検査前の標準化

血液凝固検査に影響する測定前変動因子

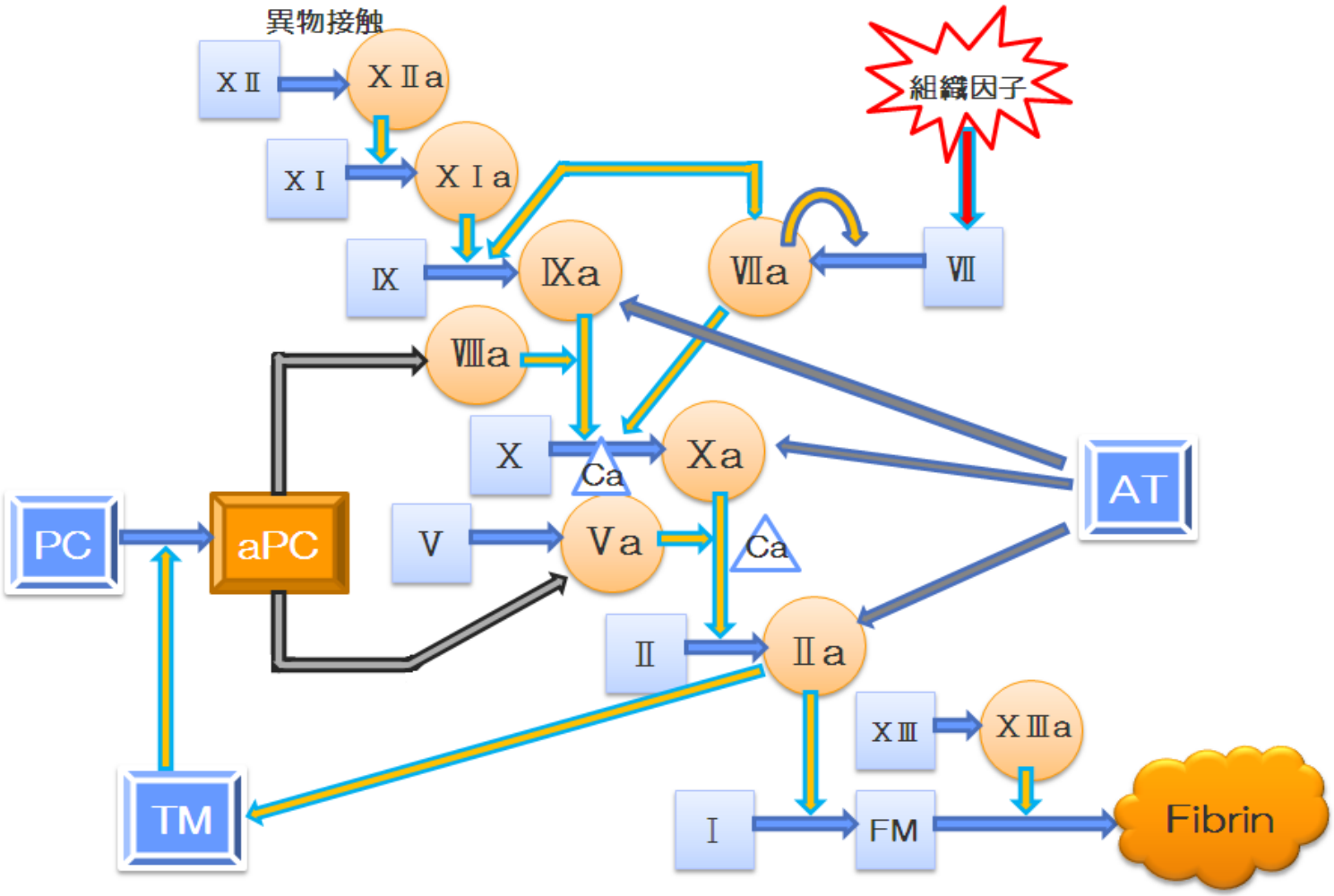
琉球大学医学部附属病院検査部
山内 恵，伊佐和貴

血液凝固検査は多様な生物活性に依存しており、測定系の標準化が遅れている。さらには、測定に至るまでに種々の因子が測定値に影響することも広く知られており、日常現場においては、検体の取り扱いに注意を払うことが多い検査である。

