

塗抹標本作製装置 SP-1000i の基礎評価

石田 敦巳^{*1}, 志賀 修一^{*1}, 森 尚子^{*1}, 中西 加代子^{*1}, 藤井 葉子^{*1}, 一山 智^{*2}

^{*1} 京都大学医学部附属病院検査部：京都市左京区聖護院川原町 54（〒606-8507）

^{*2} 京都大学大学院医学研究科臨床病態検査学

SUMMARY

臨床検査分野における自動化の進展に伴い、血液塗抹標本も自動装置で作製する割合が高くなってきている。今回、シスメックス株式会社より新たに発売された塗抹標本作製装置 SP-1000i（以下 SP-1000i）を用いて、標本上の崩壊細胞数、白血球分類比率などの塗抹状態を評価した。崩壊細胞数については、SP-1000i と用手法作製標本で統計的な有意差は認められなかった。ただし、CLL（慢性リンパ性白血病）検体で SP-1000i 作製標本の崩壊細胞数が用手法より多くなる例が認められた。また、SP-1000i と用手法作製標本の白血球分類値の相関は良好であった。

Key Words Performance Evaluation, Automated Hematology Slide Preparation Unit, SP-1000i.

はじめに

近年、血液検査の分野においても各種システムの導入が着実に進み、検査業務の省力化や効率化、検査データ報告の迅速化、バイオハザードの防止などに大きく貢献している。ヘマトロジーシステムでは血液検体に対してなんらの用手法的前処理も要求されず、他分野と独立したシステム構築が可能であり、その完成度は高いものとなっている¹⁾。血液塗抹標本の作製は血液検査に欠かせない工程であり、ヘマトロジーシステムの中でも標本の作製、染色までの全自動化が既に可能となっている。標本の良否は細胞形態を観察するうえで最も重要な要素の一つであることから、自動装置においても用手法と同等以上の塗抹状態が求められる。

今回われわれは、塗抹標本作製装置 SP-1000i（シスメックス社、以下 SP-1000i）を用いて、標本上の崩壊細胞数、白血球分類比率などの標本の塗抹状態および操作性について評価したので報告する。

