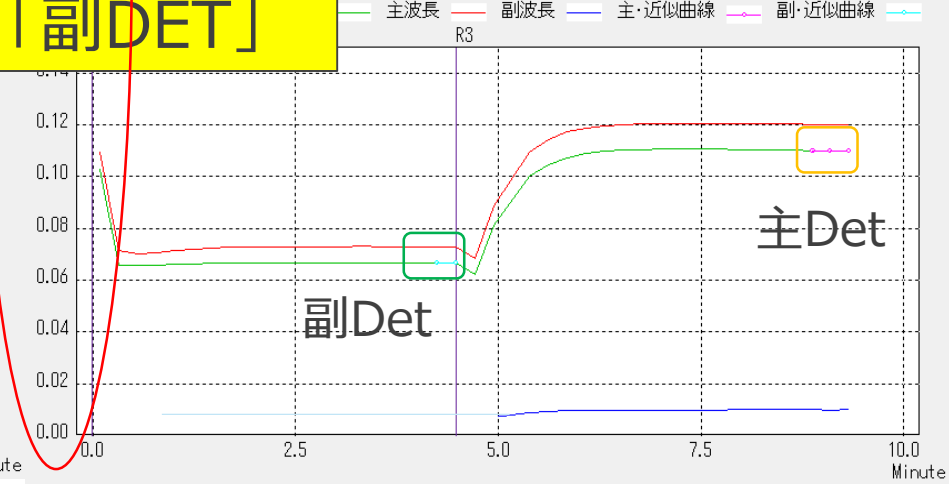
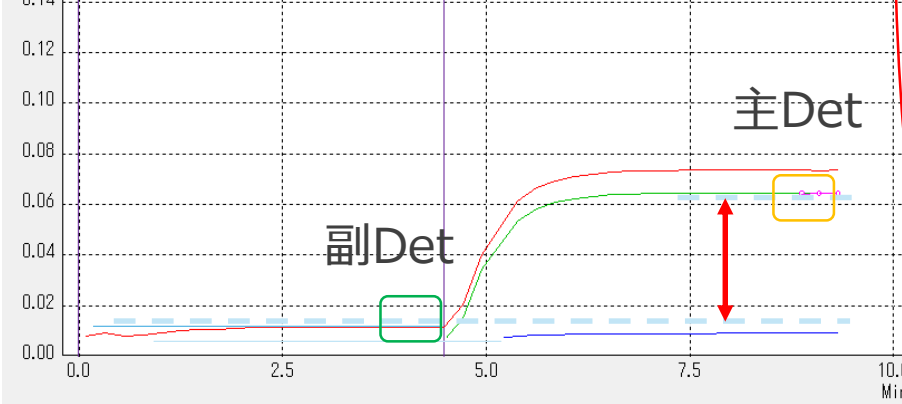
■ 混濁(乳ビ)検体