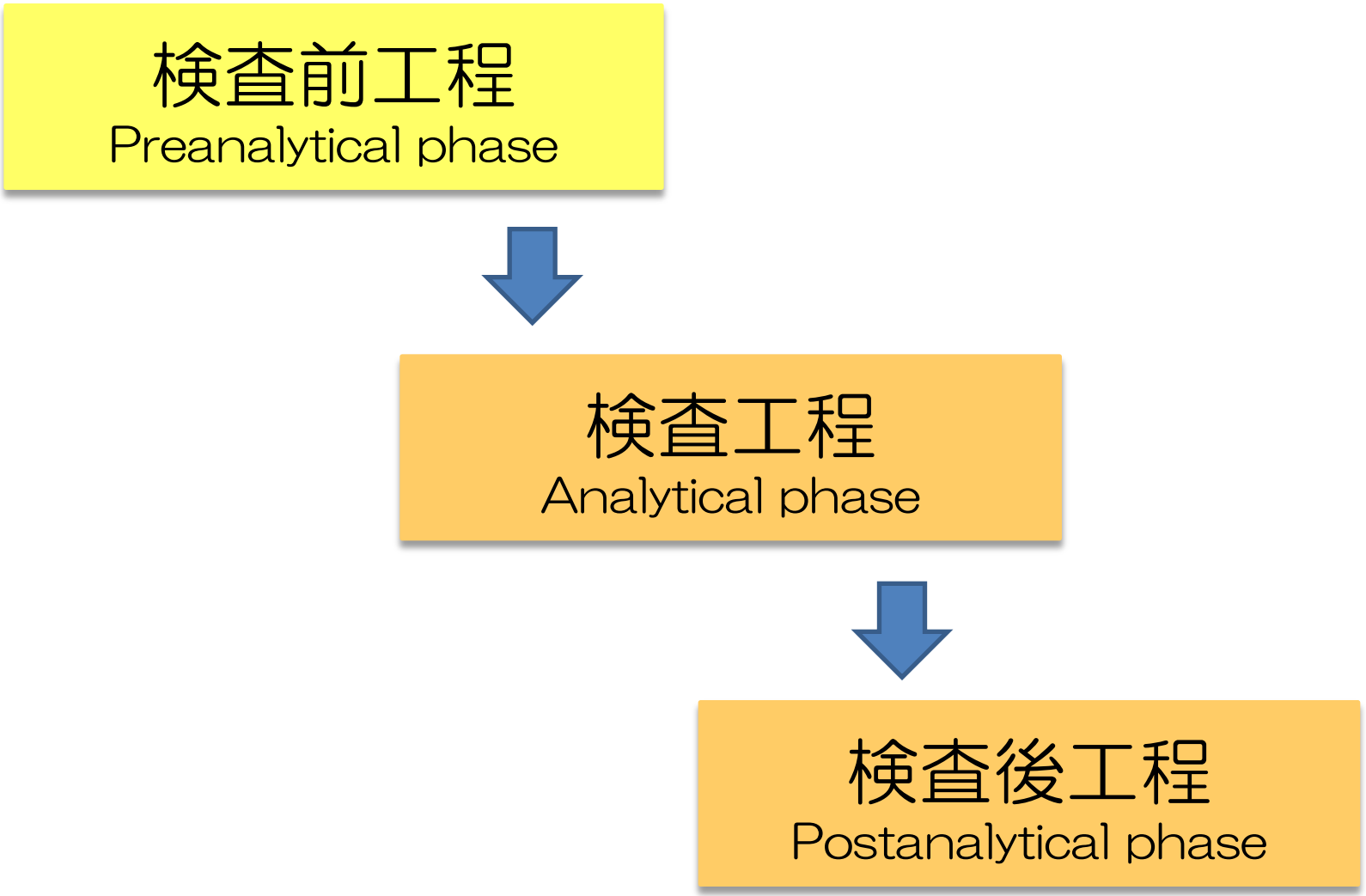
これら測定前変動因子について十分に認識することは、検査へのアーチファクトを未然に防ぎ、信頼できる検査値を提供、正確な検査値の判読につながる。

今回、血液凝固検査に影響を与える測定前変動因子について理解を深めていただき、日常業務における精度保証への取り組みの一助となることを期待したい。

血液凝固検査に影響する測定前変動因子



凝固反応は多様な生物活性に依存している



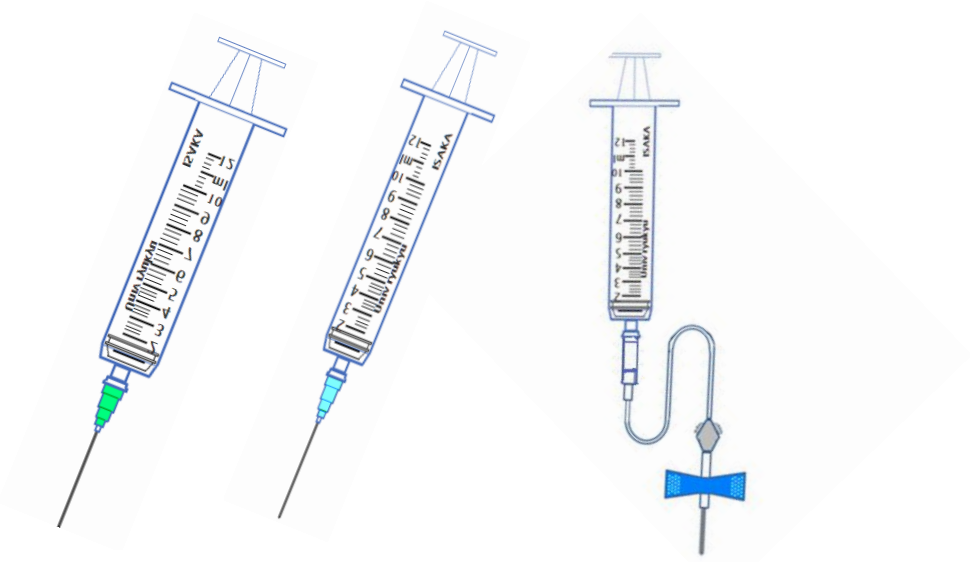
臨床検査のフローチャート

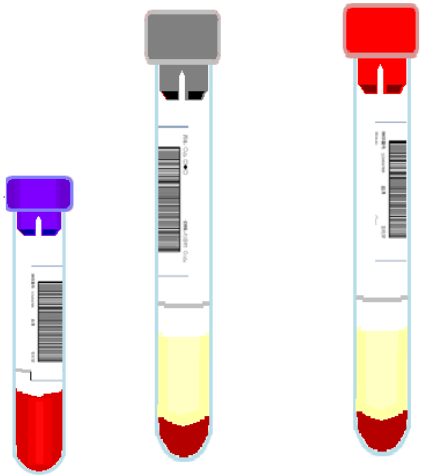
血液凝固検査に影響する
測定前変動因子

- 採血
- 検体の輸送
- 検体の状態
- 測定前処理
- 測定までの安定性・保存

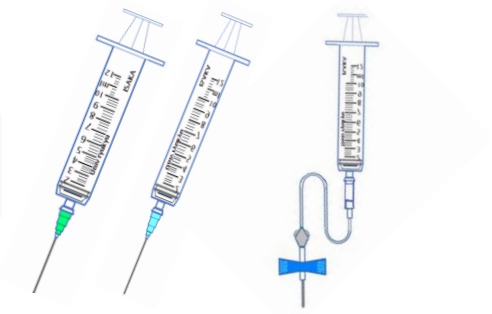
採 血

- 採血のタイミング
- 駆血
- 注射針，採血器具
- 採血管





注射針，採血器具の違いによる影響

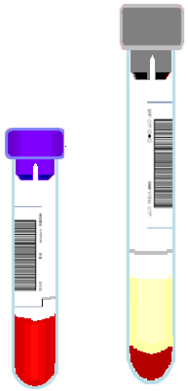


Preanalytical variables	PT(sec)	APTT(sec)
Standard procedure 21G	12.2±0.92	29.1±1.78
Venipuncture syringe 23G	12.3±0.87	29.1±1.74
Venipuncture devuce Winged type (21G)	12.2±0.77	28.9±1.72

