

# BioMajesty JCA-BM1250/1650/9030

## 超微量検体への対応

### 【はじめに】

小児・新生児など著しく採血量に制限のある患者への対応や、新薬・ゲノムの機能解析等で利用される実験小動物（特にマウス・ラット）などの微量検体の検査に対応することを目的として分析条件の検討を行ないました。

BioMajesty に共通する検体前希釈機構を有効に活用し、サンプルカップ等の検体ロス量をすべて含み、**僅か50 $\mu$ lの血清で21項目の分析が可能となる条件を検討しました。**



BioMajesty 純正B型サンプルカップに左から15 $\mu$ L 50 $\mu$ L 100 $\mu$ Lの検体を分注。

### 【分析条件の検討】

通常 BioMajesty では元検体30 $\mu$ lを120 $\mu$ lの希釈水と共に希釈ターンテーブルに分注し5倍に希釈された検体を、反応回転器に各分析項目ごとの必要量分注します。今回は元検体の分注量を減らし各希釈倍率での精密性の比較と測定値の互換性を確認しました。

### 【検討試薬】

項目	試薬メーカー名	試薬名	Lot No.R1	Lot No.R2
1 TP	関東化学	シカオートTP	1N1211	---
2 ALB	関東化学	シカオートALB	1L0211	---
3 AST	関東化学	シカリキッドAST	1R1281	1R1031
4 ALT	関東化学	シカリキッドALT	1Q0571	1R581
5 LDH	関東化学	シカリキッドLDH	1Q1251	1Q1261
6 ALP	関東化学	シカリキッドALP	1R0201	1Q0491
7 GGT	関東化学	シカリキッドGGT	1R0641	1S0521
8 CPK	関東化学	シカリキッドCPK	1Q0182	1P0142
9 AMY	関東化学	シカリキッドAMY-IR	1R0541	---
10 UA	関東化学	シカリキッドUA	1L1061	1M0961
11 Fe	関東化学	シカリキッドFe	D0Y81	101111
12 Ca	関東化学	シカオートCa	1P0551	1P0542
13 ChE	栄研化学	EJ テスト GE 栄研	14101	16102
14 CHO	栄研化学	エクディアル栄研CHO	16103	16104
15 TG	栄研化学	エクディアル栄研TG	15103	15102
16 HDL	協和	デタミナーL	220DAG	301CAG
17 CRE	セロテック	CRE-S	10701	10701
18 BUN	ニットーポー	N-アッセイBUN-L	D135A	A133A
19 CRP	ニットーポー	アッセイ TA CRP	G145A	E151A
20 TBIL	和光	E+Rワコー	DQ603	DP006
21 DBIL	和光	E+Rワコー	EF317	DR187

元検体の希釈倍率は、5倍(標準)・10倍・25倍について比較を行ないました。

### 【分析条件】

JCA-BM1650 希釈分析条件一覧表 (5倍・10倍・25倍)

項目	5倍希釈( $\mu$ l)		10倍希釈( $\mu$ l)		25倍希釈( $\mu$ l)		SV	R1	R2
	元検体	希釈液	元検体	希釈液	元検体	希釈液			
1 TP	30	120	15	135	6	144	4	90	**
2 ALB	30	120	15	135	6	144	3	90	**
3 AST	30	120	15	135	6	144	20	90	30
4 ALT	30	120	15	135	6	144	20	90	30
5 LDH	30	120	15	135	6	144	9	80	20
6 ALP	30	120	15	135	6	144	4	80	20
7 GGT	30	120	15	135	6	144	10	90	30
8 CPK	30	120	15	135	6	144	9	80	20
9 AMY	30	120	15	135	6	144	7.7	100	**
10 UA	30	120	15	135	6	144	9	90	30
11 Fe	30	120	15	135	6	144	20	80	32
12 Ca	30	120	15	135	6	144	6	80	20
13 ChE	30	120	15	135	6	144	3.8	80	20
14 CHO	30	120	15	135	6	144	6.2	80	40
15 TG	30	120	15	135	6	144	4.6	80	40
16 HDL	30	120	15	135	6	144	5.4	90	30
17 CRE	30	120	15	135	6	144	6.7	80	20
18 BUN	30	120	15	135	6	144	13	80	27
19 CRP	30	120	15	135	6	144	20	80	15
20 TBIL	30	120	15	135	6	144	10	80	20
21 DBIL	30	120	15	135	6	144	10	80	20

total SV 201  $\mu$ l

実際の分析に使用される希釈後の反応検体量(SV)は21項目で201 $\mu$ l必要、それとは別に、ピペット(SPP)の分注毎のダーミー量が3 $\mu$ l、さらに希釈セルのデッドボリュームが35 $\mu$ l加算され21項目の分析に必要な総希釈後検体量は299 $\mu$ lとなります。

