

第13回近畿分析試薬研究会

2009.11.11

クロスコンタミについて

KYOWA KIRIN

協和メデックス（株）

クロスコンタミとは？

- **コンタミネーション (contamination) : 汚染のこと。**

略してコンタミと呼ばれることが多い。

- **コンタミネーションの分類: 二つのパターン**

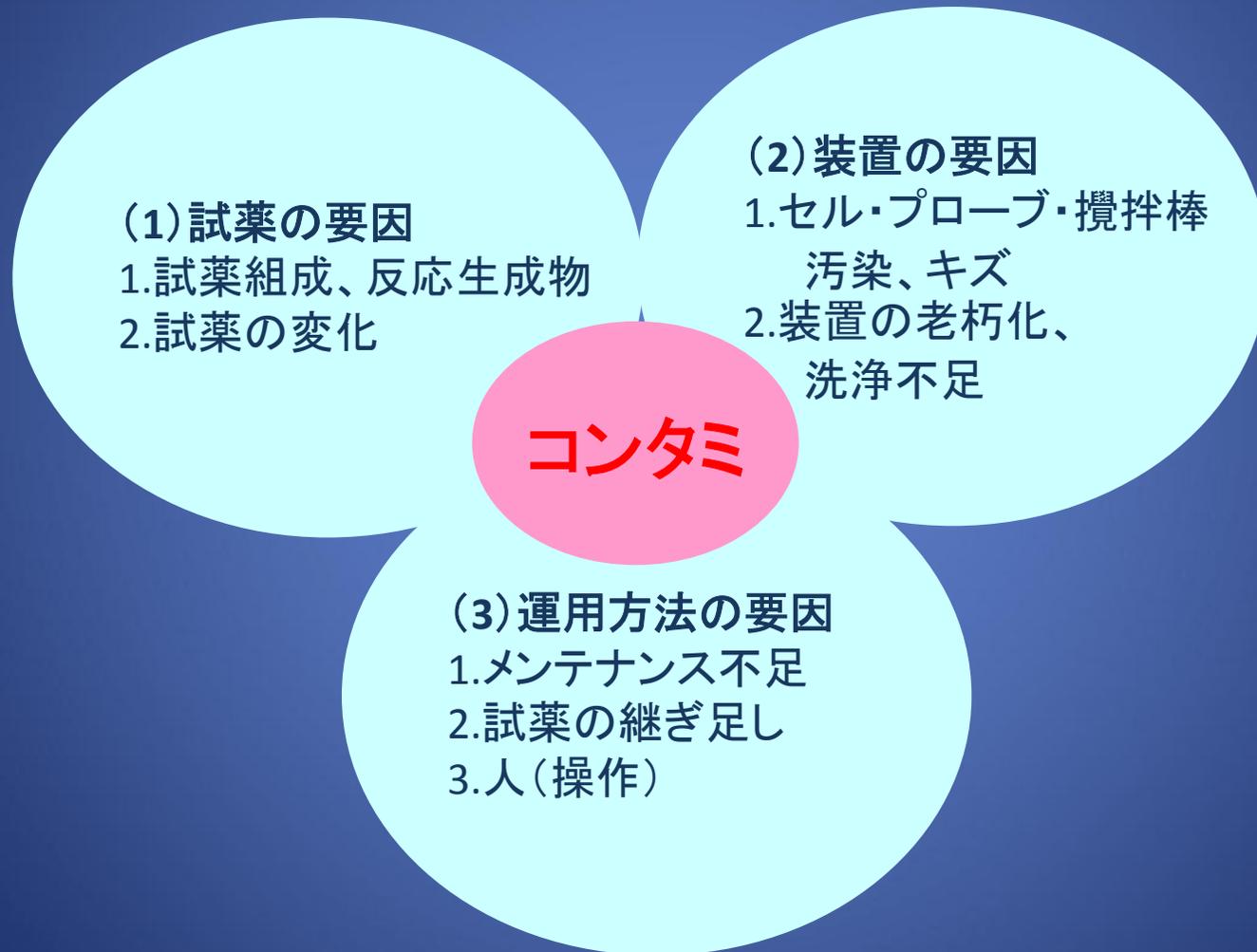
①環境中の異物が実験系に混入する

⇒ **混入したものの影響によって実験失敗につながる**

②環境から隔離されて封じ込められていた実験材料が生活環境に
漏れ出す

**生化学検査においてはデータの誤報告につながり、
大きな問題となる。**

クロスコンタミを生じる要因



(1) 試薬の要因

1) 試薬組成・反応生成物、測定に関与するものの直接混入

ピペット・攪拌棒・セルを介した混入

2) 試薬の反応へ間接的に影響するものの混入

保冷庫内の気化ガスの試薬への混入により、pHの変動等試薬が変化して測定値に影響

コンタミ防止の取り組み

試薬: コンタミ防止技術、試薬の安定性向上

運用: 測定順番、試薬の位置、ボトルサイズ・形状の工夫、
コンタミ防止操作などで軽減可能

(2) 装置の要因

1) セル・ピペット・攪拌棒等装置の汚れ、キズ

2) 装置の老朽化、洗浄不足

長期間使用による消耗・汚れの付着
処理速度アップにより洗浄時間減少

コンタミ防止の取り組み

