

多項目自動血球計数装置 pocH-100iV Diff の概要

シスメックス株式会社 診断システム開発本部 診断システム基盤開発グループ
白石 順一, 松本 英彬, 平山 英樹, 長井 孝明

はじめに

近年、動物病院では自動血球計数装置が普及しているが、白血球分画は顕微鏡による目視に委ねられている。自動血球計数装置 pocH-100iV (以下、pocH-100iV) は発売から約2年半が経ち、お客様から高い評価を受けているが、お客様の間ではかねてより CBC (Complete Blood Count) 8項目だけでなく、白血球分画も同時にできる血球計数装置を強く要望されていた。我々はこの様なお客様の要望に応えるべく、CBC 8項目と同時に白血球分画のスクリーニングができる自動血球計数装置 pocH-100iV Diff (以下、pocH-100iV Diff) と、その専用の白血球分画用溶血剤 pocH-pack LVDを開発した。今回、その機能および性能について紹介する。

pocH-100iV Diff の仕様

pocH-100iV Diffの形状・寸法・機構部は、pocH-100iVと全く同じであるが(図1)、pocH-100iVの基本性能に加えて、新規溶血剤である pocH-pack LVD を使用して、イヌ・ネコの白血球を「リンパ球」と「好酸球」および「その他の白血球」の3分画に、ウ



図1. pocH-100iV Diff 外観

シ白血球を「リンパ球」と「その他の白血球」の2分画に分けることができるのが大きな特徴である。また、農林水産省の認可を受けたイヌ・ネコ・ウシ以外に研究用として最大13種の動物を任意に測定するための測定条件設定モード (OTHERモード) を持っている。表1に pocH-100iV Diffの仕様 (pocH-100iVとの相違点は太字) の概略を示す。

pocH-100iV Diff の新機能

pocH-100iV Diffには pocH-100iV にはない、新たな機能が搭載されている。

1. 白血球分画

一般的に血球計数装置で白血球数を測定する場合には、混在する赤血球を溶血剤で破壊 (溶血) して残った白血球を測定するが、溶血剤は赤血球膜を破壊するだけでなく、白血球にも作用し白血球を収縮させる。収縮の程度は膜の性状・核の形状や大きさ・顆粒の大きさや密度により異なると考えられ、溶血剤組成を工夫することで白血球を大きさ別に分画することができる。pocH-pack LVDは pocH-100iV Diff用に4級アンモニウム塩を主成分とした専用溶血剤として開発された新製品である。イヌ・ネコ・ウシの基本的な粒度分布を図2に示す。

2. 動物種の変更

pocH-100iVでは動物種を選択を間違えて測定してしまった場合、あらためて動物種を選択し直して再測定しなければならなかったが、pocH-100iV Diffでは再測定することなく、正しい動物種モードを選択して再計算することができる。動物種を変更した場合の印字用紙には「Manual Ana.」[S]が印字される(図3)。

