

令和2年度 これだけは知っておきたい宮臨技セミナー

ここに注目！ 血液検査

2021.2.27

末梢血液検査(血球数算定: CBC)

●抗凝固剤の種類

EDTA塩(EDTA・2K、EDTA・3K、EDTA・2Na)

カルシウムイオンキレート剤

血球数算定や血液像にはEDTA・2Kが用いられる

白血球形態の変化が少なく、血小板の凝集がない

※使用濃度: 血液1mLに対し1.5~2.2mg(EDTA・2Kの場合)

●検体保存

血球数算定

- ・室温(20~25°Cくらい)で5時間以内に測定する
- ・測定が翌日になる場合は冷蔵保存(4°C)し、室温に戻してから測定する

血液像

- ・室温(20~25°Cくらい)で遅くとも4時間以内に標本を作製する
時間経過とともに白血球形態の変化が生じるため、保存はきかない

血球数算定(CBC)測定前の注意事項

◆採血量を確認する

- ※採血量が少ない→採血困難であった可能性が高く、凝固している可能性がある
MCV値に影響があることがある
- ※採血量が多い→血液に対して抗凝固剤の相対的割合が減少し、凝固している可能性がある
- ※自動血球分析装置にて測定する場合は、検体量が必要量あるか確認する
確認せずに測定すると、正確な量を吸引できず、正しいデータがでないことがある

★自施設の装置の必要検体量を把握しておくこと！

測定モード	サンプル測定		マニュアル測定
	(クローズ)	(底上げ微量用採血管)	(オープン)
必要な検体量	1.0mL	250 μ L	300 μ L
吸引される検体量	88 μ L	88 μ L	88 μ L

必要検体量以下であれば、希釈して測定する

吸引後に検体不足で測定できなかった...は許されない!!

◆凝固の有無を確認する(特に蓋裏やラベル裏の管壁に注意)

血球数算定(CBC)測定前の注意事項

◆転倒混和を行う

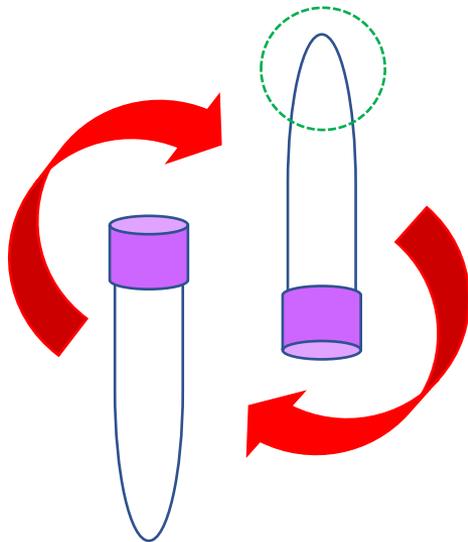
※血液が均一でないと正確なデータは算出されない

※強い攪拌はNG

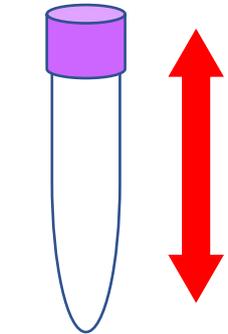
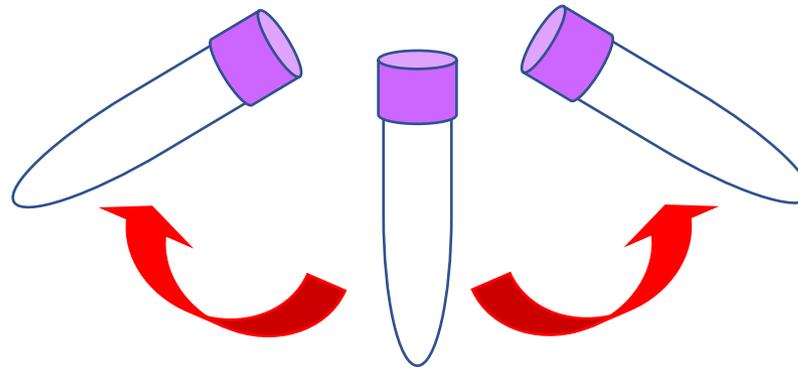
溶血を起こす可能性があるため

微細な気泡が発生し、血小板数に影響を及ぼす可能性があるため

気泡によって血小板が活性化され、凝集を起こす可能性があるため



1回/秒



多項目自動血球分析装置の測定原理

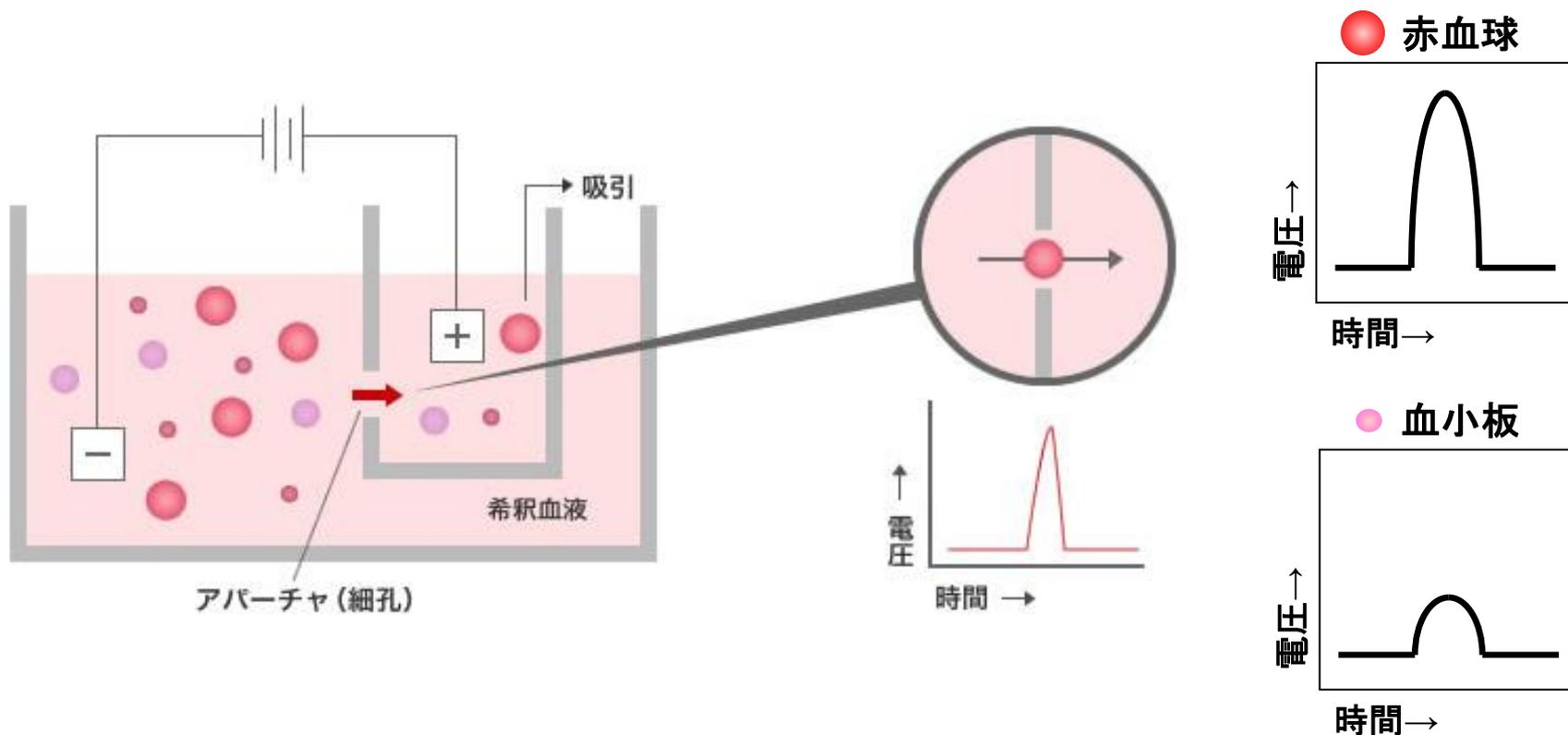
メーカー名	アボット ジャパン	シスメックス	シーメンスヘルスケア・ ダイアグノスティクス	ベックマン・ コールター	堀場製作所	日本光電工業
機種名	Alinity hp	XNシリーズ	アドヴィア 2120i	ユニセル DxH900	Pentra MS CRP	Celltac Es
白血球数	マルチアングル 偏光散乱分離法	半導体レーザーを 使用したFCM法	ハロゲン・レーザー FCM法	電気抵抗法	電気抵抗法	電気抵抗検出 方式/レーザー 散乱光方式
赤血球数	マルチアングル 偏光散乱分離法	シースフローDC 検出法	レーザー2角度 FCM法	電気抵抗法	電気抵抗法	電気抵抗法
ヘモグロビン濃度	イミダゾール Hb法	SLS-HGB法	シアンフリー AAO法	ノンシアン Hb法	比色法 (ノンシアン法)	界面活性剤 Hb法
ヘマトクリット値	RBC・MCVより 計算	赤血球パルス 波高値検出法	RBC・MCVより計算	RBC・MCV より計算		
血小板数	マルチアングル 偏光散乱分離法	シースフローDC 検出法 半導体レーザーを 使用したFCM法	レーザー2角度 FCM法	電気抵抗法 (スイープフ ロー方式)	電気抵抗法	電気抵抗法

参考文献: JAMT技術教本シリーズ 血液検査技術教本第2版
スタンダード検査血液学 第3版

電気抵抗方式 / 光学的方式

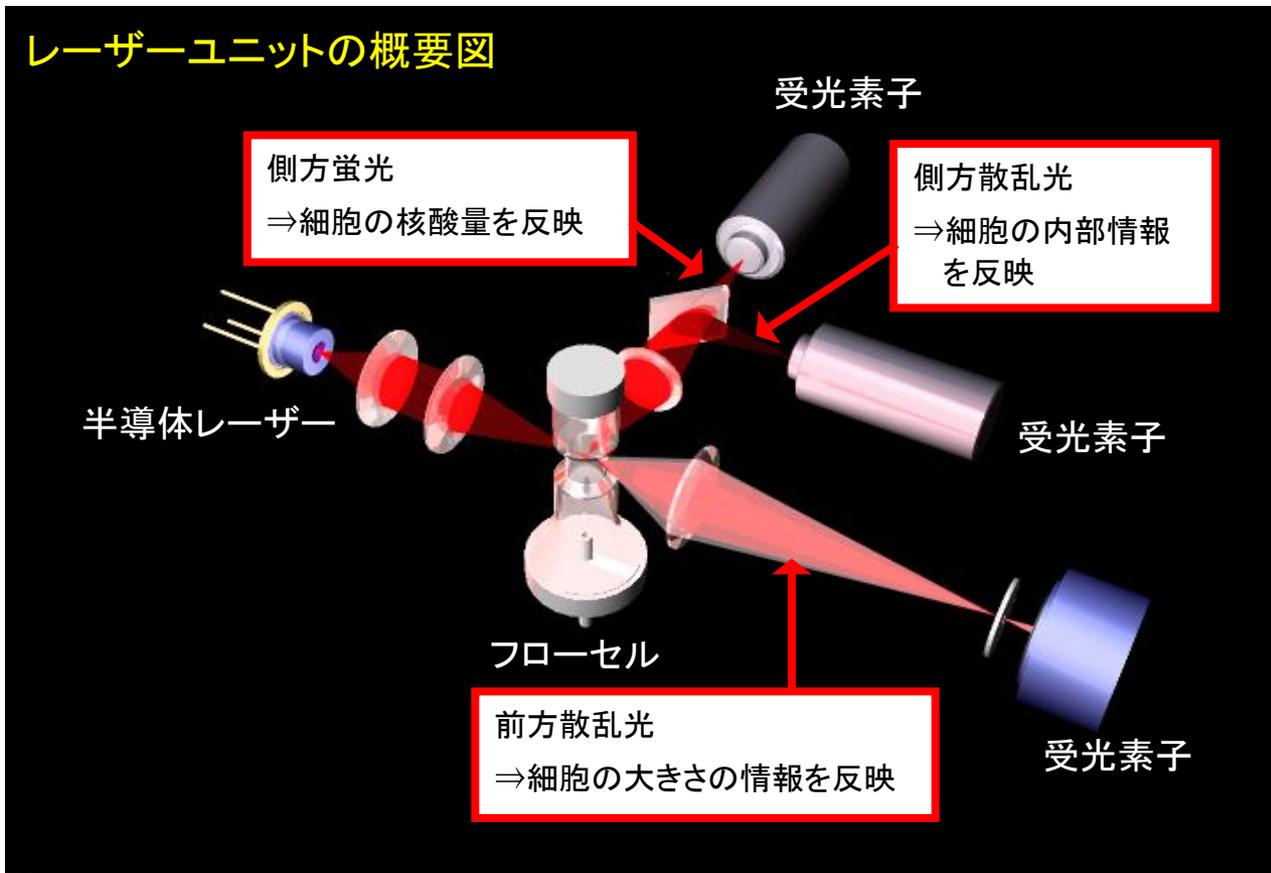
電気抵抗方式

- ・電流を通した液体中で血球が検出孔を通過する際に生じる電気抵抗の変化をパルス信号として得る方法
- ・パルス信号の発生頻度が血球数に相当する
- ・血球の容積に比例して電気抵抗の増加がみられることから血球を分類する