装置: ピペットの材質、コーティング、超音波攪拌等で、付着防止
測定順番、コンタミ回避P、インテリジェンス機能
運用: 定期的な洗浄、消耗部品交換

(3) 運用方法の要因

1) メンテナンス不良

洗浄不足、定期交換未実施、純正洗剤の未使用

2) 試薬の継ぎ足し

汚染物質の蓄積・濃縮、誤混入リスク

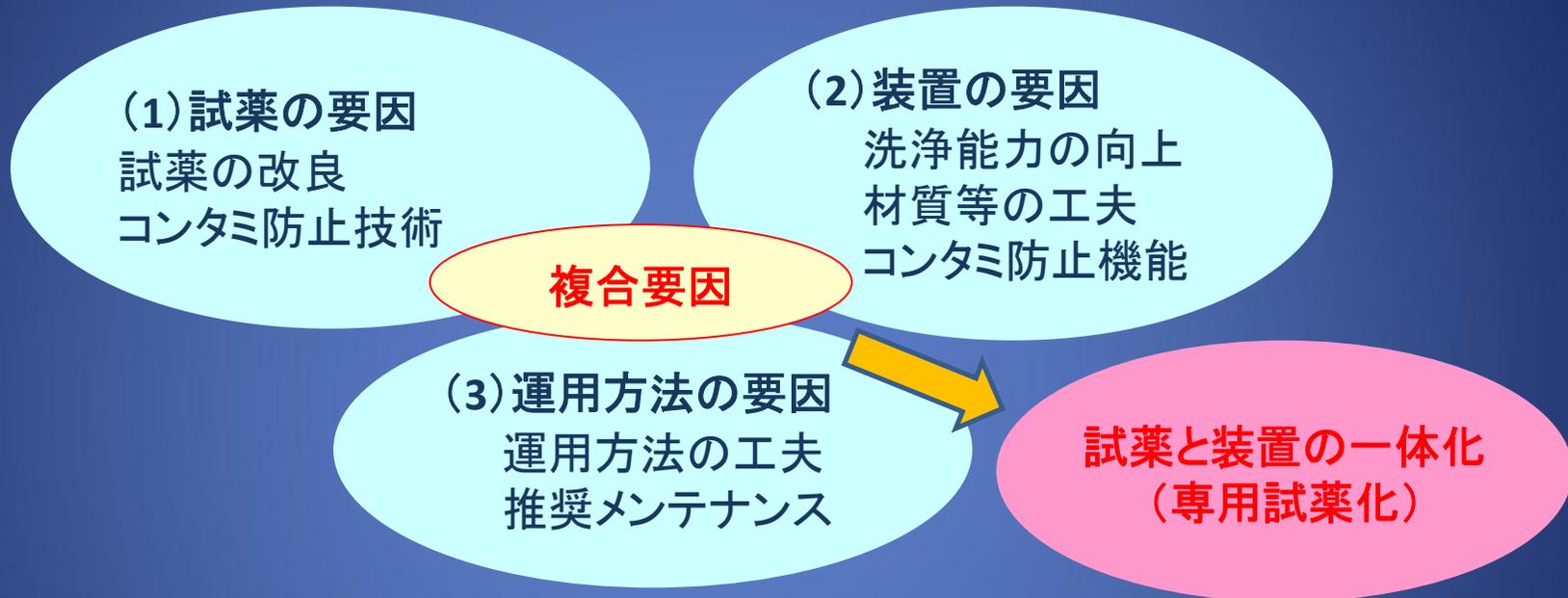
コンタミ防止の取り組み

運用: メーカー推奨洗剤による定期的な洗浄、消耗部品交換

運用: 試薬ポジション、測定順番の工夫

運用: 継ぎ足し方法の工夫(推奨はできない)

クロスコンタミ防止策のまとめ



個々の問題に対するコンタミ防止効果 大 / 複合すると???

コンタミを完全になくすことは不可能だが、3者(試薬メーカー、装置メーカー、施設)の協力により、コンタミを最小限にすることは可能。

コンタミ事例紹介

試薬を要因とするコンタミ

- 試薬の中に含まれる成分(試薬組成)の影響
- 反応に関与するもの、生成物の影響
- 試薬・反応液の波長の影響

測定物が試薬に含まれる事例

A L T (試薬組成)

- トリス緩衝液 100 mmol/L
- pH(30°C) 7.5
- LDH 2000 U/L
- NADH 0.16 mmol/L
- L-アスパラギン酸 300 mmol/L
- α -ケトグルタール酸 13 mmol/L

反応に関与するものが含まれる事例

T - c h o (反応生成物)

