

「リアスオート P-FDP」および「リアスオート・D ダイマー ネオ」の CP3000 適用検証

市下 和博*¹, 柴田 江里奈*¹, 野中 千鶴子*¹, 高水 竜一*¹,
井上 義隆*¹, 平出 みどり*¹, 小松 純子*¹, 浦川 薫*¹,
平川 弥寿与*¹, 谷口 一磨*¹, 川淵 靖司*¹, 長門 谷 克之*²

*1 独立行政法人 労働者健康福祉機構 大阪労災病院 中央検査部：大阪府堺市北区長曾根町 1179-3 (〒591-8025)

*2 独立行政法人 労働者健康福祉機構 大阪労災病院 臨床検査科

要 旨

FDP (フィブリン/フィブリノゲン分解産物) および D ダイマー (安定化フィブリン分解産物) は凝固/線溶の指標として重要な検査項目であり、広く普及している。

2014 年に、シスメックス社より発売された「リアスオート P-FDP」試薬は、同社の全自動血液凝固測定装置に適用され、その有用性について報告されている。また、同社より積水メディカル株式会社の血液凝固分析装置コアプレスタ®2000 (以下、コアプレスタ®2000) での FDP および D ダイマー測定パラメータが提供されており、コアプレスタ®2000 での試薬選択の幅が広がっている。

当院ではルチン検査にコアプレスタ®シリーズ血液凝固自動分析装置 CP3000 (以下、CP3000; 積水メディカル社) を用いており、我々はコアプレスタ®2000 用測定パラメータを CP3000 に適用できるかを検証した。

リアスオート P-FDP, リアスオート・D ダイマー ネオともに、添付文書に記載された性能が満たされることが確認できた。ルチン検査の検討対象試薬が増えることで、より正確な FDP, D ダイマー値が得られるという臨床有用性が高い試薬の選択が可能となり、臨床に貢献できることが期待される。

キーワード リアスオート P-FDP, リアスオート・D ダイマー ネオ, CP3000

はじめに

FDP, D ダイマーは、凝固/線溶の活性化の指標として重要であり、広く実施されている検査であるが、各社試薬に用いられる抗体の各分画への反応差、標準品に含まれる分画の製法や構成、値付け法の相違などによって、試薬間差が存在する^{1,2)}。また、分析装置側にもサンプルや試薬分注量、測光時間、解析法など多くの制約や装置間差が存在する。そのため、正確な測定結果を得るためには適正な測定パラメータを設定することが重要である。

今回、我々は「リアスオート P-FDP (シスメックス社)」および「リアスオート・D ダイマー ネオ (シスメックス社)」

の血液凝固分析装置コアプレスタ®2000 (以下、コアプレスタ®2000; 積水メディカル社) 用測定パラメータのコアプレスタ®シリーズ血液凝固自動分析装置 CP3000 (以下、CP3000; 積水メディカル社) 適用性を検証したので報告する。

材 料

1. 対象

- 1) 当検査部に FDP/D ダイマー測定が依頼された 3.2%クエン酸 Na 加患者残余血漿
- 2) 「線溶系希釈液」, 「P-FDP 標準品 120」, 「D ダイマー 標準品ネオ」, 「線溶系コントロール」(シスメックス社)

2. 検討試薬

- 1) 「リアスオート P-FDP」
- 2) 「リアスオート・D ダイマー ネオ」

3. 検討装置

- 1) 「CP3000」
- 2) 「全自動血液凝固測定装置 CS-5100」(以下、CS-5100；シスメックス社)

方法および結果

1. 検量線作成

「リアスオート P-FDP」では、「P-FDP 標準品 120」と「線溶系希釈液」で希釈サンプル(希釈倍率：1/1, 2/3, 1/3, 1/8, 1/16, 1/32, 0/1)を作成し、各ポイント 2 重測定 of 平均値を用いて検量線を作成した。結果を表 1 に示す。

「リアスオート・D ダイマーネオ」では、「D ダイマー標準品ネオ」と「線溶系希釈液」で希釈サンプル(希釈倍率：2/1, 1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/32, 0/1)を作成し、各ポイント 2 重測定 of 平均値を用いて検量線を作成した。なお、希釈倍率 2/1 のポイントは、総反応液中のサンプル量比が 1/1 ポイントの 2 倍になるようサンプル量を増量して対応した。結果を表 2 に示す。