材料および方法

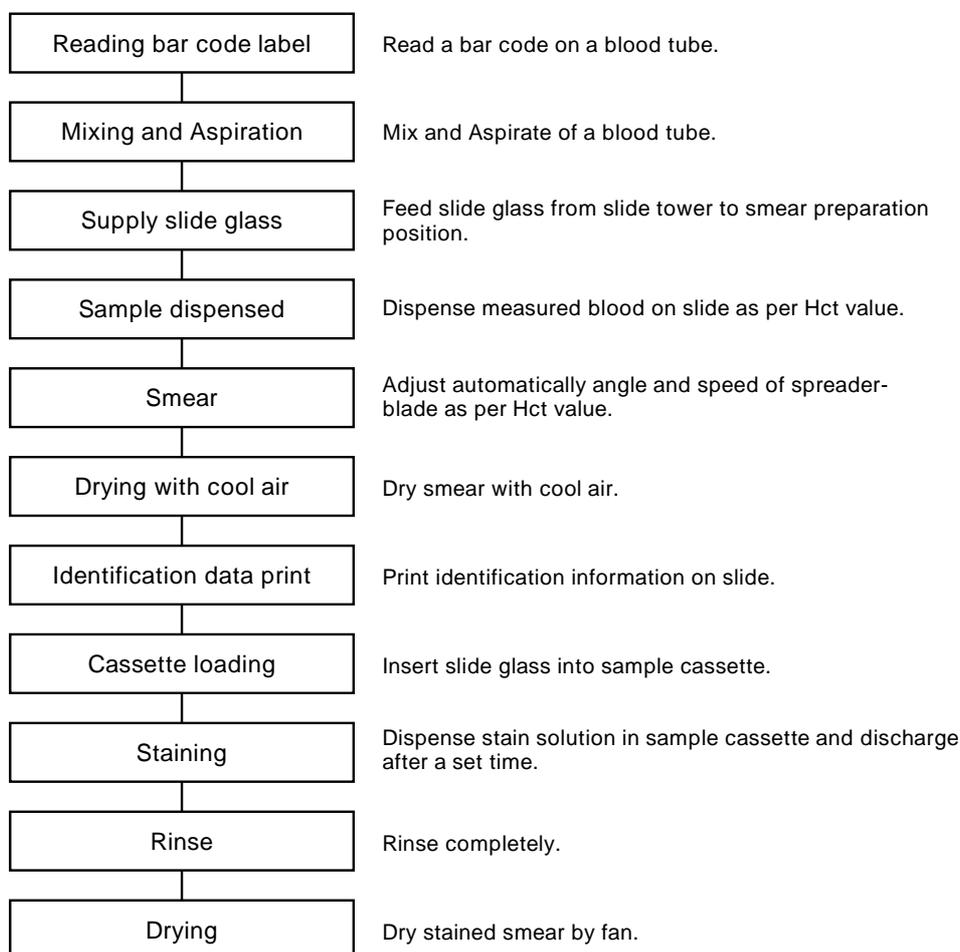
SP-1000i の概要

SP-1000i の基本仕様を表 1 に、標本作製フローを表 2 に示す。SP-1000i は多項目自動血球分析装置 XE-2100²⁾（シスメックス社、以下 XE-2100）で得られたヘマトクリット値をもとに最適血液量をスライドガラス上に置き、石英引きガラスを用いて、適切な角度、スピード、血液なじみ時間を自動調整しウェッジ法にて塗抹標本作製する。塗抹後は約 1.5 分間冷風乾燥する。なお、塗抹面の 3 つのポイントをセンサーで監視することにより塗抹の有無を判定している。標本の作製枚数は 1 検体ごとに 1 もしくは 2 枚の指定が可能で、2 種類までのスライドガラスの使い分けもできる。例えば、フロスト部の色が異なる複数種のスライドガラスを用いれば、外来 / 病棟、至急検体 / 一般検体などの識別ができるようになっている。さらに専用スライドガラスを用いればフロスト部に日付、検体番号、患者名などを数字・漢字・アルファベット・カタカナ・記号で最大 15 桁 ×

表 1 . SP-1000i Performance Specifications

Throughput	Approx. 120 samples per hour
Sample Volume Aspirated	Sampler mode (closed tube): 200 μ L Manual mode (closed tube): 200 μ L Manual mode (micro tube): 60 μ L
Sample Volume Required	Sampler mode (closed tube): 0.8 - 5mL (12 mm diameter sample tube) 1.0 - 7mL (15 mm diameter sample tube) Manual mode (closed tube): 0.8 - 5mL (12 mm diameter sample tube) 1.0 - 7mL (15 mm diameter sample tube) Manual mode (Micro tube): 300 μ L (for specified sample tubes)
Number of Stored Data	1,000 samples
Staining Methods	Wright Single Stain, May-Giemsa Stain, Wright Giemsa Stain
Main Unit Dimensions	Width: 865 mm, Height: 660 mm, Depth: 860 mm
Pneumatic Unit Dimensions	Width: 280 mm, Height: 400 mm, Depth: 355 mm
Main Unit Weight	Approx. 100 kg
Pneumatic Unit Weight	Approx. 17 kg
Power Supply	Main Unit: 100 - 240 V AC \pm 10% (50/60 Hz) Pneumatic Unit: 100 - 117 V AC \pm 10% (50/60 Hz)
Power Consumption	Main Unit: 650 VA or less Pneumatic Unit: 280 VA or less (in case of 100 - 117 V AC, 50/60 Hz)

表 2 . Operational flow of SP-1000i



3行まで印字することが可能である。バーコード、2次元バーコードの印字も可能であり、分類時の検体番号入力および識別の省力化につなげることもできる。染色に関しては単染色・二重染色³⁾のいずれにも対応できる。SP-1000*i*は、染色液・緩衝液・洗浄液をセットするだけですべての染色工程作業を自動で行い、希釈染色液などを自分で調製する手間が省ける。標本作製は、通常の塗抹染色に加え塗抹のみ、あるいは染色のみの連続投入が可能であり、割り込み検体についても塗抹染色・塗抹のみ・染色のみのいずれでも割り込み可能である。さらに、標本の移送ミスやカセット収納ミスなどの装置トラブルに対しては自動復帰機能が搭載されており、装置ダウンタイムの低減が図られている。また、シスメックスのサポートセンターとネット接続することで、装置に搭載したWebカメラの映像と装置状態の情報をもとにメンテナンスを行うことも可能である。

