

液状トロンビン試薬トロンボチェック・Fib(L)の基礎的検討

黒田 哲平*1, 下村 大樹*2, 前川 芳明*2

*1 天理医学技術学校：天理市別所町80番地の1(〒632-0018)

*2 天理よろづ相談所病院

SUMMARY

Coagrex-800 (シスメックス社) を用い、液状のトロンビン試薬であるトロンボチェック・Fib (L) (シスメックス社) の基礎的検討を行った。再現性・干渉物質の影響・従来試薬との相関において良好な結果が得られた。試薬の安定性試験においては、従来試薬よりも安定した結果が得られた。希釈直線性試験では50 ~ 700mg/dLと広い直線性が得られ、従来試薬と比べて再検率が大幅に減少することが示唆された。これらの検討結果より、トロンボチェック・Fib (L) はルーチン検査に有用であると考えられた。

Key Words トロンボチェック・Fib (L), 液状トロンビン試薬, Coagrex-800

緒言

フィブリノゲン測定はフィブリン形成に關与する急性期反応性蛋白で炎症、肝実質障害の把握、播種性血管内凝固 (disseminated intravascular coagulation; DIC) の診断において重要な検査である¹⁾。

血漿中のフィブリノゲン測定は、トロンビン試薬を用いてフィブリノゲンの凝固能を利用するトロンビン時間法が一般的に行われている²⁾。従来、トロンビン試薬は凍結乾燥品が主流であったが、近年、液状のトロンビン試薬であるトロンボチェック・Fib (L) (シスメックス社) が開発され³⁾、基礎的検討を行ったので以下に報告する。

2. 試薬・測定機器

1) トロンビン試薬

トロンボチェック・Fib (L) (シスメックス社、液状、以下TFLと略す)

データファイ・フィブリノゲン (DADE BEHRING社、凍結乾燥品、以下DFと略す)

2) 共存物質

・干渉チェックA・プラス (シスメックス社)

・ノボヘパリン (アベンティスファーマ社)

3) 測定機器

全自動血液凝固測定装置 Coagrex-800 (シスメックス社)

対象および試薬・測定機器

1. 対象

当院にて凝固検査が依頼された患者および職員の3.13%クエン酸ナトリウム加血漿を用いた。

方法

1. 再現性

同時再現性は低値異常域、正常域、および高値異常域血漿 (約100 ~ 630mg/dL) を用いて7回測定した。

日差再現性は低値異常域と正常域血漿（約 120 ~ 300mg/dL）を用いて9日間測定した。

2. 共存物質の影響

干渉チェック・Aプラスを用いて、ビリルビン-F, ビリルビン-C, 溶血ヘモグロビン, 乳びについて検討した。さらに, ノボヘパリンを用いて未分画ヘパリンの影響について調べた。

3. 試薬の安定性

トロンビン試薬を開栓後, Coagrex-800の試薬保冷库に設置した状態で, 正常域と低値異常域血漿を15日間測定し, TFLとDFとを比較した。

4. 希釈直線性

正常域と高値異常域血漿を, 各々10段階希釈した血漿を測定し, 従来試薬であるDFと比較した。

5. 従来試薬との相関性

患者検体 (n=40) を用いて従来試薬であるDFとの相関を検討した。

結果

1. 再現性

同時再現性の検討結果は, 平均値 ± SD (mg/dL), CV (%) が, 低値異常域で 106.3 ± 4.2 , 3.91, 正常域で 266.3 ± 4.0 , 1.5, 高値異常域で 625.3 ± 12.9 , 2.1 と良好であった。

日差再現性については, 低値異常域が 118.8 ± 7.1 , 5.9, 正常域が 297.4 ± 17.9 , 6.0 と良好であった。

2. 共存物質の影響

ビリルビン・F 19.1mg/dL, ビリルビン・C 19.6mg/dL, 溶血ヘモグロビン 484mg/dL, 乳び 2130ホルマジン濁度および未分画ヘパリン 1.0IU/mL まで測定値への影響は認めなかった。

3. 試薬の安定性

TFL, DFともに開栓後日数が経過するに従い, フィブリノゲン値は低下傾向を認めた (図1)。しか

し, 正常域血漿における1日目と7日目の測定値を比較すると, DFは22.0%低下したのに対し, TFLは5.9%の低下にとどまり, DFに比べ安定した結果が得られた。

4. 希釈直線性

低濃度域はTFLが50mg/dL, DFが70mg/dLまで, 高濃度域はTFLが700mg/dL, DFが550mg/dLまで直線性が認められ, TFLはDFに比べ広範囲な直線性が得られた (図2)。