2. 感度試験

「リアスオート P-FDP」では、0 µg/mL の標準品として「線溶系希釈液」を、50 µg/mL の標準品として

「P-FDP 標準液 120」を「線溶系希釈液」で希釈調製したものをを用い、各々 5 回測定し、個々の吸光度変化量が試薬添付文書に記載された範囲内であることを確認した(表 3)。

「リアスオート・D ダイマーネオ」では、0 µg/mL の管理用試料として「線溶系希釈液」を、2.0 µg/mL の管理用試料として「D ダイマー標準品ネオ」を「線溶系希釈液」で希釈調製したものをを用い、各々 5 回測定した。0 µg/mL と 2.0 µg/mL の管理用試料の吸光度変化量の差は個々の吸光度変化量の差として求めた。すべての吸光度変化量および吸光度変化量の差が試薬添付文書に記載された範囲内であることを確認した(表 4)。

なお、CP3000 で表示される吸光度変化量の単位は“mAbs/min”であり、セル幅が 10 mm に補正された吸光度(Abs)の 1,000 倍の数値になっている。一方、シスメックス社の吸光度変化量“dOD/min”はセル幅補正がない吸光度(Abs)として表示される数値である。このことから、“mAbs/min”を 1/2,000 に換算した数値で、試薬添付文書記載範囲と比較して判定した。

3. 正確性試験

「リアスオート P-FDP」,「リアスオート・D ダイマーネオ」ともに、「線溶系コントロール」の Low および High をそれぞれ 5 回測定し、「線溶系コントロール」に記載されている参考値を既知濃度として、個々の測定値が試薬添付文書に記載された範囲内であることを確認した(表 5, 6)。

表 1. 「リアスオート P-FDP」検量線データ

希釈倍率	濃度 (µg/mL)	吸光度変化量 (mAbs/min)		
		1	2	Ave.
0/1	0.0	- 0.7	- 0.6	- 0.7
1/32	4.1	13.4	14.3	13.9
1/16	8.1	27.2	29.1	28.2
1/8	16.3	61.3	57.1	59.2
1/3	43.3	181.6	182.0	181.8
2/3	86.7	347.1	355.6	351.4
1/1	130.0	481.8	480.7	481.3

表 2. 「リアスオート・D ダイマーネオ」検量線データ

希釈倍率	濃度 (µg/mL)	吸光度変化量 (mAbs/min)		
		1	2	Ave.
0/1	0.0	- 0.3	- 0.9	- 0.6
1/32	1.0	5.2	5.1	5.2
1/8	3.8	20.2	20.4	20.3
1/4	7.6	42.6	42.2	42.4
1/2	15.3	86.5	83.4	85.0
1/1	30.5	180.0	183.8	181.9
2/1	61.0	399.2	396.7	398.0

表3. 「リアスオート P-FDP」 感度試験

試料 単位	0.0 µg/mL		
	mAbs/min	dOD/min	判定
1	- 0.4	- 0.0002	範囲内
2	- 0.5	- 0.0003	範囲内
3	- 0.5	- 0.0003	範囲内
4	- 0.3	- 0.0002	範囲内
5	- 0.7	- 0.0004	範囲内

添付文書記載範囲：0.0 µg/mL … 0.0010 dOD/min 以下

試料 単位	50.0 µg/mL		
	mAbs/min	dOD/min	判定
1	203.2	0.1016	範囲内
2	206.5	0.1033	範囲内
3	203.9	0.1020	範囲内
4	203.3	0.1017	範囲内
5	199.6	0.0998	範囲内

添付文書記載範囲：

50.0 µg/mL … 0.0160 dOD/min ~ 0.1200 dOD/min

表4. 「リアスオート・D ダイマー ネオ」 感度試験

試料 単位	0.0 µg/mL		
	mAbs/min	dOD/min	判定
1	- 0.8	- 0.0004	範囲内
2	- 1.3	- 0.0007	範囲内
3	- 1.1	- 0.0006	範囲内
4	- 0.3	- 0.0002	範囲内
5	- 1.2	- 0.0006	範囲内