In the standard procedure, 1.8ml of whole blood was collected by use of 21G gauge needle syringe, then mixed with 0.2ml of 3.13% sodium citrate.

伊佐 和貴, 山内 恵, 名護 珠美他.
血液凝固検査,プロトロンビン時間・活性化部分トロンボプラスチン時間に影響する測定前変動要因の評価. 臨床病理58 (10): 979～985, 2010.

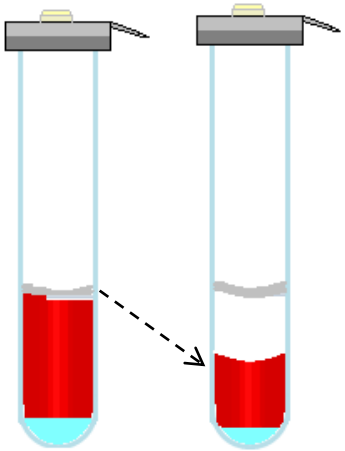
抗凝固剤の影響（採血管の違い）



Preanalytical variables	PT(sec)	APTT(sec)
Standard procedure　21G	12.2±0.92(100)	29.1±1.78(100)
Anti-coagulant		
EDTA2K	17.2±1.04(141)	40.4±2.63(139)
EDTA2K・NaF	18.6±1.28(152)	40.7±3.20(140)

半量調整の影響

・新生児
・採血困難な患者



	規定量	半量調整
血液量	1.8ml	0.9 ml
クエン酸Na量	0.2ml	0.1 ml

Preanalytical variables	PT(sec)	APTT(sec)
Standard procedure	12.2±0.92(100)	29.1±1.78(100)
Half-volume adjustment	11.9±1.06(97.5)	27.7±2.10(95.2)

検体の輸送

・速やかに検査室へ搬送
・高温、低温を避けること

検体の安定性(室温 全血)

項目	時間
PT	24
APTT	4
APTT 未分画ヘパリンモニタリング	1
APTT vWF,Ⅷ因子測定	4

(CLSI H21-A5引用)

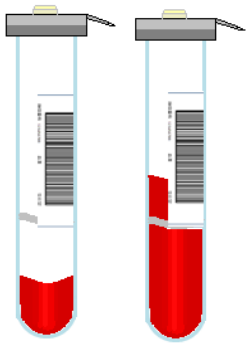
検体の安定性(温度)