材 料

当院検査部に提出された血液検体 (EDTA 加血) を用いた。検体は検査室に到着後、2 時間以内のものを使用した。XE-2100でIPメッセージ(あらかじめ設定された基準を外れた陽性検体に対するメッセージ)がないものを正常検体とし、50検体を用いた。同じくXE-2100でIPメッセージがあるものを異常検体とし26検体を用いた。染色はメイギムザ法で行い、染色液はメイグリンワルド染色液：SMS-800，ギムザ染色液：SGS-800，リン酸緩衝液：SPB-300，pH6.6 (いずれもシスメックス社)を用いた。

方 法

SP-1000*i*を用いて各検体 1 枚ずつ標本作製した。塗抹条件は検体ごとにヘマトクリット値に応じた塗抹速度 (メーカー推奨) を選択し、染色は表3に示す条件で実施した。標本 1 枚あたりの血液吸引量は約

表3 . Staining condition of SP-1000*i*

1) May-Grünwald stain	4'30"
2) May-Grünwald dilution (*1) stain	4'30"
3) Giemsa (*2) stain	14'30"
4) Rinse with water and Drying	

*1 May-Grünwald is diluted with phosphate buffer by 10 times.

*2 Giemsa is diluted with phosphate buffer by 25 times.

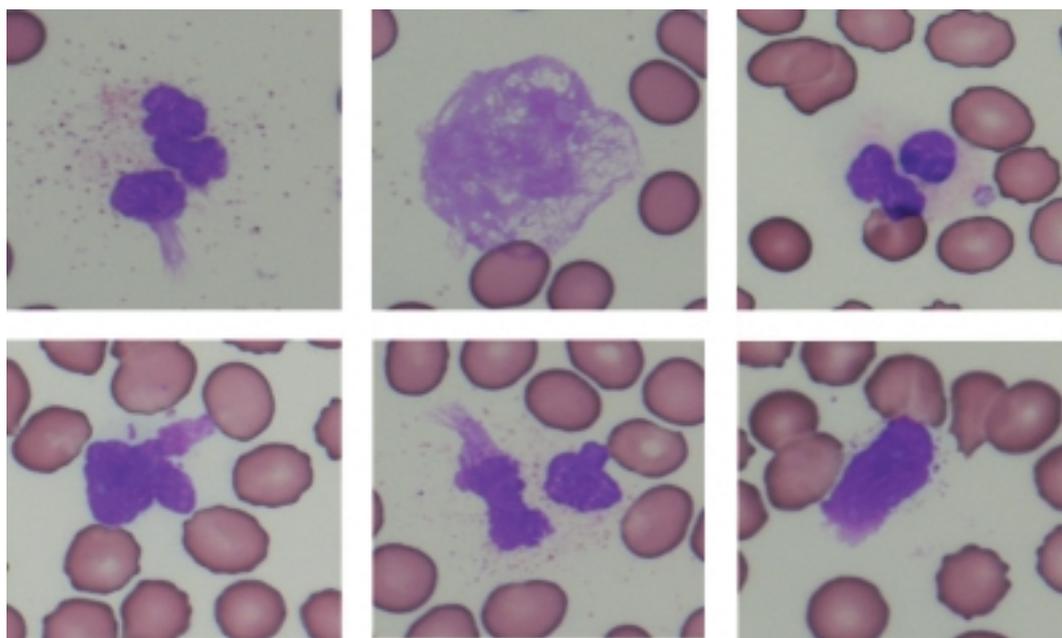


図1 . Smudge cells
Smudge cells were defined as granules and cytoplasmic discharge was clarified and cell membrane was destructed.

200 μ Lで、塗抹血液量は約3 μ Lである。比較対照として2名の検査技師（熟練者、未熟練者各1名）が用手法で各検体1枚ずつ標本を作製し、メイギムザ法で染色した。作製した標本は2名の検査技師が白血球をそれぞれ200カウントし、崩壊細胞計数と白血球分類を行った。なお、崩壊細胞数は各検査技師の結果を平均し、白血球200カウント中の細胞数として算出した。崩壊細胞は細胞膜が破壊されており顆粒、細胞質の溶出がはっきりしているもの（**図1**）とした。また、目視カウントする領域の細胞密度によって崩壊細胞数、白血球分類の結果が変化することが考えられる⁴⁻⁶）ので、いずれの標本も赤血球密度が同程度の領域をカウントした。なお、白血球分類の対象は正常検体のみとした。有意差の判定にはStatView ver.5.0 (SAS institute Inc. USA) によるt-検定（有意水準5%）を用いた。

