

血液検査

山本 将毅

土岐市立総合病院



血液検査

山本 将毅
[土岐市立総合病院]

はじめに

今年度の精度管理は、血球計数とphoto survey, 凝固検査を実施した。

血球計数

調査項目

白血球・赤血球・ヘモグロビン・MCV・血小板

調査試料

人新鮮血

* 人生血試料は日臨技データ共有化マニュアルに準じて作製した。

— 作製方法 —

- ① 血液バックCPDA 200mlにEDTA-2K溶液 (75mg/ml) を4ml注入する。
- ② インフォームドコンセントの得られたボランティアから200mlの血液を採血用バックに採血する。
- ③ 採血した血液を混和しながら2mlのプレーン管に分注する。

参加施設数

54施設 (このうちメーカー4施設)

統計処理

方法±3SD切断法を2回実施し平均値, 標準偏差(SD), 変動計数(CV)を算出した。

評価方法

各々基準値を設け下記のように評価した

WBC A±10%以内	B±20%以内	C±30%以内
RBC A±4%以内	B±6%以内	C±8%以内
Hgb A±4%以内	B±6%以内	C±8%以内
MCV A±4%以内	B±6%以内	C±8%以内
PLT A±10%以内	B±20%以内	C±30%以内

[評価対象]

白血球, 血小板, MCVの評価は測定原理別(電気抵抗法・光学検出法)に評価を行った。

結果

血球計数測定機器の種類を図1に示す。

白血球, 赤血球数, ヘモグロビン, 血小板は特に機種間差もなくSD, CVとも良好な結果であった。(表1, 2, 3, 5)

MCVについては, 原理別で評価を行った。その結果, 光学検出法の方が電気抵抗法より高い傾向があった。(表4)

各計数の分布図を図2から図6に示す。

桁間違いなどの入力ミスがWBC2施設, MCV5施設, PLT1施設あった。

図1. 使用している血球計数器

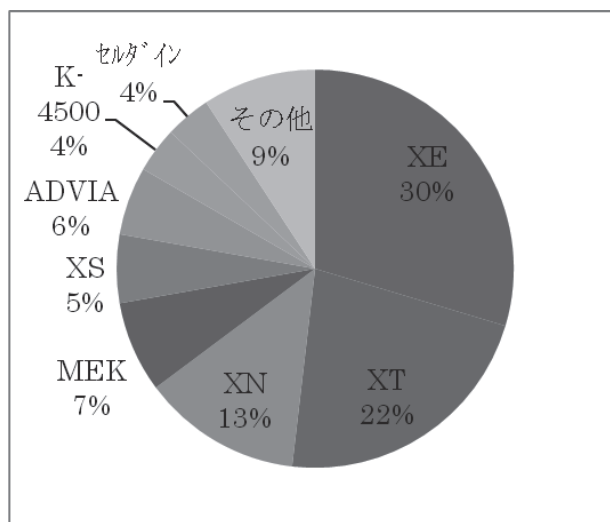


表1. WBC結果

名称	統計/主結果			
	N数	平均	SD	CV
試料 21CBC	49	3.89	0.13	3.44
試料 22CBC	49	4.24	0.16	3.78

図2. WBC分布図

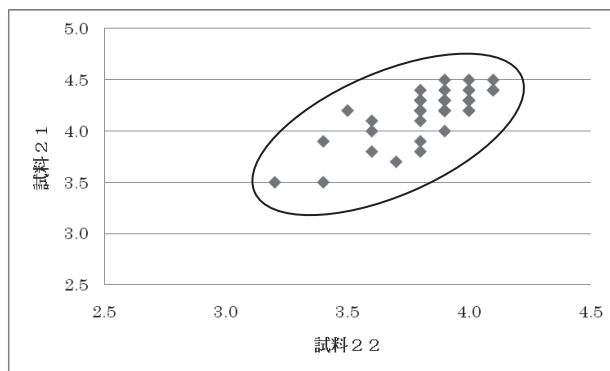


表2. RBC結果

名称	統計/主結果			
	N数	平均	SD	CV
試料 21CBC	53	4.053	0.057	1.42
試料 22CBC	53	4.782	0.061	1.28