表1. pocH-100iV Diff の仕様

周囲温度, 相対湿度	使用時	周囲温度は 15 ~ 30 (最適仕様温度 23) の範囲内で使用してください。 相対湿度は 30% ~ 85% の範囲内で使用してください。	
	保管時 (輸送時)	温度: -10 ~ 60 相対湿度: 95% 以下 (結露しないこと) (ただし, 水抜き操作を行っていることが条件です。)	
装置本体	幅	185mm	
	奥行き	460mm	
	高さ	350mm	
	重量	約14kg	
電源	AC100 ~ 240V (50/60Hz)		
消費電力	150VA以下		
測定項目	WBC (白血球数), RBC (赤血球数), HGB (血色素量), HCT (ヘマトクリット値), MCV (平均赤血球容積), MCH (平均赤血球血色素量), MCHC (平均赤血球血色素濃度), PLT (血小板数)		
解析項目	イヌモード	RDW-SD (赤血球分布幅-SD), RDW-CV (赤血球分布幅-CV), PDW (血小板分布幅), MPV (平均血小板容積), P-LCR (大型血小板比率), EO% (好酸球比率), OTHR% (リンパ球及び好酸球以外の白血球比率), LYM% (リンパ球比率), EO# (好酸球数), OTHR# (リンパ球及び好酸球以外の白血球数), LYM# (リンパ球数)	
	ネコモード	RDW-SD (赤血球分布幅-SD), RDW-CV (赤血球分布幅-CV), EO% (好酸球比率), OTHR% (リンパ球及び好酸球以外の白血球比率), LYM% (リンパ球比率), EO# (好酸球数), OTHR# (リンパ球及び好酸球以外の白血球数), LYM# (リンパ球数)	
	ウシモード	RDW-SD (赤血球分布幅-SD), RDW-CV (赤血球分布幅-CV), PDW (血小板分布幅), MPV (平均血小板容積), P-LCR (大型血小板比率), OTHR% (リンパ球以外の白血球比率), LYM% (リンパ球比率), OTHR# (リンパ球以外の白血球数), LYM# (リンパ球数)	
	OTHER モード	RDW-SD (赤血球分布幅-SD), RDW-CV (赤血球分布幅-CV), PDW (血小板分布幅), MPV (平均血小板容積), P-LCR (大型血小板比率), W-LCR (大型白血球比率), W-MCR (中型白血球比率), W-SCR (小型白血球比率), W-LCC (大型白血球数), W-MCC (中型白血球数), W-SCC (小型白血球数)	
表示範囲	WBC	0 ~ 9999 ($\times 10^2/\mu\text{L}$)	
	RBC	0 ~ 9999 ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	
	HGB	0.0 ~ 999.9 (g/dL)	
	PLT	0.0 ~ 999.9 ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	
許容ブランク値	WBC	3 ($\times 10^2/\mu\text{L}$) 以下	
	RBC	2 ($\times 10^4/\mu\text{L}$) 以下	
	HGB	0.1 (g/dL) 以下	
	PLT	1 ($\times 10^4/\mu\text{L}$) 以下	
測定時間	約 125 秒 (測定開始から測定結果表示まで)		
測定原理	WBC:	DC検出法	
	RBC/PLT:	シーフローDC検出法	
	HGB:	ノンシアンHGB測定法	
必要となる温度補償量	約 512 BTU/h (130kcal/h)		
電気ショックに対する保護の方法による分類	型機器		
EMC性能	IEC61326-1 に準拠 (クラスB, グループ1, 工業環境)		
安全性	IEC61010-1 に準拠 (過電圧カテゴリ , 汚染度2, 可搬型機器)		
精度 (信頼水準95%で右記の範囲以内です。)	WBC	($40 \times 10^2/\mu\text{L}$ 以上)	3.5%以下
	RBC	($300 \times 10^4/\mu\text{L}$ 以上)	2.0%以下
	HGB		2.0%以下
	HCT		2.0%以下
	MCV		2.0%以下
	MCH		2.0%以下
	MCHC		2.0%以下
	PLT	($10 \times 10^4/\mu\text{L}$ 以上)	10.0%以下
		(イヌ血またはウシ血の測定時)	
	PLT	($10 \times 10^4/\mu\text{L}$ 以上)	30.0%以下
		(ネコ血の測定時)	
LYM#		30.0%以下	
OTHR#		15.0%以下	
EO#	($0.2 \times 10^3/\mu\text{L}$ 以上)	50.0%以下	

表1. pocH-100iV Diff の仕様【続き】

精度 (信頼水準95%で右記の範囲以内です。)	LYM% (LYM15%以上) OTHR% 15.0%以下 EO% (EO2%以上) RDW-SD RDW-CV RDW (イヌ血またはウシ血の測定時) MPV (イヌ血またはウシ血の測定時) P-LCR (イヌ血またはウシ血の測定時)	30.0%以下 50.0%以下 4.0%以下 6.0%以下 12.0%以下 5.0%以下 20.0%以下
直線性	WBC (RBC < 700 × 10 ⁴ /μL) (イヌ血またはウシ血の測定時) WBC (RBC < 700 × 10 ⁴ /μL) (ネコ血の測定時) RBC HGB HCT PLT (RBC < 700 × 10 ⁴ /μL)	10 ~ 999 (× 10 ² /μL) ± 3 (× 10 ² /μL) 以内または ± 5% 以内 10 ~ 750 (× 10 ² /μL) ± 3 (× 10 ² /μL) 以内または ± 5% 以内 30 ~ 1300 (× 10 ⁴ /μL) ± 3 (× 10 ⁴ /μL) 以内または ± 5% 以内 0.1 ~ 25.0 (g/dL) ± 0.2 (g/dL) 以内または ± 5% 以内 10.0 ~ 60.0 (HCT%) ± 1 (HCT%) 以内または ± 5% 以内 1.0 ~ 120.0 (× 10 ⁴ /μL) ± 1.0 (× 10 ⁴ /μL) 以内または ± 10% 以内
キャリーオーバー	WBC 3%以下 RBC 1.5%以下 HGB 1.5%以下 HCT 1.5%以下 PLT 5%以下	
試薬, 洗浄剤, コントロール血液	試薬: pocH-pack D, pocH-pack LVD 洗浄剤: セルクリーン コントロール血液: エイトチェック-3WP	
吸引血液量	約15 μL	
試薬1ボトルあたりの 測定回数	pocH-pack D : 約30回 pocH-pack LVD : 約235回 (1日の測定回数が10回の場合。ブランクチェック, シャットダウン等を含む。)	