緑 : 演算波長
赤 : 主波長
青 : 副波長

ALBなどの1試薬系では、影響を受けにくい色を選択。吸光度の感度により回避しています。

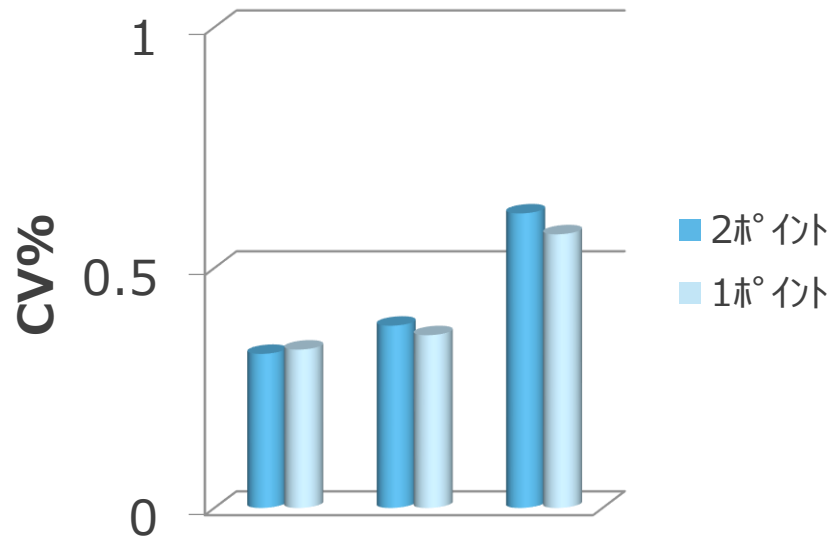
UA (2試薬系) : 「主DET」と「副DET」



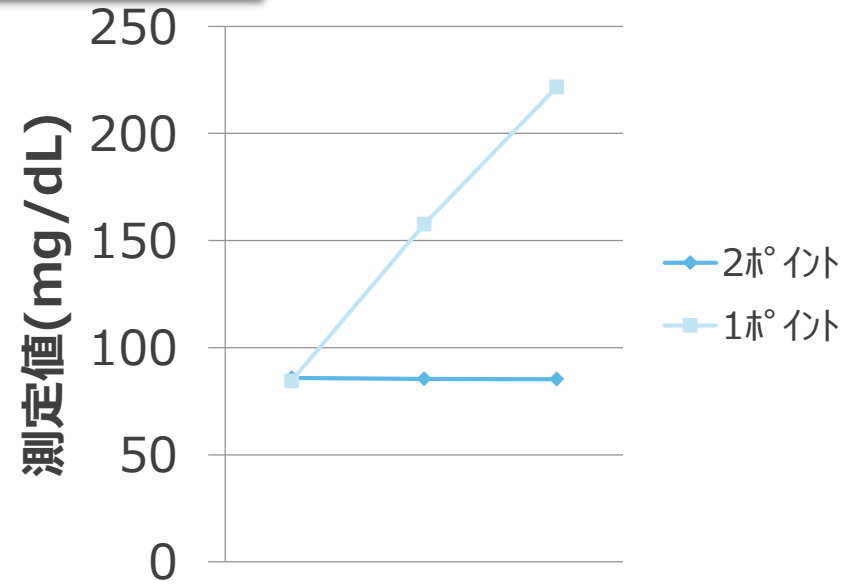
4. 分光光度計による比色分析

混濁の有無による同時再現性の比較を実施した。測定精度への影響は？
同時再現性(N=10)の比較、どちらが精度が良いか？

GLU



2ポイントエンド



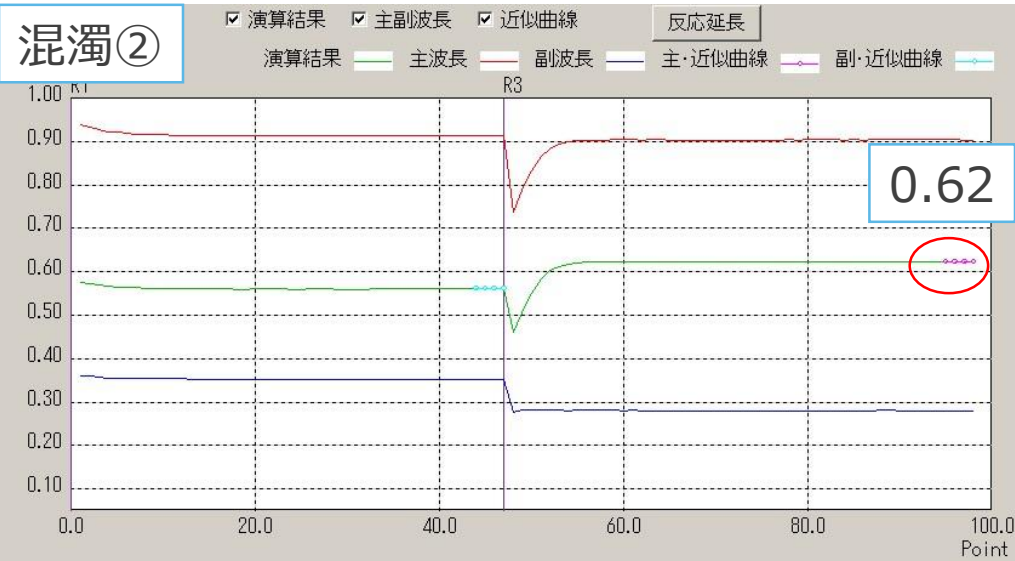
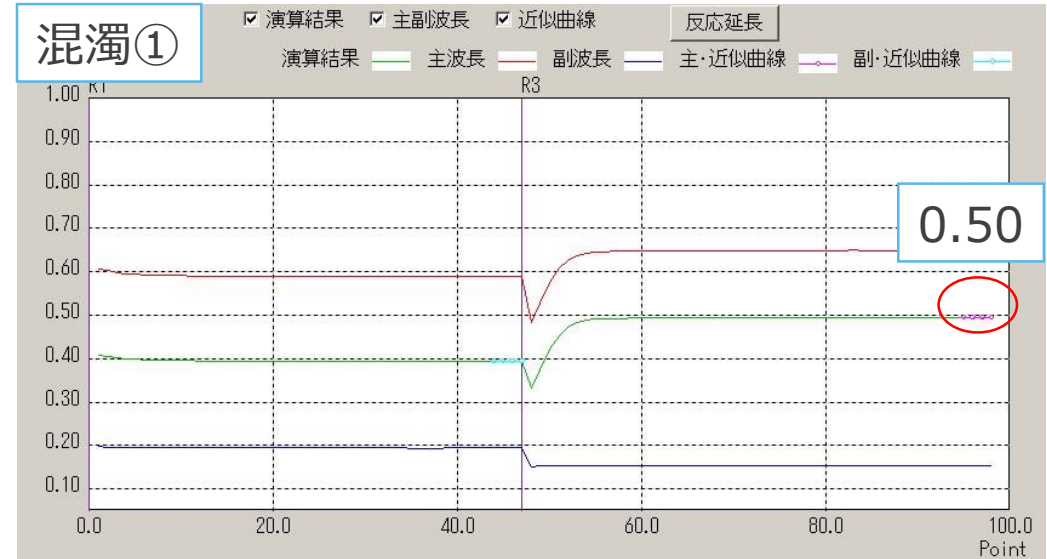
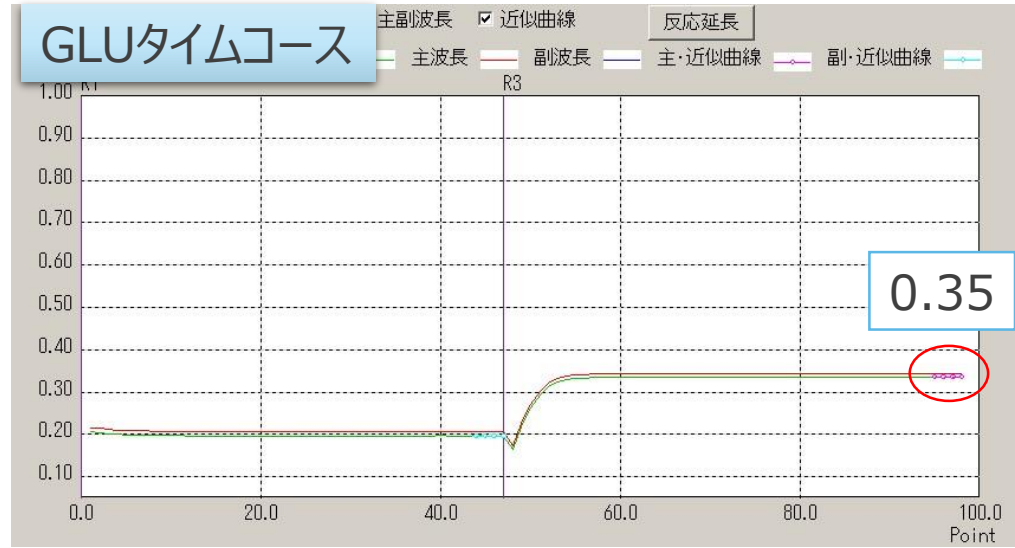
1ポイントエンド

