

〈原著〉

臨床化学分析装置セルタックケミと全自動血球計数器セルタック α を用いたHbA1c、CRPおよびCBC測定の基礎的検討

杉山 昌晃¹⁾、金 大憲²⁾、小池 康博²⁾、永井 豊²⁾

Evaluation of HbA1c, CRP and CBC measurement with Celltac Chemi and Celltac α

Masaaki Sugiyama¹⁾, Daiken Kin²⁾, Yasuhiro Koike²⁾ and Yutaka Nagai²⁾

Summary With advances in automation technology, centralized testing has recently been performed in central clinical laboratories and laboratory test centers. On the other hand, many rapid testing devices have also been introduced to primary medical institutions, such as private medical offices and clinics. Regardless of the scale of analyzers, required performance has been increasing. In this study, we evaluated basic performance of Celltac chemi capable of measuring HbA1c and CRP in whole blood, and Celltac α capable of measuring CBC including leukocyte 3 part differential. Basic performance, such as reproducibility, carry-over, and detection limit, and correlation with large-scale analyzers were favorable. It was confirmed that Celltac chemi and Celltac α are useful for not only private medical offices and clinics as POCT devices but also medium-scale hospitals as back-up and night-time emergency testing devices.

Key words: HbA1c, CRP, CBC, POCT

I. 緒言

POCTとは、一般的に開業医、専門医の診察室や病棟および外来患者向け診療所などの患者に近いところで医療従事者が行う簡便な検査のことである。POCT装置に求められることは、①検体の前処理が不要であること、②検査に熟練していない医療従事者が簡単に測定できるこ

と、③少量の検体で検査ができ患者負担が少ないこと、④機器のメンテナンスが容易であること、⑤安定した精度、データ管理が容易であること等があげられる¹⁾。今回評価したセルタックケミはカートリッジタイプの専用試薬の交換でHbA1cとCRPの測定が可能である。カートリッジに貼られた2次元バーコードに検量線などの試薬情報が記録され、カートリッジおよび採血

¹⁾市立岸和田市民病院 中央検査部

〒596-8501 大阪府岸和田市額原町1001

²⁾日本光電工業株式会社 検体機器技術センタ

〒161-8560 東京都新宿区西落合1-34-4

受領日 平成25年10月17日

受理日 平成25年10月19日

¹⁾Department of Clinical Laboratory, Kishiwada City Hospital

1001 Gakuhara, Kishiwada, Osaka 596-8501, Japan

²⁾IVD Instrument Technology Center, NIHON KOHDEN Corporation

1-34-4 Nishiochiai, Shinjuku, Tokyo 161-8560, Japan



Fig. 1 Analyzers and Reagent Cartridge

Table 1 Precision of CBC Measurement by Celltac

Parameter	Unit	Average			CV (%)		
		sample 1	sample 2	sample 3	sample 1	sample 2	Sample 3
WBC	$\times 10^9/L$	8.1	6.2	4.6	1.2	1.6	1.5
NE%	%	78.2	58.1	51.2	1.2	1.6	2.1
LY%	%	18.9	38.7	42.2	4.7	2.2	1.8
MO%	%	3.0	3.2	6.6	9.3	9.2	9.3
RBC	$\times 10^{12}/L$	5.44	4.78	4.59	0.7	0.9	0.9
HGB	g/dL	16.7	15.6	16.1	0.6	0.7	0.5
HCT	%	50.7	46.6	48.5	0.7	1.0	1.0
PLT	$\times 10^9/L$	292	234	244	2.7	3.4	3.6

管をセットするだけで全血での測定が可能である。血液吸引後HbA1cは約6分、CRPは約4分で結果が出力される。セルタックαは白血球3分類を含む血液19項目の測定が可能であり、血液吸引後約1分で結果が出力される (Fig. 1)。本研究においては、POCT向けに開発されたセルタックケミおよびセルタックαについて、POCT装置としての有用性を評価するために、日常検査データとの比較検討、微量血モードおよび採血管種の影響などの基礎的検討を行った。

II. 測定原理

CRPおよびHbA1cの測定原理はラテックス凝集免疫法であり、抗原抗体反応により生じた凝集塊から吸光度変化量を算出し、既知の検量線より被検物質濃度を算出する。血球計数の測定原理は電気抵抗法であり、白血球3分類はヒストグラムより算出される。

