

グリコヘモグロビン分析装置 (HLC-723GHbV A_{1c}2.2) の開発 - I

福 永 信 吾
笠 井 正 信

Developing of the Automatic Glycohemoglobin Analyzer (HLC-723GHbV A_{1c}2.2)-I

Shingo FUKUNAGA
Masanobu KASAI

The automatic glycohemoglobin analyzer HLC-723GHbV A_{1c}2.2 has been developed, which has key features for medical uses such as high precision measurement of S-A_{1c}, real time report, compact size, and ease of manipulation. This new system is equipped with an automatic calibration function and assures both daily and simultaneous reproducibility C.V.=0.7% or below. Furthermore, a difference between the results obtained at temperatures 10 and 35°C is less than 0.2%.

Although it takes about 38 min for a conventional analyzer to warm up (from power-on till getting the first report), it is shortened to 6.6 min on the A_{1c}2.2 system by using LED as a light source for detection. As the time needed for one analysis is shortened to 2.2 min against 3.5 min on a conventional system, a report of medical examination may be reached on real time at a consultation room. The size of A_{1c}2.2 system is 500(width)×575(depth)×498(height), half a size of the conventional ones. The system can be operated easily by a touch-panel display of liquid crystal and a sheet key.

1. はじめに

米国で、1993年にDCCT (The Control and Complications Trial Research Group) の結果が報告され、患者の血糖の長期間の厳密なコントロールが様々な合併症の発生率を著しく低下する事が定量的に明らかにされている。その際のコントロール指標として安定型グリコヘモグロビンA_{1c} (S-A_{1c}) が用いられており、血糖の厳密なコントロールのためにはS-A_{1c}の精密かつ正確な測定が極めて重要であると報告されている¹⁾。更に、適切なるコントロールと医師の診察が行われるためには、測定結果を即、患者に伝える診

察室でのリアルタイムレポート性が重要視される²⁾。またリアルタイムレポート性の要求は大手検査センターではなく、診療現場である一般病院が対象となり、測定装置は小型、簡易操作が要求される。

このたび新たに発売した東ソー自動グリコヘモグロビン分析計HLC-723GHbV A_{1c}2.2 (以下A_{1c}2.2) は、このような状況を考慮し、下記の3項目の実現を目指した。

- ①S-A_{1c}の精密かつ正確な測定の実現。
- ②リアルタイムレポートの実現。
- ③小型化・簡易操作の実現。

以下装置の概要を述べる。

2. 装置概要

測定時間を従来の3.5分に対して2.2分への短縮を実現したばかりでなく、従来では、不安定型グリコヘモグロビン (L-A_{1c}) とS-A_{1c}は分離できなかったが、L-A_{1c}とS-A_{1c}を分離できる高い分離能を有する、新規開発された分析ソフト (新しい分析カラムの充填剤)³⁾ を搭載することにより、より精密かつ正確な測定を実現した。更には、従来では測定誤差の大きな要因であった修飾ヘモグロビンなどの共存物質の悪影響を解消している。

装置は、この新規開発された分析ソフトの性能を100%引き出すために、プレヒートによる溶離液の温調と分離カラムと検出器の一体温調の実施、また検出器においては溶離液の切換えによって発生し、データに悪影響を与えていたノイズ (切り替えノイズ) の削減を実現している。また、施設間差、機器間差の問題を解消するために2点キャリブレーション機能を標準で搭載しており、日本糖尿病学会の一次標準化品を基にして作成した二次標準品の東ソーHbA_{1c}キャリブレーションセットを使用することで、実測値の補正が自動的に行われ、出力される⁴⁾。検出器の光源に青色発光ダイオードを採用する事で、従来で懸念されていた光源の寿命と長時間を有する安定時間の問題を解消し、光源のメンテナンスフリーを達成するとともに、測定開始前の装置の安定時間を不要とし、リアルタイムレポートを実現している。

装置の概観および各ユニットをFig. 1に示す。装置の大きさは従来機の半分以下の大きさを実現している。溶離液ホルダ・ポンプ・脱気装置・カラムオープン・検出器・プリンタ・操作パネル・フロッピーディスクドライブ・自動希釈装置・制御部などの機能をコンパクトに一体化した本体と、サンプルラックを搬送するサンプルローダーより構成される。日常操作はゴムキャップ付き真空採血管をセットした後、POWERキーを押し、STARTキーを押すだけで測定できる。また、詳細な操作についてもタッチパネル方式の液晶を採用する事により、画面のキーから簡単に操作・入力する事ができる。画面のキーは絵文字キーを多数採用したので解りやすく、誤操作を未然に防ぐ工夫がされている。また、フロッピーディスクドライブが内蔵されており、測定データの保存や、保存したデータの再計算や再プリントが容易にできる。さらに、外部のコンピューターへの接続や搬送ラインシステムとの接続用のインター

フェースを有しており拡張性がある。従来機では工具を必要としていた消耗品であるカラムとラインフィルタの交換が手締めになっており、操作性が向上している。以下、ユニット毎に詳細に説明する。

