

血液・凝固検査の品質を担保する！～正確で迅速な検査を支えるしくみ～

凝固検体の取り扱いと測定値への影響！

◎中西 良太¹⁾

滋賀医科大学医学部附属病院¹⁾

検体検査においては、試料の性状をはじめとする様々な要因が検査結果に影響を及ぼすことが知られている。特に凝固検査では、測定誤差要因の多くが検体由来といっても過言ではないほど、検査前プロセスが重要視されている。本邦においては、2016年に日本検査血液学会標準化委員会から「凝固検査検体取扱いに関するコンセンサス」が発表され、現在、多くの施設が同コンセンサスに則り凝固検査を実施している。しかし、日常業務においては、検体の性状もしくは採取状況の不良が疑われる測定値にしばしば遭遇するため、これらを見逃さない“目”を養うことが重要である。

【採血管】

凝固検査に用いられる採血管には、抗凝固剤としてクエン酸ナトリウムが添加されている。クエン酸ナトリウムには3.2%と3.8%の濃度が市販されているが、3.8%では凝固時間が延長するといわれている。また、採取量も1 mL、2 mL、4 mLなど、様々な容量の採血管が存在する。

【採血】

採血にあたっては、「JCCLS 標準採血法ガイドライン GP4-A2」に従った運用が推奨されている。翼状針を用いて採血を行う場合、1本目に凝固検査用採血管を接続するとチューブ内の空気によって吸引血液量が減少し、規定の割合（クエン酸ナトリウム：血液＝1：9）を満たさなくなる。当院において、凝固検査検体の再採血が必要となる事例の多くは、この採血量不足に起因するものであり、診療科へ注意喚起を行うなどの対策を講じている。

【遠心条件】

「凝固検査検体取扱いに関するコンセンサス」によると、遠心分離を行う際の条件は、18℃～25℃で「1,500×g、10分以上」もしくは「2,000×g、10分以上」が推奨されている。その目的は、血漿中の残存血小板数を10,000個/μL未満にすることである。特にループスアンチコアグラント（LA）検査などでは、残存血小板中のリン脂質が結果に影響を及ぼすことが知られており、適切な遠心条件を設定する必要がある。

【検体の性状および保管】

遠心分離前および分析装置での測定前には、検体の性状を必ず確認しなければならない。特に凝固検査は、検体の凝固や抗凝固薬などの影響を受けやすい特性を持つ。ヘパリンなどの抗凝固薬が使用されているケースでは、血漿分離後の検体であってもフィブリンが析出してくることがあるため、異常な測定値に遭遇した場合は検体を再確認する必要がある。また、低温下では血小板の **cold activation** が起こるため、測定までは室温で搬送・保管する。さらに、凝固因子は酵素であるため時間経過とともに失活していく。そのため、採血後は4時間以内に測定を完了しなければならない。

これ以外にも、凝固検査の測定値を判読していく上で、品質を担保するために留意すべきポイントは多数存在する。正確な診断に繋げるためにも、日頃から適切な検体の取り扱いを心掛けたい。本セッションでは、改めて検体の取り扱いが測定値に与える影響について、自験例も交えて解説する。

血液・凝固検査の品質を担保する！～正確で迅速な検査を支えるしくみ～

信頼できるクロスミキシング試験を行うために

◎羽田 千浩¹⁾

市立岸和田市民病院¹⁾

クロスミキシング試験(cross mixing test: CMT)は、プロトロンビン時間(prothrombin time: PT)や活性化部分トロンボプラスチン時間(activated partial thromboplastin time: APTT)の凝固時間延長の原因精査に重要なスクリーニング検査である。凝固時間延長の原因となる凝固因子欠乏、凝固因子インヒビター、あるいは血栓症の独立した危険因子であるループスアンチコアグラント(lupus anticoagulant: LA)などの推定に有用である。CMTは、PTおよびAPTTを測定している施設であれば、正常血漿を準備することで実施可能であり、臨床的有用性の高い検査である。

一方で、その実施状況は、2021年に関西圏を中心として実施されたアンケート調査(回答118施設)では、PTおよびAPTTの院内実施率がそれぞれ100%、96.6%であったのに対し、CMTの実施率は53.4%にとどまっていた。この背景には、CMTが抱えるいくつかの課題が関与していると考えられる。その要因として、CMTには統一された標準法が存在せず、正常血漿と患者血漿の混合比率、使用試薬、正常血漿の種類、判定方法などが施設ごとに異なることが挙げられる。また、結果判定には混合比率ごとの凝固時間をプロットしたカーブパターンが広く用いられているが、典型的なパターンを示さない症例も少なくない。さらに、試薬や測定条件の違いによって結果や判定が変化する場合があり、施設間差や判定のばらつきが課題となっている。CMT実施に関して、これまでに報告されているいくつかのポイントについて検査プロセス別に紹介する。

