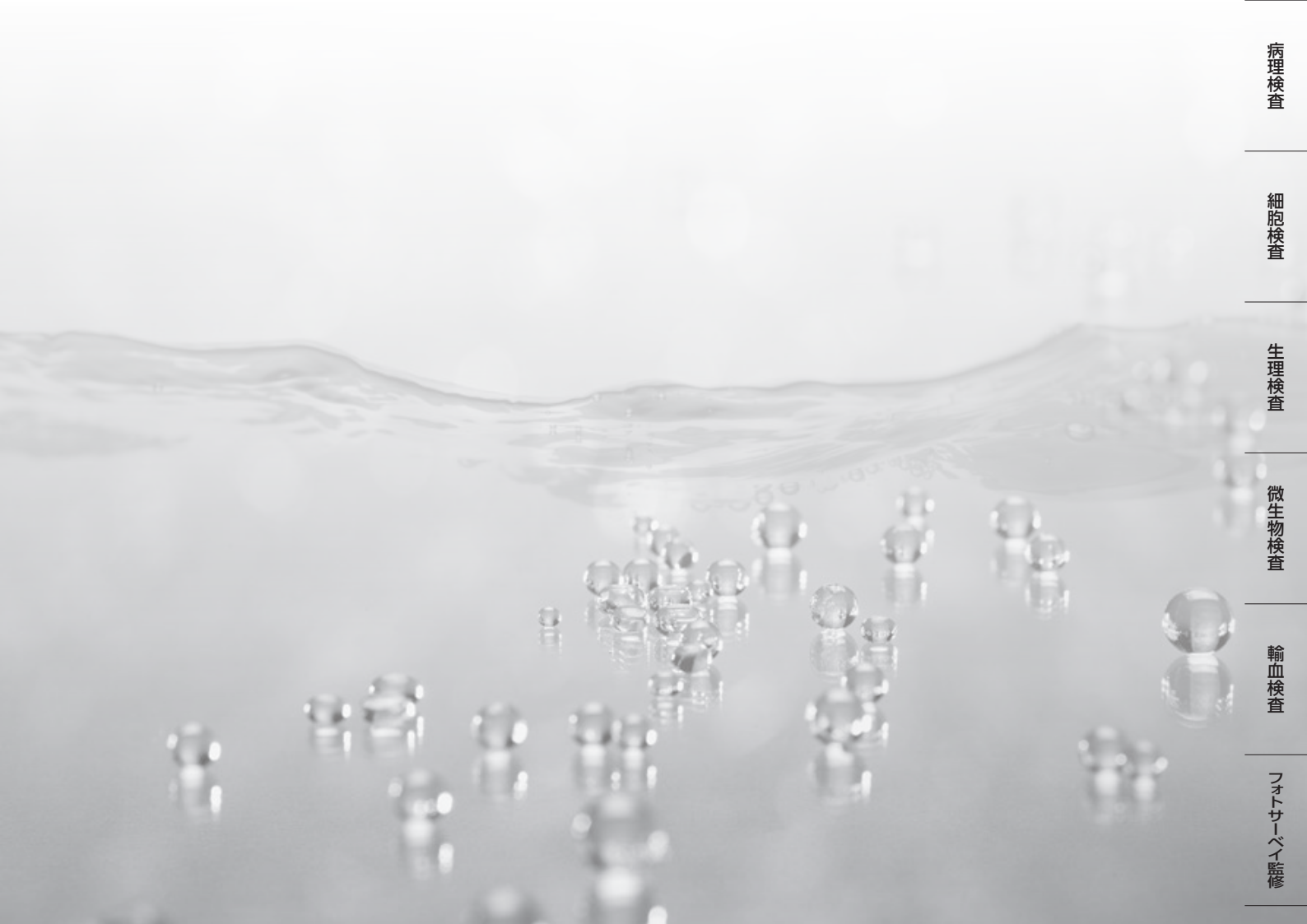


血液検査

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 400mlにEDTA-2K溶液 (75mg/ml) を8ml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(または400ml)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