[1] サンプルローダー

ラックに搭載された採血管を本体のサンプリング位置まで搬送するユニットがサンプルローダーである。サンプルラックは、今後重要視されてくる分析装置間のラックの共通化や、搬送システムの構築に見られる院内の標準化を考慮し、シスメックス標準ラックを採用した⁵⁾。バーコードリーダーはオプションで搭載可能である。サンプルローダーには最大架設数によって3種類のバリエーションがあり、50検体用、90検体用、290検体用と、施設の検体数によって選択可能とした。また、院内オートメーションのための搬送ラインへの接続が必要な場合には、サンプルローダーを外して本体を搬送ラインに接続することによって対応可能となる (Fig. 2)。

従来機の問題として架設する採血管は外径がφ12~15mmの範囲で多種多様になっており、ラックホルダーに隙間なく架設するためには種々のスペーサーを準備、選択する必要性があった。しかしながら、種々のスペーサーを準備し正確に対応するのは現実的ではなく、また、採血管にはバーコードなどのラベルが貼られているので実際の採血管の外径はさらに多様となる。従って、スペーサーは大きめに代表されてしまい、中には大きく隙間が生じ、採血管のゴムキャップの中心から大きく外れた位置にサンプリングニードルが下降し、結果的にはサンプル吸引不良やサンプリングニードルの曲がりなどが発生する場合もあった。A_{1c}2.2ではサンプリング位置において、小径の採血管が大径のラックのホルダー部の中心に導かれたのちに、保持される機構を搭載した (Fig. 3)。本機構は一般的に使用される採血管のゴムキャップの外径が、ほぼφ15mmで均一である事に着目しており、矢印で示した方向よりラックが移送されてくるとサンプリング位置に採血管が割り込んで来るようにしながら導かれ、2つのローラーを持つ押さえと、押さえ板によって保持される。

また、ラック自身が装置の傾きや、慣性によってサンプリング位置からズレが生じるのを防止するラック押さえ機構が搭載されている (Fig. 4)。この機構を搭載したA_{1c}2.2を故意に左方向に15°傾斜させ、斜めに傾いた状態で運転したが、ラックの位置決めと保持を実施しているため、吸引不良などの不具合は発生

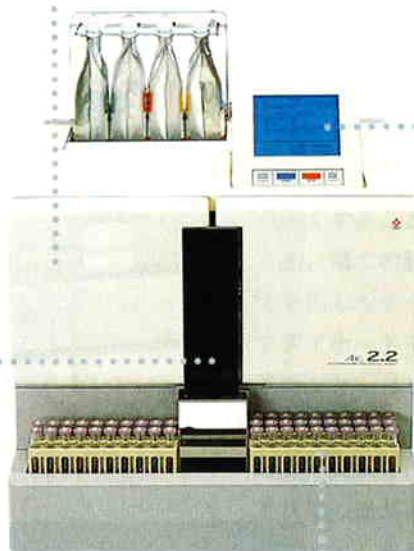
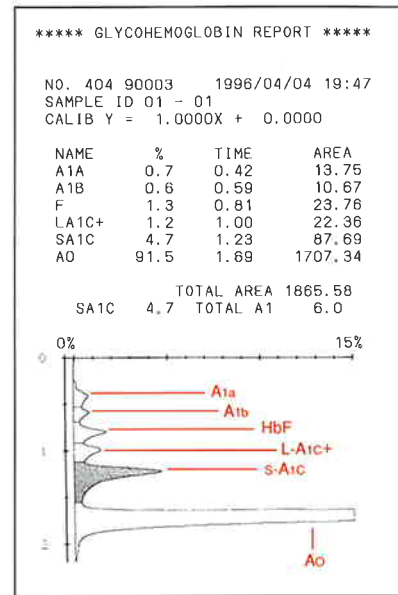


Detector

The detector is equipped with a LED light source, and controlled temperature precisely. It is a maintenance free, and unnecessary to change a light source.

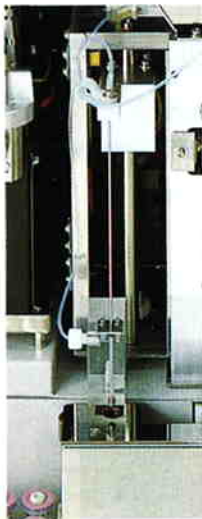
Column

The new column was developed for a quick analysis (2.2minutes per a sample) It is easy to change a column and filter without tool.



Liquid crystal and a sheet key

It is easy to use A1c2.2 system by a touch-panel display of Liquid crystal and a sheet key



Sampling Unit

The sampling unit is a consist of a sampling poat. Reproducible sampling from vacuum tubes are done with a cappiercing method.

