

全自動血液凝固測定装置 CN-6000 を用いた 血小板凝集能測定の基礎的検討

江頭 舞^{*1}, 河野 麻衣^{*2}, 中島 享子^{*2}, 北野 圭介^{*1}, 坂寄 輔^{*1}

*1 シスメックス株式会社 第一エンジニアリング本部 タンパク技術グループ：神戸市西区高塚台 4 丁目 4 番地の 4 (〒651-2271)

*2 シスメックス株式会社 第一エンジニアリング本部 IVD 臨床開発部

血小板凝集能検査のゴールドスタンダード法である透過光法はこれまで半自動の装置が主流であったが、近年、ルーチン検査で使用する全自動血液凝固測定装置 CS-5100 (シスメックス株式会社:以下, CS-5100:シスメックス) で血小板凝集能の測定が可能となった。それにより別々の測定装置の保有が必要であったルーチン検査と血小板凝集能検査の装置が集約可能となり、分注の自動化に伴った測定精度の向上も実現した。今回、新たな全自動血液凝固測定装置 CN-6000 (以下, CN-6000:シスメックス) について血小板凝集能測定の基礎性能評価を行った。

試薬はシスメックスの販売する血小板凝集能試薬を用い、終濃度は ADP : 2.0 μ M, コラーゲン : 2.0 μ g/mL, アラキドン酸 : 1.0 mM, エピネフリン : 5.0 μ M, リストセチン : 1.2 mg/mL で CN-6000 における同時再現性・オンボード安定性・CS-5100 との相関性の評価および基準範囲を算出した。試料は正常試料として健常人ボランティアからの乏血小板血漿 (PPP) と多血小板血漿 (PRP), 異常試料として健常人ボランティアからの PPP と抗血小板薬を添加した PRP および人工的に調製した PRP を用いた。

同時再現性 (n=30) においてはすべての項目で、正常試料は CV が 5.0% 以内、異常試料は CV が 13.0% 以内、オンボードは 10 時間まで安定であった。CS-5100 との相関性 (n=130) は、すべての試薬で相関係数 $r=0.97$ 以上と極めて良好な結果が得られた。また、基準範囲は ADP 凝集 : 59.1 ~ 98.3%, コラーゲン凝集 : 80.8 ~ 100%, アラキドン酸凝集 : 63.2 ~ 100%, エピネフリン凝集 : 68.8 ~ 99.8%, リストセチン凝集 : 77.7 ~ 100% であった。

CN-6000 は CS-5100 と比べて設置面積が約 1/2 であり、処理速度も最大 400 テスト/時間から最大 450 テスト/時間 (PT 単項目) へと向上している。また、血小板凝集能測定は CS-5100 と同等の結果が得られた。CN-6000 は試薬を意図した濃度に自動で希釈する新たな機能を有しており、手技間差の軽減が期待できることから今後の血小板凝集能検査の標準化へさらなる一助になると考えられる。

キーワード 血小板凝集, 透過光法, CN-6000, レボヘム, 自動化

はじめに

透過光法 (Light Transmission Aggregometry : 以下, LTA) を測定原理とした *in vitro* の血小板凝集能検査は 1962 年に Born によって開発されて以来¹⁾, ゴールドスタンダードとして血小板無力症やフォン・ヴィレブランド病などの先天性血小板機能異常症の診断に用いられてきた^{2,3)}. また, 近年は抗血栓療法の疾患マネジメントとして, COX-1 の阻害薬であるアセチルサリチル酸 (以下, アスピリン) や P2Y12 受容体の阻害薬であるクロピドグレルやプラスグレルに代表される抗血小板薬の効果を確認する目的として用いられている²⁻⁴⁾. 抗血小板薬の薬理学的作用は個人差があることが知られている⁵⁾. そのため抗血小板薬の不応症評価や中止・継続の指標として血小板凝集能検査を使用することは臨床的にも重要な可能性がある。

LTA は遠心条件を変えることで得られる 2 種の試料である多血小板血漿 (Platelet Rich Plasma : 以下, PRP) と乏血小板血漿 (Platelet Poor Plasma : 以下, PPP) が必要である。さらに熟達した技師による試薬の調製や試料および試薬の分注が必要な半自動測定装置が主流であったため, 多くの時間を要する非常に煩雑な検査であった。近年, PT, APTT, Fbg, AT, D ダイマーなどのルーチン検査で使用されている全自動血液凝固測定装置 CS-5100, CS-2400,

CS-2500, CS-2000*i*, CS-2100*i* (シスメックス株式会社 : 以下, CS-5100, CS-2400, CS-2500, CS-2000*i*, CS-2100*i*, シスメックス) において血小板凝集能が測定可能となり, 既存の半自動測定装置との比較検討が数多く報告されている^{6~12)}。