<第一反応>



<第二反応>



* DOSE : Sodium N-(3,5dimethoxyphenyl)-N'-succinylethylenediamine

反応に関与するものが含まれる事例

TG（反応生成物）

<第一反応>



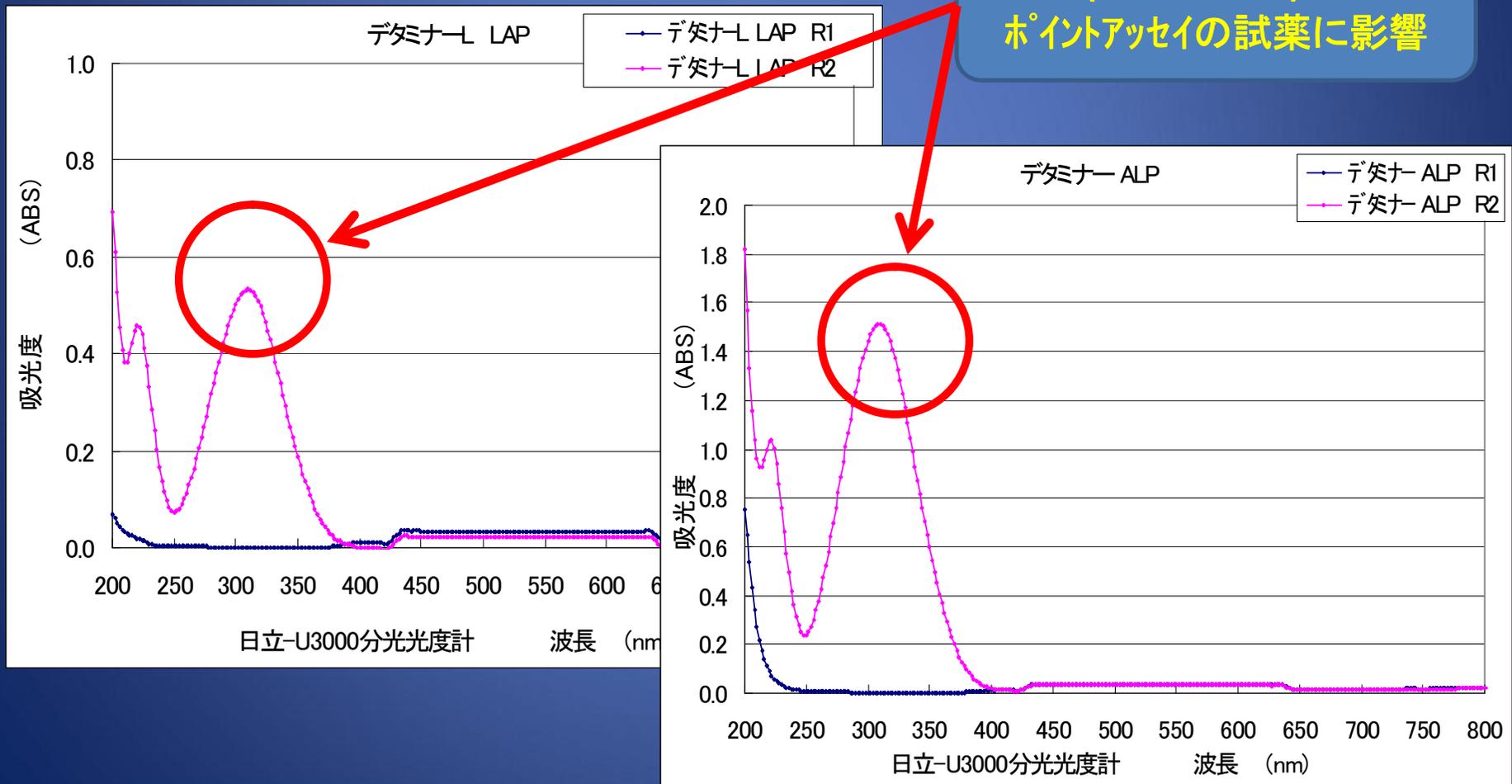
<第二反応>



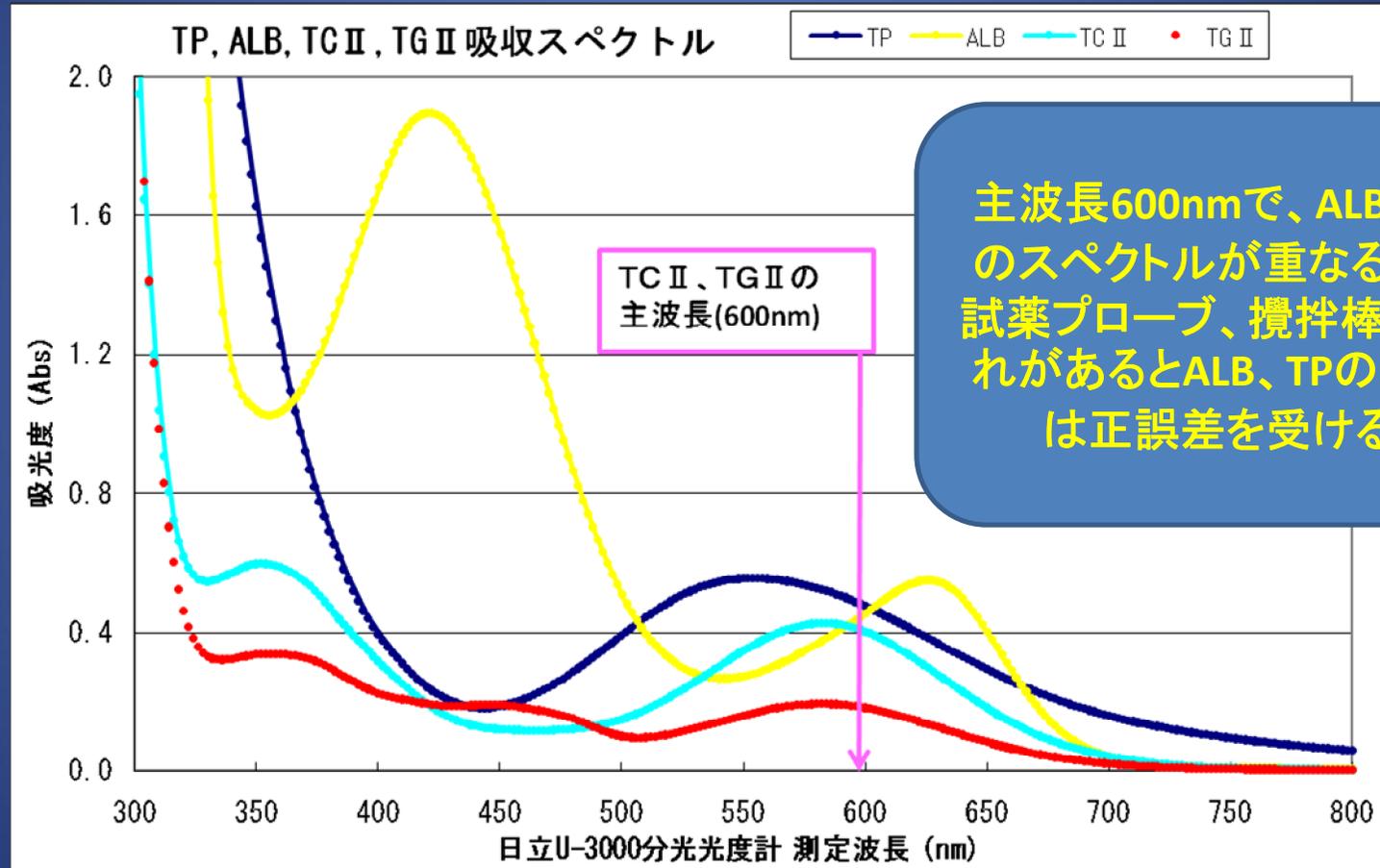
* DOSE : Sodium N-(3,5dimethoxyphenyl)-N'-succinylethylenediamine