	POOL	混濁1	混濁2
MEAN	85.9	85.5	85.3
S.D	0.28	0.32	0.52
CV%	0.32	0.38	0.61

	POOL	混濁1	混濁2
MEAN	84.5	157.6	221.7
S.D	0.28	0.56	1.27
CV%	0.33	0.36	0.57

4. 分光光度計による比色分析

混濁の有無による同時再現性の比較を実施した。測定精度への影響は？
 同時再現性(N=10)の比較、どちらが精度が良いか？



	POOL	混濁1	混濁2
MEAN	85.9	85.5	85.3
S.D	0.28	0.32	0.52
CV%	0.32	0.38	0.61

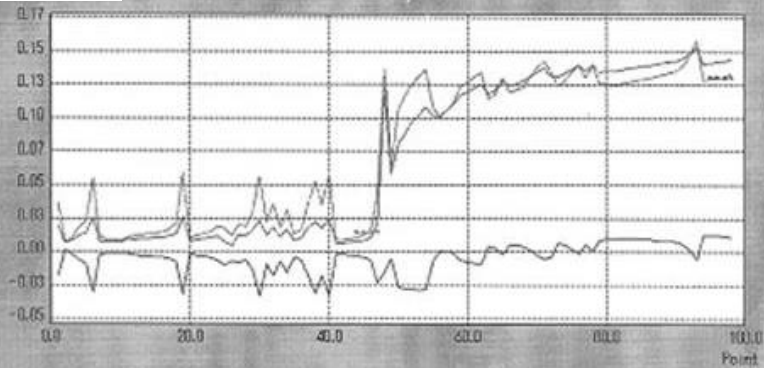
5.反応タイムコースの活用方法 <応用編>

5. 反応タイムコースの活用方法 < 応用編 >

生化学自動分析装置由来の代用的な異常タイムコース

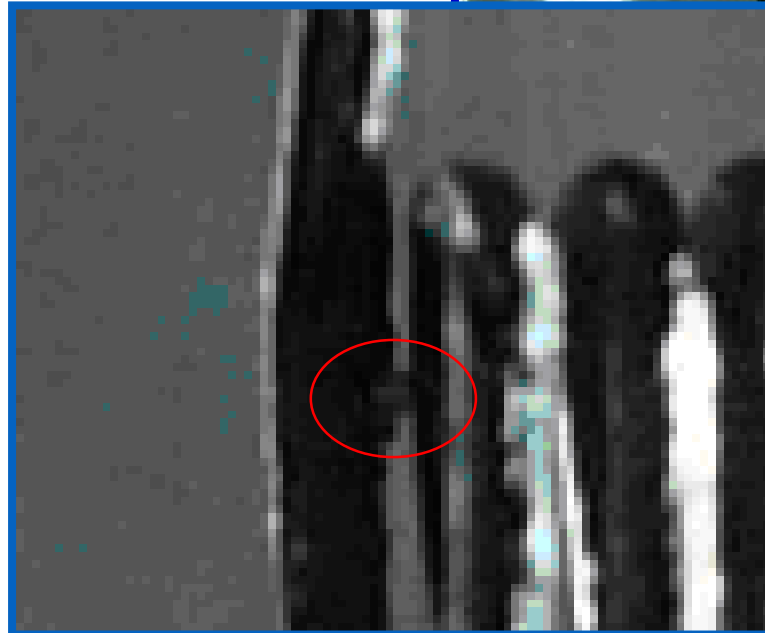
光源ランプの劣化

吸光度



測光ポイント

光源ランプのフィラメント

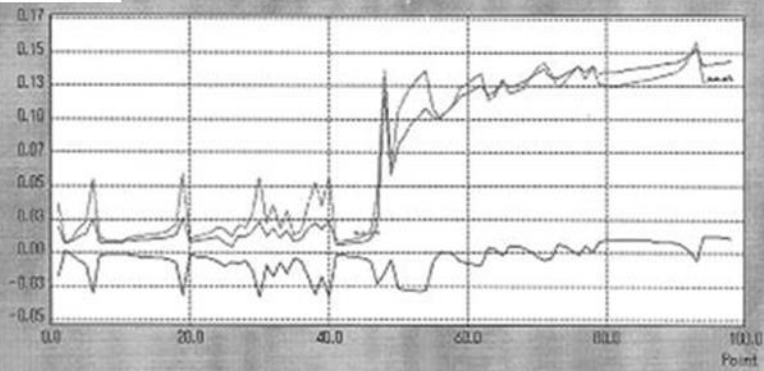


5. 反応タイムコースの活用方法 < 応用編 >

生化学自動分析装置由来の代用的な異常タイムコース

光源ランプの劣化

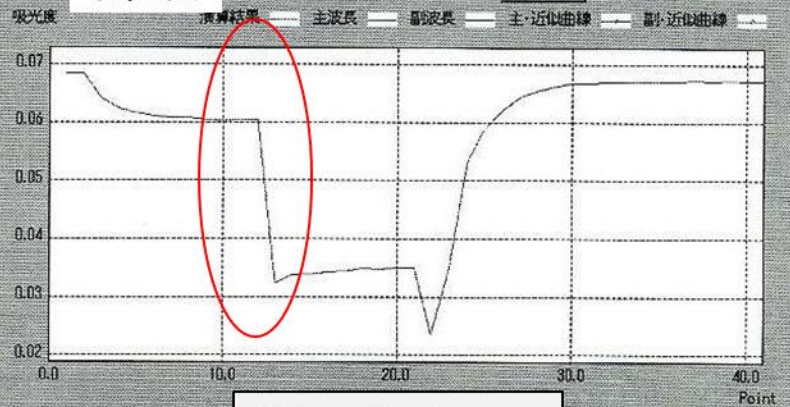
吸光度



測光ポイント

セル洗浄ラインの詰まりによる異物混入

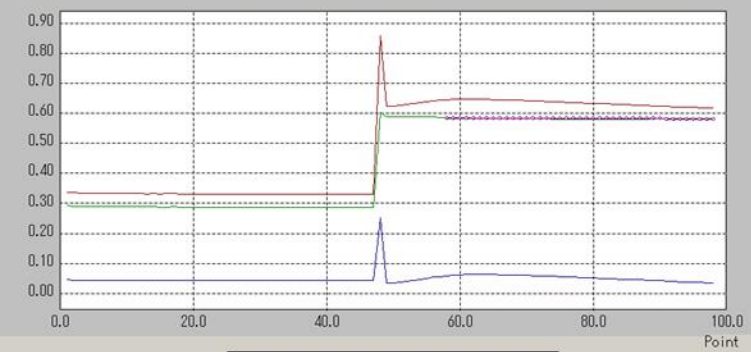
吸光度



測光ポイント

ALT 攪拌不良によるもの

吸光度



測光ポイント

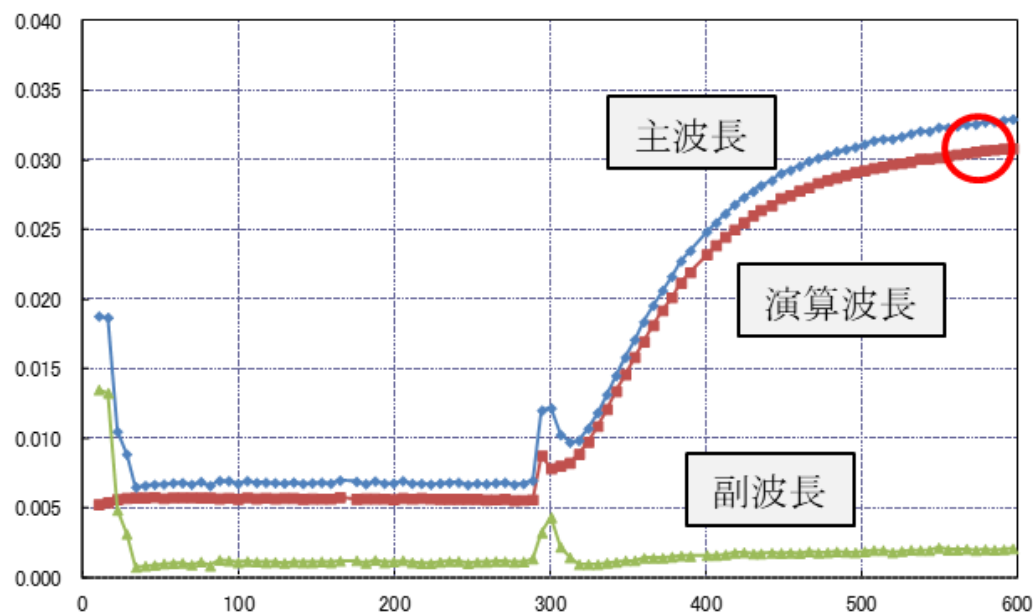
5. 反応タイムコースの活用方法 < 応用編 >

生化学自動分析装置由来の代用的な異常タイムコース

BIL試薬からのCREへのコンタミネーションの影響

CRE正常反応

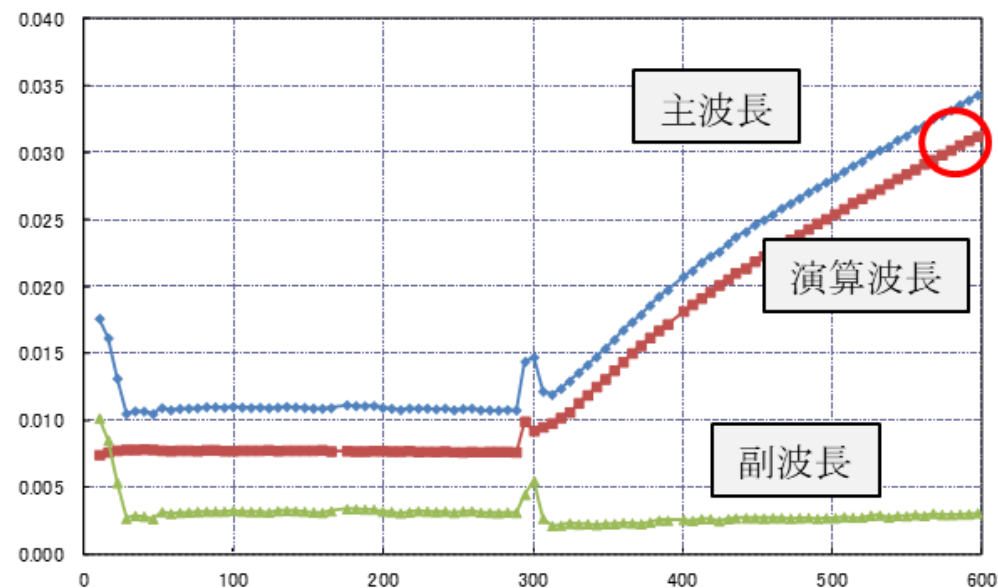
吸光度



反応時間 (秒)

CRE異常反応

吸光度

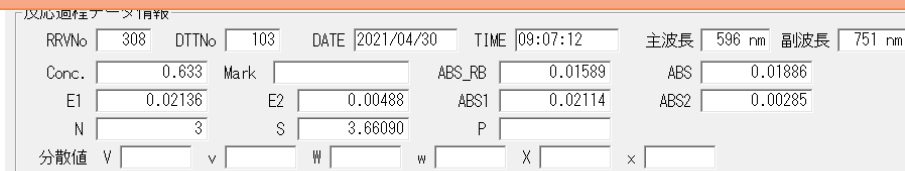


反応時間 (秒)

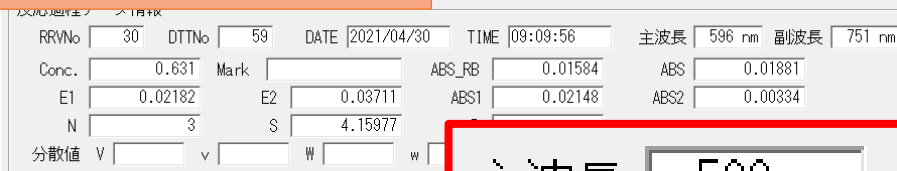
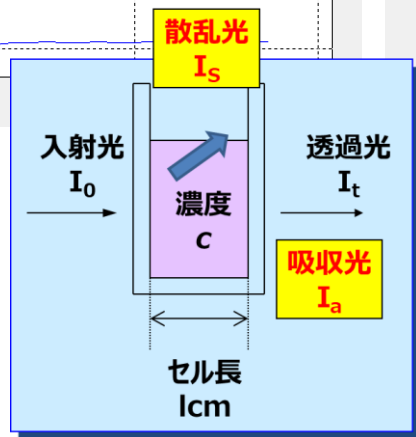
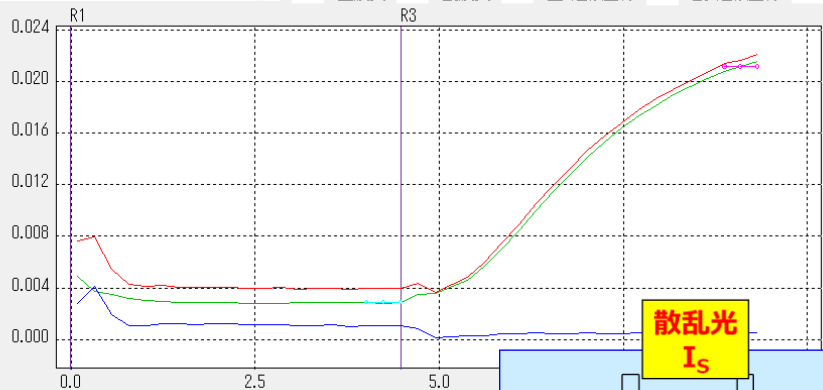
5. 反応タイムコースの活用方法 < 応用編 >

