

乾式簡易血液分析システム(レフロトロン)の獣医臨床への応用

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者	土屋, 亮 渡辺, 美佐紀 小林, 好作
巻/号	42巻3号
掲載ページ	p. 155-160
発行年月	1989年3月

乾式簡易血液分析システム（レフロトン）の獣医臨床への応用

土屋 亮* 渡辺美佐紀* 小林好作*

（平成元年 1 月 20 日受理）

Application of Reflotron System, Dry Chemistry Blood Analyser,
in a Veterinary ClinicRYO TSUCHIYA, MISAKI WATANABE and KOSAKU KOBAYASHI (School
of Veterinary Medicine, Azabu University, Sagamihara-shi Kanagawa-ken 229)

SUMMARY

Reflotron is a dry chemistry blood analyzer. The authors studied its usefulness in a veterinary clinic. In this study, we evaluated the urea nitrogen(BUN), glucose, aspartate aminotransferase (GOT), and alanine aminotransferase(GPT) in canine and feline sera. In addition, these parameters, except GPT, and gamma glutamyltransferase (γ -GPT) were measured in cattle. The Rapid Blood Analyzer (RaBA- Σ , Chugai Pharmaceutical Co. Ltd.) was used as a wet chemistry reference system.

Most values measured with Reflotron were higher than those with the wet reference system, but there were close correlations between the two system's values in all parameters studied. The coefficient of variation was 2.78% on average, ranging from 1.1 to 7.5%. The abnormal high level sera in each parameter were diluted with normal level sera from the same kind of animal, and separately with bovine albumin solution, followed by measurement with reflotron. The data were approximately linear, showing no correlation to the medium used for dilution.

We believe that Reflotron is useful for clinicopathological diagnosis in the veterinary clinic setting because the technique of measurement is simple and accurate results are obtainable within 3 minutes per each parameter. The clinician may explain to his client the pathogenesis or prognosis of vague disease doing physical examination.

—————*J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 42, 155~160 (1989).

要 約

レフロトロンは乾燥試薬式の血液分析システムである。これを用いた犬・猫のBUN・グルコース・GOT・GPTおよび牛のBUN・グルコース・GOT・ γ -GTPの測定成績が、これら動物の疾病診断に役立つかどうか検討した。

レフロトンによる測定値は、いずれの項目においても、液状試薬式の分析システムRaBA- Σ によるそれよりも高かったが、両者の成績の間には非常に高い相関関係があった。

同時再現性試験による変動係数は全項目全動物種を通じて、最小1.1、最大7.5%で、平均すると2.78%であった。

それぞれの項目について、高い値の血清を同種動物の血清および牛アルブミン液で希釈して測定したところ、いずれにおいてもその希釈濃度と測定値にはほぼ直線関係が認められた。

レフロトロンは測定操作が簡単で、しかも信頼できる結果が1項目あたり3分以内に得られる。動物の一般臨床検査を行いながら血液生化学的検査を進められるので、獣医臨床診断に非常に役立つと思われる。

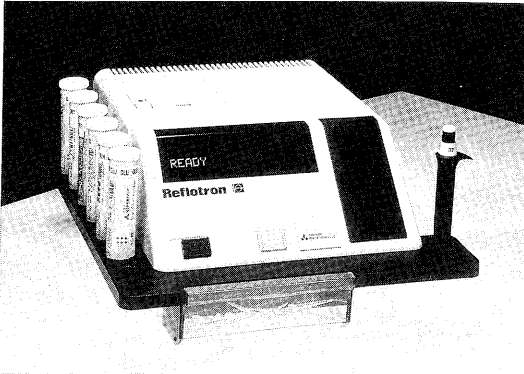
獣医臨床の現場における血液検査は、ほとんどの場合、

* 麻布大学獣医学部(神奈川県相模原市淵野辺1-17-71)