波長の影響を受ける事例

<試薬吸収スペクトル>



波長の影響を受ける事例



ALBは試薬の粘度が高く、セル・プローブ・攪拌棒に残りやすい。

クロスコンタミの事例 まとめ

	影響を与える項目		影響を受ける項目	原因
測定物を含む試薬の影響	ChE (リン酸Buffer試薬)	⇒	IP↑	試薬にリン酸を含有
	CK、ALP、GLU HDL-C、TG、BUN (Mg含有試薬)	⇒	Mg↑	試薬にMgを含有
	AMY	⇒	Ca↑	試薬にCaを含有
	ALT	⇒	LDH↑	試薬にLDHを含有
	HDL-C (コール酸系界面活性剤を含む試薬)	⇒	胆汁酸↑	試薬にコール酸を含有
反応に関与するものや反応生成物の影響	脂質項目	⇒	リパーゼ↑、FC↑ NEFA↑、TG↓	試薬にLPLを含有
	HDL-C	⇒	TG↑、CRE↑	CHODが過酸化水素生成
	ビリルビン	⇒	発色剤と4AAを含む試薬↑	ビリルビンオキシダーゼで発色
	GA	⇒	酵素系↓、免疫抗体↓ 薬剤↓	プロテアーゼが蛋白を分解
試薬・反応液の波長の影響	ALP、LAP	⇒	IP↑、GLU↑ (UV法でエンドポイント試薬)	試薬が340nmに吸収
	ALB	⇒	TC↑、TG↑ etc	試薬の発色が影響

装置を要因とするコンタミ

- 経年変化による装置の洗浄能力の低下
- セル・プローブ・攪拌棒の汚れ
- プローブ内壁の汚れ
- インテリジェンス機能の影響

装置の洗浄能力の低下

機器導入時のセルコンタミテスト結果 A社 ピペッティング方式 機種（反応セル）

リパーゼ

影響を与える項目

	LD	AST	ALT	ALP	GGTP	Mg	ChE	AMY	CPK	TP
Lipase	32	33	32	33	33	31	32	31	33	32
	ALB	BUN	GLU	UA	CRE	IP	TG	TC	HDL-C	LDL-C
	32	33	34	33	33	33	34	34	34	34

機器導入後1年後時のセルコンタミテスト

リパーゼ

影響を与える項目

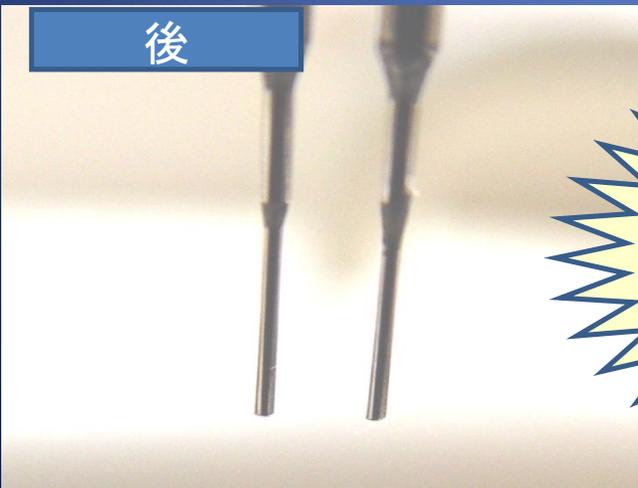
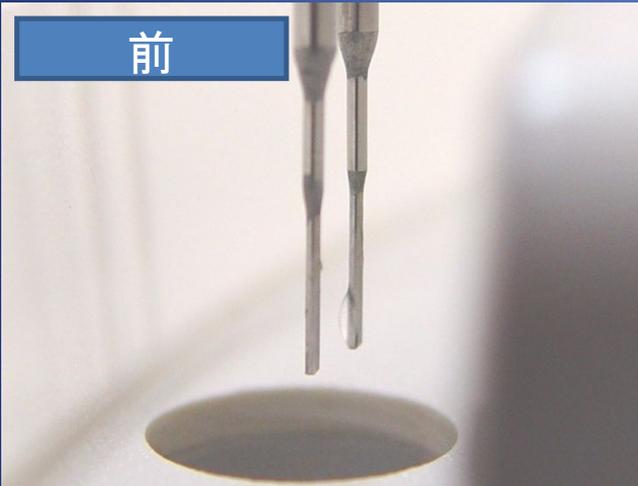
	LD	AST	ALT	ALP	GGTP	Mg	ChE	AMY	CPK	TP
Lipase	40	40	40	40	40	40	40	41	40	40
	ALB	BUN	GLU	UA	CRE	IP	TG	TC	HDL-C	LDL-C
	40	41	40	40	40	40	50	49	45	44

