

白血球分類における, Pentra 120 SPS 塗抹標本作製と用手法の 標本作製との比較



Dr. José María Jou

Hospital Clinic, hematology laboratory, Barcelona

用手法製した塗抹標本と ,Pentra 120 SPSにより作製した塗抹標本について 無作為に選んだ131の健常者検体と患者検体を用いて ,比較評価を行った。調査の結果はリンパ球 ,単球 ,好中球 ,好酸球 ,好塩基球 ,芽球において ,非常に良好な相関性を示した。Pentra 120 SPSは ,全自動分析のため操作が簡単である上 ,塗抹標本の品質が良く ,処理速度も速く安定しており信頼性が高い。

はじめに

SPSで作製した塗抹標本の白血球分類を 200個算定(参照法)して ,用手法で作製したスライド標本の場合と比較し ,評価を行った。

調査の目的は次の2点である。

SPSスライド(試験装置)と用手法作製スライド(参照法)の白血球分類の分類精度を ,健常者検体と形態学的に異常が認められる検体の両方で ,臨床的な範囲において調べる。

検査室向けとしてのSPSの機能性を試験する。

材料と方法

血液分析装置評価のためのNCCLS^{*1}勧告に準拠した。

*1: 医療技術の世界的合意及びその標準化(Global Consensus Standardization for Health Technologies)
米国臨床検査標準化委員会(National Committee for Clinical Laboratory Standards)の頭文字。NCCLSは今や世界的機関であり ,臨床研究機関の関係者にとどまらず ,広く合意文書を発表している。そのため ,本機関は “ NCCLS ”(<http://www.nccls.org/>)という頭文字で表わされる。

検体

無作為に選んだ ,131の健常者検体と患者検体を分析した。

これらの検体を K_3EDTA ^{*2}で安定化し ,室温に保ち6時間以内に分析した。すべての検体に対して ,ウェッジ法^{*3}で末梢血液の塗抹標本を準備した。

*2: 抗凝固剤エチレンジアミン4酢酸3カリウム。

*3: 引きガラスの先端に血液の小滴をつけ ,それをスライドガラス上に密着 ,均一にならした後 ,引きガラスをスライドガラスに対して約30°の角度を保ちながら ,塗抹を行う。

分析装置

Pentra 120 SPS(図1)は ,1時間に120試料の血算(CBC)及び白血球5分類(DIFFモード)を行うことができる。また同じ速度でスライドを作ることができる。すべての検体をDIFF+スライドモードで処理した。



図1 Pentra 120 SPS

染色手順はMGG(May Grunwald Giemsa ,メイグリユンワルド・ギムザ)を用いた。染色はすべてHORIBA ABXにより行われた。

手順

用手法で作製(参照法)した塗抹標本と ,SPSで作製した塗抹標本とを比較評価した。

131検体を調査

各検体につき 塗抹標本を4枚作製

- ・ SPSで作製した塗抹標本
(第1の評価者の読み取り用)
- ・ SPSで作製した塗抹標本
(第2の評価者の読み取り用)
- ・ 用手法で作製した塗抹標本
(第1の評価者の読み取り用)
- ・ 用手法で作製した塗抹標本
(第2の評価者の読み取り用)

計: 524枚の塗抹標本

ある患者集団から採取した100枚にのぼる検体を分析した。うち53%には異常がみられ(赤血球 ,白血球 ,血小板の病状) ,47%は正常であった。

病理学的調査

赤血球:

貧血症 ,赤血球増加症 ,封入体(ジョリー小体 ,好塩基性斑点) ,標的赤血球 ,赤血球大小不同症 ,変形赤血球症 ,小赤血球症 ,大赤血球症 ,色素減少症 ,多染性 ,赤芽球

白血球:

急性骨髄性白血病(AML) ,急性リンパ性白血病(ALL) ,慢性リンパ性白血病(CLL) ,ワルデンストレーム ,骨髄腫 ,単球増加症 ,好酸球増加症 ,リンパ球増加(反応性)

血小板:

血小板増加症 ,血小板凝集 ,大血小板症 ,微小巨核球症

調査において ,考慮した形態学的または量的な異常とその検体集団中の割合を 表1に示す。

表1 形態学的または量的な異常

試料異常	診断基準	割合
赤血球異常	・形状 ,色 ,大きさ ,膜の異常 ・封入体	27%
血小板異常	・血小板凝集 ・赤血球不同症 ,大血小板症 ・微小巨核球症	13%
幼若顆粒球の存在	・後骨髄球が1%を越える	29%
その他の細胞の存在	・異型リンパ球・赤芽球 ・芽球	18%

NCCLS文書H20-Aに従い ,2名の測定者がそれぞれ単独で200個の白血球を数えた。各試料に対して ,測定者それぞれが ,SPSで作製した塗抹標本と用手法で作製した塗抹標本を読み取った。5分類のパラメータ結果(リンパ球 ,単球 ,好中球 ,好酸球 ,好塩基球)及びその他の細胞を用いて比較を行った。

用手法スライド標本における白血球分類の正確さは ,顕微鏡観察に始まりPentra 120 SPS試験法に至るまでの結果を比較することにより判断した。

またキャリーオーバー、すなわちスライド間のクロス汚染を調査する。鶏の血液のスライド標本を、ヒトの血液スライド標本2枚ごとに1枚製作するという方法を採用（鶏の赤血球(RBC)は有核なので、ヒトの血液のスライドを汚染しても検出が容易である）。

染色法を表2に示す。

表2 染色法

自動染色法	用手法染色法 ⁴
メイグリュンワルド染色原液 (HORIBA ABX) 4分 実験用緩衝液 (pH7) 2分30秒 ギムザ染色液 (HORIBA ABX) 8分 洗浄液 1分	メイグリュンワルド染色原液 1分 ギムザ染色液 20% (緩衝液pH7) 10分 洗浄