上記分析条件では、1回の希釈操作で150 $\mu$ l反応検体が作成されるため2回の希釈操作が必要となります、これにより21項目の分析で消費される元検体量は、5倍希釈：60 $\mu$ l、10倍希釈：30 $\mu$ l、25倍希釈：12 $\mu$ lとなります。10倍希釈条件で精密性・正確性が満たされれば1項目あたり平均1.4 $\mu$ lで分析できることとなります。

【検体カップのロス量確認】

次に検体分注時のサンプリング系のロス以外にサンプルカップのロス量の算出を10倍希釈の条件下で行ないました、40・45・50μlをB型（BM純正）カップに各々10個分注し、上記21項目の測定が10サンプルすべて正常に行なえた分注量を最小検体量とし、分析で使った検体量を差し引きその残りを実測のサンプルカップ・ロス量としました。

40μlでは10サンプルのうち2サンプルのみ測定可能、45μl・50μlではすべての項目で分析が可能でした。これにより今回の実験で用いた JCA-BM1650 ではB型カップとの組み合わせで15μlの実測ロス量であることが確認されました（実際の運用時は各機種ごとに算出を推奨します。公証サンプルカップ・ロス量：50μl：純正B型カップ）

【再現性比較】

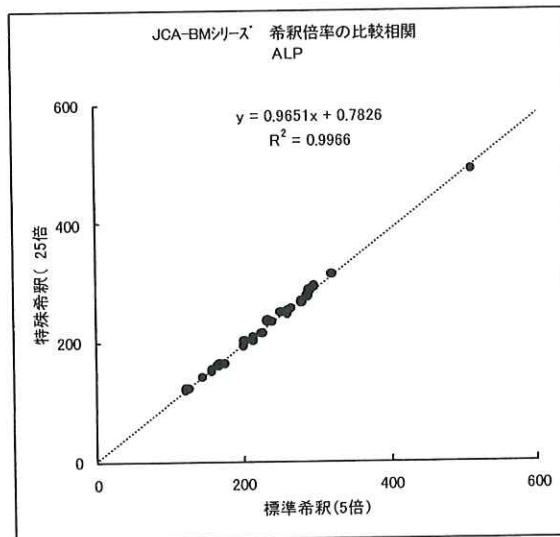
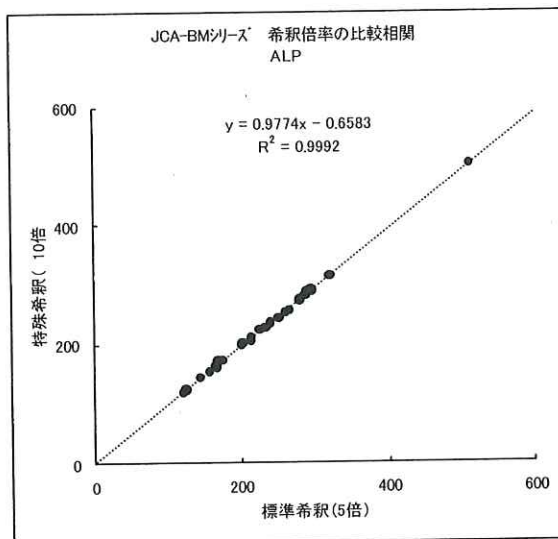
JCA-BM1650 希釈条件別同時再現性一覽表 (pool serum)									
項目	5倍希釈(μl)			10倍希釈(μl)			25倍希釈(μl)		
	mean	range	C.V.	mean	range	C.V.	mean	range	C.V.
1 TP	5.5	0.1	0.915	5.5	0.1	0.461	5.4	0.2	1.023
2 ALB	3.8	0	0.000	3.8	0	0.000	3.9	0.1	0.469
3 AST	88.9	2	0.506	93.5	2	0.611	107.8	5	1.144
4 ALT	107.1	1	0.323	107.5	1	0.473	116.3	4	1.067
5 LDH	125.9	3	0.819	125.8	3	0.783	125.1	15	2.588
6 ALP	173.2	4	0.447	170	12	1.529	176.1	27	2.984
7 GGT	45.8	1	0.827	46.2	2	1.229	42.5	5	3.592
8 CPK	76	4	1.360	74.9	5	1.744	72.1	23	5.832
9 AMY	102.6	1	0.491	103.3	2	0.670	104.4	6	1.295
10 UA	3.3	0.1	0.553	3.3	0	0.000	3.3	0.1	1.143
11 Fe	125.9	3	0.508	120.8	3	0.677	114.8	20	4.379
12 Ca	8.6	0.2	0.504	8.7	0.3	0.792	8.8	0.4	1.278
13 CHE	1484.3	36	0.727	1484.1	35	0.630	1493.5	45	0.792
14 CHO	115.3	2	0.464	115.9	3	0.743	118.6	5	1.304
15 TG	97.2	1	0.390	99.1	2	0.687	97	3	0.877
16 HDL	41	2	0.641	43.5	1	1.169	47.4	2	1.188
17 CRE	1.2	0.05	1.155	1.2	0.1	1.569	1.3	0.1	1.742
18 BUN	13.8	0.3	0.588	13.7	0.5	0.939	13.9	1.7	2.678
19 CRP	1.20	0.05	0.992	1.20	0.09	1.924	1.17	0.46	8.853
20 TBIL	0.4	0	0.000	0.4	0	0.000	0.4	0.1	4.527
21 DBIL	0.2	0	0.000	0.2	0	0.000	0.2	0.1	16.210