光学的方式

- ・細い流路に希釈した全血を一定の流速で流し、測光部位を通過する細胞にレーザー光を照射すると散乱光が発生する
- ・発生した散乱光の数が血球数に相当する
- ・反射する光線を複数個のレーザー探知機により鑑別し血球を分類する



自動血球計数分析装置の誤差要因

誤差要因	影響する項目				
	WBC	RBC	MCV	Hb	PLT
凝固検体	◎	○		○	◎
血小板凝集	○				◎
フィブリン析出	◎				○
乳び、高ビリルビン	○			◎	◎
赤血球凝集		◎	◎		
有核赤血球	○				
白血球凝集	◎				
白血球著増		◎	◎	○	

◎:大きく影響 ○:影響するときがある 空欄:ほとんど影響しない
 ※影響の程度は測定機種に大きく依存する

参考文献:「JAMT技術教本シリーズ 血液検査技術教本 第2版」

システムの限界について(測定結果への影響)

項目	偽高値(増加)	偽低値(減少)
白血球数	血小板凝集 寒冷蛋白 クリオグロブリン フィブリン 巨大血小板	白血球凝集
赤血球数	白血球増加(>100,000/ μ L) 巨大血小板	赤血球凝集(寒冷凝集素) 小球性赤血球 破碎赤血球
ヘモグロビン濃度	白血球増加(>100,000/ μ L) 高脂血症 異常蛋白質	
ヘマトクリット値	白血球増加(>100,000/ μ L) 重度の糖尿病 尿毒症 球状赤血球	赤血球凝集(寒冷凝集素) 小球性赤血球 破碎赤血球
血小板数	小球性赤血球 破碎赤血球 寒冷蛋白 クリオグロブリン	血小板凝集 偽性血小板減少 巨大血小板

白血球数

基準値： $3.3 \sim 8.6 \times 10^9/L$

* $10.0 \times 10^9/L$ 以上を増加症、 $3.0 \times 10^9/L$ 以下を減少症

- ・性差はないが年齢差がある
新生児は $20.0 \times 10^9/L$ 前後と増加
高齢者では減少傾向
 - ・生理的変動がみられる
喫煙者やストレスで増加傾向
朝方低値、夕方にかけて増加(日内変動):変動幅10%程度
冬に高値、夏に低値(季節変動)
食後は増加傾向(高タンパク食後は20~40%程度増加)
運動後2時間以内は増加
毛細血管では静脈血より5~15%増加
- 好中球は朝低く、夕方にかけて増加した後減少する
リンパ球は夕方から夜にかけて増加する
好酸球は昼間に低く、夜から朝にかけて増加する

白血球数増加を認めたら・・・

・血液・造血器疾患？

貧血の有無、血小板数の確認

→他系統にも異常がみられる場合は血液疾患の可能性が高い

・腫瘍性？非腫瘍性？

LDや尿酸のデータを確認

→腫瘍性の場合はLDや尿酸値の上昇を伴うことが多い

・感染症？炎症？

CRPなどの炎症マーカーの確認

→細菌性感染症、伝染性単核症

白血球数減少を認めたら・・・

・血液・造血器疾患？

貧血の有無、血小板数の確認

→他系統にも異常がみられる場合は血液疾患の可能性が高い

三系統の減少(汎血球減少: pancytopenia)は急性白血病、骨髄異形成症候群(MDS)、再生不良性貧血を念頭に置く

・感染症？

CRPなどの炎症マーカー、ウイルス抗体価の確認

→ウイルス感染症、重症の細菌感染症(敗血症)

白血球分類を確認(相対的変化):好中球優位?リンパ球優位?

各分画の絶対数を求める(絶対的変化)

* 各分画の増加症、減少症を評価する場合は絶対数で評価する

好中球 (38.0~74.0%)

増加症 : $7.5 \times 10^9/L$ 以上

$10.0 \sim 20.0 \times 10^9/L$ (軽度)

$20.0 \sim 50.0 \times 10^9/L$ (中等度)

$50.0 \times 10^9/L$ 以上 (高度)

減少症 : $1.5 \times 10^9/L$ 以下

$1.0 \sim 1.5 \times 10^9/L$ (軽ないし中等度)

$0.5 \sim 1.0 \times 10^9/L$ (高度)

$0.5 \times 10^9/L$ 以下 (無顆粒球症)

好酸球 (0.0~8.5%)

増加症 : $0.5 \times 10^9/L$ 以上

$0.5 \sim 1.0 \times 10^9/L$ (軽度)

$1.0 \sim 4.0 \times 10^9/L$ (中等度)

$4.0 \times 10^9/L$ 以上 (高度)

好塩基球 (0.0~2.5%)

増加症 : $0.050 \times 10^9/L$ 以上

単球 (2.0~10.0%)

増加症 : $0.8 \times 10^9/L$ 以上

$1.0 \times 10^9/L$ 以上が持続 (慢性型)

$5.0 \times 10^9/L$ 以上が持続 (急性型)

リンパ球(16.5~49.5%)

増加症：(成人) $4.0 \times 10^9/L$ 以上
(小児) $8.5 \times 10^9/L$ 以上

減少症：(成人) $1.0 \times 10^9/L$ 以下
(小児) $3.0 \times 10^9/L$ 以下

★リンパ球の増加・減少の評価は、まず年齢を確認！

年齢	リンパ球数 ($\times 10^9/L$)	範囲($\times 10^9/L$)
12ヶ月	7.0	4.0~10.5
4歳	4.5	2.0~8.0
6歳	3.5	1.5~7.5
10歳	3.1	1.5~6.5
21歳	2.5	1.0~4.8

小児では、全身のリンパ組織が発達しており、何らかの刺激を受けるとリンパ球増加をきたしやすい

(4歳 男児)

WBC	8.7	$\times 10^9/L$
RBC	5.09	$\times 10^{12}/L$
Hb	13.9	g/dL
Ht	39.4	%
MCV	77.4	fL
MCH	27.3	pg
MCHC	35.3	g/dl
PLT	303	$\times 10^9/L$
NEUT	27.7	%
LYMPH	65.4	%
MONO	3.9	%
EOSIN	2.8	%
BASO	0.2	%

リンパ球数
5,689/ μ L

(20代 女性)

WBC	8.5	$\times 10^9/L$
RBC	2.84	$\times 10^{12}/L$
Hb	10.1	g/dL
Ht	28.5	%
MCV	100.4	fL
MCH	35.6	pg
MCHC	35.4	g/dl
PLT	118	$\times 10^9/L$
NEUT	30.3	%
LYMPH	57.4	%
MONO	11.3	%
EOSIN	0.8	%
BASO	0.2	%

リンパ球数
4,879/ μ L

(50代 男性)

WBC	10.7	$\times 10^9/L$
RBC	4.93	$\times 10^{12}/L$
Hb	16.5	g/dL
Ht	46.8	%
MCV	94.9	fL
MCH	33.5	pg
MCHC	35.3	g/dl
PLT	131	$\times 10^9/L$
NEUT	40.2	%
LYMPH	53.0	%
MONO	6.1	%
EOSIN	0.0	%
BASO	0.7	%

リンパ球数
5,671/ μ L

70歳代男性の末梢血検査の結果です
どんな疾患を疑いますか？

WBC	160.6	× 10⁹/L
RBC	3.12	× 10¹²/L
Hb	11.1	g/dL
Ht	32.0	%
MCV	102.6	fL
MCH	35.6	pg
MCHC	34.7	g/dl
PLT	64	× 10⁹/L
NEUT	16.8	%
LYMPH	48.5	%
MONO	34.6	%
EOSIN	0.0	%
BASO	0.1	%

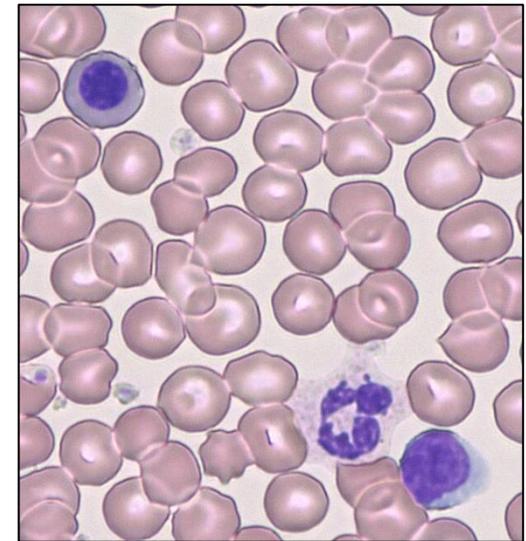
WBC	160.6	$\times 10^9/L$
RBC	3.12	$\times 10^{12}/L$
Hb	11.1	g/dL
Ht	32.0	%
MCV	102.6	fL
MCH	35.6	pg
MCHC	34.7	g/dl
PLT	64	$\times 10^9/L$
NEUT	16.8	%
LYMPH	48.5	%
MONO	34.6	%
EOSIN	0.0	%
BASO	0.1	%

白血球数著増

- ・白血球数を含んだ数を赤血球数としている装置では赤血球数が偽高値となる
※赤血球数と白血球数の絶対数の違いを考慮したもの
- ・キャリーオーバーにより次検体の白血球数が偽高値となることがある

有核赤血球(赤芽球)の出現

- ・骨髄には赤芽球を末梢血に放出しない機構がある
⇒腫瘍細胞が転移してその機構が破壊されると赤芽球が末梢血に漏れ出る
- ・溶血が強く、骨髄での十分な補充が成されない時
⇒脾臓や肝臓に定着した幹細胞の増殖が起こる(髄外造血)
脾臓や肝臓には成熟血球のみを放出する機構がないので有核赤血球が出現する



新生児・赤白血病・溶血性貧血・悪性貧血・骨髄線維症・癌の骨転移などで末梢血中に赤芽球の出現を認めることがある

★自動血球計数器では白血球測定時に血液を溶血させ、残存細胞を白血球として測定する。赤芽球の残存した核がリンパ球と近似しており、リンパ球としてカウントされてしまう。



白血球数偽高値

白血球100個カウント中に赤芽球が何個出現しているかを数え、下記の補正式より白血球数を補正する

$$\text{真のWBC数} = \frac{\text{装置でのWBC数} \times 100}{100 + \text{有核赤血球数}(/100\text{WBC})}$$

赤血球数

基準値：男性 $4.35 \sim 5.55 \times 10^{12}/L$
女性 $3.86 \sim 4.92 \times 10^{12}/L$

- ・性差、年齢差がある

 - 新生児は高め

 - 男性は加齢とともに低くなる

 - 女性は加齢による変化は少ない

- ・生理的変動

 - 午前に若干高く、午後減少する(変動幅:5%前後)

 - 喫煙者では一酸化Hbが増加するため、赤血球増加をきたす

 - 高地に居住している人は酸素濃度の低下に応じて増加する

 - 毛細血管は静脈血より約10%高くなる

 - (毛細血管は赤血球がうっ滞し、水分量が少ないため)

 - 立位に比べ、臥位では約10%低くなる

 - (立位では血液濃縮、臥位では血液希釈がおこるため)

