

〈特集：凝固検査自動分析装置の現状〉

## 全自動血液凝固分析装置コアプレスタ2000の特長とその有用性 (測定原理からミキシングテストまで)

須長 宏行

### Features of new fully-automated coagulation analyzer; "COAPRESTA 2000" – From the measurement principle to the automated mixing-test for lupus anticoagulant –

Hiroyuki Sunaga

**Summary** In-vitro diagnostic medical devices (IVD) are required to meet the need for accuracy, reliability, and speed.

Those three requirements have prompted the Sekisui medical Co., Ltd., and the Shimadzu Corporation to undertake the development of a novel automated coagulation analyzer; "COAPRESTA 2000 (CP2000)".

The compactly designed CP2000 combines three types of measurements i.e., clotting time, the chromogenic, and the latex turbidimetric. The major features of the CP2000 are an analyzer is that it is equipped with a "state-of-the-art" sampling probe to fractionate 2  $\mu$  L plasma directly, and a non-condensing structure with reagent vials. Secondly an analyzer equipped with input simplification to adopt the touch panel and the QR Code system, maintenance navigation system, and 2.5-year data storage memory. And finally the analyzer comes with remarkably advanced operating ability (maximum 400 tests per hour), and shortening of a single test operating time (3 minutes or less). In addition, CP2000 includes an automated mixing-test for lupus anticoagulant.

**Key words:** Automated coagulation analyzer, Non-condensing structure, Automated mixing-test, Lupus anticoagulant, COAPRESTA control survey

#### I. はじめに

医療を取り巻く環境は年々厳しくなってきたり、正確性、信頼性のさらなる追及は当然のこと、診療前検査などに代表される様な迅速な測定も求められている。これらのニーズに対応す

べく、弊社と鳥津製作所は全自動血液凝固分析装置コアプレスタ2000 (CP2000) を開発し、2007年より発売を開始した<sup>1),2),3),4)</sup> (図1)。

CP2000は、高性能でかつ省スペース設計であり、高速処理と迅速報告を可能とし、さらにユーザーフレンドリーで簡単操作を実現した装置

積水メディカル株式会社 営業部  
〒135-0063 東京都江東区有明3-5-7,  
TOC有明イーストタワー8F

Sekisui Medical Co., Ltd.  
TOC Ariake East Tower, 2-5-7 Ariake, Koto-ku, Tokyo  
135-0063, Japan

である。

CP2000の特長として、高性能な検体プローブ（最少分注量は2 $\mu$ L）と7点まで選択可能な多点希釈機能が搭載されており、これらを用いることにより従来の分析装置では煩雑な操作を必要としたミキシングテスト（混合補正試験）の自動化の可能性を見出し、現段階ではループスアンチコアグラント（LA）のスクリーニング検査への応用が検討されている<sup>3)</sup>。

また、CP2000の精度管理を支える優れたシステムとして「コアプレスタコントロールサーベイ」がある<sup>5)</sup>。本サーベイは、合成基質項目と凝固検査項目に加えてラテックス比濁項目を追加し、血液凝固・線溶検査項目を広くカバーする全国精度管理調査として今後の充実が期待される。

## II. 凝固検査自動分析装置開発の背景

### 1) 凝固項目の自動化<sup>6)</sup>

凝固時間の測定は、PTの用手法の場合、試験管に被検血漿100 $\mu$ LとPT試薬200 $\mu$ Lを加えて凝固反応を目視で判定する。凝固反応の終末点では、フィブリノゲンからフィブリンへと変化する際に生じるフィブリンポリマーの形成（フィブリン析出）を試験管内での流動性の変化として観察することができる。しかし、目視判定には個人差が生じるため、測定値の再現性向上が課題であった。

近年、凝固項目の自動化が進み、光学的変化検出方式、力学的変化検出方式、ドライ方式な

どの自動分析装置が開発され、再現性が飛躍的に向上した。各凝固検査自動分析装置の凝固時間の測定は、フィブリン析出による濁度変化または粘性変化を独自のアルゴリズムで算出し、凝固反応の終末点を決定するというものである。

### 2) 合成基質項目とラテックス比濁項目

凝固項目の自動化とともに、合成基質項目やラテックス比濁項目は、汎用の生化学自動分析装置での自動化が推進された。このような状況の中、同じクエン酸加血液（血漿）を用いて凝



