

第7回血液検査機器技術セミナー

自動血球分析装置による 体腔液測定導入の問題点と工夫

天理よろづ相談所病院 臨床検査部
土屋直道

日本臨床検査自動化学会第49回大会
2017年9月23日(土)パシフィコ横浜

一般社団法人日本臨床検査自動化学会
COI（利益相反）開示
筆頭発表者名：土屋直道

演題発表に関連し、開示すべきCOI
(利益相反)関係にある企業等はありません

一般社団法人 日本臨床検査自動化学会

体腔液等の正常液量と正常細胞数

種類	正常液量	正常有核細胞数
胸水	10～20mL	} $\leq 250/\mu\text{L}$
腹水	20～50mL	
心嚢水	10～50mL	
脳脊髄液	100～150mL	$\leq 5/\mu\text{L}$
関節液	<3.5mL	$\leq 200/\mu\text{L}$
* 腹膜透析液	---	$\leq 100/\mu\text{L}$
* 気管支肺胞洗淨液	---	$\leq 50/\mu\text{L}$

体腔液：漿膜に覆われた体内の腔に貯留する体液。腔内臓器などの癒着を防ぎ、摩擦を生じないように臓器を保護する潤滑剤あるいはクッションとして働く。

* 自動血球分析装置での測定対象

自動血球分析装置と目視法の利点と問題点

	自動血球分析装置	目視法
利点	<ul style="list-style-type: none">➤ 利便性に優れ、検査の迅速化と省力化に貢献➤ 検査者の技量による個人差の解消に有用	<ul style="list-style-type: none">➤ 実際の血球を観察して細胞数を算定しており、重要(異常)な細胞や所見に気付きやすい
問題点	<ul style="list-style-type: none">➤ 細胞のみを必ずしも正確に捉えているとは限らない➤ 精度管理を含む運用体制が十分に確立していない(標準物質、外部精度管理)	<ul style="list-style-type: none">➤ 操作が煩雑で、検査者の経験や技術により結果に個人差を認めたり、報告までの時間を要したりする➤ 不慣れな技師に対して教育や訓練が必要

自動血球分析装置による 体腔液測定導入時の確認事項

導入前性能試験 (Verification)

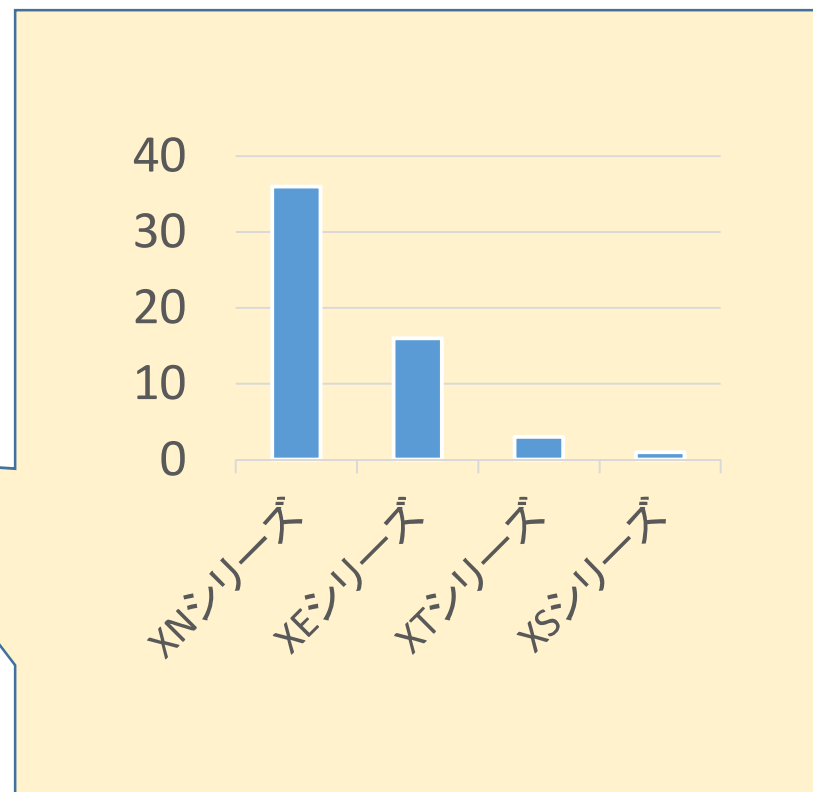
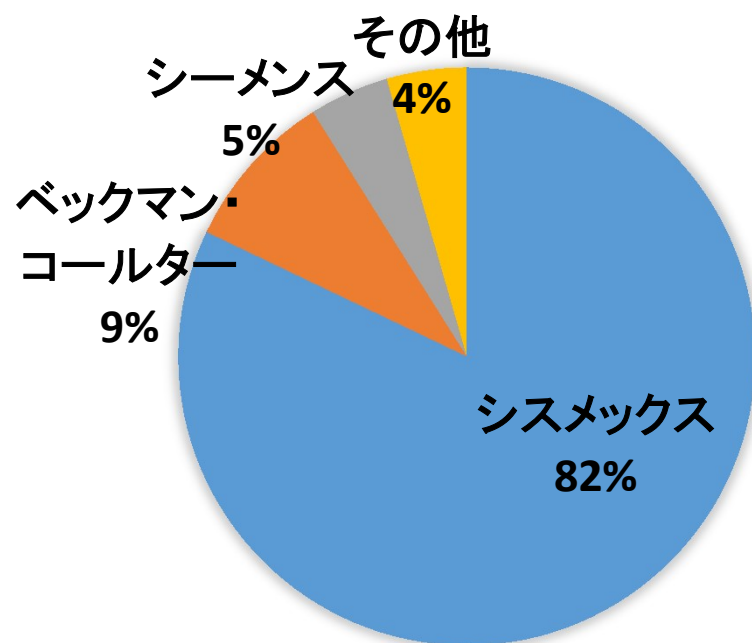
1. 正確度
2. 精密度 (再現性)
3. 直線性
4. 検出限界、検出範囲
5. 分析特異度
6. キャリーオーバー

