

Readout

HORIBA Technical Reports

特集 医用計測システム

April 1998 ■ No.16

自動血球計数C R P測定装置LC-270

Automated Blood Cell Count and C-reactive
Protein Measuring Instruments: LC-270

山尾泰生・奥 成博・Henri CHAMPEIX
Yasuo YAMAOKA, Narihiro OKU

(Pages 11-15)

株式会社 堀場製作所

Feature Article
特集論文

自動血球計数 CRP 測定装置 LC-270

Automated Blood Cell Count and C-reactive Protein Measuring Instruments: LC-270

山尾泰生 奥 成博 Henri CHAMPEIX *

(* ABX S.A.)

要旨

堀場製作所とABX社は、新しい概念のコンパクトな検査装置(LC-270)を共同で開発した。患者検体を検体ホルダーにセットするだけで、自動的に検体が採取され、血液検査項目の8項目(白血球数、赤血球数、血小板、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値など)と免疫検査項目のC反応性蛋白(CRP)の全9項目の測定結果が約5分以内に得られる。

本装置は、WBCとCRPの同時測定が可能で、炎症性疾患、特に感染症の診断においてその後の治療方針を決定する上で極めて有効な指標が提供され、臨床現場での活躍が期待されている。

Abstract

HORIBA Ltd. and ABX have jointly developed a new concept, compact analyzer (phlogomarker measuring instrument LC-270). With human intervention required only for setting a subject on a holder, the instrument automatically carries out samplings and measurements; in a matter of about five minutes, it provides measurement data with regard to the eight items of blood cell analysis (i.e., leukocyte counts, erythrocyte counts, platelets, hemoglobin concentrations, hematocrit values, etc.), as well as all nine immunoassay items in terms of C-reactive protein (CRP) values. This instrument is capable of simultaneous measurements of WBC and CRP, and provides highly informative data based on which to determine treatment policies following any diagnosis of inflammatory diseases, particularly infections. It is expected to play active and vital roles in clinical environments.

1. はじめに

臨床検査は、その技術的な進歩とともに診断学上、現在医学になくはならない、非常に重要な手段となっている。

血液検査はその代表的な検査の一つであり、血液検査のなかでも、白血球数は急性炎症に対して増加が認められることで医院・診療所でのプライマリー検査として臨床的意義が高い。

また、免疫血清検査のC反応性蛋白(CRP)は、急性炎症で白血球よりもより極端に増加することにより、急性の組織損傷、急性炎症、感染症の診断に有効な指標を提供する。

白血球数と合わせた情報提供は、炎症・感染症関連の緊急性・迅速性を必要とする診断に極めて有効な指標となり、患者の負担軽減にも大いにつながるものである。

堀場製作所は、世界で初めて自動血球計数装置にCRPを同時測定する自動血球計数CRP測定装置LC-270をABX社と共同開発した(図1)。



図1 自動血球計数 CRP 測定装置 LC-270
Automated blood cell count and C-reactive protein measuring instruments :LC-270

LC-270は、これまでわれわれが培ってきた血球計測技術をベースに、免疫検査項目のCRPも同時に測定するシステムであり、既成概念に囚われず、医師が本当に必要とする情報を迅速に提供しようとする開発コンセプトから生まれた。本装置の主な仕様を表1に示す。