図1 コアプレスタ2000の外観  
省スペース設計（設置面積約0.47m<sup>2</sup>）のフロアタイプである。

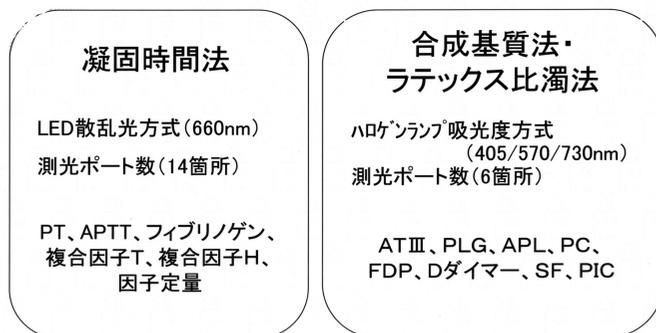


図2 測定原理  
凝固時間法、合成基質法、ラテックス比濁法の3つの測定原理に対応している。  
同時に20項目のランダムアクセスが可能である。

固項目、合成基質項目、ラテックス比濁項目の3種類の測定が可能であることから1本のクエン酸加血液（血漿）で3種類の測定ができる凝固検査自動分析装置が望まれていた。

### Ⅲ. CP2000の測定原理と特性

#### 1) 測定原理<sup>7)</sup>

CP2000の検出系は、凝固時間法（散乱光度法）、合成基質法、ラテックス比濁法の3種類の測定原理に対応している（図2）。

凝固時間法の測定原理は感度の高い散乱光度法を採用している。光源として用いる超高輝度発光ダイオード（LED）は半永久的に使用可能といわれており、医療用分析装置に組み込む光源ランプとしては、その寿命が重視されているため有用性が高い。LEDの光を反応キュベットに照射し、直角方向の散乱光（660 nm）を光検出部で受光する。凝固反応の進行に伴い散乱光の強度は増加し、凝固反応が終了すると光の強度変化がなくなる。これらの過程の変化を0.1秒毎に検出し、コンピュータで演算して凝固時間を算出する。

凝固時間の演算は、一定時間毎に積算し、隣り合う積算値の割合が一定値となった時点凝固終了点として求める。この凝固終了点の散乱光に対し、一定%の散乱光となる時間（t）を凝固時間として算出する（図3）。

合成基質法とラテックス比濁法の測定原理は吸光度法を採用している。光源として用いるハ

ロゲンランプ（405/570/730 nm）は装置内での使用時間（通電時間）が常に記録されている。この累積使用時間または電圧変化によりランプの寿命をチェックできるようになっている。

測定条件としては2ステップの測定法のみ可能で、検体をキュベットに入れてから45秒後に第1試薬を分注し、さらに、約3分後に第2試薬を分注する。吸光度の測定は、第2試薬分注後から9秒毎に、繰り返し行われ、最大約5分間の測定ができる。

#### 2) 処理能力の向上<sup>1)4)</sup>

従来装置（CR800）は、標準モード（全項目測定可能）による最大180テスト/時間と高速モード（凝固項目のみ）による最大300テスト/時間の処理速度を選択することが可能であった。ただし標準モードと高速モードの切替えにはリセット操作が必要であるため、合成基質法とラテックス比濁法を実施している施設では高速モードの使用は事実上、不可能であった。これに対し、CP2000では2つのモードを統合し、依頼項目により自動的に切替り、凝固項目の場合は最大400テスト/時間、比色項目のみの場合は最大200テスト/時間の測定が可能になった。

#### 3) 処理報告時間の短縮化<sup>1)4)</sup>

CP2000では測定開始から検体分注までの時間が約70秒に短縮され、さらに従来装置で20秒であった検体分注の間隔は、凝固項目間で9秒、他の項目間で18秒に短縮された。これにより、