機器導入後に試薬干渉が現れる例

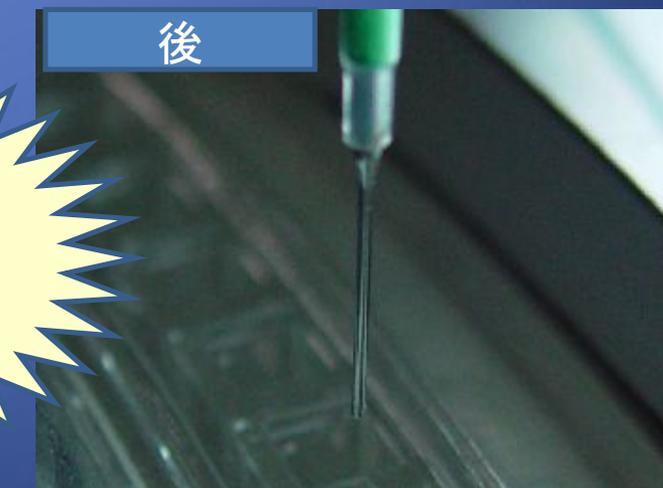
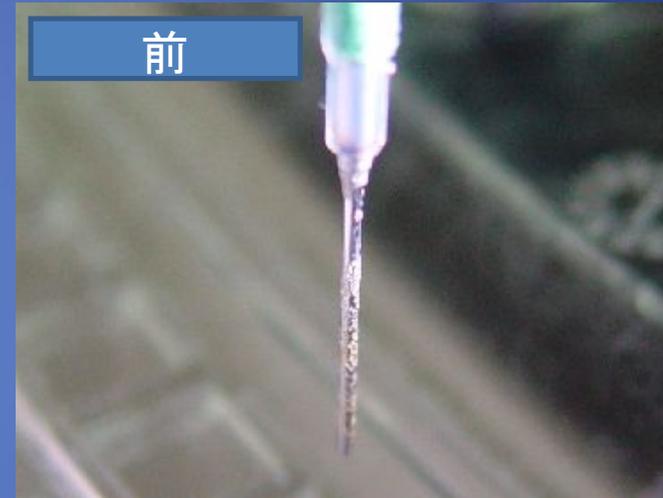
機器導入後半年で突然リパーゼの“ばらつき”が大きくなった

プローブの汚れ(メンテナンス前後)

試薬プローブ



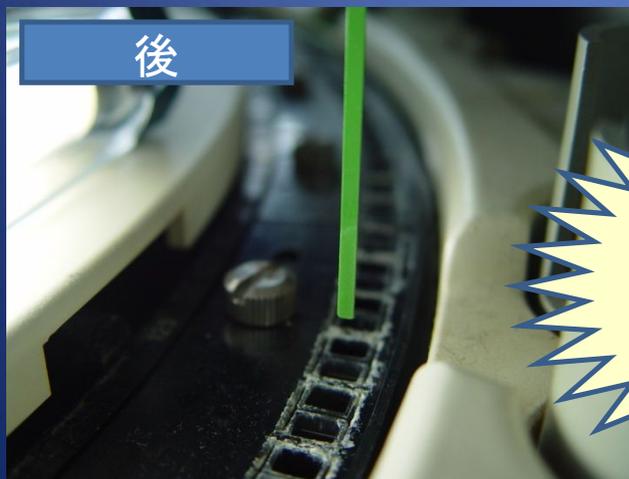
サンプルプローブ



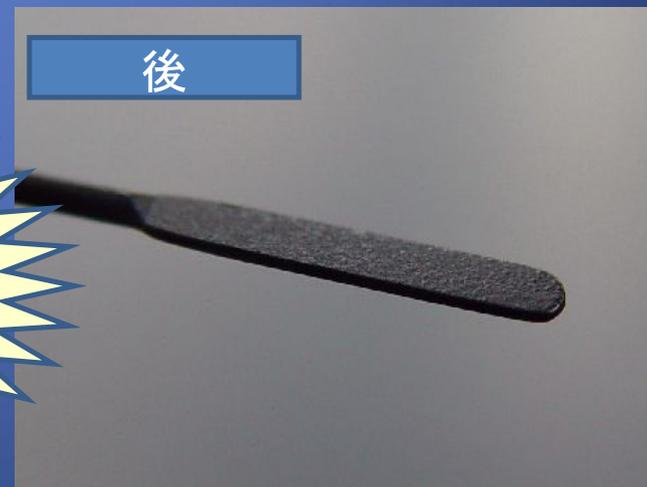
80%エタノール
拭き取り

攪拌棒の汚れ(メンテナンス前後)

