

〈企業特集：検査機器・試薬・技術の新たな展開〉

Bio Majestyシリーズにおけるリアルタイム異常反応検出技術

小島 和茂

Detection of abnormal reactions on Bio Majesty series

Kazushige Kojima

Summary Functional enhancements of clinical chemistry analyzers have enabled speedy measurements of multiple tests and samples. However, improvements are still required in handling of incidental abnormal data that occur during routine analysis in clinical laboratories. When inaccurate data are reported, the reaction time-course is often abnormal. Nevertheless, it is a troublesome task to visually check every reaction time-course whenever an error occurs. Therefore, it is desirable for laboratory routine analyses to have an on-board check system in order to detect such abnormal data.

Key words: On-board check system, Abnormal reactions

I. 緒言

生化学検査では多検体・多項目の測定を正確かつ迅速に報告する必要が求められている。それらを実現する手段として、搬送システムや検査システムなどが導入され、検査の自動化が行われている。しかしながら、簡便・高速だけを目的とした検査の自動化は不完全であり、突発的に発生する異常データについても検出できる機能が必要とされる。一方、前回値チェック、異常値チェック、項目間チェックといった値の評価を行う方法もあるが、全ての異常を判定する事は困難である。

自動分析装置における反応タイムコースはデータの異常を判断するための手段として有用である¹⁾が、全ての反応タイムコースを目視で確認する事は困難である。そのためBio Majestyシリーズ（以下 BMシリーズ）における既存の機能を利用して、異常反応の検出を行う研究がされてきた。

例えば、試薬と検体の反応により濁りが生じる異常（M蛋白）が発生した際に、測定対象項目の定量と濁りのモニタリングを同時に行う事が出来れば反応タイムコースの異常を容易に判断する事ができる。そこでBMシリーズにおける『サブ条件設定』を利用し、濁りを検出する

日本電子株式会社 医用機器事業部 医療機器本部
技術サポートセンター 応用研究グループ
〒196-8558 東京都昭島市武蔵野3-1-2

Application & Research group, Technical Support Center,
Medical Equipment Division, Medical Equipment
Business Operations, JEOL Ltd.
3-1-2 Musashino, Akishima, Tokyo 196-8558, Japan

事例の報告がある^{2),3)}。

反応タイムコースの異常には様々な要因が考えられ、万が一装置のトラブルにより異常データが発生する場合には、リアルタイムに異常を判断し、検査の中断を判断する必要がある。それらの反応タイムコースの異常検出として、『分散設定』、『試薬区間許容値設定』などを利用した事例についても、報告されている^{4),6)}。

これらの反応タイムコースの形状の異常を検出する技術は、検査結果に追加する新たな情報としてデータの信頼性の向上に繋がる事が期待される。そこで、BMシリーズにおいて検体由来、試薬由来、装置のトラブルに由来する反応タイムコースの異常を形状の違いから検出する

技術を報告する。

II. 方法

BMシリーズでは、大きく分けて3つのチェック機能を有している。それぞれの判定の共通点として、反応タイムコースの形状(特長)を数値化することを目的としており、同じ試薬、同じ機種を使用している施設で共通の設定値を使用する事が可能となる。BMシリーズは7日間の測定データのタイムコースを装置内に残しており、340 nm~884 nmにおける14波長の吸光度データを利用することができる。統計結果からそれぞれの設定値の最適値を算出した。