ヘモグロビン濃度

基準値：男性 13.7～16.8 g/dL
女性 11.6～14.8 g/dL

ヘマトクリット値

血液中に占める 赤血球容積の割合

基準値：男性 40.7～50.1 %
女性 35.1～44.4 %

MCV (平均赤血球容積)

赤血球1個の平均容積

基準値：83.6～98.2 fL

$$\text{MCV} = \frac{\text{Ht}(\%)}{\text{RBC}(10^{12}/\text{L})} \times 10$$

MCH (平均赤血球ヘモグロビン量)

基準値：27.5～33.2 pg

$$\text{MCH} = \frac{\text{Hb}(\text{g/dL})}{\text{RBC}(10^{12}/\text{L})} \times 10$$

MCHC (平均赤血球ヘモグロビン濃度)

基準値：
31.7～35.3 g/dL

$$\text{MCHC} = \frac{\text{Hb}(\text{g/dL})}{\text{Ht}(\%)} \times 100$$

赤血球恒数による貧血の分類

小球性低色素性貧血 MCV \leq 80fL、 MCHC \leq 30g/dL	正球性正色素性貧血 MCV 81~100fL、 MCHC 31~36g/dL	大球性貧血 MCV \geq 101fL
鉄欠乏性貧血 サラセミア 鉄芽球性貧血 無トランスフェリン血症	溶血性貧血 (AIHA、HS*など) 急性出血 腎性貧血 赤芽球癆 腫瘍の骨髄浸潤 急性白血病 血球貪食症候群	巨赤芽球性貧血 (ビタミンB12・ 葉酸欠乏) 肝疾患 甲状腺機能低下症 網赤血球の著増
小球性～正球性		正球性～大球性
慢性疾患（感染、炎症、腫瘍 など）に伴う貧血		再生不良性貧血 骨髄異形成症候群

* 遺伝性球状赤血球症
正球性高色素性貧血
MCHC $>$ 36g/dL

★ 骨髄異形性症候群 $>$ 110fL
★ 巨赤芽球性貧血 $>$ 120fL

網赤血球数

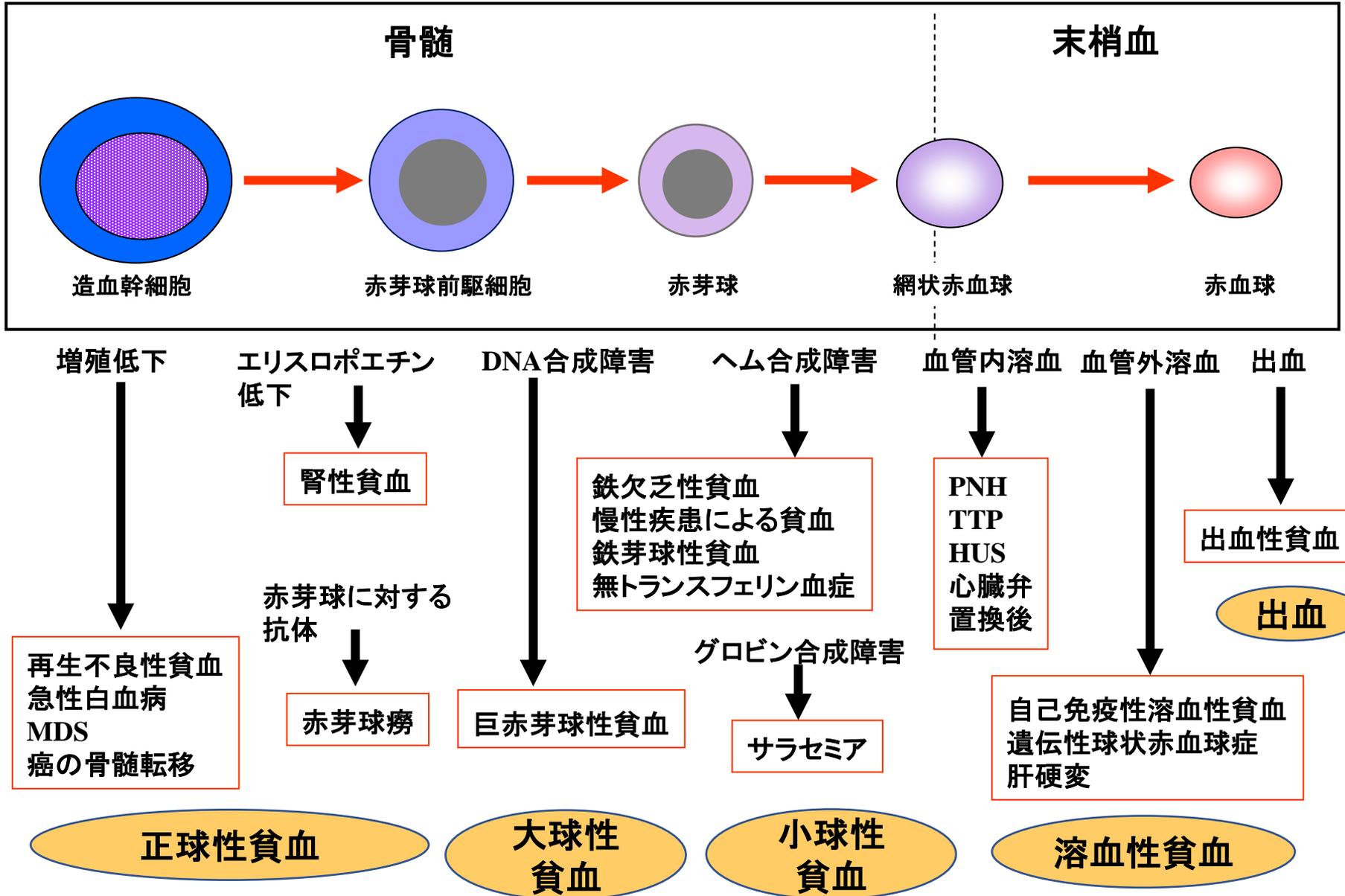
基準値: 0.8~2.2%、3~9万/ μ L

網赤血球はリボソームRNAが残存する未熟な赤血球
超生体染色(ニューメチレン青など)によって網状に染まる
骨髓における赤血球系細胞の産生状況を反映している

網赤血球数	病態
著しい増加	1) 溶血 2) 急性出血 3) 造血抑制、造血因子欠乏からの回復期
正常	1) 造血因子欠乏(鉄欠乏) 2) エリスロポエチン産生低下(慢性腎疾患) 3) エリスロポエチン反応性低下(慢性疾患)
低下	1) 重症骨髓疾患(白血病、再生不良性貧血) 2) 骨髓抑制(薬剤、放射線、毒素、感染症)

巨赤芽球性貧血や骨髓異形成症候群では骨髓では赤芽球過形成にもかかわらず、末梢血中の網赤血球は増加しない→無効造血

【成因による貧血の分類】



貧血のアプローチ

- ◆ 異常が赤血球系のみか、白血球系・血小板系に及んでないかを確認する
- ↓
- ◆ 赤血球恒数(MCV、MCH、MCHC)に基づく貧血の分類を考える
- ↓
- ◆ 網赤血球の増減から、有効造血か無効造血であるか、また、どこでどの段階で起きているのか推測する
- ↓
- ◆ 末梢血標本から赤血球形態などに詳しい分析を行う
- ↓
- ◆ 必要であれば骨髄検査に進む

このデータ このまま結果送信しますか？



WBC	7.6	× 10⁹/L
RBC	2.60	× 10¹²/L
Hb	10.9	g/dL
Ht	24.3	%
MCV	93.5	fL
MCH	41.9	pg
MCHC	44.9	g/dl
PLT	253	× 10⁹/L

WBC	7.6	$\times 10^9/L$
RBC	2.60	$\times 10^{12}/L$
Hb	10.9	g/dL
Ht	24.3	%
MCV	93.5	fL
MCH	41.9	pg
MCHC	44.9	g/dl
PLT	253	$\times 10^9/L$

HbとHtのバランスがおかしい！
正常な比率 Hb:Ht=1:3

MCHCの正常域 31~36 g/dL
MCHCが正常域より高くなる症例
・新生児(生後1~4週間)
・遺伝性球状赤血球症(HS)

★MCHCは異常高値を示すことはない

37g/dLを超えた場合はRBC、Hb、Htのどれかに測定誤差が生じていることが推測される

赤血球凝集

- ・寒冷凝集素症やマイコプラズマ肺炎など寒冷凝集素が高い場合、赤血球凝集を起こす
- ・凝集塊の大きさや形状は不規則で、種々に変形して結合する

★凝集した赤血球はひとかたまりとなっているため、1個ずつカウントできない



赤血球数、ヘマトクリット値偽低値
ヘモグロビン濃度は影響を受けない



MCH、MCHC偽高値

- ・採血管を確認し管壁にざらつきが見られるかをチェック
 - ※ざらつきが確認できる場合は寒冷凝集素の力価が高値のことが多い
- ・末梢血塗抹標本を作製し、赤血球凝集の有無をチェック

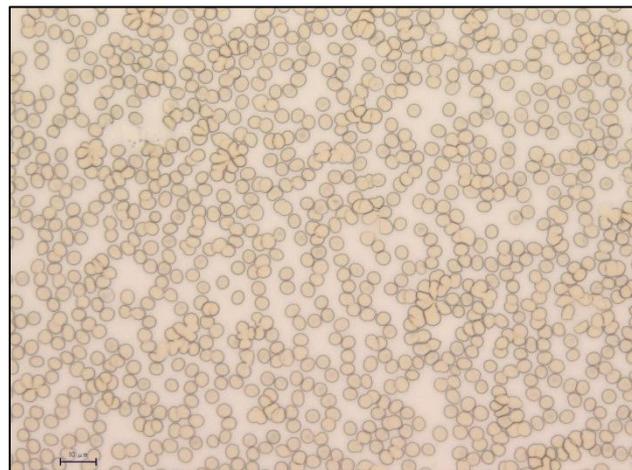
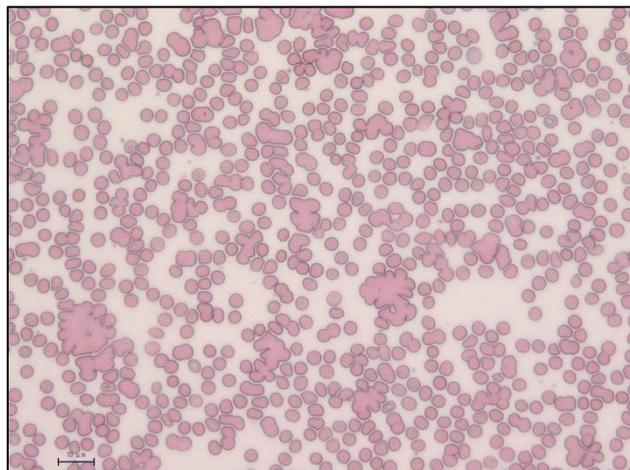


検体を37°Cで15～30分加温し、ただちに再測定する
改善が見られない場合は加温時間を延長する

- ※加温前後で塗抹標本を作製し、赤血球凝集の有無をチェック
- ※加温により血小板凝集を起こすこともあるので注意する
- ※自己免疫性溶血性貧血(AIHA)では加温しても解離しない

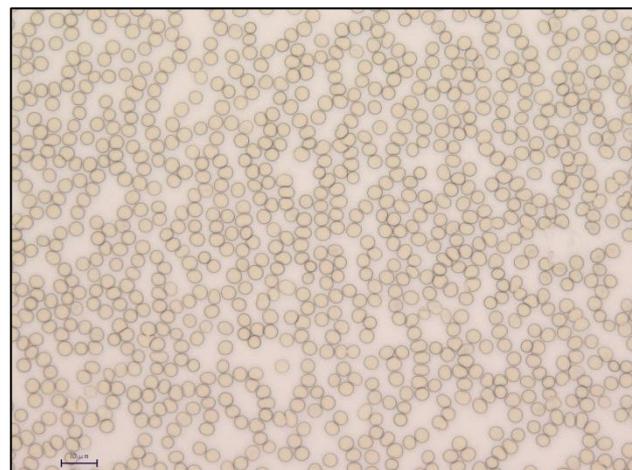
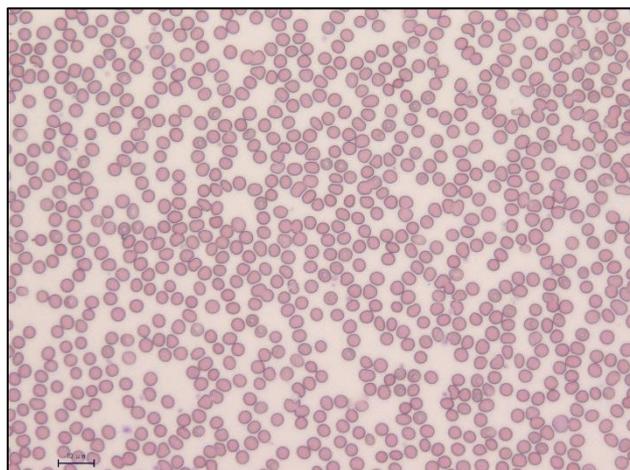
1回目