攪拌棒



攪拌棒



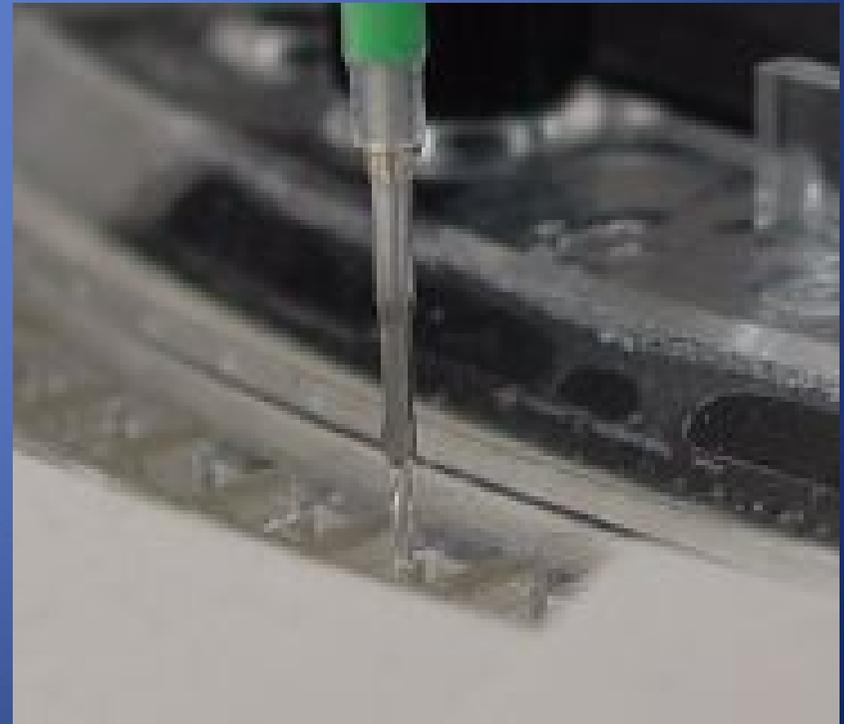
80%エタノール
拭き取り

プローブ内壁の汚れ

- サンプルプローブ内壁の蛋白（血清）付着
- メンテナンスによる傷（マンドリン線）

プローブ内径の縮小

処理能力向上による
洗浄時間の短縮



インテリジェンス機能の影響

インテリジェンス機能

処理速度が遅くならないように測定順番を考慮する機能



洗剤洗浄が機能しない場合、洗浄プログラムを設定しても影響が回避できない項目の組み合わせもある。

試薬プローブ 洗浄プログラム設定 TG⇒リパーゼ アルカリ洗剤 (実例 日立-7170S)

項目の組み合わせ	洗浄プログラム設定後の動作	回避
TG ⇒ リパーゼ	TG ⇒ 洗剤 ⇒ リパーゼ	○
TG ⇒ リパーゼ ⇒ CPK	TG ⇒ CPK ⇒ リパーゼ ↑	×

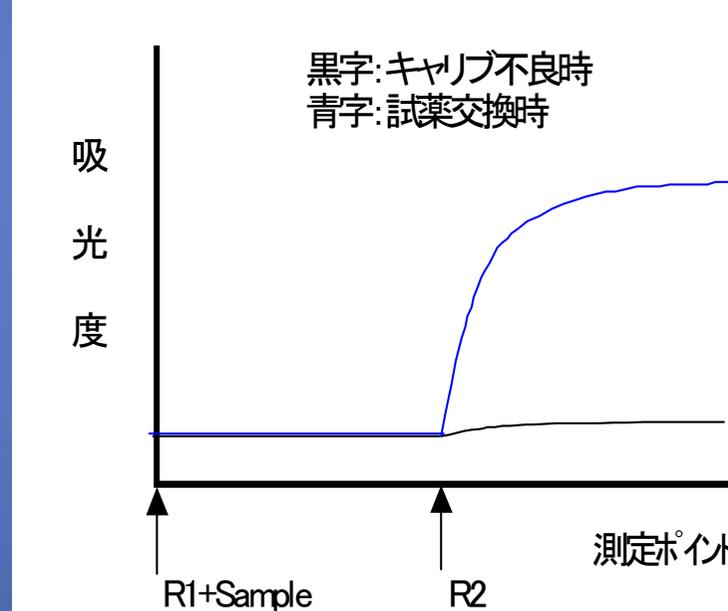
その他：気化ガスの影響

試薬設定位置における悪影響 試薬庫内での蒸散 (Fe: 亜硫酸ガス→UA)

H₂O₂の消費
pH変化

UA		
Calib	× 10 ⁻⁴ Abs	
	試薬開封時	1日後
Blank	1	1
Std	771	5
Assay		
	mg/dL	
	試薬開封時	1日後
Cont L	4.5	0.0
Cont H	8.1	0.0
検体1	3.5	-0.1
検体2	4.6	0.0