Sample Loader

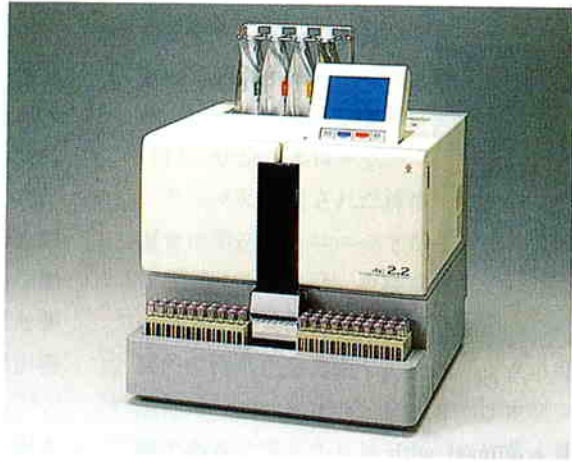
50, 90 and 290 samples loader are listed. A barcode reader system is an option.



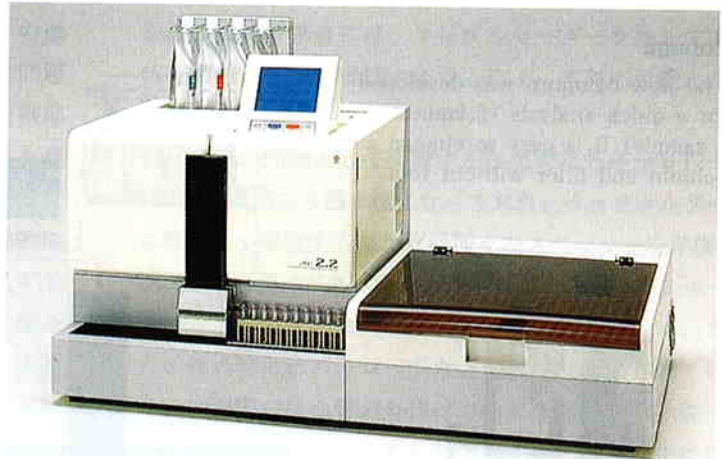
Fig. 1 A1c2.2 system and Major Components

Standard Type [50 90 Sample Loader]

This is suitable for measurement at a consultation room.

Extended Type [290 Sample Loader]

This is suitable for inspection centers that measures many samples.

LA Type [Laboratory Automation]

This is suitable for laboratory automation systems using conveyor belts etc.

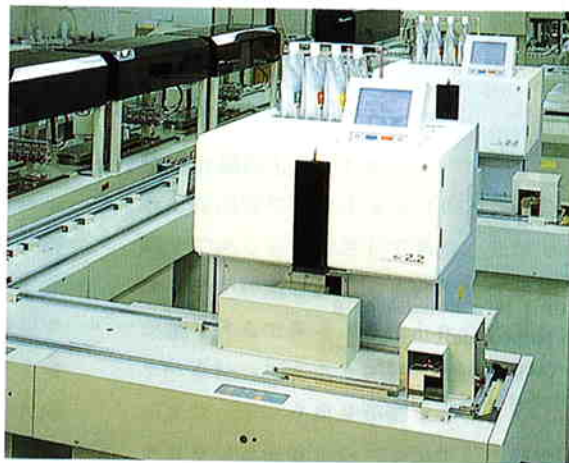


Fig. 2 Sample Loader and LA Type [Laboratory Automation]

しなかった。

〔2〕 検出器

検出器はS-A_{1c}分析装置用として下記の条件を満たす必要がある。

- ①立ち上がり安定時間が短いこと。
→リアルタイムレポートのため。
- ②メンテナンスフリーであること。
→一般病院を考慮。
- ③小型であること。
→臨床診断の現場を考慮。
- ④環境温度の影響がほとんどないこと。
→精密かつ正確な測定のため。

これらの条件を満たすためには、熱を持ち、安定までに長時間を要し、寿命の短い従来からの技術であるタングステンランプやハロゲンランプを用いての検出器では不可能である。A_{1c}2.2では青色発光ダイオードを光源に採用することで、上記の条件をすべて満たすことができた。