III. 検討方法

検討には当院外来および入院患者血液を連結不能匿名化し、CBC、CRPはEDTA-2K加静脈血を、HbA1cはNaF加静脈血を用いた。基礎的検討では同時再現性、日間再現性、キャリアオーバー、検出下限を評価し、CBCは多項目自動血球分析装置XE-5000 (シスメックス) を、CRPの測定装置はTBA-2000FR (東芝)、試薬は「N-アッセイ LA CRP」(ニットーポー) を、HbA1cはアダムス A1c HA-8170 (アークレイファクトリー) 及びHLC-723G8 (東ソー) を対照機とし、比較検討した。なお、本研究は、市立岸和田市民病院の倫理委員会の承認を得て実施した。

IV. 結果

1. 同時再現性

Table 2 Precision of HbA1c and CRP Measurement by Celltac Chemi

Parameter	HbA1c (NGSP%)			CRP (mg/L)		
	Low	Middle	High	Low	Middle	High
n1	5.0	6.8	8.4	4.9	34.5	93.7
n2	5.1	6.8	8.4	5.1	32.7	86.0
n3	5.0	6.8	8.3	4.8	33.2	94.4
n4	5.0	6.9	8.3	5.0	33.0	90.2
n5	5.0	6.9	8.4	5.0	37.0	88.6
n6	5.0	6.8	8.3	5.0	35.2	91.3
n7	5.0	6.9	8.4	5.0	32.6	92.5
n8	4.9	6.8	8.3	5.1	30.5	98.2
n9	5.0	6.9	8.4	5.0	35.3	94.9
n10	5.1	6.8	8.4	4.7	36.8	92.5
Average	5.0	6.8	8.4	5.0	34.1	92.2
SD	0.057	0.052	0.052	0.13	2.05	3.44
CV	1.1%	0.8%	0.6%	2.6%	6.0%	3.7%

Table 4 Between-Day-Precision of HbA1c and CRP Measurement by Celltac Chemi

Parameter	HbA1c (NGSP%)		CRP (mg/L)	
	Low	High	Low	High
day. 1	5.2	9.5	14.9	25.3
day. 2	5.2	9.5	14.2	25.4
day. 3	5.3	9.6	13.6	25.4
day. 4	5.2	9.6	13.5	24.5
day. 5	5.3	9.5	13.6	24.7
day. 6	5.2	9.5	14.0	24.3
day. 7	5.2	9.5	14.6	26.1
day. 8	5.2	9.5	13.2	25.2
day. 9	5.2	9.5	13.5	25.5
day.10	5.2	9.6	13.3	24.7
Average	5.2	9.5	13.8	25.1
SD	0.037	0.032	0.58	0.54
CV	0.7%	0.3%	4.2%	2.2%

Table 3 Between-Day-Precision of CBC Measurement by Celltac α

Parameter	Unit	Average		CV(%)	
		Low	High	Low	High
WBC	$\times 10^9/L$	1.9	7.5	2.5	0.6
NE%	%	30.1	63.7	5.4	1.5
LY%	%	59.2	31.9	2.4	3.2
MO%	%	10.7	4.4	4.8	8.0
RBC	$\times 10^{12}/L$	2.37	4.80	0.6	0.5
HGB	g/dL	6.0	13.9	1.0	0.8
HCT	%	18.7	42.2	0.9	0.6
PLT	$\times 10^9/L$	66	235	2.4	2.3

Table 5 Carry-Over Ratio of CBC Parameter measurement by Celltac α

Parameter	Unit	Average		Carry Over (%)
		High	Low	
WBC	$\times 10^9/L$	92.9	0.0	0.0
RBC	$\times 10^{12}/L$	7.79	0.00	0.2
HGB	g/dL	25.9	0.0	0.4
HCT	%	76.9	0.0	0.2
PLT	$\times 10^9/L$	1169	0.0	0.2

$$\text{Carry - Over (\%)} = \frac{\text{Low (1st)} - \text{Low (3rd)}}{\text{High (3rd)} - \text{Low (3rd)}}$$

EDTA-2K加全血 3 検体を30回連続測定して CBCパラメータの同時再現性 (CV) を求めた結果、WBC : 1.2~1.6%、RBC : 0.7~0.9%、HGB : 0.5~0.7%、HCT : 0.7~1.0%、PLT : 2.7