3. 手動再解析機能

血球を自動的に分画するためには各群が山・谷で明確に分画されなければならないが、**図4**に示すように粒度分布が単峰性で山・谷が明確でない場合は、分画不能となり「- - -」が印字される。分画不能でディスクリ値の自動設定ができなかった場合や、ディスクリ値の自動設定が適切でない場合は適正と思われる位置にディスクリ値を変更して再解析することができる(**図5**)。ディスクリ値を変更した時の印字用紙には「Manual Ana .」とその項目[W], [R], [P]が印字される(**図5**)。

4. 研究用「OTHERモード」

研究目的としてイヌ・ネコ・ウシ以外の動物血を測定する場合は「OTHERモード」で任意に最大13種の動物の測定条件を登録する事ができる。「OTHERモード」で初めて測定した場合、白血球の粒度分布のディスクリ値は3分画に初期設定されているので、動物種により2分画に手動設定して使用する(**図6**)。また、「OTHERモード」で測定した場合は「- RESEARCH -」が印字される(**図6**)。

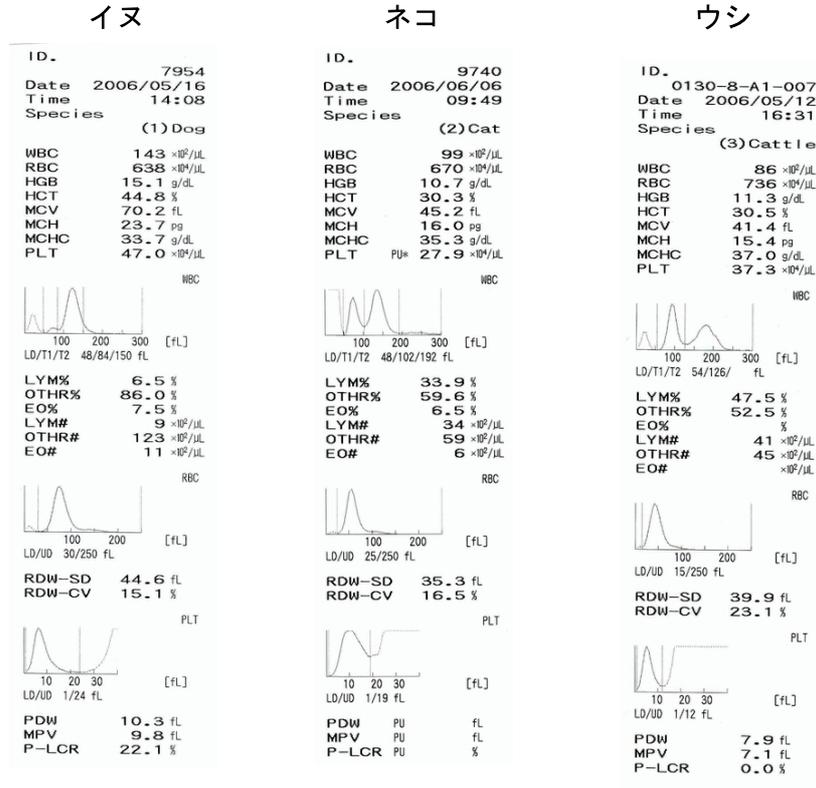


図2. 基本粒度分布

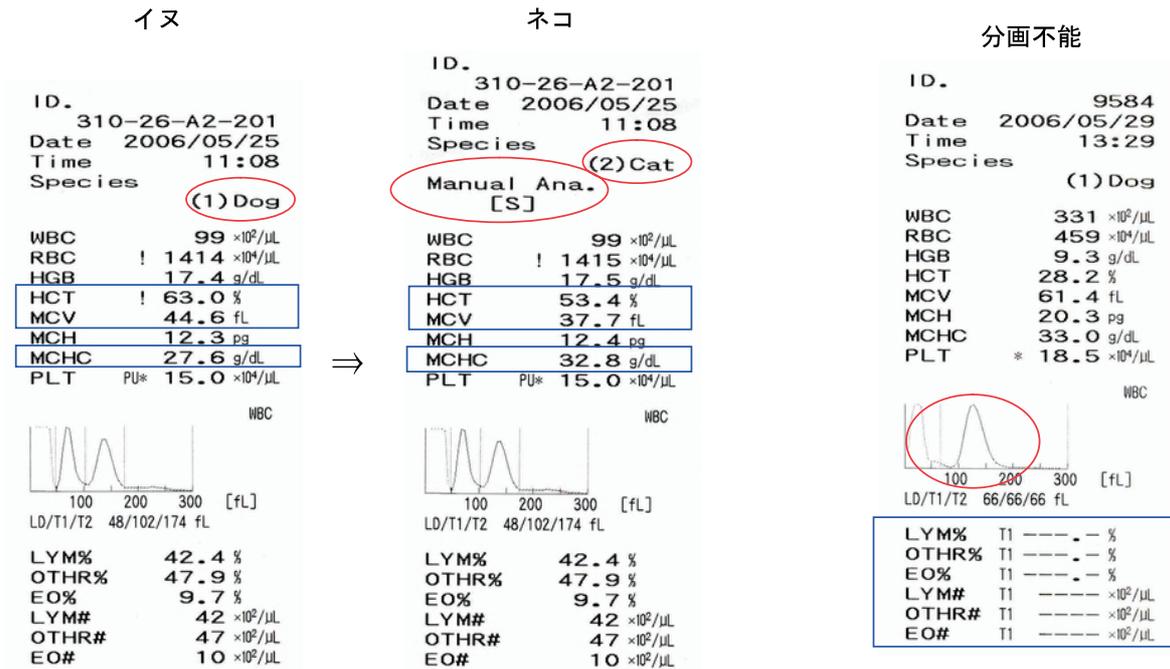


図3. 動物種の変更

図4. 分画不能検体

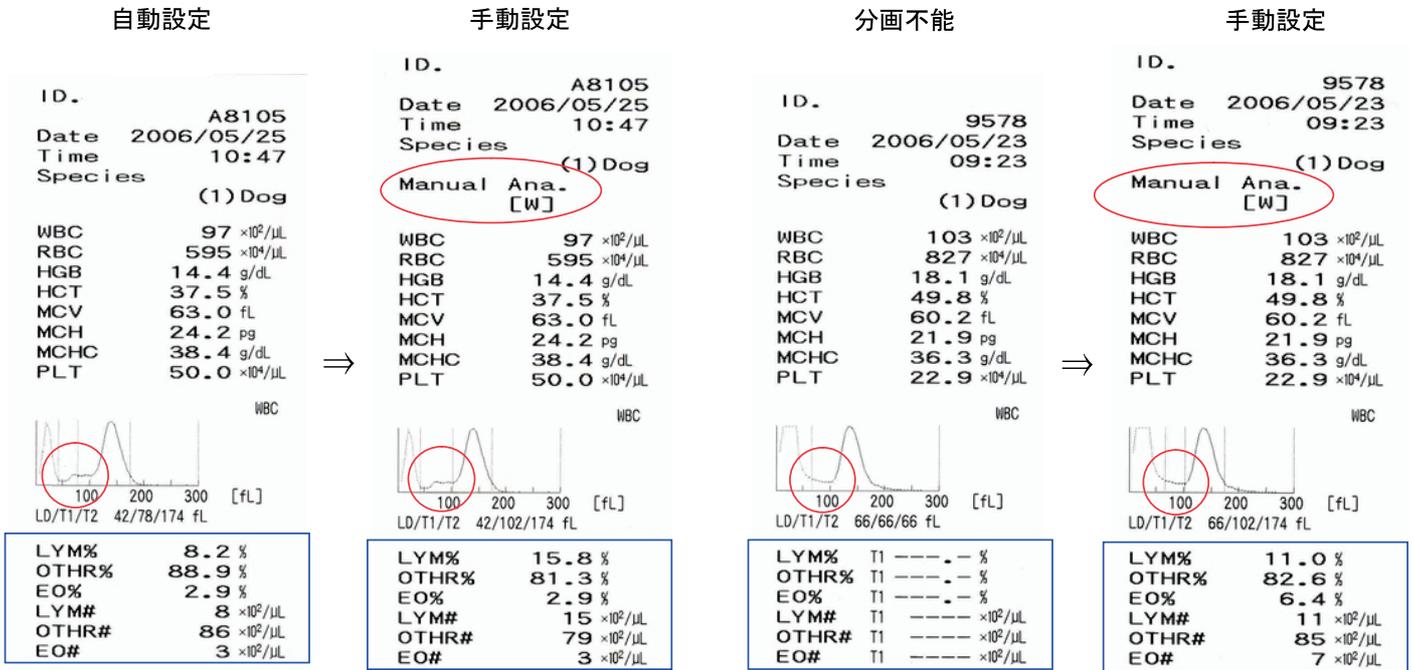


図5. 手動解析

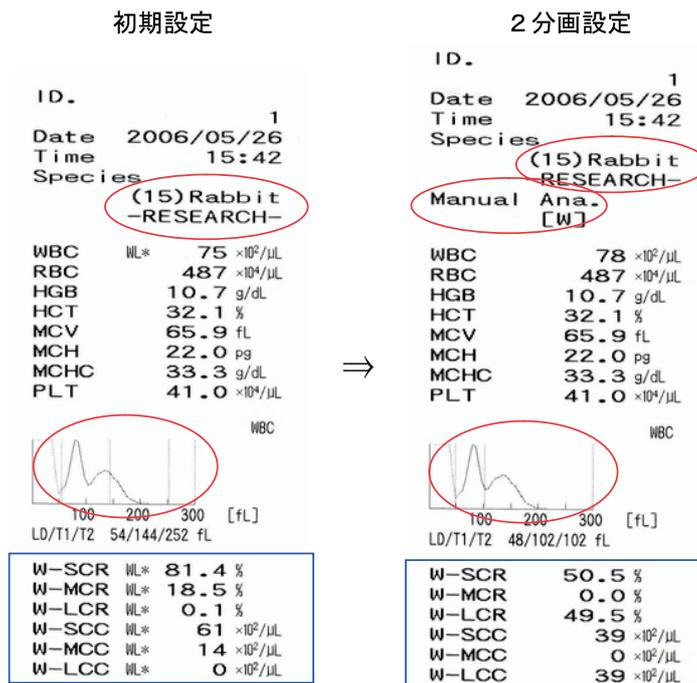


図6. 研究用「OTHERモード」

5. 測定値異常と粒度分布異常フラッグ