一般的にフィブリノゲン定量の初検査は, 血漿を緩衝液にて10倍希釈した検体を測定し, 直線域を外れた検査は再検査が行われる。再検査の頻度 (再検査率) は直線域の範囲により異なる。そのため, TFLとDFの直線性の違いによる再検査率への影響を調べた。6ヵ月間にフィブリノゲン値の依頼があった3803検体の測定値を用いて, 各試薬の再検査率を求めた。その結果, DFでは再検査率が11.8%であるのに対し, TFLは2.6%となり, 再検査率が大幅に減少することが示唆された (図3)。

5. 従来試薬との相関性

DF(x)とTFL(y)の相関は $r=0.997$, $y=0.979x + 8.063$ と高い相関性を示した (図4)。

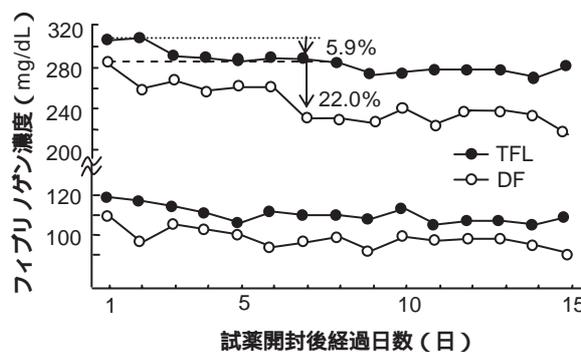


図1. 試薬の安定性

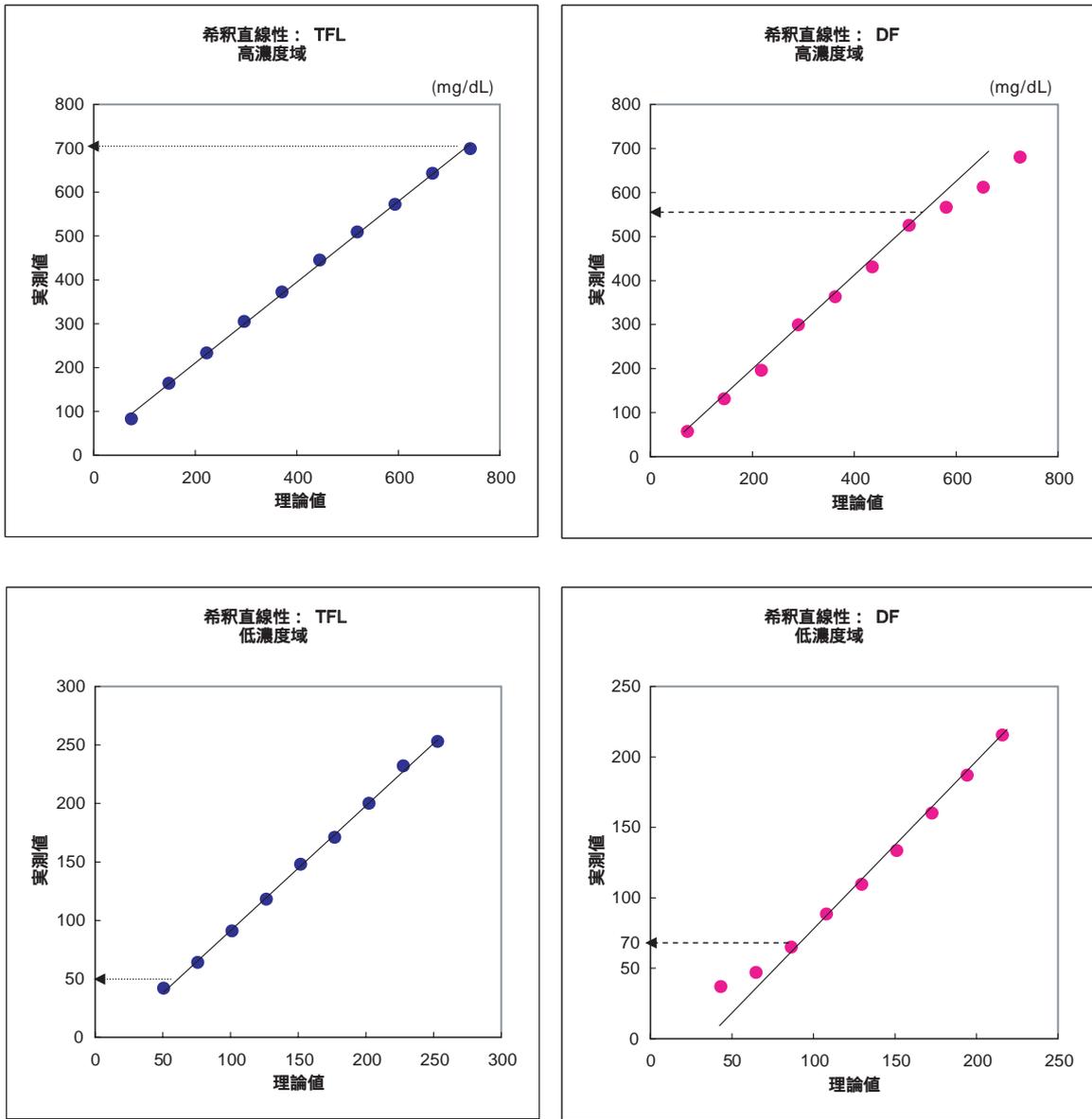


図2. 希釈直線性

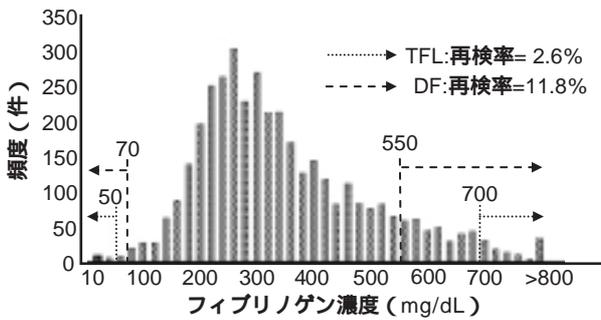


図3. 6ヵ月間のフィブリノゲン値のヒストグラム

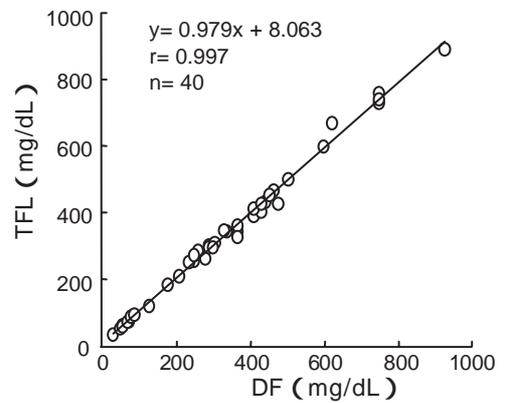


図4. 従来試薬との相関性

考 察

フィブリノゲンは一般に700mg/dL以上の高値になると血栓傾向が出現し、心筋梗塞、脳梗塞のリスクファクターの一つになると考えられており、また、60mg/dL以下の低値になると出血傾向が出現するため、正確かつ迅速性が求められる検査である⁴⁾。

TFLの基礎的検討は、再現性、共存物質の影響については良好であり、従来試薬であるDFと高い相関性を認めた。

試薬の安定性においては凍結乾燥品であるDFに比べ安定した結果が得られた。今回の検討は、機器に設置したまま24時間開栓した状態で測定したが、ルーチン運用の条件であれば、さらに安定性は向上するものと考えられた。

直線性について、TFLはDFに比べ広範囲な結果が得られた。特に、高濃度域において700mg/dLまで直線性が認められた意義は大きい。図3に示したヒストグラムからわかるように、ルーチン検体においてフィブリノゲン値は低濃度域よりも高濃度域が圧倒的に多く、DFの上限である550mg/dLからTFLの上限である700mg/dLの範囲は全体の9.0%を占める。これは、TFLを用いることによって再検率が大幅に減少することを示唆し、フィブリノゲン測定の省力化や試薬コストの軽減につながると考えられた。

結 語

液状トロンビン試薬であるトロンボチェック・Fib(L)は従来試薬であるデータファイ・フィブリノゲンと高い相関性を認めた。さらに、試薬の安定性が増し、直線性が広がったことより、フィブリノゲンの測定が省力化できると考えられた。