Key Words: 乾式簡易血液分析システム（レフロトン）。

獣医師自身が行うかあるいは外部の検査機関に依頼している。いずれにしても、労力面で無理が生じたり迅速さに欠けるなどの問題がある。

尿検査については簡易検査用スティックが多用され、十分な役割を果たしている。しかし、血液成分用の簡易



大きさ：約 300×350×195 cm 重量：約 5.5 kg
試薬(本体の左)ならびにオートピペット(同, 右)が
セットされている

図1 レフロトロンの本体

分析キットは尿素窒素 (BUN) などごく一部の項目に限られており、測定範囲が狭く、しかも信頼度の高い成績は得られない。

近年、これら簡易検査に用いられていた乾燥試薬式の反応を、光電反射計を用いて正確に比色定量する血液分析システム（ドライケミストリーシステム；以下、乾式システム）が開発され、獣医学領域にも普及し始めている^{2,5)}。

今回われわれは、ドイツのベーリンガー社が開発した卓上型の乾式システム・レフロトロン（図1；以下、Ref.）について、動物サンプルの測定に用いる場合の信頼度や問題点を検討した。

1. 材料および方法

本学部附属家畜病院の診療対象となった犬・猫および牛から静脈血を採取し、その血清を用いた。測定項目は犬・猫の BUN・グルコース（以下、Glu）・GOT・GPT および牛の BUN・Glu・GOT・ γ -GTP であり、これらについて以下の検討を行った。

1) 液状試薬を用いる分析システム（以下、湿式システム）による成績との比較

各項目ごとに 23~58 件のサンプルについて、Ref. と（株）中外製薬の湿式システム RaBA-Σ（以下、RaBA）の両方で測定した。

2) 再現性

各項目について 3 例ずつのサンプル（高度異常値、中等度異常値、および正常値各 1 例）を用い、Ref. による同時 10 回測定を行った。

3) サンプルの希釈濃度と測定値の直線関係（以下、希釈直線性）

各項目の異常な高値の血清（以下、高値血清）2 例ずつを、同種動物の正常値血清（以下、同種血清）、および

アルブミン液（Boehringer Mannheim 社製精製牛血清アルブミンを生理食塩液で 5% に溶解）でそれぞれ 0, 25, 50, 75, 100% 濃度に段階希釈し、これらを Ref. で測定した。そして、その測定値を y 軸、希釈濃度を x 軸にとってプロットし、これらが直線上に乗るかどうか調べた。

2. 結果

1) 湿式システムによる成績との比較

Ref. による成績を y, RaBA による成績を x として統計処理し、両機種による測定値の相関関係を図 2 に示した。

BUN では、回帰係数（図 2、回帰直線の傾きを表わす；以下、直線の傾き）が犬・猫・牛でそれぞれ約 1.4, 1.5 および 1.3 であった。回帰定数（回帰直線 y 軸上の切片；以下、y 軸の切片）は犬・猫それぞれ -3.80 および -7.61 だったが、直線の傾きが大きいために全体的には Ref. の方が高い値を示した。

Glu における直線の傾きはどの動物種においても 1.0 に近かったが、y 軸の切片は 12.97 から 23.84 と高く、正常範囲以下のサンプルは明らかに Ref. による値の方が高い傾向にあった。

GOT における直線の傾きは犬・猫・牛でそれぞれ約 1.6, 1.7, 2.3 で、全体的に Ref. による値の方がかなり高く、しかも動物種差が大きかった。しかし、牛では y 軸の切片が -26.42 であり、活性の低いサンプルでは必ずしも Ref. による値が高いとは限らなかった。

GPT（犬・猫のみ）における直線の傾きは犬・猫とも 1.7 を超え、Ref. による値の方が高かった。

γ -GTP（牛のみ）における直線の傾きは約 1.3 で、Ref. による値の方が高かった。

いっぽう、相関性の高さを表わす相関係数 (r) は、犬・猫・牛の Glu でそれぞれ 0.943, 0.955, 0.973, 他の項目のそれらはいずれの動物種においても 0.98 より大きかった。