運用ルール

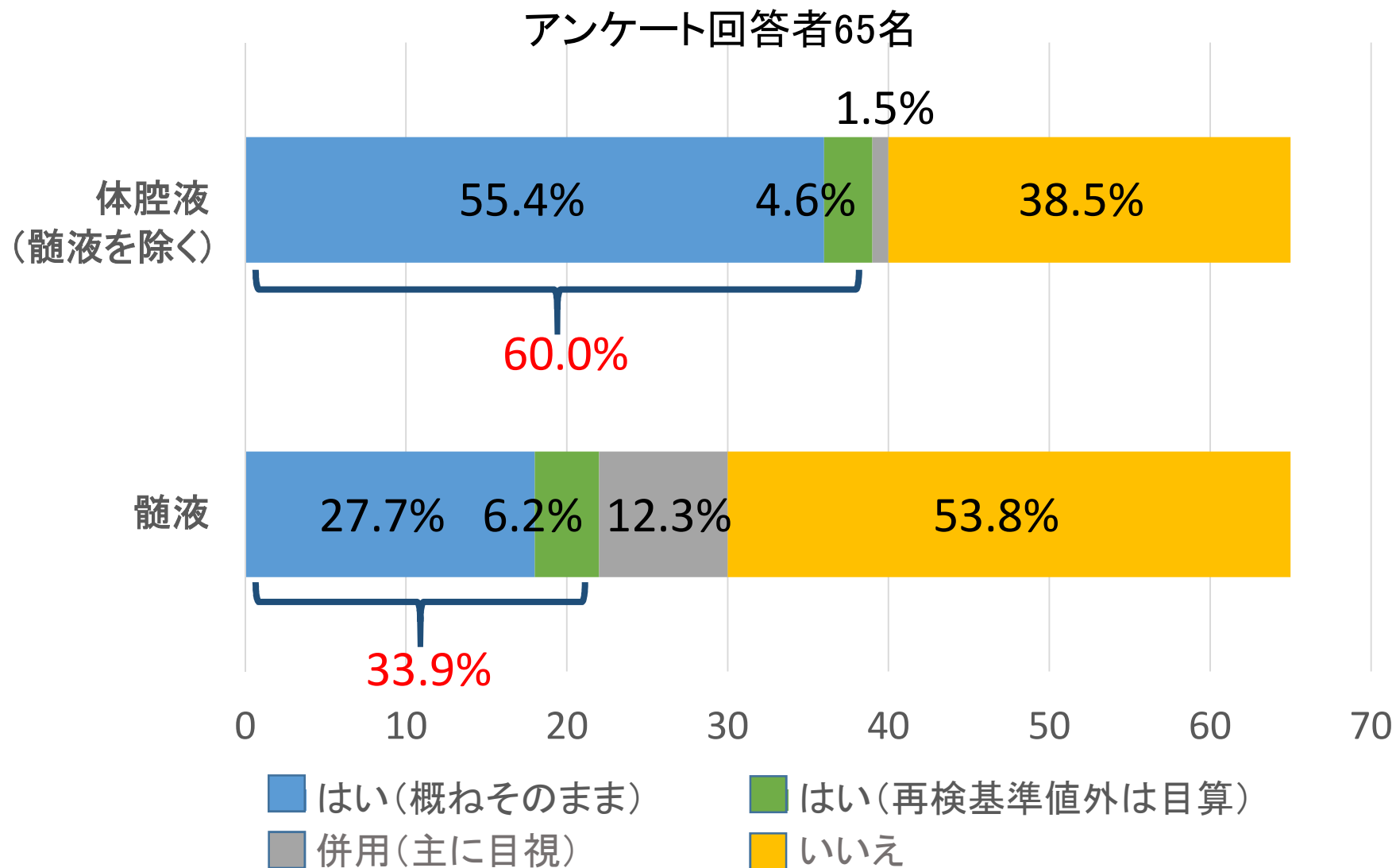
1. カットオフ値の設定
2. 目視再検ルール

使用している自動血球分析装置のメーカーおよび機種（事前アンケートより）

アンケート回答者65名



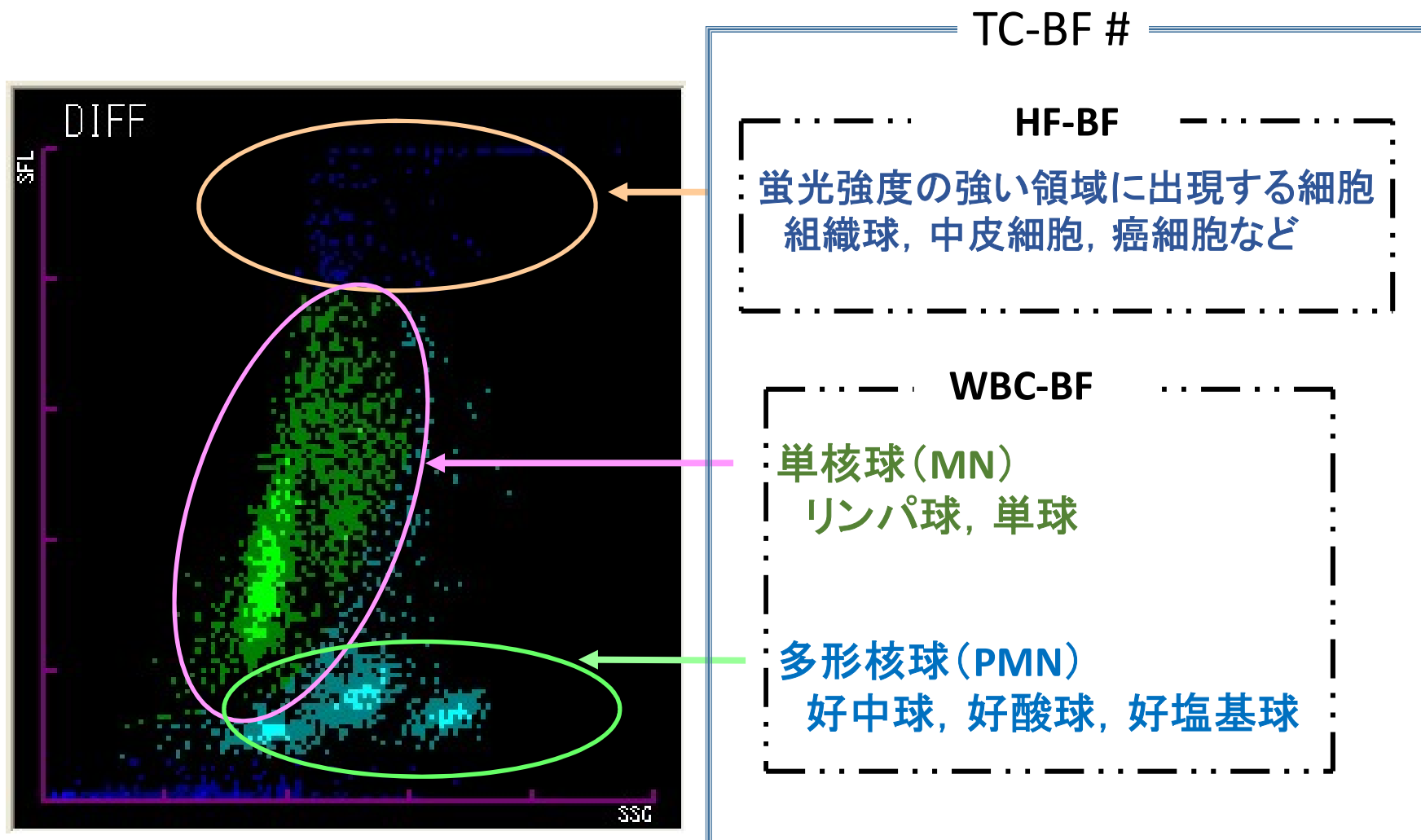
自動血球分析装置の値を報告している割合



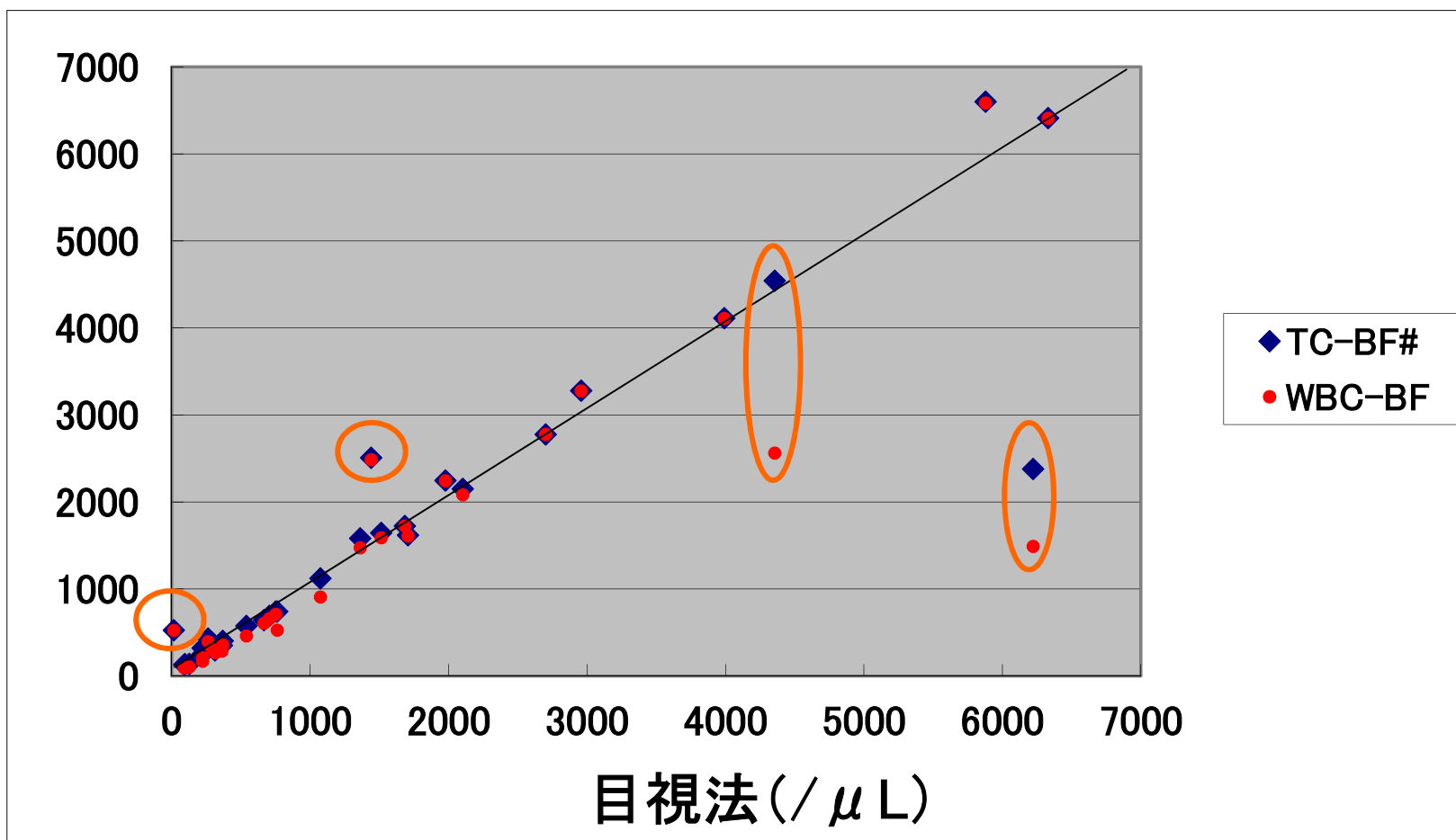
全血モードとBFモードの比較

	全血モード	BFモード
特徴	<ul style="list-style-type: none">➤ 十分な細胞数があり、クリアに分画できていれば5分画可能➤ 細胞数はHF-BF領域を含む全有核細胞をカウント➤ WNR等他のモードと細胞数を比較できる	<ul style="list-style-type: none">➤ 全血モードの約10倍の粒子をカウントしているため、精度が良好(1桁レベルまで算出)➤ HF-BF領域に血液外の細胞が出現するので、その検出感度が良好