生化学自動分析装置由来の代用的な異常タイムコース

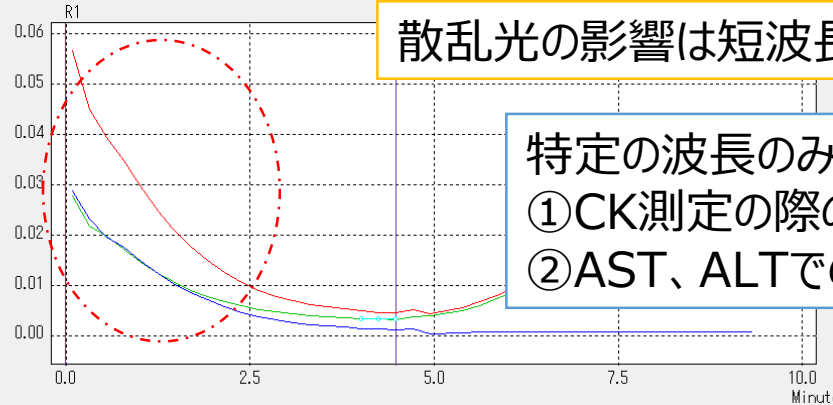
非特異的な反応の場合：第1試薬と検体との反応で濁りが発生後・消失



CRE正常反応



CRE異常反応



主波長 596 nm 副波長 751 nm

散乱光の影響は短波長の方が影響が大きい

特定の波長のみの変化のケース

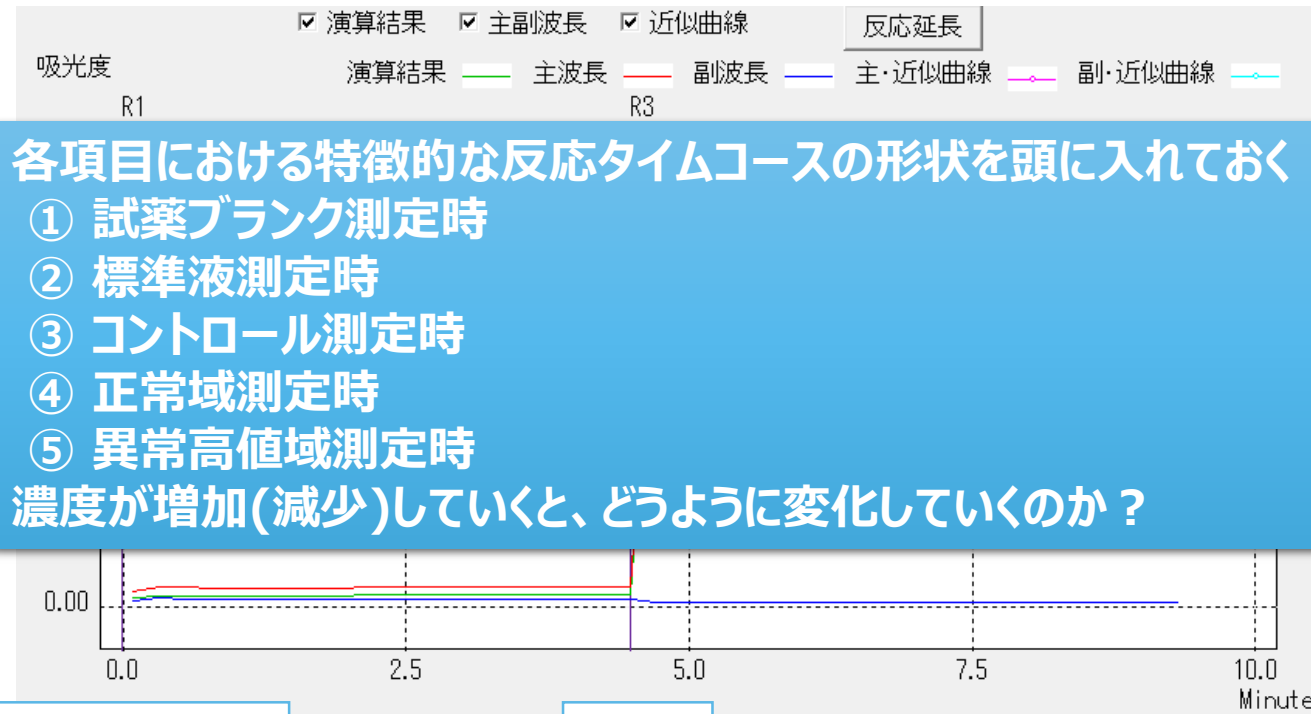
- ①CK測定の際のAK(アデノレートキナーゼ)
- ②AST、ALTでの内因性ビリルビン酸消去

複数の波長で吸光度の増加(減少)が見られる場合には、濁りの変化として、散乱光の増加(減少)が発生している。→見かけ上、吸光度が増加(減少)

5. 反応タイムコースの活用方法<応用編>

まずは、日頃からタイムコースを見る習慣を……。

匠は反応タイムコースをどう見ているのか？



各項目における特徴的な反応タイムコースの形状を頭に入れておく

- ① 試薬ブランク測定時
- ② 標準液測定時
- ③ コントロール測定時
- ④ 正常域測定時
- ⑤ 異常高値域測定時

濃度が増加(減少)していくと、どのように変化していくのか？

R1 + Sample添加
攪拌

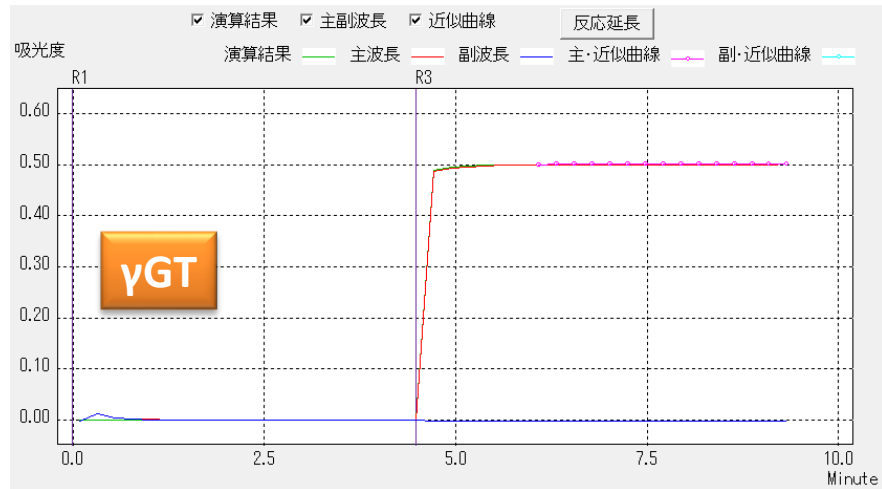
R2添加
攪拌

匠からのポイント①

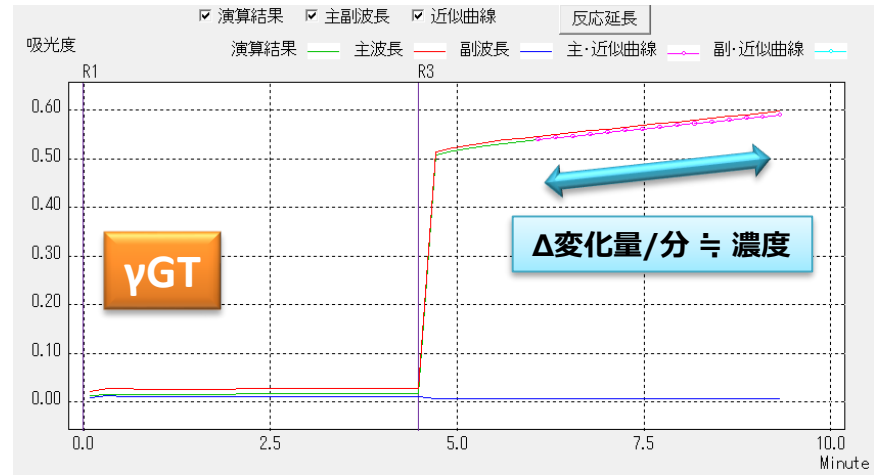
濃度変化によって、各項目の反応過程(タイムコース)はどのような変化をするのかを考察していきましょう。