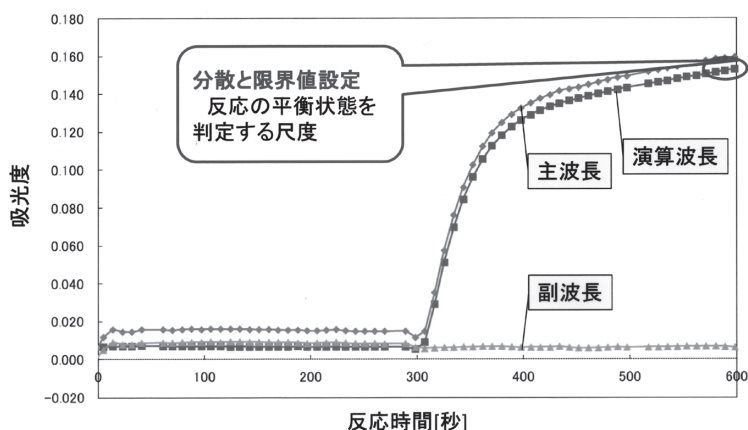


図1 エンド法における分散・限界値設定

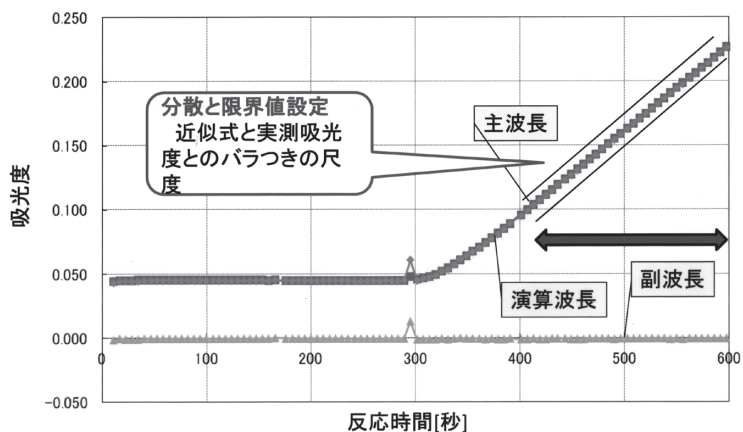


図2 レート法における分散・限界値設定

←→ 測定対象項目の測定値算出のための測光区間

N=演算に使用した測光ポイント数

1) 分散・限界値設定

BMシリーズでは演算方式（エンド法、レート法）と連動したチェック機構で、演算に使用する測光区間における反応タイムコースの形状チェックを行っている。エンド法では、一般的に10分反応の最後と第2試薬分注直前の吸光度差から測定対象項目の測定値を算出しており、10分反応の最後の数ポイントのバラつきをチェックする事で、反応の平衡状態を判定する尺度として分散値を算出している（図1）。エンド法における分散値は下記の式で計算される。

$$\text{分散値 (S)} = (\text{演算区間の最大吸光度} - \text{最小吸光度}) / \text{ABS1} \times 100 \quad \text{式1}$$

ABS1=演算区間の吸光度の中央値

次にレート法では、最小二乗法により得られた傾き（反応速度）から測定対象項目の測定値を算出しており、その際、得られた近似式上の吸光度と実際の吸光度との差を残差として算出し、その残差のバラつきの尺度として分散値を算出している（図2）。レート法における分散値は下記の式で計算される。

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

ABS1=演算区間における1分間あたりの吸光度変化

どちらの演算方式においても、設定した数値を超えた場合には測定値にアスタリスクマーク（*）を付加する事ができる。また、分散値の計算では、ABS1が小さくなった場合に反応タイムコースが正常の場合にも分散値が大きくなることが考えられる。そこで、限界値を設定し、ABS1が一定以下で有る場合に分散判定から除外する。

2) 試薬区間許容値設定

試薬区間許容値設定では、測定対象項目の演算区間とは関係なく反応タイムコースの異常を検出可能な事、演算に使用している個々の波長（主、副）に対しての判定を行っている事が特長である。第1試薬と検体分注・混合後から第2試薬分注直前までの区間を第1試薬区間、第2試薬分注後から10分反応の最後までを第2試薬区間と呼んでいる。それぞれの区間における測定対象項目で設定している主波長・副波長のそれぞれに対し、隣り合った測光ポイントの吸光度差とその平均を求め、そのバラつきを判定することで異常を検出する機能である（図3）。このとき、第1試薬区間の主波長の許容値設定を（V：大文字）、第1試薬区間の副波長の許容値設定を（v：小文字）、第2試薬区間の主波長の許容値設定を（W：大文字）、第2試薬区間の副波長の許容値設定を（w：小文字）としてい