問題点	<ul style="list-style-type: none">➤ 細胞数が低値の場合、BFモードに比べて精度が落ちる	<ul style="list-style-type: none">➤ HF-BF領域の細胞を白血球分類の分母としてカウントしない➤ 単核球(MN)と多形核球(PMN)の2分画のみ
適応	胸水・腹水・心嚢水など細胞数が比較的十分にある検体	脳脊髄液・腹膜透析液・気管支肺胞洗浄液など細胞数が少ない検体

DIFFチャンネルにおける各種細胞の分布域 (XE-500のBFモード)

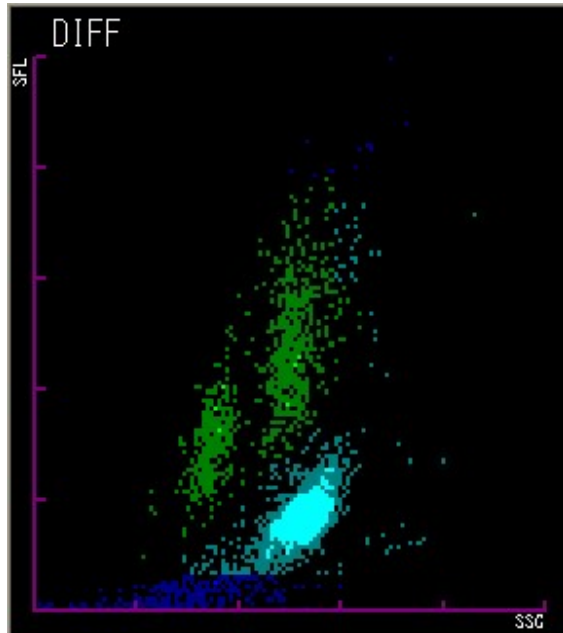


体腔液の有核細胞数の目視法との相関



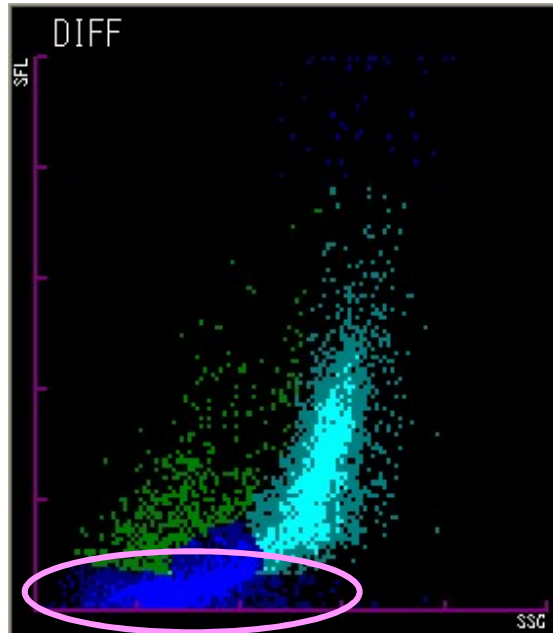
スキヤッタグラムの比較

HF-BF領域にスキヤターを認めない場合



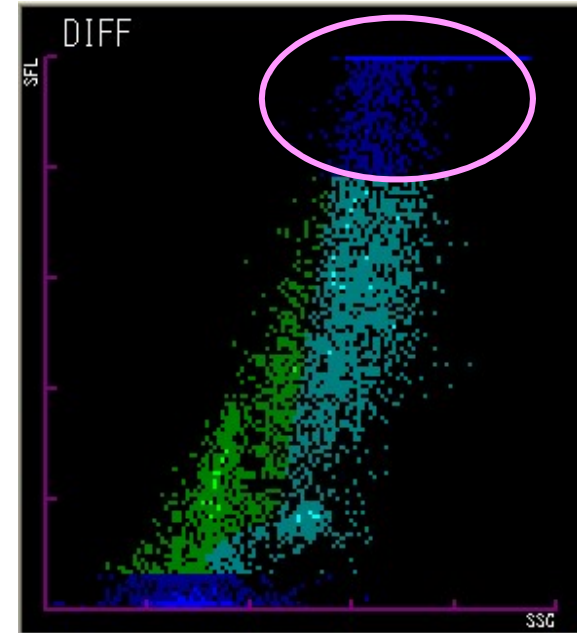
目視法 ≒ WBC-BF# ≒ TC-BF

デブリス領域にスキヤターを認める場合



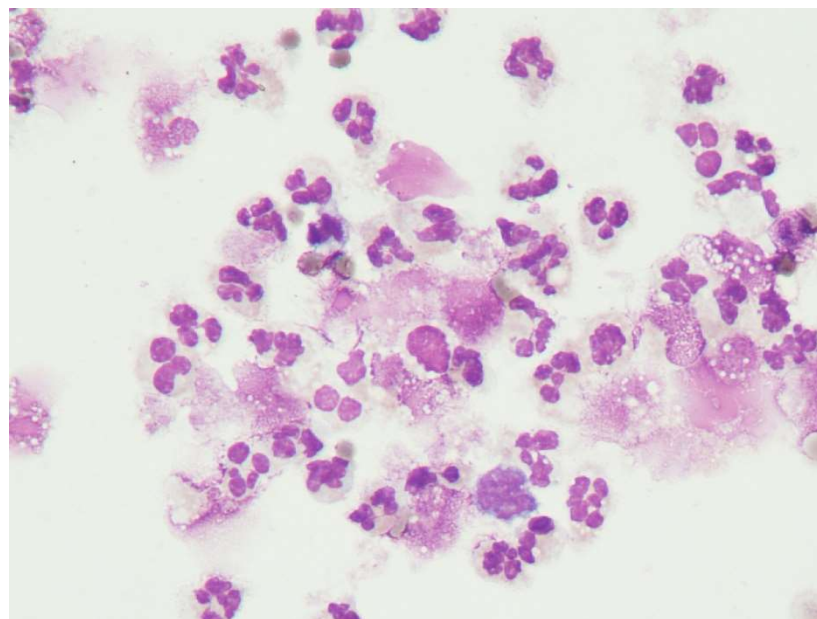
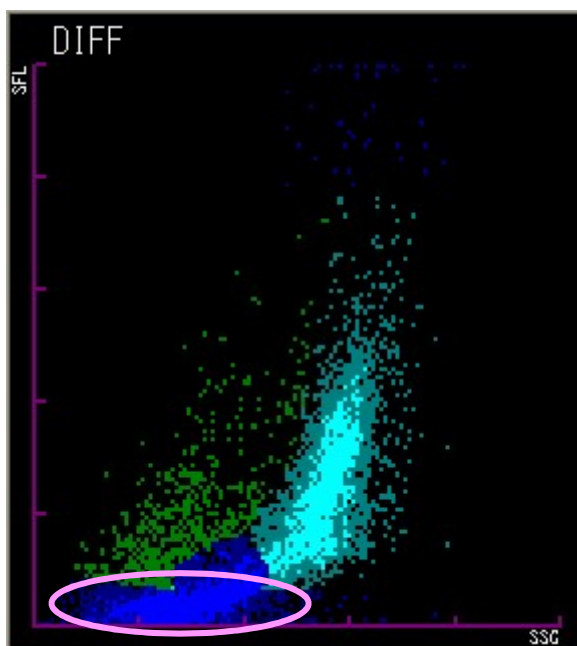
目視法 < WBC-BF# ≒ TC-BF