WBC	7.6	$\times 10^9/L$
RBC	2.60	$\times 10^{12}/L$
Hb	10.9	g/dL
Ht	24.3	%
MCV	93.5	fL
MCH	41.9	pg
MCHC	44.9	g/dl
PLT	253	$\times 10^9/L$

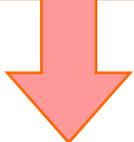


37°C15分加温後

WBC	7.3	$\times 10^9/L$
RBC	3.73	$\times 10^{12}/L$
Hb	10.9	g/dL
Ht	31.6	%
MCV	84.7	fL
MCH	29.2	pg
MCHC	34.5	g/dl
PLT	242	$\times 10^9/L$



このデータ このまま結果送信しますか？



WBC	10.4	$\times 10^9/L$
RBC	4.39	$\times 10^{12}/L$
Hb	17.8	g/dL
Ht	43.1	%
MCV	98.2	fL
MCH	40.5	pg
MCHC	41.3	g/dl
PLT	218	$\times 10^9/L$

乳び検体(高脂血症)

ヘモグロビンの測定は比色法にて測定するため、乳びが強い検体では、ヘモグロビンの値が偽高値となってしまう



ヘモグロビン濃度偽高値



MCH, MCHC偽高値

検体を遠心し、血漿のヘモグロビン濃度を測定し、以下の補正式にて補正する

$$\text{補正Hb} = \text{全血Hb} - (1 - \text{Ht}) \times \text{血漿Hb}$$

※補正後、補正Hb値を利用し、MCH, MCHCも再計算する

WBC	10.4	× 10 ⁹ /L
RBC	4.39	× 10 ¹² /L
Hb	17.8	g/dL
Ht	43.1	%
MCV	98.2	fL
MCH	40.5	pg
MCHC	41.3	g/dl
PLT	218	× 10 ⁹ /L

血漿Hb=5.5g/dL

$$17.8 - (1 - 0.431) \times 5.5$$

WBC	10.4	× 10 ⁹ /L
RBC	4.39	× 10 ¹² /L
Hb	14.7	g/dL
Ht	43.1	%
MCV	98.2	fL
MCH	33.4	pg
MCHC	34.1	g/dl
PLT	218	× 10 ⁹ /L

ヘマトクリット値・MCV

- ◆ ドーナツ型の赤血球を球状化させてから測定するのが一般的
球状化: 膨化させる or 圧縮させる
※ 血球と希釈液の浸透圧の差を利用している
→ Ht、MCVは血清浸透圧の影響を受けることがある
- ◆ 電気抵抗や散乱光の変化量からMCVを求め、計算によりHtを算出
or
赤血球のパルス波の高さの総和からHtを求め、計算によりMCVを算出
- ★ 検体を室温保存すると、赤血球は膨化する傾向にある
→ MCV、Htは上昇する

血小板数

基準値：158～348 × 10⁹/L

*** 450 × 10⁹/L以上を増加症、100 × 10⁹/L以下を減少症**

- ・性差、年齢差はない
- ・生理的変動
 - 激しい運動の直後に増加することがある
 - 過度の飲酒で減少することがある
 - 毛細血管では静脈血より少なくなる
(穿刺部位に血小板が粘着凝集するのが一因)
- ・総数の約2/3は循環血液中に、残りの1/3は脾臓内にプールされている
- ・巨核球の増殖、分化促進作用を持つサイトカイン
→トロンボポエチン(主に肝臓で生成される)

★問題になるのは、血小板減少時

- 5万/μL以下・・・抜歯や手術を行うと止血困難となる
- 2万～3万/μL・・・小さな傷からも出血を起こしやすい
- 1万/μL以下・・・非常に危険な状態になる
傷がなくても出血するようになる

血小板凝集

- ・採血の手技によるもの(採血困難、小児採血)
- ・EDTAによる血小板凝集(EDTA依存性偽性血小板減少症)

★血小板が凝集し、凝集塊を形成

凝集塊はサイズが大きいため、分析装置では血小板と認識されない。



血小板数偽低値

血小板数低値を認めたら凝固や血小板凝集を確認する

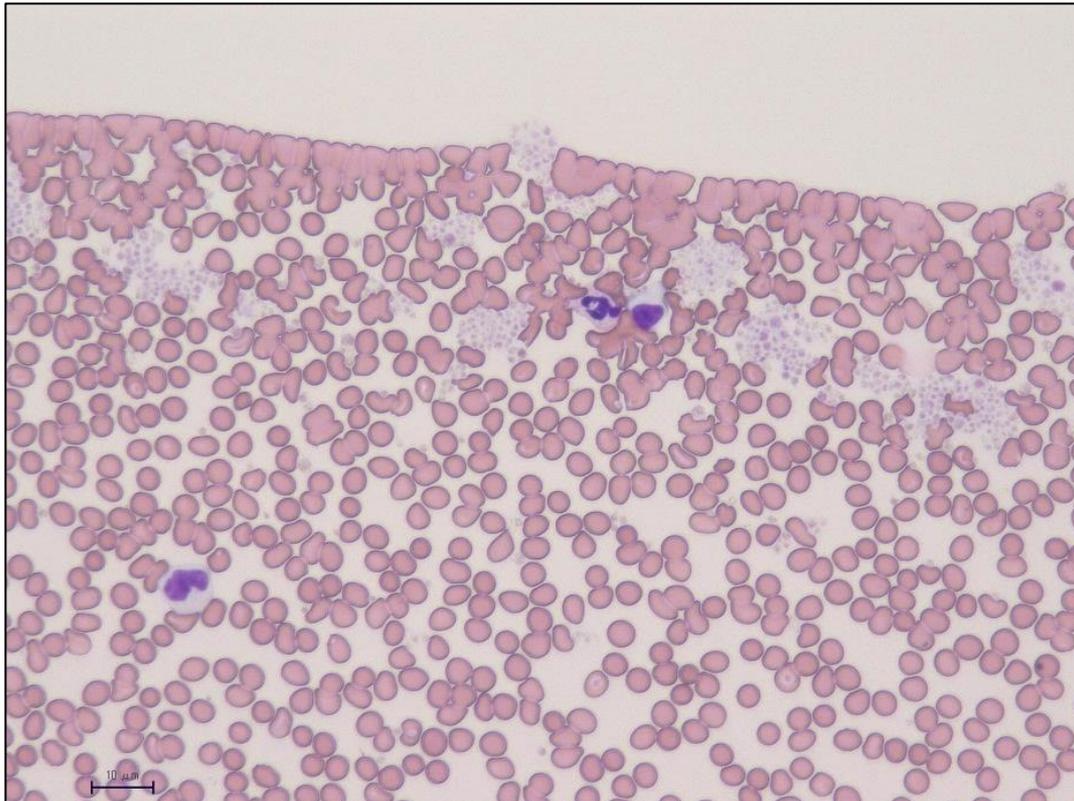
- ・もう一度採血管を確認し凝固の有無をチェック
- ・血液塗抹標本を作製し、フィブリン析出の有無や血小板凝集の有無をチェック

採血の手技が原因と考えられる場合は、再度採血を依頼

EDTAによる血小板凝集を疑う場合は、他の抗凝固剤の採血管で採血してもらう

EDTA依存性偽性血小板減少症(EDP)

- ・出現頻度はCBC測定件数の0.03~0.1%といわれている
- ・EDTAの存在下で免疫グロブリンが血小板のGPIIb/IIIa(CD41/CD61)やGPIbと反応し血小板を凝集させると考えられている
- ・血小板を凝集させる免疫グロブリンの産生機序については明らかではない
- ・採血から測定までの時間が長くなると凝集が進み、血小板数は経時的に減少するものが多い



EDTA依存性偽性血小板減少症(EDP)の対処法

採血時

- ◆ 採血後、即座に測定する
 - ※ 抗凝固剤を用いない方がよい
- ◆ 他の抗凝固剤を用いる
 - クエン酸Na(凝固用)、NaF(血糖用)、MgSO₄飽和液
 - ※ ヘパリンは血小板凝集を起こしやすいので推奨しない
- ◆ カナマイシンを添加して採血する

採血後

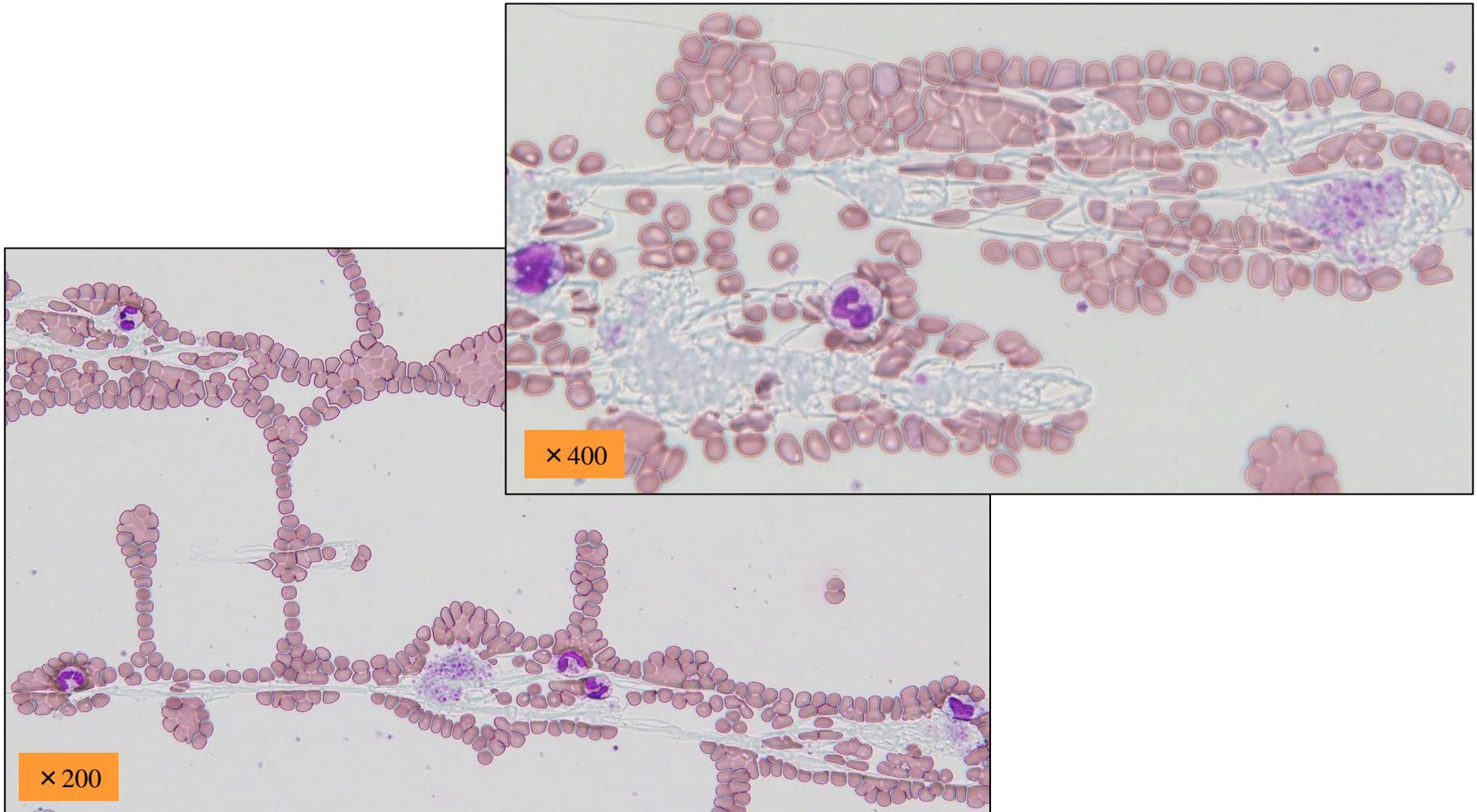
- ◆ 採血後30分以内にカナマイシンを添加する
- ◆ クロロキン製剤(ガンマクイーン)とEDTA血を1:1の割合で混和し10分放置し測定する
- ◆ 過剰のEDTA(20~40倍)を添加する
- ◆ ボルテックスミキサーで2分間攪拌する
- ◆ GPIIb/IIIaやGPIbに対するモノクローナル抗体を添加する