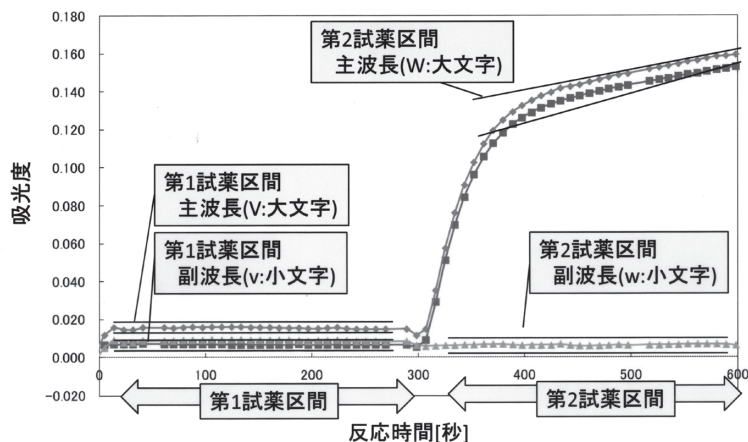


図3 試薬区間許容値設定

る。試薬区間許容値は下記の式で計算される。

$$\text{試薬区間許容値}(V, v, W, w) = \sqrt{\frac{\sum((A\text{の差}) - (A\text{の平均}))^2}{N-1}} \times 100 \quad \text{式3}$$

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

3) サブ条件設定

BMシリーズの分析条件設定におけるサブ条件機能では、1回のサンプリングで3つの演算を行う事ができる。さらに波長や演算方式（エ

ンド法、レート方法）、測光ポイントなどを自由に設定する事ができる。例えば、主条件で測定対象項目の定量を行い、そのサブ条件として反応の異常を捕える分析条件を設定する。例えば、第1試薬と検体との濁りを検出する場合には、第1試薬と検体が分注され、攪拌後、75秒後から第2試薬添加直前の吸光度差を求める。その際、使用する波長は測定対象項目の主波長を単波長で設定する。次に第2試薬混合後に濁りを検出する場合には、測定対象項目の反応に依存しない波長を単波長で設定し、第2試薬添加直前の吸光度と10分反応の最後の吸光度差を求める。

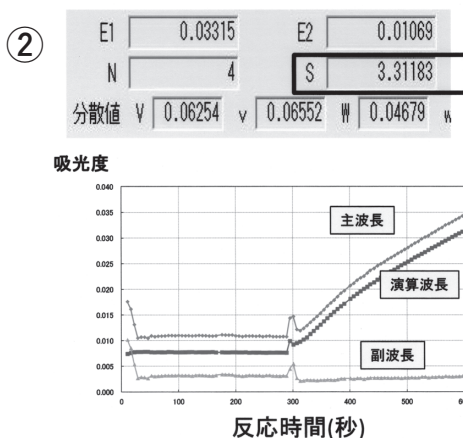
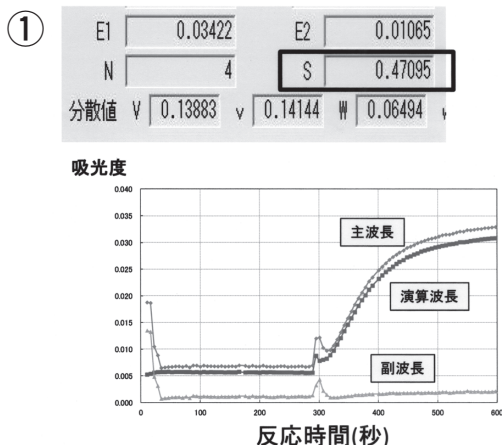


図4 ①CREにおける正常タイムコース

②CREにおける異常タイムコース

①

N数		3493	最大	3.792
平均		0.712	最小	0.05
No.	分散値	N数(度数)	累積(%)	
1	0.455 未満	483	13.8%	
2	0.455 - 0.682	1127	46.1%	
3	0.682 - 0.909	1223	81.1%	
4	0.909 - 1.136	515	95.8%	
5	1.136 - 1.364	105	98.9%	
6	1.364 - 1.591	24	99.5%	
7	1.591 - 1.818	6	99.7%	
8	1.818 - 2.045	1	99.7%	
9	2.045 - 2.273	2	99.8%	
10	2.273 - 2.500	0	99.8%	
11	2.500 以上	7	100.0%	