pocH-100iVならびにpocH-100iV Diffは測定値だけでなく、白血球・赤血球・血小板それぞれの粒度分布から多くの検体情報が得られるので、粒度分布のパターンを熟知していれば測定結果を正しく評価し、病態診断の補助に役立てることができる。粒度分布を読む習慣を付けることが大事であり pocH-100iV Diffを使いこなす秘訣でもある。表2に各種フラッグとその意味を示す。

白血球分画性能

1. 再現性

粒度分布は測定ごとに微妙に異なり、分画再現性に影響を及ぼす。イヌ・ネコ・ウシ各3検体の連続測定における分画再現性を表3に示す。変動係数はイヌで12.8%、ネコで10.9%が最大であった。しかし、血小板凝集は白血球の粒度分布に大きく影響し再現性を悪くすることがあるので、採血には十分注意する必要がある。ウシの変動係数は最大で4.0%であり、良好な再現性を示した。

2. 経時変化

抗凝固剤としてEDTA-2Kを用いて採血したイヌ・

ネコ・ウシ血を、採血後24時間まで室温で放置した時の白血球分画値(%)の経時変化を図7に示す。イヌ・ネコのリンパ球分画値は若干減少傾向を示し、イヌの好酸球は上昇傾向が見られた。ウシはほとんど変化が見られなかった。

3. 相関

イヌ・ネコ・ウシの白血球分画の目視法との相関を図8に示す。nの分子が自動分画された検体数で、分母が総測定検体数を表す。イヌ・ネコ・ウシのリンパ球は目視法とよく相関するが、イヌ・ネコの好酸球は絶対数が少ないこともあり、相関係数はリンパ球と比べて悪くなっている。ネコ相関における乖離検体は図9 a~fに示すように、図2の基本粒度分布と比べてLDの谷(○)が異常に高くなっており、血小板凝集が強く疑われる。その結果、小さな血小板凝集塊の場合はリンパ球が高値、その他白血球が低値となり、大きな血小板凝集塊がある時は好酸球が高値となったものと推察される(○)。また、イヌの好酸球はネコと比べて粒度分布上に山・谷が出にくいために、目視値5%以下で pocH-100iV Diffの測定値が高めに出る検体がある。