52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, 表2, 表3)

MCV・血小板については, 電気抵抗法及び光学検出法の原

理別に評価を行った。その結果, MCVでは光学検出法の方が電気抵抗法より高い傾向にあった。血小板では大きな差異は認められなかった。(表4, 5) 各計数の分布図を図2から図6に示す。

図1. 使用している血球計数器

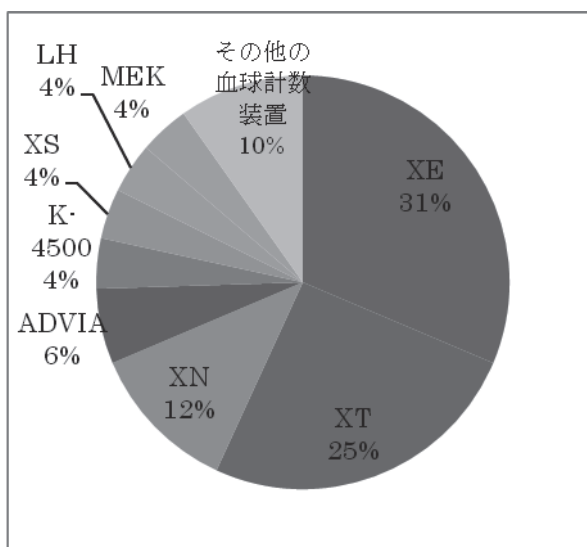


表1. WBC結果

名称	統計/主結果			
	N数	平均	SD	CV
試料 21CBC	38	5.10	0.38	7.41
試料 22CBC	41	6.62	0.23	3.40

図2. WBC分布図

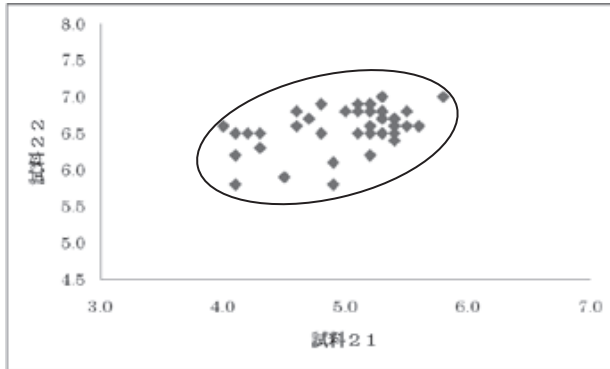


表2. RBC結果

名称	統計/主結果			
	N数	平均	SD	CV
試料 21CBC	50	4.127	0.054	1.31
試料 22CBC	50	3.667	0.054	1.46

図3. RBC分布図

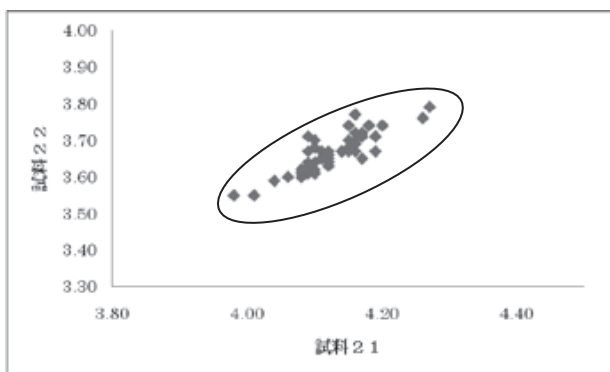


表3. ヘモグロビン結果

名称	統計/主結果			
	N数	平均	SD	CV
試料 21CBC	50	12.62	0.15	1.17
試料 22CBC	50	10.89	0.15	1.36