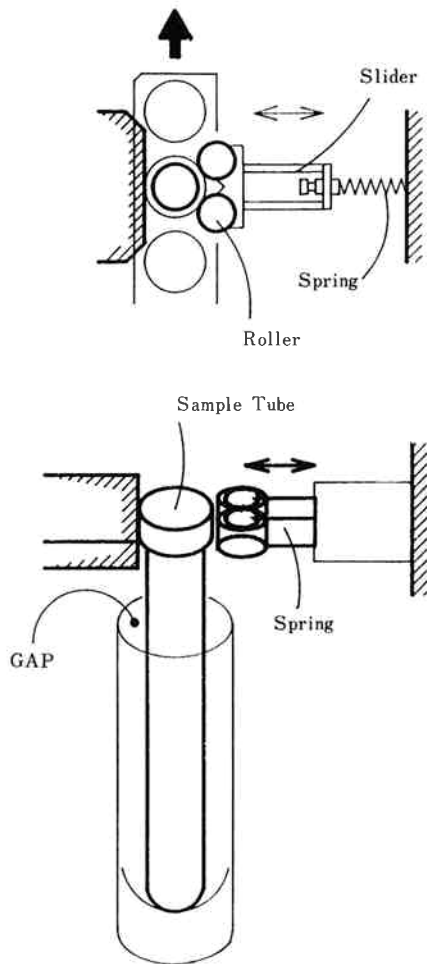


Fig. 3 The motion of the Tube Holder system

具体的には従来の光源では30分以上も安定までの時間を要していたが、青色発光ダイオードでは10秒以内で安定し、さらに寿命は従来の光源では連続点灯で約0.5年以下であったのに対し、青色発光ダイオードの寿命は10年以上と半永久的なため、メンテナンスフリーを達成した。また、大きさも格段に小型化されたので、検出器全体をカラムオープンとプレヒートとともに温調することが可能となり、環境温度の影響はほとんど受けなくなった。

従来からS-A_{1c}の分析はステップグラジェント分析で行っており、溶離液の濃度の差が大きい場合にベースラインの変動が発生し、ノイズ（切り替えノイズ）となって、低濃度サンプルの分析結果に悪影響を与える場合があった。この原因は、溶離液の濃度差による光の屈折率の差が関係しており、特に検出器のフローセル内壁に乱反射する光量に比例している。そこでA_{1c}2.2ではフローセル内壁に光を当てない工夫が施してある (Fig. 5)。まず、凸レンズで平行光を形成している。次に、目的となる吸光度測定波長のバンドパス干渉フィルタを通過させ、フローセルに光を導く。フローセルの第一の絞りは、フローセルの内径よりも小さくすることで、フローセル内壁への乱反射光を押さえ、第二の絞りはフローセル内径と同一径として、光を出しやすくしてある。フローセルを出た光はフォトダイオードセンサーに導かれるが、フォトダイオードセンサーは100%光を吸収しないため、従来機のように光路軸と直角であると、フローセルの第二の絞りの方へ反射し、フローセルへ乱反射光成分の多くなった状態の光が再入射され、フローセル内で乱反射光が発生してしまう。そこで、A_{1c}2.2ではフォトダイオードセンサーに若干角度を持たせ、反射光のフローセルへの再入射を防止した。さらにリファレンス光を有した構成とし、更に、切り替えノイズの削減を実施している。これらの結果、A_{1c}2.2では切り替えノイズを従来機の 16.0×10^{-4} [ABU] から 2.2×10^{-4} [ABU] 以下とし、低濃度へのダイナミックレンジを拡大した。

〔3〕 自動希釈装置

A_{1c}2.2は従来機と同様に自動希釈装置を搭載しており、ゴムキャップ付き真空採血管をそのままセットして測定可能である機能を継承し、さらに従来機での問題を解消している。また、110 [sec]での動作完了を実現し、希釈再現性はC.V.=2.9%であった。主たる特徴を以下に掲げる。

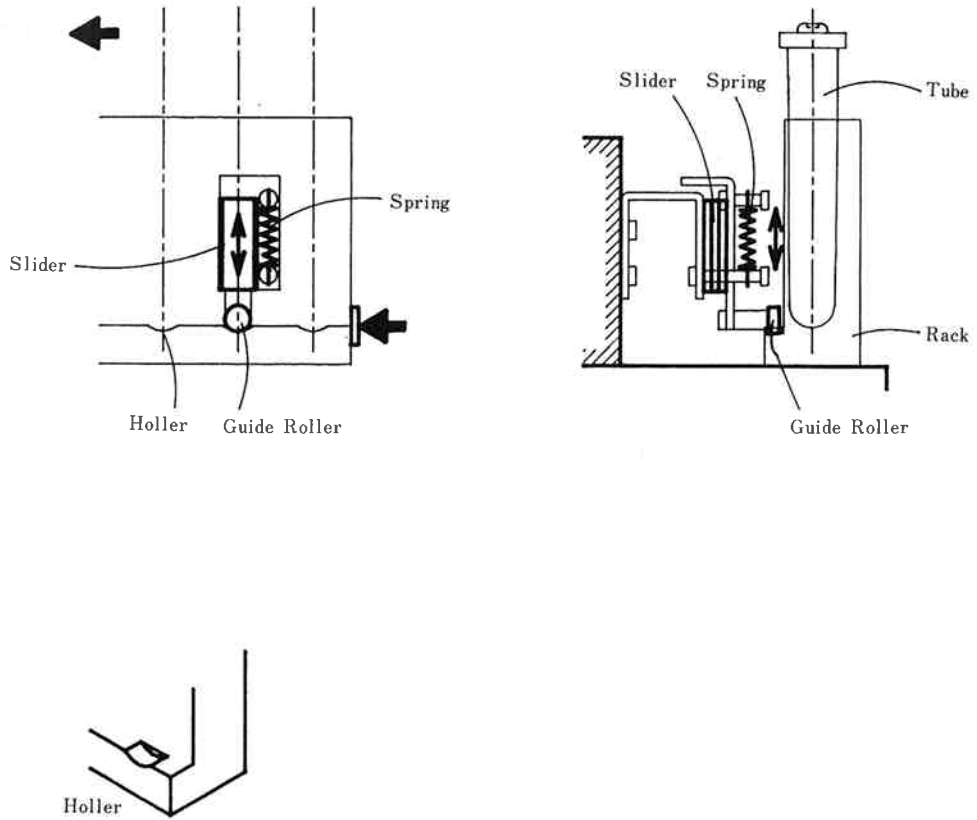


Fig. 4 The motion of the Sample Rack.