表2. 粒度分布情報

	フラッグ	説明	考えられる検体情報
白血球系	WL	WBC-LDの相対度数が規定値を超えた	溶血不良、有核赤血球の出現、大型血小板の増加、血小板凝集、フィブリンの析出、クリオグロブリンまたは脂質の存在等
	WU	WBC-UDの相対度数が規定値を超えた	溶血不良、幼若白血球の出現、白血球の凝集、血小板衛星現象等
	T1	T1ディスクリの位置が決定できない	幼若白血球の出現、溶血不良、経時検体等
	T2	T2ディスクリの位置が決定できない	幼若白血球の出現、溶血不良、経時検体等
	F1	T1の相対度数が規定値を超えた	幼若白血球の出現、溶血不良、経時検体等
	F2	T1またはT2の相対度数が規定値を超えた	幼若白血球の出現、溶血不良、経時検体等
	F3	T2の相対度数が規定値を超えた	幼若白血球の出現、溶血不良、経時検体等
赤血球系	RL	RBC-LDの相対度数が規定値を超えた	破碎赤血球の出現、大型血小板の増加、血小板凝集等
	RU	RBC-UDの相対度数が規定値を超えた	赤血球の凝集、白血球の混入等
	DW(RBC)	分布幅が算出できない	赤血球の大小不同が著しい等
	MP(RBC)	2つ以上のピークがある	貧血の治療、輸血などの影響で、複数サイズの細胞群が出現等
血小板系	PL	PLT-LDの相対度数が規定値を超えた	クリオグロブリン、破碎赤血球、白血球細胞質の破片等の影響、小型血小板の出現等
	PU	PLT-UDの相対度数が規定値を超えた	大型血小板の増加、破碎赤血球の混入、クリオグロブリン、小型赤血球の混入、血小板の凝集等
	DW(PLT)	分布幅が算出できない	破碎赤血球の混入、血小板の大小不同、クリオグロブリン等の影響、小型赤血球の混入、血小板の凝集等
	MP(PLT)	2つ以上のピークがある	血小板凝集や低値検体等