~3.6%であった (Table 1)。また、EDTA-2K加全血を10回連続したCRPの同時再現性は2.6~6.0%、NaF加全血を10回連続測定したHbA1cの同時再現性は0.6~1.1%であった (Table 2)。

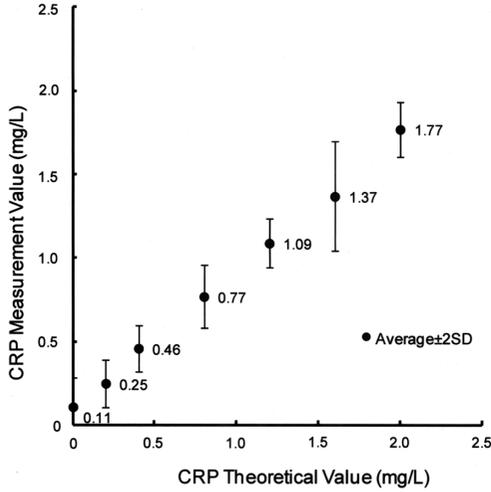


Fig. 2 Detection Limit of CRP measurement with Celltac Chemi

2. 日間再現性

各装置専用のコントロール（2濃度）を10日間測定し、日間再現性（CV）を求めた結果、WBC：0.6～2.5%、RBC：0.5～0.6%、HGB：0.8～1.0%、HCT：0.6～0.9%、PLT：2.3～2.4%、CRP：2.2～4.2%、HbA1c：0.3～0.7%であった（Table 3、4）。

3. キャリーオーバー

EDTA-2K加全血を遠心分離し、血球分画と血漿分画を適量混和し高濃度検体と低濃度検体を調製した。調製した高濃度検体の3回測定、低濃度検体の3回測定を1セットとして、6セット連続測定を行い、ICSHのガイドライン²⁾に従って評価した。その結果、キャリーオーバー率はWBC：0.0%、RBC：0.2%、HGB：0.4%、