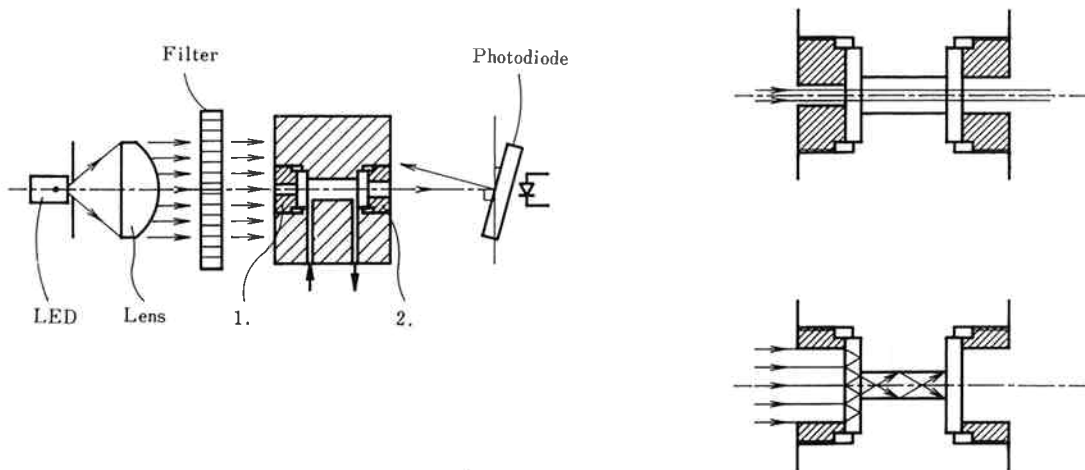


Fig. 5 Shows a method Changing Noise in Detector.

- ①シンプルな構成。
- ②希釈槽がメンテナンスフリー。
- ③希釈液の消費が少量。
- ④完全な血球のパースト。

A_{1c}2.2の自動希釈装置は主要構成部品が電磁弁3個とシリンジ2本だけで構成されるので装置全体の小型化が可能となった。また、構成部品には、従来機のように比較的耐久性のない電磁ポンプやピンチバルブ（シリコンチューブの耐久性）は使用していない（Fig. 6）。

従来機の、希釈槽の洗浄は洗浄液を希釈槽に満たした後、下方の排出部へ真空ポンプによって吸引する方法であった。そのため、希釈槽の上端部の洗浄が不十分であったり、定期的に綿棒などで拭き取る煩雑さと感染上の問題があった。A_{1c}2.2では希釈槽の洗浄は、オーバーフローによる洗浄とし、上端部の洗浄も完全に行える機構とし、メンテナンスフリーを実現している。希釈槽の洗浄は、その容量の約3倍の溶血洗浄液でオーバーフローすることにより、洗浄を実施している。一般に、ニードルによるゴムキャップ付き真空採血管からの吸引において、再現性よく吸引するためには吸引量を3〔μl〕以下にすることはできず、また

S-A_{1c}の分析において、希釈倍率は200~300倍に希釈する必要がある。従って、 $3 \times 300 = 900$ 〔μl〕以上の容量の希釈槽が必要となり、洗浄操作には3000〔μl〕以上の多量の洗浄液が必要となる問題があった。A_{1c}2.2では希釈槽の容量を積極的に小さくし、希釈動作時に約半分を近接する廃液口にオーバーフローさせることで、同一吸引量で、小容量希釈槽を実現し、少量高效率洗浄を実現した。また、希釈槽の上方部分の内径を大きくし、拡散状態を改善する事により希釈再現性がC.V.=2.9%という良好な希釈再現性を得る事が可能となった。

ニードルの洗浄については真空採血管から吸引した後、Fig. 6に示すように排出口にてニードルを上下に往復させながら、ニードル洗浄ブロックからニードルに向けて直角に、洗浄液を噴出させるので、ニードルに付着したサンプルと、ゴムキャップの貫通時に付着したゴムの摩耗カスがすべて拭き取れる。

希釈槽は、混合部に連結している。混合部は乱流が発生しやすいように内径が変化した流路で構成され、電磁弁を介してシリンジに接続されている。このシリンジの動作により、混合部と希釈槽間を、試料が十分に往復することで、血球のパーストが完全に行われる。