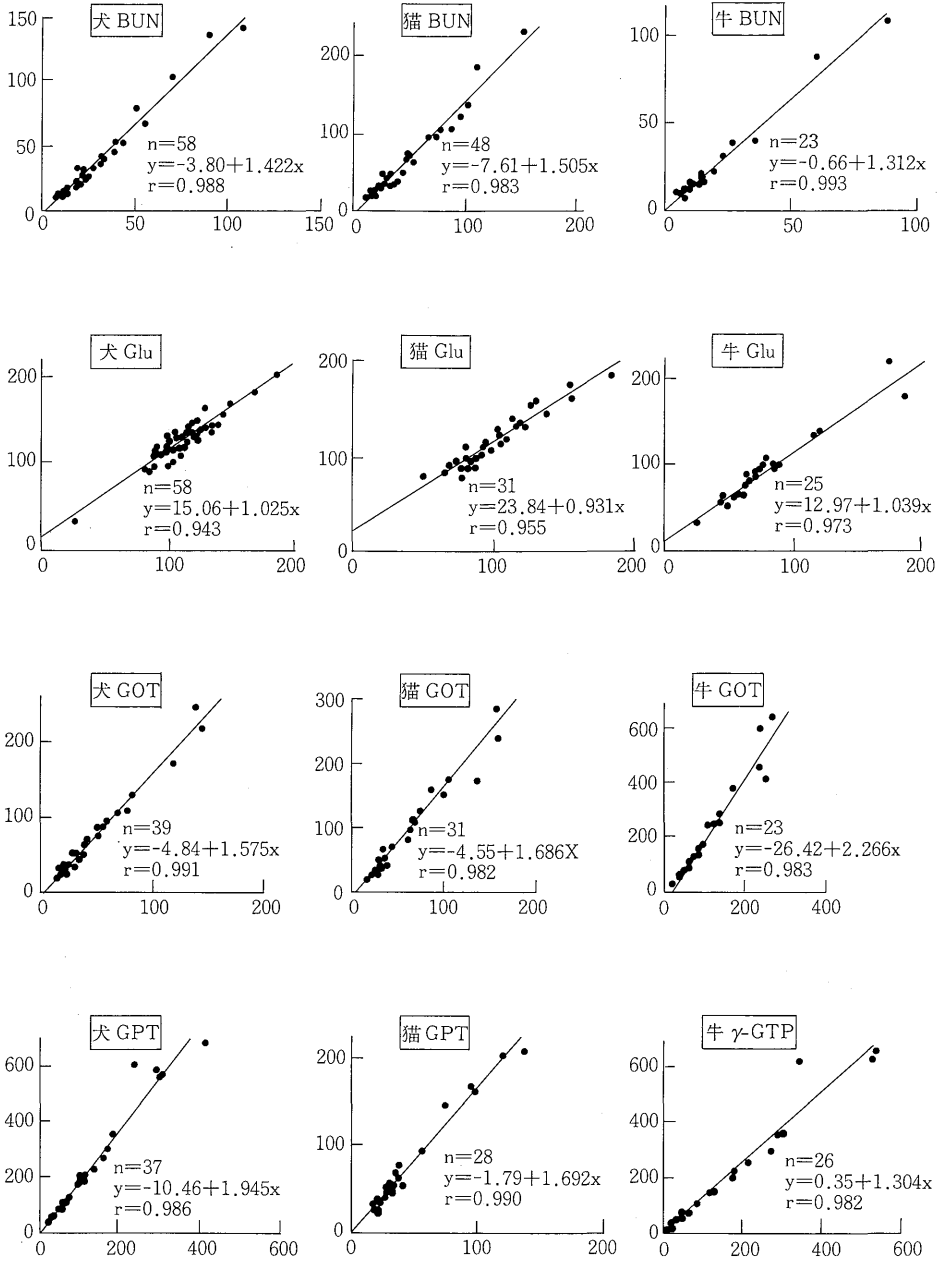
2) 再現性

表 1 に、同時再現性試験による平均値、標準偏差（バラツキ）および変動係数（平均値に対するバラツキの比率）を項目別に示した。変動係数は、全項目全動物種を通じて最小 1.1, 最大 7.5% で、その平均は 2.78% であった。