表1 LC-270の主な仕様
LC-270 specifications

型式名	FL-270 CRP
測定モード	CBCモード(血算項目のみ) CBC+CRPモード(CBC+CRP)
測定項目	WBC,RBC,Hgb,Hct,PLT,CRP(C反応性蛋白)
演算項目	MCV,MCH,MCHC (プリンター又はRS-232C接続時のみ)
測定方式	WBC,RBC,Hct,PLT:電気抵抗法 Hgb:シアンメトヘモグロビン法 CRP:ラテックス免疫比濁法,rate法
検体量	CBCモード:10 μl CBC+CRPモード:18 μl
測定時間	CBCモード:75秒以内 CBC+CRPモード:280秒以内
測定範囲	WBC: 0.5 ~ 80 x10 ³ 個 / μl RBC: 0.5 ~ 7.5 x10 ⁶ 個 / μl Hgb: 2.0 ~ 25g/dl Hct: 10 ~ 70% PLT: 20 ~ 900 x10 ³ 個 / μl CRP: 0.2 ~ 10.0mg/dl (血清:0.2 ~ 7.0mg/dl)
再現性	WBC: 2.5%(10.0 x10 ³ 個 / μl) RBC: 2.0%(5.00 x10 ⁶ 個 / μl)以下 Hgb: 1.7%(15.0mg/dl) Hct: 2.0%(45%) PLT: 5.0%(300 x10 ³ 個 / μl) CRP: 10%以下(0.5mg/dl),4%以下(5mg/dl)

2. 検査項目

2.1 血液検査項目

血液検査の際は、全血に抗凝固剤(通常はEDTA)を添加し、凝固しない状態の血液を使用する。抗凝固剤を添加した状態で静置しておくこと、比重の違いにより赤血球、白血球、血小板、血漿の各成分に分かれる(図2)。

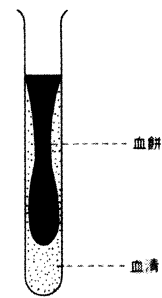
赤血球(Red Blood Cell)は、直径7~8.5 μm、厚さ約2.5 μmで、中くぼみ円盤状の小球である。組成は約2/3が水で残りのほとんどがヘモグロビンである。赤血球の主な機能は、肺におけるガス交換と、全身各組織への酸素の運搬であり、生命維持に欠かせない役割を果たしている。

ヘモグロビン(Hemoglobin)は酸素と容易に結びついたり、離れたりしてガス代謝の上で重要な働きをしている。

血液全体に対する赤血球の容積比はヘマトクリット(Hematocrit)と呼ばれ、百分率で表す。

また、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン濃度(Hgb)、およびヘマトクリット値(Hct)の3項目から、以下の平均赤血球恒数が算出される。

(A) 抗凝固剤を用いない場合
Without anticoagulant



(B) 抗凝固剤を用いて遠心沈降させた場合
Centrifuged with anticoagulant

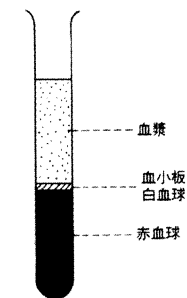


図2 血液の凝固
Blood coagulation

- ① 平均赤血球容積(MCV)
= Hct ÷ RBC × 100(μm)
- ② 平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)
= Hgb ÷ RBC × 10(pg)
- ③ 平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)
= Hgb ÷ Hct × 100(g/dl, mmol/l)

白血球(White Blood Cell)とは、単核球(17~18 μm)、顆粒球(10~15 μm)、リンパ球(7~16 μm)の総称であり、生体防御、免疫反応への関与などの機能を持つ。

血小板(Platelet)は、大きさが2~4 μmの無核の細胞で、血液凝固に不可欠な因子である。

血算項目の臨床的意義を表2にまとめる。

表2 血算項目の臨床的意義
Clinical purpose of blood cell counting

検査項目	増加する場合	減少する場合
白血球	炎症、白血病、扁桃炎、虫垂炎	無顆粒球症、再生不良性貧血、ウイルス感染による感冒、抗ガン剤投与
赤血球 ヘモグロビン ヘマトクリット値	多血症	貧血、出血
血小板	血小板血症、慢性骨髄性白血病、悪性腫瘍	血小板減少症、再生不良性貧血、白血病

2.2 CRP 項目

CRPは、1930年のTilletらにより肺炎双球菌の細胞核から抽出されたC多糖体と沈降反応を起こすことから、C反応性蛋白と呼ばれている。CRPの特徴は、生体が急性侵襲を受けると数時間以内に増加し、その増加率は普通の急性期蛋白が1.5から5倍であるのに対して、数十倍から数百倍に増加し病体の沈静化とともに、他の急性期蛋白に比べて速やかに減少する。従って、疾患の重傷度、経過、予後などの指標に極めて有効である。²⁾