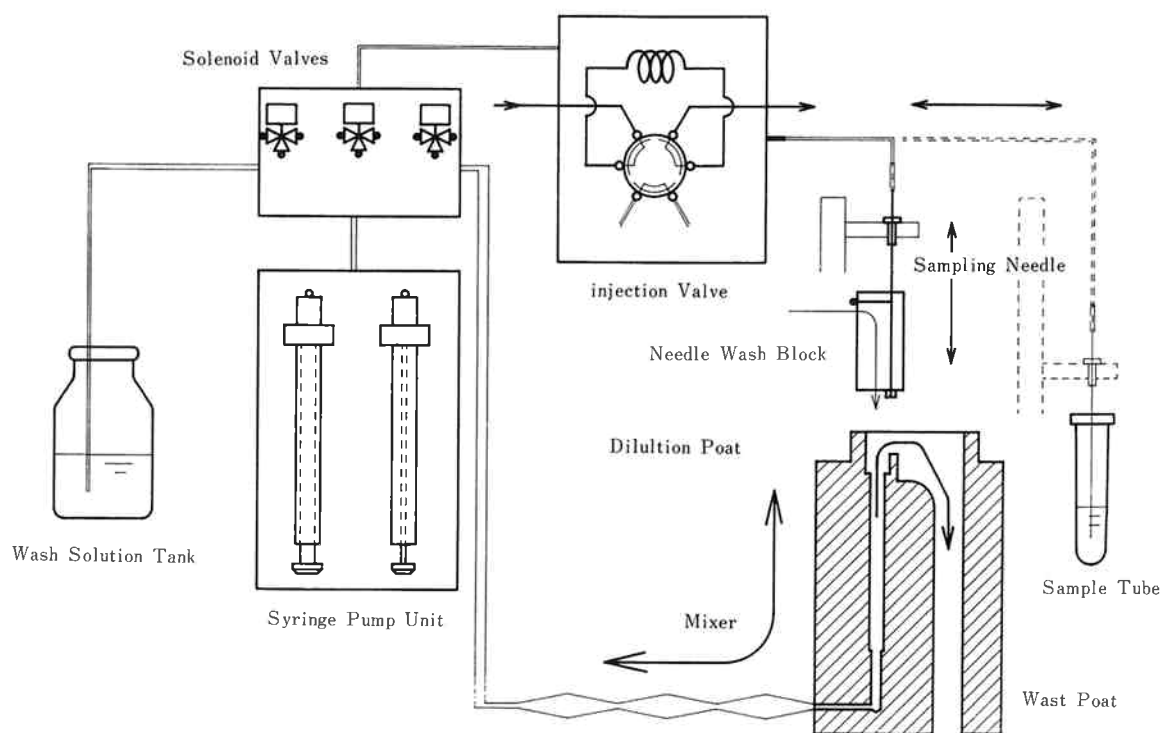


Fig. 6 Block Diagram of Sampling System.

3. 結果

[1] 同時再現性および日差再現性

異なる2種類の全血検体を用いて連続測定 (n=12) を行ったときの測定値の平均値 (MEAN) と標準偏差 (S.D.) および変動係数 (C.V.) をTable 1 に示す。全ての試料についてC.V.は1%以内であり良好であった。日差再現性試験については、東ソーHbA_{1c}キャリブレーションを用いて行った。連日測定を (n=12) で行った場合のMEAN, S.D., C.V.をTable 2 に示す。

Table 1 Reproducibility of 12 consecutive S-A_{1c} measurements using two blood samples.

	A	B
MEAN (%)	5.48	13.61
S.D. (%)	0.04	0.20
C.V. (%)	0.68	0.20

Table 2 Day to Day variations of the S-A_{1c} levels in the blood sample.

	A	B
MEAN (%)	5.32	10.81
S.D. (%)	0.04	0.05
C.V. (%)	0.70	0.46

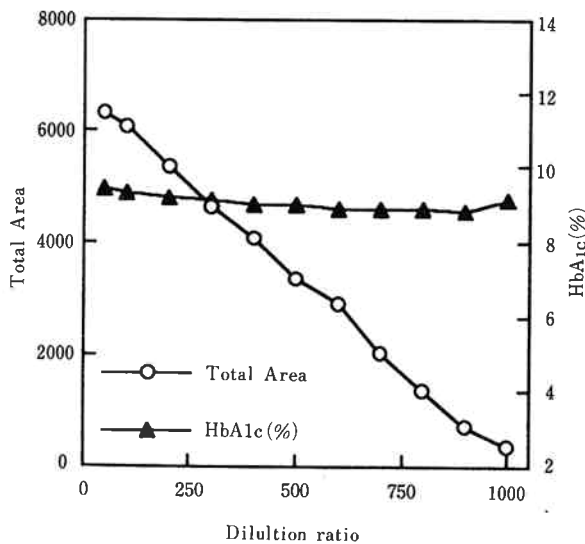


Fig. 7 Relationship between the total peak area of chromatogram and the S-A_{1c} level, and the dilution ratio of blood sample measured.