図4. ヘモグロビン

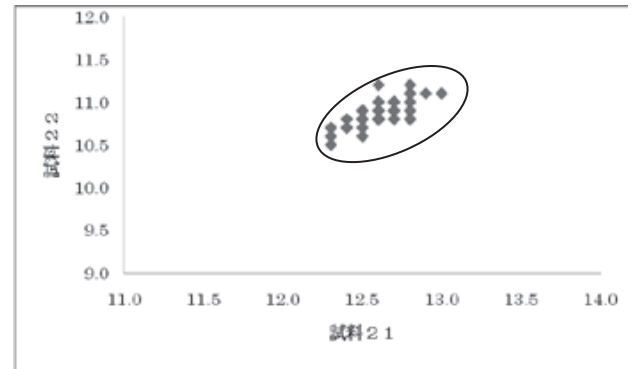


表4. MCV結果

名称	統計/主結果			
	N数	平均	SD	CV
試料 21CBC	50	89.14	1.99	2.24
試料 22CBC	49	91.63	2.28	2.49

図5. MCV分布図

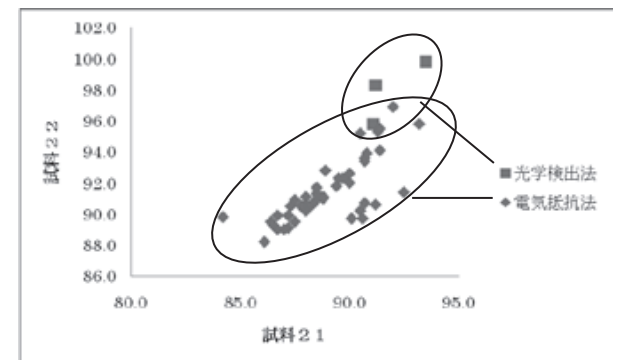
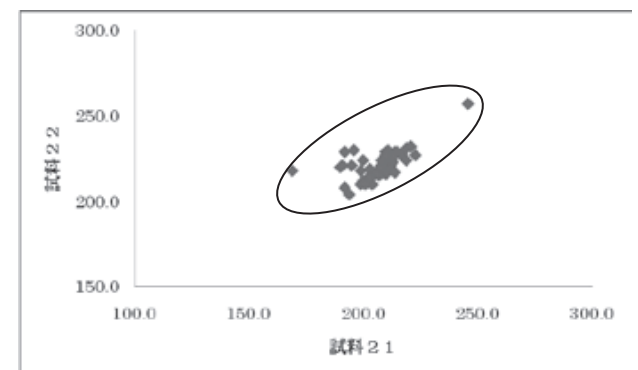


表5. PLT結果

名称	統計/主結果			
	N数	平均	SD	CV
試料 21CBC	48	206.9	8.1	3.89
試料 22CBC	49	220.5	6.5	2.95

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

プロトロンビン32施設, フィブリノゲン28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値は1.0に近い試薬が推奨されているが、1.5を超える試薬を使用していた施設が2施設あった。ISI値と施設数をグラフ1に示す。また、ISI区分は、ローカルISIが7%、メーカー設定ISIが97%であった。(図10)

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とされている。つまり、ISI値が大きいくほどINRが大きくなる傾向がある。