	凝固因子への影響
低温	第Ⅶ因子の活性化
高温	第Ⅴ因子、第Ⅷ因子の分解

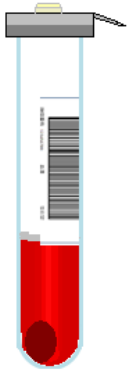
検体の状態

- 採血量
- 凝固物の有無
- 溶血の有無
- 薬剤・輸液の混入

検体量の過不足



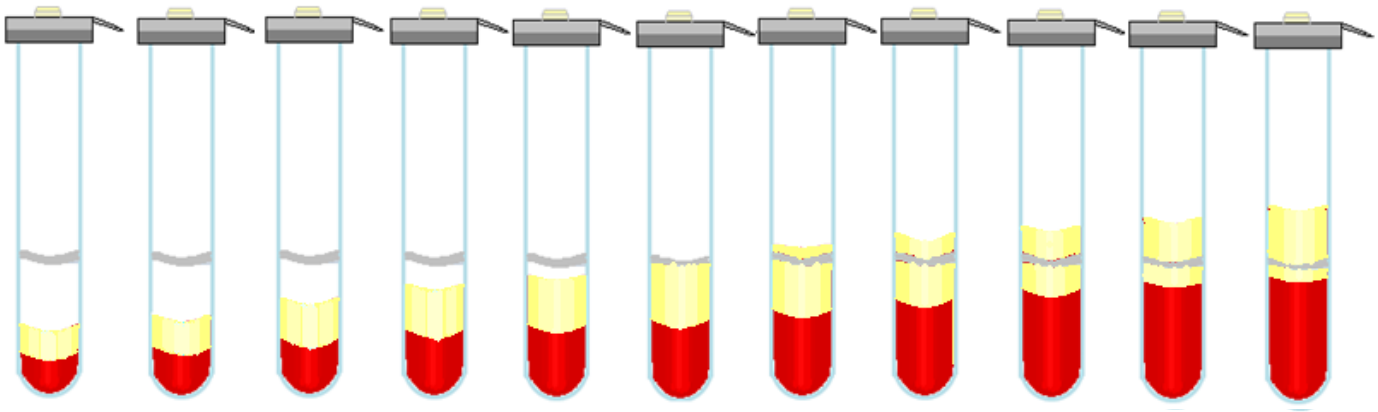
検体の凝固・溶血



薬剤・輸液の混入

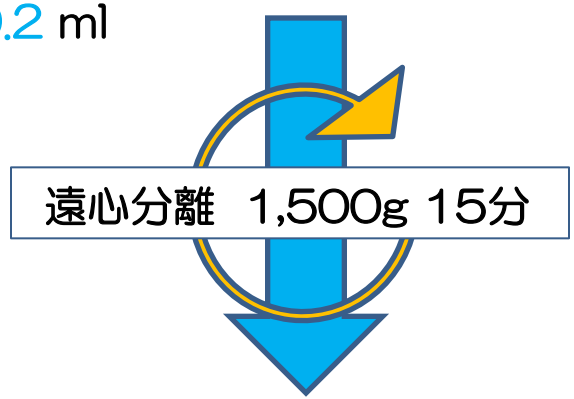
- 抗凝固剤
  (ヘパリンなど)
- 凝固促進剤
- 輸液

採血量による影響の検討

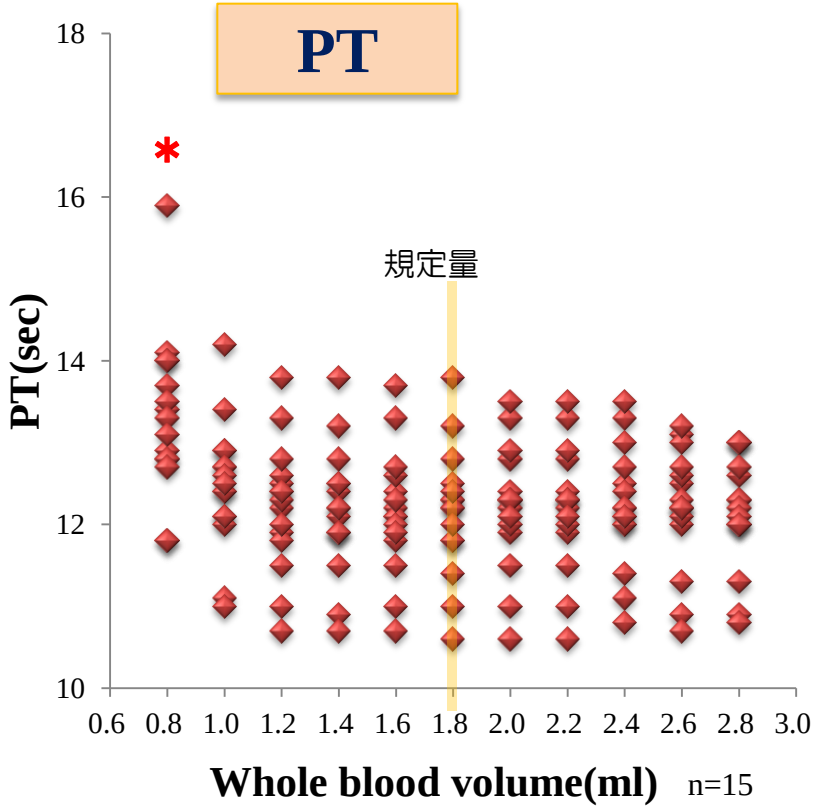


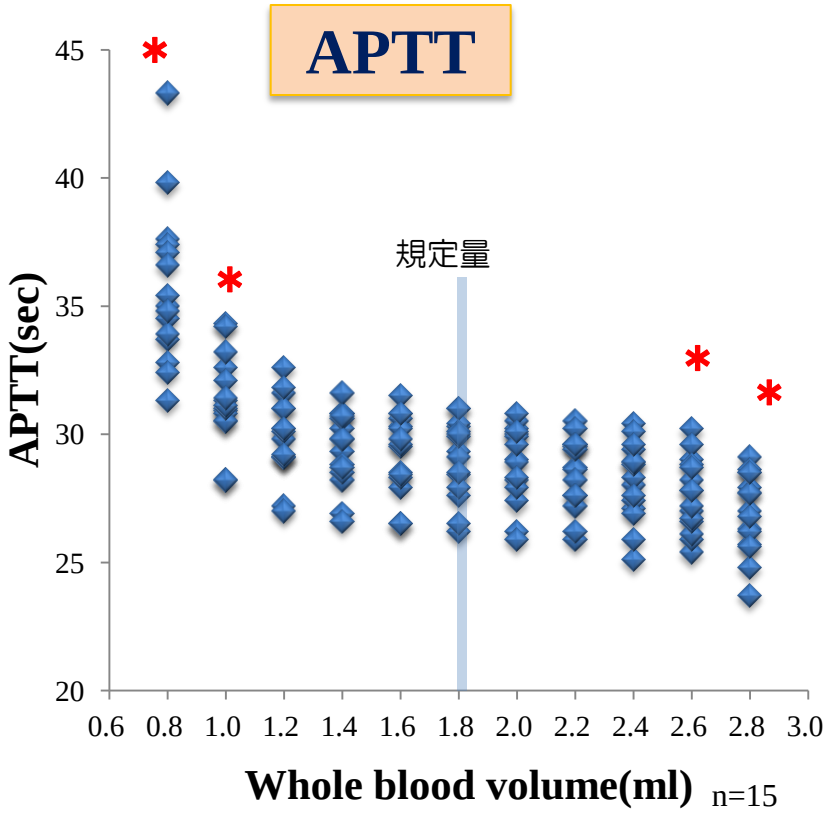
血液量 (ml)	0.8	1.0	1.2	1.4	1.6	1.8	2.0	2.2	2.4	2.6	2.8