添付文書記載範囲：0.0 µg/mL … 0.0010 dOD/min 以下

試料 単位	2.0 µg/mL		0.0 µg/mL との差	
	mAbs/min	dOD/min	dOD/min	判定
1	9.6	0.0048	0.0052	範囲内
2	9.6	0.0048	0.0055	範囲内
3	9.6	0.0048	0.0054	範囲内
4	9.6	0.0048	0.0050	範囲内
5	9.3	0.0047	0.0053	範囲内

添付文書記載範囲：2.0 µg/mL と 0 µg/mL の差 … 0.0014 dOD/min 以上

表5. 「リアスオート P-FDP」 正確性

試料	線溶系コントロール L			線溶系コントロール H		
	測定値	誤差	判定	測定値	誤差	判定
1	5.6	- 11.1%	範囲内	28.8	- 8.0%	範囲内
2	5.7	- 9.5%	範囲内	29.0	- 7.3%	範囲内
3	5.9	- 6.3%	範囲内	28.5	- 8.9%	範囲内
4	5.7	- 9.5%	範囲内	29.1	- 7.0%	範囲内
5	5.6	- 11.1%	範囲内	28.6	- 8.6%	範囲内
参考値	6.3			31.3		
参考範囲	3.8 ~ 8.8			25.0 ~ 37.6		

添付文書記載範囲：既知濃度 ±15%

表6. 「リアスオート・D ダイマー ネオ」 正確性

試料	線溶系コントロール L			線溶系コントロール H		
	測定値	誤差	判定	測定値	誤差	判定
1	1.9	- 9.5%	範囲内	9.9	- 3.9%	範囲内
2	1.9	- 9.5%	範囲内	10.0	- 2.9%	範囲内
3	2.0	- 4.8%	範囲内	10.0	- 2.9%	範囲内
4	1.9	- 9.5%	範囲内	10.0	- 2.9%	範囲内
5	1.9	- 9.5%	範囲内	9.8	- 4.9%	範囲内
参考値	2.1			10.3		
参考範囲	1.3 ~ 2.9			8.2 ~ 12.4		

添付文書記載範囲：既知濃度 ±10%

4. 同時再現性試験

「リアスオート P-FDP」,「リアスオート・D ダイマーネオ」ともに,「線溶系コントロール」の Low および High をそれぞれ同時に 5 回測定し, C.V. を算出した。いずれも試薬添付文書に記載された範囲内であることを確認した(表 7, 8)。

表 7. 「リアスオート P-FDP」同時再現性

試料	線溶系コントロール L ($\mu\text{g/mL}$)	線溶系コントロール H ($\mu\text{g/mL}$)
1	5.6	28.8
2	5.4	29.0
3	5.5	28.5
4	5.6	29.1
5	5.2	28.6
MEAN	5.46	28.80
S.D.	0.167	0.255
CV%	3.06	0.89
判定	G	G

規格: $\text{CV}\% \leq 10\%$

5. 相関性試験

「リアスオート P-FDP」,「リアスオート・D ダイマーネオ」の既適用装置である CS-5100 での測定値を対照として, CP3000 での測定値の相関性を, 当検査部に FDP/D ダイマー測定が依頼された検体 ($n=53$) を用いて検討した。

「リアスオート P-FDP」では, 相関係数 $r=0.9973$, 回帰式 $y = 0.9947x - 1.152$, 「リアスオート・D ダイマーネオ」では, 相関係数 $r=0.9979$, 回帰式 $y = 1.0348x - 0.6739$, と非常に良好な結果を得た(図 1, 2)。

表 8. 「リアスオート・D ダイマーネオ」同時再現性

試料	線溶系コントロール L ($\mu\text{g/mL}$)	線溶系コントロール H ($\mu\text{g/mL}$)
1	1.9	9.9
2	1.9	10.0
3	2.0	10.0
4	1.9	10.0
5	1.9	9.8
MEAN	1.92	9.94
S.D.	0.045	0.089
CV%	2.33	0.90
判定	G	G