図3. RBC分布図

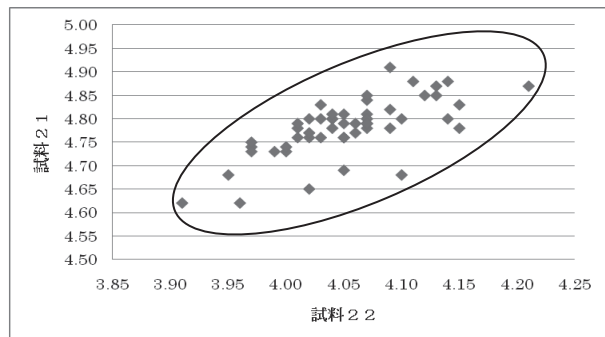


表3. ヘモグロビン結果

名称	統計/主結果			
	N数	平均	SD	CV
試料 21CBC	54	12.24	0.15	1.21
試料 22CBC	52	14.83	0.16	1.10

図4. ヘモグロビン

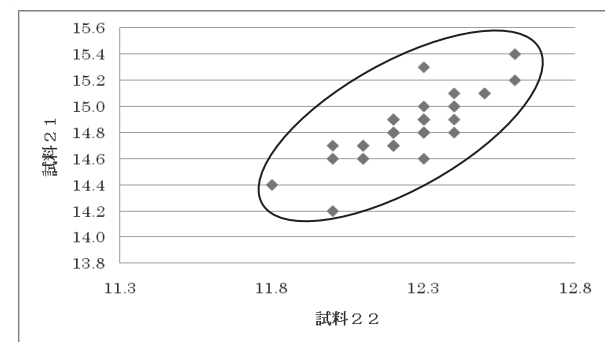


表4. MCV結果

名称	統計/主結果			
	N数	平均	SD	CV
試料 21 電気抵抗法	49	91.43	1.66	1.81
試料 21 光学検出法	3	99.50	2.13	2.14
試料 22 電気抵抗法	49	93.19	1.35	1.45
試料 22 光学検出法	3	96.03	2.40	2.50

図5. MCV分布図

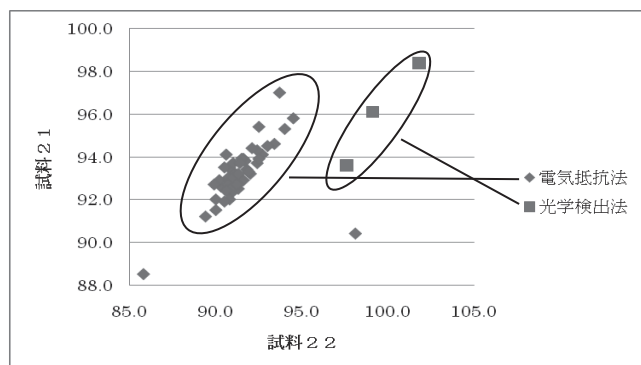
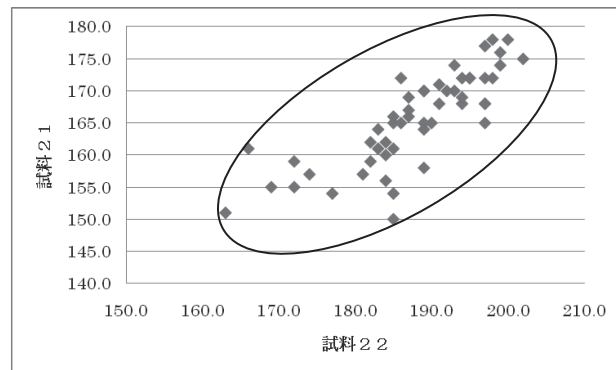