*4: 用手法染色法は日常業務なので、簡潔な方法となっている。

結果

SPSのトラブルシューティング

2週間で 技術的な問題が1度だけ起こった。スライド1枚が染色ウェル内で割れたが、オートコントロールにすると解決した。

相関グラフ

調査結果を、用手法とSPSの相関グラフ(図2~7)に示す。

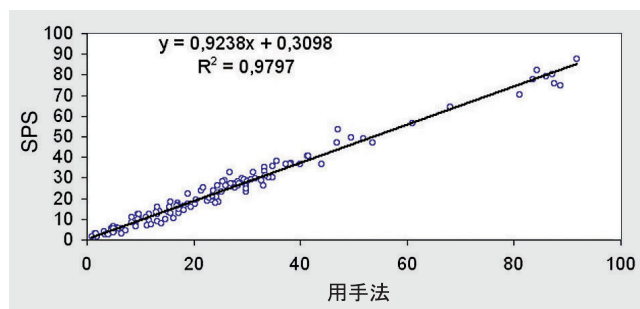


図2 リンパ球の相関

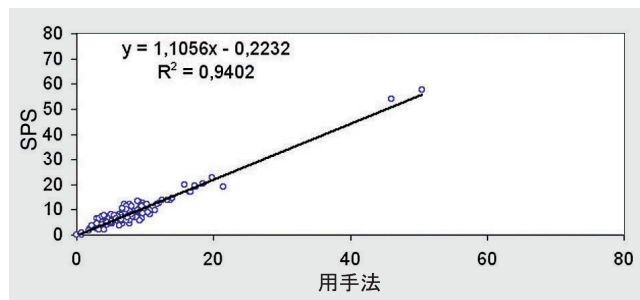


図3 単球の相関

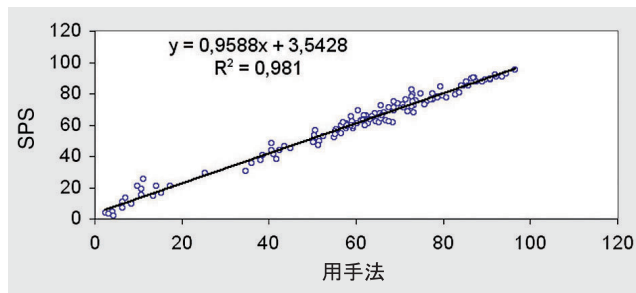


図4 好中球の相関

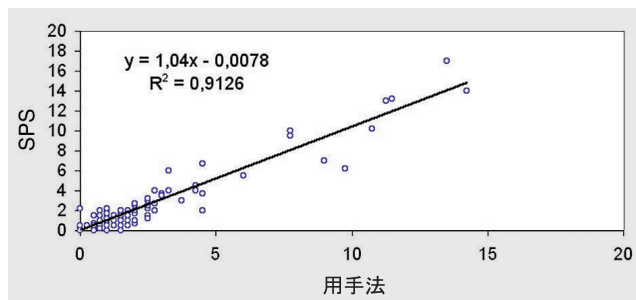


図5 好酸球の相関

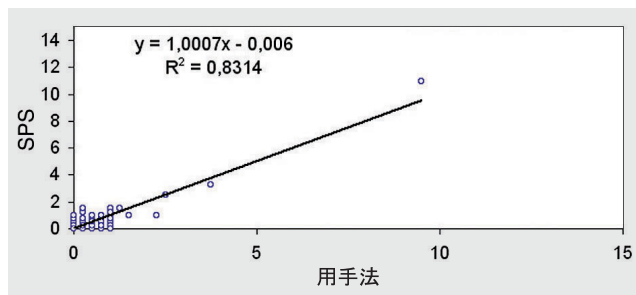


図6 好塩基球の相関

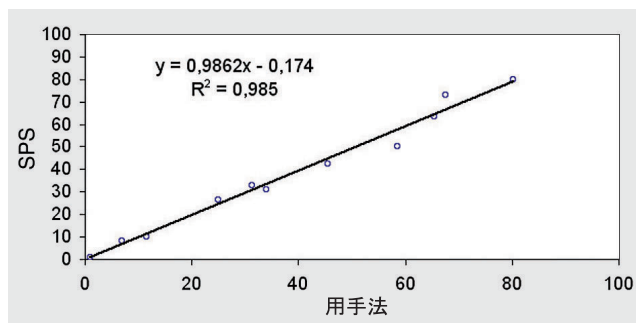


図7 芽球の相関

白血球分類の比較結果は R²係数⁵で表される(表3)。

表3 用手法とSPSの相関

	リンパ球	単球	好中球	好酸球	好塩基球	芽球
R ²	0.98	0.94	0.98	0.91	0.83	0.98

n = 131

$$*5: R^2 = 1 - \frac{(Y_i - \hat{Y}_i)^2}{(Y_i - \bar{Y})^2}$$

\hat{Y}_i : 回帰曲線による計算値

\bar{Y} : Y_i の平均値

おわりに

実用性

- ・ Pentra 120 SPS は、全自動のため簡単に使用できる。
- ・ 染色試薬の残量不足に対してアラームを与えることができる。
- ・ メンテナンスがすべて自動で行われる。

キャリーオーバー

キャリーオーバーの結果は、鶏の有核赤血球(NRBC)がヒトの血液検体のどれをも汚染していない場合に許容できると考えられる。

- ・ NRBCは、ヒトの検体には全く見られなかった。

正確さ

SPSスライドと用手法作製スライドとの相関関係の調査は、非常に高い係数を示している。細胞分析の割合は、CLL以外は優れた結果を示した。(SPS塗抹標本にみられる好中球の増加は、白血球が一部壊れたためである。)

スライドの品質

SPSスライドと用手法作製スライドについて、全体を比較した写真(図8)と顕微鏡による細胞観察の画像を比較したもの(図9)から、以下のことが言える。

- ・ SPS塗抹標本は、用手法塗抹標本より観察範囲が広い。
- ・ 塗抹標本の縁に細胞凝集は見られなかった。
- ・ MGGの染色品質は大変良い。



図8 SPSスライドと用手法作製スライドの比較写真

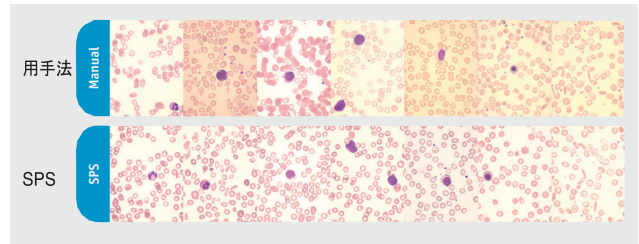


図9 顕微鏡による細胞観察画像でのSPSと用手法の比較

SPSは、臨床検査室用として、用手法よりも質的にも量的にも良い結果を提供できる。更に処理速度は速く、安定しており信頼性が高い。