

〈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 COAGTRON

小田 由紀夫

The COAGTRON series of breakthrough automated haemostasis analyzers

Yukio Oda

Summary The latest high throughput haemostasis analyzers COAGTRON-180 and COAGTRON-350, have been launched in Japan. The COAGTRON may be used as a coagulation analyzer for the detection of fibrin formation, utilizing either a mechanical (ball method) or photo-optical principle. It may also be used for chromogenic kinetic enzyme analysis and latex agglutination assays. Accuracy, safety feature, easy operation, speed, and cost savings are the factors most valued in any haemostasis analyzer today. The COAGTRON will meet each of those requirements.

Here we introduce the useful features and the multi coagulation detection principle (mechanical and photo-optical principles) of the new COAGTRON.

Key words: Automated haemostasis analyzer, COAGTRON-180, COAGTRON-350, Destiny max, Destiny plus

I. はじめに

血液凝固検査において項目の測定には用手法からはじまり、検体、試薬は手で測定キュベットに分注し、測定のみを機器が行う半自動の血液凝固測定装置が用いられるようになった。その後、さらに、測定項目、測定原理の多様化に対応する為、プロトロンビン時間（以下PT）、活性化部分トロンボプラスチン時間（以下APTT）、フィブリノーゲン、複合凝固因子の測定にとどまらず、ラテックス凝集反応を用いた測定項目（D-Dimer、FDP等）および、合成基質

を用いた測定項目に対応できる全自動機器が1990年半ばより血液凝固検査の現場に導入され現在にいたっている。

PT、APTT等の血液凝固項目検査に使用される測定法は、光学的凝固点測定法と物理的凝固点測定法の2方法に大別される。

光学的凝固点測定法の原理は、試薬添加後、反応キュベット中でフィブリノーゲンがフィブリンに変化する過程を、透過光量または散乱光量を連続的に測定することにより凝固曲線を作成し、この曲線を数学的に処理し凝固点を検出する方法である。この数学的な処理方法は一次

協和メデックス株式会社 学術部 免疫グループ
〒104-6004 東京都中央区晴海1-8-10,
晴海トリトンスクエア X-4F

Kyowa Medex Co., Ltd.,
1-8-10 Harumi, Chuo-ku, Tokyo 104-6004, Japan

生物試料分析



図1 COAGTRON-180の外観



図2 COAGTRON-350の外観

表1 COAGTRON-180及びCOAGTRON-350の仕様

	COAGTRON-180	COAGTRON-350
測定モード	光学的凝固点測定法 物理的凝固点測定法 合成基質法 ラテックス凝集法	光学的凝固点測定法 物理的凝固点測定法 合成基質法 ラテックス凝集法
処理能力 PT	～180テスト/時間	～350テスト/時間
PT/APTT	～120テスト/時間	～270テスト/時間
PT/APTT/FIB	～100テスト/時間	～195テスト/時間
PT最短測定時間	3分	3分
測定波長	405 nm	340 nm 405 nm 635 nm 705 nm
キャップピアッシング	不可	可
外部通信	RS-232Cによる双方向通信	RS-232Cによる双方向通信
本体寸法	71(H)×84(W)×68(D) cm	68(H)×155(W)×75(D) cm
重量	65 kg	110 kg
定格電圧	AC 100V; 50 Hz/60 Hz	AC 100V; 50 Hz/60 Hz
消費電力	250 VA	350 VA

表2 TriniVeriCALの表示値表



TriniVeriCAL Calibration Values (Seconds)

Kit [LOT] A111201

Instrument / Reagent Combinations

[LOT]	TriniVeriCAL 1	TriniVeriCAL 2	TriniVeriCAL 3	ISI Calibrated
MDA				
TriniCLOT PT HTF (Simplastin® HTF)	12.4	25.5	45.0	1.22
TriniCLOT aPTT S (Plastelin® LI)	27.6	58.5	82.3	N/A
TriniCLOT aPTT HS (Plastelin® LS)	29.9	61.5	87.7	N/A
[LOT]	TriniVeriCAL 1	TriniVeriCAL 2	TriniVeriCAL 3	ISI Calibrated
CAM MAX				
TriniCLOT PT HTF (Simplastin® HTF)	12.4	25.5	45.0	1.22
TriniCLOT aPTT S (Plastelin® LI)	27.6	58.5	82.3	N/A
TriniCLOT aPTT HS (Plastelin® LS)	29.9	61.5	87.7	N/A
CAM MIX				
TriniCLOT PT HTF (Simplastin® HTF)	12.4	25.5	45.0	1.22
TriniCLOT aPTT S (Plastelin® LI)	27.6	58.5	82.3	N/A
TriniCLOT aPTT HS (Plastelin® LS)	29.9	61.5	87.7	N/A
DESTINY PLUS				
TriniCLOT PT HTF (Simplastin® HTF)	12.4	25.5	45.0	1.22
TriniCLOT aPTT S (Plastelin® LI)	27.6	58.5	82.3	N/A