5. 反応タイムコースの活用方法 < 応用編 >

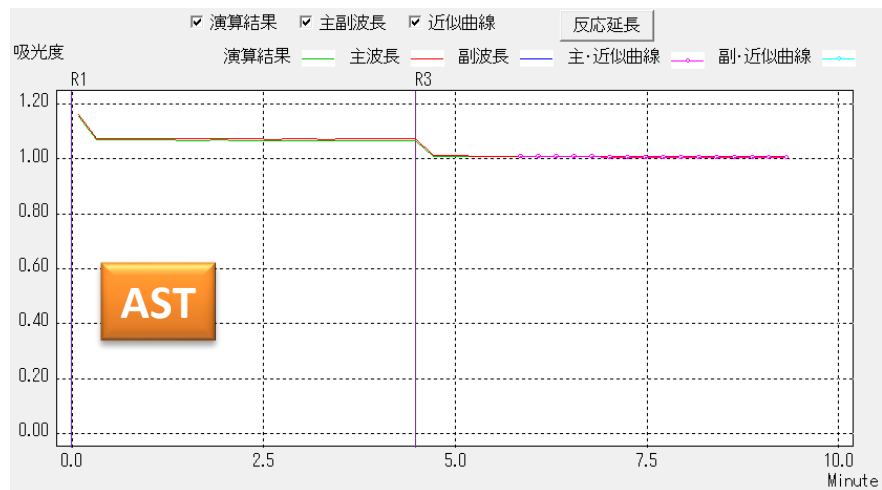
■ 試薬ブランク測定時



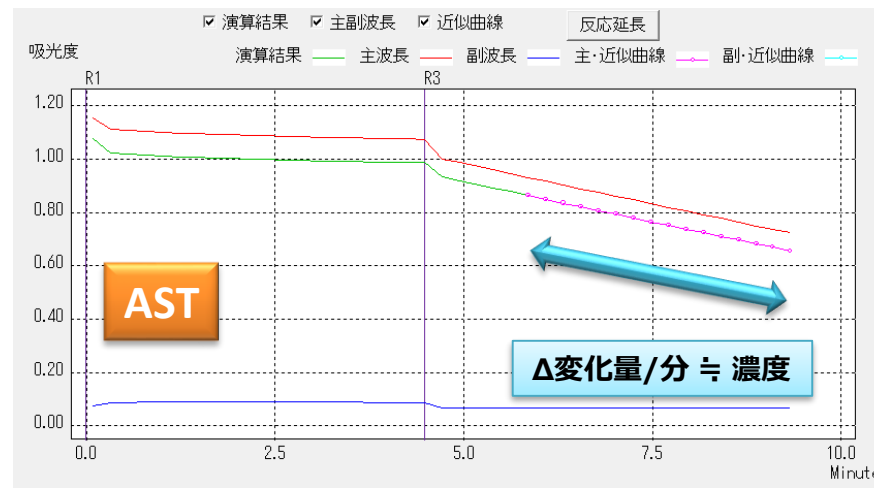
■ 検体測定時



■ 試薬ブランク測定時

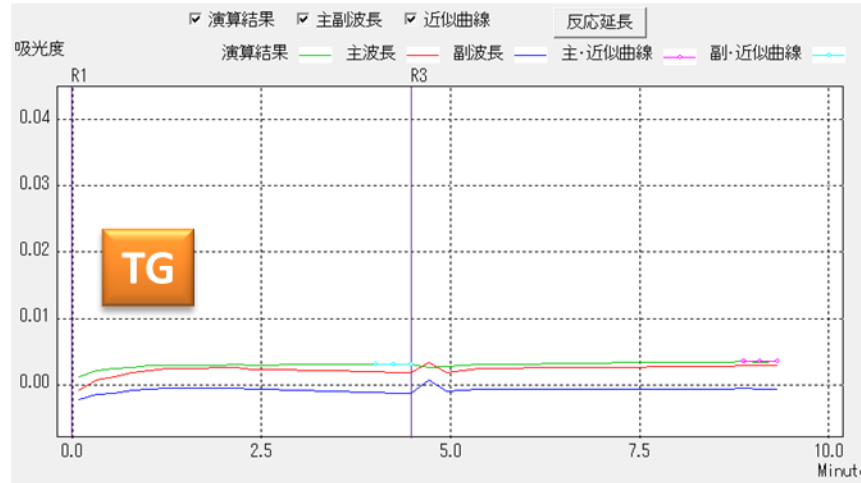


■ 検体測定時

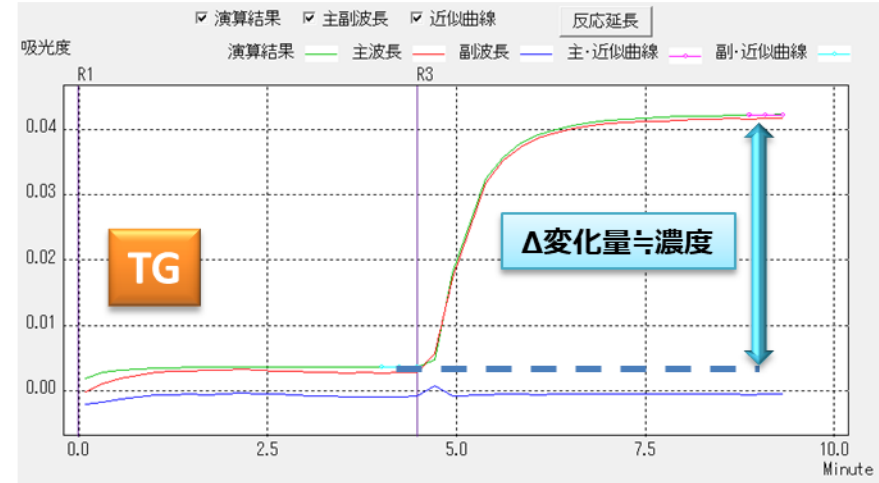


5. 反応タイムコースの活用方法 < 応用編 >

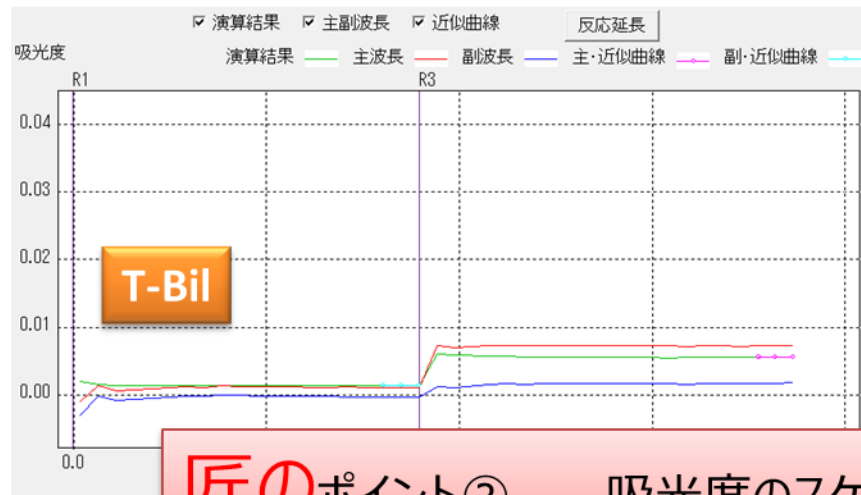
■ 試薬ブランク測定時



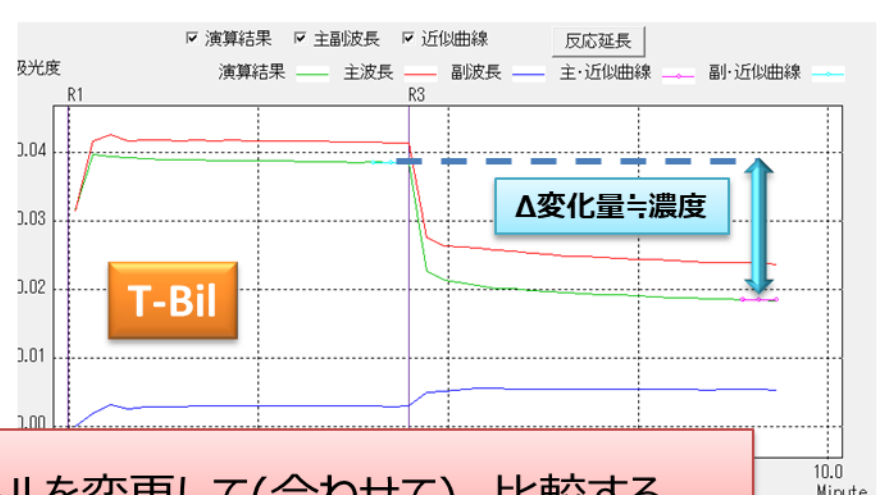
■ 検体測定時



■ 試薬ブランク測定時



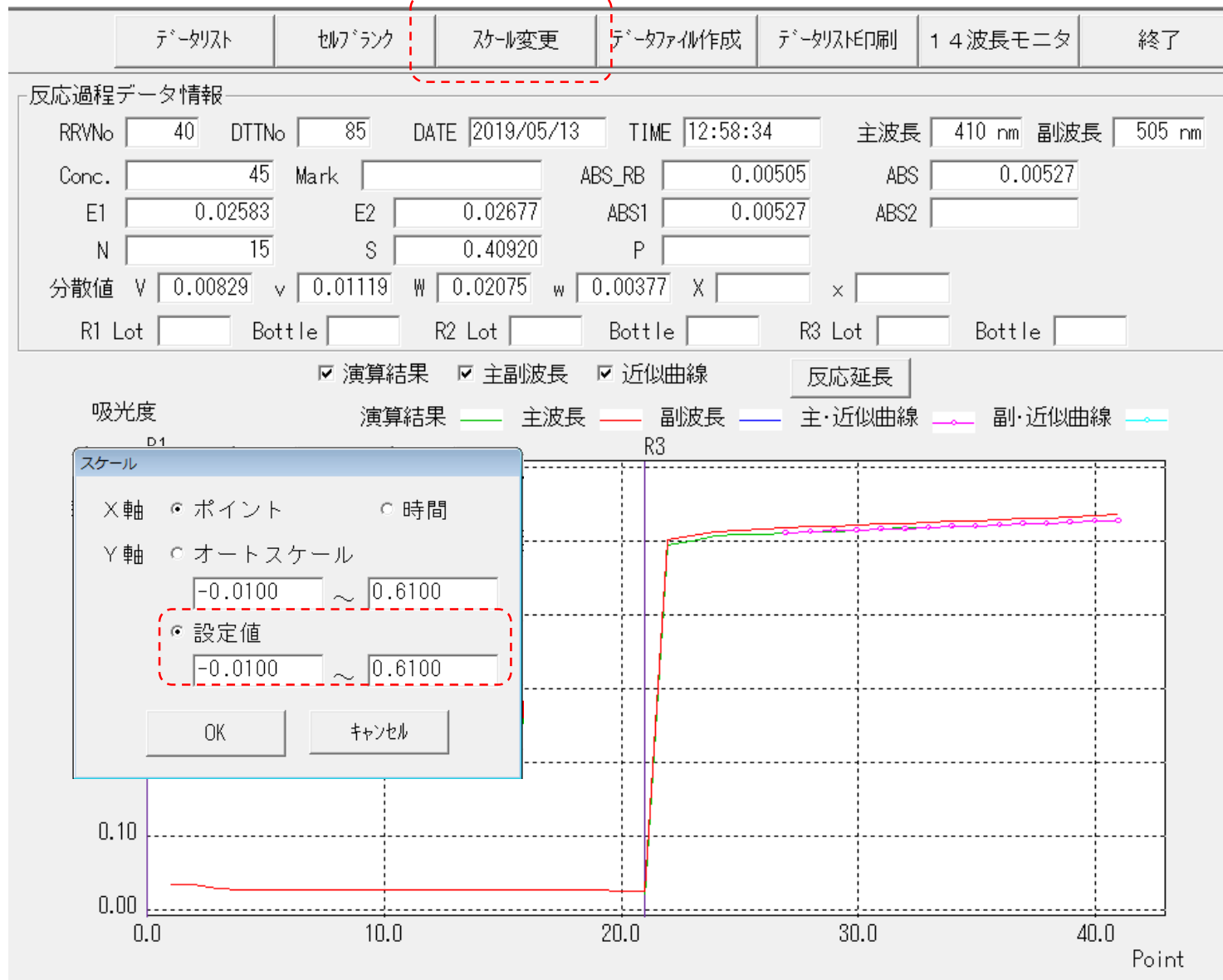
■ 検体測定時



匠のポイント② 吸光度のスケールを変更して(合わせて)、比較する。

5. 反応タイムコースの活用方法 < 応用編 >

スケール変更 (BMシリーズの場合)