参考文献:「JAMT技術教本シリーズ 血液検査技術教本 第2版」

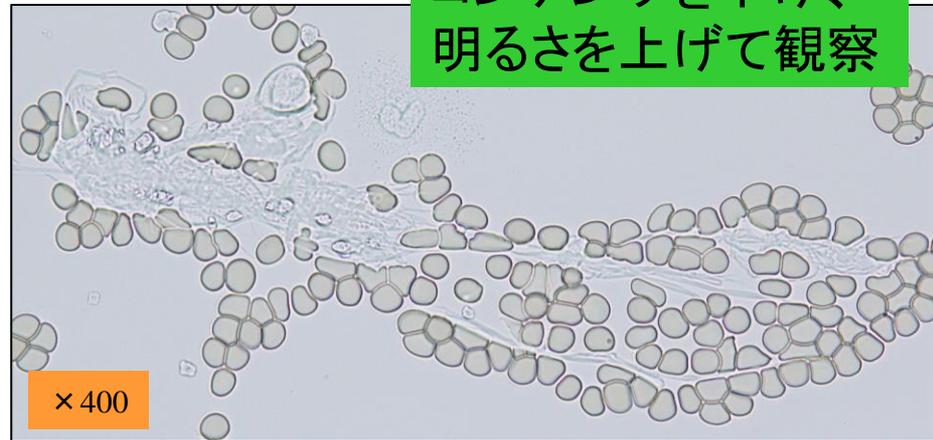
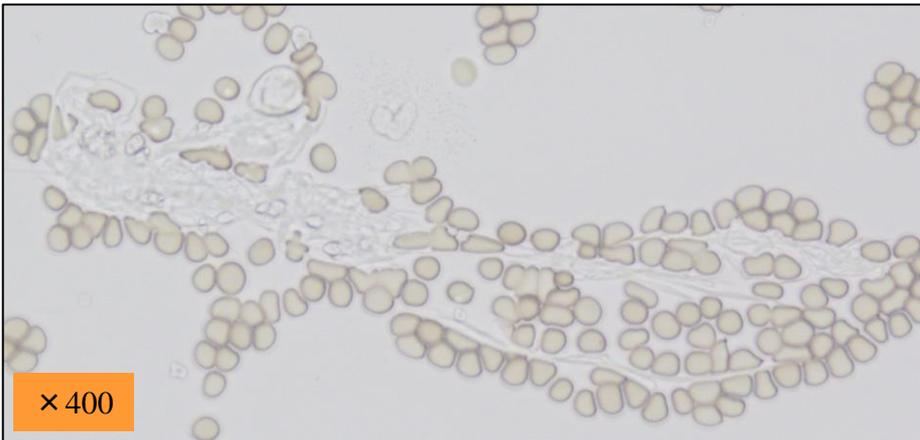
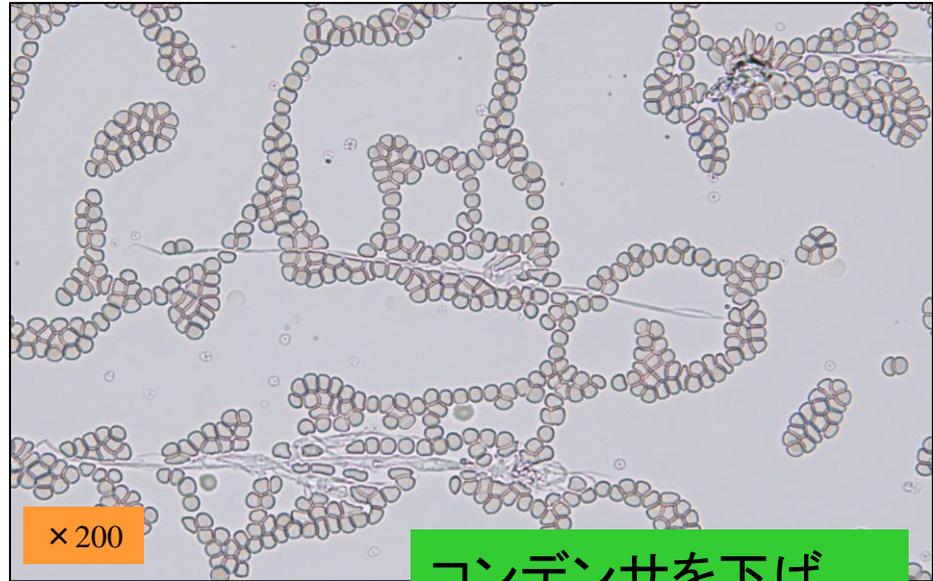
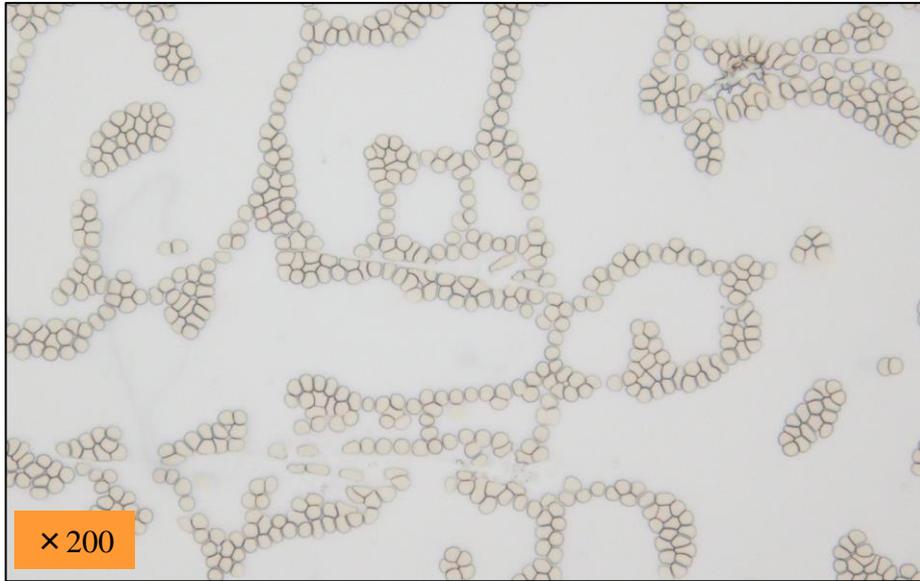
採血困難とEDPとの鑑別

採血困難による場合は血小板凝集と同時にフィブリン析出を認める

採血時1回で血管に針を挿入できず、血管を探って時間がかかった場合、針先から組織液が混入しフィブリン析出がみられる



フィブリン析出は無染色でも観察できる



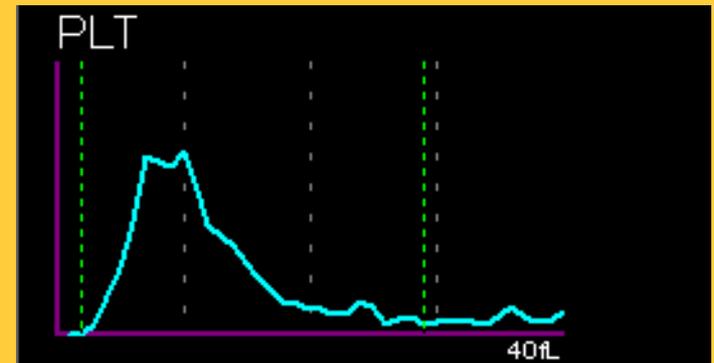
ただし…少数のフィブリン析出や小さな血小板凝集塊を見つけるのは困難なため、フィブリン析出や血小板凝集が無いと判断するには染色が必要

このデータ このまま結果送信しますか？

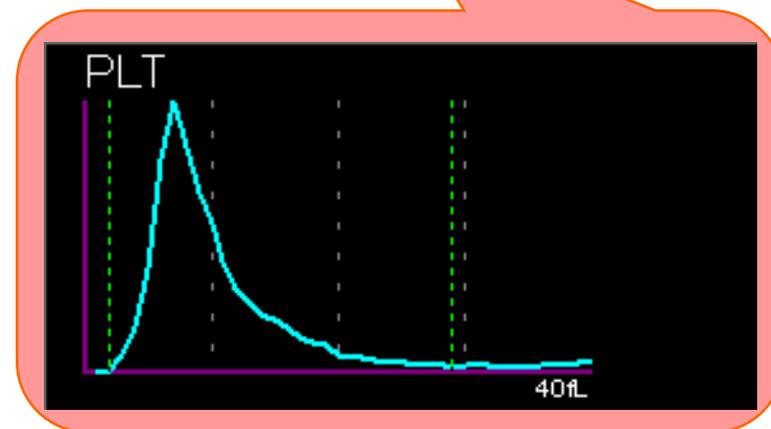
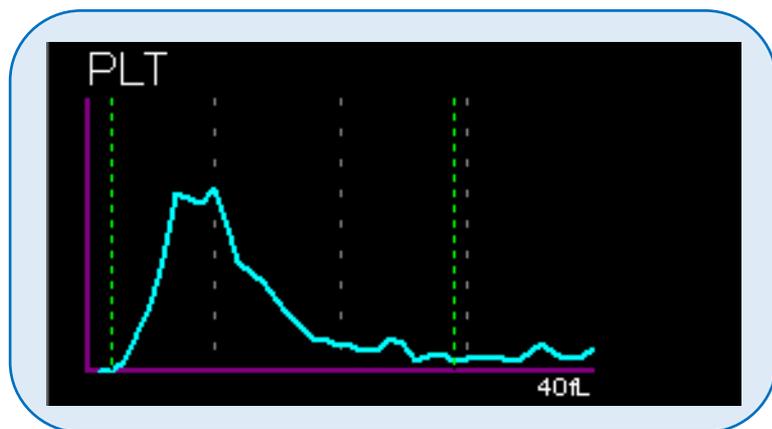


	前日	当日
WBC ($\times 10^9/L$)	8.8	7.5
RBC ($\times 10^{12}/L$)	4.13	3.99
Hb (g/dL)	13.4	13.1
Ht (%)	38.8	37.8
MCV (fL)	92.4	94.7
MCH (pg)	32.4	32.8
MCHC (g/dL)	34.5	34.7
PLT ($\times 10^9/L$)	160	51

<血小板 粒度分布図>



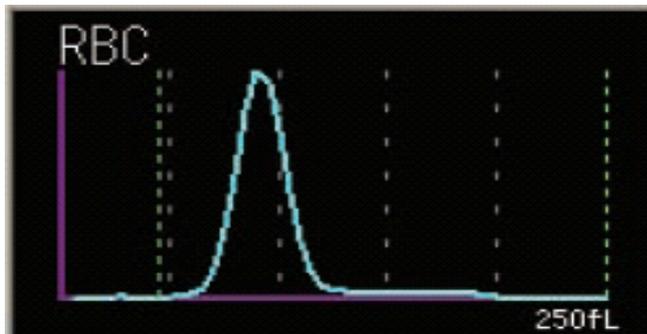
	前日	当日	再採血
WBC ($\times 10^9/L$)	8.8	7.5	8.8
RBC ($\times 10^{12}/L$)	4.13	3.99	4.13
Hb (g/dL)	13.4	13.1	13.4
Ht (%)	38.8	37.8	38.8
MCV (fL)	92.4	94.7	93.9
MCH (pg)	32.4	32.8	32.4
MCHC (g/dL)	34.5	34.7	34.5
PLT ($\times 10^9/L$)	160	51	160