Trinity Biotech Plc.
IDA Business Park, Bray, Co. Wicklow, Ireland
Tel : 353 1 2749900
Fax : 353 1 2749904

USA ENQUIRIES :
Trinity Biotech USA
4 Conwell Drive, Suite 7100, Berkeley Heights,
New Jersey, NJ 07922, USA
Tel : 1800 325 3424
Fax : 908 898 1539

www.trinitybiotech.com

045-190A 02/08

II. COAGTRON-180、COAGTRON-350
の仕様と特徴

Trinity Biotech社（本社所在地：アイルランド）の全自動血液凝固分析装置COAGTRON（欧米販売名：Destiny）はTrinity Biotech社が特許を持つ物理的凝固点測定法と光学的凝固点測定法をはじめ、合成基質法、ラテックス凝集法など、多彩な測定モードを搭載した全自動血液凝固分析装置であり、現在、COAGTRON-180（欧米での販売名：Destiny Plus）（図1）とCOAGTRON-350（欧米での販売名：Destiny MAX）（図2）の2機種が国内に導入されている。

COAGTRON-180とCOAGTRON-350は共通の測定原理を持ち、共通の消耗品を使用できる機器であるが処理速度、オペレーション方法が異なる兄弟機である。機器の仕様を（表1）に示す。

COAGTRONの特徴の一つとして血液凝固の項目（PT、APTT、フィブリノーゲン、複合凝固因子及び因子）の測定に、光学的測凝固点測定法と物理的凝固点測定法の2法が使用できることが挙げられる。

例えば、PTを光学的凝固点測定法で測定（以下PT O）と、PTを物理的凝固点測定法で測定（以下PT M）を別項目として機器に登録することで、一つの検体をPT OとPT M同時に測定することも可能であり、またPT Oで最初に測定しPT Mで再検する事等も可能となる。

もう一つの特徴として、測定に必要な反応液量（検体量+試薬量）が物理的凝固点測定法を用いた場合は、光学的凝固点測定法の1/2で測定可能である事がある。すなわち、光学的凝固点測定法、合成基質法およびラテックス凝集法の場合は反応ウェル中での最低必要液量（検体+試薬）は150μLであり、物理的凝固点測定法の場合は75μLとなる。

COAGTRON-180とCOAGTRON-350の処理速度はPT単独測定時それぞれ最大180テスト/時間、350テスト/時間、PT/APTT同時測定時それぞれ最大120テスト/時間、270テスト/時間でありPTの最短測定時間は両機器ともに3分である。また、測定操作は両機器ともタッチスクリーンにより行い、操作ボタンはアイコン表示となり操作の簡易化を図っている。

微分、二次微分または他の演算法を用いるなど、機器により異なっている。光学的凝固点測定法は測定結果の秒数を得るのみならず、測定の過程で得られる凝固曲線から播種性血管内凝固症候群（DIC）等の疾患情報が得られる¹⁾。また、凝固波形の演算処理の方法により、1.0 IU/dL以下の第Ⅷ因子活性の微量測定が可能になる²⁾。さらに、測定時血球の吸引等の測定異常の確認が可能となる利点がある。

物理的凝固点測定法の原理は、凝固の最終過程でのフィブリノーゲンがフィブリンへ変化する際の流動性の低下を、スチールボール等の動きで捉え凝固点を検出する方法である。物理的凝固点測定法は、試薬の持つ濁度、溶血、乳び等の共存物質の影響も受けずに測定できる利点がある。