クエン酸ナトリウム溶液 0.2 ml

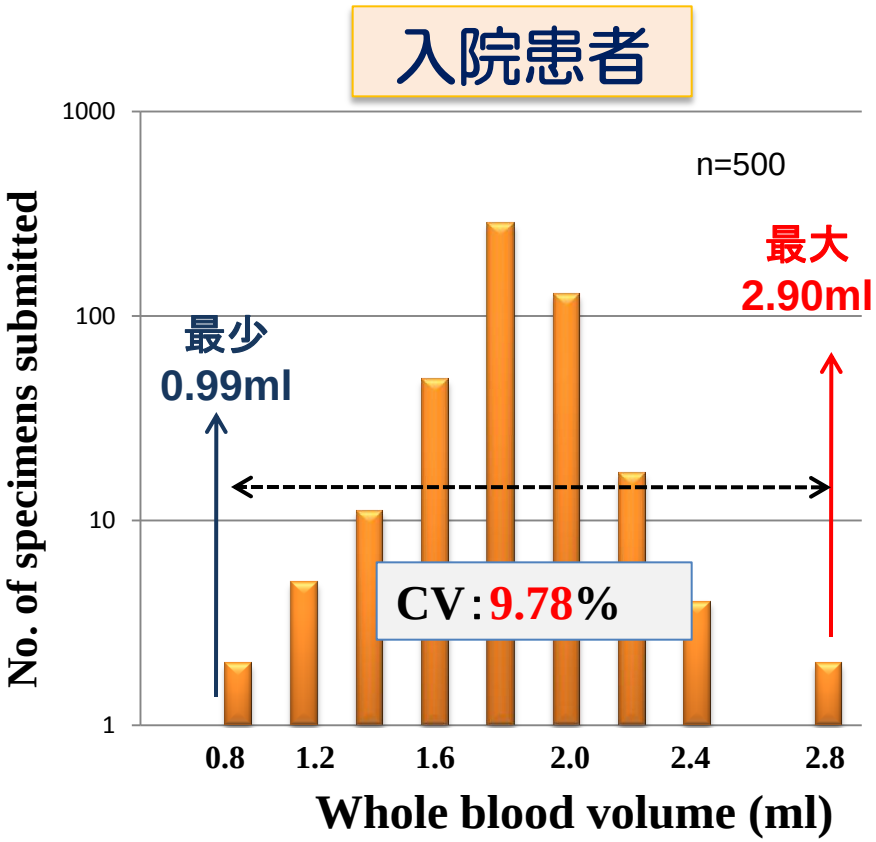


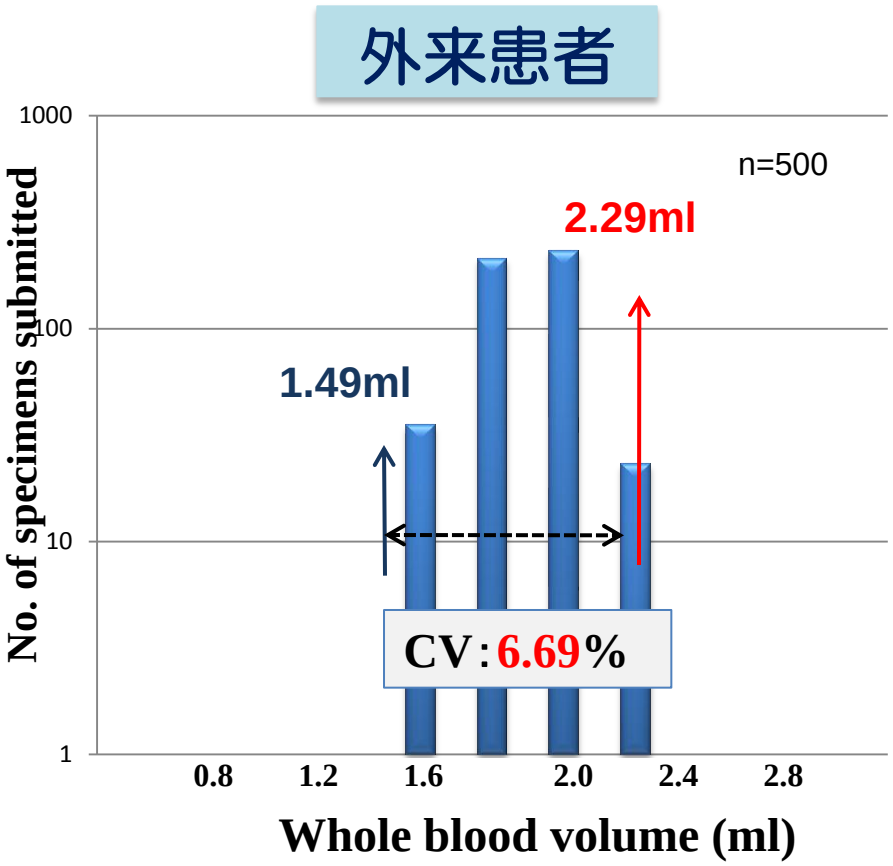
PT・APTT 測定


PT
PT(sec)
18
16
14
12
10
規定量
*
0.6 0.8 1.0 1.2 1.4 1.6 1.8 2.0 2.2 2.4 2.6 2.8 3.0
Whole blood volume(ml)
n=15


APTT
APTT(sec)
45
40
35
30
25
20
規定量
*
*
*
*
0.6 0.8 1.0 1.2 1.4 1.6 1.8 2.0 2.2 2.4 2.6 2.8 3.0
Whole blood volume(ml)
n=15

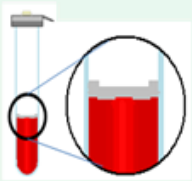
採血量と測定値の関係





採血量の分布（入院と外来の比較）

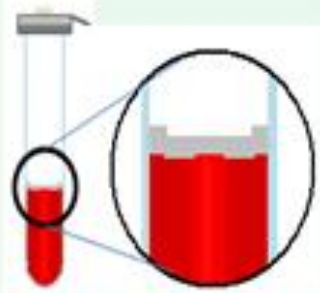
血液凝固検査に影響する測定前変動因子



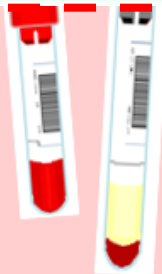
凝固検査の検体は、
ラインまできちんと採取してください。
（ラインをオーバーしてもだめです。）