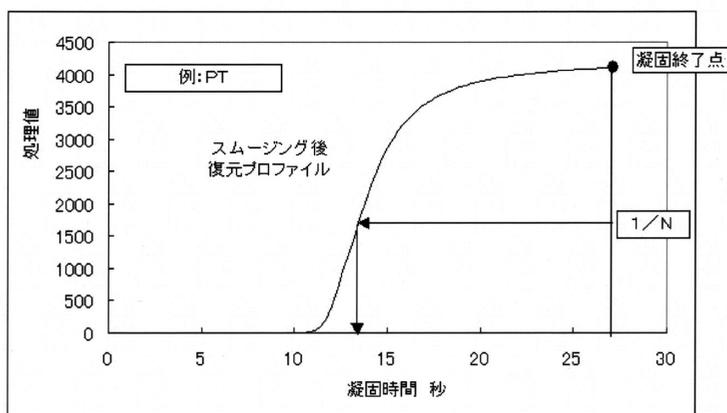


図3 凝固時間（PT）の演算

PTが1テストの場合、測定開始から結果報告までのターン・アラウンド・タイム（TAT）は3分以内、さらに、30テストの場合でも8分以内での結果報告が可能となった。これらは、西村らの検討<sup>2)</sup>でも同様の報告がされており、PTを30テスト測定の場合には従来装置より5分間短縮されることが示された。

4) 測定精度の向上<sup>3)</sup>

CP2000は汎用の生化学自動分析装置で用いられる高性能なプローブを搭載しており、微量化、迅速化に貢献し、さらにミキシングテストの自動化の可能性を見出した。検体プローブは、2  $\mu$ Lから分注でき、微量検体の迅速な分取が可能である。試薬プローブには約50℃の温水ホルダーが搭載されており、約10℃に保冷してある試薬を分取し、キュベットに分注するまでに約37℃に加温するため、分注後、キュベット内での反応がより至適条件で進むように設計されている。

5) 結露対策<sup>3)</sup>

冷却ユニット（ペルチェタイプ）は試薬保冷库外側の下部に装着されており、保冷库内全体を冷気で充填することで試薬トレイと試薬バイアルを間接的に冷却している。この結露防止構造（図4）により、試薬バイアルや試薬トレイには結露は発生せず、安定した状態で試薬を保冷することが可能となる。

また、試薬保冷库は断熱材入りのカバーで密封されているため試薬保冷库内は10℃以下に保

冷され、24時間安定した状態で試薬を使用することができる。この機能により、CP2000は従来装置同様、24時間の使用や24時間体制での継続した試薬管理を可能にした。

6) 操作の簡素化と入力エラーの排除<sup>1,3)</sup>

CP2000のディスプレイには操作が簡単なタッチパネルが採用されている。また、情報入力では従来、バーコードが用いられてきたが、情報量が多くなるとともにバーコードも長くなり、バイアルに添付できなくなるという欠点があった。この課題を解決するため大量の情報入力が可能で二次元コード（QRコード）を採用し、マルチキャリブレータやマルチコントロールの表示値の一括入力やパラメータのような、より大量の情報も簡単に入力することが出来るようになった。これにより、「キーボードレス+マウスレス」による操作が可能となり、従来の煩雑な操作に伴う情報の入力ミスの軽減を可能とした。

7) 操作ガイドの表示機能<sup>1,3)</sup>

CP2000は、メンテナンスナビ機能を搭載しており、メンテナンス実施の際に必要な操作ガイドをディスプレイに表示できるようにした。これにより画面を見ながらメンテナンス操作ができるようになった。また、メンテナンス一覧表を確認することにより、漏れの無いメンテナンススケジュールを実現できるようになった。さらに、メンテナンス記録の保存も可能であり、従来と比べメンテナンス実施時の対応が、迅速

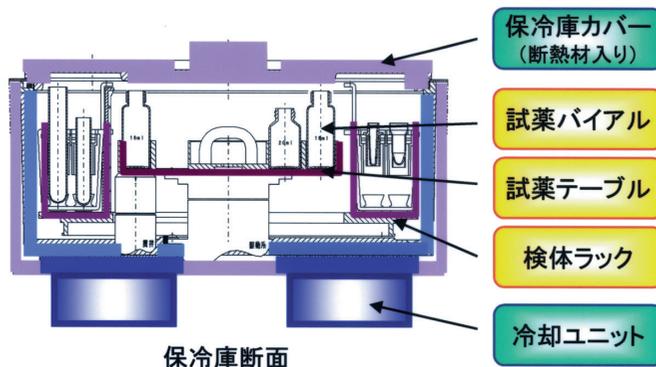


図4 結露防止構造

かつ容易になった。

8) QCデータ画面の充実

QCデータ画面と各種画面（コントロールデータ画面、キャリブレーション履歴画面）は連動しており、各画面はタグの選択で簡単に切り換えできる。そのため、コントロールデータやキャリブレーションデータの確認が瞬時にできるようになった。