規格: $\text{CV}\% \leq 10\%$

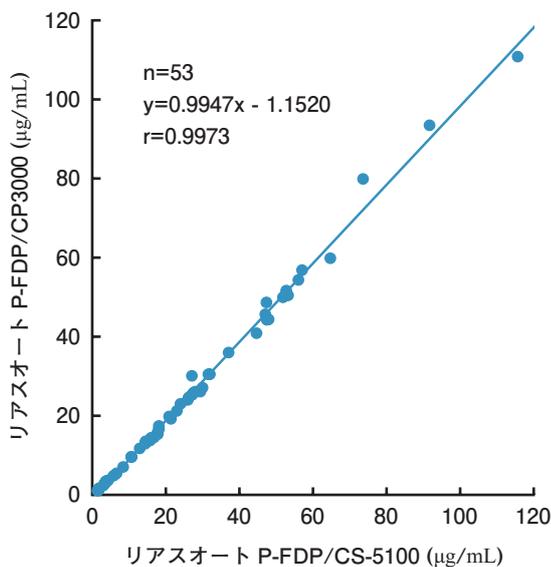


図 1. 「リアスオート P-FDP」相関性

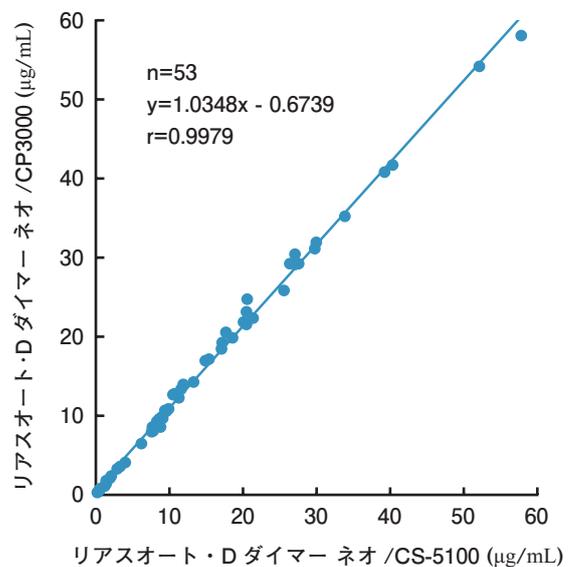


図 2. 「リアスオート・D ダイマーネオ」相関性

考 察

FDP/D ダイマーは凝固／線溶の活性動態を反映する重要な検査であり、DICの診断・経過観察や血栓症増加に伴って測定依頼が増加し、その重要度はますます高くなっている。しかしながら、各社試薬に用いられる抗体の各分画への反応差、標準品に含まれる分画の製法や構成、値付け法の相違などによって、試薬間差が存在することが報告されている。特にFDP試薬においては、モノクローナル抗体を用いて凝固検査用血漿（3.2%クエン酸加血漿）で測定可能ないわゆる血漿FDP試薬が実用化され、採血の低減による患者負担の軽減や採血管数の減少による経済的効果などから広く普及しているが、試薬によっては低分子分解産物（D分画、E分画）に対する反応性が低いあるいは認められないとの指摘もあり^{3,4)}、抗体選択の重要性が示唆されていた。2014年に日本血栓止血学会から提案された“DIC診断基準暫定案”にも、血漿FDP試薬の中には線溶活性化が高度でフィブリン／フィブリノゲン分解が進行した場合に検出しにくくなる試薬もある旨の記載があり⁵⁾、低分子分解産物への反応性の指摘と通ずるものと理解できる。

シスメックス社より2014年に発売された「リアスオート P-FDP」試薬は、低分子分解産物への反応性改善を目的として選択した抗体を用いた試薬であり、低分子分解産物が存在する検体では他試薬に比べて高値を示し、より正確なFDP値が得られることで臨床有用性が向上する可能性が示唆されたと報告されている⁶⁻⁸⁾。

ルチン検査に用いる分析装置には同一メーカー試薬の測定パラメータが標準設定されており、同一メーカーの試薬を使用する場合は容易に測定できるが、分析装置側にもサンプル・試薬分注量や測光時間、解析法など多くの制約や装置間差が存在するため、分析装置と異なるメーカーの試薬を使用して正確な測定結果を得るためには適切な測定パラメータの設定と検証が必要である。

今回我々はシスメックス社の「リアスオート P-FDP」および「リアスオート・D ダイマー ネオ」のCP3000適用性を検証した。

シスメックス社から提供されているコアプレスタ®

2000用測定パラメータをCP3000に設定し、検量線作成、添付文書記載の性能（感度、正確性、同時再現性、相関性）試験を実施した。感度、正確性、同時再現性においては、すべてにおいて添付文書で指定された範囲内であり、相関性も既適用されている分析装置による測定値と良好な相関性であることを確認した。