表5. PLT結果

名称	統計/主結果			
	N数	平均	SD	CV
試料 21CBC	52	187.7	8.9	4.75
試料 22CBC	52	165.6	7.2	4.34

図6. PLT分布図



凝固検査

調査項目

プロトロンビン (PT-INR), フィブリノゲン

調査試料

デイドベーリング社コアグトロール

参加施設数

PT-INR 30施設, フィブリノゲン25施設

統計処理

方法±3SD切断法を2回実施し, 平均値, 標準偏差 (SD), 変動計数 (CV) を算出した。

評価方法

各々基準値を設け下記のように評価した

A±10%以内 B±20%以内 C>±20%

結果

測定機器の種類を図7に示す。測定原理は凝固法を用いた測定機器が多かった。

プロトロンビン測定試薬の種類を図8に示す。

PT-INRの結果を表6に示す。INRはSD・CV共に良好であった。分布図を図9に示す。

ISI値が1.4を超える試薬を使用している施設が1施設あった。ISI値と施設数をグラフ1に示す。

PT-INRを求める計算式は以下のものであるため, ISIが大きいと誤差が大きくなる。そのため, ISI値が1.0に近い試薬を推奨する。

$$PT-INR = (PT患者秒数 / PT正常秒数)^{ISI}$$

また, ISI区分は, ローカルISIが3.8%, メーカー設定ISIが96.2%であった。

図7. 凝固測定機器

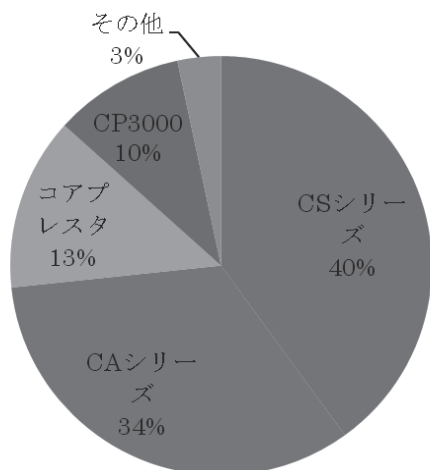


図8. PT測定試薬

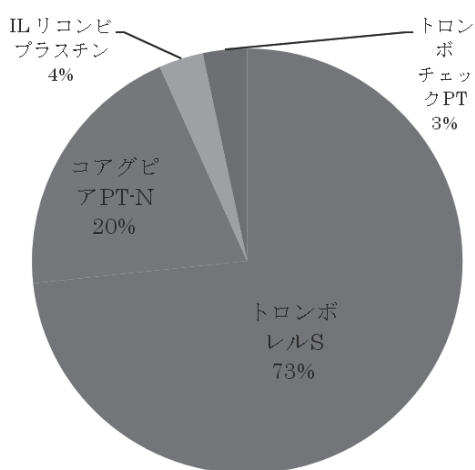
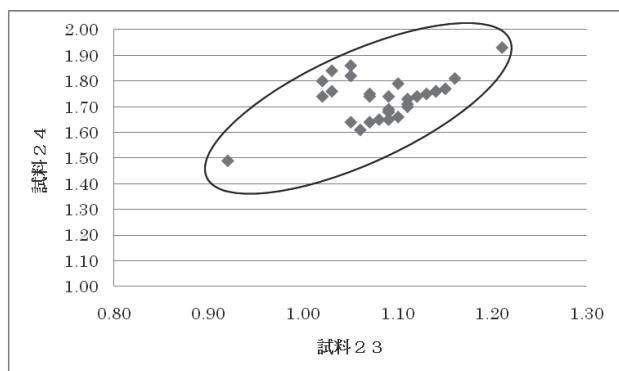


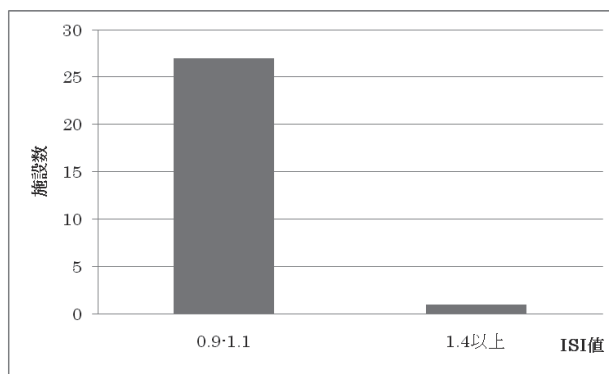
表6. PT-INR結果

名称	統計/INR 値			
	N 数	平均	SD	CV
試料 23 凝固	29	1.091	0.045	4.09
試料 24 凝固	30	1.730	0.085	4.94