HF-BF領域にスキヤターを認める場合



WBC-BF < TC-BF# ≒ 目視法
or
WBC-BF < TC-BF# < 目視法

乖離例 (デブリス領域にスキャッターを認める場合)



目視法	1440/ μ L
WBC-BF	2487/ μ L
TC-BF#	2509/ μ L

死滅して原型を留めていない細胞が多数存在するため、どこまでを有核細胞とみなすのが困難

死滅した白血球を多数含む検体の有核細胞数の報告

【目視算定】

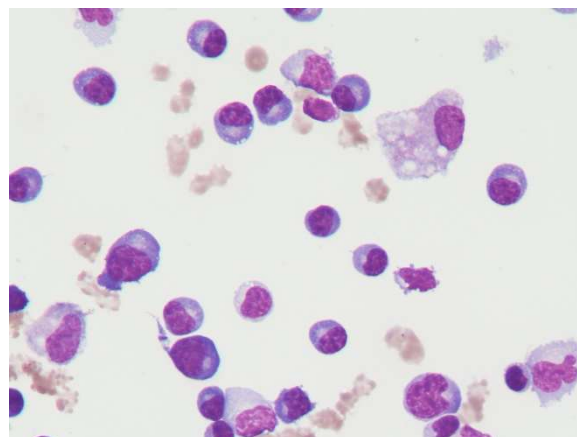
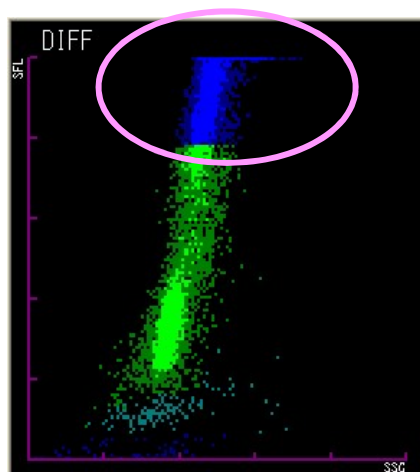
白血球の原型を留めていない細胞はカウントせず、**原型を留めた細胞のみをカウント**しているため、本来の正確な細胞数とは言えない。

【自動血球分析装置】

大きさや物理的な性質から白血球と考えられる粒子をカウントしており、**原型を留めていない細胞も含めてカウント**している可能性が高い。

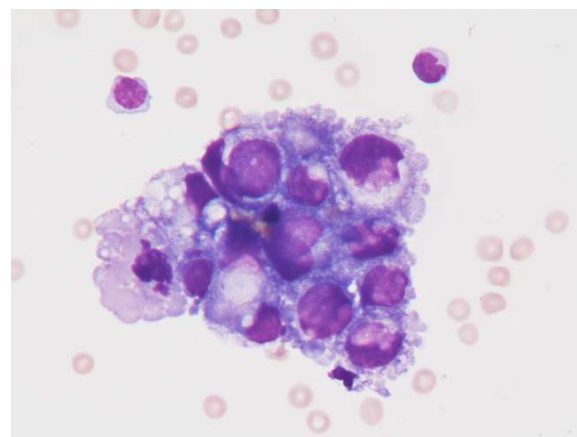
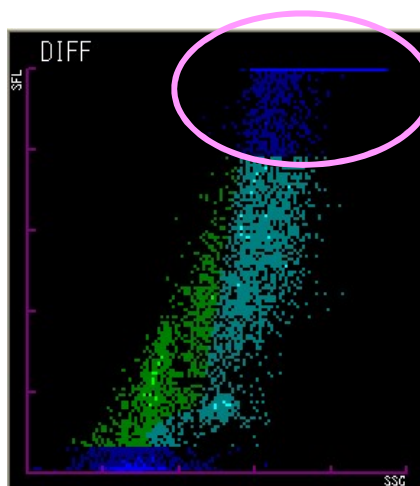
いずれの方法にしても、**正確な(正しい)細胞数の算出は不可能**である。例えば「原型を留めていない死滅した細胞を多数認めるため、細胞数は参考程度」等とコメントを付記する。

乖離例 (HF-BF領域にスカッターを認める場合)



目視法	4355/ μ L
WBC-BF	2562/ μ L
TC-BF#	4544/ μ L
(形質細胞 87%)	

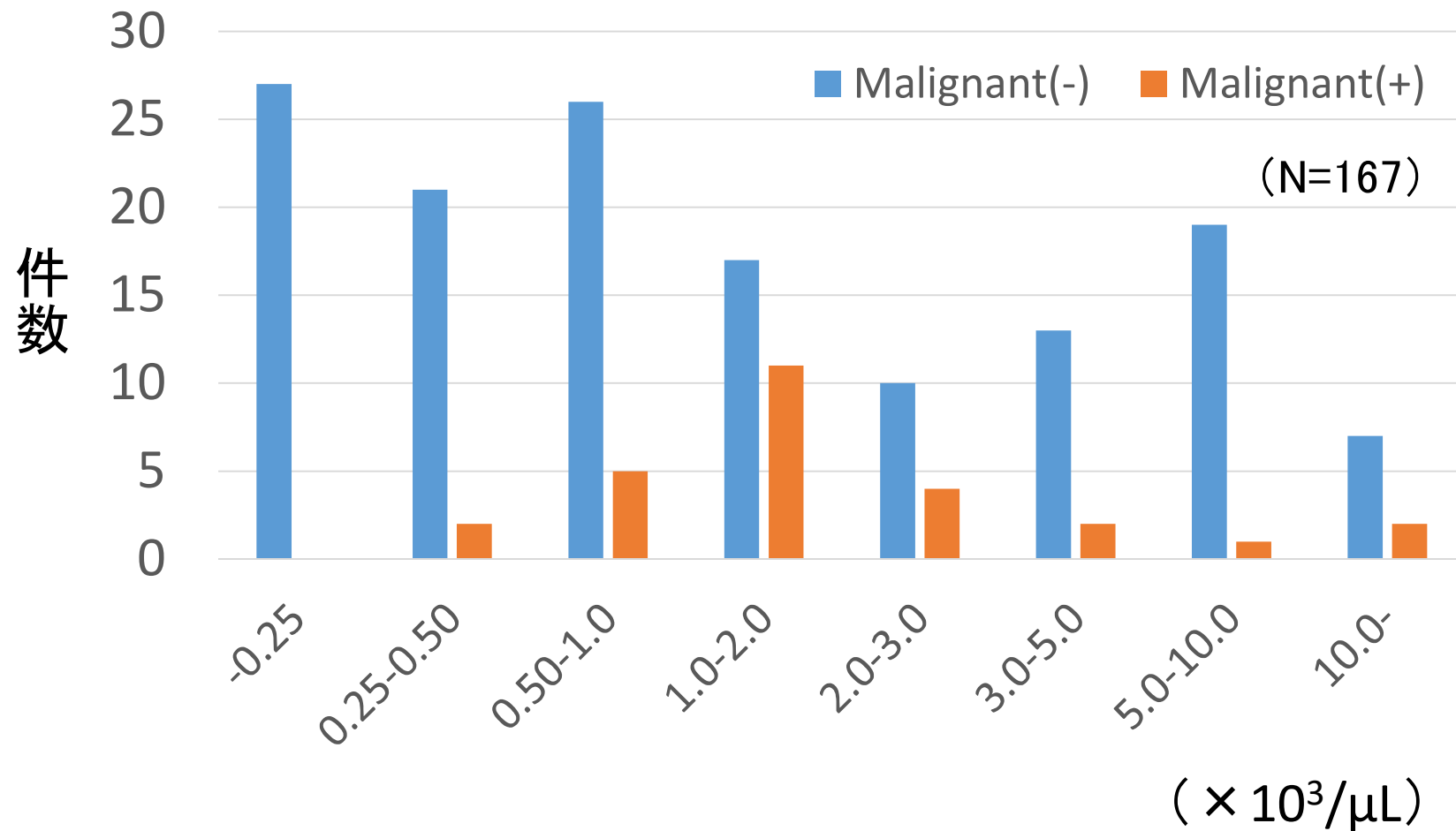
形質細胞がHF-BF領域に分布するため、WBC-BFが低値



目視法	6222/ μ L
WBC-BF	1490/ μ L
TC-BF#	2380/ μ L
(癌細胞 86%)	

