

酵素法による HbA1c 測定試薬「ノルディア N HbA1c」の基礎的検討

○ 三浦 沙智代、上野 真佑、吉田 雅紀、中本 和男、草尾 恵、宗川 義嗣
奈良県立奈良病院 中央臨床検査部

【はじめに】HbA1c の測定には HPLC 法や免疫法、酵素法が用いられている。当院では日常検査に専用機器を用いて HPLC 法で測定しているが、今回そのダウン対策として汎用自動分析装置で測定可能な酵素法試薬について検討したので報告する。

【使用試薬・機器】検討法は、酵素法「ノルディア N HbA1c」（積水メディカル）を使用し、日立 LAbOSPECT008 で測定した。

【方法】①同時再現性：ノルディア N HbA1c コントロール 2 濃度を 20 回連続測定した。②日差再現性：初日にキャリブレーションした後、試薬を開封したまま機器に搭載し、ノンキャリブレーションでノルディア N HbA1c コントロール 2 濃度（日毎に調製）を 28 日間測定した。③コントロールの安定性：初日にキャリブレーションした後、初日に調製したノルディア N HbA1c コントロール 2 濃度を 5 日間測定した。④相関：比較対照に、HPLC 法の HLC-723G8（東ソー）を用い、当院における外来及び入院患者の NaF/EDTA-2K 加血液を用いて検討を行った。⑤トレーサビリティ：HbA1c 測定用常用参照標準物質 JCCRM411-2(JDS Lot4)を測定した。⑥希釈直線性、⑦Hb 濃度の影響、⑧血球の採取部位の影響：血球の上層、中層、下層から採取し、HbA1c 値を比較した。⑨異常 Hb を確認できている検体について比較した。

【結果】①同時再現性：コントロール L（参考中央値=5.1）の平均値 \bar{X} =5.18 であり、変動係数(CV)=1.21%、コントロール H（9.2）の \bar{X} =9.36、CV=0.88%と良好であった。②日差再現性：コントロール L（4.6）の \bar{X} =4.76、CV=1.85%、コントロール H（9.3）の \bar{X} =9.41、CV=0.90%と良好であった。③コントロールの安定性：コントロール L（4.6）の \bar{X} =4.72、CV=2.28%、コントロール H（9.3）の \bar{X} =9.37、CV=1.12%であった。④相関：HPLC 法(X)と酵素法(Y)で n=152、相関係数 r=0.993、回帰式 Y=0.9894X-0.1326(図)参照)、HbF 含有率 2%未満群(n=138)では、r=0.994、

Y=0.9869X-0.0982、HbF 含有率 2%以上群(n=14)では、r=0.937、Y=0.9071X+0.2136⑤トレーサビリティ：単日反復測定（10 重測定）した平均値は、レベル 1（認証値 4.57 ±0.18）では 4.61、レベル 2（5.19 ±0.16）では 5.18、レベル 3（6.91 ±0.16）では 6.95、レベル 4（9.19 ±0.20）では 9.28、レベル 5（11.65 ±0.24）では 12.02 であった。⑥希釈直線性：HPLC 法で 4.6%と 13.2%の検体を用いて段階希釈し、測定した結果、良好な直線性が確認できた。⑦Hb 濃度：患者検体 2 濃度について、メーカー推奨の前処理試料中 Hb 濃度 90~310 μmol/L において HbA1c 値に影響が無いことを確認した。⑧血球の採取部位によって影響が見られた。⑨異常 Hb は当日スライドで表示する。

【まとめ】本検討の結果、酵素法を原理とした「ノルディア N HbA1c」は、再現性、HPLC 法との相関も良好であり、試薬開封後もノンキャリブレーションで 28 日間の使用に耐え得ることから日常検査法として有用であり、健診など多検体を同時処理するような場合に役立つと考えられる。HPLC 法はヘモグロビンに変異がある場合、クロマトグラムが種々のパターンを呈し、HbA1c 値だけでなく他の糖尿病マーカー測定値との乖離がないか合わせて判断する必要がある。HPLC 法のダウン時の対応としてばかりではなく、変異ヘモグロビンが疑われる場合にも酵素法による確認が有用と考えられる。

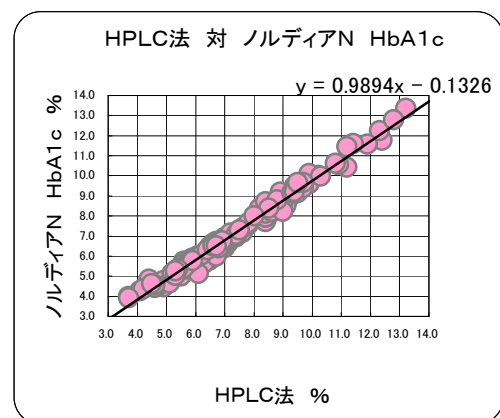


図) 酵素法と HPLC 法の相関