結 果

全検体（76検体）での崩壊細胞数の結果を**図2**に示す。崩壊細胞の平均数は、SP-1000i、用手法（熟練）、用手法（未熟練者）で、それぞれ17.2、14.5、17.0個（白血球200カウントあたり）であった（**表4**）。標本作製法間で有意差検定（t検定：有意水準5%）を行った結果、用手法（熟練作製）と用手法（未熟練者作製）で有意差が認められたものの、SP-1000iと各用手法の間に有意差は認められなかった。異常検体の中でCLL（慢性リンパ性白血病）と確定できた3検体の崩壊細胞数を**表5**に示す。3検体中2検体は崩壊細胞数の最も多い検体と2番目に多い検体であった。

正常検体を用いた白血球分類の平均値を**表6**に示す。各平均値は標本作製法によらず、ほぼ同等の値であった。各作製法間の白血球分類の相関係数を**表7**に示す。SP-1000iと各用手法間の好中球、リンパ球の相関係数（r）は、いずれも0.9以上と良好であった。

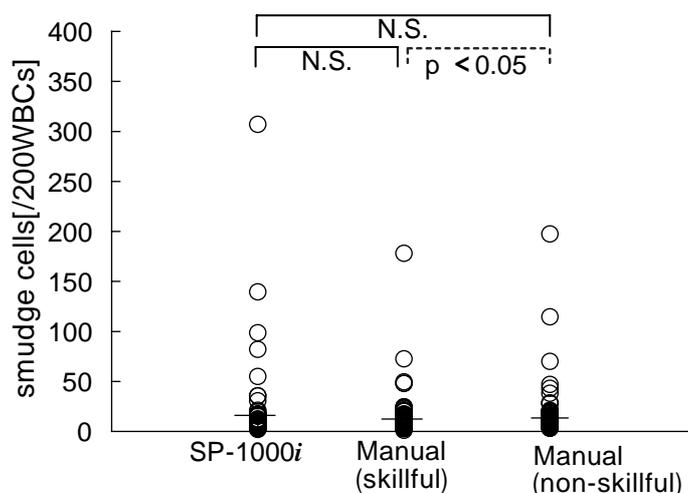


図2 . The number of smudge cells
We described the number of smudge cells as the number per WBC 200 count on microscopy. Statistical analysis was performed using a t-test. Statistical significance was identified at P < 0.05. N.S. is "not significant".

表 4 . The result of smudge cells

Smear methods	average of all samples (/200WBCs)	average of normal 50 samples (/200WBCs)	average of abnormal 26 samples (/200WBCs)
SP-1000i	17.2	8.0	34.9
Manual (skillful)	14.5	9.8	23.5
Manual (non-skillful)	17.0	10.1	30.2

表 5 . The number of smudge cells (chronic lymphocytic leukemia samples)

Smear methods	Smudge cells(/200WBCs)		
	sample 1	sample 2	sample 3
SP-1000i	307	140	55
Manual (skillful)	178	48	25
Manual (non-skillful)	198	43	38

表 6 . WBC 5-part differential with normal samples (average of 50 samples)

Smear methods	neutrophil(%)	lymphocyte(%)	monocyte(%)	eosinophil(%)	basophil(%)
SP-1000i	60.3	30.3	5.8	2.8	0.7
Manual (skillful)	59.2	31.7	5.7	2.6	0.8
Manual (non-skillful)	59.6	30.9	6.1	2.7	0.7

表 7 . The results of the correlation coefficient(r) for comparison of smear methods.

	SP-1000i vs manual (skillful)	SP-1000i vs manual (non-skillful)	manual (skillful) vs manual (non-skillful)
neutrophil	0.93	0.94	0.94
lymphocyte	0.93	0.94	0.92
monocyte	0.69	0.75	0.72
eosinophil	0.87	0.89	0.83
basophil	0.48	0.38	0.50

考 察

崩壊細胞の平均数がSP-1000i, 用手法(熟練), 用手法(未熟練者)でほぼ同等の値であることおよび有意差検定でSP-1000iと各用手法間で有意差が認められなかったことから, SP-1000iで作製した標本は用手法と同等の塗抹状態であると考えられる。ただし, CLL 検体の崩壊細胞数についてはSP-1000i作製標本で用手法作製標本より多くなる例が認められた(表5)。CLL 検体については用手法で慎重に標本作製した場合でも崩壊細胞が多数出現することが多い⁷⁾。SP-1000iでは, そのような壊れやすい細胞については用手法より崩壊細胞数が増加する傾向が認められたが, それ以外の検体については顕著な乖離は認められなかった。