迅速性、測定精度、経済性、簡便性、安全性に加え用途に合わせた測定法への対応が血液凝固検査に使用される全自動分析機にも求められる³⁾。

これら全自動分析機に求められる性能を満たすべく開発された、Trinity Biotech社の全自動血液凝固分析装置COAGTRONに関して紹介する。



図3 COAGTRON-350のキャップピアッシング

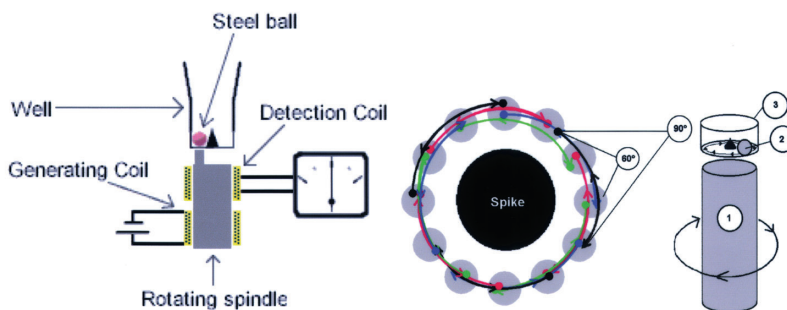


図4 COAGTRONの物理的凝固点測定法の原理

PT、APTTの測定時の機器間差及び試薬のロット間差を最少にするためTrinity Biotech社内の試みとして、自社の試薬、機器毎のターゲット値が表示されたTriniVeriCALを用い、機器毎および試薬ロット毎の実測秒数とTriniVeriCALの表示値（表2）との回帰式を用い検体秒数を校正する機能を有している。

COAGTRON-350独自の機能としてはキャップピアッシングと4つの測定波長を有している事が挙げられる。キャップピアッシングは各種採血管に対応可能で（図3）、同一検体ラックにキャップの有無に関わらず多種類の採血管架設が可能である。測定波長は340 nm、405 nm、635 nm、705 nmを有している。測定精度保証のため、当社試薬であるシンプラスチンHTF MDAおよびプラテリンLSⅡ MDAの塩化カルシウム試薬は青色色素を含有しており、これらの試

薬を光学的測定法で使用すると、測定と同時に、試薬中の青色色素の濃度をモニターしキュベットへの実際の検体及び試薬の分注異常を検体毎確認する事が可能である。

Ⅲ. COAGTRONの測定原理

1. 物理的凝固点測定法の測定原理（図4）

COAGTRONの物理的凝固点測定用の反応ウェル（③）には、ステンレス製ボール1個（②）が入っており、底面中央部にはボールの回転をスムーズにするためのスパイクが出ている。

測定ウェルの下部で回転するシリンダ（①）のコアにより磁場が発生し、ボールはシリンダの回転方向に従い、スパイクの周囲を約90°進んでから約60°戻す動きで周回し、ボール移動の振幅および周波数がDetection coilを介してモニタ

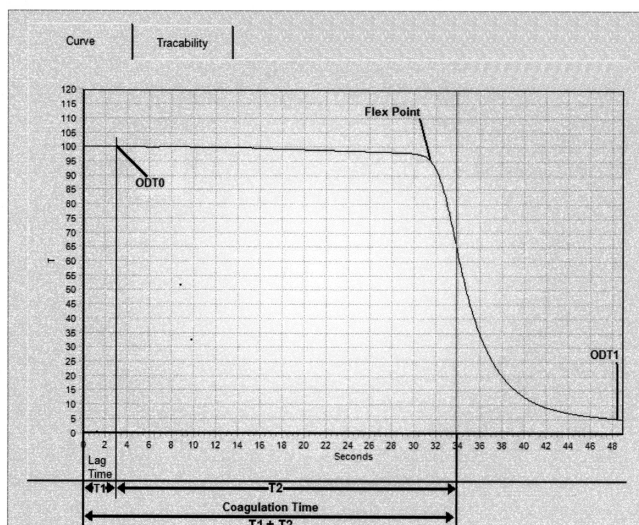


図5 COAGTRONの光学的凝固点測定法の測定原理
 T1=トリガー試薬添加直後から演算開始点までの時間 (Lag Time)、T2=安定なベースライン (ODT0) から最大勾配点までの時間、ODT1=安定なエンドポイント (ODT1)、凝固時間=T1+T2

一される。凝固が開始すると、フィブリン形成に伴ってスチールボールの移動が妨げられ、振幅及び周波数が変化し、その変化が0になった時間が結果として報告される。

2. 光学的凝固点測定法の測定原理 (図5)

光学的凝固点測定法の原理は、光学反応ウェルに検体及び試薬が分注された後、ウェル内での凝固反応に伴い、フィブリノーゲンがフィブリンに変化する。これに伴い測定波長の透過光量が減少(吸光度の増加)する過程をセンサーで連続的にモニターし、得られた凝固曲線を数学的に処理することで測定結果を求める。