近年, 新たに全自動血液凝固測定装置 CN-6000 (シスメックス : 以下, CN-6000) が発売された。CN-6000 はこれまでの CS-5100 の特徴であったマルチウェーブ検出, HIL チェックや波形解析などの技術を継承し, PT 単項目処理速度で CS-5100 に対して 12.5% 向上 (450 テスト/時間), 必要設置面積は約 1/2 に減少し, これまで以上に検査室の運用ワークフローを改善できる可能性のある装置である。CN-6000 の血小板凝集能測定には新たな機能が付加され, CS-5100 で必要であった試薬溶解後の使用濃度へのマニュアル段階希釈が自動化された。その機能により, 血小板凝集能検査のワークフローが改善され, 作製テスト数と使用濃度を入力し試薬原液と希釈液を装置内にセットすれば自動で段階希釈後の試薬が調製される (表 1, 図 1)。

今回我々は, CN-6000 を用いた血小板凝集能検査の同時再現性¹³⁾, オンボード安定性¹⁴⁾, 相関性^{7, 15)}, 基準範囲¹⁶⁾ を検討したので, その結果について報告する。

表 1. 血小板凝集能検査のワークフローの比較

測定フロー	半自動	CS-5100	CN-6000
検体採取	マニュアル	マニュアル	マニュアル
PPP と PRP の準備	マニュアル	マニュアル	マニュアル
試薬の調製	マニュアル	マニュアル	<u>自動</u>
キュベットへのスターラーセット	マニュアル	<u>不要</u>	<u>不要</u>
キュベットへの PPP, PRP 分注	マニュアル	<u>自動</u>	<u>自動</u>
キュベットへの惹起剤添加	マニュアル	<u>自動</u>	<u>自動</u>
測光	自動	自動	自動
結果出力	自動	自動	自動

半自動からの変更について赤字・下線で示した。



図1. 試薬自動希釈のオーダー画面

表2. 異常試料として用いたサンプル

再現性・オンボード安定性試験		相関性試験
ADP	PRP + カングレロール (終濃度 0.050 μM)	PRP + カングレロール (終濃度 0.025~5.0 μM)
COL	PRP + アスピリン (終濃度 0.50~1.0 mM)	PRP + アスピリン (終濃度 0.10~5.0 mM) PRP + アスピリン + カングレロール (終濃度 1.0~5.0 μM)
ARA	PRP + アスピリン (終濃度 1.0 mM)	PRP + アスピリン (終濃度 0.10~5.0 mM)
EPI	PRP + アスピリン (終濃度 1.0 mM)	PRP + アスピリン (終濃度 0.10~5.0 mM) PRP + アスピリン + カングレロール (終濃度 1.0~5.0 μM)
RIS	PPP + vWF 因子欠乏血漿 + 固定化血小板	PPP + vWF 因子欠乏血漿 + 固定化血小板

実験材料および方法

1. 対象

本研究はシスメックス株式会社の倫理委員会の承認を得て行われた。すべての試験において健常人から3.2%クエン酸ナトリウム加採血管を用いて採血し、200 × gで10分間遠心した後の上清の一部を回収してPRPとした。残りの血液を1,500 × gで15分間遠心した後に上清を回収したものをPPPとした。

回収後に何も添加していない状態のPRPを正常試料とした。ADPについては正常試料に対してカングレロール (AdooQ Bioscience) を添加したサン

プル、コラーゲン、アラキドン酸についてはアスピリンを添加したサンプル、エピネフリンについてはアスピリン (富士フイルム和光純薬株式会社) またはアスピリンとカングレロールを添加したサンプルを異常試料とした。リストセチンの異常試料は健常人のPPP, vWF 因子欠乏血漿 (HYPHEN BioMed), 固定化血小板 (HYPHEN BioMed) を混合し作製した (表2)。相関性試験の試料についても上記の方法で測定範囲に跨るように正常および異常試料を調製した。

2. 測定装置および試薬

測定装置として、再現性・オンボード安定性および相関性試験はCN-6000, 相関性試験の対照はCS-5100, 基準範囲の算出にはCS-5100, CS-2400, CS-2500, CS-2000*i*, CS-2100*i*を用いた。