癌細胞がHF-BF領域に分布するため、WBC-BFが低値。また、集塊状のため、正確な細胞数の算定は困難

体腔液(胸水, 腹水, 心嚢水)の細胞数と 悪性細胞(Malignant cell)出現の有無



関節液など粘性の強い検体の測定法

【目視算定】

粘性に起因する検体のサンプリングおよび希釈の正確性の問題
粘性成分と白血球数算定用試薬(チュルク液)が反応し凝集してしまうため、
無染色で算定する必要がある。

【自動血球分析装置】

粘性に起因する検体の吸引および希釈の正確性が懸念される。
WNRチャンネルでは粘液成分と凝集反応するため測定できない。
下記のヒアルロニダーゼを用いて粘性を除去する方法もあるが、当院では
ヒアルロニダーゼ処理を行わずに検体の希釈系列を作製し、WDFチャンネルにて測定している。

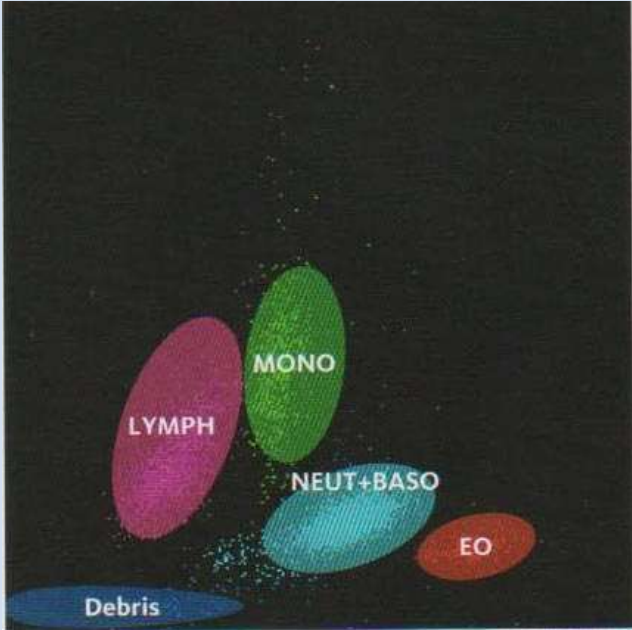
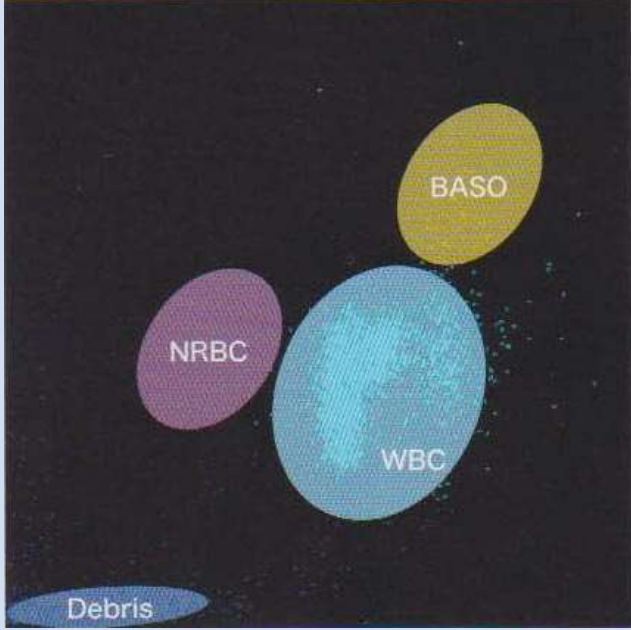
➤ 前処理

- ・ヒアルロニダーゼ溶液の調整
生理食塩水6mLにヒアルロニダーゼ粉末1mLを溶解する
- ・ヒアルロニダーゼ溶液200 μ Lを検体に加え、粘性を除去する

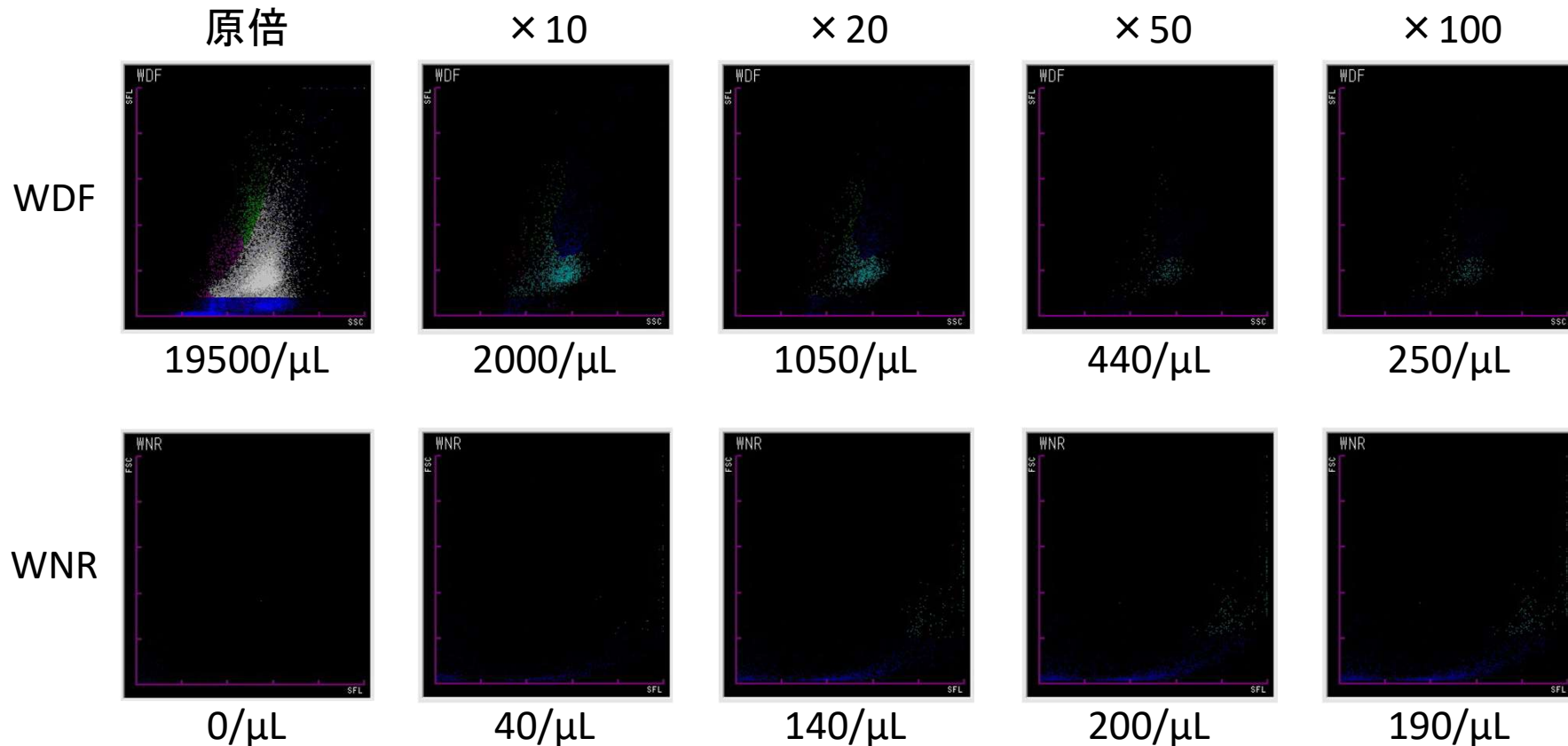
➤ 測定方法

- ・ヒアルロニダーゼ添加検体を生食にて10倍希釈後測定
(XN BFモード運用研究会)

WDFチャンネルとWNRチャンネル

WDF	WNR
	
<p><u>白血球の分類</u>および計数, 異常細胞のフラグging 試薬と検体の反応が緩いため、粘性のある検体の影響を受けにくい</p>	<p><u>白血球の計数</u>, 好塩基球および有核赤血球の分類・計数 試薬と検体の反応が強いため、粘性のある検体と凝集反応する</p>