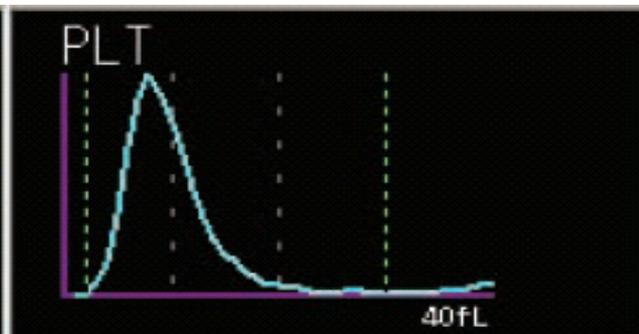
粒度分布図(ヒストグラム)

<正常なヒストグラム>

- ・高さ0からスタートしてピークを描いた後に0まで落ちる
- ・ピークが滑らかな直線を描く(ただし数値が低いときにはある程度歪になる)

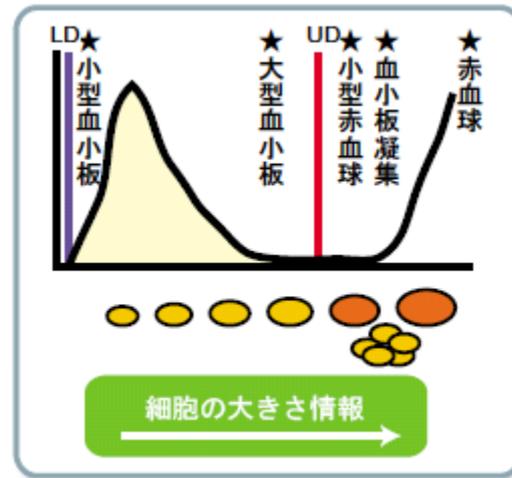
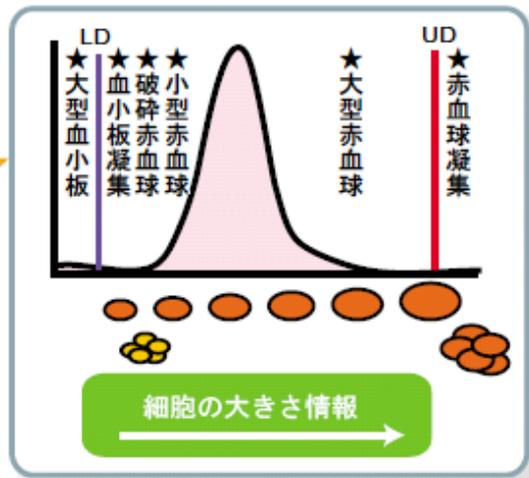


RBC粒度分布図



PLT粒度分布図

<粒度分布図に異常を及ぼすもの>

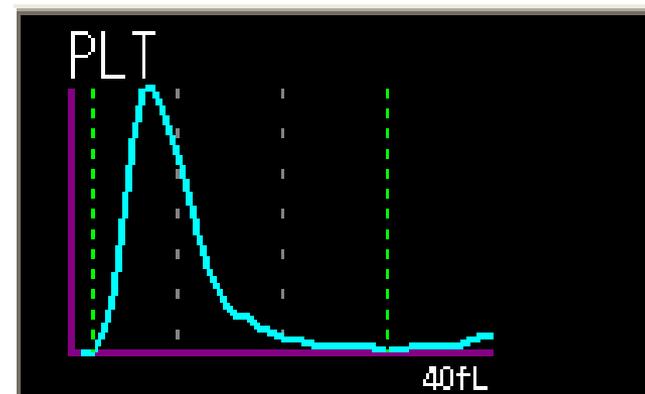
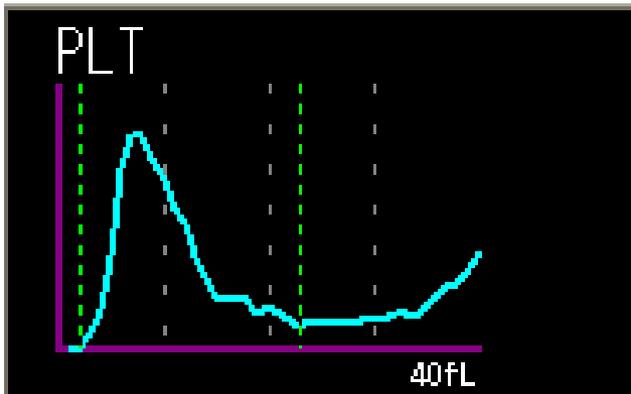


初回値

WBC	4.3	$\times 10^9/L$
RBC	4.71	$\times 10^{12}/L$
Hb	15.0	g/dL
Ht	43.9	%
MCV	93.2	fL
MCH	31.8	pg
MCHC	34.2	g/dl
PLT	40	$\times 10^9/L$

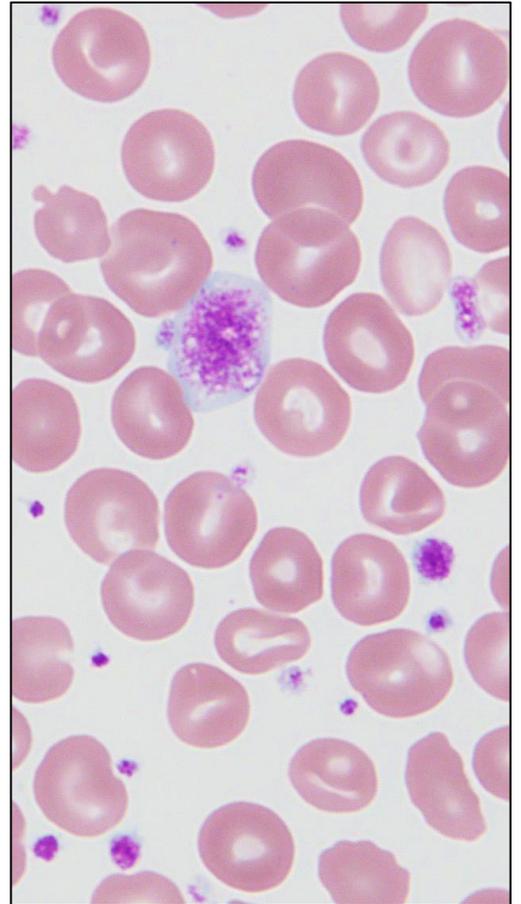
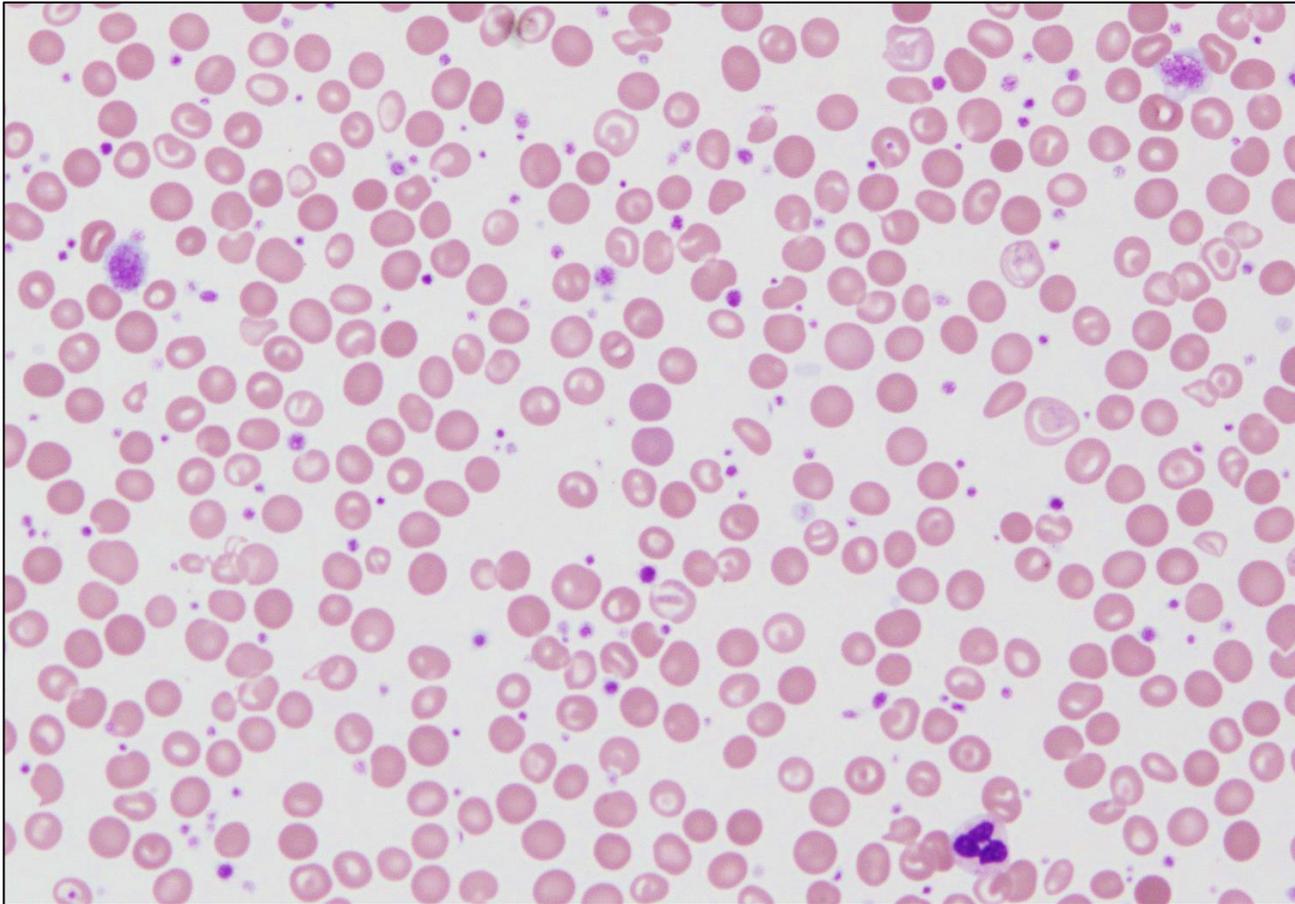
再採血

WBC	5.5	$\times 10^9/L$
RBC	4.44	$\times 10^{12}/L$
Hb	14.0	g/dL
Ht	41.4	%
MCV	93.2	fL
MCH	31.5	pg
MCHC	33.8	g/dl
PLT	207	$\times 10^9/L$



大型血小板・巨大血小板

- ・大型血小板；4～8 μm (赤血球の約1/2～同等大) * 正常血小板2～4 μm
- ・巨大血小板：8 μm 以上(赤血球より大きい)



大型血小板・巨大血小板

- ・大型血小板; 4~8 μm (赤血球の約1/2~同等大) * 正常血小板2~4 μm
- ・巨大血小板: 8 μm 以上(赤血球より大きい)

★巨大血小板や大型血小板を赤血球としてカウントしてしまう



赤血球数偽高値、血小板数偽低値 * 特に電気抵抗方式

光学的方式にて測定する

塗抹標本による確認、出現頻度によっては視算法での確認が必要

大型血小板、巨大血小板の増加がみられる疾患

①血小板の過剰な破壊

特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、播種性血管内凝固症候群(DIC)など

②巨核球での分離膜異常

慢性骨髄性白血病(CML), 骨髄異形性症候群(MDS)

巨核芽球性白血病(FAB:M7)