QCデータ画面には、キャリブレーション実施記録、ロット変更記録、試薬交換記録、および部品交換記録が表示される。これらの記録はその詳細画面にリンクしており、データ異常時にはその原因を推測しやすくなった。以上より、QCデータ管理が容易となり、装置をより良好な状態で使用することができるようになった。

9) ボトル渡り機能と自動検量線切替機能<sup>1)3)</sup>

CP2000にはボトル渡り機能と自動検量線切替機能が搭載されている。ボトル渡り機能とは、試薬バイアルを複数本セットしておく、1本目のバイアル中の試薬がなくなると自動的に2本目のバイアルから試薬を分注する機能である。また自動検量線切替機能により、ボトル渡りの際、試薬ロットが異なる場合には、あらかじめ新しいロットのキャリブレーションを実施して

おくと、対応するロットの検量線に自動的に切り替わり、測定が継続できる。本機能により、試薬残量やロットの切り替わりを気にせずに測定ができるようになり、より効率的な試薬運用が可能となった。

また、INR検量線にてINRを算出する場合は、通常の検量線と同様、市販されているINRキャリブラント血漿を用いて検量線を作製し、そこから直接的にINRを算出する機能が搭載されている。

10) データ管理機能の向上<sup>1)3)</sup>

CP2000は装置内のデータ保存期間が2.5年間に設定されている。保存されるデータは測定データ（プロフィールを含む）、作業ログ、QCログなどである。この機能はISO15189に適合している。本機能により、大量のデータが長期間、装置内に保存可能となった。

IV. CP2000の基礎的検討<sup>2)</sup>

CP2000と従来装置（CR800）の比較は、西村らの検討<sup>2)</sup>で行なわれ、同時再現性、日差再現性、希釈直線性、検出限界、共存物質の影響、従来装置との相関、そして処理能力の比較と多岐にわたり良好な結果が得られた。これらの結

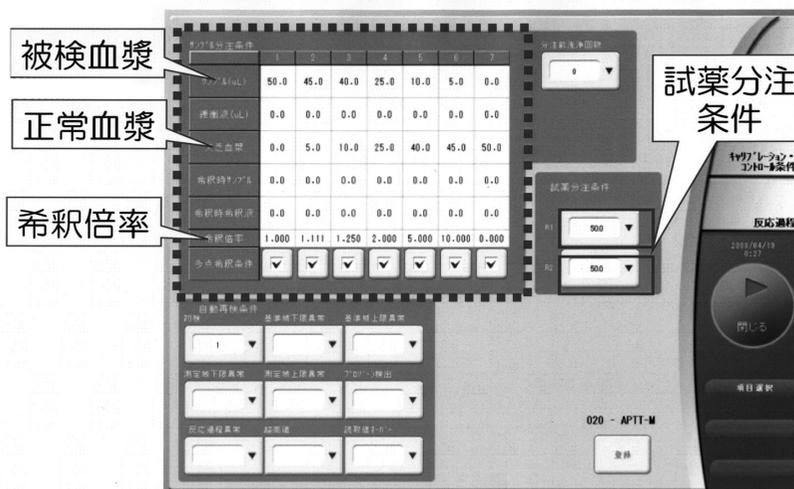


図5 多点希釈機能の条件入力画面 被検血漿と正常血漿の量（μL）を入力しておく、その条件で検体ブロープが自動的に試料を混合し、キュベットに分注する。

果より、CR800で使用できる試薬をそのままCP2000に搭載して使用可能であることが示された。

### V. CP2000の多点希釈機能<sup>9)</sup>

CP2000は、最大7点の多点希釈機能を搭載している。多点希釈機能を利用すると煩雑な混合試料（被検血漿+正常血漿）の調製はもちろん、測定結果のグラフ表示も簡単に行なえる（図5）。