3) 希釈直線性

図 3 に高値血清を希釈して測定したときの希釈濃度と測定値の関係を示した。

同種血清およびアルブミン液のいずれで希釈した場合も、全体的にはほぼ直線性が得られた。ただし、牛の Glu, 犬と猫の GOT および GPT では、わずかに弧を描くものが存在した。



y 軸=レフトロロンによる測定値 x 軸=RaBA-Σによる測定値
 単位: BUN・Glu: mg/dl, GOT・GPT・ γ -GTP: IU/L

図2 RaBA-Σ とレフトロロンによる成績の相関

3. 考 察

Ref. の測定操作は、測定したい項目の試験紙を取り出し、付属のオートピペットでその反応部分にサンプルをのせ、本体に挿入するだけでよい。本体への命令はすべて試験紙に貼られた磁気テープから行われ、結果は2～3分後にデジタルで表示され、同時にプリントアウトさ

れてくる。簡単かつ迅速に結果が得られるため、獣医師自身が診察しながら血液生化学検査を進めることができる。

サンプルは全血、血清および血漿のいずれでもよく(抗凝固剤の種類は制限される。また、ヘモグロビンは全血のみ)、サンプル量はどの測定項目においても同じ(32 μ l)である。サンプルが少なく済む点は、猫のような

表1 レフロトロンの同時再現性試験成績 [平均±標準偏差(変動係数 %)]

血 清	項 目					
	BUN (mg/dl)	Glu (mg/dl)	GOT (IU/L)	GPT(IU/L)	γ -GPT (IU/L)	
犬	高度異常値	97.1±1.5(1.6)	334.5± 3.7(1.1)	231.5± 5.3(2.3)	584.5±14.7(2.5)	
	中等度異常値	62.0±1.8(2.9)	146.9± 2.2(1.5)	82.0± 1.8(2.5)	207.7± 5.7(2.8)	
	正 常 値	13.9±0.9(6.3)	96.1± 2.6(2.7)	41.6± 1.5(3.7)	81.2± 2.3(2.8)	
猫	高度異常値	129.2±3.5(2.7)	247.6± 5.6(2.4)	303.4± 7.1(2.3)	800.2± 9.0(1.1)	
	中等度異常値	44.2±1.2(2.7)	170.2± 2.5(1.5)	71.4± 1.5(2.1)	166.6± 3.7(2.2)	
	正 常 値	24.1±0.5(1.9)	99.8± 1.6(1.6)	30.2± 0.8(2.5)	25.4± 0.6(2.3)	
牛	高度異常値	118.2±3.6(3.1)	448.4±19.7(4.4)	673.5±36.5(5.4)		2059.0±67.1(3.3)
	中等度異常値	40.5±1.5(3.6)	174.9± 4.4(2.5)	175.7± 3.5(2.0)		76.7± 1.4(1.9)
	正 常 値	14.4±1.1(7.5)	94.2± 1.9(2.0)	49.3± 1.3(2.8)		23.1± 0.8(3.4)

小型で採血の困難な動物を対象とする場合にはとくに望ましい。

サンプルはまったく希釈しないまま乾燥試薬と反応させる。湿式システムでは、希釈（サンプルと液体試薬、あるいは液体試薬同志の混合）の際のピペティング誤差によって希釈混合液中の測定物質濃度が変動し、測定値の再現性が低下する。乾式システムでも希釈を要する機種があり、この場合もピペティング誤差は同様に影響する。しかし、Ref.ではそれがなくて、少々ピペット操作の巧拙は再現性に影響せず³⁾、測定に失敗する心配はほとんどない。今回得られた程度の再現性は、Ref.の操作にとくに習熟していなくても確保できるはずである。