測定試薬は体外用診断薬としてレボヘム ADP, レボヘム コラーゲン, レボヘム アラキドン酸, レボヘム エピネフリン, レボヘム リストセチン(すべてシスメックス)を用いた。レボヘム アラキドン酸およびレボヘム リストセチンは研究用試薬であり、診断に用いることはできない。試薬の終濃度は国際血栓止血学会標準化委員会の推奨法で提唱されている濃度 (ADP: 2.0 μM, コラーゲン: 2.0 μg/mL, アラキドン酸: 1.0 mM, エピネフリン: 5.0 μM, リストセチン: 1.2 mg/mL) を用いた。

1) 同時再現性

同時再現性は、正常および異常試料を用いて、30回連続測定して得られた最大凝集率(%)から変動係数(CV%)を求めた¹³⁾。

2) オンボード安定性

オンボード安定性は0, 4, 8, 10時間の4ポイントで測定して得られた最大凝集率(%)を用いて0時間から各時間の乖離率を求めた。血小板凝集能測定の試料は経時的に活性が変化することから、測定の4, 8, 10時間前に試薬を準備して装置に設置したもの(オンボード4, 8, 10時間の試薬)と、対照として測定時に調製したもの(オンボード0時間の試薬)を準備して正常および異常試料を同時に測定することで評価した¹⁴⁾。

3) 相関性

CN-6000, CS-5100で130例に対してそれぞれ1回ずつ測定し、最大凝集率(%)を用いて回帰式および相関係数を求めた^{7, 15)}。

4) 基準範囲

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)の指針では基準範囲設定の最小データを120としているため、健常人120例以上の検体を測定した結果から、平均±2SDではずれ値を1回除外し、Analyse-it (Analyse-it Software, Ltd.)を用いて基準範囲(95%信頼区間)を求めた¹⁶⁾。

結 果

1) 同時再現性

同時再現性のCV(%)はADP凝集の正常試料で1.9, 異常試料で10.7, コラーゲン凝集の正常試料で3.1, 異常試料で7.2, アラキドン酸凝集は正常試料で2.0, 異常試料で12.1, エピネフリン凝集の正常試料で3.0, 異常試料で10.4, リストセチン凝集は正常試料で4.5, 異常試料で6.9であった(表3)。

2) オンボード安定性

オンボード安定性は0時間と比較し10時間までの変動がすべての試薬で5%以内であり安定であった(表4, 図2)。

3) 相関性

CN-6000とCS-5100は、ADP, コラーゲン, アラキドン酸, エピネフリン, リストセチンのすべての測定項目で相関係数 $r=0.97$ 以上であった(図3)。

表3. 同時再現性の結果

	【最大凝集率(%)】			
	正常試料		異常試料	
	Average	CV (%)	Average	CV (%)
ADP	92.8	1.9	28.1	10.7
コラーゲン	84.8	3.1	27.4	7.2
アラキドン酸	93.6	2.0	17.6	12.1
エピネフリン	89.7	3.0	41.8	10.4
リストセチン	79.0	4.5	45.6	6.9

表4. オンボード安定性の結果

A. ADP [最大凝集率 (%)]

	正常試料				異常試料			
	0 時間	4 時間	8 時間	10 時間	0 時間	4 時間	8 時間	10 時間
1	88.1	89.1	87.0	90.9	27.5	29.4	30.7	29.6
2	89.6	85.9	87.2	82.9	26.3	29.3	28.5	32.9
Average	88.9	87.5	87.1	86.9	26.9	29.4	29.6	31.3
差 (0 時間-各時間)	—	1.3	1.8	1.9	—	-2.5	-2.7	-4.4

B. コラーゲン [最大凝集率 (%)]

	正常試料				異常試料			
	0 時間	4 時間	8 時間	10 時間	0 時間	4 時間	8 時間	10 時間
1	85.5	91.7	91.5	85.3	24.9	25.5	25.2	27.4
2	92.2	87.9	90.0	89.2	23.4	24.7	25.2	24.9
Average	88.9	89.8	90.8	87.3	24.2	25.1	25.2	26.2
差 (0 時間-各時間)	—	-1.0	-1.9	1.6	—	-1.0	-1.1	-2.0

C. アラキドン酸 [最大凝集率 (%)]

	正常試料				異常試料			
	0 時間	4 時間	8 時間	10 時間	0 時間	4 時間	8 時間	10 時間
1	94.0	95.8	98.4	99.6	3.5	3.0	2.7	4.6
2	89.7	96.0	93.7	95.2	2.3	4.1	3.4	4.7
Average	91.9	95.9	96.1	97.4	2.9	3.6	3.1	4.7
差 (0 時間-各時間)	—	-4.1	-4.2	-5.6	—	-0.7	-0.2	-1.8