関節液の希釈系列の1例



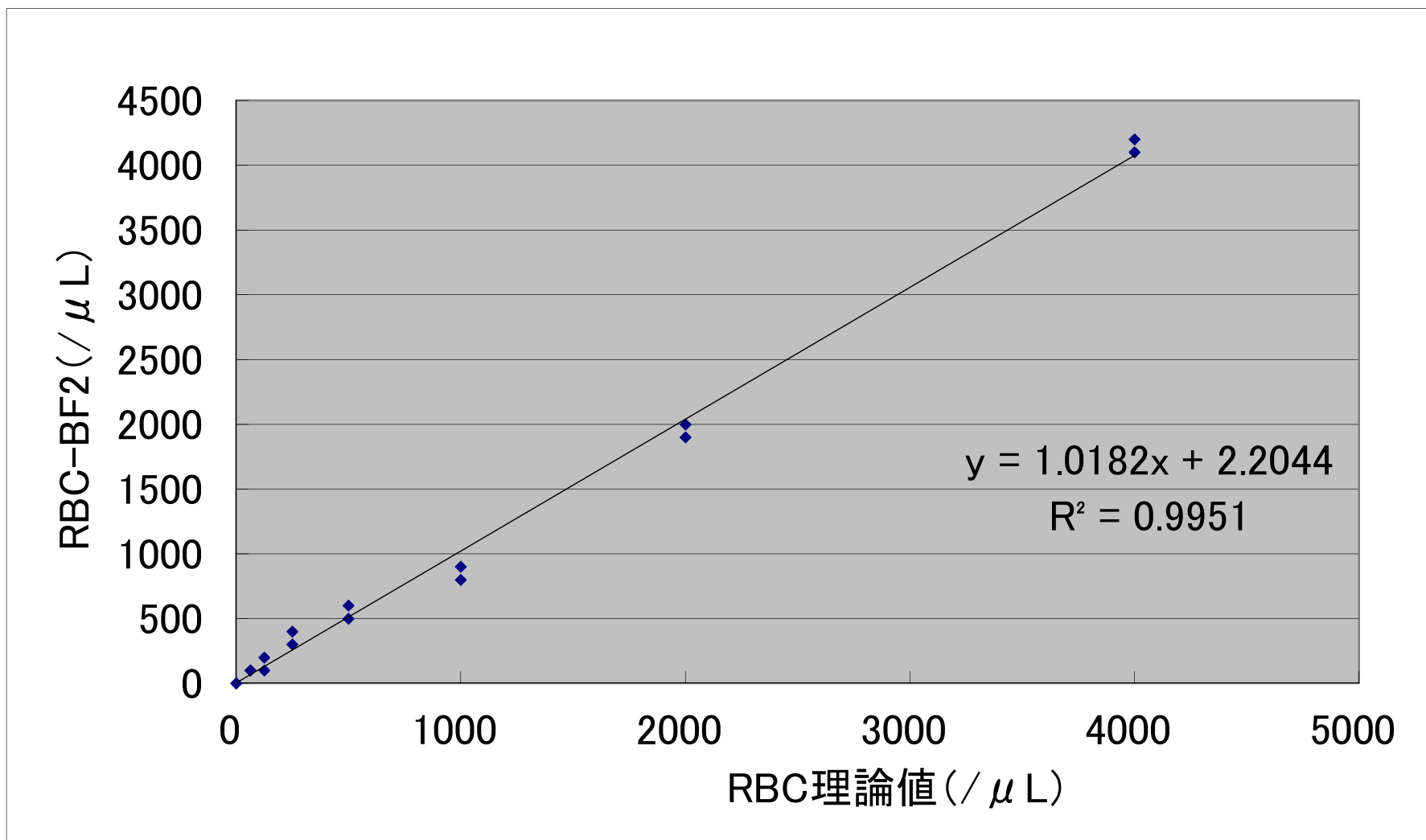
検体の粘性の程度や細胞数を考慮して任意の希釈倍率(原倍~100倍)の希釈試料を作製し、WDFの細胞数の直線性を確認する。希釈倍率が高くなる程、誤差も大きくなることを考慮して妥当な測定値を決定する。

WNRでは100倍希釈でようやく測定値が算出可能か？

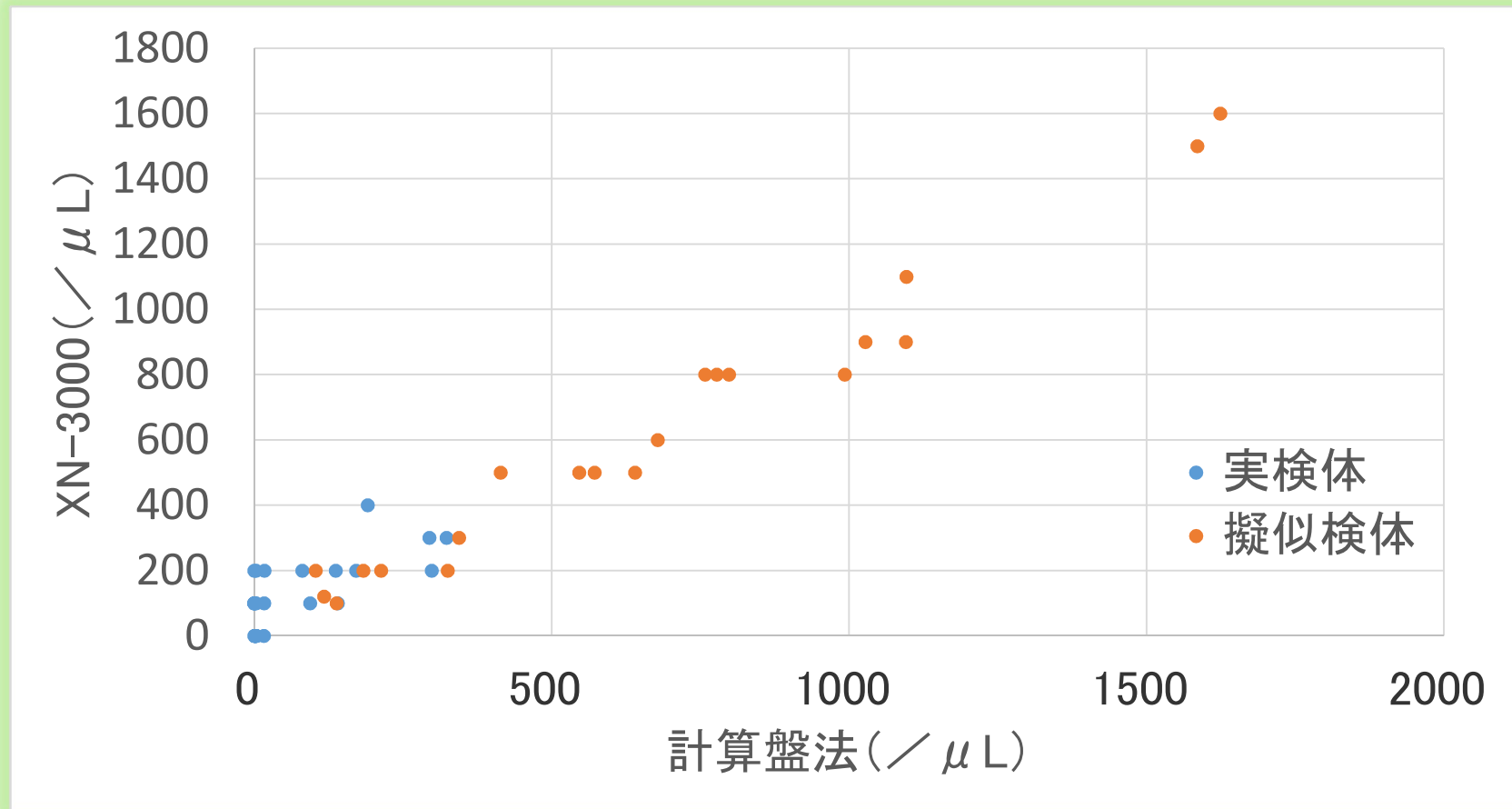
BFモードでの脳脊髄液測定

- ✓ 赤血球測定 (RBC-BF2)
- ✓ 直線性, 低値域の相関
- ✓ 有核細胞数の相関
- ✓ 測定の注意点とフローチャート
- ✓ メーカーへの要望
- ✓ 注意すべきスキッタグラム