バーコードは
斜めに貼り付けないでください。

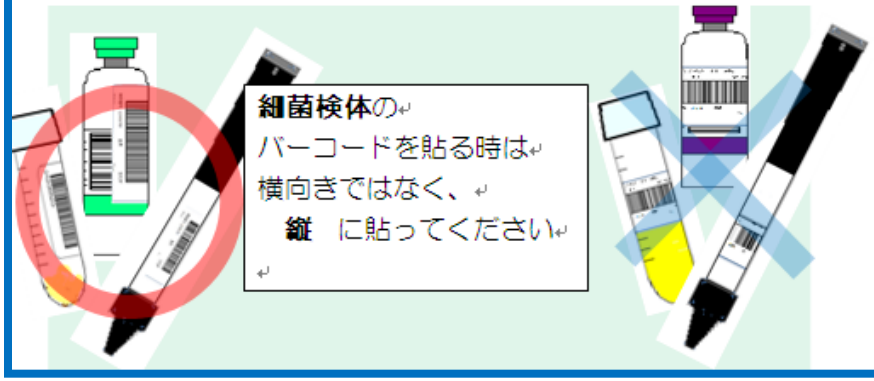
一般検査項目の
血漿浸透圧は、2ml 必要なので、
さい。
す。）



凝固の検体はラインまできちんと採取してください
（ラインをオーバーしすぎてもダメです）



アンモニア・乳酸・ピルビン酸
すぐに持ってこれない時は氷冷して下さい。



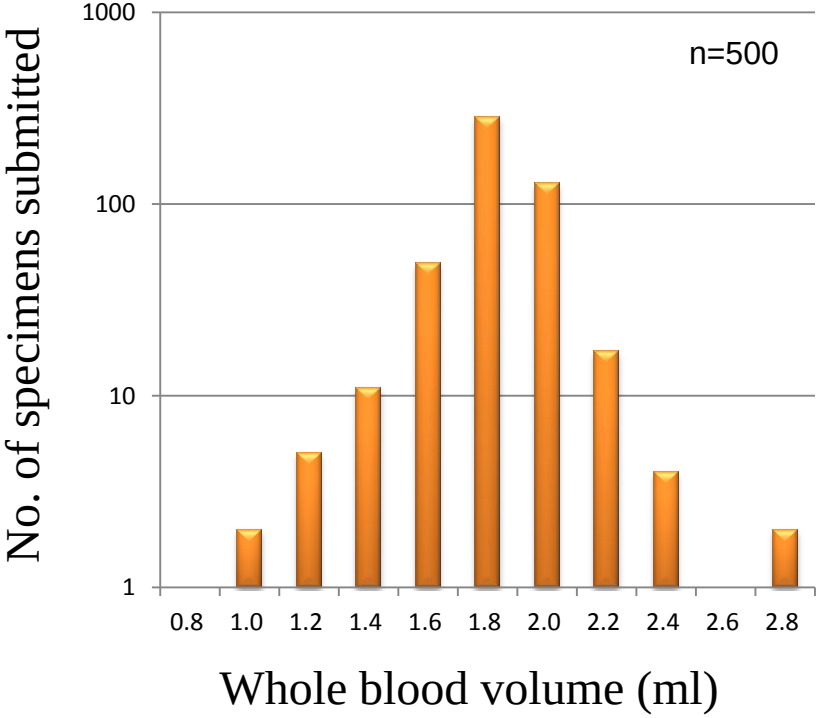
細菌検体の
バーコードを貼る時は
横向きではなく、
縦　に貼ってください

検査室の時間内検体の受け取りは
8：00から　です。

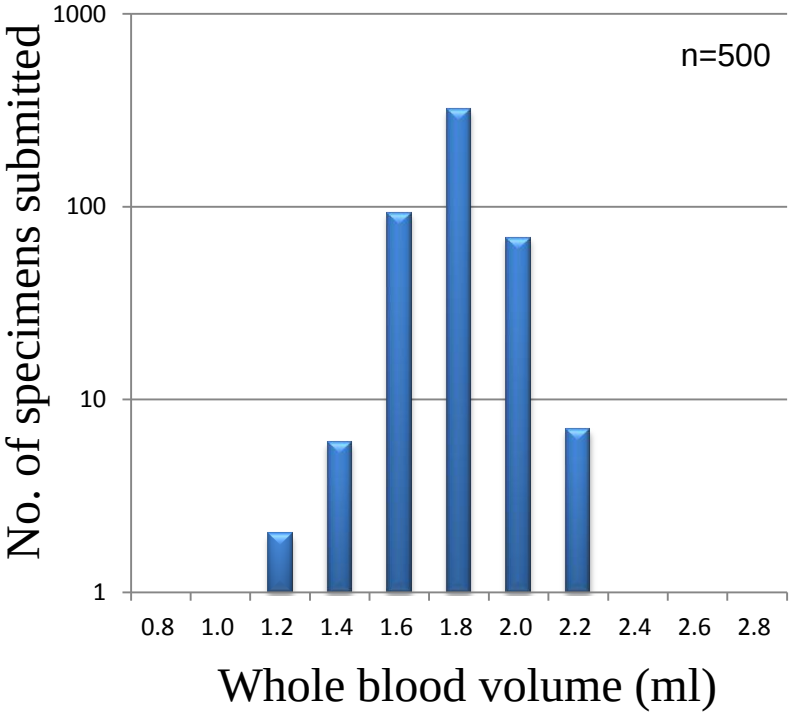
※ 質問等は、各部門検査室に問い合わせてください。

パンフレット配布効果(入院患者)は・・・

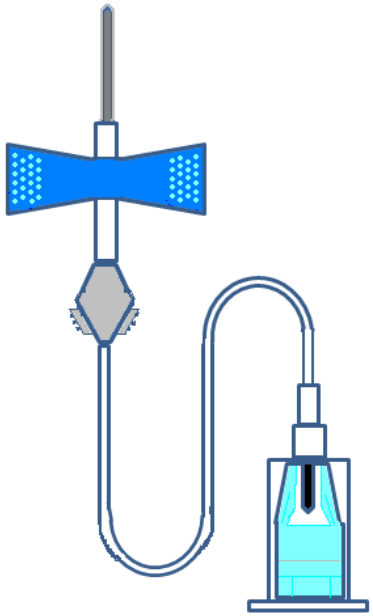
配布前

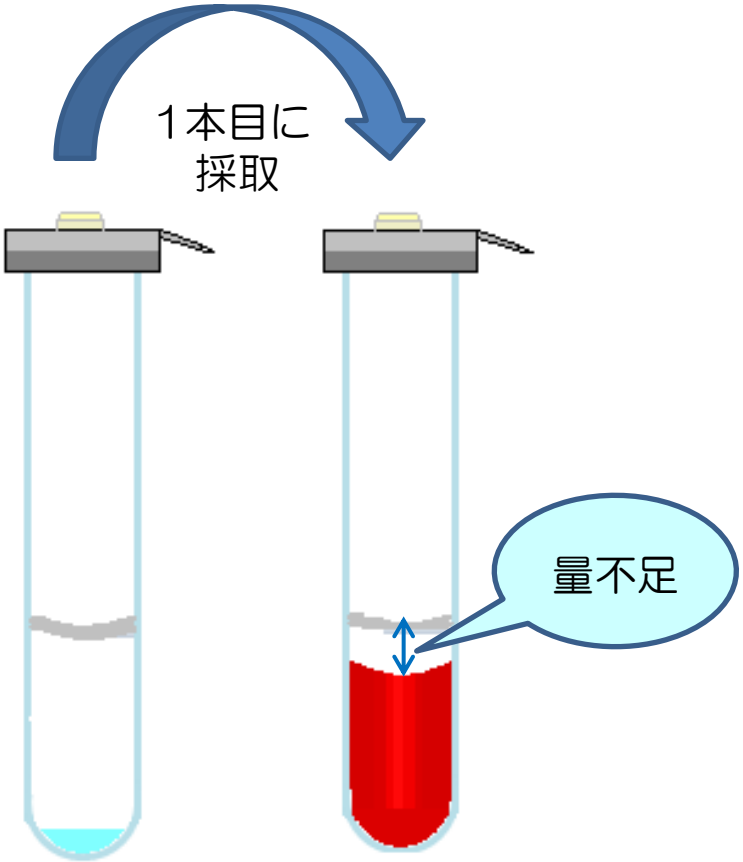


配布後



翼状針真空採血の影響





翼状針真空採血の場合、1管目は
ルート内に残る血液量の関係で
採血量が不正確になる可能性がある

測定前処理

・遠心分離

遠心条件 CLSI推奨

乏血小板血漿(PPP)の確保
残存血小板数(＜10,000/μL)

- 1,500 g
- 室温下（18～25℃）
- 15分以上

測定までの検体の安定性と保存