ミキシングテスト<sup>8)</sup>は、PTやAPTTの延長の原因を解明するために有効な手段である。被検血漿と正常血漿は測定条件に合わせて一定の割合で混合する。これらの操作は従来、用手法で行なわれていたが、サンプルカップ内にデッドボリュームに相当する混合試料が残るため、貴重な患者血漿や正常血漿が一部無駄になっていた。

これに対し、CP2000の多点希釈機能を用いると、混合する被検血漿と正常血漿を直接キュベット内で混合するので、オペレーターは被検血漿と正常血漿をCP2000にセットするだけでミキシングテストの実施が可能となる（ただし、混合試料の長時間のインキュベーション機能は搭載されていない）。この多点希釈機能により、試料の混合のためのピペティングが不要となり、さらに、効率的な試料の運用も可能で、煩

雑さの解消や精度の向上が期待できる。

#### 1) ループスアンチコアグラント（LA）検出のためのミキシングテスト<sup>9)</sup>

一般に、LAの反応は即時型と考えられることから、測定前の混合試料のインキュベーションは必須ではない。よって、CP2000を用いたLA検出のためのミキシングテストが適用可能と考えられ、現在、検討が行なわれている<sup>10)~13)</sup>。

しかし、遅延型の凝固因子インヒビターを疑う場合には、2時間のインキュベーションが必要となるため<sup>14)~16)</sup>、この測定に対応できるようにすることが、本装置の今後の改良ポイントである。

#### 2) ミキシングテストの結果表示機能（図6）

ミキシングテストは現状では結果をグラフ化し、その形状を目視で判断する定性的な検査である。そのため、混合試料の測定結果に基づくグラフの作成が必須となる。また、横に長いグラフや縦に長いグラフでは判断しづらい。CP2000の多点希釈機能を利用した場合は、測定結果のグラフ表示も自動で行うことができる。また、その表示は形状が見やすい正方形に近いグラフを採用した。その正方形のグラフに正常血漿100%と検体100%のポイントを直線で結び、

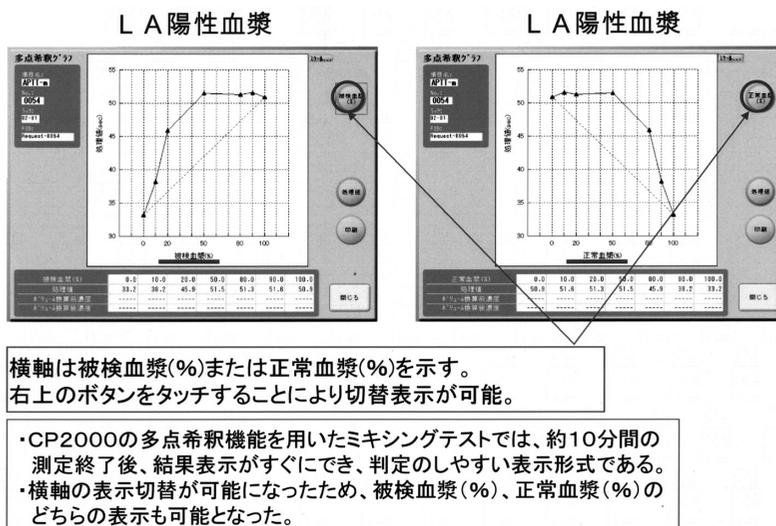


図6 ミキシングテストの結果表示

直線が斜め45度に近くなるように横軸を設定すると、「上に凸」と「下に凸」の区別が分りやすく、他のデータとの比較もしやすくなると考える。

## VI. コアプレスタコントロールサーベイ<sup>5)</sup>

CP2000本体と離れるが、「コアプレスタ」の名称を冠した全国精度管理調査「コアプレスタコントロールサーベイ」を紹介する。

弊社は、1986年より合成基質項目（アンチトロンピン、アンチプラスミン、プラスミノゲンなど）の精度管理調査を目的とした「テストチームコントロールサーベイ」を20年間にわたり実施してきた（途中、PTやAPTTなどの凝固項目を追加）。2007年にはCP2000が発売され、ラテックス比濁項目（FDPとDダイマー）を追加して、名称を「コアプレスタコントロールサーベイ」と変更した。