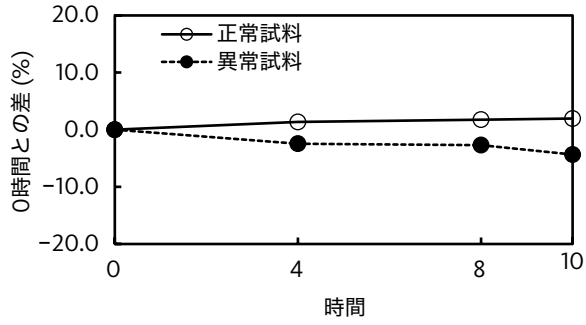
D. エピネフリン [最大凝集率 (%)]

	正常試料				異常試料			
	0 時間	4 時間	8 時間	10 時間	0 時間	4 時間	8 時間	10 時間
1	88.6	91.0	91.6	90.1	35.3	34.5	36.4	34.6
2	91.0	89.7	89.4	85.7	37.8	35.5	37.9	37.9
Average	89.8	90.4	90.5	87.9	36.6	35.0	37.2	36.3
差 (0 時間-各時間)	—	-0.5	-0.7	1.9	—	1.6	-0.6	0.3

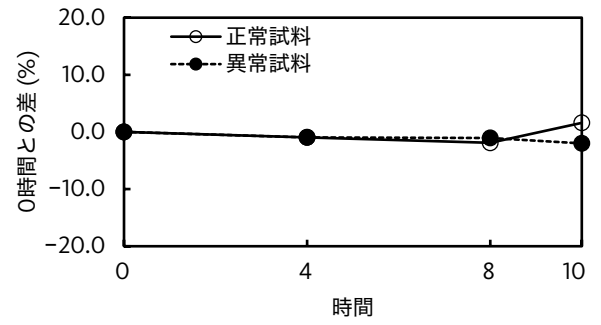
E. リストセチン [最大凝集率 (%)]

	正常試料				異常試料			
	0 時間	4 時間	8 時間	10 時間	0 時間	4 時間	8 時間	10 時間
1	95.9	97.5	94.8	96.8	39.1	35.5	40.5	40.4
2	93.7	95.4	94.4	93.9	36.2	38.7	40.1	39.8
Average	94.8	96.5	94.6	95.4	37.7	37.1	40.3	40.1
差 (0 時間-各時間)	—	-1.6	0.2	-0.5	—	0.6	-2.6	-2.4