- 測定までの検体の安定時間
- 保存温度
- 保存処理
- 保存検体の取り扱い

保存方法・保存時間による影響

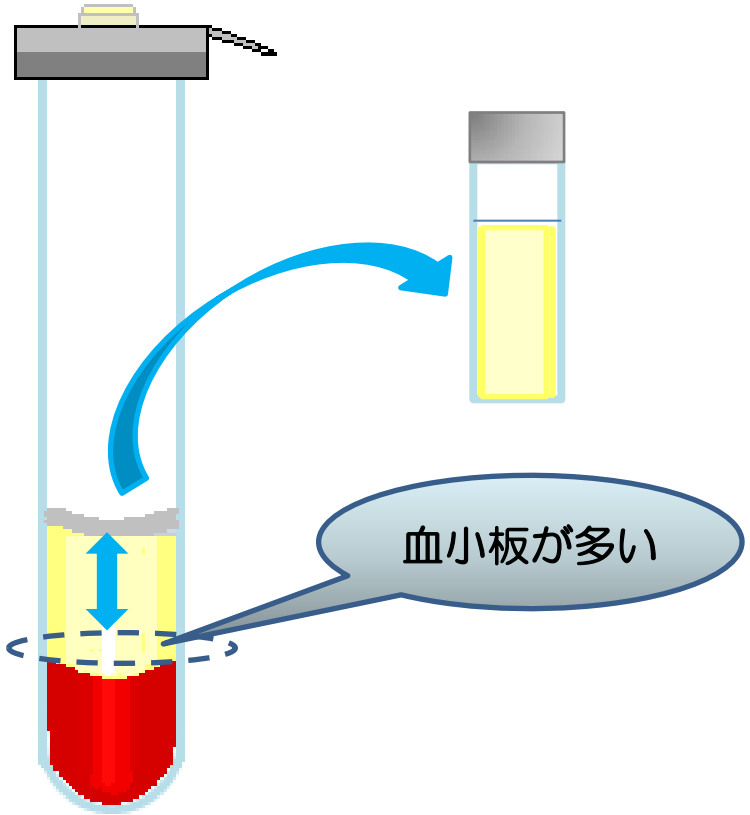
Test	Stored at;	Stored for (hours);				
		1	4	8	12	24
PT (sec)	25℃	12.3±0.73	12.3±0.71	12.4±0.72	12.4±0.71	12.7±0.72
	4℃	12.4±0.73	12.4±0.70	12.3±0.69	12.4±0.70	12.4±0.79
	-80℃	12.1±0.72	12.1±0.70	12.0±0.68	11.9±0.67	11.7±0.66
APTT (sec)	25℃	29.4±2.52	29.7±2.58	30.0±2.46	30.4±2.72	31.0±2.68
	4℃	29.5±2.48	30.0±2.51	30.4±2.51	30.9±2.39	30.4±2.51
	-80℃	30.0±2.70	30.1±2.63	29.6±2.41	29.8±2.48	29.8±2.47
Fibrinogen (mg/dL)	25℃	234±59.8	235±60.3	233±60.3	232±57.7	232±59.5
	4℃	231±58.0	236±59.4	235±60.2	233±59.0	237±60.4
	-80℃	239±62.3	234±61.2	243±58.9	244±61.4	243±62.6