CRPの臨床的意義を表3にまとめる。

表3 CRPの臨床的意義
Clinical purpose of CRP

増加する疾患	増加しにくい疾患
細菌感染症、急性腎盂炎、肺炎、膠原病、リウマチ熱、急性心筋梗塞、急性腫瘍、進行癌、火傷、外科手術、重傷外傷	ウイルス感染症、真菌感染症、白血病、ネフローゼ症候群、本態性高血圧症、虫垂炎、肝硬変、脳梗塞、腎炎、妊娠

3. 測定手法

抗凝固剤の入った採血管で血液を採取し、これを本装置の検体ホルダーにセットする(図3)。サンプリングプローブが、CRP測定試薬(R1)を100 μ lサンプリングし、続いてCRP用検体を8 μ lサンプリングし、CRP-MIXセルにて混合攪拌する。続いて、血算用検体10 μ lがサンプリングされ、WBCセルで等張性希釈液で1/300に希釈され、引き続きRBCセルで2段目の希釈(1/20,000)がなされ、同時に溶血剤を

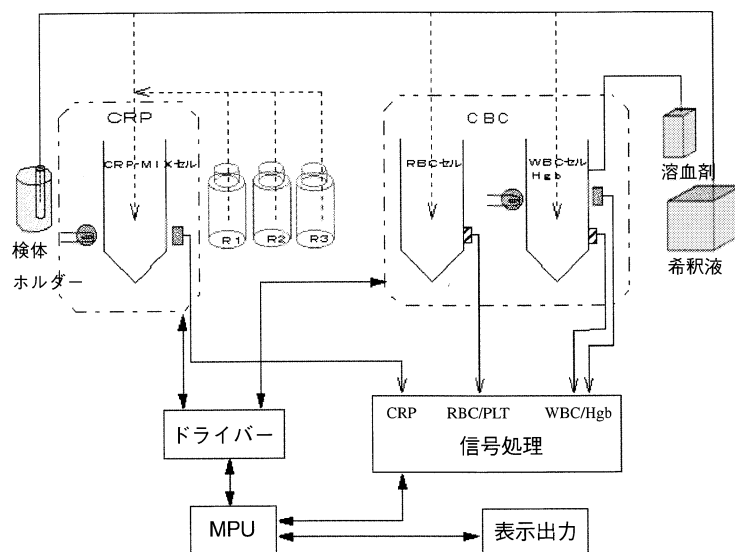


図3 LC-270の装置構成
Flow chart of measurement process

WBCセルに加えてWBC数計測とHgb濃度が測定される。RBCセルでRBCとPLTの計測が行われる。一方、CRP-MIXセルにはCRP測定試薬(R2)100 μ lと(R3)200 μ lが順次添加混合され、フローセル内にて抗原抗体反応による濁度変化が測定される。そして、演算後、各測定項目の濃度が表示・プリントされる。

4. 測定原理

4.1 電気抵抗検出法(赤血球、血小板、白血球)

電気抵抗検出法は、血液細胞(粒子)を等張性希釈液に懸濁させ、粒子が細孔(アパーチャー)通過するとき生じるインピーダンス変化をアパーチャーの両側に取り付けられた電極で計測するものである。図4に示すように血球(非導電性)がアパーチャーを通過する際、血液容積に相当する希釈液が置換され、血球の容積に比例した抵抗変化が発生する。抵抗変化のパルスを計数することにより血球の数を、パルスの高さから血球の容積を測定する。