正常検体を用いた白血球分類については, SP-1000i, 用手法(熟練), 用手法(未熟練者)で白血球5分類の分類値に目立った差はなく, SP-1000iは用手法と同等の標本が作製できていると考えられる。白血球分類の相関係数についても, 好中球, リンパ球の相関係数(r)は, いずれも0.9以上であり非常に良好な結果であると考えられる。単球, 好酸球, 好塩基球についても, 各相関係数から塗抹作製法の違いによる差は認められず, 目視カウント数(200カウント)を考慮すると問題ないレベルと判断できる。

SP-1000iの操作面では従来機のSP-100に比べて以下の改善が認められる。ヘルプ機能によりエラー時の対処方法が簡便になった, 染色条件の設定バリエーションが増えて用手法に近い塗抹標本作製できるようになった, 自動シャットダウンが可能となった, などである。一方, スライドガラスを本体部にセットする時, フロスト部が奥になるように注意しなければならない点や連続動作中にスライドガラスを補充するのに時間がかかる点については今後の改善を望みたい。

結 論

塗抹標本作製装置SP-1000iの塗抹状態(崩壊細胞, 白血球分類)を評価した。崩壊細胞については, CLL 検体で用手法と乖離する例が認められたものの, t検定による統計解析の結果, SP-1000iと各用手法の間で有意差はなく, ルーチン検査に十分使用可能なレベルであると考えられる。白血球分類についてはSP-1000i作製標本と用手法作製標本で良好な相関係数が得られた。以上のようにSP-1000iの塗抹状態はルーチン機として十分なレベルであると考えられる。さらに, 漢字, 二次元バーコードの印字機能や装置トラブルに対する自動復帰機能が搭載され, 操作面でもルーチン検査における効率化に十分貢献できると考える。

参考文献

- 1) 国司博行, 他: HSトランスポートーション XE-Alphaの使用経験, *Sysmex Journal*. 22: 211 ~ 215, 1999.
- 2) 鶴田一人, 他: 多項目自動血球分析装置XE-2100 有用性の評価, *Sysmex Journal*. 22: 195 ~ 206, 1999.
- 3) 松本 昇: 血液塗抹標本 ロマノフスキー染色, *検査と技術*. 12: 408 ~ 412, 1984.
- 4) 坂内英明: 白血球増の塗抹部位による差, *臨床検査*. 16: 301 ~ 304, 1972.
- 5) 相馬 史, 他: Wedge法とSpinner法による血液塗抹標本の比較検討, *臨床病理*. XXX . 11: 1319 ~ 1323, 1985.
- 6) 巽 典之, 他: 白血球分類におけるAuto-diffの有用性 - 血球計数装置のヘマトロジー・アナライザーへの展開 -, *Sysmex Journal*. 13: 6 ~ 20, 1990.
- 7) Macdonald D, et al: Practice guidelines on the reporting of smudge cells in the white blood cell differential count, *Arch Pathol Lab Med*. 127: 105, 2003.

Performance Evaluation of Automated Hematology Slide Preparation Unit “SP-1000i”

Atsumi ISHIDA^{*1}, Shuichi SHIGA^{*1}, Naoko MORI^{*1}, Kayoko NAKANISHI^{*1}, Youko FUJII^{*1},
and Satoshi ICHIYAMA^{*2}

^{*1}Department of Central Clinical Laboratory, Kyoto University Hospital,
54 Kawahara-cho, Shogoin, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507.

^{*2}Department of Clinical Laboratory Medicine, Kyoto University Graduate School of Medicine.

SUMMARY

A large portion of the blood film is automatically made as the progress of automation in clinical laboratory diagnostics. We evaluated the film condition, for example the number of smudge cells and WBC differential ratio, using the Automated Hematology Slide Preparation Unit “SP-1000i”. A comparison of SP-1000i method with manual method showed no significant differences in the number of smudge cells. However, the number of smudge cells of SP-1000i method is larger than that of the manual method in some chronic lymphocytic leukemia sample. And excellent correlation results of WBC differential ratio were obtained between SP-1000i method and manual method.

Key Words Performance Evaluation, Automated Hematology Slide Preparation Unit, SP-1000i.