本体は小型軽量であり、検査スペースにあまり余裕のない診療室にも設置しやすい。また、自動車輸送用の台も開発され、電源を入れたら数分間で自動的に測定準備が完了するので、往診先での検査も容易である。したがって、データに信頼性があればかなり活用できる。

信頼度を調べる目的で、まず従来法による成績との相関性を調べた。3つの動物種のサンプルについてRef.とRaBAの両方で測定して比較したところ、両機種の成績には明らかな違いがあり、しかもその程度には動物種差がみられた。一般にどの動物種においても、酵素活性値は測定法により異なる成績が得られるものである。したがって、これらの項目についてはRef.のみならず、それぞれの測定法について動物種別の正常値を把握しておくことが必要である。

いっぽう、BUNとGluは濃度（一定容量のサンプル中の重量）を求めているのであり、通常、測定方法が異なっても測定値はあまり変わるものではない。Ref.とRaBAはいずれも医学領域向けに開発されているため、ヒトのサンプル中の濃度を正確に測定できる³⁾ように調整（吸光度を濃度に換算するコンピュータのcalibration）されている。本論文ではデータを示していないが、コントロール用ヒト血清を用い8日間連日測定して両機種の

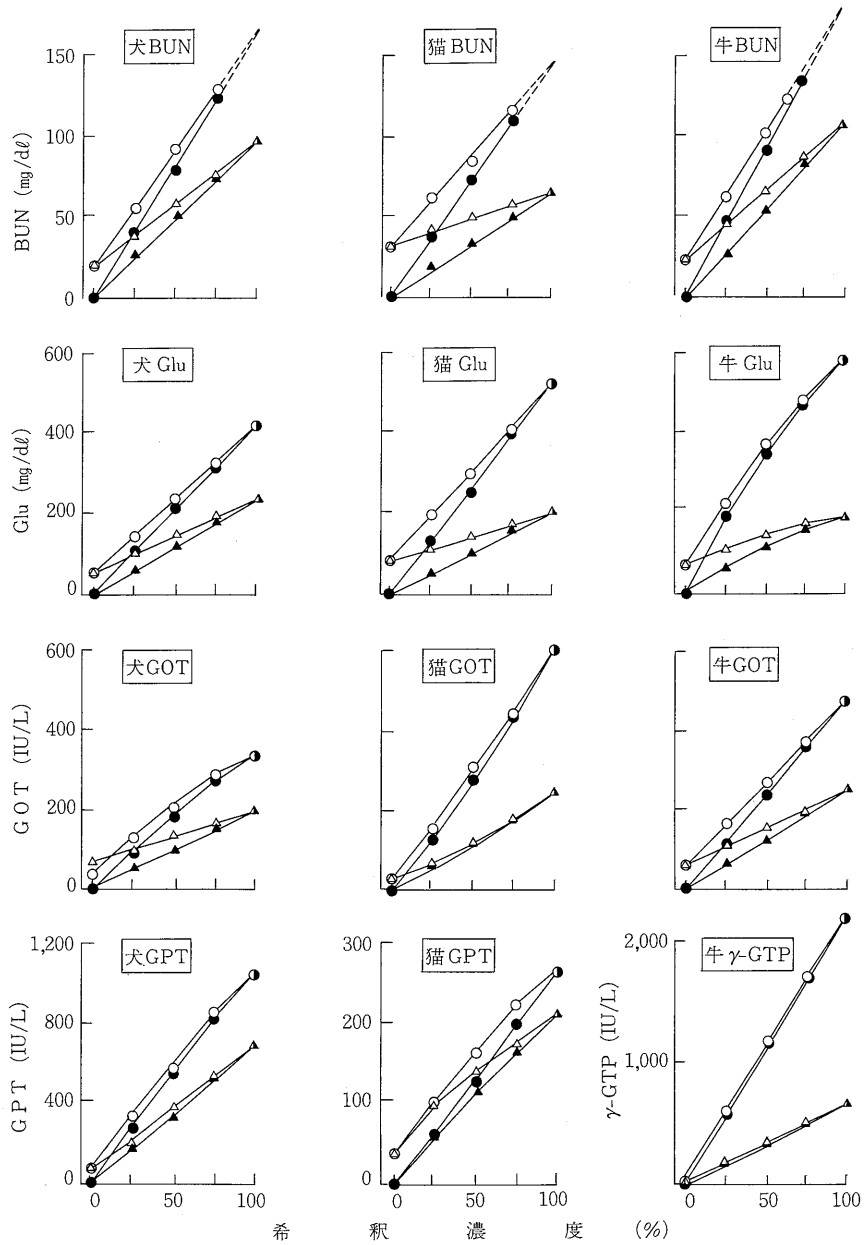
正確度を調べたところ、BUNとGluのいずれにおいてもコントロール範囲内の成績が得られ、しかも両機種による成績には大きな差のないことを確認した。