赤血球 (RBC-BF2) の希釈直線性

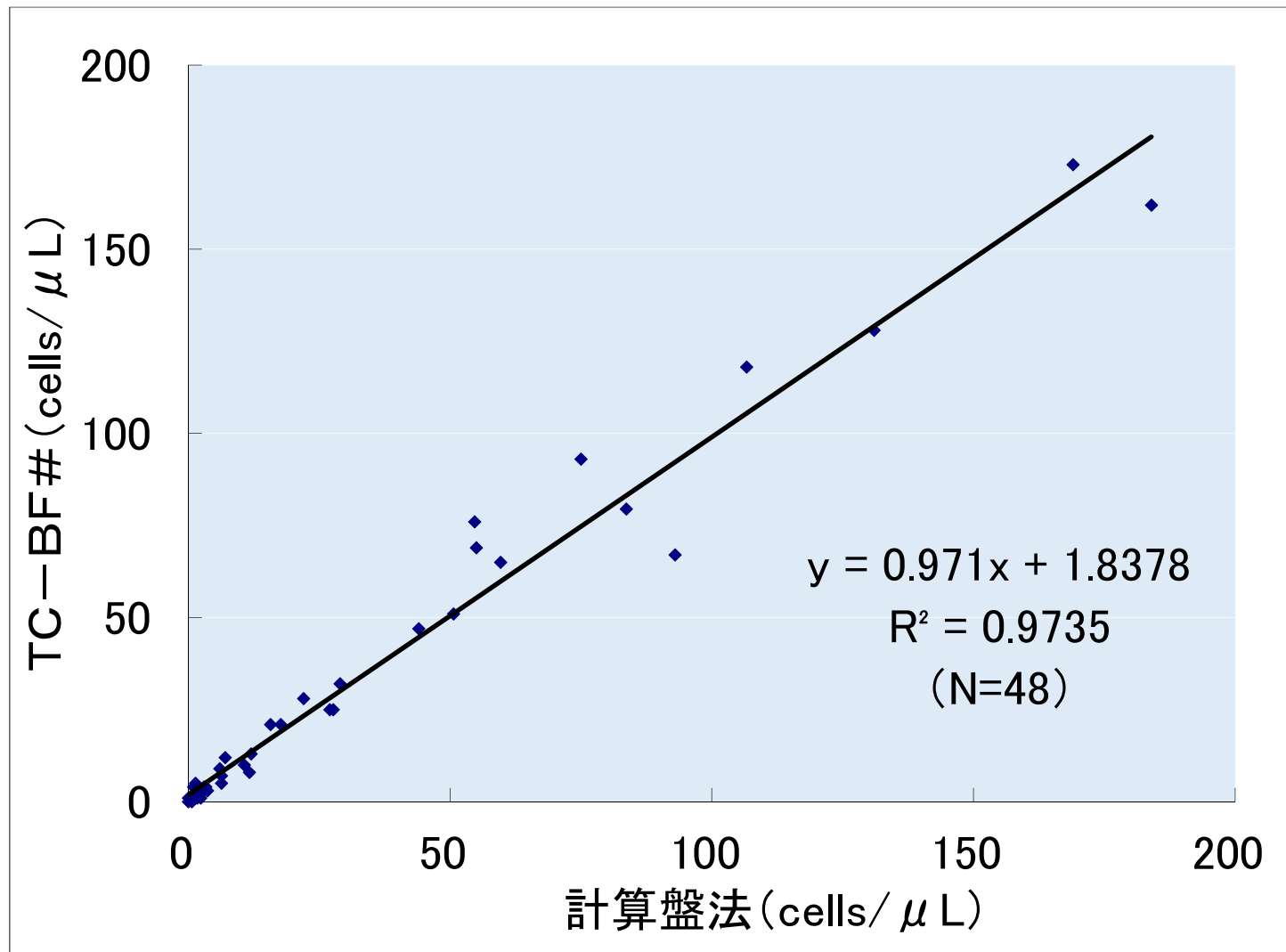


赤血球数 (RBC-BF2と計算盤法) の相関



穿刺操作で血液が混入した場合、それに相当する白血球を控除する必要がある。正常血液の場合 (赤血球450万:白血球7500/ μL とすると)、赤血球600個に対して白血球1個の割合で補正する必要がある。

脳脊髄液検体における有核細胞数の相関 (XN-3000のBFモード)