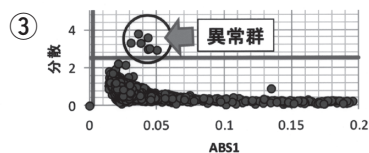
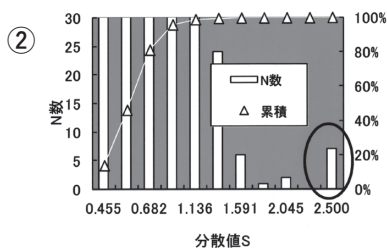


図5 CREにおける異常事例による分散値解析

①全3,493件の分散値度数分布, ②全3,493件の分散値ヒストグラム, ③全3,493件のABS1と分散値の関係

Ⅲ. 結果

1) 分散・限界値設定

① エンド法：CRE

CREにおける異常反応の事例を図4に示す。正常タイムコースと比べ、異常タイムコースでは反応が平衡状態に達していないことが確認できる。正常タイムコースでは分散値0.47、異常タイムコースでは分散値3.31となり、統計結果(図5)からも分散値を2.5に設定する事で反応タイムコースの異常の検出が可能となった。分

散値とABS1に比例関係がある場合には分散設定による異常判定を行う事は出来ないが、解析データでは比例関係はない事が解った。また、今回異常になったデータ群は特定の日時に限定しており、試薬ピペットの交換によりその影響は見られなくなった。影響のあった全てのデータは、直前にビリルビン(酵素法)の測定をした点からビリルビン試薬に含まれるビリルビノキシターゼからの試薬間コンタミネーションが原因である事が解った。

分散設定を行う事で、反応タイムコースの異常を検出するとともに、ピペット交換等、メン

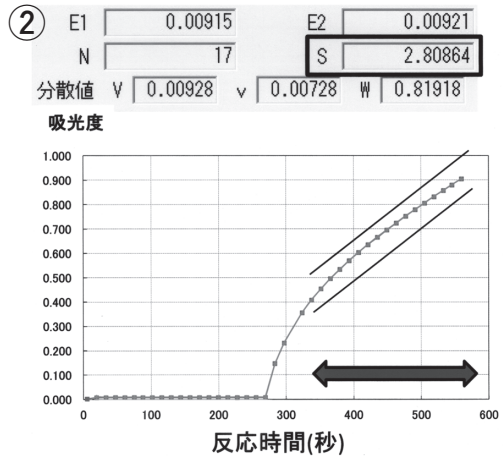
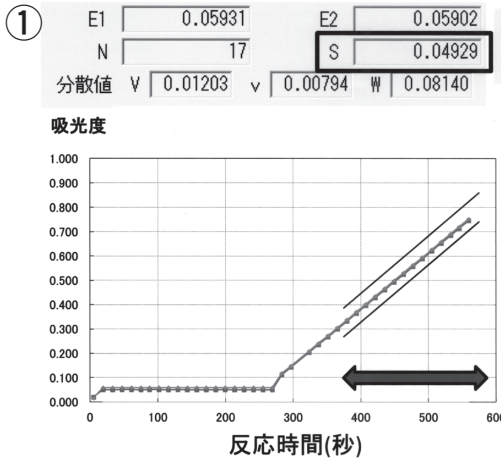


図6 ①AMYにおける正常タイムコース ②AMYにおける異常タイムコース

①

N数	488	最大	2.809
平均	0.130	最小	0.02

No.	分散値	N数(度数)	累積(%)
1	0.182 未満	440	90.2%
2	0.182 - 0.273	31	96.5%
3	0.273 - 0.364	8	98.2%
4	0.364 - 0.455	5	99.2%
5	0.455 - 0.545	0	99.2%
6	0.545 - 0.636	1	99.4%
7	0.636 - 0.727	0	99.4%
8	0.727 - 0.818	0	99.4%
9	0.818 - 0.909	0	99.4%
10	0.909 - 1.000	0	99.4%
11	1.000 以上	3	100.0%