5. 反応タイムコースの活用方法<応用編>

匠からのアドバイス：反応タイムコースに慣れ親しもう！！

各項目における特徴的な反応タイムコースの形状を記憶(記録)しよう。

- ① 試薬ブランク測定時
- ② 標準液測定時
- ③ コントロール測定時
- ④ 正常域測定時
- ⑤ 異常高値域測定時

※試薬の添付文章記載の反応原理を理解して、考えていきます。

To Be continued **匠**からの挑戦状

5. 反応タイムコースの活用方法 < 応用編 >

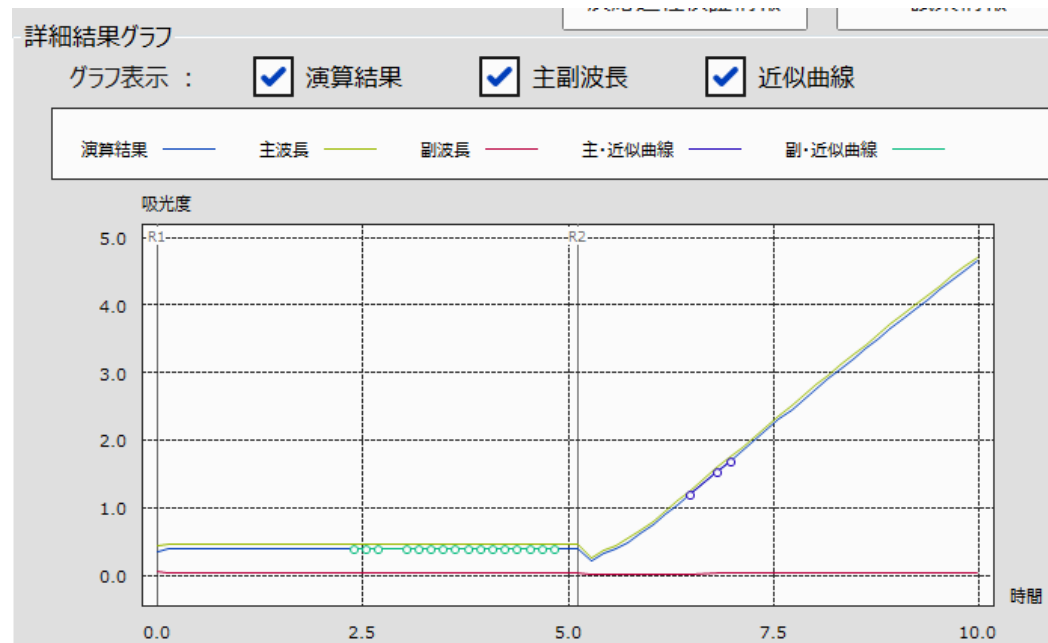
匠からの挑戦状 事例①

CK 測定値 9613 U/L

データフラグ n

(BMシリーズ：有効ポイント不足)

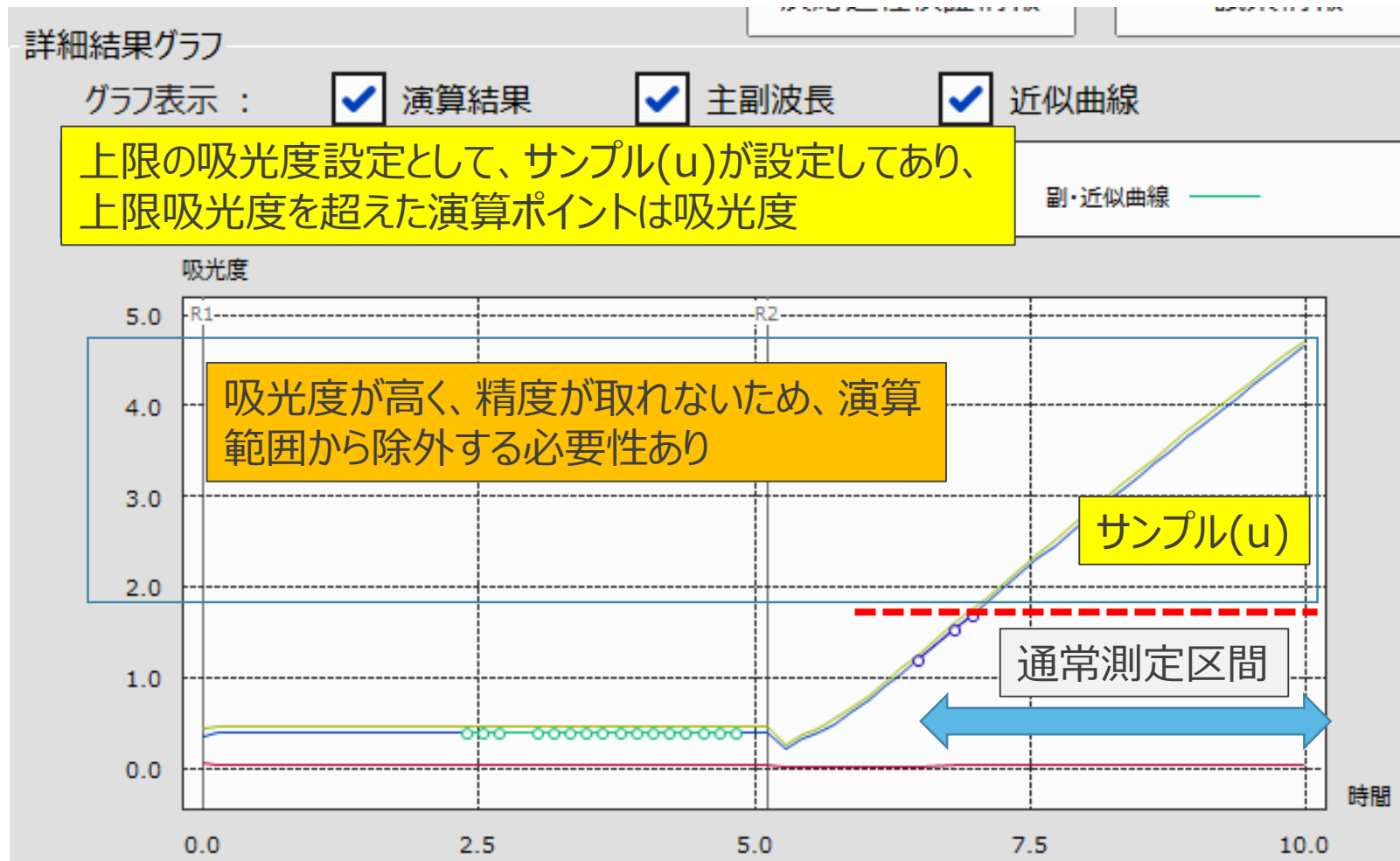
正常 or 異常



5. 反応タイムコースの活用方法 < 応用編 >

匠からの挑戦状 事例①

■ 演算ポイントを短縮して、直線性を確保！



5.反応タイムコースの活用方法<応用編>

匠からの挑戦状 事例①

CK 測定値 9613 U/L

データフラグ n

(BMシリーズ：有効ポイント不足)