$$PT-INR = (PT患者秒数 / PT正常秒数)^{ISI}$$

図7 凝固測定機器

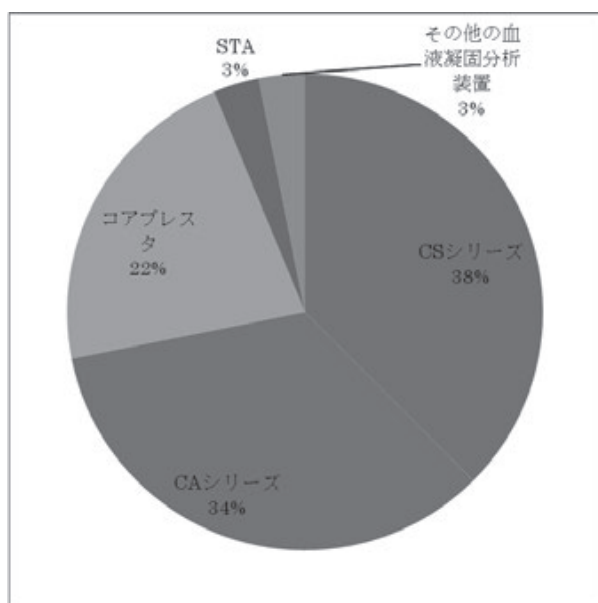


図8. PT測定試薬

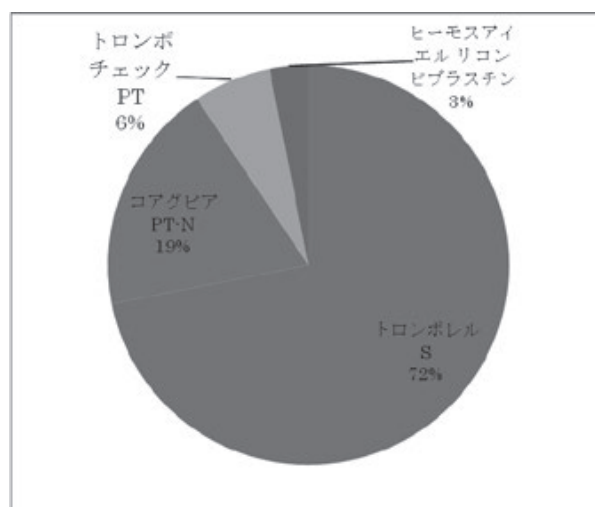
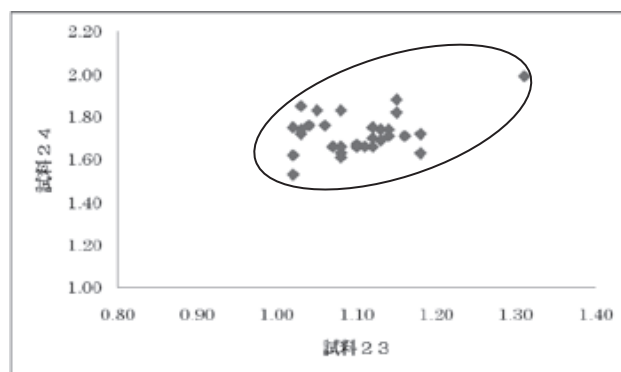


表6. PT-INR結果

名称	統計/INR 値			
	N 数	平均	SD	CV
試料 23 凝固	31	1.095	0.049	4.46
試料 24 凝固	32	1.722	0.091	5.28

図9. PT-INR分布図



グラフ1. ISI値と施設数

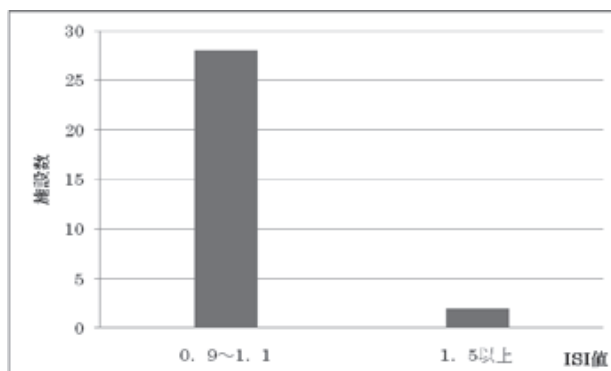


図10. ISI区分分布図

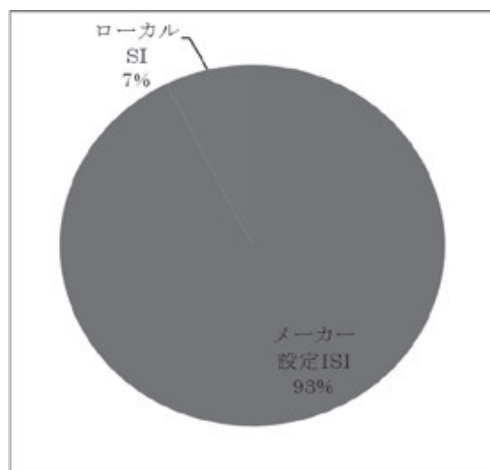
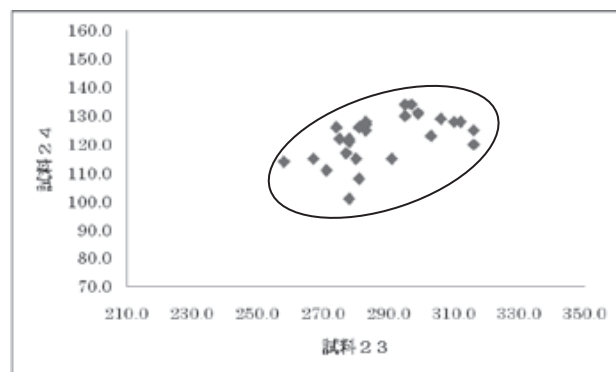