参考文献

- 1) 岡村啓子：スタンダード検査血液学，139，医歯薬出版，2003。
- 2) 松野一彦：血液検査の標準化の問題点，日本検査血液学会雑誌. 4 (3) : 322 ~ 330, 2003。
- 3) 菊川紀弘，奥田昌宏，他：液状トロンビン試薬の開発，医学検査. 50 (4) : 595, 2001。
- 4) 藤巻道男，福武勝幸編：血液凝固検査ハンドブック，第2版，183 ~ 189，宇宙堂八本書店，1992。

The Fundamental Study of Fibrinogen Reagent “Thrombocheck Fib (L)”

Teppei KURODA^{*1}, Taiki SHIMOMURA^{*2}, and Yoshiaki MAEKAWA^{*2}

^{*1}Tenri School of Medical Technology : 80-1, Bessho-cho, Tenri, Nara 632-0018

^{*2}Department of Clinical Pathology of Tenri Hospital

SUMMARY

The basic performance of liquid type thrombin reagent, “Thrombocheck Fib (L)”, was evaluated using “Coagrex-800”. The performance for reproductivity and interference of coexistence materials in plasma was excellent. In the examination of stability, it showed the better result than the conventional reagent. Moreover, it was found that reexamination rate might reduce since “Thrombocheck Fib (L)” had wide linearity from 50mg/dL to 700mg/dL. These results show that “Thrombocheck Fib (L)” is useful for routine test of fibrinogen.

Key Words Thrombocheck Fib (L), Liquid Thrombin Reagent, Coagrex-800