該当スタンダードのタイムコース



(引用文献: 臨床病理 試薬蒸散に起因する他検査試薬へ影響とその対策)

試薬ポジションを離すことで改善

事例紹介：尿酸値が0になる

現象

- 日立7600-110 Dモジュール
- ルーチン検体を測定していると、尿酸の測定値が、しだいに低くなり、最後には0になる。
- この現象が発生した時は、攪拌棒が汚れている
- 攪拌棒に糸クズの様な物が付着している
- 攪拌棒の清掃でデータは正常になる

チャンネル

1ライン	2ライン	3ライン	4ライン
UA	CRE	BUN	GLU
Ca	Mg	IP	B2MG
GOT	TP	HDL	GPT
CRP	T-BIL	Fe	γ -GTP

原因

CRPの攪拌棒からのコンタミ

試薬の添加試験

★プール血清にCRPのR1、R2を5%添加

★対象：プール血清に生理食塩水を5%添加

試料1	生理食塩水
試料2	プール血清+生理食塩水
試料3	プール血清+CRP R1
試料4	プール血清+CRP R2
試料5	プール血清

結果

項目	ベース	POOL+CRP R1	ベース	POOL+CRP R2
TP	6.4	6.4	6.4	6.4
GOT	16	13	16	15
GPT	14	14	14	14
r-GT	31	32	31	32
T-BIL	0.39	0.29	0.39	0.40
Fe	71	73	71	71
BUN	55	55	55	56
CRE	8.4	8.1	8.4	8.3
UA	6.4	0.0	6.4	6.3
Ca	9.3	9.4	9.3	9.8
IP	5.9	3.3	5.9	5.8
Mg	2.5	2.8	2.5	2.7
HDL	43.8	33.1	43.8	44.9
GLU	104	102	104	104
B2MG	2.3	2.0	2.3	2.7

チャンネルの変更

1ライン	2ライン	3ライン	4ライン
UA	CRE	BUN	GLU
Ca	Mg	IP	B2MG
GOT	TP	HDL	GPT
γ -GTP	T-BIL	Fe	CRP

原因

4AA-POD系に影響を与えるCRPのR1に
含まれる還元性物質のコンタミ

まとめ

<コンタミ回避の現状の問題点>

- ★新規導入機種においてクロスコンタミテストを実施して影響が無い組み合わせで機器を使用しても、しばらくしてから影響が現れる項目の組み合わせがあります。
- ★メーカーや機械により影響の有無、大小は異なります。
- ★市場にあるすべての項目について情報がある訳ではありません。
- ★複合コンタミやインテリジェンス機能の影響回避は困難です。

まとめ

コンタミをゼロにすることは困難



装置メーカー・試薬メーカーの情報の活用
(過去のコンタミ経験)

推奨する測定方法での分析
(指定の試薬・洗剤の使用)



コンタミを最小限にすることは可能です！

まとめ

弊社の対応：

- ・すべてのコンタミの組み合わせの把握は困難ですが、経験より情報を蓄積し、情報提供に努めます。

お客様の対応：

- ・メーカー推奨洗剤の使用。
- ・日常・定期メンテナンスの実施。
- ・装置導入時に認められないコンタミも、可能性のある組み合わせは、コンタミ回避プログラムの設定をお勧めします。

