

(特集：そこが知りたい！新人教育と日当直業務内容)

## 臨床化学検査の新人教育

金原 清子

### New face training of clinical chemistry

Kiyoko Kinpara

**Summary** Clinical chemistry involves quantitative analysis of living body samples, compound of serum, and urine using chemical methods. Quantitative analysis includes identifying the density of the mass and volume or the light absorption luminosity method. However, it is not clear while engaging in chemical inspection as to what kind of analysis is required; therefore, education is required to emphasize that.

**Key words:** Clinical chemistry , Measure training , Spectrum spectrophotometry training

#### I. はじめに

臨床化学検査は、主として血清や尿などの生体試料成分を分析化学的な手法を用いて定量的に分析する検査である。濃度を求める定量分析の基本は質量と体積の測定にあり、また分析方法の主体は吸光光度分析である。分析の基本となる天秤、測容器、pHメータ、分光光度計の扱い方について、当院で行っている新人研修を紹介する。

#### II. 新人研修の内容

1. 医療従事者として、また臨床検査技師として身につけなければならない基本的知識を習得する。
2. 実務を中心とした実習(講義)を主体とする。
3. 研修中の活動及びその後の業務遂行上必要な部内の約束事項と技術情報より成る。
4. 当院と当部の価値の置き方、達成すべき目標、業務遂行時の心得を伝達し、新人が正

しい判断に基づいて実務が遂行できることを計る。

#### III. 計量実習

目的は定量分析の基礎である計量(質量、容量の測定、計器の読み取り)を通してものを計りこむことの基本を学び、定量分析の基礎を学習する。実際には質量の基本である天秤の精度と正確度、容量の基本である測容器・ピペット類の精度と正確度を、扱い方を含め実習し、あわせて数値の扱い方(有効数字、計算方法など)を学習する。表1、2にその内容を示した。

##### 1. 計量実習に関する講義

計量実習に関する講義では、数値の扱い方、天秤の種類や扱い方、そして測容器の種類や操作法、洗浄方法などを説明する。

数値の扱い方では①有効数字、②平均値と標準偏差の説明と計算方法、③正確度と精密度、④かけ離れた成績をすてる規則について講義する。

表1 計量実習について（講義）

<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 数値の扱い方</li> <li>2. 天秤             <ol style="list-style-type: none"> <li>① 天秤の種類</li> <li>② 電子天秤</li> <li>③ 分銅の公差</li> </ol> </li> <li>3. 測容器             <ol style="list-style-type: none"> <li>① 測容器の種類</li> <li>② 容量分析の精度</li> <li>③ 公差および流出時間</li> <li>④ ピペットの操作法</li> <li>① 測容器の洗浄</li> </ol> </li> </ol>
--

表2 計量実習について（実習）

<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 天秤の扱い方             <ol style="list-style-type: none"> <li>① 秤量の再現性の検討</li> <li>② 加成性</li> <li>③ Optical scaleのチェック</li> <li>④ 秤量の誤差の検討</li> <li>⑤ 秤量のまとめ</li> </ol> </li> <li>2. ピペットの扱い方             <ol style="list-style-type: none"> <li>① 天秤による精度の検討</li> <li>② 比色計による精度の検討</li> <li>③ ピペットの汚染と残留</li> <li>④ 加熱による歪</li> </ol> </li> <li>3. メスフラスコの扱い方</li> </ol>
--

天秤の種類や扱い方では、①天秤の種類、②電子天秤、③分銅の公差について原理、操作法、点検方法、注意点について講義する。

測容器に関することでは、まず測容器の種類、そして測容器の精度、公差と流出時間、温度補正、そしてピペットの操作法、測容の誤差要因、測容器の洗浄方法などについて講義する。