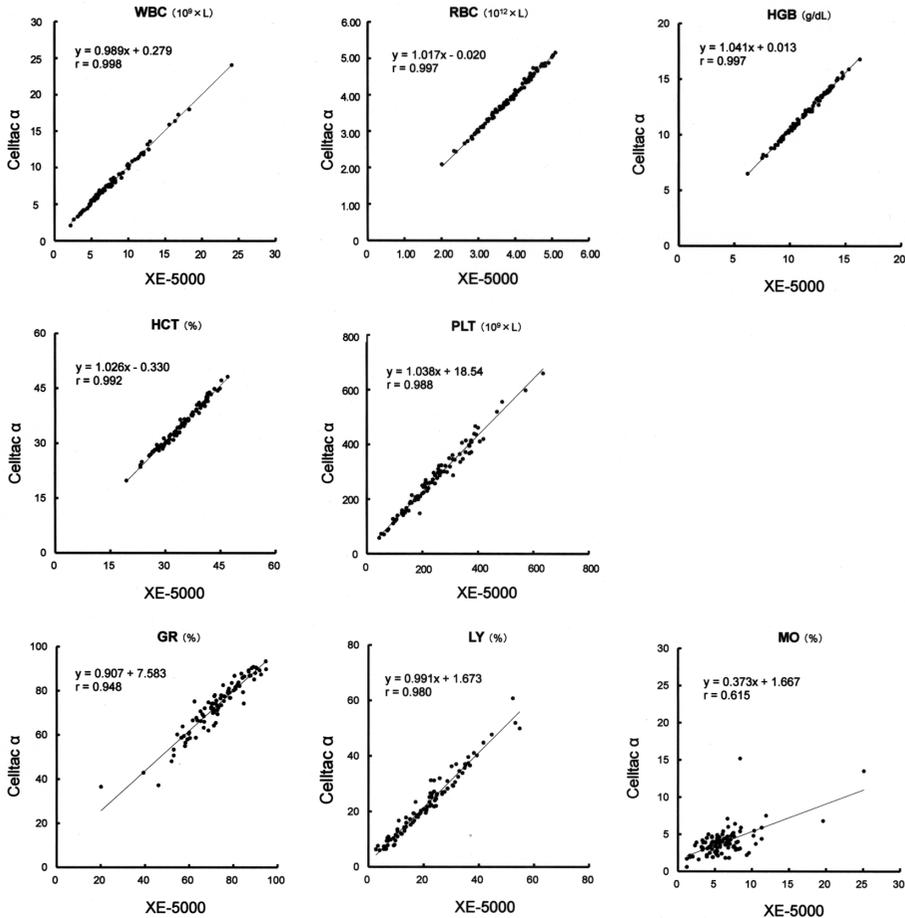


Fig. 3 Correlation of CBC Parameter between XE-5000 and Celltac α

HCT : 0.2%、PLT : 0.2%であった (Table 5)。

4. 検出限界

①ブランク試料、②セルタックαの取扱説明書のバックグラウンドの上限値濃度試料を検出限界調査試料として用意し、CLSIのガイドライン³⁾に従い各60回連続測定し評価を行った結果、検出限界 (LoD : Limit of Detection) はWBC : $0.05 \times 10^9/L$ 、HGB : 0.10 g/dL、PLT : $7.3 \times 10^9/L$ であった。また、CRP標準血清 (2.0 mg/L) を段階希釈し、各10回連続測定を行い±2SD法により検出下限を評価した結果、CRPの検出下限は0.4 mg/Lであった (Fig. 2)。

5. 相関性

CBCパラメータにおけるXE-5000との相関性はWBC : $r=0.998$ 、RBC : $r=0.997$ 、HGB :

$r=0.997$ 、HCT : $r=0.992$ 、PLT : $r=0.988$ (各 $n=93$)であった (Fig. 3)。CRP (全血) におけるTBA-2000FR (血清) との相関性は $r=0.998$ ($n=97$)、HbA1cにおけるアダムス A1c HA-8170との相関性は $r=0.992$ ($n=103$)、HLC-723G8との相関性は $r=0.990$ ($n=103$)であった (Fig. 4)。

6. 微量血モードの確認

真空採血管から直接吸引するオープンモードと微量血キャピラリーモードの測定値を比較した。その結果、CRPは $r=0.990$ ($n=17$)、HbA1cは $r=0.998$ ($n=13$)であった (Fig. 5)。

7. 採血管種の確認

HbA1c測定における採血管種の影響を評価するため、同一患者血液から得られたEDTA-2K加血 (2K管) とNaF加血 (FH管) の相関性 ($n=50$)

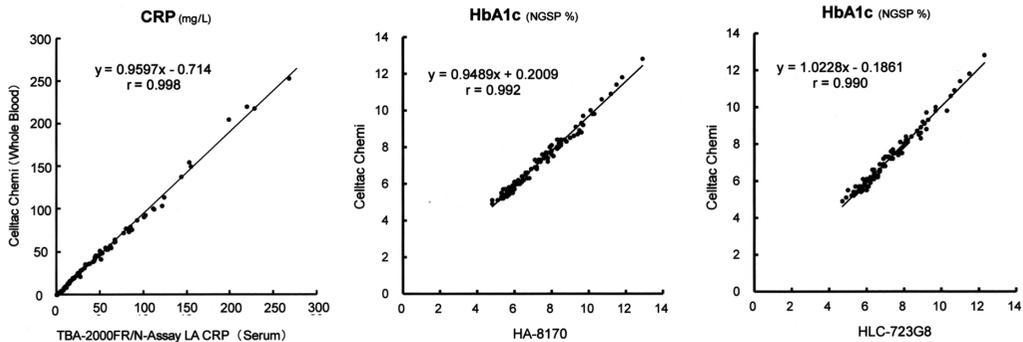


Fig. 4 Correlation of CRP Value between TBA-2000FR and Celltac Chemi, Correlation of HbA1c value between Two HPLC Method and Celltac Chemi