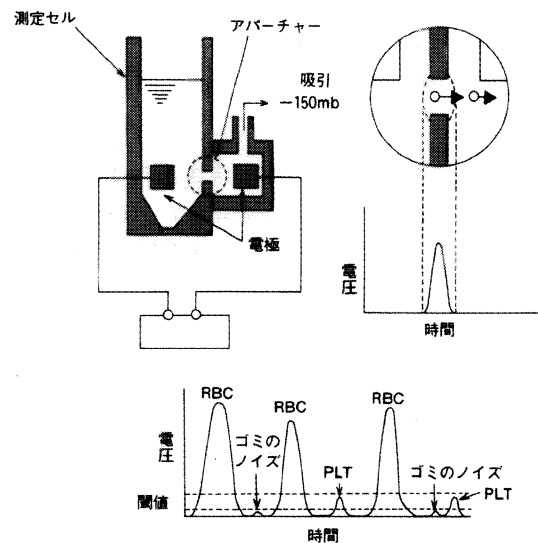


図4 電気抵抗式血球計測法の測定原理
Aperture-impedance system for blood cell

4.2 シアンメトヘモグロビン法

本法のヘモグロビン濃度測定原理は、国際標準法であるシアンメトヘモグロビン法に準拠している。

まず、溶血剤により赤血球を破壊し、ヘモグロビンを希釈液中に溶出させ、溶血剤中の酸化物質によってメトヘモグロビンに転化し、さらにシアン化イオン(CN⁻)によってシアンメトヘモグロビンに転化させる。シアンメトヘモグロビンの吸光特性を図5に示す。555nmでの吸光度を測定し、この吸光度から、ヘモグロビン濃度を求める。

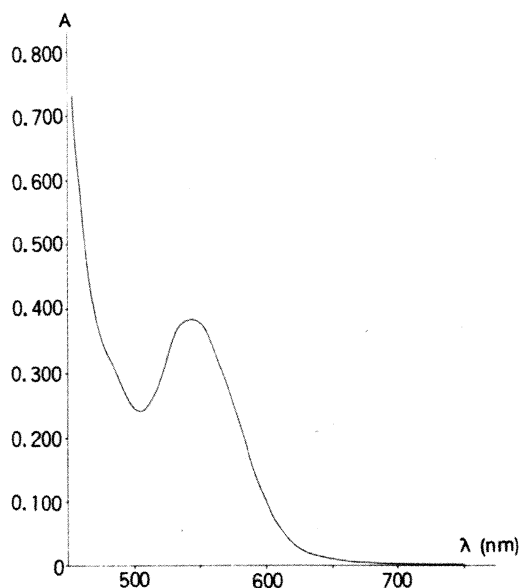


図5 シアンメトヘモグロビンの吸収特性
Absorption curve of cyanmethemoglobin

4.3 ラテックス免疫比濁法(CRP)

検体は溶血液(R-1)で溶血される。溶血検体中のCRP抗原と抗ヒトCRP抗体感作ラテックス試薬(R-3)は、抗原抗体反応によって凝集し、凝集塊を形成する(図6)。これに850nmの光を照射し、その吸光度を測定する。この吸光度変化から、溶血検体中のCRP濃度を血清標準検量線より求める。そして、同時に求めたヘマトクリット値から補正計算式を用いて、血漿中のCRP濃度を求める。

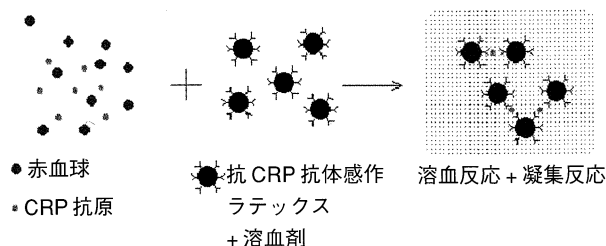


図6 血液検体の溶血反応と凝集反応
Hemolysis and agglutination

5. 特長

LC-270は、これまで当社が培ってきた血球計測技術とCRPを全血でダイレクトに取り扱う測定技術を融合させた測定システムである。

異種の検査領域との既成概念に囚われず、医師が本当に必要なデータを簡単、かつ迅速に提供しようとの開発コンセプトからこのシステムは生まれ、次のような特長を持っている。