図12. フィブリノゲン分布図



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共にやや大きいのが、ほぼ収束を示した.

図11. フィブリノゲン試薬

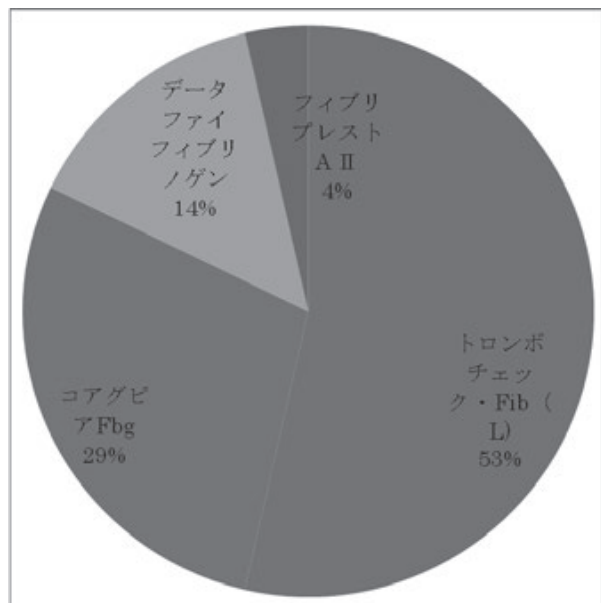


表7. フィブリノゲン結果

試料	統計/主結果				
	名称	N数	平均	SD	CV
試料 23 凝固		28	287.4	16.6	5.78
試料 24 凝固		28	121.5	8.6	7.05

フォトサーベイ

評価対象10問と評価対象外10問を出題した。評価対象10問の正解率は、97.1～100%と良好な結果であった。(表9) 評価対象外の好中球分類は正解率47.1～100%であった。

(表10)

設問1

好中球桿状核球である。直径12～15 μ m、長径と短径の比率が3:1以上の長い曲がった核を持つ。核クロマチンは粗剛である。

設問2

好中球分葉核球である。核は分葉し、二次顆粒が認められる。分葉核は核の短径:長径比率が1:3以上のものを分葉核と呼ぶ。

設問3

好酸球である。円形で、エオシンで橙赤色に染まる比較的大型で丸く一様な二次顆粒(好酸性特殊顆粒)が細胞質に充満しているのが特徴である。

設問4

単球である。正常末梢血液中でも最大型で、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。

設問5

リンパ球である。赤血球と同等か、それより少し大きい。N/C比が高く、クロマチンが濃い。時にアズール顆粒を持つ。

設問6

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

好中球過分葉核球である。好中球の過分葉とは核が6個以上に分葉しているものの事を指す。

設問8

フィブリンである。標本中にうっすらと筋状に見えるのはフィブリン糸である。血小板の付着がみられることが多いため、血小板凝集が無いことを標本上で確認することが必要である。

設問9

巨大血小板である。赤血球より大きい(8 μ m以上)血小板を指す。MDS(骨髄異形成症候群)、ITP(特発性血小板減少性紫斑病)、先天性疾患のMay-Hegglin異常、Bernard-Soulier症候群などで出現する。

設問10

破碎赤血球である。本症例は血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)で認められた破碎赤血球である。