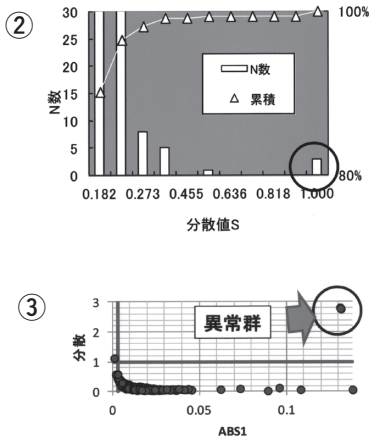


図7 AMYにおける異常事例による分散値解析
①全488件の分散値度数分布、②全488件の分散値ヒストグラム、③全488件のABS1と分散値の関係

テナンスの必要性を示す機能としても、有用である事が解った。

②レート法：AMY

AMYにおける異常反応の事例を図6に示す。正常タイムコースと比べ、異常タイムコースでは第2試薬添加後の前半と後半の傾きが異なる事が確認できる。正常タイムコースでは分散値0.05、異常タイムコースでは分散値2.81となり、統計結果（図7）から分散値を2.0と設定することで、異常の検出が可能となった。分散異常となった検体は全て同一患者のデータであり、その異常要因としてはマクロアミラーゼによるもので有る事が解った。

エンド法・レート法のどちらも計算のロジック上、吸光度変化量の少ない測定系では擬似的に分散値が増加することが（図8）確認できた。この事から、分散値を設定するには最適な限界値を同時に設定する必要があり、特に試薬ブランク測定時の反応が分散判定の対象から除外できる設定とした。

2) 試薬区間許容値設定

分散値設定では演算に使用する測光区間のバラつきのチェック機構であるため、測定対象項目の演算設定に依存する。試薬区間許容値設定では、測光区間とは異なる部分や単波長におけるタイムコースの異常が発生する場合、効果的

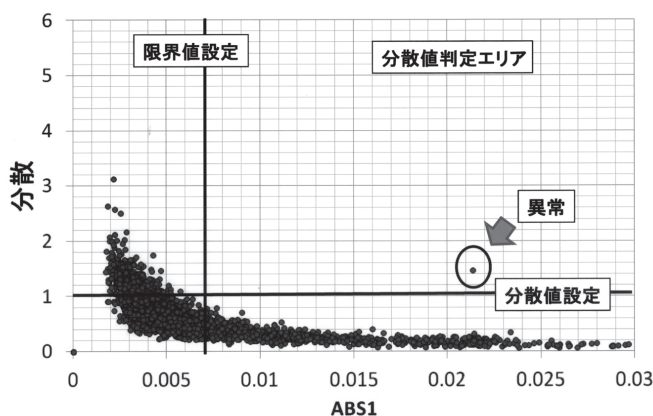


図8 ABS1と分散値・限界値の関係

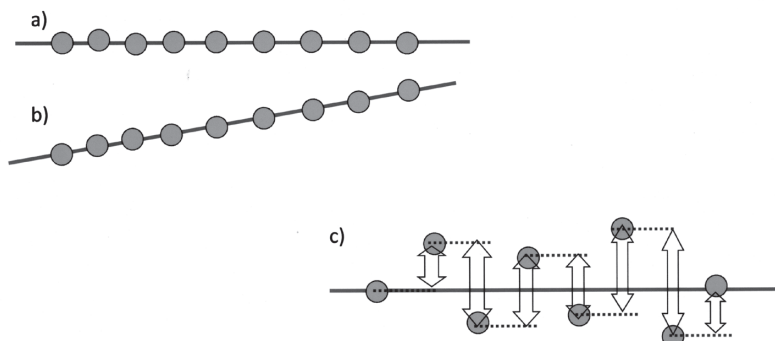


図9

試薬区間許容値設定における異常判定イメージ

- a) 正常タイムコース：隣り合った測光ポイントの差がない
- b) 正常タイムコース：隣り合った測光ポイントの差が一定
- c) 異常タイムコース：隣り合った測光ポイントの差のバラつきが大きい

である。第1、第2試薬区間において隣接した測光ポイントの吸光度差のバラつきを評価する機能であるため、バラつきが大きい場合には異常と判定し、反応タイムコースがフラットであるものや反応速度が一定な変化では正常と判定する(図9)。主に装置由来で発生する異常の検出が可能であり、光源ランプの劣化や洗浄水の混入による反応タイムコースの異常の検出する事ができた(図10)。