血漿検体の安定性 （CLSI H21-A5推奨）

	室温	冷蔵	−20℃	−70℃以下
PT	24hr	-	2w	12m
APTT	4hr	4hr	2w	12m
APTT 未分画ヘパリンモニタリング	4hr	4hr	2w	-
APTT vWF,Ⅷ因子測定	4hr	4hr	2w	6m

保存処理

血小板の多い分画は避けて
血漿分離後、**凍結保存**



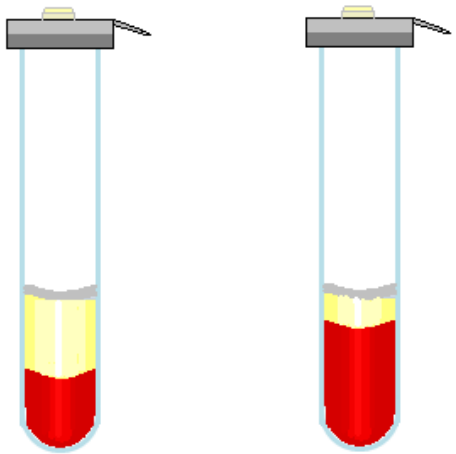
保存検体の測定

37℃で融解後、
速やかに測定

再凍結は厳禁

ヘマトクリット値の影響

（例）　多血症患者

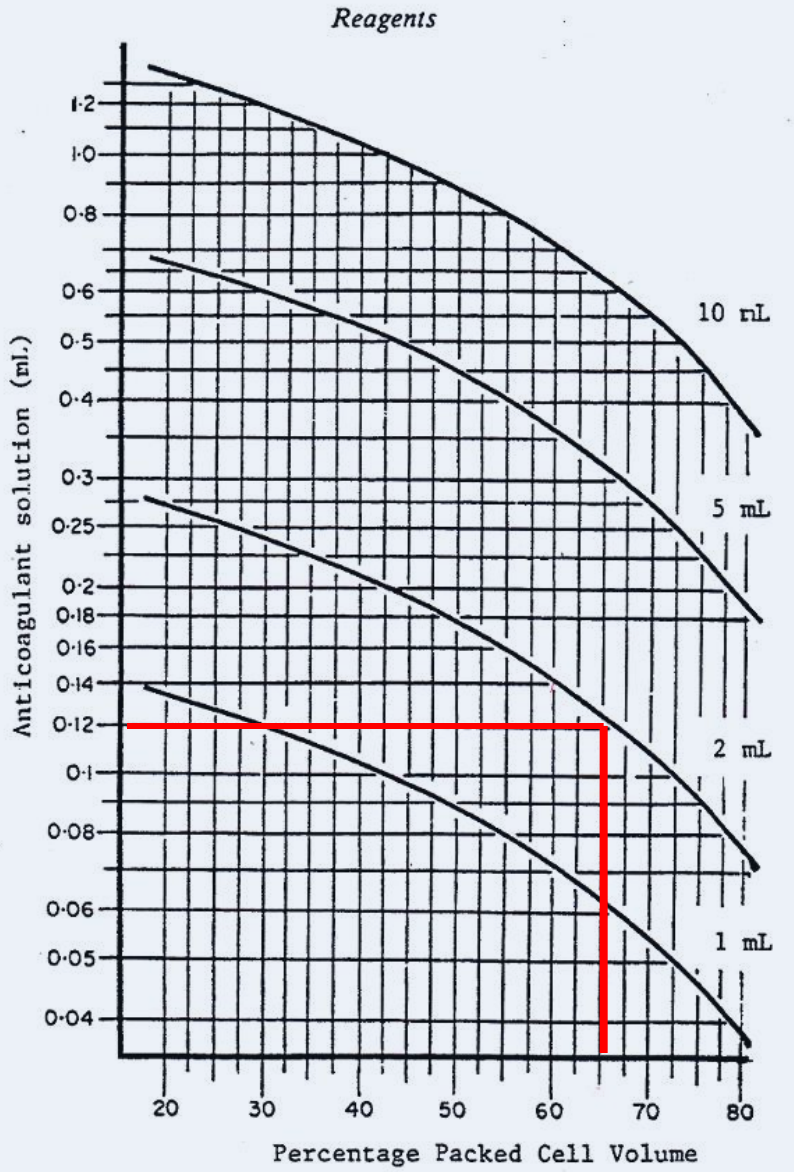


正常　　多血症

血漿の割合が少なくなり、
クエン酸ナトリウムが
過剰な状態となる。

Ht値が55%を超える場合は
クエン酸ナトリウム量を補正

CLSI H21-A5



CLSI H21-A5より引用

血液凝固検査に影響する測定前変動因子

- 長時間の駆血を避ける。
- 規定量の採血を行う。

  翼状針採血は２管目以降にすることで正確な採血量を確保。
- 採血後は十分な転倒混和を行う。
- Ht値 55%以上はクエン酸ナトリウム溶液の補正を行う。
- ライン採血によるヘパリン混入、輸液混入を避ける。
- 採血後の検体は速やかに提出する。
- 検体の輸送時には高温、低温を避ける。
- 血漿分離条件を厳守する。
- 測定までに長時間を要する場合は凍結保存する。
- 凍結血漿は37℃で融解した後に速やかに測定する。