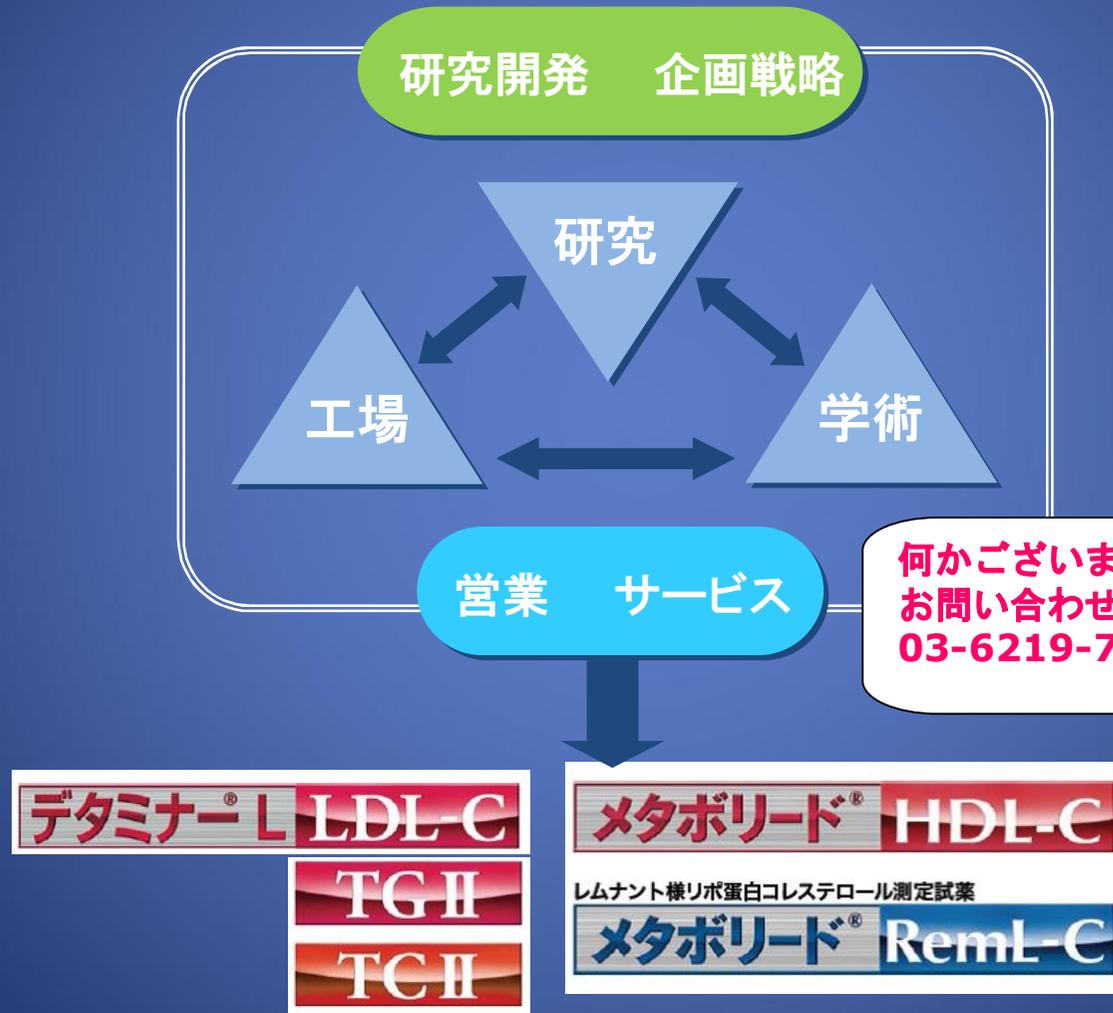
試薬メーカーからのお願い

基本的に試薬の継ぎ足しはおやめ下さい。

★やむなく試薬の継ぎ足しをする場合は…

- ・異なるロットの継ぎ足しは不可
- ・継ぎ足しは1回だけ(継ぎ足した試薬の期限が曖昧)
- ・試薬を継ぎ足した後は転倒混和
- ・開封後の使用は期限内に使用
- ・試薬ボトルは新しいものを使用
(新しいボトルに継ぎ足し、ボトルを月1回交換)
- ・洗浄したボトルは、試薬ごとに固定する
- ・継ぎ足し後はキャリブレーションを必ず実施
- ・管理血清の値の確認をする
- ・継ぎ足しが出来ない試薬もあるので要注意

協和メデックスはこれからも医療に貢献致します。



何かございましたら
お問い合わせください。
03-6219-7606



参考資料

結果

	TP	GOT	GPT	r-GT	T-BIL	Fe	BUN	CRE
試料 1	0.0	1	0	-1	0.01	0	0	-0.1
	0.0	1	0	-1	0.01	1	0	0.0
	0.0	1	0	-1	0.01	0	0	0.0
試料 2	6.4	16	15	31	0.40	71	55	8.3
	6.4	16	13	31	0.39	71	55	8.4
	6.4	16	14	31	0.39	71	55	8.4
試料 3	6.4	14	14	32	0.29	73	55	8.1
	6.4	12	14	32	0.29	74	55	8.1
	6.4	13	13	32	0.28	73	55	8.1
試料 4	6.4	14	13	31	0.40	71	56	8.4
	6.4	16	15	33	0.39	71	56	8.3
	6.4	16	14	32	0.40	71	56	8.3
試料 5	6.5	15	15	33	0.40	71	57	8.4
	6.5	14	14	33	0.39	71	57	8.3
	6.5	17	14	33	0.40	70	57	8.3

結果

	UA	Ca	IP	Mg	HDL	CRP	GLU	MG
試料 1	0.0	0.1	0.0	0.1	0.0	0.0	-1	0
	0.0	0.0	0.0	0.0	-0.1	0.0	-1	0
	0.0	0.0	0.0	0.0	-0.1	0.0	-1	0
試料 2	6.4	9.2	5.9	2.5	43.2	0.9	105	3
	6.3	9.3	5.8	2.5	44.7	0.9	104	2
	6.4	9.3	5.9	2.6	43.4	0.9	103	2
試料 3	0.0	9.5	3.3	2.8	32.9	0.9	103	2
	0.0	9.4	3.3	2.8	33.0	0.9	101	2
	0.0	9.4	3.3	2.7	33.3	0.9	103	2
試料 4	6.3	9.8	5.8	2.7	43.1	0.9	104	3
	6.3	9.9	5.9	2.7	44.7	0.9	104	2
	6.3	9.8	5.8	2.7	46.9	0.9	104	3
試料 5	6.4	9.4	5.9	2.4	43.5	0.9	103	3
	6.3	9.4	6.2	2.5	45.5	0.9	103	2
	6.3	9.5	5.7	2.4	43.2	0.9	104	3

反応生成物 T-CHO

第一反応



第二反応



* DOSE : Sodium N-(3,5dimethoxyphenyl)-N'-succinylethylenediamine

試薬メーカーからのお願い

★データクレームが発生したときの確認事項

- ✓ キャリブレーションデータ
- ✓ 管理血清値のデータ
- ✓ 異常検体の反応タイムコース
- ✓ 現象の把握
- ✓ 試薬継ぎ足しの有無
- ✓ 機器チャンネル設定
- ✓ 機器メンテナンス情報

測定値のバラツキ要因



吸光光度分析の特性要因図