1)感染症マーカーの同時測定

白血球とCRPの同時測定により、緊急性の必要な診断に役立つ。

2)迅速な測定

血算項目だけの測定では約75秒。血算項目+CRPの場合だと約5分以内で結果が得られる。医院・診療所において問診や診察の間に結果が得られ診断の迅速化が図れる。これまでのような検査結果を聞くために再診することが少なくなり、患者負担が大きく減少する。

3)全血全自動測定

検体を遠心分離等の前処理を行うことなく、検体ホルダーにセットするだけで全自動的に結果が得られる。また、日常のメンテナンスまでが簡単なキー操作で出来る。

4)サンプルの微量化

検体量は血液検査項目で10 μ l、CRPで8 μ lと超微量であり。乳幼児、小児に威力を発揮する。

5)コンパクトな設計

300^W×400^D×410^Hと非常にコンパクトである。

6)低音設計

シリジタイプ空圧源を採用し、低音設計となっている。

6. 性能

CRPに関する基本性能として、次の2項目について評価し、以下に示すように良好な結果を確認している(図7)(表4)。

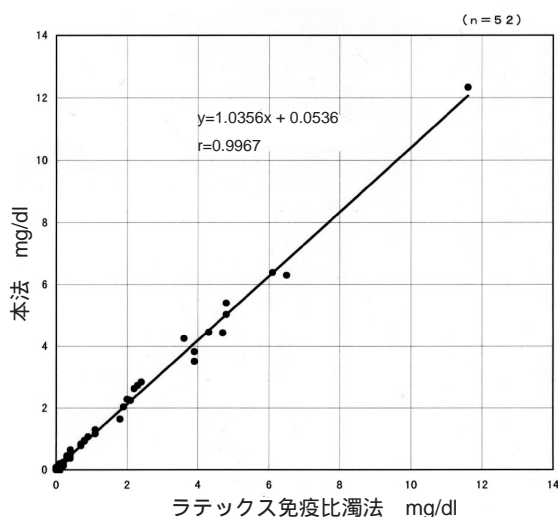


図7 ラテックス免疫比濁法との相関関係
Correlation between LC-270 and latex turbidimetric immunoassay

7. まとめ

従来、WBCは血球計数装置で、CRPは生化学の機器と、別々に測定されていたが、本装置のようにWBC、CRP同時測定は、炎症性疾患、特に感染症の診断においてその後の治療方針を決定する上で極めて、有効な指標が提供され、臨床現場での活躍が期待されるものと考ええる。

参考文献

- 1) Tillett, W.S. and Francia, T.J. Exp. Med., 552-561, 1930.
- 2) 金井正光編著：臨床検査提要(改訂第30版), p931 ~ 935.

表4 同時および日間再現性
Simultaneous and daily repeatability

(A) 同時再現性

Simultaneous repeatability		人全血検体	
	検体 1	検体 2	検体 3
n	15	15	15
Mean	0.3	1.0	6.0
S.D.	0.02	0.02	0.17
CV(%)	5.31	2.21	2.81

(B) 日間再現性

Daily repeatability		人全血検体			
保存日数	室温		冷蔵		
	L	H	L	H	
0日	1.3	6.3	1.3	6.3	
	1.2	6.7	1.2	6.7	
	1.3	6.2	1.3	6.2	
1日	1.2	6.7	1.2	6.3	
	1.2	6.5	1.2	6.7	
	1.2	6.6	1.2	6.7	
2日	1.2	6.1	1.3	6.4	
	1.2	6.3	1.2	6.6	
	1.2	6.7	1.3	6.4	
Mean	1.22	6.46	1.24	6.48	
S.D.	0.04	0.24	0.05	0.2	
CV(%)	3.6	3.6	4.2	3.1	

単位: mg/dl

山尾泰生

Yasuo YAMAO

医用システム開発部 チームリーダー
1993年入社
血球計測システムの開発



奥成博

Narihiro OKU

医用システム開発部 マネージャー
1982年入社
血球計測システムの開発



Henri CHAMPEIX

R & D Mechanical Engineer
ABX S.A.