正常 or 異常



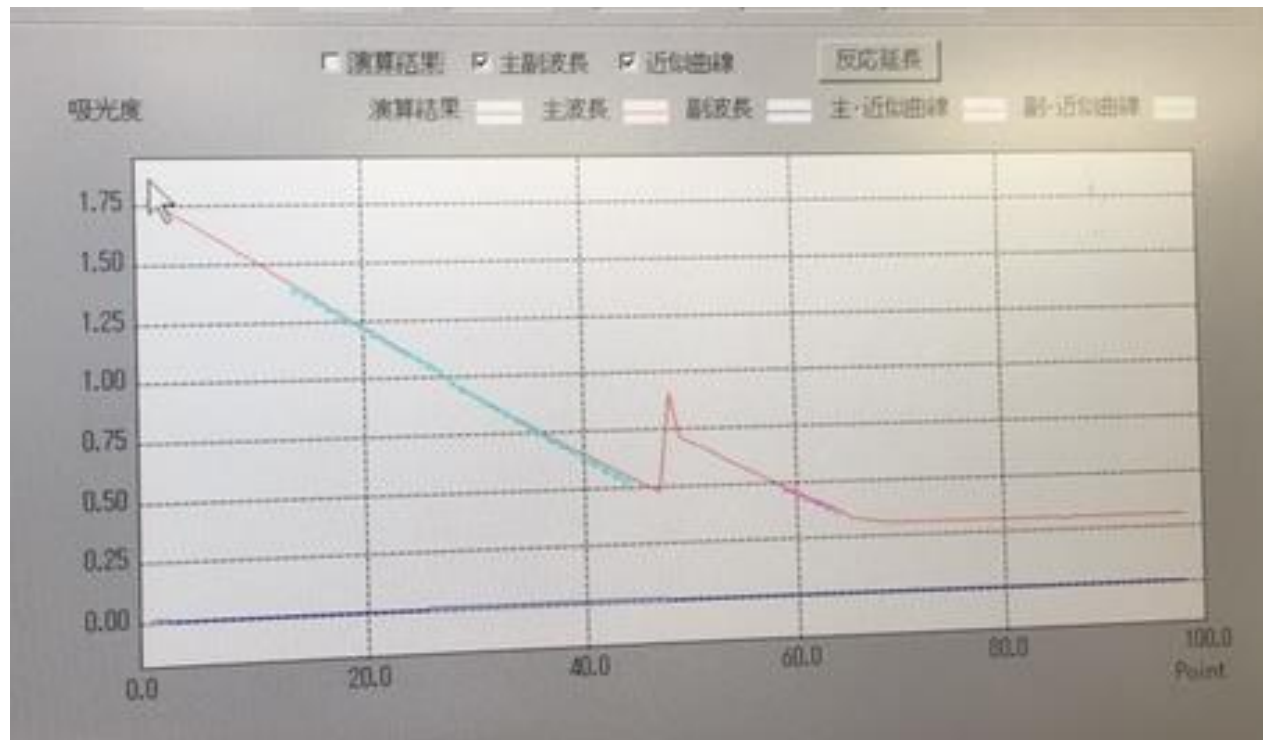
5. 反応タイムコースの活用方法 < 応用編 >

匠からの挑戦状 事例②

BUN 測定値 -4.6mg/dl

マイナスデータなど極端なデータであれば異常を疑いやすい

正常 or 異常



5. 反応タイムコースの活用方法<応用編>

匠からの挑戦状 事例②

使用する試薬のアンモニア除去能がどの程度か？
測定上の注意：アンモニアは○mg/dLまでは影響がありません。

〔測定原理〕

第一反応

検体中のアンモニアはロイシンデヒドロゲナーゼの存在下、下記の反応が行われ
NAD⁺を生じて340nmの吸光度が減少します。



第2反応

第1反応の終了後、ウレアーゼを添加すると、尿素からアンモニアと炭酸が生成します。
生成したアンモニアは検体中のアンモニアと合わさり、下記の反応が行われNAD⁺を生じて
340nmの吸光度が減少します。