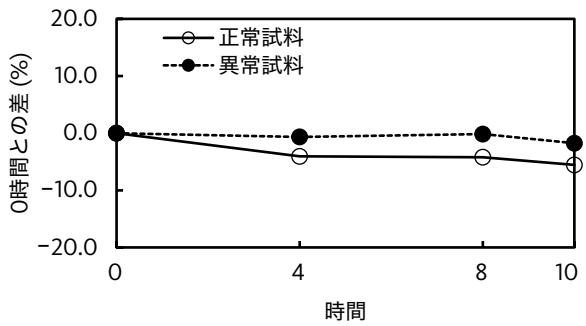
A. ADP



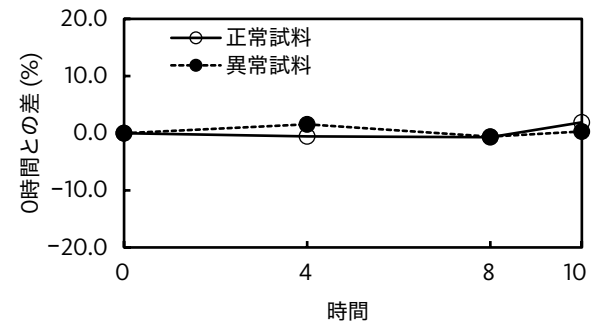
B. コラーゲン



C. アラキドン酸



D. エピネフリン



E. リストセチン

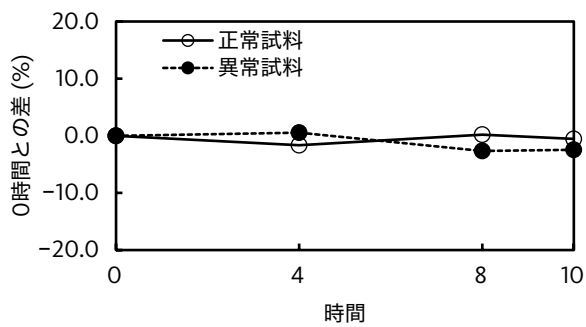
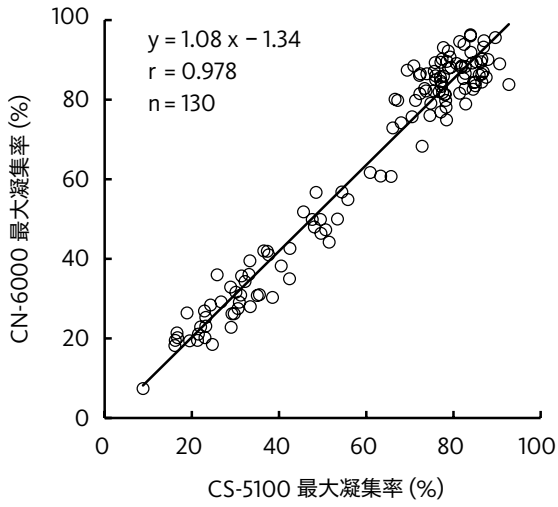
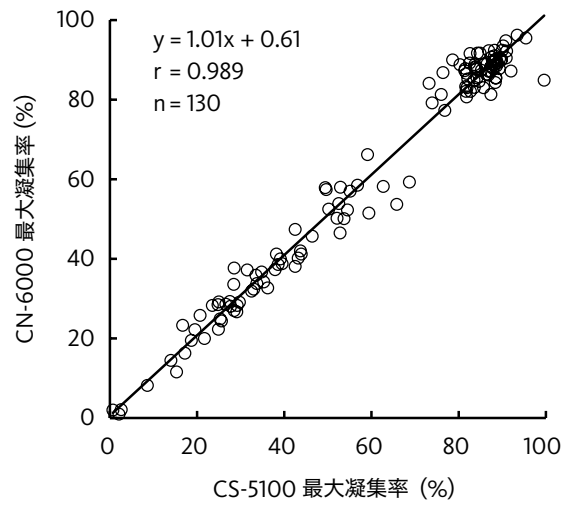


図2. オンボード安定性の結果

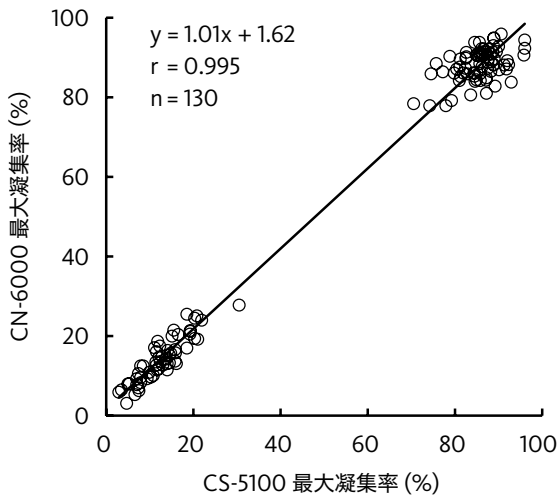
A. ADP



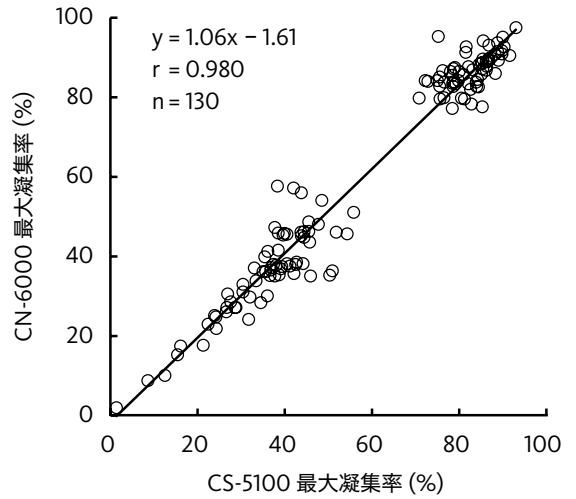
B. コラーゲン



C. アラキドン酸



D. エピネフリン



E. リストセチン

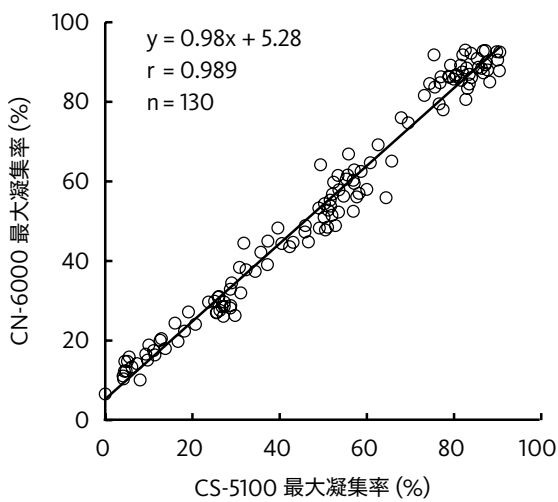


図3. 相関性試験の結果

表5. 基準範囲の結果

	検体数	基準範囲 (最大凝集率(%))
ADP	141	59.1 ~ 98.3
コラーゲン	133	80.8 ~ 100.0
アラキドン酸	126	63.2 ~ 100.0
エピネフリン	150	68.8 ~ 99.8
リストセチン	123	77.7 ~ 100.0