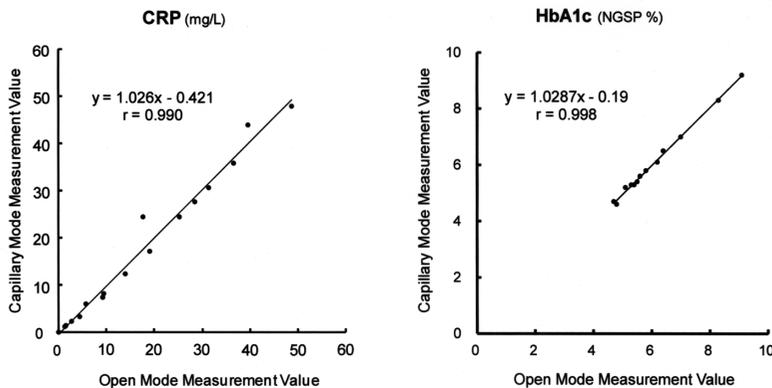


Fig. 5 Correlation of Open Mode and Capillary Mode

を確認したところ $r=0.997$ であった (Fig. 6)。

V. 考察

セルタックケミCHM-4100およびセルタック α MEK-6500の基礎的性能評価を行った。その結果、同時再現性、日間再現性、キャリーオーバー、検出限界、相関性はいずれも良好な結果が得られた。糖尿病透析の増加により、2012年の診療報酬点数の改定において、外来患者に対する糖尿病予防指導を目的とした糖尿病透析予防指導管理料が新設された。糖尿病は本邦における3大死因となる悪性新生物、心疾患、脳血管疾患の危険因子となることが知られており、また視覚障害や腎障害などの微小血管障害を合併し、生活の質 (QOL) に大きく影響することも重大な問題となる。2011年国民健康・栄養調査報告では国民の4人に1人以上が糖尿病もしくはその予備軍であることが明らかになり、今後、1次診療機関となる開業医やクリニックにおける、糖尿病の早期診断、治療を目的としたHbA1c検査はますます重要となってくることが予想される。炎症マーカーとなるCRPとWBCの同時測定は、急性期炎症性疾患の重症度判定のみならず、細菌性感染とウイルス性感染の判別による抗菌薬投与判断に有用であり⁹⁾、医療機関の大小を問わず欠かせない検査となっている。

また、地域連携夜間・休日診療や地域連携小児夜間・休日診療に対する診療報酬点数の増点、特定機能病院等における初・再診料等の評価の見直しがあり、近年、医療の地域連携が重要視されている。従来、1次診療機関となる開業医やクリニックにおける検体検査は外注検査の占める割合が多く、治療方針決定時間の遅延による患者負担が高い。その一方で院内検査を導入している医療機関においては、複数機器の購入・維持管理費用負担が大きくなることもある。

今回評価したセルタックケミおよびセルタック α は、クリニックや開業医で検査頻度の高い項目をカバーしており、大型分析装置と比べて良好な相関性が認められた。また、HbA1cはEDTA-2K加全血でもNaF加全血と同等の検査値が確認されたことから、CBC、CRP、HbA1cが一本の採血管で検査可能なことから患者負担の軽減にも役立つものと推測される。あわせて、

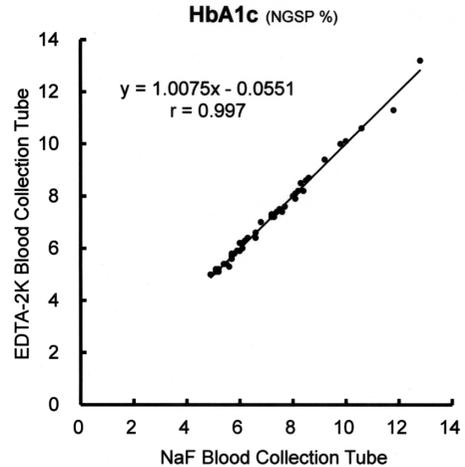


Fig. 6 Correlation of HbA1c value between NaF and EDTA-2K

微量血キャピラリーモードも使用可能であり、採血管による採血が困難である小児や高齢者、糖尿病患者の場合には指頭血での測定が可能である。また、測定結果のトレンド表示や精度管理機能も有し、データ管理も容易である。以上のことからセルタックケミおよびセルタック α は開業医やクリニックにおける迅速検査、治療方針決定時間の短縮に寄与するのみならず、大型分析装置を採用している病院検査室のバックアップ機としても有用であることが示唆された。

文献

- 1) 日本臨床検査自動化学会 POC推進委員会: POCTガイドライン第3版, 日本臨床検査自動化学会会誌, 38(Suppl.1), 2013.
- 2) International Council for Standardization in Hematology Expert Panel on Cytometry: Guidelines for the evaluation of blood cell analyzers including those used for differential leukocyte and reticulocyte counting and cell marker applications. Clin Lab Haematol, 16: 157-174, 1994.
- 3) Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI EP-17-A2: Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedure. Approved Guideline - Second Edition, 32(8), 2012.
- 4) 大久保慎一: 外来診療における迅速・微量血CRPの測定. 機器・試薬, 29(3): 223-229, 2006.