## 2. 計量実習

### (1) 天秤の扱い方

①秤量の再現性については100 mg、1 g、10 g、50 gなどの一級分銅を皿にのせ秤量、分銅を去り、ゼロ点をチェックしたのち、再び分銅をのせ、秤量、これを10回繰り返し、平均値および標準偏差を求める。そして、測定値の有効数字について、また分銅の表示値と平均

値の違いについて考察する。

②加成性の検討では、数種類の分銅の重さを個別に測定しその算術和を求め、ついで分銅全部を皿上に載せた時の、重量を測定し一致するか、また差があった時はそれについて考察する。

③Optical scaleのチェックでは、0.1 g分銅と1 gの分銅で実験を行い、その結果を考察する。

④秤量の誤差要因に関する実習では、温度、汚染、蒸発、風、吸湿についてどの程度、影響があるか検討する。

温度の影響の実習では、秤量瓶を十分に洗浄したのち乾熱（約100℃）乾燥し、熱いうちに皿の上にのせ、秤量、恒量になるまで測定を繰り返し、測定値と時間の関係をプロットし曲線を作成する。

汚染の影響の実習では、秤量瓶を指先でつまんで皿からおろし、ふたたび測定し、指先の汚染の程度を検討する。

蒸発の影響の実習では、秤量瓶に約1 mLの純水を入れ、フタをしなくて皿に載せ、秤量、5分までは1分間隔、以後5分毎に秤量をくりかえし30分間追跡、室温下での水がどの程度蒸発するか検討する。

風の影響の実習では、天秤のガラス戸を閉めないで計測した場合空気の流れがどのように影響するかを観察し、ガラス戸を開けてそこに手を置いて対流がおこるかを観察、それがどの程度の誤差を生じるか検討する。

⑤秤量のまとめとして、天秤は何mgまで正確に計れるか、測定バラツキは荷重によって違うか、一級分銅の精密さはどうか、秤量誤差は%で表すとどうなるか、天秤を取扱う上で特に注意すべき点、秤量時の誤差要因とその程度などについて、実験データをもとにレポートを作成する。

### (2) ピペットの扱い方

#### ①天秤によるピペット精度の検討

実習1ではメスピペットの使用する部位の違いによる差、実習2では流出速度の違いによる差とメスピペットの間差についても検討を行う。実習3ではホールピペットの流出方法の違いによる差、また残液の排出方法を変え、排出量を秤量し残液がどの程度か求める。さらにホールピペットで試薬を採取するとき、ピペット

を水面下何cm位沈めるのが適当か、外壁から落ち込む量を水で検討する。以上の結果から、ホールピペットの適切な扱い方を考え、ピペットの公差も踏まえ講義で教わった操作法を評価する。

実習4では、0.1 mLマイクロピペットで水を10回計り採り、各々の重さを方眼紙にプロット、これを3～5回繰り返して、平均値と標準偏差を計算する。翌日、同様に10回計測し、ばらつきの改善具合をみる。

実習5ではエッペンドルフピペット、実習6ではビューレット（滴定用）で分注精度を求め、それぞれ、マイクロピペット、ホールピペットと精度を比較する。

②比色計によるピペット精度の検討

実習1では比色計の読みとり精度の検討、0.0002% Evans Blue液をキュベットに入れ610 nmでの吸光度を1回ごとに水でゼロあわせを行いながら10回測定、平均値と標準偏差を求める。

実習2では0.01% Evans Blue液をマイクロピペット、オストワルドピペット、メスピペット、エッペンドルフピペットでそれぞれ10回採取し、ホールピペットで水を加え、よく混合後、610 nmで比色、各種ピペットによる吸光度の平均値、標準偏差を求め、ピペットの精密度について検討する。