1. Pre-analytical phase

CMTを実施する際には、凝固時間延長が真の延長であることを確認する必要がある。採血手技不良や検体不備などの影響を除外するとともに、患者が抗凝固療法を受けていないかをカルテ情報から確認することが重要である。特に採血時のヘパリンコンタミネーションは凝固時間延長の原因となるため、CMT実施前には硫酸プロタミンを添加したプロタミン補充APTT(PS-APTT)などを用いてヘパリンの有無を確認する。

2. Analytical Phase

CMTは、患者血漿と正常血漿を混合し、延長した凝固時間が補正されるか否かを確認することでその原因を推定する検査である。一般的な実施手順として、患者

血漿と正常血漿を100:0、50:50、20:80、10:90、0:100の割合で混合した複数の検体を調製し、それぞれについてPTまたはAPTTを測定する。LAの偽陰性を防止するため、患者血漿および正常血漿の残存血小板数は1万/ μ L以下にする。混合比率の設定は結果の解釈に重要であり、凝固因子欠乏の検出には患者血漿50%(50:50混合)が有用とされる。一方、LAの検出には患者血漿10%および20%(10:90、20:80混合)の測定が有用と報告されている。そのため、これらの混合比率を含めた評価が望ましい。混合比率のポイント数は多いほど判定精度の向上が期待できるが、検体量や検査効率の観点から制約もあるため、少なくとも5ポイント以上での実施が推奨される。

さらに、後天性血友病Aなどの時間および温度依存性インヒビターの検出を目的として、混合直後に測定する即時反応と、37°Cで2時間インキュベーション後に測定する遅延反応の両方を評価する。得られた凝固時間を混合比率ごとにプロットし、その補正パターンから凝固時間延長の原因を推定する。

3. Post-analytical phase

凝固因子欠乏症では正常血漿中の凝固因子によって欠乏が補われるため凝固時間は短縮し、補正パターンを示す。一方で、凝固因子インヒビターやLAが存在する場合には補正が阻害され、凝固時間の延長が持続する。また、後天性血友病Aで認められるⅧ因子インヒビターは時間および温度依存性に抑制作用を示すため、混合直後では補正が認められても、加温後には補正不良となる場合がある。このため、時間依存性インヒビターを見逃さないためにも、即時反応と遅延反応の両方の測定が必須である。

凝固時間の延長は、単に出血性疾患とは限らず血栓性疾患でも延長することがある。これらの疾患はいずれも生命を脅かす病態であり、CMTはこれら相反する病態を迅速に推定・鑑別するうえで重要な役割を担っている。本シンポジウムでは、クロスミキシング試験の基本的な実施方法を概説するとともに、実際の症例を交えながら信頼性の高い結果を得るためのポイントや判定時の注意点について紹介する。

市立岸和田市民病院 072-445-1000(内線 2236)

血液・凝固検査の品質を担保する！～正確で迅速な検査を支えるしくみ～

CBC の信頼性を高める！

◎水谷 陽介¹⁾

日本赤十字社和歌山医療センター¹⁾

血球算定（CBC：Complete Blood Count）は、血液中の有形成分を定量的に分析する基本検査である。外来・入院・救急を問わずあらゆる診療場面で日常的に実施され、白血球数・赤血球数・血小板数をはじめとする多数のパラメータが短時間に一度に得られる情報密度の高い検査でもある。各パラメータは診断・治療方針の決定から術前評価・化学療法中の経過観察まで幅広く活用されており、その結果の誤りが臨床判断に与える影響は決して小さくない。CBC の信頼性は、まさに検査室全体の信頼性に直結するといえる。

正確で迅速な検査結果を臨床へ提供するためには、検査前・検査・検査後のすべてのプロセスにわたる品質管理が欠かせない。採血・搬送条件や検体性状の確認といった検査前の工程から、日常的な内部精度管理の徹底、そして異常値や干渉物質への適切な対応と報告まで、検査の質はこれら一連のプロセス全体によって担保される。近年の自動血球分析装置は測定精度・処理速度ともに大きく向上したが、機械が苦手とする場面は依然として多く存在する。検体の干渉、偽性の異常値、形態的な特殊性など、装置のアラームだけでは対応しきれない状況において、最終的な判断を担うのは臨床検査技師の知識と経験である。日々の精度管理の積み重ねと、異常を見逃さない観察眼こそが、検査結果への信頼を築く基盤となる。