標準（5倍）希釈・10倍希釈条件ではいずれの項目も精度良く測定できました、25倍希釈では一部の項目（特に実効感度の低い酵素項目）を除きほぼ満足できる結果が得られました。

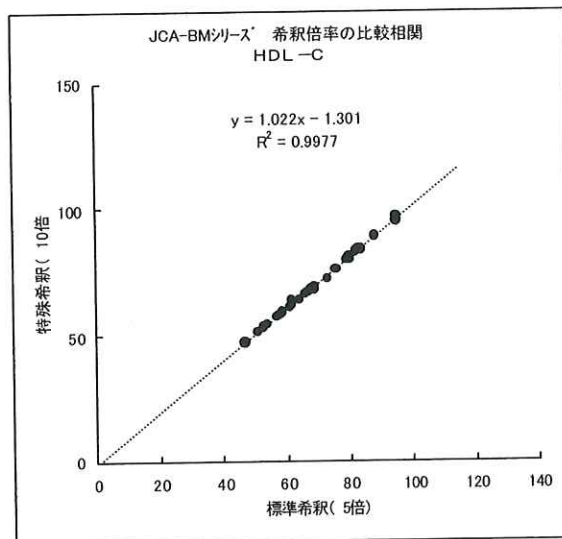
【希釈条件別相関】

標準希釈（5倍）をx軸におのおの10倍希釈・25倍希釈条件をy軸に、人血清30本の相関関係を確認しました。

酵素項目（ALP）

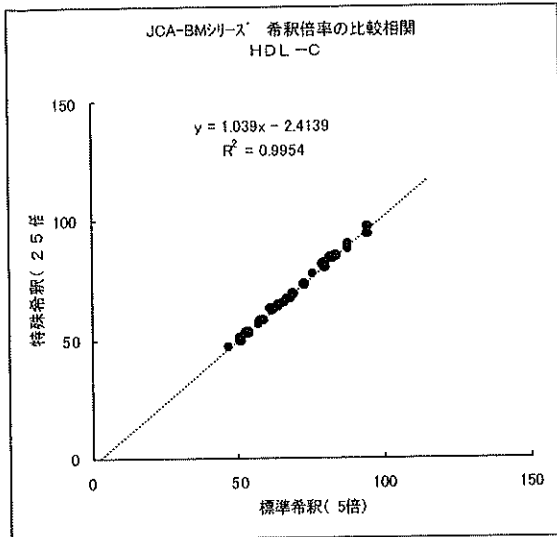


脂質項目（HDL-C）



### 【まとめ】

小児・新生児検体、実験小動物など採血量に制限があり測定項目数に制限がかかる場合や、患者の負担を軽減することはもとより、今後予防医療を目的とした在宅検査の支援を、少量の血液で幅広い項目測定に対応するなど、*BioMajesty* に共通する希釈ターンテーブルの有用な活用法の一例としてご報告させていただきました。



### 免疫項目 (CRP : TIA)