実習3では0.1% Evans Blue液1容と血清9容をよく混合して着色血清を作成、これを実習2と同様に実施、血清のような粘性試料ではどうな

るか水溶性試料と比較検討する。

③ピペットの汚染と残留についての検討

ピペットの内壁が水をはじくものを選び、測容時に滴になって残るものが何%の誤差になるか調べる。同一ピペットを用いて試料の残留が後試料にどれだけの影響を与えるか。この誤差の大きさは何によって決まるか。共洗いによってこの誤差はどれだけ少なくなるか。マイクロ、オストワルド、メスピペットについても各々調べ、これらの残留による汚染の割合が、ピペットの器差とくらべて大きいか、小さいかを考察する。

④加熱による歪

新しいホールピペット（1 mL）、メスピペット（1 mL）に関して洗浄後、水を採取し重量測定、その後水を捨て180℃の乾熱器に1時間以上加熱し、放冷、室温に戻してから直ちに水で重量測定し、熱による歪の程度はどの位あるか検討する。

(3) メスフラスコの扱い方

メスフラスコに関する実習では、公差の確認実験、はかり違い、汚れ、水温の影響などを検討する。25 mLのメスフラスコの風袋をはかり、ついでこれに水を標線まで入れて重量測定し、25 mLからの差はどれだけか、温度補正（表3参照）<sup>1)</sup>を行い、どれだけ変わるか。

標線より1 cmのはかりちがいは何%の測容誤差となるか、1 mmの差に換算するとどの位か検討する。

表3 温度補正表  
標準溶液1 Lの容積を標準温度（20℃）に換算するときの補正值

温度 (°C)	補正值 (mL)	温度 (°C)	補正值 (mL)	温度 (°C)	補正值 (mL)	温度 (°C)	補正值 (mL)
5	+1.39	13	+1.00	21	-0.18	29	-2.02
6	+1.39	14	+0.89	22	-0.38	30	-2.29
7	+1.38	15	+0.77	23	-0.58	31	-2.57
8	+1.35	16	+0.64	24	-0.80	32	-2.86
9	+1.30	17	+0.50	25	-1.02	33	-3.16
10	+1.25	18	+0.34	26	-1.26	34	-3.46
11	+1.16	19	+0.17	27	-1.50	35	-3.78
12	+1.10	20	±0.00	28	-1.76		

標準温度 20℃ ガラス膨張率 0.000025

文献 1 を一部改編して引用

標線まで水を採り、この内容を捨て去り、よく水をきったのちメスフラスコに附着して残った液量を秤量により求める（内壁がよごれていて水をはじくことのないように注意）。この違いは何％に相当するか検討する。

10℃に冷やした水にて（メスフラスコも冷却）標線に合わせ、このまま37℃の恒温槽につけて放置、水面がどのように移動するかを観察し、37℃に達した時の水面が標線からどれだけ離れたか。またその差は何mL（何％）に相当するか。温度補正表（表3）と比較する。

#### IV. 分光光度法実習

目的は分光光度計を用いて光吸収分析の概念を知るとともに、機器の取り扱いを実習する。研修では、①機器の安定性、②セル、③波長目盛、④直線性、⑤吸収特性などを実施し、分光光度計の性能、特性を学ぶ。

##### 1. 機器の安定性

(1) 波長500 nm、セル無し（セルホルダー空）の状態を電源を投入してから1分後にT％の0と100を調整ダイヤルを回して合わせ、以後1分毎に10分間0％Tと100％Tを読み、経時的な％Tのズレを求め、電源を投入してからの安定化に要する時間を調べる。

(2) ％T表示が安定化したと思われるところで試料室の蓋を開閉して、メーターの再現性を調べる（10回）。

##### 2. セル

(1) セル4個にそれぞれ約3.5 mLの水を入れ（気泡、外壁の汚れに注意）、そのうち1個のセルで波長500 nm、スリット幅0.5 mm、吸光度を0.000に合わせる。これを対照として他の3個の吸光度を測定、次いで3個のセルの方向を180°変え、同様に吸光度を測定する。またセルを試料室より10回出し入れし吸光度の再現性を調べる。