表3. 白血球分画再現性

イヌ

	LYM(%)			OTHR(%)			EO(%)		
	検体 A	検体 B	検体 C	検体 A	検体 B	検体 C	検体 A	検体 B	検体 C
1	29.1	19.3	16.7	66.8	62.9	70.0	4.1	17.8	13.3
2	28.2	20.3	17.4	67.8	65.2	69.4	4.0	14.5	13.2
3	31.0	19.1	15.0	65.3	65.6	72.3	3.7	15.3	12.7
4	28.7	18.4	15.1	67.3	65.5	71.9	4.0	16.1	13.0
5	31.1	22.9	17.2	64.9	58.5	72.2	4.0	18.6	10.6
6	30.3	18.8	18.1	66.6	61.9	68.8	3.1	19.3	13.1
7	29.0	19.4	20.7	67.0	64.3	68.7	4.0	16.3	10.6
8	31.0	22.0	18.6	64.7	61.3	71.7	4.3	16.7	9.7
9	29.9	26.9	18.8	66.8	53.7	70.4	3.3	19.4	10.8
10	29.4	23.1	18.6	67.0	59.2	71.0	3.6	17.7	10.4
平均	29.8	21.0	17.6	66.4	61.8	70.6	3.8	17.2	11.7
標準偏差	1.0	2.7	1.7	1.1	3.8	1.4	0.4	1.7	1.4
変動係数	3.5	12.8	9.9	1.6	6.2	2.0	9.9	9.7	12.2

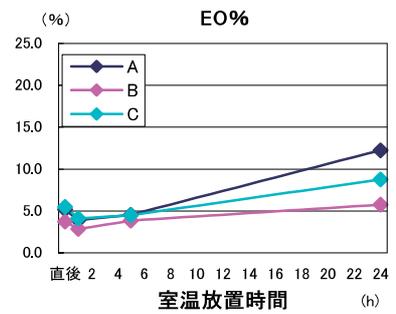
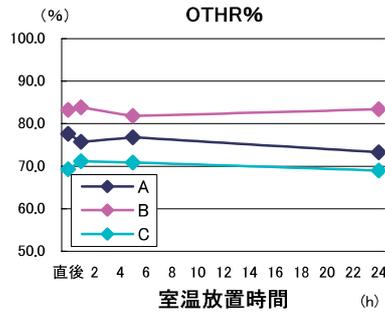
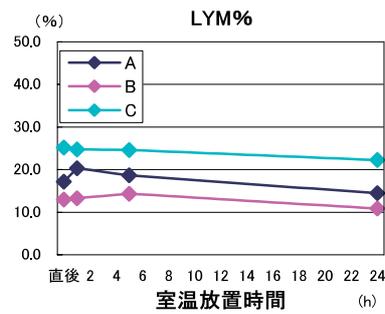
ネコ

	LYM(%)			OTHR(%)			EO(%)		
	検体 A	検体 B	検体 C	検体 A	検体 B	検体 C	検体 A	検体 B	検体 C
1	42.3	13.5	33.8	53.0	66.4	57.6	4.7	20.1	8.6
2	44.7	14.2	34.7	50.9	66.7	56.7	4.4	19.1	8.6
3	44.8	11.8	32.9	50.9	69.6	58.0	4.3	18.6	9.1
4	41.4	15.5	33.7	53.7	66.2	56.9	4.9	18.3	9.4
5	44.4	16.2	34.5	51.1	64.0	56.1	4.5	19.8	9.4
6	45.6	15.4	33.2	50.2	65.3	57.9	4.2	19.3	8.9
7	45.0	16.8	34.3	50.8	65.0	57.2	4.2	18.2	8.5
8	42.9	15.5	32.5	51.5	65.9	59.8	5.6	18.6	7.7
9	44.2	14.8	33.9	51.5	67.5	56.9	4.3	17.7	9.2
10	45.0	13.2	33.3	51.2	67.5	58.1	3.8	19.3	8.6
平均	44.0	14.7	33.7	51.5	66.4	57.5	4.5	18.9	8.8
標準偏差	1.4	1.5	0.7	1.1	1.6	1.0	0.5	0.8	0.5
変動係数	3.1	10.3	2.1	2.1	2.4	1.8	10.9	4.0	5.9