③遺伝性のもの

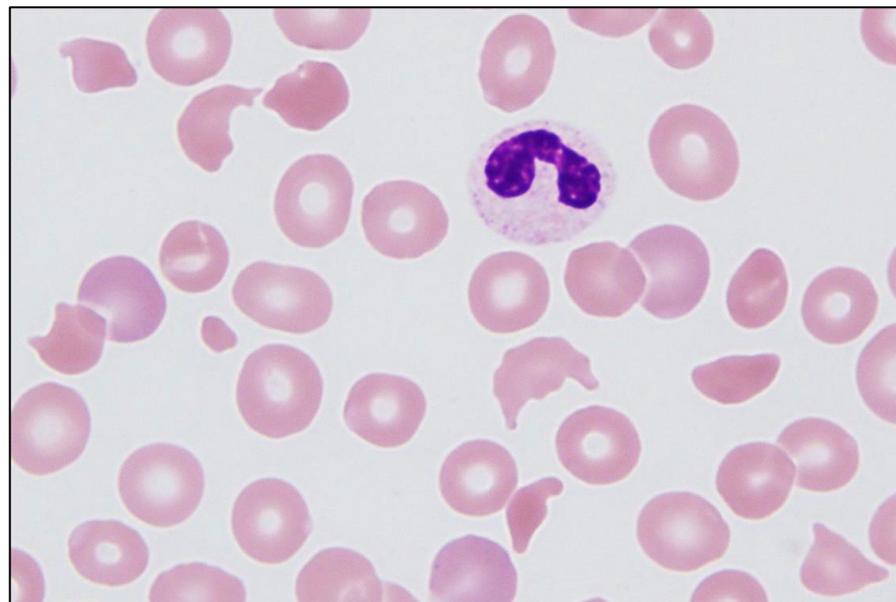
ベルナール・スーリエ症候群、メイ・ヘグリン異常症、フェチュナー症候群

破碎赤血球

- ・物理的な力で引き裂かれて断片化した赤血球

破碎赤血球の種類	
三角形 	三日月型 
つの型 	不規則変形型 
ヘルメット型 	いがぐり型 
小球状型 	赤血球ゴースト 

- ・破碎赤血球が出現する代表的疾患
血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP)
溶血性尿毒症症候群 (HUS)
播種性血管内凝固症候群 (DIC)
移植後血栓性微小血管障害
人工弁置換術後



★破碎赤血球を血小板として
カウントしてしまう



血小板数偽高値、赤血球数偽低値

* 特に電気抵抗方式

光学的方式にて測定する
塗抹標本による確認

凝固検査

●抗凝固剤の種類

クエン酸ナトリウム(カルシウムイオンキレート剤)

クエン酸ナトリウム:血液=1:9 ※使用濃度:109mmol/L(3.13~3.2%)

●検体保存

検査項目	検体	保存温度			
		室温	冷蔵	-20℃	-70℃以下
PT	全血	24時間			
	血漿	24時間		2週間	12ヶ月
APTT	全血	4時間			
	血漿	4時間	4時間	2週間	12ヶ月

(CLSIガイドライン)

- ・使用する試薬により変動するため、各施設で確認が必要
- ・室温保存では時間とともに各凝固因子が失活する(特に第V・第VIII因子は不安定)
- ・PT測定に用いる血漿は、長時間の冷蔵保存による第VII因子の活性化(cold activation)を避けるため、室温保存(18~25℃)が推奨されている
- ・凍結する場合は、急速冷凍が好ましく、1mL程度に小分けして-70℃以下で急速に冷凍すると蛋白の変性が少ない
- ・凍結検体の融解は37℃、3分間で行う。自然融解や37℃での融解時間が長いと凝固因子が不安定となり、特にAPTTは延長傾向となる

凝固検査＜測定前の注意事項＞

◆採血量を確認する

規定量採血されているか確認（抗凝固剤：血液＝1：9）

- ・採血量が少ない→血液がより希釈される→凝固時間が延長する
- ・採血量が少なくなると血漿量に対するクエン酸量が多くなり、Caイオンと結合していないクエン酸が試薬中のCaイオンと結合し、凝固時間が延長する

許容採血量：採血管推奨量の±10%以内

◆凝固の有無を確認する（蓋裏やラベル裏の管壁に注意）

◆速やかに遠心する

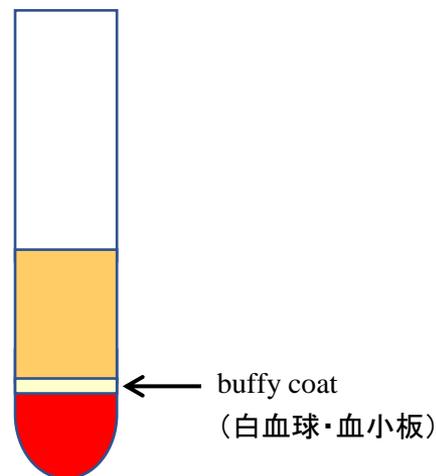
遠心条件：室温（18～25℃）

1,500Gで15分または2,000Gで10分

- * 凝固検査に用いる血漿は乏血小板血漿（PPP）でなければならず、残存血小板数が1万/μL未満となるようにする

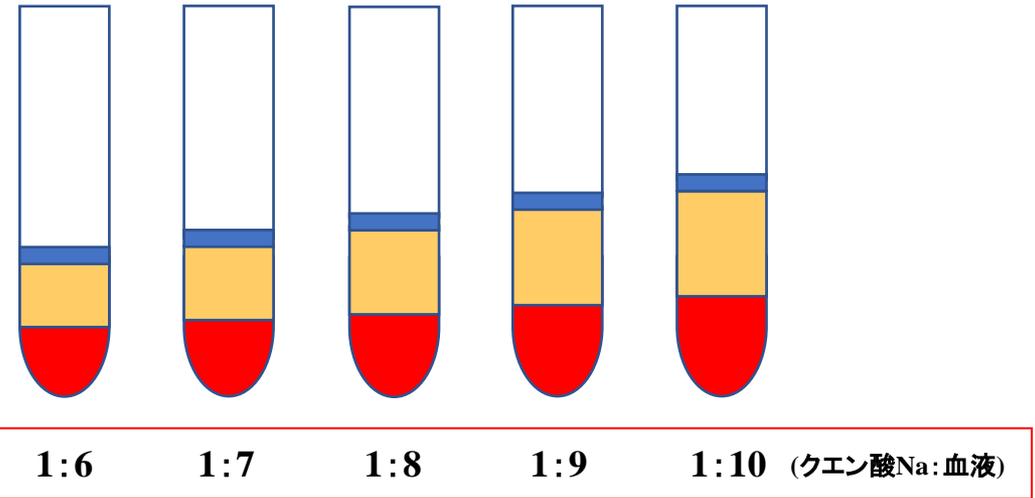
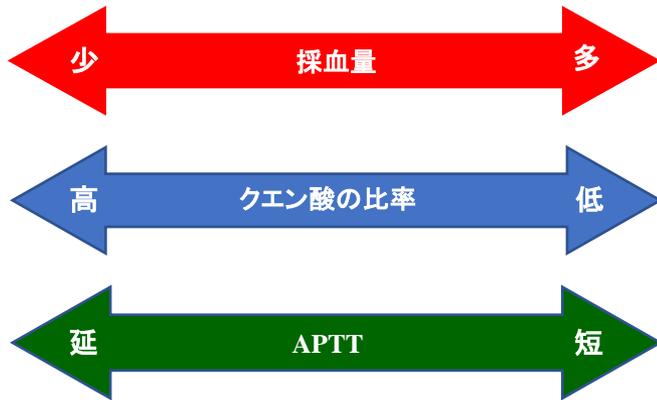
◆遠心後は溶血や乳び、フィブリン析出の有無を確認する

光学的検出法を利用して測定している装置では影響を受ける

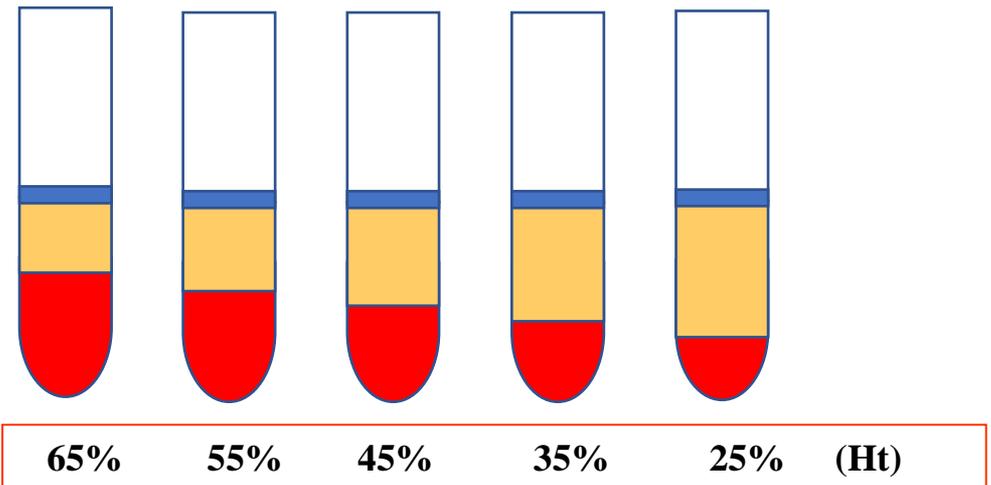


血漿とクエン酸Naとの比率

採血量による影響



ヘマトクリット値による影響



※Htが55%以上の場合はクエン酸量を減らす必要あり $\text{クエン酸Na量} = \text{採血量(mL)} \times (100 - \text{Ht}) \times 0.00185$

凝固検査の目的

1. 術前検査

手術および麻酔に際しての止血のスクリーニング検査

2. 抗凝固療法の確認

経口抗凝固薬(ワルファリン)

直接作用型経口抗凝固薬(DOAC)

ヘパリン

3. 新鮮凍結血漿(FFP)の投与判断

4. 凝固線溶系の病態の把握

播種性血管内凝固症候群(DIC)

5. 先天性凝固因子欠乏症の診断

血友病など

6. 抗リン脂質抗体症候群(APS)の診断

7. ビタミンK欠乏症、肝機能障害

抗凝固療法

経口抗凝固薬:ワルファリン

- ・ビタミンK拮抗薬(肝臓でのビタミンKの作用を拮抗的に阻害する)
※ビタミンK依存性凝固因子(プロトロンビン・第VII因子・第IX因子・第X因子)が阻害される
- ・ビタミンKを多く含む食物摂取(納豆、クロレラ等)は効果を減弱させる
- ・効果が安定するまでに4日以上必要
- ・ワルファリン代謝酵素の遺伝子多型により代謝分解速度に個人差があるため、投与量の調整が必要(PT-INRでモニタリング)

直接作用型経口抗凝固薬:DOAC

- ・抗トロンビン作用もしくは抗第Xa因子作用を有するものがある
- ・単一の凝固因子に対し拮抗的に作用するため、食事の影響を受けない
- ・抗凝固作用は血中濃度に依存する
- ・半減期が短いため、内服後から採血までの時間が結果に大きく影響する

	ダビガトラン	リバーロキサバン	エドキサバン	アピキサバン
標的	トロンビン	第Xa因子	第Xa因子	第Xa因子
最高血中濃度到達時間	2時間	3時間	2時間	3時間
半減期	12~17時間	7~11時間	9~11時間	12時間

参考文献:JAMT技術教本シリーズ 血液検査技術教本第2版

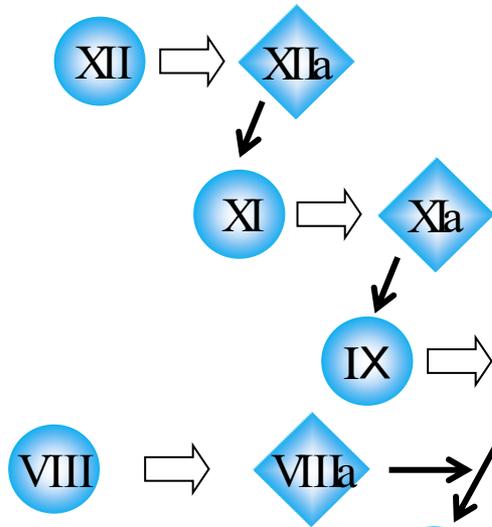
血液凝固の機序

- I: フィブリノゲン
- II: プロトロンビン
- III: 組織因子
- IV: カルシウムイオン
- V: ACグロブリン
- VII: プロコンバーチン
- VIII: 抗血友病因子
- IX: クリスマス因子
- X: スチュアート因子
- XI: 血漿トロンボプラスチンアンチシデント
- XII: ハーゲマン因子
- XIII: フィブリン安定化因子