以上より、「リアスオート P-FDP」および「リアスオート・D ダイマー ネオ」はCP3000に適用可能であり、今後、試薬の臨床有用性を比較してより臨床への貢献が可能な試薬選択を行いたい。

まとめ

「リアスオート P-FDP」および「リアスオート・D ダイマー ネオ」はコアプレスタ®2000同様にCP3000適用が可能である。ルチン検査の検討対象試薬が増えることで、より臨床有用性が高い試薬を選択することが可能となり、臨床に貢献できることが期待される。

参考文献

- 1) 香川和彦. FDP-D ダイマー測定の現状と課題, 日本血栓止血学会誌. 2006; 17(1): 68-73
- 2) 福武勝幸. D ダイマーの現状と標準化に向けた課題, 生物試料分析. 2009; 32(5): 380-385
- 3) 永瀬昌史. 血漿FDP試薬, Medical Technology. 2004; 32(9): 957-962
- 4) 雨宮憲彦. D ダイマー /FDP, 日本検査血液学会雑誌, 2006; 7(3): 460-469
- 5) 朝倉英策 他. 日本血栓止血学会 DIC 診断基準暫定案, 血栓止血誌. 2014; 25(5): 629-646
- 6) 太田由佳 他. 一次線溶産物に対する反応性を改善した新規FDP試薬の検討, 日本臨床検査自動化学会誌. 2014; 39(3): 386-389
- 7) 池田千秋 他. フィブリンノゲン分解産物への反応性を改善した新規血漿FDP試薬「リアスオート P-FDP」の評価, Sysmex Journal Web. 2014; 15(2).
- 8) 澁谷さやか 他. 新規血漿FDP測定試薬の検討とEDTA-2K加血における血漿FDP測定の試み, Sysmex Journal Web. 2015; 16(1).

Feasibility Study of LIASAUTO P-FDP and LIASAUTO D-dimer NEO Applications for CP3000

Kazuhiro ICHISHITA^{*1}, Erina SHIBATA^{*1}, Chizuko NONAKA^{*1}, Ryuuichi TAKAMIZU^{*1},

Yoshitaka INOUE^{*1}, Midori HIRADE^{*1}, Junko KOMATSU^{*1}, Kaoru URAKAWA^{*1},

Yasuyo HIRAKAWA^{*1}, Kazuma TANIGUCHI^{*1}, Yasushi KAWABUCHI^{*1}, Katsuyuki NAGATOYA^{*2}

*1 Independent administrative agency, Japan Labor Health and Welfare Organization, Osaka Rousai Hospital, Central Clinical Laboratory, 1179-3 Nagasone-cho, Kita-ward, Sakai, Osaka 591-8025

*2 Independent administrative agency, Japan Labor Health and Welfare Organization, Department of Clinical Laboratory

SUMMARY

FDP, fibrinogen/fibrin degradation products, and D-dimer are widely used as significant diagnostic parameters for analysis of coagulation and fibrinolysis.

The LIASAUTO P-FDP reagent released by Sysmex (Kobe, Japan) in 2014 is primarily designed for use with Sysmex CA and CS series fully automated blood coagulation analyzers, and is well reported for its clinical usefulness. In addition, the reagent provides FDP and D-dimer as analytical parameters on Coapresta[®]2000 (CP2000) (Sekisui Medical, Tokyo, Japan), allowing for wider choice of reagents. We examined whether analytical parameters of CP2000 can be applied to Coapresta[®] series, fully automated coagulation analyzer CP3000 (Sekisui Medical), which is used as the routine hemostasis testing in our institution.

This report presents the results of feasibility study for applications of LIASAUTO P-FDP and LIASAUTO D-Dimer NEO on CP3000. The results suggested that both LIASAUTO P-FDP and LIASAUTO D-Dimer NEO met the expected performance and functionalities as written in the package inserts throughout this study. It is possible to select the reagents with high clinical utility in order to obtain more accurate results for FDP and D-dimer by increasing the inspecting targets of routine testing reagents, and we expect that this can be a useful application in the clinical setting.

Key Words LIASAUTO P-FDP, LIASAUTO D-Dimer NEO, CP3000