4) 基準範囲

基準範囲は ADP 凝集：59.1 ~ 98.3% (141 例), コラーゲン凝集：80.8 ~ 100% (133 例), アラキドン酸凝集：63.2 ~ 100% (126 例), エピネフリン凝集：68.8 ~ 99.8% (150 例), リストセチン凝集：77.7 ~ 100% (123 例)であった(表5).

考 察

ルーチン機である全自動血液凝固測定装置において血小板凝集能検査が可能となったことは、専用装置が不要であることに伴うコスト面の利点に加え、煩雑な手技による測定エラーや測定者間差が抑えられるという点で貢献が大きい。これまで血小板凝集能を測定していなかった病院で全自動血液凝固測定装置の血小板凝集能検査を開始し、新たに血小板無力症が鑑別できたという報告がある¹⁷⁾。そのことから血小板凝集能検査のルーチン機との一体化の医療貢献は非常に大きいと考えられる。

今回我々は、新規の全自動血液凝固測定装置である CN-6000 の血小板凝集能測定についての基礎性能と既存装置 CS-5100 との相関性の評価および全自動血液凝固測定装置と 5 種類の血小板凝集能試薬の基準範囲 (国際血栓止血学会標準化委員会の推奨濃度) を検討した。

同時再現性においてはすべての項目で正常試料の

CV (%) が 5.0 以下、異常試料の CV (%) が 13.0 以下であり (表3) 今回の CN-6000 の結果はこれまで報告されている CS-2000i/CS-2100i の結果と同程度であった^{9, 14)}。また、CS-2000i/CS-2100i は半自動の血小板凝集能機器を上回る高い再現性能を有していたことから⁹⁾、CN-6000 においても同様に高い同時再現性で検査室に貢献できる。

オンボード安定性の結果から今回評価した 5 試薬は CN-6000 での測定においても 10 時間後も安定であることが認められた。CS-5100 においても 10 時間の安定性が確認されていたことから¹⁴⁾、CS-5100 と同様に当日中の測定で問題なく使用可能である。

CS-5100 との相関性の結果では極めて高い相関性が得られた。リストセチンにおいては $y = 0.98x + 5.28$ と約 5% の切片が観察された。リストセチンを用いた血小板凝集能検査の主な測定目的としてフォン・ヴィレブランド病や Bernard-Soulier 症候群の患者の診断補助が挙げられる¹⁸⁾。既に報告されている半自動の血小板凝集能機器と全自動血液凝固測定装置のフォン・ヴィレブランド病患者の測定結果などからも 5% 程度の乖離は観察されており¹²⁾、今回の結果の差は測定値の解釈に影響を与えないことが推察できる。また、本検討の結果より全自動血液凝固測定装置間の相関が確認されたことから、CN-6000 でも本検討で算出した同じ基準範囲が使

用できると考えられた。

基準範囲については以前に報告した小規模調査と比較し¹⁴⁾、ほとんどの項目で大きな範囲変動は見られなかったが、アラキドン酸凝集に関しては75～105% (43例)から63.2～100% (126例)に低値側が約10%広がった。本検討は日本人を対象にしているが、欧州では70～105% (42例)という報告もあり¹⁹⁾、人種によって大きな違いはないことが推察されるが、人種による基準範囲については今後さらなる検討が必要であると考えられる。

CS-5100, CS-2400, CS-2500においては、2濃度のADPおよびコラーゲンの結果をスコアリングする研究用の指標 (APAL, CPAL) が搭載されており、結果の解釈が困難な血小板凝集能の結果解釈の一助になることが考えられている²⁰⁾。また、この指標はこれまで臨床で使用されていた1濃度の最大凝集率の結果では捉えられなかった反応を捉えることが報告されており¹⁵⁾、同じ指標がCN-6000にも搭載されていることから同様に血小板凝集能の結果解釈の一助になることが期待される。

全自動血液凝固測定装置で血小板凝集能測定が可能になったことで、測定者の経験値による手技間差やヒューマンエラーの頻度が低下したと期待される。今回、CN-6000の血小板凝集能測定では試薬の自動希釈機能が付加された。煩雑であった試薬の希釈による調製が自動化されたことで、試薬調製時のミスや手希釈にかかる工数が削減されるため、ユーザビリティの向上が期待される。