[2] リニアリティー

全血を専用の溶血洗浄液で希釈、調製したサンプルを用いて測定した結果から、トータルエリアから検出器の直線性を確認した (Fig. 7)。トータルエリアで上限が6000下限が800まで測定可能な範囲であった。

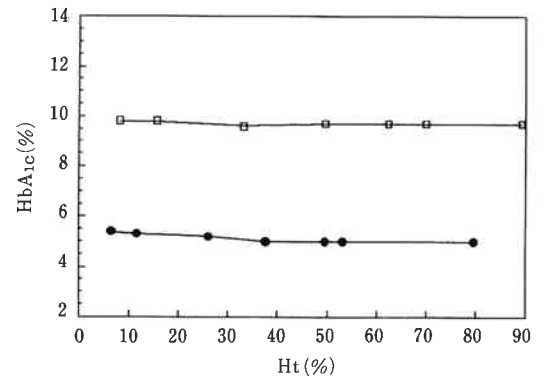


Fig. 8 Relationship between the S-A_{1c} level and the amount of hematocrit in two blood samples.

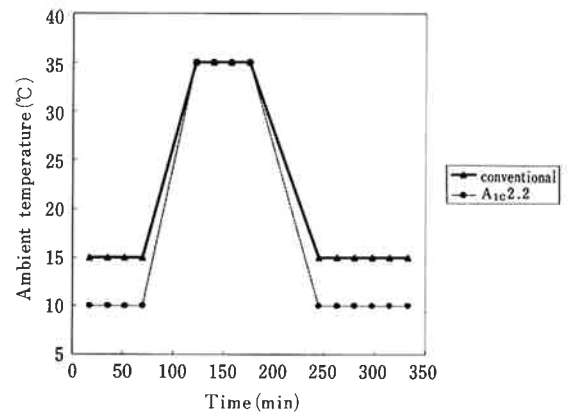


Fig. 9 Ambient temperatures test (program 1)

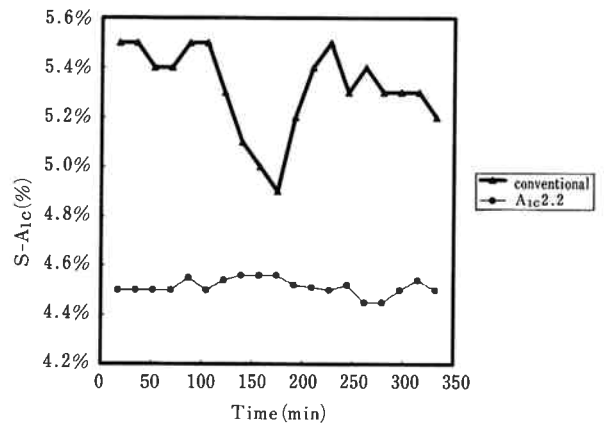


Fig. 10 The S-A_{1c} level of ambient temperatures test. (program 1)

〔3〕 ヘマトクリットの影響

2種の同一検体で血球と血漿の割合を変化させたものを測定した場合の測定値の変動を検討した。ヘマトクリット値の低い全血から(転倒攪拌直後)、ヘマトクリット値の高い遠心血球まで測定値に影響が無いことが確認された (Fig. 8)。

〔4〕 環境温度 (動作)

環境温度を5~40℃の環境温度下でA_{1c}2.2と従来機を連続運転させた。どの環境温度下においてもA_{1c}2.2は安定的に正常動作した。一方、従来機は10℃以下では試料の吸引不良が発生し、15℃から35℃の範囲

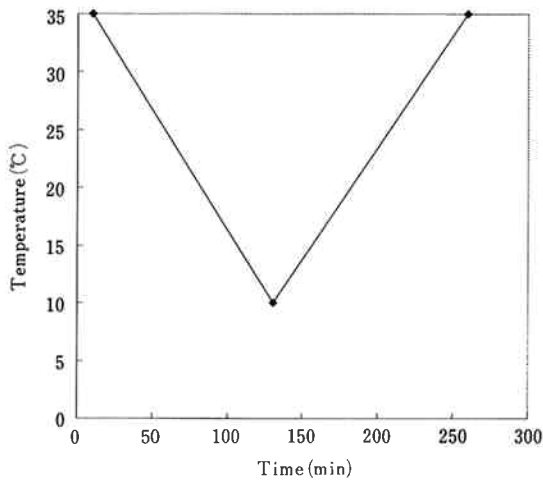


Fig. 11 Ambient temperatures test (program 2)

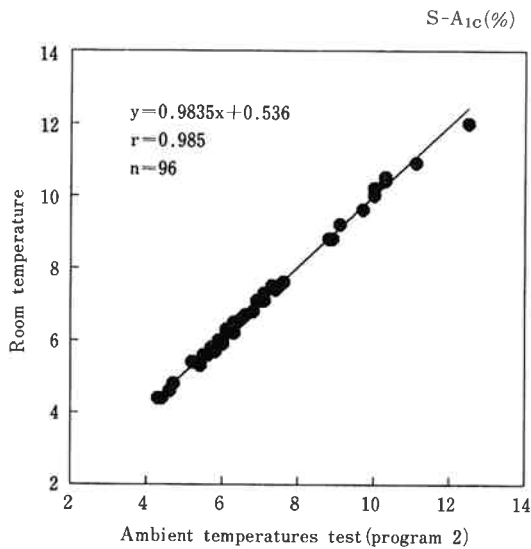


Fig. 12 Correlation of S-A_{1c} level between ambient temperatures test (program 2) and ambient temperatures room temperature