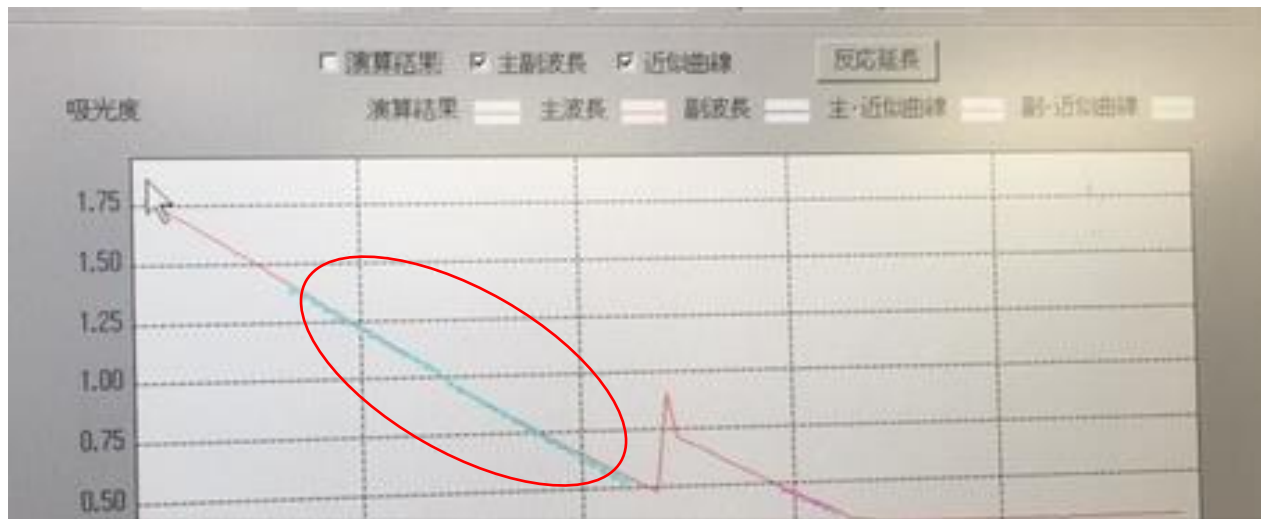


5. 反応タイムコースの活用方法 < 応用編 >

匠からの挑戦状 事例②

BUN 測定値 -4.6mg/dl

正常 or 異常



第一反応

検体中のアンモニアはロイシンデヒドロゲナーゼの存在下、下記の反応が行われ NAD⁺を生じて340nmの吸光度が減少します。

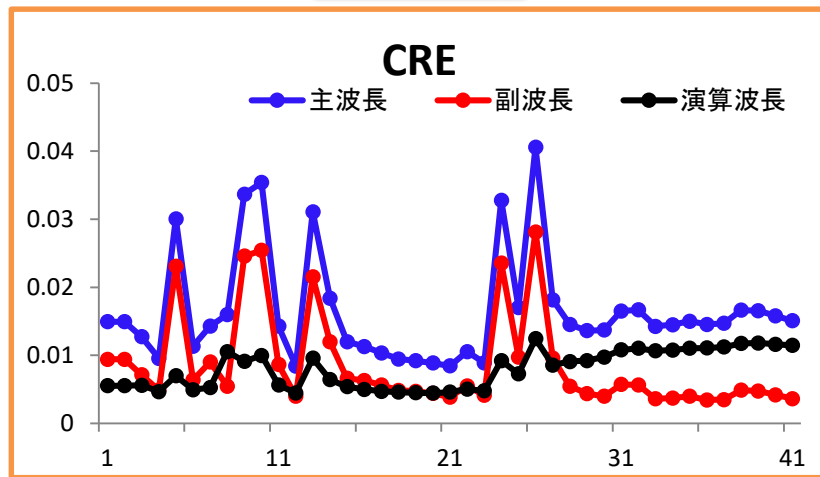


5. 反応タイムコースの活用方法<応用編>

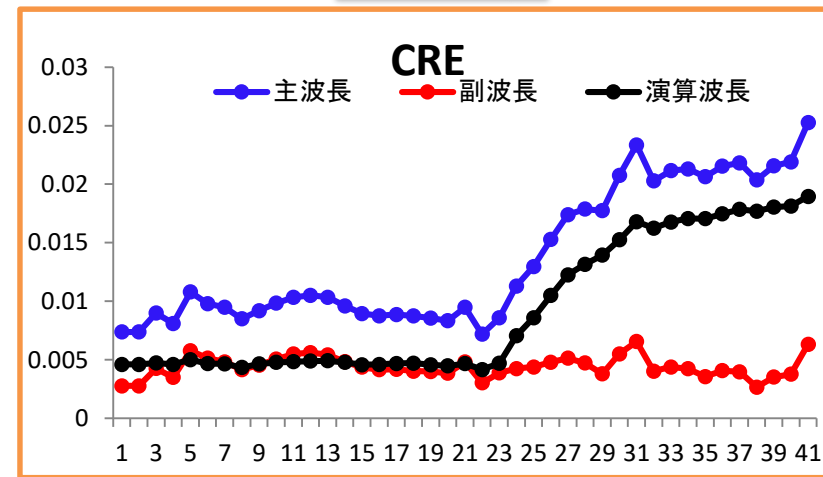
匠からの挑戦状 事例③

■ CREのタイムコースエラーが発生、データ不良の原因は？

《その1》



《その2》

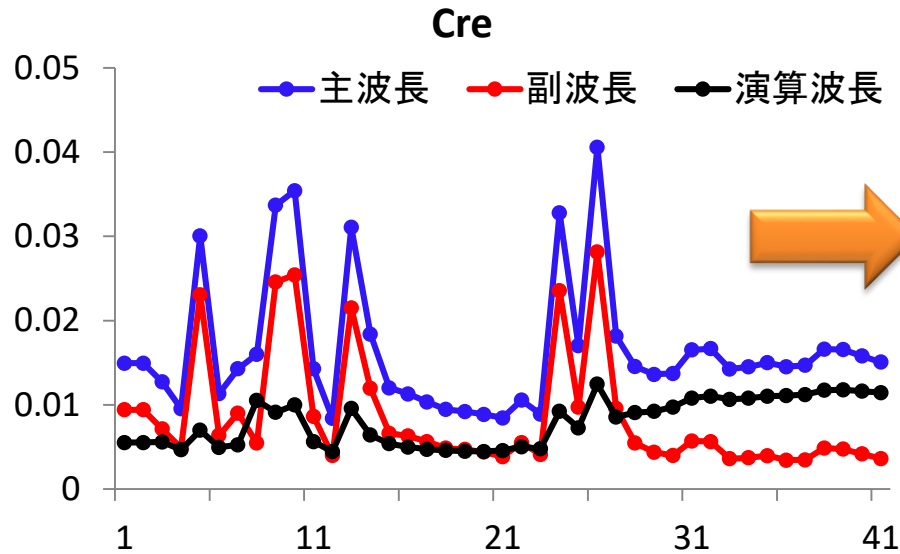


5. 反応タイムコースの活用方法 < 応用編 >

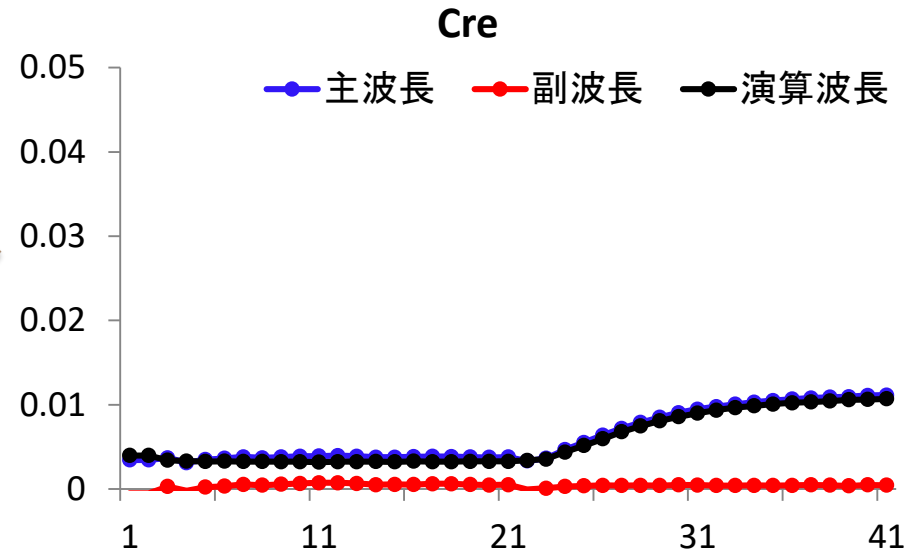
匠からの挑戦状 事例③

《その1》

《異常波形》



《正常波形：光源ランプ 交換後》

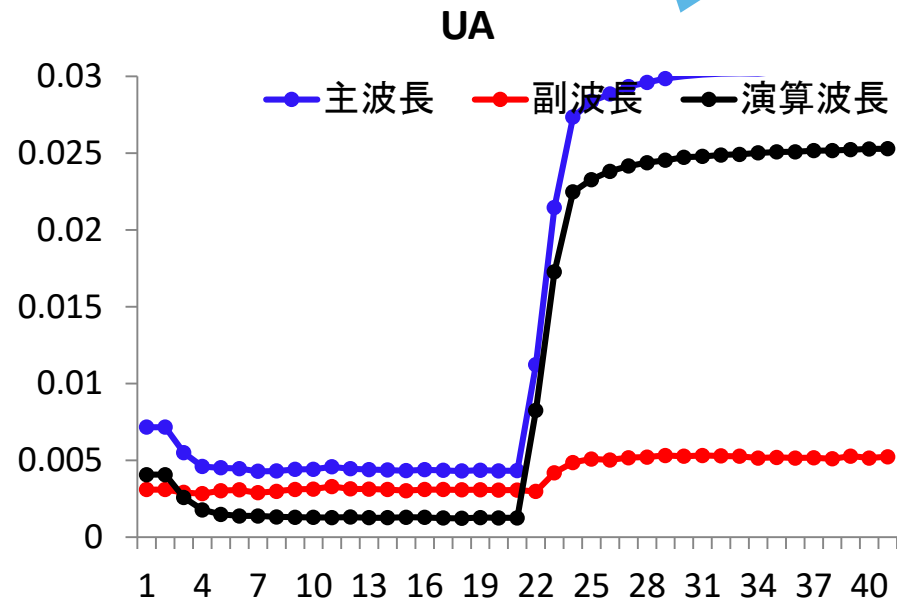
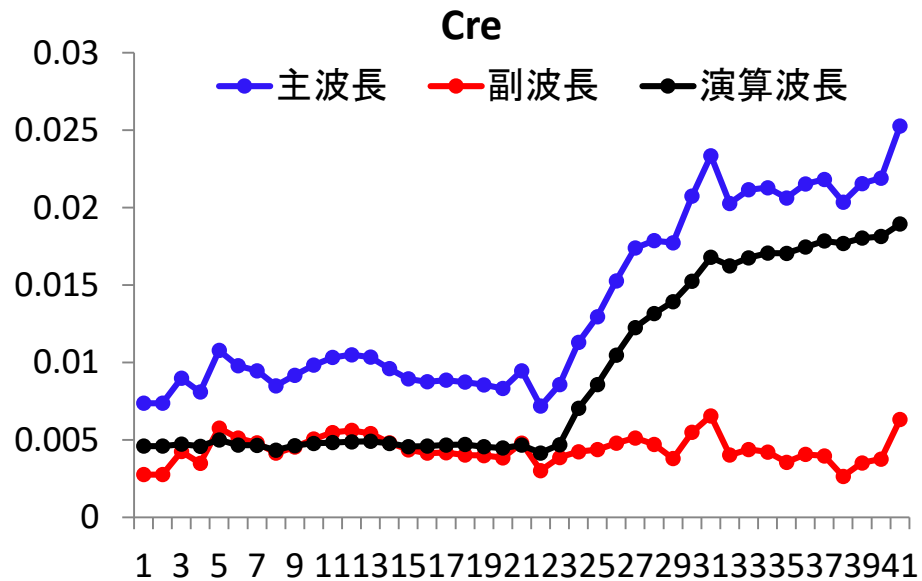


■ CRE以外の項目で同様のエラーが発生、光源ランプ交換後のタイムコースは安定
原因は光源ランプの劣化によるもの

5. 反応タイムコースの活用方法<応用編>

匠からの挑戦状 事例③

《その2》 《異常波形》



CREとUAを比較

使用している波長も共通。
吸光度を同スケール

■ 別の項目で同様のタイムコースが確認できなかったため、光源ランプ®以外の原因が考えられる事を報告。
試薬交換後、タイムコースは正常に回復。

まとめ

生化学自動分析装置を取り扱う現場では、多検体多項目の処理に追われ、装置をブラックボックスとして取り扱いがちである。

装置をより良い状態で維持するためにも、装置の中身を意識して使用していただくことが望ましい。

日常のメンテナンスはトラブルを未然に防ぐために不可欠であり、日頃から装置の状態を把握しておくことは偶発的に発生するトラブルの早期発見にも繋がる。

全ては患者様のために。