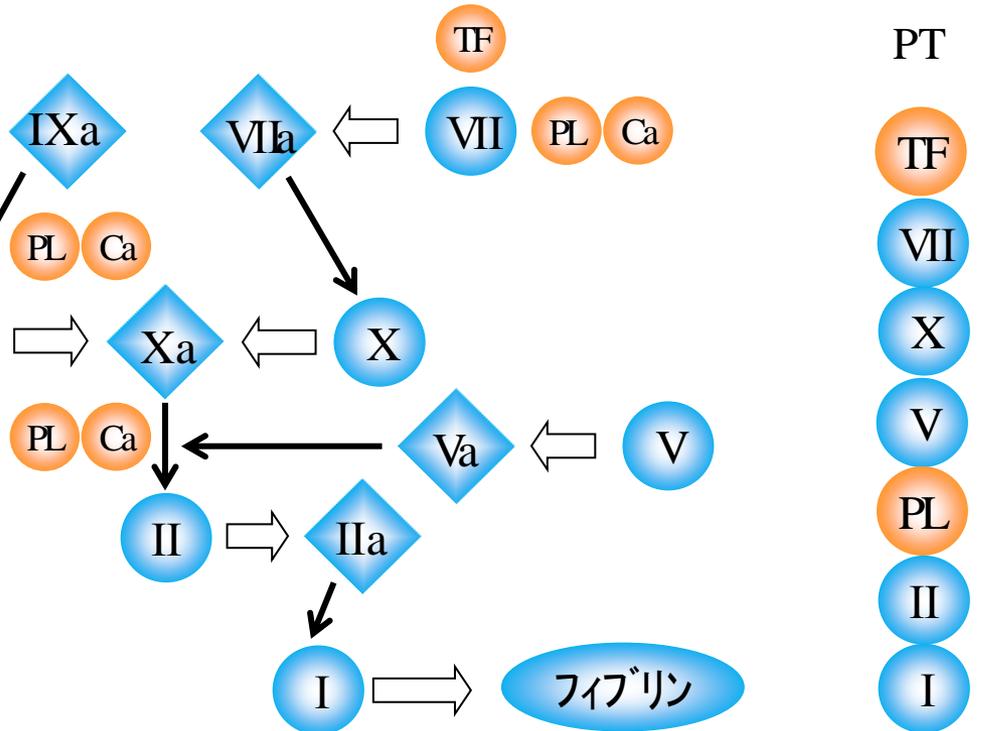
APTT

- XII
- XI
- IX
- PL
- VIII
- X
- V
- PL
- II
- I

内因系



外因系



PT

- TF
- VII
- X
- V
- PL
- II
- I

PT:プロトロンビン時間

- ・外因系凝固因子活性のスクリーニング検査
- ・肝疾患における肝機能の指標
- ・ビタミンK拮抗薬であるワルファリンなどの経口抗凝固療法のモニタリングとして利用される

* ワルファリンのモニタリングにはINR(国際標準化比)が用いられる

$$\left(\frac{\text{検体血漿秒数}}{\text{正常血漿秒数}} \right)^{\text{ISI}} \quad \text{ISI: WHO標準品と比較した値}$$

病態	INR治療域
深部静脈血栓症予防(高リスク外科侵襲を含む)	1.5~2.5
腰部、大腿骨骨折手術	2.0~3.0
深部静脈血栓症の治療、肺梗塞、一過性脳虚血発作	2.0~3.0
反復性深部静脈血栓症、反復性肺梗塞	2.5~4.0
心筋梗塞を含む動脈疾患、移植動脈、人工弁置換	3.0~4.5

- ・直接作用型の第Xa因子阻害薬投与時のチェック検査

PT

TF

VII

X

V

PL

II

I

APPT: 活性化部分トロンボプラスチンテスト

- ・内因系凝固因子活性のスクリーニング検査
- ・ヘパリン療法のモニタリングとして利用される
 - * 未分画ヘパリンは正常秒数の1.5~2.5倍になるように投与する
- ・インヒビターやループスアンチコアグラント(LA)の検索
- ・直接作用型のトロンビン阻害薬投与時のチェック検査

APTT試薬は接触因子系の活性化剤(シリカ、エラグ酸、セライトなど)とリン脂質より構成される
組み合わせや濃度、リン脂質の種類(動物・植物由来や合成リン脂質)により凝固因子、ヘパリン、LAなどに愛する感受性が異なる

APTT試薬は動物・植物由来や合成のリン脂質を使用することに加え、結果を秒数で表現することもあり、試薬間差のみならず試薬ロット間でも差を生じる場合があるため、ロット変更時は注意が必要

APTT

XII

XI

IX

PL

VIII

X

V

PL

II

I

フィブリノゲン

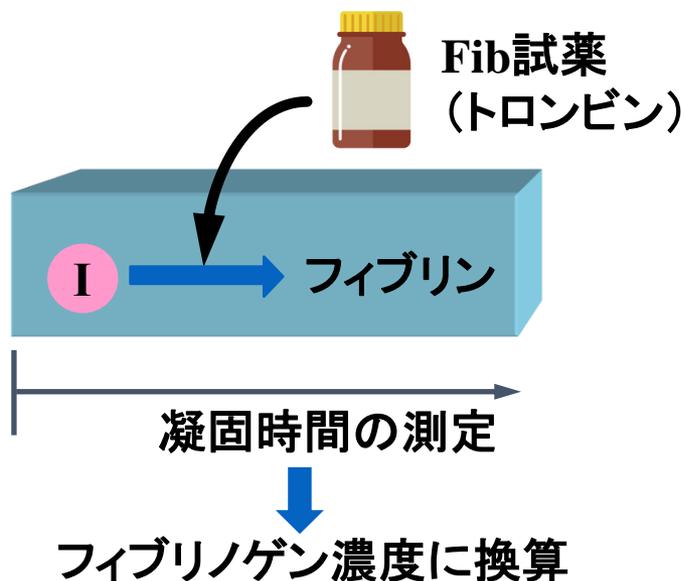
- ・止血機構の最終段階にあたる重要な凝固因子
- ・急性相反応蛋白の一つで、炎症により増加する
- ・免疫グロブリンと同様、プラス荷電の蛋白であるため、その増加は赤血球の連鎖を引き起こし、赤血球沈降速度を更新させる
- ・DICの診断に使用される(DIC、血栓症など消費の亢進があると低下する)

基準範囲: 200~400mg/dL

60mg/dL以下で出血傾向を呈する、700mg/dL以上で血栓傾向を呈する

- ・トロンビン時間法が最も普及している

希釈した血漿に過剰のトロンビンを加え、フィブリン析出までの時間を測定する
凝固時間は血漿中のフィブリノゲン量に依存することを原理としている



※DOACのトロンビン阻害薬(ダビガトラン)
→フィブリノゲンが偽低値を示す場合
がある

試薬中のトロンビン濃度により影響度が
異なるので注意が必要

アンチトロンビン

- ・トロンビン、Xa因子などと1:1で複合体を形成して凝固因子活性を阻害する生理的に最も重要な凝固抑制因子
- ・ATのN末端領域にはヘパリン結合部位が存在し、ヘパリンと結合すると立体構造が変化し、活性化凝固因子の阻害作用が著しく増強される(トロンビンに対する阻害速度は1,000倍、第Xa因子に対する阻害速度は300倍促進される)
- ・主として肝臓で産生されるため肝機能障害で低下する
- ・DICなどの血栓症では消費性に低下する
- ・ヘパリンによる抗凝固療法では、AT活性が70%以上必要であり、不足するとヘパリンの作用が減弱するため、50%以下になればAT製剤による補充療法が必要
- ・活性化測定は合成基質法、抗原量測定は免疫学的測定法で測定する
 - ※合成基質法ではトロンビンまたは第Xa因子を用いる2種類の方法がある

希釈した血漿にヘパリンと過剰量のトロンビンもしくは第Xa因子を添加し反応させるとAT・ヘパリン・トロンビン複合体またはAT・ヘパリン・第Xa因子複合体を形成し、凝固因子活性が阻害される。そこへトロンビンもしくは第Xa因子に特異的な発色性合成基質を加えると、残存するトロンビンまたは第Xa因子により分解され発色するので、これを比色定量する

※トロンビン法による測定では、トロンビン阻害薬(ダビガトラン)、第Xa因子法による測定では、第Xa因子阻害薬(リバーロキサバン、エドキサバン、アビキサバン)により偽高値となる

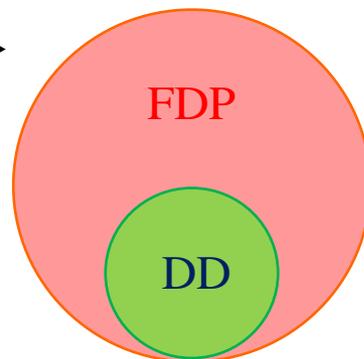
FDP:フィブリノゲン・フィブリン分解産物

- ・フィブリノゲンおよびフィブリンがプラスミンによって分解された分解産物の総称
- ・一次線溶はフィブリノゲンの分解が主で、二次線溶はフィブリンの分解が主となる
- ・一次線溶と二次線溶を反映している
- ・播種性血管内凝固症候群(DIC)の診断に使われる

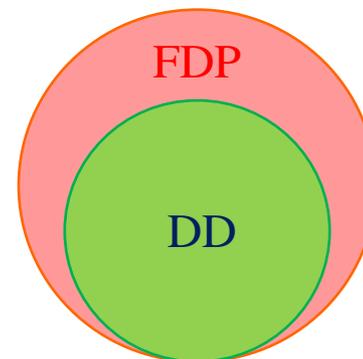
Dダイマー

- ・不安定フィブリンに第XIIIa因子によって架橋された安定化フィブリンにプラスミンが作用してできた分解産物
- ・二次線溶を反映している
- ・深部静脈(DVT)や肺塞栓症(PE)の診断において高い陰性的中率を示す
 - ※Dダイマーが基準範囲内であればDVTやPEは否定される
 - Dダイマーが高値だからといってDVTやPEの診断はできない
- ・播種性血管内凝固症候群(DIC)の補助的検査項目

<DD/FDPの解釈>



線溶系が高度に亢進した病態



凝固系の活性化が高度な病態

	初回値	再採血
PT(sec)	14.8	15.0
PT(%)	65.1	63.4
APTT(sec)	38.5	45.5
フィブリノゲン (mg/dL)	343.4	437.1
FDP(μg/mL)	40.6	28.5
Dダイマー (μg/mL)	19.2	13.8

	前日	初回値	再採血
PT(sec)	20.7	17.6	22.2
PT(%)	35.0	44.0	31.0
APTT(sec)	33.9	23.3	34.7

	初回値	再採血
PT(sec)	12.2	12.6
PT(%)	96.0	90.0
APTT(sec)	18.7	25.3

3症例とも同じ理由で再採血
をお願いしています
なぜ再採血をお願いした
のでしょうか？

	初回値	再採血
PT(sec)	12.9	11.4
PT(%)	85.1	110.8
APTT(sec)	59.6	23.5
フィブリノゲン (mg/dL)	452.5	568.1
FDP(μ g/mL)	4.3	5.2
Dダイマー(μ g/mL)	1.9	2.2

	初回値	再採血
PT(sec)	31.5	26.4
PT(%)	19.7	25.1
APTT(sec)	68.3	33.5
	初回値	再採血
PT(sec)	14.5	14.4
APTT(sec)	42.2	35.1

3症例とも同じ理由で再採血をお願いしています
なぜ再採血をお願いしたのでしょうか？

認定血液検査技師

1. 臨床検査技師とする
2. 申請時において2年以上日本検査血液学会の会員であること
3. 血液検査歴3年以上の検査業務経験を有していること
4. 資格審査基準として、学術論文、学会発表等の業績発表、学会、研修会参加、血液検査に関連した各種学会、講演会、研修会での活動による認定血液検査技師申請の資格審査基準に必要な100単位を取得していること
5. 日本検査血液学会学術集会または日本検査血液学会が主催する冬季セミナーに1回以上参加していること

骨髓検査技師

1. 申請時において、認定血液検査技師の資格を取得してから一度更新していること
2. 申請時において5年以上の骨髓検査の実務経験を有していること
3. 資格審査基準として、日本検査血液学会、日本臨床検査医学会、日本血液学会、日本血栓止血学会、日本臨床衛生検査技師会に学術論文、学会発表等の業績発表、学会、研修会参加、血液検査に関連した各種学会、講演会、研修会での活動による骨髓検査技師認定試験申請の資格審査基準に必要な120単位を取得していること
4. 日本検査血液学会学術集会または日本検査血液学会が主催する冬季セミナーに1回以上参加していること。



E N D