血小板凝集能検査は試料の調製・試薬の濃度・測定装置の違いなど、バラツキ要因が非常に多い検査である。先天性機能異常に対する試薬濃度については、国際血栓止血学会標準化委員会の推奨事項の報告により試薬濃度の収束が期待される^{2,3)}。本検討からもわかるように全自動血液凝固測定装置間の測定値の差は小さく、今後は血小板凝集能検査の結果収束が期待できると考えられた。一方で、試料調製時の遠心条件統一などの課題がまだ存在する。遠心条件については国際血栓止血学会標準化委員会から推奨条件が出ているものの^{2,3)}、採血管の長さなどによって実際にPRPに掛かる遠心時の重力が異なる。そのため各施設によって条件が異なるのが実情であ

ると思われ、標準化にはまだまだ道のりが遠いと考えられる。採血管の長さ・遠心条件・全自動血液凝固測定装置の使用など血小板凝集能検査のフローを統一していくことで今後の検査の質の向上につながり、これらのバラツキによって見えていなかった新たな知見が得られることが期待される。

結 論

CN-6000による血小板凝集能検査は、良好な同時再現性、オンボード安定性を有しており、既存装置CS-5100との相関も良好であった。また測定試薬調製の過程が簡便化されたことで技師の負担やヒューマンエラーが大幅に削減され、血小板凝集能検査の標準化へのさらなる寄与が期待される。

全自動血液凝固測定装置 CN-6000：医療機器製造販売
届出番号 28B1X10014000001

全自動血液凝固測定装置 CN-5100：医療機器製造販売
届出番号 28B1X10014000021

血小板凝集能キット レボヘム ADP：体外診断用医薬品製造
販売認証番号 227ABAMX00056000

血小板凝集能キット レボヘム コラーゲン：体外診断用医薬
品製造販売認証番号 227ABAMX00057000

血小板凝集能キット レボヘム エピネフリン：体外診断用医
薬品製造販売認証番号 227ABEZX00023000

参考文献

- 1) Born GV. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*. 1962 ; **194** : 927-929.
- 2) Cattaneo M, Hayward CP, Moffat KA, et al. Results of a worldwide survey on the assessment of platelet function by light transmission aggregometry : a report from the platelet physiology subcommittee of the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2009 ; **7** (6) : 1029.
- 3) 富山佳昭, 佐藤金夫, 尾崎由基男 他. 「透過光血小板凝集検査法の標準化：国際血栓止血学会血小板機能標準化部会からの提言」の紹介と解説. *日本血栓止血学会誌*. 2016 ; **27** (3) : 365-369.

- 4) 一般社団法人 日本血栓止血学会 血小板部会. 血小板凝集能検査実施状況のアンケート調査結果. <http://www.jsth.org/com/c1/c1-4/> (参照 2020-2-3).
- 5) Desta Z, Zhao X, Shin JG, et al. Clinical significance of the cytochrome P 450 2 C 19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet.* 2002 ; **41** : 913-58.
- 6) 丸尾理恵, 金子 誠, 渡邊ゆり 他. 全自動血液凝固測定装置を用いた血小板凝集能 (透過光法) の自動化測定—血小板凝集能検査の標準化にむけて. *臨病理.* 2018 ; **66** (10) : 1051-1057.
- 7) 大森由佳里, 石田秀和, 坂寄 輔 他. 全自動血液凝固測定装置 CS-2400 による血小板凝集能測定の基礎的検討. *日臨検自動化会誌.* 2017 ; **42** (5) : 607-611.
- 8) 佐藤金夫, 畑山一貴, 風間文智 他. 透過光法を測定原理とした血小板凝集能測定装置の比較検討. *日検血会誌.* 2018 ; **19** (2) : 153-162.
- 9) Ling LQ, Liao J, Niu Q, et al. Evaluation of an automated light transmission aggregometry. *Platelets.* 2017 ; **28** : 712-719.
- 10) Frère C, Kobayashi K, Dunois C, et al. Assessment of platelet function on the routine coagulation analyzer Sysmex CS-2000i. *Platelets.* 2018 ; **29** : 95-97.
- 11) Bret VE, Pougault B, Guy A, et al. Assessment of light transmission aggregometry on the routine coagulation analyzer Sysmex CS-2500 using CE-marked agonists from Hyphen Biomed. *Platelets.* 2019 ; **30** (4) : 540-542.
- 12) Stratmann J, Karmal L, Zwinge B, et al. Platelet Aggregation Testing on a Routine Coagulation Analyzer : A Method Comparison Study. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2019 ; **25** : 1-10.
- 13) Section Santé humaine, Document COFRAC SH GTA 04 Revision 01. Guide de verification/validation des méthodes en Biologie Medicale.
- 14) 坂寄 輔, 渡邊ゆり, 中島享子 他. 全自動血液凝固測定装置 CS シリーズを用いた血小板凝集能測定の紹介. *Sysmex J.* 2016 ; **17** (1) : 1-12.
- 15) Sakayori T, Kitano K, Watanabe Y, et al. Evaluation of the Newly Developed Adenosine Diphosphate-Induced Platelet Aggregation Level System in Aggregometer on Automated Coagulation Analyzer. *Clin Lab.* 2019 ; **65** (12) : 2253-2260.
- 16) CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. EP28-A3c (Defining, Establishing, and Verifying Reference intervals in the clinical Laboratory; Approved Guideline – Third Edition). 2010.
- 17) 佐野友紀, 松島江理, 望月舞子 他. CS-5100 を使用した血小板凝集能検査により, 発見し得た先天性血小板無力症の一症例. 第 67 回日本医学検査学会大会抄録集. 2018 ; 148.
- 18) Harrison P, Mackie I, Mumford A, et al. Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. *Br J Haematol.* 2011 ; **155** (1) : 30-44.
- 19) Platton S, McCormick Á, Bukht M, et al. A multicenter study to evaluate automated platelet aggregometry on Sysmex CS-series coagulation analyzers-preliminary findings. *Res Pract Thromb Haemost.* 2018 ; **2** (4) : 778-789.
- 20) 坂寄 輔, 渡邊ゆり, 北野圭介 他. 全自動血液凝固測定装置に搭載した血小板凝集能検査を用いた研究用新規指標の抗血小板療法における薬物効果判定としての有用性の検討. *Sysmex J.* 2018 ; **19** (2) : 1-10.