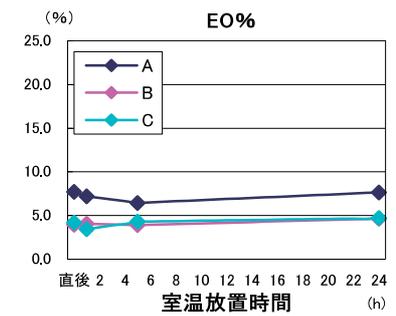
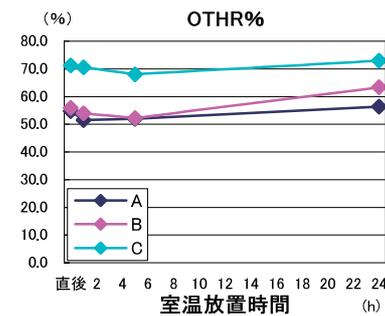
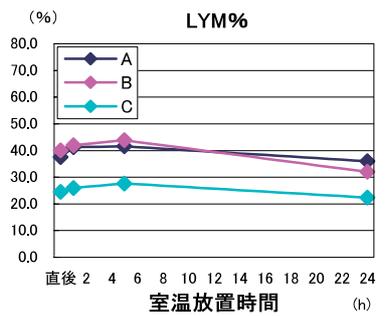
ウシ

	LYM(%)			OTHR(%)		
	検体 A	検体 B	検体 C	検体 A	検体 B	検体 C
1	40.9	31.4	48.8	59.1	68.6	51.2
2	40.4	29.5	48.0	59.6	70.5	52.0
3	39.4	30.2	51.0	60.6	69.8	49.0
4	42.4	28.3	50.7	57.6	71.7	49.3
5	40.4	29.9	48.3	59.6	70.1	51.7
6	42.9	32.1	51.1	57.1	67.9	48.9
7	44.0	31.0	49.8	56.0	69.0	50.2
8	44.5	30.9	48.7	55.5	69.1	51.3
9	43.1	32.0	50.7	56.9	68.0	49.3
10	41.6	31.7	47.9	58.4	68.3	52.1
平均	42.0	30.7	49.5	58.0	69.3	50.5
標準偏差	1.7	1.2	1.3	1.7	1.2	1.3
変動係数	4.0	4.0	2.6	2.9	1.8	2.6

イヌ



ネコ



ウシ

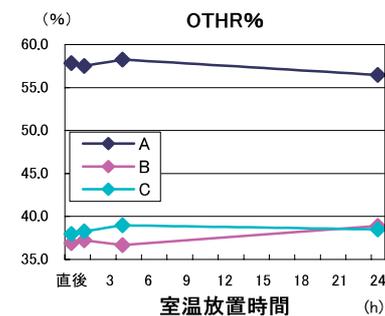
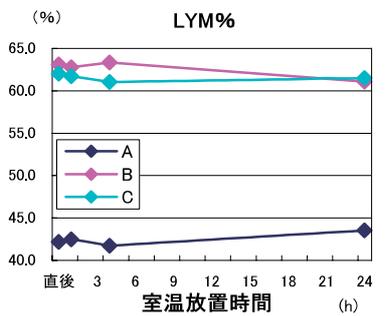