しかし、組成がヒトのものとは微妙に異なる動物のサンプルに関しては、必ずしもcalibrationが適当とは限らない。とくにRef.の場合、サンプルが希釈されずに反応が行われるため、湿式システムにおける反応以上にサンプル組成の動物種差が大きな影響を及ぼすはずである。したがって、両機種の成績に違いが生じる原因はおもにRef.の側にあると推察される。

すなわち、Ref.で動物サンプルを測定すると、正常のものでも従来法による正常範囲からはずれた値を示すことがある。また、異常のものも、その異常の度合いが従来法とは少し異なって表現される。そのため、Ref.を用いる場合の正常値や、今回示したような従来法による成績との関連性を動物種別に確かめておくことが必要である。Ref.とRaBAの測定値には今回検討したいずれの項目においても高い相関係数が得られており、Ref.と従来法による成績を比較して評価することは十分に可能である。

もう一つの面から信頼度を調べる目的で、希釈直線性の検討を行った。直線性があるということは、Ref.で得られる成績が測定物質の真の濃度と比例することを示している。今回の検討では牛のGluなどで弧を描くものがあった。血液中に存在する測定項目以外の成分（共存物）は、測定の反応を阻害したりあるいは逆に増強させることがある。とくに疾病動物は各種の血液成分に変化をきたしており、こういった共存物を多く含みがちである。そのようなサンプルを同種血清やアルブミン液で希釈すれば、共存物の濃度は低下して測定値への影響度（反応の阻害率あるいは増強率）も弱まり、結果的に希釈直線性を防げることが考えられる。

ヒトのプール血清（多数個体からの余剰血清を混合したもの）を用いたこれまでの報告^{4,6)}では、今回のように弧を描く成績は示されていない。だが仮に、測定反応に



○△：同種動物血清で希釈
 ●▲：精製牛血清アルブミンの生理食塩水溶液（5%）で希釈
 破線部は測定限界外の値を0%と50%希釈の値から計算して求めた

図3 高値血清を希釈したときの測定値（直線性の検討）

大きな影響をおよぼす共存物が一部の患者の血液中で増加しているも、プール血清とした段階で、反応にあまり影響しない程度に希釈されてしまいかねない。したがって、個体からの血清を用いた今回の成績の方が事実をよく反映していると思われる。しかも、Ref.の場合、サンプルを希釈しないまま反応させるので、共存物の影響は

他の方法より強く表われるはずである。しかし、弧を描いたものも直線から大きく離れてはおらず、希釈しないことによって簡易性が向上している Ref. の特性を考えると、許容範囲内の誤差と思われる。

サンプルの値が測定限界を超える場合、その対策として濃度（あるいは活性値）既知の同種血清で希釈して測

定し、計算でそのサンプルの値を求めることとされている（ただし、全血をサンプルにする場合は実施できない）。今回、同種血清の代用品としてアルブミン液について検討したところ、利用が可能であると認められた。これを用いることには次の長所がある。