3) サブ条件設定

試薬と検体の混合時に濁りを生じた事例を示す(図11)。濁りによる反応タイムコースの異常反応の場合には、試薬区間許容値設定で全ての異常を判断出来ない場合がある。それは、図9に示した通り、濁りの反応速度が一定である場合には判定が困難なためである。サブ条件

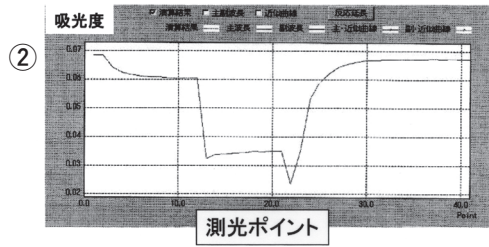
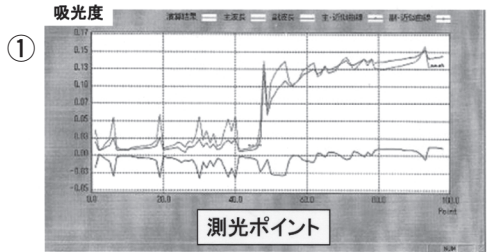


図10 試薬区間許容値設定による異常検出事例
①光源ランプの劣化
②第1試薬区間における洗浄水の混入

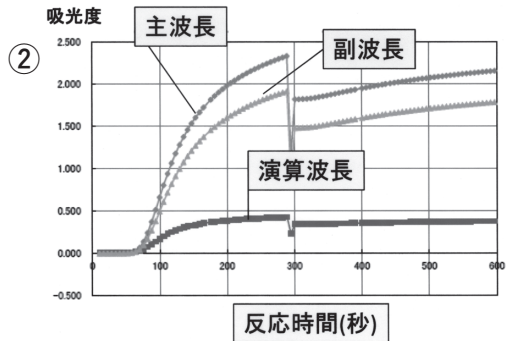
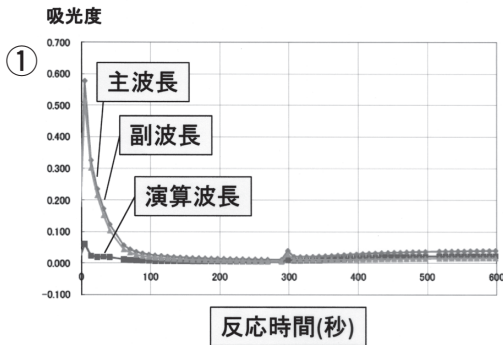


図11 第1試薬区間に濁りを生じる事例
①測定項目 T-Bil 第1試薬と検体混合時に濁りが発生、瞬時に消失
②測定項目 Fe 第1試薬と検体混合時に濁りが発生、消失することなく漸増

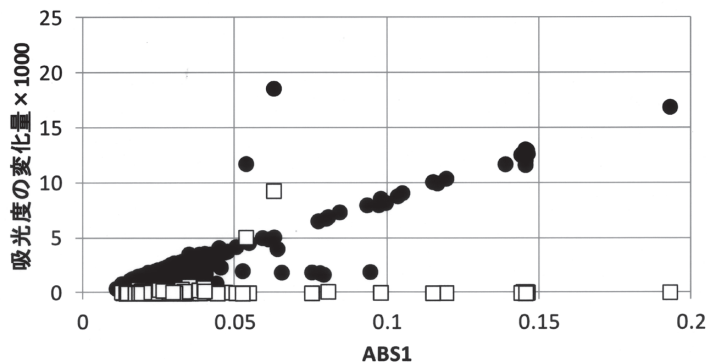


図12 CREにおける第2試薬区間に濁りが生じる事例の解析結果、ABS1と吸光度変化量との関係
●測定対象項目の副波長(694nm)、□測定値に依存しない波長(884nm)