第2回のサーベイ参加施設数は全体で約570施設となり、ラテックス比濁項目（FDPとDダイマー）の参加施設数は300施設を超えた。このラテックス比濁項目では10種類の分析装置で参加が得られ（凝固検査自動分析装置が7機種、生化学自動分析装置が3機種、いずれもn=3以上）、そのうち、CP2000が最も多く、100施設を超えた。この約100施設のCP2000の集計結果を、3SD、2回の反復切断を行った結果、FDPのCV%が6%以下、DダイマーのCV%が5%以下と大変良好な収束結果が得られた。

## VII. まとめ

CP2000の測定原理、主な特長や基本性能、そして多点希釈機能を用いたミキシングテストについて解説した。さらに、コアプレスタコントロールサーベイについても紹介した。

このように、CP2000は多数の便利な機能を搭載しており、多くの検査室で有用であると考えられる。

### 文献

- 1) 大庭直子: 3. 血液検査機器, 2) 血液凝固線溶測定装置 コアプレスタ<sup>®</sup>2000. Medical Technology 臨時増刊, 34「最新臨床検査機器のすべて」: 1429-1423, 2006.
- 2) 西村敏治, 大西信行, 菊地美幸, 後藤文彦, 長野美恵子, 堀内 啓: 全自動血液凝固分析装置「コアプレスタ<sup>®</sup>2000」の基礎的検討. 58: 339-346, 2007.
- 3) 須長宏行: 全自動血液凝固分析装置コアプレスタ2000の有用性. '07年, 機器・試薬セミナー要旨. 日本自動化学会誌, 33: 338-340, 2008.
- 4) 小島 彩, 佐野将也, 後藤秀之, 石井 清, 西村敏治: 4種類の全自動血液凝固測定装置における測定処理時間およびAPTT試薬（6種類）の感受性についての検討. 医学と薬学, 61: 87-91, 2009.
- 5) 第2回コアプレスタコントロールサーベイ報告書. 積水メディカル株式会社, 2009.
- 6) 島津千里: 3. 血液検査機器, 2) 血液凝固線溶測定装置. Medical Technology, 臨時増刊, 34「最新臨床検査機器のすべて」: 1419-1423, 2006.
- 7) コアプレスタ2000取扱説明書. 積水メディカル株式会社.
- 8) 香川和彦: 血液凝固補正試験. 検査と技術, 34: 735-742, 2006.
- 9) 家子正裕: 日本検査血液学会編: スタンダード検査血液学（第2版）. pp170-171, 医歯薬出版株式会社, 東京, (2008)
- 10) 山本剛正, 石井 清, 堀井 隆, 三宅紀子, 大阪顯通: 演題69. 全自動血液凝固分析装置コアプレスタ2000の基礎的検討および多点希釈機能の有用性について (抄録). 日本検査血液学会誌, 9: s103, 2008.
- 11) 大平知佐子, 静 怜子, 井上まどか, 早川昌基, 天谷初夫, 村上正巳: 演題70. 多点希釈機能を用いた血液凝固補正試験の検討(抄録). 日本検査血液学会誌, 9: s103, 2008.
- 12) 内藤澄悦, 吉田美香, 西尾 仁, 中林 透, 家子正裕, 渥美達也: O-156. 全自動血液凝固分析装置コアプレスタ2000を用いた混合補正試験の検討(抄録). 臨床病理, 56: Supp 1. 171, 2008
- 13) 荒井 健, 山岡源治, 西谷真理, 寒川佳代子, 樋口孝子, 梶川達志, 北中 明, 藤田 準, 田港朝彦: O-157. 全自動血液凝固分析装置コアプレスタ2000によるミキシングテストの評価(抄録). 臨床病理, 56: Supp 1. 171, 2008.
- 14) 小宮山豊, 吉賀正亨, 高橋伯夫: PT正常でAPTT延長の症例に遭遇した場合にどうするか. 検査と技術, 36: 273-275, 2008.
- 15) 内場光浩, 下山治香, 山内露子, 安藤由喜雄: 後天性血友病が疑われたときの検査. 検査と技術, 36: 1274-1277, 2008.
- 16) 香川和彦: "臨床的"検査データのとらえ方(症例編). Medical Technology, 37: 597-600, 2009.