(1) 希釈用の同種血清を準備しなくても済み、しかも、どの動物種のサンプルも同じもので希釈できる。

(2) アルブミン液の測定値は、いずれの項目においても測定下限未満であり、測定上限を超える高値サンプルと混合する場合はゼロとして計算して差し支えない。

(3) どの機関でも同じもので希釈できる。希釈条件は一定にした方が成績を比較しやすい。

現在、すでにいくつもの乾式システムが普及し始めているが、操作の簡易性、測定可能な項目数、高速処理能力（多項目同時測定システムもある）、本体や試薬の価格など、それぞれ一長一短である。

Ref.の長所は、前述のとおり簡易性とコンパクトさを持ちながら高精度を保っている点にある。短所としては先ず、動物のサンプルについては他の機種による成績と一致しない値を示すことであるが、データを積みかさねて統計処理し、それを活用することによってこの問題は解決できる。

測定可能な項目数は今回検討した5項目のほかにコレステロール、トリグリセライド、ヘモグロビンおよび尿酸の計9項目で、他の乾式システムよりやや少ない。全

項目同じ操作法で測定する方式をとっているため、試薬の開発に難行しているものと思われるが、近いうちにビリルビン、アミラーゼおよびクレアチニンの追加が見込まれ、さらに開発が続けられている¹⁾。前述のとおり、測定時に必要な本体への命令はすべて試薬部分の磁気テープに組み込まれるので、追加開発された項目についても、すでに普及した同システムにそのまま使用できると思われる。

Ref.を用いることにより、労力の軽減と迅速なデータ入手が可能となり、診療の効率化が期待できる。

〔この実験に用いた機器と試薬はベーリンガー・マンハイム・ジャパン(株)の便宜供与を受けた。〕

引用文献

- 1) HIRSCHBERGER, J.: *Tierarztl. Prax.*, 15, 107~111 (1978).
- 2) 白水完治, 阿武雅夫: 山口獣医学雑誌, 12, 85~88 (1985).
- 3) 高木教済, 矢沢直行, 平沢正人, ほか: 機器・試薬, 9, 43~47 (1986).
- 4) 竹内千織, 飯塚建, 林康之: 機器・試薬, 9, 35~42 (1986).
- 5) 安田 準, 戸尾祺明彦: 小動物臨床, 4, 25~32 (1985).
- 6) 山形正人, 山本淳子, 丹波正治: 最新検査, 5, 275~281 (1987).

〈海外文献要録〉

セキセイインコのパポバウイルス様感染

Papovavirus-like Infection in Budgergars (*Melopsittacus undulatus*)

C. J. RANDALL, S. LEES and D. M. INGLIS: *Avian Pathol.*, 16, 623~633 (1987).

1985年の繁殖シーズン中、ふ化直後のセキセイインコ雛2群に、各々20% (119羽中25羽)、53% (75羽中40羽)の死亡率を示す疾病が発生した。臨床症状は5~7日齢にかけてみられ、大部分の雛が皮膚の暗調化を示して後、2~10日の間に死亡した。両群とも同時ふ化群の雛の大部分あるいは一部が罹患し、生残した雛は羽の異常を示した。

両群から7~10日齢4羽、5週齢1羽、成鳥1羽を得て、病理学的、微生物学的に検索した。微生物学的には、1羽から *Providencia alcalifaciens* が検出されたほか、ウイ

ルスならびにクラミジアは分離されなかった。肉眼病変はほとんどなく、組織検索では、皮膚、心臓、腎臓、肝臓、肺、脳、眼に多発性変性病巣があり、これらの病巣内には多くの大型好塩基性核内封入体が見られた。皮膚の封入体を電顕的に検索したところ、直径46~56nmで、パポバウイルス様の形態を示すウイルス粒子が多数認められた。

今回の発生は英国では最初であるが、他の国ではすでに報告されている budgerigar fledgling disease と考えられた。(日本獣医師会雑誌編集委員会)