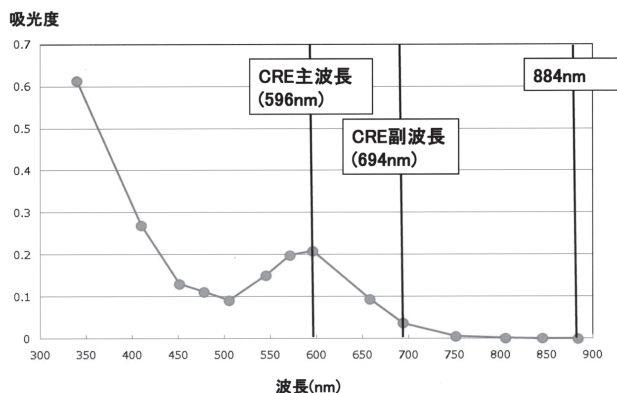


図13 CREにおける簡易吸収スペクトル（測光の最終ポイントの吸光度）

では任意の区間の吸光度の変化を判定することや任意の波長を選択すること、濁りに対してより感度よく判定する事ができる。

例えば、第1試薬区間で濁りが生じる場合には、測定対象項目の主波長に設定している波長を単波長で設定する。また、第2試薬区間で濁りが生じる場合では測定対象項目の反応と濁りが重なるため、反応タイムコースの形状の異常を判定する事が困難である。当初は測定対象項目の副波長に設定している波長を単波長で設定することに注目した。しかし、設定する波長は対象項目のABS1に比例関係を示す場合には別の波長が望ましい事が確認できた(図12)。BMシリーズでは340 nm～884 nmの14波長の吸光度を出力することができるため、簡易的な吸収スペクトルを容易に作成する事ができる(図13)。そこで、測定対象項目の吸収スペクトルや濁りが発生した際の吸収スペクトルを確認し、最適な波長の選択が可能となった。

IV. 考察

分散設定はエンド法では平衡状態を、酵素系では近似式との実際の吸光度のバラつきをチェックすることで、装置由来、検体由来のそれぞれのタイムコースの異常を検出する事ができた。

次に、試薬区間許容値設定では主に、装置由来のタイムコースの異常を検出する事ができた。装置の異常では、検査の中断を判断する必要性

があり、リアルタイム検出の有用性がある。第2試薬区間主波長許容値(W:大文字)は測定対象項目の測定値に依存し、大きくなる傾向があり、全ての2試薬系の項目において、異常判定は実施しない必要がある。また、ASTやALTでは第1試薬区間主波長許容値(V:大文字)は他の項目と比べると、大きくなる傾向が見られる。その要因としては、内因性のビルビン酸除去に伴うNADHの減少により反応タイムコースが変動するためである。以上の要因から試薬区間許容値設定を行う際、測定対象項目の反応系に依存して、タイムコースに変動がある区間や波長では異常判定を行わない必要がある。

サブ条件設定では、フレキシブルにパラメータを組むことができるが、今回は試薬と検体との混合時の濁りを判定する機能として利用した。特に、第2試薬添加後の濁りの検出では、任意に波長を選択できる点は有用性があることが解った。

V. 結語

異常反応をモニタリングできる機能を紹介したが、全てのチェック機構を組み合わせることで様々な反応タイムコースの異常を判定する事が可能となった。反応タイムコースが異常になる要因は様々であり、リアルタイムに反応タイムコースを確認する事が重要である。そこで、今回紹介したチェック機構を利用し、自動分析装置に、反応タイムコースの監視をさせる事が

必要である。

参考文献

- 1) 自動分析異常の解析技術マニュアル及び自動分析運用指針. 日本臨床検査自動化学会誌, 35(1): 12-13, 2010.
- 2) 菅野光俊: 日常検査での検査過誤防止の為のシステム構築. 生物物理化学, 50: 103, 2006.
- 3) 島野志都子: 尿酸、クレアチニンが異常高値を示した症例とその対策. 臨床化学, 42: 197, 2013.
- 4) Seimiya M: The abnormal reaction data-detecting function of the automated biochemical analyzer was useful to prevent erroneous total-bilirubin measurement and to identify monoclonal proteins. Clin Chim Acta, 441: 44-46, 2015.
- 5) 末吉茂雄: JCA-BM6050を用いたリアルタイム異常タイムコースの検出. 日本臨床検査自動化学会誌, 36(4): 749, 2011.
- 6) 清宮正徳: 日本電子BM-2250の分析パラメータの変更による異常反応への対応と誤報告の回避. 日本臨床検査自動化学会誌, 36(4): 750, 2011.