1％硫酸を対象に3 g/dL硫酸コバルトアンモニウム液をセルに3.5 mL入れ510 nmの吸光度を測定、その後、被検液を0.5 mLずつ減らしていき、残量が3.0、2.5、2.0、1.5、1.0、0.5 mLの時の吸光度を測定し、吸光度変化を調べる。

以上の実験を通し、セルの吸光度差が何に

起因するのか、理想的なセルの取り扱いについて考察する。

(2) ガラス製セルと石英製セルを用意し、①Reference側、サンプル側共に空、②サンプル側のみ水入り石英セル（Reference側は空状態）、③サンプル側のみ水入りガラスセル（Reference側は空状態）、④Reference側に水入り石英、サンプル側にガラス製セル、⑤Reference側、サンプル側共に水入り石英製セル、⑥Reference側、サンプル側共に水入りガラス製セルの状態で850 nmから190 nmまで吸収スペクトルを取り、その差を検討する。

##### 3. 波長目盛

(1) セルは石英セルを用い、0.01 N硫酸をReference側、サンプル側に入れ、600 nmから190 nmまでScanしてベースラインを求め、次にサンプル側に0.05 g/d 重クロム酸カリウム溶液（ $\lambda_{\max}$  372 nm）を入れScanして両線の差より吸収極大、吸収極小の吸光度を求める。

(2) 重水素放電管（ $\lambda_{\max}$  656.1 nm）を点灯し感度を最大出力に上げ、試料室には何も入れず、600～700 nmの波長間を波長ダイヤルを静かに回して、％Tメーター針が0％から100％の方向に向かって最大に振れる波長を求め、次にその波長で出力を動かし％Tを約50％に合わせ前後5 nmの波長について0.5-1.0 nm間隔で％Tを求め、％Tが最大に振れる波長を求める。

(3) サンプル側にネオジウムフィルターを装着して、バンド幅2 nmでScan Time速度を変えて記録する。

##### 4. 直線性

8 g/dL硫酸コバルトアンモニウム液を1％硫酸で希釈して0、1、2、3、4、5、6、7および8 g/dLの溶液を作成し、1％硫酸を対照として①％Tのゼロと100合わせを正確に行った場合、②％Tのゼロをずらして2％とし、100％Tは正しく合わせた場合、③％Tの100を98％とし、ゼロ％Tは正しく合わせた場合の3条件で各溶液の吸光度を測定し、方眼紙にプロットして直線性を調べる。この実験より％Tの0と100合わせの各々の意味、また直線性が得られない場合の原因について考察する。

## 5. 吸収特性

0.1 mol/Lリン酸緩衝液 (pH 7.4) を対照として①正常血清、②乳び血清、③赤血球溶血液、④20 mg/dLビリルビン標準液それぞれを0.1 mol/Lリン酸緩衝液で26倍希釈したものをサンプル側に入れ、吸収スペクトルを測定し、体液中の共存物質による分析の妨害について検討する。

## V. 項目実習

計量実習、分光光度法実習で学んだ内容を、項目の実習を通してさらに理解を深める。実際にはグルコースやコレステロールなどの項目を使い、①標準液の調整、②試薬の調整 (pHメータの扱い方含む)、③直線性、タイムコース、吸収スペクトル、再現性、相関性、添加回収試験、分子吸光係数の算出などを行う。

3つの研修 (計量、分光光度法、項目実習)

が終わったところでレポートを提出し、指導者により評価、課題は具体的に説明され返却される。これをもとに自分が理解できていない点などを再確認し、その後の日常業務の遂行に役立つ。

## VI. まとめ

新人教育はいわば卒後教育ともいえる。化学検査に従事する検査技師は医療従事者として化学検査を通して患者に貢献しなければならない。卒後教育はそのための第一歩である。まずは物を計るとはどういうことなのか? その基本をしっかりと身につける教育が必要である。

### 文献

- 1) 社団法人日本化学会編; 化学便覧 基礎編 (全2冊), 432, 丸善, 1966