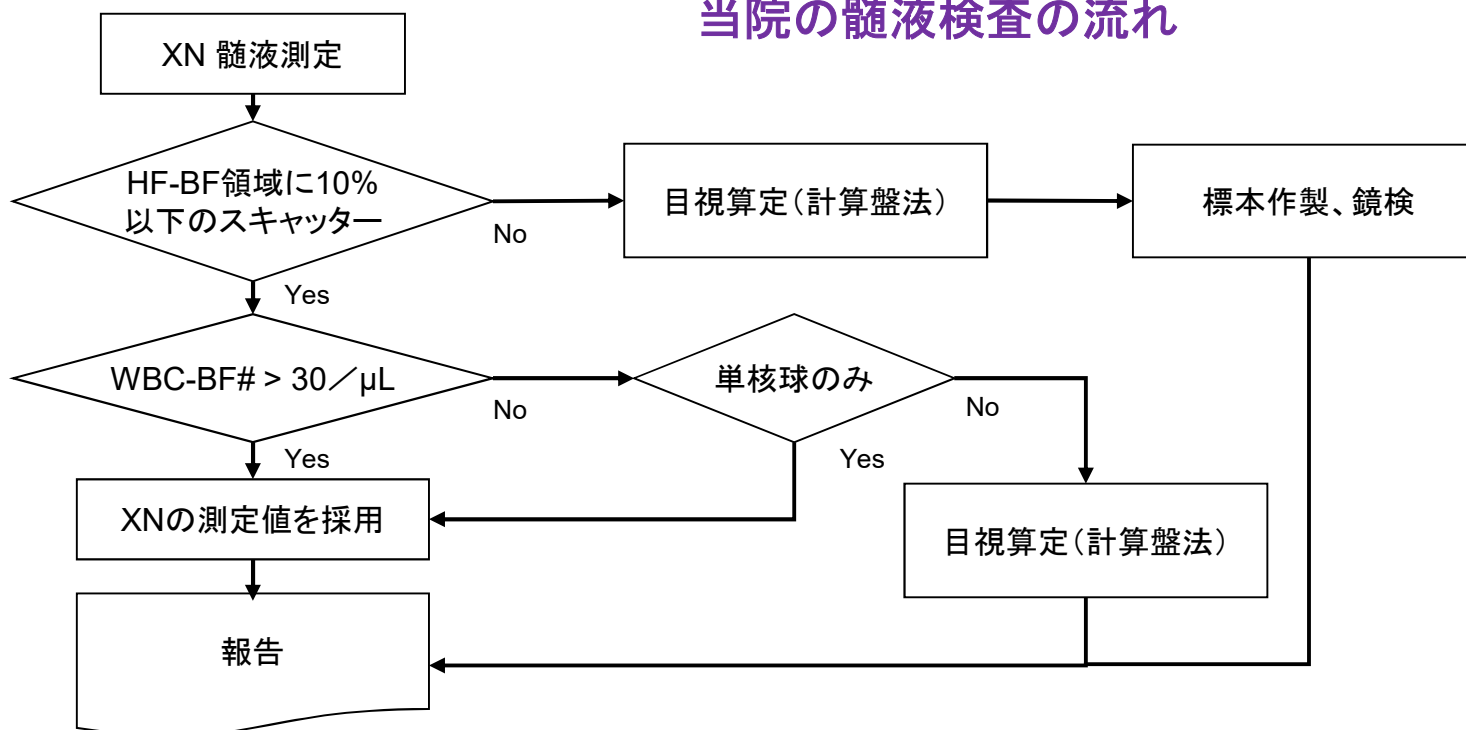


脳脊髄液測定 の 注意点 と フローチャート

HF-BF領域にスキッターを認める場合には、異常細胞が出現している可能性があるの
で、標本を作製し鏡検している。

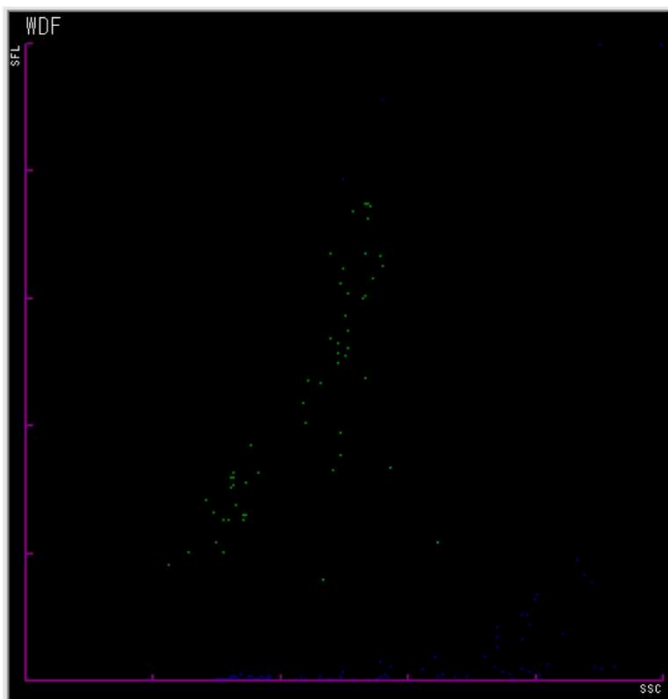
脳脊髄液中の細胞数は、6個/μL以上は細胞増加(20個までを軽度、20~50個を中等
度、50個以上を強度)と判断される。また、細胞数が5個以下であっても臨床側から好
中球の有無をシビアに問われるため、当院では、自動血球分析装置にて細胞数が30
個(当初は10個)以下で多形核球(PMN)を認める場合には、目視算定している。

当院の髄液検査の流れ

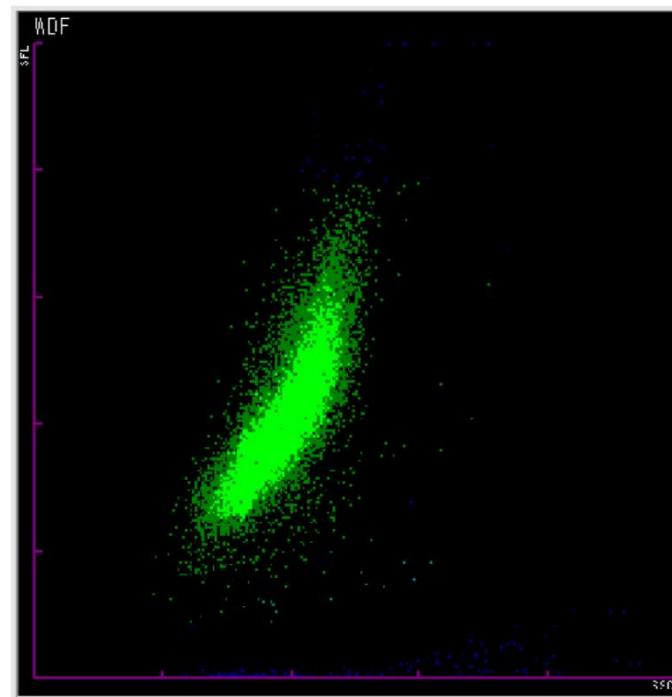


メーカーに改善を求めたいWDFの解析

多形核球領域にスクATTERをほとんど認めていない



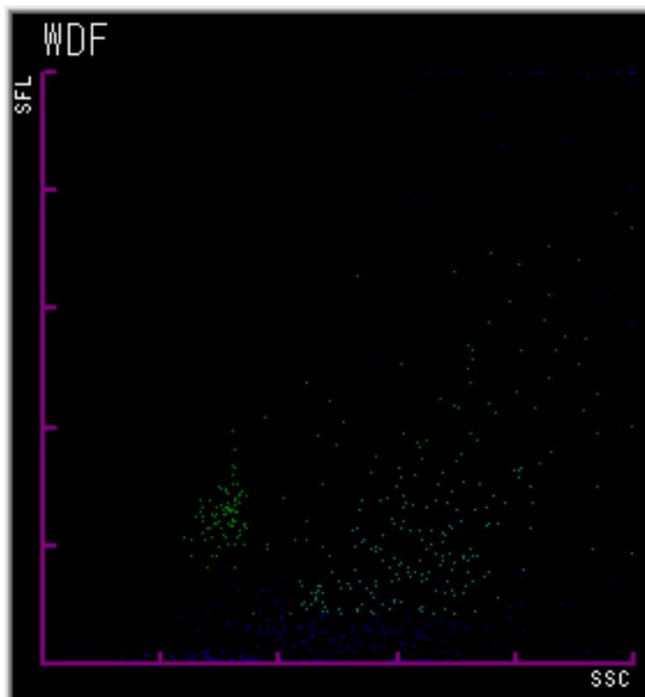
装置分析結果		目視算定	
MN#	4	単核球	5
PMN#	2	多形核球	0
TC-BF#	6		
MN%	66.6%		
PMN%	33.4%		



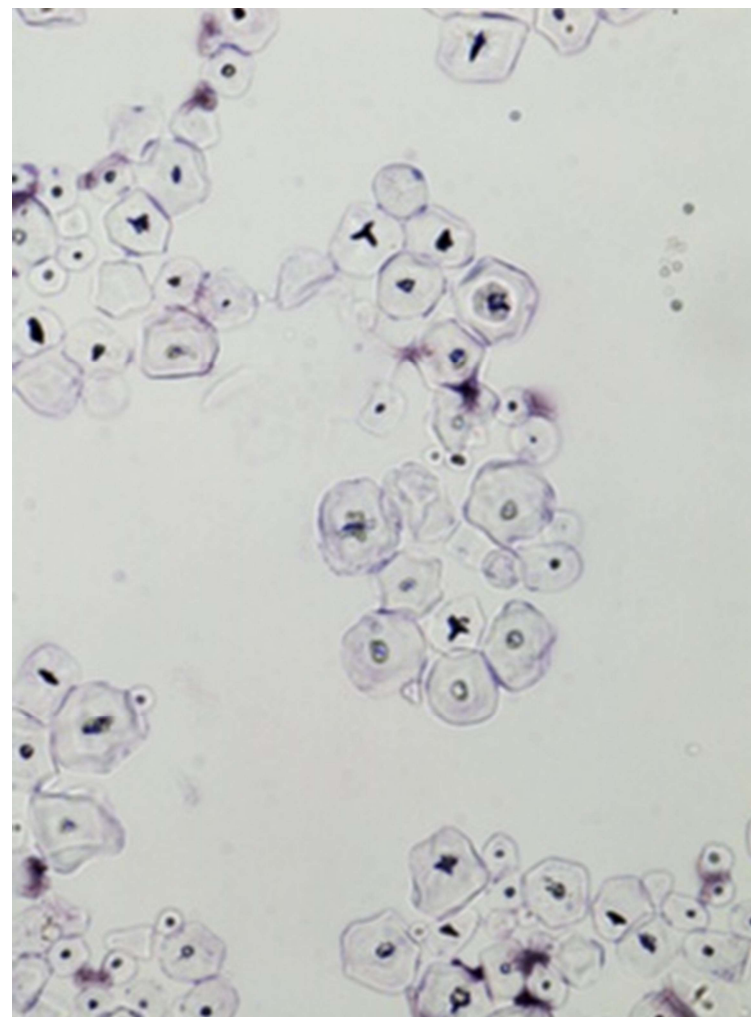
装置分析結果		目視分類	
MN#	1926	リンパ球	1.0%
PMN#	112	単球	0.5%
TC-BF#	2046	マクロファージ	0.5%
MN%	94.5%	白血病細胞	98.0%
PMN%	5.5%	バーキットリンパ腫	

異変に気付かなければならないスキャッタグラム

手袋のパウダーが混入した髄液検体



装置分析結果		目視算定	
MN#	12	単核球	12
PMN#	17	多形核球	0
TC-BF#	31	目視分類	
MN%	41.4%	リンパ球	97.5%
PMN%	58.6%	単球	2.5%



体腔液の自動血球分析装置による測定まとめ

BFモードではHF-BF領域に、組織球、中皮細胞、反応性リンパ球、癌細胞などが出現しており、**腫瘍細胞のスクリーニングという付加価値**が期待でき、染色標本での観察が欠かせない。

自動血球分析装置による体腔液測定は、検査者の技量による**個人差を解消し、検査の迅速化・省力化に貢献**する。

ただし、スキャッタグラムの観察等により異常や問題点に気付き、自動血球分析装置の弱点を理解した上で運用する。