トリガー試薬添加後直ちに透過光量の変化がモニターされるが試薬添加時に発生する泡等によるノイズの影響を避ける為、Lag time (T1)中のデータは演算に使用されない。T1経過後安定なベースライン (ODT0)を確認した後Flex pointを確認しさらに安定なエンドポイント (ODT1)を確認するまで測定は継続され凝固曲線を作成する。この凝固曲線を一次微分し最大勾配(最大変化率)を探し、トリガー試薬の添加から最大勾配に達するまでの時間 (T1+T2)が結果として報告される。

表3 COAGTRONのPT、APTTの測定メソッド

	PT	
	光学的凝固点測定法	物理的凝固点測定法
検体量	50 μ L	25 μ L
37℃加温	60秒	60秒
PT試薬	100 μ L	50 μ L
Lag Time	3秒	3秒

	APTT	
	光学的凝固点測定法	物理的凝固点測定法
検体量	50 μ L	25 μ L
37℃加温	60秒	60秒
APTT試薬	50 μ L	25 μ L
37℃加温	180秒	180秒
Lag Time	3秒	3秒

光学的凝固点測定法での測定波長は405 nm

IV. PT、APTTの測定メソッド

COAGTRONのPT、APTTの測定メソッドは(表3)に示す通りである。PT、APTTの物理的凝固点測定法では検体量、試薬量とも光学的凝固点測定法の1/2、フィブリノーゲンでは光学的凝固点測定法の3/5の設定になっている点を除き、検体と試薬量の比、インキュベーション時間及びLag Timeの設定は両測定法とも同じである。