図9. PT-INR分布図



グラフ1. ISI値と施設数



フィブリノゲン測定試薬の種類を図11に示す。フィブリノゲン測定結果を表7に、分布図を図12に示す。結果はSD・CV共にやや大きい、ほぼ収束を示した。

図11. フィブリノゲン試薬

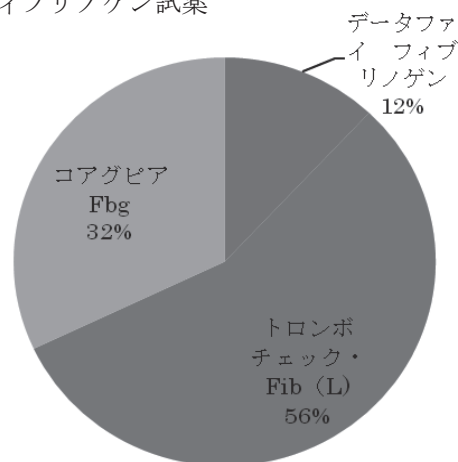
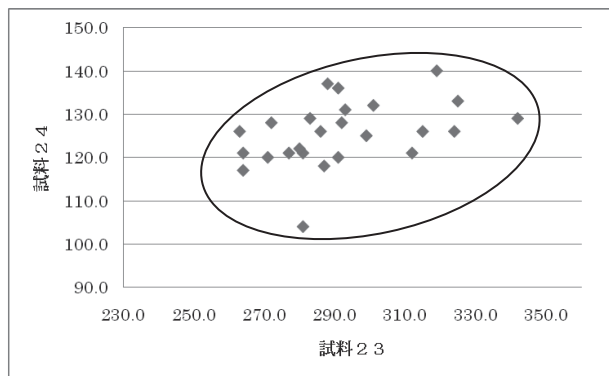


表7. フィブリノゲン結果

試料名称	統計/主結果			
	N 数	平均	SD	CV
試料 23 凝固	25	292.0	20.8	7.14
試料 24 凝固	25	125.5	7.5	6.01

図12. フィブリノゲン分布図



フォトサーベイ

評価対象10問を出題した。参加施設数は36施設であった。正解率は97.2(1次83.3)～100%の結果であった。(表9)

設問1

骨髓芽球である。直径10～15 μm 、N/C比60～80%程度、核の位置は中央に位置し、核クロマチン構造は網状繊細、核小体があり、やや白みがかかる。胞質は青色(淡青色、前赤芽球よりも薄い)、顆粒は認めない。

設問2

顆粒球系細胞異常 中毒性顆粒である。好中球の顆粒には一次顆粒(アズール顆粒)と二次顆粒(好中球性特殊顆粒)があり、一次顆粒は前骨髓球で出現し、ムコ多糖類を含むことでアズール好性となるが、成熟するにつれムコ多糖類は消失するため、成熟好中球の一次顆粒は染色されない。ところが、早期に末梢血に動員された好中球は、ムコ多糖類を含むアズール好性を示すことから、中毒性顆粒として出現する。中毒性顆粒の出現は骨髓における好中球産生の亢進(好中球回転の短縮)を示唆しており、形態学的に重症度を知る1つの指標として重要である。

設問3

好中球桿状核球である。直径12～15 μm 、核の長径と短径の比率が3:1以上、かつ、核の最小幅部分が最大幅部分の1/3以上で長い曲がった核を持つ。

設問4

好中球分葉核球である。直径12～15 μm 、核は2～5個に分葉する。分葉した核の間は核糸でつながるが、核の最小幅部分が十分に狭小化した場合は核糸形成が進行したとみなして分葉核球と判定する。実用上400倍にて、核の最小幅部分が最大幅部分の1/3未満、あるいは、赤血球直径の1/4(約2 μm)未満であれば核糸形成とみなす。また、核が重なり合って分葉核球か桿状核球か明確でないときは分葉核球と判定する。

設問5

好塩基球である。直径10-15 μm で好中球よりもやや小型、円形～類円形である。核形やクロマチン構造は不明瞭な事が多い。細胞質には暗紫色に染まる好塩基性の顆粒を認める。この顆粒は水溶性のため溶出し、空胞のように見える。また、核を被って分布する傾向がある。

設問6

単球である。正常末梢血液中中で最も大型で、類円系～馬蹄形の核を有し、細胞質はレース状で微細な顆粒を有する

好塩基球である。暗紫色の大型の顆粒が特徴である。この顆粒は水溶性であるため染色あるいは水洗中に溶出してしまい、空胞のようにみえることがある。

設問7

リンパ球である。直径9～16 μm で、細胞質は比較的広いものから狭いものまである。色調は淡青色から青色呈する。なお、アズール顆粒を認める場合がある。核は類円形で、核クロマチンは集塊を形成しクロマチン構造が明かでない。