本講演では、当院における CBC の精度管理と異常検体への対応について、いくつかの取り組みや事例を紹介する。まず内部精度管理として、日々の管理試料測定による QC データの活用を取り上げる。また、血小板低値を示す検体への対応として、EDTA 依存性凝集などによる偽性血小板減少との鑑別フローや、塗抹標本による目視確認、再採血の判断基準についても紹介する。大型血小板が多い検体では機械算定値が過小評価となる場合があるため、末梢血塗抹による目視算定の事例について紹介する。さらに、乳びによる検体混濁がヘモグロビン測定などに与える干渉と補正対応についても取り上げる。

番外編として、CBC が他の検査異常の気づきにつながる取り組みを 2 例紹介する。一つ目は血小板異常高値と偽性高カリウム血症の関連である。著しい血小板増多を示す検体では、凝固の過程で血小板から放出さ

れるカリウムにより血清カリウム値が偽性に上昇する。CBC 結果にて血小板数の異常高値を認めた場合の検査室内への情報共有である。二つ目は、小球性貧血の鑑別における取り組みである。最も遭遇するのは鉄欠乏性貧血であるが、慢性炎症による貧血やサラセミアの場合もあり、特に軽症の β サラセミア症例では自覚症状が乏しいこともある。赤血球指数のパターンや追加検査の結果からサラセミアが疑われた症例を紹介する。これらはいずれも、CBC データを丁寧に読み解くことが思わぬ診断の糸口となることを示す好例である。

自動化・IT 化が進む現代においても、データの異常に気づき、適切に対応し、正しい結果を届けるのは技師一人ひとりの判断にほかならない。本講演が、CBC の信頼性向上に取り組む各施設の日常業務の一助となれば幸いである。

連絡先：073-422-4171（内線：1621）

血液・凝固検査の品質を担保する！～正確で迅速な検査を支えるしくみ～

目視鏡検の質を高める！

◎松宮 翔太¹⁾
福井赤十字病院¹⁾

末梢血液像の目視鏡検は、自動血球分析装置が広く普及した現在においても、血液疾患の診断や病態把握に重要な役割を担っている。芽球や反応性リンパ球、細胞の異形成などの評価には形態学的観察が不可欠であり、その結果は診療方針にも大きく影響する。一方で、目視鏡検の判定には観察者の経験や知識が関与するため、見落としや判定のばらつきが生じる可能性があり、「質」の維持・向上が重要である。

血液像の質は、単に細胞を正しく同定する能力だけではない。異常細胞を見落とさずに検出すること、適切に判断すること、再現性をもって報告することが重要である。血液像の質を「検出」「判断」「再現性」の観点から整理し、その向上に必要な考え方について考察する。

まず、血液像を採血・塗抹・染色・観察・評価・報告という一連のプロセスとして捉え、それぞれの工程が最終的な判定結果に与える影響について述べる。

血液像において鏡検時の確認作業のみで品質を担保するのではなく、良好な検体採取や標本作製を含めたプロセス全体で質を確保する視点が重要である。

次に見落とし防止の観点から、視野走査方法や観察時の考え方について紹介する。異常細胞の検出には、系統的な視野走査に加え、CBC データや臨床情報から病態を把握し、「何を探すべきか」を意識した観察が重要になってくる。また、自動血球分析装置から得られるスキャットグラムや各種フラグging情報は、異常細胞検出の有用な手がかりとなる。形態学的観察と機器情報はそれぞれの特性を理解し相互補完的に活用することで、検出感度の向上につながる。

さらに血液像判定における再現性について考える。判定能力の向上には経験と反復が不可欠であり、多くの症例を観察し、最終診断やフローサイトメトリーなどの結果と照らし合わせながら経験を重ねていくことが重要である。一方で、経験を個人の技術に留めるのではなく、症例の振り返りや判定基準の共有などを通じて組織全体で知識を蓄積・共有することは、技師化間差の低減と再現性向上に寄与すると考えられる。

目視鏡検の質向上を細胞同定技術の向上だけでなく、採血から報告までのプロセス管理、見落とし防止の工夫、そして経験を共有する仕組みづくりという観点から捉え、日常業務に活かせる考え方について紹介したい。

連絡先：0776-36-3630（内線 7205）