TTPに認められる所見として、血小板が5万以下、網状赤血球の増加、間接ビリルビンの増加、ADAMTS13活性低下やADAMTS13インヒビター陽性、破碎赤血球の出現である。他にも播種性血管内凝固症候群(DIC)や溶血性尿毒症症候群(HUS)でも出現する。血液像鏡検の奇形赤血球は3%以上で陽性とするが、破碎赤血球(schizocyte)球状赤血球(Spherocyte)涙滴赤血球(dacryocyte)については出現比率が低くても臨床的重要性は高いので1%の存在で陽性として報告することを推奨している。

設問11～20(評価対象外)

好中球桿状核球と分葉核球の分類についての設問である。好中球桿状核球と分葉核球の目視分類については、日本臨床衛生検査技師会の日臨技報告法および日本検査血液学会血球形態標準化小委員会の委員会基準が提唱され、これら2つの分類基準が併存しているため各施設において少なからず混乱を招いていた。2015年9月1日に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から血液形態検査における標準化の普及に向けて「好中球系細胞の新分類基準」が公表された。岐阜県血液研究班でも標準化に向けて日本臨床衛生検査技師会からの伝達講習会を実施した。好中球系細胞の新分類基準を以下に示す。

好中球系細胞の新分類基準

桿状核球、分葉核球の目視鑑別は、適切な塗抹染色標本を用いて原則として倍率400倍の鏡検で判定する。なお核クロマチンはいずれも粗剛である。

桿状核球:直径12～15 μ m、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。

分葉核球:直径12～15 μ m、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 μ m)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。

表9

設問	正解名称	件数	%
No. 1	好中球桿状核球	34	100.0
No. 2	好中球分葉核球	34	100.0
No. 3	好酸球	34	100.0
No. 4	単球	34	97.1
No. 5	リンパ球	34	100.0
No. 6	好塩基球	34	100.0
No. 7	好中球過分葉核球	34	100.0
No. 8	フィブリン	34	100.0
No. 9	巨大血小板	34	97.1
No. 10	破碎赤血球 (schizocyte)	34	100.0

表10 評価対象外

設問	正解名称	件数	%
No. 11	好中球桿状核球	33	97.1
No. 12	好中球分葉核球	33	97.1
No. 13	好中球分葉核球	33	97.1
No. 14	好中球分葉核球	27	79.4
No. 15	好中球分葉核球	31	91.2
No. 16	好中球分葉核球	28	82.4
No. 17	好中球分葉核球	16	47.1
No. 18	好中球分葉核球	34	100.0
No. 19	好中球分葉核球	28	82.4
No. 20	好中球分葉核球	30	88.2

まとめ

血球計数試料は、昨年の反省点を活かし、試料の濃度差を付けるために、貯血400ml用バックを用いて男性から400ml採取した試料21と、400ml用バックを用いて女性から200ml採取した試料22を作成した。多少ではあるが試料に濃度差をつけることができた。その一方で白血球低値(2.0前後)が8施設あった。そのことに気が付いたのは集計時であり、日数経過のため再測定はできなかった。8施設は、測定日・機器・試薬に共通点はなく、試料に凝集や溶血等の問題はなかったことと、日頃の精度管理が良好なことを確認した。今回は試料不良として評価対象外の対応をとった。貯血によるヒト新鮮血液を用いた精度管理では試料不良の可能性は無にはできない。また、測定当日に不良に気付くことも困難な現状がある。このことは今後の課題とする。

凝固検査PTにおいては、ISI値が大きい施設が認められ、ISI値が1.0に近い試薬への切り替えの検討を直接担当者に連絡をした。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(評価対象)は基本的な細胞分類を問う問題を中心に出題し、非常に良好な結果が得られた。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。

フォトサーベイ(評価対象外)は血液形態検査における標準化の普及に向けて「好中球系細胞の新分類基準」が公表されたことを受けて、好中球桿状核球と分葉核球の分類についての微妙な細胞を設問した。微妙な細胞は正解率が悪く、好中球系細胞の新分類基準の普及が必要であり、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(骨髓異形成候群)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