設問8

反応性(異型)リンパ球である。直径16 μm (赤血球直径のおおよそ2倍程度)以上で細胞質は比較的広い。色調はリンパ球に比較し好塩基性(青色)が強い。なお、アズール顆粒、空胞を認める場合がある。核は類円形、時に変形を呈する。核クロマチンは濃縮しているがリンパ球に近いものからパラクロマチンの認められるものまである。核小体が認められるものもある。

設問9

EDTA依存性血小板凝集である。弱拡大(100倍)では血小板凝集を見逃す場合があるため、強拡大(1000倍)で確認する必要がある。EDTA依存性血小板凝集は、EDTAによってPLT表面の抗原(GP II b/IIIa)が変化することで免疫グロブリンが反応し、凝集を引き起こすと考えられている。しかし不明な部分も多く、原因疾患もはっきり解っておらず、健康人にも起こる場合がある。フィブリン糸がみられないことなどにより採血困難な場合と区別することが大切である。

対策:

- ①プレーン採血管で採血、直ちに測定
- ②EDTA以外の採血管(ヘパリン、クエン酸、FC管)の使用
- ③カナマイシン10mg/ml投与
- ④過剰量EDTA追加投与 10mg/ml
- ⑤MgSO₄(飽和硫酸マグネシウム)による測定
- ⑥EDTA血を2分～5分ボルテックスミキサーにかけて測定
- ⑦ブレッカー・クロンカイト法

本症例は対策①によって血小板凝集する前に測定した。

設問10

標的赤血球である。本症例はサラセミアで認められた標的赤血球(codocyte)である。標的赤血球は赤血球膜の増加または赤血球内ヘモグロビンの減少により赤血球膜表面積の相対的な増加により生ずる。また、閉塞性肝疾患では赤血球膜のコレステロール/リン脂質比の上昇により出現する。

サラセミアにおいては、小球性低色素性貧血を呈するためしばしば鉄欠乏性貧血と誤診される。簡便な鑑別方法とし

てMenttzer index (MCV/RBC)がある。サラセミアにおいてはこの指数が13以下となるが、鉄欠乏性貧血では13以上である。

表9

設問	正解名称	件数	%
No. 1	骨髄芽球	30	97.2
No. 2	顆粒球系細胞異常 中毒性顆粒	35	100
No. 3	好中球桿状核球	35	100
No. 4	好中球分葉核球	36	100
No. 5	好塩基球	33	100
No. 6	単球	34	97.2
No. 7	リンパ球	34	100
No. 8	反応性(異型)リンパ球	35	100
No. 9	EDTA 依存性血小板凝集	36	100
No. 10	標的赤血球 (codocyte)	36	100

■ まとめ

血球計数試料は、昨年は400ml用バックで貯血して白血球低値試料があった。そのため今年は、貯血200ml用バックを用いて貯血し試料不良(評価対象外)は無かった。CBCにおいては、結果の入力間違いと思われるミスが目立った。(5施設、14箇所)CBCにおいては、二次サーベイを実施しないため、入力時には 項目・単位・数値 に間違いがないか再確認をお願いしたい。

凝固検査PTにおいては、ISI値が大きい施設が昨年2施設、今年1施設認められた。その施設もISI値が1.0に近い試薬への切り替え検討中であった。来年度は全施設でISI値が1.0付近の試薬になっていることを期待する。

フォトサーベイは、若干典型的でない細胞も提示したため、一次集計で86~100%であった。正解率が極端に低い施設には直接連絡してお話を伺った。二次集計にて97~100%となった。

一方で写真を閲覧するOSのスペックや設定、印刷紙の種類によって染色性が異なり、判断に苦慮することも推察され、今後の課題とする。

■ 文献

- 1) 日本検査血液学会編. スタンダード検査血液学 改訂第3版
- 2) 朝長 万左男. 不応性貧血(骨髄異形成候群)の形態学的異形成に基づく診断確度区分と形態診断アトラス
- 3) 日本臨床検査技師会血液検査研究班. 新血液細胞アトラス
- 4) 日本臨床衛生検査技師会・日本検査血液学会 血球形態標準化ワーキンググループ. 血液形態検査における標準化の普及に向けて
- 5) 阿南健一/亀岡孝則/須田正洋. エビデンス血液形態学