図7. 白血球分画の経時変化

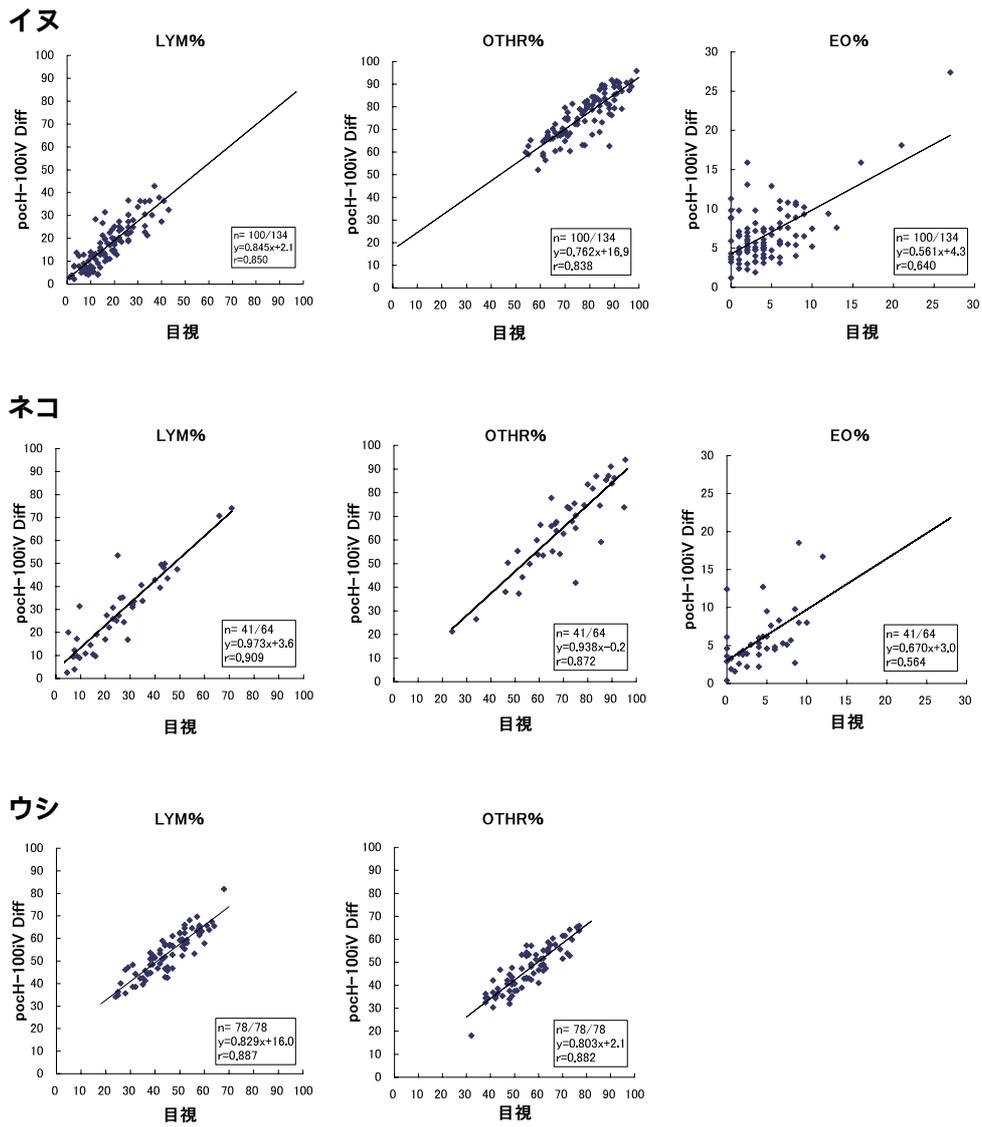


図8. 白血球分画相関図

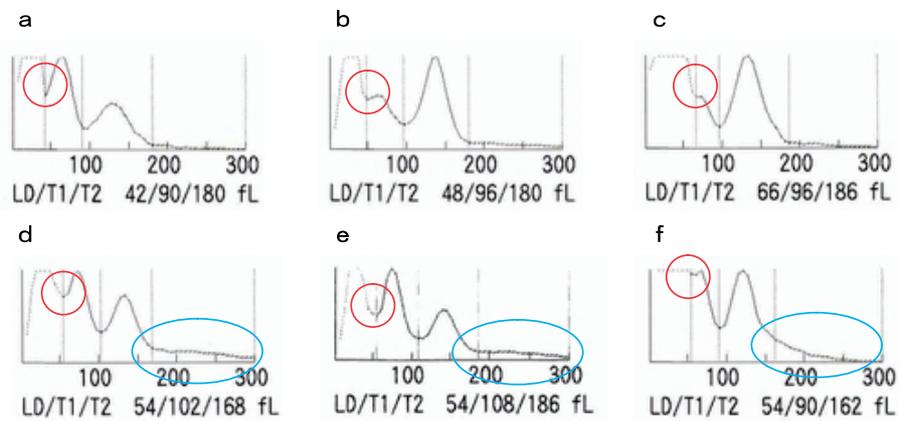


図9. ネコ乖離検体

おわりに

今回、我々は獣医師や動物看護師の業務省力化を支援するため、血球計数だけでなく、白血球の分画もできる pocH-100iV Diff を開発し、その仕様・機能の概要と白血球分画性能について紹介した。pocH-100iV Diff は白血球分画のスクリーニング検査として十分に使用できると考えるが、基本は塗抹標本の観察であり、異常な粒度分布パターンと判断した場合には、塗抹標本で確認することが重要である。今後は分画不能検体をより少なくするために、より良いアルゴリズムを作っていきたい。

参考文献

- 1) 久末正晴：獣医療における多項目自動血球計数装置 pocH-100iV の性能評価. 動物臨床医学, Vol.13 No.3・4 : 93 ~ 98, 2004.
- 2) 白石順一, 他：多項目自動血球計数装置による各種動物血の測定. Sysmex Journal Web Vol.7 No.1, 2006.
- 3) 巽典之, 他：白血球三峰性粒度分布の測定とその意義. 臨床検査, Vol.30 : 1382 ~ 1387, 1986.
- 4) 前田宏明, 他：白血球粒度分布の臨床的応用への試み (第1報). 臨床病理, 27 : 1117 ~ 1120, 1979.
- 5) Van Dilla, M.A. et al.: Volume distribution and separation of normal human leucocytes. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 125 : 367 ~ 370, 1967.
- 6) England, J.M. et al.: Simple method for automating the differential leucocyte count. Lancet, I : 492 ~ 493, 1975.