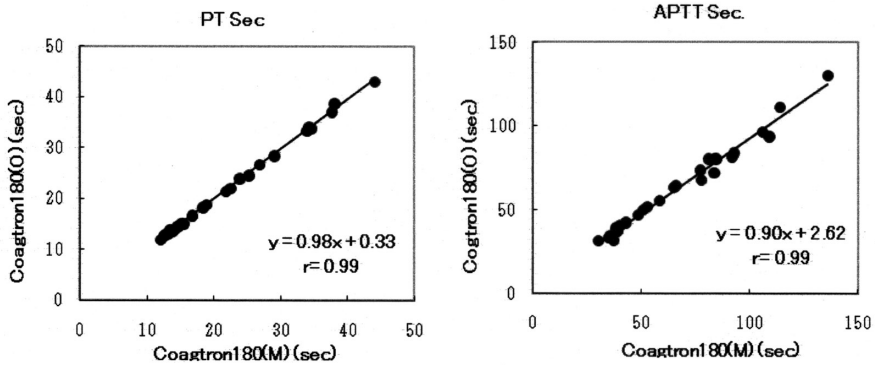


図6 COAGTRON-180の光学的凝固点測定法と物理的凝固点測定法とのPT、APTT測定での相関
(M)：物理的凝固点測定法、(O)：光学的凝固点測定法

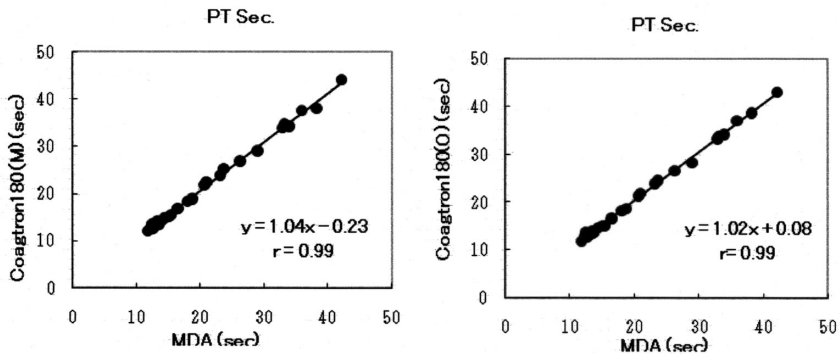


図7 COAGTRON-180とMDAとのPT測定との相関
(M)：物理的凝固点測定法、(O)：光学的凝固点測定法

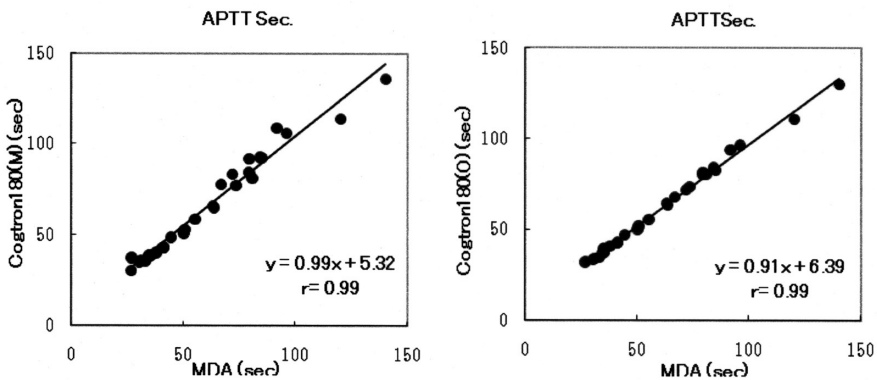


図8 COAGTRON-180とMDAとのAPTT測定との相関
(M)：物理的凝固点測定法、(O)：光学的凝固点測定法

V. 光学的凝固点測定法と物理的凝固点測定法の比較及び他機種との比較

PTは人肺細胞由来の組織トロンボプラスチン

を原料とするシンプラスチンHTF、APTTはプラテリンLSⅡを用い各方法との再現性及び相関性の試験を行った結果は以下の通りであった。

COAGTRON-180でのPT、APTTの再現性を表

表4 COAGTRONの再現性

	PT(O) 秒		PT(M)秒		APTT(O)秒		APTT(M)秒	
	V1	V2	V1	V2	V1	V2	V1	V2
平均	14.7	25.5	14.5	25.1	31.8	67.6	31.4	65.3
SD	0.21	0.41	0.17	0.19	0.35	0.92	0.37	0.45
CV(%)	1.45	1.60	1.14	0.75	1.10	1.36	1.19	0.69

結果はCOAGTRON-180で同一検体（コントロール血漿：ベリハイ）を10回測定した場合の結果を示す。
(O)：光学的凝固点測定法
(M)：物理的凝固点測定法
V1：ベリハイ1 V2：ベリハイ2

4に示す。正常コントロール血漿及び異常域コントロール血漿を検体とした場合の物理的凝固点測定法および光学的凝固点測定法とも良好な再現性を示した。

物理的凝固点測定法と光学的凝固点測定法の相関（図6）はPTで $y=0.98x+0.33$ 、 $r=0.99$ 、APTTで $y=0.90x+2.62$ 、 $r=0.99$ と良好であった。

光学的凝固点測定法を原理とし、凝固波形の二次微分点を結果報告とするMDAとCOAGTRON-180物理的凝固点測定法および光学的凝固点測定法でのPTの相関（図7）はそれぞれ、 $y=1.04x+0.23$ 、 $r=0.99$ 、 $y=1.02x+0.08$ 、 $r=0.99$ 、APTTの相関（図8）はそれぞれ $y=0.99x+5.32$ 、 $r=0.99$ 、 $y=0.91x+6.39$ 、 $r=0.99$ であった。

VI. まとめ

Trinity Biotech社より、国内に導入した全自動血液凝固分析装置COAGTRON-180、COAGTRON-350について仕様、特徴等を報告させて頂いた。両機器のPT、APTTの再現性は良好であり、PTの最短測定時間は3分である。TriniVeriCALを用いた機器間および試薬LOT間の校正が可能であり、物理的凝固点測定原理を用いてPT、APTTを測定する場合、測定に必要な検体及び試薬量は、現行機器および光学的凝固点測定法の半量で測定可能である。測定操作

は両機器ともタッチスクリーン上のアイコンをタッチすることで行い簡易操作を実現している。

また、COAGTRONの特徴である血液凝固の項目に関し、光学的凝固点測定法と物理的凝固点測定法の2方法を持つ機器は今のところ他には見られない。両測定法はそれぞれ測定上の有用な特徴を持つが、本機器が測定法の違いにより疾患特異的な結果が得られるか、また、得られる測定結果に差異がある場合があるのか等の検討にも役立てれば幸いである。

COAGTRON-350は試薬中の青色色素の濃度確認によりPT、APTT測定時、実際の検体、試薬の分注精度の確認が出来る機能およびキャップピアッシングの機構も有している。このように、COAGTRONは血液凝固検査に使用される全自動分析機器機に求められる迅速性、測定精度、経済性、簡便性及び安全性を持った機器であると思われる。

文献

- 1) Downey C, Kazmi R, Toh CH: Novel and diagnostically applicable information from optical waveform analysis of blood coagulation in disseminated intravascular coagulation. Br J hematol, 98: 68-73, 1997.
- 2) 松本智子, 嶋 緑倫: 凝固波形解析と第Ⅷ因子微量測定への応用. 血栓止血誌, 14(2): 122-127, 2003.
- 3) 菅野信子, 北村 聖: 全自動血液凝固分析装置の原理と使用法. 検査と技術, 23: 309-317, 1995.