The Basic Evaluation of Light Transmission Platelet Aggregation Method on an Automated Coagulation Analyzer CN-6000

Mai EGASHIRA^{*1}, Mai KONO^{*2}, Kyoko NAKAJIMA^{*2}, Keisuke KITANO^{*1}
and Tasuku SAKAYORI^{*1}

^{*1} Protein Technology, Engineering 1, Sysmex Corporation: 4-4-4, Takatsukadai, Nishi-ku, Kobe, 651-2271

^{*2} IVD Clinical Development, Engineering 1, Sysmex Corporation

Light transmission aggregometry (LTA) is known as a gold standard method for assessing platelet function. The fully automated coagulation analyzer CS-5100 is already enabled to measure platelet aggregation using LTA. It means that semi-automated aggregometer, which was required only for testing platelet aggregation, and automated coagulation analyzer for the routine tests have been integrated. Moreover, the accuracy of measurement has been improved with the automation of dispensing. Recently, a new automated coagulation analyzer called CN-6000 was launched. In this report, we have evaluated performance of the CN-6000 of platelet aggregation function with 2.0 μ M adenosine diphosphate (ADP), 2.0 μ g/mL of collagen, 1.0 mM arachidonic acid, 5.0 μ M epinephrine and 1.2 mg/mL ristocetin.

We evaluated within-run precision, on-board stability, comparative study with CS-5100, and reference intervals. Platelet-rich plasma (PRP) and Platelet Poor Plasma (PPP) from healthy volunteers were used as normal samples, and PPP from healthy volunteers, PRP spiked with anti-platelet drugs and artificial PRP were used as abnormal samples.

Within-run precision was measured using 30 replicates of analysis. The coefficient of variation (CV) with all agonists tested with normal and abnormal samples was less than 5% and 13%, respectively. For on-board stability evaluation, it indicated favorable stability up to 10 h with all agonist. Comparative study between CN-6000 and CS-5100 was performed using 130 PRP samples. CS-5100 showed remarkably high correlativity, the correlation coefficient (r) with all agonists was more than 0.97. Reference intervals were 59.1–98.3% for ADP, 80.8–100% for collagen, 63.2–100% for arachidonic acid, 68.8–99.8% for epinephrine, and 77.7–100% for ristocetin.

CN-6000 reduced the footprint by approximately half compared with CS-5100 and improved the processing speed of the PT single item by 12.5% (450 tests per hour). Our results demonstrated that the CN-6000 is a robust automated coagulation analyzer for platelet aggregation testing. It has a new function of automatically diluting reagents to the intended concentration, which reduces errors in reagent preparation, and it can be expected further helping to standardize testing.

Key Words Platelet Aggregation, Light Transmission Aggregometry, CN-6000, Revohem, Automation