では正常に動作したが、40℃ではカラムオープンの温調エラーが発生した。

〔5〕 環境温度 (S-A_{1c}の変動)

Fig. 9に示す温度変化を与え、連続測定した。温度の変化に対してS-A_{1c}の値の5検体毎の平均をプロットした、Fig. 10を示す。温度変動幅が10℃~35℃と広い場合でも、A_{1c}2.2はS-A_{1c}の値のバラツキが最大で0.2%以内で極めて良好であった。一方、従来機では温度変動幅が15℃~35℃とA_{1c}2.2より狭いにもかかわらず、S-A_{1c}の値のバラツキは最大で0.6%であった。

〔6〕 環境温度 (実検体測定)

Fig. 11に温度変化の条件を示す。Fig. 12に室温測定と環境温度にFig. 11の変化を与えた測定との相関を示す。試料はアトランダムに人血を50検体用いた。室温測定と温度変化を与えた場合のS-A_{1c}の値を比較しても、その変動は最大で0.3%以内であった。また両者の相関も良好で、相関係数が0.985以上を示した。傾きも0.983と、ほぼ1に近い値を示している。これは、急激な劣悪なる環境温度変化が発生しても、A_{1c}2.2は環境温度変化に影響のない、S-A_{1c}の測定装置である事を直接的に示している。

〔7〕 従来機との相関

Fig. 13に従来機との相関を示す。良好な相関が得られた。

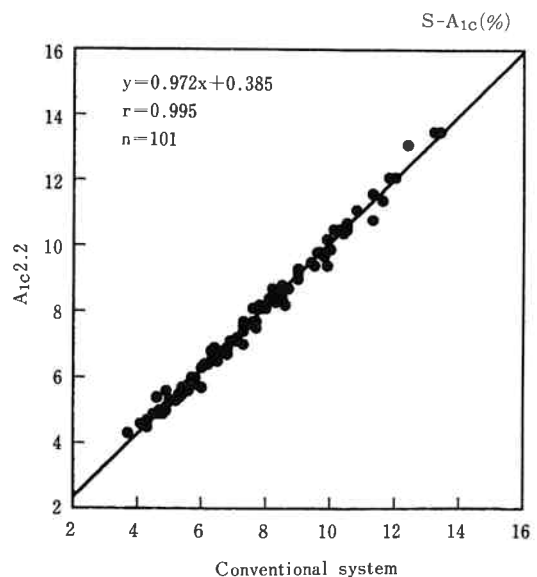


Fig. 13 Correlation between A_{1c}2.2 system and conventional system

4. まとめ

糖尿病の臨床診断にはS-A_{1c}の測定が精密かつ正確に行われる事が重要であるが、さらに測定結果を診察室でリアルタイムに報告できることが不可欠である。

我々は、新規開発された分析ソフトを搭載し、青色発光ダイオードを採用し、立ち上がり安定時間の不要な検出器の開発によって、リアルタイムレポートを実現した。また、検出器、カラム、溶離液の一体温調によって、劣悪な環境温度下であっても良好な測定結果を得ることができた。さらには、検出器の小型化、自動希釈装置の小型化等により、装置サイズを従来機の半分以下にし、操作性の簡便さについても満足できるレベルを達成した。

本装置は、大手検査センター、大病院から中小病院のみならず、一般病院にまで至る幅広いニーズに応えられる装置と考え、今後、世界中の臨床検査の場で幅広く活躍するものと期待される。

文 献

- 1) The Diabetes Control and Complications Trial Research Group: The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin dependent diabetes mellitus, N. Engl. J. Med, 329; 977-986, (1993)
- 2) 岡田雅彦: 検査データの報告はどこまで早くできるか?, 新医療: 82~85, (1996)
- 3) 中山年正: 新カラム (HSiカラム) によるStableとLabile HbA_{1c}の分離, Recent Progress on Diabetes Diagnosis Marker II-edited by The Society for the Research of Diagnosis Marker, Japan, (May, 1993), 83~92 (1993)
- 4) 島 健二他: グリコヘモグロビンの標準化に関する委員会報告 (続), 糖尿病39 (6), 485~493, (1996)
- 5) 松崎駿二: ウルトラマルチへのアプローチ, 臨床検査 vol.37 no.11 1993年増刊号, 133~136, (1993)



著 者

氏名 福 永 信 吾
Shingo FUKUNAGA
入社 昭和63年4月1日
所属 東ソー・ハイテック(株)
出向
設計課



著 者

氏名 笠 井 正 信
Masanobu KASAI
入社 平成元年4月1日
所属 科学計測事業部
技術部
開発課